

今週の話題：

<インフルエンザ抗ウイルス薬感受性監視に関する WHO 会合 2011 年 11 月と 2012 年 6 月、ジュネーブ>

インフルエンザウイルスの感受性監視に関する WHO の会合がジュネーブにて、2011 年 11 月と 2012 年 6 月に行われた。インフルエンザ抗ウイルス薬感受性監視に関する専門家作業グループ (AVWG) は世界インフルエンザ監視と対応システム (GISRS) のニーズを満たすために 2011 年に結成された。AVWG は WHO インフルエンザ研究共同センター (WHOCCs)、国立インフルエンザセンター (NICs)、インフルエンザ抗ウイルス薬感受性監視の専門知識を持つ公衆衛生機関や研究機関の代表者をはじめ、適宜専門家構成される。AVWG の役割は、抗ウイルス薬感受性監視のための利用可能な方法論の見直しを通じて NICs に対し GISRS の実用的なアプローチを開発すること、適切な監視戦略について助言すること、および実験室での監視データの解釈を導くことである。AVWG からの発信は、GISRS EZcollab を介するか、WHO ウェブサイトの GISRS ページを通じて行われる。

GISRS はインフルエンザウイルスの進化を監視し、感染流行とパンデミックのリスク評価と対応のために必要なウイルス学的データを提供してきた。過去 10 年の間に抗ウイルス薬は、インフルエンザウイルス感染の治療及び予防のための重要な介入を提供してきた。抗ウイルス薬が許可されている国では、臨床管理における使用に関する国家ガイダンスが整備されている。抗ウイルス薬の使用と備蓄は、多くの国のパンデミックに対する準備計画の主要要素であるがゆえに抗ウイルス薬感受性監視は、公衆衛生のために不可欠である。現在のところ、アダマンタンとノイラミニダーゼ阻害剤 (NI) の二つの抗インフルエンザ薬がインフルエンザの治療または予防のために用意されている。2000 年代半ばアダマンタン耐性の A (H3N2) 型ウイルスの急速な世界的な広がりによって、初めて抗ウイルス薬耐性インフルエンザウイルスが公衆衛生学上の問題となることが明らかになり、アダマンタンのカテゴリの抗ウイルス薬の使用中止推奨につながった。初めの監視と研究では、NI 耐性ウイルスの出現は極めてまれであること、アダマンタン耐性ウイルスとは対照的に、NI 耐性ウイルスの複製と伝播は抑制されていることが明らかになった。2009 年初めまでに、オセルタミビル耐性 A (H1N1) ウイルスが支配的になり、2009 年～2010 年の A (H1N1) pdm09 ウイルスに変異するまで、世界中に広がった。2009 年以前に、NI は日本とアメリカで主に使用されていたが、パンデミックが起こった 2009 年には世界中で使用されるようになった。予防や治療を介して、オセルタミビルを投与された患者では、NA H275Y 変異による A (H1N1) pdm09 の耐性はパンデミック期間中の初期に検出されたが、伝播のリスクに関しては、知られていない。継続的な警戒と厳重な監視は、変異した薬剤耐性のウイルスの早期発見につながる。このような、公衆衛生上のニーズを満たすために、2011 年 11 月 11 日と 2012 年 6 月 28～29 日に AVWG 会議が行われた。今回の報告は、この二つの会議を要約したものである。

* 1 年目の成果：

1 年の成果として AVWG は、最初の会議で、幅広い目的や目標を設定し、グループの役割を確認した。GISRS によって行われる抗ウイルス薬監視の範囲の見直し、抗ウイルス薬検査の配分、実行可能な検査法、監視に必要な基準に焦点が当てられた。

* GISRS の抗ウイルス薬感受性監視能力：

2010 年の GISRS の抗ウイルス薬試験およびウイルスの塩基配列決定 (シーケンシング) 調査によって、南米、東地中海、東南アジアおよびアフリカ地域における、抗ウイルス薬感受性監視能力の不均衡が明らかになった。多くの抗ウイルス薬感受性試験は WHOCCs によって行われ、各シーズンに幅広い感受性基準を提供している。しかし、NICs は WHOCCs よりタイムリーな抗ウイルス薬感受性データを作成する立場にあるので、臨床管理と地域社会における耐性菌の早期発見と支援を行う必要がある。したがって、抗ウイルス薬感受性監視能力を欠いている地域におけるウイルス監視のためのトレーニングおよび能力開発を行う必要がある。

* GISRS 抗ウイルス薬感受性監視に関する方法論：

AVWG は、GISRS の抗ウイルス薬感受性監視の方法論を検討した。試薬のコストや設備、必要なトレーニングのレベルと様々な遺伝子型および表現型分析のための、長所と短所を要約した。これらの要約と AVWG が推奨する標準的な操作手順は、WHO GISRS の ウェブページで閲覧可能であるアダマンタン耐性は明確に定義された遺伝子型と関連しており、従ってシーケンス解析などの分子解析がアダマンタン感受性監視の方法となる。NI 感受性試験は GISRS ネットワークを通じて、様々な方法論があり、PCR を用いた遺伝子型や IC_{50} 値を測定する方法がある。NI 耐性の分子メカニズムは明らかになっていないので、表現型の酵素抑制分析が監視の基準として採択されている。複数の薬に対する耐性の変化は、置換の組み合わせが解明されていなくても、測定することができる。しかし、多くの研究所では NI 耐性の分子スクリーニング分析を、リアルタイム PCR などを用いて行っている。これらのスクリーニング分析は、ウイルスの単離を行わずに臨床検体の感受性試験を行えるため、都合がよい。これらの急速なスクリーニングは、医学的な監視に最も関連のある置換に焦点があてられる。

* GISRS 抗ウイルス薬感受性監視戦略 :

アダマンタンは使用を推奨されていない上に、近年の流行インフルエンザ A 亜型はこれらの薬に耐性があるので、NICs のアダマンタン監視は、近年優先するべきではないとされている。議論は NI 感受性低下に関連する、アミノ酸置換について行われた。AVWG はいくつかのアミノ酸置換が、NI 感受性低下に関与していることを明らかであるとしながらも、インフルエンザ A ウイルスの NI 遺伝子 NA H275Y 置換が唯一スクリーニングテストを保証するために頻度的に十分なものであるとしている。

* 2 年目の成果 :

第二回会合に向けて、抗ウイルス薬感受性データやレポートの解釈、抗ウイルス薬監視を実施しようとしている研究所に対する実用的なガイダンス、研究所でのデータ品質を監視するための最も適切な手段に対処することに議論の焦点は移った。

* 監視データの表現型を決定するための解釈基準 :

NI 抗ウイルス薬感受性監視のために主要な課題の一つは、得られたデータの解釈である。表現型の検査では、50%の酵素活性を阻害するために必要な薬物濃度を、 IC_{50} 値として報告する。しかし、現時点では、 IC_{50} 値の微細な変化や関連するアミノ酸置換が臨床的に与える意味合いは明らかとする十分なデータがない。NI の感受性監視データの報告に一貫性を確保するために、AVWG は IC_{50} 値のアミノ酸置換による変化に基づいて、ウイルスの抗ウイルス薬感受性を定義する一連の基準を確立することで課題を解決している。

* GISRS の Flunet における抗ウイルス薬に関するデータの報告 :

現在、抗ウイルス薬監視データは主に WHOCCs または、ヨーロッパの場合には疾病予防対策の監視システムのためのヨーロッパセンター (TESSy) および WHO/ヨーロッパインフルエンザ監視 EuroFlu 抗ウイルス薬データベースを介して報告されている。FluNet に加わることで、ヨーロッパ以外の NICs に電子的にデータを報告できるようになっている。FluNet は、集計されたデータを収集するが、抗ウイルス薬抵抗性の報告の場合には、ウイルスベースの報告が望ましいとされている。臨床的および疫学的因子とともに、抗ウイルス薬治療に関するデータは、抵抗性データを解釈する際に採用されたが、現在のところ FluNet には加えられていない。

* 抗ウイルス薬感受性試験の外部品質評価 :

抗ウイルス薬感受性試験の外部品質評価は、GISRS ネットワークの研究所の機能を監視したり、トレーニングの必要性を確認するために重要である。多くの研究所が抗ウイルス薬感受性試験をもって研究所の監視能力とするため、高いデータ品質を確保することが重要である。そこで、AVWG は PCR 外部品質評価プロジェクト (EQAP) パネルを取り入れることを推奨した。研究所が、この抗ウイルス薬試験で採点されることはないが、データは、試料調製、コストと解析への影響を評価するために使用される。

* 抗ウイルス薬感受性試験の確立に向けた実用的なガイダンス :

AVWG は抗ウイルス薬監視を確立するための、抗ウイルス薬感受性試験を行う研究所に向けた実用的なガイダンスを行うことにした。

* 今後の目標 :

今後の目標は AVWG が、GISRS の適切さを保証する方法論と監視戦略に関する推奨事項を確認していくことになる。来年の主な焦点は、2013 年の次の WHO PCR EQAP パネルに、オセルタミビル耐性 (H275Y) A 型 (H1N1) ウイルス pdm09 を包含させるための準備作業である。EQAP の抗ウイルス試験の結果は評価され、抗ウイルス薬 EQAP を拡大もしくは続行する方法を模索することは、今後の会議での議論の対象になるであろう。FluNet への基本的な参加は評価され、抗ウイルスデータベースの今後の発展が、将来的に検討される。インフルエンザウイルスの進化に対応するため、薬効レベル分類のための基準の一定評価をする必要がある。AVWG の継続的な役割は、費用対効果の高い方法や、有効なデータの解釈についての助言や提言を通じて、適切な抗ウイルス監視のための、公衆衛生上の必要性を満たすように、GISRS をサポートすることである。

<2012 年ジュネーブにおけるインフルエンザ A ウイルス亜型検出の PCR プロトコルに関する WHO 作業グループの会合>

インフルエンザ A ウイルスの亜型を検出するための、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) プロトコルワーキンググループの会議が、ジュネーブで行われた。インフルエンザウイルス検出のための逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) の使用に関して、WHO にガイダンスを提供する専門集団として、WHO ワーキンググループが 2007 年に設立された。第 5 回会合は 2012 年 6 月 26~27 日に開催された。前回の会合以来、インフルエンザの監視および診断における RT-PCR 法の役割、RT-PCR のプロトコルと関連ガイダンスの更新、および RT-PCR 法品質保証活動など具体的な進展について報告された。

* インフルエンザ監視及び治療における RT-PCR の役割 :

RT-PCR は、今やインフルエンザのウイルス学的監視と NICs やその他 GISRS 研究所の幅広い分野での

診断活動の基礎として確立されている。RT-PCR の普及は“監視ネット”を広げる一方で、十分なウイルス分離と他のウイルス学的検定力も、WHOCCs に対する全体の負担を避けるために維持されなければならない。また抗ウイルス耐性モニタリングのための基礎を提供する表現型分析と共に、ワクチン組成物に関する推奨事項を決定するものはウイルスの抗原性および他のウイルス学的特徴である。それにもかかわらず、2009～2010 年における A (H1N1) pdm09 のパンデミックによって、RT-PCR を取り込む研究所数の増加は、ウイルス分離を行う研究所の割合の全体的な減少と関連している。ヒトおよび動物における重複感染の問題、複数のインフルエンザウイルスとの同時感染の信頼できる検出の必要性に関する懸念の報告が続いている。一部の重複感染の誤った解釈は、弱毒生インフルエンザワクチン (LAIV) の使用に起因しているというものである。逆に、RT-PCR 法によって単一感染と示された例では、ウイルス分離と更なる試験の後に重複感染であることが判明した。

PCR 法による多重同時検出技術は一部時期尚早もしくは不適切な市販試薬に左右されたかもしれないが、今や多重検出法は、優れた性能が品質保証アセスメントで報告されており、すでに研究所での監視や、いくつかの国では診断活動において確立している様相である。PCR のワーキンググループは現在、この問題に対する詳細なアドバイスを提供するように設定されていないが、多重的なアプローチへの関心が高まっている。RT-PCR 検査法の他のコスト削減へのアプローチとして、サンプル量の減少、および調達コスト削減を達成するためにバルク購買を通じたメーカーとの交渉がある。GISRS 研究所の作業フローの強化されたガイドラインはワクチンウイルスの選択などに関連する、ウイルスのシーケンシングの最適な管理に必要である。しかし、次世代シーケンシング技術に関するガイダンスの開発は、未整備である。

*** RT-PCR プロトコルおよび関連したガイダンスの更新 :**

2011 年の間に、WHO のウェブサイトで公開されている従来の RT-PCR およびリアルタイム RT-PCR 法のプロトコルが、現在のインフルエンザ監視の優先順位を反映して更新され、合理化されている。

米国疾病管理予防センター (CDC) による、試薬および陽性対照キットの注文が、インフルエンザ試薬リソース (IRR) を介して調整され、登録された研究所に供給されることが報告された。酵素キットおよび RNA 抽出キットも、48 の後発発展途上国の研究所が利用できるようにしている。

WHO やその他の RT-PCR プロトコルの更新・調整が強化される可能性がある。たとえば、年間または半年ごとの更新、必要に応じた補足など、より多くのデータが GISRS 通信用の制限されたオンラインプラットフォーム EZcollab を介して、GISRS 研究所に配信できるであろう。さらに、更新された RT-PCR に対応するような、新しい評価が必要である。世界的に利用可能であり、優れた実験のために多重検出技術や最適な分析条件に関する情報を組み込むことができるような、更新された RT-PCR のプロトコル評価も必要である。WHOCCs によって開発された、インフルエンザ A / B の多重検出および、フルゲノムシーケンシングプロトコルもリクエストに応じて利用することができる。

WHOCC Memphis、CDC、香港大学の間での、H9 ウイルスや試薬の交換は、多様性およびサブタイプの進化のパターンを網羅するような、GISRS 使用のための統合された分析の開発を可能にすることができる。他に可能な改善点は、CDC によるインフルエンザ監視のための研究所サポート情報 (GLSIS) への、広い範囲の研究所の登録および、ウェブサイト EZcollab 上で、現在のプロトコルへのアクセスを容易にするための、データのリンクを提供することである。

今後の RT-PCR のプロトコル更新は、ヒトと動物の両者に対応する必要性を考慮するべきである。WHO はヒトの健康に焦点を当てているが、これは多数の協力を必要とする領域であり、PCR 法ワーキンググループは、OFFLU や他の動物セクター機関との共同アプローチを促進するための重要なリソースとして機能しうる。

*** RT-PCR 法の品質保証活動 :**

H5 関連研究所と国立インフルエンザセンター、公衆衛生研究所、保健省、香港特別行政区 (中国) は、WHO 外部精度評価プロジェクト (EQAP) を更新および改良し続けている。2011 年で、参加は WHO の全 6 地域で 164 研究所に増加した。2012 年に、以前の半年ごとの評価から、4 月～6 月の期間 1 年につき 1 回の評価への変更があった。また、EQAP パネルに RNA 抽出の熟練度の評価を組み込むという、以前に認識されたニーズに対処した。このほか、抗ウイルス薬感受性試験の評価を組み込むことの実現可能性を含めた、将来の最適なパネルについての議論が行われた。

また、研究所、ウイルス分離能力を評価するために、将来の EQAP パネルに要素を追加することが提案された。可能な最初のステップは、EQAP パネル結果の申告書にセクションを追加することである。

研究所および PCR ワーキンググループからのフィードバック、EQAP 医薬品安全性試験実施基準 (GLP) に基づくアンケート調査は、38 分類の質問に合理化された。概して、WHO EQAP と GLP プロセスは WHO の監視を可能にしながら、GISRS と他の研究所の自己啓発をサポートし、必要に応じて内密に、ウイルス学的検査の質を向上させるための仕組みへと進化している。

自主的な CDC の性能評価プログラム (PEP) の国際的なパイロット試験は、2011 年 5 月～10 月にかけて

て実施された。この自主的な試みは、もともと米国内の研究所がその規制要件を満たすために開発されたが、CDCの協力協定（COAG）国で研究所の性能を評価するために拡張された。パネルの可用性は、WHOの全6地域をカバーし、30の研究所が加わり、2011年5月には39研究所に通知された。送料と関税の問題に直面したものの、性能レベルは20の研究所で80%以上であることが判明した。議論は、様々な国、地域および国際的な品質保証活動の最適頻度および調整、そして研究所への研修や、その他後続のサポートにおける、協力強化の必要性について行われた。

WHOとOFFLU協力活動については、相互の会議出席など現在の協力に加えて、さらに検討される必要がある。これには、ヒトのための品質保証プログラムの実施および、動物のインフルエンザの監視と診断における、より緊密な協力と協調が含まれる。それぞれに非常に明確な規制があるにもかかわらず、目的や直面している障害など、多くの共有できるものがあることは明らかである。

* 結論：

PCRのワーキンググループは、GISRSとそのパートナー機関や研究所に対して貴重なフォーラムを提供している。グループがこの分野で大きく発展するために、毎年開催し続けなければならないことが合意された。グループは、公衆衛生上の目的のためのグローバルインフルエンザ監視における、RT-PCRの側面にしっかりと着目していき、今後の会合への拡張にこれを反映する必要がある。マルチプレックスPCRや塩基配列決定の専門的な能力を組み合わせることで有益な発展が見込める。さらに、動物インフルエンザの機関や組織との連携を強化する必要がある。

最初はH5プロトコルのガイダンスを提供するために確立されたが、グループの範囲は近年著明に拡大しており、発展をタイムリーに反映できるようにグループを改名している。GISRSの対応能力が異なるが、さまざまな状況で実現可能な対応や提言が、RT-PCRの使用によって観察された国や地域の動向に基づいて、行われていくことが期待されている。したがって、会議の実施を勧告すること、進捗状況の報告を確認することが体系的かつ協調的なアプローチのために重要となる。今後、国家当局とGISRSがいかにインフルエンザの監視策を開発、改良し、そのアプローチと経験をグローバルに役立てるかが、今後ますます重要になっていくだろう。

<2012年1月～6月におけるメジナ虫症の月間報告>

進捗状況を監視するために、WHOに報告された症例数をWERに定期的に発表している。これまでに報告されたメジナ虫症感染の疑いのある患者数は、エチオピア、南スーダン、ガーナ、チャドなどで多いが、2012年新たに報告された患者数は南スーダンが391人と1番に多い。ついで、エチオピア、マリが2人、チャドが1人である。しかしながら、南スーダンにおいては、2011年に比べて2012年には患者数は半減している。月別の感染では、1月2月は少ないが、3月から徐々に増加し、5月6月でピークを迎える。世界中での感染患者数は、2008年には4619人であるが、2012年には396人と約1/10倍に減少している。

（三上智子、駒井浩一郎、木戸良明）