

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：84407

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2022

課題番号：18H06409・19K21488

研究課題名（和文）インフルエンザパンデミックにおける抗体価個人内変動による感染率推定の疫学研究

研究課題名（英文）Estimating Infection Rates through Intra-Individual Variation of Antibody Titers in an Influenza Pandemic

研究代表者

鵜飼 友彦（Ukai, Tomohiko）

地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・公衆衛生部・主任研究員

研究者番号：80729195

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：2009年4月～6月と2010年4月～6月に大阪府下の職場検診で採取された241名のペア血清を用い、2009パンデミック前後のインフルエンザA型のH1N1ワクチン株（ ）とH1N1pdm株（ ）に対してHI価と中和価を測定した。2009年の血清による に対する被験者のHI抗体陽性率は62%、中和抗体陽性率は49%と高かったが、 に対しては中和抗体陽性率で7%と低かった。2010年の に対する中和抗体陽性率は22%と高くなり、特に1970年以降に出生した者はそれ以前に出生した者よりも高く、46%を示した。この傾向は抗体陽転率にも反映し若年成人がパンデミックウイルスに感染し易かった事を裏付けた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2009年と比較して、2010血清のA/California/7/2009（H1N1pdm株）に対する中和価陽性率は高くなり、特に1970年以降に出生した対象者で顕著であった。これは中和価陽転率とも相関し、若年成人ほどパンデミックウイルスに感染していたことが示唆された。パンデミック前後の血清抗体価を測定することは流行の実態を把握する上で重要であり、パンデミックの発生が予測された時点から公衆衛生、ウイルス学、臨床など各分野の専門家が協力して調査体制を構築することで、次の年の流行予測に生かすことができる。

研究成果の概要（英文）：Using paired serum samples from 241 individuals collected in workplace health checkups in Osaka Prefecture between April to June in 2009 and 2010, we measured the hemagglutination inhibition (HI) titer and neutralizing titer against the influenza A H1N1 vaccine strain (Strain) and H1N1pdm strain (Strain) before and after the 2009 pandemic. The HI antibody positive rate for Strain based on 2009 sera was high, at 62%, and the neutralizing antibody positive rate was 49%. However, for Strain , the neutralizing antibody positive rate was low at 7%. The neutralizing antibody positive rate for Strain in 2010 increased to 22%, particularly those born after 1970 showed higher rates than those born earlier, demonstrating 46%. This trend was also reflected in the seroconversion rate, corroborating that younger adults were more susceptible to the pandemic virus.

研究分野：疫学

キーワード：インフルエンザ H1N1pdm 赤血球凝集阻止抗体価 中和抗体価

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2009年の新型インフルエンザ H1N1pdm09 ウイルスの出現による世界的な大流行では、患者の多くは若年者において発症し、高齢者ではその発症は少なかった。過去の研究では、その要因は、高齢者は若年者よりも過去の種々の H1N1 ウイルス抗原曝露を受ける機会があり、H1N1 ウイルス抗原の一部に対しても免疫記憶を有していたためだと推察されている。しかしながら、どの年齢階級がどの程度の免疫を有し、それが感染阻止にどれだけ役立っているのかを調べた研究は特に国内では限られており、海外との交流が盛んな大阪での調査が必要と考えられた。

2. 研究の目的

大阪府内の職場健診で得られたパンデミック前(2009年4月~6月)とパンデミック後(2010年4月~6月)のペア血清の赤血球凝集阻止抗体価(HI価)と中和抗体価(中和価)を測定することで、出生年別の感染率を明らかにし、2009パンデミックによる大阪の住民の抗体レスポンスを調べる。

3. 研究の方法

1. 被験血清毎年実施している大阪府下の職場検診で得られた血清から、2009年4月~6月と2010年4月~6月に採取されたペア血清を抽出し、試験に供した。主に5か所の民間の事業所と、1か所の公的機関の職員から採血し、 -80°C で保管されていた血清を用いた。合計241名の検査対象者の最高齢は1926年生まれ、最年少は1983年生まれで、男性141名、女性100名であった。

2. HI試験 HA抗原として、2009年のパンデミック以前のワクチン株である A/Brisbane/59/2007 および H1N1pdm である A/California/7/2009 を用いて検討を行った。両株とも、国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターより分与された。被験者の血清は RDE(II)「生研」(デンカ生研株式会社)を使用して非特異的インヒビター除去処理を行った後、モルモット血球の添加による赤血球自然凝集素の除去を行い、PBSにて10倍希釈に調整した。2段階希釈を行った血清 $25\mu\text{L}/\text{well}$ と8単位/ $50\mu\text{L}$ に調整した HA 抗原 $25\mu\text{L}/\text{well}$ を混和し、室温で30分静置後 0.7% のモルモット赤血球浮遊液 $50\mu\text{L}/\text{well}$ を添加し、室温で45分静置した。HIを示した血清の最大希釈倍数を HI 価とした。

3. 中和試験 RDE 処理した被験者の血清を10倍から2段階希釈した血清希釈液に 100TCID₅₀/ $50\mu\text{L}$ に濃度を調整した A/Brisbane/59/2007 もしくは A/California/7/2009 ウイルス希釈液を等量混合し 34°C で1時間インキュベーションを行った。あらかじめ96well 平底マイクロプレートに培養した MDCK 細胞を $100\mu\text{L}/\text{well}$ の無血清 DMEM 培地 (SIGMA) で洗浄し、血清-ウイルス反応液 $100\mu\text{L}/\text{well}$ を添加し 34°C にて30分インキュベーションを行った。その後、上清を吸引し $100\mu\text{L}/\text{well}$ の acetylated trypsin (SIGMA, $3\mu\text{g}/\text{mL}$) 加 DMEM を添加し、 34°C で72時間培養を行った。培養後、PBS で細胞を洗浄後にエタノールにて固定し、アミドブラック 10B (富士フィルム和光純薬、 $0.1\%w/v$) 溶液を用いて染色を行った。ウイルス増殖を完全に抑制する血清の最大希釈倍数の逆数を中和価とした。

4. 研究成果

1. 出生年別抗体価検査対象者の生年月日を基に、出生年別の HI 価と中和価を A/Brisbane/59/2007 と A/California/7/2009 に対して測定した。パンデミック前後(2009年と2010年)の A/Brisbane/59/2007 に対する HI 価と中和価、及び A/California/7/2009 に対する HI 価と中和価を比較した。HI 価、中和価とも $1:10$ 以上の値を示せば抗体陽性とした。2009 血清(2009年に採取された血清)では、A/Brisbane/59/2007 に対して HI 抗体陽性率は 62.2% ($150/241$)、中和抗体陽性率は 49.4% ($119/241$)と高く、検査対象者の多くが出生年に関わらず2009パンデミック以前に H1N1 ウイルスの抗原曝露を受けていた。中和抗体陽性率では2009血清と2010血清 (50.6% ($122/241$))との間に大きな差は認められなかったが、HI 抗体陽性率では2010血清 (84.6% ($204/241$))の方が2009血清よりも高い値を示した。2009血清の A/California/7/2009 に対する中和抗体陽性率は 7.1% ($17/241$)と極めて低く、大部分の検査対象者は2009年以前にはパンデミックウイルス類似のウイルス抗原には曝露されていなかったと推測された。しかし、2010血清の中和抗体陽性率は 22.0% ($53/241$)と上昇し、特に1970年以降に出生した被験者では 45.7% ($16/35$)と高い値を示した。

2. 出生年別抗体陽性率抗体価が確実に陽性と考えられる $1:20$ 以上を示す対象者について、抗体陽性率を出生年別に示した。A/Brisbane/59/2007 に対しては、いずれの出生年でも2009血清と2010血清の間の抗体陽性率に大きな違いは認められなかった。一方、A/California/7/2009 に対する2009血清については、HI 価、中和価とも陽性率は極めて低かったが、2010血清では高くなり、特に1970年以降に出生した対象者は高い値を示した。これは、若年齢層ほど H1N1pdm に感染した割合が高かったと推察された。

3. 出生年別抗体陽転率 HI 試験、中和試験とも2009血清と2010血清の抗体価を比較して、4倍

以上の上昇があれば抗体陽転（感染）とみなされ、対象者は抗原暴露を受けたとされる。出生年別の抗体陽転率（感染率）を HI 価、中和価で調べた。A/California/7/2009 に対する抗体陽転率は若年齢層ほど高くなり、特に 1970 年以降に出生した成人が高かった。これらの成績は、若年齢層ほど H1N1pdm に感染した割合が高かったとする成果 1. の結果を裏付けた。A/Brisbane/59/2007 に対しては、どの出生年でも HI 抗体陽性率は中和抗体陽性率よりも同一もしくは高い値を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|-------------------|
| 1. 著者名 奥野良信, 森川佐依子, 佐々木正大, 鷗飼友彦, 廣井聡, 中田恵子, 山岸良匡, 今野弘規, 木山昌彦, 磯博康. | 4. 巻 3 |
| 2. 論文標題 2009インフルエンザパンデミック前後における大阪の成人のパンデミックウイルスに対する抗体レスポンス. | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 大阪健康安全基盤研究所研究年報, 2019; 3: 1-8. | 6. 最初と最後の頁 印刷中 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 鷗飼友彦, 佐々木正大, 森川佐依子, 木山昌彦, 磯博康, 奥野良信 |
| 2. 発表標題 2009年インフルエンザパンデミックにおける出生年別感染率 |
| 3. 学会等名 第33回公衆衛生情報研究協議会 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|