

インフルエンザウイルス検出状況 (2017/2018 シーズン)

鈴木典子 富岡恭子 峯岸俊貴 小川泰卓 青沼えり 中川佳子 内田和江 篠原美千代

Detection of influenza virus
(2017/2018 season)

Noriko Suzuki, Kyoko Tomioka, Toshitaka Minegishi, Yasutaka Ogawa,

Eri Aonuma, Keiko Nakagawa, Kazue Uchida, Michiyo Shinohara

はじめに

埼玉県感染症発生動向調査事業¹⁾の一環として、インフルエンザウイルス (IFV) の型別を実施している。また、「抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス」実施要綱²⁾に基づきH275Y変異を対象とした「A(H1N1)2009ウイルス (AH1pdm)の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス」を実施している。今回は、2017年9月から2018年3月まで (2017/2018シーズン) のIFVの流行状況に加えAH3型、B型の薬剤耐性調査、系統樹解析の結果を合わせて報告する。

対象

1 インフルエンザ患者発生動向調査

埼玉県感染症発生動向調査事業として2017/2018シーズンに、収集されたインフルエンザ患者報告数を対象とした。

2 インフルエンザ検体からのIFV検出と型別

2017/2018シーズンに、県域 (埼玉県からさいたま市を除いた地域) において感染症発生動向調査としてインフルエンザと診断された患者から採取された745検体を調査対象とした。

3 薬剤耐性調査

2017/2018シーズンに感染症発生動向調査として採取された検体をMDCK細胞に接種し、分離されたIFV株から94株 (AH1pdm60株, AH3型12株, B型ビクトリア系統 (Bvic) 2株, B型山形系統 (Byam) 20株,) を調査の対象とした。

4 系統樹解析

2017/2018シーズンに感染症発生動向調査として採取された検体をMDCK細胞に接種し、分離されたIFV株のうち、各亜型・系統別に各月約3株を採取地域が偏らないように選定し、51株 (AH1pdm18株, AH3型12株, Bvic2株, Byam19株) を調査の対象とした (表1)。

表1 亜型・系統別系統樹解析株数

	AH1pdm	AH3	Bvic	Byam
9月	2	0	0	1
10月	2	0	0	3
11月	3	0	0	3
12月	3	3	1	3
1月	3	3	0	3
2月	2	3	0	3
3月	3	3	1	3
合計	18	12	2	19

方法

1 インフルエンザ患者発生動向調査

埼玉県感染症発生動向調査事業として埼玉県感染症情報センターのホームページに公開³⁾された埼玉県におけるインフルエンザ患者の定点当たり報告数を使用した。

2 IFVの検出と型別

検体からRNAを抽出し、AH1pdm, AH3型, B型についてはインフルエンザ診断マニュアル⁴⁾に準じて、リアルタイム RT-PCR法で遺伝子を検出した。

3 薬剤耐性調査

AH1pdmは、分離株を用いてインフルエンザ診断マニュアル⁴⁾に準じて、リアルタイム RT-PCR (TaqMan Probe) 法によりH275Yの変異を調査した。

AH3型及びB型はMDCK細胞培養上清から抽出したRNAを使用し、インフルエンザ診断マニュアル⁴⁾に準じてNAタンパク質をコードする領域 (NA遺伝子) を増幅後、同マニュアル及び既報^{5), 6)}のプライマーを用いダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定した。

得られた塩基配列から、GENETYX Ver. 10 (ゼネティックス) を用いてアミノ酸配列を決定後、NA阻害薬に対して耐性に関与する可能性があるとして報告⁷⁾のあった変異部位について、変異の有無を調査した。

4 系統樹解析

MDCK細胞培養上清から抽出したRNAを使用し、インフルエンザ診断マニュアル⁴⁾に準じてHAタンパク質をコードする領域 (HA遺伝子) を増幅後、同マニュアルのプライマーを用いダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。

得られた塩基配列とGISAID (Global Initiative on Sharing All Influenza Data)⁸⁾に登録されている全国、世界各国で解析された株を含めて、NJ法による系統樹解析を実施した。

結果及び考察

1 定点当たり患者報告数及びIFV検出状況

図1に埼玉県における定点当たり患者報告数及び県域におけるIFV検出状況を、表2に亜型・系統別IFV検出数と検出割合を示した。

埼玉県の2017/2018シーズンの定点当たり患者報告数は2017年第46週に1.00を超えて流行期に入り、第5週に68.29に達してピークとなった。第6週以降は報告数が減少し、第13週には1.91となり流行が終息へと向かった (図1)。

過去3シーズンの主たる流行ウイルスをみると、2014/2015シーズン及び2016/2017シーズンがAH3亜型、2015/2016シーズンがAH1pdmと、2つのA型が交互に主流となっており、B型は年明け以降に流行する傾向であった⁹⁾。2017/2018シーズンは、シーズン初めからByamが多く検出され、Byam、AH1pdm、AH3亜型の3種類のウイルスの混合流行となった。A型は、シーズンの初めはAH1pdmが多く、年明け以降はAH3亜型の検出が優位になった (図1)。

IFVの型・亜型別検出状況は、表2に示すとおりで、Byamが392検体 (55.0%) から最も多く、次いでAH3型162検体、AH1pdmが157検体であった。Bvicの検出は2検体のみであった。また、AH3型とByamの重複検出が7症例、AH1pdmとByamの重複検出が1症例あった。前述のとおりA型とB型の検出時期に偏りがなく、混合流行であったことから重感染の起こりやすい状況であった可能性が考えられた。2017/2018シーズン全体で県域では、Byamが多く検出され、全国でも県域と同様の傾向であった⁹⁾。

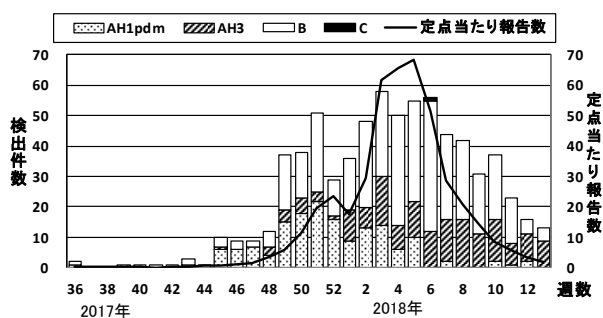


図1 埼玉県における定点当たり患者報告数及び県域におけるIFV検出状況

表2 亜型・系統別IFV検出数と検出割合

	検出数	検出割合
AH1pdm	157	22.0%
AH3	162	22.7%
Bvic	2	0.3%
Byam	392	55.0%
A	1	0.1%
C	1	0.1%

2 薬剤耐性調査

型・亜型別NA阻害薬耐性変異検査結果を表3に示した。

(1) AH1pdmのH275Y変異の検出

60株を解析し、H275Y耐性変異は検出されなかった。全国では、1421株が解析され、24株 (1.7%) からH275Y変異が検出された⁹⁾。

(2) AH3型

10か所の変異部位を調査した。12株を解析し、変異は認められなかった。全国では、176株が解析され、耐性株は検出されなかった⁹⁾。

(3) B型

20か所の変異部位を調査した。22株を解析し、B型山形系統の1株にD197N変異が認められた。国立感染症研究所で薬剤感受性試験を実施した結果、ペラミビルに対する感受性が低下しているが、オセルタミビル、ザナミビル、ラニナミビルの薬剤に対しては、感受性を保持していることが確認された。最終的に本株は耐性株とは判定されなかった。全国では、237株が解析され、耐性株は検出されなかった⁹⁾。

表3 NA阻害薬耐性変異検査結果

	検査数	耐性変異株数
AH1pdm	60	0
AH3	12	0
Bvic	2	0
Byam	20	1

3 系統樹解析

HA遺伝子の系統樹解析の結果を図2 (AH1pdm)、図3 (AH3)、図4 (Bvic) 及び図5 (Byam) に示した。

(1) AH1pdm

18株はすべて2017/2018シーズンのワクチン株 Singapore/GP1908/15E IVR-180と同じクレード6B.1に属した。6B.1内には複数の集団が形成されていたが、検出時期による偏りはみられなかった。

(2) AH3型

12株はすべて2017/2018シーズンのワクチン株A/Hong Kong/4801/14 X-263と同じサブクレード3C.2aに属した。3C.2a内には、特定のアミノ酸変異を持った群が4つ存在しており、12月の1株と1月の株は3C.2a1に、12月の2株と2月、3月の株は3C.2a2に属した。3C.2a3及び3C.2a4に属する株はなかった。国内においては、1月以降3C.2a2に属するウイルスの割合が多くなっており⁹⁾、県域も同様の傾向であった。

(3) Bvic

Bvicは2株のみの検出であったが、いずれも2017/2018シーズンのワクチン株B/Texas/2/13と同じクレード1Aに属した。北米を中心に海外から報告されている抗原性変異株のサブクレード1A.1及びサブクレード1A.2（香港で検出された株及びラオスで検出された株）⁹⁾に属する株はなかった。

(4) Byam

19株はすべて2017/2018シーズンのワクチン株B/Phuket/3073/13と同じクレード3に属しており、検出時期による偏りは見られなかった。一方、クレード1及びクレード2に属する株はなかった。

今回の調査では、ペラミビルに対する感受性低下株がByamに1株検出されたが、薬剤耐性株は検出されなかった。また、系統樹解析からは、ワクチン株と異なるクレードに属する株及び抗原性変異株は検出されなかった。しかし、今後も薬剤耐性株や抗原性変異株が検出される可能性はあることから、継続的な調査を実施していくことが必要であると考えられる。

文献

- 1) 埼玉県：埼玉県感染症発生動向調査事業実施要綱,
<http://www.pref.saitama.lg.jp/a0701/kansen/kansensyouseitodoke.html> (2018年7月9日現在)
- 2) 国立感染症研究所：2017/2018シーズン抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス実施要綱平成29年8月
- 3) 埼玉県感染症情報センター発生動向調査
<http://www.pref.saitama.lg.jp/b0714/surveillanc/index.html> (2018年7月9日現在)
- 4) 国立感染症研究所及び地方衛生研究所全国協議会病原体検出マニュアル インフルエンザ診断マニュアル（第3版）平成26年9月
- 5) K. E. wright, G. A. R. Wilson, D. Novosad et al. : Typing and subtyping of influenza virus in clinical samples by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 33(5), 1180-1184, 1995
- 6) X. Sherry Chi, Aizhong Hu, Trentice V. Bolar, et al. : Detection and characterization of new influenza B virus variants in 2002. *J. Clin. Microbiol.* 43(5), 2345-2349, 2005
- 7) Summary of neuraminidase amino acid substitutions associated with reduced inhibition by neuraminidase inhibitors (NAI),
http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/antiviral_susceptibility/nai_overview/en/
- 8) GISAID,
<http://platform.gisaid.org/>
- 9) 国立感染症研究所：インフルエンザウイルス分離検出速報. 病原微生物検出情報,

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-inf.html> (2018年7月9日現在)

□ ワクチン株

● 埼玉株 (解析株, 株名の最後に採取月を記載)

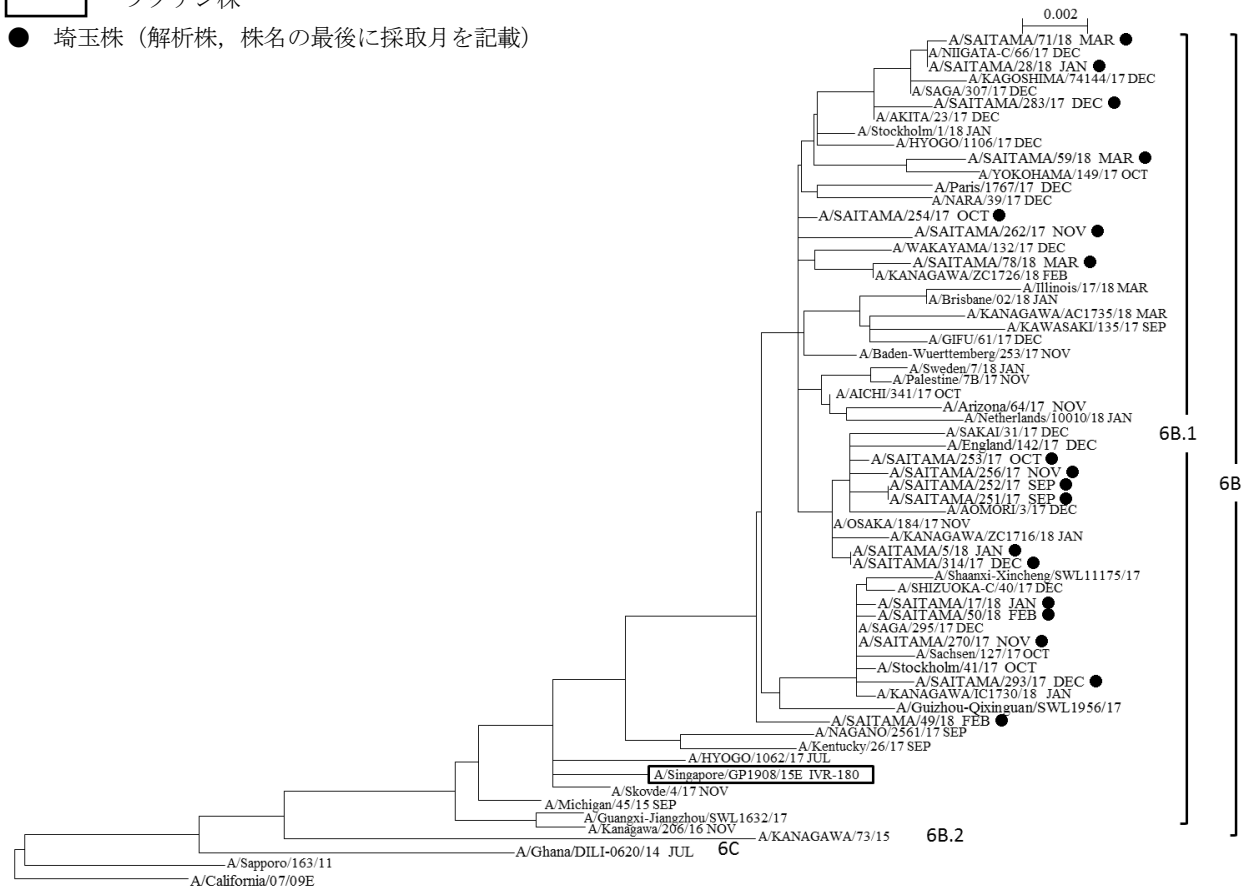


図2 HA遺伝子系統樹解析 (AH1pdm)

□ ワクチン株

● 埼玉株 (解析株, 株名の最後に採取月を記載)

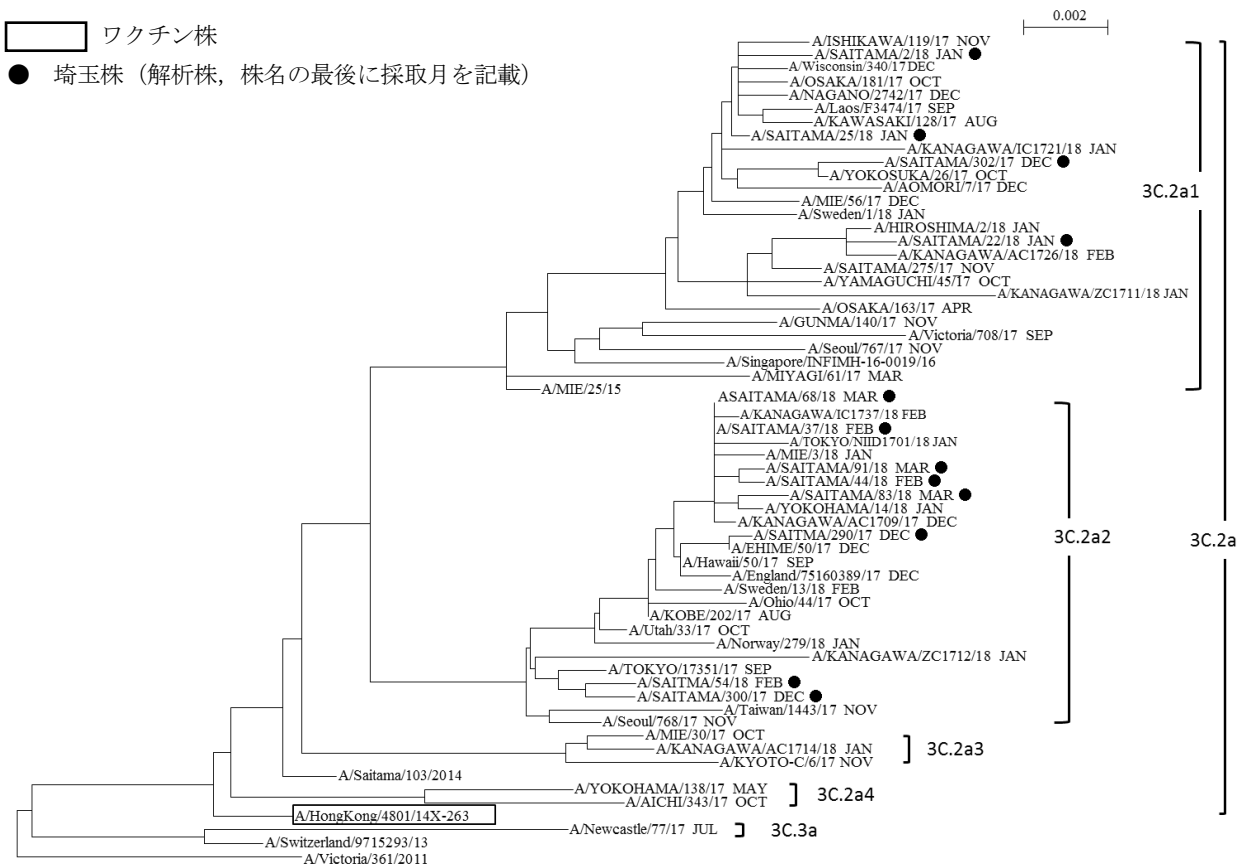


図3 HA遺伝子系統樹解析 (AH3)

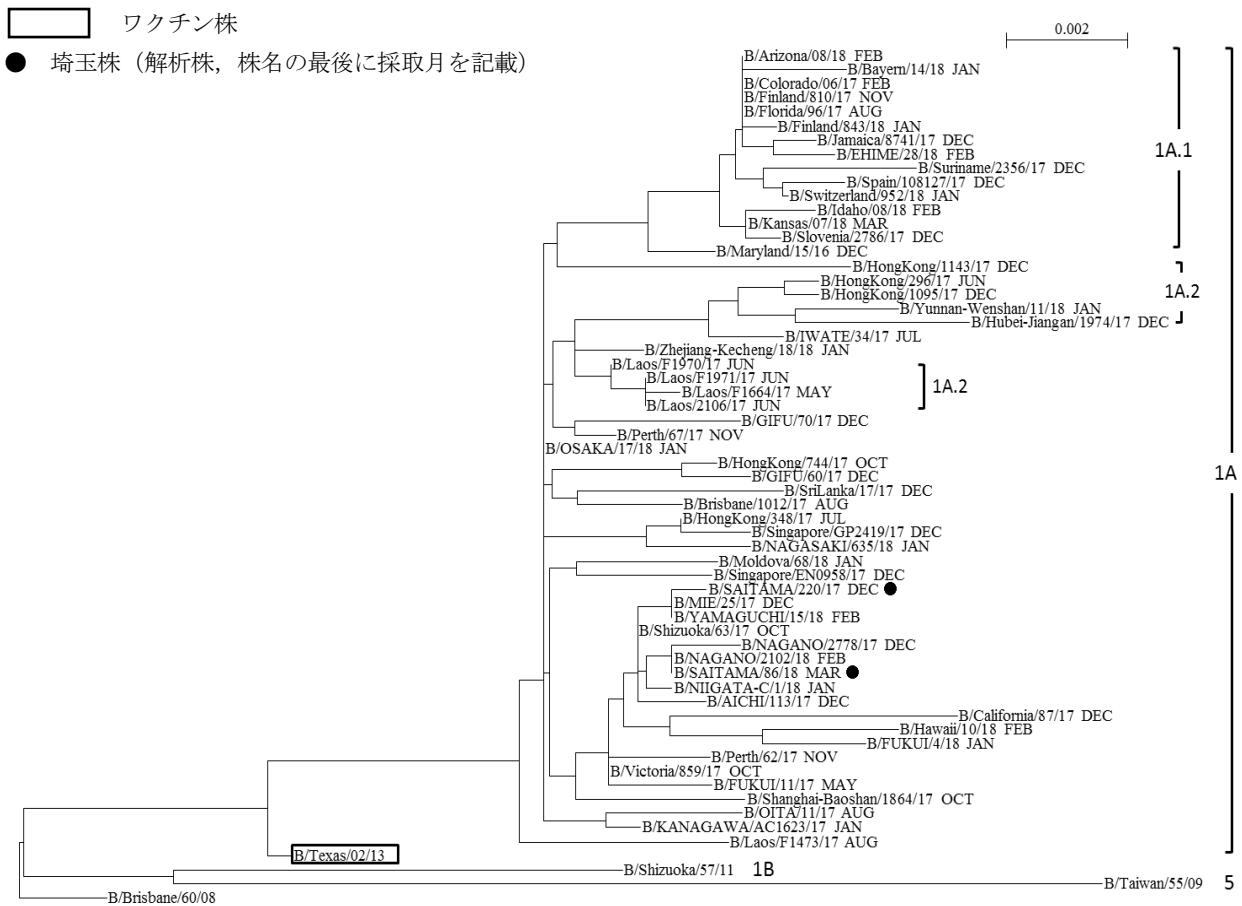


図4 HA遺伝子系統樹解析 (Vic)

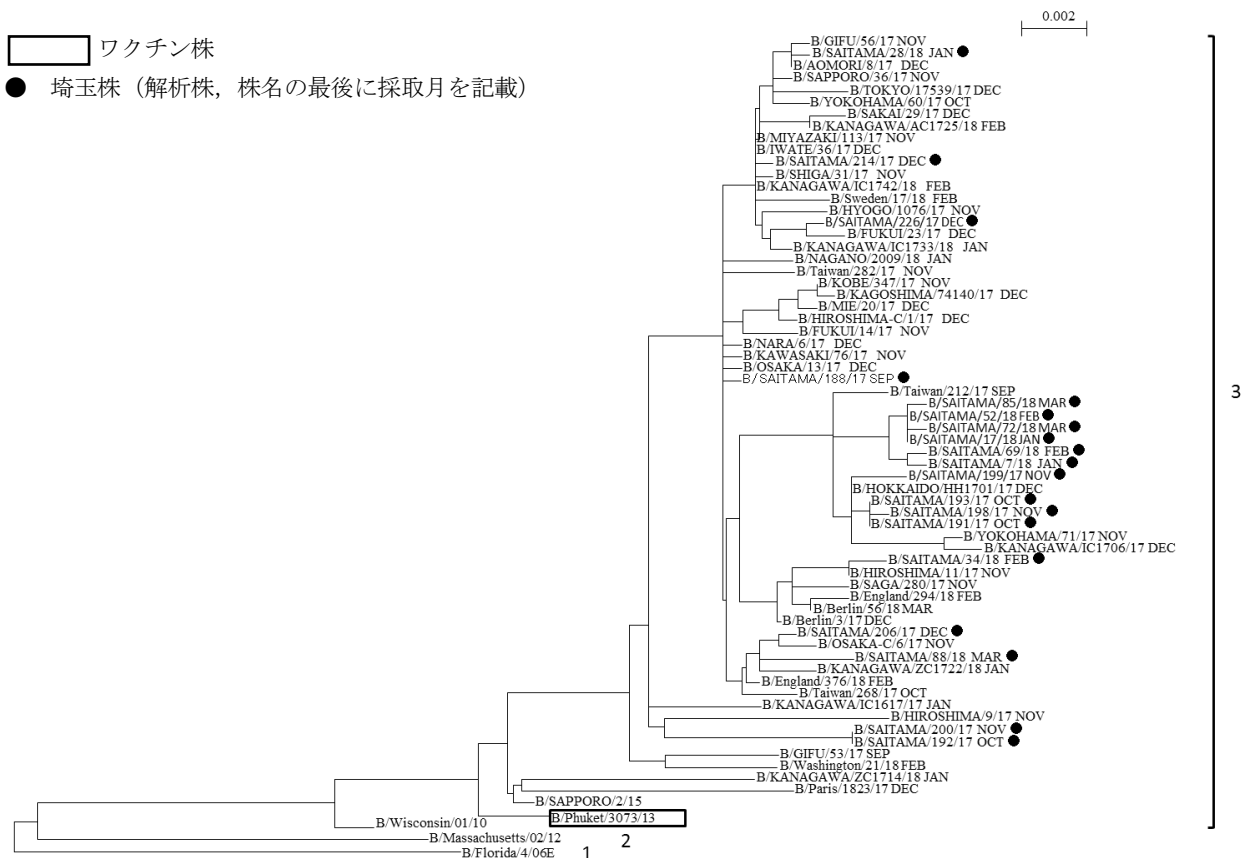


図5 HA遺伝子系統樹解析 (Byam)