

3・2 資料

1) 熊本県におけるインフルエンザの流行状況（2009年度）

西村 浩一 清田 直子 原田 誠也

はじめに

ブタ由来のインフルエンザウイルス（AH1pdm）による新型インフルエンザは、2009年3月中旬からメキシコでのインフルエンザ様疾患の流行を引起し、4月にはアメリカ合衆国にも感染拡大した後、全世界に広がって行った¹⁾。

一方、日本においては、5月8日に成田検疫所でアメリカ合衆国デトロイト経由で帰国した3名が新型インフルエンザであると確定診断された。また、5月16日には国内初の新型インフルエンザ感染者が神戸市で確認され、その後、次第に感染者が増加し全国に拡大して行った。そのような中、熊本県においては6月21日に初めての感染者を確認した。

県内でのインフルエンザ、インフルエンザ様疾患、肺炎、気管支炎等の呼吸器疾患（以下、インフルエンザ等疾患）からのウイルス分離状況及びインフルエンザ患者の発生状況等をまとめたので報告する。

調査方法

1 インフルエンザウイルスの検査

咽頭ぬぐい液等からの新型インフルエンザウイルスの検査は、国立感染症研究所が作成したH1N1新型インフルエンザについての病原体検出マニュアル（2009年5月Ver.1）に準じてPCR法により実施した。さらに、季節性A型インフルエンザウイルスについての遺伝子検査も同時に実施した。

また、急性期及び回復期血清の抗体検査は感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年6月作成）に従い実施した。

2 インフルエンザウイルス以外の検査

PCR法で新型インフルエンザウイルス及び季節性A型インフルエンザウイルスが陰性となった検体の一部は、インフルエンザウイルスB型、アデノウイルス、エンテロウイルス、ヒトメタニューモウイルス、RSウイルス及びマイコプラズマについてPCR法による遺伝子検査^{2),3)}を行った。

3 インフルエンザウイルスの分離・同定

MDCK細胞を用いてウイルス分離を行い、国立感染症研究所から配布された同定キットを用いた赤血球凝集抑制（HI）試験により亜型を決定した。また、数株の分離株は国立感染症研究所で詳細なHI試験が実施された。

4 インフルエンザ患者報告数の推移

熊本県結核・感染症発生動向調査事業により患者定点から収集された情報を集計した。

結果

1 インフルエンザウイルスの検出状況

インフルエンザ等疾患から検出されたインフルエンザウイルスの検査結果を表1に示した。2009年5月から2010年3月までに460検体の検査依頼があり、そのうちの約75%からウイルスが検出された。2009年6月21日、海外から帰国後インフルエンザと診断された患者から県内で初めてのAH1pdmが検出された。

インフルエンザウイルスが検出されなかった検体の割合が多かったのは5月及び6月で、80%以上が陰性であった。

リアルタイムPCR法で3検体が判定保留となった。そのうち11月の2検体からは細胞培養により単純ヘルペスウイルス1型（HSV-1）及びAH1pdmがそれぞれ

表1 インフルエンザウイルス検出数

	2009									2010			計
	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
FluA (H1pdm)		2	5	66	21	60	79	61	35	10	1	340	
FluA (H3)		3								3	3	9	
陰性	10	18	1	7	10	6	13	17	18	6	5	111	
計	13	20	6	73	31	66	92	78	53	19	9	460	

表2 その他ウイルスの検出数

検出病原体名	検出数
インフルエンザウイルス B 型	0
アデノウイルス	2
エンテロウイルス	1
ヒトメタニューモウイルス	1
RS ウイルス	0
マイコプラズマ	0
陰性	23
計	27

分離された。

インフルエンザ脳症が疑われる 1 事例について、新型インフルエンザ及び季節性インフルエンザに対する抗体価を測定したが、新型及び季節性インフルエンザともに急性期血清と回復期血清とで抗体価に差がなかった。

2 インフルエンザウイルス以外のウイルス検出状況

5 月及び 6 月に搬入された検体でインフルエンザウイルス遺伝子の検査結果が陰性であった 27 検体を用いて、インフルエンザウイルス A 型以外の病原体（インフルエンザウイルス B 型、アデノウイルス、エンテロウイルス、ヒトメタニューモウイルス、RS ウイルス及びマイコプラズマ）遺伝子の検査を実施した結果を表 2 に示した。

27 検体のうちアデノウイルスが 2 検体、エンテロウイルス及びヒトメタニューモウイルスがそれぞれ 1 検体ずつ検出され、RS ウイルス及びマイコプラズマは検出されなかった。

3 インフルエンザウイルスの分離及び同定

460 検体中 401 検体について MDCK 細胞を用いてインフルエンザウイルスの分離培養を実施したところ、293 株が分離された。HI 試験により分離ウイルスを同定したところ、289 株が AH1pdm であり残りの 4 株がインフルエンザ AH3 型であった。なお、1 検体から HSV-1 が分離された。

国立感染症研究所で実施された AH1pdm 分離株についての HI 試験の結果を表 3-1 及び 3-2 に、AH3 分離株についての HI 試験の結果を表 3-3 に示した。本県で分離された AH1pdm は Narita/01/09 株に、AH3 亜型は Tanjin-jinnan/1278/09 に近い抗原性を有していた。

細胞培養でウイルスが分離できなかった 104 検体のうち 43 検体からは PCR 法でもインフルエンザウイルス遺伝子が検出されなかったことから、MDCK 細胞によるインフルエンザウイルスの分離率は 82%であった。

4 インフルエンザ患者報告数の推移

インフルエンザの各週の定点あたり患者報告数の年齢階級別推移及び年別の推移を図 1 及び図 2 に示した。

インフルエンザ患者数は 2009 年の第 34 週（8 月 17 日～23 日）で定点あたり患者数が 1.0 を超えて 42 週（10 月 12 日～18 日）までは 1 桁台を推移した。41 週からは患者数が増加し始め、48 週（11 月 23 日～29 日）で定点あたり 42.1 人となりピークを迎えた。その後、2010 年第 7 週（2 月 15 日～21 日）には 1.0 未満となり流行は終息した。

また、年齢階級別に感染者をみると 7～14 歳までの小中学生に当たる年齢階級が流行の初期に 50%を超えており、流行のピークとなる 5 週前（第 43 週）には最高の 62.7%となった。

考察

インフルエンザ等疾患から分離または検出されたインフルエンザウイルスは 349 株であった。このうち、340 株は AH1pdm であり、9 株は AH3 亜型であった。AH3 亜型は 2009 年 5 月に 3 株、2010 年 2 月及び 3 月にそれぞれ 3 株ずつ検出された⁴⁾。例年であれば、AH3 亜型は 4 月以降分離されない^{5~9)}が、新型インフルエンザが発生したため、この時期に A 型インフルエンザが疑われる全ての症例が検査の対象となったため検出されたと推察される。

検体が搬入され始めた 5 月中旬から 6 月末にかけて検査を実施した 32 検体中 27 検体はインフルエンザウイルス A 型遺伝子が検出されなかったが、このうちの 4 検体からアデノウイルス、エンテロウイルス及びヒトメタニューモウイルスの遺伝子が検出された。

高尾らは急性呼吸器感染症と診断された患者の検体から RT-PCR 法を用いてヒトメタニューモウイルスの遺伝子検出を行っている¹⁰⁾。その結果、RT-PCR 法による検出率は約 14%であり、そのうちの 71%から LLC-MK2 細胞によるウイルス分離が可能であったと報告している。さらに、ヒトメタニューモウイルスは毎年 3～6 月に流行することを明らかにしている。

当所ではこれまでインフルエンザに由来する検体においては MDCK 細胞によるウイルス分離及び PCR 法によるインフルエンザウイルス遺伝子の検出、CaCo-2 細胞、A549 細胞等を用いてのアデノウイルス等の分離培養を行ってきた。しかし、ヒトメタニューモウイルスについての検査はこれまで行っていなかった。今回、27 検体中 1 検体からヒトメタニューモウイルス遺伝子が検出された。高尾らの調査に比べると検出率は 3.7%

表 3-1 分離株の H I 試験結果 (その 1)

株名	抗血清	Brisbane/59/07	Wisconsin/10/98	California/07/09	Narita/1/09	Narita/1/09
		Egg No. 2	No. 9930-2	Egg No. 1	Egg No. 3	MDCK No. 6
対照株	A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	640	< 10	< 10	< 10	< 10
	A/Wisconsin/10/1998 (H1N1)	< 10	10240	1280	5120	2560
	A/California/07/2009 (H1N1)pdm	< 10	1280	1280	2560	2560
	A/Narita/1/2009 (H1N1)pdm	< 10	2560	2560	5120	5120
	A/Narita/1/2009 (H1N1)pdm	< 10	2560	1280	5120	2560
分離株	A/KUMAMOTO/161/2009 (H1N1)pdm	< 10	1280	2560	5120	2560
	A/KUMAMOTO/170/2009 (H1N1)pdm	< 10	1280	2560	5120	2560
	A/KUMAMOTO/208/2009 (H1N1)pdm	< 10	1280	2560	5120	2560
	A/KUMAMOTO/189/2009 (H1N1)pdm	< 10	640	1280	2560	1280
	A/KUMAMOTO/192/2009 (H1N1)pdm	< 10	640	640	2560	1280

表 3-2 分離株の H I 試験結果 (その 2)

株名	抗血清	Wisconsin/10/98	California/07/09	Narita/1/09	Narita/1/09	Utah/20/09
		No. 9930-2	Egg No. 1	Egg No. 3	Cell No. 6	Cell No. 1
対照株	A/Wisconsin/10/1998 (H1N1)	2560	1280	2560	640	160
	A/California/07/2009 (H1N1)pdm	320	1280	2560	1280	640
	A/Narita/1/2009 (H1N1)pdm	320	1280	2560	1280	640
	A/Narita/1/2009 (H1N1)pdm	320	1280	2560	1280	640
	A/Utah/20/2009 (H1N1)pdm	320	160	160	320	2560
分離株	A/KUMAMOTO/284/2009 (H1N1)pdm	320	640	2560	1280	640
	A/KUMAMOTO/4/2010 (H1N1)pdm	640	2560	5120	5120	1280
	A/KUMAMOTO/326/2009 (H1N1)pdm	640	1280	2560	2560	1280
	A/KUMAMOTO/280/2009 (H1N1)pdm	320	1280	2560	1280	640

表 3-3 分離株の H I 試験結果 (その 3)

株名	抗血清	Hiroshima/5	Brisbane/10	Uruguay/	Perth/16/09	Niigata/403	Shizuoka	Tianjin-jinnan	Hunan-beihu
		2/05 Egg No. 1	/07 Egg No. 2	716/07 Egg No. 1	Egg No. 2	/09 Cell No. 1	/736/09 Cell No. 2	/1278/09 No. 2 MDCK	/1313/09 No. 1 MDCK
対照株	A/HIROSHIMA/52/2005	320	320	320	20	80	20	20	80
	A/Brisbane/10/2007	320	640	640	40	80	80	80	160
	A/Uruguay/716/2007	160	320	640	40	40	80	80	160
	A/Perth/16/2009	10	10	10	160	160	80	160	40
	A/NIIGATA/403/2009	20	80	40	320	640	320	320	80
	A/SHIZUOKA/736/2009	40	160	80	160	320	320	320	160
	A/Tianjin-jinnan/1278/2009	40	80	80	160	320	320	320	160
	A/Hunan-beihu/1313/2009	40	40	40	20	40	20	40	320
分離株	A/KUMAMOTO/22/2010	80	160	80	640	640	640	640	160
	A/KUMAMOTO/23/2010	40	80	80	320	320	320	640	320
	A/KUMAMOTO/24/2010	80	160	80	320	320	320	640	160
	A/KUMAMOTO/21/2010	20	80	40	160	160	160	160	160

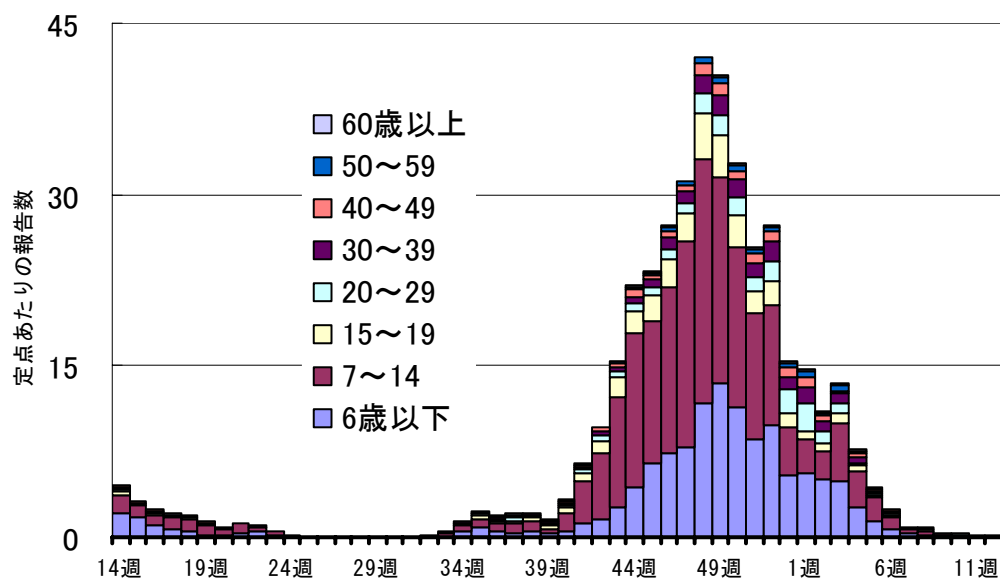


図1 インフルエンザ患者発生数の推移

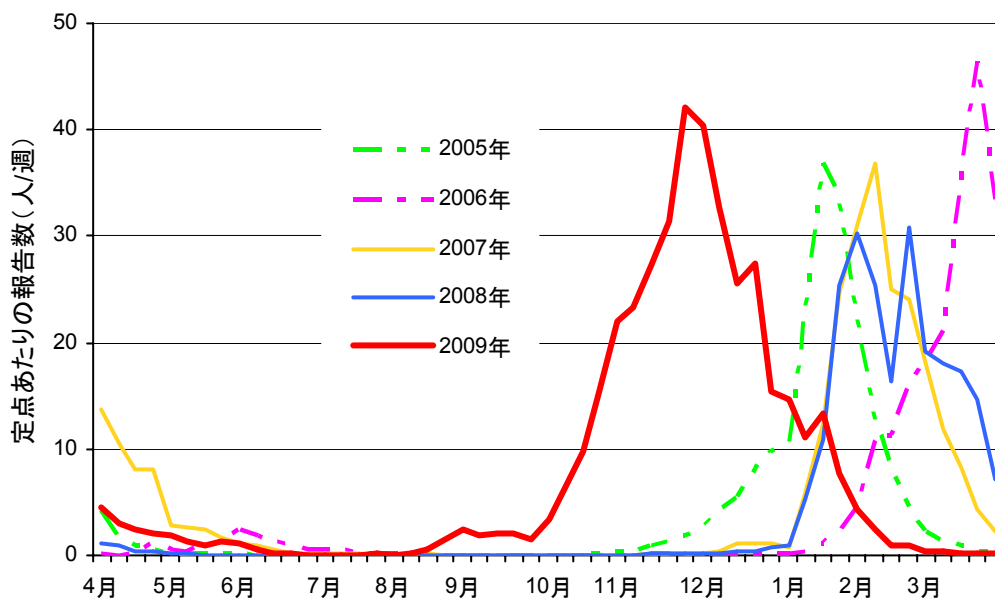


図2 インフルエンザ患者報告数の推移

と低いながら、今後は春期においてインフルエンザウイルス陰性の検体についてはヒトメタニューモウイルスも考慮に入れて検査して行く必要があると考えられた。

2009/2010 シーズンのインフルエンザの流行は夏の流行の兆しが見え始め、例年患者定点から報告が増え始める^{11),12)}11月下旬にはピークを迎え2010年の2月上旬には流行が下火になった。この期間に分離されたウイルスは全てAH1pdmであり、2009/2010シーズンの流行はAH1pdmが原因であったことがわかった。

一方、AH1pdm以外のインフルエンザウイルスは、AH1pdmの流行が始まる前と流行が落ち着いた後にAH3亜型が9株検出されただけであり、AH1亜型については全く検出されなかった。

AH1亜型がAH1pdmに駆逐されたのか、あるいはAH3亜型とAH1亜型が共存してきたように来シーズン以降にそれぞれの亜型が確認できるのかは今後のサーベイランスで明らかになると考えられる。

まとめ

2009年度は新型インフルエンザが発生したためか、例年とは明らかに異なる時期にインフルエンザが流行した。インフルエンザの流行期にはAH1pdmだけが検出された。しかしながら、流行の前後においてわずかながらAH3亜型が検出されたが、AH1亜型は全く検出されなかった。過去の新型インフルエンザウイルス発生の際、新型ウイルスがそれまで流行していたウイルスを駆逐した例があるように、AH1pdmとAH1亜型及びAH3亜型の動向が今後どのようなようになるのか非常に興味をもたれるところである。

謝辞

新型インフルエンザ発生への対応で忙しい中、検体

を提供していただきました関係医療機関の先生方に感謝いたします。また、多忙にもかかわらず検体を搬入いただいた保健所担当者の方々に心よりお礼申し上げます。

文献

- 1) CDC : MMWR, 58, 453-457 (2009) .
- 2) 国立感染症研究所 : 病原体検出マニュアル (2003) .
- 3) Dean D. Erdman, Geoffrey A. Weinberg, Kathryn M. Edwards, Frances J. Walker, Barbara C. Anderson, Jorn Winter, Monica Gonzalez, and Larry J. Anderson : J. Clin. Microbiol. , 41 , 4298-4303 (2003) .
- 4) 国立感染症研究所 : 病原微生物検出情報, 31, 103-104 (2010) .
- 5) 濱洲大輔, 荒平雄二, 原田誠也, 甲木和子 : 熊本県保健環境科学研究所報, 34, 63-65 (2004) .
- 6) 原田誠也, 濱洲大輔, 荒平雄二, 中島龍一 : 熊本県保健環境科学研究所報, 35, 70-72 (2005) .
- 7) 松尾 繁, 原田誠也, 中島龍一 : 熊本県保健環境科学研究所報, 36, 35-37 (2006) .
- 8) 松尾 繁, 原田誠也, 中島龍一 : 熊本県保健環境科学研究所報, 37, 85-87 (2007) .
- 9) 西村浩一, 松尾 繁, 八尋俊輔, 松本一俊, 原田誠也 : 熊本県保健環境科学研究所報, 38, 60-63 (2008) .
- 10) 高尾信一, 原 三千丸, 島津幸枝, 桑山 勝, 佐々木由枝, 福田伸治, 妹尾正登 : 広島県獣医学会雑誌, 24, 87-92 (2009) .
- 11) 熊本県健康福祉部 : 熊本県感染症発生動向調査事業報告書 (2005) .
- 12) 熊本県健康福祉部 : 熊本県感染症発生動向調査事業報告書 (2007) .