

資料

2023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, 川合秀弘, 下尾貴宏

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

本調査は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ため、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、長期的な調査は感染症対策には不可欠であり、本調査のような主要疾患についての免疫状態を知る上で、継続的な調査は、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、2023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。2023年7月21日から同年9月22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、2023年4~9月に県内の病院等で採取された男性177名、女性195名の合計372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領に基づき、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、麻疹は酵素抗体法(Enzyme Immunoassay: EIA)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後、100%ガチョウ赤血球50μLを加え4℃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96ウェルマイクロプレートの第1穴目に25μL入れ、第2穴目から25μLずつの2倍階段希釈を行い、JEVのHA抗原JaGAr 01株(デンカ社製)を4HA単位に調製し25μLずつ加えた。4℃にて

一晚感作後、0.33 %ガチヨウ赤血球を 50 μ L 添加し、37 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C, 30 分間) した被検血清 8 μ L を細胞維持液 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; 100 FFU / 25 μ L) を処理血清 40 μ L に対して等量加え、37 $^{\circ}$ C で 60 分間の中和反応を行った。反応後の血清とウイルスの混合液 25 μ L を Vero 細胞 (Osaka 株) に接種し、37 $^{\circ}$ C, 5 %CO₂ 下で 60 分間ウイルス吸着を行った。その後、細胞維持液を 100 μ L 加え、再び 37 $^{\circ}$ C, 5 %CO₂ 下で 46 時間培養した。その後、99.5 %エタノールで細胞を固定し、PAP 複合体を用いたフォーカス計数法により抗体価を求め、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 μ L に RDE (Receptor destroying enzyme) II 「生研」 (デンカ社製) 300 μ L を加えて 37 $^{\circ}$ C, 20 時間処理した。次に非動化 (56 $^{\circ}$ C, 60 分間) 後、滅菌生理食塩水を 600 μ L 添加し、100 %ニワトリ赤血球 100 μ L 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 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 $^{\circ}$ C で 45 分間静置後に判定した。

本試験に使用した不活化 HA 抗原は A/Victoria/4897/2022 (A/H1N1pdm2009), A/Darwin/9/2021 (A/H3N2), B/Austria/1359417/2021 (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、不活化 HA 抗原 A/Darwin/9/2021 (A/H3N2) は、被検血清を RDE 処理後、100 %モルモット赤血球にて前述と同様に処理し、HI 試験には、0.75 %モルモット赤血球を使用し 4 $^{\circ}$ C で 60 分間静置後に判定した。

2.4 風疹 HI 抗体測定

風疹ウイルス抗体キット R-HI 「生研」 (デンカ社製) を用いて、キットの添付文書に従って以下のとおり実施した。風疹 HI 試験は被検血清 100 μ L に 700 μ L のカオリン浮遊液を加え混合後、室温で 20 分間静置し、2,000rpm, 20 分間遠心分離した上清に固定ニワトリ赤血球 50 μ L を加え、4 $^{\circ}$ C で 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 抗体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 抗原を 4 単位に調製後、25 μ L を加えて室温で 90 分間静置して抗原抗体反応を行った。その後、0.2% 固定 1 日齢ヒヨコ赤血球 50 μ L を加え、4 $^{\circ}$ C で 90 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 EIA 抗体測定

麻疹抗体の測定にはウイルス抗体 EIA 「生研」麻疹 IgM (デンカ社製) を用いキット⁶⁾ の添付文書に従い、以下のとおり実施した。検体の調製方法は、緩衝液 2mL に対して被検血清を 10 μ L ずつ加え十分に攪拌し、前希釈検体とした。

ウイルス抗原固相プレートに、各濃度のコントロールと前希釈検体を 100 μ L ずつ加え、常温で 60 分間静置し反応させた。反応液を吸引除去後に、洗浄液を約 200 μ L 加え、再び吸引除去する操作を 3 回繰り返した (以下: 洗浄操作)。次に、各ウェルに酵素標識抗体液 100 μ L を加え、常温で 60 分間静置し反応させ、反応液を吸引除去し、洗浄操作を 5 回繰り返した。その後、各ウェルに基質液 100 μ L 加え、常温で 30 分間静置し反応後、反応停止液 100 μ L を加えた。30 分間以内にブランクのウェルを対照として、マイクロプレートリーダー (波長 450nm/630nm) で測定した。キットの添付文書のとおり、各コントロールによる検量線から、各被検血清のそれぞれの吸光度に対応する抗体価を求め、抗体価が 4.0 以上を陽性とした。

なお、麻疹抗体価の測定は 2022 年度までセロディア麻疹 (富士レビオ社製) による PA 法で実施していたが、終販事情により EIA 法へ変更した。

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。2023 年度に実施した各疾患の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

感受性抗体を経時的推移を表 1 に示した。2023 年 7 月 21 日から同年 9 月 22 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 17 頭から検出された。このうち 40 倍以上の抗体保有のブタは 17 頭全てで確認された。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、昨年度の調査対象⁷⁾としたブタからは 2-ME 感受性抗体は検出されなかったが、今回の調査では、本感受性抗体を保有するブタは 5 頭 (29.4%) 確認された。

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 (10 倍以上) は 0-4 歳 44.4%、5-9 歳 93.8%、10-14 歳 75%、15-19 歳 97.8%、20-29 歳 95.8%であったが、30-39 歳 86.0%、40-49 歳 43.6%、50-59 歳 36.0%、60 歳以上は 22.2%と年齢を重ねるにつれて、低率となる傾向であった。全体では 372 名中 236 名 (63.4%) が日本脳炎中和抗体を保有し、昨年度の調査⁷⁾と比較し陽性率は高かった (表 2)。

3. ヒトインフルエンザ年齢別 HI 抗体保有状況

2023/2024 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と全年齢層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/4897/2022 (A/H1N1pdm2009) は 0-4 歳 5.6%、5-9 歳 0%、全年齢層では 8.1%であった。

A/Darwin/9/2021 (A/H3N2) は 0-4 歳 11.1%、5-9 歳 43.8%、全年齢層では 29.3%であった。

B 型インフルエンザウイルスの B/Austria/1359417/2021 (ビクトリア系統) は 0-4 歳 0%、5-9 歳 0%、全年齢層では 23.4%であった。

B/Phuket/3073/2013 (山形系統) は 0-4 歳 5.6%、5-9 歳 12.5%、全年齢層では 55.1%であった。

2020 年からの新型コロナウイルス流行開始後、2022 年末より 3 シーズンぶりに A/H3N2 インフルエンザウイルスの流行⁸⁾が確認されたが、関連性は不明であるものの A/H3N2 のワクチン株である A/Darwin/9/2021 (A/H3N2) に対する対象者全体の抗体保有率は上昇していた。

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 (8 倍以上) は、0 歳は協力者がおらず調査不能であったが、1-4 歳 88.9%で、5-9 歳、10-19 歳は

100%であった。20-29 歳層 97.2%、30-39 歳 95.3%、40-49 歳 85.5%、50 歳以上は 89.2%であった。採血者全体の HI 抗体保有率は 92.7%で、男女別では男性 85.3%、女性 99.5%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低率であったが、2022 年度の調査結果⁷⁾と比較すると男性の HI 抗体保有率は同等あるいは、やや上昇していた (表 4)。

5. 麻疹年齢別 EIA 抗体保有状況

年齢別の麻疹 EIA 抗体保有率 (EIA 価 4 以上) は、4-6 歳、10-14 歳の抗体保有率は 100%であった。0-1 歳 85.7%、2-3 歳 88.9%、7-9 歳 83.3%、15-19 歳 91.1%、20-24 歳 89.5%、25-29 歳 97%、30-39 歳 95.3%および 40 歳以上は 96.6%で、全年齢層では 94.6%であった。すぐにはワクチン接種が不必要⁹⁾とされている麻疹 EIA 価 16 以上の年齢別の麻疹 EIA 抗体保有率 0-1 歳 57.1%、2-3 歳 55.6%、4-6 歳 75%、7-9 歳 33.3%、10-14 歳 25%、15-19 歳 46.7%、20-24 歳 39.5%、25-29 歳 27.3%、30-39 歳 46.5%および 40 歳以上は 75.4%で、全年齢層では 58.6%であった。なお、7-9 歳から 30-39 歳までの年齢層は、EIA 抗体保有率 (16 以上) が 50%に達しておらずワクチン追加接種が必要である (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 372 名 (男性 177 名、女性 195 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: 第 3 日本脳炎. 感染症流行予測調査検査術式 令和元年度改訂版 34-48 (2019).
- 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: 第 2 インフルエンザ. 感染症流行予測調査検査術式 令和元年度改訂版 22-33 (2019) .
- 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: 第 4

風疹. 感染症流行予測調査検査術式 令和元年度改訂版 49-54(2019)

- 6) 国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル 麻疹 (第4版) 令和4年 10月, 32-33 (2022).
- 7) 矢野拓弥, 楠原 一, 小林章人, 川合秀弘, 下尾貴宏: 2022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, **25(68)**, 58-62 (2023).

- 8) 矢野拓弥, 川合秀弘, 下尾貴宏: 3シーズンぶりに流行した季節性インフルエンザウイルスの遺伝子系統樹解析および薬剤耐性インフルエンザウイルスの検出状況(2022/23シーズン)-三重県. 三重保環研年報, **25(68)**, 34-40 (2023).
- 9) 日本環境感染学会: 医療関係者のためのワクチンガイドライン第3版. 環境感染誌, 第35巻 Supplement II, S5-S10 (2020).

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 (2023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21日	10	10							0	-	-	
7月28日	10	10							0	-	-	
8月3日	10	9						1	1	1/1	100	
8月10日	10	9					1		1	1/1	100	
8月18日	10	8			1			1	2	1/2	50	
8月24日	10	10							0	-	-	
9月6日	10	5				2		1	2	0/5	0	
9月22日	10	2					5	3	8	2/8	25	
計	80	63	0	0	1	2	6	6	2	17	5/17	29.4

*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	18	8(44.4%)
5-9歳	16	15(93.8%)
10-14歳	4	3(75%)
15-19歳	45	44(97.8%)
20-29歳	71	68(95.8%)
30-39歳	43	37(86.0%)
40-49歳	55	24(43.6%)
50-59歳	75	27(36.0%)
60歳～	45	10(22.2%)
合計	372	236(63.4%)

()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/4897/2022 (A/H1N1pdm2009)	A/Darwin/9/2021 (A/H3N2)	B/Austria/1359417/2021 (ビクトリア系統)	B/Phuket/3073/2013 (山形系統)
0-4歳	18	1(5.6%)	2(11.1%)	0(0%)	1(5.6%)
5-9歳	16	0(0%)	7(43.8%)	0(0%)	2(12.5%)
10-14歳	4	0(0%)	3(75%)	0(0%)	1(25%)
15-19歳	45	6(13.3%)	10(22.2%)	6(13.3%)	28(62.2%)
20-29歳	71	11(15.5%)	21(29.6%)	14(19.7%)	61(85.9%)
30-39歳	43	6(14.0%)	20(46.5%)	4(9.3%)	34(79.1%)
40-49歳	55	0(0%)	14(25.5%)	14(25.5%)	25(45.5%)
50-59歳	75	4(5.3%)	15(20%)	30(40%)	36(48%)
60歳～	45	2(4.4%)	17(37.8%)	19(42.2%)	17(37.8%)
合計	372	30(8.1%)	109(29.3%)	87(23.4%)	205(55.1%)

()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	0	-	0	-	0	-
1-4歳	9	7 (77.8%)	9	9 (100%)	18	16 (88.9%)
5-9歳	8	8 (100%)	8	8 (100%)	16	16 (100%)
10-19歳	10	10 (100%)	39	39 (100%)	49	49 (100%)
20-29歳	31	29 (93.5%)	40	40 (100%)	71	69 (97.2%)
30-39歳	19	17 (89.5%)	24	24 (100%)	43	41 (95.3%)
40-49歳	34	26 (76.5%)	21	21 (100%)	55	47 (85.5%)
50歳～	66	54 (81.8%)	54	53 (98.1%)	120	107 (89.2%)
合計	177	151 (85.3%)	195	194 (99.5%)	372	345 (92.7%)

()内は抗体保有率.

表5 麻疹年齢別 EIA 抗体保有状況

年齢区分	調査数	EIA価	
		≥4	≥16
0-1歳	7	6(85.7%)	4(57.1%)
2-3歳	9	8(88.9%)	5(55.6%)
4-6歳	12	12(100%)	9(75%)
7-9歳	6	5(83.3%)	2(33.3%)
10-14歳	4	4(100%)	1(25%)
15-19歳	45	41(91.1%)	21(46.7%)
20-24歳	38	34(89.5%)	15(39.5%)
25-29歳	33	32(97%)	9(27.3%)
30-39歳	43	41(95.3%)	20(46.5%)
40歳～	175	169(96.6%)	132(75.4%)
合計	372	352(94.6%)	218(58.6%)

()内は抗体保有率.