

資料

2008年度感染症流行予測調査結果 (日本脳炎, インフルエンザ, 風しん, 麻しん)の概要

矢野拓弥, 前田千恵, 赤地重宏, 岩出義人, 田沼正路

Epidemiological Surveillance for Japanese Encephalitis,
Influenza, Rubella and Measles in 2008F.S.

Takuya YANO, Chie MAEDA, Shigehiro AKACHI,
Yoshito IWADA, and Masamichi TANUMA

感染症流行予測調査では, 人の抗体調査による免疫保有状態の程度について年齢等の別により分布を知る感受性調査と, 病原体の潜伏状況及び潜在流行を知る感染源調査を実施している. 2008 年度に実施した調査結果の概要は次のとおりである.

- (1)日本脳炎感染源調査については三重県中部地域で飼育された豚の日本脳炎ウイルス (JEV) に対する赤血球凝集抑制 (Hemagglutination inhibition:HI) 抗体保有の有無を調査した. 2008 年 7 月 14 日に HI 抗体陽性率が 100%となり, IgM 抗体の指標となる 2-Mercaptoethanol (2-ME) 感受性抗体は 4 頭で認められた.
- (2)ヒトの日本脳炎感受性調査での中和抗体価保有率は 289 人中 168 人 (58.1%) であった.
- (3)動物のインフルエンザウイルスの侵入を監視する体制強化の一環として, 豚 100 頭からのインフルエンザの分離を実施したが, ウイルスは分離されなかった.
- (4)ヒトのインフルエンザウイルスの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の年齢層の流行期前の HI 抗体保有率 (40 倍以上) は, A/Brisbane/59/2007(H1N1) は 0-4 歳 26.4%, 5-9 歳 69.0%, A/Uruguay /716/2007(H3N2)は 0-4 歳 13.2%, 5-9 歳 51.7%であった. B 型インフルエンザに対しては, B/Malaysia/2506/2004(ビクトリア系統) は 0-4 歳 0%, 5-9 歳 10.3%, B/Florida /4/2006 (山形系統) は 0-4 歳 0%, 5-9 歳 17.2 %であった.
- (5)風しん感受性調査での全年齢層における HI 抗体保有率は 88.9% (男性: 80.8%, 女性: 93.5%) であった.
- (6)麻しん感受性調査での全年齢層における PA(Particle Agglutination Test)抗体保有率は 93.8%であり, 免疫獲得状況は良好であった.

キーワード: 感染症流行予測調査, 日本脳炎, インフルエンザ, 風しん, 麻しん

はじめに

感染症流行予測調査事業は, 「集団免疫の現状把握および病原体の検索等の調査を行い, 各種疫学資料と併せて検討し, 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立ち総合的に疾病の流行を予測する」ことを目的として, 1962 年から「伝染病流行予測調査事業」として開始された. その後, 1999 年 4 月「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」の施行に伴い, 現在の名称に変更された. 国立感染症研究所

との密接な連携のもとに, ワクチンによる予防可能疾患の血清疫学調査および感染源調査を行うことによって, 県民の免疫状況および病原体の潜伏状況の把握を行っている. これまでの本県の調査で, 冬季に JEV に対する 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こと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た等の実績がある. 本年度の感染症流

行予測調査事業は、豚血清中の日本脳炎ウイルス、ヒトの血清中の日本脳炎、インフルエンザ、風しん、麻しんの各抗体調査を実施した。ヒトの感染症疾患における免疫状態は、各個人、地域等、さまざまな要因で年毎に異なる。本年度採取できた血清は、同一人であっても前年あるいは翌年に採取した場合の免疫状態とは必ずしも同じではないことが考えられる。これらのことはヒト血清だけでなく動物血清についても同様であり、毎年の流行予測調査事業における血清収集は貴重で意義深い。集団免疫の現状把握と予防接種事業の促進等、長期的な流行予測調査が感染症対策には不可欠であるので、本調査のような主要疾患についての免疫状態の継続調査は、感染症の蔓延を防ぐための予防対策として重要である。以下に、2008年度に実施した流行予測調査結果の概要を報告する。

方法

1. 調査材料

1) 豚の日本脳炎感染源調査材料

日本脳炎感染源調査対象は三重県中部に位置する玉城町近郊のウインドレス化されていない開放豚舎で飼育された6カ月の肉豚である。豚の動脈血をと殺時に試験管に採血し、血清分離後、HI抗体測定に供した。採血期間と採血豚頭数は2008年6月30日から10月27日の間に採血した130頭である(表1)。

2) 日本脳炎・ヒトインフルエンザ・風疹・麻疹感受性抗体調査材料

ヒトの日本脳炎・インフルエンザ・風しん・麻しん感受性抗体調査は、2008年4月から9月に県下の病院等で、インフォームドコンセントのもとに採血された男性104人、女性185人の合計289人の血清を用いて行った。

3) 豚からのインフルエンザ感染源調査材料

豚のインフルエンザ感染源調査対象は、三重県の北部に位置する菰野町および四日市市で飼育された3カ月から6カ月齢の豚の鼻腔拭い液である。2008年7月5日から2009年3月10日の間に採取した100頭を調査材料とした。

2. 測定方法

1) 日本脳炎HI抗体測定

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%ガチヨウ血球50 μ Lを加え室温で60分間静置した。その後2,000rpm、20分間遠心分離した上清を測定用試料とした。試料をU型マイクロプレートの第1管目に25 μ L入れ、第2管目から25 μ Lずつの2倍階段希釈を行った。これらにJEV(JaGA01株:デンカ生研)で調製した4HA単位のHI抗原を25 μ Lずつ加えた。4にて一晚感作後、0.33%ガチヨウ血球を50 μ L添加し、37 $^{\circ}$ C 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処理を行い、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²⁾。

2) ヒトの日本脳炎中和抗体測定

56 60分間非動化した被検血清8 μ Lを細胞培養液72 μ Lで10倍希釈し、中和抗体測定用血清とした。処理血清を2倍階段希釈を行い、日本脳炎ウイルス(Beijing-1株)100FFU/25 μ Lを処理血清40 μ Lに対して等量加え、37 $^{\circ}$ Cで60分反応させた後、25 μ LをVero(Osaka株)細胞に接種し、37 $^{\circ}$ C、5%CO₂下で46時間培養後に99.5%エタノールで固定した。作成した固定細胞プレートを用いてPAP複合体を用いたフォーカス係数法を実施した²⁾。

3) 豚からのインフルエンザ分離

豚の鼻腔拭い液を3,000rpmで10分間遠心分離し、上清をイヌ腎臓由来細胞であるMadin-Darby canine kidney(MDCK細胞)に接種した。培養7日目頃に細胞変性効果の有無にかかわらず培地上清を採取し、七面鳥血球を用いて赤血球凝集能(HA)を測定した¹⁾。

4) ヒトインフルエンザHI抗体測定

被検血清100 μ LをRDE(Receptor destroying enzyme)「生研」300 μ Lで37 $^{\circ}$ C 20時間処理した。次いで56 60分間非動化後、滅菌生理食塩水を600 μ L添加し、100%ニワトリ血球100 μ Lを加え室温で60分間静置した。その後2,000rpm、20分間遠心分離し、その上清をHI測定用処理血清とした。処理血清を25 μ Lずつの2倍階段希釈を行い、不活化抗原4HA単位を25 μ Lずつ加えた。室温にて60分間放置後、0.5%ニワトリ赤血球を50 μ L添加し60分後に判定した。

不活化抗原は、A/Brisbane/59/2007(H1N1)、A/Uruguay /716/2007(H3N2)、B/Malaysia/2506/2004(ビクトリア系統)、B/Florida /4/2004(山形系統)を用い、HI 抗体価は、HI を起こした最高希釈倍数とした¹⁾。

5) 風しんHI抗体測定

被検血清 200 μ L に PBS(-)600 μ L、25%カオリン 800 μ L を加え混合後に室温に 20 分静置した。これを 2,000rpm、20 分間遠心分離し、上清をインヒビター除去処理血清とした。これに 50%ガチョウ血球 50 μ L を加え、氷水中に 60 分間静置した。その後 2,000rpm、20 分間遠心分離した上清を HI 測定用処理血清とした。処理血清を 25 μ L ずつの 2 倍階段希釈を行い、市販の風疹 HA 抗原(デンカ生研:風疹 HA 抗原)を 4 単位に調整後、25 μ L を加えて室温で 60 分間静置して抗原抗体反応を行った。0.25%ガチョウ血球 50 μ L を加え 4 で 60 分静置後判定した。HI 抗体価は HI を起こした最高希釈倍数とし、抗体価 8 倍以上を陽性と判定した³⁾。

6) 麻しんPA抗体測定

麻しん抗体価の測定には市販(富士レビオ:セロディア-麻疹)の粒子凝集反応法(Particle Agglutination Test; PA 法)キットを用いた。被血清を第 1 穴目に 25 μ L 入れ、第 12 穴目まで 2 倍階段希釈を行った。未感作粒子 25 μ L を 2 穴目に、感作粒子 25 μ L を 3 穴 ~ 12 穴目に加えた。プレートと混和し、120 分静置後に判定した。16 倍以上を陽性とした⁴⁾。

結果とまとめ

1. 日本脳炎HI抗体および2-ME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、2008 年 7 月 14 日に 10/10 頭(100%)であった。40 倍以上を示した 10 頭中 4 頭(40%)の豚から 2-ME 感受性抗体を検出した。7 月 14 日以降に採血した HI 抗体保有率は 40 ~ 100%であった。2-ME 感受性抗体は 8 月 11 日 ~ 9 月 29 日までは 33 ~ 100%であった。10 月 27 日に消失した。

豚に対する JEV 媒介蚊による感染リスクは、自然環境の変化や飼育豚舎のウインドレス化などの飼育環境の整備により、患者数は以前よりも減少したことが推測されるが、例年と同様に本年も JEV 抗体保有豚が存在した。このことから JEV は豚と媒介蚊の増幅サイクルを維持している証明となる。ヒトへの JEV 感染リスクの把握のためにも、媒介蚊繁殖期におけるブタの HI 抗体保有状況の継続的な把握が重視される。

2. 日本脳炎のヒトに対する中和抗体測定結果

表 2 に年齢グループ別の中和抗体保有率を示した。中和抗体は 289 人 168 人(58.1%)が保有していた。現在の日本脳炎ワクチンを接種後に急性散在性脳脊髄炎 ADEM を発生した事例があり、現行の日本脳炎ワクチン接種の積極的勧奨は行わないよう勧告された。本調査での若年層陽性率は 0-4 歳 24.5%、5-9 歳 65.5%、10-14 歳 92.9%、15-19 歳 93.9%であった。近年、接種対象年齢へのワクチン接種は、ほとんど実施され

表 1. 日本脳炎ウイルスに対する豚HI抗体および2-ME感受性抗体

採血日	頭数	HI抗体価						陽性率(%)	2-ME感受性抗体 陽性数/検査数	(%)	
		<10	10	20	40	80	160				320
2008.6.30	10	10							0	-	-
2008.7.14	10				3	3	3	1	100	4/10	40
2008.7.22	10		3	2	1	2	1	1	100	4/5	80
2008.7.28	10		2			1	4	3	100	3/8	38
2008.8.4	10		1	9					100	-	-
2008.8.11	10	4	1	2	1	1		1	60	3/3	100
2008.8.18	10	3		4			1	2	70	3/3	100
2008.8.25	10		5		1	2	1	1	100	3/5	60
2008.9.1	10			3	2		1	2	100	5/7	71
2008.9.8	10	6	1	1			1	1	40	2/2	100
2008.9.16	10	4	3		2			1	60	1/3	33
2008.9.29	10		5	1	2	1	1		100	2/4	50
2008.10.27	10		2	5	2		1		100	0/3	0

ていない。ワクチンの未接種者増加が流行を引き起こす要因となるので、2009年に新ワクチンが4年ぶりに再開されることで、ワクチン接種者が増加することが期待される。

表2. 日本脳炎に対するヒトの中和抗体

年齢区分	対象者数	陽性者数
0-4歳	53	13(24.5%)
5-9歳	29	19(65.5%)
10-14歳	28	26(92.9%)
15-19歳	33	31(93.9%)
20-29歳	78	56(71.8%)
30-39歳	39	15(38.5%)
40-49歳	17	4(23.5%)
50-59歳	10	4(40.0%)
60歳～	2	0(0%)
合計	289	168(58.1%)

3. 豚からのインフルエンザ分離結果

表3に豚からのインフルエンザ分離状況を示した。調査を行った100頭全てで、インフルエンザウイルスは分離されなかった。本県の豚からはH5N1型および他の型のインフルエンザウイルスの侵入の形跡は見られていないが、新型インフルエンザの監視のためには継続的な調査が必要である。

表3. 豚からのインフルエンザ分離結果

採取日	採取場所	頭数	月齢	分離結果
2008.7.5	菰野町	20	3～6ヵ月	陰性
2009.3.10	四日市	80	6ヵ月	陰性

4. ヒトインフルエンザ年齢別HI抗体分布状況

流行動態および流行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における各亜型の流行期前の免疫状況を調査することは重要である。表4に2008/2009年のインフルエンザ流行期前の年齢別HI抗体保有率(40倍以上)を示した。A/Brisbane/59/2007(H1N1)は0-4歳26.4%、5-9歳69.0%。A/Uruguay/716/2007(H3N2)は0-4歳13.2%、5-9歳51.7%であった。B/Malaysia/2506/2004(ビクトリア系統)は0-4歳0%、5-9歳10.3%。B/Florida/4/2006(山形系統)は0-4歳0%、5-9歳17.2%であった。H1N1、H3N2、B型の0-4歳では著しく抗体保有状況は低率であった。流行拡大を抑えるために、毎年のワクチン接種は必要であり、本調査の抗体保有率をワクチン接種率向上への基礎データとして活用していくことが必要である。

5. 風しん年齢別HI抗体分布状況

表5,6に採血者全体(男性・女性)と男性および女性の年齢別風しんHI抗体状況を示した。全体(男・女)における年齢別風しんHI抗体保有率は0-1歳53.8%、2-3歳96.0%、4-6歳100%、7-9歳100%、10-14歳89.3%、15-19歳93.9%、20-24歳97.1%、25-29歳88.4%、30-39歳82.1%、40歳以上96.6%であった。男性は0-1歳36.4%、2-3歳100%、4-6歳100%、7-9歳100%、10-14歳81.3%、15-19歳100%、20-24歳100%、25-29歳73.3%、30-39歳66.7%、40歳以上100%であった。女性は0-1歳66.7%、2-3歳92.9%、4-6歳100%、7-9歳100%、10-14歳100%、15-19歳93.8%、20-24歳96.7%、25-29歳96.4%、30-39歳95.2%、40歳

表4. ヒトインフルエンザ年齢別HI抗体保有状況(40倍以上)

年齢区分	対象者数	陽性者数(%)			
		A/Brisbane /59/2007 (H1N1亜型)	A/Uruguay /716/2007 (H3N2亜型)	B/Malaysia /2506/2004 (ビクトリア系統)	B/Florida /4/2006 (山形系統)
0-4歳	53	14(26.4%)	7(13.2%)	0(0%)	0(0%)
5-9歳	29	20(69.0%)	15(51.7%)	3(10.3%)	5(17.2%)
10-14歳	28	19(67.9%)	10(35.7%)	1(3.6%)	9(32.1%)
15-19歳	33	22(66.7%)	9(27.3%)	7(21.2%)	22(66.7%)
20-29歳	78	36(46.2%)	13(16.7%)	27(34.6%)	32(41.0%)
30-39歳	39	8(20.5%)	2(5.1%)	19(48.7%)	5(12.8%)
40-49歳	17	4(23.5%)	4(23.5%)	5(29.4%)	6(35.3%)
50-59歳	10	1(10.0%)	0(0%)	1(10.0%)	1(10.0%)
60歳～	2	0(0%)	0(0%)	1(50.0%)	0(0%)
合計	289	124(42.9%)	60(20.8%)	64(22.1%)	80(27.7%)

以上 93.8%であった。採血者全体の HI 抗体保有率は 88.9%，男性は 80.8%，女性では 93.5%であった。男女ともに、依然として一部の抗体陰性者が存在する。特に男性の陰性者の蓄積が懸念される。これらの陰性者の蓄積が、風しん流行を引き起こす要因となる。妊娠中の女性への感染は、胎児に先天性風しん症候群（CRS）の発生が危惧される⁵⁾。CRS の予防には、妊娠前に予防接種を行う事が理想であり、引き続き、風しん罹患者の減少および流行阻止の強化が必要である。

おける麻しんの伝播は深刻である。このことは陰性者の存在と蓄積が強く関与している。小児への感染についても同居者である両親から引き起こすことも想定すべきであり、陰性者の排除のため、ワクチン接種を徹底することが重要である。

表 5. 風しん HI 年齢別抗体保有状況 (全体)

年齢区分	対象者数 (男・女)	陽性者数(%)
0-1	26	14(53.8%)
2-3	25	24(96.0%)
4-6	14	14(100%)
7-9	17	17(100%)
10-14	28	25(89.3%)
15-19	33	31(93.9%)
20-24	35	34(97.1%)
25-29	43	38(88.4%)
30-39	39	32(82.1%)
40-	29	28(96.6%)
合計	289	257(88.9%)

表 6. 風しん HI 年齢別抗体保有状況 (男女別)

年齢区分	対象者数 (男)	陽性者数(%)	対象者数 (女)	陽性者数(%)
0-1	11	4(36.4%)	15	10(66.7%)
2-3	11	11(100%)	14	13(92.9%)
4-6	6	6(100%)	8	8(100%)
7-9	8	8(100%)	9	9(100%)
10-14	16	13(81.3%)	12	12(100%)
15-19	1	1(100%)	32	30(93.8%)
20-24	5	5(100%)	30	29(96.7%)
25-29	15	11(73.3%)	28	27(96.4%)
30-39	18	12(66.7%)	21	20(95.2%)
40-	13	13(100%)	16	15(93.8%)
合計	104	84(80.8%)	185	173(93.5%)

6. 麻しん年齢別 PA 抗体分布状況

表 7 に年齢別麻しん PA 抗体状況を示した。採血者 289 人の年齢別麻しん PA 抗体保有率は 0-1 歳 53.8%、2-3 歳 96.0%、4-6 歳 100%、7-9 歳 100%、10-14 歳 92.9%、15-19 歳以上はそれぞれの年齢区分で 96.6-100%に達していた。成人麻しんや修飾麻しんの動態に反映される 15 ~ 19 歳までの PA 抗体保有率は 97%で良好であったが、2007 ~ 2008 年は 10 代および 20 代を中心に麻しんの流行があった。成人は行動半径が大きく潜伏期に

表 7. 麻しん PA 年齢別抗体保有状況

年齢区分	対象者数	陽性者数
0-1歳	26	14(53.8%)
2-3歳	25	24(96.0%)
4-6歳	14	14(100%)
7-9歳	17	17(100%)
10-14歳	28	26(92.9%)
15-19歳	33	32(97.0%)
20-24歳	35	35(100%)
25-29歳	43	42(97.7%)
30-39歳	39	39(100%)
40歳～	29	28(96.6%)
合計	289	271(93.8%)

謝 辞

流行予測調査の実施にあたって、本調査の趣旨をご理解頂き血清使用について承諾同意が得られた 289 人（男性 104 人、女性 185 人）の方々には厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 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)。
- 2) 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)。
- 3) 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)。
- 4) 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)。
- 5) 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情報センター，感染症流行予測調査報告書，第 5 風疹 87-120(2002 年度)。

