

4 シーズン（2020～2024 年）の札幌市における インフルエンザの流行状況

大西麻実 島崎梨絵^{*1} 尾口裕介 高橋真司
菊地正幸 三上 篤 八田智宏

1. 諸 言

札幌市では、感染症発生動向調査事業として市内医療機関（患者報告定点、病原体検査定点）の協力のもとに病原体情報を収集し、その発生動向の把握及び情報提供を行っている。本稿では、定点医療機関から報告されたインフルエンザ患者報告数及びウイルス検査の結果に基づき、2020/2021 から2023/2024 までの4シーズンの札幌市におけるインフルエンザの流行状況について報告する。

なお、新型コロナウイルス感染症（以下、COVID-19）流行の影響により、本報告の解釈には注意が必要である。

2. 方 法

2-1 インフルエンザ患者発生状況

インフルエンザ患者発生状況は感染症発生動向調査における市内の小児科36定点及び内科19定点の計55定点医療機関の報告を集計した。インフルエンザのシーズンは第36週から翌年第35週までとして情報提供を行っている。

2-2 ウイルスの分離・検出状況

(1) 検査材料

検査材料は、2020年9月から2021年8月56検体、2021年9月から2022年8月236検体、2022年9月から2023年8月281検体、2023年9月から2024年5月22週まで211検体、合計784検体（小児科検体）の咽頭ぬぐい液等を対象とした。

(2) インフルエンザウイルスの分離及び型・亜型の同定

検査材料はMDCK細胞（イヌ腎臓由来株化細胞）

に接種し、33℃で培養した。このうち、細胞変性効果（cytopathogenic effect : CPE）が認められた場合はウイルス分離陽性とし、認められなかった場合は継代を3代まで行った。ウイルス分離陽性のものについて、国立感染症研究所（以下、感染研）が示す方法¹⁾に準じて、赤血球凝集（HA）試験を行い、一定のHA価を示した分離株について型・亜型の同定を行った。インフルエンザウイルスの同定には、感染研から配布された同定用キット（各シーズンの新型コロナウイルスワクチン株に対するウサギ免疫血清）を用いて、赤血球凝集阻止（HI）試験を実施した。HA試験及びHI試験は0.75%モルモット赤血球を用いた。

また、ウイルス分離を行った検体のうち、HA試験においてHA価が低く（4HA以下）、HI試験を行えなかった分離株及びインフルエンザと診断されたものの、またはインフルエンザと診断されず、発熱、上気道炎、下気道炎などの臨床症状を呈する患者の臨床検体のうち、MDCK細胞による分離が陰性であった臨床検体について、RNA抽出を行い、感染研が示す方法¹⁾に準じてリアルタイムRT-PCR法により型・亜型の同定を行った。RNA抽出にはQIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）を用いた。

2-3 インフルエンザウイルスのHA遺伝子解析

札幌市内で分離・検出されたA型ウイルスの一部について、インフルエンザウイルスの抗原性状に係わるHemagglutinin（以下、HA）遺伝子の解析を行った。遺伝子解析はマルチセグメントのRT-PCR^{1,2)}を行い、次世代シーケンサーiSeq 100（illumina社製、以下、NGS）を用いて全塩基配列の解析を行った。得られたデータのassemblyはGalaxy（<https://>

^{*1} 現 白石区保健福祉部健康・子ども課

//usegalaxy.org) を使用し、Contig が断片化した場合は MEGA を使用して繋ぎ合わせた。また、Read depth や Mix allele の確認に IGV (Integrative Genomics Viewer) を使用し、データの確認を行った。

得られた塩基配列は、国立感染症研究所により解析された札幌市の分離株の一部及びワクチン株、参照株等の塩基配列を The Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID) より入手し、併せて系統解析を行った。

2-4 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

国内で使用される抗インフルエンザ薬に対する耐性ウイルスの発生動向を監視するため、抗インフルエンザウイルス薬耐性株サーベイランスが国立感染症研究所と地方衛生研究所により行われている。

AH1N1pdm09 ウイルス (以下、AH1pdm09) は、Neuraminidase (以下、NA) 遺伝子の 275 番目のアミノ酸がヒスチジン (H) からチロシン (Y) に変異 (以下、H275Y) することにより抗インフルエンザ薬ノイラミニダーゼ阻害剤に耐性を示すため、耐性変異の指標となっている。札幌市で分離・検出された AH1pdm09 分離株について、感染研が示す「Allele-specific RT-PCR 法による H275Y 変異の検出」¹⁾ に準じて、H275Y 変異の検出を行い、抗インフルエンザ薬耐性株の調査を行った。Allele-specific RT-

PCR 法で検出限界以下であった臨床検体は NGS により得られた NA 遺伝子の塩基配列から H275Y 変異の有無を確認した。また、札幌市で分離されたインフルエンザウイルス分離株の一部は感染研において薬剤感受性試験¹⁾ が実施された。

別に、札幌市で検出された AH1pdm09 及び AH3 亜型ウイルス (以下、AH3) について、NGS により得られた NA 遺伝子及び Polymerase acidic subunit (以下、PA) 遺伝子の配列から、WHO がまとめている抗インフルエンザ薬ノイラミニダーゼ阻害剤及びキャップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害剤 (以下、バロキサビル) に対する既知の代表的な耐性を示すアミノ酸変異^{3,4)} の有無を確認した。

3. 結果と考察

3-1 インフルエンザ患者発生状況

4 シーズンの札幌市におけるインフルエンザ患者報告数を図 1 に示す。

(1) 2020/2021、2021/2022 シーズン

2020/2021、2021/2022 シーズンは COVID-19 の流行下にあり、定点 (55) 当たりの患者報告数は流行開始の指標である 1.0 を下回っていた。

(2) 2022/2023 シーズン

2022/2023 シーズンは人の往来が COVID-19 流行

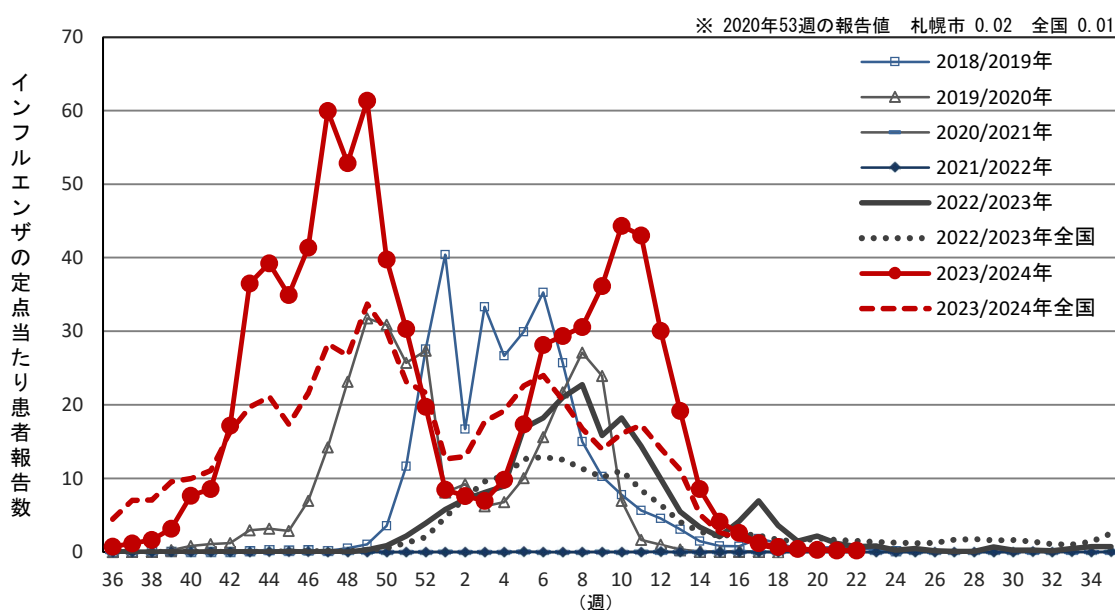


図 1 2018/2019～2023/2024 シーズンのインフルエンザ患者報告数

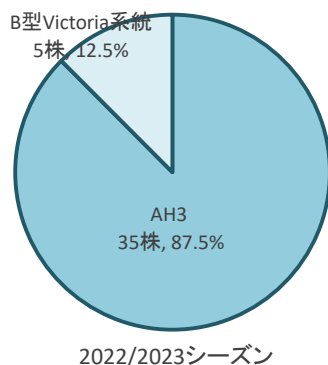
前に戻り、患者報告数が増加した。2022 年第 51 週（12/19～25）に流行開始の指標である 1.0 を超え、2023 年第 5 週（1/30～2/5）に流行発生注意報レベルの基準値（10.0）を上回り、2023 年第 8 週（2/20～26）に定点当たり 22.75 と最大になった。その後も患者報告数は高めに推移したが、2023 年第 22 週（5/29～6/4）に 1.0 を下回った。

(3) 2023/2024 シーズン

2023/2024 シーズンの患者報告数は例年より早く立ち上がり、2023 年第 37 週（9/11～17）に流行開始の指標である 1.0 を超え、2023 年第 42 週（10/16～22）に流行発生注意報レベルの基準値（10.0）を上回った。第 43 週（10/23～10/29）には警報の開始基準値（30.0）を超え、2023 年第 47 週（11/20～26）には定点あたり 60.0 となり、第 49 週（12/4～10）には定点あたり 61.3 と最大になった。2024 年 1 月には注意報レベルの基準値（10.0）を下回ったものの、2024 年第 5 週（1/29～2/4）に再度注意報レベルの基準値を超え、2024 年第 8 週（2/19～25）には再び警報の開始基準値（30.0）を上回り、3 月いっぱい流行が続いた。2023/2024 シーズンは流行開始が早く、また過去 10 シーズンと比べ、ピークが 3 番目に高くなり、全国的にも札幌市は大きな流行となっていた。また、1 月に一旦下がった患者報告数は 2024 年第 4 週頃から再び立ち上がり、二峰性のピークを示した。

3-2 インフルエンザウイルスの分離・検出状況

2020/2021 及び 2021/2022 シーズンはインフルエンザウイルスが分離・検出されなかった。



2022/2023 及び 2023/2024 シーズンのインフルエンザウイルスの分離・検出数及びその割合を図2に、分離・検出状況（採取週毎）を図3に示す。

(1) 2022/2023 シーズン

2022/2023 シーズンは AH3 が 2022 年第 36 週採取の咽頭ぬぐい液から初分離され、シーズンを通して 33 株が MDCK 細胞により分離された。B 型ウイルス Victoria 系統（以下、B 型 Victoria 系統）は 2023 年第 1 週採取の咽頭拭い液から初分離され、シーズンを通して 4 株が MDCK 細胞により分離された。この結果から、2022/2023 シーズンは AH3 が流行の主流と推測された。AH1pdm09 は分離・検出されなかった。

MDCK 細胞による分離が陰性であった検体について、臨床検体をリアルタイム RT-PCR 法により解析した。この結果、AH3 が 2 検体、B 型 Victoria 系統が 1 検体検出された。

(2) 2023/2024 シーズン

2023/2024 シーズンは 2023 年第 37 週採取の咽頭ぬぐい液から AH1pdm09 が初分離され、シーズンを通して 12 株が MDCK 細胞により分離された。2023 年第 39 週には AH3 が初分離され、シーズンを通して 13 株が MDCK 細胞により分離された。2023 年第 48 週には B 型 Victoria 系統が初分離され、シーズンを通して 12 株が MDCK 細胞により分離された。図 3 のとおり、2023/2024 シーズンは例年より早くにインフルエンザウイルスが検出され、前半は AH1pdm09 及び AH3 の混合流行となり、後半は B 型 Victoria 系統が流行の主流と推測された。

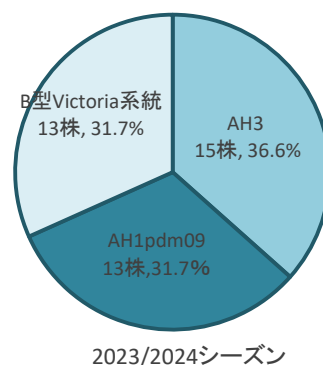


図 2 2022/2023、2023/2024 シーズンのインフルエンザウイルス分離・検出割合

MDCK 細胞による分離が陰性であった検体について、臨床検体をリアルタイム RT-PCR 法により解析した。この結果、AH3 が 2 検体、AH1pdm09 及び B 型 Victoria 系統が各 1 検体検出された。

3-4 インフルエンザウイルスの HA 遺伝子解析

2022/2023 及び 2023/2024 シーズンの札幌市で分離・検出されたインフルエンザウイルスの抗原性状に係わる HA 遺伝子の系統解析を行った。図 4～6 に系統樹を示す。

インフルエンザウイルスはクレード名が複雑化していることより、クレード名の変更が WHO において検討されており、本稿は新クレード名を使用した (<https://github.com/influenza-clade-nomenclature>)。

(1) AH3

① 2022/2023 シーズン

札幌市で分離・検出した AH3 は 2022/2023 シーズンが 35 株、2023/2024 シーズンが 15 株であった。このうち、遺伝子解析は感染研において 9 株、当所において 40 株実施した。図 4 のとおり、2022 年 9 月に検出された AH3 は、COVID-19 流行前

と比べ、HA 遺伝子のアミノ酸変異が進み、HA 遺伝子に H156S、D53N、P289S、R307K 変異を持つ G.1 (3C.2a1b.2a.2a) に属し、2022/2023 シーズンのワクチン株が属すクレードであった。2022 年 12 月～2023 年 2 月に多く検出された株は G.1 内に属す E50K、D53N、N96S、T135A、I192F、I223V、N378S 変異をもつ G.1.3.1 (3C.2a1b.2a.2a.3a、以下、下線部省略) であった。G.1.3.1 は国内でも検出割合が高く^{5,6)}、流行の主流と推測された。また、2023 年 2～3 月には G.1.3.1 からさらに K2Q、I140K、N122D 変異を有する J (2a.3a.1) に属す株が検出された。別に、2023 年 1～3 月にかけて G.1 内に属す D53G、D104G、K276R 変異を有する G.1.1、G.1.1 から派生した I140K、R299K 変異を持つ G.1.1.2 が検出された。さらに、G.1 とは別に、2023 年 3～4 月には E50K、F79V、T135A、I140K、S262N 変異を有する G.2.1 が検出された。この結果から、2022/2023 シーズンは多様な HA 遺伝子を持つインフルエンザウイルスが次々に流入していた。

札幌市で検出された AH3 の 4 株は感染研において中和試験が実施され、ワクチン株 A/Darwin/9/2021

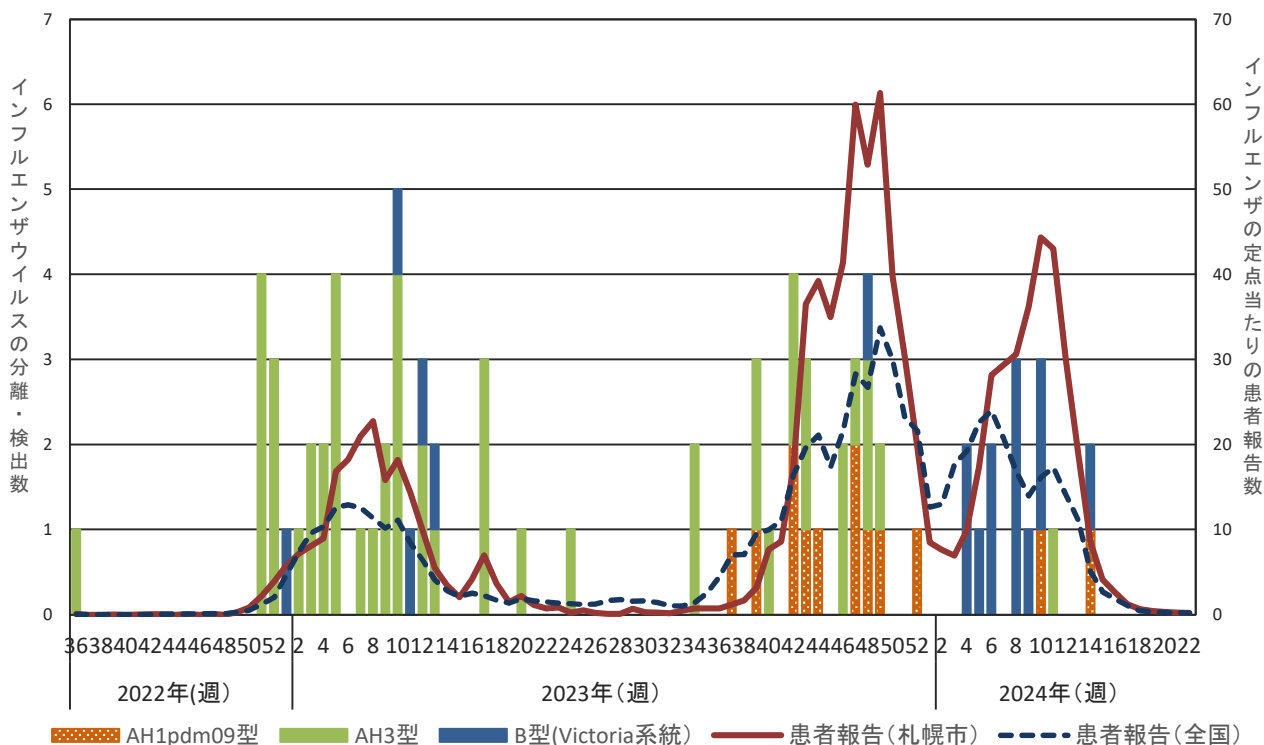


図 3 2022/2023、2023/2024 シーズンのインフルエンザウイルス分離・検出状況

と抗原性が類似していた。

② 2023/2024 シーズン

2023/2024シーズンはインフルエンザの流行が早い時期から始まり、前シーズンに検出されていたJから派生したI25V、V347M、I418V変異を持つJ.1が2023年8月に検出され、12月まで確認された。また、2024年3月にはJ内に属すT65K、N122D、K276E変異を有するJ.2が1株検出された。2023/2024シーズンは国内においてJ.1が主流になり、札幌市も同様の状況であった。また、海外においてもJ.1、J.2が優勢であった⁶⁻⁸⁾。

札幌市で検出されたAH3の2株は感染研においてHI試験が実施され、ワクチン株A/Darwin/9/2021の抗原性が類似していた。2024/2025シーズンのワクチン株はJに属す株から選定されている^{9,10)}。

(2) AH1pdm09

AH1pdm09はCOVID-19の流行以降2020～2023シーズンまで分離・検出されなかった。2023/2024シーズンは13株が分離・検出され、このうち感染研において1株、当所において11株の計12株の遺伝子解析を実施した。近年、国内外においてC.1(5a.2a)及びC.1.1(5a.2a.1)系統のインフルエンザウイルスが循環している。札幌市ではV19I、I418V変異を有するC.1が2023年10月に1株、P137S、K142R、D260E、T277A、E356D、N451H変異を有するC.1.1が2024年3月に1株検出された。C.1.1内に属すR113K、T216A、V427I変異を有するD.2がシーズン前半の2023年9～12月に9株が検出された。また、T120A、T216A変異を有するD.4が2023年12月に1株検出された。D.2は国内外において2023/2024シーズンの主流株の一つであり⁶⁻⁸⁾、札幌市においても同様であった。

札幌市で検出されたAH1pdmの2株は感染研においてHI試験が実施され、ワクチン株A/Victoria/4897/2022の抗原性と類似していた。2024/2025シーズンのワクチン株は2023/2024シーズンと同じ株が選定されている^{9,10)}。

(3) B型ウイルス

札幌市で分離・検出したB型Victoria系統は2022/2023シーズンが5株、2023/2024シーズンが13株であり、このうち感染研において2シーズン合わせて8株の遺伝子解析が実施された。

2022/2023及び2023/2024シーズンはワクチン株が属すA127T、P144L、K203R変異を有するC(V1A.3a.2)が世界的に優勢となり、国内及び札幌市においても同様であった。2022/2023シーズンは1株がCに属しており、シーズン後半の3～4月に採取された3株はCから派生したE197E変異を有するC.5に属していた。

2023/2024シーズンはC.5内で派生したE183K変異を有するC.5.1が2024年1～2月に2株、E183K、E128G変異を有するC.5.7に属す株が2023年12月、2024年2月に各1株確認された。どちらも国内外において2023/2024シーズンの主流株であり、札幌市においても主流であったと推測された⁶⁻⁸⁾。

札幌市で検出されたB型Victoria系統の2株は感染研においてHI試験が実施され、ワクチン株B/Austria/1359417/2021の抗原性と類似していた。

なお、B型Yamagata系統は札幌市において2019年4月以降検出されておらず、また、国内及び世界的にも2020年3月以降確認されていない^{11,12)}。

3-5 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

(1) 2022/2023 シーズン

感染研において実施されたAH3 7株、B型Victoria系統4株の薬剤感受性試験の結果は、全てノイラミニダーゼ阻害薬のオセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル及びラニナミビルに対して感受性であった。

また、WHOがまとめているノイラミニダーゼ阻害薬及びバロキサビルに対する耐性変異^{3,4)}について、札幌市で検出されたAH3 35株はNA及びPA遺伝子の耐性変異は確認されなかった。

(2) 2023/2024 シーズン

AH1pdm09は2023/2024シーズンに13株分離・検

出され、12株についてオセルタミビル・ペラミビルに対し耐性を示すH275Y変異の解析を行った。12株はH275Y変異が検出されなかった。

感染研において実施されたAH1pdm09 10株、AH3 4株、及びB型Victoria系統1株の薬剤感受性試験の結果は、全てノイラミニダーゼ阻害薬のオセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル及びラニナミビルに対して感受性であった。

また、WHOがまとめているノイラミニダーゼ阻害薬及びバロキサビルに対する耐性変異^{3,4)}について、札幌市で検出されたAH1pdm09 12株及びAH3 14株はNA及びPA遺伝子の耐性変異は確認されなかった。

近年、ノイラミニダーゼ阻害薬及びバロキサビルに対する耐性変異株が国内において散発的に確認されている。2018/2019シーズンはAH3のPA遺伝子のI38T変異、2019/2020シーズンはAH1pdm09のPA遺伝子のE23K変異、2022/23シーズンはAH3のPA遺伝子のE199G変異をもつバロキサビルに対する耐性変異ウイルスが検出されており、ヒトからヒトへの感染が報告されていること¹³⁻¹⁶⁾から発生動向に注意が必要である。

4. 結 語

COVID-19流行の影響により、2020/2021及び2021/2022シーズンはインフルエンザウイルスの分離・検出がなく、患者報告数についても非常に少なかった。2022/2023シーズンは人の往来が活発になり、インフルエンザウイルスの流行が札幌市においても確認された。2022/2023シーズンはAH3が優勢となり、シーズン後半にはB型Victoria系統が検出された。2023/2024シーズンはシーズン早くからAH1pdm09、AH3が検出され、混合流行となった。また、後半にはB型Victoria系統の割合が増加し、流行の主流の入れ替わりにより二峰性のピークを示した。

分離・検出されたインフルエンザウイルスは2022/2023シーズンはAH3が35株（87.5%）、B型

Victoria系統が5株（12.5%）であった。2023/2024シーズンはAH3が15株（36.6%）、AH1pdm09が13株（31.7%）、B型Victoria系統が13株（31.7%）であった。

2022/2023及び2023/2024シーズンに札幌市で分離・検出されたAH3、AH1pdm09、B型Victoria系統分離株の一部は感染研において実施された中和及びHI試験結果からワクチン株に類似しており、HAの遺伝子解析からもワクチン株に類似していたと推測される。また、札幌市において抗インフルエンザ薬に対する耐性株は確認されなかった。

今後ともインフルエンザウイルスの発生動向の把握を行い、情報提供に努めていく。

謝辞：ご協力いただきました医療機関、保健所、国立感染症研究所インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター第1室の皆様へ深謝致します。

5. 文 献

- 1) 国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル
- 2) Bin Zhou, Matthew E. Donnelly, Derek T. Scholes, et al : Single-Reaction Genomic Amplification Accelerates Sequencing and Vaccine Production for Classical and Swine Origin Human Influenza A Viruses. *J Virol*, **83**(19), 10309-10313, 2009 , DOI : 10.1128/jvi.01109-09
- 3) WHO : [https://www.who.int/publications/m/item/summary-of-neuraminidase-\(na\)-amino-acid-substitutions-associated-with-reduced-inhibition-by-neuraminidase-inhibitors-\(nais\)](https://www.who.int/publications/m/item/summary-of-neuraminidase-(na)-amino-acid-substitutions-associated-with-reduced-inhibition-by-neuraminidase-inhibitors-(nais))
- 4) WHO : [https://www.who.int/publications/m/item/summary-of-polymerase-acidic-\(pa\)-protein-amino-acid-substitutions-analysed-for-their-effects-on-baloxavir-susceptibility](https://www.who.int/publications/m/item/summary-of-polymerase-acidic-(pa)-protein-amino-acid-substitutions-analysed-for-their-effects-on-baloxavir-susceptibility)
- 5) 国立感染症研究所：インフルエンザウイルス流行株

- 抗原性解析と遺伝子系統樹 2023 年 3 月 30 日, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-antigen-phylogeny/11884-2023-3-30.html>
- 6) <https://nextstrain.org/seasonal-flu/h3n2/ha/2y?c=subclade>
- 7) 国立感染症研究所: インフルエンザウイルス流行株抗原性解析と遺伝子系統樹 2024 年 3 月 21 日, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-antigen-phylogeny/12581-2024-3-21.html>
- 8) 国立感染症研究所: インフルエンザウイルス流行株遺伝子系統樹 2024 年 5 月 23 日, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-antigen-phylogeny/12684-2024-5-23.html>
- 9) 国立感染症研究所: <https://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-m/2066-idsc/related/584-atpcs002.html>
- 10) 厚生労働省健康・生活衛生局感染症対策部長: 令和 6 年度インフルエンザ HA ワクチン製造株の決定について (通知), <https://www.mhlw.go.jp/content/001249888.pdf>
- 11) Rebecca Kondor: Update on Influenza B/Yamagata Surveillance October 26, 2023, <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/134669>
- 12) European Centre for Disease Prevention and Control: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/influenza-virus-characterization-summary-europe-may-2024>
- 13) Takashita E, Kawakami C, Ogawa R, et al: Influenza A (H3N2) virus exhibiting reduced susceptibility to baloxavir due to a polymerase acidic subunit I38T substitution detected from a hospitalized child without prior baloxavir treatment, Japan, January 2019. **24** (12), Eur Surveill, 2019, DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.12.1900170
- 14) Takashita Emi, Abe Takashi, Morita Hiroko et al: Influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting reduced susceptibility to baloxavir due to a PA E23K substitution detected from a child without baloxavir treatment. Antiviral Res, **180**, 2020, DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104828
- 15) Takashita Emi, Fujisaki Seiichiro, Morita Hiroko et al: A community cluster of influenza A(H3N2) virus infection with reduced susceptibility to baloxavir due to a PA E199G substitution in Japan, February to March 2023. Euro Surveill, **28** (39), 2023, DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.39.2300501
- 16) 高下恵美, 藤崎誠一郎, 森田博子: 奈良県におけるバロキサビル耐性変異インフルエンザウイルスの community cluster, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-m/flu-iasrd/12535-528d01.html>
- (URL は全て 2024 年 7 月 26 日閲覧)

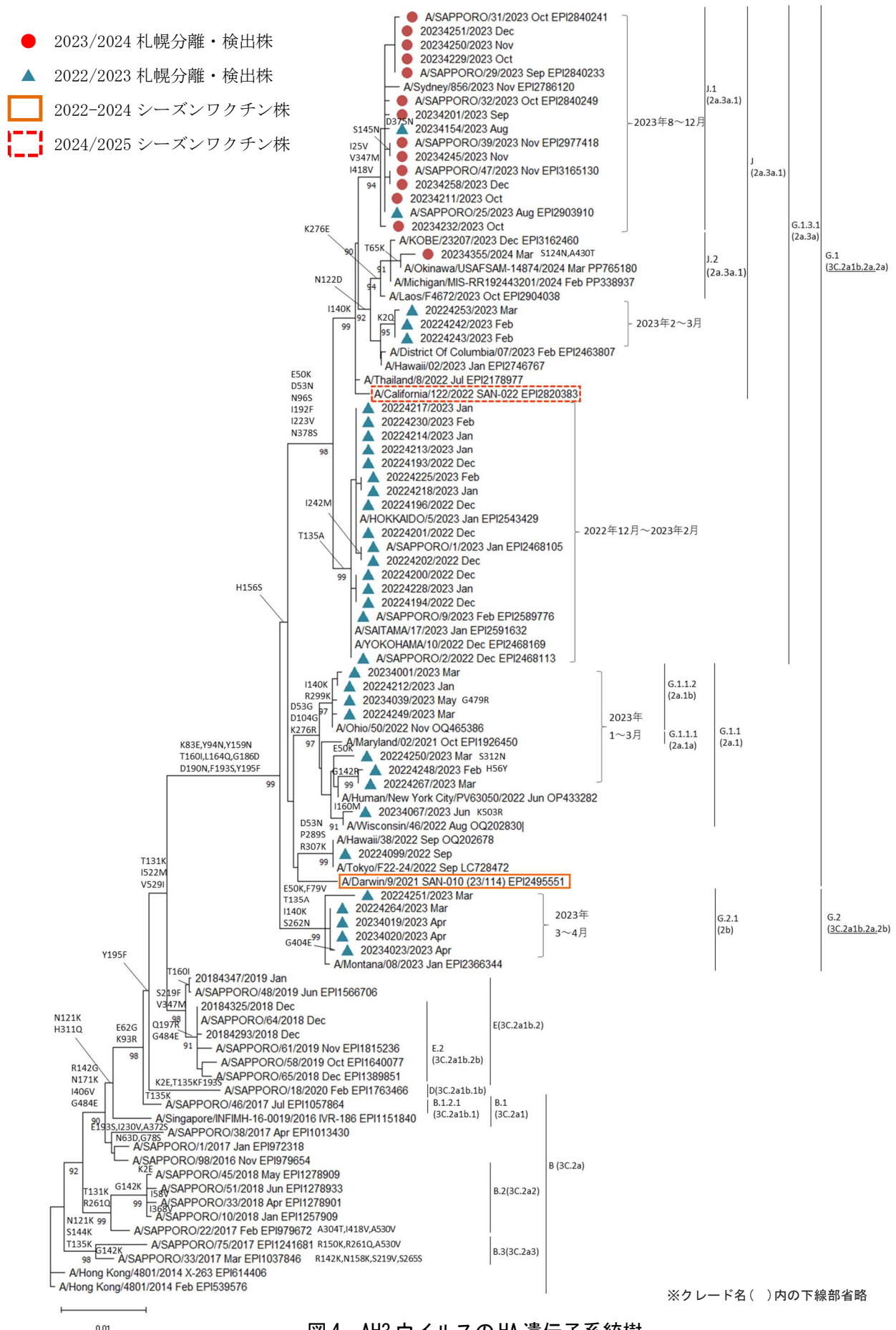
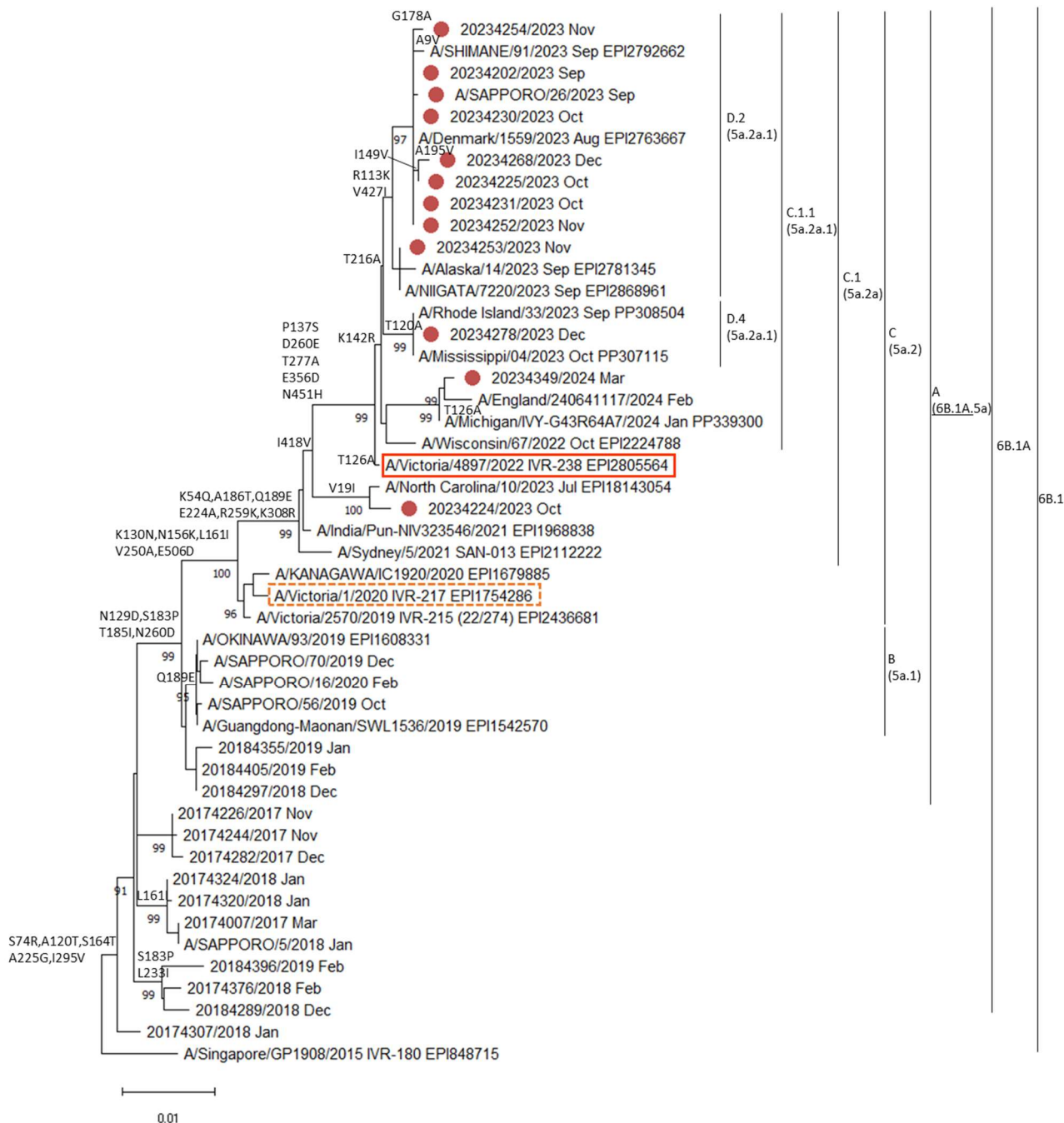


図4 AH3 ウイルスのHA 遺伝子系統樹

- 2023/2024 札幌分離・検出株
- 2023-2025 シーズンワクチン株
- 2022/2023 シーズンワクチン株



※クレード名()内の下線部省略

図5 AH1pdm09 ウイルスの HA 遺伝子系統樹

- 2023/2024 札幌分離・検出株
- ▲ 2022/2023 札幌分離・検出株
- 2022-2025 シーズンワクチン株

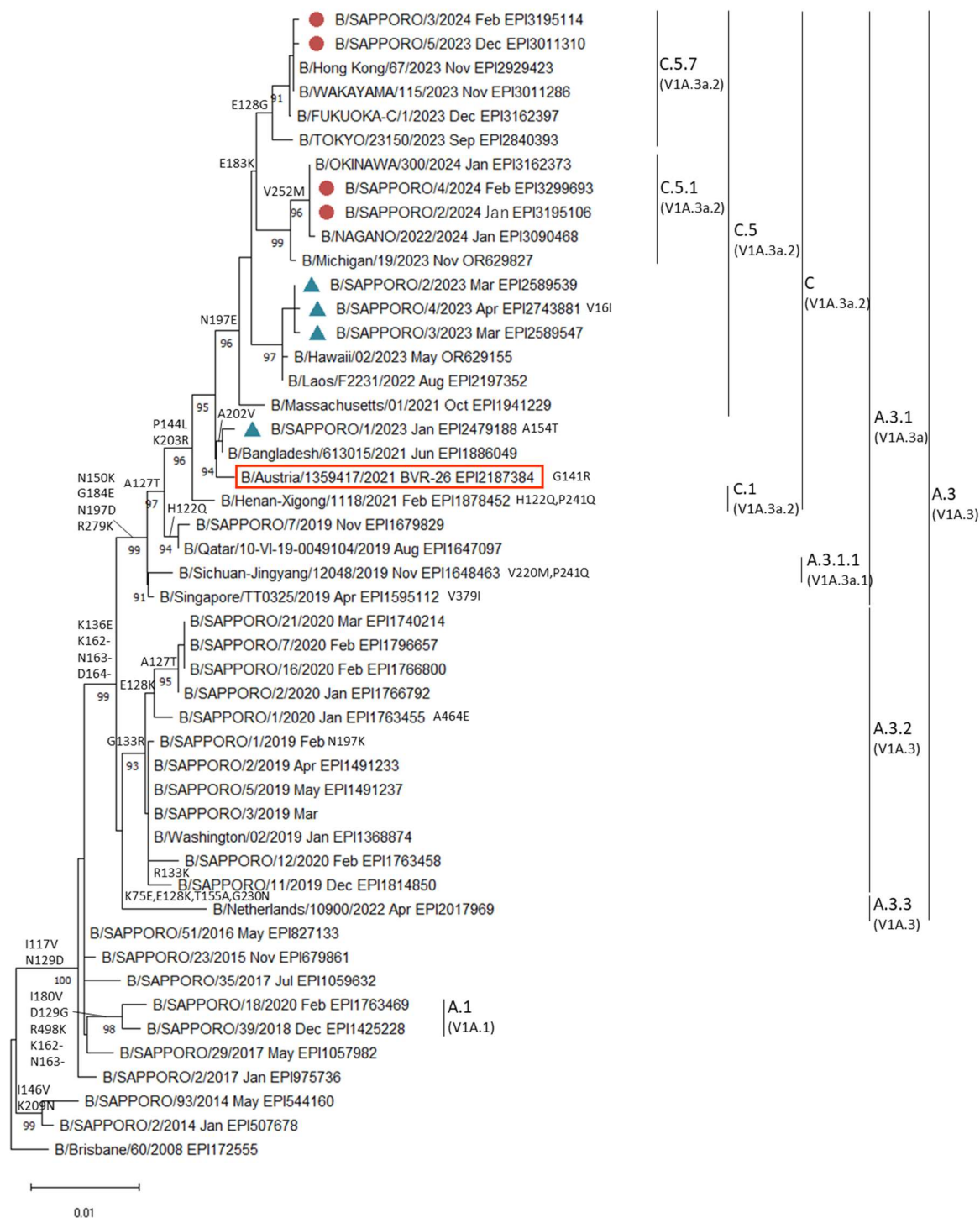


図6 B型Victoria系統ウイルスのHA遺伝子系統樹