

都市河川における抗インフルエンザウイルス薬の動態

高浪 龍平[†]

Behavior of influenza antiviral drugs in urban rivers

TAKANAMI Ryohei[†]

Abstract

This paper examines the results of a four-year monitoring of influenza antiviral drugs in urban river water. This research clarifies the current status and problems of sewage treatment for antiviral drugs.

High levels of influenza antiviral drugs were detected in river water during the 2017-18 and 2018-19 seasons when the highest numbers of influenza patients were reported.

Results showed that the environmental impact of Tamiflu is high and its environmental risk should be reduced by curbing the rate of usage and facilitating more advanced sewage treatment processes.

Key Words: influenza antiviral drugs, urban river, monitoring, environmental risk

キーワード：抗インフルエンザウイルス薬，都市河川，モニタリング，環境リスク

1. はじめに

2019年9月、内閣府は新型インフルエンザに関する世論調査の結果を発表した。新型インフルエンザが流行することに「不安を感じる」、「どちらかといえば不安」という回答はそれぞれ44.8%、34.7%となり、およそ8割が新型インフルエンザに対して不安と感じていることが分

[†]大阪産業大学 デザイン工学部 環境理工学科 講師

草稿提出日 11月5日

最終原稿提出日 12月19日

かった¹⁾。この調査はスペイン風邪の流行から100年、2009年に発生した新型インフルエンザ(AH1pdm09)によるパンデミック(世界的流行)から10年を迎える節目として実施されたものであるが、インフルエンザは重篤になり得る、依然として克服されていない身近な疾病であることを再認識するのに十分な結果である。WHOは、2019年3月に2030年までのインフルエンザ戦略を発表し、季節性のインフルエンザを予防し、動物から人へのウイルスの拡散を抑え、次のパンデミックに備えることを目標とした。また、インフルエンザの年間の感染者数は世界で約10億人、死者数は数10万人に及び、公衆衛生における世界最大の課題と指摘している²⁾。

季節性インフルエンザの予防および感染拡大を防止するためWHOや各国政府は、事前のワクチンの投与と抗インフルエンザウイルス薬の集中かつ大量の使用を指示してきた。このため、体外に排出された抗インフルエンザウイルス薬が下水処理施設および下水処理水が接続する河川で検出されており、Straub³⁾はイギリスのリー川およびアメリカのコロラド川におけるタミフル代謝物質の濃度の最高は98.1 μg/L、同様に下水処理施設内における濃度の最高は348.0 μg/Lと推定し、日本ではGhosh⁴⁾らが2008/09年のインフルエンザシーズンにおいて京都の下水処理施設および河川より293.3ng/Lおよび190.2ng/Lのタミフル代謝物質が検出されたと報告している。この要因として、抗インフルエンザウイルス薬は体内で代謝されるものの、分解されることなく体外に排出されること、さらに下水処理過程によって十分に処理されずに環境水中に排出される⁵⁾ことが挙げられる。

環境へのリスクについて、タミフルおよびタミフル代謝物質の動植物への生態毒性は、環境水中の濃度が100 μg/L以上からであるため⁶⁾、これらの毒性による直接的な生物への影響は大きくないと考えられるが、Järhult⁷⁾は、濃度が1 μg/Lを超えるとウイルスの耐性化リスクが増大すると報告している。水環境中における耐性ウイルス発生を図1に示す。図1のような経路を経て環境中に残留した抗インフルエンザウイルス薬が水辺に生息する水鳥等が接種することにより、耐性ウイ

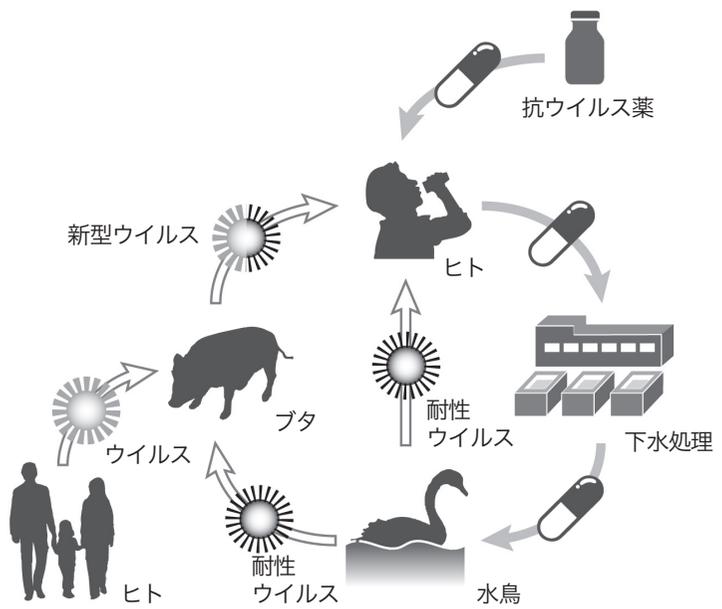


図1 水環境中の耐性ウイルス発生の概念

ルスの発生を助長し、さらに交配が起こった場合、新たな耐性ウイルス（新型インフルエンザ）となって人類に多大な影響を及ぼす可能性がある。また、Hirose⁸⁾らの報告によると、インフルエンザウイルスとその遺伝子（RNA）が、体内の粘液存在下で消化液に対して耐性を獲得し、感染力を有したまま腸管内に存在することが可能であり、インフルエンザ感染者のおおよそ3割の糞便からウイルス関連のRNAが検出されている。このため、環境水中においてもインフルエンザウイルスや関連するRNAが存在する可能性がある。

以上の背景より、新薬を含めた抗インフルエンザウイルス薬の河川水中の動態に関するモニタリングを行い、これらの対象物とインフルエンザの流行との関係について知見を得ることにより都市河川における課題を明らかにすることを目的とした。

2. 調査および分析方法

調査は大阪産業大学周辺の1河川を対象に実施し、2015年から2019年のインフルエンザが流行する冬季シーズン（以下、シーズン）において、1週おきに採取したGrabサンプルを用いた。採取は下水処理水と河川が合流する下水放流地点より0kmの地点（以下、St.2）、約3km下流の地点（以下、St.3）および約8km下流の地点（以下、St.4）の3地点で行った。また、河川流量の調査として下水放流地点より約3km上流の地点（以下、St.1）を設定した。

抗インフルエンザウイルス薬は河川水中に微量に存在すると考えられるため、分析には試料の濃縮等を行う前処理が必要である。既往の研究^{6, 9, 10)}で分析が可能となっているタミフル（以下、OP）、タミフル代謝物（以下、OC）、リレンザ（以下、ZN）に加え、新薬であるイナビル（以下、LO）、イナビル代謝物（以下、LN）、ラピアクタ（以下、PH）を対象物質とした一斉分析方法を確立した¹¹⁾。

河川より採取した試料400mLをガラス繊維ろ紙（GF/F）を用いてろ過し、ろ過残渣の超音波抽出メタノール液をろ液と混合後、アスコルビン酸を用いてpH3に調整した。これを100mLずつ分注し、4つの同一試料について適宜標準物質およびラベル化体物質を添加し、標準添加法による分析とした。固相抽出による前処理方法について一斉分析のため最適化された新しい方法と以前の方法をそれぞれ示したものを表1に示す。固相としてWaters製Oasis MCX plusを2個直列に接続したもの（充填剤総量450mg）を用い、溶出時は固相を逆に接続したバックフラッシュにより溶出した。溶出液は40℃に加熱し、窒素気流下で0.5mLまで濃縮後、メタノールで1mLに定容し分析試料とした。

分析は高感度かつ定量性に優れたLC/MS/MSを用いることとした。LCはWaters製ACQUITY UPLCを、分析カラムはWaters製CORTECS UPLC HILIC（2.1×100mm, 1.6μm）を用いた。MS/MSはWaters製ACQUITY TQDを用い、ESI+モードによりイオン化し、MRMモードで測定を行った。LCの移動相条件を表2に、MSのMRM条件を表3に示す。

表1 前処理方法 (固相抽出)

	旧方法	新方法
試料pH	3.5 (アスコルビン酸)	3.0 (アスコルビン酸)
コンディショニング	メタノール	メタノール
平衡化	1%酢酸含有精製水	2%ギ酸含有精製水
通水	100mL (1mL/min)	100mL (1mL/min)
洗浄①	1%酢酸含有精製水	2%ギ酸含有精製水
洗浄②	メタノール	メタノール
溶出①	16%アンモニア水 含有メタノール溶液	5%アンモニア水 含有メタノール溶液
溶出②	-	50%メタノール含有 5%アンモニア水溶液

表2 移動相の条件

Time (min)	Flow Rate (mL/min)	A (%)	B (%)
0	0.5	0	100
0.5	0.5	0	100
3.5	0.5	30	70
6.5	0.5	30	70

- (A) 10mM酢酸アンモニウム
+5%アセトニトリル水溶液
- (B) 10mM酢酸アンモニウム
+95%アセトニトリル水溶液

表3 MRMの条件

対象物質	モニターイオン (M/Z)
OP	313.1 > 225.1
OC	285.1 > 197.1
ZN	330.0 > 60.0
LO	473.1 > 60.0
LN	347.0 > 60.0
PH	329.1 > 100.1

3. 結果および考察

3.1 インフルエンザの流行と抗インフルエンザウイルス薬の供給

インフルエンザの流行は、医療機関あたりのインフルエンザ患者発生数を週ごとに算出した流行指数で判断されている。2015/16年から2018/19年シーズンにおける対象地域のインフルエンザ流行指数を図2に示している。なお本流行指数は、大阪府感染症情報センターより提供を受けた感染症発生動向調査報告^{*)}より算出した。インフルエンザの流行は、1月中旬から2月中旬をピークとして山型の時間的変化を示しており、2018/19年シーズンにおいて本調査期間で最も流行指数が高くなり、64.3となった。これは全国におけるインフルエンザの流行とも一致し、シーズンおよび週におけるインフルエンザ患者数はそれぞれ2017/18年シーズン¹²⁾、2019年第4週¹³⁾において最多と推計されている。図3は全国における抗インフルエンザウイルス薬の供給量とそれらの割合を示している。患者が最多となった2017/18年シーズンにおい

で最も多くの抗インフルエンザウイルス薬が供給された。供給割合としては、タミフルおよびイナビルが多く供給され、2018/19年シーズンからは新薬であるゾフルーザも供給されている。

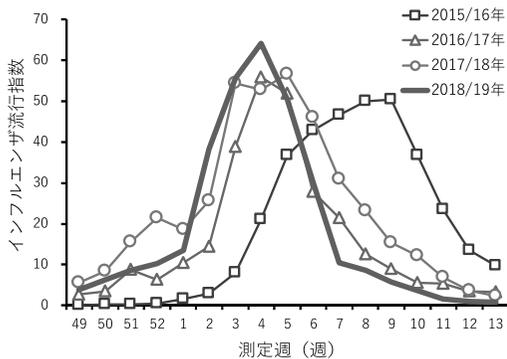


図2 対象地域におけるインフルエンザ流行指数^{※)}

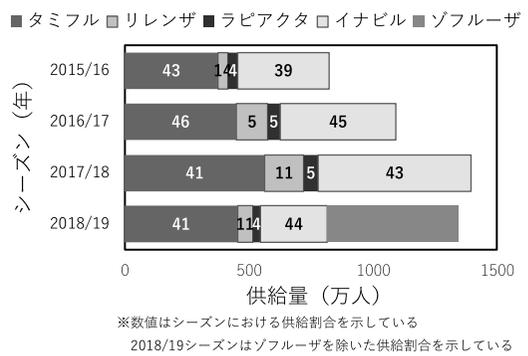


図3 抗ウイルス薬の供給量と供給割合¹⁴⁾

3.2 抗インフルエンザウイルス薬の河川水中の動態

分析対象としたOP, OC, ZN, LO, LN, PHの内, LO, LN, PHの3種類については調査の全期間かつ、流量調査のみのSt.1を除いた全地点において定量下限を下回る値であったため、以降の結果については、OP, OC, ZHの3種について示す。

表4はSt.1, St.3およびSt.4における2016年2月の河川流量と抗インフルエンザウイルス薬の濃度と負荷量を示している。河川流量はSt.1からSt.3の間に大きく増大し、これらのほとんどがSt.2で合流する下水処理水によるものである。このことから対象とした河川は、下水寄与率が非常に高い都市河川という特徴を有していることが明らかとなった。OP, OC, ZHの濃度はSt.3とSt.4の間で減少しているものの、負荷量に大きな変化はなく、これらはSt.2で流入する下水処理水に由来するものであると考えられ、支川の合流による希釈で濃度は低くなるものの河川内での分解等は起こらず、下流まで移行しているものと推測される。これは、OCの太陽光による光分解が起こらないことを示したAccinelli¹⁵⁾らの報告と一致している。

表4 河川流量と抗インフルエンザウイルス薬濃度・負荷量

地点		St.1	St.3	St.4
流量 ¹⁶⁾	(m ³ /日)	3,888	92,664	122,256
OP濃度	(ng/L)	—	270	223
OP負荷量	(g/日)	—	25.0	27.2
OC濃度	(ng/L)	—	710	505
OC負荷量	(g/日)	—	65.8	61.8
ZH濃度	(ng/L)	—	67	52
ZH負荷量	(g/日)	—	6.2	6.4

各シーズンにおけるSt.2のOP、OC、ZH濃度とインフルエンザ流行指数の時間的変化についてまとめたものを図4、図5、図6、図7に示す。インフルエンザの流行に伴ってOP、OC、ZHが検出され、OPは2018年第5週に314ng/L、OCは2018年第7週に898ng/L、ZNは2017年第6週に135ng/Lの最大濃度を検出した。またOPおよびOCの濃度は、流行指数の時間的変化に2週間程度の遅れを伴って同様の挙動を示した。この挙動は他の河川を対象とした同様の研究¹⁷⁻¹⁸⁾と一致している。これにより河川水中のこれらはヒト由来であり、環境への負荷がインフルエンザの流行と密接に関係していることが確認された。また、流行のピーク時にZHが微量に検出された。LO、LN、PHについても定量下限値であるものの流行のピーク時にのみ検出されており、これらは河川水中にごく微量に存在していると考えられる。

OPおよびOCが河川水中から比較的高濃度で検出され、そのほかの抗インフルエンザウイルス薬が微量に検出されるのは、これらの用量が要因として考えられる。表5に抗インフルエン

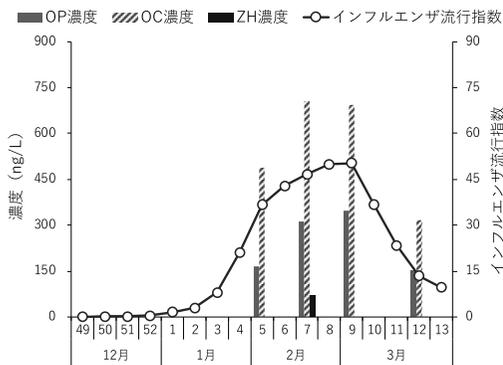


図4 2015/16年シーズンにおけるOP、OC、ZHの濃度とインフルエンザ流行指数の時間的変化

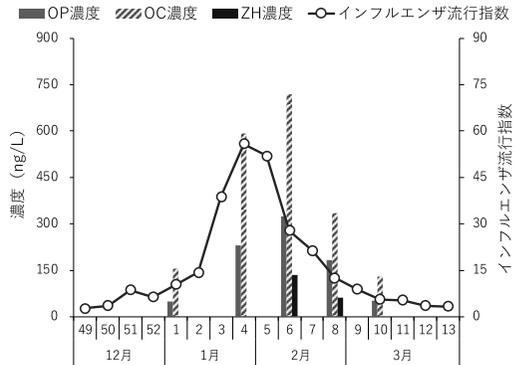


図5 2016/17年シーズンにおけるOP、OC、ZHの濃度とインフルエンザ流行指数の時間的変化

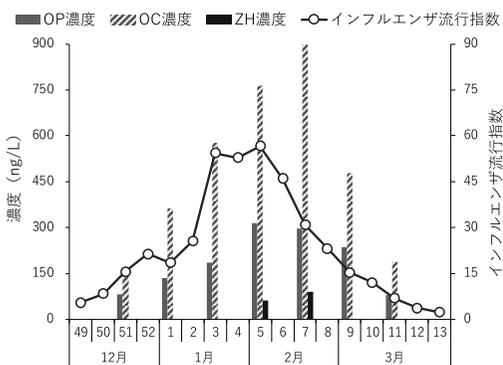


図6 2017/18年シーズンにおけるOP、OC、ZHの濃度とインフルエンザ流行指数の時間的変化

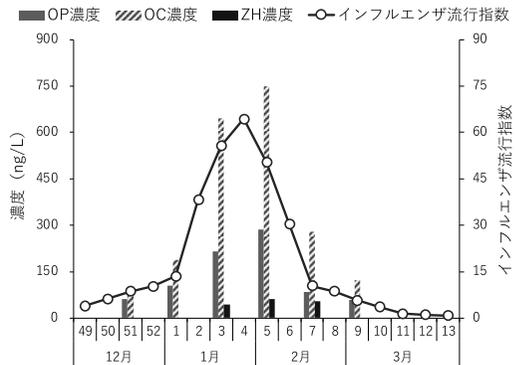


図7 2018/19年シーズンにおけるOP、OC、ZHの濃度とインフルエンザ流行指数の時間的変化

ザウイルス薬の用法と用量を示す。タミフルにおいて用量が最も多く、服用期間も長いことから総用量が他の医薬品と比べて多くなっている。このことから抗インフルエンザウイルス薬全体におけるタミフルの使用割合を低くすることで環境負荷の低減が可能である。また、既往の研究¹⁹⁾において紫外線を用いた光分解実験の結果、254nmにおける照射強度が2.0mW/cm²の条件でOPが30分間の照射で90%以上を分解でき、紫外線処理の可能性を示した。さらに、淀川水系上流の下水処理施設においてオゾンによる高度処理を行っている施設ではOCの除去率が89%から93%と高く、オゾン処理の有効性が示されており²⁰⁻²¹⁾、下水の高度処理による環境負荷の低減も可能である。

表5 抗インフルエンザウイルス薬の用法・用量

薬品名	用法	用量 (成人 1 日)	服用期間	総用量
タミフル ²²⁾	経口投与	150mg	5日間	750mg
リレンザ ²³⁾	吸引投与	20mg	5日間	100mg
ラピアクタ ²⁴⁾	点滴注射	300mg	1回	300mg
イナビル ²⁵⁾	吸引投与	40mg	1回	40mg
ゾフルーザ ²⁶⁾	経口投与	40mg	1回	40mg

4. まとめ

2015年からの4シーズンにおいて、河川水中の抗インフルエンザウイルス薬のモニタリングを行った。本調査期間において抗インフルエンザウイルス薬であるタミフル (OP)、タミフル代謝物 (OC)、リレンザ (ZN) が河川水中より検出され、下水処理施設において十分に処理されずに環境中に排出されていることを確認した。また、耐性ウイルスの発生などの抗インフルエンザウイルス薬による環境リスクは、耐性化が懸念される $\mu\text{g/L}$ オーダーより低いものの、OCは比較的高濃度で存在していることが明らかとなった。河川水中における抗インフルエンザウイルス薬の濃度の時間的変化から、これらがヒト由来であり、インフルエンザの流行と一致していることが明らかとなった。さらにこれらの環境水中濃度の大小と流行の度合いと一致しており、環境水中の抗インフルエンザウイルス薬を指標とした疫学的検討の可能性が示唆された。これらの結果から下水寄与率の高い都市河川において医薬品類による環境影響が大きくなる課題が明らかとなった。このため、環境負荷の高いタミフルの使用割合を低くすることや下水処理施設において、紫外線やオゾンを用いた高度処理を行うなどにより環境リスクの低減を検討すべきであると考えられる。

謝辞

感染症発生動向調査報告（本文中の※）については大阪府感染症情報センターより資料を提供いただいた。ここに謝意を表する。なお本研究は、JSPS科研費15K21513の助成を受けて行われた。

参考文献

- 1) 内閣府大臣官房政府広報室：「新型インフルエンザ対策に関する世論調査」, <https://survey.gov-online.go.jp/tokubetu/tindex-r01.html>（最終閲覧日：2019年10月31日）。
- 2) WHO：Global influenza strategy 2019-2030, *World Health Organization*, 1-25 (2019).
- 3) Straub J. O.：An environmental risk assessment for oseltamivir (Tamiflu[®]) for sewage works and surface waters under seasonal-influenza and pandemic-use conditions, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1625-1634 (2009).
- 4) Ghosh G. C., Nakada N., Yamashita N. and Tanaka H.：Oseltamivir carboxylate, the active metabolite of oseltamivir phosphate (Tamiflu), detected in sewage discharge and river water in Japan, *Environmental Health Perspectives*, 118 (1), 103-106 (2010).
- 5) R. Takanami, S. Taniguchi, R. R. Giri, H. Ozaki, S. Hayashi：Antiviral Drugs Zanamivir and Oseltamivir Found in Wastewater and Surface Water in Osaka Japan, *Journal of Water and Environment Technology*, 10 (1), 57-68 (2012).
- 6) 高浪龍平, 谷口省吾, 林新太郎, Rabindra Raj Giri, 尾崎博明：寝屋川上流部における抗インフルエンザウイルス薬の挙動とリスク評価, *土木学会論文集G 環境*, 68 (7), 185-182 (2012).
- 7) Järhult JD：Oseltamivir (Tamiflu[®]) in the environment, resistance development in influenza A viruses of dabbling ducks and the risk of transmission of an oseltamivir-resistant virus to humans - a review, *Infection Ecology and Epidemiology*, doi: 10.3402/iee.v2i0.18385 (2012).
- 8) R. Hirose, T. Nakaya, Y. Naito, T. Daidoji, Y. Watanabe, H. Yasuda, H. Konishi, Y. Itoh：Mechanism of Human Influenza Virus RNA Persistence and Virion Survival in Feces: Mucus Protects Virions From Acid and Digestive Juices, *The Journal of Infectious Diseases*, 216 (1), 105-109 (2017).
- 9) 高浪龍平：抗インフルエンザウイルス薬の水環境中挙動および患者数との関係, *環境技術*, 41 (6), 380-387 (2012).
- 10) Takanami R., Ozaki H., Giri R. R., Taniguchi S., Hayashi H.：Detection of Antiviral Drugs Oseltamivir Phosphate and Oseltamivir Carboxylate in Neya River Osaka Japan, *Journal of Water and Environment Technology*, 8 (4), 363-372 (2010).
- 11) 高浪龍平, 濱崎竜英, 谷口省吾, 尾崎博明：抗インフルエンザウイルス薬4種の河川水中濃度について, *日本水環境学会年会講演集*, 53, 456 (2019).
- 12) インフル患者, 最多2230万人, 今シーズン推計, *日本経済新聞*, 2018年4月26日朝刊, 36.
- 13) インフル流行, 過去最大, 推計222万人, 全都道府県で警報レベル, *日本経済新聞*, 2019年2月2日朝刊, 2.
- 14) 厚生労働省：通知「通常流通用抗インフルエンザウイルス薬の供給状況について」, 2009-2019.
- 15) Accinelli C., Caracciolo A. B. and Grenni P.：Degradation of the antiviral drug oseltamivir carboxylate in surface water samples, *International Journal of Environmental Analytical*

Chemistry, 87 (8), 579-587 (2007).

- 16) 大阪府：公共用水域の水質等調査結果, <http://www.pref.osaka.lg.jp/kankyohozen/osaka-wan/kokyo-status.html> (最終閲覧日：2019年10月31日).
- 17) 木口倫, 石井朋枝, 今野禄朗, 小林貴司：河川・排水中の抗インフルエンザ薬とその代謝物および数種の生活関連化学物質 (PPCPs) の特徴, *秋田県立大学ウェブジャーナルB*, 4, 153-157 (2017).
- 18) 上村仁, 仲野富美, 近内美乃里, 三宅裕子, 長谷川一夫：タミフルの相模川水系河川水中における分布, *環境化学*, 20, 269-272 (2010).
- 19) 雲翔太, 武内賢太, 高浪龍平：プラズマ発光型水銀フリー紫外線光源を用いた医薬品類の分解特性, *日本水環境学会年会講演集*, 53, 456 (2019).
- 20) 東剛志, Ghosh G. C., 中田典秀, 山下尚之, 田中宏明：下水処理場における抗インフルエンザ薬タミフルその活性代謝物のオセルタミビルカルボキシレート, ザナミビル及びアマンタジンのオゾン分解, *日本オゾン協会年次研究講演会講演集*, 20, 63-66 (2011).
- 21) Ghosh G.C., Nakata N., Yamashita N., Tanaka H. : Occurrence and fate of oseltamivir carboxylate (Tamiflu) and amantadine in sewage treatment plants, *Chemosphere*, 81 (1), 13-17 (2010).
- 22) 中外製薬株式会社：医薬品インタビューフォーム「タミフル」, https://chugai-pharm.jp/content/dam/chugai/product/tam/cap/if/doc/tam_if.pdf (最終閲覧日：2019年10月31日).
- 23) グラクソ・スミスクライン株式会社：医薬品インタビューフォーム「リレンザ」, https://gskpro.com/content/dam/global/hcpportal/ja_JP/products-info/relenza/relenza-if.pdf (最終閲覧日：2019年10月31日).
- 24) 塩野義製薬株式会社：医薬品インタビューフォーム「ラピアクタ」, <https://www.shionogi.co.jp/med/download.php?h=3018917e3df16e10f1d86184a22c4da8> (最終閲覧日：2019年10月31日).
- 25) 第一三共株式会社：医薬品インタビューフォーム「イナビル」, https://www.medicallibrary-dsc.info/di/inavir_dry_powder_inhaler_20mg/pdf/if_ina_1908_13.pdf (最終閲覧日：2019年10月31日).
- 26) 塩野義製薬株式会社：医薬品インタビューフォーム「ゾフルーザ」, <https://www.shionogi.co.jp/med/download.php?h=00678e8b0ab6f89eb6fef4892ce16065> (最終閲覧日：2019年10月31日).