

資 料

2003/2004シーズンの福井県のインフルエンザ

中村 雅子・東方 美保・川畑 光政^{*1}・松本 和男・堀川 武夫

Epidemiological Studies of Influenza in Fukui Prefecture in 2003/2004 Season

Masako NAKAMURA, Miho TOHO, Mitsumasa KAWABATA, Kazuo MATSUMOTO, Takeo HORIKAWA

1 はじめに

今シーズンは高病原性トリインフルエンザH5N1ウイルスが日本を含む東アジア諸国の家禽の間で流行し、ベトナムやタイでは大量のウイルスによるトリからヒトへの直接感染例も確認された。現在のところこのウイルスの全遺伝子はトリ型であり、ヒト-ヒト感染が疑われる事例はあるものの確実な科学的根拠はない(WHOホームページ:Avian influenza A(H5N1)-update21)。しかし、将来ブタやヒト体内での遺伝子交雑によりヒト-ヒト感染を起こす新型ウイルスがいつ出現してもおかしくない状況である。

また、昨年世界中を震撼させた重症急性呼吸器症候群(SARS)の診断にあたっては、他の病因を除外する一次スクリーニング検査としてインフルエンザやその他の呼吸器系ウイルスとの鑑別検査も重要になる。

このような情勢の中、インフルエンザの病原体検査と患者情報のサーベランス体制の一層の強化と連携が求められている。近年医療機関においてはインフルエンザの迅速診断キットが普及し、昨シーズンからは従来のEIA法より迅速性にすぐれ、感度および特異度も良好なイムノクロマト法によるキット^{1) 2)}が多用されるようになった。これにより臨床サイドでのインフルエンザの診断が可能になったが、確実な鑑別や新型インフルエンザのパンデミックに備えるためには、あくまでも病原体を分離し、亜型の確認や抗原分析などの詳細な解析を行うことが必要である。

当センターでも、毎年県内の集団発生事例および散发事例の病原体分離と抗原性状の試験を行っており、この結果は国立感染症研究所に送られ、インフルエンザの流行予測およびワクチン株選定の資料となっている。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15年11月～平成16年4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(10事例53検体)および同患者対血清(5事例17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(4機関)からは、散发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10 μ g/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100 μ l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。

抗血清は、国立感染症研究所分与の抗A/Moscow/13/98(H1N1)、抗A/New Caledonia/20/99(H1N1)、抗A/Panama/2007/99(H3N2)、抗B/Shandong/7/97各フェレット感染血清および抗B/Johannesburg/5/99羊高度免疫血清を用い、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た後、試験に用いた。

2.4 ウイルス遺伝子の検索

ウイルス分離試験で陰性の検体の一部について、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。

*1 健康増進課

2. 5 血清検査

対血清はRDE処理および血球による吸収操作の後、0.5%ニワトリ血球を用いてHI抗体価をWHO推奨法で測定した。診断用抗原には国立感染症研究所分与のA/

Moscow/13/98(H1N1)、A/New Caledonia/20/99(H1N1)、A/Panama/2007/99(H3N2)、B/Shandong/7/97、B/Johannesburg/5/99各不活化ウイルス抗原を用いた。結果は8倍以上のHI抗体価上昇をもって陽性とした。

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 Caledonia/20/99(H1N1)	A/Panama/2007/99(H3N2)	B/Shandong/7/97	B/Johannesburg/5/99
1. K小学校(若狭)	11月26日	9			5	0/6 ¹⁾	0/6	0/6	2/6	5/6
2. D中学校(福井)	1月21日	5		2		NS ²⁾				
3. F高専(丹南)	1月28日	3		1		0/3	0/3	2/3	0/3	0/3
4. Si中学校(福井)	1月30日	4		2		NS				
5. Sa中学校(坂井)	1月30日	8		5		NS				
6. Sa中学校(丹南)	1月30日	3		1		0/3	0/3	3/3	0/3	0/3
7. Se小学校(奥越)	2月02日	7		6		NS				
8. N小学校(二州)	2月04日	4		1		0/1	0/1	1/1	0/1	0/1
9. T中学校(丹南)	2月10日	4		1		0/4	0/4	3/4	0/4	0/4
10. K中学校(奥越)	3月04日	6		2		NS				
計		53		21	5					

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。10事例中9事例からA香港型が、1事例から山形系のB型が分離された。

対血清の血清学的検査は、B型のウイルスが分離されたNo.1の事例はB/Johannesburg/5/99抗原に対し有意な抗体価上昇を示した。またA香港型のウイルスが分離された4事例(No.3,6,8,9)についてはA/Panama/2007/99(H3N2)抗原に対し有意な抗体価上昇を示し、いずれもウイルス分離の結果と一致した。事例毎のウイルス分離率は25~86%(平均49%)と事例により差があった。

3. 1. 2 ウイルス分離状況

前述の集団発生事例および県内の小児科医療機関(嶺北で3機関、嶺南で1機関)からの検体を含めたウイルス分離状況を図1に示す。全113検体中インフルエンザウイルスが分離されたのは59検体であった。その内訳はA香港型が47検体(79.7%)、B型が12検体(20.3%)であり、Aソ連型はなかった。B型はすべて山形系であった(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A香港型が96%、B型が4%でありB型は山形系であった。Aソ連型は3株が分離されたのみで流行はなかった)。分離陰性の54検体のうち、25検体についてはRT-PCR法による検出も試みたが、結果はすべて陰性であった。

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3週であり、A香港型であった。その後11週までA香港型のみが分離された。一方嶺南では、第48週および第52週にB型が分離された後、第2週から第11週まではA香港型が

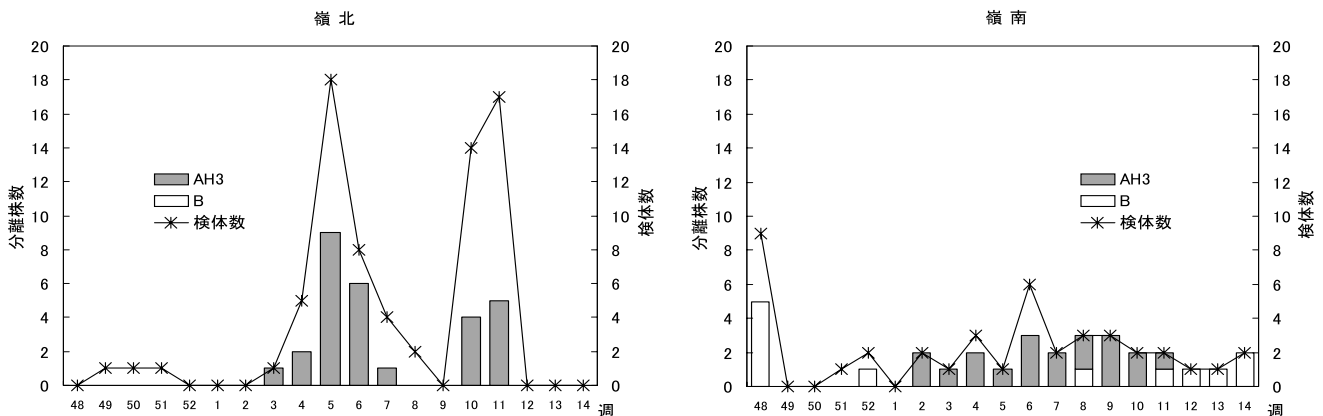


図1 小児科定点でのインフルエンザウイルス分離状況

主流であった。その間にもB型は少数分離され、第11週以降は再びB型のみが分離された。

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昨シーズンと同じくA/NewCaledonia/20/99 (H1N1), A/Panama/2007/99 (H3N2), B/Shandong/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

A(H3)型 (モルモット血球使用)				
HI価				分離数
A/Moscow /13/98 (H1N1)	A/New Caledonia /20/99 (H1N1)	A/Panama /2007/99 (H3N2)	A/Kumamoto /102/02 (H3N2)	
(ホモ価)				
1280	320	640	2560	
<10	<10	80	640	1
			1280	1
<10	<10	160	1280	4
			2560	1
<10	<10	320	640	5
			1280	15
			2560	6
<10	<10	640	1280	10
			2560	4
計				47

B型 (ニワトリ血球使用)		分離数
HI価		
B/Shandong /7/97	B/Johannesburg /5/99	
(ホモ価)		
160	2560	
<10	640	1
<10	1280	10
10		1
計		12

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が4倍以上の株も7株(17%)あった。B型はすべてワクチン株とは異なる山形系の株であり、抗B/Johannesburg/5/99に対してホモ価に比べて2倍以内のずれであった。

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・高等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、嶺南で平成15年11月27日(第48週)に小浜市立国富小学校で1年生を学年閉鎖(対象となる在籍者数24名、患者数20名、うち欠席者数13名)にしたのが初発である⁵⁾。嶺南ではその後第4週から第10週までに7件の発生があった。嶺北の初発は第4週で平成16年1月20日福井市の大東中学校2年生の1組が学級閉鎖(対象となる在籍者数35名、患者数26名、うち欠席者数16名)となった。その後は第6週の13件をピークに第10週までに合計30件の発生があった。嶺北・嶺南とも第11週以降は発生はなかった。

集団発生施設数は37施設、総患者数1,200人、総欠席者数593名であり、流行規模は比較的大きな流行であった昨年と比較すると施設数、患者数ともに約3分の1であった。

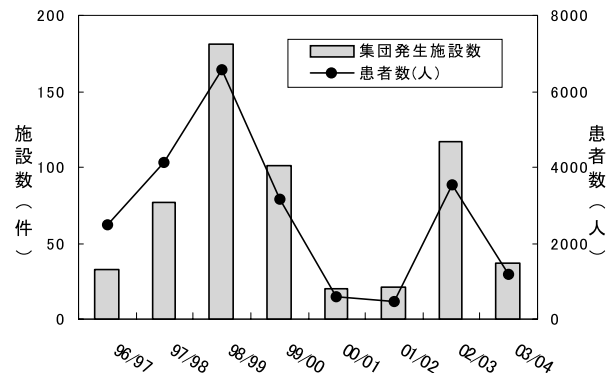


図3 集団発生の経年変化

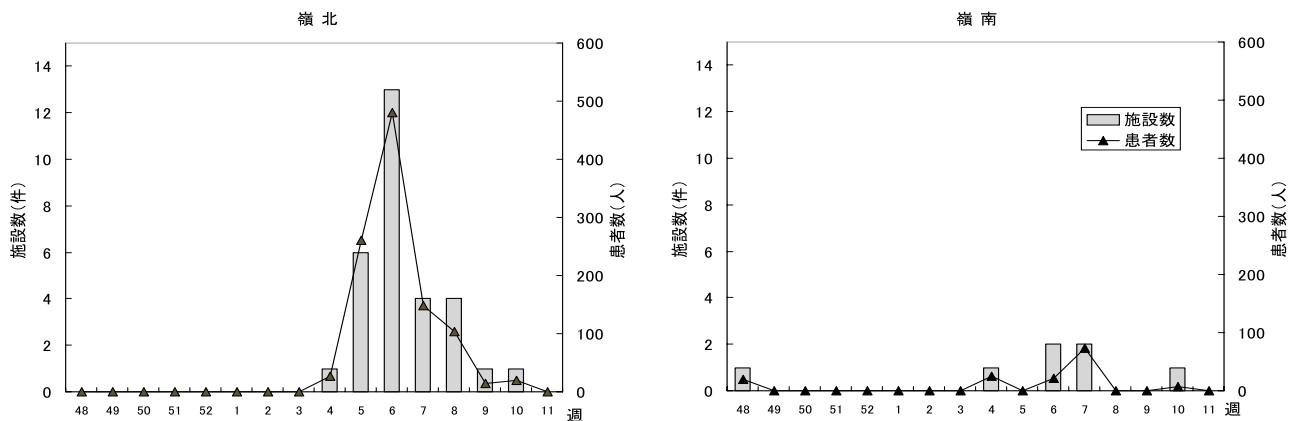


図2 学校などでの集団発生状況

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15年12月15日から始まる第51週から報告がみられ、1月中旬の第3週からゆるやかに増加し、2月中旬の第7週にピークに達した。その後は緩やかに減少し、4月上旬の15週には定点あたり1人未満となりほぼ終結した。

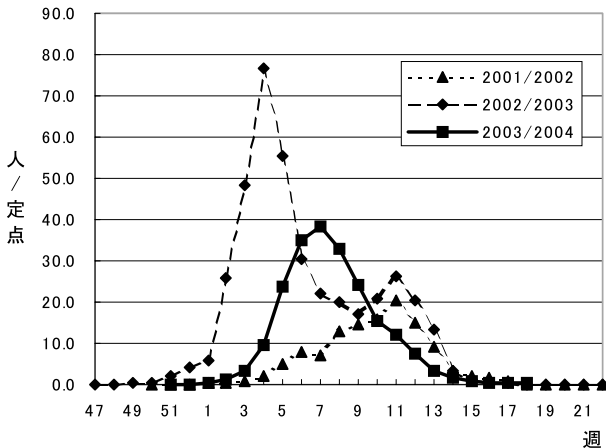


図4 発生動向調査における
インフルエンザ様疾患患者数

昨シーズンと比較すると、初発は約1ヶ月遅く、終結はほぼ同時期であった。ピークは1か月近く遅い第7週で、ピーク時の患者数は昨シーズン（76.7人/定点）の約半分の38.3人/定点であった。累積患者数は昨シーズン12,654人に対し今シーズン6,743人と約半分であり、患者発生数が1位を占めた週は昨シーズン13週間（第1週～13週）に対し今シーズンは6週間（第5週～10週）であった。

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51週であり、第2週あたりから増え始め、ピーク時の第7週には44.4人/定点となった。その後はほぼ順調に減少した。嶺南は初発は第2週であり、第6週でピークとなり、21.1人/定点であった。その後は徐々に減少したが第7週から第9週ころまでは減少が鈍る時期があった。

ピーク時における患者数を比較すると、嶺北は嶺南の約2倍であった。

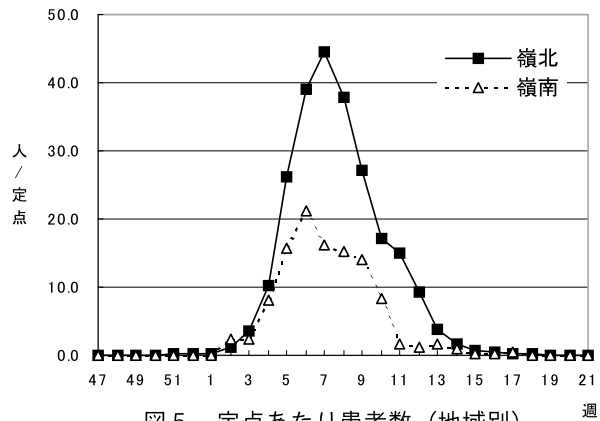


図5 定点あたり患者数（地域別）

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）。累積患者数は0～4才が最も多く、ついで5～9才と10～19才がほぼ同数であった。ピークの時期は各年齢層で少しばらつきがあったが、第7週前後であった。

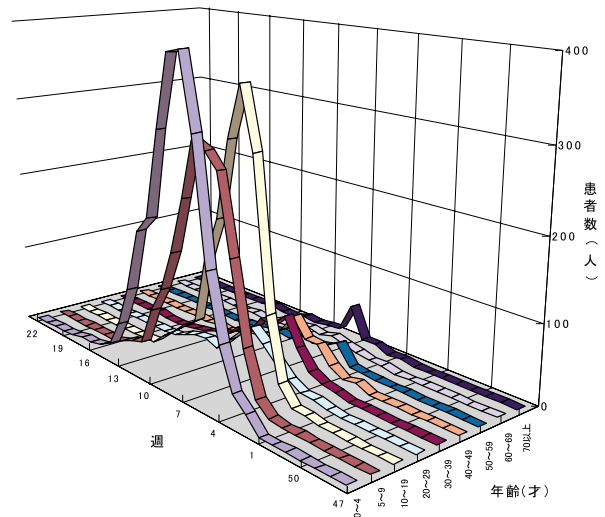


図6 年齢階層別受信患者数

4 考 察

今シーズン（2003/2004シーズン）のインフルエンザ流行は、3年ぶりの大きな流行であった昨年と比較すると集団発生の施設数で約3分の1、散発例も含めた累積患者数で約半分の規模であった。流行した型は、昨シーズンに引き続きA香港型とB型であったが、B型については過去2シーズン主流であったビクトリア系の株は分離されず、山形系のみであった。Aソ連型は流行しなかった。

インフルエンザ様疾患集団発生の初発は、例年より2ヶ月近く早い第48週であった。起因ウイルスはB/Johannesburg/5/99類似ウイルスで、このウイルスが属する山形系統の株は今シーズンのワクチンには含まれておらず、同じ系統

のB/Shanghai/44/2003に対する抗体保有率はどの年代も低く、家族内感染も認められたことから流行の拡大が懸念された。しかし、幸いこの事例に続くB型の集団発生はなく、発生動向調査による患者報告も第51週までなかった。これはこの地区が独立した集落であったことも一因であるが、ウイルスの侵襲性が弱く流行が広がりにくかったのかもしれない。学校でのB型の集団発生事例は今シーズンは全国でも数少なく、この事例の他には4月下旬になってから名古屋市で同じB/Johannesburg/5/99類似ウイルスによる事例が1例報告されたのみである⁶⁾。この場合にも地域でのインフルエンザ患者数の報告は増加がみられず流行が広がるとはなかった。

発生動向調査によると、定点あたりの患者数は6～7週にピークを迎え、小児科定点の検体などのウイルス分離の結果からこのころはA香港型が流行していたと思われる。その後減少に転じるが、嶺南地方では第7週から第9週にかけて減少が鈍る時期があった。このころ以降の嶺南の検体からB型が分離されており、B型の小さい流行が加わったのではないかと推察される。嶺北地方については医療機関の情報によるとこのころやはりB型の患者が多かったとのことであるが、定期的なサンプルがなかったため分離による確認はできなかった。

A香港型は福井県では8シーズン続けての流行となった。分離された株はワクチン株であるA/Panama/2007/99(H3N2)類似株であったが、4倍以上の変異株が47株中7株(17%)あった(昨シーズンは10%⁷⁾)。A/Panama/2007/99(H3N2)株に対しては、近年全国的に4倍以上の抗原変異をした株の割合が増えてきている。感染研で行なっている他の抗血清も加えた詳細な解析によると変異株の占める割合は昨シーズンで58%であり⁸⁾今シーズンもさらに増加している。福井県でも割合は低いものの今シーズンは昨シーズンよりも増えており、嶺北地方の中学校での集団発生の検体から分離されたウイルスは4～8倍の抗原変異を起こしていた。

A/Panama/2007/99(H3N2)株は2000/01シーズンから3シーズン連続してワクチン株に使用されており、昨年の大きな流行の影響を受けて、1:40以上の抗体保有率は過去2年間と比較すると0-9歳群を除いて最も高かったが、0-4歳群および成人層についてはまだ充分とは言えない状況にある(全国の調査⁹⁾による)。変異株の割合が増えていることもあり、来シーズン以降もその動向に注意が必要である。

嶺南地方で検出されたB型は、ほとんどが山形系のB/Johannesburg/5/99に対し2倍以内のずれであり、HI試験で比較した限りでは前述の集団発生の検体からの分離株とシーズン後期の株とでは抗原性状に差はみられていない。このことから同じウイルスが同地域にずっと潜伏していた可能性がある。しかしB型はA型に比べ一般的に病原性、侵襲性が弱いため、A型の流行があるうちは流

行することができずA型の消退を待つて再び現れたと考えられる。山形系の株は昨シーズンも後期に少数分離されていたが、これは同じ山形系でもB/Johannesburg/5/99とは抗原的に大きく異なるB/Hiroshima/23/01類似株であった。これらの株も含め今後詳細な遺伝子解析をおこなって、流行の実態を明らかにしていきたい。

5 ま と め

2003/2004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A香港型であり、B型は初期と後期に少数分離された。

集団発生、散发事例ともに中程度の規模の流行であった。

参 考 文 献

- 1) 山崎雅彦他：イムノクロマトグラフィー法によるインフルエンザ迅速診断キットの臨床的検討，感染症誌，75(12)，1047-53(2001)
- 2) 三田村敬子他：イムノクロマトグラフィー法によるインフルエンザ迅速診断キットの評価，インフルエンザ，3(2)，35-39(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) 中村雅子他：集団かぜからのB型インフルエンザウイルスの分離，病原微生物検出情報，25(8)，8(2004)
- 6) 後藤則子他：集団かぜからのB型インフルエンザウイルスの分離—名古屋市，病原微生物検出情報，25(6)，15(2004)
- 7) 中村雅子他：2002/2003シーズンの福井県のインフルエンザ，福井県衛生環境研究センター年報，1，126-131(2003)
- 8) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報，24(11)，3(2003)
- 9) 国立感染症研究所：2003/2004シーズンインフルエンザHI抗体保有状況調査速報最終報，感染症情報センターホームページ