

沖縄県における過去5年間のインフルエンザウイルスの分離状況

大野惇・與那原良克*・糸数清正・久高潤・大城直雅・安里龍二
 徳村勝昌・福村圭介・安慶田英樹**・古波倉正照***

Isolation Survey of Influenza Viruses in Human in Okinawa Prefecture During 5 years from 1992 to 1997

Atsushi OHNO, Yoshikatu YONAHARA, Kiyomasa ITOKAZU, Jun KUDAKA,
 Naomasa OSIRO, Ryuji ASATO, Katsumasa TOKUMURA, Keisuke FUKUMURA,
 Hideki AGEDA and Masateru KOHAGURA

要旨：インフルエンザウイルスの流行予測の一環として、1992年12月～1997年3月までの5年間に沖縄県内の定点医療機関においてインフルエンザ様症状を呈した外来患者などから採取したうがい液または咽頭拭い液の総計895検体についてウイルス分離を実施した。1992/93シーズンは流行期の1月にAH3型が16株、B型が3株分離され、全県的にAH3型の集団発生がみられ、患者報告数、ウイルス検出数ともに増加し、AH3型を主流とするB型との比較的大規模な混合流行であった。1993/94シーズンはウイルスは検出されず、患者の報告も2件のみであった。1994/95シーズンは閑散期にB型が9株分離されたが、流行期の12月中旬～2月上旬にAH3型が計49株、3月中旬にB型が分離され、流行の主体はAH3型で集団発生もみられ、患者報告数、ウイルス検出数ともに非常に増加し、近年では最大規模の流行であった。1995/96シーズンは4月～5月にB型が2株分離され、流行期の1月下旬～3月までにAH1型が計5株分離され、AH1型による比較的小さな流行が確認された。1996/97シーズンは流行期の12月中旬～3月にB型のみが計26株分離され、B型のみ流行とおもわれた。しかし、1997年1月中旬の患者血清の抗体を検査したところ、ワクチン製造株のAH3型に対する抗体が検出され、AH3型の流行も示唆された。このことから、1996/97シーズンはAH3型とB型の混合流行であったと考えられる。5年間でAH3型、AH1型およびB型の3種類のウイルスが分離同定され、さらに大規模なAH3型とB型の2種類の混合流行が確認された。

Key words : Okinawa Prefecture, Influenza Virus, Virus Isolation, Human

I はじめに

インフルエンザは例年冬場の12月から3月にかけて流行を繰り返す呼吸器系ウイルス感染症であり、罹患率が高く、高齢者、呼吸器・循環器・代謝系等に基礎疾患を持つ患者、妊産婦や乳幼児等のハイリスクグループの死亡率を高めることから、公衆衛生上重要な感染症のひとつである^{1) 2) 3)}。現在、ヒトのインフルエンザの流行を起こすのは、A型のAH1(ソ連)型(H1N1)とAH3(香港)型(H3N2)およびB型ウイルスの3種類があり、最近の流行は、2種類あるいは3種類のウイルスの混合流行を起こす傾向がある^{4) 5)}。その中で流行の主流を占め大流行を引起すウイルスと、小流行にとどまる

ウイルスがありインフルエンザの流行予測を困難なものにしている。さらに、近い将来、ソ連型や香港型に代わって新型インフルエンザウイルスによる大流行の可能性が危惧されている^{6) 7) 8)}。そこで、今回、インフルエンザの流行予測の一環として、沖縄県において過去5年間にわたりインフルエンザウイルスの分離同定を試みたので、その概要を報告する。

II 材料および方法

供試材料は、1992年12月から1997年3月にかけて県内の定点医療機関(内科、小児科)において臨床的にインフルエンザ様症状を呈した外来患者、県内小学校におけるインフルエンザ集団発生学童患者、当研究所職員およびその家族でインフルエンザ様症状を呈した症例から採取したうがい液または咽頭拭い液の総計895検体をウイルス分離に供した(表1)。小児は咽頭拭い液、成人は

*沖縄県環境保健部生活衛生課

**沖縄県立那覇病院

***古波倉医院

うがい液を採取した。うがい液および咽頭拭い液は、採取当日分離に供するものは冷蔵保存し、後日分離するものは凍結保存 (-80℃以下) をした。

ウイルス分離は、材料を定法⁹⁾¹⁰⁾に従い処理した後、単層培養したMadin-Darby canine kidney (MDCK) 細胞に直ちに接種し、10 μg/mlトリプシン、0.2%ウシ血清アルブミン (BSA) を含むMinimum essential medium Eagle (MEM) をウイルス分離用培地として、35℃、5%炭酸ガス培養孵卵器にて培養した。ウイルス分離の確認は、5~7日間培養後、細胞変性効果 (CPE) および赤血球凝集 (HA) 活性にて行った。ウイルス分離陰性のものは、3代目まで盲継代を行った。HA活性には、ニワトリ赤血球、ガチョウ赤血球およびモルモット赤血球を用いた (図1)。

分離ウイルスの同定および抗原分析は、国立感染症研究所・日本インフルエンザセンターより分与されたワクチン製造株のフェレット免疫抗血清を用いて赤血球凝集抑制 (HI) 試験¹¹⁾¹²⁾を行った (表2)。免疫血清の処理は、3倍容のreceptor destroying enzyme (RDE) 液を加え、37℃、16時間以上の酵素処理後、56℃、60分間の加熱処理による非動化および使用血球での37℃、60分間の血球処理による非特異的赤血球凝集物質の吸収除去を行った。

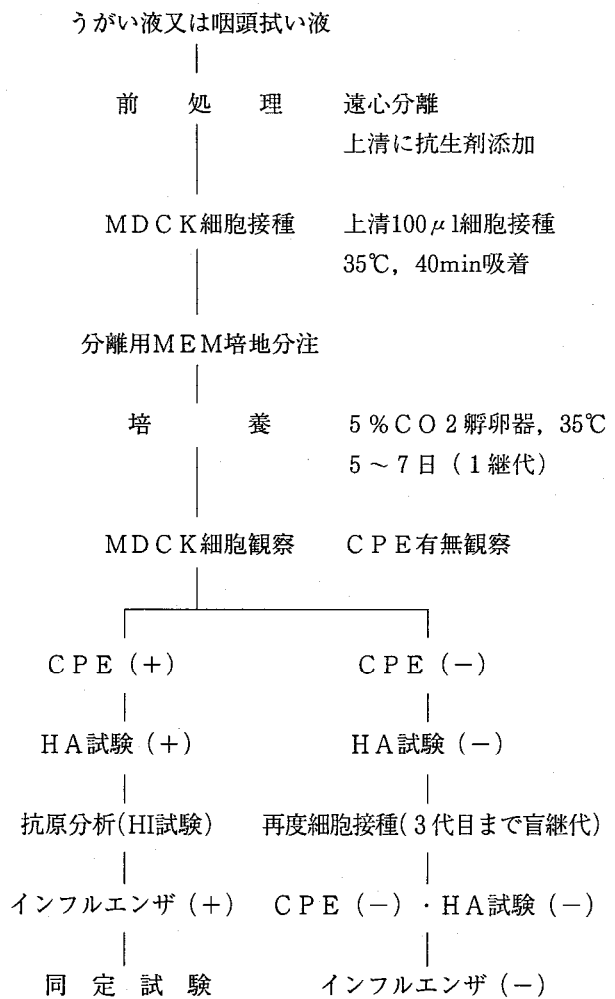


図1. ウイルス分離・同定方法.

表1. 供試材料 (うがい液及び咽頭拭い液).

検体採取月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計
92/93シーズン									1	76			77
うがい液									1	76			77
拭い液													
93/94シーズン			4	11	10	1	3	9	5	40	4		87
うがい液			4	11	10	1	3	4	3	40	4		80
拭い液								5	2				7
94/95シーズン		11	17	6	2	2	10	6	18	163	30	11	276
うがい液		8	14	6	2	2	1		10	116	15	3	177
拭い液		3	3				9	6	8	47	15	8	99
95/96シーズン	10	8	5	8	2	5	7	14	17	20	22	13	131
うがい液	3	3	1	2	2	5	1	6	5	11	15	4	58
拭い液	7	5	4	6			6	8	12	9	7	9	73
96/97シーズン	7	22	13	4		1	5	14	65	126	53	14	324
うがい液	1	14	5			1	5	14	32	37	22	5	136
拭い液	6	8	8	4					33	89	31	9	188
合計	17	41	39	29	14	9	25	43	106	425	109	38	895

Ⅲ 結 果

1. ウイルス分離

1992/93シーズンは、93年1月に76検体中A香港(H3N2)型が16株とB型が3株分離された(表3)。そのうち、集団発生は1月中旬から下旬にかけてみられ、最初に1月11日~13日かけて宮古多良間地区の集団発生患者11検体中2検体から、さらに1月18日~19日かけて宮古地区の患者9検体中2検体から、1月19日に本島南部の小学校の患者10検体中1検体から、1月26日に本島中部の2ヶ所の小学校の患者20検体中1検体と、八重山地区の小学校の患者10検体中4検体から、それぞれウイルスが分離された。これら5地区の集団発生患者60検体から分離されたウイルス分離

株10株は抗原分析の結果すべてA香港(H3N2)型と同定された(表4)。このように、A香港(H3N2)型ウイルスによる全県的な集団発生が確認された。さらに、1月25日に那覇市内の定点医療機関の患者10検体中A香港(H3N2)型が6株、B型が3株分離され、B型の流行も確認された。

1993/94シーズンは、93年6月~94年2月に87検体の分離を試みたがウイルスは検出されず、患者の報告も1月に2件のみで流行はみられなかった(表5)。

1994/95シーズンは、94年4月~95年3月までの期間に276検体中A香港(H3N2)型ウイルスが49株、B型ウイルスが10株分離された(表6)。このシーズンは、

表2. 抗原分析に用いたウイルス抗原およびフェレット感染抗血清.

シーズン	1992/93	1993/94	1994/95.1995/96	1996/97
ウイルス型				
AH1型 (H1N1)	A/Yamagata/32/89	A/Yamagata/32/89	A/Yamagata/32/89	A/Yamagata/32/89
AH3型 (H3N2)	A/Beijing/352/89 A/Shiga/2/91 A/Brazil/02/91	A/Kitakyushu/159/93	A/Kitakyushu/159/93 A/Akita/1/94	A/Wuhan/359/95
B型	B/Bangkok/163/90	B/Bangkok/163/90 B/Mie/1/93	B/Mie/1/93	B/Mie/1/93

表3. 1992/93シーズンのウイルス分離状況.

年	1992										1993			合計		
	分	離	月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1		2	3
検												1	76			77
分													16			16
離																0
数													3			3
合													19			19

表4. 1992/93シーズンの集団発生状況.

集団発生地域名(校)	検体採取日	ウイルス分離 (陽性数/検査数)	ウイルス型	分離株名
多良間地区	93.01.11~13	2/11	AH3	A/沖縄/7.15/93
琉球大学附属小学校	93.01.19	1/10	AH3	A/沖縄/20/93
宮古地区	93.01.18~19	2/9	AH3	A/沖縄/30.36/93
石垣市立平真小学校	93.01.26	4/10	AH3	A/沖縄/49.51.53.55/93
中城小学校	93.01.26	0/11		
島袋小学校	93.01.26	1/9	AH3	A/沖縄/72/93
合計		10/60		

流行閉期の94年5月～7月に散発例からB型ウイルス(B/三重/1/93株類似株)が34検体中9株分離されたが、流行期には初発として12月19日にA香港(H3N2)型が分離された後、12月に18検体中2株、95年1月に163検体中37株、95年2月に30検体中10株、合計49株のA香港(H3N2)型ウイルスが94年12月19日～95年2月6日までに分離された。集団発生は、流行ピーク時の1月23日と1月27日に本島南部の2ヶ所の小学校であり、患者32検体中から2株のA香港(H3N2)型が分離され、A香港(H3N2)型ウイルスによる集団発生が確認された(表7)。さらに、95年3月と4月の中旬にB型ウイルスがそれぞれ1株分離された。

1995/96シーズンは、95年4月～96年3月の期間に131検体中Aソ連(H1N1)型ウイルスが5株、B型ウイルスが2株分離された。このシーズンは、95年4月～5月にB型ウイルス(B/三重/1/93株類似株)が18検体中2株分離された。流行期は初発として96年1月22日(96年第4週)に那覇市内定点医療機関の検体からA

ソ連(H1N1)型が分離された後、96年2月に2株、3月に2株、55検体中合計5株のAソ連(H1N1)型が96年1月～3月までに分離された(表8)。このシーズンは、集団発生もみられず、Aソ連(H1N1)型による比較的小さな流行が確認された。また、特徴的なことは96年2月下旬～3月上旬に那覇市内の小児科定点医療機関において、臨床診断でインフルエンザ脳症を疑われた患者2人(幼児)のうち1人の咽頭ぬぐい液よりAソ連(H1N1)型インフルエンザウイルスが分離された。

1996/97シーズンは、96年4月～97年3月の期間に324検体中B型ウイルスのみが26株分離された。このシーズンは、流行期は初発として96年12月12日に内科定点医療機関の検体からB型が分離後も、97年1月下旬に3株、2月に17株、3月に5株、96年12月～97年3月までに258検体中合計26株のB型ウイルスのみが分離された(表9)。97年1月11日～14日の患者19人のペア血清についてインフルエンザウイルス抗体検査を3種類のワクチ

表5. 1993/94シーズンのウイルス分離状況.

年	1993												1994			合計
分離月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	合計
検体数			4	11	10	1	3	9	5	40	4					87
分 A/H3																0
分離 A/H1																0
数 B																0
合計																0

表6. 1994/95シーズンのウイルス分離状況.

年	1994												1995			合計
分離月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	合計
検体数		11	17	6	2	2	10	6	18	163	30	11				276
分 A/H3										2	37	10				49
分離 A/H1																0
数 B		2	6	1											1	10
合計		2	6	1						2	37	10	1			59

表7. 1994/95シーズンの集団発生状況.

集団発生地域名(校)	検体採取日	ウイルス分離 (陽性数/検査数)	ウイルス型	分離株名
西原町立西原小学校	95.01.23	0/15		
西原町立西原南小学校	95.01.27	2/17	AH3	A/沖縄/161/95 A/沖縄/175/95
合計		2/32		

ン製造株ウイルス抗原A/山形/32/89 (H1N1), A/武漢/359/95 (H3N2), B/三重/1/93を用いてHI試験で行った. その結果患者16人のペア血清はA/武漢/359/95 (H3N2) に対して急性期1:<32~64, 回復期1:128~2048と有意な抗体価の上昇を示しており,

A香港 (H3N2) 型インフルエンザウイルスの感染が疑われた (表10).

2. 分離ウイルスの抗原分析

1992/93シーズンのウイルス分離株の抗原分析は, A香港 (H3N2) 型ウイルスの分離株については流行初

表8. 1995/96シーズンのウイルス分離状況.

年	1995										1996			合計
	分 離 月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
分 離 検 体 数	10	8	5	8	2	5	7	14	17	20	22	13	131	
分 A/H3													0	
分 離 A/H1										1	2	2	5	
数 B		1	1										2	
合 計		1	1							1	2	2	7	

表9. 1996/97シーズンのウイルス分離状況.

年	1996										1997			合計
	分 離 月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
分 離 検 体 数	7	22	13	4			1	5	14	65	126	53	14	324
分 A/H3														0
分 離 A/H1														0
数 B										1	3	17	5	26
合 計										1	3	17	5	26

表10. 1996/97シーズンのインフルエンザウイルス抗体検査成績 (ペア血清: 急性期血清、回復期血清).

フェレット感染抗血清		ウ イ ル ス 抗 原							
		A/山形/32/89	A/武漢/359/95	B/三重/1/93		A/山形/32/89 (H1N1)		A/武漢/359/95 (H3N2)	
A/山形/32/89 (H1N1)		2048		-		-		-	
A/武漢/359/95 (H3N2)		-		2048		-		-	
B/三重/1/93		-		-		1024		-	

No.	地 区No.	ペア血清採取月日		ペア血清		ペア血清		ペア血清	
		急性期	回復期	急性期	回復期	急性期	回復期	急性期	回復期
1	八重山-1	97.1.11	1.20	64	64	<32	<32	<32	<32
2	八重山-2	97.1.11	1.27	<32	<32	<32	1024	<32	<32
3	八重山-3	97.1.13	1.24	128	128	<32	32	128	128
4	宮古-1	97.1.13	1.24	512	512	32	1024	256	256
5	宮古-2	97.1.13	1.24	512	1024	<32	512	128	128
6	宮古-3	97.1.13	1.24	128	256	32	2048	<32	<32
7	宮古-4	97.1.13	1.24	128	128	32	2048	128	128
8	宮古-5	97.1.13	1.24	512	512	32	256	<32	<32
9	宮古-6	97.1.13	1.24	256	256	32	1024	32	32
10	宮古-7	97.1.13	1.24	512	512	32	2048	64	64
11	宮古-8	97.1.13	1.24	64	128	<32	128	<32	<32
12	宮古-9	97.1.13	1.24	32	32	32	1024	64	64
13	宮古-10	97.1.14	1.24	512	1024	<32	2048<	128	128
14	宮古-11	97.1.14	1.24	32	128	32	2048<	32	64
15	宮古-12	97.1.14	1.24	2048<	2048<	<32	32	<32	<32
16	宮古-13	97.1.14	1.24	512	512	32	2048<	<32	<32
17	宮古-14	97.1.14	1.24	256	256	<32	2048<	64	128
18	宮古-15	97.1.14	1.24	32	32	64	2048<	<32	<32
19	宮古-16	97.1.14	1.24	256	256	<32	1024	32	32

期, 中期および後期に分離された集団発生株6株, 散発例3株の計9株, B型ウイルスの分離株については, 散発例の3株を行った. A香港(H3N2)型の分離株は集団発生株, 散発例株ともに, 同シーズンのワクチン製造株であるA/ブラジル/2/91とほぼ類似した抗原性を示していた(表11). B型の分離株は, ワクチン製造株であるB/バンコク/163/90に抗原性が一致おり, B/香港/22/89にも類似していた(表12).

1994/95シーズン分離株の抗原分析は, A香港(H3N2)型ウイルスの分離株については流行初期, 中期および後期に分離された集団発生株2株, 散発例3株の計5株, B型ウイルスの分離株については, 散発例の5株

を行った. A香港(H3N2)型の分離株は集団発生株, 散発例株ともに, 同シーズンのワクチン製造株のA/北九州/159/93およびA/秋田/1/94とほぼ類似した抗原性を示した(表13). B型の分離株は, ワクチン製造株のB/三重/1/93に抗原性が一致していた(表14).

1995/96シーズン分離株の抗原分析は, Aソ連(H1N1)型ウイルスの分離株については流行初期, 中期および後期に分離された散発例株5株, B型ウイルスの分離株については, 散発例の2株を行った. Aソ連型の分離株は, ワクチン製造株のA/山形/32/89とほぼ類似した抗原性を示した(表15). B型の分離株は, ワクチン製造株のB/三重/1/93に抗原性が一致していた(表16).

表11. 1992/93シーズンのAH3分離株の抗原分析(同定).

ウイルス抗原	フェレット感染抗血清				
	A/貴州/54/89	A/山形/32/89	A/北京/352/89	A/滋賀/2/91	A/Brazil/02/91
標 A/貴州/54/89	512	ND	<32	<32	<32
A/山形/32/89	ND	2,048	ND	ND	ND
準 A/北京/352/89	64	ND	2,048	1,024	256
A/滋賀/2/91	128	ND	128	2,048	512
株 A/Brazil/02/91	32	ND	64	256	512
A/沖縄/7/93	ND	<16	64	512	512
集 A/沖縄/15/93	ND	<16	64	128	128
団 A/沖縄/20/93	* <32	ND	32	64	512
発 A/沖縄/30/93	* 64	ND	64	64	256
生 A/沖縄/55/93	* 64	ND	128	128	256
A/沖縄/72/93	ND	<16	128	256	256
散 A/沖縄/38/93	ND	<16	64	512	512
発 A/沖縄/39/93	* 64	ND	32	64	1,024
例 A/沖縄/40/93	ND	<16	32	64	128

*感研による同定試験成績

表12. 1992/93シーズンのB型分離株の抗原分析(同定).

ウイルス抗原	フェレット感染抗血清				
	B/山形/16/88	B/愛知/5/88	B/HK/22/89	B/BK/163/90	B/Panama/45/90
標 B/山形/16/88	2,048	32	256	1,024	2,048
B/愛知/5/88	<32	256	<32	<32	<32
準 B/HK/22/89	64	32	512	256	64
B/BK/163/90	128	<32	64	512	128
株 B/Panama/45/90	256	<32	2,048	512	512
分 B/沖縄/37/93	128	<32	256	512	128
離 B/沖縄/41/93	128	<32	512	512	256
株 B/沖縄/42/93	128	32	256	512	128

HK: HongKong, BK: BanKok

1996/97シーズン分離株の抗原分析は、B型の分離株については流行初期、中期および後期に分離された散発例の5株を行った。B型分離株は、同シーズンのワクチン製造株のB/三重/1/93ホモ価(HI価)1:2,048に対して、分離株ウイルス5株中4株が1:128~256を示し、ワクチン製造株に対して低く反応していた(表17)。

3. 分離ウイルスのニワトリ、ガチヨウおよびモルモット赤血球に対する凝集性

1994/95シーズン以降に分離されたA香港(H3N2)型ウイルスおよびAソ連(H1N1)型ウイルスはHA活性に変化がみられ、ニワトリ赤血球に対するHA活性が非常に低く凝集能が著しく低下した株やHA活性が全く

なく反応せず凝集しない株も確認された。B型ウイルスに対しては高いHA活性がみられた。A香港(H3N2)型ウイルスおよびAソ連(H1N1)型ウイルスの分離株はガチヨウおよびモルモット赤血球に対してはHA活性があり、高い凝集能が認められた。

ガチヨウおよびモルモットの赤血球の濃度は、ガチヨウが0.3%赤血球、モルモットが0.7%赤血球適当であった。分離株における0.3%ガチヨウ赤血球と0.7%モルモット赤血球のHA活性を比べた場合、0.3%ガチヨウ赤血球の方が高い凝集能がみられ、0.7%モルモット赤血球に対しては若干凝集能が低いものも認められた。

表13. 1994/95シーズンのA/H3型分離株の抗原分析(同定)。

		フェレット感染抗血清					
ウイルス抗原	A/福岡/29/85	A/北京/352/89	A/滋賀/2/91	A/ブラジル/02/91	A/北九州/159/93	A/秋田/1/94	
標準	A/福岡/c29/85	1,024	128	256	256	128	32
	A/北京/352/89	128	2,048	512	256	32	64
	A/滋賀/2/91	<32	128	1,024	512	32	256
	A/ブラジル/02/91	<32	64	256	1,024	128	256
	A/北九州/159/93	<32	<32	64	512	1,024	256
株	A/秋田/1/94	<32	32	64	512	256	2,048
散	A/沖縄/72/95	<32	32	128	128	2,048	4,096
発	A/沖縄/84/95	<32	32	128	128	2,048	4,096
例	A/沖縄/249/95	<32	32	64	128	2,048	4,096
集	A/沖縄/161/95	NT	NT	NT	NT	256	1,024
団	A/沖縄/175/95	NT	NT	NT	NT	512	2,048

表14. 1994/95シーズンのB型分離株の抗原分析(同定)。

		フェレット感染抗血清					
ウイルス抗原	B/山形/16/88	B/愛知/5/88	B/HK/22/90	B/BK/163/90	B/Panama/45/90	B/三重/1/93	
標準	B/山形/16/88	2,048	32	256	256(512)	256(1,024)	64
	B/愛知/5/88	<32	256	<32	<32	<32	<32
	B/HK/22/90	128(64)	32	256(512)	256	512(256)	32
	B/BK/163/90	128	<32	128(64)	512	128	32
	B/Panama/45/90	256	32	256(512)	256(512)	512	128
株	B/三重/1/93	128	32	64	128	64	512
散	B/沖縄/5/94	256	<32	64	64	64	256
	B/沖縄/10/94	512	<32	64	128	128	1,024
発	B/沖縄/14/94	256	<32	64	128	128	1,024
	B/沖縄/272/95	256	<32	128	128	128	512
例	B/沖縄/2/95	256	<32	64	64	128	1,024

* () の値: B/沖縄/272/95, B/沖縄/2/95の場合

表15. 1995/96シーズンの分離株の抗原分析 (同定).

		フェレット感染抗血清			
ウイルス抗原	A/山形/32/89 (H1N1)	A/北九州/159/93 (H3N2)	A/秋田/1/94 (H3N2)	B/三重/1/93	
標	A/山形/32/89	2,048	—	—	
準	A/北九州/159/93	—	2,048	—	
	A/秋田/1/94	—	—	1,024	
株	B/三重/1/93	—	—	2,048	
散	A/沖縄/10/96	2,048	<16	<16	
	A/沖縄/27/96	1,024	<16	<16	
発	A/沖縄/39/96	1,024	<16	<16	
	A/沖縄/42/96	2,048	<16	<16	
例	A/沖縄/45/96	1,024	<16	<16	

表16. 1995/96シーズンのB型分離株の抗原分析 (同定).

		フェレット感染抗血清					
ウイルス抗原	B/山形/16/88	B/愛知/5/88	B/HK/22/90	B/BK/163/90	B/Panama/45/90	B/三重/1/93	
標	B/山形/16/88	2,048	32	256	256(512)	256(1,024)	64
準	B/愛知/5/88	<32	256	<32	<32	<32	<32
	B/HK/22/90	128(64)	32	256(512)	256	512(256)	32
	B/BK/163/90	128	<32	128(64)	512	128	32
	B/Panama/45/90	256	32	256(512)	256(512)	512	128
株	B/三重/1/93	128	32	64	128	64	512
散	B/沖縄/2/95	256	<32	64	64	128	1,024
	B/沖縄/19/95	NT	NT	NT	NT	NT	512

* () の値: B/沖縄/2/95の場合

表17. 1996/97シーズンのB型分離株の抗原分析 (同定).

		フェレット感染抗血清		
ウイルス抗原	A/山形/32/89(H1N1)	A/武漢/359/95(H3N2)	B/三重/1/93	
標	A/山形/32/89	2,048	—	
準	A/武漢/359/95	—	2,048	
株	B/三重/1/93	—	2,048	
散	B/沖縄/133/96	<32	<32	
	B/沖縄/116/97	<32	<32	
発	B/沖縄/128/97	<32	<32	
	B/沖縄/147/97	<32	<32	
例	B/沖縄/187/97	<32	<32	

IV 考 察

1992/93シーズンは、93年1月にA香港(H3N2)型とB型が分離された。集団発生は流行のピークである1月中旬から下旬にかけみられ、最初に1月11日～13日かけて宮古多良間地区で確認され、さらに1月18日～19日かけて宮古地区と本島南部から、1月26日には本島中部と八重山地区から確認された。これら5地区の集団発生患者から分離されたウイルス分離株10株は抗原分析の結果すべてA香港(H3N2)型と同定された。このように、わずか2週間で宮古・八重山地区の離島を含む全県的なA香港(H3N2)型ウイルスによる集団発生が確認され、インフルエンザウイルスの伝播力の速さを窺わせた。さらに、1月25日に那覇市内の定点医療機関の患者からA香港(H3N2)型のみならずB型が分離され、B型ウイルスの流行も確認された。以上のウイルス分離状況から沖縄県の1992/93シーズン流行はA香港(H3N3)型が主流でB型との混合流行であり、患者報告数、ウイルス検出数ともに例年より増加し、数年来の大規模な流行であった。日本の同シーズンのインフルエンザの流行はA香港(H3N3)型とB型の混合流行で、感染症サーベランスによるインフルエンザ様疾患患者報告数は過去6シーズンでは最高であり、さらに、病原微生物検出情報に報告されたインフルエンザウイルス分離数は情報収集開始以来の最高数で、A香港(H3N3)型が2,293株、B型が2,251株合計4,544株でそれぞれの報告数も過去最高であったと報告されている¹³⁾¹⁴⁾。沖縄県の1992/93シーズンのインフルエンザの流行は、日本全国の流行と同様な傾向であったと推測される。

1993/94シーズンは、93年6月～94年2月の期間に分離を試みたがウイルスは検出されず、患者報告も1月に2件のみであり、インフルエンザの流行はなかたと思われる。日本の同シーズンのインフルエンザ流行の特徴は患者発生の規模が小さく、インフルエンザ様疾患患者報告数は1987年集計開始以来最低で、病原微生物検出情報に報告されたインフルエンザウイルス分離数は1,809株で、過去最高であった前シーズンの約3分の1に減少したと報告されている¹⁵⁾。このようなことから、沖縄県においても前シーズンの数年来の比較的大規模な流行の反動で、1993/94シーズンはインフルエンザウイルスの動きがなかったと考えられる。

1994/95シーズンは、A香港(H3N2)型ウイルスが49株、B型ウイルスが10株、合計59株のインフルエンザウイルスが分離され、沖縄県において過去最高のインフルエンザウイルス検出数ではないかと思われる。この

シーズンは、流行閉期の94年5月～7月に、2県1政令指定で1993年に出現したB/三重/1/93株に類似のB型ウイルス株が9株分離され、今冬季の流行期はB型の流行が懸念された¹⁶⁾¹⁷⁾。しかし、流行期には初発として12月19日にA香港(H3N2)型ウイルスが分離された後、94年12月19日～95年2月6日までの一カ月半にわたりA香港(H3N2)型ウイルスが分離された。集団発生は流行ピーク時の1月下旬に本島南部であり、A香港(H3N2)型ウイルスが検出され、A香港(H3N2)型による大規模な流行が確認された。さらに、95年3月と4月の中旬にB型ウイルスがそれぞれ分離されたが、懸念されたような大きな流行には至らなかった。B型ウイルスの流行は、局所的で、成人に散発的な感染を起こすことが多く、大流行には至らないと言う報告もあり¹⁸⁾、また、B型ウイルスの進化様式はA型ウイルスとは異なり、多種のウイルスが同一シーズンに循環していることが報告されている¹⁹⁾、この様なことから大きな流行には至らなかったと考えられる。以上のウイルス分離、集団発生状況から沖縄県における1994/95シーズンの流行の主体はA香港(H3N2)型ウイルスで小規模なB型との混合流行であり、A香港(H3N2)型による集団発生もみられ、患者報告数、ウイルス検出数ともに過去最高であった1992/93シーズン以上に増加し、近年では最大規模のインフルエンザの流行であったと思われる。このことは、1994/95シーズンの九州・沖縄地方におけるインフルエンザ流行の経時的移行という梶原らの報告²⁰⁾からも実態が窺える。また、全国的にみても、同シーズンのインフルエンザの流行は患者数が非常に増加し、分離されたウイルスは主にA香港型とB型で、病原微生物検出情報に報告されたインフルエンザウイルス分離数は5,747株で過去最高で、特にA香港型が3,743株と大きく増加し過去最高であった。さらに、感染症サーベランスによるインフルエンザ様疾患患者報告数は1987年の集計開始以来最高(一定点当たり287.9人)であったと報告されている²¹⁾。このことから、1994/95シーズンのインフルエンザ流行の規模の大きさが窺える。

1995/96シーズンは、Aソ連(H1N1)型ウイルスとB型ウイルスが分離された。このシーズンは、95年4月～5月に散発例からB型ウイルス(B/三重/1/93株類似株)が分離され、95年3月にもB型ウイルスが分離されており、95年3月より続いているB型ウイルスの緩慢な動きが確認され、B型ウイルス特徴的な動きではないかと思われた。流行期は初発として96年第4週に定点医療機関からAソ連型ウイルスが分離された後、2月

～3月までにAソ連型ウイルスが分離された。このシーズンの流行は、1994/95シーズンのA香港型主流の大規模な流行とは異なり、集団発生もみられず、Aソ連型による比較的小さな流行であったと思われる。しかし、このシーズンの注目されることは、96年2月下旬～3月上旬に那覇市内の小児科定点医療機関において、臨床診断で脳症を疑われた患者2人(幼児)のうち1人の咽頭ぬぐい液よりAソ連型インフルエンザウイルスが分離され、Aソ連型インフルエンザウイルスによる脳症が示唆された。これは、全国の1995/96シーズンのインフルエンザ流行状況において分離されたインフルエンザウイルスの大部分はAソ連型で、昨シーズンに引き続いて脳炎、脳症、循環器障害などの重症例の報告が目立ち、さらに過去に1例のみであったAソ連型インフルエンザウイルスによる重症例が多かったことが注目されると報告されている²⁰⁾。今回、我々は2例しか経験しなかったが、沖縄県においても同様な傾向がみられ、インフルエンザウイルスによる脳症、脳炎、循環器障害などの重症例患者が、この他にも発生していたものと思われる。

1996/97シーズンは、B型ウイルスのみが26株分離された。このシーズンは、流行期は初発として96年12月12日に内科定点医療機関の検体からB型ウイルスが分離後も、97年1月下旬に3株、2月に17株、3月に5株、96年12月～97年3月までに合計26株のB型ウイルスのみが分離され、B型の単独の流行が疑われた。しかし、患者報告がピークの97年1月上旬～中旬にかけてウイルスは分離されておらず、全国的にはA香港(H3N2)型が流行していた。そこで、1月中旬(11日～14日)の患者19人のペア血清についてインフルエンザウイルス抗体検査を行った。その結果患者16人のペア血清はA/武漢/359/95(H3N2)に対して急性期1:<32～64、回復期1:128～2048と有意な抗体価の上昇を示しており、A香港(H3N2)型インフルエンザウイルスの感染があり、このインフルエンザウイルスの流行が示唆された。以上の状況から沖縄県の1996/97シーズン流行はA香港(H3N3)型とB型との二峰性の混合流行で、比較的大きな流行であったと考えられた。

分離ウイルス株の抗原分析については、1992/93シーズンのA香港(H3N2)型ウイルス分離株は、大部分のウイルスが同シーズンのワクチン製造株であるA/ブラジル/02/91とほぼ類似した抗原性を示し、若干A/滋賀/2/91に反応するものもあったが、A/北京/352/89とは32～128という低いHI価を示していた。B型の分離株も、ワクチン製造株であるB/バンコク/163/90

に抗原性が一致しており、B/香港/22/89にも反応するものもあった。以上のことからA香港(H3N2)型およびB型の分離株ともに、大勢において抗原性に変化は認められなかったと思われる。

1994/95シーズンのA香港(H3N2)型ウイルス分離株は集団発生株、散发例株ともに、同シーズンのワクチン製造株のA/北九州/159/93およびA/秋田/1/94とほぼ類似した抗原性を示した。B型の分離株もワクチン製造株のほとんどがB/三重/1/93に抗原性が一致していた。同シーズンの分離ウイルス株の抗原性は、A香港(H3N2)型およびB型の大部分で予想通りそれぞれの型のワクチン製造株と類似していたと考えられる。

1995/96シーズンのAソ連(H1N1)型ウイルス分離株は、ワクチン製造株のA/山形/32/89とほぼ類似した抗原性を示し、B型の分離株も、ワクチン製造株のB/三重/1/93に抗原性が一致していた。同シーズンのAソ連(H1N1)型およびB型のウイルスには抗原性の変異はなかったと考えられる。しかし、1996年1月に降に中国等で分離されたA香港(H3N2)型ウイルスには抗原性に変異が起こっており、1996/97シーズン用のA香港(H3N2)型ワクチン株はWHO推奨のA/武漢/359/95株に変更されているという報告²¹⁾があり、A香港(H3N2)型ウイルスの今後の動向が注目される。

1996/97シーズンのB型ウイルス分離株は、同シーズンのワクチン株のB/三重/1/93のホモ価(HI価)が1:2,048で、分離株ウイルス5株中4株が1:128～256を示し、ワクチン株に対して低く反応しており、抗原性に変異がある株が出現しているものと考えられた。今後、来シーズンのワクチン製造株の選定が注目される。

分離ウイルスのニワトリ赤血球に対する凝集性については、最近、インフルエンザウイルス分離方法は、発育孵化鶏卵に変わってMDC K細胞が主に用いられている。MDC K細胞で分離されたA型ウイルス株はHA活性に変化がみられ、ニワトリ赤血球に対するHA活性が非常に低く凝集能が著しく低下した株やHA活性が全くなく反応せず凝集しない株が存在し、B型ウイルスに対しては高いHA活性がみられることが報告されている^{23) 24) 25) 26)}。しかし、A型ウイルス分離株はガチョウおよびモルモット赤血球に対してはHA活性があり、高い凝集能が認められた。ガチョウおよびモルモットの赤血球の濃度は、ガチョウが0.3%赤血球、モルモットが0.7%赤血球適当であった。分離株における0.3%ガチョウ赤血球と0.7%モルモット赤血球のHA活性を比べた場合、0.3%ガチョウ赤血球の方が2倍～3倍高い凝集能がみられ、0.7%

モルモット赤血球は若干凝集能が低いものが認められた。以上のことより、A型ウイルスにおいて、ニワトリ赤血球、ガチョウ赤血球およびモルモット赤血球に対して凝集性に変化が確認されており、今後A型インフルエンザウイルスのHA活性やHI試験による分離同定には、ニワトリ赤血球のみではなく、複数の赤血球を用いる必要があると思われた。

<謝 辞>

稿を終えるにあたり、本調査を行う際に検体採取に御協力をいただきました沖縄県立那覇病院小児科宮城雅也先生及び古波倉医院古波倉正実氏、各医療機関の諸先生方並びに沖縄県予防課、名護、石川、コザ、中央、南部、宮古、八重山各保健所の関係各位に深謝いたします。

V ま と め

1. 1992年12月～1997年3月までの5年間に、分離されたインフルエンザウイルスはA香港型(H3N2)が最も多く65株、次いでB型が41株で、Aソ連型(H1N1)が5株であった。
2. 1992/93シーズンの流行はA香港型とB型の混合流行で、数年来の比較的大きな流行が確認された。さらに、1994/95シーズンは流行閑散期にB型が分離され、流行期はB型の流行が懸念されたが、流行期には患者報告数、ウイルス検出数ともに非常に増加し、近年では最大規模なA香港型による流行が確認された。
3. 最近分離された、A型インフルエンザウイルス株はニワトリ赤血球に対するHA活性が非常に低いか活性がないものもあり、ガチョウ赤血球およびモルモット赤血球を併用する必要があると思われた。
4. 1996年2月下旬～3月上旬に定点医療機関(小児科)において、臨床診断でインフルエンザ脳症が疑われた患者2人のうち1人の咽頭拭い液から、Aソ連型ウイルスが分離され、インフルエンザウイルスによる脳症が示唆された。
5. 1996/97シーズンは流行期にB型ウイルスのみが分離され、B型のみの流行と思われたが、97年1月中旬の患者ペア血清のインフルエンザ抗体は19人中16人がA/武漢/359/95(H3N2)に対して有意な抗体価の上昇を示し、A香港型ウイルスの感染が疑われ、A香港型とB型の混合流行が示唆された。
6. 沖縄県における5年間のウイルス分離状況からウイルスの動きが不安定で、流行の予測が非常に困難なように思われた。
7. 近い将来、新型による大流行の可能性が危惧されお

り、今後、従来から進められている感染症サーベイランスや流行予測事業等の監視体制を強化し、さらにはヒトだけではなく、ブタおよびトリウイルスの動向も監視して行く必要があると思われた。

VI 参 考 文 献

- 1) 福見秀雄(1979)インフルエンザ. 新宿書房, 東京, pp. 28-33.
- 2) 廣田良夫(1996)インフルエンザ対策の動向. 日本公衆衛生学雑誌, 43(11):946-953.
- 3) Center for disease Control and Prevention. (1994) Prevention and Control of Influenza: part1, vaccines recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) MMWR.
- 4) 木村司・春木高祐・勢戸祥介・木村輝男・志辺清子・袁城昇次(1994)1992/93シーズンに大阪市内で分離されたB/ビクトリア系統インフルエンザウイルスについて. 生活衛生, 38:321-326.
- 5) 武内可尚(1995)インフルエンザ, パラインフルエンザ, RSウイルス, アデノウイルス. 臨床とウイルス, 23(増刊):197-208.
- 6) 田代真人(1996)国際会議「パンデミック・インフルエンザウー再出現の危機に備えて」報告. 病原微生物検出情報, 17(1):7-9.
- 7) 田代真人(1997)インフルエンザ(教育講演). 衛生微生物技術協議会18回研究会, 大分(別府), pp. 36.
- 8) 石田正年(1993)インフルエンザの流行予測. 小児科臨床, 56(11):2150-2157.
- 9) 石田正年(1995)インフルエンザ. 臨床とウイルス, 23(増刊):209-212.
- 10) 根路銘国昭(1987)インフルエンザウイルス. ウイルス・リケッチャ・クラミジア検査, 第3版. 日本公衆衛生協会, 東京, pp. 2-24.
- 11) 国立予防衛生研究所学会編(1982)改訂2版ウイルス実験学各論. 丸善, 東京, pp. 301-314.
- 12) 石田正年(1994)インフルエンザウイルス. medicina, 31(11):539-542.
- 13) 予研ウイルス第一部呼吸器系ウイルス室日本インフルエンザセンター(1993)<特集>インフルエンザ1992/93. 病原微生物検出情報, 14(12):265-268.
- 14) 小川知子・山中隆也・篠崎邦子・海保邦男・時枝正吉(1993)1992～1993年に分離したインフルエンザウイルスについて. 千葉県衛生研究所報告, 17:18-22.
- 15) 予研ウイルス第一部呼吸器系ウイルス室WHOイン

- フルエンザ・呼吸器センター (1994) <特集>インフルエンザ1993/94. 病原微生物検出情報, 15 (12) :269-272.
- 16) 大野惇・糸数清正・徳村勝昌・安慶田英樹・古波倉正照 (1994) 流行閑期に沖縄県で分離されたインフルエンザB型ウイルス. 病原微生物検出情報, 15 (12) :272-273.
- 17) 大野惇・大城直雅・久高潤・糸数清正・安里龍二・徳村勝昌・與那原良克・安慶田英樹・古波倉正照 (1994) 流行閑期に沖縄県で分離されたインフルエンザB型ウイルス. 沖縄県公衆衛生学会誌, 26:54-58.
- 18) Stuart-Harris C.H. and Schild G.C. (杉浦昭, 飛田清毅, 根路銘国昭共著) (1976) Influenza. 講談社, 東京, pp.140-141.
- 19) Murphy, B.R. and Webster, R.G. (1990) Orthomyxoviruses, Virology (Fields, B.N., 2nd. et al., ed.), Raven Press : pp. 1091-1152.
- 20) 梶原淳陸・石橋哲也・濱崎光宏・船津丸貞之・上田竜生・西村浩一・小野哲郎・吉野修司・山本正悟・山之内成子・蔵元強・大野惇・徳村勝昌・中村悦子・仮屋園弘志・下原悦子・梶原一人 (1995) 九州・沖縄地方におけるインフルエンザ流行の経時的移行 (1994年4月~1995年3月). 感染症学雑誌, 69 (11) :1244-1250.
- 21) 国立予防衛生研究所ウイルス第一部呼吸器系ウイルス室 (1995) <特集>インフルエンザ1994/95シーズン. 病原微生物検出情報, 16 (12) :269-273.
- 22) 国立予防衛生研究所ウイルス第一部呼吸器系ウイルス室 (1996) <特集>インフルエンザ1995/96. 病原微生物検出情報, 17 (11) :268-269.
- 23) 中田高史・小野哲郎・小河正雄・阿南久美子 (1992) 大分県における1992/1993シーズンのインフルエンザ流行状況及びニワトリ赤血球に対する凝集性について. 大分県衛生環境研究センター年報, 20 : 124-126.
- 24) Morishita, T., Kobayashi, S., Miyake, T., Ishihara, Y., Nakajima, S., Nakajima, k. (1993) Host-Specific Hemagglutination of influenza A (H1N1) virus. Microbiol Immunol, 37 (8) :661-665.
- 25) 小川知子・山中隆也・篠崎邦子・時枝正吉・水口泰雄 (1996) 1993~1994年に千葉県で分離したインフルエンザについて. 臨床とウイルス, 24 (1) :78-81.
- 26) 北橋智子・田中俊光・山中隆也・篠崎邦子・小川知子・時枝正吉・中島節子 (1995) A型インフルエンザウイルス(H3N2)のMDCK細胞による分離とPCRの比較. 臨床とウイルス, 23 (3) :165-169.