

資料

2018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, 中野陽子*,
小林章人, 赤地重宏, 松村義晴

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、2018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) 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。2018年7月13日から同年11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。

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、2018年4～8月に県内の病院等で採取された男性180名、女性206名の合計386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。

3) ブタのインフルエンザ感染源調査材料

三重県津市および伊賀市で飼育された約6ヵ月齢のブタを対象とした。2018年12月12日40頭(津市:20頭, 伊賀市:20頭), 2019年1月17日30頭(津市:15頭, 伊賀市:15頭), 同年2月25日30頭(津市:15頭, 伊賀市:15頭)の

※三重県津保健所

計 100 頭の鼻腔拭い液を採取し調査材料とした。

2. 測定方法

1) 日本脳炎 HI 抗体測定

ブタ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

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、10 倍以上を陽性とした^{2,3)}。

3) ブタからのインフルエンザウイルス分離

ブタの鼻腔拭い液を 3,000rpm で 10 分間遠心分離し、上清をウイルス分離に供した。上清はイヌの腎臓由来細胞である Madin-Darby canine kidney (MDCK) 細胞に接種し、ウイルス分離を実施した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 $^{\circ}$ C で 45 分間静置後に判定した。本シーズンのインフルエンザワクチン株の A/Singapore/GP1908/2015(A/H1N1pdm2009), A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(IVR-186) (A/H3N2), B/Maryland/15/2016(NYMC BX-69A) (ビクトリア系統), B/Phuket/3073/2013 (山形系統) の不活化 HA 抗原を用い HI 試験を実施した。

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⁴⁾。なお、A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(IVR-186) (A/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 $^{\circ}$ 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⁵⁾。

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 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) および動

物（ブタ）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。2018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。2018年7月13日から11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8月3日に採血したブタ1頭のみであった。最近の感染か否かを把握するための指標である 2-ME 感受性抗体は検出されなかった。

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 56.5%、5-9 歳 85.7%、10-14 歳 95.2%、15-19 歳 93.4%、20-29 歳 95.7%、30-39 歳 73.6%、40-49 歳 37.1%、50-59 歳 29.2%、60 歳以上は 35% であった。全体では 386 名中 256 名（66.3%）が日本脳炎中和抗体を保有していた（表 2）。

3. ブタからのインフルエンザウイルス分離状況

津市および伊賀市で飼育されたブタについて調査を実施した結果、調査期間中にブタ 100 頭から採取した鼻腔拭い液からは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年齢別 HI 抗体保有状況

2018/2019 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/Singapore/GP1908/2015(A/H1N1pdm2009) は 0-4 歳 17.4%、5-9 歳 28.6%、全体では 23.1% であった。A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016(IVR-186) (A/H3N2 型) は 0-4 歳 43.5%、5-9 歳 100%、全体では 68.9% であった。B 型インフルエンザウイルスの B/Maryland/15/2016(NYMC BX-69A) (ビクトリア系統) は 0-4 歳 0%、5-9 歳 0%、全体では 16.8% であった。B/Phuket/3073/2013 (山形系統) は 0-4 歳 10.9%、5-9 歳 35.7%、全体では 45.6% であった（表 3）。

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 0%、1-4 歳 92.5%、5-9 歳 100%、10-19 歳

99%、20-29 歳 100%、30-39 歳 96.2%、40-49 歳 91.9%、50 歳以上は 88.2% であった。採血者全体の HI 抗体保有率は 93.5% で、男女別の抗体保有率は男性 89.4%、女性 97.1% であった。男性の抗体保有率は 30 歳以上の年齢層（30-39 歳 92%、40-49 歳 80.8%、50 歳以上 80%）で陽性者の割合が女性の同年齢層よりも低く推移していた（表 4）。

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、2-3 歳群～10-14 歳、20-24 歳～25-29 歳および 40 歳以上は 100% と全て陽性であったが、0-1 歳、15-19 歳および 30-39 歳では一部の陰性者の存在がみられた。全体では 386 名中 377 名（97.7%）が麻疹 PA 抗体を保有していた（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 386 名（男性 180 名、女性 206 名）の方々には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).

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 (2018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13日	10	10								0	0/0	-
7月20日	10	10								0	0/0	-
8月 3日	10	9	1							1	0/1	0
8月31日	10	10								0	0/0	-
9月 6日	10	10								0	0/0	-
9月14日	10	10								0	0/0	-
9月21日	10	10								0	0/0	-
11月 1日	10	10								0	0/0	-
計	80	36	1	0	0	0	0	0	0	1	0/1	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	46	26(56.5%)
5-9歳	14	12(85.7%)
10-14歳	21	20(95.2%)
15-19歳	76	71(93.4%)
20-29歳	46	44(95.7%)
30-39歳	53	39(73.6%)
40-49歳	62	23(37.1%)
50-59歳	48	14(29.2%)
60歳～	20	7(35%)
合計	386	256(66.3%)

()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/Singapore /GP1908/2015 (A/H1N1pdm2009)	A/Singapore/INFIMH- 16-0019/2016(IVR-186) (A/H3N2亜型)	B/Maryland/15/2016(N YMC BX-69A (ビクトリア系統)	B/Phuket/3073/2013 (山形系統)
0-4歳	46	8(17.4%)	20(43.5%)	0(0%)	5(10.9%)
5-9歳	14	4(28.6%)	14(100%)	0(0%)	5(35.7%)
10-14歳	21	5(23.8%)	19(90.5%)	2(9.5%)	12(57.1%)
15-19歳	76	35(46.1%)	70(92.1%)	17(22.4%)	38(50%)
20-29歳	46	17(37%)	35(76.1%)	4(8.7%)	37(80.4%)
30-39歳	53	8(15.1%)	32(60.4%)	4(7.5%)	25(47.2%)
40-49歳	62	6(9.7%)	39(62.9%)	24(38.7%)	24(38.7%)
50-59歳	48	5(10.4%)	30(62.5%)	13(27.1%)	29(60.4%)
60歳～	20	1(5%)	7(35%)	1(5%)	1(5%)
合計	386	89(23.1%)	266(68.9%)	65(16.8%)	176(45.6%)

()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	3	0 (0%)	3	0 (0%)	6	0 (0%)
1-4歳	21	20 (95.2%)	19	17 (89.5%)	40	37 (92.5%)
5-9歳	6	6 (100%)	8	8 (100%)	14	14 (100%)
10-19歳	46	45 (97.8%)	51	51 (100%)	97	96 (99%)
20-29歳	18	18 (100%)	28	28 (100%)	46	46 (100%)
30-39歳	25	23 (92%)	28	28 (100%)	53	51 (96.2%)
40-49歳	26	21 (80.8%)	36	36 (100%)	62	57 (91.9%)
50歳～	35	28 (80%)	33	32 (97%)	68	60 (88.2%)
合計	180	161 (89.4%)	206	200 (97.1%)	386	361 (93.5%)

()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	11 (61.1%)
2-3歳	18	18 (100%)
4-6歳	16	16 (100%)
7-9歳	8	8 (100%)
10-14歳	21	21 (100%)
15-19歳	76	75 (98.7%)
20-24歳	21	21 (100%)
25-29歳	25	25 (100%)
30-39歳	53	52 (98.1%)
40歳～	130	130 (100%)
合計	386	377 (97.7%)

()内は抗体保有率.