

2) 日本脳炎調査 (2011 年度)

大迫 英夫 西村 浩一* 清田 直子 原田 誠也

はじめに

日本脳炎 (以下「JE」という。) は JE ウイルス (以下「JEV」という。) 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。1950-60 年代は全国で年間 1000 人を超える患者が発生していたが、1970 年代以降には患者数は激減し、1992 年以降になるとさらに患者数は減少して一桁台で推移するようになってきた¹⁻³⁾。熊本県内でもここ 10 年の間では 2006 年を除くと多くても年間一人の患者発生に止まっている。

本研究所では厚生労働省の感染症流行予測事業の一環として JEV のヒトにおける感受性調査と肥育ブタの感染源調査を実施している。さらに、夏季以外での JEV の活動を調べるため、4~6 月にも肥育ブタの感染源調査を実施し、それら感染源調査に用いたブタ血清中からの JEV 遺伝子検出及び JEV 分離を併せて実施した。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

2011 年 4 月 18 日から 2011 年 9 月 5 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 315 頭の肥育ブタ血液 (原則として飼育業者別に 5 検体ずつ) を流行予測事業中の 7 月上旬~9 月上旬の期間は 1 週間毎に 20~35 検体 (流行予測事業対象感染源調査検体として 20 検体) を 9 回、それ以外の期間は一月につき 50 検体を目途に検体採取した。採取した血液は当研究所に持ち帰り血清を分離後、常法⁴⁾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 ブタ血清中の JEV 分離及び遺伝子検出

HI 抗体価測定に用いたブタ血清 100 μ l を単層培養した Vero9013 細胞に接種して 3 代まで継代培養し細胞変性効果 (CPE) の出現を観察した。CPE が観

察された細胞上清から JEV RNA を抽出し Real time PCR 法で JEV 遺伝子を検出及び遺伝子型決定を行った⁵⁾。また、肥育ブタ中での JEV の活動状況を把握するため 420 頭のブタ血清 (HI 検体 325 頭分, HI 未実施 95 頭) からの JEV 遺伝子検出を Real time PCR 法で行った。

なお、ウイルス分離には Real time PCR 法で JEV 遺伝子陽性であった検体のみを用いた。

3 ヒトの中和抗体調査

2011 年 8 月から 10 月にかけて年齢群別に採取したヒト血清 222 検体について、ペルオキシダーゼ抗ペルオキシダーゼ (PAP) 法^{6,7)}により中和抗体価を測定した。なお、中和抗体価測定用の抗原は Beijing1 株を使用した。

結果

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

飼育地別のブタ血清中の HI 抗体保有状況及び JEV 遺伝子検出状況を表 1 に示した。本年度最も早く HI 抗体が確認されたのは、4 月の上天草市からのブタ (抗体価 1:10) で、次が 5 月の山鹿市からのブタ (抗体価 1:40) であったが、それ以降これら農場のブタからは HI 抗体が 1 ヶ月以上確認されなかった。その後、8 月 8 日から HI 抗体陽性率は漸次増加し、8 月 22 日には 85% となった。

次に、HI 抗体価及び 2ME 感受性抗体保有率を表 2 に示した。2ME 抗体保有率は 8 月 8 日に 67% を示し、その後減少し、8 月 29 日には 0% となったが、9 月 5 日の採血分では 100% となった。

2 ブタ血清中の JEV 遺伝子検出及び JEV 分離

JEV 遺伝子は、HI 抗体が検出され始める 1 週間前の 8 月 1 日の 2 頭から検出された。その後 9 月までに 32 検体 11 農場から JEV 遺伝子が分離された。分離された JEV の遺伝子型はすべて I 型であった。

Vero9013 細胞を用いウイルス分離を行った結果、

表 1 中の網掛けで示した植木町の 1 農場から 2 株、 2 農場から 3 株それぞれ JEV が分離された。
合志市の 1 農場から 4 株及びその他（七城町）の

表 1 飼育地別ブタの HI 抗体保有状況及び JEV 遺伝子検出状況

採血月	熊本市 植木町	山鹿市 鹿本町	上天草 市	合志市	菊池郡 大津町	その他	HI 抗体 保有率	2ME 感受 性抗体保 有率
2011 年 4 月	0/4	0/16	1/20		0/9		2%	0%
2011 年 5 月	0/5	1/13	0/15		0/14		2%	0%
2011 年 6 月	0/5	0/15	0/14		0/15		0%	0%
2011 年 7 月	0/15	0/15		0/15	0/5	0/10	0%	0%
2011 年 8 月 1 日	0/5 (1)	0/5 (1)				0/10	0%	0%
2011 年 8 月 8 日	2/5 (2)	4/5 (1)				1/10 (1)	35%	67%
2011 年 8 月 16 日		5/5 (1)		0/15 (1)		(2) ※	25%	20%
2011 年 8 月 22 日	5/5 (1)	10/10		2/5 (1)		(1) ※	85%	12%
2011 年 8 月 29 日	5/5	10/10 (1)	1/5 (1)				80%	0%
2011 年 9 月 5 日	0/5		0/5 (1)			6/10	30%	100%

HI 抗体陽性数/検査頭数 () 内は JEV 遺伝子検出数 : JEV が分離されたロット

※HI 抗体検査未実施

表 2 ブタの HI 抗体価及び 2ME 感受性抗体保有率

採取月日	検査 頭数									HI 抗 体保 有率	2ME 感受 性抗体保 有率
		<10	10	20	40	80	160	320	640<		
2011 年 4 月	49	48	1							2%	
2011 年 5 月	47	46			1					2%	
2011 年 6 月	49	49								0%	
2011 年 7 月	50									0%	
2011 年 8 月 1 日	20	20									
2011 年 8 月 8 日	20	13	1		1		3		2	35%	67%
2011 年 8 月 16 日	20	15				1	1	3		25%	20%
2011 年 8 月 22 日	20	3				2	6	8	1	85%	12%
2011 年 8 月 29 日	20	4				2	11	2	1	80%	0%
2011 年 9 月	20	14				2	2	2		30%	100%

表3 ヒトの中和抗体保有率

年齢区分 (歳)	検査数	中和抗体価								中和抗体保有率
		<10	10	20	40	80	160	320	≥640	
0-4	22	19			2	1				13%
5-9	22	13		2	2	1	2	2		40%
10-14	24	7	2		1	3	4	3	4	70%
15-19	22	5		2	4	1	7	1	2	77%
20-29	24	6		2	2	6	5	2	1	75%
30-39	24	7	7	1	2	3	3	1		70%
40-49	24	13	2	4	2	2	1			45%
50-59	27	17	2	6	1	1				37%
60≤	33	15	5	6	2	2	3			54%
計	222	102	18	23	18	20	25	9	7	54%

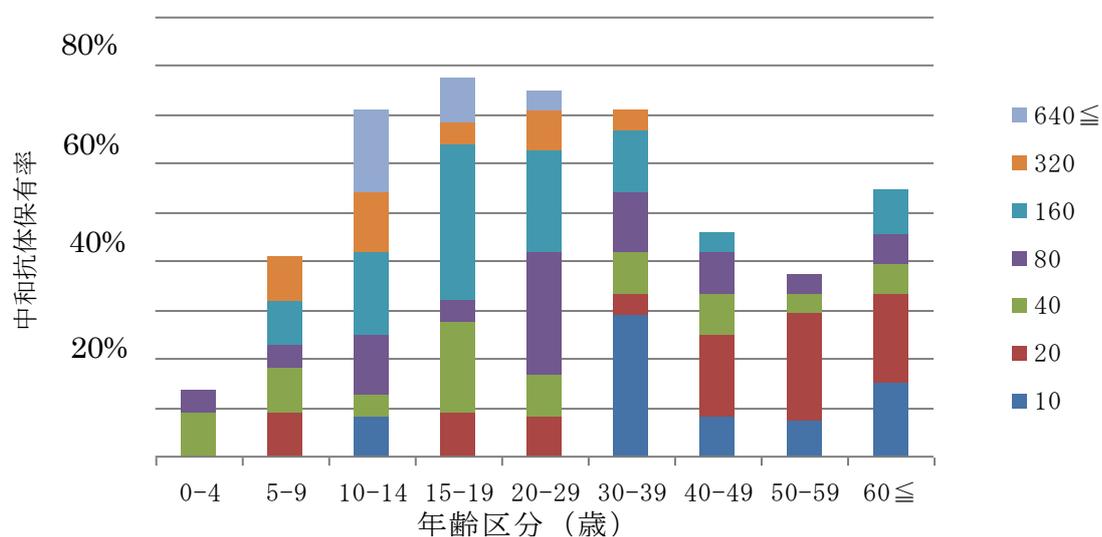


図1 ヒトの JEV 抗体保有状況

3 ヒトの中和抗体調査

ヒトは 10 倍以上の JEV 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。2011 年度に PAP 法で測定したヒトの年齢階級別中和抗体価を表 3 に、抗体保有状況を図 1 に示した。中和抗体保有率は年齢とともに増加し 20 歳代で最高の 75%となったが、それ以降は 50 歳代で 37%まで減少したものの、60 歳代以上では 54%に微増した。

考 察

JEV に対する HI 抗体が 4 月と 5 月に確認された豚の抗体価は 1:10 と 1:40 であった。その後これらの農場からこれ以降 8 月まで HI 抗体を保有するブタは確認されなかった。抗体価が低かったことと長期間にわたり HI 抗体を保有するブタが確認されなかったことから、この時検出された HI 抗体は母豚からの移行抗体であったのではないかと推察された。次に HI 抗体が確認されたのは 8 月 8 日であった。この時期には 2ME 感受性抗体及び JEV 遺伝子も同時に確認された。そのため、県内で実際に JEV が活動を開始したのはこの時期からであったと思われる。また、2011 年度の 2ME 抗体保有期間を 2010 年度のそれと比較すると、2010 年度は 2ME 抗体保有期間が 7 月 16 日から 7 週も認めたが、2011 年度は 8 月 16 日~22 日までの 3 週であった。このことから、昨年度よりも、ウイルスの活動した時期が短期間であったのではないかと思われる。

一方、中和抗体検査では、0~4 歳の年齢階級の中和抗体保有率は 2006 年度には 64%であったが、2005 年 5 月からの JE 予防接種の積極的勧奨差し控え勧告後、2007 年度及び 2008 年度にはそれぞれ 4%及び 9%と著しく減少した^{8,9)}が、2009 年から「乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン」の接種が可能となり、また、2010 年 4 月から JE 予防接種（第 1 期）の積極的勧奨が再開され、2009 年度は 29%、2010 年度は 23%と中和抗体保有率は増加した^{10,11)}。しかし、2011 年度は 13%に減少した。このことは、2011 年度の 0~4 才児血清が平均的予防接種開始年齢前の 1 才児以下の血清を多く含んでいたことに起因すると思われる。

文 献

1) 国立感染症研究所感染症情報センター：病原微

- 生物検出情報, 30, 147-148 (2009) .
- 2) 国立感染症研究所感染症情報センター：病原微生物検出情報, 24, 149-150 (2003) .
- 3) 国立感染症研究所感染症情報センター：病原微生物検出情報, 20, 185-186 (1999) .
- 4) 厚生労働省：感染症流行予測調査事業検査術式 (2002) .
- 5) 高崎智彦：厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）平成 20 年度分担研究報告書, 81-84 (2009).
- 6) Y.Okuno, T.Fukunaga, M. Tadano, Y. Okamoto, T. Ohnishi and M. Takagi, Arch. Virol. 86, 129-135 (1985).
- 7) 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〔第六版〕.
- 8) 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).
- 9) 西村浩一, 原田誠也：熊本県保健環境科学研究所報, 38, 58 (2008).
- 10) 清田直子, 西村浩一, 原田誠也：熊本県保健環境科学研究所報, 39, 64 (2009)
- 11) 西村浩一, 清田直子, 原田誠也：熊本県保健環境科学研究所報, 40, 42 (2010)