

資料

## 2010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, 楠原 一, 赤地重宏, 岩出義人, 田沼正路

### Epidemiological Surveillance for Japanese Encephalitis, Influenza, Rubella and Measles in 2010F.S.

Takuya YANO, Hajime KUSUHARA, Shigehiro AKACHI,  
Yoshito IWANE, 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況について年齢等の別により分布を知る感受性調査と, 病原体の潜伏状況および潜在流行を知る感染源調査を実施している. 2010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. IgM 抗体の指標となる 2-Mercaptoethanol (2-ME) 感受性抗体は 2010 年 8 月 30 日に 1 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保有率は 291 人中 168 人 (57.7%) 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 頭を調査したがインフルエンザ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/California/7/2009 (H1N1pdm) は 0-4 歳 15.8%, 5-9 歳 50%, A/Victoria/210/2009(H3N2) は 0-4 歳 17.1%, 5-9 歳 58.3% であった. B 型インフルエンザウイルスに対しては, B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統) は 0-4 歳 7.9%, 5-9 歳 16.7% であり, B/Florida /4/2006 (山形系統) は 0-4 歳 1.3%, 5-9 歳 8.3% 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 89.3% (男性: 85.7%, 女性: 91.9%) 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

\*三重県健康福祉部

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、豚および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、豚鼻腔拭い液からのインフルエンザウイルスの分離を実施した。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、2010 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ィンドレス化されていない開放豚舎で飼育された 6 ヶ月の肉豚である。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 2010 年 6 月 28 日から 9 月 13 日の間に採血した 120 頭である（表 1）。

#### 2) 日本脳炎・ヒトインフルエンザ・風しん・麻しん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、2010 年 4 月から 9 月に県内の病院等で、インフォームド Consent のもとに採血された男性 119 人、女性 172 人の合計 291 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四日市市で飼育された 6 ヶ月齢の豚の鼻腔拭い液である。2010 年 11 月 16 日、2011 年 2 月 2 日に採取した計 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 $\mu$ 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 $\mu$ L 入れ、第 2 管目から 25 $\mu$ L ずつの 2 倍階段希釈を行った。これらに JEV (JaGAr 01 株:デンカ生研) で調製した 4HA 単位の HI 抗原を 25 $\mu$ L ずつ加えた。4 にて一晚感作後、0.33%ガチヨウ血球を 50 $\mu$ L 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<sup>2)</sup>。

#### 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 $\mu$ L を細胞培養液 72 $\mu$ 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 $\mu$ L を処理血清 40 $\mu$ L に対して等量加え、37 で 60 分反応させた後、25 $\mu$ L を Vero (Osaka 株) 細胞に接種し、37 ，5%CO<sub>2</sub> 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により測定した<sup>2)</sup>。

#### 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<sup>1)</sup>。

#### 4) ヒトインフルエンザ HI 抗体測定

被検血清 100 $\mu$ L を RDE (Receptor destroying enzyme) 「生研」300 $\mu$ L で 37 ，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 $\mu$ L 添加し、100%ニワトリ血球 100 $\mu$ 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 $\mu$ L ずつの 2 倍階段希釈を行い、不活化抗原 4HA 単位を 25 $\mu$ 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

50μL 添加し 60 分後に判定した。

不活化抗原は、A/California/7/2009 (H1N1pdm), A/Victoria/210/2009(H3N2), B/Brisbane/60/2008(ピクトリア系統), 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<sup>1)</sup>。

#### 5) 風しん HI 抗体測定

被検血清 200μL に PBS(-) 600μL, 25%カオリン 800μL 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 50μL を加え、氷水中に 60 分間静置した。その後 2,000rpm, 20 分間遠心分離した上清を HI 測定用処理血清とした。処理血清を 25μL 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、25μL 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 50μL 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<sup>3)</sup>。

#### 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 25μL 入れ、第 12 穴目まで 2 倍階段希釈を行った。未感作粒子 25μL を 2 穴目に、感作粒子 25μL を 3 穴 ~ 12 穴目に加えた。プレートを混和し、120 分静置後に判定した。16 倍以上を陽性とした<sup>4)</sup>。

### 結果とまとめ

#### 1. 豚の日本脳炎 HI 抗体および 2-ME 抗体の経時的推移

JEV に対する豚の HI 抗体価および 2-ME 感受性抗体価の経時的推移を表 1 に示した。HI 抗体保有豚(10 倍以上)は、2010 年 8 月 2 日に 1 頭が検出された後、8 月 9 日 ~ 8 月 23 日の間は一旦消失した。その後 8 月 30 日に 2 頭で確認し、そのうちの 1 頭から 2-ME 感受性抗体保有豚を確認した。

例年と同様に本年も JEV 抗体保有豚が確認されたが少数であった。

#### 2. ヒトの日本脳炎中和抗体測定結果

表 2 に年齢階級別の中和抗体保有率を示した。中和抗体は 291 人中 168 人 (57.7%) が保有していた。陽性率は 0-4 歳 17.1%, 5-9 歳 83.3%, 10-14 歳 89.7%, 15-19 歳 96.6%であった。ワクチン接種との関連では未接種者での抗体陽性者が昨年度と同数の 7 名確認された。

過去に日本脳炎ワクチン接種後に急性散在性脳脊髄炎 (ADEM) を発症した事例があり、2005 年に日本脳炎ワクチンの「接種勧奨を差し控える」通知が出された。2009 年に新しい日本脳炎ワクチンが承認され、2010 年 4 月に 3 歳児を対象に積極的なワクチン接種の「勧奨」が通知された。当県では 2010 年に日本脳炎患者が 1 例報告 (60 代女性) された。発症を防ぐためにもワクチン接種者の増加が期待される。

#### 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

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						HI抗体 陽性率 (%)	2-ME感受性抗体 陽性数/検査数	(%)
		<10	10	20	40	80	160			
2010.6.28	10	10						0	-	-
7.5	10	10						0	-	-
7.12	10	10						0	-	-
7.20	10	10						0	-	-
7.26	10	10						0	-	-
8.2	10	9		1				10	-	-
8.9	10	10						0	-	-
8.17	10	10						0	-	-
8.23	10	10						0	-	-
8.30	10	8	1				1	20	1/1	100
9.6	10	10						0	-	-
9.13	10	10						0	-	-

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	76	13(17.1%)
5-9歳	24	20(83.3%)
10-14歳	29	26(89.7%)
15-19歳	29	28(96.6%)
20-29歳	62	48(77.4%)
30-39歳	36	17(47.2%)
40-49歳	17	10(58.8%)
50-59歳	15	3(20.0%)
60歳～	3	3(100%)
合計	291	168(57.7%)

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
2010.11.16	四日市	40	6ヵ月	陰性
2011.2.2	四日市	60	6ヵ月	陰性

A/H5N1 型等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、今後、発生が懸念されている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。

#### 4. ヒトインフルエンザ年齢別 HI 抗体分布状況

表4に2010/2011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。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の流行期前の免疫状況は A/California/7/2009 (H1N1pdm) 0-4歳 15.8%, 5-9歳 50%, A/Victoria/210/2009(H3N2)は 0-4歳 17.1%, 5-9歳 58.3%であった。B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統)は0-4歳 7.9%, 5-9歳 16.7%。B/Florida/4/2006 (山形系統)は 0-4歳 1.3%, 5-9歳 8.3%であった。

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/California /7/2009 (H1N1pdm)	A/Victoria /210/2009 (H3N2亜型)	B/Brisbane /60/2008 (ビクトリア系統)	B/Florida /4/2006 (山形系統)
0-4歳	76	12 (15.8%)	13 (17.1%)	6(7.9%)	1(1.3%)
5-9歳	24	12(50.0%)	14 (58.3%)	4(16.7%)	2(8.3%)
10-14歳	29	20(69.0%)	16 (55.2%)	7(24.1%)	6(20.7%)
15-19歳	29	21 (72.4%)	24 (82.8%)	4(13.8%)	19 (65.5%)
20-29歳	62	39(62.9%)	42 (67.7%)	20 (32.3%)	36(58.1%)
30-39歳	36	14(38.9%)	8 (22.2%)	13 (36.1%)	3(8.3%)
40-49歳	17	10(58.8%)	7 (41.2%)	10(58.8%)	3(17.6%)
50-59歳	15	2(13.3%)	4 (26.7%)	4(26.7%)	1(6.7%)
60歳～	3	0(0%)	2 (66.7%)	0(0%)	0(0%)
合計	291	130 (44.7%)	130 (44.7%)	68 (23.4%)	71 (24.4%)

2009年に発生した A/H1N1pdm の流行から1年が経過し、A/California/7/2009 (H1N1pdm) の抗体保有率は大きく上昇していた。流行拡大阻止および患者の症状緩和には、毎年のワクチン接種は必要である。さらに本調査の抗体保有率をワクチン接種勧奨等の注意喚起の資料として活用していくことは有用である。

#### 5. 風しん年齢別 HI 抗体分布状況

表5に風しん年齢別 HI 抗体状況を示した。全体(男・女)における風しん年齢別 HI 抗体保有率は0-1歳 71.1%, 2-3歳 100%, 4-6歳 90%, 7-9歳 100%, 10-14歳 96.6%, 15-19歳 96.6%, 20-24歳 93.5%, 25-29歳 93.5%, 30-39歳 80.6%, 40歳以上は 85.7%であった。採血者全体の HI 抗体保有率は 89.3%, 男性は 85.7%, 女性では 91.9%であり、特に男性は 30-39歳で 65%, 女性は 0-1歳が 61.9%と低値であり、男女ともに、依然として一部の抗体陰性者が存在した。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。2004年には10名の CRS の報告があり、その後も2011年までに5例の報告がされている。CRSの発生を阻止するには風しんの流行抑制と妊娠出産年齢の女性が十分な抗体を保有することが有効であるが<sup>5)</sup>。今回の結果から、30代男性の抗体陰性者の蓄積が風しん流行を引き起こす要因とならないようにワクチン接種勧奨を行うことが重要である。

表 5. 風しん年齢別 HI 抗体保有状況

年齢区分	対象者数 (男・女)	陽性者数(%)	年齢区分	対象者数 (男)	陽性者数 (%)	対象者数 (女)	陽性者数 (%)
0-1歳	38	27(71.1%)	0-1歳	17	14(82.4%)	21	13(61.9%)
2-3歳	29	29(100%)	2-3歳	15	15(100%)	14	14(100%)
4-6歳	20	18(90.0%)	4-6歳	11	10(90.9%)	9	8(88.9%)
7-9歳	13	13(100%)	7-9歳	4	4(100%)	9	9(100%)
10-14歳	29	28(96.6%)	10-14歳	13	12(92.3%)	16	16(100%)
15-19歳	29	28(96.6%)	15-19歳	4	4(100%)	25	24(96.0%)
20-24歳	31	29(93.5%)	20-24歳	4	4(100%)	27	25(92.6%)
25-29歳	31	29(93.5%)	25-29歳	10	8(80.0%)	21	21(100%)
30-39歳	36	29(80.6%)	30-39歳	20	13(65.0%)	16	16(100%)
40歳～	35	30(85.7%)	40歳～	21	18(85.7%)	14	12(85.7%)
合計	291	260(89.3%)	合計	119	102(85.7%)	172	158(91.9%)

## 6. 麻しん年齢別 PA 抗体分布状況

表 6 に年齢別麻しん PA 抗体保有状況を示した。採血者 291 人の年齢別の麻しん PA 抗体保有率は 0-1 歳 63.2%，2-3 歳 100%，4-6 歳 95%，7-9 歳 100%，10-14 歳 100%，15-19 歳以上はそれぞれの年齢区分で 94.3-100%であった。我が国では 2012 年を麻しん排除の目標年としている。麻しん排除には抗体保有率 95 %以上が必要である<sup>9)</sup>，のでワクチン接種率を高め，抗体陰性者を減らすことが重要である。今回の結果では 0-1 歳は陽性率が最も低値であったがワクチン接種前の乳幼児が含まれていることが要因であり，ワクチン接種者の抗体保有率は良好と考えられた。

表 6. 麻しん年齢別 PA 抗体保有状況

年齢区分	対象者数	陽性者数(%)
0-1歳	38	24(63.2%)
2-3歳	29	29(100%)
4-6歳	20	19(95.0%)
7-9歳	13	13(100%)
10-14歳	29	29(100%)
15-19歳	29	28(96.6%)
20-24歳	31	31(100%)
25-29歳	31	31(100%)
30-39歳	36	36(100%)
40歳～	35	33(94.3%)
合計	291	273(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頂いた 291 人（男性 119 人，女性 172 人）の方々に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 47-52(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 108-145(2008 年度)。
- 6) 国立感染症研究所感染症情報センター：<特集>麻疹 2010 年，病原微生物検出情報，Vol.3 2 No，2(2011)。