

ノート

## 三重県における季節性インフルエンザウイルスの Hemagglutinin 遺伝子系統樹解析 (2023/24 シーズン)

矢野拓弥, 川合秀弘, 下尾貴宏

Hemagglutinin Gene Phylogenetic Analysis of the Virus of Seasonal Influenza  
(2023/24 season) - Mie prefecture

Takuya YANO, Hidehiro KAWAI and Takahiro SHIMOO

三重県感染症発生動向調査事業において2023/24シーズン(2023年第36週~2024年第35週)の季節性インフルエンザウイルスの流行は、A/H1N1pdm09インフルエンザウイルス、A/H3N2インフルエンザウイルスに加えて、B型インフルエンザウイルス(ビクトリア系統)が4シーズンぶりに流行がみられ、3種の亜型による流行像であった。2023/24シーズンの季節性インフルエンザウイルスについてHemagglutinin(HA)遺伝子の系統樹解析を実施しSubclade分類を行った。A/H1N1pdm09インフルエンザウイルスは多くがSubclade D.2であり流行期の前半(2023年9月~2024年1月)に主に検出された。A/H3N2インフルエンザウイルスは、Subclade J.1が主流であり、流行期の前半の2023年9月~2024年2月に多く検出された。B型インフルエンザウイルス(ビクトリア系統)はSubclade C.5, C.5.1, C.5.6, C.5.7が検出されたが、僅差ではあるがC.5.1が最も多く、2023年11月~2024年4月の間に検出され、複数のC.5の派生株(C.5.1, C.5.6, C.5.7等)が混在流行し、多様化の傾向がみられた。

キーワード: 季節性インフルエンザウイルス, 2023/24シーズン, 遺伝子系統樹解析,  
三重県感染症発生動向調査事業

### はじめに

新型コロナウイルス感染症の防疫措置等により減少していたインフルエンザの流行は、措置等が緩和された2022/23シーズンには、3シーズンぶりにインフルエンザ流行が国内各地で認められた<sup>1-3)</sup>。非流行期である夏季にも本県を含め国内で季節性インフルエンザウイルスの分離・検出や患者報告が継続的にみられ<sup>3-5)</sup>、全国的にA/H3N2インフルエンザウイルス(A/H3N2ウイルス)が主に検出され、次いで少数ではあるがA/H1N1pdm09インフルエンザウイルス(A/H1N1pdm09ウイルス)が検出された<sup>5)</sup>。さらに2023/24シーズンは、A/H1N1pdm09ウイルスとA/H3N2ウイルスに

加えて、B型インフルエンザウイルス(B型ビクトリア系統)の3種の亜型によるインフルエンザ流行が確認され<sup>6)</sup>、本県においても、同種の亜型インフルエンザウイルスが検出された<sup>7)</sup>。そこで我々は本県における感染症発生動向調査事業において2023/24シーズンに分離・検出された季節性インフルエンザウイルスについて、ヘマグルチニン(Hemagglutinin: HA)遺伝子系統樹解析によるSubclade分類を実施したので以下に報告する。

### 対象と方法

1. 季節性インフルエンザウイルスの分離・検出および亜型同定

表1 季節性インフルエンザウイルスの検体採取週別検出数

検体採取時期		週	AH1pdm09	AH3亜型	B型 (ヒクシア系統)	B型 (山形系統)	陰性	計
2023年	9月4日 ~ 9月10日	36	2					2
	9月11日 ~ 9月17日	37		2				2
	9月18日 ~ 9月24日	38		1				1
	9月25日 ~ 10月1日	39	1	3				4
	10月2日 ~ 10月8日	40		2				2
	10月9日 ~ 10月15日	41		1			1	2
	10月16日 ~ 10月22日	42		3				3
	10月23日 ~ 10月29日	43	1	2				3
	10月30日 ~ 11月5日	44	2	3				5
	11月6日 ~ 11月12日	45	5	1				6
	11月13日 ~ 11月19日	46	1	2				3
	11月20日 ~ 11月26日	47		1	1			2
	11月27日 ~ 12月3日	48	2	1				3
	12月4日 ~ 12月10日	49	1	3				4
	12月11日 ~ 12月17日	50	1	4	2			7
12月18日 ~ 12月24日	51	1	2	2			5	
12月25日 ~ 12月31日	52						0	
2024年	1月1日 ~ 1月7日	1						0
	1月8日 ~ 1月14日	2		2	3			5
	1月15日 ~ 1月21日	3		1	1			2
	1月22日 ~ 1月28日	4	2		1			3
	1月29日 ~ 2月4日	5		2	1			3
	2月5日 ~ 2月11日	6		1	2			3
	2月12日 ~ 2月18日	7		1	1			2
	2月19日 ~ 2月25日	8			1			1
	2月26日 ~ 3月3日	9			2			2
	3月4日 ~ 3月10日	10		1	1			2
	3月11日 ~ 3月17日	11			1			1
	3月18日 ~ 3月24日	12			1			1
	3月25日 ~ 3月31日	13	2		1			3
	4月1日 ~ 4月7日	14			2			2
	4月8日 ~ 4月14日	15			1			1
	4月15日 ~ 6月2日	16~22						0
	6月3日 ~ 6月9日	23	1					1
	6月10日 ~ 7月21日	24~29						0
	7月22日 ~ 7月28日	30		1				1
	7月29日 ~ 8月11日	31~32						0
8月12日 ~ 8月18日	33	1					1	
8月19日 ~ 9月1日	34~35						0	
<b>計</b>			<b>23</b>	<b>40</b>	<b>24</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>88</b>

三重県感染症発生動向調査事業において、2023年第36週～2024年第35週（2023/24シーズン）の間に県内の医療機関を受診し、インフルエンザと診断された患者88人から採取した呼吸器由来の臨床検体を用いて、季節性インフルエンザウイルスの分離・検出を行った。

なお、調査対象者の臨床情報および臨床検体の使用に関しては三重県感染症発生動向調査事業における病原体検査指針に基づき、調査対象者または保護者による承諾書への署名を得た。検査依頼医療機関記入の調査票（患者情報）の使用にあたっては、倫理的配慮として、個人情報保護に留意し実施した。

### 1.1 季節性インフルエンザウイルスの分離

季節性インフルエンザウイルス分離にはMDCK（Madin-Darby canine kidney）細胞を用いた。ウイルス分離のために同細胞を24ウェ

ルの培養用プレートを用いてCO<sub>2</sub>インキュベーター内で34℃、3～4日間単層培養した後、臨床検体0.1mLを接種し、60分間吸着後にトリプシン添加分離用培地を1mL加えた。その後、6～7日間のウイルス分離培養を行い、倒立顕微鏡下において細胞変性効果の有無を観察した<sup>8)</sup>。また、必要に応じて、ウイルス分離培養を継代し、2～3代培養を試みた。

### 1.2 季節性インフルエンザウイルスの検出および亜型同定

季節性インフルエンザウイルス分離株については赤血球凝集抑制（Hemagglutination inhibition：HI）試験による亜型同定試験<sup>8)</sup>を実施した。あるいは遺伝子検査による亜型同定のため季節性インフルエンザウイルス分離株および臨床検体からQIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）を用いてRNAを抽出した。抽

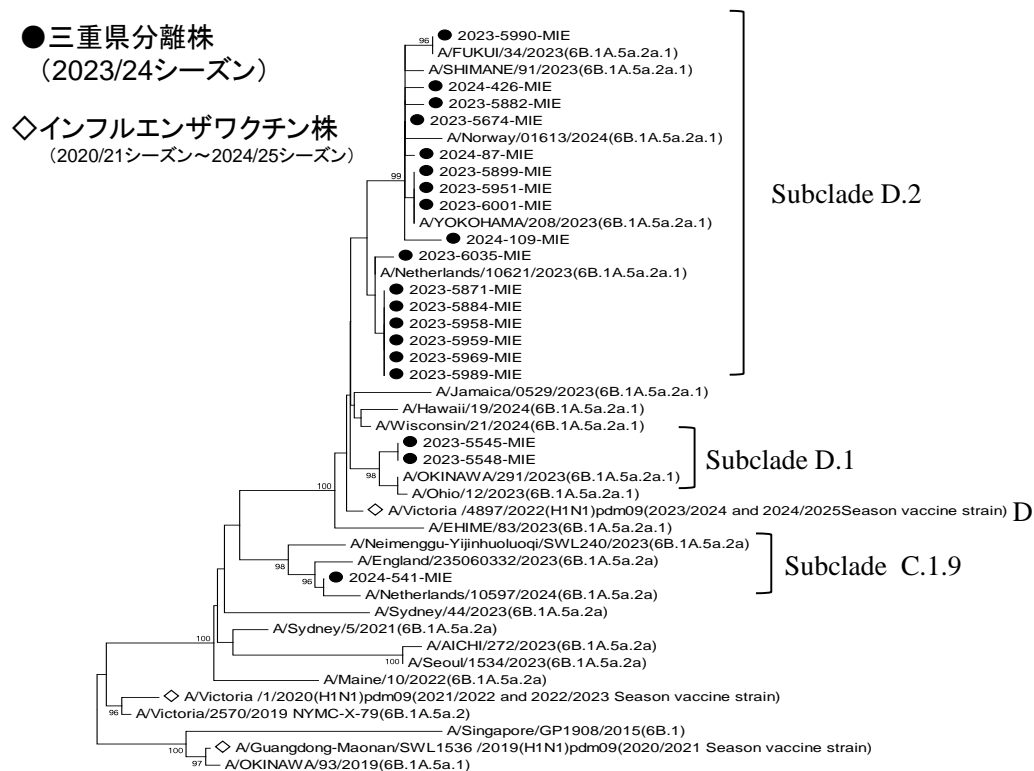


図1 AH1N1pdm09インフルエンザウイルス HA遺伝子系統樹解析(2023/24シーズン)

出 RNA は使用時まで -80℃ に保存し、Conventional RT-PCR 法および Real-Time RT-PCR 法による季節性インフルエンザウイルスの HA 遺伝子の検出<sup>8)</sup>を行い、A/H1N1pdm09 インフルエンザウイルス (A/H1N1pdm09 ウイルス)、A/H3N2 インフルエンザウイルス (A/H3N2 ウイルス) および B 型インフルエンザウイルス (ビクトリア系統、山形系統) の亜型同定を行った。

## 2. 季節性インフルエンザウイルスの HA 遺伝子系統樹解析

本シーズンに本県で分離あるいは検出された一部の A/H1N1pdm09 ウイルス (19 件) と A/H3N2 ウイルス (29 件) および B 型ビクトリア系統 (16 件) について、次世代シーケンサー (Next Generation Sequencer:NGS) 等を用いた HA 遺伝子の塩基配列を決定し遺伝子系統樹解析を実施した<sup>8)</sup>。

HA 遺伝子系統樹解析には、塩基配列解析ソフトウェア Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) version 11 を用いた。HA 遺伝子の系統樹作成には、近隣結合法 (Neighbor-Joining : NJ 法) により行い、Bootstrap test は 1,000 回実施した。国内外で流行しているウイルスと比較するため、Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID) EpiFlu database に登録された国内外の季節性インフルエンザウイル

ス株の HA 遺伝子配列データを入力し、HA 遺伝子系統樹解析を行った<sup>8)</sup>。

## 結果

### 1. 季節性インフルエンザウイルスの週別分離・検出状況

調査期間中に分離・検出された季節性インフルエンザウイルスの検体採取週別の分離・検出状況を表 1 に示した。

調査対象者 88 人から採取された呼吸器由来の臨床検体を用いて季節性インフルエンザウイルスの分離・検出を実施したところ、87 人から季節性インフルエンザウイルスが確認された。ウイルスが分離・検出された亜型内訳は、A/H1N1pdm09 ウイルス 23 件 (26.1%)、A/H3N2 ウイルス 40 件 (45.5%)、B 型ビクトリア系統 24 件 (27.3%) であった。なお、陰性は 1 件 (1.1%) であった。検体採取週別の分離・検出数は、A/H1N1pdm09 ウイルスが 2023 年第 36 週に 2 件確認され、以降は第 39 週 1 件、第 43 週~第 46 週に計 9 件確認され、その後、第 47 週から 2024 年第 35 週までに 11 件検出された。A/H3N2 ウイルスは、2023 年第 37 週に 2 件確認され、以降は第 38 週~51 週に計 29 件、2024 年以降は第 2 週~第 35 週までに計 9 件確認された。B 型ビクトリア系統は 2023 年第 47 週に 1 件、第 50 週~51 週に計 4 件確認され、

- 三重県分離株  
(2023/24シーズン)
- ◇インフルエンザワクチン株  
(2021/22シーズン～2024/25シーズン)

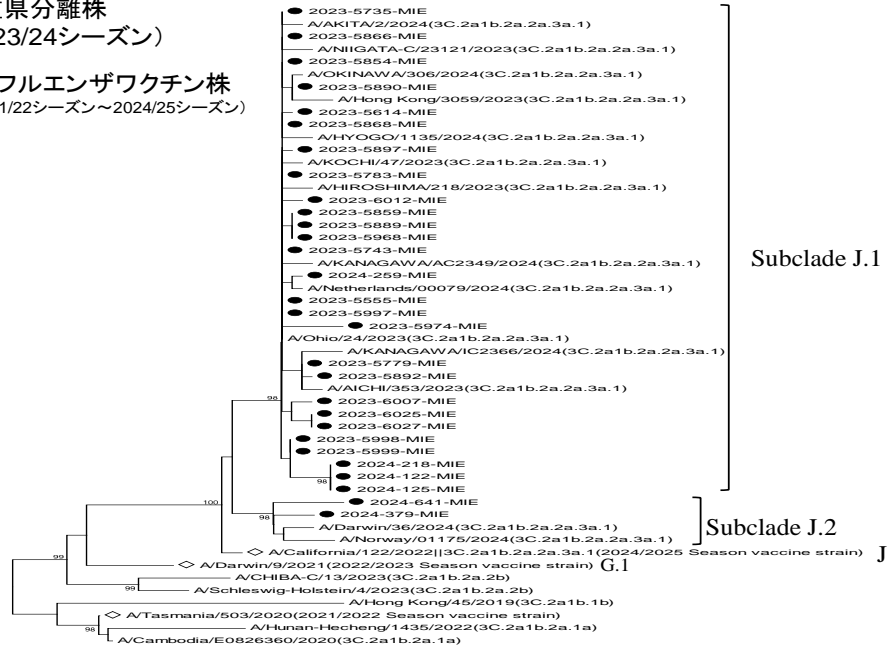


図2 A/H3N2インフルエンザウイルス HA遺伝子系統樹解析(2023/24シーズン)

2024年第2週～第35週までに計19件確認された。なお、本シーズンは前シーズンと同様にB型インフルエンザウイルス(山形系統)は検出されなかった。

## 2. HA遺伝子系統樹解析

### 2.1 A/H1N1pdm09インフルエンザウイルス

2023/24シーズンの国内外のA/H1N1pdm09ウイルスの流行株はHA遺伝子系統樹のClade 6B.1A.5a.2a (K54Q, A186T, Q189E, K308R; C.1), C.1内にはさらにClade 6B.1A.5a.2a.1 (P137S, K142R; C.1.1)などが派生し、さらにC.1.7, C.1.7.2, C.1.8, C.1.9等が複数存在する。

またC.1.1内にはSubclade D (T216A; 代表株A/Victoria/4897/2022), さらにD.1～3が派生している<sup>9)</sup>。

A/H1N1pdm09ウイルスのHA遺伝子系統樹解析を行った19件のうち1件はSubclade 6B.1A.5a.2a (C.1.9)であった。他の18件は2023/24シーズンのワクチン株であるA/Victoria/4897/2022株が属する6B.1A.5a.2a.1 (C.1.1)内のSubclade D.1 (2件), D.2 (16件)であった(図1)。

### 2.2 A/H3N2インフルエンザウイルス

最近のA/H3N2ウイルスの流行株は、HA遺伝子系統樹上のClade 3C.2a1b.2a.2 (Y159N, T160I, L164Q, G186D, D190N; G)に属している。

Clade 3C.2a1b.2a.2内ではさらに2a (H156S;

G.1, 代表株A/Darwin/9/2021), 2b (E50K, F79V, I140K; G.2)に分岐している。2a内には、2a.1b (I140K, R299K; G.1.1.2), 2a.3a.1 (I140K; J)などが分岐している<sup>9)</sup>。

また2a.3a.1 (J)は、さらにJ.1, J.2, J.3等への派生がみられており、今回、解析した29件は2023/24シーズンのワクチン株(A/California/122/2022; J)と同じClade内のSubclade J.1 (27件)とJ.2 (2件)に分類された(図2)。

### 2.3 B型インフルエンザウイルス

#### (ビクトリア系統)

近年のB型ビクトリア系統は、成熟HAに3アミノ酸欠損をもつClade V1A.3 (162-164アミノ酸欠損, K136E; A.3)に属しており、その多くは派生したV1A.3a.2 (A127T, P144L, K203R; C)に属している。さらにClade C内にはC.1, C.3, C.5などが派生しており、世界にはC.5に分類されるC.5.1, C.5.6, C.5.7などが流行している<sup>9)</sup>。

今回、解析した16件は、2023/24シーズンのワクチン株(B/Austria/1359417/2021; ビクトリア系統; C)と同じClade内のSubclade C.5 (1件), C.5.1 (7件), C.5.6 (4件)およびC.5.7 (4件)検出され、多様化の傾向がみられた(図3)。

## 3. 検体採取月別のSubclade分類

季節性インフルエンザウイルスの各亜型における検体採取月別のSubclade分類を表2に示した。

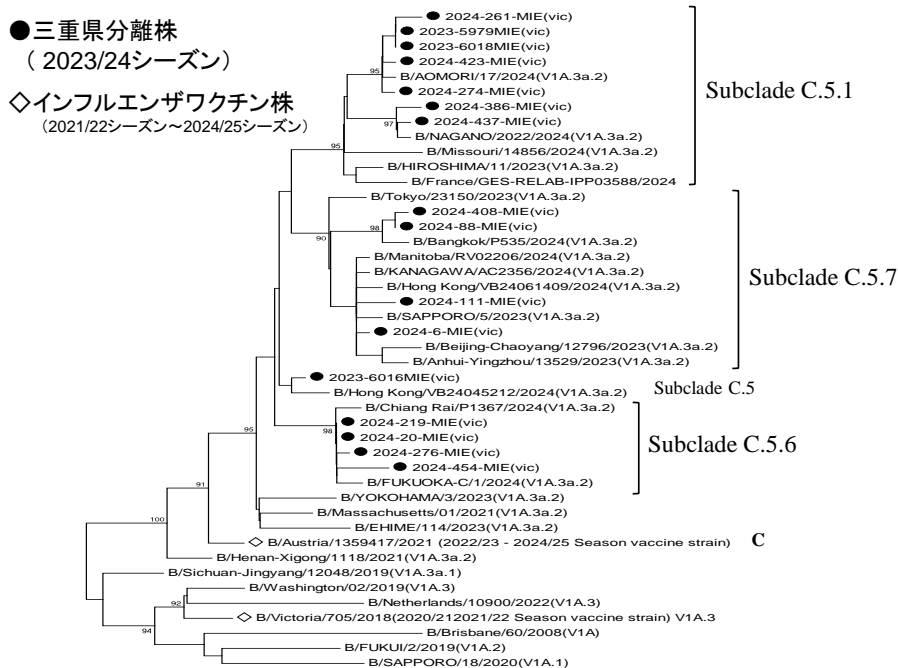


図3 B型インフルエンザウイルス(ビクトリア系統) HA遺伝子系統樹解析(2023/24シーズン)

表2 検体採取月別のSubclade分類

採取月	A/H1N1pdm09			A/H3N2		B型 (ビクトリア系統)				計
	C.1.9	D.1	D.2	J.1	J.2	C.5	C.5.1	C.5.6	C.5.7	
2023年9月		2	1	3						6
10月			3	10						13
11月			7	3			1			11
12月			2	7		1	1			11
2024年1月			2	2				1	3	8
2月				2			2	2		6
3月			1		1		2		1	5
4月							1	1		2
5月										0
6月	1									1
7月					1					1
計	1	2	16	27	2	1	7	4	4	64

A/H1N1pdm09 ウイルスは、Subclade D.2 が主流で流行の前半(2023年9月~2024年1月)に主に検出された。なお、Subclade D.1 は2023年9月に2件、C.1.9 は2024年6月に1件、散発的な検出であった。

A/H3N2 ウイルスは、Subclade J.1 が流行の前半から中盤(2023年9月~2024年2月)にかけて検出された。他のSubclade はJ.2 が2024年3月(1件)と7月(1件)に少数検出された。

B型ビクトリア系統は、Subclade C.5 の派生株であるC.5.1 が僅差であるが最も多く検出され、2023年11月~2024年4月までに計7件検出された。次いでSubclade C.5.6 が4件(2024年1月、2月、4月)、C.5.7 は4件(2024年1月、3月)等が検出された。

## 考察

2023/24 シーズンの季節性インフルエンザウイルスの流行は、A/H1N1pdm09 ウイルス、A/H3N2 ウイルスに加えて、B型ビクトリア系統が4シーズンぶりに流行がみられ、3種の亜型による流行像となった。本シーズンはインフルエンザ流行期の前半に、A/H1N1pdm09 ウイルスとA/H3N2 ウイルスが検出され、両者による混在流行であった。流行期の後半になるとB型ビクトリア系統が主流へと変化した。本シーズンのインフルエンザ流行様式は前シーズンの2022/23シーズンのように<sup>10)</sup>、非流行期(夏季)における流行は確認されなかった。また、新型コロナウイルス感染症の防疫措置等による流行抑制も消失し2020年以前の新型コロナウイルスの流行前と同様の流行像へと戻っていたようである。

国内で分離された季節性インフルエンザウイルスのHA遺伝子の系統樹解析結果<sup>9)</sup>と本県における相関性は、全国のA/H1N1pdm09 ウイルス株の約半数はSubclade D.2 であり、本県においても同様の傾向であった。A/H3N2 ウイルスは、全国ではSubclade J.1 が主流で、次いでJ.2 の順で検出が多く、本県の検出状況と同じであった。B型ビクトリア系統の国内解析株は、Subclade C.5.7、C.5.1 およびC.5.6 の順で多く、複数のC.5 の派生株が混在し流行しており、本県の各亜型のSubclade における検出傾向は概ね類似していたが、複数の派生株の存在

は今後の動向へ注視が必要である。

2023/24 シーズンのワクチン株と本県での検出されたウイルス (Subclade) との抗原性の比較では, A/H1N1pdm09 ウイルスのワクチン株 A/Victoria/4897/2022 (Clade D) との抗原性<sup>9)</sup>は, Subclade D.2 および D.1 と類似であった。

本県での A/H3N2 ウイルスの流行株は, 本シーズンのワクチン株である A/Darwin/9/2021

(G.1) よりも Clade J や派生株である

Subclade J.2 の方が抗原性<sup>9)</sup> は近似であった。

本県における B 型ビクトリア系統株は, 複数の Subclade C.5 の派生株が確認されており本シーズンのワクチン株の B/Austria/1359417/2021 (Clade C) と抗原性<sup>9)</sup> は近縁で, A/H1N1pdm09 ウイルスと B 型ビクトリア系統は, ワクチン株と類似であったが, A/H3N2 ウイルスは, 抗原性の異なるウイルス株であり, 2024/25 シーズンの A/H3N2 ウイルスワクチン株は, A/California/122/2022 (SAN-022) へ変更された。

2024/25 シーズン (2024 年第 36 週以降) の全国の季節性インフルエンザウイルスの検出割合は, 現在のところ A/H1N1pdm09 ウイルスが優勢であるが, 少ないながらも同時に A/H3N2 ウイルスが混在流行<sup>11)</sup> している。さらには B 型ビクトリア系統が, 少数であるが検出がされており, 今後の各亜型の流行規模とその動態が注目され, 引き続き主流となる Subclade やワクチン株との抗原性状の違いなど継続的な動向調査が必要である。

## 謝 辞

本調査研究を行うにあたり, 三重県感染症発生動向調査事業で検体採取を担当された医療機関の諸先生方, 保健所および関係各位に御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 国立感染症研究所：都道府県別インフルエンザウイルス分離・検出報告状況、2022/23 シーズン  
<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/arc/gv/202223/data2022231j.pdf>  
(2024.12.3access) .
- 2) 湊山亜未, 田村恒介, 新保孝治他: COVID-19 パンデミック発生後の季節性インフルエンザ発生動向の特徴-富山県. 病原微生物検出情報, **44**, 64-66 (2023) .
- 3) 三重県感染症情報センター：2022/2023 の検体採取時期別インフルエンザウイルス検出数

[https://www.kenkou.pref.mie.jp/disease\\_influenza\\_virus/2022.html](https://www.kenkou.pref.mie.jp/disease_influenza_virus/2022.html) (2024.12.3access) .

- 4) 三重県感染症情報センター：定点当たり患者届出数<インフルエンザ>  
<https://www.kenkou.pref.mie.jp/weeklyss/1.html> (2024.12.3access) .
- 5) 国立感染症研究所：インフルエンザ 2022/23 シーズン. 病原微生物検出情報, **44**, 165-167 (2023) .
- 6) 国立感染症研究所：都道府県別インフルエンザウイルス分離・検出報告状況、2023/24 シーズン  
<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/arc/gv/202324/data2023241j.pdf>  
(2024.12.3access) .
- 7) 三重県感染症情報センター：2023/2024 の検体採取時期別インフルエンザウイルス検出数  
[https://www.kenkou.pref.mie.jp/disease\\_influenza\\_virus/2023.html](https://www.kenkou.pref.mie.jp/disease_influenza_virus/2023.html) (2024.12.3 access) .
- 8) 国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル (第 5 版) 令和 5 年 8 月.  
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/influenza20230829.pdf> (2024.12.3 access) .
- 9) 国立感染症研究所：2023/24 シーズンのインフルエンザ分離株の解析 病原微生物検出情報, **45**, 182-186 (2024) .
- 10) 矢野拓弥, 川合秀弘, 下尾貴宏：3 シーズンぶりに流行した季節性インフルエンザウイルスの遺伝子系統樹解析および薬剤耐性インフルエンザウイルスの検出状況 (2022/23 シーズン) -三重県. 三重保環研年報, **25** (68), 34-40 (2023) .
- 11) 国立感染症研究所：都道府県別インフルエンザウイルス分離・検出報告状況、2024/25 シーズン  
<https://kansen-levelmap.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data1j.pdf> (2024.12.3 access) .