

2019/2020 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 尾口裕介 菊地正幸 細海伸仁 矢野公一

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、2019/2020 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。

なお、2020 年に入り、新型コロナウイルス感染症の流行が発生動向調査に影響を及ぼしている可能性があり本報告の解釈に注意が必要である。

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、2019 年 9 月から 2020 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 204 検体（小児科 170 検体、内科 34 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のについて、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/Brisbane/02/2018、A/Kansas/14/2017、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

2019/2020 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) 遺伝子において感染研が解析し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 (GISAI) から入手し、系統解析を行った。

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)することにより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

2019/2020 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 2019 年第 41 週 (10/7~10/13) に流行開始の目安である 1.0 を超え、2019 年第 47 週 (11/18~11/24) に定点当たり 14.21 と流行発生注意報レベルの基準値 (10.0) を上回り、2019 年第 49 週 (12/2~12/8) に定点当たり 31.77 と最大になった。その後も患者報告数は高めに推移したものの、2020 年初めには注意報レベ

ルを下回ったが、第 5 週 (1/27~2/2) から増加し、第 9 週 (2/24~3/1) まで再び流行注意報レベルで高めに推移した。今シーズンの患者報告数は 17,430 人 (56 定点) であり、シーズン前半と後半に 2 峰性のピークがみられた。患者報告数は過去 5 シーズンと比べ 3 番目であった。全国的には昨年ほどの大きな流行がみられていない。また、2020 年 3 月以降はコロナウイルス感染症の影響により、急激にインフルエンザの報告数が減少した可能性があった。

3-2 インフルエンザウイルスの分離・検出状況

2019/2020 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。

今シーズンのインフルエンザウイルスは、AH1pdm09 は 2019 年第 39 週採取の咽頭ぬぐい液から初分離され、シーズンを通して 72 株が分離・検出された。また、2019 年第 43 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 3 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 2019 年第 48 週採取の咽頭拭い液から初分離され、シーズンを通して 31 株が分離・検出された。B 型ウイルス (山形系統、以下、B 型山形系統) は分離・検出されなかった。

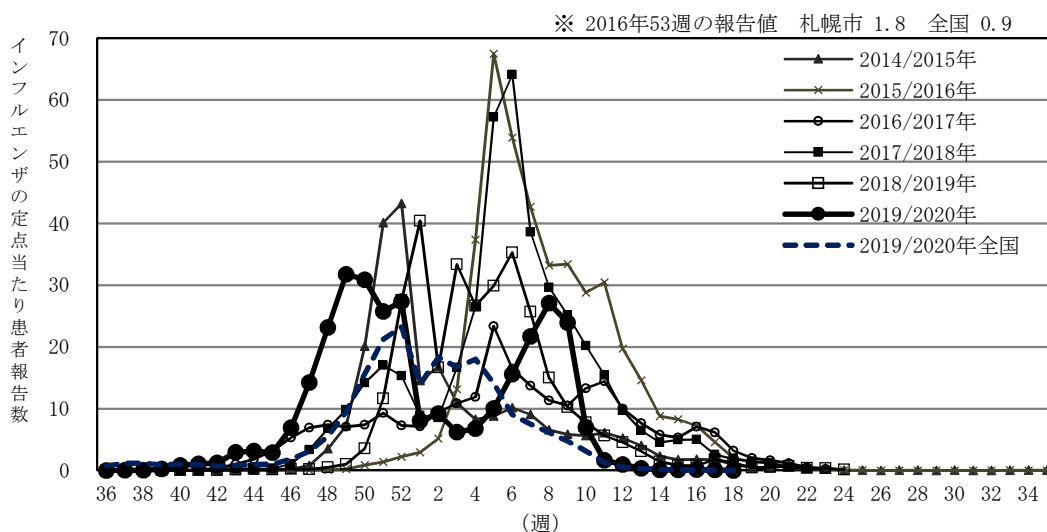


図 1 2014/2015~2019/2020 シーズンのインフルエンザ患者報告数

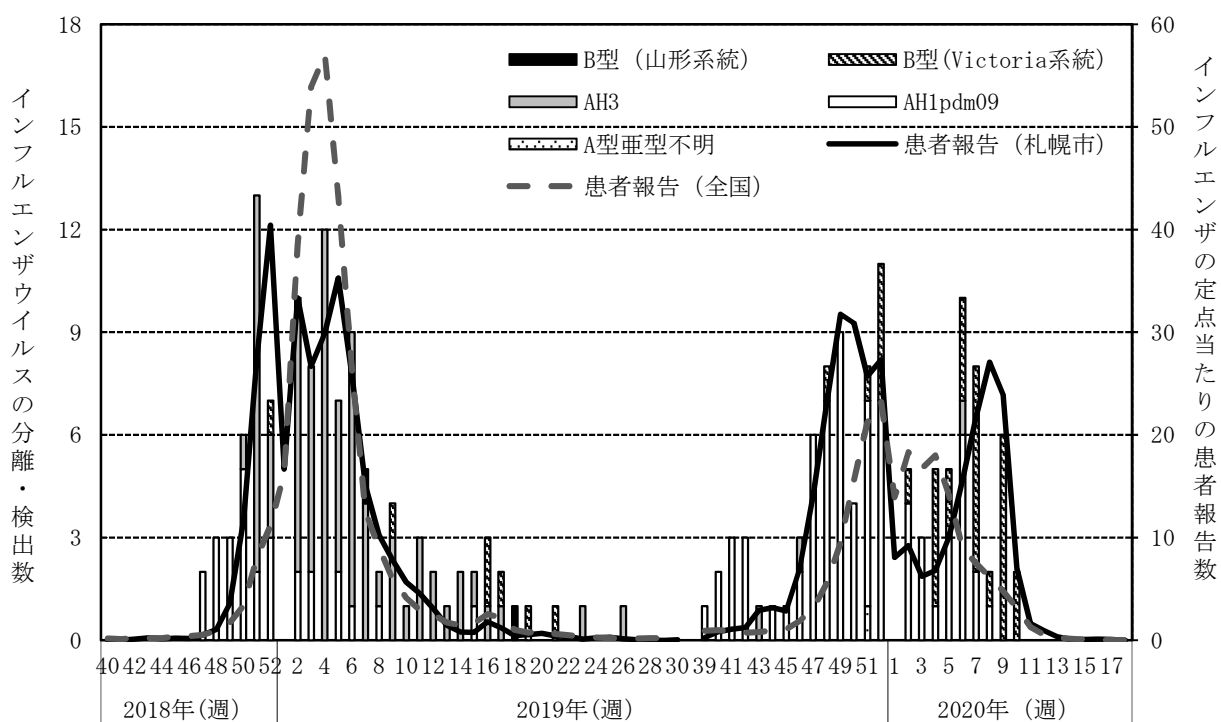


図2 2018/2019、2019/2020 シーズンのインフルエンザウイルス分離・検出状況

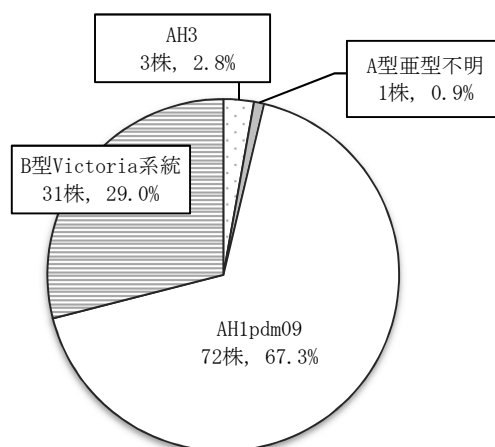


図3 2019/2020 シーズンのインフルエンザウイルス分離・検出割合

今シーズンは前半に AH1pdm が主流となり、後半は B 型 Victoria 系統が主流となった。

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について HI 試験を行った。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 AH1pdm09 は 56 株であった。56 株の HI 価はワクチン株である A/Brisbane/02/2018 抗血清 (ホモ価 2560) に対して 1280~2560 であった。

今シーズン MDCK 細胞により分離された AH3 は 3 株あり、3 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/Kansas/14/2017、抗血清 (ホモ価 1280) に対して 160~640 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 Victoria 系統は 29 株であった。29 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 1280) に対して 1 株が 640、28 株は 20~160 の範囲であった。

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、AH1pdm09 が 16 検体、A 型亜型不明が 1 検体、B 型 Victoria 系統が 2 検体検出された。

3-4 インフルエンザウイルスの HA 遺伝子解析

2019/2020 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 4~6 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 は 3 株であり、このうち感染研において 2 株の遺伝子解析が行われた。この結果、2 株はサブクレード 3C. 2a. 1 内の 3C. 2a. 1b に属していた。1 株は昨シーズンも検出されている 3C. 2a. 1b 内の T131K、Q197R のアミノ酸置換をもつ群に属していた。もう 1 株は 3C. 2a. 1b 内の T135K、S137F のアミノ酸置換をもつ群で、2020/2021 シーズンワクチン株である A/HongKong/2671/2019 の類似株であった。国内の検出は T131K+Q197R 群及び T137K+S137F 群が大部分であり、3C. 3a に属す 2019/2020 シーズンのワクチン株と抗原的に異なるウイルスが検出されていた^{2)~5)}。

札幌市で検出された AH3 の 3 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変異株であった。2019/2020 シーズンワクチン株が属すクレード 3C. 3a の類似株は札幌市では検出されなかった。

(2) AH1pdm09

今シーズン札幌市で分離・検出された AH1pdm09 72 株のうち感染研において 6 株の遺伝子解析が行われた。この結果、6 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。6 株は全て S183P 及び N129D、T185I、N260D のアミノ酸置換をもつ群 (6B. 1A. 5A) であった。国内も同様の状況であり、6B. 1A. 5A に属すウイルスが大部分を占めていた^{2), 5)}。札幌市で検出された 6 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。2020/2021 シーズンのワクチン株は 6B. 1A. 5A 株から選定されている^{5) 6)}。

(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 31 株あり、このうち 6 株が感染研において遺伝子解析が行われた。この結果、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。5 株は 162-164 番目のアミノ酸欠損及び K136E をもつサブクレード 1A. 3 に属していた。札幌市で検出された 6 株は感染研で実施した HI 試験結果からワクチン株の抗原性と類似していた。これら 6 株が属すサブクレード 1A. 3 は 2017 年頃よりアジアをはじめ国外でも検出されており、国内においても主流であった^{2)~5)}。

3-5 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

2019/2020 シーズンに札幌市内で分離・検出された AH1pdm09 72 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 変異について解析を行った。このうち 60 株は H275Y 変異が検出されなかった。12 株は解析ができなかった。

AH1pdm09 6 株及び AH3 3 株、B 型 Victoria 系統 10 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（オセルタミビル、ペラミビル）耐性株の検出状況は、AH1pdm09 が 2,489 株解析され、40 株（1.6%）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 28 株は薬剤未投与例であった。国内での拡がりは確認されていない⁷⁾。AH3 亜型は 82 株、B 型は 139 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⁷⁾。

また、感染研におけるキャップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害薬パロキサビル耐性株サーベイランスにより国内株の解析が実施された。AH1pdm09 は 831 株が解析され、1 株（0.12%、薬剤投与例）が耐性株であった。AH3 は 80 株、B 型は 130 株解析され、耐性株は検出されていない⁷⁾。

4. まとめ

札幌市における 2019/2020 シーズンのインフルエンザの流行は 11 月後半から感染が拡がり、2 月まで流行が続いた。しかし、例年 5 月頃まで続くインフルエンザの検出が今シーズンはコロナウイルス感染症の流行により、3 月以降のインフルエンザの発生動向に影響を及ぼした可能性があった。

分離・検出されたインフルエンザウイルスは AH3 が 2.8%（3 株）、AH1pdm09 が 67.3%（72 株）、A 型亜型不明 0.9%（1 株）、B 型 Victoria 系統が 29.0%（31 株）であった。今シーズンはシーズン前半に AH1pdm が拡がり、流行の主流であったが、2 月以降は B 型 Victoria 系統が多くなり、流行の主流が入れ替わった。このため、シーズンを通し 2 峰性のピークが見られた。今シーズン札幌市で分離・検出した AH1pdm09、B 型 Victoria 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（3 株）はワクチン株に対して抗原性が変異している株であった。

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に対する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、保健所、国立感染症研究所インフルエンザ研究センターの皆様へ深謝致します。

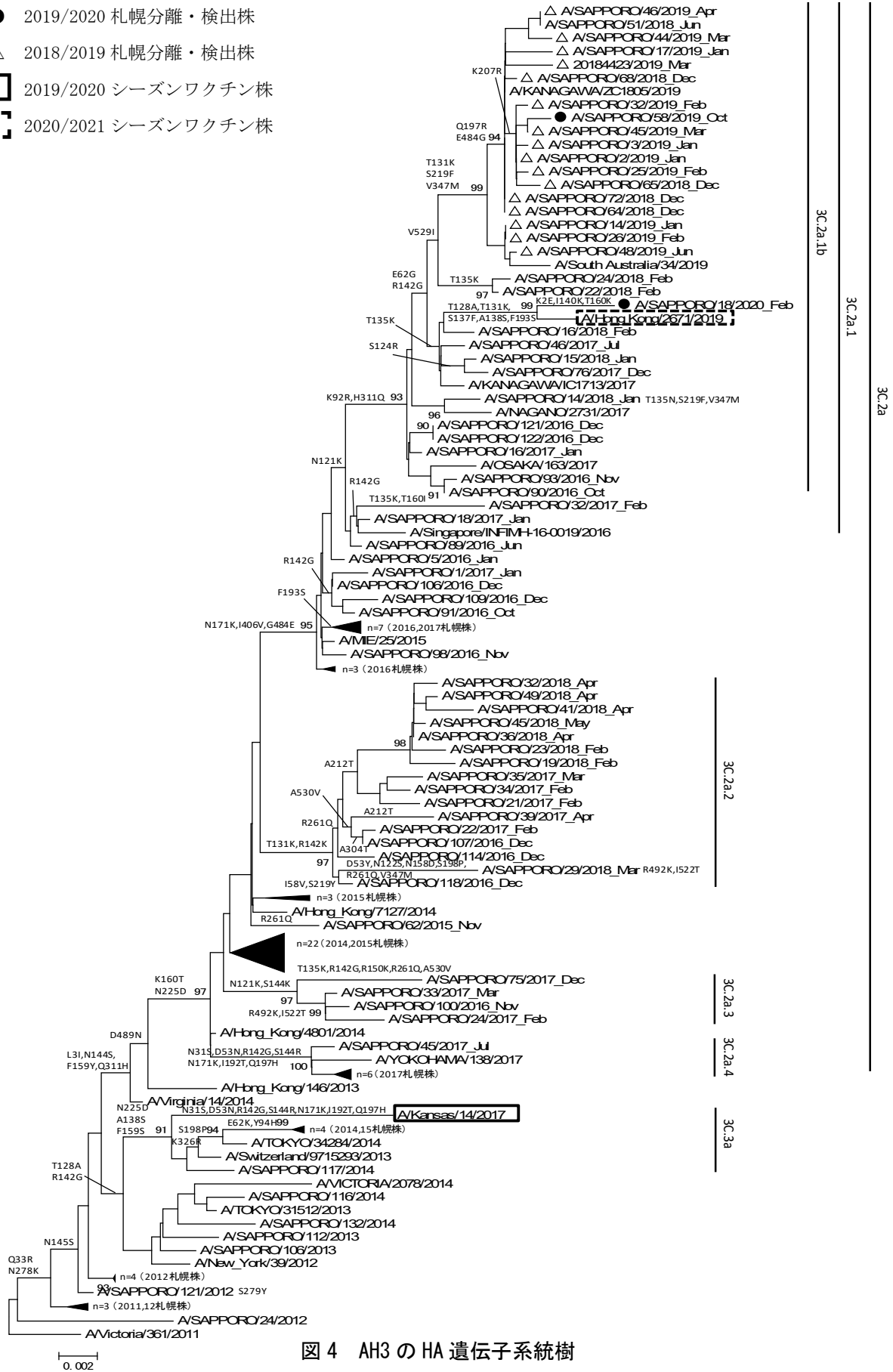
5. 文 献

- 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) 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 2020 年 6 月 25 日、<https://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-antigen-phylogeny.html> 2020 年 12 月 1 日閲覧
- 3) WHO：Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2020–2021 northern hemisphere influenza season, https://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/202002_recommendation.pdf 2020 年 12 月 1 日閲覧
- 4) 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
- 5) 厚生労働省：第 5 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_00005.html 2020 年 12 月 1 日閲覧
- 6) WHO：Recommended composition of influenza

virus vaccines for use in the 2020 - 2021 northern hemisphere influenza season, https://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/2020-21_north/en/
2020年12月1日閲覧

- 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 2020年8月11日, <https://www.niid.go.jp/niid/images/flu/resistance/20200811/dr19-20j20200811-1.pdf>
2020年12月1日閲覧

- 2019/2020 札幌分離・検出株
- △ 2018/2019 札幌分離・検出株
- 2019/2020 シーズンワクチン株
- 2020/2021 シーズンワクチン株



- 2019/2020 札幌分離・検出株
- △ 2018/2019 札幌分離・検出株
- 2019/2020 シーズンワクチン株
- 2020/2021 シーズンワクチン株

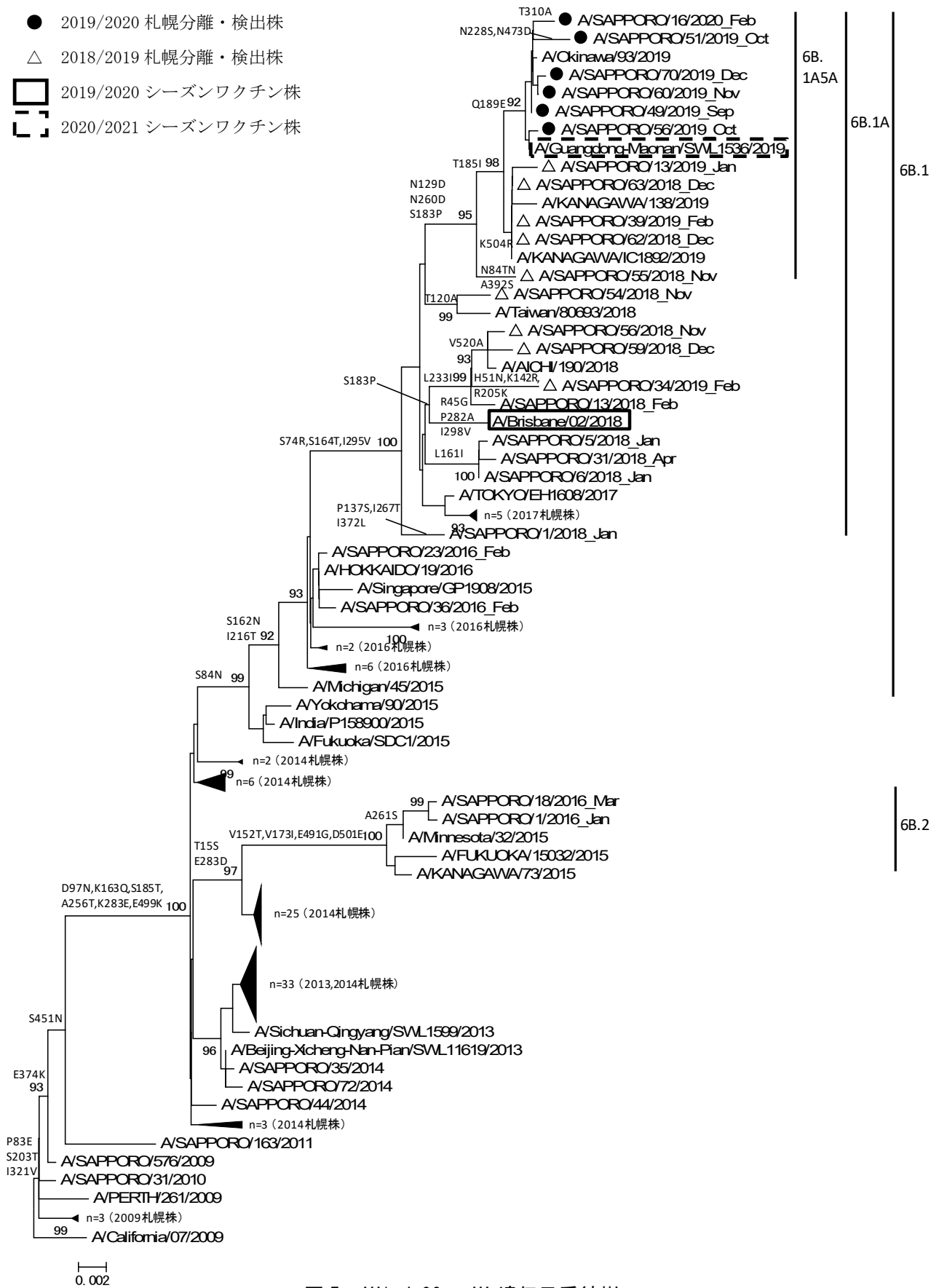


図5 AH1pdm09のHA遺伝子系統樹

- 2019/2020 札幌分離・検出株
- △ 2018/2019 札幌分離・検出株
- 2019/2020 シーズンワクチン株
- ◻ 2020/2021 シーズンワクチン株

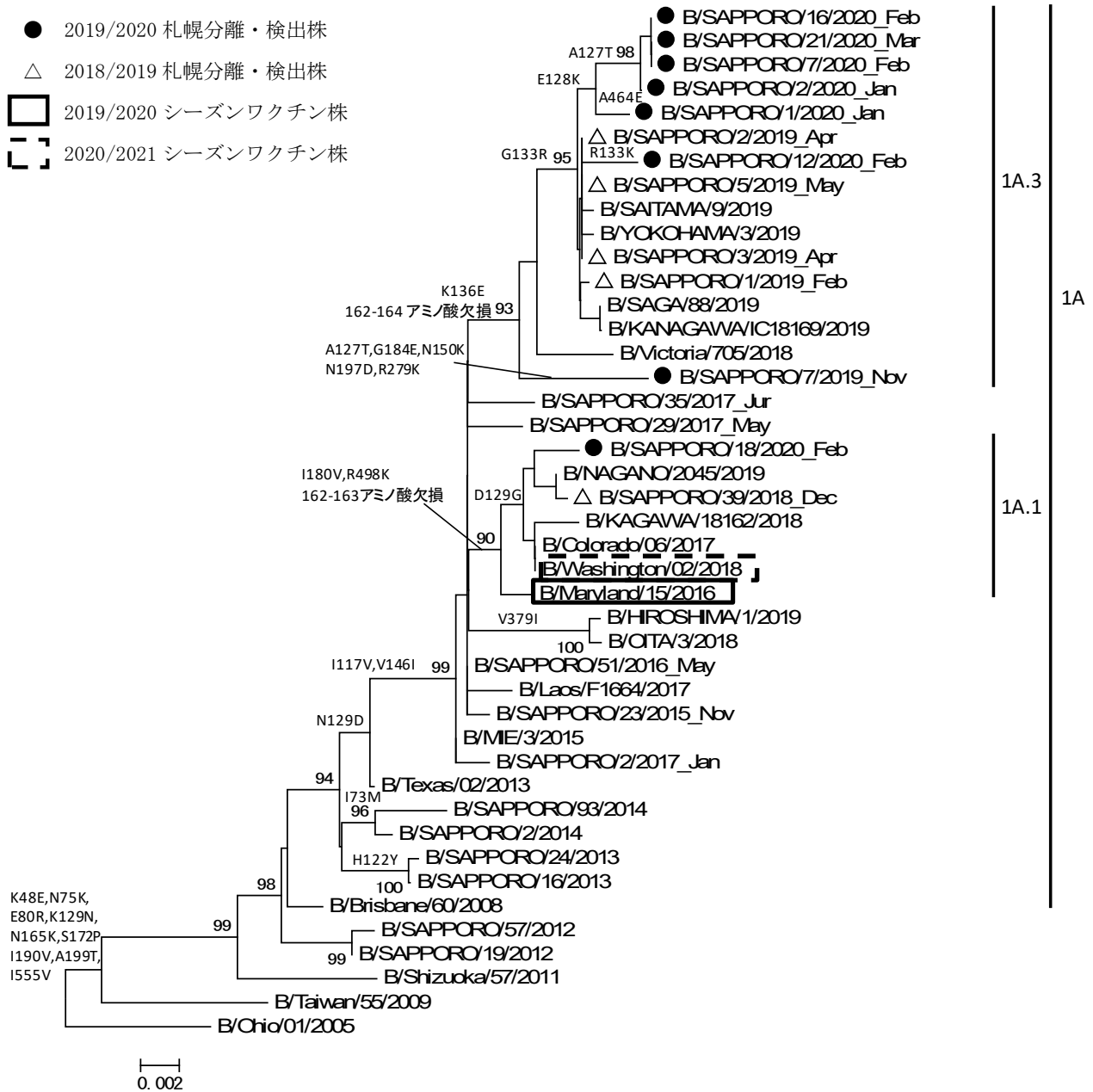


図 6 B型 Victoria 系統の HA 遺伝子系統樹