

# 1999/2000シーズンの山梨県における インフルエンザの流行

町田 篤彦 山上 隆也 小沢 茂 井上 利男\*<sup>1</sup>  
小松 史俊\*<sup>2</sup> 武井 治郎\*<sup>3</sup> 金丸 豊子\*<sup>4</sup>

Prevalence of Influenza Occured in Yamanashi  
Prefecture in 1999/2000 Season

Atsuhiko MACHIDA, Takaya YAMAGAMI, Shigeru OZAWA,  
Toshio INOUE, Fumitoshi KOMATSU, Jiroh TAKEI  
and Toyoko KANEMARU

インフルエンザはインフルエンザウイルスが空気感染あるいは飛沫核感染することにより起こる急性呼吸器感染症で高度の発熱、頭痛、腰痛、筋肉痛、全身倦怠感などの全身症状が現れ、これらの症状と同時にあるいはやや遅れて鼻汁、咽頭痛、咳などの呼吸器症状が現れる。高齢者、妊婦、乳幼児がインフルエンザに罹患すると肺炎の併発および脳炎、脳症の発生などにより重篤になりやすく時に死亡することもある。

インフルエンザウイルスは直径 100nm の RNA ウィルスで A 型、B 型、C 型に分類される<sup>1)</sup>。A 型はさらにウィルスの表面にある 2 種類の突起 (ヘムアグルチニン; H, ノイラミニダーゼ; N)<sup>2)</sup> の抗原亜型の組合わせからソ連型 (H1N1), アジア型 (H2N2), 香港型 (H3N2) 等に分類される。典型的な症状を示すインフルエンザの流行は A 型および B 型のウイルスによって起こるが A 型ウイルスは 10~40 年周期の不連続的抗原変異<sup>3)</sup> により新型のウイルス (それまでの流行株と異なった H と N の組合わせを持つ) が出現し世界的な大流行を起こしてきた。また小規模な連続的抗原変異により中規模以下の流行も起こしてきた。近年のわが国では A ソ連型, A 香港型, B 型が交互にあるいは混合で流行を引き起こしており、山梨県においては 1997/1998 シーズンには A 香港型 72 株, B 型 4 株, 1998/1999 シーズンには A ソ連型 1 株, A 香港型 54 株, B 型 72 株のインフルエンザウイルスが分離されておりいずれのシーズンも混合流行であった<sup>4)</sup>。今回、我々は 1999/2000 シーズンの前に山梨県住民の血中抗体価を測定してインフルエンザウイルスに対する感受性を調べることにより来たるシーズンでの流行を予測し、またシーズン中には山梨県のインフルエンザ様疾患患者からインフルエンザウイルスを分離しその流行状況を調べたのでこれらの結果について報告する。

## 材料と方法

### 1. インフルエンザ感受性調査

インフルエンザ感受性調査は 1999 年 8 月から 9 月にかけて検査目的の使用を承諾した山梨県住民から採血した 250 人の血清 (各年齢層は 9~46 人) について、4 種類のインフルエンザウイルス株に対する赤血球凝集抑制 (HI) 抗体価を測定することにより行った。HI 反応はインフルエンザウイルス抗原として A/北京/262/95 (H1N1, 本年度を含めて 3 シーズンのワクチン株), A/シドニー/5/97 (H3N2, 昨年度と本年度のワクチン株), B/山東/7/97 (本年度のワクチン株) と B/山梨/166/98 (昨シーズンの B 型インフルエンザ流行株) の 4 株を、また赤血球として 0.7% モルモット赤血球を用いてマイクロプレート法<sup>5)</sup> で行った。被検血清は RDE 処理、非働化後モルモット赤血球で吸収して本試験に用いた。HI 抗体陽性の最低血清希釈倍数を 10 倍、感染防御能があると考えられる血清希釈倍数を 40 倍として、10 倍以上抗体保有率、40 倍以上抗体保有率をもとめた。

### 2. インフルエンザウイルスの分離と同定

ウイルス分離は患者から採取した咽頭拭い液を MDCK 細胞<sup>6)</sup>, CaCo-2 細胞<sup>7)</sup> に接種して 34°C で 7 日間培養後 2 代目継代培養を 7 日間行った。なお CaCo-2 細胞の維持培地には 0.1% 牛血清アルブミンを加えたイーグル MEM 培地を使用した。MDCK の維持培地には、さらに最終濃度 4  $\mu$ /ml のトリプシン (type III) を添加した。培養の間、細胞変性効果 (CPE) を観察したが最終的には 0.7% モルモット血球を用いて培養液の赤血球凝集 (HA) 反応を行って判定した。HA 反応陽性のものは国立感染症研究所から分与されたフェレット抗血清 (感受性調査に用いた 4 種のインフルエンザウイルス株に対する抗

\* 1 : 井上内科・小児科医院      \* 2 : 小松小児科医院  
\* 3 : 武井こどもクリニック      \* 4 : 山梨県立中央病院

清)を用いた赤血球凝集抑制 (HI) 反応<sup>8)</sup>をおこない型別判定を行った。

## 結果と考察

### 1. インフルエンザ感受性調査

山梨県住民の1999/2000シーズン前の4種類のインフルエンザウイルス株に対する抗体保有状況を調べることによりインフルエンザ感受性調査を行った。その結果を表1に示し概要を以下に記した。

#### (1) インフルエンザウイルスA(H1N1) ソ連型に対する抗体保有状況

A/北京/262/95株は本年度を含めて3シーズンのワクチン使用株である。A(H1N1)型はここ数年散発的に分離されているが流行の主体とはなっていない。そのため年々抗体保有率は低下してきており全年齢の10倍以上抗体保有率は42.0%、40倍以上抗体保有率は6.8%であった。特に5歳未満と20歳以上の年齢層では保有率が低いのでA(H1N1)の流行に対する注意が必要と考えられた。

#### (2) インフルエンザウイルスA(H3N2) 香港型に対する抗体保有状況

A/シドニー/5/97株は昨年度と今年度のワクチン使用株である。過去2シーズンに亘って流行の主体となってきたため全年齢で10倍以上抗体保有率は88.0%、40倍以上抗体保有率は44.4%と高い抗体保有率を示していた。本株類似ウイルスが今シーズンも流行の主体であれば大きな流行にはならないことが予想された。

#### (3) インフルエンザウイルスB(山東)型に対する抗体保有状況

B/山東/7/97株は本年度のワクチン使用株である。昨シーズンまで使用されてきたB/三重/1/93とは抗原が異なる。本株はビクトリア系統に属し、従来散発的に分離されてきた。本株に対する抗体保有率は15~19歳層が10倍以上抗体保有率が77.1%、40倍以上抗体保有率は37.1%と若干高いものの、全年齢で10倍以上抗体保有率は41.2%、40倍以上抗体保有率は8.8%と低くB(山東)型の流行に対する注意が必要と考えられた。

#### (4) インフルエンザウイルスB(山梨)型に対する抗体保有状況

B/山梨/166/98株は昨シーズン流行したB型インフルエンザ流行株のなかのB/ハルピン/7/94系統株の代表として本年度の調査に用いた。全年齢で10倍以上抗体保有率は52.8%、40倍以上抗体保有率は6.0%と低く

B(山梨)型の流行に対する注意が必要と考えられた。

### 2. インフルエンザ様疾患患者発生状況

山梨県感染症サーベイランス患者情報(1997/1998シーズン、1998/1999シーズン)および感染症発生動向調査患者情報(1999/2000シーズン)の1定点医療機関当たりの週別インフルエンザ様疾患患者報告数の推移について図1に示した。

1997/1998シーズンは一峰性で短期間の爆発的流行で患者報告数の累計は8,185人であったのに比較して1998/1999シーズンは二峰性を示し比較的長期的な緩やかな流行であり患者報告数の累計は10,316人であった。

1999/2000シーズンの初めての報告は第49週に1定点医療機関当たり0.82人であった。その後、第1週から次第に増加し1997/1998シーズンのピーク(第6週)と1998/1999シーズンのピーク(第3週)の間の第5週で前2シーズンより低い定点率(34.83人)の小さいピークを示した後減少した。本シーズンの患者報告数の累計は5,899人でここ3シーズンで最も小さい流行であった。

### 3. インフルエンザウイルス分離状況

#### (1) 分離インフルエンザウイルスの株数と型別

最近3シーズンに分離されたインフルエンザ株の型別とその数を表2に示した。1999/2000シーズンに分離されたインフルエンザウイルスは散発例、集団発生例を含めて90株であり、A(H1)株63株、A(H3)株27株であった。A(H1)株は1997/1998シーズンには分離されておらず、翌1998/1999シーズンでも1株分離されたに留まった。このためか、このシーズン後のインフルエンザ感受性調査での抗A(H1)型抗体保有率は低く、1999/2000シーズンでのA(H1)株によるインフルエンザの流行が危惧された。事実、1999/2000シーズンのインフル

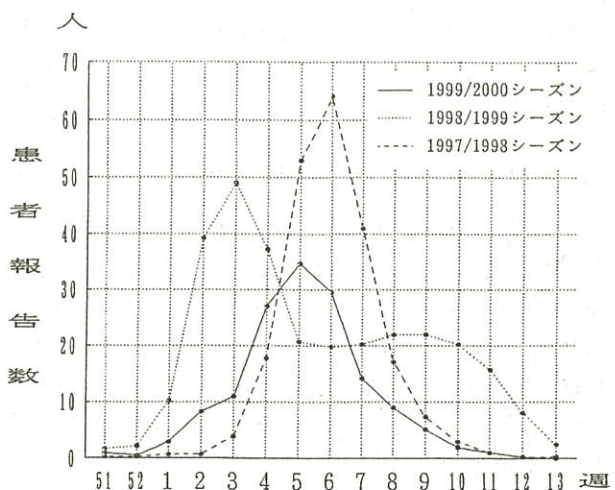


図1 インフルエンザ様疾患の一定点医療機関当たりの週別患者報告数の推移

表1 1999/2000 インフルエンザシーズン以前における山梨県住民の  
各種インフルエンザウイルス株に対する赤血球凝集抑制 (HI) 抗体の保有状況

年 齢 層 (歳)	H 1 抗 体 保 有 率 (%)							
	抗 A/北京/262/95 (H1N1) 抗体価		抗 A/シドニー/5/97 (H3N2) 抗体価		抗 B/山東/7/97 抗体価		抗 B/山梨/166/9 抗体価	
	10倍以上	40倍以上	10倍以上	40倍以上	10倍以上	40倍以上	10倍以上	40倍以上
0～4	0	0	66.7	55.6	0	0	22.2	0
5～9	47.8	17.4	95.7	82.6	34.8	4.3	43.5	4.3
10～14	71.4	14.3	100	71.4	35.7	0	92.9	0
15～19	71.4	20.0	91.4	68.6	77.1	37.1	85.7	31.4
20～29	17.2	3.4	96.6	24.1	65.5	6.9	48.3	0
30～39	18.5	0	92.6	37.0	55.6	7.4	63.0	0
40～49	54.1	5.4	94.6	37.8	18.9	5.4	59.5	5.4
50～59	46.7	0	90.0	26.7	11.1	0	46.7	0
60～	32.6	2.2	67.4	30.4	41.3	4.3	21.7	2.2
全年齢層	42.0	6.8	88.0	44.4	41.2	8.8	52.8	6.0

エンザ様疾患患者から A(H1) 型ウイルスが高い割合で分離されこの型のインフルエンザウイルスによる流行が見られた。

インフルエンザ感受性調査での抗 A(H3) 型抗体保有率は 1998/1999 シーズン前および 1999/2000 シーズン前で 10 倍抗体保有率が各々 46.8%, 88.0%, 40 倍抗体保有率が各々 21.2%, 44.4% と高かったが、いずれも前シーズンに A/シドニー/5/97 類似株が流行したことを反映したものと考えられた。本 A(H3) 株に対する抗体保有率が高いため大きな流行は起こらずこのウイルス分離株数は年々減少してきているものと考えられた。

1998/1999 シーズンには B 型インフルエンザの流行が見られ 72 株が分離されたが 1999/2000 シーズンには 1 株も分離されずその流行は見られなかった。これは前シーズンの流行により抗 B 抗体保有率が高まったためと推測された。

## (2) 週別インフルエンザウイルス分離状況

1999/2000 シーズンの週別インフルエンザウイルス分離状況を表 3 に示した。第 50 週 (1999 年 12 月) に今シーズン初めてインフルエンザ様疾患患者から A(H3) 香港型と A(H1) ソ連型インフルエンザウイルスがほぼ同時に分離された。その後、第 4 週から第 5 週 (2000 年 1 月下旬～2 月上旬) にピークをもつ山が見られ第 11 週 (3 月中旬) まで分離された。型別にみると A(H3) 型は第 50 週から第 7 週 (12 月中旬～2 月中旬) にかけて 27 株分離され、ピークとなった第 1～2 週 (1 月上旬) には 10 株分離された。一方、A(H1) 型は第 50 週から

表2 インフルエンザシーズンに分離された  
インフルエンザウイルス型の比較

シーズン	分離インフルエンザウイルス株数		
	A(H1) 型	A(H3) 型	B 型
1997/1998	0	72	4
1998/1999	1	56	69
1999/2000	63	27	0

第 11 週 (12 月中旬～3 月中旬) にかけて長期間に亘り 63 株が、特に第 3 週から第 6 週 (1 月下旬～2 月上旬) にかけてのピーク時には 38 株分離された。以上の様に、1999/2000 シーズンには A(H1) 型および A(H3) 型がほぼ同時に最初に分離され、以後並行して両株とも分離されたが A(H3) 型のピークに遅れて A(H1) 型のピークが現れた。昨シーズン流行した B 型は今シーズンは分離されなかった。

## (3) インフルエンザウイルス分離用培養細胞と分離ウイルス型

従来、培養細胞によるインフルエンザウイルスの分離にはイヌ腎臓細胞由来の MDCK 細胞が用いられてきているが、昨シーズンからヒト結腸腺癌由来の CaCo-2 細胞を併用して分離を行っている。今シーズンもこれらの細胞を併用して 90 株のインフルエンザウイルスを分離し型別判定を行った。その結果を表 4 に示した。MDCK 細胞で分離された 63 株 (33 株は CaCo-2 細胞でも分離された) のうち 59 株 (93.7%) が A(H1) 型であった。一方、MDCK 細胞では分離されずに CaCo-2 細胞だけで

表3 1999/2000シーズンの週別インフルエンザウイルス分離状況

週	年 月	検体数	分離インフルエンザウイルス株数		
			A(H1) 型	A(H3) 型	計 (分離%)
48	1999. 11	15	0	0	0 ( 0 )
49-50	12	50	1	1	2 ( 4. 0)
51-52		34	1	5	6 (17. 6)
1- 2	2000. 1	66	5	10	15 (22. 7)
3- 4		100	18	5	23 (23. 0)
5- 6	2	66	20	5	25 (37. 9)
7- 8		21	9	1	10 (47. 6)
9-10	3	29	7	0	7 (24. 1)
11-12		16	2	0	2 (12. 5)
13		1	0	0	0 ( 0 )
計		398	63	27	90 (22. 6)

表4 インフルエンザウイルス分離用細胞と分離ウイルス型

赤血球凝集反応		分離インフルエンザウイルス株数		計
MDCK	CaCo-2	A(H1) 型	A(H3) 型	
+	-	26	2	28 } 63
+	+	33	2	
-	+	4	23	27
計		63	27	90

分離された27株のうち23株(85.2%)がA(H3)型であった。このように今シーズンは従来用いられてきたMDCK細胞では分離できなかったにも拘らずCaCo-2細胞で分離できたインフルエンザウイルス株が27株(全分離株数の30%でその大部分がA(H3)型であった)もありこの細胞の有用性が認められた。

謝 辞

稿を終わるにあたり、検体採取にご協力いただいた県内医療機関の諸先生、県健康増進課および各保健所地域保健課の方々に深謝いたします。

文 献

- 1) Lamb, R. A. et. al. : Annu. Rev. Biochem., **52**, 467~506 (1983)
- 2) Lamb, R. A. et. al. : In R. M. Krug (ed), The Influenza Viruses : Plenum Press, New York. p.1~8 (1989)
- 3) Webster, R. G. et. al. : Microbiol. Rev., **56**, 152~179 (1992)
- 4) 山上隆也ら : 山梨衛公研年報, **42**, 45~52 (1998)
- 5) 武田美文ら : ウイルス, **50**, 113~114 (2000)
- 6) 栗村敬 : 病原ウイルス学改訂2版 (加藤四郎, 岸田綱太郎 編集), 243~251, 金芳堂 (1997)
- 7) 吉野修司ら : 感染症誌, **72**, 347~351 (1998)
- 8) 根路銘国昭ら : ウイルス学各論改訂2版 (国立予防衛生研究所学友会編), 287~328, 丸善 (1982)