

岡山県における2008～2009年シーズンのインフルエンザ流行について

葛谷光隆，濱野雅子，藤井理津志，野田邦広*（ウイルス科）

*岡山県保健福祉部健康対策課

【調査研究】

岡山県における2008～2009年シーズンのインフルエンザ流行について

Epidemics of influenza in Okayama Prefecture during 2008 to 2009 season

葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志, 野田邦広* (ウイルス科)

*岡山県保健福祉部健康対策課

Mitsutaka Kuzuya, Masako Hamano, Ritsushi Fujii and Kunihiro Noda

要 旨

2008～09年シーズン(2008/09シーズン)の岡山県におけるインフルエンザは、患者発生状況などから二峰性の流行パターンが認められ、またウイルス分離成績などから第一波がAソ連型(AH1型)インフルエンザウイルス(Infl.V)の流行により、第二波がビクトリア系統に属するB型Infl.V(ビクトリア系B型Infl.V)の流行によりそれぞれ引き起こされたものと考えられた。なお、AH1型Infl.V分離株21件中20件について抗インフルエンザ薬のオセルタミビル(商品名「タミフル」)耐性変異の有無を調べたところ、すべてが耐性変異を有していることが明らかになった。今シーズンの流行規模を過去5年間のものと比較すると、学校等におけるインフルエンザ様疾患の集団発生患者数においては最も多く、また感染症発生動向調査における患者数でも2番目の多さであった。主流行であるAH1型Infl.V及びビクトリア系B型Infl.Vとも、ここ3シーズンほど連続して流行しているにもかかわらず、このように流行規模が拡大した要因として、(i)前シーズンにAH1型Infl.Vによる比較的大きな流行があったが、前シーズンと今シーズンのウイルス間に抗原性の違いが認められたこと、(ii)ビクトリア系B型Infl.Vについても、ここ数シーズン流行していたウイルスとは抗原的に大きく異なっていたことなどが考えられた。さらに、AH1型Infl.V分離株のほとんどがオセルタミビルに対する耐性変異を有していたことも、流行拡大させた要因の一つではないかと考えられた。

[キーワード：岡山県, インフルエンザウイルス, インフルエンザ様疾患集団発生, 感染症発生動向調査, 疫学解析]

[Key words : Okayama Prefecture, Influenza virus, Outbreak of influenza, Infectious disease surveillance, Epidemiological analysis]

1 はじめに

2008～2009年シーズン(2008/09シーズン)の岡山県におけるインフルエンザ流行を解明するため、学校等におけるインフルエンザ様疾患の集団発生(Infl.集団)の患者発生状況、及び岡山県感染症発生動向調査事業(発生動向調査)に基づくインフルエンザ患者の発生状況を調査した。また、患者から採取された咽頭拭い液等についてインフルエンザウイルス(Infl.V)の分離を行うとともに、分離されたウイルスについて型別及び抗原性解析等を実施した。

2 材料及び方法

2.1 インフルエンザ患者発生状況

Infl.集団患者数については、岡山県保健福祉部健康対

策課がとりまとめた「インフルエンザ様疾患施設別発生状況報告」をもとに集計した。また、発生動向調査の週別患者情報に基づき、定点医療機関あたりのインフルエンザ患者数(一週間に1ヵ所の定点医療機関を受診したインフルエンザ患者数の平均値)を算出・集計した。

2.2 ウイルス分離材料

2008年12月～2009年5月にInfl.集団が発生した10施設の患者38人、及び平成20～21年度の発生動向調査期間中に確認されたインフルエンザ様疾患患者のうち77人の、あわせて115人から採取した咽頭拭い液をウイルス分離材料とした(表)。

2.3 ウイルス分離・同定法

MDCK細胞を使用してウイルス分離を行った¹⁾。採取した咽頭拭い液を培養細胞に接種し、盲継代2～3代後

表 インフルエンザウイルス分離成績

	検体採取状況				ウイルス分離・同定			
	施設 No.	施設名	所在地	検体採取 年月日	分離	同定		
						AH1型 (Aソ連)	AH3型 (A香港)	B型 (Victoria系)
集団発生例	1	A小学校	真庭市	2008.12.1	1/5*	1	0	0
	2	B中学校	赤磐市	2008.12.1	0/5	0	0	0
	3	C小学校	美咲町	2008.12.8	3/5	3	0	0
	4	D小学校	岡山市	2008.12.9	1/2	1	0	0
	5	E小学校	岡山市	2008.12.9	0/2	0	0	0
	6	F小学校	新見市	2009.1.15	3/5	3	0	0
	7	G中学校	瀬戸内市	2009.1.26	1/4	1	0	0
	8	H小学校	新見市	2009.3.16	5/5	0	0	5
	9	I小学校	矢掛町	2009.4.14	2/3	0	0	2
	10	J高等学校	倉敷市	2009.5.14	2/2	0	0	2
		小計				18/38 (47.4%)	9 (23.7%)	0
散发例	所管保健所名		検体採取年月日					
	岡山市保健所		2008.12.12		1/5	1	0	0
			2008.1.13 ~ 1.27		4/8	3	1	0
			2.2 ~ 2.4		1/2	0	0	1
	岡山保健所		2008.12.4 ~ 12.10		2/2	2	0	0
			2009.1.22 ~ 1.31		5/5	2	0	3
			2.17		1/1	0	1	0
	倉敷市保健所		2009.4.3		0/1	0	0	0
	井笠保健所		2008.11.20 ~ 12.30		2/9	2	0	0
			2009.1.7 ~ 1.26		3/12	1	1	1
			2.3 ~ 2.25		6/12	0	0	6
			3.5 ~ 3.30		3/7	0	0	3
	津山保健所		4.2 ~ 5.13		2/7	0	1	1
2009.1.21			0/1	0	0	0		
2.23 ~ 3.31			2/2	0	0	2		
新見保健所		4.6		1/1	0	1	0	
		2008.12.26		2/2	1	1	0	
	小計				35/77 (45.5%)	12 (15.6%)	6 (7.8%)	17 (22.1%)
合計					53/115 (46.1%)	21 (18.3%)	6 (5.2%)	26 (22.6%)

*陽性数/検体数

に細胞変性効果のみられた検体について、モルモット赤血球を用いて定法に従い²⁾赤血球凝集(HA)試験を実施した。HA試験によりInfl.Vの存在が疑われた検体について、2008/09シーズンのAソ連(AH1)型Infl.Vワクチン株(A/Brisbane/59/2007)、A香港(AH3)型Infl.Vワクチン株(A/Uruguay/716/2007)、山形系統³⁾に属するB型Infl.V(山形系B型Infl.V)標準株(B/Brisbane/3/2007)及びビクトリア系統³⁾に属するB型Infl.V(ビクトリア系B型Infl.V)標準株(B/Malaysia/2506/2004)に対する抗血清(いずれも国立感染症研究所より分与)を用いた赤血球凝集阻止(HI)試験²⁾により同定及び型別を行った。さら

に、散发例の検体についてはFL及びVero細胞を用いたウイルス分離も同時に実施した。

2.4 AH1型Infl.V分離株のオセルタミビル耐性変異の検出

県内で分離されたAH1型Infl.Vについて、国立感染症研究所が作成した「抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスN1-NA遺伝子解析実験プロトコル」に基づき、オセルタミビル耐性変異の有無について検査を行った。すなわち、分離株の培養液140 µlより市販のRNA抽出キット(QIAamp Viral RNA Mini Kit：株式会社キアゲン)を用いてウイルスRNA(60 µl)を抽出後、その5 µlを鋳型としOneStep RT-PCR Kit(株式会社キアゲン)によ

ってノイラミニダーゼ(NA)遺伝子の一部を増幅した。増幅産物を精製後、シークエンサー(Long Read Tower：株式会社ベリタス)により塩基配列を決定した。決定された塩基配列をアミノ酸配列に変換後、NAのN末端から数えて275番目のアミノ酸がヒスチジンの場合をオセルタミビル感受性、チロシンの場合を耐性と判定した。

3 結果

3.1 患者発生状況

週別のInfl.集団患者発生状況は図1に示すように、2008年第49週の12月1日に真庭市内及び赤磐市内の各1施設においてInfl.集団が初めて確認された後、しだいに患者数が増加した。冬休み期間中は患者報告がなされなかったものの、休み明けの2009年第3週(1月中旬)には再び患者が報告されはじめ、その翌週には患者数がピーク(1,652人)に達した。

その後、患者数は減少に転じたものの、第9週(2月下旬)には再び増加してピーク(1,061人)を形成した後、漸減していき第14週(3月下旬～4月上旬)には患者はいったん報告されなくなった。しかしながら、その2週間後には再び少数の患者が認められ、その後第22週(5月下旬)まで小規模な流行が継続し、翌23週に流行は終息した。患者数の推移をみると、2008年第49週～2009年第7週を第一波、及び2009年第8週以降を第二波とする二峰性の流行パターンが認められた。最終的に届出患者総数は8,597人と、過去5年間^{4)～8)}では最も多かった。また患者構成割合をみると、幼稚園児8.3%、小学生64.2%、中学生25.0%、高校生2.1%、その他施設0.4%と、小・中学生で全体の約9割を占めており、当該年齢層を中心に流行が広がったことがうかがわれた。

一方、発生動向調査における県全体のインフルエンザ患者数の推移をみると(図2)、2008年第47週(11月中～下旬)に定点医療機関あたりの(定点あたり)患者数が0.2人を超えた後、徐々に患者数が増加しはじめ、2009年第4週(1月中～下旬)

にピーク(定点あたり患者数38.40人)に達した。その後患者数はしだいに減少していったが、第8週(2月中旬)以降に再び増加に転じて小ピークを形成した後、第23週(6月上旬)に定点あたり患者数が0.2人を下回り、流行は終息したものと考えられた。定点あたり患者総数(前年の第36週から翌年の第35週までの総計)は251.8人と、過去5年間では^{4)～8)}2004/05シーズンに次いで2番目の多さであった。患者数全体の推移から(図2)、Infl.集団と同様な二峰性の流行パターンが認められた。さらに地区別でみると(図1)、いずれも二峰性の流行パターンがみられたが、津山・勝英地区では第二波のピークが明瞭ではなく、また高梁・真庭・阿新地区においては、第二波の開始が他地区に比べ3週間ほど遅れるなど、流行状況に若干の地域差が認められた。

3.2 ウイルス分離結果

ウイルス分離結果は表に示すように、Infl.集団が認められた10施設中8施設の患者18人(47.4%)からInfl.Vが

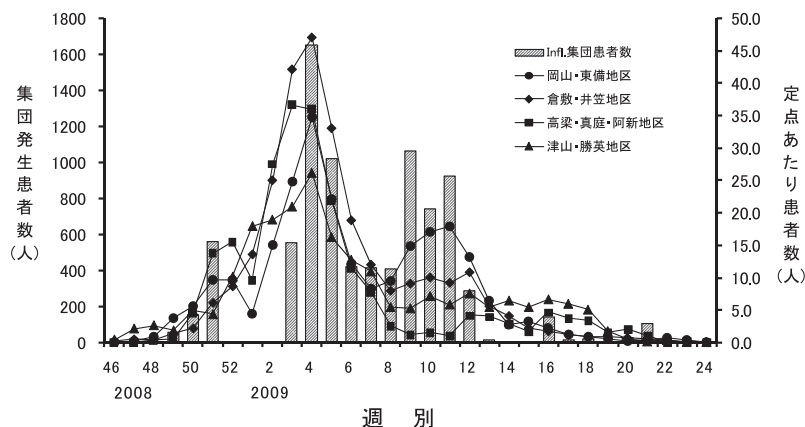


図1 週別のインフルエンザ患者発生状況

カラムが学校等におけるインフルエンザ様疾患の集団発生(Infl.集団)患者数を、折れ線が発生動向調査における地区別の定点医療機関あたり(定点あたり)患者数を示す。

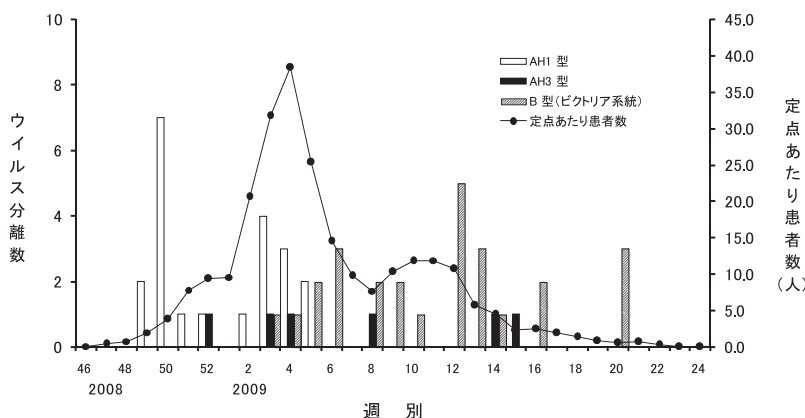


図2 週別のインフルエンザウイルス分離状況

カラムが型別のウイルス分離数を、折れ線が定点医療機関あたりの患者数を示す。

分離された。内訳をみると、AH1型Infl.V及びビクトリア系B型Infl.Vがそれぞれ9人(23.7%)から分離された。一方、散発例では77人中35人(45.5%)からInfl.Vが分離されたが、その内訳はビクトリア系B型Infl.Vが17人(22.1%)、AH1型Infl.Vが12人(15.6%)、AH3型Infl.Vが6人(7.8%)から分離された。分離株全体ではビクトリア系B型Infl.Vが26株と最も多く、次いでAH1型Infl.V(21株)、AH3型Infl.V(6株)の順であった。

週別のウイルス分離状況は図2に示すように、AH1型Infl.Vは流行前半の2008年第49週～2009年第5週にかけて分離されたのに対し、大部分のビクトリア系B型Infl.Vは、流行後半にあたる2008年第5週以降の分離であった。一方、AH3型Infl.Vは流行期間全般にわたり散発的に分離されていた。なお、型別の分離状況に明らかな地域差は認められなかった(表)。なお、散発例の77検体についてFL及びVero細胞を用いたウイルス分離を実施したところ、井笠保健所管内の医療機関から1月に採取した検体からアデノウイルス2型が、4月に採取した検体からアデノウイルス3型が、及び5月に採取した検体からエコーウイルス3型がそれぞれ分離された(いずれの検体もInfl.V分離陰性)。

3.3 分離ウイルスの抗原性解析

AH1型Infl.V分離株の抗原性について、2008/09シーズンのワクチン株であるA/Brisbane/59/2007(H1N1)を基準にHI試験により比較解析を行ったところ(図3パネル

AH1)、流行初期にはワクチン株とほぼ類似した抗原性の株(HI価で4倍以内の差)が大半であったが、流行がピークに達した2009年第2週～第5週頃には、ワクチン株とは抗原性の異なる株(HI価で8～32倍の差)が全体の70%を占めていた。なお今シーズンと同様、前シーズン流行初期においてもAH1型Infl.Vの流行が認められていた⁸⁾。そこで、両シーズンのAH1型Infl.Vの抗原性を相互に比較するため、前シーズン分離株4株についてA/Brisbane/59/2007株抗血清に対するHI価を測定した。その結果、A/Brisbane/59/2007株とHI価で2倍差が2株、4倍及び8倍差がそれぞれ1株と、いずれもA/Brisbane/59/2007株に抗原性がほぼ類似した株であることがわかった。

次に、ビクトリア系B型Infl.V分離株の抗原性についても同様に、標準株であるB/Malaysia/2506/2004株を基準に解析を行ったところ(図3パネルB)、すべての株が標準株と抗原性が大きく異なっており(HI価で16倍以上の差)、また64倍差という著しく異なる株も9例認められた。

一方AH3型Infl.V分離株については、ワクチン株のA/Uruguay/716/2007(H3N2)とHI価で128倍差という著しく抗原性の異なる株が1株認められたのみで、それ以外はいずれもワクチン株とほぼ類似した抗原性(HI価で8倍以内の差)であった(データを示さず)。

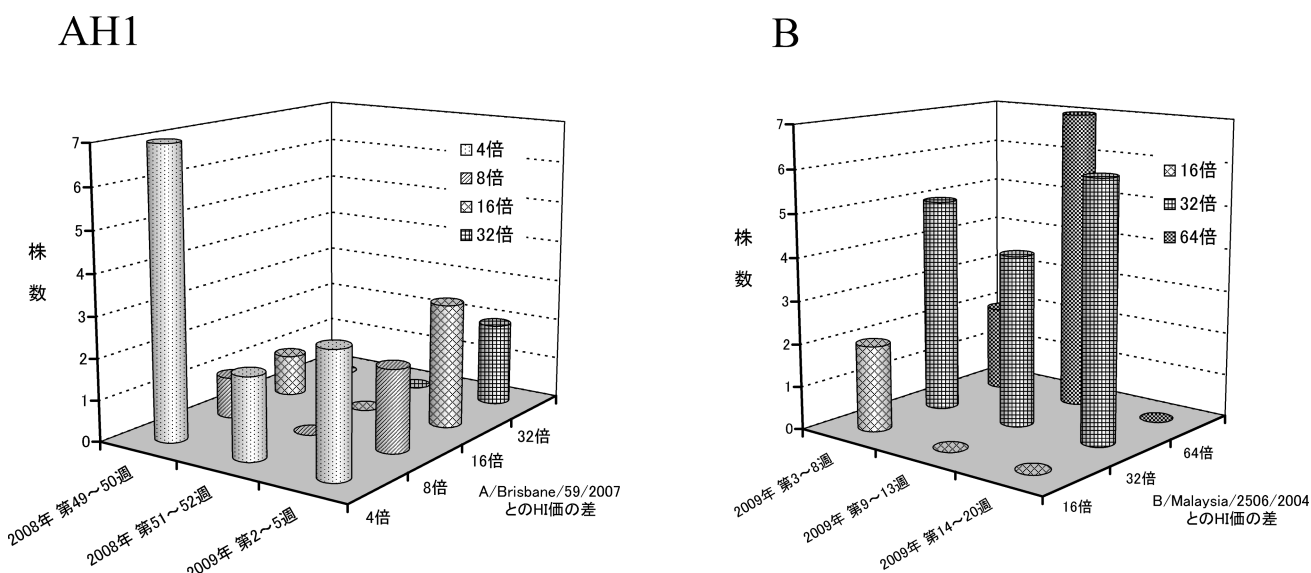


図3 分離時期別のAH1型及びB型インフルエンザウイルスの抗原性解析

パネルAH1がAH1型ワクチン株であるA/Brisbane/59/2007株を、パネルBがB型標準株のB/Malaysia/2506/2004株をそれぞれ基準とし、HI試験により抗原性を比較した。

3.4 AH1型Infl.V分離株のオセルタミビル耐性変異の有無

AH1型Infl.V分離株21件中20件についてオセルタミビル耐性変異の有無について検査したところ、すべての株が耐性変異を有することがわかった。

4 考 察

2008/09シーズンの岡山県におけるインフルエンザは、患者発生状況から二峰性の流行パターンが認められ、ウイルス分離成績などから第一波がAH1型Infl.Vの流行により、第二波がビクトリア系B型Infl.Vの流行によりそれぞれ引き起こされたものと考えられた。全国の流行状況でも⁹⁾、二峰性の患者発生パターンが認められており、また前半にはAH1型Infl.Vが、後半にはビクトリア系B型Infl.Vの検出割合が高い傾向がみられるなど、本県の流行状況と類似していた。

前シーズンに国立感染症研究所などが中心となり、国内のAH1型Infl.V分離株を対象にオセルタミビル耐性変異株サーベイランスを実施したが、今シーズンも引き続き同様のサーベイランスを行ったところ、全国平均でAH1型Infl.Vの99.6%がオセルタミビル耐性変異を有していることがわかった¹⁰⁾。岡山県でも検査した20株のAH1型Infl.V分離株すべてがオセルタミビル耐性変異を有していたことから、県下で流行していたAH1型Infl.Vのほぼすべてが耐性変異株であったことが強く示唆された。前シーズンにおける調査では^{8),11)}、検査6件中1件のみが耐性変異を有していたが、当該株は2008年7月に東南アジアから帰国した患者に由来していた。したがって、今シーズンの流行を引き起こしたAH1型Infl.Vが、非流行期に海外から持ち込まれたウイルスに起因した可能性も考えられる。

今シーズンの流行規模を過去5年間のものと比較すると、Infl.集団患者総数においては最も多く、また発生動向調査における定点あたり患者総数でも2番目の多さであった。主流行であるAH1型Infl.V及びビクトリア系B型Infl.Vとも、ここ3シーズンほど連続して流行している^{6)~8)}にもかかわらず、このように流行規模が拡大した要因として、(i)AH1型Infl.Vによる比較的大きな流行があったのは、前シーズン(2007~09シーズン)であるが、HI試験による比較で前シーズンと今シーズンのウイルス間に抗原性の違いが認められたこと、(ii)ビクトリア系B型Infl.Vについても、ここ数シーズン流行していた

ウイルスは、いずれもB/Malaysia/2506/2004に類似した抗原性であった^{8),12)}のに対し、今シーズンの株はB/Malaysia/2506/2004と抗原的に大きく異なっていたことなどが考えられた。さらに、AH1型Infl.V流行株のほとんどが、抗インフルエンザ薬として広く使用されているオセルタミビル(商品名「タミフル」)に対する耐性変異を有していたことも、流行を拡大させた要因の一つではないかと考えられた。

文 献

- 1) 飛田清毅：MDCK細胞によるインフルエンザウイルスの分離，臨床とウイルス，4，58-61，1976
- 2) 根路銘国昭：インフルエンザウイルス，微生物検査必携，ウイルス・クラミジア・リケッチア検査，第Ⅱ分冊，各論1，厚生省監修，第3版，2-24，日本公衆衛生協会，東京，1987
- 3) Nerome, R., Hiromoto, Y., Sugita, S., Tanabe, N., Ishida, M., Matsumoto, M., Lindstrom, S. E., Takahashi, T., Nerome, K. : Evolutionary characteristics of influenza B virus since its first isolation in 1940 : dynamic circulation of deletion and insertion mechanism. Arch. Virol., 143, 1569-1583, 1998.
- 4) 葛谷光隆，濱野雅子，西島倫子，藤井理津志，妹尾安裕：岡山県における2003～2004年シーズンのインフルエンザ流行について，岡山県環境保健センター年報，29，103-107，2005
- 5) 葛谷光隆，濱野雅子，西島倫子，藤井理津志，山口弘：岡山県における2004～2005年シーズンのインフルエンザ流行について，岡山県環境保健センター年報，30，115-119，2006
- 6) 葛谷光隆，濱野雅子，西島倫子，藤井理津志，山口弘：岡山県における2005～2006年シーズンのインフルエンザ流行について，岡山県環境保健センター年報，31，119-124，2007
- 7) 葛谷光隆，濱野雅子，西島倫子，藤井理津志，野田邦広：岡山県における2006～2007年シーズンのインフルエンザ流行について，岡山県環境保健センター年報，32，133-137，2008
- 8) 葛谷光隆，濱野雅子，藤井理津志，野田邦広：岡山県における2007～2008年シーズンのインフルエン

- ザ流行について，岡山県環境保健センター年報，33，127-131，2009
- 9) 国立感染症研究所 感染症情報センター：インフルエンザ 2008/09 シーズン，病原微生物検出情報，30，285-286，2009
- 10) 国立感染症研究所ウイルス第三部第一室 インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランスチーム 他：2008/09 インフルエンザシーズンにおけるインフルエンザ (A/H1N1) オセルタミビル耐性株 (H275Y*) の国内発生状況 [第2報]，病原微生物検出情報，30，101-106，2009
- 11) 国立感染症研究所ウイルス第三部第一室 インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランスチーム 他：インフルエンザ (A/H1N1) オセルタミビル耐性株 (H275Y*) の国内発生状況 [第2報]，病原微生物検出情報，29，334-339，2008
- 12) 国立感染症研究所ウイルス第三部第一室/WHO インフルエンザ協力センター：2005/06 シーズンのインフルエンザウイルス流行株の解析，病原微生物検出情報，27，295-304，2006