

## 2) 日本脳炎調査 (2013 年)

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、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たが、昨年度は二人発生した。JE は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り、ワクチンの積極的接種が推奨されている。

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、2012 年度に引き続き養豚場での蚊採取も行い、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、これらの調査結果を報告する。

### 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

2013 年 7 月～2013 年 9 月までの間に、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 200 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

採取した蚊は種類を同定後、種類及び場所毎に 100 個体までを 1 検体、ブタ血清は HI 抗体価測定に用いた血清をそのまま検体とし、それぞれ Real time PCR 法<sup>5)</sup>で JEV 遺伝子を検出した。ウイルス分離は

Real time PCR 検査で陽性となった検体を Vero9013 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 遺伝子を確認した。

#### 3 ヒトの中和抗体調査

2013 年 8 月～10 月にかけて年齢群別に採取したヒト血清 211 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 HI 抗体及び 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、7 月 29 日の熊本市のブタで、その後 HI 抗体陽率は漸次増加し、9 月 10 日には 88%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 6 日に確認し、その後 8 月 20 日までは 2ME 抗体保有率は 100%だったが、8 月 27 日の採血分では 42%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 4 月～10 月に合計 4,159 個体 (118 検体) 採取され、そのうちコガタアカイエカが 3,713 個体であった。8 月が最も多く、2,371 個体採取された (図 1)。PCR 検査では 16 検体が陽性となり、そのうち 8 月に採取された蚊 1 検体から JEV が分離された。

ブタ血清の JEV 遺伝子は、7 月 29 日の 1 頭から最初に検出された。その後 9 月までに 10 農場 18 検体から 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 1 農場から 2 株 JEV が分離された。蚊及び豚から分離された JEV の遺伝子型はすべて I 型であった。

\*熊本県南広域本部芦北地域振興局保健福祉環境部

表 1 飼育地別ブタ血清中の HI 抗体保有状況及び JEV 遺伝子検出状況

採血月日	熊本市	七城町	合志市	大津町	その他	HI 抗体保有率
2013 年 7 月 23, 29 日	0/15 (1)	0/15		0/5	0/15	0%
2013 年 8 月 6 日	2/10 (2)		0/5	0/5 (1)	0/5	9%
2013 年 8 月 13 日	6/10 (6)	0/10 (1)	0/5			24%
2013 年 8 月 20 日				5/5	2/20 (4)	28%
2013 年 8 月 27 日		12/20 (1)			0/5	56%
2013 年 9 月 3 日				0/5	12/20 (1)	48%
2013 年 9 月 10 日	10/10	0/5	5/5		2/5 (1)	88%

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 ブタ血清中の 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							2ME 感受性抗体保有率	
		<10	10	20	40	80	160	320		640<
2013 年 7 月 23, 29 日	50	50								0%
2013 年 8 月 6 日	25	23					1		1	100%
2013 年 8 月 13 日	25	19			2				4	100%
2013 年 8 月 20 日	25	18			1	5	1			100%
2013 年 8 月 27 日	25	11	2		1	4	3	4		42%
2013 年 9 月 3 日	25	13					1	11		50%
2013 年 9 月 10 日	25	3					11	9	2	13%

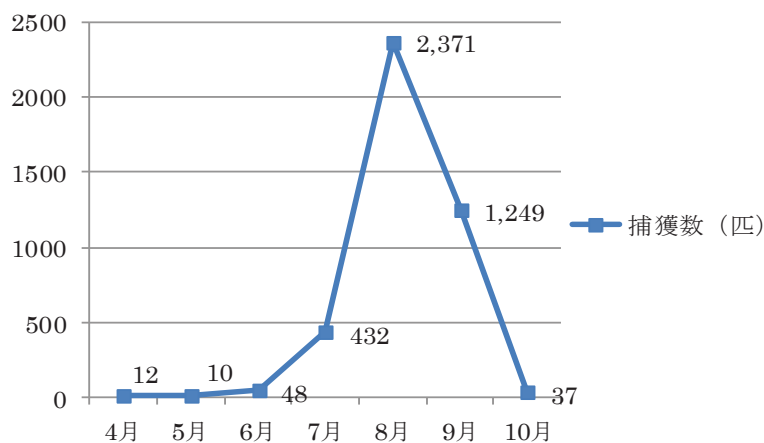


図 1 月別蚊捕獲数

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	
0-4	22	13	3	0	4	1	1	0	41%
5-9	24	7	1	4	2	1	5	4	71%
10-14	24	5	1	2	4	3	3	6	79%
15-19	21	4	1	3	5	4	1	3	81%
20-29	26	1	5	6	3	5	3	3	96%
30-39	24	4	6	6	3	1	0	4	83%
40-49	24	13	7	0	1	1	0	2	46%
50-59	23	11	8	0	3	1	0	0	52%
60≦	23	8	7	3	1	2	1	1	65%
計	211	66	39	24	26	19	14	23	69%

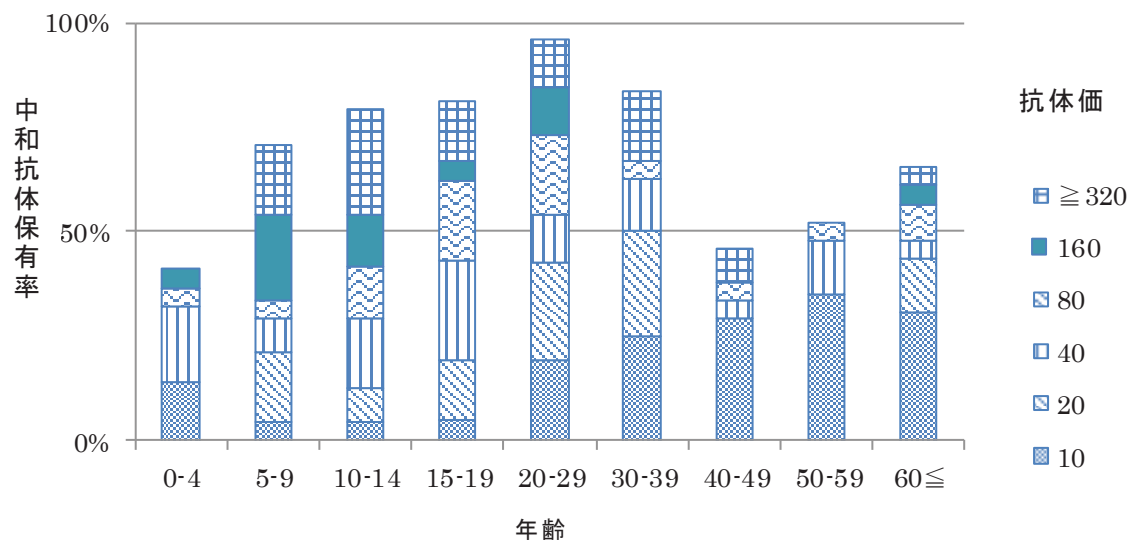


図2 ヒトの中和抗体保有状況

### 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。2013 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 96% となった。それ以降は 40 歳代で 46% まで減少したものの、60 歳代以上では 65% となった。

#### 考察

ブタ血清中から JEV 遺伝子が最初に確認されたのは 7 月 29 日、HI 抗体が最初に確認されたのは 8 月 6 日であった。また、8 月 6 日には JEV 遺伝子と同時に 2ME 感受性抗体も確認された。このことから、県内で実際に JEV が活動を開始したのはこの時期からと推察され、昨年より 2 週間早かった。

一方、2005 年 5 月からの JE 予防接種の積極的勧奨差し控え勧告以後、0~4 歳児の中和抗体保有率は、2006 年は 64% であったが、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、さらに、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>。2013 年は 41% まで回復し、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)。