

3. 抗インフルエンザ薬, バロキサビル低感受性ウイルスの性状

今井 正樹

東京大学医科学研究所ウイルス感染分野

はじめに

2018年3月に新規抗インフルエンザ薬, バロキサビル・マルボキシル (商品名:ゾフルーザ) が日本において販売された。2018/2019 インフルエンザ流行シーズンにおける同薬剤の市場シェアは, 先発のノイラミニダーゼ (NA) 阻害剤を抑えて4割を占めた。その一方で, 2018/2019 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, バロキサビルに対する感受性が低下した変異ウイルスが高い割合で検出された。本稿では, これまでに明らかにされたバロキサビル低感受性ウイルスの生物学的性状について概説する。

バロキサビル・マルボキシルの作用機序と臨床効果

バロキサビル・マルボキシルの製造販売が承認される前は, A型およびB型インフルエンザウイルス粒子の表面糖蛋白質・NAを標的とする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) が季節性インフルエンザに対する治療薬として, 日本では主に使用されていた。NAは感染細胞で新しく作られた子孫ウイルス粒子が感染細胞表面から遊離する際に必要な酵素で, 4種類のNA阻害剤は, いずれも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。

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。このようにバロキサビルは, 上述のNA活性阻害剤とは作用機序が異なることから, NA阻害剤に耐性を示すウイルスに対しても効果が期待できる。

12歳以上から65歳未満のインフルエンザ患者を対象とした第III相国際共同試験では, バロキサビル投与群の罹病期間は53.7時間であった¹⁾。一方, プラセボ投与群では80.2時間であったことから, バロキサビル投与により罹病期間が1日程度短縮した。このバロキサビル投与群の罹病期間は, オセルタミビル投与群とほぼ同等であり, 両薬剤間で臨床効果に差は認められなかった。しかし, バロキサビルの抗ウイルス活性はオセルタミビルよりも顕著に高いことが示された。オセルタミビル投与群では投与後1日目の患者検体に含まれるウイルス量は投与開始日と比べておよそ千分の1程度まで減少したのに対して, バロキサビル投与群ではおよそ10万分の1程度まで減少した。このことはバロキサビルで患者を治療することで, 患者周囲が感染する機会を大きく減らせる可能性を示唆している。

バロキサビル低感受性変異ウイルスの出現とその性状

バロキサビルもこれまでの抗インフルエンザ薬と同様にウイルス蛋白質を標的としていることから, 遺伝子の変異しやすいインフルエンザウイルスでは耐性株の出現は避けられない。インフルエンザウイルスをバロキサビル存在下で増やすと, PA蛋白質の38番目のアミノ酸に変異 [イソロイシンからトレオニン (PA-I38T)] が生じることが示された²⁾。さらに, バロキサビルの臨床試験では, イソロイシンからトレオニンに変異したウイルスだけでなく, メチオニン (PA-I38M) あるいは, フェニルアラニン (PA-I38F) に変異したウイルスが患者から検出されている^{3,4)}。いずれの変異もバロキサビルに対するEC50値 (ウイルス力価を1/2に抑制するのに必要な濃度) を上昇させるが, 中でもI38Tの変異は同薬剤に対する感受性を大きく低下させることがわかっている。

連絡先

〒108-8639

東京都港区白金台4-6-1

東京大学医科学研究所ウイルス感染分野

TEL: 03-5449-5281

FAX: 03-5449-5408

E-mail: mimai@ims.u-tokyo.ac.jp

第III相国際共同試験(12歳以上65歳未満)

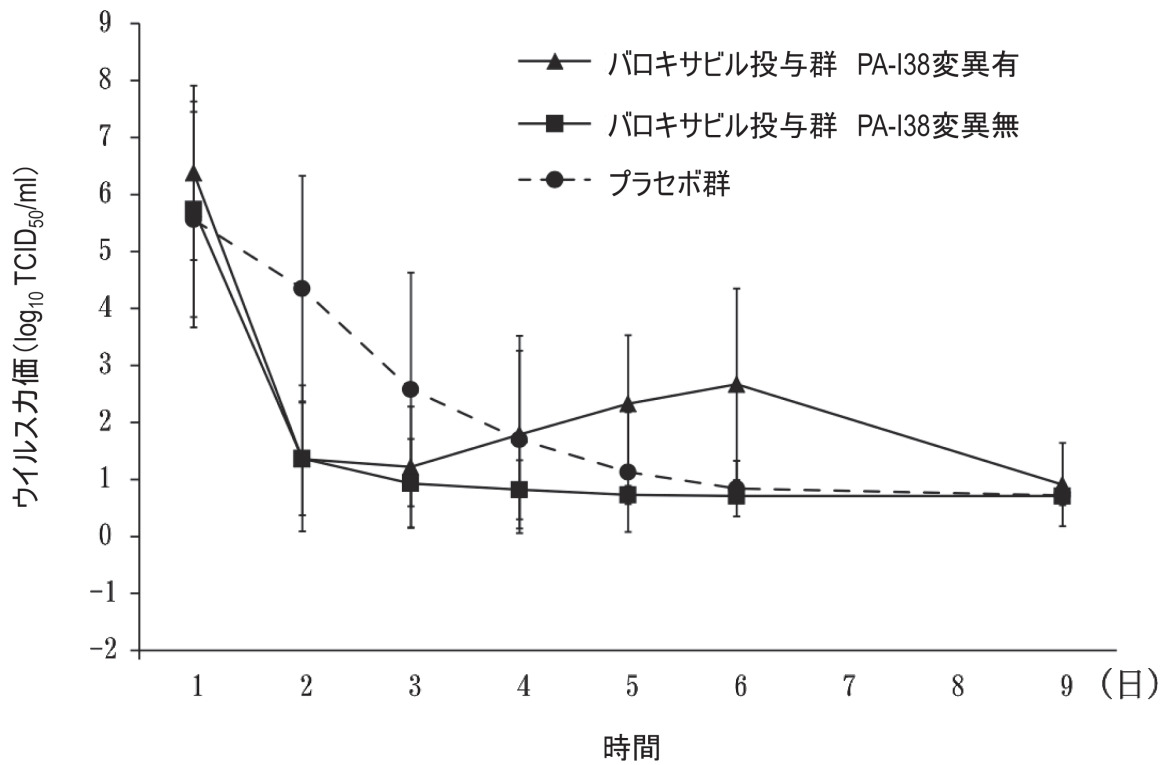


図1 患者検体中の PA-I38 変異有無別のウイルス力価の推移 (平均値 ± 標準偏差)

ゾフルーザ錠 10mg/20mg/ 顆粒 2%分包 医薬品インタビューフォーム

2019年7月作成(第4版)を一部改変

http://www.info.pmda.go.jp/go/pack/6250047F1022_1_07/?view=frame&style=SGML&lang=ja

第 III 相国際共同試験では、バロキサビル治療患者の 370 例中 36 例 (9.7%、注：うち 1 例は A/H3N2 および B 型ウイルスに重複感染した患者) で PA-I38T または PA-I38M の変異を有する A/H3N2 ウイルスが検出された¹⁾。12 歳未満の小児患者を対象とした国内第 III 相臨床試験では、77 例中 18 例 (23.4%) で変異ウイルスが検出されおり、その出現頻度は前述の成人及び青少年を対象とした第 III 相国際共同試験よりも高かった³⁾。PA-I38 変異が検出された患者群では、投与後 3 日目以降にウイルス排出量の増加が認められ、PA-I38 変異が検出されなかった患者群やプラセボ群に比べてウイルス排出期間の延長がみられた¹⁾ (図 1)。また、この群の罹病期間はプラセボ群よりも短かったものの、PA-I38 変異が検出されなかった患者群よりも長かった。

国立感染症研究所による国内の 2018/19 シーズンの抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスでは、A/H1N1pdm09 (2009 年に世界的大流行を引き起こした A/H1N1 ウイルス) 感染者 335 例中 6 例 (1.8%) および、A/H3N2 感染者 356 例中 34 例 (9.6%) が PA-I38 変異を有していた (<https://www.niid.go.jp/niid/images/flu/>

[resistance/20190909/dr18-19j20190909-1.pdf](https://www.niid.go.jp/niid/images/flu/resistance/20190909/dr18-19j20190909-1.pdf))。PA-I38 変異が検出された患者の多くは、12 歳未満の小児であった。また、変異が認められた A/H3N2 感染者 34 例中 5 例は、薬剤未投与例であることがわかった^{4,5)}。このことはバロキサビル低感受性ウイルスがヒトからヒトに感染伝播した可能性を示している。一方、B 型ウイルス感染者 42 例では、変異は検出されなかった。

著者らも 2018/19 シーズンに国内医療機関を受診した患者から採取した検体中のウイルス遺伝子を解析した⁶⁾ (図 2)。その結果、薬剤未投与の A/H1pdm09 インフルエンザ患者では、PA-I38 変異は検出されなかったが、A/H3 インフルエンザ患者では、2 例の小児患者で PA-I38T 変異が検出された。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/H3 インフルエンザを発症しバロキサビルを服用していた。これはバロキサビル低感受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る。さらに、バロキサビル服用患者の検体についても解析した結果、低感受性ウイルスは 12 歳未満の A/H1pdm09 あるいは A/H3 インフルエンザ患者において高い頻度で出現することがわかった (図 2)。

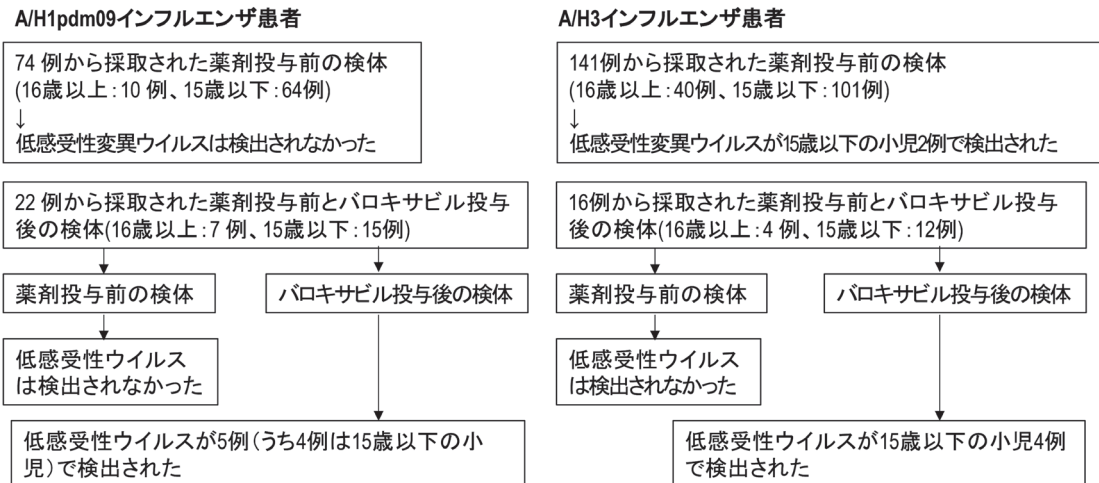


図2 A型インフルエンザ患者におけるパロキサビル低感受性変異ウイルスの検出

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臨床検体中のウイルス遺伝子を調べた。

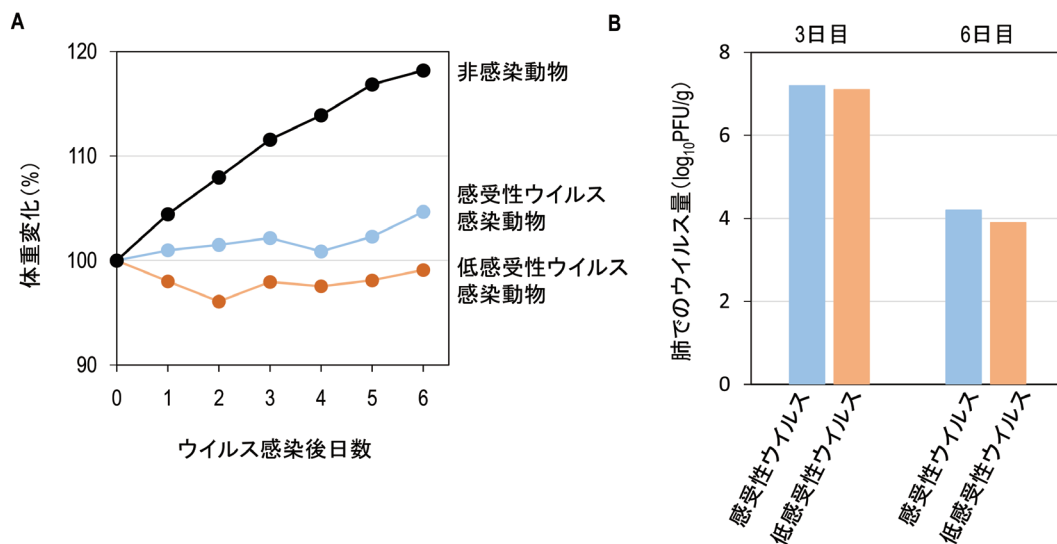


図3 ハムスターにおけるパロキサビル低感受性ウイルスの病原性と増殖性

パロキサビル感受性ウイルスあるいは低感受性ウイルスをハムスターの鼻腔内に接種した。(A) 感染後、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、感受性あるいは低感受性ウイルス感染群では体重増加はみられなかった。(B) 感染後3日目および6日目のハムスターの肺におけるウイルス量を測定した。

では、PA-I38変異を有する季節性インフルエンザウイルスは、野生型の感受性ウイルスと同様の病原性あるいは増殖性を保持しているのだろうか？1933年に分離されたA(H1N1)ウイルスあるいは1975年に分離されたA(H3N2)ウイルスをもとに、PA-I38Tの変異を持つ組換えウイルスが作出され、培養細胞における増殖能が解析された。その結果、いずれの変異ウイルスも培養細胞における増殖能は野生型ウイルスよりも顕著に劣ることがわかった³⁾。一方、この変異は、1959年に分離されたB型ウイルスもとに作

出された組換えウイルスの増殖能には影響しなかった。Checkmahomedらは、最近のA型ウイルス流行株をもとに組換えウイルスを作製して、同様の実験を行なった⁷⁾。PA-I38T変異を有するA(H1N1)pdm09流行株あるいはA(H3N2)流行株由来の組換えウイルスは、いずれも培養細胞において効率よく増殖した。また、これらの変異ウイルスはマウスに対して野性型ウイルスと同程度の病原性を示した。さらに、マウスに変異ウイルスと野性型ウイルスを重複感染させた競合試験を行ったところ、A(H1N1)pdm09

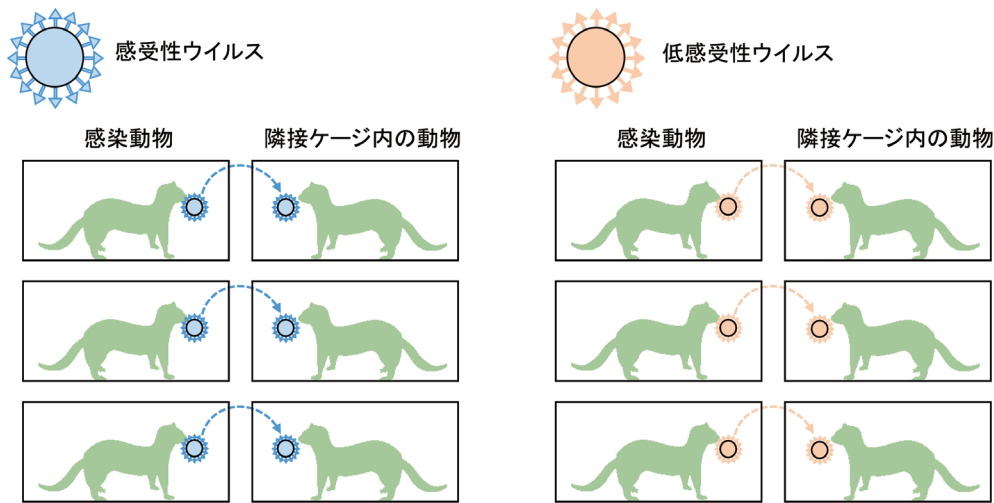


図4 フェレット間におけるパロキサビル低感受性ウイルスの伝播

パロキサビル感受性ウイルスあるいは低感受性ウイルスをフェレットの鼻腔内に接種した後、隣接するケージ内にフェレットを入れた。ウイルスが感染動物から隣接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低感受性ウイルスが伝播した。

とA(H3N2)の変異ウイルスはいずれも肺において優位に増殖した。

一方、著者らはハムスター、マウス、フェレットを用いて、患者から分離したPA-I38Tの変異を持つA型ウイルス低感受性株の増殖性と病原性について解析し、同じ患者から治療前に分離した感受性株と比較した⁶⁾。A/H1N1pdm09低感受性株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、低感受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なかった(図3A)。また、この低感受性株は肺や鼻腔などの呼吸器で効率よく増殖した(図3B)。A/H3N2低感受性株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た。このようにパロキサビル低感受性株の増殖性と病原性は、感受性株と同等であることが明らかになった。さらにA/H1N1pdm09低感受性株とA/H3N2低感受性株は、いずれも治療前に分離されたそれぞれぞれの感受性株と同様に、フェレット間を効率よく飛沫伝播した(図4)。これらの成績は、PA-I38T変異は現在流行している季節性A型ウイルスの病原性、増殖性、感染伝播力に影響しないことを示している。

おわりに

薬剤未投与のインフルエンザ患者からパロキサビルに対する感受性が低下した変異ウイルスが検出された。さらに、パロキサビル低感受性変異ウイルスは感受性ウイルスと同等の増殖力と感染伝播力を有していることが動物実験からわかった。これらの成績は、低感受性ウイルスがヒトから

ヒトに伝播する可能性があることを示している。しかし、世の中で流行している感受性ウイルスに勝る増殖力を獲得していない低感受性ウイルスが、今後蔓延する可能性は低い。一方で、家庭内や学校の教室内といった閉鎖された環境下では広がる可能性があることから、その継続的なモニタリングは重要である。

パロキサビル低感受性ウイルスは、同薬剤を処方された小児患者において発生しやすいことが明らかになった。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ではなく、低感受性ウイルスが発生しやすい可能性がある。小児患者でのパロキサビルの使用については、低感受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る。また、65歳以上の高齢の患者における低感受性ウイルスの検出率は、20歳から64歳の成人患者に比べて高いことが国立感染症研究所の薬剤耐性株サーベイランスで報告された(<https://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-m/flu-iasrs/9150-477p01.html>)。パロキサビルを処方された高齢者で発生した低感受性ウイルスが高齢者施設内でも広がる可能性があることから、本薬剤の高齢者での使用についても慎重な検討が必要である。一方、成人ではパロキサビル低感受性ウイルスの出現頻度は低いことがわかった。一回の服薬で体内のウイルス量を劇的に減らせることができるパロキサビルは、成人では有用性の高い薬剤であるといえる。

謝辞

本稿の執筆の機会を与えていただいた長谷川秀樹編集委

員長に厚く御礼申し上げます。

本稿に関連し、開示すべき利益相反状態にある企業等はありません。

参考文献

- 1) Hayden FG, Sugaya N, Hirotsu N, Lee N, de Jong MD, Hurt AC, Ishida T, Sekino H, Yamada K, Portsmouth S, Kawaguchi K, Shishido T, Arai M, Tsuchiya K, Uehara T, Watanabe A; Baloxavir Marboxil Investigators Group. Baloxavir Marboxil for Uncomplicated Influenza in Adults and Adolescents. *N Engl J Med* 2018; 379: 913-923.
- 2) Noshi T, Kitano M, Taniguchi K, Yamamoto A, Omoto S, Baba K, Hashimoto T, Ishida K, Kushima Y, Hattori K, Kawai M, Yoshida R, Kobayashi M, Yoshinaga T, Sato A, Okamoto M, Sakoda Y, Kida H, Shishido T, Naito A. In vitro characterization of baloxavir acid, a first-in-class cap-dependent endonuclease inhibitor of the influenza virus polymerase PA subunit. *Antiviral Res* 2018; 160: 109-117.
- 3) Omoto S, Speranzini V, Hashimoto T, Noshi T, Yamaguchi H, Kawai M, Kawaguchi K, Uehara T, Shishido T, Naito A, Cusack S. Characterization of influenza virus variants induced by treatment with the endonuclease inhibitor baloxavir marboxil. *Sci Rep* 2018; 8: 9633.
- 4) Takashita E, Kawakami C, Ogawa R, Morita H, Fujisaki S, Shirakura M, Miura H, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Ota A, Togashi H, Saito A, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamazaki M, Watanabe S, Odagiri T. Influenza A(H3N2) virus exhibiting reduced susceptibility to baloxavir due to a polymerase acidic subunit I38T substitution detected from a hospitalised child without prior baloxavir treatment, Japan, January 2019. *Euro Surveill* 2019; 24.
- 5) Takashita E, Ichikawa M, Morita H, Ogawa R, Fujisaki S, Shirakura M, Miura H, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Sugawara H, Sato A, Akimoto M, Mitamura K, Abe T, Yamazaki M, Watanabe S, Hasegawa H, Odagiri T. Human-to-Human Transmission of Influenza A(H3N2) Virus with Reduced Susceptibility to Baloxavir, Japan, February 2019. *Emerg Infect Dis* 2019; 25:2108-2111.
- 6) Imai M, Yamashita M, Sakai-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Murakami J, Yasuhara A, Takada K, Ito M, Nakajima N, Takahashi K, Lopes TJS, Dutta J, Khan Z, Kriti D, van Bakel H, Tokita A, Hagiwara H, Izumida N, Kuroki H, Nishino T, Wada N, Koga M, Adachi E, Jubishi D, Hasegawa H, Kawaoka Y. Influenza A virus variants with reduced susceptibility to baloxavir isolated from Japanese patients are fit and transmit through respiratory droplets. *Nature Microbiol.* (in press)
- 7) Checkmahomed L, M'hamdi Z, Carbonneau J, Venable MC, Baz M, Abed Y, Boivin G. Impact of the baloxavir-resistant polymerase acid (PA) I38T substitution on the fitness of contemporary influenza A(H1N1)pdm09 and A(H3N2) strains. *J Infect Dis.* (in press)

