

資料

2024年度感染症流行予測調査結果 (日本脳炎, インフルエンザ, 風疹, 麻疹)の概要

矢野拓弥, 楠原 一, 小林章人*, 大市真梨乃, 川合秀弘, 下尾貴宏

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, 風疹, 麻疹

はじめに

本調査は1962年に「伝染病流行予測調査事業」として開始された。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)感受性抗体が出現したことなど興味深い現象が確認されてきた。また、以前は伝染病流行予測調査事業内で実施されていたインフルエンザウイルス調査において、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ため、毎年の感染症流行予測調査事業における血清収集は重要である。集団免疫の現状把握と予防接種事業の促進等、長期的な調査は感染症対策には不可欠であり、本調査のような主要疾患についての免疫状態を知る上で、継続的な調査は、感染症の蔓延を防ぐための予防対策として必要性は高い。以下に、2024年度の感染症流行予測調査(日本脳炎, インフルエンザ, 風疹, 麻疹)の結果について報告する。

方法

1. 調査材料

1.1 ブタ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、三重県志摩市磯

* 三重県津保健所

部町近郊の豚舎で飼育された約6ヵ月齢のブタである。2024年7月19日から同年9月16日までの間に採血した80頭の血液を調査材料とした。なお、2014年度まで対象としていた三重県度会郡玉城町内の養豚場の閉鎖もしくはウインドウレス化により、調査対象として良好でないと考えられたため、2015年度より志摩市磯部町の開放型豚舎で飼育されたブタを対象とし調査を継続している。

1.2 日本脳炎・ヒトインフルエンザ・風疹・麻疹感受性調査材料

ヒトの日本脳炎・インフルエンザ・風疹・麻疹感受性調査は、2024年4~9月に県内の病院等で採取された男性126名、女性222名の合計348名の血清検体を用いて抗体価測定を行った。感染症流行予測調査事業の実施要領に基づき、採血時に本人または保護者から書面で本調査(検体および対象者情報の使用)に対する同意を得た。

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、風疹は赤血球凝集抑制(Hemagglutination inhibition: HI)試験、麻疹は酵素抗体法(Enzyme Immunoassay: EIA)法を用いた。

2. 測定方法

2.1 日本脳炎HI抗体測定

ブタの動脈血を、と畜時に試験管に採取し、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後、100%ガチョウ赤血球50μLを加え4℃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96ウェルマイクロプレートの第1穴目に25μL入れ、第2穴目から25μLずつの2倍階段希釈を

行い、JEVのHA抗原JaGAr 01株(デンカ社製)を4HA単位に調製し25 μ Lずつ加えた。4 $^{\circ}$ Cにて一晚感作後、0.33%ガチヨウ赤血球を50 μ L添加し、37 $^{\circ}$ C孵卵器にて60分間静置後判定した。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処理を行った血清で抗体価を測定し、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²⁾。

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を細胞維持液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; 100 FFU/25 μ L)を処理血清40 μ Lに対して等量加え、37 $^{\circ}$ Cで60分間の中和反応を行った。反応後の血清とウイルスの混合液25 μ LをVero細胞(Osaka株)に接種し、37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂下で60分間ウイルス吸着を行った。その後、細胞維持液を100 μ L加え、再び37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂下で46時間培養した。その後、99.5%エタノールで細胞を固定し、PAP複合体を用いたフォーカス計数法により抗体価を求め、10倍以上を陽性とした^{2,3)}。

2.3 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」(デンカ社製)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%ニワトリ赤血球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HA抗原(4HA単位)を25 μ Lずつ加えた。室温で60分間静置後、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分間静置後に判定した。HI試験にはA型インフルエンザウイルスのA/Victoria/4897/2022(A/H1N1pdm2009), A/California/122/2022(A/H3N2), B型インフルエンザウイルスのB/Austria/1359417/2021(ビクトリア系統)およびB/Phuket/3073/2013(山形系統)の各不活化HA抗原を使用した。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、不活化HA抗原A/California/122/2022(A/H3N2)は、被検血清をRDE処理後、100%

モルモット赤血球にて前述と同様に処理し、HI試験には、0.75%モルモット赤血球を使用し4 $^{\circ}$ Cで60分間静置後に判定した。

2.4 風疹HI抗体測定

風疹ウイルス抗体キットR-HI「生研」(デンカ社製)を用いて、キットの添付文書に従って以下のとおり実施した。風疹HI試験は被検血清100 μ Lに700 μ Lのカオリン浮遊液を加え混合後、室温で20分間静置し、2,000rpm, 20分間遠心分離した上清に固定ニワトリ赤血球50 μ Lを加え、4 $^{\circ}$ C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HI抗体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、風疹HA抗原を4単位に調製後、25 μ Lを加えて室温で90分間静置して抗原抗体反応を行った。その後、0.2%固定1日齢ヒヨコ赤血球50 μ Lを加え、4 $^{\circ}$ Cで90分間静置後判定した。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⁾。

2.5 麻疹EIA抗体測定

麻疹抗体の測定にはウイルス抗体EIA「生研」麻疹IgM(デンカ社製)を用いキット⁶⁾の添付文書に従い、以下のとおり実施した。検体の調製方法は、緩衝液2mLに対して被検血清を10 μ Lずつ加え十分に攪拌し、前希釈検体とした。

ウイルス抗原固相プレートに、各濃度のコントロールと前希釈検体を100 μ Lずつ加え、常温で60分間静置し反応させた。反応液を吸引除去後に、洗浄液を約200 μ L加え、再び吸引除去する操作を3回繰り返した(以下:洗浄操作)。次に、各ウェルに酵素標識抗体液100 μ Lを加え、常温で60分間静置し反応させ、反応液を吸引除去し、洗浄操作を5回繰り返した。その後、各ウェルに基質液100 μ L加え、常温で30分間静置し反応後、反応停止液100 μ Lを加えた。30分間以内にブランクのウェルを対照として、マイクロプレートリーダー(波長450nm/630nm)で測定した。キットの添付文書のとおり、各コントロールによる検量線から、各被検血清のそれぞれの吸光度に対応する抗体価を求め、抗体価が4.0以上を陽性とした。

なお、麻疹抗体価の測定は2022年度までセロディア麻疹(富士レビオ社製)によるPA法で実施していたが、終販事情によりEIA法へ変更した。

結 果

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)の把握を目的として調査を実施している。2024年度に実施した各疾患の調査結果は以下のとおりである。

1. ブタの日本脳炎 HI 抗体および 2-ME 感受性抗体の経時的推移

JEV に対するブタの血中 HI 抗体および 2-ME 感受性抗体の経時的推移を表 1 に示す。

2024 年 7 月 19 日から同年 9 月 16 日の間に採血したブタ (80 頭) を調査した結果, HI 抗体保有ブタ (10 倍以上) は 34 頭から検出された。このうち 40 倍以上の抗体保有のブタ 33 頭について最近の感染か否かの指標である 2-ME 感受性抗体を調べた結果, 8 頭 (24.2%) から検出された。

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 (10 倍以上) は 0-4 歳 70.0%, 5-9 歳 87.5%, 10-14 歳 100%, 15-19 歳 97.1%, 20-29 歳 97.9%, 30-39 歳 95.2% であったが, 40-49 歳 56.7%, 50-59 歳 29.6%, 60 歳以上は 10.5% と年齢を重ねるにつれて, 低率となる傾向であった。全体では 348 名中 219 名 (62.9%) が日本脳炎中和抗体を保有していた (表 2)。

3. ヒトインフルエンザ年齢別 HI 抗体保有状況

2024/2025 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) の推移を調査した。流行の主流となる乳幼児期と全年齢層の HI 保有率は以下のとおりである (表 3)。

A 型インフルエンザウイルスの抗体保有率は, A/Victoria/4897/2022 (A/H1N1pdm2009) は 0-4 歳 15.0%, 5-9 歳 37.5% で, 全年齢層では 22.1% であった。

A/California/122/2022 (A/H3N2) は 0-4 歳 25.0%, 5-9 歳 50.0%, 全年齢層では 35.9% であった。

B 型インフルエンザウイルスの B/Austria/1359417/2021 (ビクトリア系統) は 0-4 歳 10.0%, 5-9 歳 31.3%, 全年齢層では 29.6% であった。

B/Phuket/3073/2013 (山形系統) は 0-4 歳 10.0%, 5-9 歳 31.3%, 全年齢層では 57.2% であった。

4. 風疹年齢別 HI 抗体保有状況

年齢別 (採血者全体) の風疹 HI 抗体保有率 (8 倍以上) は, 0 歳 0%, 1-4 歳 100% で, 5-9 歳 93.8%, 10-19 歳は 100% であった。20-29 歳 97.9%, 30-39 歳 97.6%, 40-49 歳 95.0%, 50 歳以上は 89.9% であった。採血者全体の HI 抗体保有率は 94.0% で, 男性 87.3%, 女性 97.7% であった (表 4)。

5. 麻疹年齢別 EIA 抗体保有状況

年齢別の麻疹 EIA 抗体保有率を以下に示す (表 5)。

麻疹 EIA 価 4 以上の年齢別における抗体保有率は, 2-3 歳, 7-9 歳, 20-24 歳, 30-39 歳の抗体保有率は 100% であった。0-1 歳 66.7%, 4-6 歳 92.9%, 10-14 歳 87.5%, 15-19 歳 97.1%, 25-29 歳 93.1%, および 40 歳以上は 95.5% で, 全年齢層では 95.4% であった。また, すぐにはワクチン接種が不必要⁷⁾とされる麻疹 EIA 価 16 以上の年齢別の麻疹 EIA 抗体保有率を以下に示す。0-1 歳 44.4%, 2-3 歳 42.9%, 4-6 歳 64.3%, 7-9 歳 50%, 10-14 歳 25%, 15-19 歳 60%, 20-24 歳 52.6%, 25-29 歳 34.5%, 30-39 歳 35.7% および 40 歳以上は 70.9% で, 全年齢層では 58.6% であった。

謝 辞

感染症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 348 名 (男性 126 名, 女性 222 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, **42**, 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: 第 3 日本脳炎。感染症流行予測調査検査術式 令和元年度改訂版 34-48 (2019)。
- 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: 第 2 インフルエンザ。感染症流行予測調査検査術式 令和元年度改訂版 22-33 (2019)。
- 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: 第 4 風疹。感染症流行予測調査検査術式 令和元年度改訂版 49-54 (2019)。
- 6) 国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル 麻疹 (第 4 版) 令和 4 年 10 月, 32-33 (2022)。
- 7) 日本環境感染学会: 医療関係者のためのワクチンガイドライン第 3 版。環境感染誌, 第 35 巻 Supplement II, S5-S10 (2020)。

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

採血日 (2024年)	調査数	HI抗体価							HI抗体	2-ME感受性抗体		
		<10	10	20	40	80	160	320	≥640	陽性数	陽性数/検査数*	陽性率(%)
7月19日	10	9					1		1	0/1	0	
7月26日	10	6				1	1	2	4	0/4	0	
8月6日	10	5		1		2	1	1	5	4/5	80	
8月22日	10	9				1			1	1/1	100	
8月27日	10	5	1		1	2	1		5	2/4	50	
9月5日	10	2			1	4	1	2	8	1/8	12.5	
9月11日	10	5				1	3	1	5	0/5	0	
9月16日	10	5			1	2	2		5	0/5	0	
計	80	46	1	0	1	3	14	9	6	34	8/33	24.2

*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。

表2 日本脳炎ウイルスに対するヒトの
中和抗体保有状況 (10倍以上)

年齢区分	調査数	陽性数
0-4歳	20	14 (70.0%)
5-9歳	16	14 (87.5%)
10-14歳	8	8 (100%)
15-19歳	35	34 (97.1%)
20-29歳	48	47 (97.9%)
30-39歳	42	40 (95.2%)
40-49歳	60	34 (56.7%)
50-59歳	81	24 (29.6%)
60歳～	38	4 (10.5%)
合計	348	219 (62.9%)

()内は抗体保有率。

表3 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/Victoria/4897/2022 (A/H1N1pdm2009)	A/California/122/2022 (A/H3N2)	B/Austria/1359417/2021 (ビクトリア系統)	B/Phuket/3073/2013 (山形系統)
0-4歳	20	3 (15.0%)	5 (25.0%)	2 (10.0%)	2 (10.0%)
5-9歳	16	6 (37.5%)	8 (50.0%)	5 (31.3%)	5 (31.3%)
10-14歳	8	4 (50.0%)	5 (62.5%)	3 (37.5%)	4 (50.0%)
15-19歳	35	11 (31.4%)	14 (40.0%)	9 (25.7%)	23 (65.7%)
20-29歳	48	18 (37.5%)	14 (29.2%)	12 (25.0%)	34 (70.8%)
30-39歳	42	11 (26.2%)	21 (50.0%)	7 (16.7%)	34 (81.0%)
40-49歳	60	6 (10.0%)	26 (43.3%)	13 (21.7%)	33 (55.0%)
50-59歳	81	13 (16.0%)	19 (23.5%)	37 (45.7%)	44 (54.3%)
60歳～	38	5 (13.2%)	13 (34.2%)	15 (39.5%)	20 (52.6%)
合計	348	77 (22.1%)	125 (35.9%)	103 (29.6%)	199 (57.2%)

()内は抗体保有率。

表4 風疹年齢別 HI 抗体保有状況 (8倍以上)

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	0	-	3	0 (0.0%)	3	0 (0.0%)
1-4歳	11	11 (100%)	6	6 (100%)	17	17 (100%)
5-9歳	8	7 (87.5%)	8	8 (100%)	16	15 (93.8%)
10-19歳	7	7 (100%)	36	36 (100%)	43	43 (100%)
20-29歳	13	12 (92.3%)	35	35 (100%)	48	47 (97.9%)
30-39歳	15	14 (93.3%)	27	27 (100%)	42	41 (97.6%)
40-49歳	21	18 (85.7%)	39	39 (100%)	60	57 (95.0%)
50歳～	51	41 (80.4%)	68	66 (97.1%)	119	107 (89.9%)
合計	126	110 (87.3%)	222	217 (97.7%)	348	327 (94.0%)

()内は抗体保有率.

表5 麻疹年齢別 EIA 抗体保有状況

年齢区分	調査数	EIA価	
		≥4	≥16
0-1歳	9	6(66.7%)	4(44.4%)
2-3歳	7	7(100%)	3(42.9%)
4-6歳	14	13(92.9%)	9(64.3%)
7-9歳	6	6(100%)	3(50%)
10-14歳	8	7(87.5%)	2(25%)
15-19歳	35	34(97.1%)	21(60%)
20-24歳	19	19(100%)	10(52.6%)
25-29歳	29	27(93.1%)	10(34.5%)
30-39歳	42	42(100%)	15(35.7%)
40歳～	179	171(95.5%)	127(70.9%)
合計	348	332(95.4%)	204(58.6%)

()内は抗体保有率.