三重保環研年報　第 24 号（通巻第 67 号），53－57 頁（2022）

資　料

2021 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，北浦伸浩，中井康博

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 [1]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ので，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，2021 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，三重県志摩市磯部町近郊の豚舎で飼育された約6ヵ月齢のブタである．2021 年 7 月 19 日から同年 10 月 1 日の間に採血した 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，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，2021 年 4～9 月に県内の病院等で採取された男性 135 名，女性 159 名の合計 294 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項に基づき，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，麻疹は粒子凝集反応（Particle Agglutination：PA）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 %ガチョウ赤血球 50 μL を加え 4 ℃で 15 分間静置した．その後 3,000 rpm，5 分間遠心分離した上清を測定用試料とした．試料

を96ウエルマイクロプレートの第1穴目に25 μL入れ，第2穴目から25 μL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）を4 HA単位に調製し25 μLずつ加えた．4℃にて一晩感作後，0.33 %ガチョウ赤血球を50 μL添加し，37 ℃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)].

2.2 ヒトの日本脳炎中和抗体測定

非動化（56 ℃，30分間）した被検血清8 μLを細胞培養液72 μL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 / 25μL）を処理血清40 μLに対して等量加えた．次に37 ℃で60分間反応させた後，25 μLをVero（Osaka株）細胞に接種し，37 ℃，5 %CO_2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，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 μLにRDE（Receptor destroying enzyme）Ⅱ「生研」（デンカ生研）300 μLを加えて37 ℃，20時間処理した．次に非動化（56 ℃，60分間）後，滅菌生理食塩水を600 μL添加し，100 %ニワトリ赤血球100 μLを加え，室温で60分間静置した．その後2,000 rpm，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 μLずつの2倍階段希釈を行い，不活化HA抗原（4HA単位）を25 μL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 μL添加し4 ℃で45分間静置後に判定した．

なお，本試験に使用した不活化HA抗原はA/Victoria/1/2020(A/H1N1pdm2009)，A/Tasmania/503/2020(A/H3N2)，B/Victoria/705/2018（ビクトリア系統）およびB/Phuket/3073/2013（山形系統）である．

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，A/Tasmania/503/2020(A/H3N2)のHI試験には，0.75 %モルモット赤血球を使用し4 ℃で60分間静置後に判定した．

2.4 風疹HI抗体測定

風疹HI試験は被検血清200 μLにPBS (−) 600 μL，25 %カオリン800 μLを加え混合後，室温で20分間静置した．2,000 rpm，20分間遠心分離した．これに50 %固定ニワトリ赤血球50 μLを加え，氷水中に60分間静置した．その後2,000 rpm，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 μLずつの2倍階段希釈を行い，風疹HA抗原（デンカ生研）を4単位に調製後，25 μL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 %固定ニワトリ赤血球50 μLを加え4 ℃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[5)].

2.5 麻疹PA抗体測定

麻疹抗体の測定にはセロディア麻疹（富士レビオ）のPA法を用いた．被検血清を第1穴目に25 μL入れ，第12穴目まで2倍階段希釈を行った．未感作粒子25 μLを第2穴目に，感作粒子25 μL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16倍以上を陽性とした[6)].

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．2021年度に実施した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に示した．2021年7月19日から10月1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5頭から検出された．このうち40倍以上の抗体を保有していたブタは3頭確認された．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，昨年の調査[7)]では，24.2%の豚から2-ME感受性抗体が検出されていたが，今回の調査からは，本感受性抗体を保有する豚は確認されなかった．

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58.3%，5-9歳100%，10-14歳100%，15-19歳

97.4 %，20-29 歳 90.3%であったが，年齢を重ねるにつれて，30-39 歳 73.3%，40-49 歳 46.8 %，50-59 歳 27.8 %，60 歳以上は 19.2 %と低率となる傾向であった．全体では 294 名中 192 名（65.3%）が日本脳炎中和抗体を保有し、昨年の調査[7]と同等の陽性率を示していた（表 2）．

３．ヒトインフルエンザ年齢別 HI 抗体保有状況

2021/2022 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）の推移を表 3 に示した．流行の主流となる乳幼児期の抗体保有率は以下のとおりである．A 型インフルエンザウイルスに対する HI 抗体保有率は A/Victoria/1/2020(A/H1N1pdm2009)は 0-4 歳 8.3%，5-9 歳 16.7%，全体では 15.3%であった．

A/Tasmania/503/2020(A/H3N2)は 0-4 歳 38.9%，5-9 歳 83.3 %，全体では 66.3 %であった．

B 型インフルエンザウイルスの B/Victoria/705/2018（ビクトリア系統）は 0-4 歳 0 %，5-9 歳 0 %，全体では 8.5 %であった．

B/Phuket/3073/2013（山形系統）は 0-4 歳 0 %，5-9 歳 33.3 %，全体では 53.1 %であった．

今回の調査により，0-4 歳における年齢層の抗体保有率は，全体（全年齢層）の抗体保有率と比較し，各々の亜型インフルエンザにおいて低率であった．

４．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 0 %，1-4 歳 91.2%で，5-9 歳，10-19 歳および 20-29 歳層は 100 %であった．30-39 歳 96.7%，40-49 歳 91.5%，50 歳以上は 95.2%であった．採血者全体の HI 抗体保有率は 95.6 %で，男女別では男性 92.6%，女性 98.1%であった．

また，例年の調査から免疫獲得状況の低い 30 歳以上の男性については，本年も女性の同年齢層と比較しやや低かったものの，昨年の調査[7]と比較すると HI 抗体保有率は男女共に上昇していた（表 4）．

５．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，0-1 歳を除く 2-3 歳群以上の年齢層の抗体保有率は 100 %であったが，ワクチン接種前の対象者が含まれる 0-1 歳層は 88.9 %であった．全体では 294 名中 292 名（99.3%）が麻疹 PA 抗体を保有していた．

また，昨年の調査[7]において一部の成年層で認められていた非抗体保有者は確認されなかった（表 5）．

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 294 名（男性 135 名，女性 159 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：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） 矢野拓弥，楠原 一，小林章人，北浦伸浩，中井康博：2020 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．三重保環研年報，**23**(66)，61-65 (2021).

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（2021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	10								0	-	-
7月30日	10	10								0	-	-
8月5日	10	8	2							2	-	-
8月13日	10	10								0	-	-
8月20日	10	10								0	-	-
8月26日	10	10								0	-	-
9月3日	10	10								0	-	-
10月1日	10	7						3		3	0/3	0
計	80	75	2					3		5	0/3	0

*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	36	21（58.3%）
5-9歳	12	12（100%）
10-14歳	7	7（100%）
15-19歳	38	37（97.4%）
20-29歳	62	56（90.3%）
30-39歳	30	22（73.3%）
40-49歳	47	22（46.8%）
50-59歳	36	10（27.8%）
60歳～	26	5（19.2%）
合計	294	192（65.3%）

（ ）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/1/2020（A/H1N1pdm2009）	A/Tasmania/503/2020（A/H3N2亜型）	B/Victoria/705/2018（ビクトリア系統）	B/Phuket/3073/2013（山形系統）
0-4歳	36	3 (8.3%)	14 (38.9%)	0 (0%)	0 (0%)
5-9歳	12	2 (16.7%)	10 (83.3%)	0 (0%)	4 (33.3%)
10-14歳	7	4 (57.1%)	5 (71.4%)	0 (0%)	5 (71.4%)
15-19歳	38	8 (21.1%)	36 (94.7%)	4 (10.5%)	26 (68.4%)
20-29歳	62	16 (25.8%)	51 (82.3%)	3 (4.8%)	50 (80.6%)
30-39歳	30	3 (10%)	20 (66.7%)	1 (3.3%)	25 (83.3%)
40-49歳	47	0 (0%)	22 (46.8%)	12 (25.5%)	24 (51.1%)
50-59歳	36	2 (5.6%)	22 (61.1%)	4 (11.1%)	14 (38.9%)
60歳～	26	7 (26.9%)	15 (57.7%)	1 (3.8%)	8 (30.8%)
合計	294	45 (15.3%)	195 (66.3%)	25 (8.5%)	156 (53.1%)

（ ）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	1	0（0%）	1	0（0%）	2	0（0%）
1-4歳	13	11（84.6%）	21	20（95.2%）	34	31（91.2%）
5-9歳	8	8（100%）	4	4（100%）	12	12（100%）
10-19歳	3	3（100%）	42	42（100%）	45	45（100%）
20-29歳	31	31（100%）	31	31（100%）	62	62（100%）
30-39歳	15	14（93.3%）	15	15（100%）	30	29（96.7%）
40-49歳	28	25（89.3%）	19	18（94.7%）	47	43（91.5%）
50歳～	36	33（91.7%）	26	26（100%）	62	59（95.2%）
合計	135	125（92.6%）	159	156（98.1%）	294	281（95.6%）

（ ）内は抗体保有率.

表 5 麻疹年齢別 PA 抗体保有状況（16 倍以上）

年齢区分	調査数	陽性数
0-1歳	18	16 (88.9%)
2-3歳	16	16 (100%)
4-6歳	10	10 (100%)
7-9歳	4	4 (100%)
10-14歳	7	7 (100%)
15-19歳	38	38 (100%)
20-24歳	30	30 (100%)
25-29歳	32	32 (100%)
30-39歳	30	30 (100%)
40歳～	109	109 (100%)
合計	294	292 (99.3%)

（ ）内は抗体保有率.