

## 2014/2015 シーズンの札幌市における インフルエンザの流行状況

大西麻実 古舘大樹 扇谷陽子\*1 水嶋好清\*2 檜林秀紀 宮田 淳\*3

### 1. 諸 言

札幌市では、感染症発生動向調査事業として、市内医療機関（患者報告定点、病原体検査定点）の協力のもとに病原体情報を収集し、その発生動向の把握及び情報提供を行っている。本稿では、定点医療機関から報告されたインフルエンザ患者数及びウイルス検査の結果から、2014/2015 シーズンの札幌市におけるインフルエンザの流行状況について報告する。

### 2. 方 法

#### 2-1 インフルエンザ患者発生状況

インフルエンザ患者発生状況は感染症発生動向調査における市内の小児科 37 定点及び内科 19 定点の計 56 定点医療機関の報告を集計した。

#### 2-2 ウイルスの分離・検出状況

##### (1) 検査材料

検査材料は、2014 年 10 月から 2015 年 5 月までに、札幌市内定点医療機関（小児科 10 定点、内科 4 定点）を受診した患者から採取された咽頭拭い液等合計 181 検体（小児科 136 検体、内科 45 検体）を対象とした。

##### (2) インフルエンザウイルスの分離及び型・亜型の同定

検査材料は、MDCK 細胞（イヌ腎臓由来株化細胞）に接種し、33℃で培養した。細胞変性効果（cytopathogenic effect : CPE）が認められた場合はウイルス分離陽性とし、認められなかった場合は継代を 3 代まで行った。ウイルス分離陽性のものについて、国立感染症研究所（以下、感染研）が示す方法<sup>1)</sup>に準じて、赤血球凝集（HA）試験を行い、

一定の HA 価を示した分離株について型・亜型の同定を行った。インフルエンザウイルスの同定には、感染研から配布された同定用キット（A/California/07/2009、A/NewYork/39/2012、B/Brisbane/60/2008（Victoria 系統）、B/Massachusetts/02/2012（Yamagata 系統））を用いて、赤血球凝集阻止（HI）試験を実施した。HA 試験及び HI 試験は 0.75%モルモット赤血球を用いた。

また、ウイルス分離を行った検体のうち、HA 試験において HA 価が低く（4HA 以下）HI 試験を行えなかった分離株及びウイルス分離陰性であった臨床検体について、RNA 抽出を行い、感染研が示す方法<sup>1)</sup>に準じて、リアルタイム RT-PCR 法により型・亜型の同定を行った。RNA 抽出には QIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）を用いた。

##### 2-3 インフルエンザウイルスの HA 遺伝子解析

2014/2015 シーズンに札幌市内で分離・検出されたウイルスの一部について、インフルエンザウイルスの抗原性状に係わる Hemagglutinin (HA) 遺伝子の解析を行った。遺伝子解析は感染研の方法<sup>1)</sup>に準じて、RT-PCR 法で遺伝子を増幅した後、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、Neighbor-joining (NJ) 法により系統解析を行った。系統解析には The Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID) から入手した感染研において解析された札幌市内の分離株及び参照株等の塩基配列を用いた。

##### 2-4 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

札幌市で分離されたインフルエンザウイルス分

\*1 現豊平区健康・子ども課 \*2 前衛生研究所保健科学課微生物係長 \*3 前衛生研究所長

離株 AH3 亜型ウイルス及び B 型ウイルスの一部について、感染研において薬剤感受性試験<sup>1)</sup>が実施された。

### 3. 結果と考察

#### 3-1 インフルエンザ患者発生状況

2014/2015 シーズンの札幌市におけるインフルエンザ患者報告数を図 1 に示す。

定点 (56) 当たりの患者報告数は 2014 年第 48 週 (11/24~11/30) に流行開始の目安である 1.0 を超え、2014 年第 50 週 (12/8~12/14) に定点当たり 20.1 と流行発生注意報レベルの基準値 (10.0) を上回り、流行が急速に広がった。第 52 週 (12/22~12/28) には、例年より早く流行のピーク (定点当たり 43.2) になり、その後患者報告数は急激に減少し、低めに推移した。今シーズンの患者報告数は 13,301 人 (56 定点、6 月 9 日現在) であり、過去 4 シーズンと比べ 4 番目と低かった。

#### 3-2 インフルエンザウイルスの分離・検出状況

2014/2015 シーズンの札幌市におけるインフルエンザウイルスは、2014 年第 46 週採取の咽頭拭い液から AH3 亜型ウイルス (以下、AH3 亜型) が初分離された (図 2)。今シーズンは AH3 亜型 (118 株、83.7%) の割合が多く、流行の主流となった。B 型ウイルスは、2014 年第 52 週採取の咽頭拭い液から

初分離され、2015 年 6 月 9 日現在まで 23 株が分離され、全ての分離株が Yamagata 系統であった。シーズン後半は B 型ウイルスの割合が多くなった。

#### 3-3 インフルエンザウイルスの型・亜型の同定及び HI 試験結果

分離されたインフルエンザウイルスの HI 試験の結果を図 3 に示す。HI 試験はウサギ免疫血清を用いており、この結果から正確な抗原性解析は行えないため、結果は参考値である。

今シーズン、MDCK 細胞により分離された AH3 亜型は 87 株であった。このうち 85 株は HI 試験を行い、HI 価はワクチン株である A/NewYork/39/2012 抗血清 (ホモ価 2560) に対して 80~1280 の範囲にあった。これら 85 株中 80 株はワクチン株のホモ価 (2560) に対して 8 倍以上低下しており、ワクチン株から抗原性が変異している可能性があった。また、87 株中 2 株は HA 価が低く (4HA 以下)、HI 試験を実施できなかったため、リアルタイム RT-PCR 法により AH3 亜型と同定された。

B 型ウイルスは 23 株分離され、全てが B/Yamagata/16/88 に代表される Yamagata 系統であった。これらはワクチン株である B/Massachusetts/02/2012 抗血清 (ホモ価 640) に対して、HI 価が 80~640 の範囲にあった。

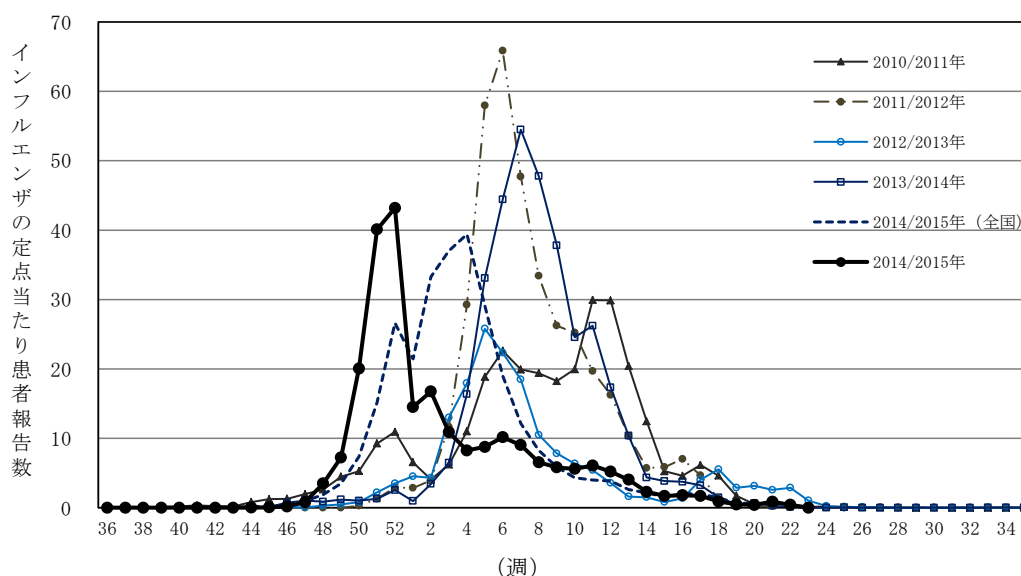


図 1 2010/2011~2014/2015 シーズンのインフルエンザ患者報告数

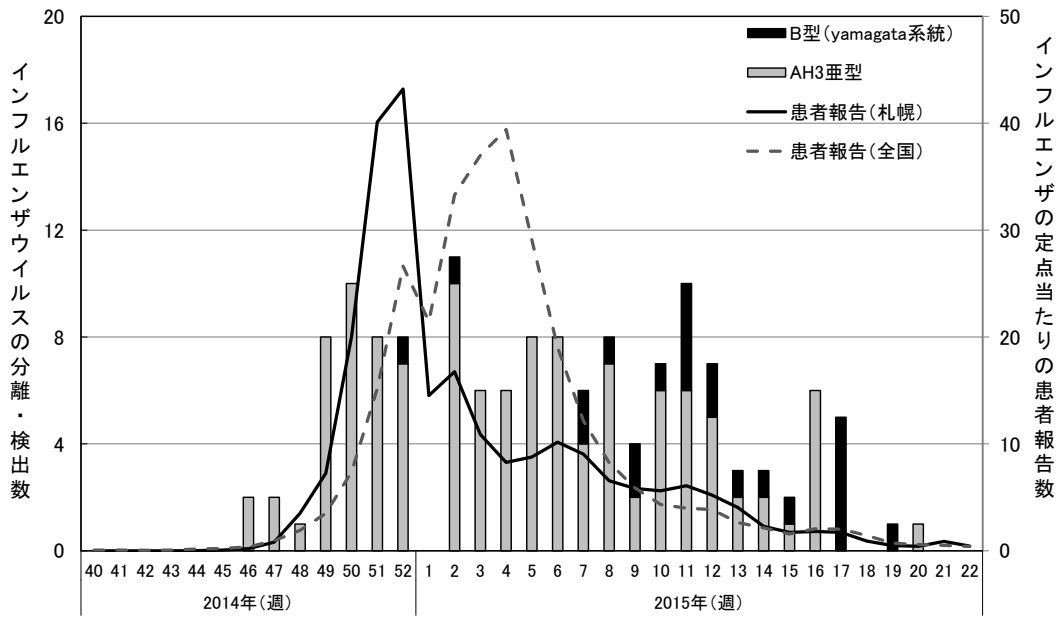


図2 週別インフルエンザ患者報告数とインフルエンザウイルス分離・検出数

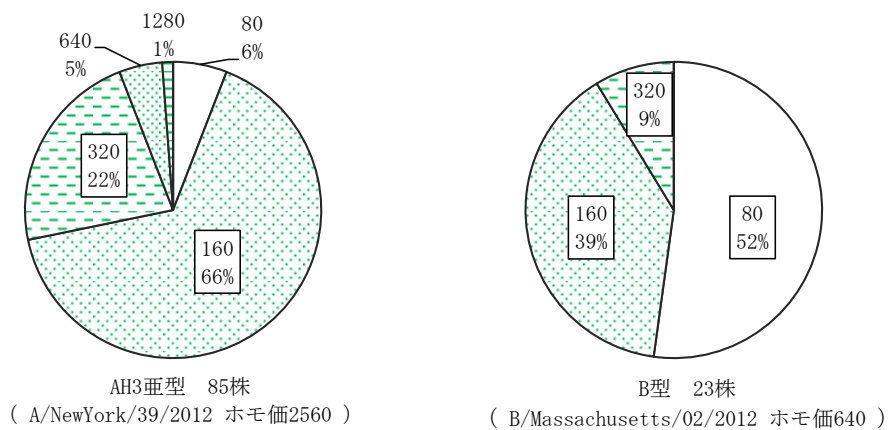


図3 2014/2015 シーズン分離株のHI 試験結果

インフルエンザ様疾患として搬入された臨床検体のうち、MDCK 細胞による分離が陰性であった47検体について、リアルタイム RT-PCR 法により型・亜型の同定を行った結果、31 検体が AH3 亜型に同定された。

### 3-4 インフルエンザウイルスの HA 遺伝子解析

2014/2015 シーズンの札幌市において分離・検出されたインフルエンザウイルスについて、抗原性状に係わる HA 遺伝子の系統解析を行った。図4、5 に系統樹を示す。

#### (1) AH3 亜型

今シーズン、分離・検出した AH3 亜型 118 株のうち、22 株について系統解析を行った。当所において13 株、感染研において9 株の遺伝子解析が行われた。この結果、22 株中18 株はサブクレード 3C. 2a(以下、3C. 2a 株)、4 株はサブクレード 3C. 3a(以下、3C. 3a 株) に属していた。札幌市では11 月中旬から1 月にかけて3C. 2a 株と3C. 3a 株が検出されていたが、次第に3C. 2a 株の割合が多くなった。全国的には国内分離株の7 割以上を3C. 2a 株が占め<sup>2)</sup>、

また世界的にも 3C. 2a 株が優勢であった<sup>3)</sup>。

3C. 2a 株及び 3C. 3a 株は、国内において 2013/2014 シーズン後半から増加し、昨シーズンの日本のワクチン株であり、今シーズンの海外ワクチン株である A/Texas/50/2012 から抗原性が変異している<sup>4)</sup>。また、3C. 2a 株は、感染研が実施した中和試験によると今シーズンのワクチン株 (A/NewYork/39/2012) の抗原性からも変異していた。

## (2) B 型ウイルス

今シーズン札幌市で分離・検出された B 型ウイルス (yamagata 系統) 23 株のうち 4 株について、感染研において HA 遺伝子の解析が行われた。実施された B 型ウイルス (yamagata 系統) 4 株は全てクレード 3 に属し、感染研が実施した HI 試験結果ではワクチン株 (B/Massachusetts/02/2012) の抗原性と類似していた。

### 3-5 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

2014/2015 シーズンに札幌市内で分離・検出された AH3 亜型 11 株及び B 型 11 株について、感染研が実施した薬剤感受性試験の結果、全ての株がオセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル及びラニナミビルに対して感受性を保持していた。

今シーズン国内において検出された抗インフルエンザ薬耐性株 (2015 年 6 月 9 日現在) は、AH3 亜型 282 株のうちノイラミニダーゼに R292K 変異をもつ 1 株であった<sup>5)</sup>。

昨シーズンに北海道において地域流行した AH1pdm09 ウイルス H275Y 変異株は、今シーズンは検出されなかった。

## 4. まとめ

2014/2015 シーズンの札幌市におけるインフルエンザの流行は 11 月後半から始まり、急速な広がりをみせ、12 月中旬から下旬にかけて流行のピークとなった。しかし、ピーク後は直ぐに低下し、低めに推移した。分離・検出されたインフルエンザウイルスは AH3 亜型ウイルスが 83.7% (118 株)、B

型ウイルス (Yamagata 系統) が 16.3% (23 株) で、AH3 亜型ウイルスが流行の主流となり、後半は B 型ウイルスの割合が多くなった。また、今シーズン分離・検出された AH3 亜型は、ワクチン株から抗原性が変異したウイルス (サブクレード 3C. 2a) の割合が多かったと推察される。一方、B 型ウイルスは感染研の HI 試験結果からワクチン株に類似していたと考えられる。

謝辞：ご協力いただきました医療機関、保健所の皆様に深謝致します。

## 5. 文 献

- 1) 国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル第 3 版 平成 24 年 3 月
- 2) 国立感染症研究所、厚生労働省結核感染症課：今冬のインフルエンザについて (2014/2015 シーズン) , <http://www.nih.go.jp/niid/ja/flu-m/flutoppage/2066-idsc/related/5647-fludoko-2014.html>
- 3) WHO : Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2015-2016 northern hemisphere influenza season February 2015
- 4) 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第一室・WHO インフルエンザ協力センター、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ：病原微生物検出情報，35 (11) , 254-258, 2014
- 5) 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第一室・WHO インフルエンザ協力センター、全国地方衛生研究：抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス 2015 年 5 月 28 日 , <http://www.nih.go.jp/niid/ja/influ-resist.html>

- 2014/2015 札幌株
- 2014/2015 シーズンワクチン
- 2015/2016 シーズン WHO 推奨ワクチン株
- 2013/2014 シーズンワクチン

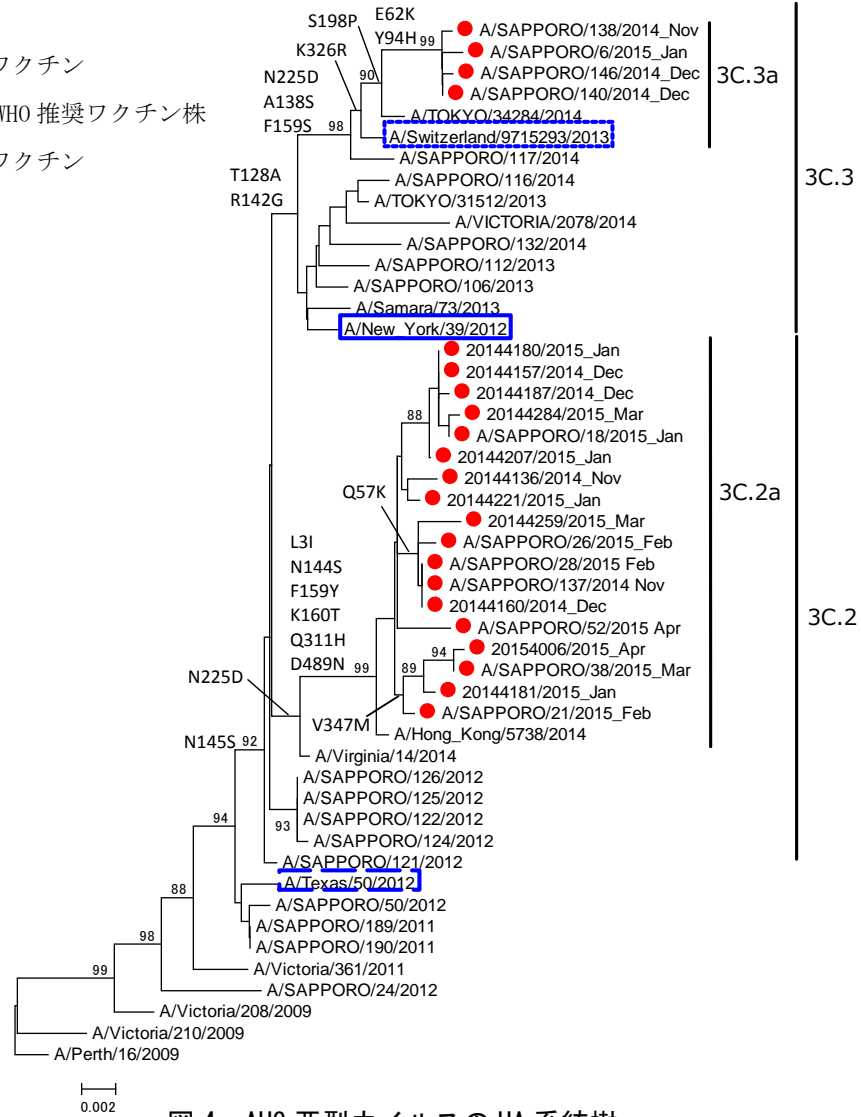


図4 AH3 亜型ウイルスの HA 系統樹

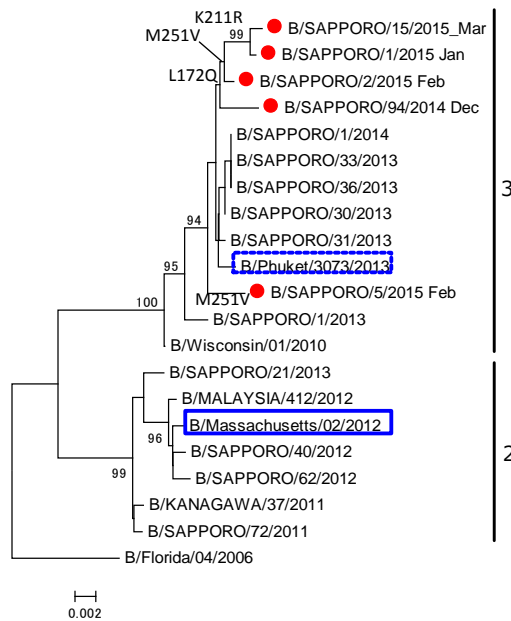


図5 B型ウイルス (Yamagata 系統) の HA 系統樹