

# 長崎県における日本脳炎の疫学調査 (2019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、浦川 美穂、松本 文昭、田栗 利紹

## Epidemiological Study of Japanese Encephalitis in Nagasaki (2019)

—Surveillance of swine infected by Japanese Encephalitis Virus—

Hiroko OJIMA, Miho URAKAWA, Fumiaki MATSUMOTO and Toshitsugu TAGURI

キーワード：日本脳炎、アルボウイルス、豚感染、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<sup>1)</sup>。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→豚（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に感染した豚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、豚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、豚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、豚血清からの

JEV遺伝子の検出ならびに豚血清中の抗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

6月上旬～9月下旬に計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<sup>2)</sup>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ウェル

表1 2019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		
6/3	10	10								0	0
6/25	10	10								0	0
7/9	10			2	7	1				100	0
7/23	10	4	3	3						60	0
8/5	10	1	1	7					1	90	100
8/20	10		1				1	2	6	100	67
9/2	10						1	5	4	100	0
9/24	10	1				1	3	3	2	90	11

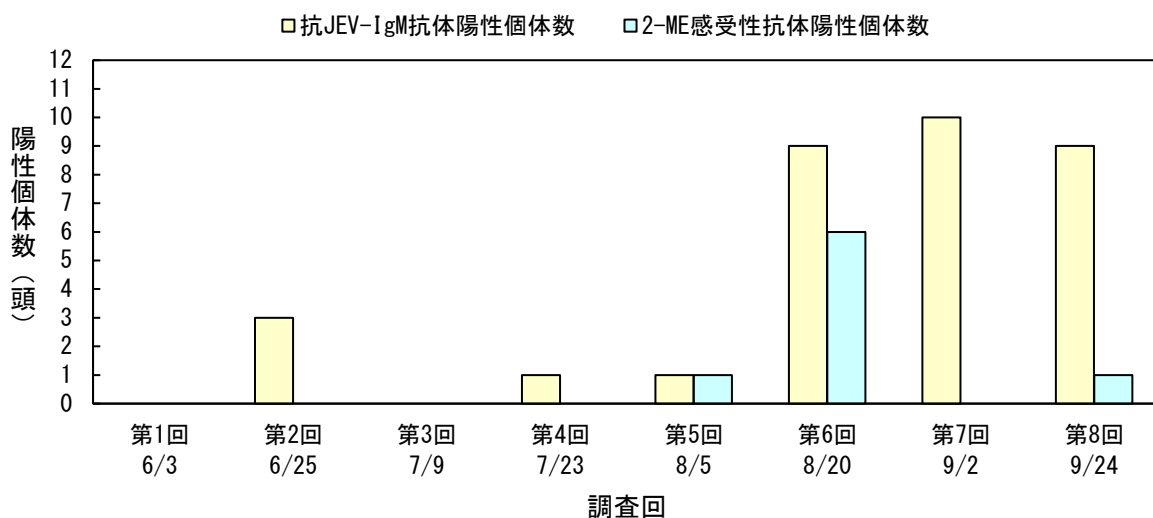


図1 豚の抗JEV-IgM抗体及び2-ME感受性抗体陽性個体数の推移

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は上記遺伝子検索法によりJEV分離を確認することとした。

#### 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<sup>2)</sup>。

### 調査結果及び考察

#### 1 感染源調査

2019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。

2019年度は、第2回目調査 (6月25日) までHI抗体陽性の豚は確認されず、第3回目調査 (7月9日) において豚10頭すべてでHI抗体陽性となった (陽性率100%)。しかし、その後の調査では例年全調査対象豚でHI抗体陽性であるのに対し、陽性率は60%~100%で推移した。最近の感染の指標となる2-ME感受性抗体については、第5回目調査 (8月5日) の1頭から検出され、その後第6回目調査 (8月20日) および第8回目調査 (9月24日) で検出された。

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<sup>3)</sup>。このことから2019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。

例年と異なり今年度は特に7月下旬におけるHI抗体陽性率の低さが目立った。夏季のJEV活動状況は種々の気候要因によって影響される<sup>3)</sup>が、気象庁のデータによると2019年諫早地区7月における日降水量1 mm以上の日数、月降水量はそれぞれ16日と517 mmであり、2018年7月の8日と421 mmに比べ多かった。雨の影響により媒介蚊の活動が減少することがHI抗体陽性率の低さの要因の一つである可能性も考えられた。

例年調査開始時期が7月初旬であったが、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おり、調査実施要領にあるとおり、調査時期を早めることが課題となっていた。今年度より調査開始時期を6月上旬に早めて実施することができた。

## 2 JEV遺伝子検索

第4回目調査（7月23日）の1頭の豚血清からJEV遺伝子が確認された。

## 3 JEVの分離

全調査対象豚からJEVは分離されなかった。

## 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2回目調査（6月25日）で、2頭が抗JEV-IgM抗体陽性であった。その後第3回目調査（7月9日）を除いて全調査回を通して抗JEV-IgM抗体陽性個体が確認された。第2回目調査（6月25日）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へ報告した。

2-ME感受性抗体陽性個体の確認が第5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 2019年度は第3回目調査（7月9日）の10頭からHI抗体が、第5回目調査（8月5日）の1頭から2-ME感受性抗体が最初に確認された。

2 第4回目調査（7月23日）の1頭の豚血清からJEV遺伝子が確認された。全調査対象豚血清からJEVは分離されなかった。

## 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 (2019), <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/japanese-encephalitis>(2020.7.2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)
- 4) 倉根 一郎:平成26年度\_環境研究総合推進費終了成果報告書(S-8-1(8))