

[ノート]

1992年～2006年の兵庫県における日本脳炎ウイルスの自然生態

山岡政興* 押部智宏

Natural Behavior of Japanese Encephalitis Virus in Hyogo Prefecture
between 1992 and 2006

Masaoki YAMAOKA* and Tomohiro OSHIBE

*Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural Institute of
Public Health and Environmental Sciences, 2-1-29, Arata-cho,
Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan*

Natural behavior of Japanese encephalitis (JE) virus in Hyogo prefecture between 1992 and 2006 was examined for the occurrence of JE patients and the surveillance of antibody in swine sera. Whereas four patients occurred during 1992 and 1994, no patient observed after 1995. The antibody to JE virus was detected every year in swine sera, but the appearance date and prevalence patterns were different considerably. The JE virus has a transmission cycle between amplifier pigs and vector mosquitoes from June to November and the long period of natural cycle gives a chance to transmit JE virus.

I はじめに

日本脳炎(日脳)は、水田などで発生したコガタアカイエカによって媒介されるフラビウイルス科に属する日脳ウイルスによって起こるウイルス感染症である。この蚊は日本全土に生息し、5月頃おもに水田で発生し、発生数は8月ごろ最大となり、しだいに減少して10月ごろからほとんど見られなくなる。したがって日脳はコガタアカイエカが発生してから見られる夏の感染症である。日脳ウイルスが流行閑期にどこに潜んでいるのか明らかではないが、いったん蚊と豚の間に出現すると蚊が豚を吸血する際に豚を感染させる。ウイルスは豚の体内でよく増殖し、次にウイルス血症状態の豚を吸血した蚊によって他の多くの豚に感染が広がる。人はこの豚を吸血した

蚊によって感染することが観察され¹⁾、人感染に先んずる豚の日脳感染を監視することによって人への流行を予測することができ、豚における日脳ウイルス抗体の保有調査が厚労省の流行予測事業として行われてきた^{2, 3)}。

人はほとんどが不顕性感染であるが、脳炎を発症すると3割は死亡し、同じくらいが後遺症を残す。一方、豚は妊娠豚では死産を起こすことが知られているが、一般的には症状を示さない²⁾。わが国では1950～1960年代にかけて毎年数千人の患者発生が報告されていたが、1970～1980年代になると数十人に、1992年以降は毎年一桁まで減少してきた⁴⁾。兵庫県においても日脳患者は大きく減少し、1995年以降患者発生は報告されていない。

ここでは1992年から2006年までの15年間の厚労省の流行予測事業をもとに行った成績をまとめた。われわれは、兵庫県内産の豚が減少する中で毎年の調査が地域差により、流行状況が正確に把握できないことを避けるために出来るだけ飼育場を固定したが、年によっては地域差を確認する調査も入れて行った。また、調査期間もその年の流行状況がとらえられるまで延長して行った。

感染症部

* 別刷請求先：〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町2-1-29

兵庫県立健康環境科学研究所

感染症部 山岡政興

II 材料および方法

1. 被検豚血清

兵庫県内産で6ヶ月齢の豚から血清を採取した。1992年の検体は小規模の飼育農家の豚を集めて屠場に送るシステムで採取された淡路島の豚血清で採取日より飼育場による差が見られた。そこで、1993年から調査期間中は同じ飼育場の豚が供給される北播磨の飼育場を選定した。しかしながら阪神淡路大震災で1995年以後は、それまでの3年間とは異なる西播磨のほぼ中央に位置する飼育場の豚を対象に日脳の自然生態を調査した。ただし近年兵庫県内産の豚の飼育頭数は減少傾向にあり、飼育期間をとおして1つの飼育場の検体を使用することが出来ない場合がある。1999年の10月20日と11月16日は姫路市内の飼育場からの検体で、それ以外の6回は1995年以後の中播磨の豚である。2002年は7月22日の1回目から3回と5回目の4回は1995年以後の従来の飼育場の豚を対象にしたが、この年の地域差を検討するために4回目と6～8回の4回は南に40km離れた飼育場の豚を対象にした。2004年は中播磨の1995年以後の飼育場とは異なる2ヶ所の飼育場の豚を調査ごとに半数づつ供した。2005年は3ヶ所の飼育場の豚を検査対象とした。すなわち7月

14日と9月1日は姫路市内、8月4日と9月15日は中播磨の飼育場で1995年からの9年間とは異なる。8月25日と10月13日は、但馬の同じ飼育場の検体である。2006年8月2日と11日の2回は但馬の飼育豚を対象にし、それ以外は1995年以後の中播磨の飼育場の豚を対象とした。検査頭数は1992～1994年までは毎回20頭を調査した。それ以後は1回あたり15頭を目安とし、10～20頭から採血した。

2. 日脳ウイルスに対するHI抗体の測定

ガチョウ血球を用いた赤血球凝集抑制 (HI) 抗体を測定した。HI試験法は定法に従って行った²⁾。すなわち抗原は市販の日本脳炎CF、HI抗原 (JaGAR #01株) (デンカ生研) を使用した。豚血清中のインヒビターはアセトン処理、非働化およびガチョウ血球で吸収し、処理後は1:10希釈血清となる。HI抗体価は1:10希釈血清から2倍階段希釈し、反応のあった最終の数値で示した。感染の初期状態を示すIgM抗体は、無処理血清でのHI抗体価より2-ME処理した血清での抗体価が3管以上低下したものを陽性と判定した。従って無処理で1:40のHI抗体価以上の血清について感受性の有無を調べ、1:20以下はこの処理でクラス分けは出来ないため、抗

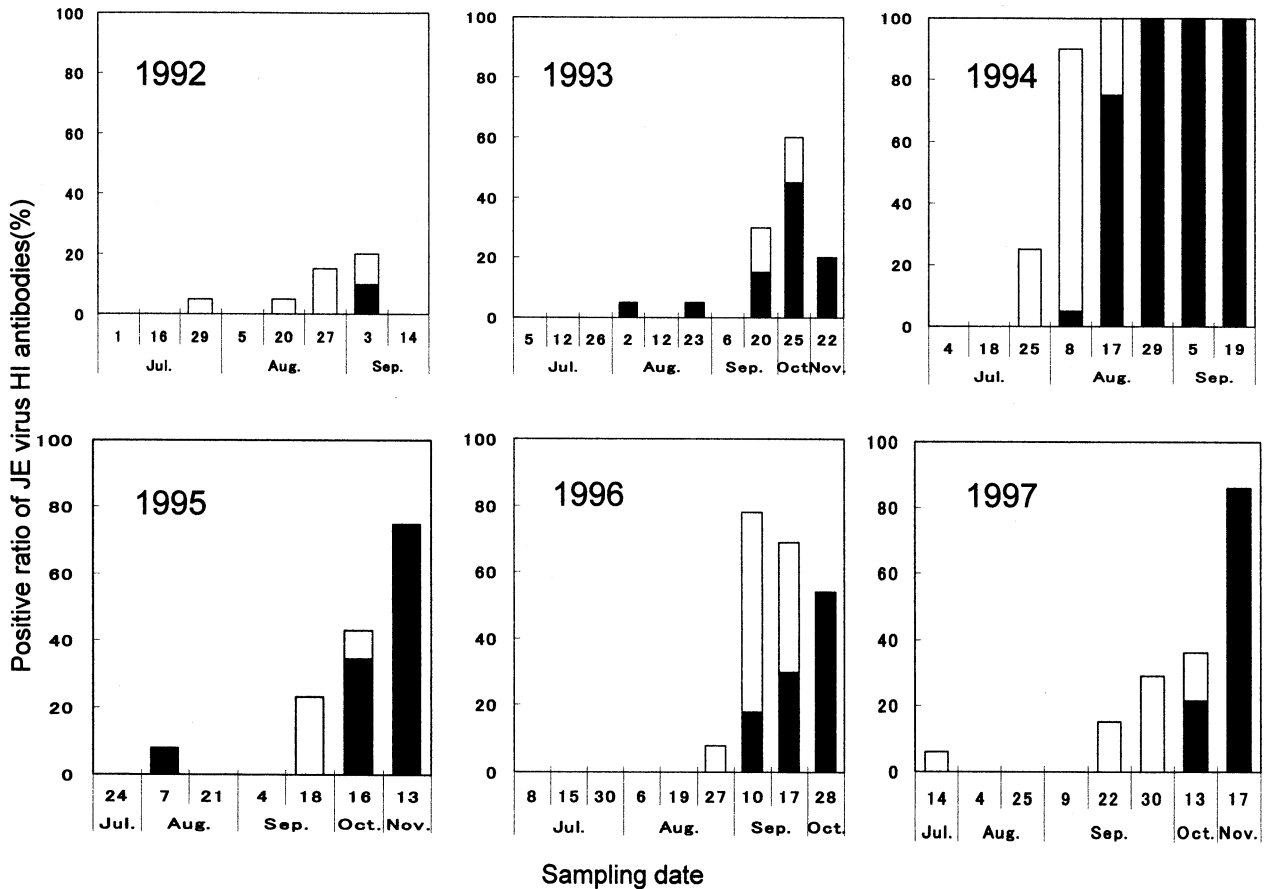


Fig. 1 Time evolution of JE virus antibodies in swine sera in Hyogo prefecture, 1992 to 1997. Abscissa indicate sampling date of swine sera and ordinate indicate positive ratio of JE virus HI antibodies. Closed quadrilateral indicate IgG class antibodies and open quadrilateral indicate IgM class antibodies.

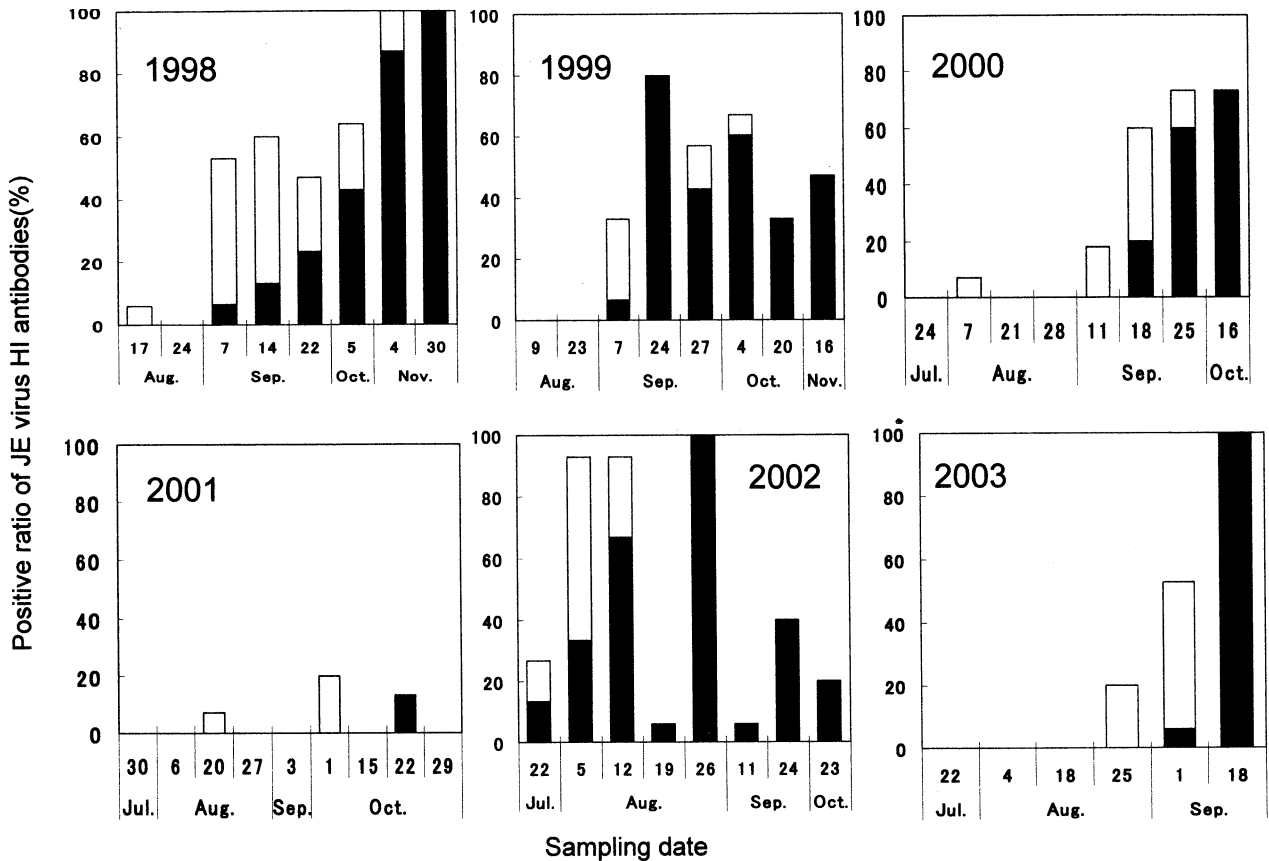


Fig. 2 Time evolution of JE virus antibodies in swine sera in Hyogo prefecture, 1998 to 2003. Other legends are the same as Fig. 1.

体のクラスを問わない日脳HI抗体として示した。

Ⅲ 結果および考察

1. 1992年から1997年の日脳ウイルス抗体の変動

1992年から2006年まで15年の調査のうち最初の6年間の結果をFig. 1に示す。1992年は7月29日に1頭(5%)で1:80の日脳抗体が検出され、感染初期抗体の2ME感受性抗体であった。8月20日は同じ結果で、以後抗体陽性率は少しずつ上昇し、9月3日には4頭(20%)が陽性であり、そのうち2頭は2ME処理に反応しないIgG抗体であった。しかし、続く9月14日に日脳ウイルス抗体は全く検出されず、飼育場あるいは個体による差が見られた。

飼育場を固定した1993年は8月に入って2日と23日に1:320と1:640以上の抗体価を検出し、いずれもIgG抗体であった。9月に入り20日の6頭に日脳ウイルス抗体が出現し、1:10の2頭以外の4頭はいずれも1:640以上で、そのうち2頭はIgM抗体であった。それから1ヵ月後の10月25日に陽性検体は60%へと上昇し、本格的な流行は9月中旬から始まったことが示された。

1994年はFig. 1のとおり1993年とまったく異なった流

行状況を示した。7月の3回目の25日に5頭に日脳抗体が検出され1:20の1頭を除く4頭はすべて2ME処理に感受性のIgM抗体で、日脳ウイルスが蚊と豚をサイクルし始めた。8月8日に90%、17日には100%に達し、以後9月19日までの3回に検査した60頭はすべて日脳抗体を持っており、すべてがIgG抗体であった。1993年と1994年は同一の飼育場の豚を対象にした。同じ飼育場でも年によって流行の時期と規模が大きく異なっていた。

1995年から1997年の3年間は良く似た流行パターンが見られた。1995年は8月7日に1:80の日脳抗体が検出されたが、本格的な流行は1993年とほぼ同時期の9月から始まり、11月まで調査を継続したが陽性率は100%に達しなかった。本格的な流行が8月終わりから9月半ばの秋口と1994年に比べて遅れて始まったこと、陽性率が100%に達しなかったことは1995年からの3年間に共通して見られた。日脳が大きな問題であった1960年代は7月には蚊と豚の間で日脳ウイルスの感染が見られ豚は100%感染した⁵⁾。そのころに比べると2ヵ月ほど日脳ウイルスの伝播が遅れている。9月にずれこめばそれ以後の媒介蚊の発生は季節とともに減少し、それに従って人が感染する機会が減ることになる。

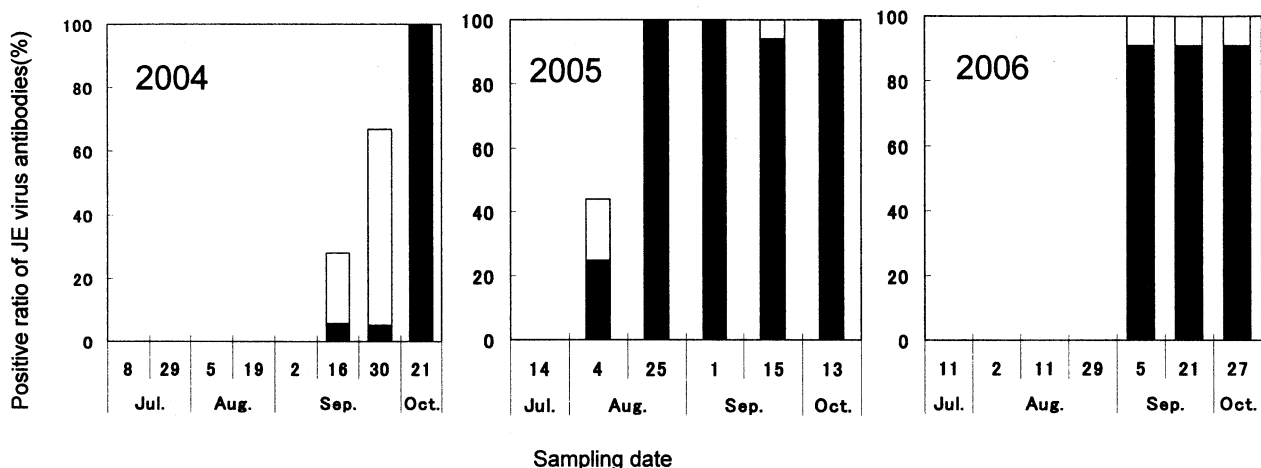


Fig. 3 Time evolution of JE virus antibodies in swine sera in Hyogo prefecture, 2004 to 2006. Other legends are the same as Fig. 1.

2. 1998年から2003年の日脳ウイルス抗体の変動

1998年から2003年の6年間の豚における日脳ウイルス抗体の変動はFig. 2のとおりである。検査対象は1995年から1997年までと同じ中播磨の飼育場の豚である。6年間のうち1998年から2000年までと2003年の4年間は、本格的に豚の間で日脳ウイルスが流行し始めたのは1994年からの3年間とほぼ同様に、つまりこの中播磨の飼育場では9年間のうち7年間は秋口になって日脳ウイルスが蚊と豚の間でサイクルし始めた。2001年は1:10の日脳抗体が8月20日に検出されたものの、日脳ウイルスの活動はさらに遅れ、10月になって3頭に1:160以上で何れもIgMクラスの抗体が検出された。しかし、10月に調査した4回を含めて検出されたのは1回15頭を対象にした9回の調査で6頭(4%)に止まり、調査した15年間で最も日脳ウイルスの活動は弱かった。これに対して2002年は調査を開始した7月22日にすでに15頭中4頭が1:320以上の抗体価を示し、50%はIgG抗体であり、8月26日にはすべての豚が抗体陽性に転じた。同じ飼育場でありながら、調査した年により極端な流行規模の変化は1993年と1994年にも見られた。また2002年は、大流行が見られた中播磨の飼育場から40キロ南の飼育場ではFig. 2のとおり8月19日と9月から10月にかけての4回の抗体保有調査から、小流行であったことを示され、調査地によってかなりばらつきが見られた。

調査した年のすべてで日脳ウイルス抗体の陽性率のピークを捉えたわけではないが、調査した年に100%の抗体保有に達したのは1998年2002年2003年と3回あり、1998年は8月17日にIgM抗体が検出されてから11月4日まで延べ4ヶ月間の長期にわたり、蚊の中で日脳ウイルスが存続し続けた。IgM抗体が長期にわたって検出されることはそれだけウイルスが蚊と豚の間をサイクルすることを示唆している。また、すべての豚が100%陽転しな

Table 1 The number of JE patients and dates of onset of illness from 1992 to 2006

Year	No. of patients	Dates of onset of illness
1992	1	Aug. 27
1993	1	Jun. 28
1994	2	Aug. 13, Sep. 29
1995~2006	0	—

い状態はそのまま感染機会が長期にわたって続くことを意味している。

3. 2004年から2006年の日脳ウイルス抗体の変動

最近3年間の豚血清中の日脳ウイルス抗体の変動はFig. 3のとおりである。本格流行の始まった時期は2004年と2006年は9月で2005年は8月初めと異なるがいずれの年も100%抗体は陽転していた。2005年はほぼ兵庫県全体に分布する3ヶ所の飼育場の豚を対象にした。本格的な流行が8月4日から始まり8月25日以降100%を示し日脳ウイルス抗体はスムーズに変動したことから、地域差は認められずほぼ兵庫県全域で大きな流行があったことを示唆している。この年は全国的にも豚の間で比較的大きな流行が見られた。

4. 日脳患者の発生数の変動

1992年から2006年に兵庫県内で日脳による感染が確認された患者数と発病月日をTable 1に示した。1992年からの3年間で4人の患者が発生したが1995年以降2006年まで報告されなかった。1993年に姫路市で確認された27歳の女性は6月28日に発病した。この年の豚での本格流行は9月の中旬である。本格流行に先立って8月2日と23日に1頭ずつであるが、1:320以上の抗体価を示すIgG抗体が検出されており、1ヶ月以上前に豚の間では

小さな流行があったことが示されており、患者はこの時期に蚊と豚の間の日脳ウイルスのサイクルの中にいた可能性がある。一方、1994年の1人の患者発生は1993年と対照的に9月終わりであった。この年中播磨の飼育場では7月終わりに本格的流行が始まり8月末には100%抗体陽性ですべてIgG抗体であった。この飼育場周辺ではこの時期に保毒蚊はいないことを意味する。9月も終わりに患者が発生したのは、大流行と小流行の顕著な地域差が見られた2002年のような状況が1994年にもあったためと推測される。近年の患者は、大流行した1960年代の傾向とは明らかに異なり、流行時期が遅れていることはIgM抗体検出の遷延化と平行して見られ、1978年から1983年までのELISA抗体による解析の中でも示されていた⁶⁾。1992年から2006年までを1つのパネルとして日脳ウイルスの自然生態を、患者発生の最も早かった1993年の6月と豚集団における1998年11月のIgM抗体の検出までの患者と豚の両方から総合して考えると、日脳ウイルスは6月の初夏から晩秋の11月まで活動していると考えることが合理的に思える。このことは近年のワクチン接種の低下などから日脳に感染する危険性は長期にわたって存在していることを示している。

兵庫県では1995年以降日脳患者は報告されていないが、自然界における蚊と豚のサイクルはこの15年間絶えることはなかった。日脳ウイルスは5つの遺伝子型に分類され、従来わが国ではIII型ウイルスが分離されてきたが、1991年ごろからI型ウイルスが優勢になっていると報告されている⁷⁾。一方、豚から分離される日脳ウイルスの中に、3'-非翻訳領域に9~15塩基欠失しているウイルスがあり、細胞での増殖効率に影響していることが示されている⁸⁾。あるいは自然界における流行型の変化や欠失を伴う変異が人の病原性に関与していて、そのために患者の発生に影響している可能性もある。

IV ま と め

自然界における日本脳炎ウイルスの活動を1992年から2006年まで患者の発生状況および豚血清中の日脳抗体の検出から調べた。1992年からの3年間で4人の日脳患者が発生したが、1995年以降患者の発生は見られなかった。豚では、抗体の出現時期や流行規模は年によりかなり異なり、同じ年でも明確な地域差が見られるが、すべての年で血清中に日脳ウイルス抗体が検出された。15年間の日脳ウイルスの流行状況を1つの時系列に並べると、日

脳ウイルスは6月から晩秋の11月まで蚊と豚の間をサイクルし、感染の危険性は長期にわたって存在することが示された。

謝 辞

長期にわたり、検体採取に協力して下さいました西宮および西播磨食肉衛生検査所および疾病対策課の関係者に深く感謝致します。

文 献

- 1) Konno, J. Endo, K. Agatsuma, H. and Ishida N : Cyclic outbreak of Japanese encephalitis among pigs and humans. *American Journal of Epidemiology* **84**, 292-300 (1966)
- 2) 大谷明, 清水文七: アルボウイルス. 国立予防衛生研究所学友会編, ウイルス実験学各論, 改定二版, p 185-224, 丸善株式会社, 東京 (1982)
- 3) 国立感染症研究所, ウイルス第一部第二室, 感染症情報センター第三室: 日本脳炎. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター, 平成17年度 (2005年度) 感染症流行予測調査報告書, p100-112, (平成19年2月)
- 4) 病原微生物検出情報, Vol 24, No7 (2003)
- 5) Konno, J. Endo, K. and Ishida N : The nature of antibody in swine naturally infected with Japanese encephalitis virus. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **124**, 73-75 (1967)
- 6) Yamaoka, M. and Konishi, E : Recent changes in prevalence pattern of Japanese encephalitis virus in Hyogo prefecture, Japan, using a two-dimensional distribution of IgG and IgM class antibody levels in swine sera. *Journal of Medical Virology* **17**, 1-7 (1985)
- 7) 石川知弘ら: 最近の日本脳炎ウイルス分離株に見られる3'-非翻訳領域の欠失が誘導する培養細胞でのウイルス増殖抑制, 第40回日本脳炎生態学研究会講演要旨集, P12 (2005)
- 8) 原田誠也ら: 熊本県における日本脳炎ウイルスと日本脳炎患者, 第28回衛生微生物技術協議会講演抄録, P 61 (2007), 岡山