

山梨県におけるインフルエンザウイルスの検出状況 (2011/2012 シーズン)

三橋 加世子 大沼 正行

Detection of Influenza virus from Patients in Yamanashi Prefecture

Kayoko MITSUHASHI, Masayuki OONUMA

キーワード : インフルエンザウイルス, 抗体調査, 重複感染, 抗原性

インフルエンザウイルスは、オルソミクソウイルス科に属し、主に冬季に急性呼吸器感染症を引き起こすウイルスである。主な症状として、発熱、上気道炎、頭痛、全身倦怠感、筋肉痛である。インフルエンザウイルスは抗原変異を起こすため、流行の程度、ピーク、また検出される型がその年によって異なってくる。

インフルエンザパンデミックは過去数十年に一度発生しており¹⁾、新型インフルエンザとして高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)が危惧されていた中、2009年4月にアメリカ、メキシコで確認された新型インフルエンザ(AH1N1)の流行が世界的に起こり、その後本県でも流行が見られた。平成23年4月1日には季節性インフルエンザ対策へと移行がされ、名称も「インフルエンザ(H1N1)2009」となった²⁾。しかしながら、鳥インフルエンザ A(H5N1)型による人への感染例がアジア地域を中心に発生している³⁾ことから、これを原因とした新型インフルエンザの発生も危惧されている。

当所では、感染症流行予測調査事業として人におけるインフルエンザウイルスの抗体調査を行っている。また、医療機関で採取された検体からウイルス分離、遺伝子検出を行っている。さらに分離株については抗原性、薬剤耐性の性状について検討している。本報では、山梨県における2011/2012 シーズン前の抗体保有調査とシーズンにおけるインフルエンザウイルスの検出状況、抗原性について報告する。

材料および方法

1. 抗体保有調査

平成23年7月から8月にかけて採血された、県内176名の血清について、定法⁴⁾に従い赤血球凝集抑制(HI)試験により以下の4種類のインフルエンザウイルス株に対するHI抗体価を測定し、シーズン前における抗体保有状況を調査した。

A/カリフォルニア/7/2009[A(H1N1)pdm09 亜型]
A/ヒクトリア/210/2009[A(H3N2)亜型(A 香港型)]
B/ブリスベン/60/2008[B型(ヒクトリア系統)]
B/ウィスコンシン/1/2010[B型(山形系統)]

調査対象は、調査目的に同意した県内の健康住民176名(5~9歳:23名、10~14歳:20名、15~19歳:23名、20~29歳:22名、30~39歳:22名、40~49歳:22名、50~59歳:22名、60歳以上:22名)である。

2. ウイルス検出状況

2011年10月から2012年5月にかけて、県内医療機関や集団発生時の患者から採取された咽頭拭い液、鼻腔拭い液を対象とし、遺伝子検査とウイルス分離を実施した。遺伝子検査は病原体検出マニュアル「H1N1 新型インフルエンザ」のリアルタイム RT-PCR 法により行った。ウイルス分離は、国立感染症研究所より分与して頂いた MDCK 細胞を用いて行った。検体を細胞に接種・培養後、細胞

変性効果 (CPE) の出現を観察した。CPE が出現しなかったものについては、3 代まで継代した。分離されたウイルスは国立感染症研究所分与の 2011/2012 シーズン用インフルエンザウイルス同定キットを用いて赤血球凝集抑制 (HI) 試験により同定した。

結果および考察

1. 抗体保有調査

1) A/カリフォルニア/7/2009[A(H1N1)pdm09 亜型]株に対する抗体保有率

本ウイルスは、2009年に世界的に流行が始まったインフルエンザの原因ウイルスであり、2010/2011シーズンは季節性インフルエンザワクチン株の一つとして用いられた。2010/2011シーズンのA(H1N1)pdm分離株の多くが本ウイルス株と抗原性が類似していたことから、2011/2012シーズンも昨シーズンと同じ本ウイルス株が採用された。

このウイルスに対し40倍以上の抗体を保有していたのは5～19歳で69～90%と高かった一方、20～29歳や40歳以上の年齢群ではおよそ30%以下と低かったため、ワクチン接種を受けるなど流行に備える必要があった。

2) A/ビクトリア/210/2009[A(H3N2)亜型(A香港型)]株に対する抗体保有率

本ウイルスは、WHOのワクチン推奨株A/パース/16/2009の類似株であり、2010/2011シーズンのワクチンに用いられた株である。2010/2011シーズンのA(H3N2)分離株の多くが本ウイルス株と抗原性が類似していたことから、2011/2012シーズンも引き続きワクチン株に採用された。

このウイルスに対し40倍以上の抗体を保有していたのは10～19歳で65%と高かったが、5～9歳、20～29歳、40～59歳の年齢群では18～39%と低かったため、感染防御のためにはワクチン接種が必要であると考えられた。

3) B/ブリスベン/60/2008[B型(ビクトリア系統)]株に対する抗体保有率

B型ウイルスは1980年代後半からビクトリア系と山形系の2つのグループに分類されている。2010/2011シーズンの分離株は本ウイルス類似株

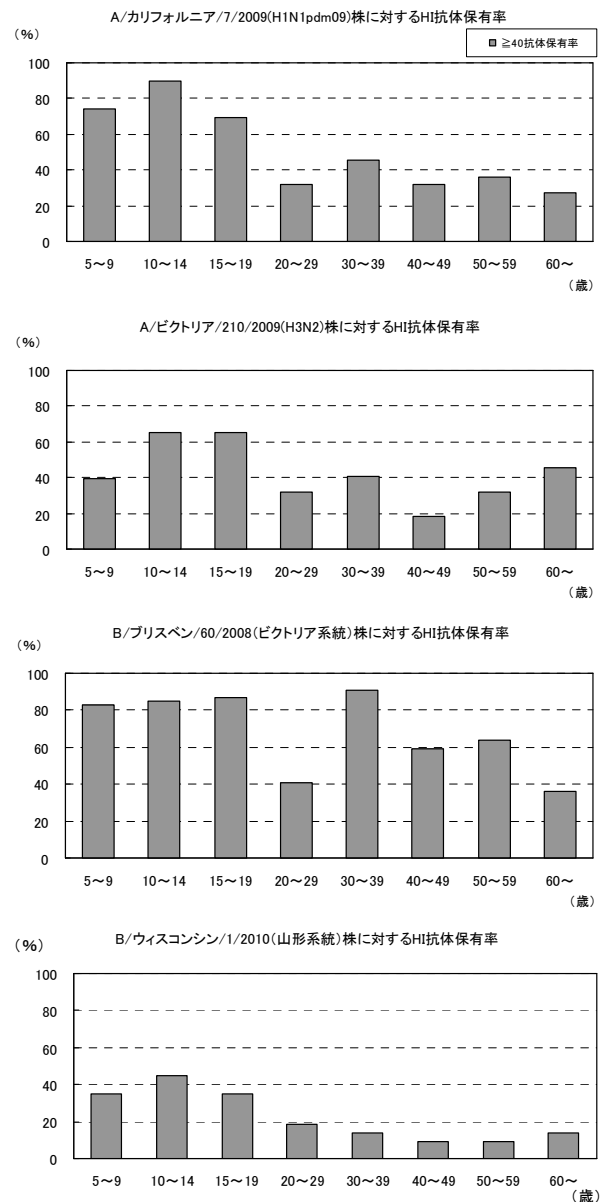


図 1. インフルエンザウイルス株に対する抗体保有状況

が大半を占めていたため、ワクチン株として 2008/2009 シーズンから選定されている本ウイルス株が採用された。

本ウイルスに対する 40 倍以上の抗体保有率は、5～19 歳、30～39 歳の年齢群で 82～90%程度と非常に高く、すべての年齢群における平均抗体保有率は 68.2%と本調査で使用した 4 株中最も高い抗体保有率であった。50～59 歳の年齢群でも 63.6%と高かったが、60 歳以上の年齢層では 36%と低かった。

4) B/ウィスコニン/1/2010[B 型(山形系統)]株に対する抗体保有率

本ウイルスは、今シーズンのワクチン株とは別系統のB型インフルエンザウイルスであり、山形系統の代表として調査に用いた。

このウイルスに対する40倍以上の抗体保有率は、10～14歳の年齢群で45%と最も高く、その他年齢群では35%以下と低かった。すべての年齢群における平均抗体保有率は22.2%と、本調査で使用した4株中最も低い抗体保有率であった。

2. ウイルス検出状況

シーズン中に採取された226検体中178検体からインフルエンザウイルスが検出された。内訳はA(H1N1)pdm09型1検体、A(H3)型129検体、B型47検体、A(H3)型とB型の重複感染1検体であった(図2)。

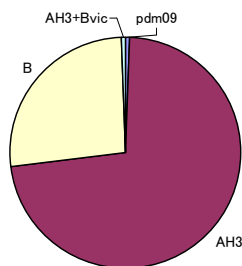


図2. インフルエンザウイルス検出内訳

第43週にB型が検出された以降は年内の検出はなく、年明け第1週からA(H3)型とB型が検出された。全国のデータ⁵⁾と同様第3週をピークにA(H3)型が多く検出された。第8週以降はB型が検出数の5割を占めるものも、A(H3)型の検出も見られた(図3)。

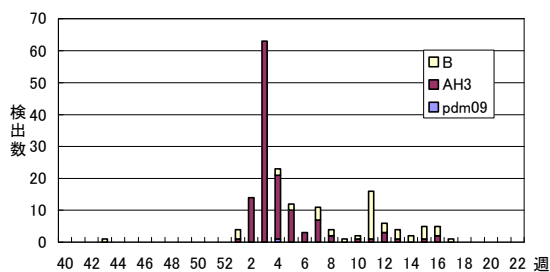


図3. 週別インフルエンザウイルス検出状況

A(H3)型とB型の重複感染例は、2012年2月16日に採取された検体であり、定点医療機関が行った簡易キット検査によりA型B型両方に陽性反応があった。当所で臨床検体のリアルタイムRT-PCR法を実施したところ、A(H3)型とB型両方に陽性であった。ウイルス分離では1代目でCPEが観察され、HI試験を実施したところ、B/ブリスベン/60/2008(ビクトリア系統)抗血清に対してのみ明瞭な凝集抑制が観察された。また、リアルタイムRT-PCR法でもB型のみ陽性であった。しかし、臨床検体の簡易キット検査とリアルタイムRT-PCR法両方でA型B型が陽性であったことから、ウイルスの分別分離を試みた。HI試験に用いたA/ビクトリア/210/2009とB/ブリスベン/60/2008抗血清を使用し、CPEが確認された1代目培養上清の10倍希釈系列と反応させた後、MDCK細胞に再度接種した。A/ビクトリア/210/2009抗血清処理とB/ブリスベン/60/2008抗血清処理の検体ともにCPEが観察され、HA価が256倍と32倍あったことからHI試験を実施したところ、A/ビクトリア/210/2009抗血清処理の検体ではB型ビクトリア系統株、B/ブリスベン/60/2008抗血清処理の検体ではA(H3)型と同定された。昨シーズンも重複感染例が報告⁶⁾されており、ウイルス分離のみでは単独の型しか分離されず重複感染を見逃してしまうことから、発生動向で複数の型が流行している時期は、簡易キットやリアルタイムPCR法を併用して検査を進めていく必要があると思われる。

昨シーズン検出されていたA(H1N1)pdm09型が今シーズンは1検体のみの検出であり、全国的にもほとんど検出されていない⁴⁾。その理由の一つとして、シーズン前のA(H1N1)pdm09型に対する低年齢層の抗体保有が高かったことが考えられた。

分離されたウイルス株95検体の抗原性を調べたところ(表1)、A(H3)型は51検体数28検体(54.9%)でホモ価と比較して8倍以上の差であり、HI価が低下していた。B型はビクトリア系統株で34検体中29検体(85.3%)でホモHI価と比較して4倍以内の差でワクチン類似株であったが、5検体(14.7%)が8倍以上の差であった。山形系統株は10検体中8検体(90.4%)が4倍以内の差であったが、2検体(9.6%)が8倍以上の差であった。

表1. 分離ウイルスとワクチン株、代表株との抗原比較

分離ウイルス	株数	抗血清	分離株HI価とホモ価との差異			
			4倍以内	%	8倍以上	%
AH3亜型	51	A/ビクトリア/210/2009	23	(45.1%)	28	(54.9%)
B型	34	ビクトリア系統 B/ブリスベン/60/2008	29	(85.3%)	5	(14.7%)
	10	山形系統 B/ハングラディシュ/3333/2007	8	(80.0%)	2	(20.0%)

まとめ

1. シーズン前のインフルエンザウイルスに対する抗体保有調査では、B型ビクトリア系統で比較的高く、A香港型、B型山形系統で低い傾向があった。A(H1N1)pdm09型では低年齢層に高い抗体保有率が見られた。
2. シーズン中のインフルエンザウイルス検出状況は、A(H3)型が一番多く、次いでB型であった。また、A(H3)型とB型の重複感染例が1検体あった。流行時期は年明けにA(H3)型が主流となったが、B型も検出されており、A(H3)型とB型の混合流行であった。
3. 重複感染例は、簡易キット、リアルタイムRT-PCR法を併用して検出することが可能であった。
4. 分離されたA(H3)型の約半数で、ワクチン株と類似しておらず、抗原性の変化が見られた。

最後に、MDCK細胞を分与していただきました、国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターの皆様方に深謝いたします。

参考文献

- 1) 押谷仁：インフルエンザパンデミック(H1N1)2009を考える、ウイルス, **59**(2), 139-144(2009).
- 2) 厚生労働省：新型インフルエンザ(A/H1N1)に係る季節性インフルエンザ対策への移行について
- 3) WHO: Cumulative number of confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) reported to WHO
- 4) 厚生労働省：感染症流行予測調査事業検査術式(2002).
- 5) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報(IASR), インフルエンザウイルス分離・検出速報2011/2012シーズン.
- 6) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報(IASR), 2010/2011シーズンに経験したAH3亜型およびB型ウイルスによる重複感染例ー埼玉県, **32**(11), 331, 2011.