

## 3・2 資 料

### 1) 日本脳炎調査（2014年度）

大迫 英夫 吉岡 健太 戸田 純子 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1,000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、年間一人又は二人の患者発生となっている。JEは発症すると致死率は20~40%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

2014年7月22日から2014年9月8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15検体計120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 ブタ血清中のJEV遺伝子検出及び分離

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

2014年8月から10月にかけて年齢群別に採取したヒト血清215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4日の鹿本町のブタで、その後HI抗体陽性率は漸次増加し、8月25日には66%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感受性抗体は8月4日に初めて確認され、8月12日、25日には2ME感受性抗体数は4検体となったが、その後減少した。

##### 2 ブタ血清中のJEV遺伝子検出及び分離

ブタ血清中のJEV遺伝子は、8月18日に採取した検体から最初に検出された。その後9月にかけて4農場のブタから採取した9検体からJEV遺伝子が検出された。JEVは、表1中の網掛けで示した熊本市の1農場から1株分離され、そのJEVの遺伝子型はI型であった。

##### 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。2014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1に示した。中和抗体保有率は5-9歳で83%、20歳代で82%と高い値を示し、それ以降は30歳代で55%、40歳代で45%まで減少したものの、60歳代以上では68%となった。

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	菊池市	鹿本町	大津町	その他	HI 抗体保有率
2014 年 7 月 22, 28 日	0/5	0/5	0/5	0/10	0/5	0%
2014 年 8 月 4 日	0/5		1/5	0/5		7%
2014 年 8 月 12 日		0/5		1/10		7%
2014 年 8 月 18 日	2/5 (4)		3/5	0/5		33%
2014 年 8 月 25 日	5/5	1/5 (2)	4/5			66%
2014 年 9 月 1 日		1/10 (1)		2/5		20%
2014 年 9 月 8 日		4/5 (1)	4/5 (1)	0/5		53%

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							2ME 感受性抗体陽性数	
		<10	10	20	40	80	160	320		≥640
2014 年 7 月 22, 28 日	30	30								0
2014 年 8 月 4 日	15	14							1	1
2014 年 8 月 12 日	15	14				1				1
2014 年 8 月 18 日	15	10					1	2	2	4
2014 年 8 月 25 日	15	5				3	4	2	1	4
2014 年 9 月 1 日	15	12	1	1					0	1
2014 年 9 月 8 日	15	7					5	3		1

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 $\leq$	
0-4	23	16	3	1	0	0	2	1	30%
5-9	23	4	3	0	5	3	5	4	83%
10-14	23	6	2	4	3	2	2	4	74%
15-19	35	11	1	3	9	5	4	2	69%
20-29	22	4	1	2	6	4	1	4	82%
30-39	22	10	5	1	2	3	1	0	55%
40-49	22	12	4	4	1	0	1	0	45%
50-59	23	11	8	0	3	1	0	0	52%
60 $\leq$	22	7	6	3	3	2	1	0	68%
計	215	81	34	18	31	20	17	14	62%

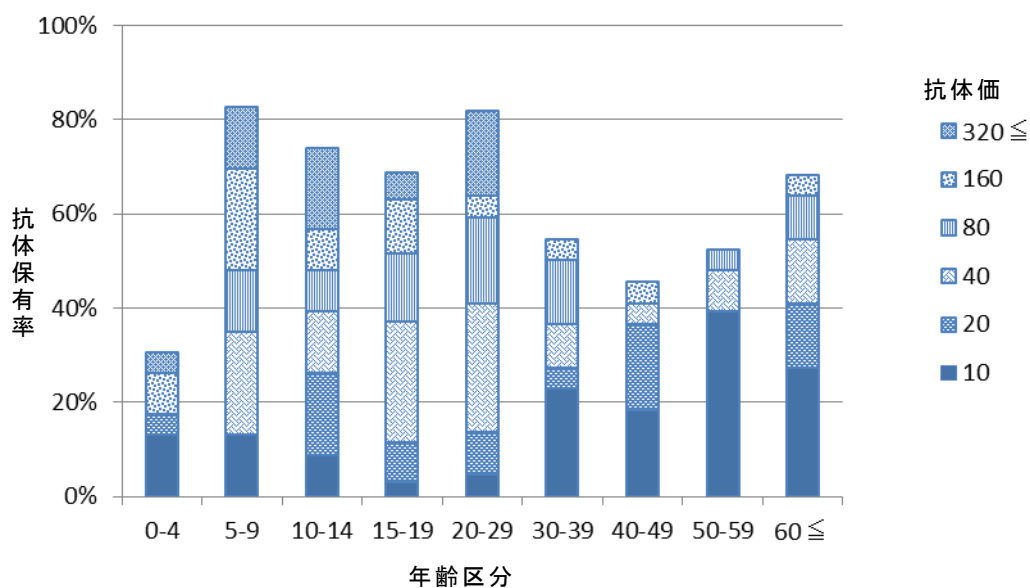


図 1 ヒトの JEV 中和抗体保有状況

### 考察

ブタ血清中から HI 抗体が最初に確認されたのは 8 月 4 日であった。また、8 月 4 日には 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前ぐらいからと推定され、昨年（8 月 6 日）とほぼ同じであった。

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>。この原因として、JE 予防接種の積極的勧奨が差し控えられ、ワクチン接種者の減少が推察された。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>。2014 年は 30%で、2013 年の 41%<sup>12)</sup>と比較すると低いが、2014 年は 5-9 歳の抗体保有率は、2013 年の 71%<sup>12)</sup>から 83%に増加したことから、幼児については、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，43，66（2013）。