

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

2018/2019 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

我々は、インフルエンザワクチンの有効性評価の基礎資料となるインフルエンザの流行状況を把握することを目的として、年間を通じ大阪府内のインフルエンザウイルス株の検出、分離・型別を行い、さらに流行期には流行株や流行規模の解析を行った。

2018/2019 シーズンの大阪府内におけるインフルエンザの流行は、2018年第48週に定点あたり患者数が1.0を越え、2019年第3、4週をピークとしてその後漸減した。今シーズンの流行を形成したタイプは、前半はAH1pdm09亜型であったが、後半はAH3亜型が主流となった。A型インフルエンザウイルスの地域流行分離株についてHA遺伝子全長の系統樹解析を行った結果、AH1pdm09亜型については、全国の解析データと同様なサブクレード内でのアミノ酸置換の多様性が見られた。一方、AH3亜型については全国の解析株の半数が属した1つの群に全ての解析株が属する結果となった。引き続き解析株を増やし、データの比較を行う必要がある。

季節性インフルエンザウイルスが陰性であった検体数は少なく13検体であったが、その内の8検体からは他の呼吸器ウイルスが検出された。今冬は特に多く検出されたウイルスはなかった。インフルエンザ集団発生事例の2検体からインフルエンザウイルスが検出されず、それぞれアデノウイルス、エンテロウイルス・ライノウイルス共通領域が検出された事例があった。

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①流行前の散发事例については全ての分離株を、②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

2018/2019シーズンのインフルエンザの流行時期は、前シーズンと同様に、定点当たりの患者数が1.0を超え流行期入りとなったのは第48週(11月26日～12月2日)であった。定点あたり患者数が30.0を超えた警報域の週は2019年第2週～第5週と4週連続したが、その後は速やかに患者数が減少した。府内の前シーズンの流行と比較すると、ピークに達するまでの患者数の急激な増加傾向は同程度であったが、ピーク時の患者数は長期間持続することなく、ピーク後は急速に患者数の減少がみられたため、全体の患者数は前シーズンより減少した。しかしながら、第14週(4月1日～4月7日)に一旦定点あたり患者数が流行目安となる1.0より少なくなったにもかかわらず、翌第15週より再度1.0を上回り漸増した。第16、17週は2.0を上まわったが、ゴールデンウィーク終了間際の第18週(4月29日～5月5日)は、0.9と再び1.0より少なくなった(図1)。

インフルエンザ病原体サーベイランス

2018年9月1日～2019年第18週までに採取され、当センターに搬入された168検体のうちで、AH1pdm09亜型73検体、AH3亜型69検体、B Yamagata系統4検体、B Victoria系統9検体が陽

性であり、前シーズンと異なりB型は散発的に検出されたのみであった。全国データによると、A型の両亜型の比率はAH1pdm09亜型が1に対しAH3亜型が1.4とAH3亜型が若干多いが、大阪府内は全国集計と異なりAH1pdm09亜型が多く検出された。

分離株の分子疫学解析として、AH1pdm09亜型、AH3亜型について各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。

AH1pdm09亜型については、解析に用いた臨床分離株のシーケンスは前シーズンに引き続き、共通アミノ酸置換S84N, S162N, I216T(図2 §)を持つサブクレード6B.1内のS74R, S164T, I295V(同†)のアミノ酸置換を持つサブクレード6B.1Aに全て属していた。

国立感染症研究所による全国データによると、サブクレード6B.1Aの中にS183P(同#)を含む複数の群がそれぞれ、183P-1(共通アミノ酸置換: N451T)1%、183P-2(L233I)26%、183P-4(N129D+A141E)7%、183P-5(N260D)37%、183P-6(T120A)2%、183P-7(K302T+I404M)12%の割合で検出され、さらにS183P置換を持たないT120A群(9%)、L161I+I404M群(5%)など複数の集団も認められている。

今回解析した大阪府内の2018/2019シーズン分離株は全てS183P置換を有し、全国的にも検出割合の高かった183P-2、4および5に属した。

AH3亜型ウイルスについては、全国の分離株の遺伝子解析によると、解析株のほとんどが系統樹上のサブクレード3C.2a内の、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)(図3 §)、3C.2a2(T131K+R142K+R261Q)に属し、1株のみが3C.2a3(N121K+S144K)に属したが、3C.2a4に属する株は2018/2019シーズンは無かったとの事であった。3C.2a1は3C.2a1a(N121K+G479E+T135K+N122D)と3C.2a1b(N121K+K92R+H311Q)(同#)に分かれ、3C.2a1bは3C.2a1b+135K(E62G+R142G+T135K)および3C.2a1b+135N(T135N)が形成されていたが、さらに3C.2a1bに以下の共通アミノ酸置換を持つE62G+T131K+V529I群(同†)が認められており、全国データでは3C.2a1株は全てサブクレード

3C.2a1b に属し、15% が 3C.2a1b+135K、3% が 3C.2a1b+135N、51% が E62G+T131K+V529I 群に含まれる結果であった。図 3 の系統樹上では解析株数が少ないため、クレードの分岐を決定するアミノ酸置換が同一の分岐点上に存在せず、1つ前の分岐点より挿入されている場合があった。

2018/2019 シーズンの当センターにおける流行株の解析では、上述のような全国データとは異なり、解析した株の全てが E62G+T131K+V529I 群に属する結果となった。解析株数を増やすことで他のサブクレードに含まれる株が存在するのか確認する必要がある。

両亜型とも、地区毎で検出されるウイルスの群に偏りはなかった。

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

迅速診断キットまたは、臨床症状からインフルエンザと診断されたが、上気道由来検体よりインフルエンザウイルスが検出されなかった検体は、2018/2019 シーズン流行期には 13 検体あった（表 1）。

最も多く検出されたのはエンテロウイルス・ライノウイルス共通領域で、3 検体より検出された。1 検体は VP4-2 部位の塩基配列より C 群ライノウイルスに型別されたが、2 検体はウイルス量が少なく型別には至らなかったと考えられた。次いで、アデノウイルス、ヒトコロナウイルス OC43 がそれぞれ 2 検体より検出された。ヒトボカウイルスとエンテロウイルス・ライノウイルス共通領域が同時に検出された症例、C 群ライノウイルスとアデノウイルスが同時に検出された症例が 1 症例ずつ認められた。6 検体は呼吸器ウイルスの検出についても陰性であった。

インフルエンザの集団発生事例の検体は、1 事例 1 検体として集計されている。2018/2019 シーズンの検査事例の内、1 事例で 2 名の検体が搬入されており両検体共にインフルエンザウイルスが検出されなかった事例が存在した。1 検体からはアデノウイルス、もう 1 検体はエンテロウイルス・ライノウイルス共通領域が検出された。1 名は検体採取前日に迅速診断キットにて A 型インフルエンザ陽性と診断されていた。

D. 考察

2018/2019 シーズンの大阪府内におけるインフルエンザの流行は、前シーズンと同様に第 48 週に定点あたり患者数が流行目安となる 1.0 を上回り、流行期に入った。患者数はその後急増し、定点あたり患者数が 30.0 を超えた警報域の週は 2019 年第 2 週～第 5 週と 4 週連続したが、前シーズンと異なり、その後は速やかに患者数が減少した。第 14 週に一旦定点あたり患者数が 1.0 より少なくなったにもかかわらず、翌第 15 週より再度 1.0 を越え、第 16、17 週は 2.0 を上回り、第 18 週以降再び 1.0 より少なくなった。過去にも、2016/2017 シーズンにおいては第 18 週まで患者数が 1.0 を下回らない等、5 月中旬までインフルエンザの流行が長引くことは経験されているが、一旦 1.0 を下回った後、再度数週にわたって増加に転ずることは珍しい。第 15 週は新学年が始まる時期であり、再度新たな学級にウイルスが持ち込まれ感染が広がったためと考えられた。定点あたり患者数が 2.0 を再び越えた第 16、17 週の年齢別患者発生数の最大割合値はいずれも 10～14 歳であり学童期での流行が裏付けられた。

感染症サーベイランスに基づく検査による検出ウイルスは、全国データによると、A 型の両亜型の比率は AH1pdm09 亜型が 1 に対し AH3 亜型が 1.4 と AH3 亜型が若干多い結果であったが、大阪府内は全国集計と異なり AH1pdm09 亜型が多く検出された。これは、前シーズン流行期に全国の A 型各亜型の検出比率とは異なり、大阪府内では AH3 亜型が多く検出されたことから、AH3 亜型に対する抗体保有率が比較的高かったためではないかと考えられた。少なくとも感染により誘導された抗体は、次シーズンの地域での流行を抑える効果がある事が示唆された。

A 型分離株 HA 遺伝子の系統樹解析の結果、AH1pdm09 亜型については今回解析した大阪府内の 2018/2019 シーズン分離株は全て S183P 置換を有し、全国データの解析株でも検出割合の高かった 183P-2、4 および 5 に属した。全国データと比較すると、解析株数が少ないことから全ての群に属する株は得られていないが、全国とほぼ同様の流行であったことが推察された。AH3 亜型については、我々は 2017/2018 シーズンの流行株の系統樹解析結果をもとに、「3C.2a 1b には前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がある。」と考察していた。2018/2019シーズンの全国データによると、サブクレード 3C.2a2 および 3C.2a1b に解析株の多くが含まれており、特に 3C.2a1b 内の多様性が目立ったことが報告されているが、当センターにおける解析株は、地域に拘わらず全てその内の1つの群に含まれる結果となった。解析株数を増やすことで、他群に含まれる株が検出できると考えているが、大阪府内では全国と異なり、類似の遺伝子配列を持つ株が主として流行していた事が伺えた。

インフルエンザウイルスが検出されなかった検体は集団発生事例を含め13検体であった。

集団発生事例に対しては、インフルエンザウイルスの検出が陰性であった時の事を考慮し、複数検体の採取を依頼している。今回は2検体が搬入され、1名は検体採取前日に迅速診断キットが陽性であったにも拘わらず、両検体からインフルエンザウイルスが検出されなかった。両検体からは別々の呼吸器ウイルスが検出され、学級での感染状況も不明であったため、集団発生の原因ウイルスは明らかにはできなかった。近年のインフルエンザ迅速診断キットは感度、特異度共に改良されているが、特に流行のピーク時をはずれた場合には不一致例が存在する事を認識しなければならない。また他の検体についても、検出されたウイルスのなかで特に目立ったものはなかった。

E. 結論

2018/2019シーズンの大阪府内におけるインフルエンザの流行は、前シーズンと同様であったが、第14週に一旦定点当たり患者数が1.0より少なくなったにもかかわらず、翌第15週より再度増加に転じた。第15週は新学年が始まる時期であり、新たな学級にウイルスが持ち込まれ感染が広がったためと考えられた。定点あたり患者数が2.0を再び越えた第16、17週の年齢別患者発生数の最大割合値はいずれも10～14歳であり学童期での流行が裏付けられた。

検出ウイルスの比率としては、全国データによると、A型の両亜型の比率はAH1pdm09亜型が1に対しAH3亜型が1.4とAH3亜型が若干多い結果であったが、大阪府内は全国集計と異なり

AH1pdm09亜型が多く検出された。これは、前シーズン流行期に全国のA型各亜型の検出比率とは異なり、大阪府内ではAH3亜型が多く検出されたことから、AH3亜型に対する抗体保有率が比較的高かったためではないかと考えられた。少なくとも感染により誘導された抗体は、次シーズンの地域での流行を抑える効果がある事が示唆された。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

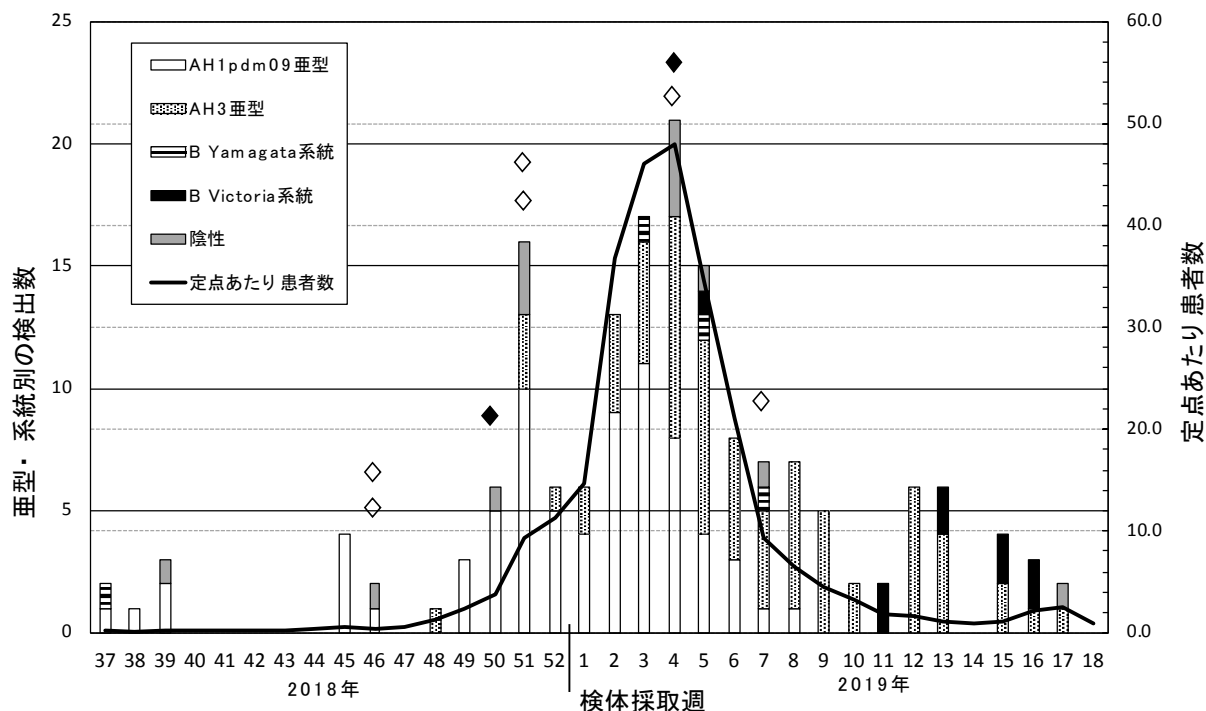


図1. 2018/2019シーズンのインフルエンザウイルス検出状況と定点あたり患者数

定点あたり患者数（折れ線）と病原体定点より搬入された上気道由来検体からのインフルエンザウイルス検出状況を示す。棒グラフ上のシンボルは陰性検体よりインフルエンザウイルス以外の呼吸器ウイルスが1種（◇）または2種（=重感染 ◆）検出されたことを示す。検出ウイルス種は表1参照

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

検体採取週	検出ウイルス
2018年 第46週	アデノウイルス *
	エンテロウイルス・ライノウイルス共通領域 *
第50週	ヒトボカウイルス + エンテロウイルス・ライノウイルス共通領域
第51週	ヒトコロナウイルスOC43
	パラインフルエンザウイルス2型
2019年 第4週	C群ライノウイルス + アデノウイルス
	RSウイルス
第7週	ヒトコロナウイルスOC43

*単一のインフルエンザでの学級閉鎖事例検体よりそれぞれ検出。インフルエンザウイルスは検出陰性であった。

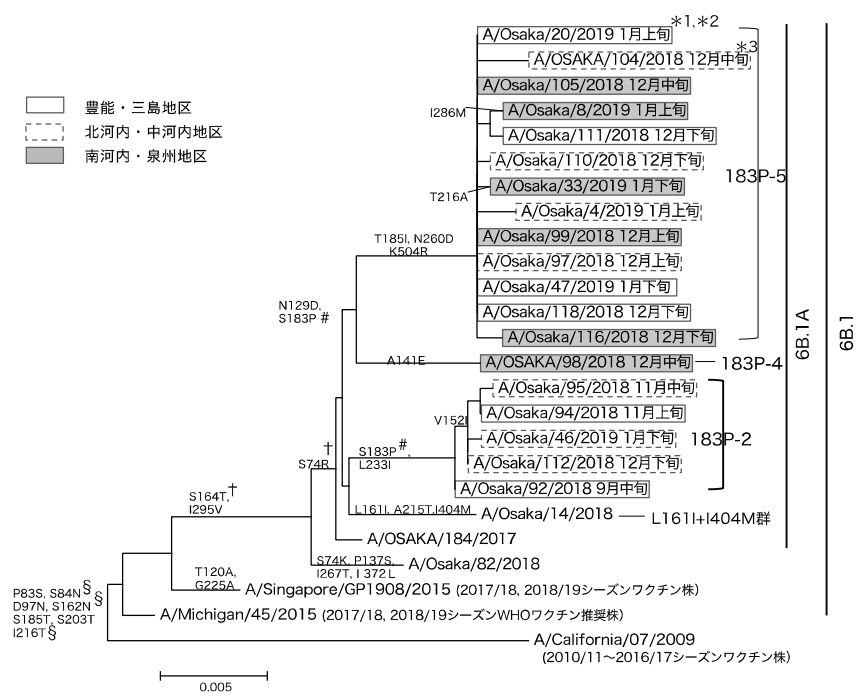


図2 AH1 pdm09亜型HA 全長の遺伝子系統樹解析

*1 [Osaka]表記は当センターにて行ったシーケンスデータ
 *2 株名の後ろに検体採取時期を示す
 *3 [OSAKA]表記は当センターの分離株を国立感染症研究所にて解析したデータ

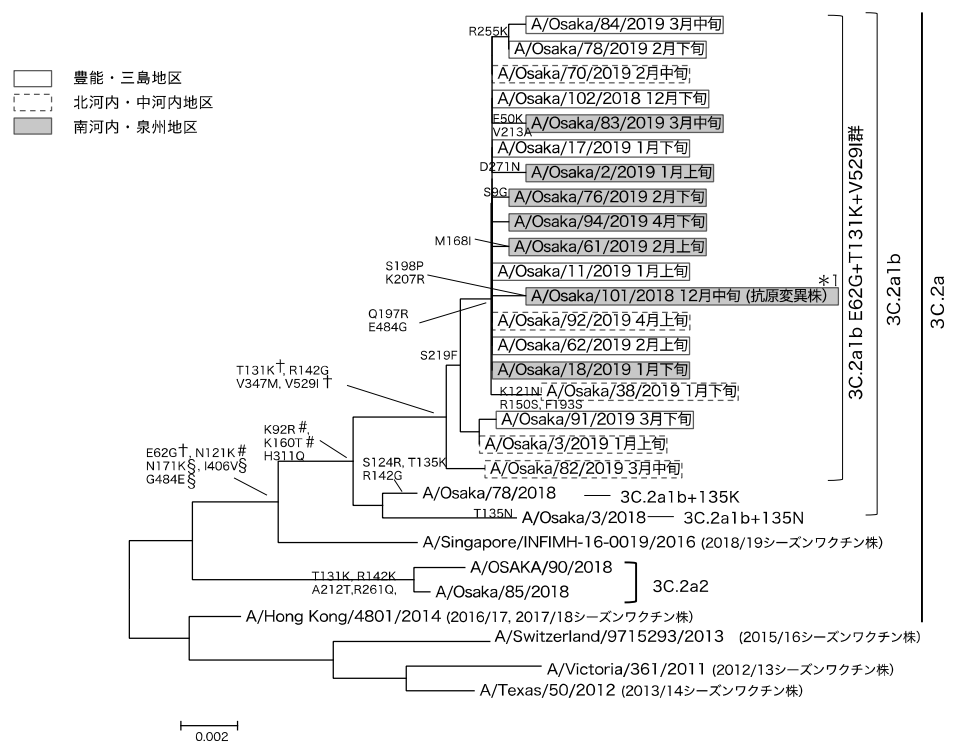


図3 AH3亜型HA 全長の遺伝子系統樹解析 (表記については図2と同じ)

*1 国立感染症研究所での詳細な抗原解析の結果、抗原変異株と判定された株