

## 鳥インフルエンザウイルスの性状解析に関する研究

研究分担者 白倉 雅之

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

協力研究者：有田知子、鈴木康司、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

### 研究要旨

現在、主に東南アジアや中近東では高い致死率を伴う高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)ウイルスのヒト感染例が、未だ絶えず報告されている。さらに、2013年に発生した鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルスは、季節に応じて発生と消失を繰り返している。このような背景から、迅速かつ的確にウイルスの詳細な性状解析を実施し、ヒトへの感染リスク評価を実施することは、重要な意義を持つと考えられる。本研究では、鳥インフルエンザウイルスのリスク評価のため、またワクチン製造候補株選定のため、バングラデシュ国において分離された H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルス及び携帯品非加熱家きん肉から分離された H9N2 型鳥インフルエンザウイルスの次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析及び抗原性解析を行った。その結果、解析に用いたウイルス株は、既存のワクチン製造候補株に対する抗血清に良く反応した。

### A. 研究目的

現在、主に東南アジアや中近東では高い致死率を伴う高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)ウイルスのヒト感染例が、未だ絶えず報告されている。世界保健機関（WHO）の報告によれば、2020年1月20日現在、17カ国で、861例の感染者数が確認され、そのうち455名が死亡している。さらに、2013年3月に中国で発生した鳥インフルエンザ A(H7N9)ウイルスは、中国さらに他の周辺諸国に拡大している。また、鳥インフルエンザ A(H5N6)ウイルスが我が国をはじめ、中国、台湾、韓国などのアジア諸国、またヨーロッパにまで拡大している。これらのウイルスがヒトからヒトへ容易に伝播可能なウイルスに変異し、新型インフルエンザの出現が危惧されている。

本研究では、鳥インフルエンザウイルスのヒトへのリスク評価として、バングラデシュ由来の高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)ウイルス、及び国内において携帯品非加熱家きん肉から分離された H9N2 亜型鳥インフルエンザウイルスの遺伝子解析、抗原性解析を実施した。

### B. 研究方法

1) ウイルス：

1-1) 高病原性鳥インフルエンザウイルス A(H5N1)

米国 CDC 及び St. Jude Children's Research Hospital より分与された下記の株を実験に使用した。

A/duck/Bangladesh/25683/2015(H5N1),  
A/duck/Bangladesh/35439/2018(H5N1),  
A/duck/Bangladesh/35835/2018(H5N1),  
A/duck/Bangladesh/35924/2018(H5N1),  
A/duck/Bangladesh/35986/2018(H5N1),  
A/duck/Bangladesh/38175/2019(H5N1),  
A/duck/Bangladesh/17D1012/2018(H5N1)

1-2) 鳥インフルエンザウイルス A(H9N2)

動物検疫所より分与された下記の株を使用した。本株は、ベトナム国ホーチミン由来の携帯品非加熱家きん肉から分離された株である。

A/ckicken/Japan/AQ-HE31-26/2020(H9N2)

これらのウイルス株を発育鶏卵を用いて増殖

させ、七面鳥赤血球 (TRBC) を用いて赤血球凝集 (HA) 価を測定し、ストックした。

2) 全ゲノム解析：ウイルス全ゲノム解析は、次世代シーケンサーを使用して行った。ウイルス培養液から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA を抽出した。抽出した RNA を Multi-segment RT-PCR により増幅後、NEBNext Ultra DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs) を使用して DNA ライブラリーを調製後、MiSeq (Illumina) にて解析した。得られた塩基配列は、CLC Genomics Workbench を使用して、リファレンス配列との Assemble を行い、コンセンサス配列の作成と変異解析を行った。

3) HI 試験：七面鳥赤血球 (TRBC) を用いて定法に基づいて行った。

(倫理面への配慮)

該当なし

## C. 研究結果

1) 高病原性鳥インフルエンザウイルス A(H5N1)

1-1) 遺伝子解析：

バングラデシュ国由来株は、すべて H5 Clade 2.3.2.1a に属することが分かった。これらの株は、これまでにバングラデシュ国において、トリから分離報告されている株と類似していた。また、全ゲノム解析を実施した結果、特に、哺乳動物においてウイルス増殖を増強させる変異及び抗ウイルス薬に耐性を示す変異は認められなかった。

1-2) 抗原性解析：

Clade 2.3.2.1a に属するワクチン製造候補株である SJ007 (A/duck/Bangladesh/19097/2013) 株との反応性を調べた結果、分与されたバングラデシュ国由来株は SJ007 株に対するフェレット抗血清に良く反応した。

2) 鳥インフルエンザウイルス A(H9N2)

1-1) 遺伝子解析：

本株は、H9 ウイルス系統である Y280/G9 系統に

属することが分かった。近年、ベトナム国において分離報告されている株と類似していた。

1-2) 抗原性解析：

H9 Y280/G9 系統に属するワクチン製造候補株である A/chicken/Hong Kong/G9/97 株との反応性を調べた結果、本株は、A/chicken/Hong Kong/G9/97 株に対するフェレット抗血清に良く反応した。

## D. 考察

本研究において、解析に用いた株は、現時点では、各々、既存のワクチン製造候補株に対するフェレット抗血清に良く反応した。従って、現時点においては、新たな RG ワクチン製造候補株作製が必要ないことが示唆された。しかしながら、該当国においては、鳥インフルエンザウイルスが、鳥において流行を繰り返していることから、今後、抗原変異株の出現が想定される。

## E. 結論

本研究では、動物由来インフルエンザウイルスのヒトへの感染リスク評価試験の一環として、バングラデシュ国由来の高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)ウイルス及びベトナム国由来の鳥インフルエンザ A(H9N2)ウイルスの遺伝子解析及び抗原性解析を実施した。これらの国においては、未だ鳥インフルエンザウイルスのヒト感染例が絶えず報告されていることから、今後も継続的なグローバルサーベイランスの実施が必要であると考えられる。

## F. 研究発表

1. 論文発表

- Takashita E, Yasui Y, Nagata S, Morita H, Fujisaki S, Miura H, Shirakura M, Kishida N, Nakamura K, Kuwahara T, Sugawara H, Sato A, Akimoto M, Kaido T, Watanabe S, Hasegawa H; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Detection of a Peramivir-Resistant Influenza B/Yamagata-Lineage Virus Imported from Indonesia in Aichi, Japan, March

2019. Jpn J Infect Dis. 2020 9, 73(5), 386-390

- Takashita E, Fujisaki S, Yokoyama M, Shirakura M, Morita H, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Sato H, Doi I, Sato Y, Takao S, Shimazu Y, Shimomura T, Ito T, Watanabe S, Odagiri T, The Influenza Virus Surveillance Group Of Japan. In Vitro Characterization of Multidrug-Resistant Influenza A(H1N1)pdm09 Viruses Carrying a Dual Neuraminidase Mutation Isolated from Immunocompromised Patients. Pathogens. 2020 9, 9(9), 725
- 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

## 2. 学会発表

- なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

- なし