

今週の話題：

<インフルエンザウイルス亜型を検出するための逆転写ポリメラーゼ連鎖反応に関する第9回 WHO ワーキンググループの事業計画概要>

インフルエンザウイルス亜型検出のための逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) の使用に関する WHO ワーキンググループ (以下、「PCR 法ワーキンググループ」) は 2007 年に設立された。PCR 法ワーキンググループは、WHO 世界インフルエンザ監視・対応システム (GISRS) の専門技術集団として、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。第9回 PCR 法ワーキンググループの会合は 2017 年 4 月 12~13 日に香港で行われた。

\* ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) プロトコルのレビュー：

インフルエンザ A ウイルス (H1、H3、H5、H7、H9) を検出する PCR プロトコルは、これらの亜型から成る現代のウイルスから採取された遺伝子塩基配列情報に適合するよう更新されている。更新されたプロトコルは、各国の国立インフルエンザセンター (NICs) やその他国立の基準検査室が使用するために WHO のウェブサイトに掲示されている。中でも H3 の赤血球凝集素遺伝子は頻繁に変異するため、A (H3) ウイルスを検出する PCR プロトコルの更新は特に必要である。

\* 外部評価プログラム：

医薬品安全性試験実施基準 (GLP) 調査と共に WHO の外部品質評価プログラム (EQAP) は、長年に亘って検査室における改良点を提示してきた。NICs には今後の研究の為に、研究共同センター (CCs) に対して同定できないウイルスを送送する役割がある。そこで PCR 法ワーキンググループは、ヒトに感染し H5 を起源とする非季節性インフルエンザウイルスの検出能力に対する信用性が EQAP に備わるべく認めている。

\* 次世代シーケンシングの使用における GISRS のガイダンス：

次世代シーケンシング (NGS) は現在流行中のウイルスや新型、あるいは突発出現ウイルスについて、より洞察かつ徹底した分析を可能にする。しかし、NGS の実行には綿密な計画や経費、膨大な塩基配列情報からの生物情報学的な分析の必要性などを考察する必要がある。異なるプラットフォームやソフトウェア・ソリューションを用いた急速な技術発展にしたがって、PCR 法ワーキンググループが GISRS の監視やプラットフォームの選択において技術を指導する前に異なるシステムを用いた経験を得るため、NGS の導入を PCR 法ワーキンググループは NICs に奨励している。

\* 将来の展望：

PCR 法ワーキンググループの基本的な役割は、分子生物学的手法を用いてインフルエンザウイルスの検出能力を強化することである。これは、PCR プロトコルを適宜更新することや WHO に対する更新の通知、EQAP パネルの構成、結果の分析、フォローアップの優先順位についての技術的なアドバイス提供が含まれる。サーベイランスにおける NICs による NGS の実施は、経験と求められる技術リソースが蓄積し、国際的な動向が十分になるまでは推奨されていなかった。PCR 法ワーキンググループは NGS についてのガイダンスを NICs に供給する予定である。また NGS のような最近の分子生物学的手法を含むので、PCR 法ワーキンググループが名前を変更する可能性が提唱された。

<GISRS 第6回 WHO 専門ワーキンググループの抗ウイルス感受性サーベイランスに関する事業計画概要>

インフルエンザの抗ウイルス剤感受性サーベイランスに関する WHO ワーキンググループ (AVWG) は、地球規模のサーベイランスを通して季節性あるいは突発出現ウイルスの抗ウイルス剤感受性をモニタリングし、実用的な指針を提供することで GISRS を支援している。AVWG の第6回会合は 2017 年 4 月 10~11 日に香港で行われた。

\* 2015 年の第5回会合から AVWG によって行われた活動の概要：

2015 年から AVWG のメンバーは「ヒトインフルエンザウイルスのノイラミニダーゼ阻害剤感受性に関する地球規模の更新」の 2014~2015 年版、2015~2016 年版を、それぞれ 2016 年、2017 年の Antiviral Research に発表している。これに加えて、「NA 阻害剤感受性低下と関連するインフルエンザ NA タンパク質における既知のアミノ酸置換の要約表」が 2016 年 10 月に更新された。

\* 流行ウイルスの NA 阻害剤感受性に関するレビュー：

2016 年と 2017 年に検出された NA 阻害剤感受性低下を有するウイルスは少数であった。

\* WHO 外部品質評価プロジェクト (EQAP) パネルのレビュー：

抗ウイルス剤感受性評価のための遺伝子型解析実施に関する NICs の能力を評価するため、NA-H275Y 置換を伴う A (H1N1) pdm09 ウイルスは 2013 年度の EQAP パネルに最初に対象に含まれた。2015 年には遺伝子型解析に加え、表現型解析も EQAP パネルに含められた。そして、2016 年に NICs は遺伝子型解析、表現型解析共に良好に実施していた。抗ウイルス剤感受性評価に関する EQAP の能力を強化するためにパネルにより多くの検体を包含することが議論された。そこで抗ウイルス剤感受性評価に携わる NICs

は、得られた結果を正確に解釈し報告する能力に基づいて採点されるべきだと勧告された。

\* GISRS 抗ウイルス剤感受性サーベイランスの能力と技術に関するレビュー：

EQAP の抗ウイルス剤感受性評価を 2016 年に完遂した研究所 (n=47) のうち、遺伝子型解析を行ったのは NICs の 91%、表現型解析を行ったのは 60%、両方行ったのは 51%であった。AVWG は、NICs が抗ウイルス剤感受性評価能力を向上させることを勧告している。

\* 後期臨床試験におけるインフルエンザ抗ウイルス剤と抗ウイルス剤感受性を評価する新しい方法論に関する更新：

治験第Ⅲ相にある S-033188 やニタゾキサニドを含む、複数の新しいインフルエンザ抗ウイルス剤の臨床試験が行われている。そしていくつかの新しい分析法が、これらの抗ウイルス剤のウイルス感受性を評価するために開発されてきている。また NA 阻害剤感受性を低下させたインフルエンザウイルスを同定するために GISAID に寄託されたシーケンス情報に依存することの実現可能性が議論された。

\* 将来の展望：

将来の展望としては、人畜共通感染ウイルスに対する抗ウイルス剤感受性のモニタリングの向上や、臨床管理に関する抗ウイルス剤感受性データの解釈を改善するための基準評価の開発などが挙げられる。AVWG 委員は「2016~2017 年の NA 阻害剤に対するヒトインフルエンザウイルスの感受性に関する地球規模の更新」、「NA 阻害剤感受性サーベイランスの確立または実施に関する NICs のための実践ガイド」の発表を準備している。

<アフリカにおける血清型 C 髄膜炎の継続的リスク：WHO 専門協議会からの改訂勧告>

\* 背景：

アフリカ髄膜炎ベルト地帯において、血清型 A の髄膜炎菌 (NmA) による髄膜炎は MenAfriVac (一価の血清型 A 髄膜炎菌結合ワクチン) の導入によって劇的に減少したが、その他の血清型による髄膜炎のアウトブレイクは続いている。過去 3 年の調査によると、髄膜炎ベルト地帯では推定 25,000 以上の髄膜炎症例が毎年確認されている。2017 年に確認された 2,436 例の中では、35%が血清型 C の髄膜炎菌 (NmC) による髄膜炎、13%が NmX、10%が NmW、27%が肺炎球菌による髄膜炎であった。

2017 年では、NmC による髄膜炎は主にナイジェリア北西部 (推定 14,000 例以上が疑いあり)、ニジェール南西部 (推定 3,000 例以上が疑いあり) で見られており、髄膜炎と認められた症例ではナイジェリアにおける 474 例の 80%、ニジェールにおける 1197 例の 68%がそれぞれ NmC によるものであった。そして、一価の血清型 C 髄膜炎菌結合ワクチンを利用したナイジェリアの 80 万人を含む約 260 万人 (ナイジェリアの 2~29 歳、ニジェールの 2~20 歳) が血清型 C を含むワクチンの予防接種を受けている。2013 年に始まったこれら 2 か国における NmC のアウトブレイクは持続・拡大しており、NmC は固有のクローン (ST10217) であることが分かっている。

また 2017 年においては、血清型 C 髄膜炎はベナン、ブルキナファソ、マリのような髄膜炎ベルト地帯の他の国々においても同様に見られた。髄膜炎ベルト地帯外のリベリアにおいても流行しており、小児敗血症の蔓延により 31 例中 13 例が死亡し、敗血症が顕著であった。

\* 現状のリスク：

髄膜炎ベルト地帯での NmC 流行の発生が続いたことにより、WHO は継続的リスクの評価と流行期に対する 2015 年の勧告を見直し、新しい勧告を作成するために 2017 年に専門家協議会を再招集した。専門家の 2015 年、2017 年における勧告の比較を表 1 に示す。

表 1：アフリカ髄膜炎ベルト地帯における血清型 C 髄膜炎の流行に対する WHO 専門グループによる 2015 年、2017 年の勧告の比較 (WER 参照)

専門家グループは、NmC 流行リスクがナイジェリア、ニジェールとその近隣国で継続すると結論付けた。これは 2012 年にニジェールの子供たちからサンプル採取した血清陽性率の研究に支持され、NmC に対する免疫が非常に低いことが確認された。また同様に専門家グループは、髄膜炎ベルト地帯における NmX や NmW のような他の血清型による流行のリスクが継続すると考えている。2015 年の勧告 (表 1) のように、血清型 A が残した生態的地位の置換についてのエビデンスは無いとしているが、流行の要因と新しい株の出現に関しては良く分かっていないことを認めた。

\* 準備とアウトブレイク対応に対する勧告：

2015 年の勧告の様に、グループは髄膜炎ベルト地帯の各国、特にニジェール、ナイジェリアなどの NmC が検出された国々に準備の重要性を強調した。NmA 症例を少なく保つため、各国は MenAfriVac 接種を幼少期のワクチン接種プログラムに含めなければならない。高病原 NmC のクローンの拡大に対する警戒は維持すべきである。

\* サーベイランス：

専門家グループはアウトブレイクしたクローンの分子的進化を調査することと、関連する検体を WHO 共同研究センターに送ることを勧告した。また更なる発展とフィールド評価と共に迅速診断システム

(RDTs)の需要調査を支援した。

\* 流行中の治療：

細菌性髄膜炎の疑いがあるケースへの対応に関する推奨について変化はない。保健センターでの症例管理においては、重症例の他病院への紹介と同時に、セフトリアキソンを用いた5日間の治療を維持すべきである。髄膜炎菌性髄膜炎の大規模な流行が、僻地やインフラが整っていない地域で発生した場合には、セフトリアキソン1回投与の治療プロトコルが実施される。

\* 化学的予防：

村全体の罹患率を下げるためのシプロフロキサシン1回投与の効果検証は、2017年にニジェールでの流行時に行われた。これらの結果は有望だったが、専門グループは大規模な化学予防後にシプロフロキサシンに対する耐性を得る危険性を注視しており、流行中における村全体での予防のためのシプロフロキサシン投与に関する方針を設ける前に、防御免疫効果や髄膜炎菌・腸内フローラのシプロフロキサシンに対する耐性について、より多くのエビデンスを集めることを勧告している。

\* 緊急時と予防としてのワクチン接種：

流行性髄膜炎制御に対するワクチン供給国際コーディネーター（ICG）は、2018年の流行期に備えて、500万投与分の血清型CとWを含むワクチン、望ましくは結合ワクチンの国際的備蓄が必要になると見積もった。しかし、予想される2018年のワクチン備蓄量は辛うじてこの見積もりの50%程度である。また専門家グループは、WHOと髄膜炎ベルト地帯の国々の保健省に対して、ワクチンの備蓄が目標の500万に達するように増やすため、5年間の調達戦略を開発すること、結合ワクチンのコスト低下、多価の結合ワクチンの治験を促進することなどを勧告している。そして専門グループは早期の大規模予防キャンペーンは、ワクチンの備蓄が現在十分でないために不可能であるとしている。例えば限定的な年齢層や特定の地理的地域を対象にするなどの、異なるワクチン戦略の効果に関するモデルは有用であり、結合ワクチンの供給増加を主張することが出来る。

\* さらなる調査：

他の地域での調査は勧告されており、例えばNmCの全体の遺伝子配列を無症候性の株と流行中の侵襲株間での比較、流行による詳しい経済的影響の研究、流行リスクや髄膜炎ワクチンに対する一般認識の調査などである。リベリアにおける髄膜炎菌による髄膜炎性敗血症の発生と、髄膜炎の流行中に敗血症を示唆する症状が現れてくる他のケースを考慮し、臨床症状と検査による診断を評価することは、症例の定義改訂の可能性を周知するために勧告された。

\* 結論：

専門家グループは高い感染力の株を持った血清型Cがナイジェリアやその周辺の国に広がる危険性があり、住民の免疫低下のような状態はその増悪因子であると結論付けた。血清型Cを含むワクチンの国際的な在庫の限界と、ワクチンの不足によって髄膜炎が今後数年間に大流行することを懸念している。

<WHO アメリカ地域におけるオンコセルカ病撲滅への進歩：ベネズエラ・ポリバル共和国の北東地域における伝染の撲滅>

オンコセルカ症（河川盲目症）は、回旋糸状虫 *Onchocerca volvulus* が原因で発症し、流れの速い川や小川で繁殖するブユによって伝播する寄生虫である。ヒトを宿主として回旋糸状虫の雌雄の成虫は、繊維組織（小結節）に被包されている。そして、受精した雌の成虫はマイクロフィラリアを生む。マイクロフィラリアは皮膚に移行し、ブユが感染したヒトを吸血する際にマイクロフィラリアはブユに摂取される。ブユの体内においては、マイクロフィラリアは感染ステージL3まで成長し、ブユが次の宿主であるヒトに噛み付くことで伝播する。またこの寄生虫には自然環境に宿主はなく、ヒト以外には宿主は無い。マイクロフィラリアは強い掻痒や外観を損ねる皮膚病を引き起こし、目に入ると人によっては失明や盲目を引き起こす。イベルメクチン（メクチザン）は、地域全体での集団薬剤投与（MDA）計画を通してオンコセルカ症の制御・撲滅の為に、1987年以降にメルク社による寄付を通して提供された安全かつ効果的なマイクロフィラリアの経口薬である。この薬物は急速にマイクロフィラリアを殺し、接種率を高めて治療を繰り返すことで伝播を止め、成虫の死亡率を高めることが出来る。アメリカ地域では、ベネズエラ・ポリバル共和国、ブラジル、コロンビア、エクアドル、グアテマラ、メキシコの6か国13地域で感染が大流行していた。

アメリカオンコセルカ症掃滅計画（OEPA）は、アメリカ地域でのオンコセルカ症の伝播制圧を目的とした（汎米保健機構 [PAHO] の指向会議でXIV [1991年]、CD48.R12 [2008年]、CD49.R19 [2009年]）を決議）地域間提携である。OEPAの戦略は、各年2回または4回以上、全流行地域においてイベルメクチン錠の集団薬剤投与を供給することで、該当する人口の85%以上の接種率を達成させるというものである。このOEPA提携には、オンコセルカ症が流行している国々の政府やカーター・センター、PAHO、米国国際開発局（USAID）、国際ライオンズクラブ協会と地域のライオンズクラブ、アメリカ疾病予防センター、ビル&メリンダ・ゲイツ財団、カルロス・スリム財団、いくつかの大学・学会、メクチザン寄

付計画も含まれている。

オンコセルカ症撲滅についての WHO 認証ガイドラインによると、伝播を制圧して MDA を終了した地域においては、感染が撲滅されたと宣言するには少なくとも 3 年間の治療後サーベイランス (PTS) 期間が必要だと規定している。ある国の流行地域において PTS が完了したとき、その国は WHO の国際的検証チームの訪問を要請することになる。2017 年現在、アメリカ地域の流行地域 6 か国のうち、コロンビア (2013 年)、エクアドル (2014 年)、メキシコ (2015 年)、グアテマラ (2016 年) の 4 か国については WHO の確認作業が完了している。

\* ベネズエラ・ボリバル共和国：

ベネズエラ・ボリバル共和国には北部に 2 つ、南部に 1 つ、オンコセルカ症の流行地域がある (地図 1)。



MDA を 20 回完了した 2010 年に、中北部地域でのオンコセルカ症の伝播は制圧されている。また PTS 完了後の 2013 年、伝播は撲滅され、45 地区の 14,385 人はもはや危険がないと宣言された。

北東地域は 465 地区に 95,567 人を抱える最大の地域であり、うち低流行が 233 地区 (ミクロフィラリアの感染率が 1~20%)、中流行が 197 地区 (21~59%)、高流行が 35 地区 (60%以上) である。MDA は 2001 年に半年ごとに行われた (図 1)。しかし、伝播の制圧を急ぐために努力が為され、2010 年にはすべての高流行域と 5 つの中流行域で年に 4 回、MDA が提供された。さらに年 4 回の治療は 2011~2012 年の間に、100 以上の中流行域で追加されている。2012 年に行われた疫学的、昆虫学的、眼科的評価 (表 1) は、伝播が制圧されたことを示しており、2013 年に MDA は中止、PTS が開始され、2015 年から 2017 年には、主な媒介動物 (*Simulium metallicum* s. l.) の PTS 昆虫学的評価が行われた。この評価は 2016 年の WHO ガイダンスによると、寄生虫の伝播が撲滅の段階に達していることを示した。しかし、この流

行地域での感染率 (0.38/2000 [95%CI 0.22 - 0.73/2000]) と季節性感感染力 (1.87/2000 [95%CI 1.08 - 3.6]) は、WHO の伝播指標 (感染率は $<1/2000$ 、季節性感感染力は $<20$ ) の基準値を下回っていたのと同時に、OEPA の技術コミッティ (PCG) は評価をした 8 つの地区のうち 3 つが 95% 信頼区間を超えた感染率を持っていたことを不安視している。結果的に、PCG は昆虫学的評価の実施を強く推奨し、2019 年 9 月に撲滅サーベイランス事業の一環として開始する。

ベネズエラ・ボリバル共和国の 3 つ目の流行地域 (南部) は、ブラジルのアマゾン地域と隣接し、サバンナとアマゾン熱帯雨林地域の約 180,000 平方キロメートルに点在する群落で暮らす先住民の名にちなんで名づけられた Yanomami 地区から成る。これらの地域はアメリカ地域で唯一オンコセルカ症に対する MDA を継続している。ブラジルとベネズエラ・ボリバル共和国は 2014 年に Yanomami 地区におけるオンコセルカ症撲滅のため協調的に介入を行うとする覚書にサインしている。しかし、双方の国家プログラムは、主に国境に沿って所在し、到達するのが非常に困難なコミュニティを同定、治療導入することに苦労している。

図 1 : 2001 年~2012 年のベネズエラ・ボリバル共和国北東におけるイベルメクチン治療の歴史 (WER 参照)

表 1 : ベネズエラ・ボリバル共和国北東のデータ (WER 参照)

\* 編集ノート :

ベネズエラ・ボリバル共和国北東地域におけるオンコセルカ症の撲滅は、伝播の制圧という地域的な目標に対する重要な進歩を表している。

アメリカ地域は 11 地域にて伝播が制圧され、2 地域で横行している。

(宇都春海、長尾徹、駒井浩一郎)