

今週の話題：

＜亜型インフルエンザ A ウイルスを検出するためのポリメラーゼ連鎖反応手順に関する WHO 専門調査委員会の会議、2013 年 7 月ジュネーブ＞

地球規模のインフルエンザサーベイランス及び応答システム (GISRS) の中で逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) の使用に関するガイドラインを WHO に提供する専門的技術集団として、亜型インフルエンザ A ウイルスを検出するためのポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 実施要綱に関する WHO 専門調査委員会が 2007 年に設立された。2013 年 7 月 2~3 日に第 6 回目の会議が開かれ、インフルエンザレファレンス・研究 WHO 協力センター (WHO CCs)、WHO H5 基準検査室、必須規制検査室 (ERLs)、国立インフルエンザセンター (NICs)、国際獣疫事務局 (OIE)、国連食糧農業機関 (FAO) と OIE/FAO による動物インフルエンザ専門家ネットワーク (OFFLU) の代表者らが参集した。

* インフルエンザの監視、性質決定とその診断における PCR とウイルス単離の役割：

リアルタイム RT-PCR が GISRS 国立研究所におけるインフルエンザの監視、性質決定や診断の基礎となるにつれて、WHO CCs で実施される最初のスクリーニング検査の負担は著しく減少した。従って、国家的な PCR に基づいたインフルエンザ監視活動の検証は重要である。

2013 年のインフルエンザ H7N9 株の出来事のような特殊性の高い案件から地域でのより広くより長期的な検証を行う取り組みまでに及ぶ、検証テストパネルとアンケートの配備が更新された。

限られた資源を考慮して、多くの国立インフルエンザセンターが国家の監視と対応における必要性に応じるために他の検査室を支援する必要がある。型分類や亜型分類に用いられる PCR 法は、試験の段階的手順に従っており、インフルエンザ A 型あるいは B 型の信頼できる検出と一般的な季節性のウイルスの同定を可能にする必要がある。さらに、稀なかつ亜型に分類できないウイルスを即座に認識し、国立インフルエンザセンターに関する WHO の権限に従って適切な行動をとることが必要である。現在、亜型に分類できないウイルスに対処する WHO 指針は更新すべきであり、データ解釈の問題に対するより良い取り組みを強化しなければならない。最近の鳥インフルエンザ A (H7N9) の発生時には、稀な亜型に分類できないウイルスの中国 10 省におけるヒト症例を即座にかつ時宜を得て報告することで、大流行の迅速な監視と早急な対応を開始することができた。

PCR は現在、その能力に多くの多様性があるにも関わらず、すべての WHO 地域で果たしている役割は絶え間なく増加している。WHO アフリカ地域では、米国国際開発庁 (USAID) や米国疾病管理予防センター (CDC) と共に、アフリカ地域の監視地区や非常に限られた資源しかない国々でも、PCR の能力を確立し強固にするために共同研究が始まった。

多重 PCR や多標的 PCR 法はインフルエンザウイルスの種類やインフルエンザ以外の呼吸器ウイルスを同時に検査する方法であり、幅広い場面で使われ続けている。強調されるべきは、このような技術に基づいた試験計画を検査室が実行する以前に生じた結果の解釈や技術的、経済的に配慮が必要な問題である。

監視における遺伝子の塩基配列決定 (シーケンシング) は、インフルエンザウイルスの抗原性の動向や抗ウイルス薬への抵抗性のモニタリング、インフルエンザ B 型系統ウイルスの循環の追跡、およびパンデミックを引き起こす可能性をもつ新型インフルエンザウイルスの検出に関連して使われている。いくつかの NIC における塩基配列決定 (シーケンシング) の品質を巡る懸念に対して最善の訓練と追跡調査が行われた。

委員会は、塩基配列決定 (シーケンシング) の訓練は実証できる国立インフルエンザセンターのウイルス単離能力に結びついたものであるべきであり、適切に設備された国立インフルエンザセンターでのウイルス単離技術の保持を奨励するために、すなわち WHO CCs に全体の負担がのしかかるのを避けるために、検査室が WHO CCs に単離ウイルスと塩基配列の両方を送ることを奨励すべきであると強く主張した。

ブタインフルエンザ監視における PCR の重要性は、現在、多くのリアソータント (遺伝子再集合) ウイルスがブタから検出されるに伴って繰り返し強調されていた。オーストラリアでは、A (H1N1) pdm09 ウイルスから生じた内在性の遺伝子をもつ A (H1N2) 混合性亜型の検体が多数発見された。最近の北アメリカにおけるブタインフルエンザ監視では、ブタの群の中でのインフルエンザの有病率は年齢の異なる集団で類似しており、およそ 10,000 検体中の約 8% が試験で陽性となった。

* 現在の GISRS の PCR 手順：

WHO ウェブサイトに掲載された従来の RT-PCR やリアルタイム RT-PCR の実施要綱は、さらに更新され効率化されるために評価が続けられている。関係者らは、今まで更新された全ての手順や新しい更新情報指示のための訪問に対して感謝された。討論が、代表的かつ容易に利用可能な形式で提供された実施要綱に関する次なる段階への可能性を主要テーマとして行われた。ある一枚の WHO 文書も最善の方法ではあり得るが、目次を改善すれば亜型確認に利用可能な PCR 手順をより明確に示すことができる。そのような拡張された目次は、亜型や興味の対象で整理することができ、個々の実施手順の源となった研究

施設でも整理することができるようになった。それらの手法にはそれぞれ実用的な利点と欠点の両方があることが合意され、最適な手法を決定するにあたって、現行の方法が適切によく機能するように注意が要請された。また、以前の手順が利用可能なまま残されるべきであるが、その手順が旧式であるという非常に明確な指示やバージョン管理あるいはタイムスタンプシステムを採用することが提案された。

実施手順を更新する責任はその源となった施設にあるが、検査室には実施手順を継続し、独立的に生産されたプライマーセットの品質を保証する責任がある。同様に試験法の正式な認定は、NICとWHO CCによる支援と共にWHO加盟国の責任である。科学的な文献に発表された手順は「認可されたもの」とは等しく扱われないが、WHOはこの分野における比較研究を強調し広めることを考慮するだろう。

絶えず進展するCDCのRT-PCR資源と性能評価のパッケージは、改訂版インフルエンザ試薬資源ウェブサイトやインフルエンザ監視のためのCDC検査室支援ウェブサイトといった構想を支えている。この後者の「共有点」構想をもつCDCは、一定範囲の検査環境における複数の手順や方法に関する情報や支援を提供している。進行中の予算が制約されれば、その構想はこの分野におけるCDC活動の支援監視、焦点化・効率化を目標とし、現在の優先順位に関するWHOのPCR専門委員会からの情報を受け入れるであろう。

英語から他の言語へのPCR手順の翻訳について、利用可能な資源入手に問題が生じた。そして、1つの方法として、WHOが適切な更新情報を確認し、その後に地域事務局の支援で翻訳を始めることが提案された。どの翻訳も技術的に正確である必要があることとWHOがこの責任をもつ必要があることが強調された。

*** PCRの品質保証と品質管理活動：**

WHO H5 基準検査室と中国と香港の健康保護センターウイルス学部門のNICは協調し、WHO外部評価プログラム(EQAP)の更新、改良を継続している。EQAPには、2012年(パネル11)までに、NICsを主として、WHOの6地域すべてで、参加施設は160以上の検査室にまで増加した。パネル11もまた、以前の半年ごとの成果評価から年1回の4月から6月にかけての期間の派遣に転換することを示した。

EQAPパネル12の結果は2013の後半にWHOが利用可能となることが予測されており、応答している検査室の数とその性能レベルはパネル11と大まかには同じであるという早期の指摘が見られた。正しい結果を報告している検査室は、この側面の重要性を強調する優秀関連施設アンケートで高く点数化された。

汚染、すなわち適切なバイオセーフティー設備や専門知識をもつ検査室の不足や、輸入の問題への懸念にも拘わらず、多くの参加検査室が、検査パネルに生きたウイルスの成分を追加することに興味を示した。また、亜型を将来のパネルに含めること、そしてウイルス不活化の方法やさらに多様化するH5表現分類も含めることも考慮されるであろう。またEQAP実施の経過も追跡しながら、恒常的に性能の低い検査室に対する最善の支援を検討する必要がある。

CDC能力評価プログラムは、本来CDCの規制条件に合うようアメリカ国内の検査室を援助するために開発され、CDC協力協定(CoAg)国で運営されている検査室能力の評価へと拡大された。その計画はCoAg基金の評価を強化し、評価結果はさらなる基金積み立てが有益かつ正当であることを示しているように見える。鳥インフルエンザ対策を主導するためのOFFLU環状包囲試験(ring trials, RT)は、OIEとFAOのすべての基準検査室においてH5やH7を含む鳥インフルエンザウイルスに関する動物部門の診断的検査を標準化する、全体的な目的のために実施され、異なる半球に渡るそのようなウイルス検出の熟練度を評価し続けている。この活動により、検査の足並みをそろえ、現在のOIE検査室指導を補完するためのガイドラインを開発することが意図されている。2013年には、その試験はアフリカの各地域のOFFLUの検査室を含むまでに広がった。2013年9月までに利用可能になると予想されている各検査室に個別化された報告書および次回のOFFLUの技術専門調査委員会の会合での発表が予定された要旨報告を伴った、試験の結果解析が進行中である。2012年と2013年のRT結果の直接比較により、検査室がRTの間に検出能力を向上させたかどうかが決まるだろう。動物の保健検査室とヒトの保健検査室の間でウイルスを共有することにより生じる広い範囲の課題、それには部門間の協力を最大限に活かすためにPIPの枠組み過程とその運用上の適用除外へのよりよい理解を得ることが含まれるが、そういった課題を克服するという他の諸問題もある。WHO専門調査委員会ではPIPの枠組み実施の問題を扱うことが予定されてきたため、フィードバックの機会が強調された。

*** 結論：**

委員会の権限がPCRや関連技術の使用を取り巻くより幅広い問題に拡大しつづける限り、実行可能な活動やWHOに助言すべき勧告が行われるだろうと期待される。例えば遺伝子の塩基配列決定あるいは多数の手法を用いた使用に関する会合といったような、将来の会合に対するいかなる拡大も、あるいは特定の専門家の招聘も、その期待を反映するべきである。

動物インフルエンザ機関や組織の権限のさらなる強化は、部門間での協力と協働を促進するカギとなる必要条件であり続ける。

WHO PCR 専門委員会は年 1 回の会合を開き続け、観察した国家や地域の RT-PCR や関連技術の使用における傾向に基づいて WHO へのガイドラインと勧告を作成する過程を強化するための働きをすることで合意した。

＜ポリオのない (polio-free) アフリカの国々における野生型ポリオウイルス集団発生リスクの評価と軽減、2012 年 1 月～2013 年 7 月＞

2012 年に世界保健総会はポリオ撲滅の完了プログラムが非常事態にあることを宣言した。固有の野生型ポリオウイルス (WPV) 伝播は、ナイジェリア (WHO アフリカ地域) とアフガニスタン・パキスタン (WHO 東地中海地域) で継続したままである。アフリカでは、2003 年以来、大陸を横断し、サハラから赤道に広がる” WPV 輸入地帯” にある、以前はポリオのなかった国々への西アフリカ固有 WPV の輸入に伴う WPV の多重集団発生が起きてきた。世界ポリオ根絶計画 (GPEI) と WHO 地域事務局は、集団発生リスクを評価し、WPV 輸入あるいはワクチン由来の循環ポリオウイルス (cVDPV) の発生のどちらかに伴うウイルス伝播を制限するための処置の実行を指導するために、集団免疫、監視の質と他の判断基準 (WPV の影響を受けた国々への近さ、ハイリスク住民の存在) の指標を使ってきた。アフリカの角におけるリスクを緩和するための継続した努力にもかかわらず、ナイジェリア起源の WPV1 型の集団発生は地域 (ジブチ、エリトリア、エチオピア、ケニア、ソマリア、南スーダン、スーダン、ウガンダ) で進行中であり、2013 年 9 月 10 日現在でポリオは 178 件 (ソマリア 163 件、ケニア 14 件、エチオピア 1 件) という結果であった。この報告は、WPV 輸入あるいは WHO アフリカ地域の WPV 輸入地帯の中にあるポリオのない国での cVDPV の発生に伴う流行のリスクを評価し緩和するために GPEI によってとられた処理経過をまとめている。すべてのポリオのない国々は、アフガニスタンやナイジェリアとパキスタンでの流行地の循環が続く限り、新しい WPV の集団発生リスクにさらされたままである。

* リスク調査 :

リスクを軽減する活動の計画と優先順位づけを支援するために、WHO 地域事務局チームを含む、GPEI 加盟国はポリオのない国での WPV 集団発生リスクと cVDPV 発生リスクを評価してきた。WHO 地域事務局チームは 2011 年 2 月以来、協調するリスク評価法を使ってきた。その方法ではリスク決定は、3 つの広い判断基準 : (i) 集団免疫、(ii) 急性弛緩性麻痺 (AFP) 監視の質、(iii) 他の住民特異的因子に基づいている。集団免疫は、三価の経口ポリオウイルスワクチン (tOPV) を 3 回投与した 12 カ月齢未満の子どもの予防接種率と 6～59 カ月齢の非ポリオ急性弛緩性麻痺 (NPAFP) の子どもが受けた経口ポリオウイルスワクチン (OPV) の報告数 (地図 1) から評価される。AFP 発生監視の質は、15 歳未満人口 10 万人あたり NPAFP の症例数が年間 2 人以上の割合に達した地域/州の比率と AFP の症例の 80% 以上から適切な便検体を収集することを達成した地域/州の比率によって評価される。他の住民特異的因子には、活発な WPV 伝播地区に近いこと、以前に集団発生歴があること、集団発生への対処能力、遊牧民あるいは他のハイリスク住民の存在、その地区の不安定性や社会不安といったことが含まれる。

WHO アフリカ地域の国々は、集団発生 (WPV の輸入や cVDPV の発生に伴う) の国のリスクを決定するためと最もリスクの高い国に準ずる地域を同定するために地区レベルのデータを集めて審査する。この報告書に示された分析は、2012 年のデータ (表 1) に基づいて WHO アフリカ地域にある WPV 輸入地帯の 21 カ国に限定された。2012～2013 年に集団発生リスクが高いと評価された国々は、2012 年に WPV の風土性あるいは再発性の伝播があった国に近いこと、現在あるいは過去社会不安、あるいは高リスク層の集団免疫指標によりリスクが高いと評価された。脆弱性を示唆する集団免疫リスク基準に基づいて、複数の国々が中等度のリスク状態にあると評価された。

* リスク軽減活動 :

リスク評価は、補足的な予防接種活動 (SIAs) を通じて集団免疫を改善させ、AFP 症例を迅速に検出し、調査する監視を強化し、WPV 輸入に伴う予防接種対応を迅速に実行する国の公衆衛生の能力を拡大するために、国の脆弱性の問題に取り組む年間活動計画を立てるために使われてきた。

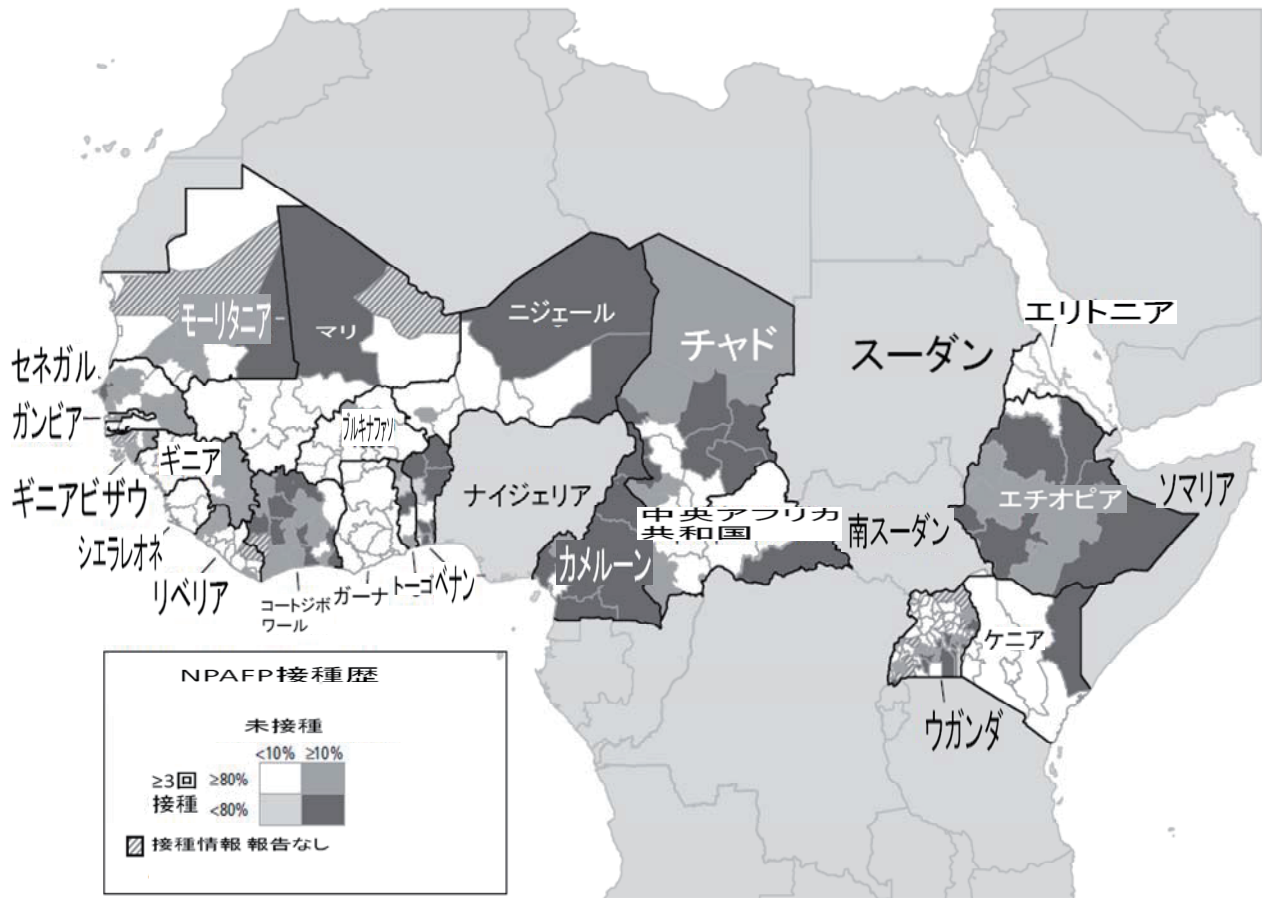
* 予防接種活動 :

WPV 輸入あるいは cVDPV 発生に伴う伝播を防ぐために、国や国に準ずる地域のレベルで、定期的予防的 SIAs がポリオのない国々で行われている。2012 年 1 月～12 月の間、全国ワクチン接種日活動 (NIDs) が高リスクの 10 カ国のうち 7 カ国、中等度リスクの 7 カ国のうち 5 カ国で行われ、地域別ワクチン接種日活動 (SNIDs) は高リスクの 10 カ国のうち 8 カ国、中等度リスクの 7 カ国のうち 4 カ国で行われた (表 2)。

2013 年 1 月～12 月の間、NIDs が高リスクの 10 カ国のうち 8 カ国、中等度リスクの 7 カ国のうちすべての国で実施あるいは計画され、SNIDs は高リスクの 10 カ国のうち 7 カ国、中等度リスクの 6 カ国のうち 3 カ国で実施あるいは計画されている (表 2)。計画された SIAs の数は、ナイジェリアやチャドへの近さと評価されたリスクによって影響を受けた。

地図 1 : 「野生型ポリオウイルス輸入地帯」の国々における 6～59 カ月齢の非ポリオ急性弛緩性麻痺

(NPAFP) の子どもの経口ポリオウイルスワクチンの接種歴-WHO アフリカ地域、2012 年



*** 監視強化：**

WPV 輸入あるいは cVDPV 発生に伴う可能性例を迅速に検出するために AFP 監視を強化することで、より迅速なプログラムの対応を導き、他の地区への WPV (あるいは cVDPV) 拡散を制限することができるだろう。

2012 年 1 月から 2013 年 7 月の間、国の AFP 監視再評価が、高リスクの 10 カ国のうち 8 カ国、中等度リスクの 7 カ国のうち 4 カ国で GPEI 加盟国の技術員とともに行われた (表 2)。研修活動が 3 つの高リスクあるいは中等度リスクの国で行われたり、計画されていたりしている。さらに、集団発生が起こった以前はポリオのなかった国での外部審査が、対応の妥当性と地域社会で継続している伝播を検出するためのプログラムの能力を評価するために、集団発生の確認後 3 カ月と 6 カ月、そして、もっとも最近の WPV あるいは cVDPV 症例発生後 12 カ月の時点で実施された。国家計画がこれらの審査結果として策定され、勧告の実行を監視するために追跡調査の訪問が行われる。

*** 編集後記：**

アフリカの角での現在の多数の国々に渡る集団発生によって表されたように、アフリカの WPV 輸入地帯と呼ばれる国々は、WPV 輸入に伴うリスクにさらされ続けている。ポリオのない国々やポリオウイルス伝播のより高いリスクのある国に準ずる地区での評価は、ポリオウイルス輸入あるいは cVDPV 発生の衝撃を緩和する試みを指導している。質的リスク評価により、アフリカの WHO 地域事務局と他の GPEI 加盟国は予防的 SIAs 実施を優先することで他の国々と協働することが可能である。

表 1：WPV 輸入に伴う伝播リスクを評価して層別化した「野生型ポリオウイルス輸入地帯」の国の主なリスク指標、2012～2013、表 2：野生型ポリオウイルス輸入地帯の高～中リスクの非流行国におけるリスク軽減活動、2012～2013 (WER 参照)

(三枝祐介、川又敏男、法橋尚宏)