

長崎県における日本脳炎の疫学調査 (2018 年度)

—豚の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況調査—

小嶋 裕子、山下 綾香、松本 文昭、田栗 利紹

Epidemiological Study of Japanese Encephalitis in Nagasaki (2018)

—Surveillance of swine infected by Japanese Encephalitis Virus—

Hiroko OJIMA, Ayaka YAMASHITA, Fumiaki MATSUMOTO and Toshitsugu TAGURI

キーワード: 日本脳炎、アルボウイルス、ブタ感染、HI 抗体陽性率

Key words: Japanese Encephalitis, Arbovirus, Swine Infection, HI Antibody Positive Rate

はじめに

日本脳炎は極東から東南アジア・南アジア、オーストラリアにかけて広く分布しており、年間およそ 68,000 人の患者が報告されている¹⁾。感染者の大多数は無症状に終わるが、発症すると定型的な脳炎を呈し、1~2 日で 40°C 以上の高熱となり、頭痛、嘔吐、頸部硬直などの髄膜刺激症状が現れ、次いで意識障害、筋硬直、けいれん等の脳炎症状が出現する。致死率は約 20% であり、回復してもその半数に精神障害、運動障害等の後遺症が残る。日本では、ワクチンの普及や媒介蚊の制御などにより 1966 年の 2,017 人をピークに患者数は減少しているが、毎年数例発生しており、2016 年には本県においても 4 例の患者発生が報告されている。

日本脳炎は Flavivirus 属に属する日本脳炎ウイルス (以下、JEV) に感染して起こる。JEV はコガタアカイエカが媒介するアルボウイルス (節足動物媒介性ウイルス) であり、「蚊→ブタ (時にトリ) →蚊」のサイクルで生態環を形成している。ヒトは JEV に感染したブタから蚊を介して感染するが、JEV 感染の終末宿主であり、ヒト→ヒト感染はない。そこで、厚生労働省では毎年夏に、ブタの日本脳炎ウイルス抗体獲得状況から、間接的に日本脳炎ウイルスの蔓延状況を調べている。

本県では、厚生労働省の定めた感染症流行予測調査実施要領に基づいて、ブタを対象とした感染源調査を実施するとともに、日本脳炎の発生予防とまん延防止を図ることを目的とした長崎県の「感染症流行予測調査事業 (日本脳炎感染源調査) における注意喚起等実施要領」に基づき、ブタ血清からの

JEV 遺伝子の検出ならびにブタ血清中の抗 JEV-IgM 抗体の測定を行っている。本年度の調査概要について報告する。

調査方法

1 感染源調査

(1) 調査時期及び回数

7 月初旬~9 月中旬に計 8 回実施した。

(2) 調査対象及び検体

調査対象は、諫早市内で飼育され佐世保市と畜場に出荷された生後約 6 ヶ月の肥育豚 80 頭とし、調査対象の放血血液より得られた血清を検体とした。

(3) 調査事項

感染症流行予測事業検査術式に従い、JEV 赤血球凝集抑制 (HI) 抗体の測定及び 2-ME (2-Mercaptoethanol) 感受性抗体の測定を行った。

2 JEV 遺伝子検索

感染源調査で使用した豚血清について、JEV 遺伝子検索を実施した。QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA を抽出し、JEV 遺伝子エンベロープ (E) 領域を標的とした One-Step RT-PCR 法及び Nested PCR 法²⁾により 326 bp の増幅産物が確認されたものを陽性とした。

3 JEV の分離

感染源調査で使用した豚血清について、Vero9013 細胞に接種して JEV の分離を試みた。24 ウェルマルチプレートに単層を形成させた Vero9013 細胞に維持培養液 (2% 非働化胎児血清加 Eagle MEM) 900 µL を加え、被検豚血清 100 µL を 2 ウェ

表1 2018年度豚HI抗体陽性率および2-ME感受性抗体陽性率調査結果

採血 月日	採血 頭数	HI 抗体価 (倍)								HI 抗体 陽性率 (%)	2-ME 抗体 陽性率 (%)
		<10	10	20	40	80	160	320	≥ 640		
7/2	10			1	5	4				100	0
7/10	10				8	2				100	0
7/23	10			2	8					100	0
8/7	10					3	3	3	1	100	60
8/13	10					1	5	4		100	60
8/28	10					1	5	2	2	100	40
9/3	10						5		5	100	40
9/11	10					1	2	3	4	100	40

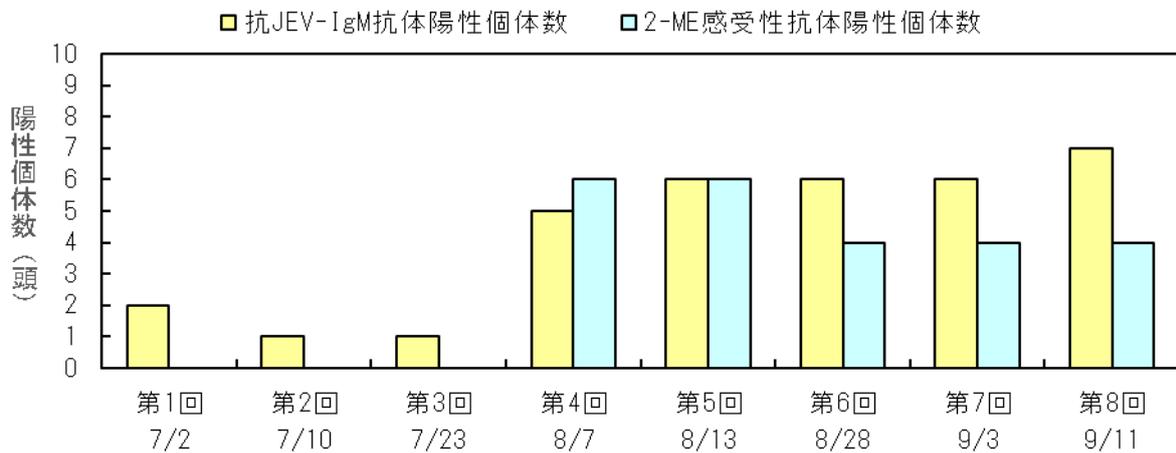


図1 豚の抗JEV-IgM抗体及び2-ME感受性抗体陽性個体数の推移

ルずつ接種、炭酸ガス培養器内で7日間培養して細胞変性効果(CPE)の有無を判定した。CPEが観察されたウェルについて上記遺伝子検索法によりJEV分離の確認を行った。

4 抗JEV-IgM抗体測定

感染源調査で使用した豚血清を用いて、初感染の指標とされる抗JEV-IgM capture ELISAにより血清中の抗JEV-IgM抗体を測定した。ELISAの条件および抗JEV-IgM抗体陽性の判定基準等は既報に準じた²⁾。

調査結果及び考察

1 感染源調査

2018年度豚HI抗体陽性率及び2-ME感受性抗体陽性率調査結果を表1に示す。

2018年度は、第1回目調査(7月2日)の時点で採血した豚10頭すべてがHI抗体陽性であった(陽性率100%)。その後、第4回目調査(8月7日)でHI抗体価40倍以上である10頭のうち6頭から最近の感染の指標となる2-ME感受性抗体が検出され(陽性率60%)、第8回目調査(9月11日)まで2-ME感受性抗体が検出されている。

保毒蚊が生後4~6ヶ月の免疫のない豚を吸血することで豚はJEVに感染し、2~3日の潜伏期を経て約3日間持続するウイルス血症を起こす。このウイルス血症時に吸血した蚊がウイルスに感染し、10~13日の潜伏期を経てウイルスを媒介する³⁾。このことから、2018年度本県ではJEVを保有した蚊が6月には活動を既に開始し、9月以降もウイルスを媒介しながら感染を拡大していたと推察される。

例年調査開始時期が7月初旬であるが、第1回目調査の時点で既にHI抗体陽性の豚が確認されている。集団免疫の現況把握、病原体の検索等の調査を行い、各種疫学資料と併せて検討し、予防接種事業の効果的な運用を図り、さらに、長期的視野に立ち総合的に疾病の流行を予測するという感染症流行予測調査事業の目的から、調査実施要領にあるとおり、可能な限り調査時期を早めることが必要であり、次年度以降の課題となっている。

2 JEV 遺伝子検索

第5回目調査(8月13日)の1頭、第6回目調査(8月28日)の2頭、第7回目調査(9月3日)および第8回目(9月11日)の各1頭の豚血清からJEV遺伝子が確認された。

3 JEV の分離

第6回目調査(8月28日)の2頭、第7回目調査(9月3日)の1頭及び第8回目調査(9月11日)の2頭の豚血清でVero9013細胞にCPEが観察され、培養上清を用いた遺伝子検査の結果、すべてJEV遺伝子が検出された。

4 抗JEV-IgM抗体測定

豚の抗JEV-IgM抗体および2-ME感受性抗体陽性数の推移を図1に示す。第1回目調査(7月2日)で、2頭が抗JEV-IgM抗体陽性であった。その後全調査回を通して抗JEV-IgM抗体陽性個体が確認された。第1回目調査で抗JEV-IgM抗体陽性個体が確認されたため、注意喚起等実施要領に基づき医療政策課から県民に向けた注意喚起が行われた。

2-ME感受性抗体陽性個体の確認が第4回目調査からであることから、いち早くその地域におけるJEVに感染した蚊の活動を把握するうえでは、IgM capture ELISAによるIgM抗体検出がより有用であると考えられる。

まとめ

1 2018年度は第1回目調査(7月2日)の10頭からHI抗体が、第4回目調査(8月7日)の6頭から2-ME感受性抗体が最初に確認された。

2 第5回目調査(8月13日)の1頭、第6回目調査(8月28日)の2頭、第7回目調査(9月3日)および第8回目(9月11日)の各1頭の豚血清からJEV遺伝子が確認され、第6回目調査(8月28日)の2頭、第7回目調査(9月3日)の1頭及び第8回目調査(9月11日)の2頭の豚血清からJEVが分離された。

3 2018年度は、第1回目調査(7月2日)で抗JEV-

IgM抗体陽性個体が2頭確認されたため、注意喚起等実施要領に基づき医療政策課から県民に向けた注意喚起が行われた。

謝辞

感染症(日本脳炎)流行予測調査事業にご協力いただいた長崎県中央農業協同組合、佐世保食肉センター株式会社及び佐世保市食肉衛生検査所の関係各位に感謝する。

参考文献

- 1) World Health Organization : Japanese encephalitis (2015), <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/japanese-encephalitis>(2019.4.26 アクセス)
- 2) 山下 綾香, 他:長崎県環境保健研究センター所報 63号, 103-107(2017)
- 3) 小早川隆敏:改定・感染症マニュアル,株式会社マクガイヤ, 239~ 240(1999)