

資 料

2015 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, 前田千恵, 楠原 一, 小林章人, 松野由香里, 赤地重宏

Epidemiological Surveillance for Japanese Encephalitis, Influenza, Rubella and Measles in 2015F.Y.

Takuya YANO, Chie MAEDA, Hajime KUSUHARA, Akihito KOBAYASHI,
Yukari MATSUNO and Shigehiro AKACHI

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. 2015 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は三重県志摩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. 調査期間中に HI 抗体保有豚 (10 倍以上) は 81.3% (80 頭中 65 頭) 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 57.1% (343 名中 196 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 16.4%, 5-9 歳 50%, A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) は 0-4 歳 8.2%, 5-9 歳 93.8% であった. B 型インフルエンザウイルスの B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統) は 0-4 歳 3.3%, 5-9 歳 12.5% であった. B/Phuket/3073/2013 (山形系統) では 0-4 歳 4.9%, 5-9 歳 12.5% であった.
- (5) 風疹感受性調査における全年齢層での HI 抗体保有率は 81.3% (男性 : 74.7%, 女性 : 87%) であった.
- (6) 麻疹感受性調査における全年齢層での PA (Particle Agglutination) 抗体保有率は 93% 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, 風疹, 麻疹

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必要性は高い。以下に、2015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) 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、三重県志摩市磯部町近郊の豚舎で飼育された約6ヵ月齢の肉豚である。

2015年7月6日から9月7日の間に採血した80頭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）。

なお、従来、対象としていた三重県度会郡玉城町内の養豚場が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、今年度より志摩市磯部町の開放型豚舎で飼育された豚を対象とし調査を継続することとした。

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、2015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158名、女性185名の合計343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、風疹は HI 試験、麻疹は粒子凝集反応（Particle Agglutination：PA）法を用いた。

3) 豚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約6ヵ月齢の豚を対象とした。2015年11月12日、

同年12月8日、2016年2月3日に採取した計100頭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 分間反応させた後、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⁴⁾によるインフルエンザウイルス M 遺伝子の検出を実施し、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⁵⁾。

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°C, 20 時間処理した. 次に非動化 (56°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 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°C で 45 分間静置後に判定した. 不活化 HA 抗原は A/California/ 7/2009 (A/H1N1pdm2009), A/Switzerland/9715293/2013 (A/H3N2), B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統), B/Phuket/3073/2013 (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⁵⁾. なお, A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) の HI 試験には, 0.75%モルモット赤血球を使用し 4°C で 60 分間静置後に判定した.

5) 風疹 HI 抗体測定

風疹 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 分間静置した. 2,000rpm, 20 分間遠心分離した. これに 50%固定ニワトリ血球 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, 風疹 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%固定ニワトリ血球 50 μ L を加え 4°C で 60 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⁶⁾.

6) 麻疹 PA 抗体測定

麻疹抗体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 分間静置後に判定した. 16 倍以上を陽性とした⁷⁾.

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. 2015 年 7 月 6 日から 9 月 7 日の間に採血した豚 (80 頭) を調査した結果, HI 抗体保有豚 (10 倍以上) は 65 頭 (81.3%) 確認された. 8 月 14 日以降は全ての豚から HI 抗体が確認された.

最近の感染か否かを把握するための指標である 2-ME 感受性抗体保有豚は 15 頭 (23.4%) で, そのうち 14 頭は 8 月 24 日までに採取された豚であった. このことより対象とした豚舎では 8 月上旬までに大半の豚が JEV 保有蚊の刺咬により感染が成立していたことが推察された.

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は 0-4 歳 27.9%, 5-9 歳 93.8%, 10-14 歳 90.5%, 15-19 歳 95%, 20-29 歳 88.9%, 30-39 歳 55.9%, 40-49 歳 17.5%, 50-59 歳 17.9%, 60 歳以上は 40%であった (表 2). 採血者全体の抗体保有率は 57.1% (343 名中 196 名) であり, 前年度の抗体保有率⁸⁾ (58.5%) とほぼ同等であった. また 30 歳以上の抗体保有率は, 5~29 歳までの年齢と比

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 (2015年)	調査数	HI抗体価							HI抗体 陽性数	2-ME感受性抗体		
		< 10	10	20	40	80	160	320		\geq 640	陽性数/検査数	陽性率
7月 6日	10	9			1				1	0/1	0	
7月 24日	10	4	1			2	2	1	6	1/5	20	
8月 7日	10	2			1	2	3	1	8	3/8	37.5	
8月 14日	10	0			1	6	2	1	10	2/10	20	
8月 17日	10	0				5	4		10	0/10	0	
8月 24日	10	0				2	4	4	10	8/10	80	
8月 31日	10	0				2	4	2	10	0/10	0	
9月 7日	10	0				1	5	4	10	1/10	10	
計	80	15	1		3	20	24	13	4	65	15/64	23.4

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

年齢区分	調査数	陽性数
0-4歳	61	17 (27.9%)
5-9歳	16	15 (93.8%)
10-14歳	21	19(90.5%)
15-19歳	40	38(95%)
20-29歳	63	56 (88.9%)
30-39歳	59	33 (55.9%)
40-49歳	40	7 (17.5%)
50-59歳	28	5(17.9%)
60歳～	15	6(40%)
合計	343	196(57.1%)

()内は抗体保有率.

較し著しく低率であった.

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，2015年2名の報告で，本県では2013年9月に1名の患者が確認されている⁹⁾.

3. 豚からのインフルエンザウイルス検出状況

2015年11月～2016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3）. 対象とした豚からはインフルエンザウイルスは検出されなかったが，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継続的なモニタリングが有用な情報となる.

表 3. 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
2015年11月12日	津市	40	6ヵ月	検出せず
2015年12月8日	津市	40	6ヵ月	検出せず
2016年2月3日	津市	20	6ヵ月	検出せず

4. ヒトインフルエンザ年齢別 HI 抗体保有状況

2015/2016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16.4%，5-9歳50%，A/Switzerland/9715293/2013（A/H3N2亜型）は0-4歳8.2%，5-9歳93.8%であった. B型のB/Texas/2/2013（ビクトリア系統）は0-4歳3.3%，5-9歳12.5%で，B/Phuket/3073/2013（山形系統）は0-4歳4.9%，5-9歳12.5%であった（表4）.

本県での2015/16シーズンインフルエンザウイルスの抗原性は，A型インフルエンザウイルスのワクチン株と類似の抗原性を示すAH1pdm09インフルエンザウイルスが多数検出され，流行の主流であった. 一方でAH3亜型インフルエンザウイルスは抗原性の異なる株が検出された. B型インフルエンザウイルスはワクチン類似の山形系統株およびビクトリア系統株が検出された.

5. 風疹年齢別 HI 抗体保有状況

年齢群別（男性・女性）の風疹 HI 抗体保有率は0歳15.4%，1-4歳80%，5-9歳93.8%，10-19歳93.4%，20-29歳87.3%，30-39歳89.8%，40-49歳75%，50歳以上は86%であった. 採血者全体のHI抗体保有率は81.3%で，男女別の抗体保有率は男性74.7%，女性87%であった（表5）.

風疹は妊娠女性（胎児）が風疹ウイルスに感染することで引き起こされる先天性風疹症候群（Congenital rubella syndrome ; CRS）の発症が問題となっている.

2013年以降に全国で発生したCRS患者数は計41名（三重県：2013年2名）で，2014年第40週の千葉県での症例を最後に国内では報告されていない¹⁰⁾. CRS患者の発生を阻止するためには風疹流行を抑制し，妊娠出産年齢の女性が風疹ウイルスに対して十分な免疫を有することが有効¹¹⁾とされている. 我々が2009～2013年に実施した抗体保有調査では，30～40歳台の成人男性の抗体保有率は成人女性と比較し低率で¹²⁾，今回の調査においても同様に女性の20～49歳群は85%以上で風疹抗体を保有していたが，男性の抗体保有率は女性よりも10～20%程度低く，男性の風疹発症者から抗体非保有女性への感染によるCRS発生リスクが懸念された.

2015年の国内における風疹ウイルスの検出状況は21件で，2B型10件，1E型4件，型不明7件¹³⁾で，減少傾向にあるが2015年は渡航歴のある患者を中心に検出された. 本県においてもベトナムからの帰国者から風疹ウイルスが検出¹⁴⁾されており，今後は海外からの帰国者による

表 4. 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/Switzerland /9715293/2013 (A/H3N2亜型)	B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統)	B/Phuket/3073/2013 (山形系統)
0-4歳	61	10(16.4%)	5(8.2%)	2(3.3%)	3(4.9%)
5-9歳	16	8(50%)	15(93.8%)	2(12.5%)	2(12.5%)
10-14歳	21	16(76.2%)	18(85.7%)	5(23.8%)	3(14.3%)
15-19歳	40	28(70%)	30(75%)	2(5%)	13(32.5%)
20-29歳	63	46(73%)	36(57.1%)	2(3.2%)	28(44.4%)
30-39歳	59	25(42.4%)	38(64.4%)	10(16.9%)	12(20.3%)
40-49歳	40	15(37.5%)	23(57.5%)	8(20%)	8(20%)
50-59歳	28	15(53.6%)	16(57.1%)	2(7.1%)	3(10.7%)
60歳～	15	6(40%)	10(66.7%)	1(6.7%)	2(13.3%)
合計	343	169(49.3%)	191(55.7%)	34(9.9%)	74(21.6%)

()内は抗体保有率。

感染拡大予防対策のためにワクチン接種対策により成人男性の抗体非保有者を減らすことが必要であると思われる。

6. 麻疹年齢別 PA 抗体保有状況

年齢別の麻疹 PA 抗体保有率は4-6 歳から10-14 歳群, 20-24 歳群, 30-39 歳群および40 歳群以上は100%と高く推移していた。他の年齢群は0-1 歳群50%, 2-3 歳群90.9%, 15-19 歳群97.5%, 25-29 歳群97.5%で全体の抗体保有率は93%であった(表6)。

我が国は2015年3月に世界保健機関(WHO)より麻疹ウイルス土着株が「排除状態」であることが認定¹⁵⁾されたが, 2013年後半～2014年

にかけて, アジア諸国からの帰国者により輸入例(遺伝子型D3型等)による麻疹患者が急増した^{15,16)}。2015年に国内で検出された麻疹ウイルスの遺伝子型はD8型11件, H1型5件, D9型およびB3型は各々4件の計24件で, これらのうち15件は海外渡航歴を有する患者で, 主な渡航先は, インドネシア, マレーシア, カタール, インド等である¹⁷⁾。今後, 外国からの輸入例による国内での拡散を阻止するため, 積極的疫学調査を実施し, ワクチン接種を徹底することで, 接種率の向上および抗体保有率の保持等に向けた適切な感染拡大予防策を講じることが必要であると考えられる。

表 5. 麻疹年齢別 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	15	2(13.3%)	11	2(18.2%)	26	4(15.4%)
1-4歳	22	18(81.8%)	13	10(76.9%)	35	28(80%)
5-9歳	8	7(87.5%)	8	8(100%)	16	15(93.8%)
10-19歳	16	14(87.5%)	45	43(95.6%)	61	57(93.4%)
20-29歳	35	29(82.9%)	28	26(92.9%)	63	55(87.3%)
30-39歳	27	22(81.5%)	32	31(96.9%)	59	53(89.8%)
40-49歳	20	13(65%)	20	17(85%)	40	30(75%)
50歳～	15	13(86.7%)	28	24(85.7%)	43	37(86%)
合計	158	118(74.7%)	185	161(87%)	343	279(81.3%)

()内は抗体保有率。

表 6 麻疹年齢別 DA 抗体保有率

年齢区分	調査数	陽性数
0-1歳	42	21 (50%)
2-3歳	11	10 (90.9%)
4-6歳	15	15 (100%)
7-9歳	9	9 (100%)
10-14歳	21	21 (100%)
15-19歳	40	39 (97.5%)
20-24歳	23	23 (100%)
25-29歳	40	39 (97.5%)
30-39歳	59	59 (100%)
40歳～	83	83 (100%)
合計	343	319 (93%)

()内は抗体保有率。

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 343 名（男性 158 名，女性 185 名）の方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 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)。
- 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)。
- 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)。
- 国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル(第 3 版)
(<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/Influenza2014.pdf>)
- 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)。

- 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)。
- 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 47-52 (2002)。
- 矢野拓弥，楠原 一，赤地重宏，小林章人 他：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，麻疹）の概要，三重保環研年報 第 17 号 94-99 (2015)。
- 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>
- 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/rubella-top/700-idsc/5072-rubella-crs-20141008.html>
- 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)。
- 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)。
- 国立感染症研究所：〈特集〉麻疹・風疹/先天性風疹症候群 2016 年 3 月現在：病原微生物検出情報，**37**，59-61 (2016)。
- 赤地重宏，楠原 一，矢野拓弥，西中隆道：ベトナム帰国者より風疹ウイルスが検出された症例—三重県，病原微生物検出情報 **37**，31 (2016)。
- 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)。
- 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)。
- 国立感染症研究所：〈特集〉麻疹・風疹/先天性風疹症候群 2016 年 3 月現在：病原微生物検出情報，**37**，59-61 (2016)。