

横浜市における2013／2014シーズンの インフルエンザウイルス流行株の解析

- 横浜市における2013/2014シーズンのインフルエンザの流行は、山形系統のB型ウイルス(47.9%)、AH1pdm09ウイルス(29.1%)、ビクトリア系統のB型ウイルス(13.6%)、AH3型ウイルス(9.4%)の混合主流でした。15歳以下の年齢ではB型が、成人ではAH1pdm09ウイルスの占める割合が多くみられました。
- AH1pdm09ウイルスの抗原性状は、ワクチン株と類似していました。HA系統樹解析では、これまでのクレード7からクレード6に移行しました。入院サーベイランスではAH1pdm09ウイルスの割合が多く、肺炎や脳症等重症例が目立ちました。
- B型ウイルスの抗原性状は、山形系統・ビクトリア系統ともワクチン株やレファレンス株とほぼ同等でした。HA系統樹解析では、山形系統はクレード2とクレード3に、ビクトリア系統はクレード1Aに含まれました。NA系統樹解析では、山形系統とビクトリア系統のウイルスが交雑したリアソータント株が2株検出され、アミノ酸が1つ挿入されたビクトリア系統のウイルスが3株検出されました。
- AH3型ウイルスの抗原性状は、ワクチン株と類似していました。HA系統樹解析ではワクチン株と同じサブクレード3Cに含まれ、その中でもサブクレード3C.3が多数を占めました。
- 抗インフルエンザ薬感受性サーベイランスでは、AH1pdm09ウイルスで薬剤投与歴のある患者から耐性株(感受性株とのミックスを含む)が4株検出されましたが、耐性株による地域流行はみられませんでした。B型ウイルスでは、山形系統のウイルスでノイラミニダーゼ阻害薬4剤(タミフル、ラピアクタ、リレンザ、イナビル)に対し薬剤感受性が低下した株が5株検出されました。

【インフルエンザ様疾患の患者数】

2013年6月から2014年5月までにインフルエンザ定点(小児科92定点および内科60定点:計152定点)から報告されたインフルエンザ様疾患患者数は、定点あたり304人で昨シーズン同期の193人を上回り、過去10年では3番目の規模の流行でした。今シーズンは第51週(12月23日からの週)に流行の目安となる定点あたりの報告数1.0人を超え、第5週(2月3日からの週)に48.5人とピークとなりました。第7週(2月17日からの週)には26.9人まで減少しましたが、翌週は上昇に転じ3月第9週に30.7人となりました。その後、徐々に減少し5月第18週(5月5日からの週)に定点あたり1.0人を下回りました(図1)。

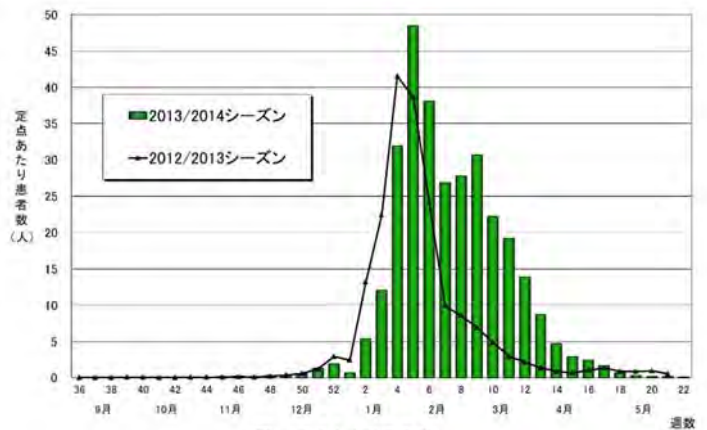


図1 定点あたり患者数

【病原体定点ウイルス調査】

病原体定点ウイルス調査においては607件を検査し、山形系統のB型ウイルス86件、AH1pdm09ウイルス46件、ビクトリア系統のB型ウイルス29件(AH1pdm09ウイルスの重複1件含む)、AH3型ウイルス17件が分離・検出されました。今シーズンは10月第41週に鶴見区の定点からビクトリア系統のB型ウイルスがはじめて分離され、翌第42週には港北区の定点からAH3型ウイルスが分離されました。また、第44週には瀬谷区の定点から山形系統のB型ウイルスが、第51週には磯子区の定点からAH1pdm09ウイルスが分離され、混合流行が予測されました。その後、1月に入ってからAH1pdm09ウイルスが増え始め、1月第5週をピークに3月

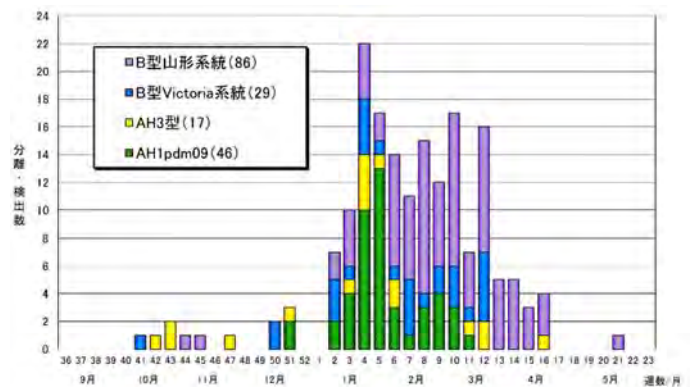


図2 病原体定点ウイルス分離・検出状況

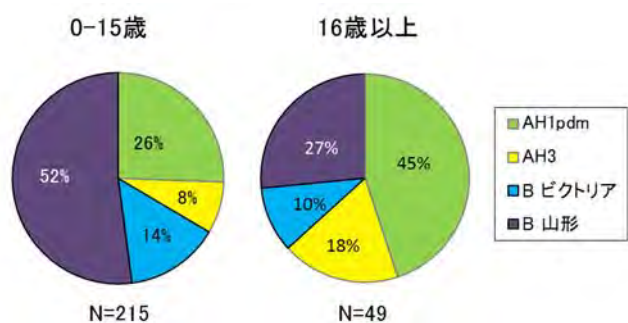


図3 年齢別分離・検出数の割合

第11週まで分離・検出されました。B型ウイルスは山形系統のウイルスが優勢でしたが、両系統のウイルスが混在したまま、3月第10週と第12週にピークとなり、5月第21週まで分離・検出されました。AH3型ウイルスは散发で分離されたのみでした(図2)。全調査の年齢別分離・検出数をみると、0歳から15歳ではB型ウイルスが66%を占め、16歳以上ではAH1pdm09ウイルスが45%を占め、年齢層により違いがみられました(図3)。

【集団かぜ調査】

集団かぜ調査では、2013年12月11日第50週(12月16日からの週)に戸塚区の小学校から、翌12日に南区の小学校から報告があり、前者はAH1pdm09ウイルスが、後者はビクトリア系統のB型ウイルスが分離・検出されました。その後、流行期に入った2014年1月第3週に7集団、第4週に8集団の発生がみられピークを示し、終息までの発生数は18区747施設887学級でした。検査依頼のあった19施設68人についてウイルス学的調査を実施し、山形系統のB型ウイルス38件、AH1pdm09ウイルス15件、ビクトリア系統のB型ウイルス7件、AH3型ウイルス5件を分離・検出しました(表1)。

【入院サーベイランス】

流行期に入った12月下旬からAH1pdm09ウイルスによる入院例が増加し、22件のインフルエンザウイルスが分離・検出されました(AH1pdm09ウイルス16件、AH3型ウイルス3件、山形系統のB型ウイルス3件)。このうち、重症例は、肺炎8件(AH1pdm09ウイルス6件と山形系統のB型ウイルス2件)、脳症3件(AH1pdm09ウイルス2件とAH3型ウイルス1件)、意識障害2件(AH1pdm09ウイルス)でした。

表1 集団かぜ調査結果

発生年月日	週	区	施設	検体数	分離・検出数	AH1pdm	B(山形)	B(ビクトリア)	AH3
2013. 12.11	第50週	戸塚	小学校	4	4	4			
12.12	第50週	南	小学校	3	2			2	
2014. 1. 9	第2週	栄	高齢者施設	1	1				1
1.14	第3週	青葉	保育園	3	2		2		
1.14	第3週	港南	中学校	4	4	1	3		
1.15	第3週	鶴見	小学校	4	4	4			
1.15	第3週	旭	中学校	5	5		5		
1.16	第3週	緑	幼稚園	5	4		4		
1.16	第3週	泉	保育園	3	3			3	
1.20	第3週	西	保育園	2	2	2			
1.21	第4週	金沢	中学校	3	3				3
1.21	第4週	中	小学校	5	5		3	2	
1.22	第4週	磯子	小学校	4	4		4		
1.22	第4週	保土ヶ谷	小学校	5	5		5		
1.22	第4週	都筑	小学校	3	3		2		1
1.22	第4週	瀬谷	中学校	2	2		2		
1.22	第4週	港北	小学校	3	3	1	2		
1.23	第4週	神奈川	小学校	5	5	3	2 ¹⁾		
1.30	第5週	栄	幼稚園	4	4		4		
合計		18区		68件	65件	15件	38件	7件	5件

1) B型(山形系統)とA型N2遺伝子の重複1件

表2 インフルエンザウイルス分離および遺伝子検査結果

各調査項目	検体数	インフルエンザ陽性数	AH1pdm09	AH3型	B型(山形)	B型(ビクトリア)
病原体定点等調査	607	178 ¹⁾	46	17	86	29
集団かぜ調査	68	65 ²⁾	15	5	38	7
入院サーベイランス	81	22	16	3	3	0
その他依頼検査	25	0	0	0	0	0
合計	781	265	77	25	127	36

1) B型(ビクトリア系統)とAH1pdmウイルスの重複1件、B型(山形系統)とアデノウイルス2型の重複1件、B型(ビクトリア系統)とアデノウイルス3型、ヒトコロナウイルス遺伝子との重複1件を含む

2) B型(山形系統)とA型N2遺伝子の重複1件を含む

各調査期間の検査合計は781件で、AH1pdm09ウイルス77件、AH3型ウイルス25件、山形系統のB型ウイルス127件、ビクトリア系統のB型ウイルス36件が分離・検出されました(表2)。

【分離株の抗原性】

昨シーズンから、ワクチン株の抗血清がこれまでのフェレット感染血清からウサギ免疫血清に変更になったため、HI価の差で類似性を正確に比較することができなくなりました。図4の抗原性状は参考値です。AH1pdm09ウイルスはワクチン株であるA/カリフォルニア/07/2009と同等または2倍差でした。AH3型ウイルスは25株中24株がワクチン株であるA/テキサス/50/2012と4倍差以内でした。B型ウイルスのうち、ビクトリア系統のウイルスはレファレンス株であるB/ブリスベン/60/2008と同等または2倍差でした。山形系統のウイルスはワクチン株であるB/マサチューセッツ/02/2012とすべて4倍以内の反応性を示しました。なお、国立感染症研究所で解析した横浜株はAH1pdm09ウイルス10株、AH3型7株、山形系統のB型9株、ビクトリア系統のB型6株で、AH1pdm09ウイルスとAH3型および山形系統のB型ウイルスはワクチン株と、同等または2倍差でした。ビクトリア系統のB型ウイルスは2011/2012シーズンのワクチン株であるB/ブリスベン/60/2008と同等な抗原性状でした。

【分離株の系統樹解析】

抗原性に関与するHA遺伝子についてPCRで増幅後、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、Neighbor-joining法により系統解析を行いました。

AH1pdm09ウイルスについては昨シーズン分離株のクレード7とは異なり、D97N、K283E、E499Kのアミノ酸置換が共通のクレード6に含まれ、さらにK163QおよびA256Tが置換したグループでした(図5a)。NA遺伝子では、9月にフィリピン輸入事例で分離した株からN200Sのアミノ酸が置換しており、さらにI34V、I321V、K432E、N386K、L40Iのアミノ酸置換したウイルスが多くを占めました。また、2013年11月から札幌市を中心に地域流行していたH275Y耐性株¹⁾は、中国株と近縁なグループに含まれました(図5b)。

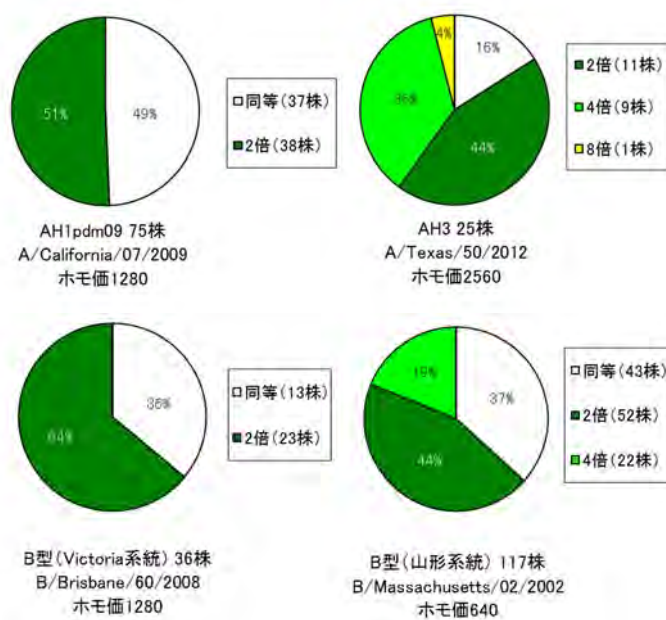


図4 2013/2014シーズン分離株のワクチン株等に対するHI価

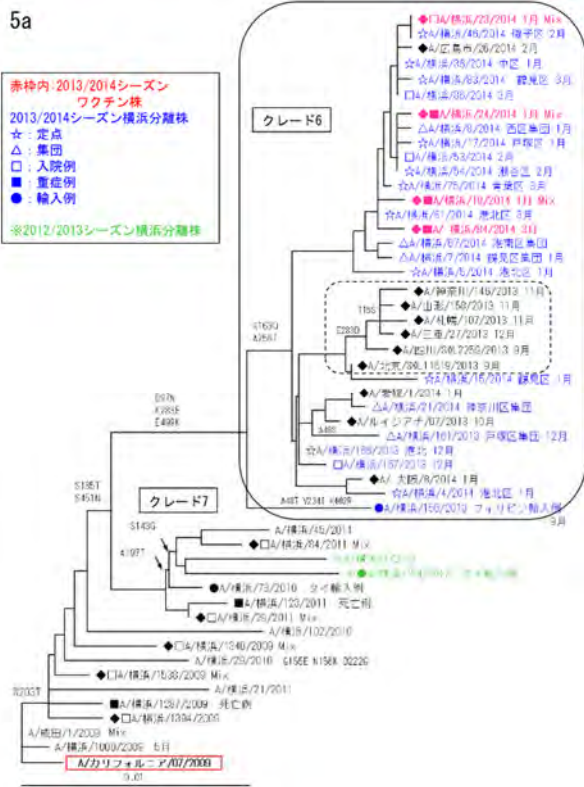


図5a AH1pdm09ウイルスのHA系統樹



図5b AH1pdm09ウイルスのNA系統樹

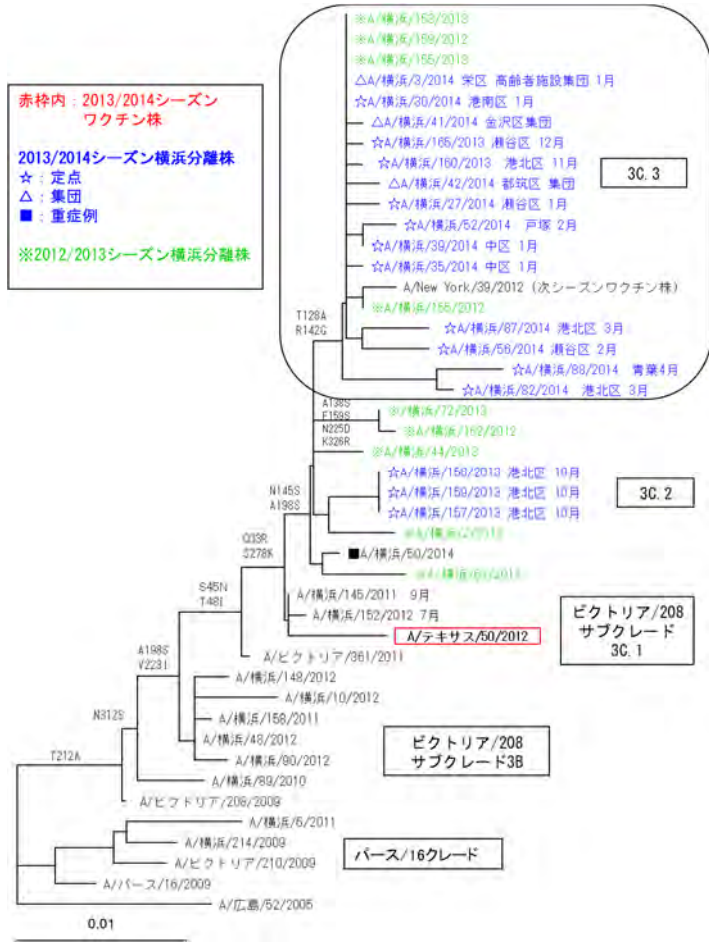


図6 A3型ウイルスのHA系統樹

AH3型ウイルスについてはワクチン株のA/テキサス/50/2012を含むサブクレード3Cに含まれ、さらにT128AおよびR142Gにアミノ酸置換したサブクレード3C.3グループが多くを占めました(図6)。B型ウイルスのうちビクトリア系統の分離株はレファレンス株のB/ブリスベン/60/2008と同じクレード1Aに含まれ、さらにK209Nのアミノ酸置換がみられました。山形系統のウイルスは昨シーズンのワクチン株B/ウィスコンシン/1/2010を含むクレード3と今シーズンワクチン株B/マサチューセッツ/02/2012を含むクレード2に分かれました(図7a)。NA遺伝子では、ビクトリア系統のウイルス3株で、76番目のアミノ酸にロイシン(L)が挿入された株が分離されました。また、抗原解析ならびにHA遺伝子解析で山形系統のクレード3のB型ウイルスであり、NA遺伝子がビクトリア系統であったリアソータント株が2株分離されました(図7b)。

【抗インフルエンザ薬感受性サーベイランス】

全調査で分離したAH1pdm09ウイルス77株、AH3型ウイルス25株、B型ウイルス154株について既知の薬剤耐性マーカーを検索しました。入院サーベイランスで分離したAH1pdmウイルス4株にH275Y変異(うち3株はミックス株)がみられました。国立感染症研究所の薬剤感受性試験の結果、AH1pdmウイルス3株はオセルタミビルとペ

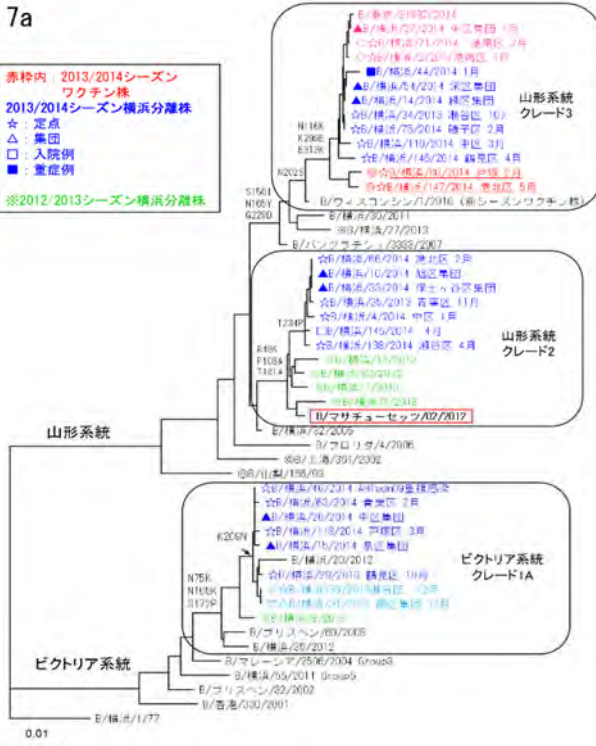


図7a B型ウイルスのHA系統樹

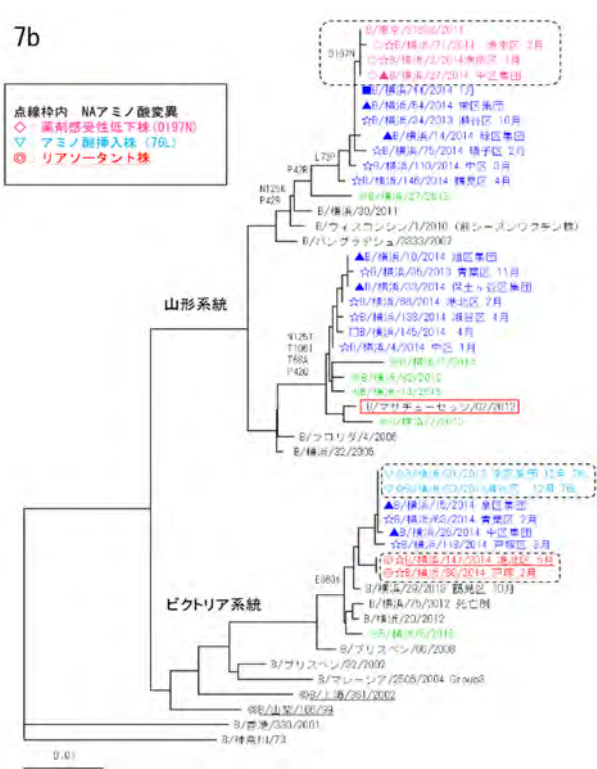


図7b B型ウイルスのNA系統樹

ラミビルに対しIC₅₀値 (NA酵素活性を50%阻害するのに必要な薬剤濃度)の低下がみられましたが、ザナミビル、ラニナミビルに対しては感受性を保持していました。B型ウイルスでは、山形系統のウイルスでD197N変異株が5株分離されました。薬剤感受性試験の結果、薬剤感受性株と比べてIC₅₀値が基準値以下であり、耐性株とは判定されませんでした。4剤すべての薬剤に対して感受性の低下がみられました。

【おわりに】

AH1pm09ウイルスによる流行は2010/2011シーズン以来3シーズンぶりであり、横浜市においても12月下旬より分離・検出数が増えました。急速に状態が悪くなる重症例も多く、2009/2010シーズンのパンデミック流行時と類似していました。今後も免疫を十分に持たない方は注意が必要です。B型ウイルスは山形系統(77.9%)とビクトリア系統(22.1%)の混合流行で、山形系統のB型ウイルスが優勢でした。リアソータント株やアミノ酸挿入株、薬剤感受性低下株等、来シーズン以降の動向が注視されます。AH3型ウイルスは小規模な流行でしたが、世界的には東ヨーロッパ(ドイツ、アイルランド、ルクセンブルグ)やスペイン等、AH3型ウイルスが優勢であった国も多くみられており²⁾、来シーズンも継続して監視が必要です。

参考資料

1. 国立感染症研究所. <速報>2013/14シーズンに札幌市で検出された抗インフルエンザ薬耐性A (H1N1) pdm09ウイルス.病原微生物検出情報 2014;35:42-43. <http://www.nih.go.jp/niid/ja/flu-m/flu-iasrs/4232-pr4081.html>
2. WHO. Review of the 2013-2014 winter influenza season, northern hemisphere. Weekly Epidemiological Record 2014;89: 245-256. <http://www.who.int/wer/2014/wer8923.pdf>

【 検査研究課 微生物部門ウイルス担当 感染症・疫学情報課 】