

横浜市における2009 / 2010シーズンの インフルエンザウイルス流行株の解析

横浜市における2009/2010シーズンのインフルエンザの流行は、ブタ由来AH1インフルエンザ(以下AH1pdm)ウイルスによるパンデミック流行であり、2009年5月から2010年5月までの1年間におよぶ大規模なものでした。

AH1pdmウイルス以外では2009年5月から7月までの全数調査で季節性インフルエンザウイルスのAH1型、AH3型と山形系統のB型ウイルスが、2010年3月には集団かぜ検体でVictoria系統のB型ウイルスが分離されました。

AH1pdmウイルスはワクチン株類似ウイルスでしたが、季節性AH1型、AH3型、Victoria系統のB型ウイルスは抗原変異が進んでいました。

入院サーベイランスでオセルタミビル服用後の患者4名から耐性ウイルスが分離されましたが、耐性株による地域流行はみられませんでした。

【インフルエンザ様疾患の患者数】

2009年5月から2010年5月までにインフルエンザ定点(小児科88定点および内科57定点:計145定点)から報告されたインフルエンザ様疾患患者数は、定点あたり384人で昨シーズン同期の270人を大きく上回りました。今シーズンは第32週(8月3日からの週)に流行の目安となる定点あたりの報告数1を超え、第44週(10月26日からの週)に39.2人とピークとなりました。2010年1月以降は患者数の増加はみられず、3月第9週に0.59と定点あたり1人を下回りました(図1)。

新型インフルエンザ発生により従来の病原体定点サーベイランスに加え、流行の各段階において全数調査、クラスターサーベイランス、入院サーベイランス(図2)および分離株に対して抗インフルエンザ薬感受性サーベイランスが実施されました(全調査における検査数および結果は表1)。

【全数調査】

発熱外来による全数調査では4月28日から7月18日まで1,079件(入院措置患者の陰性確認15件含む)を検査し、265件をAH1pdmと確定しました。6月6日に最初の遺伝子が確認されましたが、その後、分離培養検査では5月8日採取検体からAH1pdmウイルスが分離され、国内では一番早い分離例となりました¹⁾。6月中旬以降、海外渡航者からの持ち込み例からAH1pdmウイルスの検出割合が多くなり、7月以降は集団事例による地域流行がみられました。また、検査当初の5月には季節性AH3型ウイルスの流行がみられ、126件が分離・検出されました。その他に季節性AH1型ウイルス4件、山形系統のB型ウイルス4件が分離・検出されました(図3)。

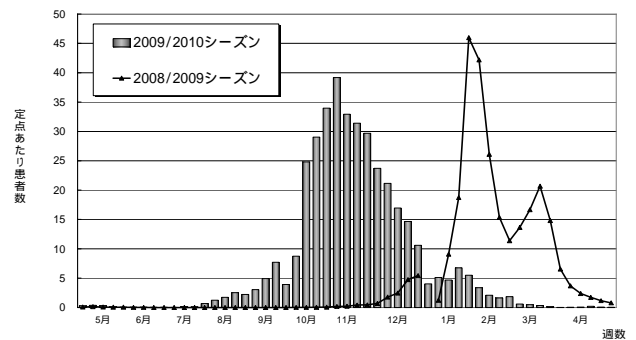
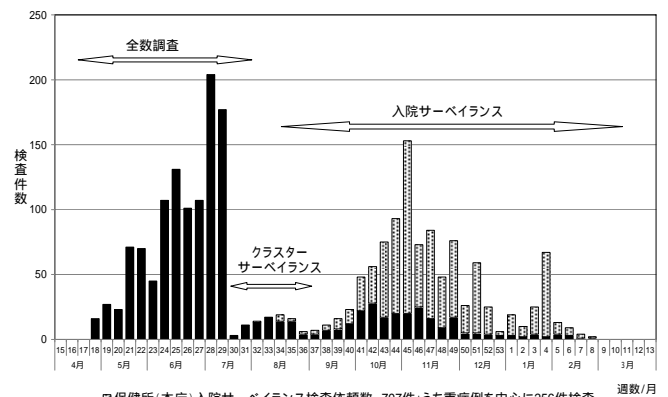


図1 定点あたり患者数



□保健所(本庁)入院サーベイランス検査依頼数 797件:うち重症例を中心に256件検査
■ウイルス検査実施件数 1410件

図2 全数調査・クラスターサーベイランス・入院サーベイランスにおける検査実施状況

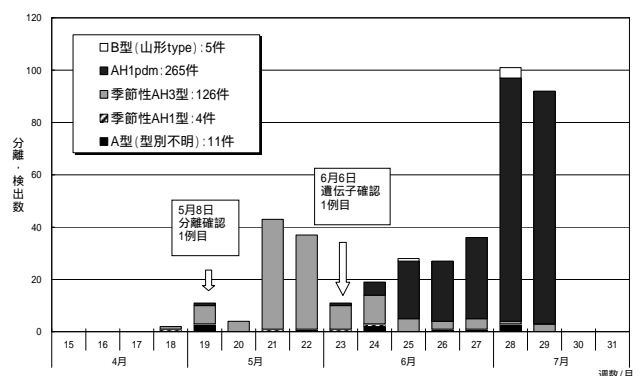


図3 全数調査における分離・検出状況

【クラスターサーベイランス】

集団発生を監視するクラスターサーベイランスでは7月24日から8月23日までに28件の報告があり、確定患者・疑似症患者は101人でした。集団の属性としては、3件以外はすべて保育園、中学校、高校、大学でした。このうち56件を検査し、53件のAH1pdmウイルスを分離・検出しました。

【入院サーベイランス】

8月以降、2010年3月までの8ヶ月間に797件の検査依頼があり、そのうち重症例等256件を検査しました。AH1pdm確定は191件、A型のみ確定は5件でした。入院報告数のピークは11月第45週で、AH1pdmが確定された重症例は、入院患者の12.5%を占めました。

なお、重症例は、死亡、脳症や重症肺炎(集中治療・人工呼吸器管理のいずれかを必要とした肺炎)をおこしたものとしました。

【病原体定点ウイルス調査】

2008年5月から2010年5月までに640件(鼻咽頭ぬぐい液557件、便53件、うがい液2件、気管支吸引液1件、その他7件、不明20件)を検査し、AH1pdmウイルス289株が分離・検出されました(図4)。5月、6月はインフルエンザ様疾患患者の全数調査と重なったため定点調査で捕捉できず、7月に入ってからはじめてAH1pdmウイルスが分離されました。その後、AH1pdmの単独流行となり、11月第46週をピークに11ヶ月間分離・検出が続きました。また、定点以外では2010年3月第9週に小学校でB型と診断された集団発生を探知しました。5名の患者のうがい液を検査したところ、Victoria系統のB型が4株分離されました。また、2010年5月に採取された検体から約1年ぶりにAH3型ウイルスが分離されました。

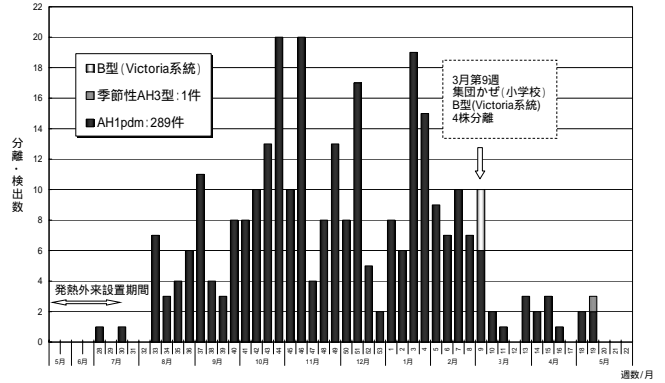


図4 病原体定点等分離・検出状況

表1 インフルエンザウイルス分離および遺伝子検査結果

各調査項目	検体数	AH1pdm	季節性AH1型	季節性AH3型	A型/型別不明	B型
全数調査*	1,079	265*	4	126	11	5
クラスターサーベイランス	56	53	0	0	0	0
入院サーベイランス	256	191	0	0	5	0
病原体定点等調査**	644	289	0	0	0	4
その他依頼検査	15	6	0	0	0	0
合計	2,050	804	4	126	16	9

*全数調査AH1pdm: 入院措置患者13名の陰性確認検査15件を含む(うち陽性例は7件)

**3月集団かぜ検体を含む(従来の集団かぜ調査であるが、今年度は実施されなかった)

【分離株の抗原性】

分離株のHA抗原性状を今シーズンのワクチン株およびリファレンス株と赤血球凝集抑制試験(HIと略)のHI価で比較しました(図5)。AH1pdmウイルスの抗原性状は、94%(231株中217株)がAH1pdmワクチン株であるA/カリフォルニア/07/2009とHI価が類似していました。パンデミック流行初期に小流行がみられた季節性AH3型ウイルスは、ワクチン株のA/ウルグアイ/716/2007とHI価の差が4倍までの類似株が全体の40%を占めました。季節性AH1型ウイルスは2009年5月

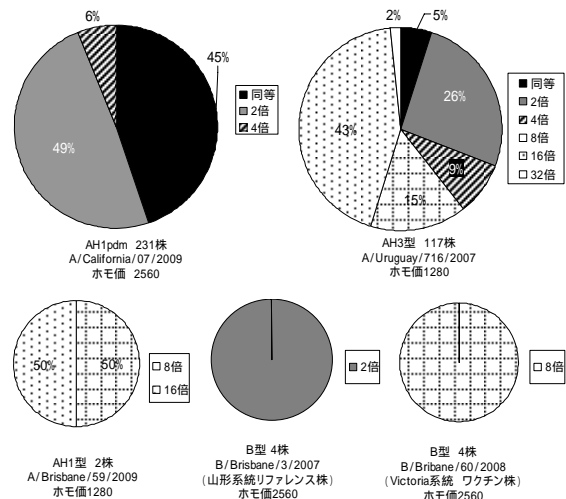


図5 2009/2010シーズン分離株の抗原性状(ワクチン株に対するHI価)

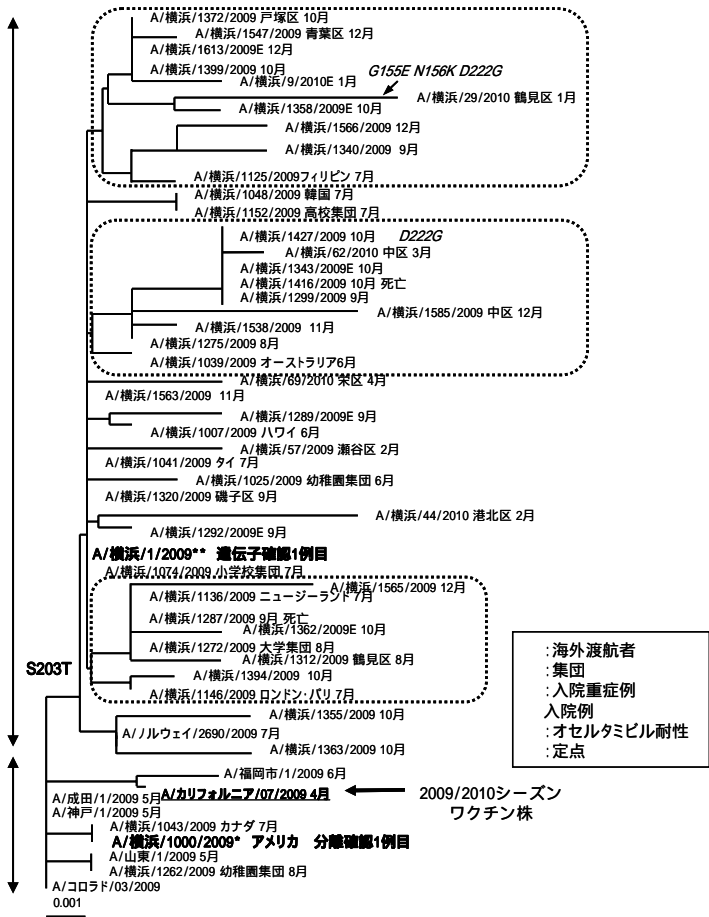


図6 AH1pdm 型ウイルスのHI1遺伝子NJ系統樹 990bp

形成する傾向はみられませんでした。また、ヨーロッパで重症例が多いとされたHA遺伝子のD222G変異株が重症入院例と定点の分離株にみられました(図6)。

(ラオスから帰国)と6月(ハワイから帰国)に分離され、ワクチン株であるA/プリズベン/59/2007と8倍から16倍の差がみられました。B型ウイルスのうち2009年7月に分離された山形系統のウイルスについては、リファレンス株のB/プリズベン/3/2007と類似した性状を示しましたが、2010年3月に分離されたVictoria系統のウイルスは2009/2010シーズンのワクチン株B/プリズベン/60/2008とHI価で8倍の差がありました。

【分離株の系統樹解析】

抗原性に関するHA遺伝子についてPCRで増幅後、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、Neighbor-joining法により系統解析を行いました。

AH1pdmウイルスは203番目のアミノ酸がセリン(S)のグループとスレオニン(T)の2つのグループに分けられました。前者は5月の最初の輸入例や関西で流行した株が含まれています。6月以降、S203Tアミノ酸変異をもつグループが流行しはじめましたが、アミノ酸変異は少なく、海外からの持ち込み例と国内例では差がみられませんでした。しかし、10月以降流行最盛期では、大きく3つのグループに分かれ、抗原変異にかかわるアミノ酸置換した株もみられました。脳症・重症肺炎の入院例分離株やタミフル耐性株で特定のグループを

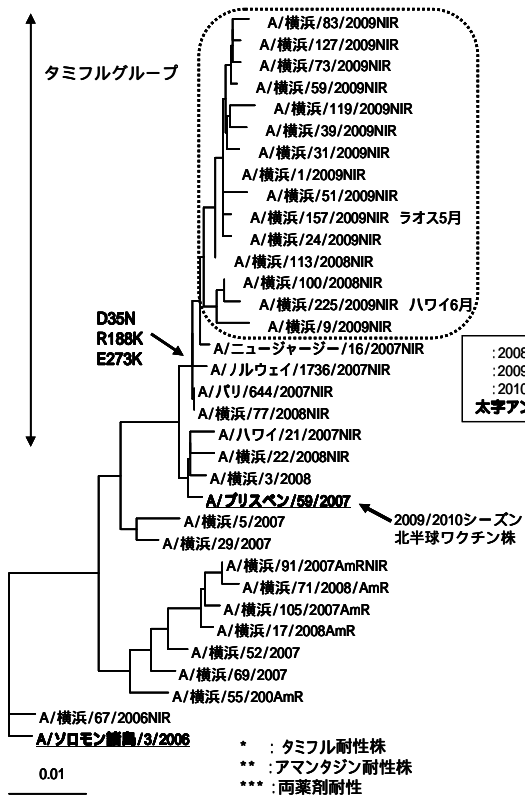


図7 AH1 型ウイルスのHI1遺伝子NJ系統樹1040bp

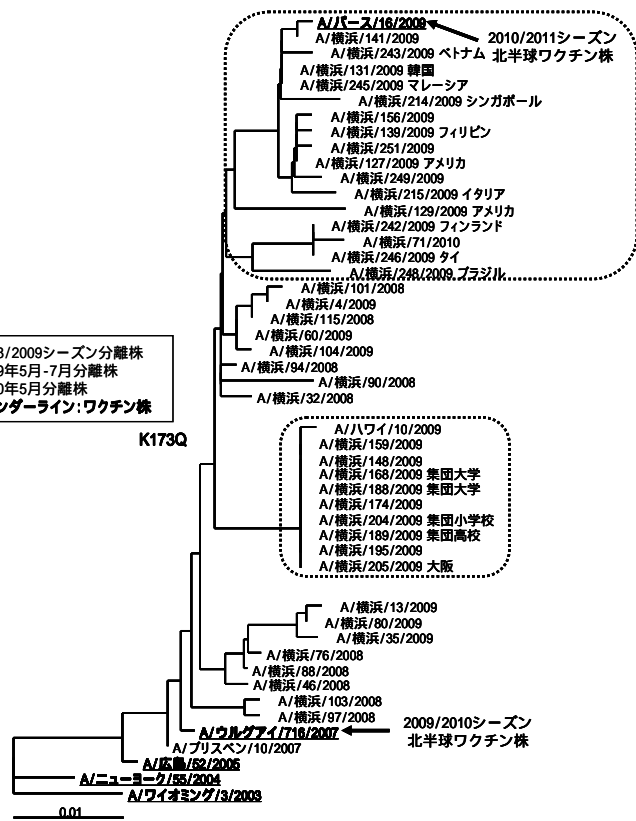


図8 AH3 型ウイルスのHI1遺伝子NJ系統樹1022bp

季節性AH1型ウイルスは2007/2008シーズン以降オセルタミビル耐性ウイルスのグループが増えはじめ、2008/2009シーズンは北欧系統の耐性グループが主流となりました。輸入例の2株は昨シーズンと同じグループに入りました(図7)。

季節性AH3型ウイルスは昨シーズン、ワクチン株のA/ウルグアイ/716/2007から大きく2つのグループに分かれました。2009年5月以降に分離されたウイルスは昨シーズンのグループのうち、K173Qアミノ酸変異をもつグループに入り、さらに2つのグループに分かれました。1つのグループは渡航歴のない地域流行や集団事例からの分離株で、もう1つのグループは世界各国から輸入された分離株でした。2010年5月に分離された株や2010/2011シーズンワクチン株のA/パース/16/2009²⁾も後者のグループでした(図8)。

B型ウイルスの系統樹は大きくVictoria系統と山形系統の2つの枝に分かれます。2009年7月に分離された山形系統のウイルスは2007/2008シーズンの分離株と同じグループでした。また、2010年3月のVictoria系統分離株は昨シーズン分離株やワクチン株のB/プリズベン/60/2008²⁾とは異なるグループでした(図9)。

【抗インフルエンザ薬感受性サーベイランス】

全調査で分離したAH1pdmウイルス569株について、ノイラミニダーゼ阻害薬のオセルタミビルに対するNA遺伝子耐性変異部位を調べました。入院事例から分離した4株で耐性を示唆する塩基置換がみられ、国立感染症研究所の薬剤感受性試験でオセルタミビル耐性株であることが確認されました。患者はいずれもオセルタミビル内服後であり、治療による選択と考えられ、全体の出現頻度は0.7%でした。さらに、約半数の286株についてザナミビル耐性を示唆するQ136KやI223Rについて調査しましたが、これらのアミノ酸置換はみられませんでした。また、34株についてM2阻害薬のアマンタジンに対する耐性部位を調べたところ、AH1pdmウイルスが最初から獲得しているアマンタジン耐性変異がみられました。

【まとめ】

横浜市におけるインフルエンザの流行はAH1pdmウイルスによるパンデミック流行であり、2009年5月から2010年5月までの1年間におよぶ大規模なものでした。AH1pdmウイルスの抗原性状はワクチン株と大きく変異していませんが、遺伝子解析では多様なグループがあり、今後の動向に注意が必要です。季節性AH1型ウイルスはパンデミック流行初期に分離されたのみで、世界各国でもわずかな報告にとどまっていますが、季節性AH3型ウイルスやB型が2010年冬の南半球や東南アジアで報告されており³⁾、AH1pdmウイルスとの混合流行が懸念されます。

WHOは8月10日、AH1pdmウイルスによるパンデミックの終息を発表し、ポスト・パンデミック期へ移行しました。しかし、インフルエンザの流行に終わりはなく、変異株や耐性株の監視は常に必要と思われます。

参考資料

1. 国立感染症研究所. <速報> ウイルス分離により確認された新型インフルエンザの国内初症例について 横浜市病原微生物検出情報 2009; 30: 239-241. <http://idsc.nih.go.jp/iasr/30/355/pr3551.html>
2. WHO.Recommended viruses for influenza vaccines for use in the 2010-2011 northern hemisphere influenza season: Weekly epidemiological record(WER)No.10,2010,85,81-92
3. WHO.Pandemic (H1N1) 2009 - update 111 http://www.who.int/csr/don/2010_07_30/en/index.html

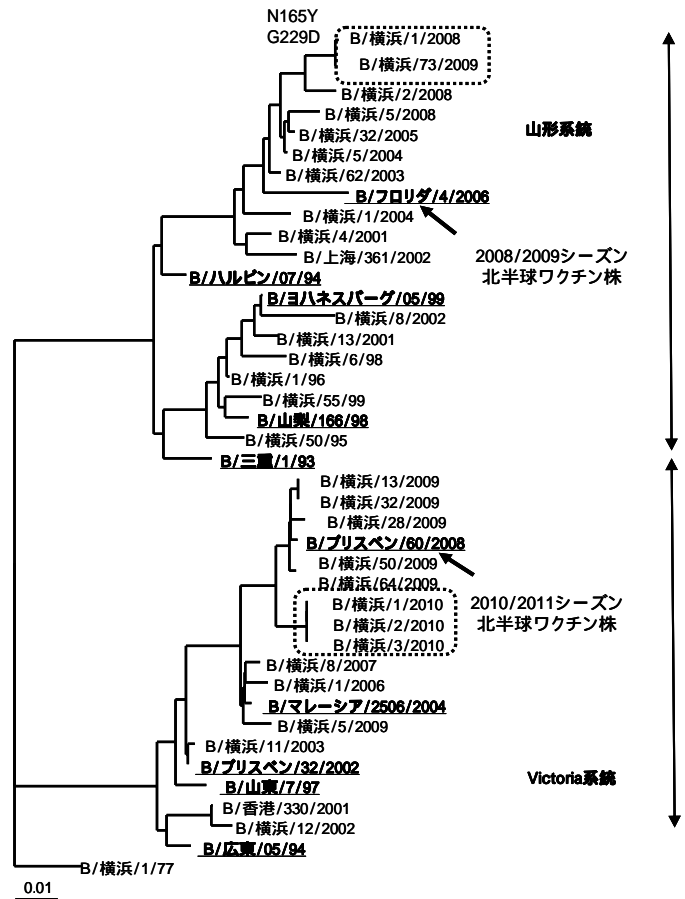


図9 B型ウイルスのH1遺伝子NJ系統樹 1041bp