

2) 日本脳炎調査 (2009 年度)

清田 直子 西村 浩一 原田 誠也

はじめに

日本脳炎 (JE) は、日本脳炎ウイルス (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「感染症の予防及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、厚生労働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。

2009 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、これらの調査結果について報告する。

調査方法

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

2009 年 7 月 13 日～9 月 7 日までの間に、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 9 回、計 180 検体採取した。採取した血液は、本研究所に持ち帰っ

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 ヒトの中和抗体調査

2009 年 8 月から 10 月にかけて年齢群別に採取したヒト血清 276 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 Vero9013 細胞と C6/36 細胞 (24 ウェルプレート法) 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) が認められた細胞上清から JEV-RNA を抽出し、Nested RT-PCR 法で同定した。また、分離された JEV は国立感染症研究所 (感染研) に送付し、遺伝子型決定を行った。

4 JE 患者調査

2009 年度は 1 名の患者発生届出があった。入手できた患者の髄液を感染研に送付し、IgM 捕捉 ELISA による抗体の確認、リアルタイム RT-PCR 法及びネステッド RT-PCR 法による JEV 遺伝子検出を行った。

結果及び考察

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 に示した。2009 年度に最も早く HI 抗体が確認されたのは、

表 1 飼育地別ブタの HI 抗体保有状況

採血月日	熊本市 植木町	合志市	山鹿市	菊池市 七城町	菊池市 その他	菊池郡 大津町	天草市	HI 抗体保有率	2ME 感受性 抗体保有率
7/13	0/10				0/5		0/5	0/20 (0%)	0%
7/21			0/5	0/5	0/5	0/5		0/20 (0%)	0%
7/27	1/10			1/10				2/20 (10%)	0%
8/3	0/5			1/5	0/5		0/5	1/20 (5%)	0%
8/10	3/5		4/5	1/5		0/5		8/20 (40%)	71%
8/17	5/5			0/5	0/5		1/5	6/20 (30%)	50%
8/24	5/5		5/5	1/5		2/5		13/20 (65%)	15%
8/31	8/10	1/5	5/5					14/20 (70%)	29%
9/7	5/5	1/5				10/10		16/20 (80%)	7%

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 抗体価及び 2ME 感受性抗体保有率

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		
7/13	20	20									
7/21	20	20									
7/27	20	18	1	1						10	
8/3	20	19	1							5	
8/10	20	12	1					4	3	40	71
8/17	20	14	2			1	1	2		30	50
8/24	20	7				2	7	3	1	65	15
8/31	20	6				3	5	6		70	29
9/7	20	4	1					8	5	80	7

7月27日に熊本市植木町と菊池市七城町の養豚場のブタから採取した検体で、それぞれ10検体中1検体がHI抗体価1:20, 1:10を示した。その後、HI抗体保有率は増加し、9月7日には80%となった。本年度もHI抗体保有率が100%になることはなかった。

次に、HI抗体価及び2ME感受性抗体保有率を表2に示した。8月10日に2ME感受性抗体保有率は71%を示し、その後漸減傾向であった。従って、2009年度のJEVの活動は8月初旬ごろから始まったと推測された。

近年、ブタのHI抗体陽性率が低い^{2)~5)}ことから、ブタの飼育形態や環境の変化、コガタアカイエカの増殖に必要な水田の減少などにより、地域によっては環境中のウイルス濃度が以前より低下しているものと推測された。

2 ヒトの中和抗体調査

ヒトは10倍以上の日本脳炎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。2009年度に調査した年齢群別の中和抗体価の分布を表3に、抗体保有状況を図1に示した。抗体保有率は年齢とともに増加し、15~19歳でピークとなり、その後は漸減し50~59歳で最低となり、60歳以上では再び増加していた。0~4歳は2007年、2008年は10%未満の保有率であったが、2009年は29%と回復が見られた。これは、2005年5月のJE予防接種積極的勧奨の差し控え勧告により事実上接種が中止されていたが、2009年6月から接種が一部再開されたことによると考えられた。

3 ブタ血清からのJEV分離・同定

C6/36細胞及びVero9013細胞でウイルス分離を行った結果、表1に網掛けで示した8月3日の植木町から1株、8月10日の菊池郡大津町から1株、植木町から

2株、9月7日の合志市から1株のJEVがVero9013細胞で分離され、遺伝子型は全てI型であった。

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。しかし、2004年度、2005年度に各1名、2006年度に3名、2007年度に1名の発生届出があった。続く2008年度の発生報告はなかったが、本年度は再び1名の発生届出があった。患者はJE予防接種歴無しの7歳男児で、8月6日午後から軽熱、腹痛があり、7日の午後に39℃以上の高熱、嘔気、腹痛、頭痛を呈したため近院を受診した。症状継続のため8日に中核病院に転院となり、無菌性髄膜炎の診断で入院となった。13日のMRIには異常がなく画像的に脳炎は否定的であったが、傾眠傾向がやや遷延し、倦怠感、活気低下もみられた。このことから髄膜脳炎の可能性も否定はできなかった。

患者の検査所見では、HI抗体価が急性期1:10、回復期1:640と、4倍以上の上昇が確認され、また、髄液検体は感染研にてIgM捕捉ELISAにおいて抗体陽性となり、JE感染が確認された。リアルタイムPCR法及びネステッドRT-PCR法では、JEV遺伝子は確認されなかった。

謝辞

患者情報を提供していただいた熊本市医師会熊本地域医療センターの後藤善隆先生、柳井雅明先生、遺伝子型決定やIgM捕捉ELISA等解析を行っていただいた国立感染症研究所の高崎智彦先生、小滝徹先生、並びにブタ採血に御協力いただいた熊本県食肉衛生検査所の方々に心より感謝申し上げます。

表3 ヒトの中和抗体保有率

年齢区分 (歳)	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	55	39	2	1	1	2	1	4	5	29
5-9	26	11			1	1	1	3	9	58
10-14	14	6					1	3	4	57
15-19	25	2		1	3	1	6	5	7	92
20-29	52	7	1	4	6	5	9	6	14	87
30-39	26	7	4	6	5	3	1			73
40-49	28	15	1	4	5			2	1	46
50-59	25	14		5	2		3		1	44
60≤	25	1		5	9	1	4	4	1	96
計	276	102	8	26	32	13	26	27	42	63

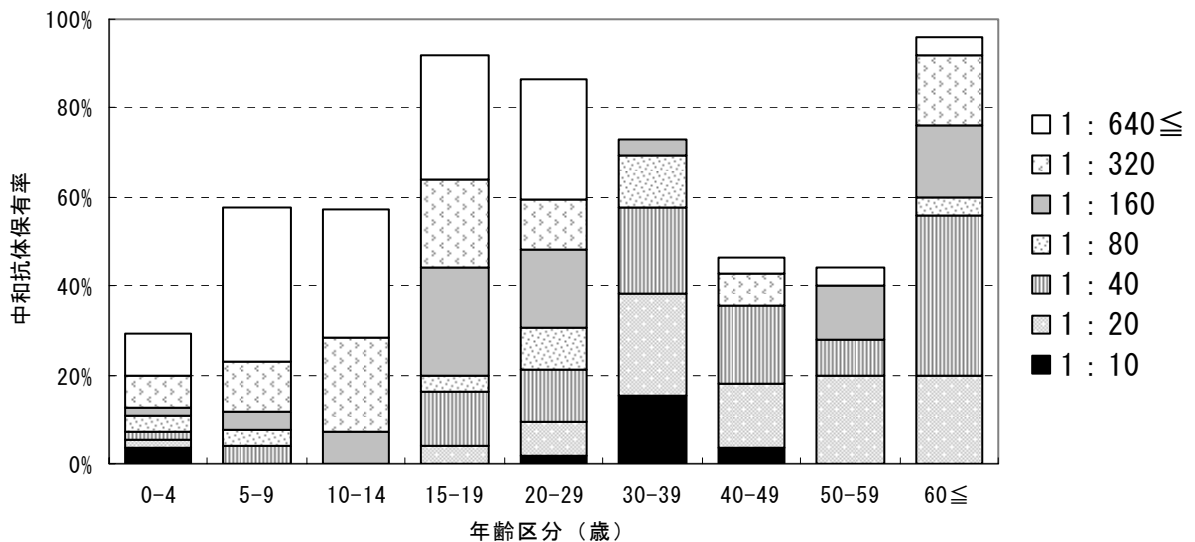


図1 ヒトの脳中和抗体保有状況

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，濱洲大輔，中島龍一：熊本県保健環境科学研究所報，35，71(2005)。
- 3) 原田誠也，松尾繁，中島龍一：熊本県保健環境科学研究所報，36，31(2006)。
- 4) 原田誠也，松尾繁，中島龍一：熊本県保健環境科学研究所報，37，82(2007)。
- 5) 西村浩一，原田誠也：熊本県保健環境科学研究所報，38，59(2008)。