

平成27年度・衛生研究所研究費事業報告

インフルエンザウイルス薬剤耐性調査

(計画年度：平成26年度～27年度)

研究代表者

ウイルス担当 鈴木典子

共同研究者

ウイルス担当 小川泰卓 棚倉雄一郎 内田和江 富岡恭子 貫洞里美 峯岸俊貴 篠原美千代
感染症室長 岸本剛

目的

現在、抗インフルエンザ薬はインフルエンザの治療には欠かせないものになっている。薬剤耐性株の出現については以前から懸念されていたが、2007年にはAソ連型(A/H1N1)ウイルスのオセルタミビル耐性株が世界各地で検出され、国内でもその出現頻度が2007/08シーズンには2.6%であったものが、2008/09シーズンには99.6%となり、わずか半年余りで劇的に増加した。日本は世界一のオセルタミビル使用国で、流行ウイルスが薬剤耐性を獲得しているか否かは、大きな関心事となっている。

埼玉県における抗インフルエンザ薬に対する薬剤耐性調査は、国からの実施要綱を受け「A(H1N1)2009ウイルスの抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス」を実施している。しかし、A香港型やB型に関してはサーベイランスの体制は整っていない。そこで、A香港型、B型の薬剤耐性調査を実施することで、流行しているすべてのインフルエンザウイルス型について、タミフルを代表とするNA阻害薬(オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、ラニナミビル)への薬剤耐性株の発生動向を把握することを目的とし、調査を実施した。

成果概要

感染症発生動向調査として当所に搬入され、インフルエンザが検出された検体からMDCK細胞で分離した株、平成26年度は2013/14シーズンに分離した97株(A香港型36株、B型61株)、平成27年度は2014/15シーズンに分離した118株(A香港型106株、B型12株)を調査対象とした。MDCK培養上清からRNAを抽出、RT-PCRを行い、ダイレクトシーケンス法によりノイラミニダーゼ(NA)タンパク質をコードする遺伝子領域(A香港型1407bp、B型1398bp)の塩基配列を決定した。塩基配列をアミノ酸に変換後、文献等でこれまでにNA阻害薬に対して耐性に関与する可能性があると報告のあった変異部位について、変異の有無を調査した。調査対象とした変異部位は、A香港型は、E41G、E119A/D/G/I/V、Q136K、T148K、R152K、V215I、I222L/V、R224K、Q226H、De1245-248、G248R、K249E、H274N/Y、E276D、R292K、N294S、N329S、S331R、R371Kの19か所、B型は、E110K、

E119A/D/G/V、Q140R、P141S、G142R、R152K、N153T/S、D198E/N、A201A/T、I222L/T/V、A246T、S250G、H274Y、R292K、N294S、K358-359E、R371K、A390E、G402S、D429G、Y144H+G147Rの21か所とした(H3N2亜型ウイルスのNAタンパク質のアミノ酸番号をもとにした表記法)。A香港型では、D151A/E/G/N/Vも耐性変異の報告があるが、最近のA香港型はMDCK細胞で分離すると151番目のアミノ酸が変異する傾向があると報告されており、今回の調査でも、36株中20株で151番目のアミノ酸に何らかの変異が認められた。この変異の認められた20株中2株について、臨床検体から抽出したRNAを用いて、同様の方法で塩基配列を調べたところ、151番目のアミノ酸には変異がみられなかったことから、151番目の変異は、MDCK細胞で分離したことによる影響と考えられた。よって、D151A/E/G/N/V変異は今回の調査から除外した。

調査の結果、2013/14シーズンのB型(yamagata系統)の1株で耐性変異に関与する可能性のあるN153T変異が認められ、国立感染症研究所で薬剤感受性試験を実施した結果、耐性株ではなかったが、ザナミビルに対する感受性がわずかに低下していることが確認された。また、2014/15シーズンに分離したA香港型の1株でG248Rの変異が認められたが、国立感染症研究所で薬剤感受性試験を実施した結果、耐性株ではなかった。

自己評価

予定していた検討内容についてはすべて終了した。

展望

今回の調査では、NA阻害薬4種類に関して直接薬剤耐性を引き起こす変異は検出されず、薬剤耐性株も検出されなかった。しかし、他の変異株と共存して耐性を引き起こす変異が検出され、今後も薬剤耐性株が検出される可能性はあることから、継続的な調査を実施していくことが必要であると考える。

公表等

感染症トピックスに調査結果を掲載し、ホームページに公開することで医療機関等への情報提供を実施した。