

資料

2011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,
松野由香里, 山寺基子, 片山正彦, 山口哲夫

Epidemiological Surveillance for Japanese Encephalitis, Influenza, Rubella and Measles in 2011F.S.

Takuya YANO, Hajime KUSUHARA, Shigehiro AKACHI,
Yoshito IWADE, Yukari MATSUNO, Motoko YAMADERA,
Masahiko KATAYAMA, and Tetsuo YAMAGUCHI

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)と, 動物(豚)に潜伏している病原体(感染源)を把握する調査を実施している. 2011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. HI抗体保有豚は1頭のみであり, HI抗体価は10倍であった.
- (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296人中158人(53.4%)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ため, 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18.3%, 5-9歳42.3%, A/Victoria/210/2009(H3N2)は0-4歳22.5%, 5-9歳42.3%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4.2%, 5-9歳53.8%であった. B/Wisconsin/1/2010(山形系統)では0-4歳0%, 5-9歳7.7%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89.5%(男性:82.2%, 女性:95.2%)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 Test)抗体保有率は94.6%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「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, 冬季に日本

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-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、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、2011 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) について概要を報告する。

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、毎年、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 ヶ月齢の肉豚である。採血期間と採血豚頭数は 2011 年 7 月 4 日から 9 月 26 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、2011 年 4 月から 9 月に県内の病院等で、インフォームドコンセントのもとに採血された男性 129 人、女性 167 人の合計 296 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。2012 年 1 月 17 日、2012 年 3 月 5 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

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 抗原の JaGAr 01 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 $^{\circ}$ C にて一晚感作後、0.33% ガチョウ血球を 50 μ L 添加し、37 $^{\circ}$ C 孵卵器にて 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¹⁾。

2) ヒトの日本脳炎中和抗体測定

56 $^{\circ}$ C、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計数法により測定した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、上清をイヌの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²⁾。

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) 300 μ L を加えて 37 $^{\circ}$ C、20 時間処理した。次に 56 $^{\circ}$ C、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、使用赤血球（0.5%ニワトリ赤血球等）を50 μ L 添加し4 $^{\circ}$ Cで45分後に判定した。不活化抗原は A/California/7/2009（H1N1pdm2009）、A/Victoria/210/2009(H3N2)、B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）、B/Wisconsin/1/2010（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 倍以上を陽性と判定した²⁾。なお、A/Victoria/210/2009(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分後に判定した。

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で 20 分静置し、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）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 $^{\circ}$ 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³⁾。

6) 麻しん PA 抗体測定

麻しん抗体価の測定には市販キット（富士レボオ：セロディア-麻疹）の粒子凝集反応法（Particle Agglutination Test ; 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。マイクロプレートを混和し、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. 豚の日本脳炎 HI 抗体および 2-ME 抗体の経時的推移

JEV に対する豚の血中 HI 抗体価および 2-ME 感受性抗体価の経時的推移は、2011 年 7 月 25 日に採取した 1 頭の豚から HI 抗体保有豚(10 倍以上)が検出されたが、抗体価は 10 倍と低く、その後の採取した豚もすべて 10 倍未満であり 2-ME 抗体の検出も確認されなかった（表 1）。近年、JEV 抗体保有豚は 2008 年 (79.2%) を境に、2009 年 (39.1%)、2010 年 (2.5%)、2011 年(0.8%)と減少傾向にある（表 2）。

2. ヒトの日本脳炎中和抗体測定結果

日本脳炎中和抗体保有率は 0-4 歳 16.9%、5-9 歳 96.2%、10-14 歳 81.8%、15-19 歳 91.7%であった。全体では 296 人中 158 人 (53.4%) が陽性であった（表 3）。

2011 年には 8 例の日本脳炎患者報告（全国）があった。当県では 2010 年に 1 例報告されている。ワクチン接種による抗体陽性者の増加が望まれるが、過去に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「接種勧奨差し控え」となった。その後、新しい日本脳炎ワクチンが承認され、2010 年 4 月には 3 歳児を対象に積極的なワクチンの「接種勧奨」が通知されたが、「接種勧奨差し控え」の数年間に接種機会を逃した対象者の存在が懸念される。例年、本調査における日本脳炎抗体陽性者は 50% 台であり、ワクチンによる対策が急務であると思われる。

表 1. 日本脳炎ウイルスに対する豚 HI 抗体および 2-ME 感受性抗体の経時的推移

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			
2011年 7月 4日	10	10						0	-	-
7月 11日	10	10						0	-	-
7月 19日	10	10						0	-	-
7月 25日	10	9	1					10	-	-
8月 1日	10	10						0	-	-
8月 8日	10	10						0	-	-
8月 16日	10	10						0	-	-
8月 22日	10	10						0	-	-
8月 29日	10	10						0	-	-
9月 5日	10	10						0	-	-
9月 12日	10	10						0	-	-
9月 26日	10	10						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 感受性抗体保有率

採血年	HI抗体 陽性数/検査数(%)	2-ME感受性抗体 陽性数/検査数(%)
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%)	—

3. 豚からのインフルエンザウイルス分離状況

2012年1月と3月に調査を行った豚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(表4)。調査した豚からはA/H5N1型等のインフルエンザウイルスが侵入した形跡は見られていない。今後、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のためには豚インフルエンザウイルス調査の重要性を理解し継続的な調査が公衆衛生上有用な情報となる。

表 3. 日本脳炎に対するヒトの中和抗体保有率

年齢区分	対象者数	陽性者数
0-4歳	71	12(16.9%)
5-9歳	26	25(96.2%)
10-14歳	22	18(81.8%)
15-19歳	24	22(91.7%)
20-29歳	66	54(81.8%)
30-39歳	48	22(45.8%)
40-49歳	23	4(17.4%)
50-59歳	12	0(0%)
60歳～	4	1(25%)
合計	296	158(53.4%)

4. ヒトインフルエンザ年齢別 HI 抗体分布状況

2011/2012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(H1N1pdm2009)0-4歳18.3%, 5-9歳42.3%, A/Victoria/210/2009(H3N2)は0-4歳22.5%, 5-9歳42.3%であった。B/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統)は0-4歳4.2%, 5-9歳53.8%。B/Wisconsin/1/2010(山形系統)は0-4歳0%, 5-9歳7.7%であった(表5)。B型(山形系統)における抗体保有率は、全ての年齢層で極めて低値であり、今後、B型(山形系統)の動向が注目される。また、本県での

表 4. 豚からのインフルエンザウイルス分離状況

採取日	採取場所	頭数	月齢	分離結果
2012年1月17日	四日市	50	6ヵ月	陰性
2012年3月5日	四日市	50	6ヵ月	陰性

2011/12シーズンはA/H3N2型が主流であり、2010/2011シーズンまで流行していたA/H1N1pdm2009は確認されていないが、今後、抗原変異等による再流行が懸念される。特にA/H1N1pdm2009の流行を経験していない乳幼児は、流行動態に最も影響を及ぼす年齢層であることからワクチン接種による予防対策は重要である。

5. 風しん年齢別 HI 抗体分布状況

対象者全体(男・女)における風しん年齢別 HI 抗体保有率は0-1歳68.4%, 2-3歳96.2%, 4-6歳95.5%, 7-9歳100%, 10-14歳100%, 15-19歳100%, 20-24歳93.5%, 25-29歳94.3%, 30-39歳79.2%, 40歳以上は92.3%であった。採血者全体の HI 抗体保有率は89.5%, 男性は82.2%, 女性では95.2%であった。特に男性の20-39歳は低値となる傾向がみられる。例年、女性は男性より抗体保有者は多い傾向はあるが、男女ともに、一部の抗体非保有者が存在した(表6)。特に妊娠初期の女性が罹患すると胎児に白内障や難聴等の障害を起こす先天性風しん症候群(CRS)が危惧されている。CRSを阻止するには男女問わず、風しん流行を抑制すること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⁵⁾。国内では2010年から2011年に各地で風しんの発生があり、成人男性の職場内集団発生事例⁶⁾が報告されている。さらに2012年春季には関西地方で成人男性を中心に発生がみられ、その後、関東地方へと拡大した。現在のところ、全国的には遺伝子型2Bが主流である。

本県においては、7月から8月に5件検出され、風しん流行の兆しがあり、流行状況および予防のために事前のワクチン接種勧奨等の情報提供(注意喚起)を行った。

6. 麻しん年齢別 PA 抗体分布状況

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	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/Wisconsin/1/2010 (山形系統)
0-4歳	71	13(18.3%)	16(22.5%)	3(4.2%)	0(0%)
5-9歳	26	11(42.3%)	11(42.3%)	14(53.8%)	2(7.7%)
10-14歳	22	13(59.1%)	16(72.7%)	2(9.1%)	0(0%)
15-19歳	24	16(66.7%)	22(91.7%)	10(41.7%)	5(20.8%)
20-29歳	66	35(53.0%)	52(78.8%)	16(24.2%)	9(13.6%)
30-39歳	48	16(33.3%)	31(64.6%)	20(41.7%)	0(0%)
40-49歳	23	12(52.2%)	12(52.2%)	8(34.8%)	3(13.0%)
50-59歳	12	4(33.3%)	6(50.0%)	2(16.7%)	1(8.3%)
60歳～	4	0(0%)	3(75.0%)	1(25.0%)	0(0%)
合計	296	120(40.5%)	169(57.1%)	76(25.7%)	20(6.8%)

表 6. 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	26(68.4%)	0-1歳	20	14(70.0%)	18	12(66.7%)
2-3歳	26	25(96.2%)	2-3歳	13	12(92.3%)	13	13(100%)
4-6歳	22	21(95.5%)	4-6歳	15	14(93.3%)	7	7(100%)
7-9歳	11	11(100%)	7-9歳	4	4(100%)	7	7(100%)
10-14歳	22	22(100%)	10-14歳	11	11(100%)	11	11(100%)
15-19歳	24	24(100%)	15-19歳	5	5(100%)	19	19(100%)
20-24歳	31	29(93.5%)	20-24歳	3	2(66.7%)	28	27(96.4%)
25-29歳	35	33(94.3%)	25-29歳	12	10(83.3%)	23	23(100%)
30-39歳	48	38(79.2%)	30-39歳	23	14(60.9%)	25	24(96.0%)
40歳～	39	36(92.3%)	40歳～	23	20(87.0%)	16	16(100%)
合計	296	265(89.5%)	合計	129	106(82.2%)	167	159(95.2%)

表 7. 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	27(71.1%)
2-3歳	26	25(96.2%)
4-6歳	22	21(95.5%)
7-9歳	11	11(100%)
10-14歳	22	22(100%)
15-19歳	24	24(100%)
20-24歳	31	31(100%)
25-29歳	35	33(94.3%)
30-39歳	48	48(100%)
40歳～	39	38(97.4%)
合計	296	280(94.6%)

年齢別の麻しんPA抗体保有率は0-1歳71.1%、2-3歳96.2%、4-6歳95.5%、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(表7)。国内では2006年から2008年に遺伝子型D5が主に流行していたが、2010年6月以降は検出報告がない⁷⁾。しかし、欧州や東南アジアなどで流行しているD4、D8、D9、G3が国内で検出され、海外から輸入されたと思われる事例が増加した。輸入例による国内流行を阻止するためにも、ワクチン接種による麻しん排除対策を継続的に実施することが

重要である。

謝 辞

流行予測調査事業の実施にあたって、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296人(男性129人、女性167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：日本脳炎，感染症流行予測調査検査術式27-39(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：インフルエンザ，感染症流行予測調査検査術式9-25(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，感染症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，感染症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：風疹・先天性風疹症候群，病原微生物検出情報，Vol,32 No,9(2011).

7)国立感染症研究所感染症情報センター：麻疹2011年，病原微生物検出情報，Vol,33 No,2(2012).