

ノート

## 2001年度の日本脳炎, 風疹, 豚インフルエンザ 流行予測調査の解析

中野陽子, 矢野拓弥, 杉山明

### Epidemiological Surveillance for Japanese Encephalitis, Rubella and Influenza in 2001

Yoko NAKANO, Takuya YANO  
and Akira SUGIYAMA

6月中旬から9月上旬まで三重県中部地方の豚から日本脳炎ウイルスのHI抗体は, ほとんど検出されなかった. この期間中2-ME感受性抗体保有豚も検出されなかった. 風疹のHI抗体保有率は男性で83%, 女性では77%であった. 風疹ワクチンを接種していた対象者のHI抗体保有率は接種者で93%, 未接種者では74%であった. 新型インフルエンザウイルスを想定した感染源調査については120検体すべてからHI抗体は検出されなかった.

キーワード: 流行予測調査, 日本脳炎, 風疹, 豚インフルエンザ, 2001年

#### はじめに

伝染病流行予測調査は, 「集団免疫の現状把握及び病原体の検索等の調査を行い, 各種免疫資料と併せ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たち総合的に疾病の流行を予測する」ことを目的として, 1962年に開始された<sup>13) 14)</sup>. 三重県では, 日本脳炎は1966年, 風疹は1973年, インフルエンザは1969年, 本年度の調査参加はなかったが, ポリオは1997年<sup>5)</sup>から本事業に参加してきた. この間における調査で, 冬季(12~1月)に日本脳炎ウイルスに対する2-Mercaptoethanol(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ること, インフルエンザウイルスの抗原変異が周期的に認められなくなったことなど興味深い現象が確認された. また, 1994年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/1/94)がワクチン株に採用される等の実績も上げてきた. 本年度は日本脳炎, 風疹, インフルエンザについて感染源または感受性調査による流行予測調査を行ったのでその概要を報告する.

#### 検査材料と方法

##### 1. 日本脳炎検査材料及びHI抗体検査

日本脳炎検査対象は三重県中部に位置する玉城町近郊で飼育された6ヵ月から8ヵ月齢の肉豚である. 豚の動脈血をと殺時に試験管に採血し, 血清分離後, 赤血球凝集

抑制(HI)抗体測定に供した. 採血は2001年6月19日から同年9月25日まで毎週または隔週1回, 各10頭の計12回120頭に対して行った. 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, U型マイクロトレイの第1管目に25 $\mu$ L入れ, 第2管目から25mL ずつの2倍階段希釈を行った. これらに日本脳炎ウイルス(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% 1日齢ヒヨコ血球を50mL添加し, 37 にて1時間放置後判定した. 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<sup>11) 13) 14)</sup>.

##### 2. 風疹感受性抗体検査材料及びHI抗体検査

風疹感受性抗体検査は, 2001年8月から同年10月の期間に県下の病院で採血された男性156名, 女性132名の合計288例のうちインフォームドコンセントの得られた188検体の血清を検査材料とし, 0から39歳までを5歳ごと, 40歳以上を1グループとして男女別各9グループを対象とした. 被検血清0.2mLにPBS(-)で4倍希釈後, 等量の25%カオリンを加え室温に20分静置した. これを2,000rpm, 20分間遠心し, 上清をインヒビター除去処理血清とした.

表1 日本脳炎ウイルスに対する豚HI抗体及び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		
		<10	10	20	40	80	160	320	340		640	陽性数/検査数	(%)
6/19	10	5	5								50		
6/26	10	10									0		
7/3	10	8	1		1						20	0/1	0
7/10	10	10									0		
7/17	10	10									0		
7/24	10	7	3								30		
7/31	10	10									0		
8/7	10	9	1								10		
8/21	10	9		1							10		
8/28	10	9				1					10	0/1	0
9/11	10	9	1								10		
9/25	10	2	1					1		6	80	0/7	0

\* HI抗体価は10倍以上を陽性とした。

これに50%ヒヨコ血球50μLを加え氷水中に60分間静置した。その後2,000rpm, 20分間遠心した上清を検査用とした。このときの血清は8倍に希釈されている。これを25mLずつの2倍階段希釈を行い, 8HA単位の風疹抗原25mLを加え, 室温で60分間静置後0.25%ヒヨコ血球50μLを加え室温で60分後に価8倍以上を陽性と判定した<sup>9) 13) 14)</sup>。

### 3. 豚インフルエンザHI抗体検査

材料には, インフルエンザ流行期前の2001年6月から同年9月に日本脳炎感染源調査に供した血清をHI抗体測定に供した。25mLずつの2倍階段希釈を行い, これらに本年度国立感染症研究所から分与された3株の不活化抗原 A/HK/9-1-1(H5N1), A/HK/1073/99(H9N2), A/turkey/Wis/66(H9N2)の各16HA単位を25μLをずつ加えた。室温にて60分間放置後, 0.5%ヒヨコ赤血球を50mL添加し, 60分間放置後判定した。HI抗体価は, HIを起こした最高希釈倍数とした<sup>10) 13) 14)</sup>。

## 検査結果

### 1. 日本脳炎HI抗体価の経時的推移

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, 6月19日に採血した5頭(50%)に認められたが, 抗体価は低かった。以降9月11日まで多い日で3頭(30%)以下の低い陽性率で推移した。40倍以上のHI抗体価を保有していた豚は, 7月3日採血分に1例, 8月28日採血分に1例, 9月25日採血分に7例認められた。これらのうち9月25日採血分は6例が640倍以上の高い抗体を保有していた。しかし, いずれからも2-ME感受性抗体は認められな

かった。

### 2. 風疹年齢別HI抗体分布状況

表2. 表3. に男性と女性の風疹の年齢区分別HI抗体状況を示した。本年度の調査によると女性の風疹の年齢別HI抗体保有率は0-4歳43%, 5-9歳62%, 10-14歳91%であり, 男性よりも陽性率は低かった。15-19歳, 20-24歳, 25-29歳の各年齢層では抗体価測定のインフォームドコンセントが得られなかったため検査は行えなかった。30歳以上の年齢区分では女性の方が陽性率が高く, 女性の低年齢層以外では全体的にほぼ高い抗体保有率であった。なお男性女性のそれぞれの全体のHI抗体保有率は男性で83%, 女性で77%であり, 男女間で若干差があった。

表2 風疹・男性HI抗体保有者分布表

年齢区分	検査数	HI抗体価								陽性率 (%)
		<8	8	16	32	64	128	256	512	
0-4	14	3	1	2	4	2	1	1	0	78.6
5-9	17	4	0	2	4	3	3	1	0	76.5
10-14	13	0	2	3	4	0	3	1	0	100
15-19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20-24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25-29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30-34	7	2	0	0	0	2	2	1	0	71.4
35-39	38	7	1	1	1	7	11	10	0	81.6
40-	22	3	0	6	9	3	1	0	0	86.4
合計	111	19	4	14	22	17	21	14	0	82.9

### 3. 豚インフルエンザ抗体保有状況

国立感染症研究所から分与された3株の不活化抗原 A/HK/9-1-1(H5N1), A/HK/1073/99(H9N2),

表3 風疹・女性HI抗体保有者分布表

年齢 区分	検査数	HI抗体価								陽性率 (%)
		<8	8	16	32	64	128	256	512	
0-4	14	8	0	1	1	3	0	1	0	42.9
5-9	13	5	0	1	2	3	2	0	0	61.5
10-14	11	1	0	2	3	5	0	0	0	90.9
15-19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20-24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25-29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30-34	3	0	0	0	0	2	1	0	0	100
35-39	14	1	0	1	0	7	3	2	0	92.9
40-	22	3	2	2	7	3	2	1	2	86.4
合計	77	18	2	7	13	23	8	4	2	76.6

A/turkey/Wis/66(H9N2)の各抗原に対するHI抗体保有豚は確認できなかった。

### 考 察

夏季にJEVウイルス血症を起こしている豚をコガタアカイエカが吸血すると蚊の体内に取り込まれ、比較的長い間ウイルスがほぼ一定に保たれる。したがって、非感染豚がJEV保有蚊に刺されるとウイルスは豚の体内で増殖する。このように豚がJEV増幅動物<sup>3) 15)</sup>であるため、豚におけるJEV抗体の出現を知ることにより、ウイルスの動きを推測している。本年度、県内ではJEV HI抗体保有豚および2-ME感受性抗体保有豚はほとんど検出されなかったが、これは本年の夏の気候が渇水が危惧されるような高温少雨であったので、蚊の発生が抑制され結果的に日本脳炎感染蚊も抑制されたためと考えられる。2001年、本県において日本脳炎の患者は真性患者、疑似患者ともに認められていないが、全国では5名の発生が報告された。全国的に行われているこの調査方法による豚の日本脳炎ウイルスに対する抗体の保有状況を見る限り、日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカは北海道を除く全国に存在し、今後日本脳炎だけでなくコガタアカイエカが媒介する可能性が指摘されている輸入感染症であるデング熱、西ナイルウイルス等による発熱、脳炎による患者の発生が起こる可能性も指摘されている。日本脳炎は現在でも致命率が高く、治療は対症療法しかないため発症すると一命をとりとめても強い後遺症を残す疾患である。本症はアジア地域では年間約3万人の患者発生の報告がある。このため日本脳炎の患者発生数にかかわらず流行を予測する事業は重要で今後とも継続して実施していかなければならないと考える。<sup>7)</sup>

風疹はワクチン接種により獲得された抗体は少なくとも10年以上その抗体が保持されていることが判明している。従って風疹の流行を阻止し、根絶させるためには予防接種の徹底が重要な鍵である<sup>8) 16)</sup>。風疹に対する免疫のない女性が妊娠中に感染すると、胎児もウイルスに

感染し先天性風疹症候群(CRS)の子供が生まれる確率が高くなり<sup>1) 2)</sup>、また男性が感染した場合には造精機能に影響を及ぼすことが判明したため接種対象者が1994年の予防接種法改正および2001年11月に予防接種法施行令及び結核予防法施行令の一部を改正する政令の発令以来、男女の小児(生後12ヵ月以上から90ヵ月未満)及び2003年9月30日までの経過措置として男女とも1979年4月2日から1987年10月1日までの間に生まれた者であって14歳以上の未接種者となり、予防対策が進められている。ただ、今回の調査においてこれら未接種者が多い年代の15歳から29歳までの各年齢では抗体検査測定が行えなかったため、この年代の風疹HI抗体価が実際に他の年齢の集団よりも低いかどうかは本年度の調査では実証できなかったが、全国的にこの年代のワクチン接種率およびHI抗体陽性率が他の年代と比べ、低いことが推測される。従って、次年度はこの年齢層の調査は不可欠と考える。

インフルエンザウイルスはわずかに抗原性を変異させながら毎年のように流行を繰り返している。さらに数年から数十年に一度大変異を起こすとされ、近々に不連続抗原変異が起こり大流行が起きるのではないかと予想されている。<sup>4)</sup>1997年5月にトリ型インフルエンザA(H5N1)型が香港でヒトから分離され、その後同年11~12月の間にさらに17名の患者(うち6名が死亡)からH5が検出されたが、幸いにもヒトからヒトへの感染はなく、その後H5のヒトでの感染は見出されていない<sup>6)</sup>。それを受けて本年度も豚における新型H5およびH9ウイルスに対する抗体保有状況を調査したが今のところは豚の間ではこれらのウイルス株の侵入はなかったと推測される。

### 文 献

- 1) Ben-Zwi, A., Gili, U., Russell, A. and Schlesiger, M.: Age-associated changes in subpopulation of human lymphocytes, Clin. Immunol. Immunopath., 1, 139-149 (1977).
- 2) Cooper, L. Z., Ziring, P. R., Weiss, H. J., Matters, B. A. et al.: Transient arthritis after rubella vaccination, Am. J. Dis. Child., 118, 218-225 (1969).
- 3) 藤崎優次郎: 豚の日本脳炎, 家畜衛試研究報告, 62, 16-24 (1971).
- 4) 加地正郎, 根路銘国昭, 葛西健, : 新型インフルエンザパンデミック, 東京, 南山堂 (1998)
- 5) 川田一伸, 矢野拓弥, 福田美和, 杉山明, 他: 1999年度のポリオ, 日本脳炎, 風疹, インフルエンザ流行予測調査の解析, 三重保環研年報, No. 45, 74-79 (2000).
- 6) 国立感染症研究所, 厚生省保健医療局結核感染症課編: 病原微生物検出情報, 19, 58 (1998).
- 7) 国立感染症研究所, 厚生省保健医療局結核感染症課編: 病原微生物検出情報, 20, 185-189 (1999).
- 8) 国立予防衛生研究所学会編: ワクチンハンドブック,

- 170-179, 東京, 丸善(1994).
- 9)厚生省保健医療局エイズ結核感染症課, 国立予防衛生研究所流行予測事業委員会:風疹, 伝染病流行予測調査検査術式(一部改定), 16-19(1995).
- 10)厚生省保健局結核難病感染症課, 感染症対策室:インフルエンザ, 伝染病流行予測調査検査術式, 41-56(1986).
- 11)厚生省保健医療局結核難病感染症課, 感染症対策室:日本脳炎, 伝染病流行予測調査検査術式, 57-71(1986).
- 12)厚生省監修:微生物検査必携, ウイルス, リケッチア, クラミジア検査, 東京, 日本公衆衛生協会(1987).
- 13)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, (1999)
- 14)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, (2000)
- 15)今野二郎, 遠藤好喜, 我妻仁, 宇留野勝水, 他:日本脳炎の疫学 昭和39年宮城県における調査成績, 医学のあゆみ, 53, 113-118(1965).
- 16)細菌製剤協会:最近予防接種の知識予防接種の意義とワクチンの使い方(1990).