

資料

2014 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, 小林章人,
松野由香里, 小林隆司, 西中隆道

Epidemiological Surveillance for Japanese Encephalitis, Influenza, Rubella and Measles in 2014F.Y.

Takuya YANO, Hajime KUSUHARA, Shigehiro AKACHI,
Akihiro KOBAYASHI, Yukari MATSUNO,
Takashi KOBAYASHI and Takamichi NISHINAKA

感染症流行予測調査事業では, 人の年齢別抗体調査による免疫保有状況 (感受性) および動物 (豚) に潜伏している病原体 (感染源) の把握を目的として調査を実施している. 2014 年度に実施した調査結果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に対する赤血球凝集抑制 (Hemagglutination inhibition : HI) 抗体の保有状況を調査した. HI 抗体保有豚 (10 倍以上) は確認されなかった.
- (2) ヒトの日本脳炎感受性調査における中和抗体保有率は 58.5% (429 名中 251 名) であった.
- (3) 動物のインフルエンザウイルスの県内への侵入を監視するため, 豚 100 頭を調査したがインフルエンザウイルスは検出されなかった.
- (4) ヒトインフルエンザウイルスの流行期前の血中 HI 抗体保有率 (HI 価 40 倍以上) は乳児から学童期に対しての A/California/7/2009 (H1N1pdm2009) は 0-4 歳 18.8%, 5-9 歳 71.4%, A/New York/39/2012 (H3N2) は 0-4 歳 23.4%, 5-9 歳 76.2% であった. B 型インフルエンザウイルスの B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統) は 0-4 歳 4.7%, 5-9 歳 38.1% であった. B/Massachusetts/02/2012 (山形系統) では 0-4 歳 6.3%, 5-9 歳 42.9% であった.
- (5) 風しん感受性調査における全年齢層での HI 抗体保有率は 84.4% (男性 : 76.3%, 女性 : 93.2%) であった.
- (6) 麻しん感受性調査における全年齢層での PA (Particle Agglutination) 抗体保有率は 95.1% 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

本事業は 1962 年から「伝染病流行予測調査事業」として開始している. その目的は集団免疫の現状把握および病原体の検索等を行い, 各種疫学資料と併せて検討することによって, 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である. 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「感染症流行予測調査事業」へと名称変更

された. ワクチンによる予防可能疾患の免疫保有調査を行う「感受性調査」およびヒトへの感染源となる動物の病原体保有を調査する「感染源調査」を国立感染症研究所および県内関係機関との密接な連携のもとに実施している. これまでの本県の調査で, 晩秋から初冬に日本脳炎ウイルス (JEV) に対する直近の感染を知る指標である 2-メルカプトエタノール (2-ME) 感受性抗体が出現¹⁾したことなど興味深い現象が確認されてきた. また, 当時, 伝染病流行予測調査事業 (イン

フルエンザウイルス)で、1993/94 シーズンに分離されたインフルエンザウイルス B 型 (B/三重/1/93 株)が、ワクチン株に採用された等の実績がある。ヒトの感染症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、同一人であっても毎年の免疫状態とは必ずしも同じではないことが推察される。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、2014 年度の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)の結果について報告する。

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の対象は、三重県中部に位置する玉城町近郊の豚舎で飼育された6ヵ月齢の肉豚である。2014年6月30日から8月25日の間に採血した80頭分の血液を赤血球凝集抑制 (Hemagglutination inhibition : HI) 試験の調査材料とした (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・麻しん感受性調査は、2014年4月から9月に県内の病院等で、感染症流行予測調査事業の実施要項に基づき採血時に本人または保護者から本調査 (検体および対象者情報の使用) に書面で同意の得られた男性224名、女性205名の合計429名の血清を用いて抗体価測定を行った。

なお、日本脳炎の抗体価の測定には PAP (Peroxydase-antiperoxydase) 複合体を用いたフォーカス計数法を用い、インフルエンザ、風しんの HI 試験、麻しんは粒子凝集反応 (Particle Agglutination : PA) 法を用いた。

3) 豚からのインフルエンザ感染源調査材料

三重県の中部に位置する津市で飼育された6ヵ月齢の豚を対象とした。2014年11月27日、同年12月9日、2015年2月9日に採取した計100頭分の鼻腔拭い液を調査材料とした。

2. 測定方法

1) 日本脳炎 HI 抗体測定

豚の動脈血をと殺時に試験管に採血し、遠心分離後の血清を HI 抗体測定に供した。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%ガチョウ血球 50 μ L を加え4 $^{\circ}$ C で15分間静置した。その後3,000rpm、5分間遠心分離した上清を測定用試料とした。試料をマイクロプレートの第1穴目に25 μ L 入れ、第2穴目から25 μ L ずつの2倍階段希釈を行い、JEV の HA 抗原 (JaGAr 01 株; デンカ生研製) を4HA 単位に調製し25 μ L ずつ加えた。4 $^{\circ}$ C にて一晩感作後、0.33%ガチョウ血球を50 μ L 添加し、37 $^{\circ}$ C 孵卵器にて60分静置後判定した。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

非動化 (56 $^{\circ}$ C, 30分間) 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倍階段希釈し、日本脳炎ウイルス (Beijing-1 株; 100FFU/25 μ L) を処理血清40 μ L に対して等量加えた。次に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計数法により測定した^{2,3)}。

3) 豚からのインフルエンザウイルス分離

豚の鼻腔拭い液を3,000rpm で10分間遠心分離し、上清からRNAを抽出しRT-PCR法を実施し、陽性となった場合はイヌの腎臓由来細胞であるMadin-Darby canine kidney (MDCK) 細胞に上清を接種した。培養7日目頃に培養上清を採取し、七面鳥血球を用いて赤血球凝集能 (HA) を測定した⁴⁾。

4) ヒトインフルエンザ HI 抗体測定

被検血清100 μ L にRDE (Receptor destroying enzyme) II 「生研」 (デンカ生研製) 300 μ L を加えて37 $^{\circ}$ C, 20時間処理した。次に非動化 (56 $^{\circ}$ C, 60分間) 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。室温で 60 分静置後、使用赤血球 (0.5% ニワトリ赤血球) を 50 μ L 添加し 4 $^{\circ}$ C で 45 分静置後に判定した。不活化抗原は A/California/7/2009 (A/H1N1pdm2009), A/NewYork/39/2012 (A/H3N2), B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統), B/Massachusetts/02/2012 (山形系統) を用いた。HI 抗体価は HI を起こした最高希釈倍数とし、抗体価 40 倍以上を陽性とした⁴⁾。なお、A/New York/39/2012 (H3N2) の HI 試験には、0.75% モルモット赤血球を使用し 4 $^{\circ}$ C で 60 分静置後に判定した。

5) 風しん HI 抗体測定

風しん HI 試験は被検血清 200 μ L に PBS (-) 600 μ L, 25% カオリン 800 μ L を加え混合後、室温で 20 分静置した。2,000rpm, 20 分間遠心分離した。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、風しん HA 抗原 (デンカ生研製) を 4 単位に調製後、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 $^{\circ}$ C 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⁵⁾。

6) 麻しん PA 抗体測定

麻しん抗体の測定には市販キット (富士レボオ: セロディア-麻疹) の PA 法を用いた。被検血清を第 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 を第 2 穴目に、感作粒子 25 μ L を第 3 穴～第 12 穴目に加えた。マイクロプレートと混和し、120 分静置後に判定した。16 倍以上を陽性とした⁶⁾。

結果とまとめ

1. 豚の日本脳炎 HI 抗体および 2-ME 感受性抗体の経時的推移

JEV に対する豚の血中 HI 抗体および 2-ME 感受性抗体の経時的推移を表 1 に示した。2014 年 6 月 30 日から 8 月 25 日の間に採血した豚 (80 頭) からは HI 抗体保有豚 (10 倍以上) は確認されなかった。近年、本県の JEV 抗体保有豚は表 2 に示すように 2008 年 (79.2%) を境に、経年的に減少した。2013 年 (11%) は増加に転じたが、本年度は再び 2012 年と同様に HI 抗体保有豚は確認されておらず、今後の動向が注目される。

2. ヒトの日本脳炎年齢別中和抗体保有状況

年齢群別の日本脳炎中和抗体保有率は 0-4 歳 14.1%, 5-9 歳 90.5%, 10-14 歳 94.7%, 15-19 歳 92.2%, 20-29 歳 93.8%, 30-39 歳 50%, 40-49 歳 26.4%, 50-59 歳 11.1%, 60 歳以上は 50% であった。採血者全体の抗体保有率は 58.5% (429 名中 251 名) であったが (表 3), 前年度の抗体保有率⁷⁾ (66.2%) より低下していた。30~50 歳までの抗体保有率は、5~29 歳までの年齢と比較し著しく低率であった。なお、近年の日本脳炎患者 (全国) は 2011 年 9 名, 2012 年 2 名, 2013 年 7 名, 2014 年 2 名の報告であった。本県では本年は確認されていないが、前年の 2013 年 9 月に 1 名確認された⁸⁾。

表 1. 日本脳炎ウイルスに対する豚 HI 抗体および 2-ME 感受性抗体保有状況

採血日 (2014年)	調査数	HI抗体価							HI抗体	2-ME感受性抗体	陽性率
		<10	10	20	40	80	160	320	≥ 640	陽性数	
6月30日	10	10							0	-	-
7月14日	10	10							0	-	-
7月23日	10	10							0	-	-
7月28日	10	10							0	-	-
8月5日	10	10							0	-	-
8月11日	10	10							0	-	-
8月18日	10	10							0	-	-
8月25日	10	10							0	-	-
計	80	80							0	-	-

表 2. 過去の日本脳炎ウイルスに対する豚 HI 抗体および 2-ME 感受性抗体保有状況

採血年	HI抗体	2-ME感受性抗体
	陽性数 / 調査数	陽性数 / 調査数
2006年	30/100 (30%)	6/26(23.1%)
2007年	49/130 (37.7%)	7/14 (50%)
2008年	103/130 (79.2%)	30/53 (56.6%)
2009年	43/110 (39.1%)	6/13(46.2%)
2010年	3/120 (2.5%)	1/1(100%)
2011年	1/120 (0.8%)	—
2012年	0/100 (0%)	—
2013年	11/100(11%)	7/11 (63.6%)
2014年	0/100(0%)	—

()内は抗体保有率.

表 3. 日本脳炎に対するヒトの中和抗体保有状況

年齢区分	調査数	陽性数
0-4歳	64	9 (14.1%)
5-9歳	21	19 (90.5%)
10-14歳	19	18 (94.7%)
15-19歳	64	59 (92.2%)
20-29歳	96	90 (93.8%)
30-39歳	52	26 (50%)
40-49歳	53	14 (26.4%)
50-59歳	36	4 (11.1%)
60歳～	24	12 (50%)
合計	429	251 (58.5%)

()内は抗体保有率.

3. 豚からのインフルエンザウイルス検出状況

2014年11月～2015年2月の間に計3回の調査を行った豚(100頭)からは、RT-PCR法においてインフルエンザウイルスは検出されなかった(表4)。本調査ではインフルエンザウイルスが養豚場へ侵入した形跡は見られなかったが、発生が懸念されている新型インフルエンザウイルスの監視には豚におけるインフルエンザウイルスの継続的なモニタリングが有用である。

4. ヒトインフルエンザ年齢別 HI 抗体保有状況

表 4. 豚からのインフルエンザウイルス検出状況

採取日	飼育地	調査数	月齢	検出結果
2014年11月27日	津市	40	6ヵ月	検出せず
2014年12月9日	津市	40	6ヵ月	検出せず
2015年2月9日	津市	20	6ヵ月	検出せず

2014/2015シーズン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)は A/California/7/2009 (A/H1N1pdm2009) の 0-4 歳 18.8% , 5-9 歳 71.4% , A/New York/39/2012 (A/H3N2 亜型) は 0-4 歳 23.4% , 5-9 歳 76.2% であった。 B 型の B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統) は 0-4 歳 4.7% , 5-9 歳 38.1% で、 B/Massachusetts/02/2012 (山形系統) は 0-4 歳 6.3% , 5-9 歳 42.9% であった(表5)。2014/15シーズンのインフルエンザウイルスの検出状況は、ワクチン株とは抗原性の異なる AH3 亜型インフルエンザウイルスが多数検出された。

B 型インフルエンザウイルスは主としてワクチン類似の山形系統株が検出された。

A 型インフルエンザおよび B 型インフルエンザが含有されたワクチンの継続的な接種は乳幼児および高齢者らの重症化予防のためにも必要である。

5. 風しん年齢別 HI 抗体保有状況

年齢群別(男性・女性)の風しん HI 抗体保有率は 0 歳 21.4% , 1-4 歳 82% , 5-9 歳 90.5% , 10-19 歳 96.4% , 20-29 歳 93.8% , 30-39 歳 82.7% , 40-49 歳 75.5% , 50 歳以上は 76.7% であった。採血者全体の HI 抗体保有率は 84.4% であった。男女別の抗体保有率は男性 76.3% , 女性 93.2% であった(表6)。

風しんは 2011 年頃から成人男性の患者が急増し国内流行⁹⁾の兆しがみられたことにより、流行中の風しんウイルスによる妊娠女性(胎児)への感染が懸念され、先天性風しん症候群 (Congenital rubella syndrome ; CRS) の発症が危惧される社会問題となった。本県では 2013 年 4 月に三重県内の流行状況および予防のための情報提供(注意喚起)を行った¹⁰⁾。

2013 年以降に全国で発生した CRS 患者数¹¹⁾は計 41 名であった。そのうち本県では 2 名(2013 年)確認された。CRS 患者の発生を阻止するためには風しん流行を抑制し、妊娠出産年齢の女性が風しんウイルスに対して十分な免疫を有することが有効¹²⁾とされているが、本調査では女性の

表 5. 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	調査数	陽性数			
		A/California /7/2009 (A/H1N1pdm2009)	A/New York/39/2012 (A/H3N2亜型)	B/Brisbane /60/2008 (ビクトリア系統)	B/Massachusetts/02/2012 (山形系統)
0-4歳	64	12 (18.8%)	15 (23.4%)	3 (4.7%)	4 (6.3%)
5-9歳	21	15 (71.4%)	16 (76.2%)	8 (38.1%)	9 (42.9%)
10-14歳	19	16 (84.2%)	14 (73.7%)	4 (21.1%)	7 (36.8%)
15-19歳	64	46 (71.9%)	54 (84.4%)	29 (45.3%)	43 (67.2%)
20-29歳	96	66 (68.8%)	68 (70.8%)	24 (25%)	72 (75%)
30-39歳	52	29 (55.8%)	35 (67.3%)	29 (55.8%)	26 (50%)
40-49歳	53	22 (41.5%)	26 (49.1%)	23 (43.4%)	14 (26.4%)
50-59歳	36	8 (22.2%)	14 (38.9%)	8 (22.2%)	6 (16.7%)
60歳～	24	4 (16.7%)	10 (41.7%)	3 (12.5%)	7 (29.2%)
合計	429	218 (50.8%)	252 (58.7%)	131 (30.5%)	188 (43.8%)

()内は抗体保有率.

表 6. 風しん年齢別 HI 抗体保有状況

年齢区分	男性		女性		合計(男性・女性)	
	調査数	陽性数	調査数	陽性数	調査数	陽性数
0歳	6	0 (0%)	8	3 (37.5%)	14	3 (21.4%)
1-4歳	28	22 (78.6%)	22	19 (86.4%)	50	41 (82%)
5-9歳	8	6 (75%)	13	13 (100%)	21	19 (90.5%)
10-19歳	43	40 (93%)	40	40 (100%)	83	80 (96.4%)
20-29歳	43	39 (90.7%)	53	51 (96.2%)	96	90 (93.8%)
30-39歳	21	13 (61.9%)	31	30 (96.8%)	52	43 (82.7%)
40-49歳	35	22 (62.9%)	18	18 (100%)	53	40 (75.5%)
50歳～	40	29 (72.5%)	20	17 (85%)	60	46 (76.7%)
合計	224	171 (76.3%)	205	191 (93.2%)	429	362 (84.4%)

()内は抗体保有率.

20～49 歳群は 90%以上で風しん抗体を保有していた。しかしながら成人男性の抗体保有率は低率であり、女性への感染リスクが懸念された。特に男性の 30～49 歳群は 60%台と低率であった。このことは我々が 2009～2013 年に実施した調査においても同様で、30 歳以上の男女間には明瞭な差違が生じており¹³⁾、今後のワクチン接種対策によって成人男性の抗体非保有者を減らすことが急務であると思われた。

6. 麻しん年齢別 PA 抗体保有状況

年齢別の麻しん PA 抗体保有率は 2-3 歳から 10-14 歳群および 20-24 歳群、25-29 歳群は 100%と高く推移していた。他の年齢群は 0-1 歳群 59%、15-19 歳群 98.4%、30-39 歳群 96.2%、40 歳群以上 98.2%であった (表 7)。全体の抗体保有率は 95.1%であった。高い抗体保有率の維持には定期ワクチン接種を徹底し、接種率を向上させる必要があると考えられた。

表 7. 麻しん年齢別 PA 抗体保有状況

年齢区分	調査数	陽性数
0-1歳	39	23 (59%)
2-3歳	17	17 (100%)
4-6歳	21	21 (100%)
7-9歳	8	8 (100%)
10-14歳	19	19 (100%)
15-19歳	64	63 (98.4%)
20-24歳	39	39 (100%)
25-29歳	57	57 (100%)
30-39歳	52	50 (96.2%)
40歳～	113	111 (98.2%)
合計	429	408 (95.1%)

()内は抗体保有率.

我が国の麻疹対策は適切なサーベイランス体制のもとで、過去3年間において麻疹土着株が存在しておらず「排除状態」であることが世界保健機関（WHO）に認定（2015年3月）された¹⁴。しかしながら、国内では2013年後半～2014年にかけて、フィリピンを中心としたアジア諸国からの輸入例（遺伝子型B3等）による患者報告数が急増した^{14,15}。今後においても、積極的疫学調査等を実施し、適切な感染拡大予防策を講じることが輸入麻疹の国内における拡散を阻止するためには重要である。

謝 辞

流行予測調査事業の実施にあたって、本事業の趣旨をご理解いただいた協力者429名（男性224名、女性205名）の方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 川田一伸, 福田美和, 小林真美, 矢野拓弥, 他: 三重県における過去数年間の日本脳炎流行予測調査成績の解析, 三重衛研年報第42号 69-73 (1996).
- 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, 感染症流行予測調査検査術式 27-39 (2002).
- 3) 国立感染症研究所: PAP法を応用したフォーカス計数法による日本脳炎中和抗体価測定法 (平成18年).
- 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: インフルエンザ, 感染症流行予測調査検査術式 9-26 (2002).
- 5) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会: 麻疹, 感染症流行予測調査検査術式 40-45 (2002).
- 6) 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, 感染症流行予測調査検査術式 47-52 (2002).
- 7) 矢野拓弥, 楠原一, 赤地重宏, 前田千恵: 2013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, 麻疹) の概要, 三重保環研年報 第16号 85-90 (2014).
- 8) 三重県感染症情報センター: 三重県・全国における日本脳炎患者発生状況: <http://www.kenkou.pref.mie.jp/topic/nitinou/kanjyasuu.htm>
- 9) 国立感染症研究所: 風疹・先天性風疹症候群: 病原微生物検出情報, **34**, 87-108 (2013).
- 10) 三重県感染症情報センター: 流行状況および予防のための情報提供 (注意喚起): <http://www.kenkou.pref.mie.jp/topic/fusin/fusintyuikannki20130410.pdf> (2013).
- 11) 国立感染症研究所: 先天性風しん症候群 (CRS) の報告 <http://www.nih.go.jp/niid/ja/rubella-m-111/2014-01-12-07-59-09/700-idsc/2131-rubella-doko.html>
- 12) 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 報告書, 第5風疹 108-145 (2008).
- 13) 矢野拓弥, 松野由香里, 楠原一, 赤地重宏 他: 三重県における風しんの血清疫学に関する考察 (2009～2013年), 三重保環研年報 第16号 55-61 (2014).
- 14) 国立感染症研究所: 麻疹 2015年3月現在: 病原微生物検出情報, **36**, 51-53 (2015).
- 15) 国立感染症研究所: 麻疹 2014年3月現在: 病原微生物検出情報, **35**, 93-111 (2014).