

北海道におけるインフルエンザの流行について —2004/05～2007/08シーズン—

Epidemics of Influenza in Hokkaido —From 2004/05 to 2007/08 Season—

長野 秀樹 地主 勝 工藤 伸一 岡野 素彦

Hideki NAGANO, Masaru JINUSHI, Shinichi KUDO and Motohiko OKANO

Key words : Hokkaido (北海道) ; influenza (インフルエンザ) ; HI antibody (HI抗体)

インフルエンザは感染力の強いウイルス性呼吸器感染症で、毎年冬季を中心に流行を繰り返している¹⁾。そのため、厚生労働省は全国の衛生研究所を通じてインフルエンザウイルスのサーベイランス及び感染症流行予測調査事業を継続的に実施している²⁾。サーベイランスでは、ヒトからのウイルス分離同定を実施し、抗原変異の程度や流行株に関する調査結果をとおしてワクチン株が選定されている。また、感染症流行予測調査事業は、地域住民における血清抗体の保有状況を検討することにより、インフルエンザに対する集団免疫の状態を把握することを目的としている。

今回、インフルエンザウイルスのサーベイランスの一環として、過去4年間に分離されたインフルエンザウイルスについて型同定を実施し、その分布状況を調べた。また、2007/08シーズンに流行したA(H1)亜型とB型の山形系統の分離株については、hemagglutinin (HA) 1領域の塩基配列を基礎とした系統樹解析を実施した。さらに、2007年の感染症流行予測調査事業において実施した血清抗体の保有状況についても検討した。

材料及び方法

1. インフルエンザウイルスの分離

既報に従ってインフルエンザウイルスの分離を行った^{3,4)}。またウイルス分離には、呼吸器系疾患の原因となるアデノウイルス、エンテロウイルスなどの分離も視野に入れ、MDCK, Caco-2, FL, Vero, LLC-MK2, 及びHEK-293細胞を用いた。インフルエンザウイルスは、抗血清との赤血球凝集抑制 (HI) 試験によりウイルスのHAタンパクの亜型を同定し、A(H1)亜型, A(H3)亜型, B型(山形系統), B型(ヴィクトリア系統)に分類した。各シーズンにおいて使用したインフルエンザウイルス同定用の抗血清はTable 1に示した。これらの抗血清は国立感染症研究所から分与された。なお、インフルエンザは冬季を中心に流行する疾患であるため、通常、年あるいは年度を越えて流行する。従って同一流行期について疫学調査を実施した本報告では、10月から翌年の9月までをその流行シーズンとした。

なお、2007/08シーズンのワクチン株はA/ソロモン諸島/3/2006 (H1N1), A/広島/52/2005 (H3N2), B/マレーシア/2506/2004 (ヴィクトリア系統)の3株であった。

Table 1 Antisera Used for Identification of Influenza Virus Isolates in Hokkaido

Season	Antiserum against to			
	A (H1N1)	A (H3N2)	B (Yamagata lineage)	B (Victoria lineage)
2007/08	A/Solomon Islands/3/2006	A/Hiroshima/52/2005	B/Shanghai/361/2002	B/Malaysia/2506/2004
2006/07	A/New Caledonia/20/99	A/Hiroshima/52/2005	B/Shanghai/361/2002	B/Malaysia/2506/2004
2005/06	A/New Caledonia/20/99	A/New York/55/2004	B/Shanghai/361/2002	B/Brisbane/32/2002
2004/05	A/New Caledonia/20/99 A/Moscow/13/98	A/Wyoming/3/2003	B/Johannesburg/05/99	B/Brisbane/32/2002

2. 系統樹解析

最初に、系統樹解析を行うために、インフルエンザウイルスの培養上清からRNAを抽出し鋳型とした。A (H1) 亜型及びB型 (ヴィクトリア系統) については、RT-PCR法によりHA (セグメント4) のほぼ全長を増幅し、ダイレクトシーケンス法によりHA1領域の塩基配列を決定した。その塩基配列情報に基づいて、MEGA3の近隣接合法³⁾を用いて系統樹を作成した。系統樹の信頼性評価のためブートストラップ値を1,000とした。

3. 感受性調査

2007年度は市立札幌病院にて採取された225名分の血清の分与を受けて感受性調査を行った。抗インフルエンザウイルス抗体価は、市販の4種のインフルエンザウイルスHA抗原 (A/ソロモン諸島/3/2006 (H1N1), A/広島/52/2005 (H3N2), B/マレーシア/2506/2004 (ヴィクトリア系統), B/フロリダ/07/2004 (山形系統)) を用いてHI試験にて測定した。なお、血清の提供者は年齢により、0～4歳, 5～9歳, 10～14歳, 15～19歳, 20～29歳, 30～39歳, 40～49歳, 50～59歳及び60歳以上の9区分, 各25名とし、それぞれのインフルエンザウイルスの抗体価を調べた。

結果及び考察

本調査の正確性は保健所から送付される検体数の多寡に依存している。従って、毎シーズン、安定的に一定数の検体が全道の病原体定点から収集できることが肝要である。近年の検体数は年々減少傾向にあり (Fig. 1), 全道の流行株の状況を的確に把握するには安定した検体数の確保が重要であると考えられる。

各シーズンにおけるウイルス分離状況を Fig. 2 に示した。2004/05シーズンは、A (H3) 亜型とB型 (山形系統) が流行した。A (H3) 亜型は2月を中心に流行し、B型については2月と3～4月の2峰性を示した。2005/06シーズンはA (H3) 亜型が主に流行したが、A (H1) 亜型の小流行が少し遅れて生じ、さらに遅れてB型 (ヴィクトリア系統) の小流行が認められた。2006/07シーズンは、A (H3) 亜型とB型 (ヴィクトリア系統) が流行した。

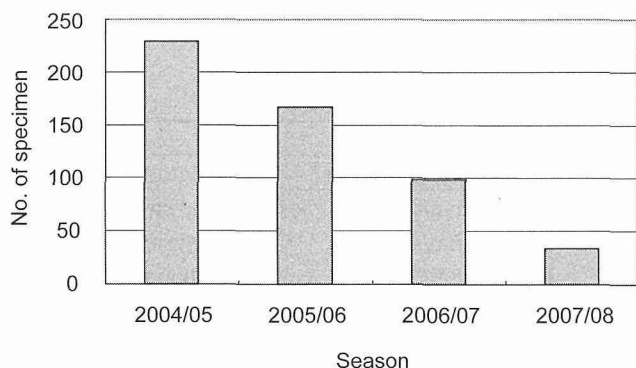


Fig. 1 Collected Sample Number for Virus Isolation

A (H3) 亜型は2～3月を中心に、またB型 (ヴィクトリア系統) は5月を中心に流行した。2007/08シーズンは流行の時期に特徴があり、例年よりも早い時期に流行が始まった。分離ウイルスはA (H1) 亜型が多く、B型 (山形系統) のウイルスは3株のみであった。このように、流行の時期や分離されたウイルスの亜型にはそのシーズンにより多様性が認められた。

2005/06及び2007/08シーズンにおけるA (H1) 亜型のHA1遺伝子についての系統樹解析の結果を Fig. 3 に示した。両シーズンともに相同性の高いウイルスが分離されていることが示された。これらのウイルス株のほとんどが2007/08シーズンのワクチン株であるA/ソロモン諸島/3/2006株と同じクラスターに属していた。しかし17988及び17997の2株は近傍の異なったクラスターに分類された。アミノ酸変異については、A/ソロモン諸島/3/2006類似株に特徴的である140Eというアミノ酸置換が全株において認められた。また、HI試験の結果からも今回解析に供した北海道株はA/ソロモン諸島/3/2006類似株であると思われた。

2004/05及び2007/08シーズンにおけるB型 (山形系統) のHA1遺伝子についての系統樹解析を Fig. 4 に示した。これらの北海道分離株は系統樹上では長くワクチン株として使用されたB/上海/361/2002とは異なったクラスターに分類された。2007/08シーズンの分離株はV251Mのアミノ酸置換をもつクラスターに属したが、2004/05シーズンでは2株 (17678及び17725) がこのクラスターから外れた。なお、2007/08シーズンの分離株である2株 (18210及び18237) は、HI試験による型同定が困難で、HA遺伝子の相同性によってB型 (山形系統) と同定した。これらの株は抗B/上海/361/2002血清との反応性も弱く、抗原変異が蓄積されていることが示唆された。

感受性調査では、ヒト血清中のインフルエンザウイルスHI抗体価の測定を行った。各年齢区分における40倍以上のHI抗体価保有率 (40倍以上で感染防御能があるとされている) を Fig. 5 に示した。A (H1) 亜型 (H1N1) 抗原は、2007年では昨年と異なりA/ソロモン諸島/3/2006が採用された。全般的な抗体保有率は低く、10～14歳 (72%) と15～19歳 (64%) の2群で60%以上であったが、他の年齢群はすべて40%以下であった。A (H3) 亜型 (H3N2) については昨年同様、A/広島/52/2005を抗原として用いた。0～4歳群 (36%) を除いた全年齢群で60%以上の抗体保有率を示した。さらに、40～49歳群 (68%) 及び50～59歳群 (76%) 以外は80%以上であった。このように昨年に比べ、抗体保有率は全般的に (特に10歳以上) 高かったが、これは昨シーズン (2006/07) にA/広島/52/2005類似株が流行したためであると思われる⁴⁾。一方、B型に対してはほとんどの年齢群で抗体保有率が低かった。山形系統であるB/フロリダ/7/2004 (2007年で初めて採用された抗原) に対しては、10～14歳群で60%、15～19歳群で48%であった以外は30%を下回った。昨年までは抗原としてB/上海/361/2002が用いられてきたが、本抗原に対しては高い抗体保有

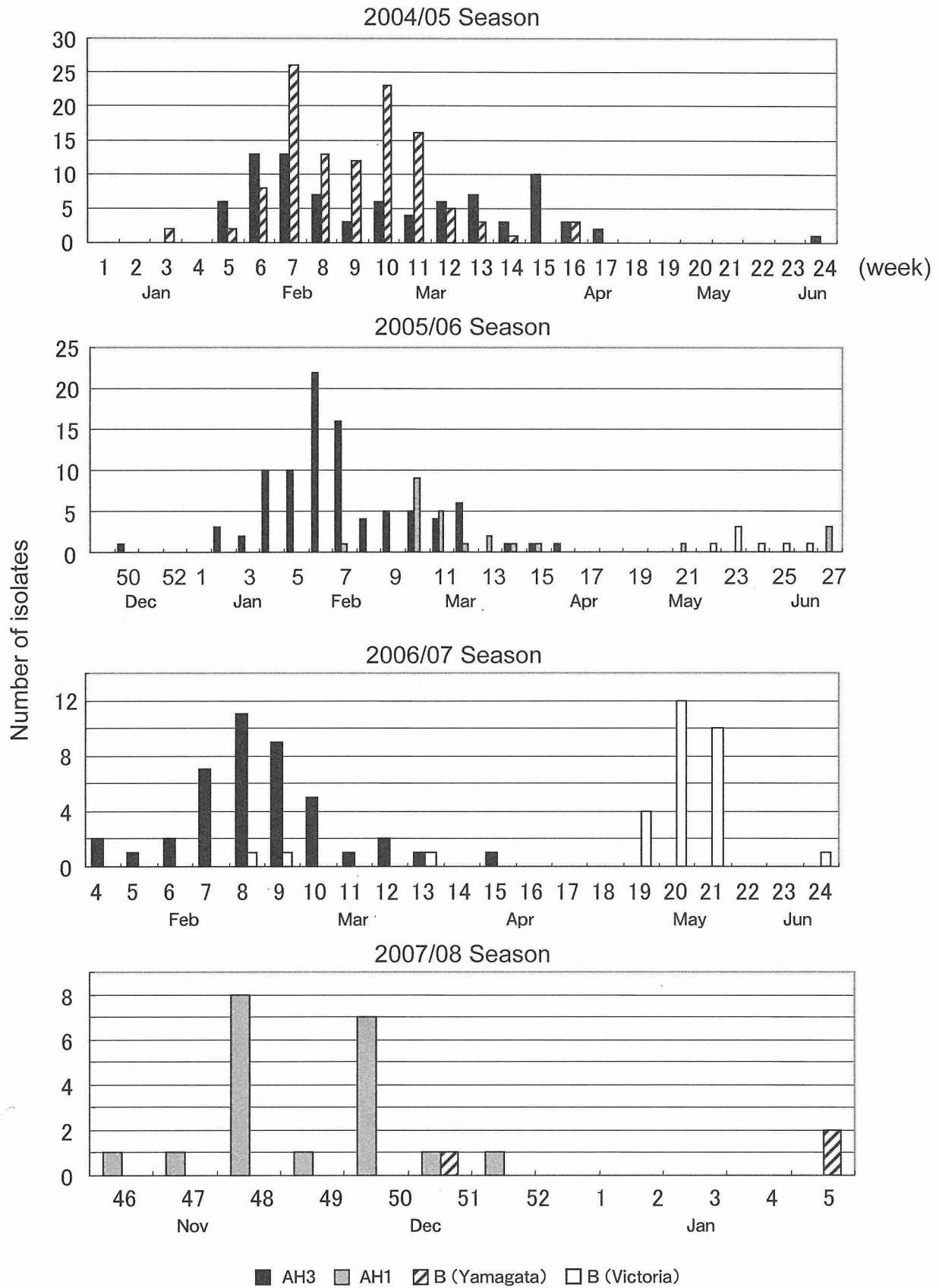


Fig. 2 Type or Subtype of Isolated Influenza Virus

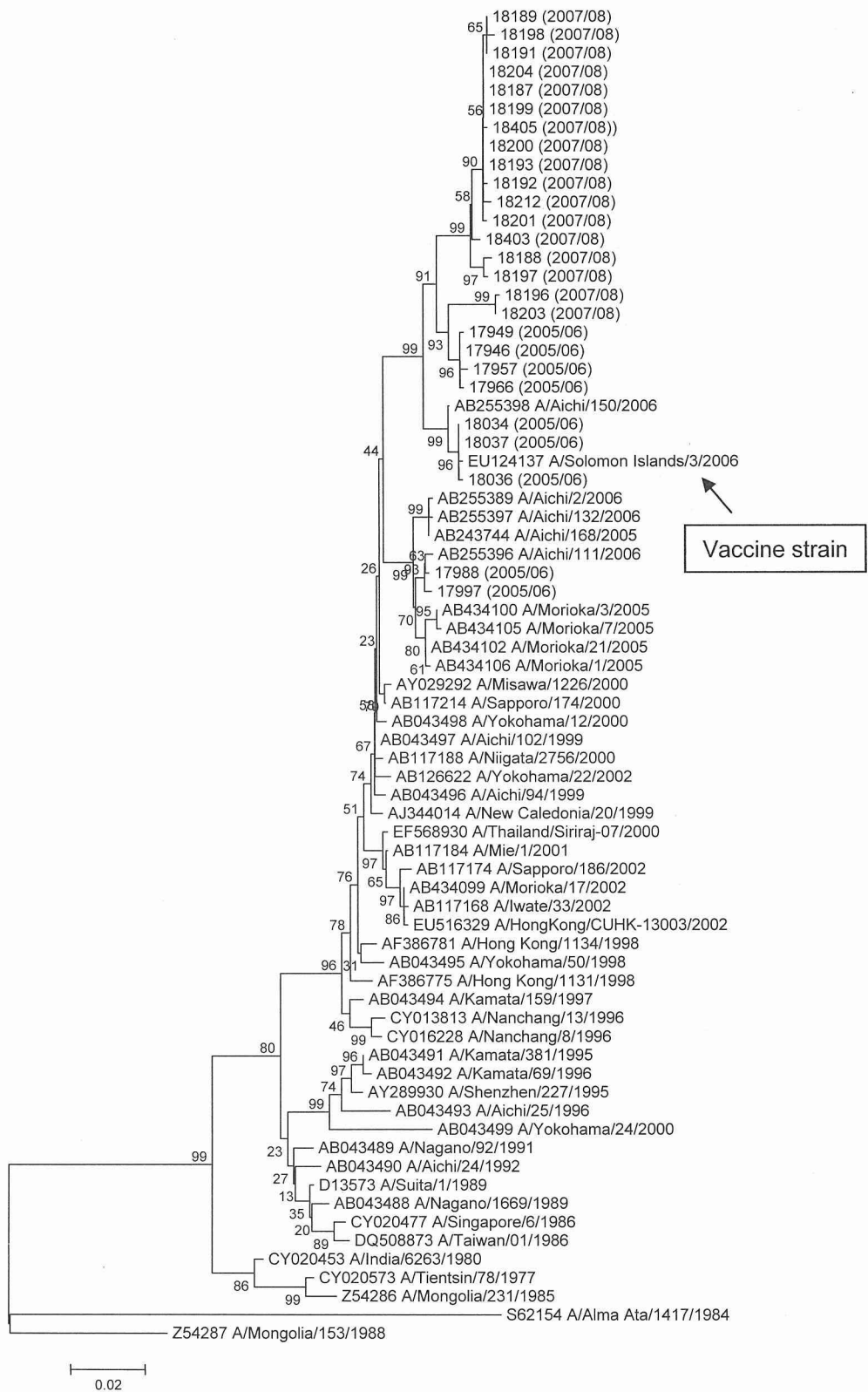


Fig. 3 Phylogenetic Tree of Type A Influenza Virus (H1N1)

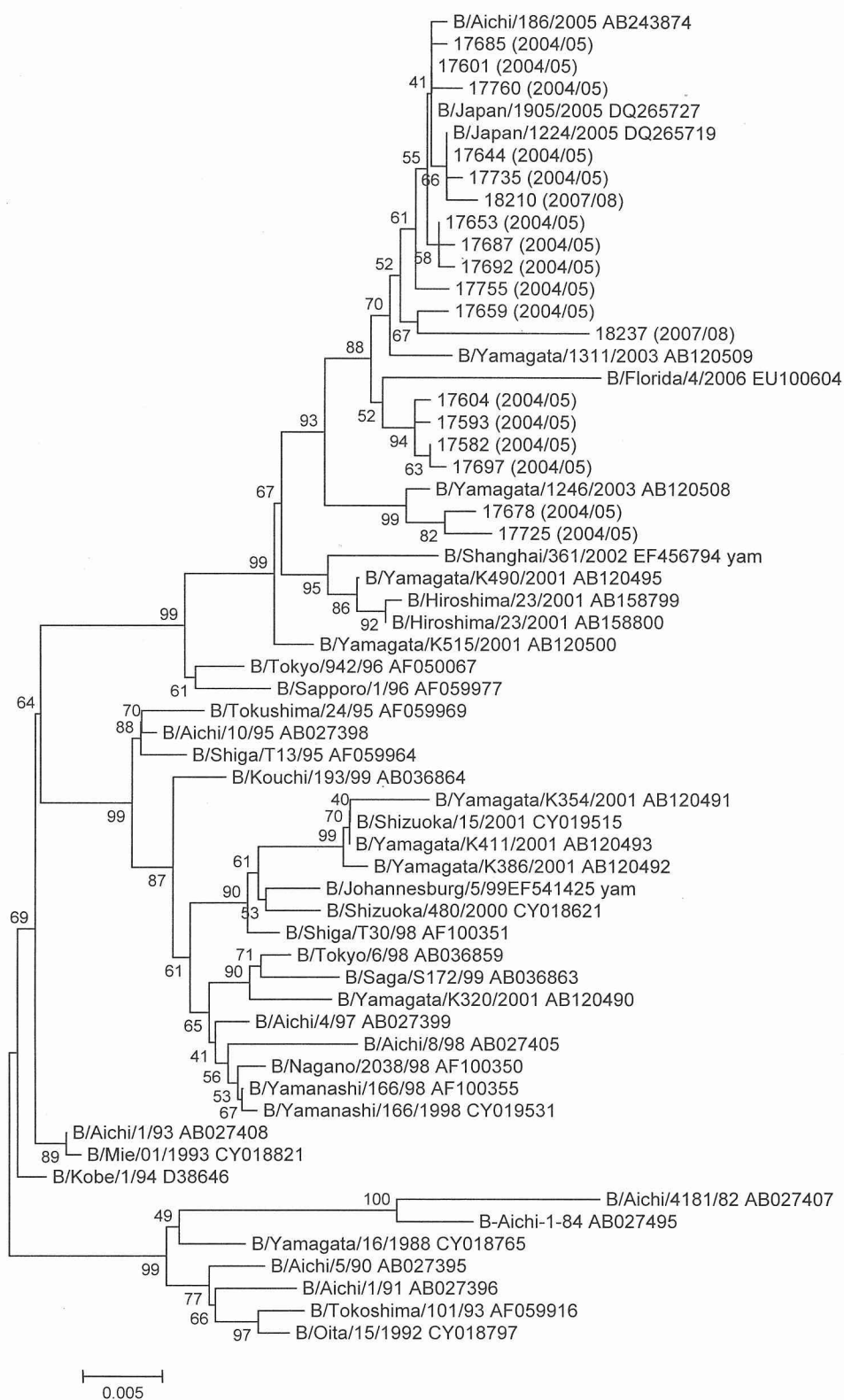


Fig. 4 Phylogenetic Tree of Type B Influenza Virus (Yamagata Lineage)

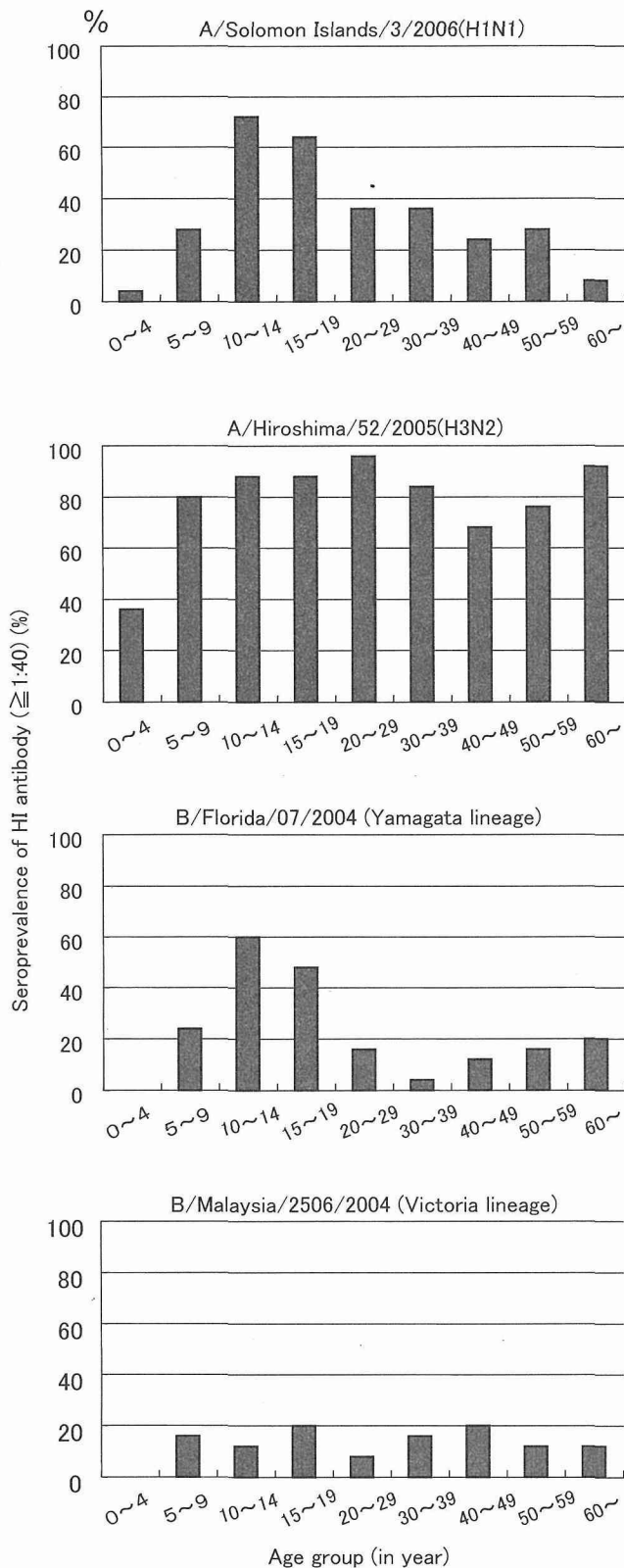


Fig. 5 Prevalence of HI Antibody ($\geq 1:40$) in Age Group

率を有することが示されている。近年、流行株が B/上海/361/2002 類似株から B/フロリダ/7/2004 類似株へ変化していることが報告されているが⁶⁾、この B/フロリダ/7/2004 類似株による流行が小さく抗体保有状況が低いものと考えられた。さらにヴィクトリア系統である B/マレーシア/2506/2004 に対しては、全年齢群が 20% 以下の抗体保有率であった。ヴィクトリア系統については例年、抗体保有率が低いと言われており、2007 年も同様の結果であった。ヴィクトリア系統による流行は 2005/06 及び 2006/07 の 2 シーズンであったが (Fig. 2)、いずれの流行も春季の小流行で抗体保有率の上昇には寄与しなかったと思われる。

新型インフルエンザ対策も含めた通常のインフルエンザ対策は公衆衛生上の重要課題の一つである。流行状況の把握と同時に流行株を把握するための適切な病原体サーベイランスは、正確な情報の収集解析による道民の健康保持、そして何よりも適切なワクチン株を選定するための重要な施策のひとつである。

稿を終えるにあたり、検体採取にご協力頂きました北海道保健福祉部保健医療局健康推進課及び保健所の感染症予防担当者、定点医療機関の皆様、市立札幌病院感染症科滝沢慶彦部長及び職員の方々に深謝いたします。

文 献

- 1) Wright PF, Neumann G, Kawaoka Y : Orthomyxoviruses, Fields Virology, 5th ed., (Ed. Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Martin MA, Lamb RA, Roizman B and Straus SE) Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2007, pp.1691-1740
- 2) 厚生労働省健康局結核感染症課：平成17年度感染症流行予測調査報告書，厚生労働省健康局結核感染症課，東京，平成18年，pp.50-99
- 3) 野呂新一，沢田春美，古屋宏二，国府谷よし子，由布久美子，桜田教夫：道衛研所報，34，63-64 (1984)
- 4) 伊木繁雄，地主 勝，佐藤千秋，長野秀樹，奥井登代，岡野素彦：道衛研所報，56，87-90 (2007)
- 5) Kumar S, Tamura K, Nei M : MEGA3 : Brief Bioinform, 5, 150-163 (2004)
- 6) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報，28，320-322 (2007)