

トピックス

中国でヒトに感染した鳥インフルエンザ A(H7N9) ウイルスの性状、検査系の開発およびワクチン開発とその問題点

小田切 孝人, 田代 真人

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

1. A(H7N9) ウイルスによるヒト感染事例の発生

2013年3月30日に中国当局から、揚子江河口周辺で鳥インフルエンザ A(H7N9) ウイルスによる3例のヒト感染事例が、WHO 国際保健規則（2003年のSARS流行を教訓に2005に改訂）に則ってWHO本部に報告され、翌日公表された¹⁾。その後、2月18日の上海における最初の感染例から3月中旬までは散発的に感染者が発生しており、3月下旬から4月中旬までは継続して多くの感染例が発生したことが、中国当局から遅滞なく報告された。毎日のように保健省から情報提供が行われ、WHO中国代表部との共同記者会見も頻繁に行われた。2003年前半に起こった中国南部広東省を発端とする重症急性呼吸器症候群(SARS)の流行の際には、中国が情報を隠匿したために国際的な初期対応が遅れ、世界中への感染拡大と多くの感染者と犠牲者を出すことになった。これへの批判に対して、今回の中国の対応は、迅速かつ透明性をアピールするものと評価されている。

遡り調査によると、初発例は2月18日に上海で起こっていた。感染者が出た地域は、中国東部に集中しており、2市10省（上海市、北京市、浙江省、江蘇省、安徽省、河南省、湖南省、山東省、福建省、江西省、河北省、広東省）および台湾からの患者発生報告がある²⁾。台湾の症例は、江蘇省に出張し、上海を経て帰国して3日後に発症した持ち帰り例である³⁾。

4月下旬からは症例報告が減少した。5月21日以降はし

ばらく新たな患者報告なく、7月下旬に広東省と北京での1例ずつの報告を最後に、夏季には患者発生は無かった。しかし10月に入って、浙江省で3例、広東省で1名の感染患者が発生しており、今後冬に向かって再び流行が起こることが懸念されている。現時点（12月6日）での公式発表では、感染患者143例、うち47例が死亡、6例が入院中で、90例が退院となっている。致死率は30%を越えており、SARSの際の10%弱を大きく上回っている。日本への感染者の入国や、パンデミックを起こす可能性も危惧されており、世界的にもその動向が注目されている。

2. A(H7N9) 感染患者と感染源・感染経路

患者の症例報告は、中国から多数の論文として公表されているが、同一患者が別の著者によって重複して報告されていたり、複数の症例をまとめた解析に用いられていたりしており、全体像の把握には注意を要する。

A(H7N9) ウイルス感染者の年齢分布は、45歳以上が75%を占め、年齢の中央値は59歳であり、20歳以下の小児や若年成人層には発症者が少ないのが特徴である⁴⁾。これは感染患者の90%以上が小児から若年成人層に集中しているA(H5N1)高病原性鳥インフルエンザとは大きく異なっている⁴⁾。また、患者の男女比は2.7:1と男性に多い。この傾向は大都市で顕著であるが、郊外では男女差は縮まっている。大都市では、高齢の男性が鳥市場に買い物に行く慣習に起因するとの説明もあるが、詳細は不明である。

確認された患者の約75%は、発症前2週間以内に生きた鳥を扱う市場に立ち入っていたとされており、これが感染リスクと考えられている⁵⁾。しかし、患者が行った鳥市場の大半においては、家禽や環境中からはA(H7N9)ウイルスは検出されていない。また、患者から分離されたウイルスと市場の家禽からの分離ウイルスとの間には、遺伝子上で明らかに区別される相違があり、市場における鳥からヒトへの感染が証明されているわけではない。さらに、患者の約25%には鳥との接触歴が無く、ウイルスの宿主動物、中間宿主やヒトへの感染経路については依然不明である。

連絡先

〒208-0011

東京都武蔵村山市学園4-7-1

国立感染症研究所

TEL: 042-561-0771(3937)

FAX: 042-561-6149

E-mail: todagiri@nih.go.jp

症例の61%が少なくとも一つの併存症を持っているが、サイトカインストームや急性呼吸促迫症候群 (ARDS) のリスク要因と考えられるものは少ない。初発症状が非特異的な疲労感などで、呼吸器感染症状を欠く場合も多く、これが初期対応の遅れの原因ともなっている。その後は発熱と咳が最もよく見られる症状であり、胸部X線像では、両側性のすりガラス状陰影と浸潤影が多く認められている⁶⁾。確定例の97%は、その後急激に肺炎に進展しており、その71%がARDSを発症していた⁶⁾。多くの患者では、様々なサイトカインやケモカインの過剰反応が認められ、広義のサイトカインストーム状態から多臓器不全に陥っている。

12月時点での感染患者143名のうち47名が死亡しており、致死率は33%となっている。後述するように、現在までのウイルスの性状解析からは、このような重篤な病態を説明することは困難である。

一方、5月27日までの報告例130名のうち、5名(4%)がインフルエンザ様疾患に対する病院外来定点サーベイランスで見つかっている。このうち2名が入院したが、5名全てが軽症から中等症であった⁷⁾。この結果は、かなりの数の軽症例が潜在している可能性を示唆している。急性呼吸器症状の外来受診患者に対する定点サーベイランスの報告を回顧的に検討した結果では、2万人以上のインフルエンザ様患者のうち6名(0.03%)が軽症のA(H7N9)症例であったことが報告されている⁸⁾。さらに、小児では不顕性感染の存在も確認されており、不顕性患者や軽症患者の多くは医療機関を受診しないので、感染者数は数万人レベルを越えているとの推測もある。重症例として報告された確定例は、中国国内の全症例のうちの氷山の一角であると思われる。このような知見を考慮すると、現時点での致死率33%は感染患者の全体像を反映したものではなく、実際には0.16~2.8%の範囲であろうとの推定もされている⁹⁾。

確定例に対する接触者調査からは、4例の家族内集団発生例(クラスター)において、限定的なヒト-ヒト感染が報告されているが、それ以上の継続的なヒト-ヒト感染は確認されていない²⁾。また、患者との濃厚接触者に対する調査でも、ウイルス感染例は見つかっておらず、現時点では、A(H7N9)ウイルスのヒトからヒトへの伝播効率は低いと判断されている。

一方、1129人の一般住民や養鶏農家に対する血清抗体調査においては、陽性者は殆ど見つかっていないので、ヒトにおける感染の広がりには極めて低いとされている。しかし、浙江省の鳥市場において4~5月に採血した血清を用いた調査では、健常な鳥取り扱業者396名のうち6%が抗体陽性であった¹⁰⁾。このことから、鳥からヒトへの不顕性感染が起こっていたことが示唆されている。

中国におけるヒトへの感染源を特定するために、患者発生地の周囲の養鶏場や農場のニワトリ約90万羽が調べられたが、すべてA(H7N9)ウイルス感染は陰性であり、ま

た患者発生地域でも、一部の鳥市場の53羽に感染が確認されたのみであった。また、4150頭のブタが調査されたが、全て陰性であった¹¹⁾。感染症例の75%は発症日前14日以内に家禽との接触歴があることや⁵⁾、生鳥市場の家禽を殺処分し、市場を閉鎖することにより上海市、江蘇省、浙江省では感染者が激減したことから^{12,13)}、感染源としては生鳥市場の家禽が疑われている。しかし、ヒトから分離されたA(H7N9)ウイルスには、鳥からのA(H7N9)分離株には無い変異があり¹⁴⁾、哺乳動物などの中間宿主の存在も考えられる。

後述するように、A(H7N9)ウイルスがかなり哺乳動物に馴化していることから、鳥市場に出入りする哺乳動物(ネコ、ネズミ、イヌなどの小動物)の間でウイルスが伝播維持していることも懸念される。ヒトへの伝播経路は今のところ不明である。

何れにしても、鳥市場の閉鎖によって感染源や感染経路を断ったことは、有効な対策と評価されよう¹⁵⁾。しかし、その後の患者発生の減少については、高病原性A(H5N1)ウイルスが毎年繰り返しているように、夏季に向かってA(H7N9)ウイルスの活動が鈍化したことに起因するのかもしれない。後者の場合には、冬季に向かって再出現、再流行の可能性が懸念される。

3. A(H7N9)ウイルスの遺伝子解析から推定される特徴とリスク評価

3月31日に中国疾病予防制御センター(CDC)が、最初の感染患者3例から分離されたA(H7N9)ウイルスの遺伝子全塩基配列を、国際インフルエンザ遺伝子データベース(GISAID)に登録して公表した。さらに、その後に発症した患者や市場の家禽などから分離された数株のA(H7N9)ウイルスの塩基配列が、4月上旬から中国CDC、患者発生のある省・市のCDC、ハルピン国立獣医学研究所などから相次いでGISAIDに登録された。

これに即応して、国立感染症研究所(感染研)、東京大学医学研究所(東大医科研)、動物衛生研究所(動衛研)の共同研究チームは、遺伝子配列から推定されるウイルスの性状予測と、それに基づくリスク評価を行った¹⁴⁾。その結果を4月1日から順次、中国CDCに還元するとともに、WHO世界インフルエンザ監視対応ネットワークに報告して共有した。このような迅速なリスク評価と公表は、新型インフルエンザの拡大に備えた各国での事前準備や戦略策定にとって極めて重要である。分離ウイルスが関係機関へ配布されるには時間がかかるので、それ以前に緊急に実施すべき新型インフルエンザ危機への初期対応である。欧米ではイースター休暇に重なっていたために、このような緊急対応がほとんど出来ず、日本からの情報発信が大きな国際貢献を果たすことになった。

本来ならば、ウイルスを保有する中国のWHOインフル

エンザ協力センター (WHO-CC) から、速やかに情報発信されるべきであるが、患者発生への対応やウイルス分離、海外機関へのウイルスの発送など多忙を極めていたため、4月11日に論文として公表されるまでは、遺伝子塩基配列の解析に関する情報は広く共有されなかった。このため、日本のWHO-CCである感染研による解析結果がWHOにおけるリスク評価に活用され¹⁶⁾、これが直ちに公表されることになった。

一方、WHO インフルエンザ監視対応ネットワーク内で共有されたこれらの解析結果に基づく記名記事が、いち早くWHO ヨーロッパ地域事務局のホームページに公表された。これが中国CDC および感染研に対して無断でなされたために、中国側から不快感が聞かれた。感染研グループによる遺伝子解析論文の投稿に際しては、中国CDCの研究者に原稿を送って共著者となるよう依頼した。しかしその際に、彼らは既に別の論文を投稿しており、二重投稿になるので遠慮すると言ってきた。その修正稿が受理されて公表されるまで、我々の論文¹⁴⁾の発表を待つようにと依頼してきた。初期対応における一連の水面下での動きは、遺伝子情報・疫学情報・患者情報などを公開して公衆衛生対応への活用貢献することと、論文発表のプライオリティを追及することの、相克する思惑が背後に感じられた。

中国CDC等によって公表されたウイルス全分節遺伝子RNAの塩基配列から推定されたウイルスの性状は¹⁴⁾、

- 1) A(H7N9)ウイルスは、少なくとも3種類の異なる鳥インフルエンザウイルスの遺伝子分節の再集合からできた新しいウイルスである。HAとNA遺伝子分節はそれぞれ異なる未同定の鳥ウイルスに由来しており、それ以外の内部遺伝子は、中国で広く定着している鳥A(H9N2)ウイルスのものである。後に、香港大学グループが197株のA(H7N9)分離株遺伝子の進化系統樹解析から、かなり複雑な再集合過程を経て発生したことを推察している¹⁷⁾。
- 2) ヒトからの分離株の大半は、①PB2ポリメラーゼ遺伝子は、ヒト型の季節性インフルエンザウイルスに共通して見られる627K置換(627番目のアミノ酸がリジンに置換)を持つ。従って、ヒトの上気道の体温(34℃前後で、鳥の体温42℃よりも低い)での増殖能が高まっていると推定された。②HA遺伝子は217L/I/P置換(H7ナンバリング)を持つので、ヒト型レセプター(SA α 2-6Gal)への結合能を備えていることが推定された。すなわち、鳥型ウイルスからヒト型ウイルスへの馴化に重要な遺伝子変異が進んでいると判断された。しかし、一部のヒト分離株や鳥分離株では、依然、鳥型ウイルス特有のPB2-627E、HA-217Qをもっていた。このことから、中国国内では、ヒト型へ馴化が進んだA(H7N9)ウイルスと、鳥型の性質を維持したA(H7N9)ウイルスが混合流行していると考えられた。
- 3) A(H7N9)ウイルスは、A(H5N1)高病原性鳥インフルエン

ザウイルスに見られるような強い病原性を規定する遺伝子マーカーや変異をもたない。HAの解列部位は、単一のアルギニン残基をもつ低病原性鳥インフルエンザウイルスタイプである。従って、鳥では呼吸器と消化管の局所感染に留まり、不顕性感染であろう。ヒトを含む哺乳動物に対しても、全身感染を起こすことは無く、ウイルス自身の病原性は低いと推定された。

- 4) NA遺伝子は1株(A/Shanghai/1/2013)を除いて全て292Rを持ち、ノイラミニダーゼ(NA)阻害薬に感受性を示すことが推定された。一方、すべてのウイルスのM2にはアマンタジン耐性変異(S31N)が存在するので、アマンタジン耐性と判断された。

このようにウイルス遺伝子解析情報から推定されるリスクを総合的に評価すると、A(H7N9)ウイルス自身は典型的な鳥の低病原性ウイルスに相当するものであり、家禽では不顕性感染に留まるので、感染した鳥を検知することは極めて難しいと判断された。

一方、ヒトに対する病原性も、季節性インフルエンザと同程度に低い可能性が推定された。しかし、このHAおよびNAに対する防御免疫を持たない場合には、感染患者は季節性インフルエンザよりも強い症状を呈することや、健康被害が生じる可能性はある。

パンデミックの可能性に関しては、ウイルスの性状以外にも様々な要因を考慮せねばならないが、A(H7N9)ウイルス遺伝子の一部には哺乳動物に馴化した変異が存在することから、ヒトの社会で伝播流行するリスクは決して低いものではない。むしろ現在のA(H5N1)高病原性鳥インフルエンザウイルスよりも高いと推測された。

4. A(H7N9)ウイルスの性状解析に基づくリスク評価

4月10日に、ヒト分離株A/Anhui/1/2013が中国CDCから感染研に分与され、次週にはA/Shanghai/1/2013株も追加分与された。そこで、既に遺伝子塩基配列情報に基づいて開発を終えていたRT-PCR遺伝子診断系の性能評価や、reverse genetic (RG)法によるワクチン候補株の開発が直ちに開始された。同時に、東大医科研、感染研、動衛研、北大獣医学部をコアにした14研究室50人の研究者が参加した共同研究グループにより、様々な動物感染実験での病原性の評価、glycan-microarray法によるレセプター結合特性の解析、フェレットでの飛沫感染伝播を検証する感染実験、抗インフルエンザ薬の感受性試験および耐性ウイルスの解析、各年齢層のヒトにおける抗体保有状況など、公衆衛生対応に必要な多項目にわたる性状解析が、各分担者によって同時進行で実施された。

上述した最初の遺伝子情報から推定されたA(H7N9)ウイルスの特性は、実際のウイルスを用いた性状解析実験によって、5月中旬までにはほぼ全てが確認され、WHOや国内外の研究者にも情報共有された。一方、これらの結果は、

直ちに多岐にわたる多くの情報を含んだ論文として投稿された。これは、論文受理からしばらく時間が経った7月中旬になって公表されたが¹⁸⁾、ほぼ同時期に、中国や海外の研究グループからもA(H7N9)ウイルスの個々の性状に関する多数の論文が相次いで発表された。これについては、幾つかの中国グループによる論文の投稿、審査、出版のために、編集者や出版社による時間調整などがなされたことは、記憶しておくべきであろう。

我われの共同研究グループの成果を含む現在までの報告に基づく¹⁸⁻²⁷⁾、A(H7N9)ウイルスの主な特性は以下に要約される。

- 1) ニワトリ、ウズラ、アヒルなどの家禽に対しては低病原性であり、感染した家禽は発病せず不顕性感染に終始する。
- 2) ブタに感染するが、ウイルス増殖効率は悪く、不顕性感染である。ブタ-ブタ間での感染伝播は見られない。
- 3) ヒトから分離されたA(H7N9)ウイルスは、マウスやフェレットでは、肺でウイルスが効率良く増殖し、体重減少を起こす。哺乳動物に対する病原性は、鳥型のA(H7N9)ウイルスよりはやや高い傾向を示すが、基本的にはヒトの季節性インフルエンザウイルスとほぼ同様である。
- 4) 鳥型(SA α 2-3Gal)およびヒト型(SA α 2-6Gal)レセプターの両方に結合できる。また、ヒト上気道由来の培養細胞において、33°Cでの増殖性は季節性ウイルスと同程度に高く、鳥型ウイルスに比べてより低温での増殖効率がよい。
- 5) フェレットを用いた感染伝播実験では、A(H7N9)ウイルスは、季節性ウイルスほど効率は良くはないが、フェレット間で飛沫感染伝播を起こす。
- 6) NA阻害薬に対しては感受性を示す。しかし、マウスのウイルス攻撃試験では、A(H1N1)pdm09やA(H3N2)亜型の季節性インフルエンザウイルスに比較して、A(H7N9)ウイルスは感受性が多少低いことが示唆されている。一方、薬剤治療を受けた患者からは、オセルタミビル、ペラミビルに対する極めて強い交差耐性変異R292Kをもつ耐性株が、比較的高頻度に検出されている。通常の数千倍というIC50値から判断すると、投与量を2倍に増量した程度では全く効果は無いであろう。また、臨床分離株には、R292K耐性変異株と感受性野生株(292R)とが混在している場合がある。その場合には、少数グループの耐性遺伝子変異は通常の遺伝子塩基配列解析手技では検出されない可能性が高く、さらに耐性株の割合が70%以上の比率を占めないと、薬剤感受性試験では感受性として捉えられてしまう。従って、耐性株が出現していても、多くの症例で見逃される可能性がある。
- 7) 昨年の夏に様々な年齢層の日本人から採血された500検体の血清について、A/Anhui/1/2013(H7N9)株に対するHI抗体を調査した結果、抗体陽性例は存在しなかった。

検出感度以下の低抗体価をもつ抗体の存在は否定できないが、ほとんどの日本人は防御レベルの抗体は持っていないと考えられる。

- 8) 日本の環境省が、4月下旬から5月上旬にかけて、シギ・チドリ類が飛来する国内の干潟、サギ類の集団繁殖地等において野鳥の調査を実施した。その結果、7か所から計338検体が採取されたが、A(H7N9)ウイルスは検出されなかった。調査件数が少ないので、これを以って国内への侵入を否定するわけにはいかないが、今後も、渡り鳥における国内へのA(H7N9)ウイルスの持ち込みをモニターしてゆく必要がある。

5. A(H7N9)ウイルスによるパンデミックのリスク、健康被害

ウイルス遺伝子解析や分離株の性状解析の成績から、A(H7N9)ウイルスによるパンデミックの可能性と健康被害について総合的に評価すると、

- 1) A(H7N9)ウイルスは、既にヒト型への馴化に必要な重要な変異の多くを遂げているが、未だ効率良くヒト-ヒト間の感染伝播能力を獲得していない。従って、現時点では、パンデミックが起こる状況が差し迫っているわけではない。
- 2) しかし、ウイルス遺伝子に僅かの変異が追加されることによって、ヒト-ヒト間で感染伝播して流行拡大する性状を獲得する可能性がある。
- 3) ウイルス自身は低病原性ウイルスであり、また強い病原性を規定する既知の遺伝子シグナルは存在しないので、ヒトにおいても強い病原性を示すとは考えにくい。従って、現在のA(H7N9)ウイルスがヒトでの伝播性を獲得してパンデミックを起こしたとしても、中程度以下の健康被害に留まり、甚大な健康被害は生じないと思われる。
- 4) 一方、中国の高齢者における重篤な肺炎やサイトカインストームを起こす機序については不明である。もしパンデミックが生じた際には、高齢者に対する対応を優先して考慮すべきであろう。
- 5) 家禽での感染伝播が継続すると、低病原性である現在のA(H7N9)ウイルスが高病原性に変化することが危惧される。16亜型の鳥インフルエンザウイルス(最近中米のコウモリで発見されたH17,H18亜型については、鳥での感染は報告されていない)のうち、低病原性のH5とH7亜型ウイルスについては、家禽での流行伝播が継続すると、半年から1年以内に、HA遺伝子の解列部位に塩基性アミノ酸の連続が挿入される突然変異が生じ、高病原性ウイルスに変化することがしばしば経験されている。現時点では、メキシコにおけるA(H7N3)ウイルスが大きな問題となっている。従って、H5またはH7亜型ウイルスが家禽で検出された場合には、たとえ低病原性であろうとも、直ちに殺処分等の対応を執るように、

国際獣疫事務局および家畜伝染病予防法などで厳しく規制されている。もし A(H7N9) ウイルスにこのような変化が起これば、家禽に対する病原性が発現して、ニワトリなどを大量死させることになり、容易に検知されるようになるであろう。一方、強毒化した A(H7N9) ウイルスは、ヒトに対しても現在以上の強い病原性を示すことが想定される。過去の高病原性鳥 H7 亜型ウイルスのヒト感染例では、ほとんどの患者は結膜炎やかぜ症候群に留まっているが、このようなウイルスがパンデミックを起せば、現時点でのリスク評価を越える健康被害と社会的影響が予想される。

これらの知見から、このウイルスの今後の流行状況や性状変化を継続的に監視すると共に、パンデミックの可能性を視野において、ワクチン開発などの事前準備を遅滞なく進める必要がある。

6. A(H7N9) ウイルス感染診断法の開発

A(H7N9) ウイルスの遺伝子全塩基配列が 3 月 31 日に中国 CDC から GISAID に公開されたことから、感染研は直ちに RT-PCR 検査用のプライマーとプローブの設計に着手した。陽性コントロール RNA は、動物インフルエンザウイルス系統保存事業で収集してきたウイルスライブラリーの中から、今回の A(H7N9) ウイルス HA 遺伝子に比較的近い配列をもつ国内分離の低病原性鳥インフルエンザウイルス (A/duck/Fukui/1/2004, H7N7) から調整された。

4 月 10 日に中国 CDC から A/Anhui/1/2013 株が入手できたことから、直ちに設計してあったプライマーとプローブの適性と感度が検証され、その有用性が確認された。これに応じて、これらの RT-PCR 用試薬は、メーカーから直送で全国の地方衛生研究所（地衛研）と検疫所に配布された。これと並行して、陽性コントロール RNA と検査診断プロトコルが感染研から配布され、また 4 月 15 日には厚生労働省健康局から『患者発生の際の標準的対応フロー』と検査依頼の事務連絡が全国地方自治体に発出された。国内では、A(H7N9) ウイルス RT-PCR 検査系の構築が 4 月 16 日までに完了した。さらに、この A(H7N9) インフルエンザウイルス遺伝子診断キットは、WHO インフルエンザ準備対応ネットワークに所属する多くの海外の国内インフルエンザセンターにも配布された。

中国から A(H7N9) ウイルスを入手してから 1 週間、患者発生の公式発表から 2 週間あまりで全国規模の検査体制が構築できたが、これは世界最速での日本における検査危機対応であった。その背景には、2009 年のパンデミック時の経験と基盤が生かされていること、および日頃から培ってきた感染研-地衛研-検疫所の連携網が奏功しているからである。

その後感染研では、検査上の交差汚染による誤判断を排除するために、臨床検体 RNA と陽性コントロールを識別

できる遺伝子マーカー入りのコントロール RNA を開発し、これらが地衛研と検疫所に追加配布された。感染研の A(H7N9) ウイルス RT-PCR プロトコルは、改訂に応じて WHO インフルエンザ監視対応ネットワークとも迅速に共有され、また国内研究機関や民間検査機関への情報提供として、感染研 HP にも公開されている²⁸⁾。

一方、台湾からの情報によると、感染初期の患者では、上気道からのウイルス遺伝子検出率が極めて低いので、喀痰を検体とすべきとされている。そこで、RT-PCR 検査のための喀痰の前処理条件についても検討し、その方法についても地衛研へ情報提供した。

さらに、一般医療機関で使われているインフルエンザウイルス迅速診断キット 20 種類についても、A(H7N9) ウイルスを用いて感度評価が行われた。ウイルス浮遊液を用いる限り、何れの市販キットも、A(H7N9) ウイルスに対しては季節性インフルエンザウイルスと同程度の検出感度を示すことが確認されている。この情報は WHO と共有されると共に国内向けには感染研 HP で公開されている²⁹⁾。

7. A(H7N9) ワクチンの開発と問題点、接種戦略

3 名の死亡例をもたらした新たなウイルスの出現に応じて、各国は A(H7N9) ワクチン製造株の開発を進めることとなった。まず先鞭を切ったのは、米国政府の生物医学先端研究開発機構 (BARDA) の支援を受けた Novartis 社で、中国 CDC が公表したウイルス遺伝子塩基配列情報に基づいて、A/Shanghai/2/2013 株の HA と NA 遺伝子の cDNA を人工合成した。米国 CDC が、RG 法を用いて、これらの人工合成遺伝子と高増殖性の A/PR/8 株の内部遺伝子との交雑体を作製した。これに関しては、WHO のパンデミックインフルエンザ準備基本体制 (PIP-FW) において、遺伝子情報に関する知的財産権の取り扱いが未解決の課題として残されているので、広く使用されるには至っていない。

一方、日本の感染研、英国の国立生物製剤標準化規制研究所 (NIBSC) は、中国から分与された A/Anhui/1/2013 株を用いて、この HA および NA 遺伝子から cDNA を転写し、同じく RG 法を用いて、A/PR/8 株の内部遺伝子との交雑体を作製した。これは、PIP-FW の規定内で対応可能なので、ウイルスの所有に関する知財問題などは事前に解決されている。

現時点では、これらの 2 種類のワクチン製造株 6 株が準備されており、WHO から公表されている³⁰⁾。これら製造候補株の中では、感染研が開発したワクチン株 NIIDRG10.1 が、発育鶏卵におけるウイルス増殖効率および遺伝的・抗原的安定性の点で一番優れていることから、海外ワクチン製造所からも注目されている。これを用いてワクチンを製造するには、ワクチン製造所と Wisconsin 大学との間で、RG 技術に関する特許についての契約が必要である。

ワクチン製造用の種ウイルスの準備は比較的短時間に順

調に進んだが、A(H7N9)ワクチンには解決すべき大きな障害が立ちだかっている。第1は、H7亜型ウイルス自身の免疫原性が極めて低いという問題である。H7亜型ウイルスは、季節性A(H3N2)亜型のみならず、A(H1N1)pdm09やA(H9N2)亜型ウイルスに比べて、ヒトにおいて著しく免疫原性が低い。米国で2011年に行われたA(H7N1)やA(H7N7)試験ワクチンの臨床試験においては、現行ワクチン剤型のスプリットワクチン(15 µg HA抗原量)では、2回接種しても殆ど血中抗体が誘導されなかった³¹⁾。さらに、ワクチン抗原量を6倍量の90 µgHAに増やして2回接種しても殆ど免疫原性の改善が見られず³²⁾、一般的に免疫原性の低いA(H5N1)ワクチンよりもさらに悪い成績であった。

これはH7ウイルスのHAタンパク上のT細胞エпитープ数が、A(H1N1)pdm09やA(H3N2)ウイルスと比べて極端に少ないことに起因すると解釈されている³³⁾。HIVなどと共通する性質かもしれない。このため、A(H7N9)ワクチンには、HAタンパク自身にT細胞エпитープを挿入して改変するか、適切なアジュバントの添加が必須であると考えられている。現在感染研では、日本人の多数を占めるHLA型DRBと反応するようなT細胞エпитープを持つ変異HAタンパクを作製し、ヒト免疫系を導入されたSCIDマウスを用いてこの検証を進めている。一方、現在米国の2ヶ所の施設で、A(H7N9)ワクチン抗原量を増量させ、さらにMF59またはAS03アジュバント添加による免疫原性の増強効果を評価するための臨床試験が、700~1000人規模で実施されており、来年12月頃に最初の結果が得られる予定という³⁴⁾。わが国でもA(H7N9)ワクチンの非臨床試験、臨床試験が2014年1月から開始されることが決まっており、それに向けて発育鶏卵増殖系で試験用ワクチン製造が行われている。したがって、実用化に向けたA(H7N9)ワクチンの開発には、どの国もまだ検討時間が必要である。もしA(H7N9)ウイルスの流行が今冬に起こった場合には、ワクチンはタイムリーに供給されない可能性が高いことを認識しておく必要がある。

第2の問題は、デングウイルスによる再感染で知られている抗体依存性増強作用(antibody dependent enhancement)などの免疫病理反応(immunopathology)に対する懸念である³⁵⁾。中国におけるA(H7N9)ウイルス感染による重症例の大半が60歳を中心とする高齢者層に偏っているのに対して、小児や若年層では発症例は少なく、すべて軽症である¹¹⁾。高齢者の多くが基礎疾患を持っていたとしても、それらが高頻度にサイトカインストームやARDSを起こす要因とは考えにくい。そこで、高齢者は過去に、現在のA(H7N9)ウイルスと免疫学的に交差するウイルスに暴露された経験を持っており、この際に獲得した免疫記憶が、今回のA(H7N9)ウイルスに反応する免疫病理学機序により、重症化しているとの作業仮説が提起されている。このような交叉性免疫の存在は実証されていないが、それが症状

の悪化を助長しているかも知れない。

もしもこの仮説が正しいとすれば、A(H7N9)ワクチンの接種によって免疫を獲得することは、かえって症状の悪化を促進することにもなりかねない。臨床試験におけるワクチン接種の際には特段の副反応が起こらなくても、その後実際にウイルスの感染暴露を受けた際に大きな問題となる可能性も否定できない。この点に関しても慎重に検討する必要がある。

参考文献

- 1) World Health Organization: Human infection with influenza A(H7N9) virus in China. http://www.who.int/csr/don/2013_04_01/en/index.html
- 2) World Health Organization: Number of confirmed human cases of avian influenza A(H7N9) reported to WHO. Report 10 data in WHO/HQ as of 25 October 2013. http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/influenza_h7n9/10u_ReportWebH7N9Number.pdf
- 3) World Health Organization: Human infection with avian influenza A(H7N9) virus - update. http://www.who.int/csr/don/2013_04_25/en/index.html
- 4) Cowling BJ, Jin L, Lau EH, Liao Q, Wu P, Jiang H, Tsang TK, Zheng J, Fang VJ, Chang Z, Ni MY, Zhang Q, Ip DK, Yu J, Li Y, Wang L, Tu W, Meng L, Wu JT, Luo H, Li Q, Shu Y, Li Z, Feng Z, Yang W, Wang Y, Leung GM, Yu H: Comparative epidemiology of human infections with avian influenza A H7N9 and H5N1 viruses in China: a population-based study of laboratory-confirmed cases. *Lancet*. 13;382(9887):129-37, 2013 Jul
- 5) Li Q, Zhou L, Zhou M, Chen Z, Li F, Wu H, Xiang N, Chen E, Tang F, Wang D, Meng L, Hong Z, Tu W, Cao Y, Li L, Ding F, Liu B, Wang M, Xie R, Gao R, Li X, Bai T, Zou S, He J, Hu J, Xu Y, Chai C, Wang S, Gao Y, Jin L, Zhang Y, Luo H, Yu H, Gao L, Pang X, Liu G, Shu Y, Yang W, Uyeki TM, Wang Y, Wu F, Feng Z: Preliminary Report: Epidemiology of the Avian Influenza A (H7N9) Outbreak in China. *N Engl J Med*. Apr 24, 2013. DOI: 10.1056/NEJMoa1304617
- 6) Gao HN, Lu HZ, Cao B, Du B, Shang H, Gan JH, Lu SH, Yang YD, Fang Q, Shen YZ, Xi XM, Gu Q, Zhou XM, Qu HP, Yan Z, Li FM, Zhao W, Gao ZC, Wang GF, Ruan LX, Wang WH, Ye J, Cao HF, Li XW, Zhang WH, Fang XC, He J, Liang WF, Xie J, Zeng M, Wu XZ, Li J, Xia Q, Jin ZC, Chen Q, Tang C, Zhang ZY, Hou BM, Feng ZX, Sheng JF, Zhong NS, Li LJ: Clinical findings in 111 cases of influenza A (H7N9) virus infection. *N Engl J Med*. 368(24):2277-85, 2013
- 7) Ip DK, Liao Q, Wu P, Gao Z, Cao B, Feng L, Xu X, Jiang H, Li M, Bao J, Zheng J, Zhang Q, Chang Z, Li Y, Yu J, Liu F, Ni MY, Wu JT, Cowling BJ, Yang W, Leung GM, Yu H: Detection of mild to moderate influenza A/H7N9 infection by China's national sentinel surveillance system for influenza-like illness: case series. *BMJ*.;346:f3693, 2013
- 8) Xu C, Havers F, Wang L, Chen T, Shi J, Wang D, Yang

- J, Yang L, Widdowson MA, Shu Y: Monitoring avian influenza A(H7N9) virus through national influenza-like illness surveillance, China. *Emerg Infect Dis.* 19(8):1289-92, 2013
- 9) Yu H, Cowling BJ, Feng L, Lau EH, Liao Q, Tsang TK, Peng Z, Wu P, Liu F, Fang VJ, Zhang H, Li M, Zeng L, Xu Z, Li Z, Luo H, Li Q, Feng Z, Cao B, Yang W, Wu JT, Wang Y, Leung GM: Human infection with avian influenza A H7N9 virus: an assessment of clinical severity. *Lancet.* 382(9887):138-45, 2013.
 - 10) Yang S, Chen Y, Cui D, Yao H, Lou J, Huo Z, Xie G, Yu F, Zheng S, Yang Y, Zhu Y, Lu X, Liu X, Lau SY, Chan JF, To KK, Yuen KY, Chen H, Li L: Avian-Origin Influenza A(H7N9) Infection in Influenza A(H7N9)-Affected Areas of China: A Serological Study. *J Infect Dis.* 2013 Sep 18. DOI: 10.1093/infdis/jit430
 - 11) Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Emergence of avian influenza A(H7N9) virus causing severe human illness - China, February-April 2013. *Morb Mortal Wkly Rep.* 62(18):366-71, 2013
 - 12) Murhekar M, Arima Y, Horby P, Vandemaële KA, Vong S, Zijian F, Lee CK, Li A, World Health Organization Regional Office for the Western Pacific Event Management Team: Avian influenza A(H7N9) and the closure of live bird markets. *Western Pac Surveill Response J.* 4(2):4-7, 2013
 - 13) Fang LQ, Li XL, Liu K, Li YJ, Yao HW, Liang S, Yang Y, Feng ZJ, Gray GC, Cao WC: Mapping spread and risk of avian influenza A (H7N9) in China. *Scientific Reports* 3, Article number: 2722, 2012, 0.1038/srep02722
 - 14) Kageyama T, Fujisaki S, Takashita E, Xu H, Yamada S, Uchida Y, Neumann G, Saito T, Kawaoka Y, Tashiro M: Genetic analysis of novel avian A(H7N9) influenza viruses isolated from patients in China, February to April 2013. *Euro Surveill.* 18(15):20453, 2013
 - 15) Yu H, Wu JT, Cowling BJ, Liao Q, Fang VJ, Zhou S, Wu P, Zhou H, Lau EH, Guo D, Ni MY, Peng Z, Feng L, Jiang H, Luo H, Li Q, Feng Z, Wang Y, Yang W, Leung GM: Effect of closure of live poultry markets on poultry-to-person transmission of avian influenza A H7N9 virus: an ecological study. *Lancet.* 2013 Oct 30. doi:pii: S0140-6736(13)61904-2. 10.1016/S0140-6736(13)61904-2
 - 16) World Health Organization: Overview of the emergence and characteristics of the avian influenza A(H7N9) virus. 31 May 2013. http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/influenza_h7n9/WHO_H7N9_review_31May13.pdf
 - 17) Lam TT, Wang J, Shen Y, Zhou B, Duan L, Cheung CL, Ma C, Lycett SJ, Leung CY, Chen X, Li L, Hong W, Chai Y, Zhou L, Liang H, Ou Z, Liu Y, Farooqui A, Kelvin DJ, Poon LL, Smith DK, Pybus OG, Leung GM, Shu Y, Webster RG, Webby RJ, Peiris JS, Rambaut A, Zhu H, Guan Y: The genesis and source of the H7N9 influenza viruses causing human infections in China. *Nature.* 10;502(7470):241-4, 2013
 - 18) Watanabe T, Kiso M, Fukuyama S, Nakajima N, Imai M, Yamada S, Murakami S, Yamayoshi S, Iwatsuki Horimoto K, Sakoda Y, Takashita E, McBride R, Noda T, Hatta M, Imai H, Zhao D, Kishida N, Shirakura M, de Vries RP, Shichinohe S, Okamatsu M, Tamura T, Tomita Y, Fujimoto N, Goto K, Katsura H, Kawakami E, Ishikawa I, Watanabe S, Ito M, Sakai-Tagawa Y, Sugita Y, Uraki R, Yamaji R, Einfeld AJ, Zhong G, Fan S, Ping J, Maher EA, Hanson A, Uchida Y, Saito T, Ozawa M, Neumann G, Kida H, Odagiri T, Paulson JC, Hasegawa H, Tashiro M, Kawaoka Y: Characterization of H7N9 influenza A viruses isolated from humans. *Nature.* 26;501(7468):551-5, 2013
 - 19) Zhou J, Wang D, Gao R, Zhao B, Song J, Qi X, Zhang Y, Shi Y, Yang L, Zhu W, Bai T, Qin K, Lan Y, Zou S, Guo J, Dong J, Dong L, Zhang Y, Wei H, Li X, Lu J, Liu L, Zhao X, Li X, Huang W, Wen L, Bo H, Xin L, Chen Y, Xu C, Pei Y, Yang Y, Zhang X, Wang S, Feng Z, Han J, Yang W, Gao GF, Wu G, Li D, Wang Y, Shu Y: Biological features of novel avian influenza A (H7N9) virus. *Nature.* 25;499(7459):500-3, 2013
 - 20) Richard M, Schrauwen EJ, de Graaf M, Bestebroer TM, Spronken MI, van Boheemen S, de Meulder D, Lexmond P, Linster M, Herfst S, Smith DJ, van den Brand JM, Burke DF, Kuiken T, Rimmelzwaan GF, Osterhaus AD, Fouchier RA: Limited airborne transmission of H7N9 influenza A virus between ferrets. *Nature.* 26;501(7468):560-3, 2013
 - 21) Zhu H, Wang D, Kelvin DJ, Li L, Zheng Z, Yoon SW, Wong SS, Farooqui A, Wang J, Banner D, Chen R, Zheng R, Zhou J, Zhang Y, Hong W, Dong W, Cai Q, Roehrl MH, Huang SS, Kelvin AA, Yao T, Zhou B, Chen X, Leung GM, Poon LL, Webster RG, Webby RJ, Peiris JS, Guan Y, Shu Y: Infectivity, transmission, and pathology of human-isolated H7N9 influenza virus in ferrets and pigs. *Science.* 12;341(6142):183-6, 2013
 - 22) Xiong X, Martin SR, Haire LF, Wharton SA, Daniels RS, Bennett MS, McCauley JW, Collins PJ, Walker PA, Skehel JJ, Gamblin SJ: Receptor binding by an H7N9 influenza virus from humans. *Nature.* 25;499(7459):496-9, 2013
 - 23) Tharakaraman K, Jayaraman A, Raman R, Viswanathan K, Stebbins NW, Johnson D, Shriver Z, Sasisekharan V, Sasisekharan R: Glycan receptor binding of the influenza A virus H7N9 hemagglutinin. *Cell.* 20;153(7):1486-93, 2013
 - 24) Belser JA, Gustin KM, Pearce MB, Maines TR, Zeng H, Pappas C, Sun X, Carney PJ, Villanueva JM, Stevens J, Katz JM, Tumpey TM: Pathogenesis and transmission of avian influenza A (H7N9) virus in ferrets and mice. *Nature.* 26;501(7468):556-9, 2013
 - 25) Kreijtz JH, Kroeze EJ, Stittelaar KJ, de Waal L, van Amerongen G, van Trierum S, van Run P, Bestebroer T, T Kuiken, Fouchier RA, Rimmelzwaan GF, Osterhaus AD: Low pathogenic avian influenza A(H7N9) virus causes high mortality in ferrets upon intratracheal challenge: A model to study intervention strategies. *Vaccine.* 9;31(43):4995-9, 2013
 - 26) Yen HL, McKimm-Breschkin JL, Choy KT, Wong DD, Cheung PP, Zhou J, Ng IH, Zhu H, Webby RJ, Guan Y, Webster RG, Peiris JS: Resistance to neuraminidase

- inhibitors conferred by an R292K mutation in a human influenza virus H7N9 isolate can be masked by a mixed R/K viral population. *MBio*. 4(4), 2013. doi:p11:e00396-13. 10.1128/mBio.00396-13
- 27) Baranovich T, Burnham AJ, Marathe BM, Armstrong J, Guan Y, Shu Y, Peiris JM, Webby RJ, Webster RG, Govorkova EA: The Neuraminidase Inhibitor Oseltamivir is Effective against A/Anhui/1/2013 (H7N9) Influenza Virus in a Mouse Model of Acute Respiratory Distress Syndrome. *J Infect Dis*. 2013 Oct 16
- 28) 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：鳥インフルエンザ A(H7N9) ウイルス検出マニュアル（第2版）（平成25年6月更新）http://www.nih.go.jp/niid/images/flu/H7N9manual/h7n9_manual_v2.pdf
- 29) 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：国内で市販されているインフルエンザ迅速診断キットの鳥インフルエンザ A(H7N9) ウイルスに対する反応性について．<http://www.nih.go.jp/niid/ja/diseases/a/flua-h7n9/2277-flucenter/3578-rdt-130523.html>
- 30) World Health Organization: Summary of status of development and availability of avian influenza A(H7N9) candidate vaccine viruses. 26 September 2013. http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/candidates_reagents/summary_a_h7n9_cvv_20130926.pdf
- 31) Couch RB, Decker WK, Utama B, Atmar RL, Niño D, Feng JQ, Halpert MM, Air GM: Evaluations for in vitro correlates of immunogenicity of inactivated influenza A H5, H7 and H9 vaccines in humans. *PLoS One*. 7(12):e50830, 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0050830.
- 32) Couch RB, Patel SM, Wade-Bowers CL, Niño D: A randomized clinical trial of an inactivated avian influenza A (H7N7) vaccine. *PLoS One*. 7(12):e49704, 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0049704
- 33) De Groot AS, Ardito M, Terry F, Levitz L, Ross T, Moise L, Martin W: Low immunogenicity predicted for emerging avian-origin H7N9: Implication for influenza vaccine design. *Hum Vaccin Immunother*. 1;9(5):950-6, 2013
- 34) National Institutes of Health (NIH): NIH begins testing H7N9 avian influenza vaccine candidate Wednesday, September 18, 2013 <http://www.nih.gov/news/health/sep2013/niid-18.htm>
- 35) Skowronski DM, Janjua NZ, Kwindt TL, De Serres G: Virus-host interactions and the unusual age and sex distribution of human cases of influenza A(H7N9) in China, April 2013. *Euro Surveill*. 18(17):20465, 2013