

## A(H1N1)pdm09 および B 型インフルエンザウイルスの 赤血球凝集阻止試験をもちいた抗原性解析

研究分担者 岸田典子

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

A(H1N1)pdm09 および B 型について 2019/20、2020/21、2021/22 シーズンインフルエンザワクチン株の選定を行うことを目的とし 2018/19 シーズンから 2020/21 シーズンに国内から収集した A(H1N1)pdm09 および B 型分離株の抗原性解析をフェレット感染血清とインフルエンザワクチン接種者血清を用いて赤血球凝集阻止試験により実施した。A(H1N1)pdm09 は 3 シーズンの間に抗原性の変遷は大きく遺伝子的には HA に 183P、129D、185I、260D、187A 及び 189E のアミノ酸を持つ 183P-5A1 のグループと 156K のアミノ酸を持つ 183P-5A2 のグループが出現し、それらの抗原性は明確に異なった。B 型については流行の規模は小さく、2020/21 シーズンは地方衛生研究所での分離報告はなかった。B/Victoria 系統では 18/19 シーズンは 2 アミノ酸欠損株と 3 アミノ酸欠損株が混在していたが、2019/20 シーズンは 3 アミノ酸欠損かつ G133R のアミノ酸置換を持つ株が流行の主流となった。フェレット感染血清及びワクチン接種者血清でこれらのグループの抗原性の違いが明らかになった。B/Yamagata 系統については流行もほとんどなく、抗原性の変化もなかった。

### A. 研究目的

インフルエンザウイルスは頻繁に遺伝子変異し、それにもなって抗原性が変化するため、ワクチン株は毎年見直す必要がある。本研究課題では、国内外の A(H1N1)pdm09 および B 型の分離株について、赤血球凝集阻止(HI)試験を用いた抗原性解析を行い、その情報にもとづいて適切な季節性インフルエンザワクチン株の選定を行うことを目的とする。

### B. 研究方法

2018 年 9 月から 2021 年 2 月までの A(H1N1)pdm09 と B 型の分離株または臨床検体を国内と海外（韓国、台湾、ネパール、モンゴル、ミャンマー、ラオス）から収集し、フェレット感染血清をもちいた HI 試験による抗原性解析を行った。さらに 2018/19、2019/20、2020/21 シーズンの国内ワクチン接種者血清と国内外の

流行株との反応性を HI 試験により調べた。国内株については、全国の地方衛生研究所と関東圏の病院から分離株または臨床検体の提供をうけた。

（倫理面への配慮）

### C. 研究結果

A(H1N1)pdm09 : 2018/19 シーズンの分離株は HA の 183 番目のアミノ酸に P を持つウイルスが主流であった。2018/19 シーズンのワクチン製造株である A/Singapore/GP1908/2015（IVR-180）(H1N1)pdm09 およびそのオリジナル株である A/Michigan/45/2015 のフェレット感染血清との反応性をみると、2018/19 シーズン分離株はいずれの血清ともよく反応し、9 割以上がワクチン類似株であった。国内のワクチン接種者血清を用いた解析では、成人層と高齢者層血清ともに

2018/19 シーズンの流行の主流である S183P を持つ分離株とよく反応したが、海外のワクチン接種者血清のうち乳幼児血清を用いた試験では、183P を持つ分離株に対して低い反応性を示すことがわかった。2018/19 シーズン後半からは HA に 183P、129D、185I と 260D のアミノ酸を持つグループ 183P-5A が主流になった。2019/20 シーズンのワクチン製造株である高増殖性 A/Brisbane/02/2018 (IVR-190) (H1N1)pdm09 およびそのオリジナル株である A/Brisbane/02/2018 のフェレット感染血清との反応性をみると、2019/20 シーズン 12 月までの分離株はいずれの血清ともよく反応し、9 割以上がワクチン類似株であった。1 月以降になると 156K の変異株の割合が増え、それらの株は A/Brisbane/02/2018 のフェレット感染血清との反応性が大きく低下した。2021 年 4 月 15 日時点で解析が実施できた 2020/21 シーズンの国内分離株は長崎/8/2020 のみであった。2020/21 シーズンのワクチン製造株である高増殖性 A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (CNIC-1909) (H1N1)pdm09 および同じ遺伝子グループに属する細胞分離株 A/沖縄/93/2019 のフェレット感染血清との反応性をみると、長崎/8/2020 株はいずれの血清ともよく反応しワクチン類似株であった。遺伝子的には HA に 183P、129D、185I、260D、187A 及び 189E のアミノ酸を持つグループ 183P-5A1 に属した。国内のワクチン接種者血清を用いた解析では、成人層と高齢者層血清は同じ遺伝子グループ 183P-5A1 に属する細胞分離株ともよく反応した。しかしながら、2019/2020 シーズンに流行が大きくなった HA に 156K を持つ遺伝子グループ 183P-5A2 に属する分離株に対して反応性が GMT で 2 倍程度低下した。

**B 型**：2018/19、2019/20 シーズンともに B 型インフルエンザの流行規模は極めて小さく、2020/21 シーズンは両系統とも 2021 年 4 月 22 日時点で分離報告はなかった。系統の割合は 2018/19 は Victoria 系統が 93%、Yamagata 系統が 7% であった。2019/20 シーズンの系統の割合は Victoria 系統が

99%、Yamagata 系統が 1% であった。

**Victoria 系統**：2018/19 シーズンは、2017/18 シーズンのワクチン株である Texas/02 類似株、2 アミノ酸欠損株、3 アミノ酸欠損株と 3 つのグループのウイルスが混在しており、それぞれの抗原性は明瞭に区別された。2019/20 シーズンは分離株のほとんどが 3 アミノ酸欠損株で、2 アミノ酸欠損株が極めて稀であった。2019/20 シーズンワクチン株 (B/Colorado/06/2017 類似、2 アミノ酸欠損) の細胞分離株で作製したフェレット感染血清に対する反応性の低下は 3 割の分離株で認められたが、ワクチン製造株で作製したフェレット感染血清に対しては反応性の低下を示した分離株は 9 割以上だった。2019/20 シーズンワクチン株 (B/Colorado/06/2017 類似、2 アミノ酸欠損) を接種したワクチン接種者血清は、B/Colorado/06/2017 卵分離株との反応性に比べると、3 アミノ酸欠損の野外分離株とは GMT で 4 倍程度反応性が低下していた。2020/21 シーズンのワクチン株 (B/Victoria/705/2018 (BVR-11)、3 アミノ酸欠損) を接種したワクチン接種者血清は、B/Washington/02/2019 卵分離株との反応性に比べると、3 アミノ酸欠損の野外分離株とは GMT で 2 倍程度反応性が低下していた。

**B/Yamagata 系統**：2018/19 シーズンの分離株は、ワクチン株 B/Phuket/3073/2013 の細胞分離株および鶏卵分離株のフェレット感染血清とよく反応し、B/Phuket/3073/2013 と抗原性が類似していた。しかしながら、国内のワクチン接種者血清を用いた試験においては、ワクチン接種血清は流行株に対して反応性が低下していた。2019/20、2020/21 シーズンワクチン (B/Phuket/3073/2013) についても同様にワクチン接種者血清は、野外分離株とは GMT で 2 倍程度反応性が低下していた。

以上の結果は WHO の 2019/20、2020/21、2021/22 北半球ワクチン選定会議及び 2019、2020、2021 南半球ワクチン選定会議に情報提供された。

## D. 考察

A(H1N1)pdm09: 2018/19 シーズン分離株はワクチン株のフェレット感染血清とよく反応したが、流行株とワクチン接種者血清との反応性をみると、海外のワクチン接種乳幼児血清は流行株との反応性が低下していた。これには HA の抗原部位に近接する S183P のアミノ酸置換が影響を及ぼしている可能性が考えられた。一部のワクチン接種者の血清は、この抗原性の差を区別するが、フェレット感染血清はこの抗原性の差を区別しないと考えられる。2019/20 シーズン分離株の 156K を持たないグループはワクチン株のフェレット感染血清とよく反応したが、156K を持つグループは反応性が大きく低下した。ヒト血清を用いた解析でも同様に、156K のアミノ酸置換は抗原性への影響が大きいと考えられた。また、フェレット感染血清とワクチン接種者血清でワクチン株と野外分離株の抗原性の差は明らかにできなかったが、海外からの報告では D187A と Q189E のアミノ酸置換を持つ株とこれらの置換を持たないワクチン株の抗原性の違いがワクチン接種者血清を用いた抗原性解析で報告されており、D187A、Q189E は抗原性に影響を及ぼす可能性がある。

B/Victoria 系統: 2018/19 シーズンは抗原性が異なる 3 つのグループの株が流行しており、ワクチン株と抗原性の一致する 2 アミノ酸欠損株にはワクチンの効果が期待できるが、Texas/02 類似株と 3 アミノ酸欠損株に対してはワクチン効果の減弱が危惧された。2019/20 シーズンはワクチン株 (B/Colorado/06/2017 類似、2 アミノ酸欠損) と抗原性が異なる 3 アミノ酸欠損株が野外分離株の大半を占めたことからワクチン効果の減弱が危惧された。また、いずれのシーズンもワクチン株の鶏卵馴化の過程で起こる糖鎖欠損による抗原性の変化がワクチン効果を減弱させることが推測された。

B/Yamagata 系統: 2018/19 シーズンの流行株はワクチン類似株が流行の主流であり、抗原性の変化は起っていないかった。しかしながら、いず

れのシーズンもワクチン株の鶏卵馴化の過程で起こる糖鎖欠損による抗原性の変化がワクチン効果を減弱させることが推測された。

## E. 結論

2018/19: WHO は 2019/20 シーズンのワクチン株を A(H1N1)pdm09 については、B/Brisbane/02/2018 (H1N1)pdm09 類似株、B/Victoria 系統については、B/Colorado/06/2017 類似株を、B/Yamagata 系統については B/Phuket/3073/2013 類似株を北半球の 2019/2020 シーズン推奨株とした。

2019/20: WHO は、A(H1N1)pdm09 については、A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019(H1N1)pdm09 類似株、B/Victoria 系統については、B/Washington/02/2019 類似株、B/Yamagata 系統は B/Phuket/3073/2013 類似株を北半球の 2020/2021 シーズン Egg-based Vaccine 推奨株とした。

2020/21: WHO は、A(H1N1)pdm09 については、156K のアミノ酸置換を有する 183P-5A2 のグループの A/Victoria/2570/2019 (H1N1)pdm09 類似株を、B/Victoria 系統と B/Yamagata 系統については、B/Washington/02/2019 類似株と B/Phuket/3073/2013 を北半球の 2021/2022 シーズン Egg-based Vaccine 推奨株とした。

## 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
- 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, 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
  - Takashita E, Ichikawa M, Morita H, Ogawa R, Fujisaki S, Shirakura M, Miura H, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Sugawara H, Sato A, Akimoto M, Mitamura K, Abe T, Yamazaki M, Watanabe S, Hasegawa H, Odagiri T. Human-to-Human Transmission of Influenza A(H3N2) Virus with Reduced Susceptibility to Baloxavir, Japan, February 2019. *Emerg Infect Dis*. 2019, 11, 25(11), 2108-2111
  - Takashita E, Kawakami C, Ogawa R, Morita H, Fujisaki S, Shirakura M, Miura H, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Ota A, Togashi H, Saito A, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamazaki M, Watanabe S, Odagiri T. Influenza A(H3N2) virus exhibiting reduced susceptibility to baloxavir due to a polymerase acidic subunit I38T substitution detected from a hospitalised child without prior baloxavir treatment, Japan, January 2019. *Euro Surveill*. , 24(12), 2019
  - Takashita E, Kawakami C, Morita H, Ogawa R, Fujisaki S, Shirakura M, Miura H, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamazaki M, Watanabe S, Odagiri T, On Behalf Of The Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Detection of influenza A(H3N2) viruses exhibiting reduced susceptibility to the novel cap-dependent endonuclease inhibitor baloxavir in Japan, December 2018. *Euro Surveill*. , 24(3), 2019
  - Takashita E, Morita H, Ogawa R, Nakamura K, Fujisaki S, Shirakura M, Kuwahara T, Kishida N, Watanabe S, Odagiri T. Susceptibility of influenza viruses to the novel cap-dependent endonuclease inhibitor baloxavir marboxil. *Front Microbiol*. ;6; 9, 3026, 2018
  - Kuwahara T, Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Takahashi H, Suzuki N, Kawaoka Y, Watanabe S, Odagiri T. Isolation of an Egg-Adapted Influenza A(H3N2) Virus without Amino Acid Substitutions at the Antigenic Sites of Its Hemagglutinin. *Jpn J Infect Dis*. , 71(3), 234-238, 2018
2. 学会発表
- Watanabe S, Nakamura K, Kishida N, Fujisaki S, Shirakura M, Takashita E, Kuwahara T, Sato A, Akimoto M, Miura H, Ogawa R, Sugawara H, Watanabe K, Morita H, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamazaki M, Odagiri T, Characterizations of circulating influenza viruses in the 2018/19 season and selection of vaccine viruses for the 2019/20 season The Influenza Surveillance Group of Japan 第 67 回日本ウイルス学会. 東京 2019 年 10 月
  - Kazuya Nakamura, Miki Akimoto, Seiichiro Fujisaki, Masayuki Shirakura, Hideka Miura, Noriko Kishida, Aya Sato, Tomoko Kuwahara, Emi Takashita, Hideki Hasegawa, Takato Odagiri and Shinji Watanabe

- Improved accuracy of antigenic characterization of recent influenza A/H3N2 isolates by modified focus reduction assay 第 67 回日本ウイルス学会. 東京 2019 年 10 月
- Emi Takashita, Hiroko Morita, Rie Ogawa, Seiichiro Fujisaki, Masayuki Shirakura, Hideka Miura, Kazuya Nakamura, Noriko Kishida, Tomoko Kuwahara, Hiromi Sugawara, Aya Sato, Miki Akimoto, Keiko Mitamura, Takashi Abe, Masataka Ichikawa, Masahiko Yamazaki, Shinji Watanabe, Takato Odagiri, Hideki Hasegawa, The Influenza Virus Surveillance Group of Japan Human-to-human transmission of influenza A(H3N2) viruses exhibiting reduced susceptibility to baloxavir due to a PA I38T substitution in Japan 第 67 回日本ウイルス学会. 東京 2019 年 10 月
  - Kishida,N Fujisaki,S Shirakura,M Takahashi,H Asanuma,H Nakamura,K Konomi,N Saito,R Odagiri,T Watanabe,S CHARACTERIZATION OF INFLUENZA A(H1N1)PDM09 VARIANTS SELECTED WITH HUMAN ANTISERA COLLECTED IN THE 2017/18 SEASON Options X for The Control of Influenza Singapore Aug.28-Sep.1 2019.
  - Kazuya Nakamura, Miki Akimoto, Seiichiro Fujisaki, Masayuki Shirakura, Hideka Miura, Noriko Kishida, Aya Sato, Tomoko Kuwahara, Emi Takashita, Hideki Hasegawa, Takato Odagiri and Shinji Watanabe Improved accuracy of antigenic characterization of recent influenza A/H3N2 isolates by modified focus reduction assay Options X for The Control of Influenza Singapore Aug.28-Sep.1 2019
  - Tomoko Kuwahara, Emi Takashita, Seiichiro Fujisaki, Masayuki Shirakura, Kazuya Nakamura, Noriko Kishida, Hitoshi Takahashi, Kayoko Sato, Shinji Watanabe and Takato Odagiri Biological significance of neuraminidase of egg-adapted influenza A(H3N2) virus without amino acid substitutions in the antigenic sites of its hemagglutinin Options X for The Control of Influenza Singapore Aug.28-Sep.1 2019.
  - Emi Takashita, Rie Ogawa, Hiroko Morita, Seiichiro Fujisaki, Masayuki Shirakura, Hideka Miura, Kazuya Nakamura, Noriko Kishida, Tomoko Kuwahara, Hiromi Sugawara, Aya Sato, Miki Akimoto, Keiko Mitamura, Takashi Abe, Masataka Ichikawa, Masahiko Yamazaki, Shinji Watanabe, Takato Odagiri\*, The Influenza Virus Surveillance Group of Japan Human-to-human transmission of influenza A(H3N2) viruses exhibiting reduced susceptibility to baloxavir due to a PA I38T substitution in Japan Options X for The Control of Influenza Singapore Aug.28-Sep.1 2019
  - Watanabe S, Nakamura K, Fujisaki S, Shirakura M, Takashita E, Kuwahara T, Kishida N, Sato A, Akimoto M, Miura H, Ogawa R, Sugawara H, Watanabe K, Morita H, Mitamura K, Abe T, Ichikawa M, Yamazaki M, Odagiri T, Characterizations of circulating influenza viruses in the 2017/18 season and selection of vaccine viruses for the 2018/19 season The Influenza Surveillance Group of Japan 第 66 回日本ウイルス学会. 京都. 2018 年 10 月
  - Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Shimazu Y, Shimomura T, Doi I, Watanabe S, Odagiri T, and The Influenza Virus Surveillance Group of Japan5 Detection of influenza A(H1N1)pdm09 viruses exhibiting enhanced cross-resistance to oseltamivir and peramivir in the 2015/16 season 第 66 回日本ウイルス学会. 京都. 2018 年 10 月

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし