

2018/2019 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 菊地正幸 東田恭明 三觜 雄

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、2018/2019 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、2018 年 10 月から 2019 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ぬぐい液等合計 220 検体（小児科 174 検体、内科 46 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/Singapore/INFIMH-16-0019/2016、B/Maryland/15/2016（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

2018/2019 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

2018/2019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2018年第48週(11/26~12/2)に流行開始の目安である1.0を超え、2018年第50週(12/10~12/16)に定点当たり11.66と流行発生注意報レベルの基準値(10.0)を

上回り、2018年第52週(12/24~12/30)に定点当たり40.43と最大になった。その後も患者報告数は高めに推移し、2019年第8週(2/18~2/24)まで注意報レベルで推移し、第17週(4/22~4/28)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17,253人(56定点、2019年6月18日現在)であり、シーズン早めの立ち上がりであったが昨シーズンほど大きなピークにはならなかった²⁾。患者報告数は過去5シーズンと比べ3番目であった。全国的には大きな流行がみられた。

3-2 インフルエンザウイルスの分離・検出状況

2018/2019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・検出状況及びその割合を図2、3に示す(2019年6月18日現在)。

今シーズンのインフルエンザウイルスは、2018年第50週採取の咽頭ぬぐい液からAH3亜型ウイルス(以下、AH3)が初分離され、シーズンを通して73株が分離・検出された。また、AH1pdm09型ウイルス(以下、AH1pdm)は2018年第47週採取の咽頭ぬぐい液から分離され、27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2018年第52週採取の咽頭拭い液から初分離された。B型ウイルス(山形系統、以下、B型山形系統)は2019年第7週採取の咽頭ぬ

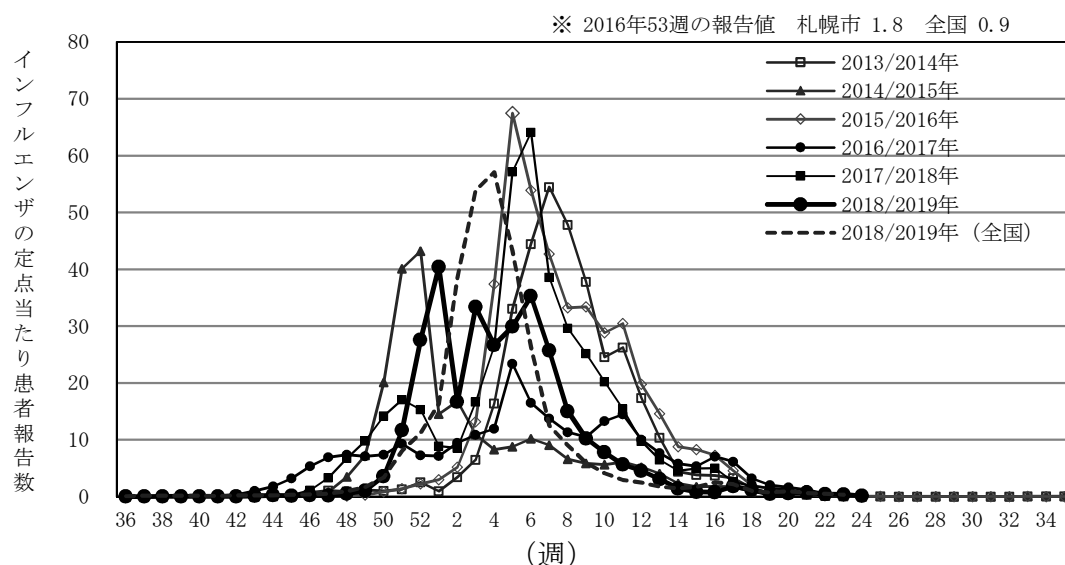


図1 2013/2014~2018/2019シーズンのインフルエンザ患者報告数

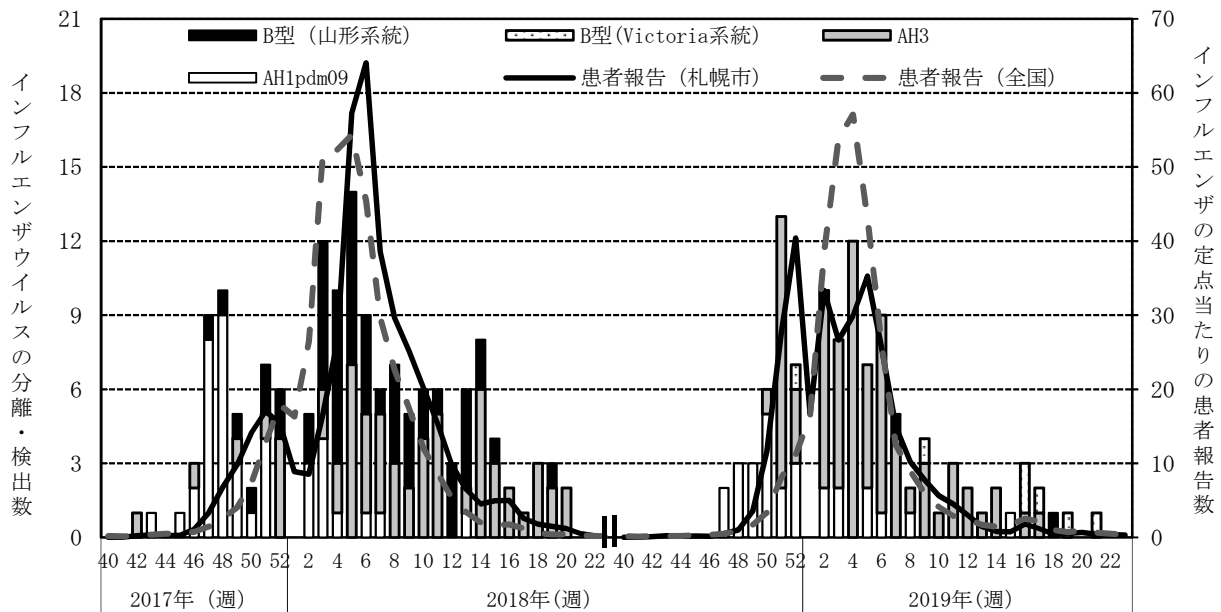


図2 2017/2018、2018/2019 シーズンのインフルエンザウイルス分離・検出状況

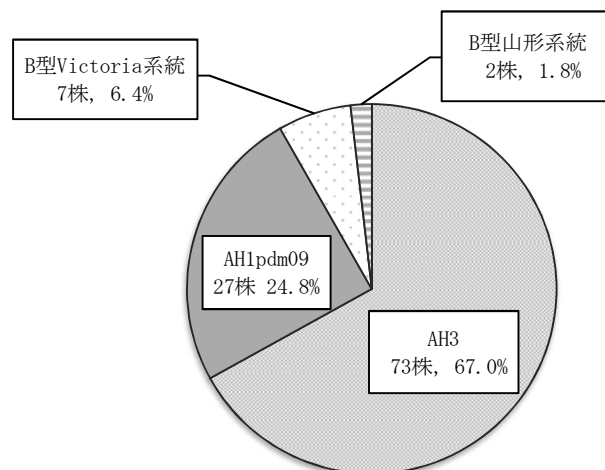


図3 2018/2019 シーズンのインフルエンザウイルス分離・検出割合

ぐい液から初検出された。B型ウイルスは9株が分離・検出され、7株が昨シーズン分離・検出されなかったB型Victoria系統で、2株がB型山形系統であった。今シーズンは前半にAH1pdm09が分離・検出されたものの、AH3が流行の主流であった。B型ウイルスの分離・検出は少なかった。

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についてHI試験を行った。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50株あり、36株についてHI試験を行った。この結果、HI価はワクチン株であるA/Singapore/INFIMH-16-0019/2016抗血清(ホモ価1280)に対して160~1280の範囲にあった。50株のうち、14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17株であった。17株のHI価はワクチン株である

A/Singapore/GP1908/2015抗血清(ホモ価1280)に対して全て2560にあった。

今シーズン MDCK 細胞により分離された B 型 Victoria 系統は 6 株であった。6 株の HI 価はワクチン株である B/Maryland/15/2016 (Victoria 系統) 抗血清(ホモ価 320) に対して 1 株は 160 で、5 株は 10 であった。

今シーズン MDCK 細胞により分離された B 型山形系統は 1 株であり、HI 価はワクチン株である B/Phuket/3073/2013 抗血清(ホモ価 160) に対して 80 であった。

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、23 検体は AH3 であり、10 検体が AH1pdm09、B 型 Victoria 系統及び B 型山形系統が各 1 検体から検出された。

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 68.5%であった。

3-4 インフルエンザウイルスの HA 遺伝子解析

2018/2019 シーズンの札幌市で分離・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 73 株のうち当所において 14 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、15 株全てがワクチン株 (A/Singapore/INFIMH-16-0019/2019) が属すサブクレード 3C. 2a. 1 内の 3C. 2a. 1b に属していた。15 株全てが T131K、S219F、V347M のアミノ酸置換をもつ群で、このうち 13 株は Q197R、E484G のアミノ酸置換をもつ群であった。今シーズン札幌市で流行していた AH3 は 3C. 2a. 1b 株が多くを占めていたと推察され、国内外においても同様な状

況にあった³⁾⁻⁵⁾。

3C. 2a. 1b 株は感染研が実施した HI 試験結果から今シーズンのワクチン株の抗原性と類似していた。

また、欧米で検出されている 2019/2020 シーズンワクチン株が属すクレード 3C. 3a の類似株は現在のところ札幌市では検出されていないが注視する必要がある。

(2) AH1pdm09

今シーズン札幌市で分離・検出された AH1pdm09 27 株のうち当所において 5 株、感染研において 4 株の遺伝子解析が行われた。この結果、9 株全てがワクチン株 (A/Singapore/GP1908/2015) が属すクレード 6B. 1 内の 6B. 1A に属していた。9 株のうち、S183P 及び N129D、N260D のアミノ酸置換をもつ群が 5 株、T120A のアミノ酸置換が 1 株、S183P 及び L233I のアミノ酸置換をもつ群が 3 株検出された。国内外においても 6B. 1A 株が大部分を占めていた³⁻⁶⁾。6B. 1A 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。2019/2020 シーズンのワクチン株は 6B. 1A 株から選定されている⁷⁾。

(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 系統は 7 株あり、このうち当所において 3 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、シーズン前半に採取された 1 株は 162、163 番目のアミノ酸欠損、I180V 及び R498K をもつワクチン株が属すサブクレード 1A. 1 に属していた。シーズン後半に分離された 3 株は 162-164 番目のアミノ酸欠損及び G133R、K136E をもつ群であった。この 3 株はワクチン株と比べ、抗原性が変異している可能性がある。これらの類似株は 2017 年頃よりアジアをはじめ国外でも検出されており、国内においても検出されている^{3-6, 8)}。

今シーズン札幌市で分離・検出された B 型山形系統は 2 株あり、このうち 1 株について遺伝子解

析を行った。この結果、1株はクレード3に属しており、今シーズンのワクチン株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

2018/2019 シーズンに札幌市内で分離・検出された AH1pdm09 27 株中 24 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、H275Y 変異株は検出されなかった。

AH1pdm09 4 株及び AH3 1 株、B 型 Victoria 系統 1 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（2019 年 6 月 14 日現在）の検出状況は、AH1pdm09 が 1,954 株解析され、15 株（0.8%）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り、このうち 2 株は薬剤未投与例であった。国内での拡がり確認されていない⁹⁾。AH3 亜型は 284 株、B 型は 61 株解析されたが、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⁹⁾。

また、感染研において今シーズンより開始されたキャップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害薬バロキサビル耐性株サーベイランスの国内株の解析数は AH1pdm09 が 323 株行われ、5 株（1.5%、薬剤投与例）が耐性株であった。AH3 は 334 株解析され、30 株（9.0%）の耐性株が検出され、このうち 4 株が薬剤未投与例であった。B 型は 36 株解析され、耐性株は検出されていない⁹⁾。

4. まとめ

2018/2019 シーズンの札幌市におけるインフルエンザの流行は 11 月後半から感染が広がったが、昨シーズンほどの大きな流行にはならなかった²⁾。

分離・検出されたインフルエンザウイルスは AH3 が 67.0%（73 株）、AH1pdm09 が 24.8%（27 株）、B

型 Victoria 系統が 6.4%（7 株）、B 型 山形系統が 1.8%（2 株）であった。今シーズンはシーズン前半に AH1pdm が確認されたが、AH3 が流行の主流であった。B 型ウイルスは例年に比べ分離・検出は少なかった。

今シーズン札幌市で分離・検出した AH3、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、B 型 Victoria 系統はシーズン後半に分離・検出された 3 株は 3 つのアミノ酸欠損及び 2 つのアミノ酸置換をもつ群で抗原性が変異している可能性があった。

今シーズン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の検出は確認されなかった。今後も動向を監視していく必要がある。

謝辞：ご協力いただきました医療機関、国立感染症研究所、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 4 版 平成 30 年 12 月
- 2) 大西麻実, 島崎梨絵, 菊地正幸, 他：2018/2019 シーズンの札幌市におけるインフルエンザの流行状況, 45, 75-82, 2018
- 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 2019 年 6 月 7 日, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-antigen-phylogeny.html>
- 4) WHO: Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2019-2020 northern hemisphere influenza season, https://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/2019_20_north/en/

- 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 2019-2020 18th-20st February
2019
- 6) Centers for Disease Control and Preventio
n: [https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/68/
wr/pdfs/mm6806-H.pdf](https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/68/wr/pdfs/mm6806-H.pdf)
- 7) 厚生労働省：第3回厚生科学審議会予防接種・
ワクチン分科会研究開発及び生産・流通部会
季節性インフルエンザワクチンの製造株につ
いて検討する小委員会, [https://www.mhlw.go.
jp/stf/shingi2/0000203023_00001.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/shingi2/0000203023_00001.html)
- 8) WHO: Recommended composition of influenza
virus vaccines for use in the 2018- 2019
northern hemisphere influenza season, ht
tps://www.who.int/influenza/vaccines/viru
s/recommendations/2018_19_north/en/
- 9) 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 2019年6月14日, [https://w
ww.niid.go.jp/niid/ja/influ-resist.html](https://www.niid.go.jp/niid/ja/influ-resist.html)

- 2018/2019 札幌分離・検出株
- ▲ 2017/2018 札幌分離・検出株
- 2018/2019 シーズンワクチン株
- 2019/2020 シーズンワクチン株

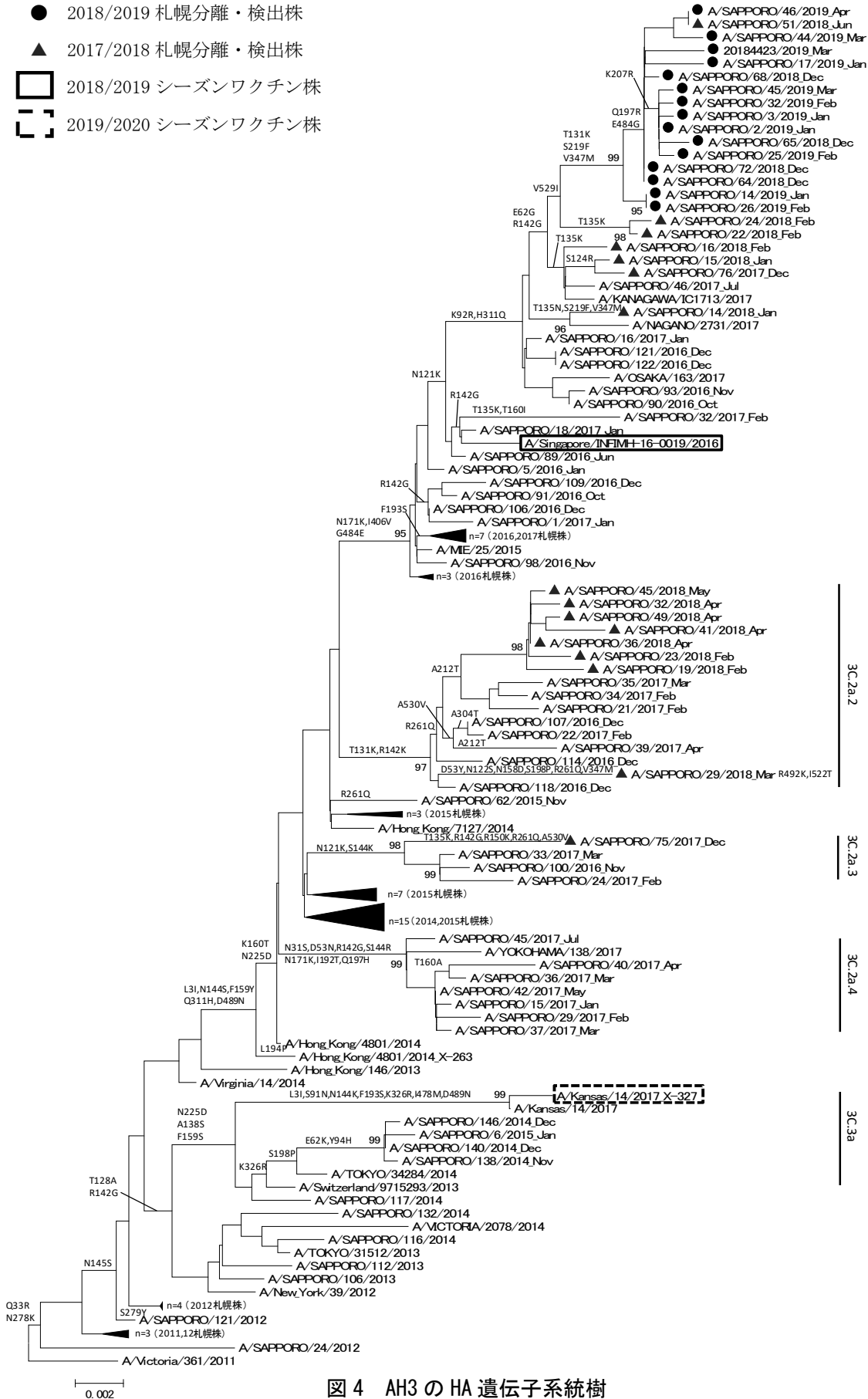


図4 AH3のHA遺伝子系統樹

- 2018/2019 札幌分離・検出株
- ▲ 2017/2018 札幌分離・検出株
- 2018/2019, 2019/2020 シーズンワクチン株

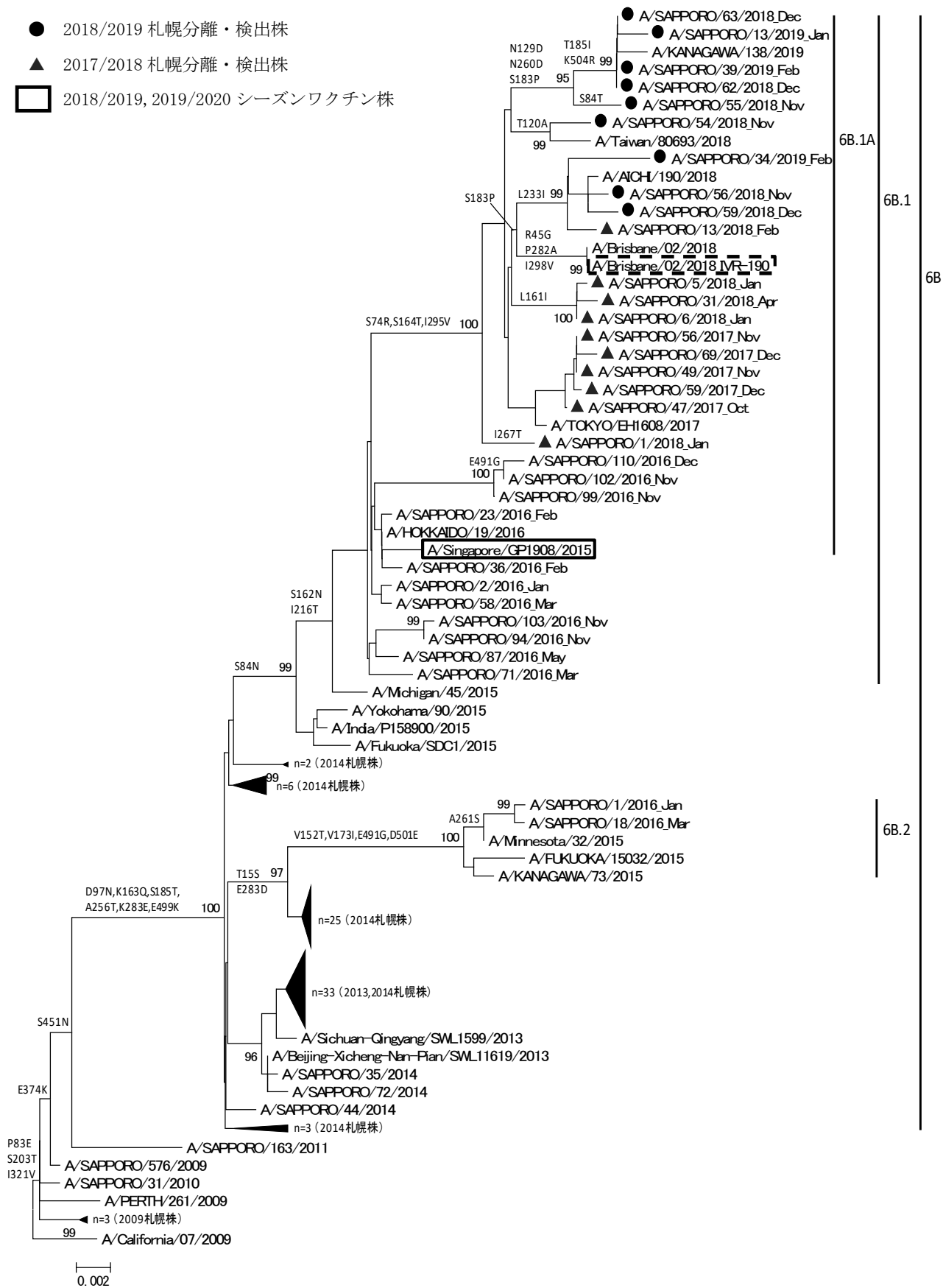


図5 AH1pdm09のHA遺伝子系統樹

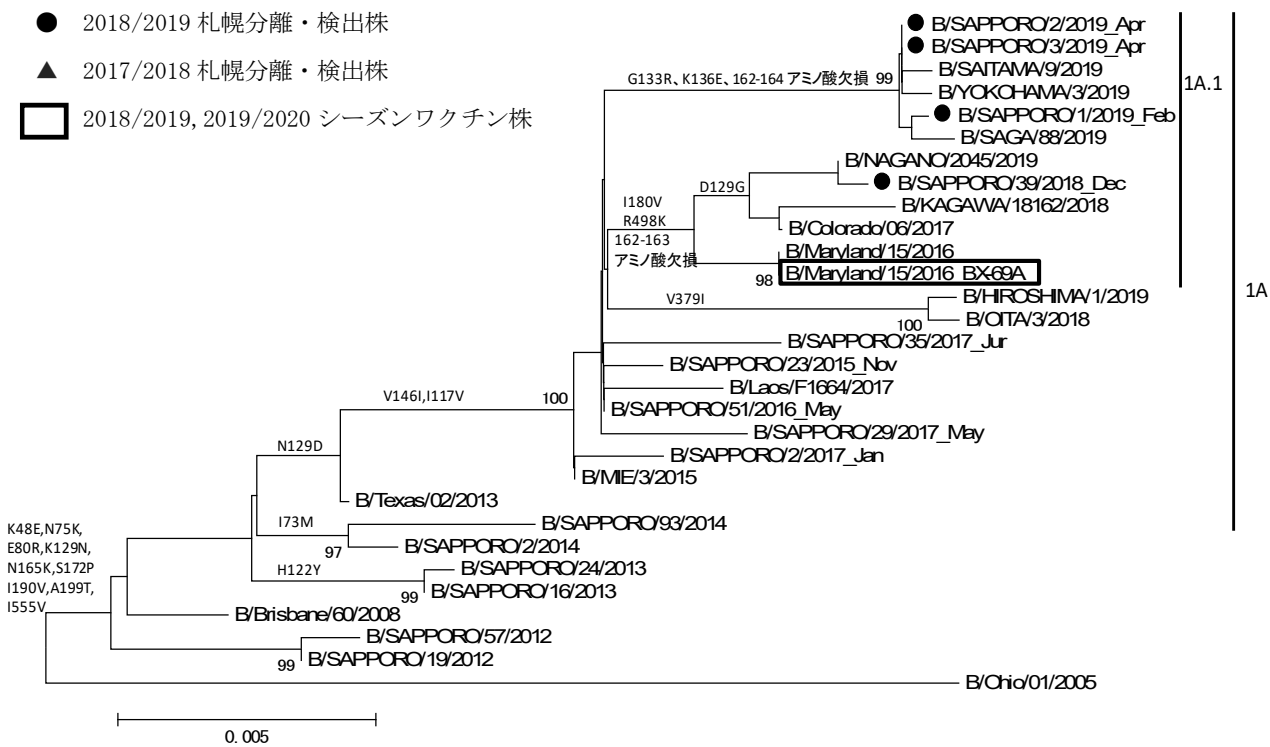


図6 B型Victoria系統のHA遺伝子系統樹

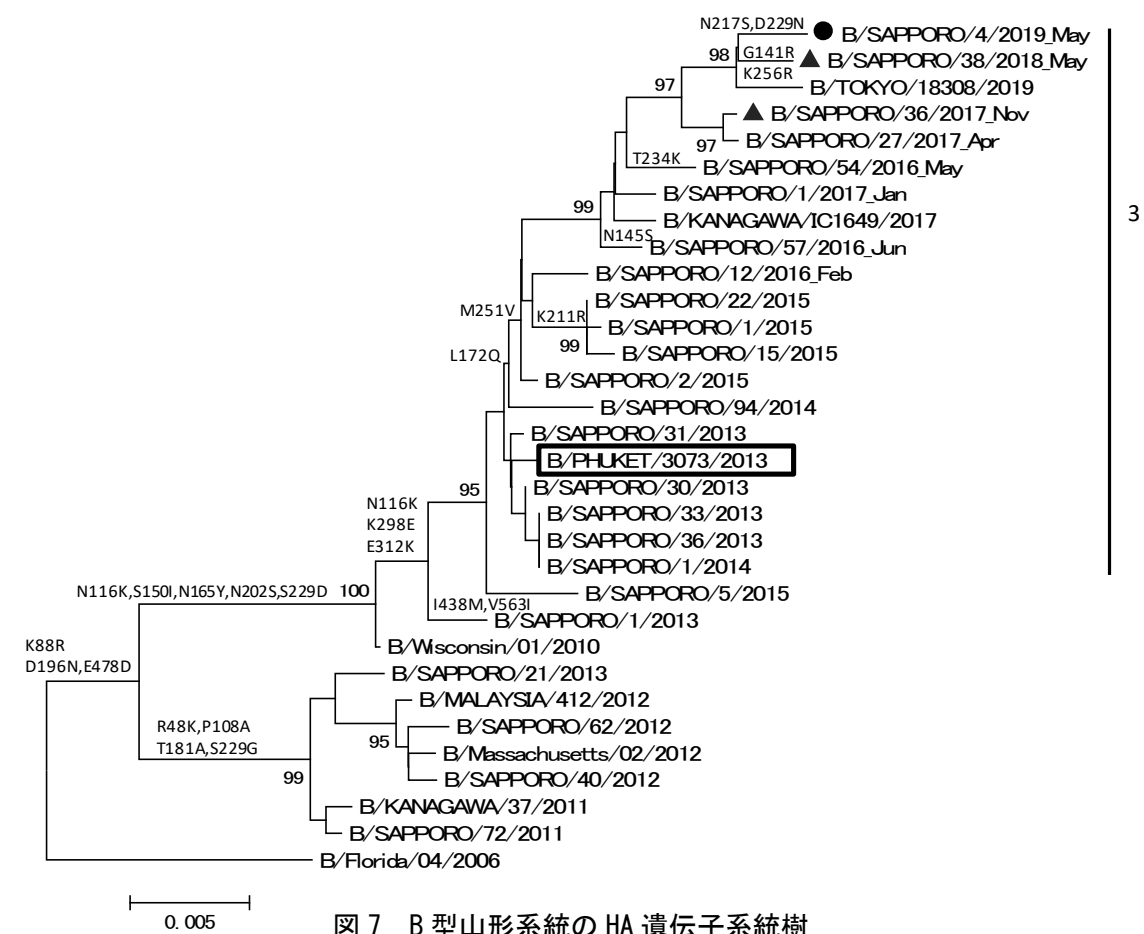


図7 B型山形系統のHA遺伝子系統樹