

25. 風疹抗体保有率が風疹エンデミック形成に与えた影響の解析

○ 上林 大起 (大阪府立公衆衛生研究所 感染症部ウイルス課
(併任)大阪市立環境科学研究所 調査研究課微生物保健グループ)

【 研究目的 】

風疹は、Togavirus 科 Rubivirus 属 Rubella virus によって引き起こされる疾患である。臨床症状は、発熱・発疹・リンパ節腫脹を主徴とするが、非典型例も多く比較的軽度を経過することが多い。不顕性感染が 15~30%を占める疾患ではあるが、妊婦が感染した際に出生児に難聴、心奇形、白内障を主徴とする「先天性風疹症候群(Congenital Rubella Syndrome: CRS)」を引き起こす。2012 年から 2013 年にかけて全国で 14,344 人の風疹患者が報告され、風疹が全数報告になった 2008 年以降最大の流行となった。特に、大阪府内で報告された風疹患者は人口百万人当たり 361 人と全国 1 位を記録した。今般の風疹流行は、抗体保有率の低さが原因であると指摘されているが、大阪府内の抗体保有実態は明らかにされていない。そこで本研究は、大阪府内の抗体保有実態を明らかにし、抗体保有率が風疹エンデミック形成に与えた影響を評価することを目的とする。また、EIA (enzyme immunoassay)-IgG 法による抗体価と HI(hemagglutination inhibition)法による抗体価との相関性について比較検討したのであわせて報告する。

【 研究の必要性 】

2012 年から 2013 年にかけて全国的に風疹が流行し、2012 年から 2014 年の間に全国で 45 例の CRS が報告されるなど大きな社会問題になった。特に、大阪府では 6 例の CRS が報告された。申請者らが実施した疫学解析の結果から、20 歳代から 30 歳代の男性に報告患者が集積していることが確認され、患者のワクチン接種歴は不明 65.5%、未接種 28.6%とワクチン未接種集団の間で流行が拡大したことが推測された。しかし、ワクチン未接種集団においては、これまでの流行を反映して自然感染を受けることである程度免疫されていたと考えられる。その為、流行以前に大阪府内に感染感受性者がどの程度存在し、抗体保有率が感染拡大にどの程度寄与したのかは明らかではなかった。そこで本研究は、2012 年から 2014 年に収集された 0 歳から 60 歳代の大阪府内在住者の健常人血清を使用し、風疹抗体保有実態、即ち感染感受性者の存在割合を明らかにし、「流行要因の解明」と「今後の風疹流行阻止に向けた政策の立案」に貢献できる知見を得ることを目指し解析を行った。

【 研究計画 】

研究対象：2012年から2014年に、厚生労働省の実施する感染症流行予測調査事業に参加し、包括同意が得られた府内在住の283人を対象とした (Table 1)。この研究は、大阪府立公衆衛生研究所の設置する倫理審査委員会において承認されている(承認番号:1302-06)。

Table 1. 使用した検体の年齢分布とワクチン接種歴

	No. of subjects	Age (ys)	MR or MMR vaccine history (%)			
			twice	once	none	unknown
total	283	0-69	19 (7)	64 (23)	78 (28)	122 (43)
male	90	0-69	8 (9)	26 (29)	17 (19)	39 (43)
female	193	0-62	11 (6)	38 (20)	61 (32)	83 (43)

ys, years; MR, measles-rubella vaccine; MMR, measles-mumps-rubella vaccine

研究方法：HI法は、病原体検出マニュアル(国立感染症研究所)に準じて行った。EIA法は、「ウイルス抗体 EIA「生研」ルベラ IgG」を使用し、キットの添付文書に準じて行った。HI抗体価は、8倍未満を陰性、8倍以上16倍以下を弱陽性者、32倍以上を感染防御に十分な抗体を保有している者とした。

EIA法による抗体価は、抗体指数 (EIA 価) で算出され 2.0 未満を陰性、2.0 以上 4.0 未満を判定保留、4.0 以上を陽性とした。EIA 価は、参考値として「抗体指数(EIA 価)×2.3」で国際単位に変換可能であることから、本研究では、米国 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)が定める 10IU/mL をカットオフ値として国際単位の換算値についても併記し解析を実施した。

Table.2 HI抗体価とIgG抗体価の分布

EIA titer	IgG IU/mL	HI titer						total	
		<1:8	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128		1:256
< 2.0	< 4.6	17	1						18
< 4.0	< 9.2	3	1	2					6
< 4.4	< 10.0			1					1
< 6.0	< 13.8		2	1					3
< 8.0	< 18.4		4	2		1			7
< 10.0	< 23.0				2				2
< 12.0	< 27.6				3				6
< 14.0	< 32.2				3	1			4
< 16.0	< 36.8		1		3				4
< 18.0	< 41.4			1	4	1			6
< 20.0	< 46.0					1			1
< 22.0	< 50.6				1	1			2
< 24.0	< 55.2				3				3
< 26.0	< 59.8				4	2	1		7
< 28.0	< 64.4				2	5	1		8
< 30.0	< 69.0			1	2	1			4
< 32.0	< 73.6			1	4		2	1	8
< 34.0	< 78.2		1	2					3
< 36.0	< 82.8								0
< 38.0	< 87.4							1	1
< 40.0	< 92.0				1	3		1	5
< 42.0	< 96.6				1			1	2
< 44.0	< 101.2					1			1
< 46.0	< 105.8				1				1
< 48.0	< 110.4						1	1	3
< 50.0	< 115.0							1	0
< 52.0	< 119.6						3		3
< 54.0	< 124.2						2	1	3
< 56.0	< 128.8							1	1
< 58.0	< 133.4		1						1
≥ 58.0	≥ 133.4				4	9	15	19	47
total		20	11	14	38	32	22	24	

【 実施内容・結果 】

1. EIA-IgG 抗体価と HI 抗体価の比較

HI 抗体価とデンカ生研 EIA-IgG 抗体価との寄与率 R²は、IgG 抗体価を IU/mL、HI 抗体価を指数で表示し、8 倍未満を 2 とすると、0.776 であった。IgG 抗体陰性 (EIA 価 2.0 未満)の HI 抗体陰性(8 倍未満)的中率は 94.4% (17/18 名)、HI 抗体陰性の IgG 抗体陰性的中率は、85.0%

(17/20 名)であった。IgG 抗体陽性 (EIA 価 4.0 以上)の HI 抗体陽性(8 倍以上)的中率は 100.0%(137/137 名)、HI 抗体陽性の IgG 抗体陽性的中率は、97.2%(137/141 名)であった。次に、IgG 抗体価と HI 抗体価のカットオフ値で評価すると、IgG 抗体 10IU/mL 以上で HI 抗体 32 倍以上の的中率は 85.3%(116/136 名)であり、HI 抗体 32 倍以上で IgG 抗体 10IU/mL 以上の的中率は 100.0%(116/116 名)であった。

2. HI 抗体価 16 倍以下の EIA-IgG 抗体価での読み替えの検討

デンカ生研 EIA-IgG 抗体価と HI 抗体価の相関性について、抗体価を対数(Log₂)に変換後図示した(Fig.1)。HI 抗体価と IgG 抗体価の寄与率 R² は 0.777 と強い正の相関が確認された。Fig.1 の相関図から得られた回帰直線により各 HI 抗体価を EIA 価に換算した結果を Table.3 に示す。次に、風疹の免疫状態を評価する際に基準となる HI 抗体 16 倍以下と 32 倍以上の二群に分け、IgG 抗体価のカットオフ値を 14IU/mL から 21IU/mL まで 1IU/mL 毎に変化さ

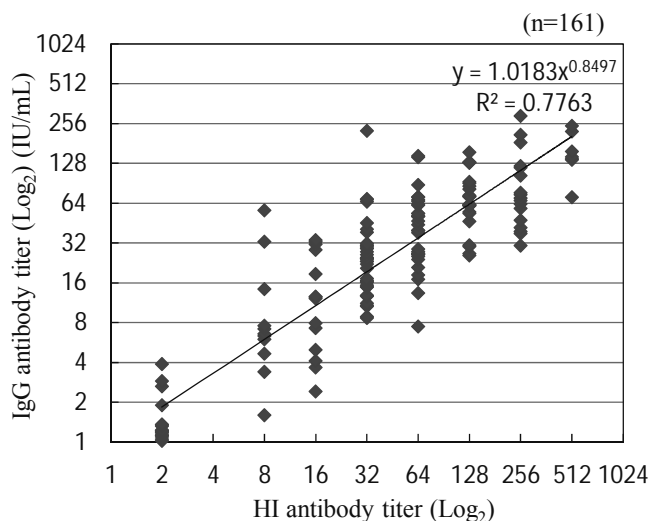


Fig.1 HI抗体価とIgG抗体価の相関図

せたときの検体数の分布から、HI 法に対する EIA 法の感度並びに特異度を算出した。そして、特異度から偽陽性率を算出し、感度と偽陽性率から ROC 解析を行った。EIA 法における最適なカットオフ値は、感度 100%、特異度 100%を示す基準点から ROC 曲線状の最も距離に近い値を示した抗体価、及び Youden index が最も大きい値を示した抗体価とした (Table.4)。IgG 抗体価が 19 IU/mL(EIA 価 8.3)のときに、Youden index が最も大きくなることから、IgG 抗体価 19 IU/mL 未満 (EIA 価 8.3 未満)の際に、カットオフ値の HI 抗体価 16 倍以下に相当することが示された。

Table.3 HI抗体価とIgG抗体価の換算表

HI titer	EIA titer	IgG (IU/mL)
1:8	2.6	6.0
1:16	4.7	10.7
1:32	8.4	19.4
1:64	15.2	34.9
1:128	27.3	62.9
1:256	49.3	113.3
1:512	88.8	204.1

Table.4 各IgG抗体価の感度、特異度、Youden index

EIA titer	IgG titer (IU/mL)	Sensitivity	False-positive rate	Specificity	Youden index
6.1	14	100.0%	35.6%	64.4%	0.644
6.5	15	100.0%	35.6%	64.4%	0.644
7.0	16	100.0%	33.3%	66.7%	0.667
7.4	17	100.0%	28.9%	71.1%	0.711
7.8	18	99.1%	26.7%	73.3%	0.724
8.3	19	99.1%	24.4%	75.6%	0.747
8.7	20	98.3%	24.4%	75.6%	0.739
9.1	21	97.4%	24.4%	75.6%	0.730

3. 大阪府内の抗体保有率について

Table.5 に性別年齢群別の HI 抗体保有率並びに幾何平均抗体価(geometric mean antibody titer:G.M.T)を示した。HI 抗体の陽性者(8 倍以上)は概ね全ての年齢群で 90%を超えていた。一方で、抗体保有率を感染防御可能な HI 抗体 32 倍以上で評価すると、殆どの年齢群で 80%を下回っていることが明らかになった。妊娠適齢期の 20 から 30 歳代の女性において、32 倍以上の抗体保有率は 67~82%と、約 20~30%の女性は風疹感染を防ぐことが出来ない状態であることが明らかになった。

Table .5 性別年齢群別のHI抗体価保有状況と幾何平均抗体価

Age (ys)	total				female				male			
	No of subjects	G.M.T	HI antibody titer		No of subjects	G.M.T	HI antibody titer		No of subjects	G.M.T	HI antibody titer	
			≥8	≥32			≥8	≥32			≥8	≥32
0	8	3.4	25	13	2	2.0	0	0	6	4.0	33	17
1-4	17	33.3	88	71	4	22.6	75	50	13	37.6	92	77
5-9	18	54.9	100	100	7	39.0	100	100	11	68.2	100	100
10-19	39	33.8	97	67	27	43.5	100	78	12	19.0	92	42
20-29	40	40.8	95	68	27	47.0	96	67	13	30.3	92	62
30-39	53	63.2	94	83	49	60.5	94	82	4	107.6	100	100
40-49	52	48.4	92	73	42	46.8	93	74	10	55.7	90	70
50-59	39	34.4	82	62	29	42.6	93	66	10	18.4	50	50
60-69	17	36.2	88	71	6	64.0	100	83	11	26.5	91	64

ys, years; G.M.T, geometric mean antibody titer

【 考察と今後の課題 】

HI 抗体価と EIA-IgG 抗体価に有意な正の相関が確認された。諸外国では、EIA-IgG 法で主に風疹の免疫状態が評価されており、米国 Clinical Standards Institute (CLSI)は 10IU/mL を感染防御出来る抗体価としている[1]。日本では HI 法で主に風疹に対する免疫状態を評価しており、HI 抗体価で 32 倍以上あれば感染を防ぐことが出来るとしている[2]。本解析結果から、HI 抗体 32 倍以上の IgG 抗体 10IU/mL 以上の的中率は 100.0%であったことから、HI 抗体価のカットオフ値は十分な値であることが示された。一方で、HI 抗体価と EIA-IgG 抗体の読み替えに関する解析から、IgG 抗体 19IU/mL 未満の際に HI 抗体 16 倍以下と読み替えることが可能であることが示された。19IU/mL は CLSI の定める 10IU/mL より 1.9 倍高いが、厚生労働省の緊急提言[3]や既報[4]にも良く一致した。

次に、大阪府内の抗体保有率について性別年齢群別に HI 抗体価を 8 倍以上、32 倍以上の二群に分類し、各年齢層別の抗体保有率を評価した。その結果、殆どの世代で 90%以上の方が 8 倍以上の抗体を保有しており、過去に自然感染又はワクチン接種により風疹に対する免疫を獲得していることが明らかになった。特に、1962 年以前出生の女性、1979 年以前出生の男性は定期ワクチン接種制度が無かったことから自然感染を受けていたと推測される。一方で、32 倍以上の抗体保有率をみると、殆どの年齢層で 80%を下回っており、風疹流行の危険性が高い状態であったことが確認された。上記より抗体保有率の低さが

2012年から2013年の大阪府内における風疹流行の要因の一つであることが示された。また、妊娠適齢期の20～30歳代の女性の約20～30%が感染防御に十分な抗体を保有していないことが明らかになりCRS発生のリスクが高い状態であったことも確認された。

麻疹・風疹の定期ワクチン接種は、1歳と小学校入学前年度に実施される。1～4歳の群と、5～9歳の群の32倍以上の抗体保有率並びにG.M.Tを比較すると、1～4歳の群は71%、33.3倍であるのに対して、5～9歳の群は100%、54.9倍であった。このことは、1回ワクチン接種では感染防御に十分な抗体が誘導されない方も存在し、2回目の接種を受けることで感染防御に十分な抗体が誘導されることが確認された。

大阪府内の風疹報告患者数は2012年408名、2013年3198名であり、大阪府の人口が880万人であることから考えると人口の0.04%の患者が出たに過ぎない。よって、現在でも感受性者の割合は殆ど変化していないと考えられ、流行国から日本に風疹が持ち込まれた場合、感染が拡大する可能性が高い状態が続いていると考えられる。2014年4月、厚生労働省は「風しんに関する特定感染症予防指針」を策定し、2020年までに日本国内から風疹を排除すると目標を定めた。風疹を国内から排除するには、ワクチン接種キャンペーンを積極的に実施し、日本国内の抗体保有率を高めていく必要があると考えられた。

【 参考文献 】

1. Skendzel, LP. *et al.* Rubella immunity. Defining the level of protective antibody. *Am J Clin Pathol.* 106, 170-4 (1996).
2. 厚生労働省科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業分担研究班「風疹流行にともなう母児感染の予防対策構築に関する研究」.風疹流行および先天性風疹症候群の発生抑制に関する緊急提言 (2004)
3. 厚生労働省科学研究費補助金新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「ワクチンにより予防可能な疾患に対する予防接種の科学的根拠の確立及び対策の向上に関する研究(研究代表者・大石和徳)、妊婦の風疹り患および先天性風疹症候群の発生抑制等胎児期の罹患予防に関する研究(研究分担者・平原史樹)」妊娠初期の風しん抗体検査をEIA法で行う場合の取り扱いについて(緊急提言)(2013)
4. 寺田ら. 風疹 HI 法の抗体価は EIA 法でどのくらいか. *感染症学雑誌.* 83, 26-30 (2009)

【 経費使途明細 】

消耗品費（検査試薬、プラスチック製品）	300,000 円
合計	300,000 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円