

2002/2003シーズンの福井県のインフルエンザ

中村 雅子・東方 美保・浅田 恒夫*¹・堀川 武夫

Epidemiological Studies of Influenza in Fukui Prefecture in 2002/2003 Season

Masako NAKAMURA, Miho TOHO, Tsuneo ASADA, Takeo HORIKAWA

1 はじめに

インフルエンザウイルスは毎年冬季に流行する呼吸器系ウイルスの代表であり、粒子表面に存在する赤血球凝集素(HA)抗原やノイラミニダーゼ(NA)抗原が大きく変化する不連続変異や、一つの流行シーズンの中でさえ小さざみに起こる連続変異により型や亜型の抗原性が毎年変化する¹⁾。

今シーズンは臨床現場で迅速かつ簡便にウイルス抗原を検出できる迅速診断キットが急速に普及し、また耐性ウイルス出現の心配のない有効な抗ウイルス薬(ノイラミニダーゼ阻害剤)が開発されたこともあり、これまで対症療法が中心であった医療が早期の診断・治療へと大きく変化している。

しかし、薬剤での治療はコストがかかり、心疾患や肺疾患などの基礎疾患を持つハイリスク患者での治療予防効果が明らかでないことなどを考慮すると、インフルエンザ対策の基本がワクチン接種であることには変わりはない²⁾。ワクチン株の決定には各地方衛生研究所から送られた分離ウイルスの抗原性や遺伝子解析の成績が必要である。

また、近い将来に必ず起こるといわれる新型ウイルスの襲来に備えるためにも、患者情報や、ウイルス分離を通して得られるウイルスの性状や血清型に関する情報を迅速に収集しなければならない。当センターでも、毎年国立感染症研究所と共同で、病原体分離と抗原性状についての情報提供を関係機関に対し行っている。

今シーズンの福井県のインフルエンザウイルスの流行状況と分離ウイルスの試験結果について報告する。

2 調査および材料と方法

2.1 調査期間

平成14年11月～平成15年5月

2.2 材料

県内の各施設で発生した集団発生事例のうち、各健康福祉センターごとに採取された患者うがい液(9事例60検体)および同患者対血清(6事例26検体)を試料とし、うがい

液はウイルス分離に、対血清はHI(赤血球凝集抑制)抗体価の測定に用いた。

また、当所が独自に依頼した福井市および敦賀市の小児科(2機関)からは、散発患者の咽頭または鼻腔拭い液を採取し、ウイルス分離に用いた。

2.3 ウイルスの分離と同定

MDCK細胞浮遊培養法³⁾で行った。

分離培養液はイーグルMEM(ニッスイ)培養液に10μg/mlのアセチルトリプシン、2倍濃度のグルタミンおよび0.5%BSAを加えたものを用いた。

24穴マイクロプレートにMDCK細胞浮遊液を1mlずつ分注し、ろ過滅菌済み患者材料を100μl接種後、CO₂ふ卵器で34℃5～7日間培養を行った。ウイルス分離は細胞変性効果(CPE)を指標に行い、2代継代後、CPEもしくはHA価陰性の場合、分離陰性とした。

分離したインフルエンザウイルスはA型は0.6%モルモット血球、B型は0.5%ニワトリ血球を用い、HI(赤血球凝集抑制)試験により同定した。

対血清は、国立感染症研究所分与の標準株抗A/Moscow/13/98(H1N1)、抗A/New Caledonia/20/99(H1N1)、抗A/Panama/2007/99(H3N2)、抗B/Shandong/7/97、抗B/Hiroshima/23/01、抗B/Kagoshima/11/2002各フェレット感染血清を用い、常法に従ってRDE処理を施し、HI試験に用いる血球で吸収し、調製した。

2.4 ウイルス遺伝子の検索

ウイルス分離試験で8HAに達しない検体について、RT-PCR法により遺伝子の検出を試みた。

MDCK培養細胞上清液から、TRIZOL-LSを用いてRNAを抽出し、プライマーは清水らの方法⁴⁾に従い、RTG-RT-PCRbeadsを用いて行った。

2.5 血清検査

対血清は診断用抗原(同標準株)および0.5%ニワトリ血球を用いてHI抗体価をWHO推奨法で測定し、8倍以上の差をもって陽性とした。

*¹ 福井県自然保護センター

表1 インフルエンザ様集団発生事例でのウイルス分離・血清検査結果

No	採取月日	検体数	ウイルス分離・同定			対血清検査				
			AH1	AH3	B	A/Moscow /13/98 (H1N1)	A/New Caledo /20/99 (H1N1)	A/Panama /2007/99 (H3N2)	B/Shandong /7/97	B/Hiroshima /23/01
1. T高校(二州)	1月10日	4		3		0/3	0/3	3/3	0/3	0/3
2. T小学校(坂井)	1月15日	9		1		0/7	0/7	4/7	0/7	0/7
3. I小学校(若狭)	1月15日	5		2		0/3	0/3	3/3	0/3	0/3
4. M小学校(二州)	1月16日	5		2		0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
5. Y小学校(福井)	1月20日	9			6			2) NS		
6. N中学校(丹南)	1月21日	5		2		0/5	0/5	4/5	0/5	0/5
7. Y小学校(奥越)	1月22日	9		1				NS		
8. T中学校(丹南)	1月22日	5		1		0/4	0/4	3/4	0/4	0/4
9. M小学校(奥越)	1月27日	9		2	1			NS		

1)分母:検査した患者数、分子:回復期にHI価8倍以上の有意差を示した患者数

2)NS:サンプルなし

3 結果

3.1 検査成績

3.1.1 集団発生事例

各健康福祉センター管内で発生した事例のウイルス分離および対血清による血清学的検査結果を表1に示した。9事例中8事例からA香港型が、2事例からB型が分離された。No9の事例からはA香港型とB型が同時に分離された。

対血清の血清学的検査はA香港型のウイルスが分離された6事例について行い、いずれもA/Panama/2007/99(H3N2)抗原に対し有意な抗体価上昇を示し、ウイルス分離の結果と一致した。ウイルス分離率が11%と低い事例(No2)についても対血清検査では57%で抗体価の上昇を認めていた。

3.1.2 小児科定点での観測

流行初期から第18週までの嶺北(福井市)および嶺南(敦賀市)各1医療機関からの検体のウイルス分離状況を図1に示す。全376検体中インフルエンザウイルスが分離されたのは278検体であった。その内訳はA香港型が136検体(48.9%)、B型が142検体(51.1%)であり、Aソ連型はなかった。B型はビクトリア系が主流であったが、山形系がシーズン後期に7株分離された。なお、このうちA香港型2検体とB型1検体は培養上清のHA価が上がらず、RT-PCR法によってのみ同定された。

(国立感染症研究所によると、全国的には今シーズンのインフルエンザの流行株は5月現在でA香港型が69%、B型が31%であり、B型はビクトリア系が主流であった。)

嶺北ではじめてインフルエンザウイルスが分離されたのは第52週であり、A香港型であった。その後A香港型のみが流行していたが、第6週にB型が分離されて以降主流はB型に移り13週まで分離された。一方、嶺南では嶺北と同

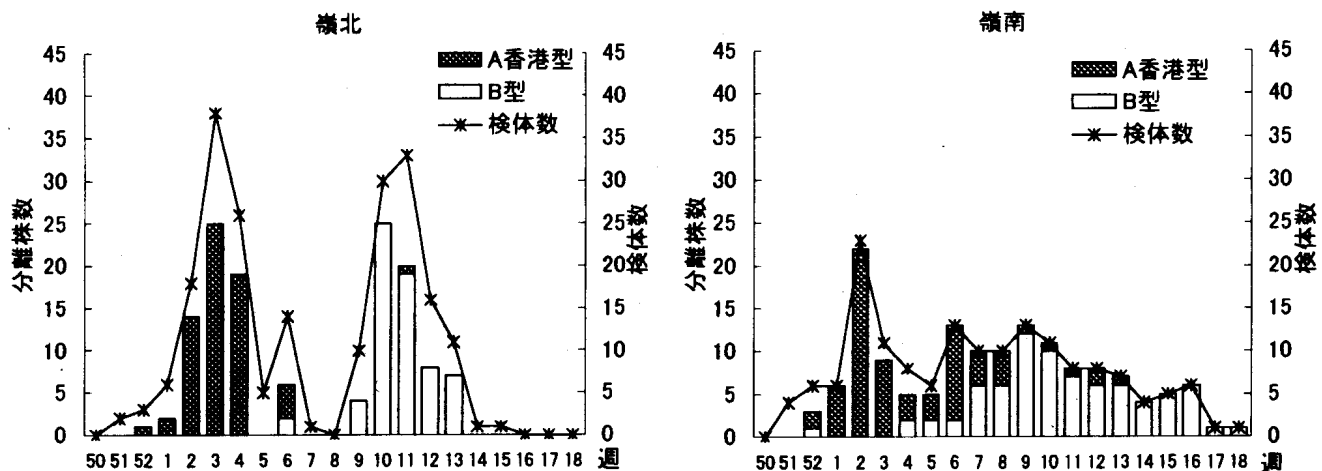


図1 小児科定点でのインフルエンザウイルス分離状況

じ第52週にA香港型とB型が分離された。その後、第3週まではA香港型のみが流行したが、第4週にB型が分離されてからは第8週までA香港型とB型が混在し、それ以降はB型が優勢に流行した。

全検体中のA香港型、B型の2つの型の分離された割合は嶺南・嶺北ともほぼ同様であった。

3. 1. 3 分離ウイルスの抗原性状

今シーズンのワクチン株はA/New Caledonia/20/99 (H1N1), A/Panama/2007/99 (H3N2), B/山東/7/97の混合である。この株を含む6種類の抗血清に対する今シーズンの各分離ウイルス (集団発生を含む) の抗原性状を表2に示した (Aソ連型は分離されなかったのを除いてある)。HI価はA型はモルモット血球、B型はニワトリ血球を用いて測定した。

表2 分離ウイルスの抗原性状

ホモ価との差	A香港型	B型		
		ビクトリア系		山形系
	A/Panama/2007/99(H3N2)	B/Shandong/7/97	B/Kagoshima/11/2002	B/Hiroshima/23/01
×32		12		
×16		15		
×8	3	46	14	2
×4	13	52	24	1
×2	67	15	33	4
等価	65	1	58	
計	148	141	129	7

A型は抗A/Panama/2007/99 (H3N2) に対して、ホモ価と等価か2倍以内の変異の株が多かった。

B型のうち、今シーズン主流であったビクトリア系の株については、ワクチン株であるB/Shandong/7/97抗血清がMDCK分離のVictoria系統株に対する反応性が弱く結

果は参考値とするが、抗B/Kagoshima/11/2002に対してはホモ価に比べて等価か4倍以内のずれの株が多かった。また少数分離された山形系の株は抗B/Hiroshima/23/01に対してホモ価に比べて2~8倍のずれであった。

3. 2 インフルエンザ様疾患発生報告および感染症発生動向調査による流行状況

3. 2. 1 インフルエンザ様疾患集団発生報告

県内の幼稚園・小学校・中学校でインフルエンザ様疾患により学級・学年・学校閉鎖が実施された場合に、教育委員会の協力を得て健康増進課で把握した数を、嶺北・嶺南地域に分けて図2に示した。今シーズンのインフルエンザ様疾患の集団発生は、嶺北で平成15年1月14日 (第3週) に武生市の国高幼稚園で3歳児を学年閉鎖および5歳児の内1組を学級閉鎖 (対象となる在籍者数51名、患者数22名、うち欠席者数18名) にしたのが初発である。その後嶺北では第4週に21件、第5週に13件の発生があり、その後減少していたが、第10週および第11週に7件ずつと再び増加し第12週の2件で終結した。

嶺南の初発も同時期で平成15年1月15日 (第3週) に敦賀市の松原小学校3年生の2組が学級閉鎖 (対象となる在籍者数54名、患者数42名、うち欠席者数22名) となった。その後は第4週に12件、第6週に11件の発生があった他は毎週5件前後であった。第11週以降は発生はなかった。

集団発生施設数は117件、総患者数3,533人、総欠席者数2,007名であり、流行規模は過去8年間では大流行となった98/99シーズンの次に大きなものであった。(図3)

3. 2. 2 感染症発生動向調査

①全県

県内の32の定点医療機関 (小児科定点およびインフルエンザ定点) からの報告をもとにした患者発生動向調査

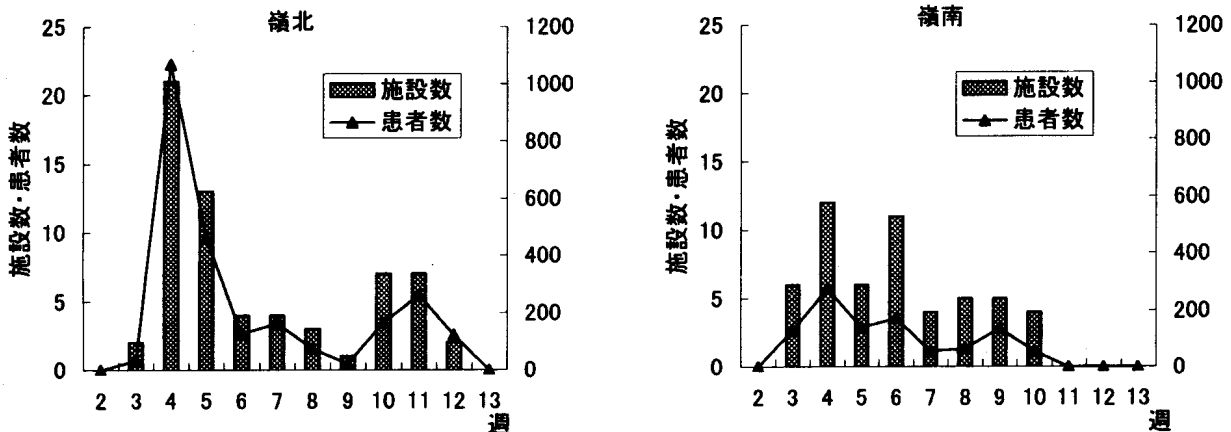


図2 学校等での集団発生の状況

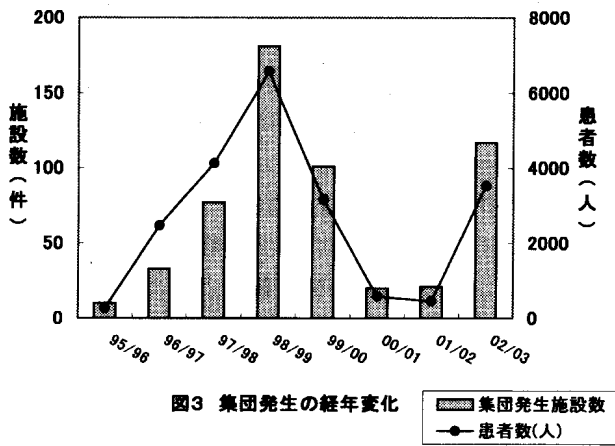


図3 集団発生の経年変化

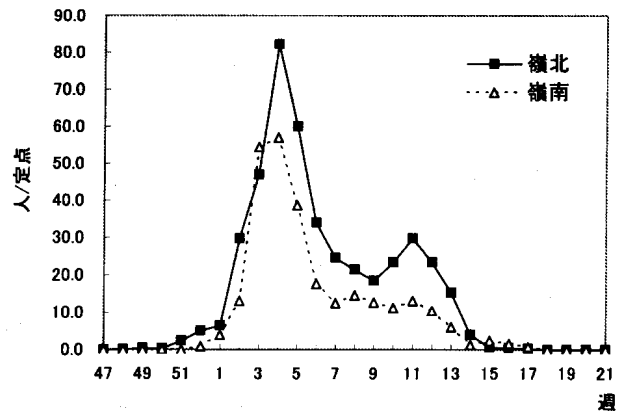


図5 定点あたり患者数(地域別)

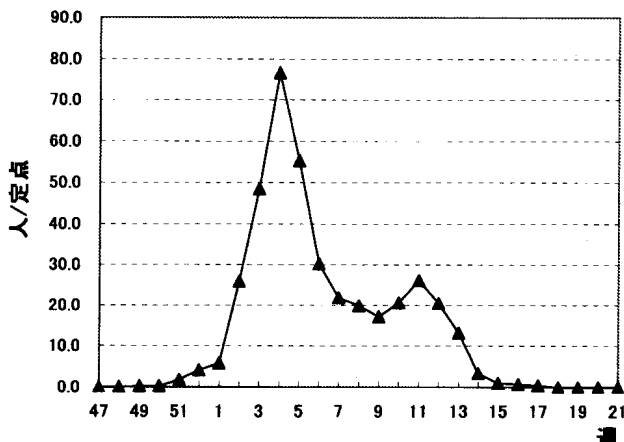


図4 発生動向調査 定点あたり患者数(全県)

における定点あたりのインフルエンザ様疾患の患者数を図4に示す。患者発生は、平成14年11月18日から始まる第47週から報告がみられ、12月中旬の第51週からゆるやかに増加し、1月下旬の第4週に第一のピークに達した(76.7人/定点)。その後減少に転じたが、3月下旬の第10週から再び増加が見られ、第11週に第二のピークとなった(26.2人/定点)。その後ゆるやかに減少し、4月中旬の16週には定点あたり1人未満となり終結した。

昨シーズンと比較すると、初発は約1ヶ月早く、終結はほぼ同時期であった。第一のピークは2か月近く早い第4週で昨年(20.5人/定点)の約4倍の大きなピークであり、第二のピークは昨年と同じ第11週で同規模のものであった。累積患者数は昨シーズン3,868人に対し、今シーズン12,654人と約3.3倍であり、患者発生数が1位を占めた週も昨シーズン6週間(第8週~13週)に対し、今シーズンは13週間(第1週~13週)と長期にわたった。

②地域別(嶺北・嶺南)

患者発生動向調査の報告数を嶺北(25定点)、嶺南(7定点)に分けて図5に示す。

嶺北は初発が第47週であり、第51週あたりから増え始め、第一のピーク時の第4週には82.2人/定点となった。その後第11週には第二のピークがあり、29.8人/定点であった。嶺南は初発が第50週と遅れ、第1週から急激に増加し同じ第4週でピークとなり、57.0人/定点であった。第二のピークはあまりはっきりしないが第7週から第12週ころまでは減少することなく定点あたり10人を上回っていた。

ピーク時における患者数の比較では、昨シーズンは嶺北(24.5人/定点)が嶺南(6.3人/定点)の約4倍であったが、今シーズンは約1.4倍であり、地域による差はそれほどなかった。

③年齢階層

患者数を、その年齢および受診した週に区分して集計した(図6)。第4週には各年齢層でピークがあった。0~4才および5~9才では第11週にも明確な第二のピークがあったのに対し、10才以上では第13週ころまで減少はゆるやかだったもののピークはあらわれなかった。

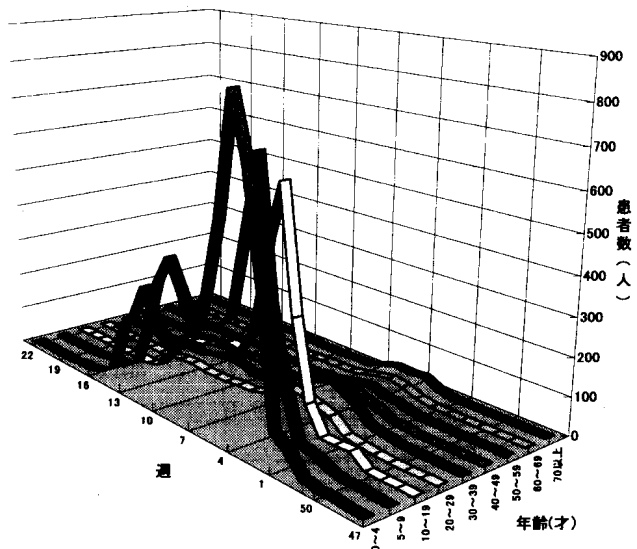


図6 年齢階層別受診患者数

4 考 察

今シーズン(2002/2003シーズン)のインフルエンザ流行は、集団発生、散発例ともに患者数は昨年を大きく上回り、3年ぶりの大きな流行となった。

過去2シーズンはAソ連型、A香港型およびB型の3型が流行したが、今シーズンはAソ連型は流行せず、A香港型とB型の流行であった。(表3)

表3 過去8シーズンに県内で流行したインフルエンザウイルス

シーズン	流行したウイルス型		
1995/1996	Aソ連型		
1996/1997		A香港型	
1997/1998		A香港型	
1998/1999		A香港型	B型(山形系とビクトリア系)
1999/2000	Aソ連型	A香港型	
2000/2001	Aソ連型	A香港型	B型(主流は山形系)
2001/2002	Aソ連型	A香港型	B型(主流はビクトリア系)
2002/2003		A香港型	B型(主流はビクトリア系)

発生動向調査によると、定点あたりの患者数は第4週と第11週に2つのピークがあった。小児科定点の検体のウイルス分離の結果から、前半のピークはA香港型、後半のピークはB型によるものであると推察できる。B型は昨シーズン同様Victoria系統が主流であり、山形系はごく少数であった。一般にA型インフルエンザは病原性、侵襲性が強く、流行拡大が一過性で早いのにに対し、B型はそれほどでなくA型の流行が消退する頃から流行することが多い。今シーズンもこの典型的なパターンであった。

1992/93年以降に分離されたA香港型のウイルスはニワトリ血球に低凝集性の株が多く⁵⁾、当センターでは通常のHA価測定はモルモット血球を用いて行っている。今シーズン分離されたA型ウイルスもニワトリ血球では凝集を示さず、モルモット血球を用いて同定した。一方、B型ウイルスはニワトリ血球とモルモット血球の両方に凝集を示したが、HI試験の際、モルモット血球では同定不能であり、ニワトリ血球を用いて同定した。

A香港型分離株については、ワクチン株であるA/Panama/2007/99(H3N2)と等価か2倍以内の変異の株が多かった。A/Panama/2007/99(H3N2)類似株は過去2シーズン県内で流行しているが、全国の調査で1:40以上の抗体保有率は5~19歳で60%前後、他の年代は20%前後であった⁶⁾。比較的規模の大きい流行となったのは、4歳以下または20歳以上の年代の抗体保有率の低さによるものと推測される。

B型については昨年主流のVictoria系統のB/Hong Kong/330/2001やB/Shandong/7/97類似株は、MDCK細胞分

離株の多くが、孵化鶏卵で増殖させたウイルスを抗原として作製したフェレット抗血清に対し低い反応性しか示さなかった。これはHA蛋白の197番目のアミノ酸残基の宿主に依存した糖鎖の付加が関係しており、従ってMDCK細胞分離株では標準株からの抗原性のズレの程度や流行株間での抗原性の多様性などは特定できなかった⁷⁾。今シーズンはこれをふまえ、従来の孵化鶏卵分離株を抗原とした抗血清に加え、MDCK分離株を抗原として作製したB/Kagoshima/11/2002抗血清が追加供給された。昨年に引き続き主流となったVictoria系統では、抗B/Kagoshima/11/2002に対する反応はホモ価に比べて等価か4倍以内のずれの株が多かった。

また山形系の株はシーズン後期に7株分離されたのみで、抗B/Hiroshima/23/01に対してホモ価に比べて2~8倍のずれであった。

集団発生の検体は、うがい液を検体としており、咽頭拭い液や鼻腔拭い液よりもウイルス検出率は低い。また、検体を採取した病日、採取方法、接種したときの細胞の状態などによってウイルス分離率は大きく異なる。本年も事例毎のウイルス分離率は11%~67%と差があった。これに比べて対血清の抗体価測定での陽性率は57~100%と高くなっている。昨シーズンではウイルス分離ができなかったが、対血清の検査で抗体価上昇を認め、原因ウイルスを推測できた例もあった⁸⁾。確実な原因究明のためには、対血清の抗体価測定をできるだけ行うことが必要である。また、それとともにRT-PCR法で咽頭ぬぐい液から感度よくインフルエンザウイルス遺伝子を検出する方法についても検討する必要がある。

5 ま と め

2002/2003シーズンの福井県のインフルエンザの検体からA香港型、B型の2型が分離された。流行の主流は前半はA香港型、後半はB型であった。

集団発生、散発例ともに患者数は昨年を大きく上回り、3年ぶりの大きな流行となった。

参 考 文 献

- 1) 根路銘国昭他：本邦におけるインフルエンザサーベイランスシステムにおける流行早期予測と対策，日本臨床，10，29-36(1997)
- 2) 菅谷憲夫：インフルエンザー最近の臨床の進歩一，ウイルス，52，47-53(2002)
- 3) 中村和幸、西沢修一：MDCK細胞浮遊液を用いたインフルエンザウイルスの分離，感染症誌，53(12)，698-703(1979)

- 4) 清水英明他：Nested-PCR法によるインフルエンザウイルスの検出，感染症誌，71，522-526 (1997)
- 5) 村上司他：大阪市内においてMDCK細胞にて分離したニワトリ血球低凝集性インフルエンザウイルスの性状，生活衛生，41 (1)，11-17 (1997)
- 6) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報，23 (12)，3 (2002)
- 7) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報，23 (11)，11 (2002)
- 8) 有定幸法他：2001/2002シーズンの福井県のインフルエンザ，福井県衛生研究所年報，40，48-51 (2002)