

## 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

2019/20, 2020/21 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 6B.1A クレード内の 183P-5 サブクレードに属した。A(H3N2)ウイルスはほとんどがクレード 3C.2a1 に属し、更に複数の集団に分岐した。B 型では、Victoria 系統は全てクレード 1A.3 に、Yamagata 系統はクレード 3 に属した。A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B Victoria 系統ウイルスの遺伝子が多様化し一部は抗原性部位を含むことから、引き続きウイルス伝播の動向に注意が必要である。

### 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てる。

### B. 研究方法

2019/20, 2020/21 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、ネパール）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、2019/20 シーズンには A(H1N1)pdm09 を 385 株、A(H3N2) を 156 株、B 型を 154 株、2020/21 シーズンには A(H1N1)pdm09 を 2 株、A(H3N2) を 2 株、解析を行った（2021 年 3 月時点）。

（倫理面への配慮）

なし

### C. 研究結果

A(H1N1)pdm09 ウイルス: HA 遺伝子系統樹上で、近年の流行株は 6B.1（代表株: A/Singapore/GP1908/2015）内の 6B.1A に属し、さらに S183P を含む複数の群(183P-1: N451T、183P-2: L233I、183P-4: N129D+A141E、183P-5: N260D、183P-6: T120A、183P-7: K302T+I404M)を形成する。2019/20, 2020/21 シーズンの分離株は全て 183P-5 に属し、183P-5A(N129D, T185I)または 183P-5B(K160M, T216K, E235D, H296N, V520A)に属した。NA タンパク質に H275Y 置換を有するオセルタミビル耐性株は散発的に検出されているが、耐性株の流行は確認されていない。A(H3N2)ウイルス: ほとんどの株が HA 遺伝子系統樹上の 3C.2a（代表株: A/Hong Kong/4801/2014）内サブクレード 3C.2a1（N171K+I406V+G484E、代表株: A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016）に属し、ごく一部の株が 3C.2a2（T131K+R142K+R261Q）と 3C.3a（L3I+S91N+N144K+F193S+D489N）に属した。3C.2a1 内では多くが、3C.2a1b（N121K+K92R+H311Q）にて分岐した 3C.2a1b+135K(E62G+T135K+R142G)、3C.2a1b+131K（E62G+R142G+T131K+V529I）に属した。さらに、3C.2a1b+135K は 137F(T128A+S137F+A138S+F193S)

と  
198P(T128A+A138S+G186D+D190N+F193S+S198P)に、  
3C.2a1b+131K は 83E(K83E+Y94N+I522M)と  
197R(Q197R+S219F+V347M)に分岐した。

B 型ウイルス：Yamagata 系統は、解析した 2 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/Phuket/3073/2013) に属した。Victoria 系統の分離株は近年、HB/Brisbane/60/2008 株を代表とするサブクレード 1A に属する。1A 内に 1A.1(2 アミノ酸(162,163 位) 欠損 +1180V+R498K、代表株：B/Maryland/15/2016)、1A.2 (3 アミノ酸 (162-164 位) 欠損)、1A.3 (3 アミノ酸 (162-164 位) 欠損 +K136E) が形成されており、全ての株が 1A.3 に属した。

#### D. 考察

以前より、流行株における遺伝子変異の蓄積が注視されていたが、2019/20 シーズンは、A(H1N1)pdm09、A(H3N2)、B Victoria 系統ウイルスに抗原部位のアミノ酸置換を含む、多様な集団が形成された。ヒト血清およびフェレット血清で検出可能な抗原性の変化には限界があるため、遺伝子情報から示唆されるウイルス性状の変化を敏感に捉えることは重要と考えられる。20/21 シーズンは新型コロナウイルスの影響からインフルエンザウイルスの流行が極めて少ない。次に出現するインフルエンザウイルスにどのような変化が現れるのか、通年のウイルス解析が必要である。

#### E. 結論

A(H1N1)pdm09 ウイルス、A(H3N2)ウイルス、B 型 Victoria 系統ウイルスの遺伝子が多様化し抗原性が異なる集団も存在するため、来シーズンへ向けての流行ウイルスの監視が必要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ・ Takayama I, Nguyen BG, Dao CX, Pham TT, Dang

TQ, Truong PT, Do TV, Pham TTP, [Fujisaki S](#), Odagiri T, Hasegawa H, Nakajima N. Next-Generation Sequencing Analysis of the Within-Host Genetic Diversity of Influenza A(H1N1)pdm09 Viruses in the Upper and Lower Respiratory Tracts of Patients with Severe Influenza. *mSphere*. 2021 1, 6(1), e01043-20.

- ・ Huddleston J, Barnes JR, Rowe T, Xu X, Kondor R, Wentworth DE, Whittaker L, Ermetal B, Daniels RS, McCauley JW, [Fujisaki S](#), Nakamura K, Kishida N, Watanabe S, Hasegawa H, Barr I, Subbarao K, Barrat-Charlaix P, Neher RA, Bedford T. Integrating genotypes and phenotypes improves long-term forecasts of seasonal influenza A/H3N2 evolution. *Elife*. 2020 9, 9, e60067
- ・ Takashita E, Abe T, Morita H, Nagata S, [Fujisaki S](#), Miura H, Shirakura M, Kishida N, Nakamura K, Kuwahara T, Mitamura K, Ichikawa M, Yamazaki M, Watanabe S, Hasegawa H, Influenza Virus Surveillance Group of Japan, Influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting reduced susceptibility to baloxavir due to a PA E23K substitution detected from a child without baloxavir treatment. *Antiviral Res*. 2020 8, 180, 104828
- ・ Harada N, Shibata W, Koh H, Takashita E, [Fujisaki S](#), Okamura H, Nanno S, Yamada K, Nakamae H, Hino M, Kakeya H. Successful treatment with baloxavir marboxil of a patient with peramivir-resistant influenza A/H3N2 with a dual E119D/R292K substitution after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a case report. *BMC Infect Dis*. 2020 7, 20(1), 478

##### 2. 学会発表

- ・ なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

- ・ なし