

厚生労働行政推進調査事業費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
分担研究報告書

2017/18 シーズンの大阪府におけるインフルエンザの流行について

研究分担者 森川佐依子 大阪健康安全基盤研究所ウイルス課
研究協力者 廣井 聡 大阪健康安全基盤研究所ウイルス課
研究協力者 中田 恵子 大阪健康安全基盤研究所ウイルス課
研究協力者 加瀬 哲男 大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学

研究要旨

2017/18 シーズンに大阪府内におけるインフルエンザ様疾患の患者から採取された上気道由来検体を用い、流行状況、流行株の解析を行った。さらにインフルエンザウイルスが陰性だった検体については原因となる呼吸器ウイルスを網羅的に検索した。

2017/18 シーズン、大阪府内においては、定点あたりの患者数が1.0を越えたのは第48週（11月27日～12月3日）からであり、2018年第3週に44.2、第4週に42.5、第5週に45.0とピークを形成した後、漸減した。定点あたり患者数が1.0を下回ったのは第14週（4月2日～4月8日）であった。流行期の255検体からのウイルス検出数は、AH1pdm 亜型が32、AH3 亜型が93、B型 Yamagata 系統が108、Victoria 系統が5であり、A型とB型の検出比がほぼ1対1であった。B型 Yamagata 系統が早期から検出され主流行となった。

A型分離株についてHA全長の系統樹解析を行った。AH1pdm 亜型分離株については、解析した16株は全てサブクレード6B.1に属した。AH3 亜型については、解析株はサブクレード3C.2a1b、3C.2a2、3C.2a3に全て含まれた。3C.2a3に含まれたのは1株のみで、残りは3C.2a1bと3C.2a2に属する株に分かれた。

インフルエンザウイルスが陰性であった17検体のうち8検体から他の呼吸器ウイルスが検出された。1検体のみ、C群ライノウイルスとヒトコロナウイルス HKU-1 が重複して検出された。これらは全て流行期に検出されており、症状と周囲の流行状況のみからインフルエンザと診断される症例の中には他の呼吸器ウイルスが原因の紛れ込みがあり、インフルエンザワクチンの有効性を低下させる要因となっている事が伺えた。

A. 研究目的

インフルエンザワクチンの有効性評価の基礎資料として、感染症発生動向調査事業から得られるインフルエンザ定点サーベイランスおよびインフルエンザ病原体サーベイランスの解析結果は不可欠である。日本における総合的な解析結果は厚生労働省（国立感染症研究所）から発表されている。ここでは、インフルエンザワクチンの有効性評価モニタリングを実施している大阪地区におけるインフルエンザの流行状況を解析することを目的とした。さらにワクチンの有効性を低下させる原因である、臨床的にインフルエンザと診断されたがインフルエンザウイルスが陰性だった検体について原因となるウイルスを検索した。

B. 研究方法

インフルエンザ定点における患者サーベイランス
感染症発生動向調査事業に則り、大阪府感染症情報センターから発出される患者情報を用いた。

インフルエンザ病原体サーベイランス

感染症発生動向調査事業病原体定点および大阪健康安全基盤研究所 森ノ宮センター（以下 当センター）において実施された病原体検査情報に基づいている。冬期にインフルエンザ患者から採取された上気道由来検体は、MDCK細胞を用いたウイルス分離、および国立感染症研究所のマニュアルに準拠したリアルタイム RT-PCR 検査に供し、インフルエンザウイルスの遺伝子検査を実施した。

分離された A 型インフルエンザウイルス株の一部は、各亜型ごとに流行前の散発事例については全ての分離株を、流行期では大阪府北部（豊能・三島地区）、中部（北河内・中河内地区）、南部（南河内・泉州地区）の 3 地区から、検体採取日が約 3 週間の間隔となるよう分離株を選択した。HA 全長の塩基配列を解析しワクチン株との比較、地域特異性、流行時期との関連について検討した。

インフルエンザウイルス陰性検体からの呼吸器ウイルス検索
インフルエンザウイルスが検出されなかった検体については、インフルエンザ様疾患の病原体検索として 10 種類の呼吸器ウイルスをリアルタイム PCR 法にて検査した。

（倫理面への配慮）

インフルエンザ定点サーベイランスに関しては、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律 16 条（情報の公開）に則り実施される大阪府感染症情報センターから発表されるデータを用いている。インフルエンザ病原体サーベイランス、およびウイルス性呼吸器疾患の病原体検索に関しては、大阪健康安全基盤研究所倫理委員会で承認済みである。

C. 研究結果

インフルエンザ定点における患者サーベイランス

2017/18 シーズンは全国的に早期に流行が広がるとの報道があったが、大阪府において定点あたりの患者数が 1.0 を越えたのは第 48 週（11 月 27 日～12 月 3 日）からであり、流行開始時期は 2016/17 シーズンと同様であった。特記すべきは、例年は流行期前や流行早期に学級閉鎖事例から B 型インフルエンザウイルスが検出されることがあっても、その後の流行は A 型が主であることが一般的だが、2017/18 シーズンは B 型が早期から検出され、主流行となった点である。定点あたり患者数はその後増加し、2018 年第 3 週に 44.2、第 4 週に 42.5、第 5 週に 45.0 とピークを形成した後、漸減した。定点あたり患者数が 1.0 を下回ったのは第 14 週（4 月 2 日～4 月 8 日）であり、2016/17 シーズンのように第 18 週まで患者数が 1.0 を下回らなかったのとは対照的であった（図 1）。

インフルエンザ病原体サーベイランス

2017 年第 36 週（9 月 4 日～9 月 10 日）から 2018 年第 13 週（3 月 26 日～4 月 1 日）までに検体採取され、当センターに搬入された 255 検体からのウイルス検出数は、AH1pdm 亜型が 32、AH3 亜型が 93、B 型 Yamagata 系統が 108、Victoria 系統が 5 であり、A 型と B 型の検出比がほぼ 1 対 1 であった。全国データを見ると、シーズン前半の第 46 週から 2018 年第 1 週は AH1pdm 亜型と B 型の検出報告が多く、第 2 週以降は AH3 亜型と B 型の検出報告が多くなり、A 型の亜型が移り変わっていったことが伺えた。大阪府内は全国集計と異なり AH1pdm 亜型の検出数は少なく、流行期を通じて A 型では AH3 亜型が主に検出された。

分離株の分子疫学解析として、AH1pdm 亜型については 16 株を、AH3 亜型については 19 株を選択し、それぞれ前シーズンの分離株、ワクチン株の HA 遺伝子とともに系統樹解析を実施した。

AH1pdm 株は、解析に用いた臨床分離株のシーケンスは昨シーズンに引き続き、全てクレード 6B に属した（図 2）。今シーズンはサブクレード 6B.2 に属する株はなく、S84N, S162N, I216T のアミノ酸置換を持つサブクレード 6B.1 内の S74R, I295V のアミノ酸置換を持つ群に全て属していた。さらに 2017 年 9 月に分離された A/OSAKA/179/2017 以外の解析株は S164T のアミノ酸置換を有した。全国的にも、ほとんどの解析株が S74R, I295V 群内に分岐した S164T 群に属し、さらに S164T 群に P137S, I267T, I372L 群、L161I, I404M 群など複数の群が形成されている事が報告されている。当センターにおける解析株では P137S, I267T, I372L 群には 1 株が含まれたのみであった。L161I, I404M 群には 8 株が含まれた。当群の分離株は全て S74R 置換を持つ群から派生しているが、A/Osaka/14/2018 のみは S74K 置換を有していた。

AH3 亜型の全国の分離株の遺伝子解析によると、現在、系統樹上のサブクレード 3C.2a 内には、さらに特徴的なアミノ酸置換を持つサブクレード 3C.2a1 (N171K, I406V, G484E)、3C.2a2 (T131K, R142K, R261Q)、3C.2a3 (N121K, S144K)、3C.2a4 (N31S, D53N, R142G, S144R, N171K, I192T, Q197H) が形成されている。3C.2a1 はさらに 3C.2a1a (N121K, G479E, T135K, N122D) と 3C.2a1b (N121K, K92R, H311Q) に分かれており、3C.2a1b は 3C.2a1b + 135K (E62G, R142G, T135K) および 3C.2a1b + 135N (T135N) が

形成されている。

2016/17シーズン終了時点の当センターでの分離株の解析からは、3C.2a1内に存在する抗原変異株A/OSAKA/109/2017の含まれる群、または3C.2a1bのいずれかが今後の流行株となっていくと考えられていたが、2017年7月～10月の流行期間前における分離株は3C.2a1bにほとんどが含まれ、抗原変異株と同じ群に属する株はなかった(図3)。8月の分離株で1株のみ両群以外の3C.2a3に分類される株があった。流行期に入ってから解析株は3C.2a1b、3C.2a2、3C.2a3に全て含まれた。3C.2a3に含まれたのは1株(A/Osaka/183/2017)のみで、残りは3C.2a1bと3C.2a2に属した。3C.2a1bには昨シーズンからの流行株も含まれアミノ酸置換も多様であるのに対し、3C.2a2は流行期の株のみが属し各株間のアミノ酸配列の差は比較的小さかった。

両亜型とも、解析株の属するクレード、サブクレードは地区毎で偏りはなかった。

インフルエンザウイルス陰性検体からの呼吸器ウイルス検索

搬入された255検体を検査した結果、季節性インフルエンザウイルスが陰性であった17検体のうち8検体から他の呼吸器ウイルスが検出された(図1、表1)。今シーズンは目立って検出されたウイルスはなく、ヒトコロナウイルス229E、C群ライノウイルスが2検体より検出されたが、他はヒトコロナウイルスNL63、ヒトメタニューモウイルス、パラインフルエンザウイルス2型、C型インフルエンザウイルスがそれぞれ1検体から検出されたのみであった。1検体のみ、C群ライノウイルスとヒトコロナウイルスHKU-1が重複して検出された(表1)。インフルエンザウイルス以外のウイルスが検出されたのは、定点あたり患者数がピークを示した2018年第3週から、同患者数が10.1を示す第10週までであった。

D. 考察

2017/18シーズンの大阪府内におけるインフルエンザの流行期は、2017年第48週から2018年第14週であった。昨シーズンと比較し、今シーズンは、ピークを過ぎた後速やかに終息したが、ピーク時の定点あたり患者数は3週連続で40を越え、患者数は増大した。

ウイルス検出の結果、A型対B型の検出数はほぼ1対1であり、珍しくB型の流行が大きいシーズンとなった。亜型、系統別の検出比は、AH1pdm亜型対AH3亜型が約1対3であったのに対し、B型は5株を除き全てYamagata系統であったことから、主流はB型のYamagata系統であった事が明らかとなった。全国データを見ると、2018年5月10日現在の各亜型の検出数は、AH1pdm09亜型2167、AH3亜型2423でほぼ1対1であり、他府県と比較して大阪府内ではAH1pdm09亜型の流行が小さかったことが伺えた。

2016/17シーズンに引き続き、A型分離株についてHA全長のシーケンスを実施し、系統樹解析を行った。2017/18シーズンAH1pdm亜型分離株については、解析した16株は全てサブクレード6B.1に属し、2017年9月に分離されたA/OSAKA/179/2017以外の解析株はS164Tのアミノ酸置換を有した。さらにS164T置換群に含まれる15株は、アミノ酸置換P137S、I267T、I372Lを持つ群に1株、アミノ酸置換L161I、I404Mを持つ群に8株が含まれており、多様化する群の中から新しい流行株が派生することが伺えた。さらに、L161I、I404M群は全てS74R置換を持つ群から派生しているが、同群の中のA/Osaka/14/2018のみはS74K置換を有していた。今後、S74K置換を有する株が増加してくるのかについても注目していきたい。また1株のみではあったものの、S164T置換を持たず、H273Q置換を持つA/OSAKA/179/2017がシーズン初期の2017年9月中旬に分離された。全国でもこの群に含まれるのは2017年秋期の数株に代表されるのみであるため、今後この群に属する株が再度検出されるかも興味深い。

AH3亜型については、2016/17シーズン終了時点では3C.2a1内に存在する抗原変異株A/OSAKA/109/2017の含まれる群、または2016/17シーズン流行期後の5月、7月の分離株が含まれるサブクレード3C.2a1bのいずれかが今後の流行株となっていくと考察していた。2017年7月～10月の流行期間前における分離株はサブクレード3C.2a1bにほとんどが含まれ、抗原変異株と同じ群に属する株はなかった。

流行期に入ってから解析株は3C.2a1b、3C.2a2、3C.2a3に全て含まれた。3C.2a3に含まれたのは1株のみで、残りは3C.2a1bと3C.2a2に属する株に分かれた。3C.2a1bには昨

シーズンからの流行株も含まれアミノ酸置換も多様であるのに対し、3C.2a2は2017/18シーズン流行期の株のみが属し、各株間のアミノ酸配列の差は比較的小さいため、今後ヒト個体内での選択圧により多様化して来るとともに、新たな流行株が派生する可能性もあり、今後も継続して分離株の解析を続けていく必要があると考えられた。

当センターではインフルエンザウイルスの検出が陰性であった検体について、その他の呼吸器ウイルスの検索を行っている。症例数が少ないこともあり、今シーズンは目立って検出されたウイルスはなく、ヒトコロナウイルス229E、C群ライノウイルスが2検体より検出されたが、他は1検体ずつの検出であり、重複感染例も1検体のみであった。また、インフルエンザウイルス以外のウイルスが検出された期間は、定点あたり患者数がピークを示した2018年第3週から同患者数が10.1を示す第10週までと流行の中心にあたり、ピーク時には症状と周囲の流行状況のみからインフルエンザと診断される例もあるが、そのような中には、他の呼吸器ウイルスが原因の紛れ込みがあり、インフルエンザワクチンの有効性を低下させる要因となるため、詳細な原因検索が必要であると考えられた。

E. 結論

2017/18シーズンのインフルエンザの流行は過去のシーズンには珍しくB型のYamagata系統が主流行であり、なおかつA型も流行したシーズンであった。流行するウイルスはターゲットとなるヒトの抗体保有状況に左右され、ウイルスの変異はヒト個体内での抗体による選択圧の影響を強く受けている。今後も引き続き流行形態、他のウイルスの検出頻度などのデータを蓄積し、ワクチン株と流行株の遺伝子配列の比較と併せて検討していくことで、ワクチンの効果判定を推測する一助になると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1. インフルエンザウイルス陰性検体から検出された呼吸器ウイルスの内訳

検体採取週		検出ウイルス
2018年	第3週	C群ライノウイルス + ヒトコロナウイルスHKU-1*
	第4週	ヒトコロナウイルスNL63
	第5週	ヒトコロナウイルス229E ヒトメタニューモウイルス
	第6週	パラインフルエンザウイルス2型
	第7週	C型インフルエンザウイルス
	第8週	ヒトコロナウイルス229E
	第10週	C群ライノウイルス

* 重複感染

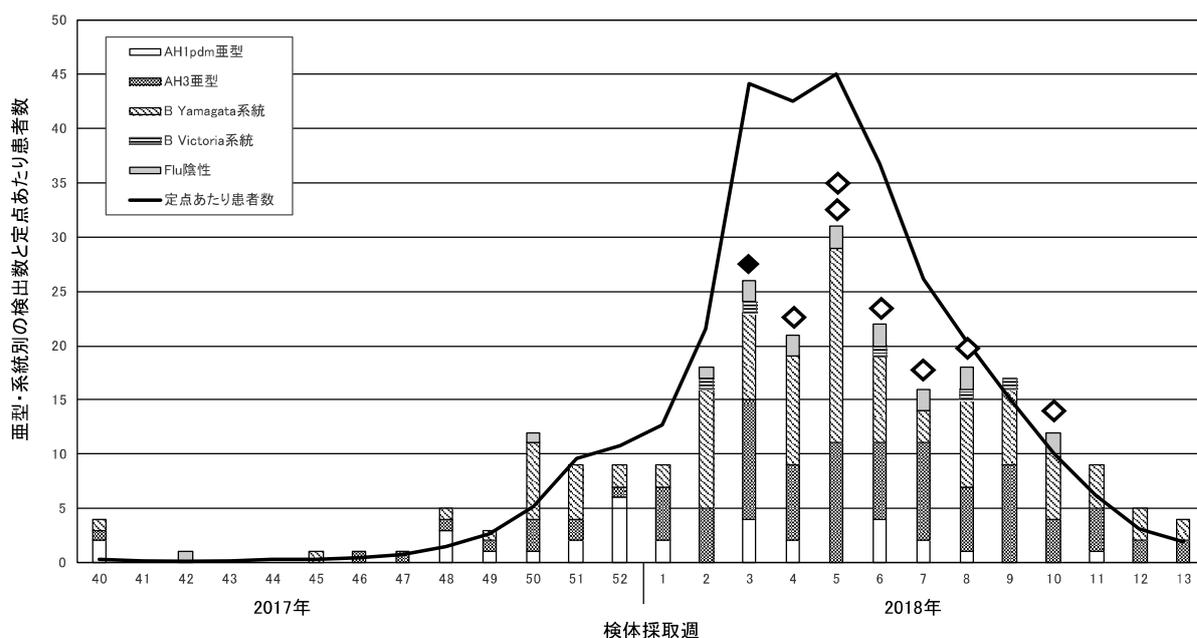


図1. 2017/2018シーズンのインフルエンザウイルス検出状況と定点あたり患者数
◇は当該週のインフルエンザウイルス陰性検体のうち、1検体から他の呼吸器ウイルスが1種類、◆は2種類検出されたことを示す。検出されたウイルスは表1に示す。

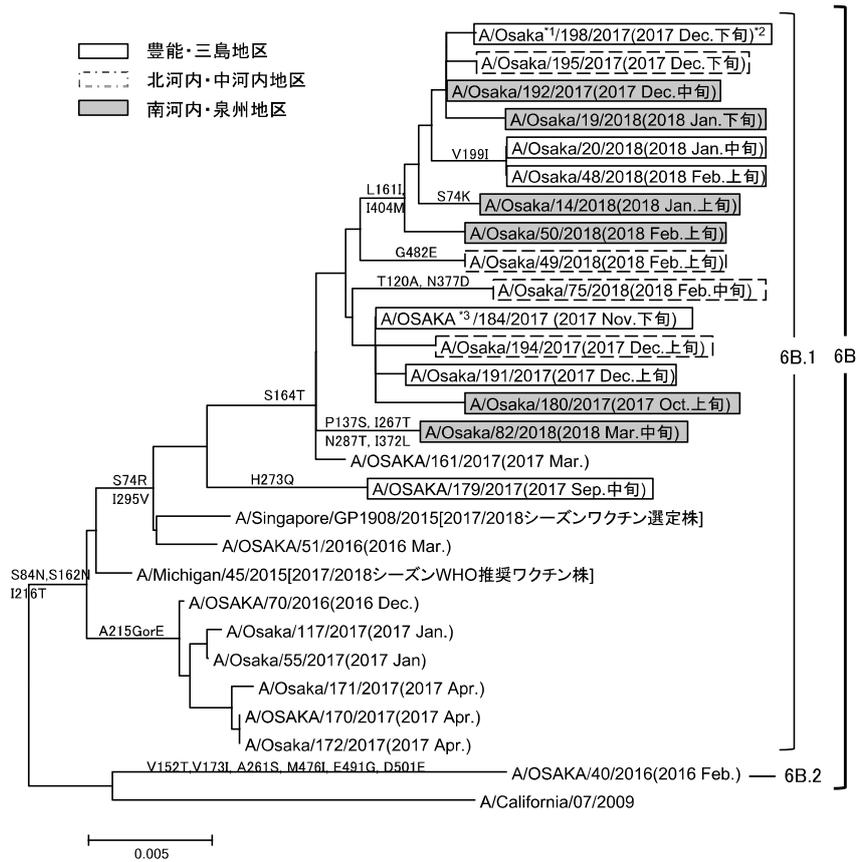


図2. AH1pdm09 亜型のHA全長の遺伝子系統樹解析

- *1. A/Osaka/--表記は当課でのシーケンスデータ
- *2. ()に検体採取時期を示す
- *3. A/OSAKA/--表記は国立感染症研究所でのシーケンスデータ

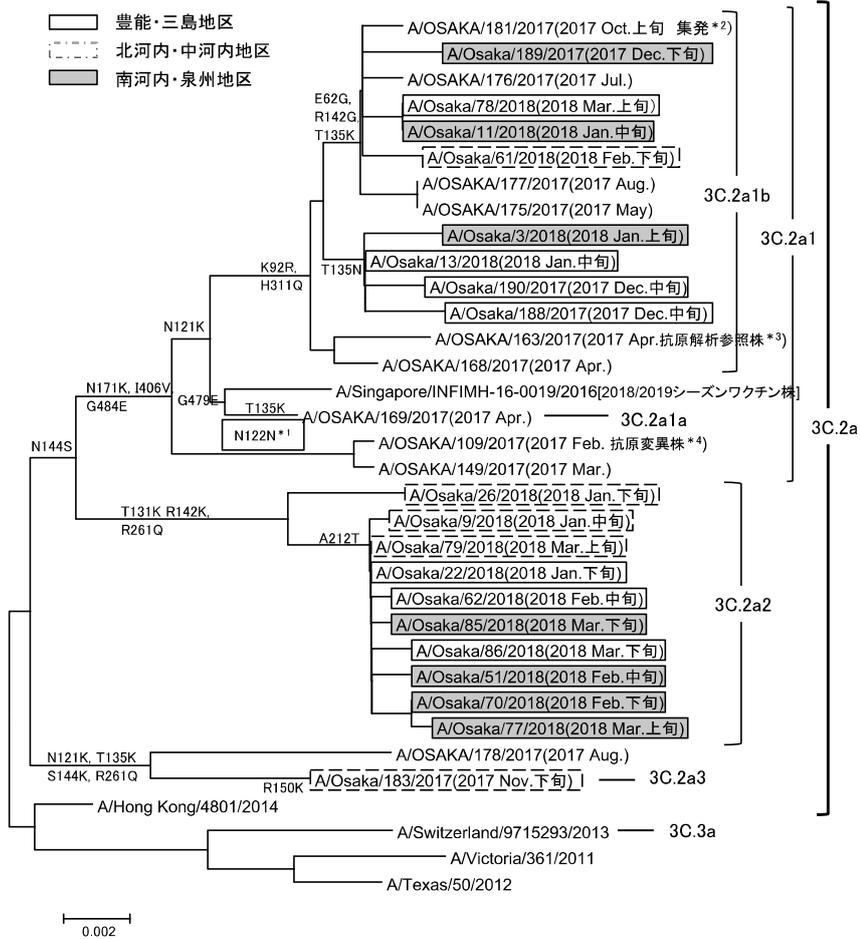


図3. AH3型HA全長の遺伝子系統樹解析

- *1. サブクレード3C.2a1aに属する株はN122Dにアミノ酸置換を有するが、A/Osaka/169/2017は当該置換は見られず、N122Nである
- *2. 府内中学校での集団発生事例から分離された株
- *3.4 2016/17シーズン分離株のうち、国立感染症研究所実施の詳細な抗原解析の結果、抗原変異株と判定された株、または2017/2018シーズン抗原解析用の参照株に採用された株。