

3・2 資 料

1) 日本脳炎調査 (2007 年度)

原田 誠也 松尾 繁 中島 龍一

はじめに

日本脳炎 (JE) は、JE ウイルス (JEV) を保有する蚊 (主にコガタアカイエカ) の刺咬によりヒトに感染して起こる急性髄膜脳炎である。近年、患者数は激減しているが、発症すれば重篤なケースが多く、今なお約 20% は死亡、約 50% に精神・神経障害などの後遺症が残る。本疾患は「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」では 4 類感染症に分類され、患者の全数届け出義務が課せられている。また、厚労省の感染症流行予測事業では、ヒトの感受性調査と肥育ブタの感染源調査が行われている。

2007 年度は、ヒトの感受性調査と肥育ブタの感染源調査の両方を実施するとともに、感染源調査に用いたブタ血清から JEV 分離を行った。また、JE 患者も 1 名報告された。そこで、2007 年度に実施した JE 調査の結果を報告する。

材料と方法

1 ブタ血清の赤血球凝集抑制 (HI) 抗体及び 2 メルカプトエタノール (2ME) 感受性抗体調査

2007 年 7 月中旬～9 月中旬に、県内の養豚場から熊本畜産流通センター (菊池市七城町) に搬入された肥育ブタの放血液 (飼育地別に 5 検体ずつ、1 回につき 20 検体) を、ほぼ 1 週間ごとに 8 回、計 160 検体採取した。なお、参考として、昨年までの調査で JEV 感染率の低かった菊池市旭志から搬入されたブタについて

も合計 35 検体採取した。採取した血液は、本所に持ち帰って血清を分離後、常法¹⁾により HI 抗体価と新鮮感染の指標である 2ME 感受性抗体価を測定した。

2 ヒトの JE 中和抗体調査

2007 年 8 月から 10 月にかけて年齢群別に約 25 名ずつ採取したヒト血清 226 検体について、常法¹⁾により中和抗体価を測定した。なお、中和抗体測定用の抗原は JaGAr#01 株を使用した。

3 ブタ血清からの JEV 分離

HI 抗体価測定に用いたブタ血清を維持培地で 5 倍に希釈し、単層培養した Vero 9013 細胞 (24 ウェルプレート法) と C6/36 細胞 (チューブ法) に 200 μ l ずつ接種した。それぞれ 3 代継代培養し、細胞変性効果 (CPE) が認められた細胞の培養上清から JEV-RNA を抽出しネステット RT-PCR 法¹⁾で同定した。また、分離された JEV は国立感染症研究所 (感染研) に送付し、遺伝子型決定を行なった。

4 JE 患者調査

2007 年度は 8 月末に 1 名の患者発生届出があった。入手できた急性期及び回復期の血清から中和抗体価の測定を行なった。また、急性期の髄液から JEV 分離と RT-PCR 法¹⁾による JEV-RNA の検出を試みた。なお、検体の一部を感染研に送付し、IgM 捕捉 ELISA による抗体の確認、JEV 遺伝子型別等を行なった。

結 果

表 1 飼育地別ブタの HI 抗体保有率及び JEV 分離状況

採血 月日	(参考) 菊池市 旭志	熊本市 及び周 辺町	阿蘇及 び天草	菊池市	山鹿市 鹿本町	山鹿市 その他	鹿本郡 植木町	合志市	HI 抗体保有率 (%)	2ME 感受性 抗体保有率 (%)
7/ 9	0/5	0/5		0/5	0/5			0/5	0/20 (0%)	(0%)
7/23	0/5	0/5			1/5		0/5	0/5	1/20 (5%)	(100%)
7/30	0/5			1/5	4/5		2/5	0/5	7/20 (35%)	(83%)
8/ 6	0/5			0/5	4/5		5/5	1/5	10/20 (50%)	(71%)
8/20	0/5			3/5		0/5	5/5	0/5	8/20 (40%)	(13%)
8/27	0/5		7/10	5/5			2/5		14/20 (70%)	(64%)
9/ 3	3/5		9/10	5/5			4/5		18/20 (90%)	(28%)
9/10		3/4	1/5				5/5	5/6	14/20 (70%)	(14%)
合計 (%)	3/35 (9%)	3/14 (21%)	17/25 (68%)	14/30 (47%)	9/20 (45%)	0/5 (0%)	23/35 (66%)	6/31 (19%)	72 /160 (45%)	

HI 抗体陽性数/検査頭数

□ : JEV が分離されたロット

表2 ブタのHI抗体及び2ME感受性抗体の保有率

採血月日	検査頭数	HI抗体価								HI抗体保有率	2ME感受性抗体保有率
		<10	10	20	40	80	160	320	≥640		
7/9	20	20									
7/23	20	19				1				5%	100%
7/30	20	13	1			2	3	1		35%	83%
8/6	20	10		3		1	1	4	1	50%	71%
8/20	20	12						3	5	40%	13%
8/27	20	6				2	4	4	4	70%	64%
9/3	20	2			2		7	6	3	90%	28%
9/10	20	6					7	5	2	70%	14%
合計	160	88	1	3	2	6	22	23	15	45%	

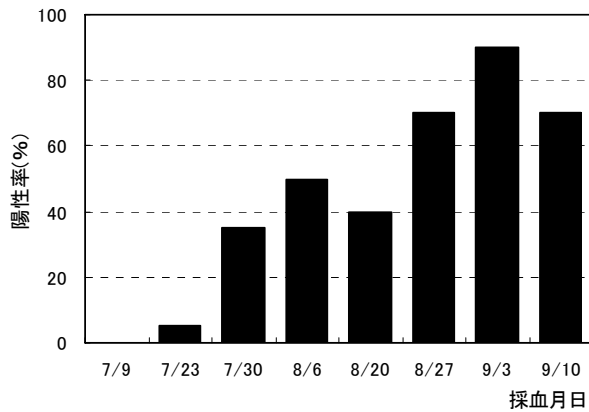


図1 ブタのHI抗体保有率

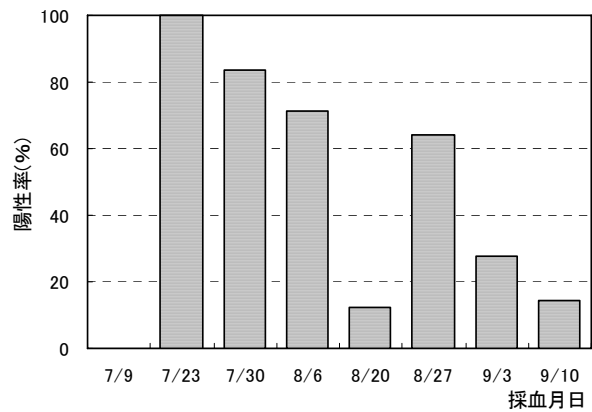


図2 ブタの2ME感受性抗体保有率

1 ブタ血清のHI抗体及び2ME感受性抗体調査

飼育地別のブタ血清のHI抗体保有状況を表1に示す。2007年度に最も早くHI抗体が確認されたのは、7月23日に山鹿市鹿本町の養豚場のブタから採取した検体で、5検体中1検体がHI抗体価1:80倍を示した。その後、HI抗体保有率は増加し、9月3日の90%でピークとなった。ブタの肥育農家が多い菊池市やその周辺市町でも、ブタがJEVに感染する時期や比率は飼育地で差があり、参考として7回35頭採血できた菊池市旭志地区のブタは、9月3日にやっと5検体中3検体がHI抗体陽性となった。このことから、昨年同様、旭志地区のブタは他の地区のブタより感染時期が2~3週間遅く、かつ感染率も低いことが再確認された。

次に、ブタのHI抗体及び2ME感受性抗体保有率を表2、図1及び図2に示した。HI抗体保有率は、7月23日5%から、9月3日の90%まで上昇したが、その後減少し、2007年も100%には至らなかった。

一方、2ME感受性抗体保有率は7月23日に100%を示し、その後漸減傾向にあったが、8月20日の検体は13%で特に低い値であった。従って、2007年のJEVの活動は7月中旬ごろから始まったと推測された。

2 ヒトのJE中和抗体調査

ヒトは10倍以上のJE中和抗体価があれば自然感染を阻止できるといわれている。2007年度に測定した年齢群別のJE中和抗体価の分布を表3に、抗体保有率のグラフを図3に示す。2006年度²⁾は0~4歳群が64%を示し、320倍以上の高い抗体価を示した検体が25検体中10検体も確認されるなど例年とかなり異なっていたが、2007年度はほぼ例年通りの結果であった。すなわち、抗体保有率は年齢とともに増加し、15~19歳代でピークとなった。その後は漸減し40~49歳代で最低となり、以後再び増加するパターンであった。ただし、2005年5月以来JEの予防接種が行われていないためか、0~4歳児の抗体保有率が例年より低く、ほとんど抗体を持っていなかった。640倍以上の高い抗体価は5~9歳児群から15~19歳群に多く、特に15~19歳群で最も多く認められていることから、ワクチンのブースター効果が確認された。

3 ブタ血清からのJEV分離・同定

C6/36細胞及びVero 9013細胞で2~3代継代した結果、表1に網掛けで示した菊池市のロットのHI抗体陰性の検体からC6/36細胞で1株、阿蘇及び天草のロ

表3 ヒトの脳脊髄液中抗体保有率

年齢区分	検査人数	中和抗体価								中和抗体保有率
		<10	10	20	40	80	160	320	≥640	
0-4	25	24						1		4%
5-9	25	15		1				2	1 6	40%
10-14	26	10			2		2	5	7	62%
15-19	25						3	3	19	100%
20-29	25	2	1	5	6	4	4	2	1	92%
30-39	25	9	4	3	3	3	1	2		64%
40-49	25	11	4	5	1	3	1			56%
50-59	25	8	2	3	2	4	4	1	1	68%
≥60	25	3	3		1	5	8	5		88%
合計	226	82	14	17	15	19	25	20	34	

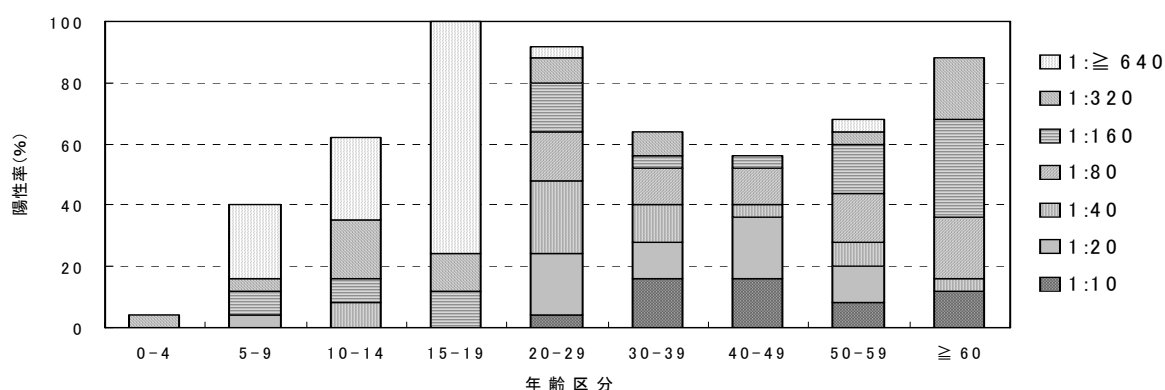


図3 ヒトの脳脊髄液中抗体保有率

ットのHI抗体陰性の検体からVero 9013細胞で1株、合計2株のJEVが分離された。これらの2株は遺伝子解析により、I型であることが判明した。

4 JE患者調査

本県では2000年度以降4年間はJE患者の発生届出はなかったが、2004年度、2005年度の各1名、2006年度の3名に続き、2007年度も1名の発生届出があった。患者は菊池市在住の66歳女性で、8月30日夜から発熱等の症状を呈したため、31日に菊池市内の医療機関を受診し、同日、熊本市内の医療機関へ転院し入院となった。9月26日に熊本市内の医療機関においてJEと診断され、熊本市保健所へ届出がなされた。

患者の急性期及び回復期血清の検査所見は、HI抗体価が急性期1:<10、回復期1:≥640、中和抗体価が急性期1:20、回復期1:≥640で、ともに4倍以上の上昇が見られた。なお、急性期の髄液からJEVは分離できなかったが、ネステットRT-PCRでJEV遺伝子が検出され、解析の結果、I型であることが確認された。

考 察

本県では2000年度以降、患者発生のない年度が続いていたが、2004年度と2005年度の各1名、2006年度の3名に続き、2007年度も1名の患者が発生した。さらに、ブタ血清からのJEV分離でも、2005年度の3株、2006年度の9株に続き、2007年度も2株が分離されており、JEVは相変わらず環境中に存在することが判明した。JEの予防にはワクチンの接種が最も効果的であるが、2005年5月のJEワクチン積極的勧奨の差し控え勧告以来、事実上接種が中止されたままである。今回の調査からも明らかのように、本県では依然としてJEの流行が認められ、昨年度はワクチン接種を受けていない3歳児の患者^{2),3)}も発生していることから、予防接種の早期再開が望まれる。

参 考 文 献

- 1) 厚生労働省：感染症流行予測調査事業検査術式(2002).
- 2) 原田誠也, 松尾 繁, 中島龍一, : 熊本県保健環科学研究所報, **36**, 31(2006).
- 3) 小田修司：日経メディカル, **3**, 32(2007).