

## ネパールで発生した A(H5N1)ウイルスのヒト感染例の診断

研究分担者 高山 郁代

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

本研究では、世界各地の鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例における検体や分離ウイルスを解析し、日本における鳥インフルエンザウイルス感染のヒトでの発生に備えることを目的としている。本年度は、ネパールで 1 例目となる高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)ウイルスのヒト感染例について、臨床検体を入手し確定診断ならびに遺伝子解析を実施した。今回使用した診断検出系は、診断上の問題は見られず、流行株を感度良く検出できる系であることが確認された。

### A. 研究目的

鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例は日本国内では未だに確認されていないが、近年報告数は減少しているものの海外では散発的に報告されている。日本においても鳥インフルエンザウイルスがヒトに感染する可能性は十分に考えられるため、その対策は重要である。本研究では、日本における鳥インフルエンザウイルス感染のヒトでの発生に備えるため、直近に発生した世界各地の鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例における臨床検体や分離ウイルスを入手し、解析・情報集積を行うものである。

### B. 研究方法

2019 年 3 月にネパールで 1 例目となる高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が報告された。本研究では、その臨床検体を入手し、診断や詳細な解析を実施した。

患者の咽頭スワブ検体は、2019 年 4 月中旬に日本に到着し、すぐにリアルタイム RT-PCR 法による型および HA 亜型同定検査を実施し、引き続き、次世代シーケンス法による NA 亜型の同定やその他の遺伝子解析を実施した。また、臨床検体から培養細胞ならびに鶏卵を用い

たウイルス分離を実施し、得られた分離株についても、リアルタイム RT-PCR 法による型・亜型の同定や次世代シーケンス法による詳細な遺伝子解析を行った。得られた遺伝子配列については、過去の同じクレードのウイルスの遺伝子配列と比較した。

（倫理面への配慮）

本研究で入手した臨床検体については、WHO の世界インフルエンザ・サーベイランス及び対応システム (GISRS) のネットワーク内で診断を目的として送付されたものであり、倫理面で配慮されたものである。

### C. 研究結果

臨床検体を用いたリアルタイム RT-PCR 法の結果から、ウイルスは A(H5)亜型であることが診断された。また、引き続き実施した次世代シーケンス法による遺伝子解析から、今回の患者は A(H5N1)ウイルスに感染していたこと、また、そのウイルスの HA 遺伝子は配列上クレード 2.3.2.1a に分類されることが明らかとなった。

臨床検体を用いたリアルタイム RT-PCR 法の結果では、A(H5)亜型検出系の結果が TypeA 検出系の結果と比較して遅れが見られた。本来、

インフルエンザウイルスの遺伝子は A(H5) 亜型検出系のターゲットである HA 遺伝子と TypeA 検出系のターゲットである M 遺伝子の数が理論上等しいことから、いずれも同程度の感度である A(H5) 亜型検出系と TypeA 検出系ではほぼ同じ C<sub>q</sub> 値が得られるはずである。今回の結果から、A(H5) 亜型検出系のプライマーおよびプローブ領域に結果の遅れにつながる配列の不一致があるものと考え、ウイルスの遺伝子配列を調べた。しかし、結果の遅れにつながると考えられる変異は見つからなかった。一方で、分離株を用いたリアルタイム RT-PCR 法も実施したが、A(H5) 亜型検出系の結果の遅れは、若干見られるものの大幅に小さくなった。以上の結果から、臨床検体中の HA 遺伝子が、保管状態の悪さなどの原因から M 遺伝子と比較してダメージをより受けて、PCR 反応の効率が低下したものと考えられた。分離株を用いても残る A(H5) 亜型検出系の結果の遅れに関しては、現在も原因を考察中であるが、診断上問題となる遅れではなく、今回用いたリアルタイム RT-PCR 検出系は感度良く流行株を検出できる方法であることが確かめられた。

臨床検体ならびに分離株を用いた次世代シーケンシング法の結果では、ウイルスのアミノ酸配列の比較解析を実施したところ、HA タンパク質および PB2 タンパク質の配列で哺乳類に親和性を示す変異が見つかった。これらの変異は、分離株の継代歴が増えるほど、変異が占める割合が大きくなり、よりヒトに感染しやすくなっていると考えられた。

#### D. E. 考察ならびに結論

今回、ネパールで 1 例目となる A(H5N1) ウイルスのヒト感染例が検出された背景としては、2018 年 12 月から 2019 年 2 月にかけてインド北部の鳥の間で A(H5N1) ウイルスのアウトブレイクが発生していたことや 2019 年 2 月中旬以降にネパールの家禽や野鳥の間でこのウイルスが急速に流行していたことが挙げら

れる。今回、ヒト感染例から検出されたウイルスは、ネパール周辺国の鳥の間で流行し続けているクレード 2.3.2.1a のウイルスで、引き続き、この地域の国々では、A(H5N1) ウイルスへの感染リスクが大きいと考えられた。

今回、臨床検体の確定診断に用いたリアルタイム RT-PCR 法については、若干の問題が確認されたものの、感度・特異度の面から診断上問題なく、最新の流行株も検出できることが確認され、引き続き、WHO のホームページ内で情報公開を続けている。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
該当なし
2. 学会発表  
該当なし