

【調査研究】

県内におけるインフルエンザ流行の疫学的解析 (2010～2011年シーズン)

Epidemiological Analysis of Influenza in Okayama Prefecture during 2010 to 2011 season

葛谷光隆, 濱野雅子, 木田浩司, 藤井理津志, 羽原 誠* (ウイルス科)

*岡山県保健福祉部健康推進課

Mitsutaka Kuzuya, Masako Hamano, Kouji Kida, Ritsushi Fujii and Makoto Habara*

(Department of Virology)

*Public Health Policy Division, Department of Health and Social Welfare,
Okayama Prefectural Government

要 旨

2010～2011年シーズンにおける県内のインフルエンザ流行は、2011年第5週（2月上旬）及び第11週（3月中旬）をピークとする2峰性の流行パターンが認められた。またウイルス分離成績などから、第1波がAH1pdm09型インフルエンザウイルスの流行により、第2波が主にAH3型インフルエンザウイルス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。流行の状況を過去10年間で比較すると患者発生状況などから、規模の大きな部類に属することがわかったが、この原因として2009～2010年シーズンに引き続きAH1pdm09型が流行したことに加え、2010～2011年シーズン後半に流行したAH3型がワクチン株とは抗原性が異っていたこと、さらにビクトリア系B型がシーズンを通じて流行していたことなどが考えられた。なお、2009～2010年シーズンに引き続きAH1pdm09型が流行した要因として、2009～2010年シーズンは未成年者が流行の中心であったものが、2010～2011年シーズンは成人にも波及したことが、ひとつの要因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

今シーズンの2010～2011年（以下「今シーズン」という。）の本県におけるインフルエンザ流行の詳細を明らかにするため、学校等におけるインフルエンザ集団発生（以下「flu集発」という。）の患者発生状況及び岡山県感染症発生動向調査事業（以下「発生動向調査」という。）に基づき、定点医療機関における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（以下「Inf.V」という。）の検出・分離を行うとともに、分離されたウイルスについて抗原性解析等を行った。

2 材料及び方法

2.1 インフルエンザ患者発生状況

flu集発患者数については、県保健福祉部健康推進課がとりまとめた「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、定点医療機関当たりのインフルエンザ患者数

（1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 ウイルス検査材料

2010年11月～2011年4月にflu集発が発生した16施設の患者44人及び2010～2011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101人の、合わせて145人から採取した咽頭拭い液等をウイルス検査材料とした（表1）。

2.3 遺伝子検出法に基づくA型Inf.V検査

遺伝子検出法に基づくA型Inf.Vの検査については、国立感染症研究所（以下「感染研」という。）から示された「病原体検出マニュアル H1N1新型インフルエンザ（2009年11月 ver.2）」に従って実施した。すなわち、検体140 μ Lから市販の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を60 μ Lの緩衝液に抽出後、前記マニュアルに従い作成したプライ

表1 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		
						AH1pdm09型 (新型)	AH3型 (A香港)	B型 (Victoria系)
集団 発生例	1	A小学校	井原市	2010.11.2	3/3*	3	0	0
	2	B小学校	岡山市	2010.12.21	2/3	0	0	2
	3	C小学校	岡山市	2011.1.14	0/1	0	0	0
	4	D小学校	岡山市	2011.1.15~17	3/3	3	0	0
	5	E小学校	玉野市	2011.1.17	2/2	2	0	0
	6	F小学校	矢掛町	2011.1.17	1/1	1	0	0
	7	G小学校	総社市	2011.1.17	1/1	1	0	0
	8	H小学校	鏡野町	2011.1.17	5/5	0	5	0
	9	I小学校	赤磐市	2011.1.24	4/4	4	0	0
	10	J小学校	真庭市	2011.1.25	2/4	2	0	0
	11	K中学校	備前市	2011.2.1~3	3/3	0	0	3
	12	L小学校	美作市	2011.2.7	0/1	0	0	0
	13	M小学校	岡山市	2011.2.5~7	2/2	0	0	2
	14	N小学校	岡山市	2011.3.24~26	3/3	0	3	0
	15	O小学校	新見市	2011.4.14	0/5	0	0	0
	16	P小学校	勝央町	2011.4.18	0/3	0	0	0
		小計				31/44 (70.5%)	16 (39.4%)	8 (18.2%)
散发例	所管保健所名		検体採取年月日					
	岡山市保健所		2010.12.13 ~12.20		7/7	0	0	7
			2011.1.5 ~ 1.28		29/30	26	2	1
			2.3 ~ 2.24		5/5	1	2	2
			4.25 ~ 5.17		0/3	0	0	0
	備前保健所		2010.12.22 ~2011.1.14		4/4	3	0	1
	倉敷市保健所		2010.10.7 ~10.25		1/2	1	0	0
			2011.1.7 ~ 1.31		3/4	3	0	0
			2.1 ~ 2.24		8/9	7	1	0
	備中保健所		3.3 ~ 4.20		6/8	1	5	0
			2011.1.14 ~ 1.28		3/4	3	0	0
			2.2 ~ 3.24		2/6	1	0	1
	美作保健所		4.15 ~ 6.1		3/3	0	2	1
			2010.12.6 ~12.28		2/3	0	1	1
			2011.1.11 ~ 1.25		7/8	4	3	0
	備北保健所		3.1 ~ 3.22		4/4	0	3	1
			2011.1.14		1/1	1	0	0
	小計				85/101 (84.2%)	51 (50.5%)	19 (18.8%)	15 (14.9%)
合計					116/145 (80%)	67 (46.2%)	27 (18.6%)	22 (15.2%)

* 陽性数/検体数

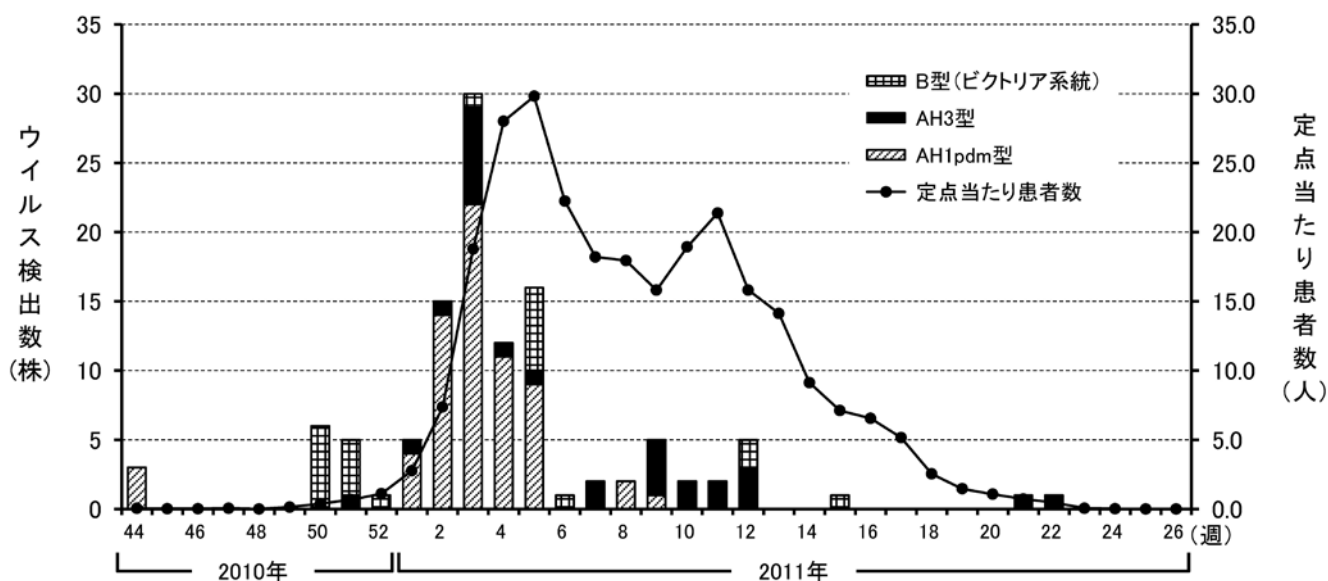


図1 週別のインフルエンザウイルス検出状況

カラムが型別のウイルス検出数を、折れ線が県全体の定点医療機関当たり（定点当たり）患者数を示す。

マー及びプローブを用いた逆転写PCR（以下「RT-PCR」という。）法によりウイルス遺伝子を増幅し、マイクロチップ電気泳動装置（MultiNA：株式会社島津製作所）で特異バンドを検出した。遺伝子検査法によりA型のM遺伝子と各亜型のHA遺伝子が同時に検出された場合を各亜型ウイルス陽性と判定し、M遺伝子のみが検出された場合はA型（型別不能）とした。

2.4 Inf.Vの分離及び抗原性解析

Inf.Vの分離はMDCK細胞を使用して行った¹⁾。採取した咽頭拭い液等をMDCK細胞に接種後、盲継代2～3代後に細胞変性効果が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（以下「HA」という。）試験を実施し、HAが観察された場合を分離陽性とした。Inf.Vの存在が確認された検体について、AH1pdm09型ワクチン株〔A/California/7/2009 (H1N1pdm09)〕、AH3型ワクチン株〔A/Victoria/210/2009 (H3N2)〕、山形系統³⁾に属するB型Inf.V（山形系B型Inf.V）標準株（B/Bangladesh/3333/2007）及びビクトリア系統³⁾に属するB型Inf.V（ビクトリア系B型Inf.V）ワクチン株（B/Brisbane/60/2008）に対する抗血清（いずれも感染研より分与）を用いた赤血球凝集阻止（以下「HI」という。）試験²⁾により型別及び抗原性解析を行った。

2.5 AH1pdm09型Inf.V株のオセルタミビル耐性変異の検出

感染研が作成した「H1N1pdm オセルタミビル耐性株検出実験プロトコール（2010年11月 ver.1）」に基づき、AH1pdm09型株のイラミニダーゼ遺伝子についてオセルタミビル耐性マーカー（H275Y）の検出を行った。すなわ

ち、市販キットにより抽出したウイルスRNA又はウイルス培養上清を滅菌蒸留水で10倍希釈したものを検査材料とし、2種類の異なる蛍光色素（FAM：耐性株Y275、VIC：感受性株H275）で標識されたTaqManプローブを用い、リアルタイムPCR装置（StepOne Plus：ライフテクノロジーズ株式会社）によりリアルタイムRT-PCRを行った。反応終了時の蛍光強度をグラフにプロットし、プロットの位置から、耐性株（Y275）、感受性株（H275）、耐性・感受性混合株（Y275とH275のMix）の判定を行った。

3 結果

3.1 患者発生状況

発生動向調査における県全体の定点医療機関当たり（以下「定点当たり」という。）のインフルエンザ患者数の推移を図1に示した。2010年第52週（12月下旬）に定点当たり患者数がインフルエンザ流行開始の目安とされる1.0人を超えた後、しだいに患者数が増加しはじめ、2011年第2週（1月中旬）には注意報レベルにあたる定点当たり5.0人を上回った。その後、患者は急激に増加して第5週（2月上旬）にピーク（29.8人）に達した。それ以後患者数は一端減少に転じたものの、第10週（3月上旬）には再び増加し始め、翌週に第2のピーク（21.4人）を形成したのち患者数は漸減し、第21週（5月下旬）には定点当たり1.0人を下回り、流行はほぼ収束した。地区別の患者数推移をみると（図2）、いずれの地区においても2011年第5週頃と第11週頃をピークとする2峰性の流行パターンが認められた。地区別では、県南部地域の定点当たり患者数が県北部地域のそれに比べて全般的に多く、当該地域で流行が拡大していたことがうかがわれた。次に、流行規模の目安となる

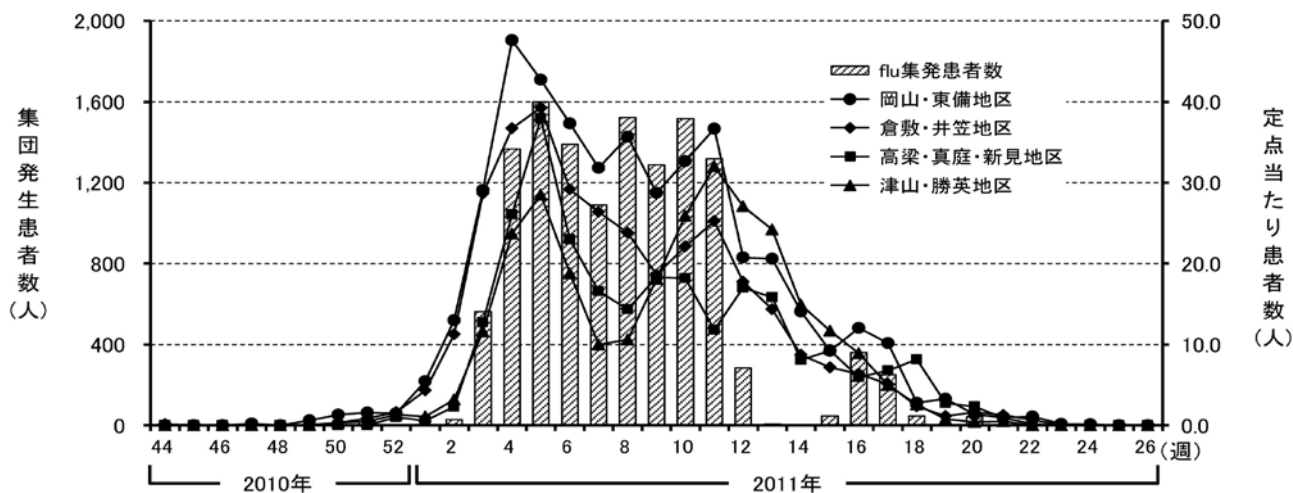


図2 週別のインフルエンザ患者発生状況

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当たり (定点当たり) 患者数を示す。

定点当たりシーズンの患者総数 (前年の第26週から翌年の第27週までの患者数) を集計したところ、268.3人と過去10シーズンでは⁴⁾ 3番目に多い値であり、比較的大規模な流行であったことが明らかになった。

一方、flu集発患者発生状況を見ると (図2)、インフルエンザ流行前の2010年11月2日 (第44週) に、井原市内の小学校でflu集発が初めて確認 (患者数5名) されたものの、その後年明けまではほとんど集団発生はみられなかった。しかしながら、県内がインフルエンザ流行期に入った2011年第2週 (1月中旬) からは報告患者数が急激に増加しはじめ、第5週 (2月上旬) にピーク (1,601人/週) に達した。その後、患者数はいったん減少に転じたものの、再び第8週 (2月下旬) に患者数が1,521人/週を記録すると、第11週 (3月中旬) 頃まで週間の患者数が1,300人程度で推移した。それ以降は患者は急激に減少し、第14週 (4月上旬) には患者は認められなくなったが、第16~17週 (4月中旬~下旬) にかけて再び小ピークを形成し、第21週 (5月下旬) にflu集発は終息した。最終的に届出患者総数は12,741人に達し、過去10年間では⁴⁾ いわゆる新型 (H1pdm09型) インフルエンザが猛威をふるった昨シーズンの2009~2010年 (以下「昨シーズン」という。) に次ぐ患者数であった。

3.2 ウイルス検査成績

インフルエンザ患者からの検体採取状況とウイルス検出状況を表1及び図1に示す。flu集発が認められた16施設中12施設の患者31人 (70.5%) からInf.Vが検出されたが、その内訳はAH1pdm09型が16件 (39.4%)、AH3型が8件 (18.2%) 及びビクトリア系B型が7件 (15.9%) であった。一方、散发例では101人中85人 (84.2%) から

Inf.Vが分離・検出されたが、その内訳はAH1pdm09型が51件 (50.5%)、AH3型が19件 (18.8%) 及びビクトリア系B型が15件 (14.9%) であった。ウイルス株全体ではAH1pdm09型が67件 (46.2%) と最も多く、次いでAH3型 (27件:18.6%)、ビクトリア系B型 (22件:15.2%) の順であった。

週別のウイルス検出状況は図1に示すように、AH1pdm09型は流行前半に相当する2010年第44週~2011年第9週にかけて検出された。一方、AH3型及びビクトリア系B型は流行期間全般にわたって検出されていたが、AH3型については第2のピーク頃に相当する2011年第9週~12週に集中する傾向が認められた。なお、型別の検出状況に明らかな地域差は認められなかった (表1)。さらにflu集発が発生した施設のうち、いずれの患者からもInf.Vが分離または検出されなかった4施設の10検体、及び散发例101検体中Inf.Vが分離されなかった16検体について、FL細胞及びVero細胞を用いたウイルス分離を実施したが、いずれも分離陰性であった。

3.3 流行年齢層の解析

昨シーズンにおいて、大規模な流行を引き起こしたAH1pdm09型が、今シーズンも流行前半を中心に検出された。そこで、今回のAH1pdm09型流行がどのような年齢層に広がっていたのかを明らかにするため、流行シーズン前半にあたる2010年第44週~2011年第9週の年齢群別の定点当たり患者数をもとに、年齢群別の構成割合を求めた (図3)。なお比較対象として、昨シーズンの構成割合についてもあわせて示した。その結果、5~19歳の主に学齢期を中心とした年齢層では、昨シーズンに比べ割合が減少していたのに対し、20歳以上ではいずれの年齢群においても、

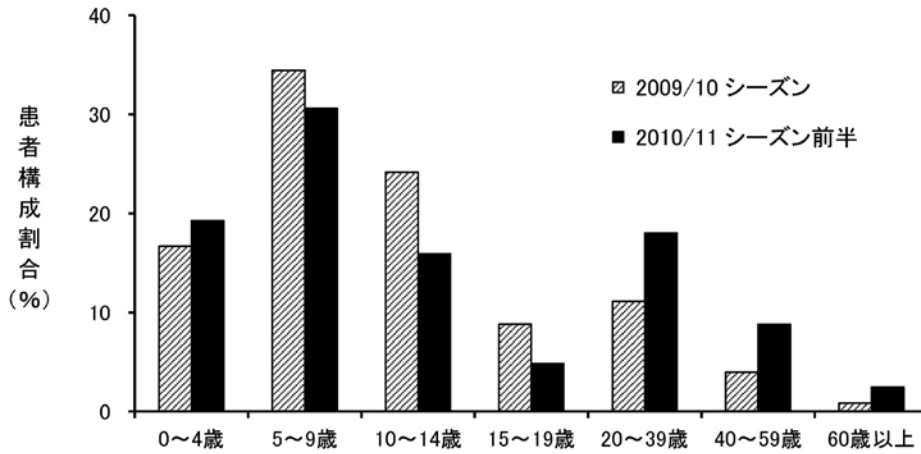


図3 シーズン別患者年齢構成割合の比較

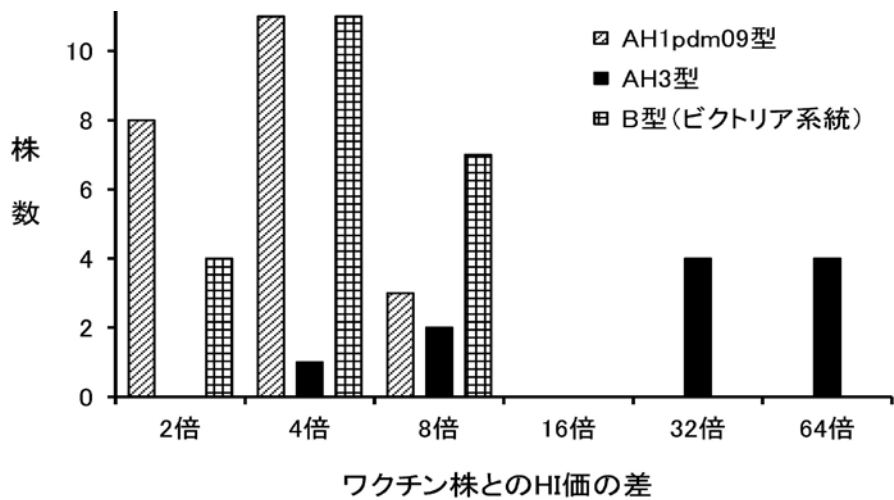


図4 インフルエンザウイルス分離株の抗原性解析結果

AH1pdm09型はワクチン株のA/California/7/2009 (H1N1pdm09)を、AH3型はワクチン株のA/Victoria/210/2009 (H3N2)を、及びビクトリア系B型はワクチン株のB/Brisbane/60/2008をそれぞれ比較対象として、HI試験により解析を行った。

その割合が1.6~3倍と大きく増加していることがわかった。

3.4 ウイルスの抗原性解析

搬入された検体のうち、75検体についてMDCK細胞を用いてウイルス分離を試みたところ、AH1pdm09型Inf.Vが22株、ビクトリア系B型Inf.Vが22株及びAH3型Inf.Vが11株それぞれ分離された。まず最初にAH1pdm09型分離株の抗原性について、ワクチン株であるA/California/7/2009 (H1N1pdm09)を比較対象としてHI試験により解析を行ったところ、22株中19株(86.4%)がその分離時期にかかわらずワクチン株とほぼ類似した抗原性(HI価で4倍以内の差)であることがわかった(図4)。次に、ビクトリア系B型についても同様に、ワクチン株のB/Brisbane/60/2008と比較したところ、22株中15株(68.2%)がワクチン株とHI価で4倍以内の抗原性の差

にとどまっていたが、7株については8倍の差が認められた(図4)。さらに分離時期別にみると、流行前半の2010年第50~51週に分離された株は、いずれもワクチン株とHI価で4倍以内の差にとどまっていたのに対し、今シーズン中盤~後半にあたる2011年第1~15週に分離された株については、HI価で8倍の差の株が全体の6割以上を占めていた。最後にAH3型分離株についても同様に解析したところ、ワクチン株のA/Victoria/210/2009 (H3N2)とHI価で8倍以上異なる株が11株中10株と大部分を占め、またHI価で32倍以上と大きく抗原性が異なる株も8株認められた(図4)。

3.5 AH1pdm09型Inf.Vのオセルタミビル耐性変異の有無

2010年10月~2011年2月に検出されたAH1pdm09型Inf.V計52株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、2011年1月に岡山市保健所管内の医療機

関で採取された検体より分離された1株のみが、耐性・感受性混合変異を有することが明らかになった（出現頻度：1.9%）。なお医療機関への聞き取り調査の結果、耐性株が分離された検体はオセルタミビル（商品名：タミフル）治療投与開始5日目に採取されたものであることがわかった。さらに感染研における詳細な解析の結果、当該株のオセルタミビル及びペラミビルに対するIC50の値は、それぞれ1.69nM（感受性株：1.04nM）及び0.09nM（感受性株：0.04nM）であり、当該薬剤に対し若干の感受性低下が認められた。なお、ザナミビル及びラニナミビルについてはいずれも感受性を有していた。

4 考 察

今シーズンにおける県内のインフルエンザは、患者発生状況から2011年第5週（2月上旬）を第1番目の、同年第11週（3月中旬）を第2番目のピークとする2峰性の流行パターンが認められた。またウイルス分離成績などから、第1波がAH1pdm09型の流行により、第2波が主にAH3型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。全国の流行状況を見ると^{5)・6)}、2011年第4週に第1番目の、第11週に第2番目の及び第16週に第3番目のピークがそれぞれ確認されており、ウイルス検出状況などから第1のピークはAH1pdm09型、第2のピークはAH3型、第3のピークはビクトリア系B型によると思われるなど、本県状況とほぼ類似していた。

昨シーズンは、特に学齢期にあたる5～19歳を中心にAH1pdm09型の大規模な流行が確認されたが⁴⁾、今シーズンも、前半を中心に引き続きAH1pdm09型の流行が確認された。このようにAH1pdm09型が両シーズンにわたり流行した要因を明らかにするため、患者の年齢構成について今シーズン前半と昨シーズンで比較を行った。その結果、今シーズンは5～19歳の構成割合が減少した一方で、20歳以上ではいずれもその割合が増加するなど、流行年齢層に違いがみられた。すなわち昨シーズンは未成年者が流行の中心であったものが、今シーズンは成人にもその流行が波及したことが、連続して流行した要因のひとつではないかと推察された。

今シーズンの流行は、過去10年間と比較すると⁴⁾、患者発生状況などから、比較的大規模な部類に属することがわかった。このように流行規模が拡大した要因として、AH1pdm09型が昨シーズンに引き続き流行したことに加え、今シーズン後半に流行したAH3型がワクチン株とは抗原性が異っていたこと、さらにビクトリア系B型がシーズンを通じて流行していたことなどが考えられた。いずれにしても、AH1pdm09型の流行の有無が今後の流行規模を左

右すると考えられることから、同ウイルスの流行状況には今後とも注意する必要がある。

今シーズンに県内で検出されたAH1pdm09型Inf.V株のオセルタミビル（商品名：タミフル）耐性変異について調べたところ、耐性株が1件確認された（耐性株出現頻度：1.9%）。この出現頻度は昨シーズンの値（1.28%）とほぼ同様であり⁴⁾、耐性株が増加する傾向は特にみられていない。しかしながら、両シーズンの耐性株は、タミフルの治療投与により出現した可能性が強く示唆されたことから、同薬剤の使用にあたっては耐性株の出現に注意を払う必要があると思われる。

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) 小田切孝人、進藤奈邦子、奥野良信、竹内可尚、今井正樹ら：インフルエンザ、病原体検出マニュアル、853-895、国立感染症研究所監修、2006
- 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、木田浩二、藤井理津志、川井睦子：岡山県における2009～2010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、35、99-105、2011
- 5) 国立感染症研究所 感染症情報センター：インフルエンザ 2010/11シーズン、病原微生物検出情報、32、314-316、2011
- 6) 岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、徐 紅、伊東玲子ら：2010/11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、32、317-323、2011