

資料

## 2012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, 前田千恵, 楠原 一, 赤地重宏,  
松野由香里, 山寺基子, 小林隆司, 西中隆道

### Epidemiological Surveillance for Japanese Encephalitis, Influenza, Rubella and Measles in 2012F.Y.

Takuya YANO, Chie MAEDA, Hajime KUSUHARA,  
Shigehiro AKACHI, Yukari MATSUNO, Motoko YAMADERA,  
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. 2012年度に実施した調査結果の概要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がHI抗体保有豚は検出されなかった.
- (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279人中165人(59.1%)であった.
- (3)動物のインフルエンザウイルス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27.4%, 5-9歳50%, A/Victoria/361/2011(H3N2)は0-4歳19%, 5-9歳54.5%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9.5%, 5-9歳31.8%であった. B/Wisconsin/1/2010(山形系統)では0-4歳0%, 5-9歳4.5%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89.6%(男性:83.8%, 女性:93.5%)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 Test)抗体保有率は91.4%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を目的として, 1962年から「伝染病流行予測調査事業」として開始された. 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, 冬季に日本

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-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、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、毎年の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、2012 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) について概要を報告する。

## 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、毎年、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 ヶ月齢の肉豚である。採血期間と採血豚頭数は 2012 年 7 月 2 日から 9 月 3 日の間に採血した 100 頭である (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、2012 年 4 月から 9 月に県内の病院等で、インフォームドコンセントのもとに採血された男性 111 人、女性 168 人の合計 279 の血清を用いて行った。

#### 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対象は、三重県の北部に位置する四日市市で飼育された 6 ヶ月齢の豚の鼻腔拭い液である。2012 年 12 月 7 日、2013 年 1 月 22 日に採取した計 100 頭を調査材料とした。

## 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 $\mu$ 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 $\mu$ L 入れ、第 2 穴目から 25 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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<sup>1)</sup>。

### 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 $\mu$ L を細胞培養液 72 $\mu$ 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 $\mu$ L を処理血清 40 $\mu$ L に対して等量加え、37 $^{\circ}$ C で 60 分反応させた後、25 $\mu$ L を Vero (Osaka 株) 細胞に接種し、37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 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<sup>1)</sup>。

### 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、上清をイヌの腎臓由来細胞である Madin-Darby canine kidney (MDCK) 細胞に接種した。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<sup>2)</sup>。

### 4) ヒトインフルエンザ HI 抗体測定

被検血清 100 $\mu$ L に RDE (Receptor destroying enzyme) II 「生研」 (デンカ生研) 300 $\mu$ 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 $\mu$ L 添加し、100%ニワトリ血球 100 $\mu$ 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 $\mu$ L ずつの 2 倍階段希釈を行い、不活化抗原 4HA 単位を 25 $\mu$ L ずつ加えた。室温にて 60 分間

## 結果とまとめ

放置後、使用赤血球（0.5%ニワトリ赤血球）を50 $\mu$ L 添加し室温で45分後に判定した。不活化抗原は A/California/7/2009（H1N1pdm2009）、A/Victoria/361/2009(H3N2）、B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）、B/Wisconsin/1/2010（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<sup>2)</sup>。

### 5) 風しん HI 抗体測定

被検血清 200 $\mu$ L に PBS(-) 600 $\mu$ L、25%カオリン 800 $\mu$ 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、上清をインヒビター除去処理血清とした。これに 50%ガチョウ血球 50 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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<sup>3)</sup>。

### 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）の粒子凝集反応法（Particle Agglutination Test：PA 法）を用いた。被検血清を第 1 穴目に 25 $\mu$ 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 $\mu$ L を第 2 穴目に、感作粒子 25 $\mu$ 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<sup>4)</sup>。

### 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。2012 年 7 月 2 日から 9 月 3 日の間に採血した 100 頭において HI 抗体保有豚(10 倍以上)は検出されなかった。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%)と減少している（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 279 人中 165 人 (59.1%) が陽性であった。年齢別では 0-4 歳 20.2%、5-9 歳 86.4%、10-14 歳 82.6%、15-19 歳 96.4%、20-29 歳 89.3%であったが、30-39 歳 53.1%、40-49 歳 42.9%と低率であった（表 3）。近年の日本脳炎患者数（全国）は 2011 年(9 例)、2012 年(2 例)の報告があった。過去にワクチン接種後に急性散在性脳脊髄炎 (ADEM) を発症した事例があり、2005 年に日本脳炎ワクチンの「接種勧奨差し控え」となった。その後、新しい日本脳炎ワクチンが承認され、2010 年 4 月には 3 歳児を対象に積極的なワクチンの「接種勧奨」が通知されたが、「接種勧奨差し控え」の数年間に接種機会を逃した対象者の存在が懸念される。なお本県では 2010 年に 1 例報告されており、例年、抗体保有率は 30 歳以降が低く、ワクチンによる対策が急務である。

### 3. 豚からのインフルエンザウイルス分離状況

2012 年 12 月と 2013 年 1 月に調査を行った豚

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	頭数	HI抗体価							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			
2012年 7月 2日	10	10							0	-	-
7月 9日	10	10							0	-	-
7月17日	10	10							0	-	-
7月23日	10	10							0	-	-
7月30日	10	10							0	-	-
8月 6日	10	10							0	-	-
8月13日	10	10							0	-	-
8月20日	10	10							0	-	-
8月27日	10	10							0	-	-
9月 3日	10	10							0	-	-

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%)	—

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	84	17(20.2%)
5-9歳	22	19(86.4%)
10-14歳	23	19(82.6%)
15-19歳	28	27(96.4%)
20-29歳	56	50(89.3%)
30-39歳	32	17(53.1%)
40-49歳	21	9(42.9%)
50-59歳	6	1(16.7%)
60歳～	7	6(85.7%)
合計	279	165(59.1%)

表 4. 豚からのインフルエンザウイルス分離状況

採取日	採取場所	頭数	月齢	分離結果
2012年12月7日	四日市	50	6ヵ月	陰性
2013年1月22日	四日市	50	6ヵ月	陰性

100 頭全てで、インフルエンザウイルスは分離されなかった (表 4)。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。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 抗体分布状況

2012/2013 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) 0-4 歳 27.4%, 5-9 歳 50.0%, A/Victoria/361/2011(H3N2) は 0-4 歳 19.0%, 5-9 歳 54.5% であった。B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統) は 0-4 歳 9.5%, 5-9 歳 31.8%。B/Wisconsin/1/2010 (山形系統) は 0-4 歳 0%, 5-9 歳 4.5% であった。B 型 (山形系統) における抗体保有率は、0-4 歳 0%, 5-9 歳 4.5% であった (表 5)。

2012/13 シーズンの本県での分離株はワクチン株類似の A/H3N2 型が検出され、流行の主流であった。B 型は B/Wisconsin/1/2010 (山形系統) 類似株が多く検出された。また 2010/2011 シーズンまで流行していた A/H1N1pdm2009 が 2011 年 3 月以来、2 例検出 (2013 年 1 月) された。同様に全国の検出状況は前年より増加していたので<sup>5,6)</sup> 今後、抗原変異等による再流行が懸念される。特に A/H1N1pdm2009 の流行を経験していない乳幼児は、流行動態に最も影響を及ぼす年齢層であることからワクチン接種による予防対策は重要である。

#### 5. 風しん年齢別 HI 抗体分布状況

対象者全体 (男・女) における風しん年齢別 HI 抗体保有率は 0 歳 29.4%, 1-4 歳 94.0%, 5-9

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 (H1N1pdm)	A/Victoria /361/2011 (H3N2亜型)	B/Brisbane /60/2008 (ビクトリア系統)	B/Wisconsin/1/2010 (山形系統)
0-4歳	84	23(27.4%)	16(19%)	8( 9.5%)	0( 0%)
5-9歳	22	11(50%)	12(54.5%)	7(31.8%)	1( 4.5%)
10-14歳	23	16(69.6%)	14(60.9%)	6(26.1%)	6(26.1%)
15-19歳	28	27(96.4%)	21(75%)	13(46.4%)	14(50%)
20-29歳	56	45(80.4%)	33(58.9%)	20(35.7%)	24(42.9%)
30-39歳	32	15(46.9%)	16(50%)	21(65.6%)	10(31.3%)
40-49歳	21	14(66.7%)	8(38.1%)	13(61.9%)	7(33.3%)
50-59歳	6	4(66.7%)	5(83.3%)	3(50%)	1(16.7%)
60歳～	7	3(42.9%)	5(71.4%)	3(42.9%)	2(28.6%)
合計	279	158(56.6%)	130(46.6%)	94(33.7%)	65(23.3%)

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	17	5(29.4%)	0歳	11	3(27.3%)	6	2(33.3%)
1-4歳	67	63(94.0%)	1-4歳	37	36(97.3%)	30	27(90.0%)
5-9歳	22	22(100%)	5-9歳	8	8(100%)	14	14(100%)
10-19歳	51	49(96.1%)	10-19歳	11	10(90.9%)	40	39(97.5%)
20-29歳	56	50(89.3%)	20-29歳	18	14(77.8%)	38	36(94.7%)
30-39歳	32	30(93.8%)	30-39歳	12	10(83.3%)	20	20(100%)
40-49歳	21	21(100%)	40-49歳	4	4(100%)	17	17(100%)
50歳～	13	10(76.9%)	50歳～	10	8(80.0%)	3	2(66.7%)
合計	279	250(89.6%)	合計	111	93(83.8%)	168	157(93.5%)

歳 100%, 10-19 歳 96.1%, 20-29 歳 89.3%, 30-39 歳 93.8%, 40-49 歳 100%, 50 歳以上は 76.9% であった。採血者全体の HI 抗体保有率は 89.6%, 男性は 83.8%, 女性では 93.5% であった。例年, 特に男性の 20-29 歳および 30-39 歳は低値となる傾向がみられ, 男女ともに, 一部の抗体非保有者が存在した (表 6)。特に妊娠初期の女性が罹患すると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<sup>7)</sup>。国内では 2010 年以降, 風しんの発生が報告<sup>8,9)</sup>され 2012 年春季には関西地方で成人男性を中心に流行がみられ, その後, 関東地方へと拡大し, 全国各地で風しん患者が確認されている<sup>10-12)</sup>。三重県内の届出された風しん患者数は成人を中心に 2012 年は 61 人, 2013 年 1 月から 8 月は 96 人であった<sup>13)</sup>。当所では 2012 年 7 月から 12 月に 9 件 (2B: 8 件, 1E: 1 件), 2013 年 1 月から 8 月までに遺伝子型 2B が 11 件検出された。2013 年 4 月に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<sup>14)</sup>。遺伝子型別がされた国内検出事例においても, 遺伝子型 2B が最も多く<sup>5)</sup> (2012 年 1 月から 2013 年 8 月現在), 今後の成人男性を中心とした流行拡大が懸念され, ワクチン接種による対策が急務である。

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	39	20(51.3%)
2-3歳	36	36(100%)
4-6歳	21	21(100%)
7-9歳	10	10(100%)
10-14歳	23	23(100%)
15-19歳	28	28(100%)
20-24歳	26	25(96.2%)
25-29歳	30	27(90.0%)
30-39歳	32	32(100%)
40歳～	34	33(97.1%)
合計	279	255(91.4%)

## 6. 麻しん年齢別 PA 抗体分布状況

年齢別の麻しん PA 抗体保有率は 0-1 歳 51.3%, 2-3 歳 100%, 4-6 歳 100%, 7-9 歳 100%, 10-14 歳 100%, 15-19 歳以上はそれぞれの年齢区分で 90%-100% であった (表 7)。近年, 欧州や東南アジアなどで流行していた D4, D8, D9 が国内で検出され, 2012 年に D4(6 例), D8 (45 例), D9(11 例) が検出された<sup>5, 15)</sup>。ワクチン接種による麻しんの排除対策を継続的に実施することが重要である。

## 謝 辞

流行予測調査事業の実施にあたって, 本調査の趣旨をご理解頂き血清使用について承諾頂いた 279 人 (男性 111 人, 女性 168 人) の方々に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 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).
- 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: インフルエンザ, 感染症流行予測調査検査術式 9-25(2002).
- 3) 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).
- 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: 麻疹, 感染症流行予測調査検査術式 47-52(2002).
- 5) 国立感染症研究所 感染症情報センター: 月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、2011 年 12 月～2013 年 07 月

- <https://nesid3g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data62j.pdf>.
- 6) 岸田典子, 徐 紅, 高下恵美, 藤崎誠一郎, 今井正樹, 伊東玲子, 佐藤 彩, 土井輝子, 江島美穂, 金 南希, 菅原裕美, 小田切孝人, 田代眞人, 地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ: <速報>国内インフルエンザ流行株の抗原性解析および薬剤耐性株の検出状況(途中経過): 病原微生物検出情報, <http://www.nih.go.jp/niid/ja/flu-m/flu-iasrs/3403-pr3991.html>.
  - 7) 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, 第5 風疹 108-145(2008).
  - 8) 国立感染症研究所感染症情報センター: 風疹・先天性風疹症候群: 病原微生物検出情報, **32**, 250-252, (2011).
  - 9) 倉田貴子, 井澤恭子, 西村公志, 加瀬哲男, 高橋和郎: 大阪府内における 2011 年の風疹患者発生状況: 病原微生物検出情報, **32**, 255-257, (2011).
  - 10) 高橋琢理, 杉下由行, 灘岡陽子, 長谷川道弥, 林 志直: 東京都における風しんの発生状況 (2012 年~2013 年第 8 週): 病原微生物検出情報, **34**, 101-102, (2013).
  - 11) 倉田貴子, 上林大起, 駒野 淳, 西村公志, 加瀬哲男, 高橋和郎: 大阪府内における 2012 年の風疹患者発生状況: 病原微生物検出情報, **34**, 97-98, (2013).
  - 12) 国立感染症研究所感染症情報センター: 風疹・先天性風疹症候群 2013 年 3 月現在: 病原微生物検出情報, **34**, 87-89, (2013).
  - 13) 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](http://www.kenkou.pref.mie.jp/MR_srv/MR_srv_results.htm).
  - 14) 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).
  - 15) 国立感染症研究所感染症情報センター: 麻疹 2012 年: 病原微生物検出情報, **34**, 21-23, (2013).