

ノート

2002年度の日本脳炎，風疹，インフルエンザ，麻疹 流行予測調査の解析

矢野拓弥，中野陽子，西香南子，久保晶，杉山明，中山治

Epidemiological Surveillance for Japanese Encephalitis, Rubella, Influenza and Measles in 2002

Takuya YANO, Yoko NAKANO, Kanako NISHI, Akira KUBO
and Akira SUGIYAMA, Osamu NAKAYAMA

三重県中部地方の豚の日本脳炎ウイルスHI抗体は、6月18日～7月23日までは10倍未満から20倍であった。7月30日にHI抗体価320倍の陽性豚が出現したが、日本脳炎ウイルス感染の指標としている2-ME感受性抗体はHI抗体価は出現しなかった。しかし、8月6日に採血した豚から2-ME感受性抗体保有豚が3頭確認された。風疹のHI抗体保有率は男性で73.1%、女性では92.1%であった。

新型インフルエンザウイルスに対する感染源調査は、ヒト由来株である A/HongKong/9-1-1 (H5N1)、トリ由来のA/Pa/Chiba/1/97(H9N2)、及びA/turkey/Wisconsin/66(H9N2)を使用したが、豚100頭すべてからHI抗体は検出されなかった。本年度の人のワクチン株についてのインフルエンザHI抗体保有率(40倍以上)は、A/NewCaledonia/20/99(H1N1)に対しては43.8%、A/Panama/2007/99(H3N2)では73.8%、B/Shandong/7/97は22.3%であった。麻疹感受性調査では、男女のそれぞれの全年齢層でのPA抗体保有率は男性で95.9%、女性で97.6%であった。

キーワード：流行予測調査、日本脳炎、風疹、豚インフルエンザ、人インフルエンザ、麻疹 2002年度

はじめに

伝染病流行予測調査は、「集団免疫の現状把握及び病原体の検索等の調査を行い、各種免疫資料や流行している病原体検査成績と併せ検討し予防接種事業の効果的な運用を図り、さらに長期的視野にたち総合的に疾病の流行を予測する」ことを目的として、1962年に開始された。三重県では、日本脳炎は1966年、風疹は1973年、インフルエンザは1969年、本年度の調査参加はなかったが、ポリオは1997年⁴⁾から本事業に参加してきた。この間における調査で、冬季(12～1月)に日本脳炎ウイルスに対する2-Mercaptoethanol(2-ME)感受性抗体が出現すること、3年周期で風疹の流行が繰り返されていたなど興味深い現象が確認された。また1993/94シーズンに三重県で分離されたインフルエンザウイルスB型(B/三重/1/93)がワクチン株に採用される等の実績も上げてきた。本年度は日本脳炎、風疹、ブタインフルエンザに加えてさらに人インフルエンザ、麻疹について感染源または感受性調査による流行予測調査を行ったのでその概要を報告する。

調査材料

1. 日本脳炎・豚インフルエンザ感染源調査材料

日本脳炎・豚インフルエンザ感染源調査対象は三重県中部に位置する玉城町近郊で飼育された6ヵ月から8ヵ月齢の肉豚である。豚の動脈血をと殺時に試験管に採血し、血清分離後、赤血球凝集抑制(HI)抗体測定に供した。採血は2002年6月18日から9月3日まで毎週または隔週1回、各10頭の計10回100頭に対して行った。また日本脳炎ウイルスの分離について国立感染症研究所に2-ME感受性抗体出現時及び1～2週間前の豚血清を送付し調査した。

2. 風疹・人インフルエンザ・麻疹感受性抗体調査材料

風疹・人インフルエンザ・麻疹感受性抗体調査は、2002年6月から9月の期間に県下の病院等で採血された男性171名、女性165名の合計336例のインフォームドコンセントの得られた血清を調査材料とした。0から39歳までを5歳ごと、40歳以上を1グループとして男女別各9グループを対象とした。

方法

1. 日本脳炎HI抗体測定及びウイルス分離

被検血清はアセトン処理を行い非特異的な凝集抑制物質を除去した後、100%ヒヨコ血球25μLを加え室温60分間静置した。その後2,000rpm,20分間遠心した上清を測定用とした。U型マイクロプレートの第1管目に25μL入れ、第2管目から25μLずつの2倍階段希釈を行った。これらに日本脳炎ウイルス(JEV)JaGAR 01株(デンカ生研)で調製した4HA単位のHI抗原を25μLずつ加えた。4にて一晚感作後0.33% 1日齢ヒヨコ血球を50μL添加し、37 孵卵器にて1時間静置後判定した。HI抗体10倍以上を陽性とし、40倍以上の血清について、2-ME処理をし、処理後の抗体価が処理前の1/8以下に減じたものを2-ME感受性抗体陽性とした⁸⁾。国立感染症研究所にて、Vero9013,C6/36細胞を使用し分離を実施した。分離ウイルスについてはシーケンスを行った。

2. 風疹HI抗体測定

被検血清0.2mLにPBS(-)で4倍希釈後、等量の25%カオリンを加え室温に20分静置した。これを2,000rpm,20分間遠心し、上清をインヒビター除去処理血清とした。これに50%ヒヨコ血球50μLを加え氷水中に60分間静置した。その後2,000rpm,20分間遠心した上清を測定用とした。このときの血清は8倍に希釈されている。これを25μLずつの2倍階段希釈を行い、4単位の風疹HA抗原25μLを加え、室温で60分間静置後0.25%ヒヨコ血球50μLを加え室温で60分後静置判定した。抗体価8倍以上を陽性と判定した⁹⁾。

3. 豚インフルエンザHI抗体測定

RDE処理を行った被検血清25μLを2倍階段希釈を行い、これらに本年度国立感染症研究所から分与されたヒト由来のA/HongKong/9-1-1 (H5N1)、七面鳥から分離されたA/turkey/Wisconsin/66 (H9N2)と日本国内でインコから分離された¹³⁾A/Pa/Chiba/1/97 (H9N2)、不活化抗原4HA単位(16HA単位/100μL)を25μLをずつ加えた。室温にて60

分間放置後、0.5%ヒヨコ赤血球を50μL添加し、60分間放置後判定した。HI抗体価は、HIを起こした最高希釈倍数とした⁷⁾。

4. ヒトインフルエンザHI抗体測定

被検血清100μLをRDE生研300μLで処理し56 60分間非動化後、滅菌生理食塩水を600μL添加し、100%ヒヨコ血球25μLを加え室温60分間静置した。その後2,000rpm,20分間遠心した上清を測定用とした。U型マイクロプレートの第1穴目に25μLを入れ、第2穴目から25μLずつの2倍階段希釈を行った。これらに本年度のワクチン株であるA/Newcaledonia/20/99(H1N1)、A/Panama/2007/99(H3N2)、B/Shandong/7/97の計3株の不活化抗原4HA単位を25μLずつ加えた。室温にて60分間放置後、0.5%ヒヨコ赤血球を50μL添加し、再び60分間放置後判定した。HI抗体価は、HIを起こした最高希釈倍数とした⁷⁾。

5. 麻疹PA抗体測定

麻疹抗体価の測定には粒子凝集反応法(Particle Agglutination Test; PA法)による血清及び血漿中の麻疹ウイルス抗体価を市販キットであるセロディア-麻疹を使用し測定した。被血清を第1穴目にいれ、第12穴目まで2倍階段希釈を行った。未感作粒子を検体の2穴目に、感作粒子を3穴~12穴目に加える。プレートを混和後120分静置後に判定した。16倍以上を陽性とした¹⁰⁾。

調査結果

1. 日本脳炎HI抗体の経時的推移

JEVに対する豚および2-ME感受性抗体価の経時的推移を表1に示した。HI抗体を保有(10倍以上)している豚は、6月18日に採血した10頭(100%)に認められた。しかしHI抗体価は10倍と低く抗体産生途中と推測した。その後も、抗体保有は認められたが10倍未満~20倍と低倍であった。7月30日にHI抗体価320倍と今季最初の2-ME感受性抗体測定に供するのに適した抗体価であった。しかしHI抗

表1. 日本脳炎ウイルスに対する豚HI抗体及び2-ME感受性抗体

採血日	頭数	HI抗体価*					HI抗体			2-ME感受性抗体	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	陽性率(%)	陽性数/検査数
H14.6.18	10		10						100		
H14.7.2	10		10						100		
H14.7.9	10		9	1					100		
H14.7.16	10		10						100		
H14.7.23 **	10	10							0		
H14.7.30	10	9					1		10	0/1	0
H14.8.6	10	7				1	1	1	30	3/3	100
H14.8.13	10	6			2	2			40	1/4	25
H14.8.20	10	5					3	2	50	0/5	0
H14.9.3	10			1		1	4	4	100	0/10	0

* HI抗体価は10倍以上を陽性とした。

** 日本脳炎ウイルス分離(+)...JEV/sw/Mie/41/ 2002

体価と2-ME感受性抗体価を比較したが、変動がみらず新鮮抗体ではなかったことが判明した。その後、2-ME感受性抗体が認められた陽性豚は8月6日に採血された3頭、そして翌週の8月13日に採血された豚1頭からであった。その後、8月20日、9月3日も調査を行ったが2-ME抗体保有豚は認められなかった。

2. 日本脳炎ウイルス分離結果

当県において調査期間中に採取した豚血清100頭中1頭から日本脳炎ウイルスを分離した。2-ME感受性抗体が陽性となった時点より2週間前の豚から採取した血清から分離されたウイルス (JEV/sw/Mie/41/2002, GeneBank Accession No. AB112705) である。

E領域の遺伝子解析の結果ワクチン株のⅢ型とは異なる遺伝子型Ⅰ型であった。

3. 風疹年齢別HI抗体分布状況

図1.に男性と女性の年齢グループ別風疹HI抗体状況を示した。男性における年齢別風疹HI抗体保有率は0-4歳61.1%,5-9歳84.2%,10-14歳94.2%であった。女性は0-4歳73.7%,5-9歳100%,10-14歳82.4%であった。10-14歳を除く各年齢層でのHI抗体保有率は女性が男性より高く推移し

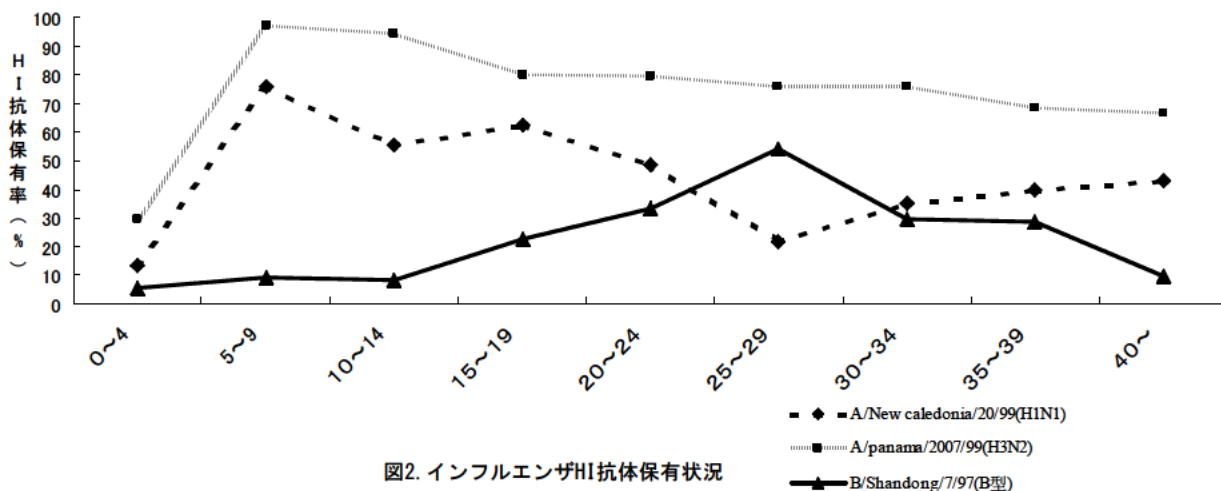
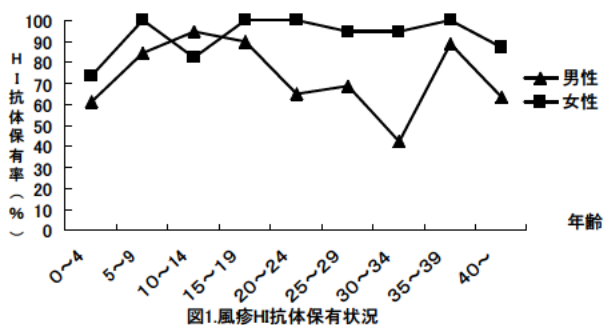


図2. インフルエンザHI抗体保有状況

ていた。なお男女のそれぞれの全体のHI抗体保有率は男性で73.1%,女性で92.1%であった。

4. 豚インフルエンザHI抗体保有状況

国立感染症研究所から分与された3株の不活化抗原 A/HongKong/9-1-1(H5N1), A/Pa/Chiba/1/97(H9N2), A/turkey/Wisconsin/66(H9N2)の各抗原に対するHI抗体保有豚は確認されなかった。

5. ヒトインフルエンザ年齢別HI抗体分布状況

図2.に今年度のワクチンである3株に対するインフルエンザ流行期前のHI抗体保有率(40倍以上)を示した。流行動態および規模に最も影響を及ぼす乳児から学童期にあたる年齢層のインフルエンザHI抗体保有状況は A/NewCaledonia/20/99 (H1N1)に対して0-4歳13.5%, 5-9歳75.8%であった。A/Panama/2007/99(H3N2)では0-4歳29.7%, 5-9歳97.0%であった。B/Shandong/7/97は0-4歳5.4%, 5-9歳9.1%であった。

なお全年齢層でのHI抗体保有率(40倍以上)は、A/New Caledonia/20/99(H1N1)に対して43.8%, A/Panama/2007/99(H3N2)では73.8%, B/Shandong/7/97は22.3%であった。

6. 麻疹年齢別PA抗体分布状況

図3.に男性と女性の年齢グループ別麻疹PA抗体状況を示した。男性における年齢別麻疹PA抗体保有率は0-4歳88.9%,5-9歳89.5%,10-14歳94.7%であった。女性は0-4歳78.9%,5-9歳100%,10-14歳100%であった。女性は5~9歳以上,男性は25~29歳以上の区分では麻疹PA抗体保有率は100%と高く推移していた。なお男女のそれぞれの全体のPA抗体保有率は男性で95.9%,女性で97.6%であった。

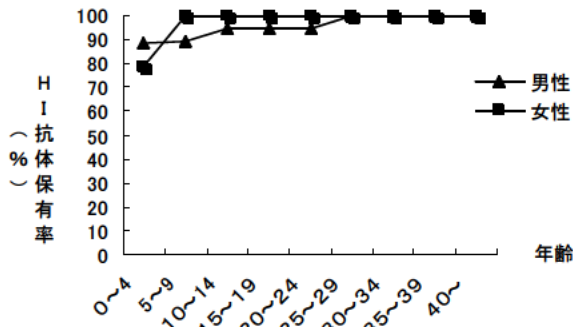


図3. 麻疹HI抗体保有状況

考 察

日本脳炎は日本脳炎ウイルス(JEV)を媒介するコガタアカイエカの刺咬によって感染する急性脳炎であることが知られている。過去の日本脳炎患者発生状況は1950年代には小児を中心に年間数千人規模であった。1966年には55歳以上の高年齢層をピークに2,000人を超える患者がみられた¹⁴⁾以降、積極的なワクチン接種が行われた結果、患者は急速に減少し、1992年以降はほとんどみられなくなった。しかし近年の患者数は微増傾向にあり1999年～2002年の4年間に、合計25例報告されている。ブタはJEVの増幅動物³¹⁾であることが知られている。本県における豚の感染調査では、調査期間中の8月に4頭の豚が2ME感受性抗体陽性となった。三重県では近年、HI抗体陽性豚が減少傾向にあるが、この原因としてコガタアカイエカの減少¹⁵⁾、豚舎のウインドレス化、消毒の徹底など、豚飼育環境の改善等が挙げられる。調査期間中に採取した豚血清から分離したウイルスは、ワクチン株Ⅲ型とは異なるⅠ型ウイルスであった。他県においても同型が分離されていることから、現在日本ではⅠ型とⅢ型が混在していると考えられる。このことから、日本脳炎ウイルスの動向を監視する際には、ヒトだけでなくブタ及び媒介蚊からのウイルス検索を行いそのウイルスをシーケンスすることが、JEVの動向監視に重要である。

麻疹は1978年にワクチンの定期接種が導入されて以来、患者は減少している。本年の当県における麻疹PA抗体保有率調査結果からも抗体保有状況は良好であった。麻疹ウイルス宿主はヒトのみであることからワクチンによる根絶可能疾患であると考えられている。しかし近年では年間を通して各地で小規模な流行が発生している。肺炎や脳炎、消化管出血などの合併症を伴う成人麻疹についても増加傾向にある。1998年に野外麻疹ウイルス分離株の分子疫学的解析によってウイルスの命名法の統一が提案されN遺伝子のC末端450塩基の違いに基づき、遺伝子型を15型に分類した。これをもとに2001年にはさ

らに20の遺伝子型に分類されるようになった。この分類により、全国各地の麻疹ウイルス解析の結果ほとんどの地域でD5型であったが沖縄では全ての株がD3型であったとの報告がされている。また、中国や韓国が由来もとであるH1型が全国各地で分離されている⁹⁾。今後のH1型の国内の侵淫及び動向に注意が必要である。

1994年10月の予防接種法の改正により、男女の年少児を対象とした風疹ワクチン接種が導入され、患者の大幅な減少が見られた。今回の調査では、風疹HI抗体価8倍以上の陽性率は女性では92.1%と高値であったが、男性の陽性率は73.1%と低かった。風疹に対する免疫のない女性が妊娠中に感染すると、胎児もウイルスに感染し先天性風疹症候群(CRS)の子供が生まれる確率が高くなる。¹⁾
²⁾抗体価の低い妊婦では再感染することによって発症することがあるため、抗体を保有していない男性が風疹に感染すると女性に感染を及ぼす危険性があり風疹流行を拡大させる可能性がある。2003年9月30日までを期限として1979年4月2日～1987年10月1日までに生まれた男女全員が定期接種の対象となっている。男性においても積極的なワクチン接種を受けることを推奨することが強く望まれる。ワクチン接種全般についていえることだが、接種率の向上を目指したうえで、接種後の陽転率の把握が重要である。また接種後の抗体の持続期間についての把握を行うためにも、成人の抗体保有状況の監視は必要である。

2002/03シーズンのインフルエンザの流行は、AH3型とB型ウイルスの混合流行であった。ワクチン株である抗B/Shandong/7/97血清に対する流行期前HI血清抗体価は全体的に低率であったが、抗A/Panama/2007/99(H3N2)血清に対しては例年インフルエンザ流行に深く関わる5～9歳で97.0%と高率に保有していた。年齢別の患者報告は、過去3年間は5～9歳が最も多かったが本シーズンは0～4歳の罹患者が最も多く見られた。このことは流行期前5～9歳の抗体保有率が97.0%と高率であったこととよく一致していた。インフルエンザ流行期前のHI抗体保有状況が最も良好なAH3型が主流流行した要因に0～4歳児の罹患とAH3型変異ウイルス株の流行によりワクチン株に対しては、抗体保有状況の良好な5～9歳の年齢区分に感染が及んだものと考えられる。

ブタインフルエンザの感染源調査からインフルエンザの中間宿主であるブタへの新型ウイルスであるH5N1、H9N2の侵入は、確認されていない。次に大流行する株は、野生の水鳥が起源になると考えられている。ウイルスは、水鳥から鶏やブタに感染し、ヒトへの感染を可能にする遺伝子交雑が起こる恐れがあると考えられてきた。こうした感染経路とは別に、インフル

エンザウイルスがアヒルから人間へ直接伝播する可能性があり、アヒルの持つインフルエンザ株は家禽類のウイルスから遺伝子を獲得していることが明らかになってきている。すなわちヒトの細胞に感染する能力を有するウイルスに近くなってきているとの研究結果が報告されている¹²⁾。近年の新型インフルエンザの動向には、1997年には、H5N1であるトリ型インフルエンザウイルスが出現し感染した17名の患者のうち6名が死亡した⁵⁾。その後香港では、1999年のH9N2ウイルス、2003年には再びH5N1ウイルス、そしてオランダでH7N7ウイルスが鶏で急速に感染が拡がり、人への伝播がみられ、1名の死亡と83名の感染者が確認された。また中国を中心に2002年から2003年にかけて重症急性呼吸器症候群（SARS-CoV）が出現し多くの社会問題となった。このように新興再興の動物由来感染症が発生した場合、短期間のうちに広範に蔓延する可能性がある。従って、動物由来のウイルスの監視体制の強化がよりいっそう重要とってきている。

文 献

- 1) Ben-Zwi, A., Glili, U., Russell, A. and Schlesinger, M.: Age-associated changes in subpopulation of human lymphocytes, *Clin. Immunol. Immunopath.*, 1, 139-149 (1977).
- 2) Cooper, L. Z., Ziring, P. R., Weiss, H. J., Matters, B. A. et al.: Transient arthritis after rubella vaccination, *Am. J. Dis. Child.*, 118, 218-225 (1969).
- 3) 藤崎優次郎: 豚の日本脳炎, *家畜衛試研究報告*, 62, 16-24 (1971).
- 4) 川田一伸, 矢野拓弥, 福田美和, 杉山明, 他: 1999年度のポリオ, 日本脳炎, 風疹, インフルエンザ流行予測調査の解析, *三重保環研年報*, No.45, 74-79 (2000).
- 5) 国立感染症研究所, 厚生省保健医療局結核感染症課編: 病原微生物検出情報, 19, 58 (1998).
- 6) 国立感染症研究所, 厚生省保健医療局結核感染症課編: 病原微生物検出情報, 22, 278-279 (2003).
- 7) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会: インフルエンザ, 伝染病流行予測調査検査術式, 9-25 (2002).
- 8) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会: 日本脳炎, 伝染病流行予測調査検査術式, 27-39 (2002).
- 9) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会: 風疹, 伝染病流行予測調査検査術式, 40-45 (2002).
- 10) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会: 麻疹, 伝染病流行予測調

査検査術式, 47 (2002).

- 11) 今野二郎, 遠藤好喜, 我妻仁, 宇留野勝水, 他: 日本脳炎の疫学 昭和39年宮城県における調査成績, *医学のあゆみ*, 53, 113-118 (1965).
- 12) Li, K. S. et al. Characterization of H9 subtype influenza viruses from the ducks of southern China: a candidate for the next influenza pandemic in humans? *Journal of Virology*, 77, 6988-6994 (2003).
- 13) MASAJI MASE et al. Imported Parakeets Harbor H9N2 Influenza A Viruses That Are Genetically Closely Related to Those Transmitted to Humans in Hong Kong, *Journal of Virology*, 75, 3490-3494 (2001).
- 14) 緒方隆幸他, *臨床とウイルス* 13, 2, 150-155, (1985)
- 15) 上村清他, *Med. Entomol. Zool.* 49, 3, 181-185, (1998)