

Influenza A variants with reduced susceptibility to baloxavir isolated from Japanese patients are fit and transmit through respiratory droplets

Masaki Imai, Makoto Yamashita, Yuko Sakai-Tagawa, Kiyoko Iwatsuki-Horimoto, Maki Kiso, Jurika Murakami, Atsuhiko Yasuhara, Kosuke Takada, Mutsumi Ito, Noriko Nakajima, Kenta Takahashi, Tiago J. S. Lopes, Jayeeta Dutta, Zenab Khan, Divya Kriti, Harm van Bakel, Akifumi Tokita, Haruhisa Hagiwara, Naomi Izumida, Haruo Kuroki, Tamon Nishino, Noriyuki Wada, Michiko Koga, Eisuke Adachi, Daisuke Jubishi, Hideki Hasegawa and Yoshihiro Kawaoka

今井 正樹、山下 誠、坂井 (田川) 優子、岩附 (堀本) 研子、木曾 真紀、村上 樹里佳、安原 敦洋、高田 光輔、伊藤 睦美、中島 典子、高橋 健太、Tiago J. S. Lopes、Jayeeta Dutta、Zenab Khan、Divya Kriti、Harm van Bakel、時田 章史、萩原 温久、泉田 直己、黒木 春郎、西野 多聞、和田 紀之、古賀 道子、安達 英輔、十菱 大介、長谷川 秀樹、河岡 義裕

Nature Microbiology, 11 月 25 日オンライン掲載.

DOI 番号 : 10.1038/s41564-019-0609-0

① 研究の背景・先行研究における問題点

2018 年 3 月に新規抗インフルエンザ薬、ゾフルーザ (注 1) の販売が日本において開始されました。販売承認後初めて本格的に使用された 2018/2019 のインフルエンザ流行シーズンでは、単回経口投与で治療が完結するゾフルーザの利便性が支持され、その市場シェアは先発のノイラミニダーゼ (NA) 阻害剤 (注 2) を抑えて 4 割を占めました (https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/kenkou/kekkaku-kansenshou01/jichitai_00001.html)。しかしその一方で、同シーズンに国立感染症研究所が実施した薬剤耐性株サーベイランスでは、ゾフルーザに対して耐性を示す変異ウイルス (注 3) が高い割合で検出されています

(<https://www.niid.go.jp/niid/images/flu/resistance/20191004/dr18-19j20191004-1.pdf>)。

先行研究では、1933 年、1975 年、1959 年に分離され、実験室内で維持されてきたインフルエンザウイルスを基に、耐性変異を持つ組換えウイルスが人工的に作出され、その増殖能が解析されました。その結果、この耐性ウイルスは野生型の感受性ウイルスよりも増殖能が大きく劣ることが示されました。しかし、患者から分離された耐性変異を持つウイルスがどのような病原性を有しているのか、また感染部位で効率よく増殖することができるのか、さらに周囲に感染伝播する能力を保持しているのか、その基本性状は明らかになっていませんでした。

① 研究内容

私達は、2018/2019 シーズンに国内の医療機関を受診したインフルエンザ患者から共同研究者の医師 (注 4) が採取した臨床検体中のウイルス遺伝子を解析しました。その結果、薬剤未投与の A/H1N1pdm09 インフルエンザ患者では、ゾフルーザ耐性ウイルスは検出されませんでした。一方、A/H3N2 インフルエンザ患者では、2 例の小児患者で耐性ウイルスが検出されました。そのうち 1 例の家族は、その小児患者が発症するおよそ 1 週間前に A/H3N2 インフルエンザを発症しゾフルーザを服用していたことが判明しました。これは耐性ウイルスの感染伝播が

同居家族内で起きた可能性が高いこと示しています。さらに私達は、ゾフルーザを服用した患者の検体についても解析し、12歳未満の A/H1N1pdm09 あるいは A/H3N2 インフルエンザ患者において、耐性ウイルスが高い頻度で出現することを明らかにしました（図 1）。

続いて、インフルエンザのモデル動物（ハムスター、マウス、フェレット）を用いて、同じ患者からゾフルーザ治療前分離された本剤感受性株とゾフルーザ治療後に分離された耐性株の増殖性と病原性を比較しました。A/H1N1pdm09 耐性ウイルスを感染させたハムスターとマウスでは体重減少が認められ、耐性ウイルス感染動物と感受性ウイルス感染動物との間で体重変化に違いは見られませんでした（図 2）。また、この耐性ウイルスは肺などの呼吸器で効率よく増殖することもわかりました。A/H3N2 耐性ウイルスを感染させたハムスターにおいても同様の成績が得られました。このようにゾフルーザ耐性ウイルスの増殖性と病原性は、感受性ウイルスと同等であることが明らかになりました。さらにフェレットを用いて、ゾフルーザ耐性ウイルスの感染伝播力を調べる実験を行いました。その結果、A/H1N1pdm09 耐性ウイルスと A/H3N2 耐性ウイルスは、いずれもフェレット間で治療前に分離されたゾフルーザ感受性株と同様に効率よく空気伝播（注 5）することが明らかになりました（図 3）。

③ 社会的意義など

今回の研究から、患者から分離された A/H1N1pdm09 あるいは A/H3N2 のゾフルーザ耐性ウイルスは哺乳類における病原性と増殖性が野性型の感受性ウイルスと同等であることが明らかになりました。また、耐性ウイルスは哺乳類間を効率よく空気伝播することが明らかになりました。これらの成績はゾフルーザ耐性ウイルスが人から人へ広がる可能性があることを示唆しています。

さらに本研究から、ゾフルーザ耐性ウイルスがゾフルーザを服用した小児患者において高い頻度で出現することがわかりました。インフルエンザウイルス感染の経験がない（あるいは少ない）小児患者ではウイルス排除に必要な免疫が十分に誘導されず、耐性ウイルスが発生しやすい可能性があります。小児患者でのゾフルーザの使用については、耐性ウイルス出現のリスクを考慮した慎重な判断が望まれます。

本研究を通して得られた成果は、医療現場における適切な抗インフルエンザ薬の選択に役立つだけでなく、耐性ウイルスのリスク評価など行政機関が今後のインフルエンザ対策計画を策定、実施する上で、重要な情報となります。

④ 誤解されている点

今回の研究のみならず、臨床試験においてゾフルーザ耐性インフルエンザウイルスが小児において比較的高率に分離されています。このことから、ゾフルーザ耐性ウイルスがどんどん広まり、本剤の効果がなくなるような意見も散見します。しかしながら、ゾフルーザ耐性インフルエンザウイルスが蔓延し、本剤が有効でなくなるような状況は考えづらいです。なぜかと言いますと、本剤が有効でなくなるような状況、つまり世の中で流行しているインフルエンザウイルスのほとんどが本剤耐性になるには、本剤耐性ウイルスの方が本剤感受性の元々のウイルスよりも増殖力が高くなければなりません。これまでのところ、そのようなことは見つかっていません。しかしながら、家族内や、小学校のクラス内などの閉鎖された環境では本剤耐性ウイルスが広がる可能性はありますので、注意が必要です。

また、小児で耐性ウイルスが比較的高率に出現することから、本剤の有効性を疑問視する意見も見受けられます。しかしながら、成人では本剤耐性ウイルスの出現率は低く、しかも一回服薬するだけで、翌日には体内のウイルス量が 1,0000 分の 1 以下になります。従って、成人ではとても効果の高い薬剤です。

8. 用語解説：

(注 1) バロキサビル・マルボキシル（商品名：ゾフルーザ）

インフルエンザウイルスゲノムの転写・複製を担う RNA ポリメラーゼの構成因子の一つである PA 蛋白質は、そのエンドヌクレアーゼ活性により宿主細胞 mRNA からキャップ構造を含む RNA 断片を切断する。この断片をプライマーとして、ウイルスのゲノム RNA (vRNA) を鋳型としたウイルス mRNA の伸張反応が開始する。バロキサビル・マルボキシルの活性体は、ウイルス mRNA の合成に必要な PA のキャップ依存性エンドヌクレアーゼ活性を阻害することで、A 型および B 型インフルエンザウイルスの増殖を抑制する。

(注 2) ノイラミニダーゼ (NA) 阻害剤

国内では A 型および B 型インフルエンザウイルスの NA 活性を阻害する 4 薬剤 (オセルタミビル、ザナミビル、ラニナミビル、ペラミビル) が使用されている。NA は感染細胞で新しく作られた子孫ウイルス粒子が細胞表面から遊離する際に必要な酵素で、NA 阻害剤はこの酵素活性を選択的に阻害することで、体内でのウイルス拡散・増殖を抑制する。

(注 3) ゾフルーザ耐性インフルエンザウイルス

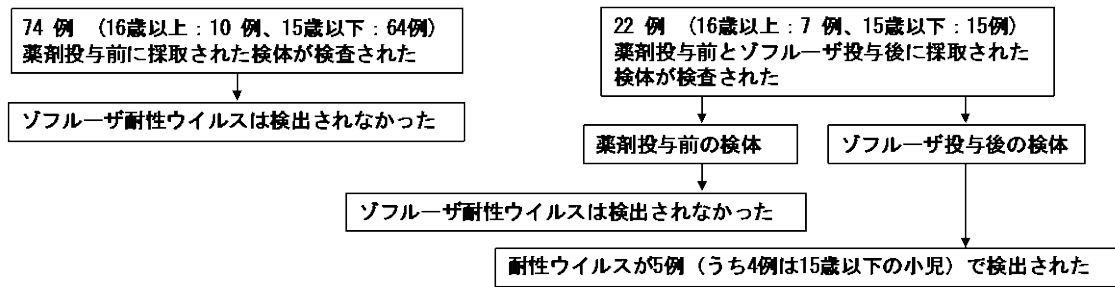
PA 蛋白質の 38 番目のアミノ酸に変異を持つインフルエンザウイルスはゾフルーザに対する感受性が低下することが明らかにされている。

(注 4) 時田 章史、萩原 温久、泉田 直己、黒木 春郎、西野 多聞、和田 紀之、古賀 道子、安達 英輔 (敬称略)

(注 5) 従来、インフルエンザウイルスの伝播は接触感染と飛沫感染が主であると考えられていたが、最近くしゃみや咳を伴うことなく、呼吸中に感染性ウイルスが相当量存在することが分かった (Infectious virus in exhaled breath of symptomatic seasonal influenza cases from a college community. Yan J, Grantham M, Pantelic J, Bueno de Mesquita PJ, Albert B, Liu F, Ehrman S, Milton DK; EMIT Consortium. Proc Natl Acad Sci US A.115:1081-1086, 2018)。このことから、空気を介してインフルエンザウイルスが伝播することが明らかになった。

9. 図表

A/H1N1pdm09インフルエンザ患者



A/H3N2インフルエンザ患者

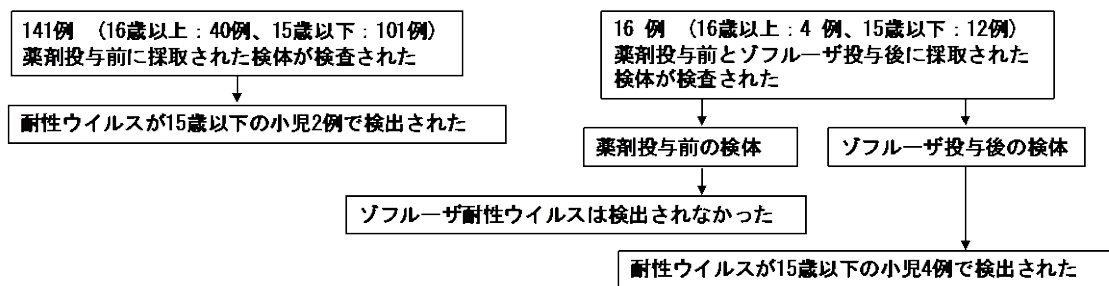


図1 A型インフルエンザ患者におけるゾフルーザ耐性ウイルスの検出
2018/2019インフルエンザ流行シーズンに国内の医療機関を受診したA型インフルエンザ患者から採取した検体中のウイルスを解析した。

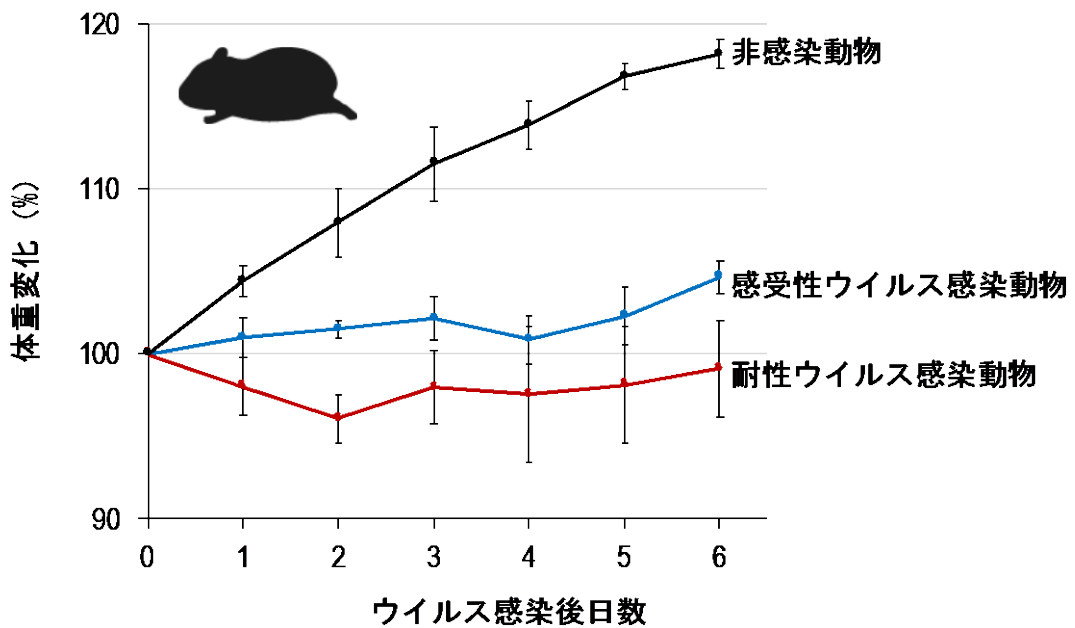


図2 ハムスターに対するウイルスの病原性

ゾフルーザ感受性ウイルスあるいは耐性ウイルスをハムスターの鼻腔内に接種した。その後、非感染動物（対照群）と感染動物の体重を毎日測定した。対照群では体重が増加したが、感受性あるいは耐性ウイルス感染群では体重増加は認められなかった。

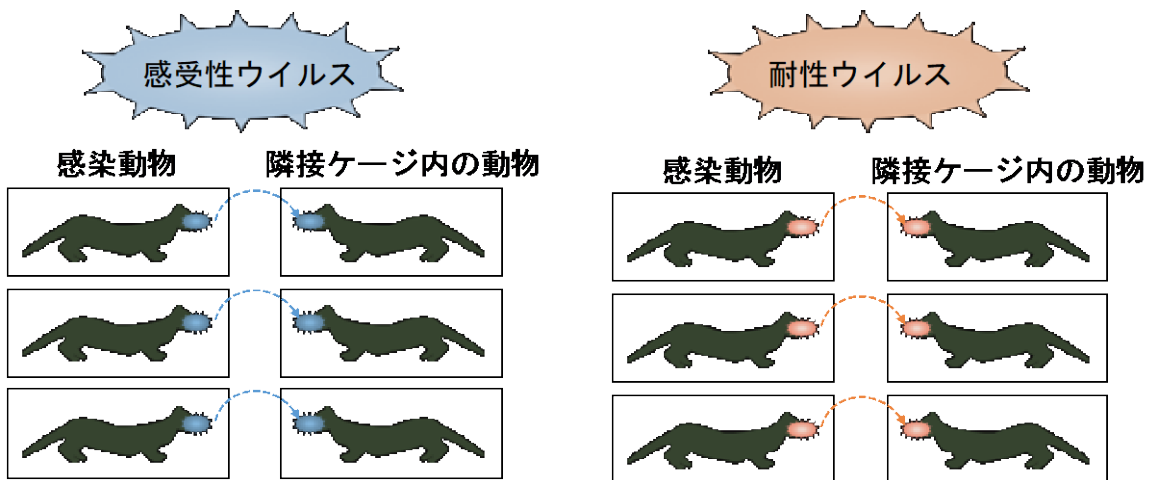


図3 フェレット間におけるウイルス伝播

ゾフルーザ感受性ウイルスあるいは耐性ウイルスをフェレットの鼻腔内に接種した。その後、感染動物の飛沫によってウイルスが隣接するケージ内の動物に伝播するのかどうかを調べた。3ペア中3ペアにおいて感受性ウイルスと耐性ウイルスが伝播した。