

2017/2018 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 島崎梨絵 谷本 章 菊地正幸 東田恭明 三觜 雄

1. 緒 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、2017/2018 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、2017 年 10 月から 2018 年 5 月までに、札幌市内定点医療機関（小児科 9 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 245 検体（小児科 178 検体、内科 67 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/Singapore/GP1908/2015 、 A/Hong Kong/4801/2014、B/Texas/2/2013 (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¹⁾ 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

2017/2018 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

2017/2018 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 2017 年第 46 週 (11/13~11/19) に流行開始の目安である 1.0 を超え、2017 年第 50 週 (12/11~12/17) に定点当たり 14.18 と流行発生注意報レベルの基準値 (10.0) を上回り、2018 年第 6 週 (2/5~2/11) に定点当たり 64.1 とピークになった。その後患者報告数は減少したものの 2018 年第 11 週 (3/12~3/18) まで注意

報レベルで推移し、第 21 週 (5/21~5/27) 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 23,411 人 (56 定点、2018 年 6 月 12 日現在) であり、昨シーズンと比べ、インフルエンザが急速に拡がり、過去 5 シーズンと比べても 2 番目に大きな流行となった。また、全国的にも大きな流行になっていた。

3-2 インフルエンザウイルスの分離・検出状況

2017/2018 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 (2018 年 6 月 12 日現在)。

今シーズンのインフルエンザウイルスは、2017 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 61 株が分離・検出された。また、AH1pdm09 型ウイルス (以下、AH1pdm) は 2017 年第 43 週採取の咽頭ぬぐい液から分離され、40 株が分離・検出された。シーズン前半は AH1pdm が優勢であったが、後半は AH3 型が多く分離・検出された。

また、B 型ウイルス (山形系統、以下、B 型山形系統) は 2017 年第 47 週採取の咽頭拭い液から初分離された。B 型ウイルスは 56 株が分離・検出され、全て B 型山形系統で、今シーズンは B 型ウイルス (Victoria 系統、以下、B 型 Victoria 系統) が分離・検出されなかった。B 型山形系統 56 株のうち 2 株は AH1pdm09 と B 型山形系統、AH3 と B 型山形系

※ 2016年53週の報告値 札幌市 1.8 全国 0.9

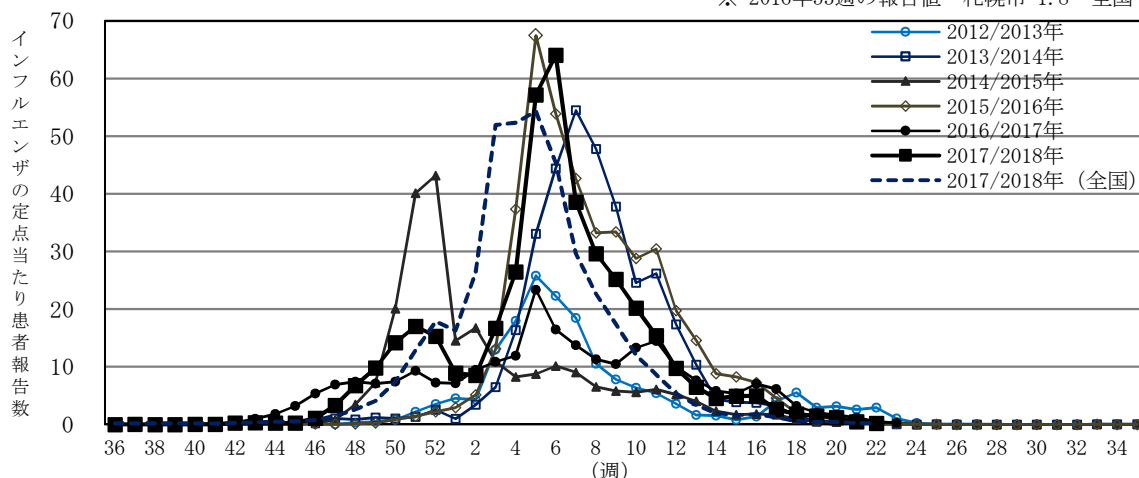


図 1 2012/2013~2017/2018 シーズンのインフルエンザ患者報告数

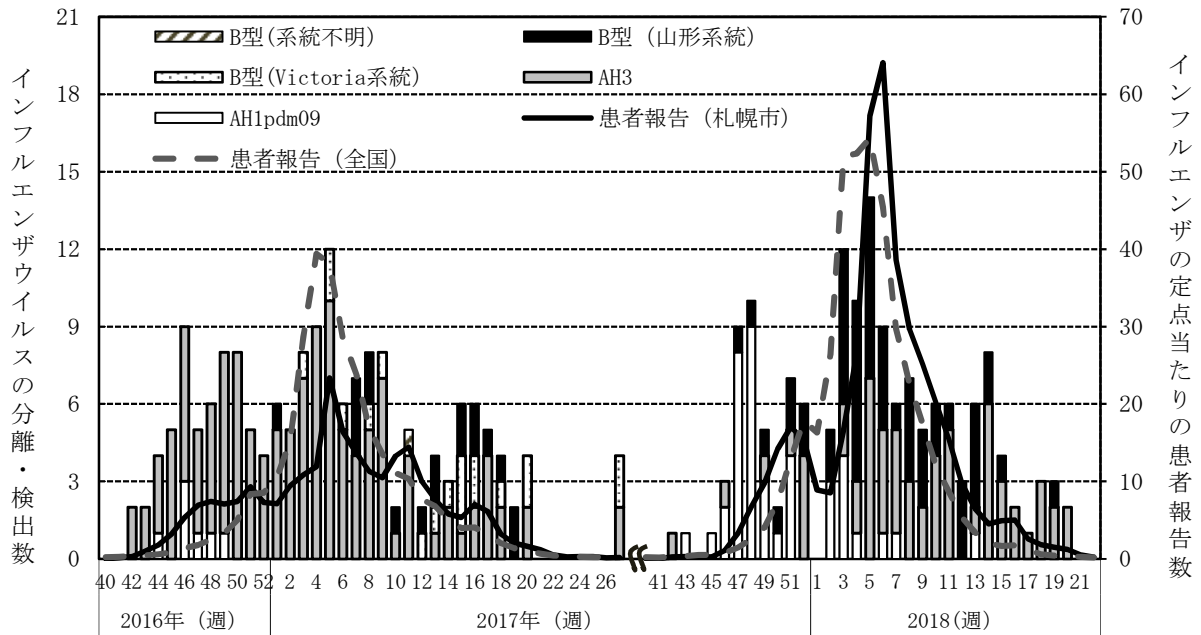


図2 2016/2017、2017/2018 シーズンのインフルエンザウイルス分離・検出状況

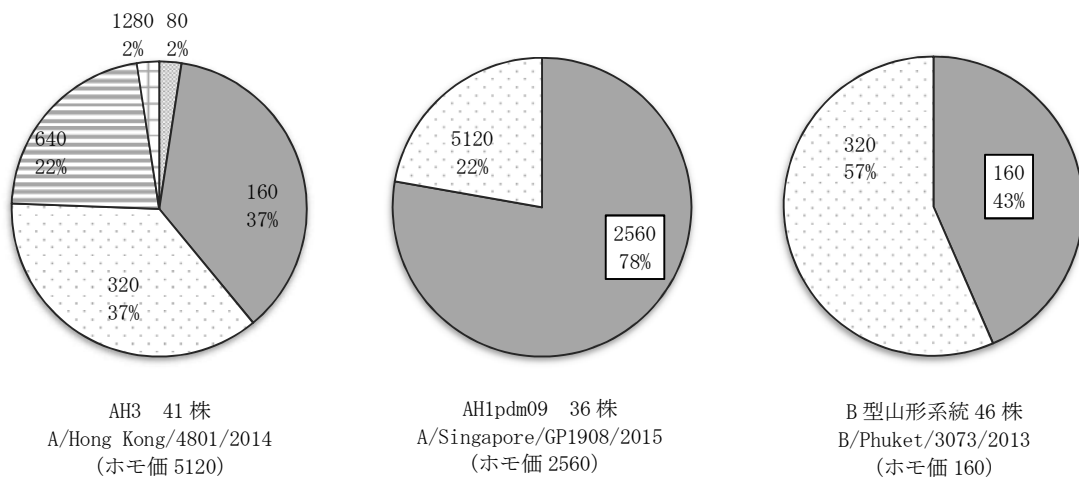


図3 2017/2018 シーズン分離株のHI 試験結果

統の重複感染例であった。今シーズンは早い時期からB型山形系統が分離・検出され始め、ピーク時にはB型山形系統の割合が多く、AH1pdm、AH3及びB型山形系統と3種のインフルエンザウイルスが混合流行したことが大きなピークになった要因の1つと考えられる。

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46株であった。46株のうち41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/4801/2014抗血清(ホモ価5120)に対して80~1280の範囲にあった。5株はHA価が上がらず、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と同定された。

今シーズン、MDCK細胞により分離されたAH1pdm09は36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/Singapore/GP1908/2015抗血清（ホモ価640）に対して2560～5120の範囲にあった。

今シーズン、MDCK細胞により分離されたB型山形系統は46株であり、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160～320の範囲にあった。

インフルエンザ、またはインフルエンザと診断されず、発熱、上気道炎、下気道炎などの臨床症状を呈する患者の臨床検体のうち、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、15検体がAH3、4検体はAH1pdm09、10検体がB型山形系統と同定された。今シーズン分離・検出されたAH3のうち、MDCK細胞により分離できた割合は75.4%であった。

3-4 インフルエンザウイルスのHA遺伝子解析

2017/2018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4～6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 61株のうち当所において13株、感染研において1株の遺伝子解析が行われた。この結果、14株全てがクレード3C.2a(以下、3C.2a株)に属していた。このうち6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サブクレード3C.2a.1に属していた。

また、昨シーズンに検出されていたT131K、R142Kのアミノ酸置換をもつサブクレード3C.2a.2が6株、N121K、S144Kのアミノ酸置換をもつ3C.2a.3が1株検出され、昨シーズンと同様多様な株が検出された²⁾。

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.1、3C.2a.2株が多くを占めていた

と推察される。国内及び国外においても同様な状況にあり、3C.2a.2、3C.2a.1が多く検出されている^{3),4),5),6)}。2018/2019シーズンのワクチン株はサブクレード3C.2a.1から選定されている。

(2) AH1pdm09

今シーズン札幌市で分離・検出されたAH1pdm09 40株のうち当所において8株、感染研において2株の遺伝子解析が行われた。この結果、10株全てがワクチン株（A/Singapore/GP1908/2015）が属すクレード6B.1(以下、6B.1株)に属していた。国内及び国外において検出されたAH1pdm09もほぼ6B.1株が占めていた^{3),4),5),6)}。6B.1株は感染研が実施したHI試験結果からワクチン株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型山形系統は56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

2017/2018シーズンに札幌市内で分離・検出されたAH1pdm09 40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、39株はH275Y変異が検出されなかった。1株はH275H及びH275Yが混合した変異(H275H/Y mix)が検出され、感染研が実施した薬剤感受性試験においてもオセルタミビル、ペラミビルに対して感受性が低下していた。この1株はペラミビル点滴（治療投与）後に採取した検体から検出された例である。

AH1pdm09 7株及びAH3 2株、B型山形系統6株について感染研が実施した薬剤感受性試験の結果、上記のAH1pdm09 1株を除いて、全てオセルタミビル、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であった。

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（2018年6月7日現在）の検出状況は、AH1pdm09が1,325株解析され、20株（1.5%）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155株、B型は217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

2017/2018シーズンの札幌市におけるインフルエンザの流行は1月後半から2月初めにかけて急速に感染が拡がり、大きなピークとなり、過去5年と比べ2番目に大きな流行であった。

分離・検出されたインフルエンザウイルスはAH3が38.9%（61株）、AH1pdm09が25.5%（40株）、B型山形系統が35.6%（56株）であった。今シーズンはB型山形系統が例年より早い時期から多く検出され、AH1pdm及びAH3と3種のインフルエンザウイルスが混合流行していた。

今シーズン分離・検出されたAH1pdm09、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。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³⁾。

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治療投与例による1検体以外、耐性株の検出は確認されなかった。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, 菊地正幸, 濱谷和代 他: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, 札幌市衛生研究所年報, **44**, 63-69, 2017
- 3) 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、全国地方衛生研究所：インフルエンザウイルス流行株抗原性解析と遺伝子系統樹 2018年5月2日, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-antigen-phylogeny.html>
- 4) WHO: Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2018- 2019 northern hemisphere influenza season
- 5) The Crick Worldwide Influenza Centre (WIC) WHO CC for Reference & Research on Influenza The Francis Crick Institute: Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of influenza vaccine for the Northern Hemisphere 2018-2019 19th-21st February 2018
- 6) CDC: Influenza Activity - United States, October 1, 2017-February 3, 2018, MMWR, **67** (6), 169-179, 2018
- 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2018年6月7日, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/influ-resist.html>

- 2017/2018 札幌分離・検出株
- ▲ 2016/2017 札幌分離・検出株
- 2017/2018 シーズンワクチン株
- 2018/2019 シーズンワクチン株

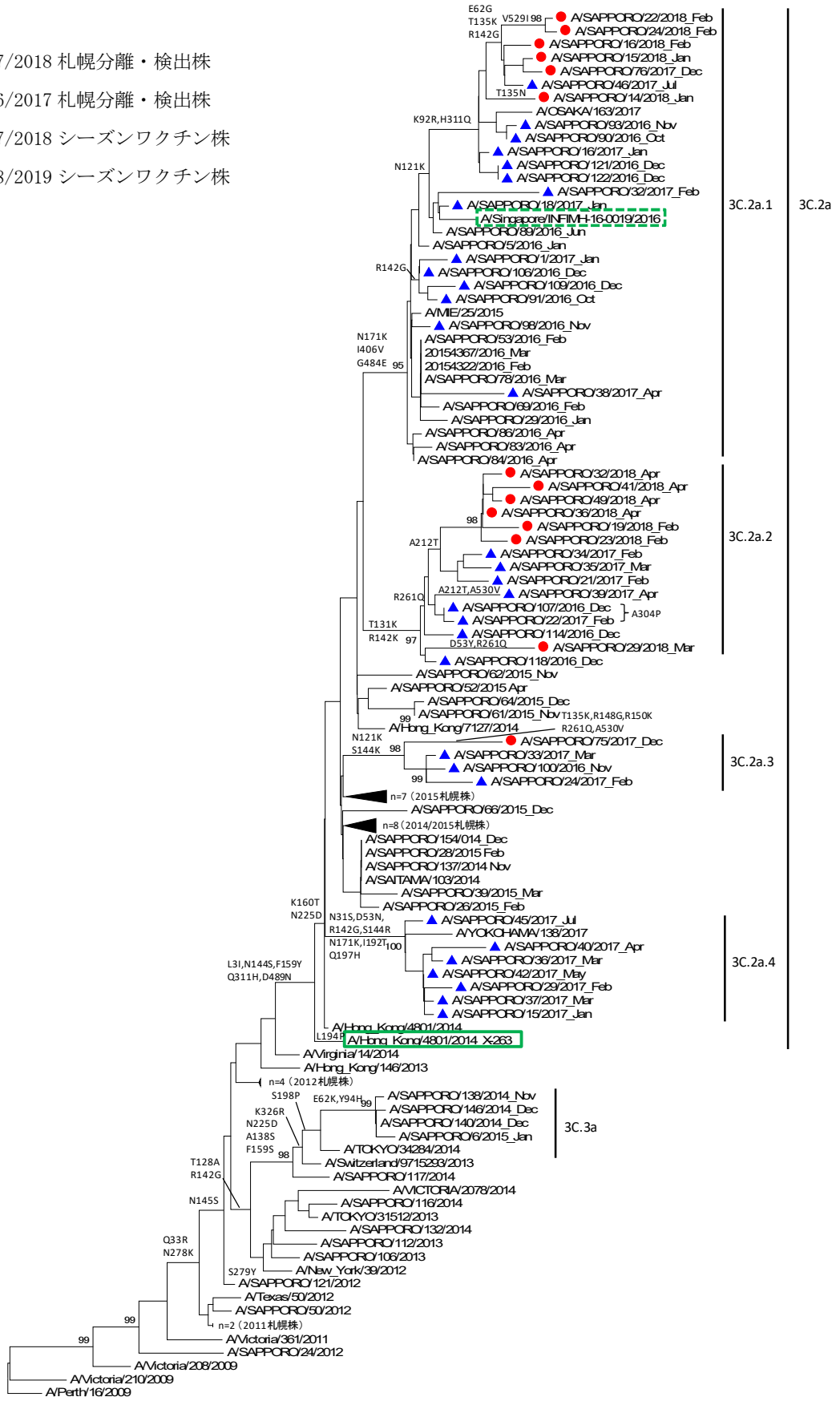


図4 AH3のHA遺伝子系統樹

- 2016/2017 札幌分離・検出株
- ▲ 2015/2016 札幌分離・検出株
- 2017/2018, 2018/2019 シーズンワクチン株

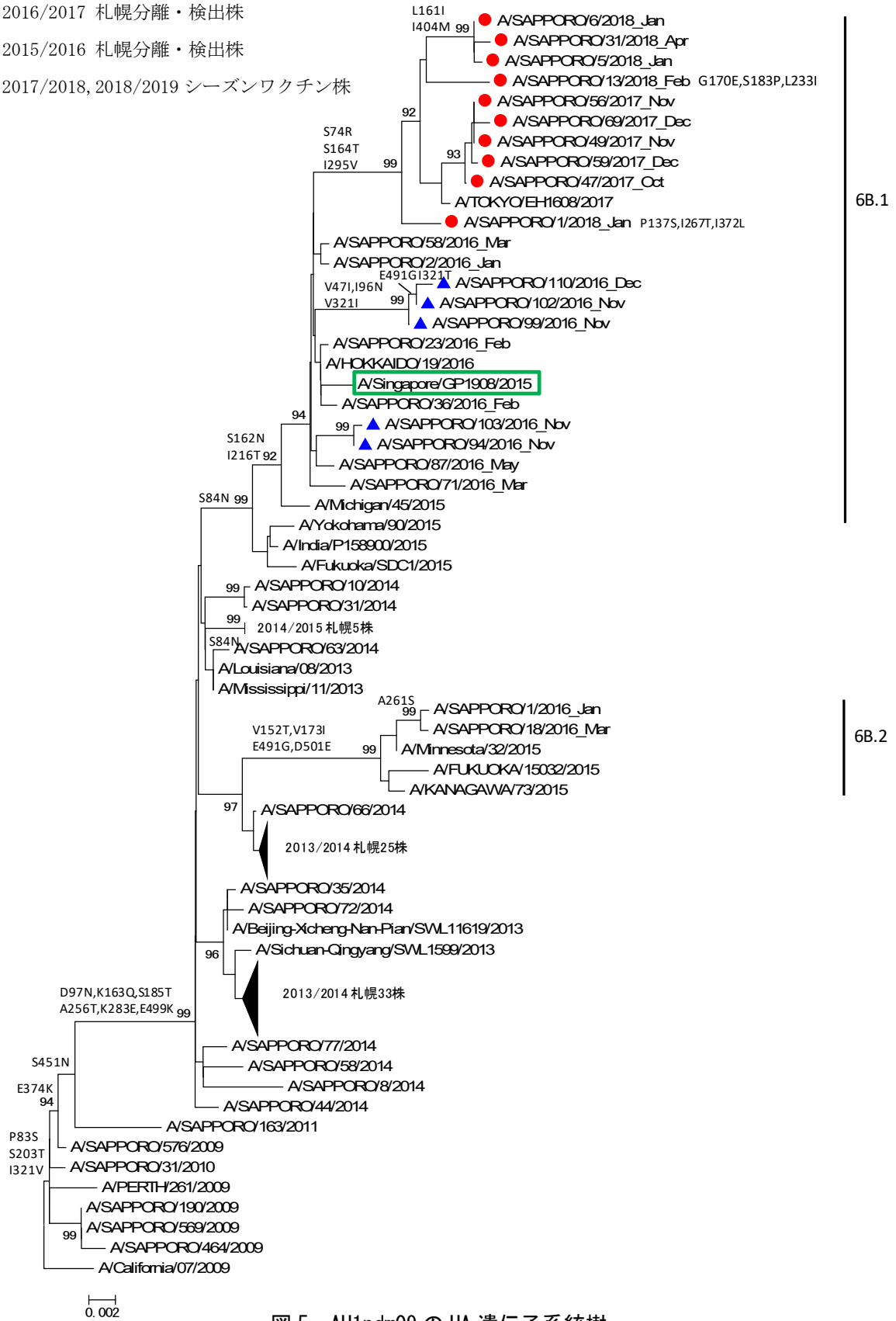
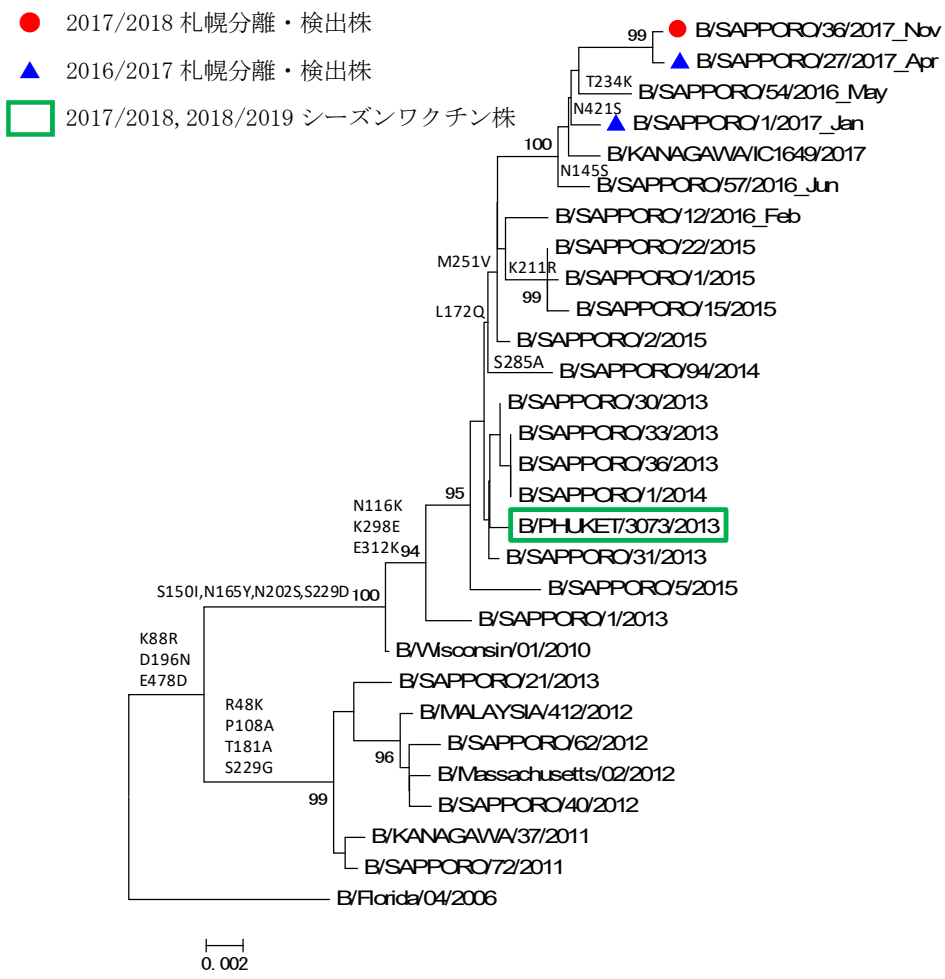


図5 AH1pdm09 のHA 遺伝子系統樹



3

図 6 B 型山形系統の HA 遺伝子系統樹