

## インフルエンザウイルス分離株についての遺伝子解析

研究分担者 藤崎 誠一郎

国立感染症研究所・インフルエンザウイルス研究センター・主任研究官

### 研究要旨

2016/17, 2017/18 シーズンのインフルエンザウイルス分離株について遺伝子解析を実施した。A(H1N1)pdm09 ウイルスは全てサブクレード 6B.1 に属した。A(H3N2) ウイルスは全てがクレード 3C.2a に属し、更に 3C.2a1 を含む複数の集団に分岐した。B 型では、Yamagata 系統はクレード 3 が、Victoria 系統はクレード 1A が流行した。A(H3N2) ウイルスだけでなく他の亜型、系統にも多様な遺伝子集団が出現しているため抗原性の変化を含め、今後のウイルス伝播の動向に注意を払う必要がある。

### A. 研究目的

国内外から流行株を収集し、それらの遺伝子配列に基づいた進化系統樹解析、抗原性および薬剤耐性アミノ酸の検出を行う。これらの結果から、特定のアミノ酸が抗原性や薬剤耐性に与える影響を解析し次シーズンの流行予測および適切なワクチン株の選定に役立つ。

### B. 研究方法

2016/17, 2017/18 シーズンに国内および海外（ラオス、台湾、モンゴル、韓国、ミャンマー）から収集した分離株について遺伝子配列を決定し、アミノ酸解析、進化系統樹解析を実施した。具体的には、2016/17 シーズンには A(H1N1)pdm09 を 249 株、A(H3N2) を 540 株、B 型を 302 株、2017/18 シーズン（2018 年 4 月時点）には A(H1N1)pdm09 を 127 株、A(H3N2) を 127 株、B 型を 162 株、解析を行った。

（倫理面への配慮）

該当なし

### C. 研究結果

A(H1N1)pdm09 ウイルス：HA 遺伝子系統樹上で、2016/17, 2017/18 シーズンの分離株は全てクレ-

ド 6B.1（アミノ酸置換：S84N, S162N, I216T に属した。さらに、S74R, S164T, I295V を持つ集団が流行の中心となった。NA タンパク質に薬剤耐性マーカーのアミノ酸置換 H275Y を有する株はごく少数検出されたが、流行は確認されていない。

A(H3N2) ウイルス：2016/17, 2017/18 シーズンは全ての株が 3C.2a (L3I, N144S, K160T, N255D, Q311H, F159Y) に属した。3C.2a 内にはサブクレード 3C.2a1 (N171K, I406V, G484E) を含め複数の集団が形成され、2017/18 シーズンには 3C.2a1a (3C.2a1 + N121K, G479E, T135K, N122D), 3C.2a1b (3C.2a1 + N121K, K92R, H311Q), 3C.2a1b + 135K (3C.2a1b + E62G, R142G, T135K), 3C.2a1b + 135N (3C.2a1b + T135N), 3C.2a2 (T131K, R142K, R261Q), 3C.2a3 (N121K, S144K), 3C.2a4 (N31S, D53N, R142G, S144R, N171K, I192T, Q197H) と細分化した。

B 型ウイルス：Yamagata 系統は、分離株は HA タンパク質に S150I, N165Y, N202S, S229D を持つクレード 3（代表株：B/Wisconsin/1/2010、B/Phuket/3073/2013）に全て属した。Victoria 系統の分離株は全て、HA タンパク質に N75L、N165K、S172P アミノ酸置換を持ち、B/Brisbane/60/2008 株を代表とするサブクレード 1A に属した。海外で報告されている抗原性変異株群のうち、2 アミノ酸

欠損株 (162, 163 位)、3 アミノ酸欠損株 (162-164 位)、および 2 アミノ酸置換株 (K165N, T221I) は散発的に検出されているが現在のところ広い流行は確認されていない。

#### D. 考察

2017/18 シーズンは、A 型については当初 A(H1N1)pdm09 ウイルスが流行の主流であったが、2018 年に入り A(H3N2) ウイルスの流行が A(H1N1)pdm09 を上回った。昨シーズンに引き続き A(H3N2) ウイルスでは、遺伝子変異によるアミノ酸置換が蓄積され遺伝子的に多様な集団が形成されていることが特徴的である。A(H1N1)pdm09 ウイルスでも同様にウイルス群が遺伝的に多様化しつつある。B 型については、例年と異なりシーズンの早い段階から山形系統が流行し各亜型・系統の中で最も多く検出されたことが特徴的といえる。山形系統では遺伝的に大きな変化は認められなかったが、ビクトリア系統では遺伝的にも明確に他と異なる抗原性変異群が出現した。流行シーズン以外でも、報告されるウイルスに注意し継続した監視が必要である。

#### E. 結論

A(H1N1)pdm09 ウイルスはシーズン初めに流行の主流となったが、今後の遺伝子の変化と抗原性への影響に注視したい。A(H3N2) ウイルスは細分化した各サブクレード群のアミノ酸置換と抗原性の関係解明が課題に残っている。B 型はビクトリア系統に出現した各抗原性変異株群が伝播するのか懸念される。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

・ Nakamura K, Shirakura M, Fujisaki S, Kishida N, Burke DF, Smith DJ, Kuwahara T, Takashita E, Takayama I, Nakauchi M, Chadha M, Potdar V, Bhushan A, Upadhyay BP, Shakya G, Odagiri T, Kageyama T, Watanabe S. Characterization of influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated from Nepalese and Indian outbreak patients in early 2015. *Influenza*

*Other Respir Viruses*. 11(5) 399-403 2017

- ・ Yokoyama M, Fujisaki S, Shirakura M, Watanabe S, Odagiri T, Ito K, Sato H. Molecular Dynamics Simulation of the Influenza A(H3N2) Hemagglutinin Trimer Reveals the Structural Basis for Adaptive Evolution of the Recent Epidemic Clade 3C.2a. *Front Microbiol*. 8 584 2017
- ・ Imai M, Watanabe T, Kiso M, Nakajima N, Yamayoshi S, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Yamada S, Ito M, Sakai-Tagawa Y, Shirakura M, Takashita E, Fujisaki S, McBride R, Thompson AJ, Takahashi K, Maemura T, Mitake H, Chiba S, Zhong G, Fan S, Oishi K, Yasuhara A, Takada K, Nakao T, Fukuyama S, Yamashita M, Lopes TJS, Neumann G, Odagiri T, Watanabe S, Shu Y, Paulson JC, Hasegawa H, Kawaoka Y. A Highly Pathogenic Avian H7N9 Influenza Virus Isolated from a Human Is Lethal in Some Ferrets Infected via Respiratory Droplets. *Cell* Uda K, Shoji K, Koyama-Wakai C, Furuichi M, Iwase N, Fujisaki S, Watanabe S, Miyairi I. Clinical characteristics of influenza virus-induced lower respiratory infection during the 2015 to 2016 season. *J Infect Chemother*. pii: S1341-321X(18)30007-2. 2018 *Host Microbe*. 22(5) 615-26 2017
- ・ Uda K, Shoji K, Koyama-Wakai C, Furuichi M, Iwase N, Fujisaki S, Watanabe S, Miyairi I. Clinical characteristics of influenza virus-induced lower respiratory infection during the 2015 to 2016 season. *J Infect Chemother*. pii: S1341-321X(18)30007-2. 2018
- ・ Kuwahara T, Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Takahashi H, Suzuki N, Watanabe S, Odagiri T. Isolation of egg-adapted

influenza A(H3N2) virus without amino acid substitutions in the antigenic sites of its hemagglutinin. Jpn J Infect Dis. (In press)

## 2. 学会発表

- Genetic diversity of AH3 influenza virus prevalent in the 2016/17 season  
Chiharu Kawakami, Shigeo Sugita, Seiichiro Fujisaki, Kazuya Nakamura, Miwako Saikusa, and Shuzo Usuku  
第 65 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2017 年 10 月
- Characterizations of cell-derived and egg-passaged A/Saitama/103/2014 virus  
Tomoko Kuwahara, Seiichiro Fujisaki, Masayuki Shirakura, Kazuya Nakamura, Emi Takashita, Hitoshi Takahashi, Noriko Kishida, Aya Sato, Rie Ogawa, Hideka Miura, Miki Akimoto, Hiromi Sugawara, Noriko Suzuki, Shinji Watanabe, Takato Odagiri  
第 65 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2017 年 10 月
- Characterizations of circulating influenza viruses in the 2016/2017 season and vaccine viruses for the 2017/18 season  
Shinji Watanabe, Kazuya Nakamura, Noriko Kishida, Seiichiro Fujisaki, Masayuki Shirakura, Emi Takashita, Tomoko Kuwahara, Aya Sato, Rie Ogawa, Hiromi Sugawara, Miki Akimoto, Hideka Miura, Kayo Watanabe, Keiko Mitamura, Takashi Abe, Masataka Ichikawa, Masahiko Yamazaki, Takato Odagiri, The Influenza Surveillance Group of Japan  
第 65 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2017 年 10 月
- Antiviral susceptibility of avian influenza A(H7N9) viruses isolated from humans  
Emi Takashita, Masayuki Shirakura, Seiichiro Fujisaki, Kazuya Nakamura, Tomoko Kuwahara, Noriko Kishida, Shinji Watanabe, and Takato Odagiri  
第 65 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2017 年 10 月
- 2016/17 シーズンに流行した AH3 型インフルエンザウイルスの特徴と遺伝子解析  
七種美和子、宇宿秀三、笹尾忠由、豊澤隆弘、藤崎誠一郎、中村一哉、渡邊真治  
第 49 回日本小児感染症学会総会・学術集会、金沢、2017 年 10 月
- Growth capabilities of influenza A(H1N1)pdm09 viruses exhibiting enhanced cross-resistance to oseltamivir and peramivir  
Emi Takashita, Seiichiro Fujisaki, Masayuki Shirakura, Kazuya Nakamura, Noriko Kishida, Tomoko Kuwahara, Masaru Yokoyama, Hironori Sato, Shinji Watanabe, Takato Odagiri
- 6th ESWI Influenza Conference, Latvia, Sep. 2017

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## H. 健康危険情報

該当なし