

大阪市における 2011/12 シーズンのインフルエンザウイルス流行株の解析

久保英幸、改田 厚、入谷展弘、関口純一郎

Analysis of Epidemic Influenza Viruses in Osaka City, 2011/12 season

Hideyuki KUBO, Atsushi KAIDA, Nobuhiro IRITANI
and Jun-ichiro SEKIGUCHI

Abstract

Epidemic influenza viruses were isolated in Osaka City during the 2011/12 season. Subtype AH3 strains were 81.6%. Type B strains were 18.4%. Influenza virus A(H1N1)pdm09 strains were not isolated in this season. AH3 strains respectively had various hemagglutination titers. Among the AH3 strains that could be analyzed for their hemagglutination-inhibition titers, 85.1% showed similar antigenicity to the vaccine strain, whereas 14.9% showed different antigenicity (variant). These variant strains were isolated almost entirely during the influenza season. This study can supply important public health information to analyze the antigenic properties of epidemic influenza viruses.

Key words: epidemic influenza viruses, types and subtypes of influenza viruses, subtype AH3

I 緒言

季節性インフルエンザウイルスは、毎年冬期になると世界的規模で流行するインフルエンザ様疾患の主要ウイルスである。ヒトの季節性インフルエンザウイルスは A および B 型に分類され、さらに A 型は H1 および H3 亜型に、また、B 型はビクトリアおよび山形系統に分類される[1, 2]。このうち、AH1 亜型に関しては、1977 年以降 A ソ連型と呼ばれる亜型株の流行が認められていたが、2009 年 4 月に発生が確認された新型インフルエンザウイルス A(H1N1) (インフルエンザウイルス A(H1)pdm09, AH1pdm09) の大流行以来、A ソ連型の国内での分離は報告されておらず、また、世界的にも近年の分離報告はされていない[3-7]。なお、国内における AH1pdm09 に関しては、2011 年 3 月 31 日に通常の季節性インフルエンザウイルスとして取扱うこと、および通常のインフルエンザ対策に移行することが公表され、その後省令などの改正が行われている[8]。

季節性インフルエンザウイルス感染の予防および軽症化には、ワクチン接種が最も有効とされることから、毎年ワクチン接種に関する啓発・推奨が実施されている。

また、本ウイルスの抗原性状は頻繁に変化することから、ワクチン株の選定に関しては毎年見直しが行われているところである[5]。季節性インフルエンザウイルスの型・亜型の流行状況は各シーズンで異なり、さらに流行する型・亜型に関しては、その割合においてシーズンごとの変化が認められている[6, 9]。したがって、各シーズンにおける流行インフルエンザウイルスの型・亜型およびその抗原性状等を迅速に把握することは、医療および感染拡大予防対策上の重要な情報提供となる。

当所では大阪市感染症発生動向調査事業の一環として、インフルエンザ様疾患患者から採取された検体に関して、インフルエンザウイルスの分離・同定試験を毎年実施し、インフルエンザ対策関連部署への情報還元を行っている。各シーズンの流行株の傾向およびその性状を解析することによって、今後のインフルエンザ予防対策に対する貢献が可能になると考えている。

II 実験

1) インフルエンザウイルスの分離

大阪市感染症発生動向調査事業およびインフルエンザ様疾患集団発生事例検査に供与されたインフル

エンザ様疾患患者検体(咽頭ぬぐい液または鼻汁)を犬腎由来培養細胞の MDCK 細胞に接種した後、温度を 36℃、CO₂ 濃度を 5.0% に設定したインキュベーター(エスベック)内での培養を行った。細胞培養液には、0.2% ウシ血清アルブミンおよび 0.25% トリプシンを添加したイーグル MEM 培地(ギブコ)を使用した。細胞変性効果(CPE)の出現観察を最大 2 週間行い、この観察期間内で CPE の認められた検体をインフルエンザウイルス分離陽性と判定し、培養上清を採集してウイルス保存液とした。

2) 分離株の型・亜型同定

各分離株のウイルス保存液を用いて赤血球凝集(HA)試験を行い、HA 価を測定した。得られた HA 価に基づいて各株のウイルス保存液を一定濃度に希釈し、この希釈液および国立感染症研究所から分与された 2011/12 シーズンインフルエンザウイルス(A/H1pdm09、A/H3、B) 同定用キット(2011/12 シーズンのインフルエンザワクチンに用いたインフルエンザウイルス AH1pdm09 株、AH3 亜型株および B 型株に対するフェレット抗血清をキットにしたもの)を用いて赤血球凝集阻止(HI)試験を行い、分離株の型・亜型を同定した[10]。また、HI 試験を行うための最低限必要な HA 価が得られなかったインフルエンザウイルス分離株に対しては、ウイルス保存液からウイルス RNA 抽出キット(キアゲン)を用いて RNA を抽出した後にワンステップの RT-PCR を行い、型・亜型を同定した[11]。

Ⅲ 結果

1) 大阪市で分離されたインフルエンザウイルス株の型・亜型

2011/12 シーズンのインフルエンザウイルスは、2011 年 11 月から 2012 年 4 月の期間において分離された。本期間にインフルエンザ様疾患患者から採取された検体数は 235 で、そのうちの 116 検体からインフルエンザウイルスが分離された。初分離株は 2011 年 11 月 3 日(2011 年 43 週)に採取された検体からのもの(AH3 亜型)で、また、最終分離株は 2012 年 4 月 28 日(2012 年 17 週)採取検体からのもの[B 型(ビクトリア系統)]であった。分離株数および検体数ともに 2012 年 1 月がピークとなり、2011 年 12 月がともに 2 番目、以下ともに 2012 年 2 月、同 3 月、2011 年 11 月および 2012 年 4 月の順となった(図 1)。

2011/12 シーズン各月に分離・同定されたインフルエンザウイルス株の型・亜型を図 2 に示した。本シーズンに分離された株は AH3 亜型または B 型に分類され、AH1pdm09 は分離されなかった。期間中の分離株数は、AH3 亜型が 94 株、B 型が 22 株(ビクトリア系統 19 株、山形系統 3 株)となり、AH3 亜型株が 81.0% を占めた。なお、2012 年 3 月の分離株は、AH3 亜型 5 株

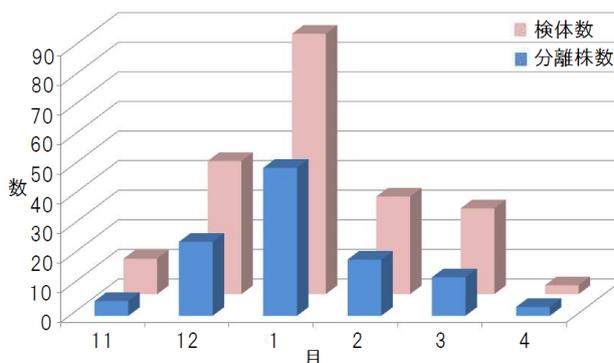


図 1 2011/12 シーズン各月のインフルエンザウイルス分離株数および検体数

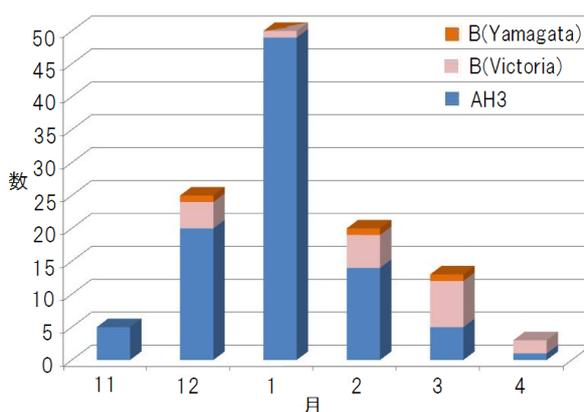


図 2 2011/12 シーズン各月に分離されたインフルエンザウイルスの型・亜型別の株数

および B 型 8 株、また、同 4 月の分離株は、AH3 亜型 1 株および B 型 2 株であった。

2) 2011/12 シーズンに分離された AH3 亜型の性状解析

2011/12 シーズンに分離された AH3 亜型の株数は、計 94 であった。このうち、16 以上の HA 価を示し、かつ HI 試験で同定可能となった株は 41 であった。また、8 以下の HA 価を示し、かつ RT-PCR 法のみにて同定可能となった株は 53 であった。これら分離 AH3 亜型株の HA 価の多様性に関しては、本シーズンのほぼ全期間において認められた。分離数および検体数がピークとなった 2012 年 1 月に分離された 49 株においては、RT-PCR 法のみにて同定可能となった株が 35 株となり 71.4% を占めた。この傾向は 2011 年 12 月分離 AH3 亜型株にも認められたが、2012 年 2~4 月の各月分離株においては、HI 試験で同定可能となった株の方が RT-PCR 法のみで同定可能となった株よりも多かった(図 3)。

2011/12 シーズンの分離 AH3 亜型株において、16 以上の HA 価を示し、かつ HI 試験で同定可能となった計 41 株の HI 価を図 4 に示した。上記同定キットにおける AH3 亜型ワクチン株の HI 価は 1,280 であった。この値の 8 倍以下、すなわち 160 以下の HI 価を示した株は

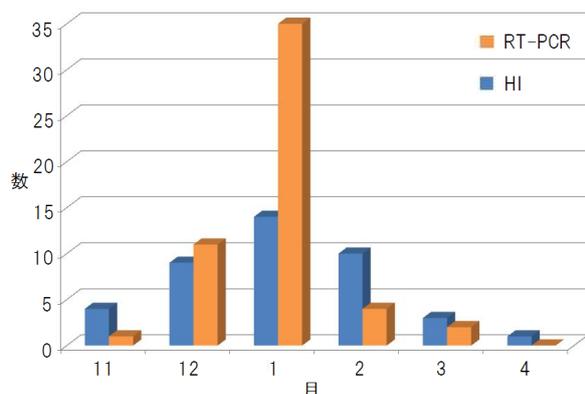


図3 2011/12シーズン各月に分離されたAH3亜型株のHI試験またはRT-PCR法によって同定された株数

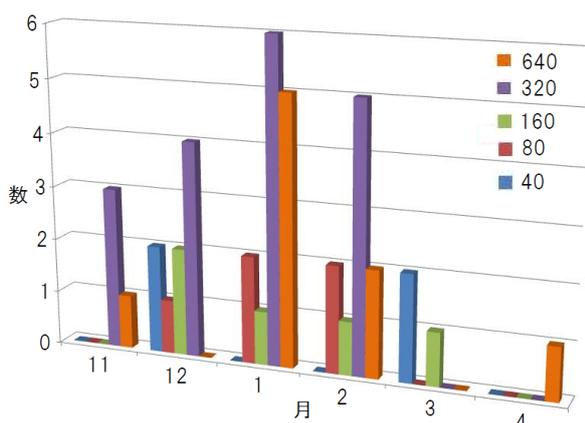


図4 2011/12シーズン各月に分離されたAH3亜型株の各HI価を示した株数

計14株で、これら低HI価株のシーズン中各月の割合は、2011年11月が0%、同12月55.6%、2012年1月21.4%、同2月30.0%、同3月100%、および同4月0%であった。また、ワクチン株のHI価の4倍以内、すなわち320以上のHI価を示した株は計27株で、2012年3月を除くシーズン中各月において分離された。

IV 考察

季節性インフルエンザは、毎年冬期を中心として世界的な流行を示す感染症で、日本におけるその流行状況に関しては、厚生労働省をはじめとした各種のホームページにおいて、週単位の情報発信が行われている[12, 13]。2010年以降に国内で、および2011年以降に世界各地で分離されている季節性インフルエンザウイルスは、AH1pdm09、AH3亜型およびB型の3種類となっている[7, 12, 13]。また、流行する季節性インフルエンザウイルスの型・亜型は各シーズンにおいて異なり、その流行状況を予測することは不可能となっている[6, 9]。

2011/12シーズンに大阪市で分離・同定された季節性インフルエンザウイルスは、AH3亜型株が最多で全体の81.0%を占めた。また、シーズン中の2011年11

月から2012年2月に分離された株の大半はAH3亜型であったが、2012年3および4月に分離された株の大半はB型であった。この傾向は全国においてもほぼ同様であることから[13]、国内の本シーズンのおもな流行インフルエンザウイルスはAH3亜型であったが、シーズン終盤においてはB型の流行も認められたことが示唆された。なお、国内の2009/10および2010/11シーズン中に流行の認められたAH1pdm09の本シーズンの分離・検出報告は全国で散見される程度で非常に少なく[13]、大阪市においては分離されなかった。一方、世界的な規模では、欧州および東アジアを除く各地域において多数のAH1pdm09株の分離報告が行われている。特にメキシコやエルサルバドルなどの位置する中米領域では、本シーズンにおいてもAH1pdm09の流行が認められている[7]。前述のとおり、各シーズンに流行する季節性インフルエンザウイルスの型・亜型の予測は不可能であることから、世界規模での季節性インフルエンザウイルスの流行状況を常に把握することは、その予防対策上の重要な情報収集の一助になるものと考えている。

2011/12シーズンに大阪市で分離されたAH3亜型は計94株であった。このうちの41株(43.6%)が、HI試験実施可能なHA価である16以上を示したが、53株(56.4%)のHA価はHI試験実施不可能な8以下を示し、その亜型同定にはRT-PCR法を実施しなければならなかった。本シーズンの分離AH3亜型株が低HA価を示す報告は、他地域からも行われていることから[14]、この性状は、本シーズン分離AH3亜型株の一部に共通して認められるものと思われた。これらの低HA価を示した大阪市のAH3亜型株は、2012年4月を除くシーズン中各月において分離されたことから、本シーズンは様々なHA価を示すAH3亜型株が混合流行していたものと思われた。また、大阪市で分離されたAH3亜型株のHI価のうち、ワクチン株との抗原性状が異なる(変異株)とされる8倍以下を示した株(ホモHI価1,280に対し、HI価が160以下となった株)は14株で、全体の14.9%であった。したがって、大阪市で分離された大半のAH3亜型株(85.1%)の抗原性状は、ワクチン株に類似していたことが示唆された。2011/12シーズン中の分離AH3亜型株が低HI価を示した例は全国においても報告され、また、これら変異株の割合は前シーズンに比べて増加している[14-18]。なお、大阪市で分離されたインフルエンザウイルスB型22株のうち、HI価がホモ抗原に対して8倍以下を示した株は3株(13.6%)であった(結果は示していない)。この傾向は全国においても報告され、ワクチン株選定を含めて今後詳細な解析が行われる予定である[18]。来シーズンの流行インフルエンザウイルスの型・亜型を予測することは不可能ではあるが、それに対する最大限の予防対策、すなわちワクチン接種の十分な効力を得

ることは、公衆衛生上重要な要素となる。毎年発生するインフルエンザウイルスの流行を可能な限り抑制するためには、各シーズンの流行株の解析を全国規模で協力実施することが必要であると考えている。

V 結論

2011/12 シーズンに大阪市で分離された季節性インフルエンザウイルスは、AH3 亜型株が 81.6% および B 型株が 18.4% であった。AH1pdm09 は分離されなかった。分離最多となった AH3 亜型株の性状解析を行った。シーズンを通して、様々な HA 価を示す株が分離された。また、HI 試験実施可能となった株のうち、ワクチン株と類似の抗原性状を示した株は 85.1%、および異なる抗原性状を示したもの(変異株)は 14.9% であった。これらの変異株は、ほぼシーズンを通して分離された。各シーズンに流行する季節性インフルエンザウイルスの性状解析を行うことは、公衆衛生上の重要な情報提供を可能にするものと思われる。

(本研究は平成 21～23 年度当研究所重点研究「新型インフルエンザ迅速診断体制の確立およびインフルエンザウイルスのオセルタミビル耐性に関する研究」の一部として実施したものである。)

参考文献

- 1) Simonsen L. The global impact of influenza on morbidity and mortality. *Vaccine* 1999; 17(suppl 1): S3-S10.
- 2) Nichol K L. Complications of influenza and benefits of vaccination. *Vaccine* 1999; 17(suppl 1): S47-S52.
- 3) Centers for Disease Control and Prevention. Swine influenza A(H1N1) infection in two children - south California, March - April 2009. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2009; 58: 400-402.
- 4) 国立感染症研究所、独立行政法人製品評価技術基盤機構、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ。2009/10 シーズンの季節性および新型インフルエンザ分離株の解析。病原微生物検出情報 2010; 31: 253-260.
- 5) 国立感染症研究所、独立行政法人製品評価技術基盤機構、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ。2010/11 シーズンのインフルエンザ分離株の解析。病原微生物検出情報 2011; 32: 317-323.
- 6) 国立感染症研究所感染症情報センター。週別インフルエンザウイルス分離・検出報告数、2007/08～2011/12 シーズン。病原微生物検出情報;2012年6月7日作成 <https://nesid3g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data2j.pdf>, (2012/6/15)
- 7) World Health Organization. Influenza Update 08 June 2012 - Update number 161. http://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/latest_update_GIP_surveillance/en/index.html, (2012/6/15)
- 8) 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への移行に伴う省令等の改正について(健感発0519第4号)。2011(平成23)年5月19日
- 9) 久保英幸、改田厚、入谷展弘。大阪市で分離された季節性インフルエンザウイルスの型・亜型の動向およびオセルタミビル耐性 A(H1N1) 株の解析。大阪市立環科研報告 2009; 71: 7-13.
- 10) 小田切孝人、進藤奈那子、奥野良信、河内可尚、今井正樹、前田章子、他。病原体検出マニュアル:インフルエンザ。東京:地方衛生研究所全国協議会、国立感染症研究所;2003. 853-895 頁.
- 11) 国立感染症研究所。病原体検出マニュアル H1N1 新型インフルエンザ(2009年11月 ver.2)。東京:国立感染症研究所;2009.
- 12) 国立感染症研究所感染症情報センター。インフルエンザ流行レベルマップ。 <http://www.nih.go.jp/niid/ja/diseases/a/flu.html>, (2012.6.15)
- 13) 国立感染症研究所感染症情報センター。インフルエンザウイルス分離・検出速報。 <http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-inf.html>, (2012/6/15)
- 14) 愛知県衛生研究所。今シーズン用同定キットの赤血球凝集抑制活性が低いインフルエンザ AH3 ウイルス分離株 - 愛知県。病原微生物検出情報 2012; 33: 67-68.
- 15) 横浜市衛生研究所、横浜市健康福祉局、横浜市保健所。横浜市内で発生した AH3 亜型インフルエンザによる 2011/12 シーズンの集団かぜ初発事例。病原微生物検出情報 2011; 32: 334-335.
- 16) 三重県保健環境研究所、三原クリニック、まつだ小児科クリニック。三重県における集団発生事例から分離された AH3 亜型インフルエンザウイルス。病原微生物検出情報 2011; 32: 336-337.
- 17) 佐賀県衛生薬業センター、佐賀県健康福祉本部健康増進課、国立感染症研究所。佐賀県における 2011/12 シーズンの AH3 亜型インフルエンザウイルス初検出例。病原微生物検出情報 2011; 32: 367.
- 18) 国立感染症研究所、独立行政法人製品評価技術基盤機構、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ。国内のインフルエンザ流行株の抗原性、遺伝子系統樹解析、薬剤耐性株検出状況 - 2011/12 シーズン途中経過。病原微生物検出情報 2012; 33: 95-97.