

## 2) 日本脳炎調査 (2012 年度)

大迫 英夫 清田 直子 吉岡 健太 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<sup>1-3)</sup>。熊本県内でも 2007 年以降多くても年間一人の患者発生に止まっているが、発症すると致死率は 20% 程度と高く、回復後も後遺症が残る場合がある。

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、2012 年度は養豚場で蚊の採取も行い、蚊からの 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

2012 年 7 月 18 日から 2012 年 9 月 11 日までの間に、県内の養豚場から熊本県畜産流通センター (菊池市七城町) に搬入された肥育豚 (原則として飼育業者別に 5 検体ずつ) の放血血液を 1 週間毎に 25 検体計 225 検体採取した。採取した血液は血清を分離後、常法<sup>4)</sup>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 蚊及びブタ血清中の JEV 遺伝子検出及び分離

採取した蚊は種類同定後、種類及び場所毎に 100 匹までを 1 検体とし、ブタ血清は HI 抗体価測定に用いた血清をそれぞれ Real time PCR 法<sup>5)</sup>で遺伝子を検出した。ウイルス分離は Real time PCR 検査陽性検体を Vero9013 及び C6/36 細胞に接種し、3 代まで継代培養して細胞変性効果 (CPE) の出現を観察し

た。CPE が観察された細胞上清から RNA を抽出して、Real time PCR 法で JEV 遺伝子確認を行った。

#### 3 ヒトの中和抗体調査

2012 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<sup>6,7)</sup>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、8 月 20 日の熊本市からのブタで、その後 HI 抗体陽性率は漸次増加し、9 月 11 日には 48% 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 抗体は 8 月 20 日に確認し、その後 9 月 4 日までは 2ME 抗体保有率は 100% だったが、9 月 11 日の採血分では 58% となった。

#### 2 蚊及びブタ血清中の JEV 遺伝子検出及び分離

蚊は 6 月~10 月に合計約 18,500 匹 (402 検体) 採取され、そのうちコガタアカイエカが約 16,300 匹であった。8 月が最も多く、約 11,000 匹採取された (図 1)。PCR 検査では 12 検体が陽性となり、そのうち 1 検体から JEV が分離された。

ブタ血清の JEV 遺伝子は、8 月 20 日の 9 頭から最初に検出された。その後 9 月までに 27 検体 8 農場から JEV 遺伝子が検出された。ウイルス分離は、表 1 中の網掛けで示した熊本市の 2 農場から各 1 株、菊池市の 1 農場から 1 株の計 3 株 JEV が分離された。蚊、豚共に分離された JEV の遺伝子型はすべて I 型であった。

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	鹿本町	七城町	合志市	大津町	その他	HI 抗体保有率
2012 年 7 月	0/20	0/5	0/5		0/20	0/25	0%
2012 年 8 月 6 日	0/10		0/5		0/10		0%
2012 年 8 月 14 日		0/5	0/10	0/5	0/5		0%
2012 年 8 月 20 日	2/15 (8)	0/5 (1)			0/5		8%
2012 年 8 月 29 日	3/5 (2)		0/15	0/5 (1)			12%
2012 年 9 月 4 日			0/15 (3)	6/10 (4)			24%
2012 年 9 月 11 日			7/15 (8)	5/5		0/5	48%

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

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 抗体価								HI 抗体保有率	2ME 感受性抗体保有率	
		<10	10	20	40	80	160	320	640<			
2012 年 7 月	75	75								0%	0%	
2012 年 8 月 6 日	25	25								0%	0%	
2012 年 8 月 14 日	25	25								0%	0%	
2012 年 8 月 20 日	25	23				1			1	8%	100%	
2012 年 8 月 29 日	25	22			2	1				12%	100%	
2012 年 9 月 4 日	25	19						5	1	24%	100%	
2012 年 9 月 11 日	25	13	1	1				1	1	8	48%	58%

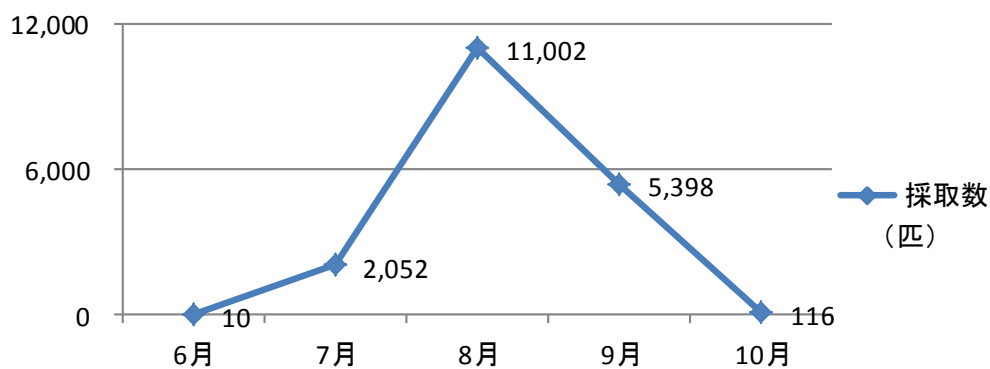


図1 月別蚊捕獲数

表 3 ヒトの年齢階級別中和抗体価及び保有率

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	24	21	1		1	1				13%
5-9	24	2	2	1	2	5	1	4	7	92%
10-14	22	5		4	1	5	3	2	2	77%
15-19	23	2	1	1	1	4	2	6	6	91%
20-29	27	2	1	3	2	2	3	4	10	92%
30-39	27	11	7	4	3	2				59%
40-49	26	19	3	1	2		1			27%
50-59	36	23	3	5	4	1				36%
60≤	23	11	3	3	4		2			52%
計	232	96	21	22	20	20	12	16	25	59%

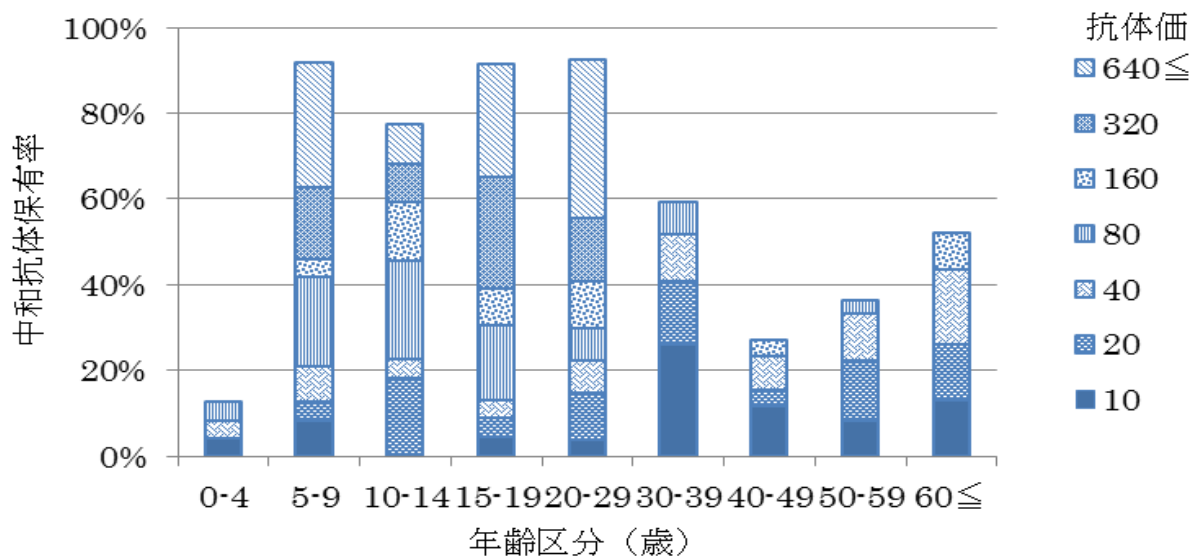


図2 ヒトの中和抗体保有状況

### 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。2012年度にPAP法で測定したヒトの年齢階級別中和抗体価及び保有率を表3に、抗体保有状況を図2に示した。中和抗体保有率は年齢と共に増加し20歳代で最高の92%となった。それ以降は40歳代で27%まで減少したものの、60歳代以上では52%までに回復した。

#### 考察

ブタ血清で最初にHI抗体が確認されたのは8月20日であった。また、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。以上のことから、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推測された。

また、2011年は2ME抗体が8月8日から認められたが、2012年は8月20日からであったことから、昨年度よりもウイルスの活動時期が遅かったと推測された。

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年及び2008年にはそれぞれ4%及び9%と著しく減少した。<sup>8,9)</sup>しかし、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たことから、2009年は29%、2010年は23%と増加した<sup>10,11)</sup>。2012年も昨年同様<sup>12)</sup>に0~4才の抗体保有率は13%と低かったが、これは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。なお、5~9才の抗体保有率は昨年の40%から96%に増加しており、積極的勧奨再開の効果がでてきているものと考えられた。

#### 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 (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）。
- 12) 大迫英夫，清田直子，原田誠也：熊本県保健環境科学研究所報，41，72（2011）。