

資料

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, 麻しん)の概要

矢野拓弥, 楠原 一, 赤地重宏, 前田千恵,
松野由香里, 山寺基子, 小林章人, 小林隆司, 西中隆道

Epidemiological Surveillance for Japanese Encephalitis, Influenza, Rubella and Measles in 2013F.Y.

Takuya YANO, Hajime KUSUHARA, Shigehiro AKACHI,
Chie MAEDA, Yukari MATSUNO, Motoko YAMADERA,
Akihito KOBAYASHI, 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)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. 2013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)抗体保有の有無を調査した. HI抗体保有豚(10倍以上)が11頭で確認された. そのうち2-メルカプトエタノール(2-ME)感受性抗体陽性は7頭(63.6%)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290名中192名(66.2%)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18.1%, 5-9歳65.5%, A/Texas/50/2012(H3N2)は0-4歳15.3%, 5-9歳62.1%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1.4%, 5-9歳10.3%であった. B/Massachusetts/02/2012(山形系統)では0-4歳0%, 5-9歳3.4%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84.8%(男性:81.9%, 女性:89.4%)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94.8%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

本事業は「伝染病流行予測調査事業」として1962年から開始された. 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、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、2013 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。2013年6月24日から9月10日の間に採血した100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、2013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177名、女性113名の合計290名の血清を用いて抗体価測定を行った。なお、日本脳炎、インフルエンザ、風しんの抗体価測定には HI 試験を用い、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

豚のインフルエンザ感染源調査には、三重県の北部に位置する四日市市で飼育された6ヵ月齢の豚を対象とした。2014年1月8日、30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 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²⁾。

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)}。

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) 細胞に接種する。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) を測定する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) 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) 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/Texas/50/2012 (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 倍以上を陽性と判定した⁴⁾。なお, A/Texas/50/2012 (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 分後に判定した。

5) 風しん HI 抗体測定

風しん HI 試験には被検血清 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, 上清を非特異的凝集抑制物質を除去処理した血清とした。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

麻しん抗体価の測定には市販キット (富士レビオ: 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。マイクロプレートを混和し, 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 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を表 1 に示した。2013 年 8 月 5 日から 9 月 10 日の間に HI 抗体保有豚 (10 倍以上) が 11 頭確認された。そのうち 2-ME 感受性抗体陽性は 7 頭 (63.6%) であった。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%), 2012 年 (0%) と減少していたが 2013 年 (11%) は増加した (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 290 名中 192 名 (66.2%) が陽性であった (表 3)。2012 年 (前年) と比較し抗体保有率 (53.4%→66.2%) は上昇していた。年齢別では 0-4 歳 33.3%, 5-9 歳 100%, 10-14 歳 94.4%, 15-19 歳 96.8%, 20-29 歳 96%, 30-39 歳 57.1%, 40-49 歳 57.5%, 50-59 歳 59.3%, 60 歳以上は 83.3% であった (表 3)。例年, 30 歳から 50 歳群の抗体保有率は低いが,

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 (2013年)	頭数	HI抗体価							計	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	320				
6月24日	10	10								0	-	-
7月 8日	10	10								0	-	-
7月16日	10	10								0	-	-
7月22日	20	20								0	-	-
7月29日	10	10								0	-	-
8月 5日	10	9						1	1	10	1/1	100
8月12日	10	9					1		1	10	1/1	100
8月26日	10	7						2	1	30	3/3	100
9月10日	10	4					1	4	1	60	2/6	33
計	100	89					2	6	3	11	7/11	63.6

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	2-ME感受性抗体
	陽性数 / 検査数 (%)	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%)	—
2012年	0/100 (0%)	—
2013年	11/100 (11%)	7/11 (63.6%)

2013 年は過去と比較し高く推移していた。なお、近年の日本脳炎患者数（全国）は 2011 年（9 名）、2012 年（2 名）、2013 年（7 名）の報告があった。本県では 2010 年以來の患者が、2013 年 9 月に 1 名確認された。

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	72	24 (33.3%)
5-9歳	29	29 (100%)
10-14歳	18	17 (94.4%)
15-19歳	31	30 (96.8%)
20-29歳	25	24 (96%)
30-39歳	42	24 (57.1%)
40-49歳	40	23 (57.5%)
50-59歳	27	16 (59.3%)
60歳～	6	5 (83.3%)
合計	290	192 (66.2%)

3. 豚からのインフルエンザウイルス分離状況

2014 年 1 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ておらず、調

査した豚からは AH5 型、H7 型、H9 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（表 4）。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には豚インフルエンザウイルスの継続的なモニタリングが必要である。

4. ヒトインフルエンザ年齢別 HI 抗体保有状況

2013/2014 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）の 0-4 歳 18.1%、5-9 歳 65.5%、A/Texas/50/2012(H3N2)は 0-4 歳 15.3%、5-9 歳 62.1%であった。B 型の B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）は 0-4 歳 1.4%、5-9 歳 10.3%で、B/Massachusetts/02/2012（山形系統）は 0-4 歳 0%、5-9 歳 3.4%であった。（表 5）。本県での 2013/14 シーズンのインフルエンザウイルスの検出状況は、ワクチン株類似の A/H1N1pdm2009 が多数検出され、2011 年以來の流行となった。その他、AH3 型および B 型は主として山形系統株が検出されたが、いずれもワクチン類似株であった。特にインフルエンザの流行動態に最も影響を及ぼす年齢層である乳幼児および高齢者にはワクチン接種による重症化予防の対策が重要である。

表 4. 豚からのインフルエンザウイルス検出状況

採取日	採取場所	頭数	月齢	検出結果
2014年1月8日	四日市市	50	6ヵ月	陰性
2014年1月29日	四日市市	50	6ヵ月	陰性

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 (A/H1N1pdm2009)	A/Texas/50/2012 (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	72	13 (18.1%)	11 (15.3%)	1 (1.4%)	0 (0%)
5-9歳	29	19 (65.5%)	18 (62.1%)	3 (10.3%)	1 (3.4%)
10-14歳	18	12 (66.7%)	17 (94.4%)	6 (33.3%)	7 (38.9%)
15-19歳	31	25 (80.6%)	23 (74.2%)	12 (38.7%)	24 (77.4%)
20-29歳	25	11 (44%)	15 (60%)	7 (28%)	14 (56%)
30-39歳	42	15 (35.7%)	23 (54.8%)	14 (33.3%)	4 (9.5%)
40-49歳	40	13 (32.5%)	27 (67.5%)	10 (25%)	10 (25%)
50-59歳	27	7 (25.9%)	13 (48.1%)	5 (18.5%)	5 (18.5%)
60歳～	6	2 (33.3%)	3 (50%)	0 (0%)	0 (0%)
合計	290	117 (40.3%)	150 (51.7%)	58 (20%)	65 (22.4%)

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歳	10	0 (0%)	0歳	4	0 (0%)	6	0 (0%)
1-4歳	62	56 (90.3%)	1-4歳	37	34 (91.9%)	25	22 (88.0%)
5-9歳	29	29 (100%)	5-9歳	14	14 (100%)	15	15 (100%)
10-19歳	49	47 (95.9%)	10-19歳	13	11 (84.6%)	36	36 (100%)
20-29歳	25	25 (100%)	20-29歳	16	16 (100%)	9	9 (100%)
30-39歳	42	33 (78.6%)	30-39歳	34	25 (73.5%)	8	8 (100%)
40-49歳	40	32 (80%)	40-49歳	29	23 (79.3%)	11	9 (81.8%)
50歳～	33	24 (72.7%)	50歳～	30	22 (73.3%)	3	2 (66.7%)
合計	290	246 (84.8%)	合計	177	145 (81.9%)	113	101 (89.4%)

5. 風しん年齢別 HI 抗体保有状況

年齢群別の風しん HI 抗体保有率は 0 歳 0%, 1-4 歳 90.3%, 5-9 歳 100%, 10-19 歳 95.9%, 20-29 歳 100%, 30-39 歳 78.6%, 40-49 歳 80%, 50 歳以上は 72.7%であった。採血者全体の HI 抗体保有率は 84.8%, 男性は 81.9%, 女性では 89.4%であった (表 6)。例年, 男性 (20-29 歳) の抗体保有率が低値となる傾向がみられていたが, 本年の調査では 100%の保有率であった。しかしながら, 例年, 男女ともに一部の抗体非保有者が存在するためワクチン接種による対策が今後の課題である。

2012 年には成人男性を中心に関西地方から関東地方へと流行拡大し, 全国各地で風しん患者が確認された⁷⁾。そこで本県では 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⁸⁾。県内で届出された風しん患者数は成人を中心に 2012 年 58 名, 2013 年 99 名, 2014 年 8 名⁹⁾である (2014 年 6 月現在)。国内検出事例における遺伝子型別では 2B が最も多い¹⁰⁾。今回のように風しんの流行が起こると, 妊娠初期の女性への感染リスクが高まる。妊婦が風しんに罹患することによる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¹¹⁾。これまでのところ 2013 年以降に全国で発生した CRS 患者数¹²⁾は 2013 年 32 名, 2014 年 8 名で, そのうち三重県内での発生は 2013 年 2 名 (2014 年 6 月現在) 確認されており, 注意が必要である。

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 20-24 歳群は 100%であった。他の年齢群は 0-1 歳 69.8%, 25-29 歳 94.4%, 30-39 歳 97.6%, 40 歳以上では 100%であった (表 7)。国内検出事例では 2012 年には遺伝子型 D8 (45 例) の検出¹³⁾が目立ったが 2013 年から 2014 年には帰国者 (フィリピン等) からの麻しん検出事例から B3 型が報告¹⁴⁾されている。ワクチン接種により国内発生患者数は減少に転じているが, 外国からの輸入例が増加しており, 感染拡大を阻止するためには継続的なワクチン接種による対策を実施することが重要である。

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	43	30 (69.8%)
2-3歳	23	23 (100%)
4-6歳	21	21 (100%)
7-9歳	14	14 (100%)
10-14歳	18	18 (100%)
15-19歳	31	31 (100%)
20-24歳	7	7 (100%)
25-29歳	18	17 (94.4%)
30-39歳	42	41 (97.6%)
40歳～	73	73 (100%)
合計	290	275 (94.8%)

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 290 名 (男性 177 名, 女性 113 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:風疹, 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) 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).
 - 8) 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).
 - 9) 三重県感染症情報センター:麻疹・風疹患者発生情報:http://www.kenkou.pref.mie.jp/mr_srv/mr_srv_results.htm
 - 10) 国立感染症研究所:年別ウイルス検出状況、由来ヒト:インフルエンザ&その他の呼吸器ウイルス、2010~2014 年.
 - 11) 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).
 - 12) 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>
 - 13) 麻疹ウイルス分離・検出状況 2014 年
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-measles.html>
 - 14) 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).