

大阪市で分離された季節性インフルエンザウイルスの型・亜型の動向
およびオセルタミビル耐性A(H1N1)株の解析

久保英幸、改田厚、入谷展弘

Proportions of Types and Subtypes of the Seasonal Influenza Viruses
and Analysis of Oseltamivir-Resistant Influenza Virus A(H1N1) Strains Isolated in Osaka City

Hideyuki KUBO, Atsushi KAIDA and Nobuhiro IRITANI

Abstract

We compared the proportions of types and subtypes of seasonal influenza virus strains isolated during the latest 3 influenza epidemic seasons in Osaka City. The percentages of each type and subtype of these influenza epidemic seasons were different respectively, and we found a co-circulation of influenza virus subtype AH1, subtype AH3, and type B strains in 2008-09 season in Osaka City. The surveillance for the appearance of oseltamivir-resistant influenza virus A(H1N1) (ORV) was also performed against the isolated A(H1N1) strains in 2007-08 and 2008-09 influenza seasons in Osaka City. The appearance ratio of ORV was 0% in the 2007-08 season, and 93.9% in the 2008-09 season. Similar results were reported by all the local public health institutes that carried out this surveillance in Japan, as well as many other countries in the 2008-09 season. These results suggest that the appearance of ORV was the worldwide incidents in the 2008-09 influenza epidemic season. This surveillance will help provide the information essential for the prevention of influenza virus epidemics and will facilitate the treatment of influenza patients through the proper use of anti-influenza drugs.

Key words: seasonal influenza viruses, types and subtypes of influenza viruses, oseltamivir-resistant influenza virus A(H1N1) (ORV)

I 緒言

季節性インフルエンザウイルスは、毎年冬期シーズンになると世界的規模で流行の認められるインフルエンザ様疾患の原因ウイルスである。ヒトの季節性インフルエンザウイルスはAおよびB型に分類され、さらにA型はH1およびH3亜型に分類される[1,2]。また、2009年4月には、新型インフルエンザウイルスA(H1N1)の発生が確認され、世界保健機関(WHO)は、2009年6月の時点で本ウイルスの流行状況をフェーズ6の段階に引き上げ、今後の動向にさらなる注意を要する事態となっている[3]。

季節性インフルエンザウイルス感染の予防および軽症化には、インフルエンザ流行シーズン突入前のワク

チン接種が最も有効とされ、特に幼児および高齢者においては、毎年その時機にこのワクチン接種を受けるよう、行政や報道機関を通じて、啓発・推奨が行われている。また、1996年に開発されたノイラミニダーゼ阻害薬であるオセルタミビルは、インフルエンザウイルスAおよびB型の治療薬として、現在全世界で使用されているが、その使用拡大に伴ってオセルタミビル耐性株(ORV)の出現が懸念され始めた[4]。このため、WHOグローバルインフルエンザサーベイランスネットワークでは、全世界でのORVに対するサーベイランス強化を目的として、2003年初冬から2004年初春にわたるインフルエンザ様疾患流行シーズン(2003-04シーズン)に、WHO加盟国に対してORVのサーベイランス要請を開始した。これへの対応として、日本では国立感染症研

究所(感染研)が全国76の地方衛生研究所(地衛研)に本サーベイランスへの協力を依頼し、原則として2008年1月以降に分離されたA(H1N1)全株について、そのノイラミニダーゼタンパク質のアミノ酸番号275に、ORVの指標となるヒスチジンからチロシンへの変異(H275Y)が存在するか否かについての解析を行う緊急サーベイランスを行った[5]。このサーベイランスは、2008-09シーズンにおいても引き続き実施され、各関係行政機関および医療機関に対して、全国におけるORVの発生状況についての迅速な傾向把握および情報提供を行うことを可能にした[6]。

当所では本サーベイランスへの参加を行い、感染研との共同研究として、得られた結果の感染研への提供を行った。また、提供した結果は、他の各地衛研から提供された結果とともに、全国におけるORVの発生状況として、その情報還元がなされている[5,6]。今回我々は、大阪市内で分離された最近3シーズンにわたる季節性インフルエンザウイルスの分離状況を踏まえて、2007-08シーズンの2008年1月以降および2008-09シーズンの大阪市内におけるORVの発生状況についての解析を行い、他地域での状況との比較検討を行った。

II 実験

1) インフルエンザウイルスの分離および分離株の型・亜型確認試験

大阪市感染症サーベイランス事業およびインフルエンザ様疾患集団発生事例検査に供与されたインフルエンザ様疾患患者検体(咽頭ぬぐい液または鼻汁)を犬腎由来培養細胞であるMDCK細胞に接種した後、温度を36.0℃、およびCO₂濃度を5.0%に設定したインキュベーター(エスベック)内で接種細胞の培養を行った。細胞培養液には、0.2%ウシ血清アルブミンおよび0.25%トリプシンを添加したイーグルMEM培地(日研生物医学研究所)を使用した。細胞変性効果(CPE)の出現観察を最大2週間行い、この観察期間内でCPEの認められた検体をインフルエンザウイルス分離陽性と判定した後、その培養上清を保存チューブ内に収集してウイルス保存液とし、-80℃に保存した。次に、各分離株の型・亜型を決定するために、インフルエンザウイルスの検査マニュアルに従って[7]、0.75%モルモット赤血球(日本エスエルシーおよびアークリソース)を用いた赤血球凝集(HA)試験を行い、各分離株のHA価を測定した。得られたHA価に基づいて各株のウイルス保存液を一定濃度に希釈し、この希釈液および感染研から分与された各シーズン用のインフルエンザサーベイランスキット(各シーズンのインフルエンザワクチンに用いたインフルエンザウイルスAH1亜型株、AH3亜型株およびB

型株に対するフェレットまたは緬羊抗血清をキットにしたもの)を用いて赤血球凝集阻止(HI)試験を行った。このHI試験で最も高いHI価を示したキット中の抗インフルエンザウイルス血清の型・亜型を分離株の型・亜型と判定した。また、HI試験を行うための最低限必要なHA価が得られなかったインフルエンザウイルス分離株に対しては、ウイルス保存液からウイルスRNA抽出キット(キアゲン)を用いてRNAを抽出した後に、2ステップまたは1ステップのRT-PCRを行い、さらに3.0%アガロースゲルを用いた電気泳動を行って特異的増幅フラグメントの有無を確認することによって、各該当分離インフルエンザウイルス株の型・亜型を決定した[8,9]。

2) A(H1N1)株のノイラミニダーゼ遺伝子の塩基配列の解読およびH275Yの検索

ヒトインフルエンザウイルスのうち、現在ORVの出現が認められているものはAH1[A(H1N1)]亜型のみであることから[10]、HI試験およびRT-PCRにおいてAH1亜型に型別された分離インフルエンザウイルス株について、そのノイラミニダーゼ遺伝子の一部の塩基配列を検査マニュアルに従って解読し、H275Yの変異が存在するか否かの解析を、以下の通りに行った[11]。AH1亜型と確認された各分離株のノイラミニダーゼ遺伝子中の一定領域に対してRT-PCRを行い、得られた特異的増幅フラグメントを精製した後、ジェネティックアナライザー(ABI PRISM 310およびApplied Biosystems 3130)(アプライドバイオシステムズジャパン)を用いてその塩基配列の解読を行った。得られた各株のノイラミニダーゼ遺伝子の該当領域の塩基配列について、遺伝子解析ソフトSequencher(日立ソフトウェアエンジニアリング)を用いて決定し、さらにノイラミニダーゼタンパク質の推定アミノ酸番号275がヒスチジンまたはチロシンのいずれであるかの解析を行った。2007-08シーズンに分離されたAH1亜型株においては、2008年1月以降に分離された27株について、また、2008-09シーズンにおいては、全期間に分離された33株について、本検索を行った。本市で分離されたA(H1N1)株のH275Yの解析結果は、出来るだけ速やかに感染研への情報提供を行い、他の地衛研からの情報とともに、感染研感染症情報センターを介して、全国へ向けての情報提供が行われた[6]。

III 結果

1) 大阪市内で分離されたインフルエンザウイルス株の型・亜型

2006-07、2007-08および2008-09の3シーズン中に、当所に搬入されたインフルエンザ様疾患患者検体から

分離されたインフルエンザウイルスの分離株数を型・亜型別に分類し、表1-1に示した。各シーズン中に分離されたインフルエンザウイルス株は、2006-07が41株、2007-08が54株、2008-09が79株であった。2006-07シーズンにおける各型・亜型の割合は、AH1亜型が9.8%、AH3亜型が34.1%、およびB型が56.1%であった。2007-08シーズンの各割合は、AH1が94.4%、AH3が0%、およびB型が5.6%であった。2008-09シーズンの割合は、AH1が41.8%、AH3が41.8%、およびB型が16.4%であった。また、同3シーズンにおける全国のインフルエンザウイルス分離報告結果を表1-2に示した[12]。全国における各シーズンの分離株数の割合を比較すると、2006-07シーズンは、AH1が12.5%、AH3が47.3%、およびB型が40.2%、2007-08は、AH1が81.4%、AH3が11.6%、およびB型が7.0%、2008-09は、AH1が47.3%、AH3が28.4%、およびB型が24.3%であった。

2) 分離されたA(H1N1)亜型株のオセルタミビル耐性化に関する検索

2007年11月以降に、EU諸国においてORVが高頻度で分離されたことから[5]、日本では、2008(平成20)年2月25日付で、感染研所長名にて、「抗インフルエンザ薬剤サーベイランスのためのA/H1N1分離株の分与および分与手続きの迅速化のお願い」が、各地衛研所長宛に送付された。この文書中で、2008年以降に採取した検体から分離されたA(H1N1)株についてのH275Yに対する緊急検索への協力依頼がなされた。当所はこの依頼を受諾し、大阪市で2008年1月以降に採取されたインフルエンザ様疾患患者検体から分離されたAH1亜型株のノイラミニダーゼ遺伝子の一部をRT-PCR法

にて特異的に増幅し、さらにその塩基配列を解析して、各A(H1N1)株ノイラミニダーゼタンパク質の推定アミノ酸番号275が、ヒスチジン(オセルタミビル感受性)またはチロシン(オセルタミビル耐性)のいずれかの検索を行った。2007-08シーズンの1月以降に分離されたAH1亜型株は全部で27株(1月21株、2月6株)であった。これらの分離株に対して、ノイラミニダーゼ1亜型(N1)遺伝子に対するRT-PCRを行った結果、26株においてN1遺伝子の特異的増幅が認められたことから、これら26株をA(H1N1)株と判定し、以降の検索を引き続き行った。また、2008-09シーズンについては、2009(平成21)年1月30日付で、感染研所長名にて、「各週ごとの抗インフルエンザ薬剤耐性株検出情報の迅速提供のお願い」が、各地衛研所長宛に送付され、前シーズンと同様に分離A(H1N1)株についてのH275Yの迅速検索への協力依頼がなされた。当所ではこれを受諾し、前シーズンと同様の検索を行った。2008-09シーズンに大阪市で分離されたAH1亜型株は全部で33株であった。これらの株に対して、N1遺伝子に対するRT-PCRを行ったところ、全33株においてN1遺伝子の特異的増幅が認められたことから、これらの全株をA(H1N1)株と判定し、以降の検索を引き続き行った。

2007-08シーズンの1月以降に分離されたA(H1N1)株のノイラミニダーゼタンパク質の推定アミノ酸番号275は、検索した26株のすべてがヒスチジンでオセルタミビル感受性株であった。また、2008-09シーズンに分離され、検索した33株の同推定アミノ酸は、2株(株名: OC/08468およびOC/08636)がヒスチジンで、残りの31株はチロシンでORVであった(表2)。また、同シーズン(期間)における全国のA(H1N1)分離株についての解

表1-1 最近3シーズンに大阪市で分離されたインフルエンザウイルス各型・亜型の株数

シーズン	インフルエンザウイルス各型・亜型の分離株数			
	AH1亜型	AH3亜型	B型	合計
2006-07	4 (9.8) ¹⁾	14 (34.1)	23 (56.1)	41
2007-08	51 (94.4)	0	3 (5.6)	54
2008-09	33 (41.8)	33 (41.8)	13 (16.4)	79

1):割合 (%)

表1-2 最近3シーズンに全国で分離されたインフルエンザウイルス各型・亜型の株数¹⁾

シーズン	インフルエンザウイルス各型・亜型の分離株数			
	AH1亜型	AH3亜型	B型	合計
2006-07	633 (12.5) ²⁾	2396 (47.3)	2041 (40.2)	5070
2007-08	3819 (81.4)	544 (11.6)	330 (7.0)	4693
2008-09	3521 (47.3)	2114 (28.4)	1808 (24.3)	7443

1): 病原微生物検出情報から引用:2009年6月19日現在[12]

2): 割合 (%)

析結果を表2に示した。2007-08シーズンにおいては、全国で1083株についての解析が行われ、そのうちの1062株のものがヒスチジンで、また、21株のものがチロシンであった[5]。また、2008-09シーズンにおいては、全国で1239株についての解析が行われ、そのうちの5株のものがヒスチジンで、また、1234株のものがチロシンであった。これらのうち、ノイラミダーゼタンパク質の推定アミノ酸番号275がヒスチジンであった5株の分離された自治体は、大阪市(2株)および奈良県(3株)であった[6]。

IV 考察

季節性インフルエンザは、毎年冬期シーズンを中心として世界的な流行の認められる感染症で、日本におけるその流行状況に関しては、厚生労働省をはじめとした各種のホームページにおいて、週単位の流行状況が情報発信されている[13,14]。ヒト-ヒト間で流行を示す季節性インフルエンザウイルスには、2009年4月に発生の確認された新型インフルエンザウイルスA(H1N1)[15,16]を除き、現在のところAH1亜型、AH3亜型およびB型の3種類が認められている[1,2,17]。これら3種の型・亜型の流行状況は各シーズンで異なり、流行するインフルエンザウイルスの型・亜型においては、その占有割合において、シーズンごとの変化が認められている[18]。最近の3シーズンに分離されたインフルエンザウイルスの各型・亜型の占有割合について、大阪市および全国のものとして比較すると、これらの間には各シーズンにおいてそれぞれ相違の認められることが明らかとなった(表1)。このことは、各シーズンにおけるインフルエンザウイルス各型・亜型の流行割合は全国一律ではなく、各地方・地域においてそれぞれ異なる割合で流行が発生していることを示唆するものと考えられ

た。また、大阪市の2008-09シーズンに分離された各型・亜型の割合は、AH1およびAH3亜型がそれぞれ41.8%、B型が16.4%であった(表1-1)。これらの株の分離状況を月別で比較すると、本シーズンの12および1月においては、3種の型・亜型が同時期に分離されていることが明らかとなった(表3)。この様に3種の型・亜型が同時期に同一地域で流行を示すことはまれなことと思われ、実際に大阪市においては、最近の数シーズンの中で初めて認められたケースとなった。

表4に、本市のインフルエンザ様疾患集団発生事例から分離された各インフルエンザウイルス株の型・亜型の2例を示した。表4-1は2008年12月16日に検体採取されたもの、また、表4-2は2009年1月20日に検体採取されたものであった。これらの例においては、同一施設の集団感染事例から異なる型・亜型のインフルエンザウイルスが分離されているが、このことはインフルエンザウイルスの集団感染が発生したとしても、そのウイルスの由来は必ずしも1か所ではないことを示唆するものと思われた。また、表4-1に示した検体番号08-635、636および637の各患者は、その姓および年齢から同一家族の兄弟姉妹であるものと思われたが、これらの3患者から分離された各インフルエンザウイルス株の型・性状は、それぞれAH1・オセルタミビル耐性、AH1・オセルタミビル感受性、およびAH3と、すべて異なる型・性状であった。このことから、この兄弟姉妹におけるインフルエンザウイルス感染の発生は、同一家族における同時期の発生にもかかわらず、それぞれの感染機会は家族内のものではなく、各自の所属するコミュニティに由来したものであることが示唆された。これらの事例は、インフルエンザウイルスの集団感染発生事例において、その感染源は決して一つではないことの証明になるものと思われた。

表2 最近2シーズンの大阪市および全国で分離されたオセルタミビル耐性化を示したA(H1N1)株数

シーズン		検査株数	耐性化株数	耐性化率(%)
2007-08 ¹⁾	大阪市	26	0	0
	全国	1083	21	1.9
2008-09	大阪市	33	31	93.9
	全国	1239	1234	99.6

1):2008年1月以降に分離された株について検索を行った。

表3 2008-09シーズン各月に大阪市内で分離されたインフルエンザウイルス各型・亜型の株数

型・亜型	各月の分離株数								
	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	合計
AH1	1	0	6	21	5	0	0	0	33
AH3	0	5	17	6	0	0	0	5	33
B	0	0	1	8	3	1	0	0	13

表4-1 2008-09シーズンに大阪市のインフルエンザ様疾患集団発生事例検体から分離されたインフルエンザウイルスの型・亜型:大阪市A区保健福祉センター搬入分

検体番号	患者年齢	分離株型・亜型	その他
08-635	6	AH1 ¹⁾	幼稚園児 Q姓
08-636	8	AH1 ²⁾	Q姓
08-637	2	AH3	Q姓
08-638	6	AH1 ¹⁾	幼稚園児 H姓

1):オセルタミビル耐性株
2):オセルタミビル感受性株

表4-2 2008-09シーズンに大阪市のインフルエンザ様疾患集団発生事例検体から分離されたインフルエンザウイルスの型・亜型:大阪市B区保健福祉センター搬入分

検体番号	患者年齢(学年)	分離株型・亜型	その他
08-730	12 (6)	B	S小学校生徒
08-731	8 (2)	— ¹⁾	S小学校生徒
08-732	11 (5)	AH1	S小学校生徒
08-733	11 (5)	—	S小学校生徒
08-734	9 (3)	AH1	S小学校生徒

1):分離陰性

A(H1N1)株におけるORVの世界での発生頻度は、耐性サーベイランスの開始された2003-04シーズンから2006-07シーズンまで1%以下の状態が持続していた[5]。しかし、2007年11月以降に、H275Yのオセルタミビル耐性化の指標を示すA(H1N1)株の出現がEU諸国において認められ始め、その後EU諸国内の西部から東部地域への拡大傾向の認められたことが報告されている[19]。そのEU諸国内でのORVの出現率は、イタリアの8.3%からノルウェーの67.0%までの範囲で、平均で20.1%となった。また、アメリカ合衆国においては、2007-08シーズン中に検索したA(H1N1)株の10.9%に、オセルタミビル耐性化が認められていた[19,20]。なお、これらのORVは、オセルタミビル非服用の患者から分離されたことから、自然発生的な変異によって耐性化の出現が生じたものと考えられている[19,21]。2008-09シーズンの世界各国におけるORVの出現率は、大部分の調査国において97~100%の高い値となっている[6,20]。大阪市および全国で分離されたORVの出現率は、2007-08シーズンの1月以降においては、大阪府で0%、全国で1.9%といずれも低い値であった。しかし、2008-09シーズンになると、大阪府で93.9%、全国で99.6%と高い値となった(表2)。このことは、大阪府を含む全国におけるORVの出現は、EU諸国で認められた様に、2007-08シーズンから徐々にその出現頻度が上昇したのではなく、2008-09シーズンになって一気に急上昇したことを示唆するものと思われた。インフルエンザ治療薬としてのオセルタミビルの使用量は、日本が全世界の過半数を占めていることから、日本における

本薬に対する耐性株の出現動向に対して、本サーベイランスが開始された2003-04シーズン以降、世界各国の注目がなされていた[5,19]。2007-08シーズンから欧米諸国において徐々に認められた季節性インフルエンザウイルスA(H1N1)におけるORVの出現率は、2008-09シーズンになると世界各国で高頻度となった。今回のORVのEU諸国での発生は、1つの変異株が起源となって広範囲に拡大していったことを示唆する結果が、各分離ORVのN1遺伝子の系統樹解析から得られている[19,21]。また、2008-09シーズンに日本国内で分離されたA(H1N1)耐性株のN1遺伝子の系統樹解析の結果、検査した全ORVが、EU諸国での分離株と同様のクレード2Bの北欧系統に属することが明らかとなっている[6]。このことから、2008-09シーズンに国内で分離されたORVは、オセルタミビルの頻用によって耐性化が生じたものではなく、2007-08シーズンにEU諸国で発生の認められたORVに近縁な株が、国内においても流行を示したものと考えられた。また、2007-08シーズンに、1.9%の低頻度の出現率で日本において認められたORVの大部分は、そのN1遺伝子の系統樹解析結果から、クレード2Bのハワイ系統に属することが明らかとなっている[5]。2008-09シーズンに高い出現率を示したORVはクレード2Bの北欧系統に属する株であるが、これらの株は何らかのウイルス内の変異によって、特に強い感染力を保持する様になったことが推測されている[19]。日本においては、クレード2Bの北欧系統に属するORVは、2007-08シーズンにはわずかな分離例しか報告されていなかった[5]。この理由として、

2007-08シーズンに本系統のORVが日本に持ち込まれた時期(2月)は、すでに国内のインフルエンザ流行シーズンの終息期に近かったために、流行に至らずにシーズン終了となったことが示唆された。そして、2008-09シーズンになると、播種状態で維持されていた強い感染力を持つORVが、一気に全国に感染拡大していったものと考えられた。2008-09シーズンに大阪市で分離されたオセルタミビルに感受性を示した2株は、いずれもインフルエンザ流行シーズン初期の10および12月に分離された株であったが、このうち10月に分離された株は、中国在留邦人の帰阪時に分離されたものであった。したがって、大阪市内在住者から分離されたオセルタミビル感受性A(H1N1)株は1株のみであった。この結果は、2008-09シーズン初期において、大阪市内でオセルタミビル感受性A(H1N1)株の感染が発生していたが、それ以降はORVの急速な感染流行が拡大し、感受性株の感染は発生しなかったことを示唆するものと思われた。

オセルタミビル耐性化を示す季節性インフルエンザウイルスは、現在のところA(H1N1)亜型のみ認められ、それ以外のAH3亜型およびB型においては、本薬に対して感受性であることが報告されている[10,19,20]。また、2008-09シーズンに世界各国において高頻度で検出されたORVは、同シーズンのワクチン株として採用されたA/Brisbane/59/2007に抗原性状が類似していること、およびその病原性はオセルタミビルに感受性を示すA(H1N1)株と大差のないことが報告されている[6,19]。このことから、米国疾病予防管理センターでは、2008-09シーズン当初の段階で、インフルエンザワクチン接種がインフルエンザ疾患を予防する主要な方法であるとして、これまで通りのワクチン接種の施行を奨励している[19]。オセルタミビルは、インフルエンザウイルスの構成タンパク質のうちのノイラミニダーゼを阻害する作用を示す抗インフルエンザ治療薬として世界各国で使用され、また、(高病原性)新型インフルエンザウイルスの発生に備えて、現在世界各国で備蓄化が行われている主要な薬剤である。なお、同様の作用を示す抗インフルエンザ治療薬である吸入薬のザナミビルに対しては、今のところ耐性株の出現は認められていない[19]。

2008-09シーズンに大阪市を含む日本国内において高頻度で出現したORVは、自然発生的な変異によって、オセルタミビルに対する耐性を保持するものとなったことが考えられている。なお、この様な薬剤耐性株がインフルエンザウイルスのどの型・亜型において出現するのか、また、その出現時期、感染力および薬剤耐性化レベルなどに関しての予測を行うことは不可能である。

これらのことから、インフルエンザウイルスの流行を阻止・予防するためには、あらかじめ複数の治療薬の導入を行うことが必要であると考えられている[22]。インフルエンザの各流行シーズンにおいて、流行中のウイルスの型・亜型とともに、その薬剤耐性についての情報提供を各医療機関に対して迅速に行うことは、インフルエンザウイルスの流行拡大予防・阻止の観点からも非常に有意義なことである。本市のインフルエンザ様疾患対策関連部局への流行インフルエンザウイルスに関する情報提供を行うためにも、本サーベイランスは今後も継続して実施する必要があるものと考えている。

V 結論

2006-07、2007-08および2008-09の3シーズンにおいて、大阪市内で分離された季節性インフルエンザウイルスの型・亜型株の割合についての比較検討を行った結果、その割合は全国の分離株の集計割合と異なること、および本市の2008-09シーズンにおいては、AH1亜型、AH3亜型およびB型の混合流行であったことが示唆された。また、本シーズンの12および1月に発生したインフルエンザ様疾患集団発生事例から分離された各型・亜型およびそのウイルス性状を解析した結果、集団発生事例においても、そのウイルスの起源は必ずしも1ヵ所ではないことが示唆された。2008-09シーズンに大阪市内で分離されたA(H1N1)株の93.9%がORVであった。本シーズンにおける同様の高頻度のORVの出現は全国のおよび世界的規模で認められ、さらにこのORVの出現については自然発生的な変異によることが考えられている。インフルエンザウイルスの流行予防・阻止のための行政施策においても、このORVの発生状況を把握することは重要であることから、今後も本サーベイランスを継続して行う必要があるものと考えている。

謝辞 本研究の実施において、技術的支援を頂きました大阪市立環境科学研究所企画担当の簗城昇次様に深謝いたします。

参考文献

- 1) Simonsen L. The global impact of influenza on morbidity and mortality. *Vaccine* 1999; 17(suppl 1): S3-S10.
- 2) Nichol K L. Complications of influenza and benefits of vaccination. *Vaccine* 1999; 17(suppl 1): S47-S52.
- 3) World Health Organization. New influenza A(H1N1) virus: global epidemiological situation, June 2009. *Weekly Epidemiological Record* 2009; 84: 249-260.
- 4) von Itzstein M. The war against influenza: discover

- and development of sialidase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov* 2007; 6: 967-974.
- 5) 国立感染症研究所、製品評価技術基盤機構、全国地方衛生研究所. インフルエンザ A/H1N1 オセルタミビル耐性株 H275Y の国内発生状況[第 1 報]. 病原微生物検出情報 2008; 29: 155-159.
 - 6) 国立感染症研究所、製品評価技術基盤機構、全国地方衛生研究所. 2008/09 インフルエンザシーズンにおけるインフルエンザ(A/H1N1)オセルタミビル耐性株(H275Y)の国内発生状況[第 2 報]. 病原微生物検出情報 2009; 30: 101-106.
 - 7) 小田切孝人、進藤奈那子、奥野良信、河内可尚、今井正樹、前田章子、他. 病原体検出マニュアル:インフルエンザ. 東京:地方衛生研究所全国協議会、国立感染症研究所;2003. 853-895.
 - 8) 清水英明、渡辺寿美、今井光信. Nested-PCR 法によるインフルエンザウイルスの検出. 感染症学雑誌 1997; 71: 522-526.
 - 9) 国立感染症研究所ウイルス第 3 部. 病原体検査マニュアル高病原性鳥インフルエンザ. 第 2 版. 東京:国立感染症研究所;2008.
 - 10) Sheu T G, Deyde V M, Okomo-Adhiambo M, Garten R, Xu X, Bright R, et al. Surveillance for neuraminidase inhibitor resistance among human influenza A and B viruses circulating worldwide in 2004-2008. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 3284-3292.
 - 11) 国立感染症研究所ウイルス第 3 部. 抗インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランス N1-NA 遺伝子解析実験プロトコール. 東京:国立感染症研究所;2008.
 - 12) 国立感染症研究所感染症情報センター. シーズン別インフルエンザ&呼吸器ウイルス検出状況、2000/01~2008/09 シーズン. 病原微生物検出情報, <http://idsc.nih.go.jp/iasr/virus/virus-j.html>, (2009/6/19).
 - 13) 国立感染症研究所感染症情報センター. インフルエンザ流行レベルマップ. <https://hasseidoko.mhlw.go.jp/Hasseidoko/Levelmap/flu/index.html>, (2009/6/19).
 - 14) 国立感染症研究所感染症情報センター. インフルエンザ様疾患発生報告(学校欠席者数). <http://idsc.nih.go.jp/idwr/kanja/infreport/report.html>, (2009/6/19).
 - 15) Centers for Disease Control and Prevention. Swine influenza A(H1N1) infection in two children – south California, March – April 2009. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2009; 58: 400-402.
 - 16) Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of swine-origin influenza A(H1N1) virus infection – Mexico, March – April 2009. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2009; 58: 467-470.
 - 17) Nelson M N, Edelman L, Spiro D J, Boyne A R, Bera J, Halpin R, et al. Molecular epidemiology of A/H3N2 and A/H1N1 influenza virus during a single epidemic season in the United States. *PLoS pathogens* 2008; 4: e1000133.
 - 18) 国立感染症研究所感染症情報センター. 病原微生物検出情報、最新のウイルス検出状況・グラフ 1 (地研からの報告). <http://idsc.nih.go.jp/iasr/prompt/graph-kj.html>, (2009/6/19).
 - 19) Meijer A, Lackenby A, Hungnes O, Lina B, van der Werf S, Schweiger B, et al. Oseltamibir-resistant influenza virus A(H1N1), Europe, 2007-08 season. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 552-560.
 - 20) Centers for Disease Control and Prevention. CDC issues interim recommendations for the use of influenza antiviral medications in the setting of oseltamivir resistance among circulating influenza A(H1N1) viruses, 2008-09 influenza season. <http://www2.cdc.gov/HAN/ArchiveSys/ViesMsgV.asp?AlertNum=00279>, (2009/6/19).
 - 21) Hauge S H, Dudman S, Borgen K, Lackenby A, Hungnes O. Oseltamibir-resistant influenza viruses A(H1N1), Norway, 2007-08. *Emerg Infect Dis* 2009; 15: 155-162.
 - 22) Lackenby A, Democratis J, Siqueira M M, Zambon M C. Rapid quantitation of neuraminidase inhibitor drug resistance in influenza virus quasispecies. *Antivir Ther* 2008; 13: 809-820.