

2016/2017 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 菊地正幸 濱谷和代 鈴木欣哉

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、2016/2017 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、2016年10月から2017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278検体（小児科212検体、内科66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°Cで培養した。このうち、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について、国立感染症研究所（以下、感染研）が示す方法¹⁾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（ウサギ免疫血清 : A/California/07/2009（X-179A）、A/HongKong/4801/2014（X-263）、B/Texas/02/2013（Victoria系統）、B/Phuket/3073/2013（山形系統））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²⁾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

2016/2017 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¹⁾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。また、系統解析には感染研において解析された札幌市内の分離株及びワクチン株、参照株等の塩基配列をThe Global Initiative on Sharing All Influenza Data（GISAID）から入手し、用いた。

2-4 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

AH1N1pdm09ウイルス（以下、AH1pdm09）はノイ

ラミニダーゼ(以下、NA)遺伝子の275番目のアミノ酸がヒスチジン(H)からチロシン(Y)に変異(以下、H275Y)すると、抗インフルエンザ薬のオセルタミビル及びペラミビルに耐性を示す。今シーズン、札幌市で分離・検出されたAH1pdm09分離株について、感染研が示す「Allele-specific RT-PCR法によるH275Y変異の検出」¹⁾に準じて、H275Y変異の検出を行い、抗インフルエンザ薬耐性株の調査を行った。また、Allele-specific RT-PCR法で検出限界以下であった臨床検体について、ダイレクトシーケンス法によりNA遺伝子の塩基配列を決定し、H275Y変異の有無を確認した。

札幌市で分離されたインフルエンザウイルス分離株の一部については感染研において薬剤感受性試験¹⁾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

2016/2017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2016年第43週(10/24~10/30)に流行開始の目安である1.0を超え、2017年第3週(1/16~1/22)に定点当たり10.9と流行発生注意報レベルの基準値(10.0)を上回り、2017年第5週(1/30~2/5)に定点当たり23.4とピークになった。その後患者報告数は徐々に減少したものの2017年第12週(3/20~3/26)まで注意報

レベルで推移し、第21週(5/22~5/28)に定点当たり1.0を下回った。今シーズンの患者報告数は14,015人(56定点、2017年6月20日現在)であった。札幌市では、今シーズンは流行開始が早かったものの、警報レベル(定点当たり30)を超えることはなく、過去5年及び全国と比べピークが低く、大きな流行にはならなかった。

3-2 インフルエンザウイルスの分離・検出状況

2016/2017シーズンの札幌市におけるインフルエンザウイルスの分離・検出状況を図2に示す。

今シーズンのインフルエンザウイルスは、2016年第42週採取の咽頭拭い液からAH3亜型ウイルス(以下、AH3)が初分離され、シーズンを通して127株が分離・検出された。昨シーズン優勢であったAH1pdm09は2016年第44週採取の咽頭拭い液から初分離され、シーズン初めの第49週までに7株が分離・検出された。また、B型ウイルス(Victoria系統、以下、B型Victoria系統)は2017年第3週採取の咽頭拭い液から、B型ウイルス(山形系統、以下、B型山形系統)は2017年第1週採取の咽頭拭い液から初分離された。2017年6月20日現在、分離・検出されたB型ウイルス36株の内訳はVictoria系統が17株、山形系統が18株、B型系統不明が1株であった。今シーズンの流行はAH3が主流となり、後半にB型ウイルスの両系統の割合が多くなった。

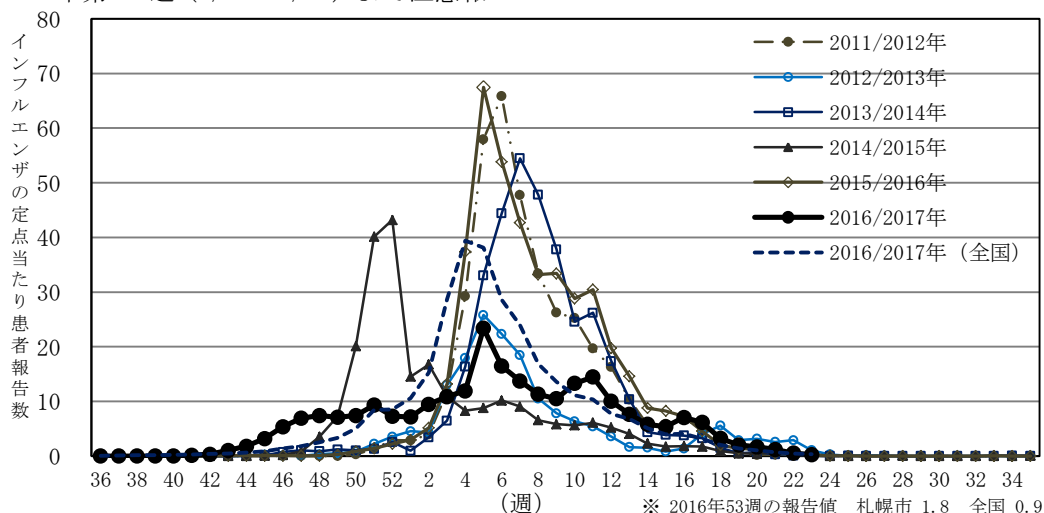


図1 2011/2012~2016/2017シーズンのインフルエンザ患者報告数

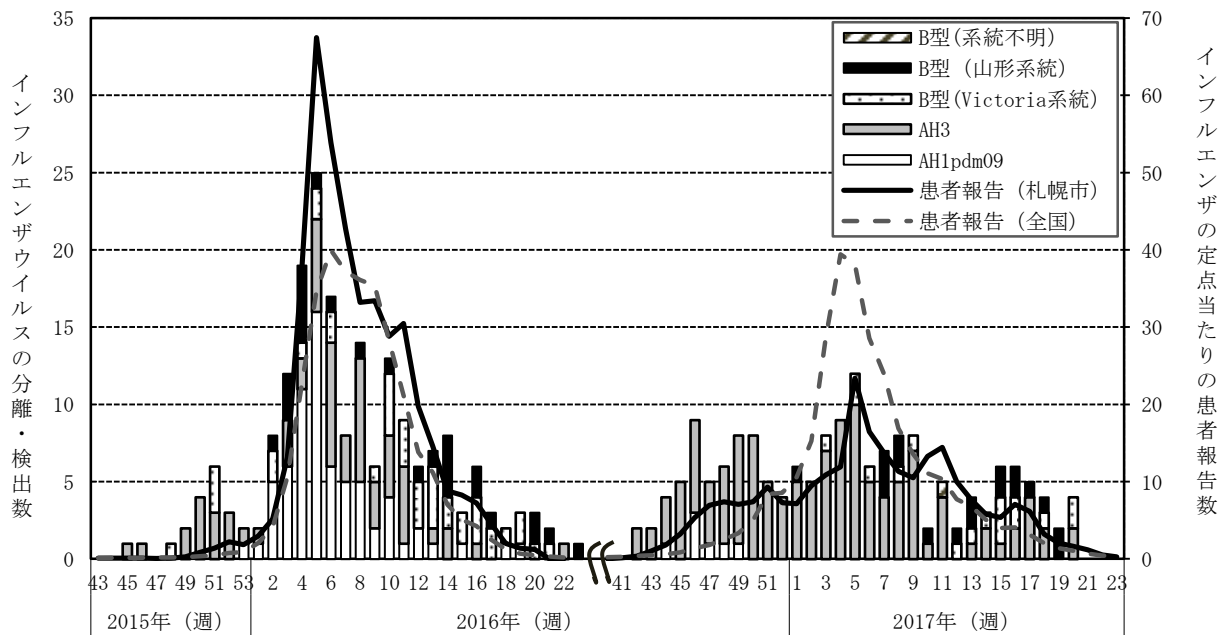


図2 2015/2016、2016/2017 シーズンのインフルエンザウイルス分離・検出状況

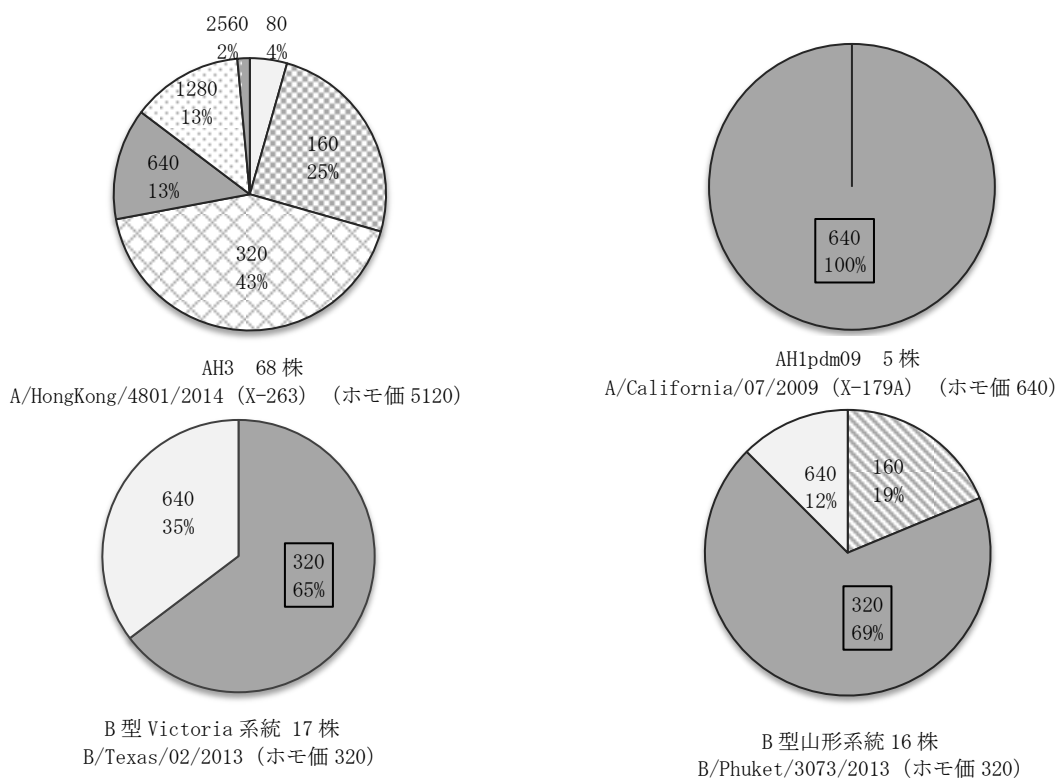


図3 2016/2017 シーズン分離株のHI 試験結果

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 試験結果を図3に示す。

なお、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は69株であった。69株のうち68株についてHI試験を行った結果、HI 価はワクチン株である A/Hong

Kong(香港)/4801/2014(X-263)抗血清(ホモ価5120)に対して80~2560の範囲にあった。1株はHA価が上がり、HI試験を行うことができなかったため、リアルタイムRT-PCR法によりAH3に同定された。

今シーズン、MDCK細胞により分離されたAH1pdm09は5株であった。HI試験を行った結果、HI価はワクチン株であるA/California/07/2009(X-179A)抗血清(ホモ価640)に対して全て640であった。

今シーズン、MDCK細胞により分離されたB型Victoria系統は17株であった。HI試験を行った結果、ワクチン株であるB/Texas/02/2013抗血清(ホモ価320)に対して、HI価が320~640の範囲にあった。また、山形系統は16株分離され、HI試験を行った結果、ワクチン株であるB/Phuket/3073/2013抗血清(ホモ価320)に対して、HI価が160~640の範囲にあった。

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。この結果、58検体がAH3、2検体がAH1pdm09、2検体がB型山形系統に同定され、1検体がB型(系統不明)であった。今シーズンのAH3はMDCK細胞による分離が54.3%と低かった。

3-4 インフルエンザウイルスのHA遺伝子解析

2016/2017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の抗原性状に係わるHA遺伝子の系統解析を行った。図4~7に系統樹を示す。

(1) AH3

今シーズン札幌市で分離・検出したAH3 127株のうち当所において17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、26株全てがサブクレード3C.2a(以下、3C.2a株)に属していた。このうち12株は昨シーズンに流行していたN171K、I406V、G484Eのアミノ酸置換をもつ3C.2a.1に属していた。

また、今シーズンはT131K、R142Kのアミノ酸置

換をもつ群、I58V、N121K、S144K、S219Yのアミノ酸置換をもつ群、2017年年明け頃から検出されたN31S、R142G、S144R、N171K、I192T、Q197Hのアミノ酸置換をもつ群と多様な3C.2a株が検出された。

この結果から、今シーズン札幌市で流行していたAH3は3C.2a株が大部分を占めていたと推察される。3C.2a株は、国内において2013/2014シーズン後半から検出され始め、2014/2015及び2015/2016シーズンの流行株^{2),3),4)}であり、今シーズンは国内及び世界的にも大部分が3C.2a株であった^{5),6)}。3C.2a株は今シーズンのワクチン株に選定されている。

(2) AH1pdm09

今シーズン札幌市で分離・検出されたAH1pdm09 7株のうち5株が感染研において遺伝子解析が行われた。この結果、5株全てがサブクレード6B.1(以下、6B.1株)に属していた。国内においても6B.1株が国内分離株の大部分を占めていた⁵⁾。6B.1株は感染研が実施したHI試験結果からワクチン株(A/California/07/2009)の抗原性と類似していた。

(3) B型ウイルス

今シーズン札幌市で分離・検出されたB型Victoria系統17株のうち1株について感染研においてHA遺伝子の解析が行われた。この結果、1株はクレード1Aに属し、感染研が実施したHI試験結果ではワクチン株(B/Texas/02/2013)の抗原性と類似していた。また、今シーズン札幌市で分離・検出されたB型山形系統は18株あり、このうち1株について感染研においてHA遺伝子の解析が行われた。この結果、1株はクレード3に属し、感染研が実施したHI試験結果からワクチン株(B/Phuket/3073/2013)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

2016/2017シーズンに札幌市内で分離・検出されたAH1pdm09 7株について、オセルタミビル・ペラミビルに対し耐性を示すH275Y変異株について解析を行った。この結果、7株全てにおいてH275Y変異は検出されなかった。

また、AH1pdm09 5株、AH3 9株及びB型 Victoria 系統 2株、B型山形系統 4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（2017年6月21日現在）については、AH1pdm09が175株解析され、このうち2株(1.1%)がオセルタミビル、ペラミビルに耐性を示すウイルスであったが、国内で拡がり確認されていない⁷⁾。AH3 亜型 333株、B型は 214株が解析されたが、オセルタミビル、ペラミビルに耐性を示すウイルスは検出されていない⁷⁾。

4. まとめ

2016/2017シーズンの札幌市におけるインフルエンザの流行は昨シーズンより早く、10月後半から始まり、1月後半から2月初めにかけて流行のピークとなり、ピーク後も注意報レベルで推移した。今シーズンは昨シーズンほど大きな流行にはならなかったものの、昨シーズンは流行期（定点当たりの患者発生数が1.0を超えた時点から1.0を下回るまでの間）が23週間であったのに対し、今シーズンは31週間と流行期が長く持続していた。

分離・検出されたインフルエンザウイルスの割合はAH3が75.1%（127株）、AH1pdm09が4.1%（7株）、B型 Victoria系統が10.1%（17株）、B型山形系統が10.7%（18株）であった。今シーズンはAH3が多数を占め、流行の主流であった。また、シーズン後半はB型ウイルスの割合が増え、Victoria系統及び山形系統の両系統が流行していた。

今シーズン分離・検出された AH1pdm09、B型 Victoria 系統、B型山形系統は感染研において実施された 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。一方、AH3は、今シーズンの札幌市の流行株のうちワクチン株の抗原性と相違していたものがあつた。これは発育鶏卵を用いたワクチ

ン製造時のワクチン株の抗原性の変化が要因の一つと考えられる⁵⁾。

また、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の一部から抗インフルエンザ薬耐性株は検出されなかったが、今後も動向を監視していく。

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26年9月
- 2) 大西麻実, 古舘大樹, 扇谷陽子 他：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, **42**, 57-61, 2015
- 3) 大西麻実, 菊地正幸, 檜林秀紀 他：2015/2016シーズンの札幌市におけるインフルエンザの流行状況, **43**, 57-65, 2016
- 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, **37** (11), 214-219, 2016
- 5) 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（2016/2017シーズン）, <https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/disease/influ/fludocol1617.pdf>
- 6) WHO：Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2017- 2018 northern hemisphere influenza season
- 7) 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2017年6月21日, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/influ-resist.html>

- 2016/2017 札幌分離・検出株
- ▲ 2015/2016 札幌分離・検出株
- 2016/2017 シーズンワクチン株
- 2015/2016 シーズンワクチン株

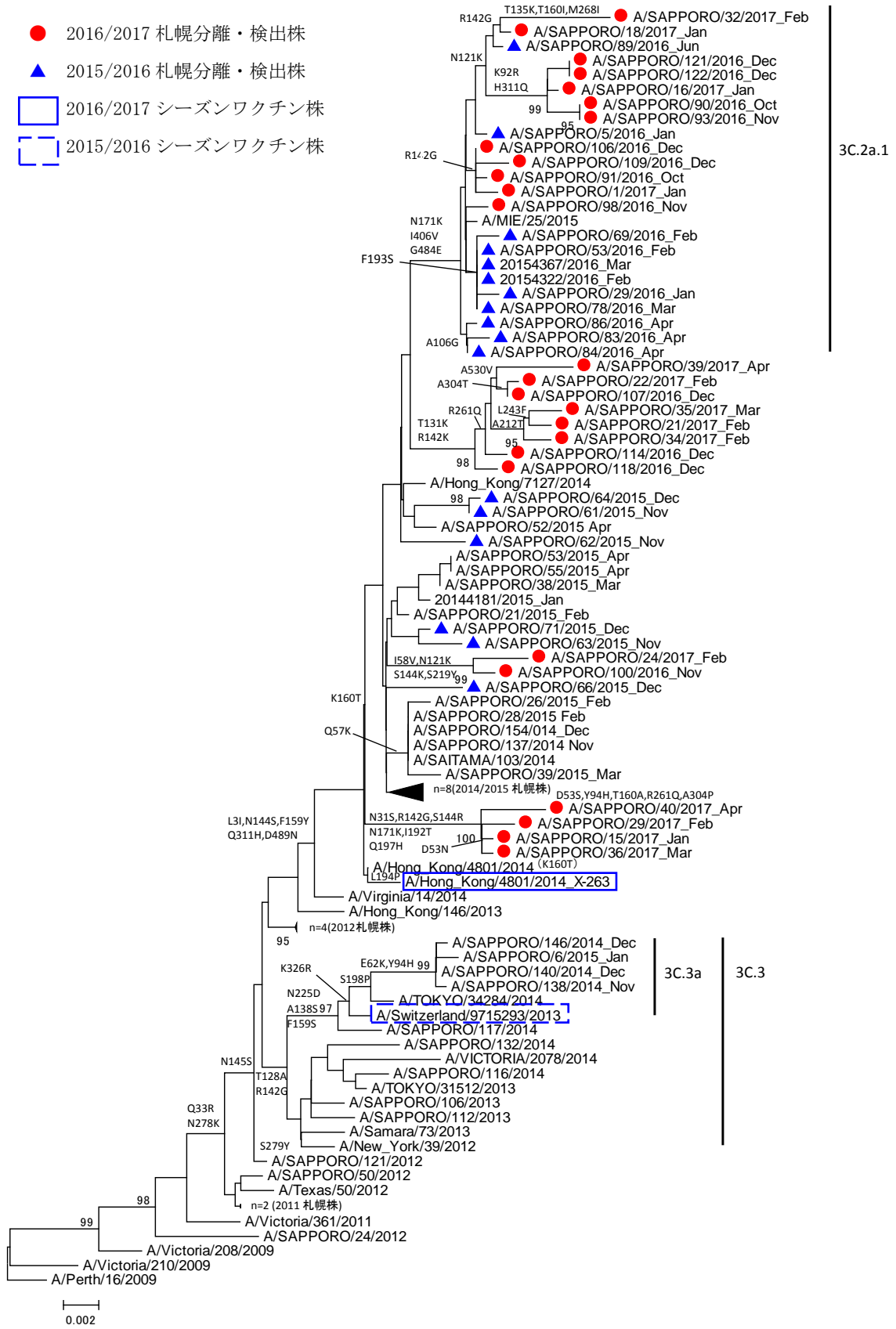


図 4 AH3 の HA 遺伝子系統樹

- 2016/2017 札幌分離・検出株
- ▲ 2015/2016 札幌分離・検出株
- 2016/2017 シーズンワクチン株
- 2017/2018 シーズン推奨ワクチン株

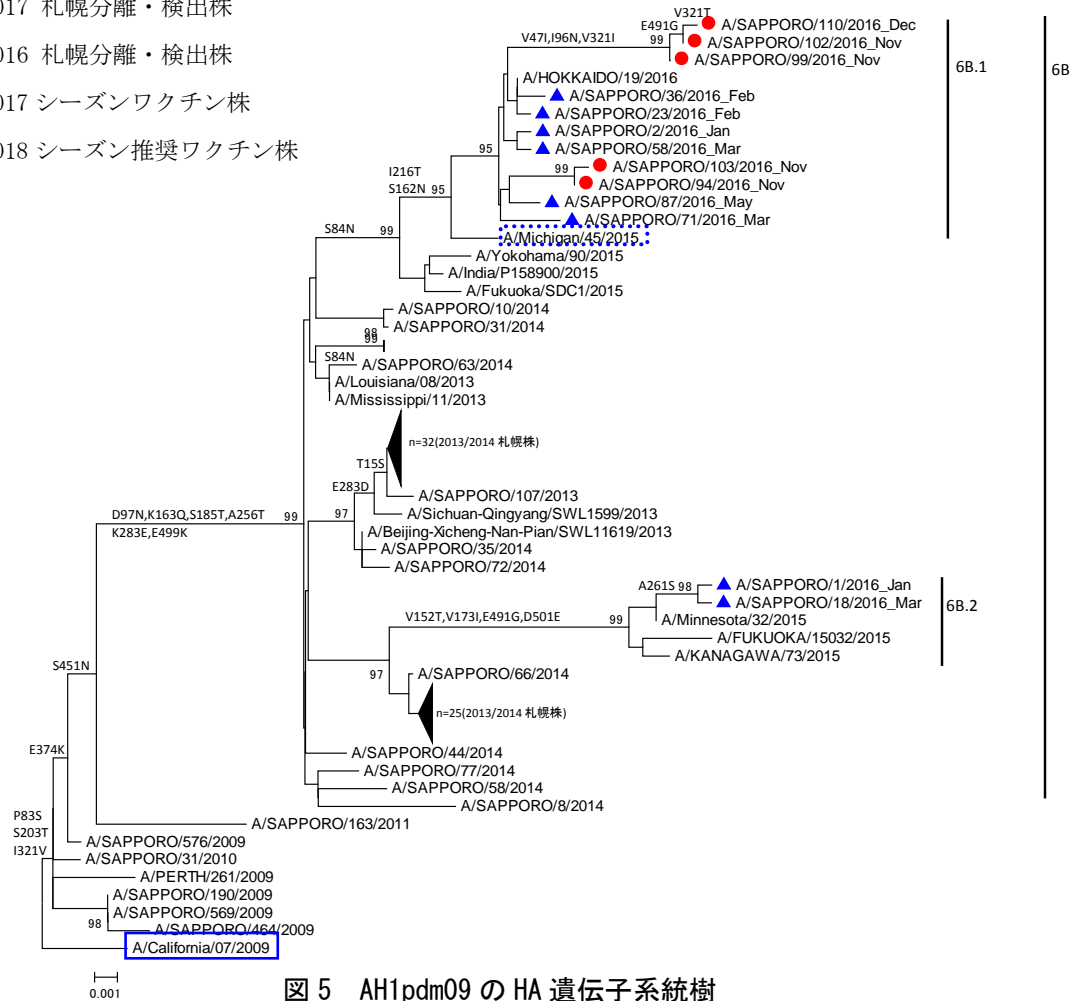


図5 AH1pdm09のHA遺伝子系統樹

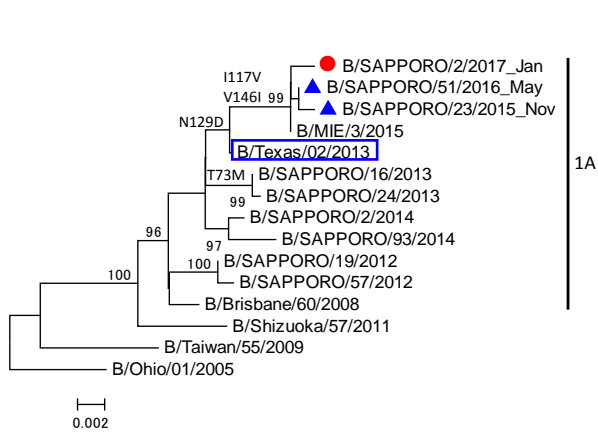


図6 B型Victoria系統のHA遺伝子系統樹

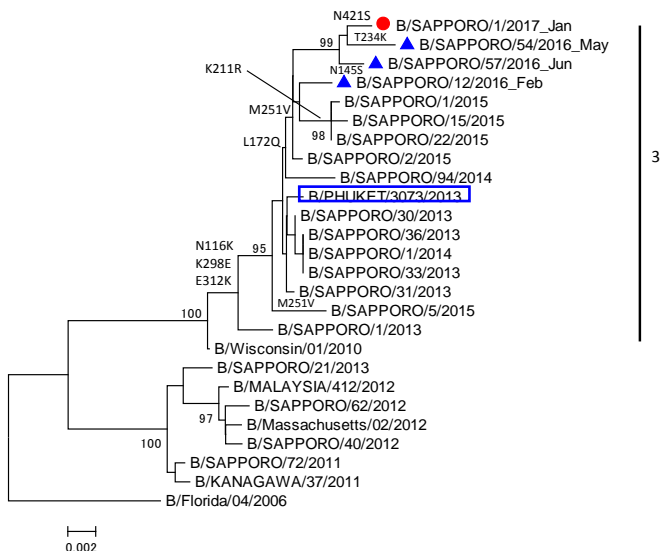


図7 B型山形系統のHA遺伝子系統樹