

〔資料〕

石川県におけるインフルエンザの流行状況

— 2016/17 シーズン —

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部 成相 絵里・中澤 柁哉・児玉 洋江
倉本 早苗

〔和文要旨〕

2016/17シーズンの集団かぜの施設数および患者数は、いずれも過去5シーズンにおいて、2011/12シーズンに次いで多く、感染症発生動向調査事業のインフルエンザ累積患者報告数は最多であった。また、病原体定点から提出された143検体について、インフルエンザウイルスの遺伝子検出を実施した結果、AH1pdm09亜型が9検体、AH3亜型が96検体、B型山形系統が17検体、B型ビクトリア系統が7検体から検出され、分離培養検査ではAH1pdm09亜型が5株、AH3亜型が80株、B型山形系統が14株、B型ビクトリア系統が7株分離された。このうちの一部についてHA遺伝子を解析した結果、国内の同シーズン流行株と類似した株であった。また、分離したAH1pdm09亜型にH275Y変異を有する株はなかった。

キーワード：インフルエンザウイルス

1 はじめに

当センターでは、1981年より開始された感染症発生動向調査事業において、インフルエンザの患者数調査のほか、病原体検査としてインフルエンザ（インフルエンザ様疾患を含む）患者（以下、インフルエンザ患者等）からのインフルエンザウイルスの遺伝子検出、分離・同定等の検査を実施している。また、そこで得られた結果は県ホームページでの公表や、県内関係機関および国立感染症研究所（以下、感染研）に報告するとともに、分離したウイルスの一部は、ワクチン開発、研究等に供するため感染研へ提供している。

本報では、2016/17シーズン（以下、今シーズン）の石川県（以下、当県）におけるインフルエンザの流行状況と検出および分離されたウイルスの性状解析結果等について報告する。なお、本報ではシーズンの区切りを感染研にあわせ、第36週から翌年の35週までとした。

2 材料と方法

2・1 患者発生状況

(1) 集団かぜ患者発生状況

県健康推進課が実施している学校などを対象とした「インフルエンザ様疾患発生報告」により、インフルエンザ様疾患による欠席等で学級閉鎖等の措置をとった施設数および患者数を把握した。

(2) インフルエンザ患者発生状況

感染症発生動向調査事業に基づく県内48か所（小児科29か所、内科19か所）のインフルエンザ定点医療機関（以下、定点）におけるインフルエンザ患者報告数により把握した。

2・2 ウイルス検査

(1) 検体の採取

感染症発生動向調査事業に基づく県内5か所（小児科3か所、内科2か所）のインフルエンザ病原体定点医療機関（以下、病原体定点）を受診したインフルエンザ患

Prevalence of Influenza in Ishikawa Prefecture during the 2016-2017 season. by NARIAI Eri, NAKAZAWA Masaya, KODAMA Hiroe, and KURAMOTO Sanae (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Influenza virus

者等から採取された咽頭ぬぐい液または鼻腔ぬぐい液の計143検体を検査対象とした。

なお、検体は2016年第38週(9月19日～25日)から2017年第20週(5月15日～21日)までの間に採取された。また、検体は、原則、感染症発生動向調査事業におけるインフルエンザ患者報告数が定点あたり1.0を超えてから、1.0を下回るまで(以下、流行期)は1機関あたり週1検体以上、それ以外の期間(以下、非流行期)は1機関あたり月1検体以上採取することとなっており、今シーズンは2016年第46週から2017年19週までが流行期であった。

(2) 検査方法

ア インフルエンザウイルスの遺伝子検出および同定
インフルエンザウイルスの遺伝子検出および同定は、TaqMan Probeを用いたリアルタイム RT-PCR法により、A型ウイルスのM遺伝子および亜型(A(H1N1)pdm09ウイルス(以下、AH1pdm09亜型)、A(H3N2)ウイルス(以下、AH3亜型)ならびにB型ウイルス2系統(山形系統ウイルス(以下、B型山形)、ビクトリア系統ウイルス(以下、B型ビクトリア))の赤血球凝集素遺伝子(以下、HA遺伝子)の同時検出により行った。

リアルタイムRT-PCR法は7500Fast(Life Technologies社)を使用し、インフルエンザ診断マニュアル(第3版)(以下、診断マニュアル)¹⁾に従い実施した。なお、RNAの抽出にはQIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN社)を用いた。

イ インフルエンザウイルスの分離および同定

インフルエンザウイルスの分離培養検査は、トリプシン添加MDCK細胞を用いて実施した。分離ウイルスの型・亜型別の同定は、培養上清の赤血球凝集価(以下、HA価)(0.75%モルモット赤血球使用)が8以上の検体について、それを抗原として、感染研より分与された今シーズンのインフルエンザウイルス同定用キット(以下、同定用キット)の抗血清との赤血球凝集抑制(以下、HI)試験によった。

なお、同定用キットに含まれる株は、今シーズンのワクチン株であるA/California/7/2009(X-179A)(AH1pdm09亜型)、A/Hong Kong/4801/2014(X-263)(AH3亜型)、B/Phuket/3073/2013(B型山形)、B/Texas/2/2013(B型ビクトリア)の計4株であり、抗血清は上記各ワクチン株に対するウサギ免疫血清である。

また、AH3亜型については、近年の流行株の多くはHA価が低くHI試験が困難である²⁾ことから、培養上清のHA価が8未満の分離ウイルスについては、増殖確認および型・亜型別の同定は、全てアと同様にインフルエンザウイルスの遺伝子検出法により行った。

ウ HA 遺伝子部分塩基配列の解析

各亜型ウイルスが分離された検体の一部を無作為に抽出し、診断マニュアルに従いインフルエンザウイルス分離株のHA遺伝子領域の塩基配列について解析を行った。すなわち、RT-PCR法により分離株のHA遺伝子全長を増幅し、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、Molecular Evolutionary Genetics Analysis(MEGA)6を用い、近隣結合法(neighbor-joining method)により系統樹解析を実施した。なお、解析に用いた株の塩基配列情報は、The Global Initiative on Sharing All Influenza Data(<http://platform.gisaid.org>)から入手した。

エ 薬剤耐性インフルエンザウイルスの検索

感染研による抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス事業に基づき、分離した全てのAH1pdm09亜型について薬剤耐性遺伝子の検索を実施した。すなわち、2種類の異なる蛍光色素(FAM:耐性株Y275, VIC:感受性株H275)で標識されたTaqMan Probeを用いたリアルタイムRT-PCR法を行い、Allele Discrimination解析によるノイラミニダーゼ遺伝子のH275Y変異の検出を行った。

3 結果および考察

3・1 患者発生状況

(1) 集団かぜ患者発生状況

今シーズンの集団かぜの初発は2016年11月15日(第46週)に報告のあった2施設、43人であった。その後、2017年第4週(1月23日～29日)の36施設、785人をピークとし、第17週(4月24日～4月30日)まで発生は続いた(図1)。なお、初発の報告日は、過去5シーズンと比較した結果、最も早かった³⁻⁷⁾。最終的に今シーズンの集団かぜ発生施設数および患者数の合計は160施設、2,999人であった。これを過去5シーズンと比較した結果、施設数、患者数ともに2011/12シーズンに次いで多かった。

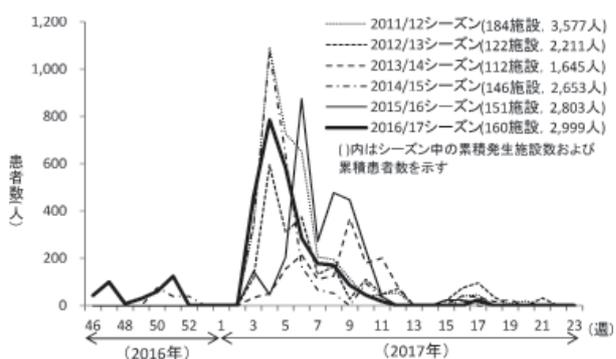


図1 集団かぜ患者発生状況(2011/12～2016/17シーズン)

(2) インフルエンザ患者発生状況

感染症発生動向調査事業における定点あたりのインフルエンザ患者報告数は、2016年第46週（11月14日～20日）に流行開始の目安となる1.0を超え、2017年第4週（1月23日～29日）をピーク（定点あたり患者報告数41.0）に、その後減少した（図2）。なお、今シーズンの流行開始時期は、集団かぜ発生状況と同様に過去5シーズンで最も早かった³⁻⁷⁾。

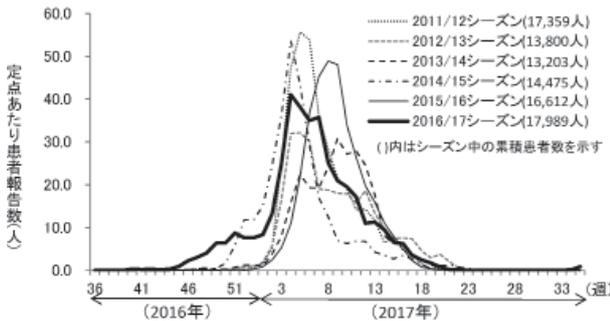


図2 感染症発生動向調査事業におけるインフルエンザ患者発生状況 (2011/12～2016/17シーズン)

また、今シーズンの累積患者報告数は17,989人であり、過去5シーズンと比較した結果、最も多かった。

3・2 ウイルス検査

(1) 遺伝子検出結果

各病原体定点から提出された143検体について遺伝子検出を実施した結果、129検体（90.2%）からインフルエンザウイルス遺伝子が検出された。検出されたウイルスの型および亜型別の検体数（割合）は、AH1pdm09亜型が9検体（7.0%）、AH3亜型が96検体（74.4%）、B型山形が17検体（13.2%）、B型ビクトリアが7検体（5.4%）であった。

今シーズンのA型ウイルスの主流はAH3亜型であり、2015/16シーズンの主流であったAH1pdm09亜型の検出は少なかった。また、2012/13シーズン以降、AH1pdm09亜型とAH3亜型が交互に主流となっており³⁻⁷⁾、これらの傾向は、全国と同様であった²⁾。

B型ウイルスについては、全国的には2012/13シーズン以降、過去4シーズン続けてB型山形が優勢になっていたが、今シーズンはB型ビクトリアがB型山形を上回った²⁾。一方、当県においては今シーズンも引き続きB型山形が優勢であった。

検体提出週別に検出状況をみると、AH3亜型は2016年第41週（10月10日～16日）に提出された1検体から検出されて以降2017年第15週（4月10日～16日）まで主要型として検出が続いた（図3）。一方、AH1pdm09亜型は2016年第44週（10月31日～11月6日）から2017年第14週（4月3日～9日）までの間に、散発的に検出された（図3）。

B型は2017年第6週（2月6日～12日）からB型山形が検出され、第10週（3月6日～12日）以降は、B型ビクトリアも含めて第20週（5月15日～21日）まで検出が続いた（図3）。

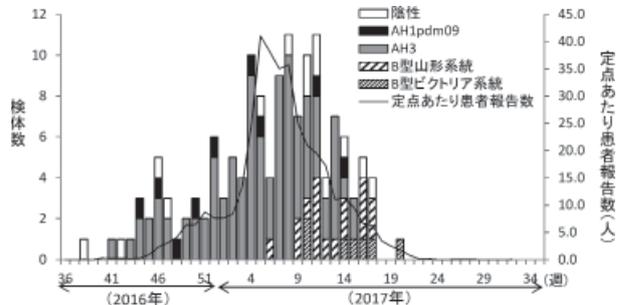


図3 インフルエンザウイルス亜型別検出状況（検体提出週別）

例年と同様に、A型ウイルスが先行して流行し、遅れてB型ウイルスが流行する傾向がみられた。

インフルエンザウイルス遺伝子が検出されなかった検体については、非流行期にも検体を収集していることから、呼吸器感染症起因ウイルスであるアデノウイルス、RSウイルス、エンテロウイルス、ヒトコロナウイルス、ヒトパレコウイルス、ヒトメタニューモウイルス、ヒトボカウイルス、パラインフルエンザウイルス、C型インフルエンザウイルスについて遺伝子検出を実施した。その結果、14検体中、ヒトメタニューモウイルス遺伝子が7検体、エンテロウイルスの1つであるライノウイルス遺伝子が3検体から、アデノウイルス、ヒトパレコウイルス遺伝子がそれぞれ1検体から検出された。2検体はいずれのウイルス遺伝子も検出されなかった。

(2) 分離および型別結果

143検体について分離培養検査を実施した結果、106検体（74.1%）からインフルエンザウイルスが分離された。分離されたウイルスの型および亜型別の株数は、AH1pdm09亜型が5株（4.7%）、AH3亜型が80株（75.5%）、B型山形が14株（13.2%）、B型ビクトリアが7株（6.6%）であった。なお、分離したAH3亜型のうち、赤血球凝集活性が低く、HI試験が実施できなかった13株については、培養上清の遺伝子検出法により亜型鑑別を行った。

分離されたウイルスの同定用キットの抗血清に対するHI価は、AH1pdm09亜型が320～640（ホモ価640）、B型山形が320～1280（ホモ価640）、B型ビクトリアが320～640（ホモ価640）であり、いずれもホモ価とほぼ一致していた。

一方、分離されたAH3亜型のうち、HA価が8以上でありHI試験が実施できた67株の抗血清に対するHI価は40～5,120（ホモ価10,240）であり、ホモ価と大きく乖離しているものが多かった。

感染研では、国内で分離されたインフルエンザウイルスの一部について、フェレット感染血清を用いた HI 試験により詳細な抗原性解析を実施している²⁾。しかし、最近の AH3 亜型は、MDCK 細胞を用いて分離増殖させると、ノイラミニダーゼに特異的な変異が誘導され、赤血球凝集活性を示すようになり HI 試験による詳細な抗原性解析が困難となることから、感染研では AH3 亜型のみ抗原性解析には中和試験が用いられている²⁾。

今シーズンは、当県で分離された 12 株 (AH1pdm09 亜型 5 株, AH3 亜型 4 株, B 型山形 1 株, B 型ビクトリア 2 株) を感染研へ送付し、国内の他の地域で分離された株と合わせて解析が行われた。その結果、今シーズンは AH1pdm09 亜型, B 型山形, B 型ビクトリアのほとんどがワクチン株と抗原性が類似していたと報告されており²⁾、当県の結果と同様であった。一方、AH3 亜型は全て中和試験により抗原性解析が行われ、国内流行株の約半数がワクチン株と抗原的に類似していたことが報告されているが²⁾、当県の HI 試験結果とは異なっていた。これは、前述のノイラミニダーゼに特異的な変異が誘導された影響によるものと考えられた。

(3) HA 遺伝子部分塩基配列の解析

分離されたインフルエンザウイルス 106 株のうち、21 株 (AH1pdm09 亜型: 3 株, AH3 亜型: 10 株, B 型山形: 4 株, B 型ビクトリア: 4 株) について、インフルエンザウイルス HA 遺伝子の塩基配列を決定し、系統樹解析を行った。

解析の結果、AH1pdm09 亜型 3 株はいずれも K163Q, A256T のアミノ酸置換を有するクレード 6B に属し、さらにその中のサブクレード 6B.1 (共通アミノ酸置換: S84N, S162N, I216T) に属していた (図 4)。

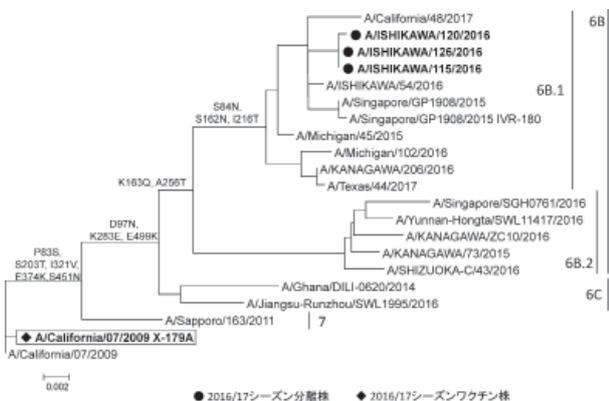


図 4 AH1pdm09 ウイルス HA 遺伝子分子系統樹

AH3 亜型 10 株はいずれもクレード 3C に属しており、さらにその中のサブクレード 3C.2a (L3I, N144S, F159Y, K160T, Q311H, D489N) に属していた。このうち、6 株は、3C.2a 内のサブクレード 3C.2a1 (N171K, I406V, G484E) に属した。残りの 4 株のうち 3 株は

3C.2a 内の、T131K, R142K, R261Q のアミノ酸置換を有する群、1 株は N31S, D53N, R142G, S144R, N171K, I192T, Q197H のアミノ酸置換を有する群に含まれた (図 5)。

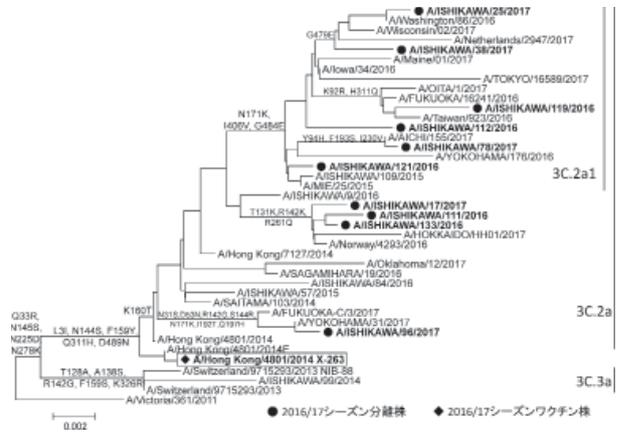


図 5 AH3 亜型ウイルス HA 遺伝子分子系統樹

B 型山形 4 株は全て、S150I, N165Y, N202S, S229D のアミノ酸置換を有する今シーズンのワクチン株である B/Phuket/3073/2013 と同じクレード 3 に属し、さらに N116K, K298E, E312K, L172Q, M251V のアミノ酸置換を有していた (図 6)。

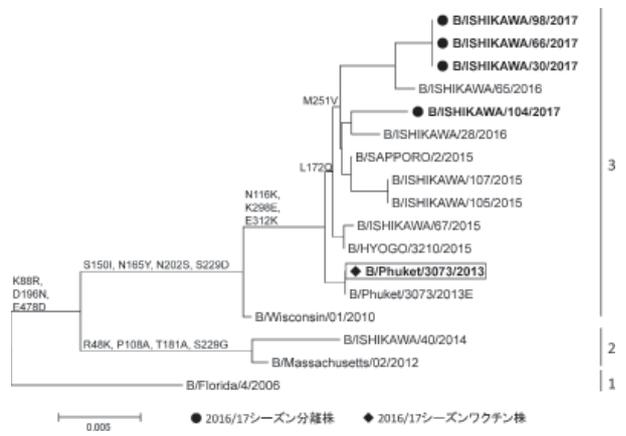


図 6 B 型山形系統ウイルス HA 遺伝子分子系統樹

B 型ビクトリア 4 株は、いずれも今シーズンのワクチン株である B/Texas/2/2013 と同じクレード 1A に属し、さらに I117V, V146I のアミノ酸置換を有していた (図 7)。

AH1pdm09 亜型は、昨シーズンの株はクレード 6B 内のサブクレード 6B.1 またはサブクレード 6B.2 に属したが³⁾、今シーズンの株は全てサブクレード 6B.1 に属した。一方、AH3 亜型, B 型山形, B 型ビクトリアの株はいずれも昨シーズンと同じクレードに属した³⁾。今シーズンは、昨シーズンと比べて流行の主流となる亜型は変わったが、分離されたウイルスの HA 遺伝子系統樹には大きな変化はなかった。

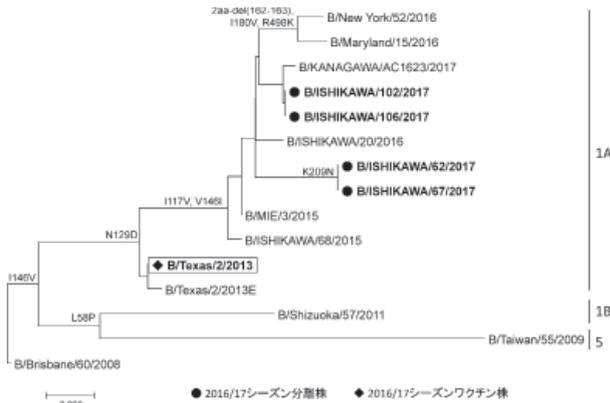


図7 B型ビクトリア系統ウイルス HA遺伝子分子系統樹

また、今回我々が解析した株はいずれも、国内で流行した株²⁾と同じクレードに属しており、類似していた。

(4) 薬剤耐性インフルエンザウイルスの検索

分離したAH1pdm09亜型5株について、H275Y変異を検索した結果、H275Y変異を有する株は検出されなかった。一方、全国では、H275Y変異を有するAH1pdm09亜型が3株(1.3%)報告されている⁸⁾ことから、今後も継続的な薬剤耐性インフルエンザウイルスのモニタリングが必要であると考ええる。

4 まとめ

- (1) 今シーズンの当県における集団かぜ患者発生状況および感染症発生動向調査事業におけるインフルエンザ患者発生状況を過去5シーズンと比較した結果、いずれも流行開始時期は最も早く、その累積患者報告数は、集団かぜでは2011/12シーズンに次いで多く、感染症発生動向調査では最多であった。
- (2) A型ウイルスの主流はAH3亜型であり、B型ウイルスについてはB型山形、B型ビクトリアともに検出されたが、B型山形がやや優勢であった。

- (3) HA遺伝子を解析した結果、AH1pdm09亜型はクレード6B.1に、AH3亜型はクレード3C.2a、B型山形はクレード3、B型ビクトリアはクレード1Aに属し、いずれも国内で流行していたウイルスに類似していた。また、分離したAH1pdm09亜型にH275Y変異を有する株はなかった。

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)(2014)
- 2) 国立感染症研究所，厚生労働省：今冬のインフルエンザについて(2016/17シーズン)，平成29年6月19日
- 3) 児玉洋江，成相絵里，崎川曜子：石川県におけるインフルエンザの流行状況(2015/2016シーズン)，石川県保健環境センター研究報告書，53，35-39(2016)
- 4) 児玉洋江，成相絵里，崎川曜子：石川県におけるインフルエンザの流行状況(2014/2015シーズン)，石川県保健環境センター研究報告書，52，54-58(2015)
- 5) 児玉洋江，成相絵里，崎川曜子：石川県におけるインフルエンザの流行状況(2013/2014シーズン)，石川県保健環境センター研究報告書，51，39-44(2014)
- 6) 児玉洋江，成相絵里，橋本喜代一：石川県におけるインフルエンザの流行状況(2012/2013シーズン)，石川県保健環境センター研究報告書，50，45-50(2013)
- 7) 児玉洋江，谷村睦美，橋本喜代一：石川県におけるインフルエンザの流行状況(2011/2012シーズン)，石川県保健環境センター研究報告書，49，53-58(2012)
- 8) 国立感染症研究所ホームページ：抗インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランス(2017年9月7日) <https://www.niid.go.jp/niid/ja/influ-resist.html>