

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

2019/2020 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。

2019/2020 シーズンの大阪府内におけるインフルエンザの流行は、2019年第47週に定点あたり患者数が1.0を越え、2020年第4週をピークとしてその後は減少した。今シーズンの流行を形成したタイプは、前半はAH1pdm09亜型であり、後半はB型のVictoria系統が主流となった。AH3亜型インフルエンザウイルスは2019年第49、50、51週に各1株ずつ合計3株検出されたのみであり、B型のYamagata系統は検出されなかった。

医療機関にてインフルエンザと診断され病原体検索のため搬入されたが、検査の結果、季節性インフルエンザウイルスが検出されなかった検体数は少なく12検体であった。その内の5検体からは他の呼吸器ウイルスが検出された。アデノウイルスは4検体から検出され、流行期が重なった場合の症状のみからの診断の難しさが示された。また、2検体（1検体はアデノウイルスとの共感染）からコロナウイルスOC43が検出された。流行期後半は新型コロナウイルスの流行と重なったが、新型コロナウイルス検出陽性例はなかった。

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詳細に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H1pdm亜型インフルエンザウイルス株の一部を、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、HA全長の塩基配列を解析した。得られたデータは、ワクチン

株との比較、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（承認番号1402-02-2）。

C. 研究結果

1. インフルエンザ定点サーベイランス、病原体サーベイランスに基づく大阪府内のインフルエンザ流行状況とインフルエンザウイルス検出結果

2019/2020シーズンにおいて、インフルエンザ流行期入りの目安となる「定点あたりの患者数」が1を超えたのは、2018/2019シーズンより1週早く第47週（11月18日～11月24日）であった。定点あたり患者数が30を超えた警報域の週は認められず、2020年第4週にピークの21.19となった後は速やかに患者数が減少した（図1）。府内の2018/2019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少なく、ピーク後は急速に患者数の減少がみられたため、全体の患者数も2018/2019シーズンより減少した。

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、2019年第36週～2020年第14週までに採取され、当センターに搬入された145検体のうちで、AH1pdm09亜型91検体、AH3亜型3検体、B型 Yamagata 系統0検体、B型 Victoria 系統39検体が陽性であり、今シーズンの流行は大きく分けて前半はAH1pdm09亜型、後半はB型 Victoria 系統により形成されたことが伺えた。我々は、昨年度の研究報告にて2018/2019シーズンの大阪府内でのウイルス検出状況は全国での検出状況の集計と

異なり AH1pdm09亜型が多く検出されたことを報告した。しかしながら、2019/2020シーズンは全国集計と同様に、検出されたA型インフルエンザウイルスはほとんどがAH1pdm09亜型であった。

2. 分離株の解析

分離株の分子疫学解析として、AH1pdm 亜型について各16株を選択し、それぞれワクチン株のHA遺伝子とともに系統樹解析を実施した。さらに当センターからはAH1pdm 亜型については2019年第37週に発生した学級閉鎖事例検体からの分離株、第40週、第46週、第51週の散発事例検体からの分離株それぞれ1株ずつが国立感染症研究所へ分与されており、当該分与株に関して還元された解析結果をあわせ検討した。

国立感染症研究所で実施された全国からの分離株のHA全長のシーケンスによる系統樹解析の結果によると、昨年度の時点ではサブクレード6B.1Aの中にS183Pの共通アミノ酸変異を含む複数の群がそれぞれ183P-1～183P-7まで形成され、大阪府内の2018/2019シーズン分離株も、全国的に検出割合の高かった183P-2、4および5に属していたが、2019年9月以降の全国分離株は全て183P-5に属し、99%が183P-5に加えN129D+T185I変異を持つ183P-5Aに、1%が183P-5に加えK130N+K160M+T216K+E235D+H296N+V520A変異を持つ183P-5Bに分けられた。大阪府内の2019/2020シーズン分離株は19株が、全国の99%を占めた183P-5Aに属し、残り1株は前シーズンのワクチン株であるA/Brisbane/02/2018に遺伝的に近い株であった（図2）。

183P-5Aからはさらに特徴的な変異であるN156K+L161Iを持つ183P-5A-156K+161Iと183P-5A-156K+195Eとが新たに派生し、それぞれ全体の22%と1%を占めているが、今回の解析においても183P-5A-156K+161Iに4株、183P-5A-156K+195Eに1株が属していた。183P-5A-156K+161Iに属した4株は、NA遺伝子についても他の検出株には無い、831番目の塩基がGからAに変異していたことが明らかとなった。

AH3亜型ウイルスについては、3検体からの検出に留まったため当センターでの遺伝子解析は実施しなかった。全国分離株の遺伝子解析によると、2019/2020シーズンの国内分離株のHA遺伝子は、全てサブクレード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) から派生した3C.2a1b (N121K+K92R+H311Q) に属している。3C.2a1b は3C.2a1b + 135K (E62G+R142G+T135K) に64%、または3C.2a1b + 131K群 (E62G + T131K + V529I) に36%が属した。2019/2020シーズンの当課からの第49週、第51週の分離株2株について還元された解析結果によると、どちらも3C.2a1b+135K群に派生した3C.2a1b+135K+137F群 (T128A+S137F+A138F+F193S) に属していた。2019年9月以降の全国での分離株の56%がこの群に属している。

3. インフルエンザウイルス以外の呼吸器ウイルスの検出

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、2019/2020シーズン流行期には12検体あった(表1)。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患者の検体は12検体中5検体、キット陰性が6検体、キット未実施が1検体あり、キット陽性例で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1検体のみであった。

最も多く検出されたのはアデノウイルスで、4検体より検出された。次いでヒトコロナウイルスOC43が2検体より検出された。1検体はアデノウイルスとの重複感染であった。1検体からは、パラインフルエンザウイルス1型、B群ライノウイルス83型、アデノウイルス、C型インフルエンザウイルスが同時に検出された。新型コロナウイルスが検出された検体はなかった。

D. 考察

2019/2020シーズンの大阪府内におけるインフルエンザの流行は、昨シーズンより1週早く第47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。患者数はその後増加したが2020年第4週に定点あたり患者数が21.2となったのを境に減少に転じた。昨シーズンと比較し定点あたり患者数が30を超えた警報域の週はなく、2020年1月中旬より中国で発生した新型コロナウイルス感染症の拡大と反比例するように小規模の流行となった。これは、新型コロナウイルスの感染拡大防止策として、一般的な飛沫感染防止策(手洗い実施、

マスク着用)が徹底されたことや、3月2日(第10週)から全国すべての小学校、中学校、高等学校、特別支援学校について臨時休業が行われた事による小児、学童間の伝播機会の減少の影響が大きかったと考えられる。さらに、3月11日に厚生労働省より「新型コロナウイルス感染症が疑われる者の診療に関する留意点」が各都道府県に対して発出された事を受け、日本医師会が感染防護具の不足している現状を鑑み、検体採取を行う医師の新型コロナウイルス感染のリスクを軽減するため、臨床的にインフルエンザと診断した場合「迅速診断なしに治療薬を処方することを検討する」と要請したことでインフルエンザの検体採取が回避されるようになった。そのため、患者数、検体数は第10週以降激減している(図1)。新型コロナウイルスの患者数がかなり少なかった2020年初頭から、例年のインフルエンザ病原体サーベイランスとは異なる検体採取様式、患者背景となった事が推察された。

2019/2020シーズンの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、全国データではAH1pdm09亜型とB型Victoria系統が主となっており、大阪府内も同様であった。全国的にAH3亜型の検出が少なかったことから、次シーズンはAH3亜型に対する感染抗体の保有率が低くなる事が予想される。加えて、国立感染症研究所から還元された抗原解析結果においても、AH3亜型は解析したほぼ全ての株において、WHOのワクチン推奨株であるA/Kansas/14/2017(細胞分離株および鶏卵分離株)に対するフェレット感染血清と反応性の低下が認められたことが報告されており、次シーズンの流行が大きくなる事が危惧される。

2019/2020シーズンのAH3亜型のワクチン株はA/Kansas/14/2017株であり、系統樹解析ではクレード3C.3aに属している。我が国におけるサーベイランスデータの結果を含めた各国の抗原解析結果を受け、WHOは2020/2021シーズンのワクチン株は多くの分離株が占めるクレード3C.2a1b + 135K + 137Fに属するA/Hong Kong/2671/2019を推奨株とした。次シーズンの流行を大規模なものにしないためにはワクチンによる抗体保有率の引き上げが重要だと考えられた。

A型分離株HA遺伝子の系統樹解析において、AH1pdm09亜型の大阪府内の2019/2020シーズン分離株を抽出し全長を解析した。当センターおよび国立感染症研究所で解析した20株のうち19株は、

全国での解析株の99%が属するクレード183P-5Aに属した。残る1株は2019年10月に採取された分離株で、2019/20シーズンのワクチン株A/Brisbane/02/2018に遺伝的に近いものであり、以後大きく流行しなかったと考えられる。分離株のほとんどが183P-5Aに属しており、次シーズンに他のクレードの株が大きく流行する可能性は低いと考えられる。府内では183P-5Aから派生した183P-5A-156K+161Iに属した4株がNA遺伝子についても他の検出株には無い同じ塩基変異を持つ株であったことから、今後同じ変異を持つウイルスの動向に注意が必要である。

AH3亜型については、大阪府内の2株は2019年9月以降の全国での分離株の56%が属している、クレード3C.2a1b+135K+137F群に属していたことがわかった。AH3亜型ウイルスは2019/2020シーズンは3検体から検出されているが、分離株は国立感染症研究所へ分与された2株が得られたのみであった。府内で他の群に属するウイルスが流行していたかどうかは不明であるが、次シーズンワクチン推奨株も同クレードに属しており、他のクレードから派生した株が流行してくるのか注目される。

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由来の検体を含め12検体であった。インフルエンザウイルス以外の呼吸器ウイルスが検出された検体は例年と異なり、インフルエンザの流行期中に少なく、流行の前後に存在していた。低年齢では2つ以上のウイルスが共感染している割合が高いことが知られているが、今回4歳男児の咽頭拭い検体から4種のウイルス（パラインフルエンザウイルス1型、B群ライノウイルス83型、アデノウイルス、C型インフルエンザウイルス）が同時に検出された。検体より遺伝子を検出しているため、検体採取時にどのウイルスが患者体内で増殖しており病因となっているのかは不明である。上記の12検体からは新型コロナウイルスは検出されなかった。検体採取時期とCOVID-19の流行のピーク時期がずれていることが大きな要因と考えられた。

E. 結論

2019/2020シーズンの大阪府内におけるインフルエンザの流行は、前半はAH1pdm09亜型、後半はB型のVictoria系統が主流行となった。2018/2019シーズンと比較し定点あたり患者数が30を超えた警報域の週はなく、2020年1月中旬よ

り中国で発生した新型コロナウイルス感染症の拡大と反比例するように小規模の流行となった。全国的にもAH3亜型の検出は少なく、さらに分離株は2019/2020シーズンのワクチン推奨株であるA/Kansas/14/2017（細胞分離株および鶏卵分離株）に対するフェレット感染血清と反応性の低下が認められたことが報告されており、次シーズンの流行が大きくなるのが危惧される。次シーズンの流行を大規模なものにしないためにはワクチンによる抗体保有率の引き上げが重要だと考えられた。AH1pdm09亜型については183P-5Aから派生した183P-5A-156K+161Iに属した4株がNA遺伝子についても他の検出株には無い同じ塩基変異を持つ株であったことから、起源を同じくしていることが考えられ、今後同じ変異を持つウイルスの動向に注意が必要である

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（発表雑誌名巻号・頁・発行年等も記入）

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（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

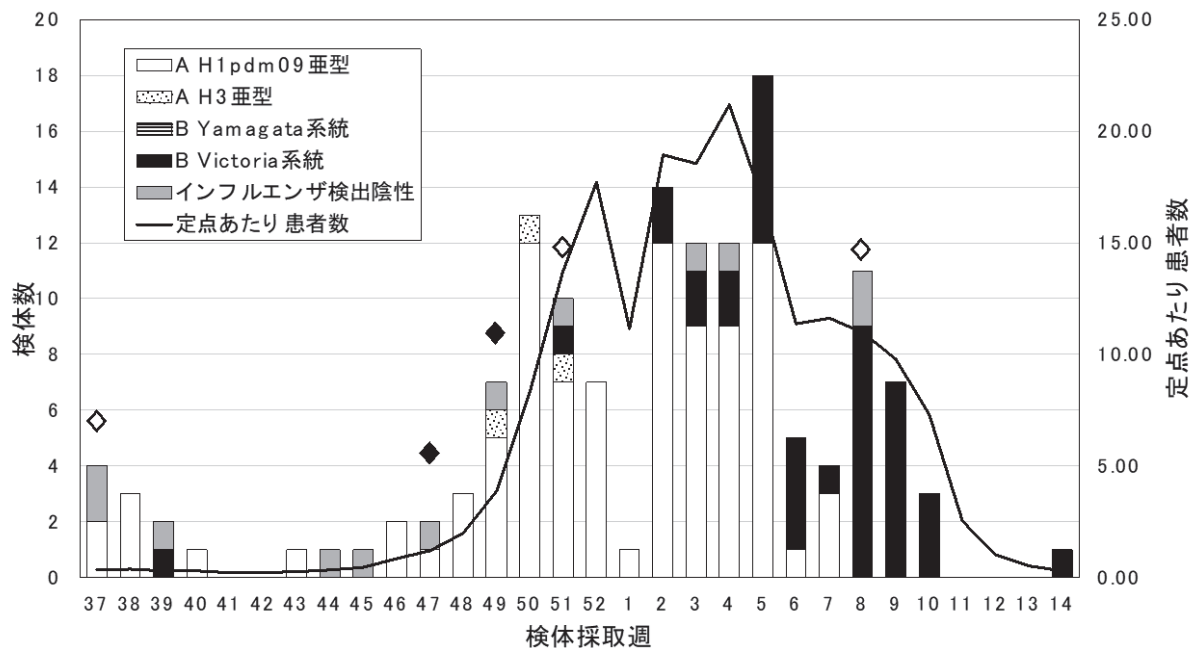


図1. 2019/2020シーズンのインフルエンザウイルス検出状況と定点あたり患者数

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種以上（=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
2019年 第37週	アデノウイルス
第47週	パラインフルエンザウイルス1型 + B群ライノウイルス83型 + アデノウイルス + C型インフルエンザウイルス
第49週	ヒトコロナウイルスOC43 + アデノウイルス
第51週	ヒトコロナウイルスOC43
2020年 第8週	アデノウイルス

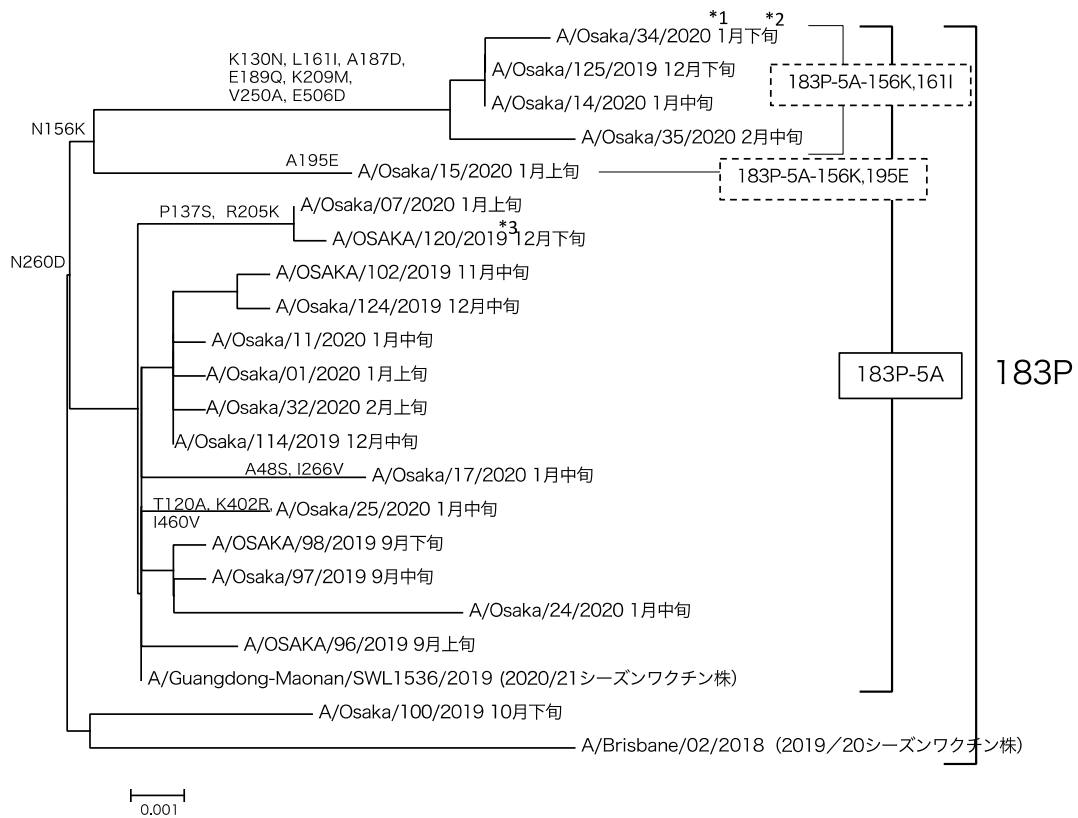


図2 AH1pdm09亜型HA 全長の遺伝子系統樹解析

- *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