

〔資料〕

石川県におけるインフルエンザの流行状況

— 2022/23 シーズン —

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部
能登中部保健福祉センター

小橋 奈緒・木村 恵梨子・成相 絵里
中村 幸子・見玉 洋江
中澤 柁哉

〔和文要旨〕

2022/23 シーズンは過去5シーズンと比較すると、流行がなかった2020/21, 2021/22シーズンを除き、集団かぜ発生施設数は最も少なく、集団かぜ患者数および感染症発生動向調査事業のインフルエンザ累積患者数は、2019/20シーズンに次いで少なかった。病原体定点から提出された132検体について実施した遺伝子検査では、AH1pdm09亜型が1検体、AH3亜型が118検体、B型ビクトリアが1検体から検出され、分離培養検査ではAH1pdm09亜型が1株、AH3亜型が103株、B型ビクトリアが1株分離された。7株のHA遺伝子を解析した結果、国内同シーズン流行株と同クレードに属し、類似していた。また、分離したAH1pdm09亜型1株には、ノイラミニダーゼ阻害薬に対する耐性変異H275Yは認められなかった。

キーワード：インフルエンザウイルス、患者発生状況、系統樹解析

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、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2022/23シーズン（以下、今シーズン）の石川県（以下、本県）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、シーズンの区切りは感染研にあわ

せ、例年と同様に第36週から翌年の第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

Prevalence of Influenza in Ishikawa Prefecture during the 2022-23 season. by KOBASHI Nao, KIMURA Eriko, NARIAI Eri, NAKAMURA Sachiko and KODAMA Hiroe (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science), NAKAZAWA Masaya (Noto Chubu Health and Welfare Center of Ishikawa Prefecture)

Key words : Influenza Virus, Occurrence Status of Patients, Phylogenetic Tree Analysis

前述48か所の医療機関のうち5カ所(小児科3カ所, 内科2カ所)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132検体を検査対象とした。

検体採取期間は2022年第36週(9月5日~11日)から2023年第35週(8月28日~9月3日)とした。

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(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2022年第52週から2023年第16週までを流行期とし, 検体を収集した。

(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)同時検出により行った。

リアルタイム RT-PCR法は7500FastおよびQuantStudio 5(いずれもThermo Fisher社製)を使用し, インフルエンザ診断マニュアル(第4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社製)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, 感染症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試験(以下, HI試験)によった。

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/ビクトリア/1/2020(AH1pdm09亜型), A/ダーウィン/9/2021(AH3亜型), B/プーケット/3073/2013(B型山形), B/オーストリア/1359417/2021(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, 培養上清のHA価が8未満の検体については, 分離ウイルスの増殖確認および型・亜型別の同定を, 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)10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 Data³⁾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

感染症研による抗インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランス事業に基づき, 分離した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 結果と考察

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2023年1月17日(第3週)に報告のあった3施設, 43人であった。その後, 2023年第6週(2月6日~12日)の26施設, 549人をピークとし, 第12週(3月20日~26日)まで断続的に発生は続いた(図1)。なお, 初発の報告日は, 過去5シーズンのうちで流行が認められた2017/18, 2018/19, 2019/20シーズンと比較し, 最も遅かった⁴⁾⁻⁶⁾。また, 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123施設, 2,332人となり, 過去5シーズン中, 発生施設数は最も少なく, 患者数は2019/20シーズンに

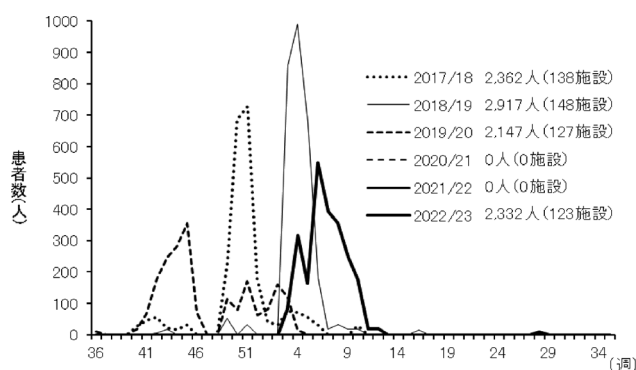


図1 集団かぜ患者数(2017/18~2022/23シーズン)

次いで少なかった⁴⁾⁻⁶⁾。

(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、2022年第52週(12月26日～1月1日)に流行開始の目安となる1.0を超え、2023年第8週(2月20日～26日)をピーク(定点あたり患者報告数48.17)に、その後減少した(図2)。ピーク時における定点あたりの患者報告数および累積患者報告数(14,675人)について、過去5シーズンのうちで流行が認められた2017/18、2018/19、2019/20シーズンと比較すると、いずれも2019/20シーズンに次いで低かった⁴⁾⁻⁶⁾。

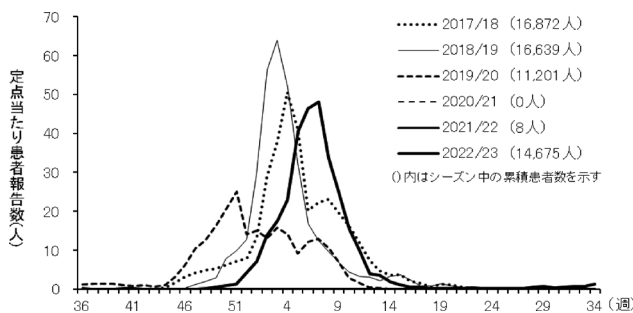


図2 感染症発生動向調査事業におけるインフルエンザ患者発生状況(2017/18～2022/23シーズン)

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132検体についてインフルエンザウイルス遺伝子検査を実施した結果、120検体(90.9%)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1検体(0.8%)、AH3亜型が118検体(98.3%)、B型ビクトリアが1検体(0.8%)であり、B型山形は検出されなかった。全国的にも同様の傾向が見られた⁷⁾。

検体提出週別に検出状況をみると、AH3亜型は2023年第1週(1月2日～8日)に提出された1検体から検出されて以降2023年第34週(8月21日～27日)まで検出が続いた(図3)。また、AH1pdm09亜型は2023年第26週(6月26日～7月2日)に1件検出され、B型ビクトリアは2023年第11週(3月13日～19日)に1件検出された(図3)。

亜型別に過去5シーズンの流行状況を比較すると、A型ウイルスについては、2017/18シーズンと2018/19シーズンは時期により検出割合は異なるもののAH1pdm09亜型、AH3亜型がほぼ同数流行し、2019/20シーズンはAH1pdm09亜型が主流であった⁴⁾⁻⁶⁾。2020/21シーズン、2021/22シーズンは流行を認めず、今シーズンはAH3亜型がほぼ全てであった。B型ウイルスについては、

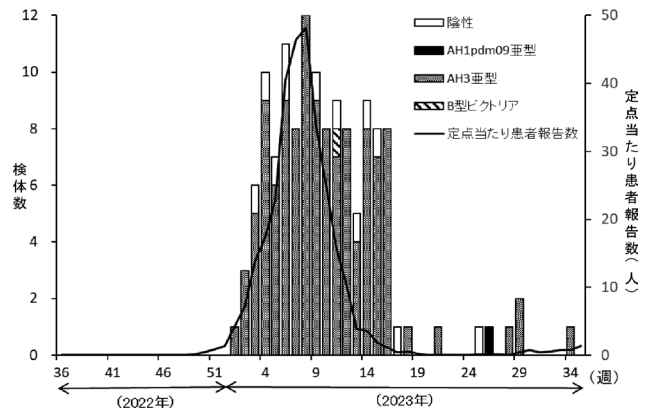


図3 インフルエンザウイルス亜型別検出状況(検体提出週別)

2017/18シーズンはB型山形のみが検出され⁴⁾、その検出数はA型ウイルスよりも多く、シーズン全体で最多であった。2018/19シーズンと2019/20シーズンおよび今シーズンは、B型ビクトリアのみが検出されたが⁵⁾⁶⁾、その中でも今シーズンの検出数は1例のみであった。これらは全国と同様の流行状況であった⁷⁾。

インフルエンザウイルス遺伝子が検出されなかった12検体については、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査を実施した。その結果、エンテロウイルスの1つであるライノウイルス遺伝子およびコクサッキーウイルス遺伝子、ヒトコロナウイルス遺伝子がそれぞれ3検体から、RSウイルス遺伝子、パラインフルエンザウイルス遺伝子がそれぞれ1検体から検出された。なお1検体から複数のウイルス遺伝子が検出された検体は2検体あった。3検体から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

提出された132検体について分離培養検査を実施した。その結果、105検体(79.5%)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1株(1.0%)、AH3亜型が103株(98.1%)、B型ビクトリアが1株(1.0%)であった。また、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1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うち、HA価が8以上でありHI試験が実施できた検体の、同定用キット抗血清に対するHI価は、AH1pdm09亜型1株が2,560(ホモ価2,560)、AH3亜型102株が320～5,120(ホモ価1,280)、B型ビクトリア1株が2,560(ホモ価640)であった(表1)。な

表 1 分離ウイルスの HI 試験結果

	AH1pdm09 亜型 (n=1)		AH3 亜型 (n=102)		B 型ビクトリア系統 (n=1)	
抗血清 (ホモ価)	A/ビクトリア/1/2020 (2,560)		A/ダーウィン/9/2021 (1,280)		B/オーストリア/1359417/2021 (640)	
	2,560	1 株 (100%)	5,120	1 株 (1.0%)	2,560	1 株 (100%)
HI 価			2,560	5 株 (4.9%)		
			1,280	34 株 (33.3%)		
			640	54 株 (52.9%)		
			320	8 株 (7.8%)		

お HI 試験による抗原性解析では、一般にワクチン株との HI 価の差が 8 倍以上で変異株とされるが、同定に使用しているキット抗血清はウサギ感染血清であり、わずかな抗原性変化は捉えられない可能性が指摘されている。

そのため、感染研では、詳細な抗原性解析として AH1pdm09 亜型と B 型ではフェレット感染血清を用いた HI 試験を、AH3 亜型では中和試験を実施している。今シーズンは、感染研からの依頼に基づき、本県から 5 株 (全て AH3 亜型、HI 価は 640~1280) を送付し解析が行われた。その結果、5 株とも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。

(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 105 株のうち、7 株 (AH1pdm09 亜型: 1 株, AH3 亜型: 5 株, B 型ビクトリア: 1 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。なお、AH3 亜型の 5 株については、感染研に送付した株と同一である。

解析の結果、AH1pdm09 亜型 1 株はクレード 6B.1A.5a.2 (共通アミノ酸置換: K130N, N156K, L161I, V250A, E506D) 内のサブクレード 6B.1A.5a.2a.1 (P137S, K142R, E224A, D260E, T277A, E356D, I418V, N451H) に属していた (図 4)。

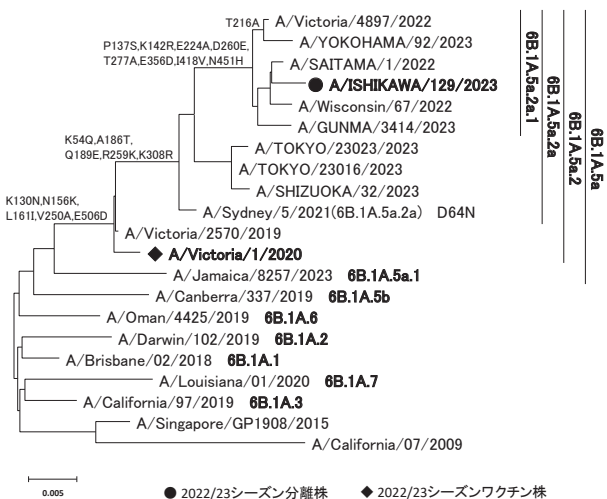


図 4 AH1pdm09 ウイルス HA 遺伝子分子系統樹

AH3 亜型 5 株は全て、クレード 3C.2a1b.2a.2 (Y159N, T160I, L164Q, G186D, D190N, F193S, Y195F) 内のサブクレード 3C.2a1b.2a.2b (E50K, F79V, I140K) に属していた (図 5)。

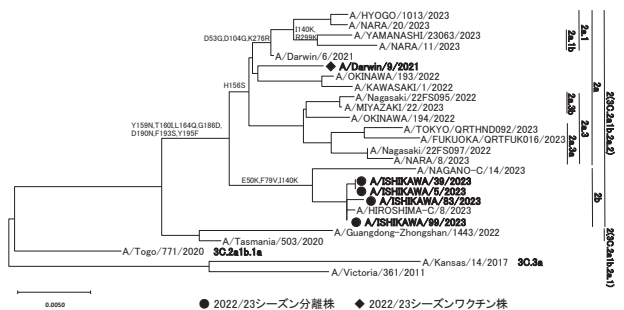


図 5 AH3 亜型ウイルス HA 遺伝子分子系統樹

B 型ビクトリア 1 株は V1A.3 (K136E+3 アミノ酸欠損 (162~164 番目のアミノ酸)) 内に派生した V1A.3a (N150K, G184E, N197D, R279K) からさらに分岐した V1A.3a.2 (A127T, P144L, K203R) に属し、D197E を有するグループに属していた (図 6)。

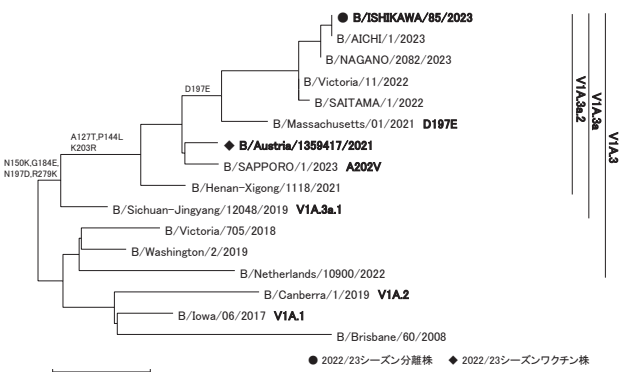


図 6 B 型ビクトリア系統ウイルス HA 遺伝子分子系統樹

なお、今回我々が解析した株はいずれも、今シーズン国内で流行した株と同じクレードに属しており、類似していた⁸⁾。

(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 1 株について、ノイラミニダーゼ阻害薬 (オセルタミビル, ペラミビル) に対する耐性変異 H275Y を検索した結果、変異を有する株は検

出されなかった。また、全国でも53株のAH1pdm09亜型についてH275Y変異の検索が実施されているが、変異を有する株は検出されなかったことが報告されている⁹⁾。

一方、感染研は、全国から収集したインフルエンザ株について、キャップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害薬（ゾフルーザ）に対する耐性について解析した結果、AH3亜型476株のうち7株（1.5%）が耐性変異を有していたと報告している⁹⁾。なお、7株のうち4株は薬剤未投与の患者検体から分離された株であった。また、本県から送付したAH3亜型5株についてはエンドヌクレアーゼ阻害薬変異は認められなかった⁹⁾。

以上のことから、今後も薬剤耐性インフルエンザウイルスの検索を継続し、薬剤耐性株が分離された患者の薬剤投与歴と併せて、その動向を把握する必要があると考える。

4 まとめ

- (1) 今シーズンの本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シーズンのうちで流行が認められた2017/18, 2018/19, 2019/20シーズンと比較した結果、集団かぜの流行開始時期は最も遅く、発生施設数は最も少なかった。また、集団かぜ患者数および感染症発生動向調査事業における累積患者報告数は2019/20シーズンに次いで少なかった。
- (2) 今シーズンの本県における亜型別の流行状況は、ほぼAH3亜型であり、AH1pdm09亜型およびB型ビクトリアの検出は各1株のみと、ごくわずかであった。また、B型山形は検出されなかった。
- (3) HA遺伝子を解析した結果、AH1pdm09亜型1株は6B.1A.5a.2a.1に、AH3亜型5株は全て3C.2a1b.2a.2bに、B型ビクトリア1株はV1A.3a.2に属した。また、いずれの株も国内流行株と同じクレードに属しており、

類似していた。

- (4) 分離したAH1pdm09亜型1株については、ノイラミニダーゼ阻害薬（オセルタミビル、ペラミビル）に対する耐性変異H275Yを有していなかった。

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4版）（2018）
- 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（2021/22シーズン），令和4年8月19日
- 3) The Global Initiative on Sharing All Influenza Data, <http://platform.gisaid.org>
- 4) 成相絵里，中澤柁哉，児玉洋江，倉本早苗：石川県におけるインフルエンザの流行状況（2017/18シーズン），石川県保健環境センター研究報告書，55，47-51（2018）
- 5) 中村幸子，中澤柁哉，成相絵里，倉本早苗：石川県におけるインフルエンザの流行状況（2018/19シーズン），石川県保健環境センター研究報告書，56，49-54（2019）
- 6) 中村幸子，中澤柁哉，成相絵里，倉本早苗：石川県におけるインフルエンザの流行状況（2019/20シーズン），石川県保健環境センター研究報告書，57，48-51（2020）
- 7) 国立感染症研究所，インフルエンザウイルス分離・検出状況，<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-inf.html>，2023年9月19日
- 8) 国立感染症研究所，インフルエンザウイルス抗原性・系統樹解析，<https://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-antigen-phylogeny.html>，2023年6月29日
- 9) 国立感染症研究所，抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス，<https://www.niid.go.jp/niid/ja/influr-resist.html>，2023年8月21日