

表. 麻疹発生DBの登録内容

都道府県	
市区町村	
データベースへの報告日	
診察日	
発症日(発熱日)	
症例の性別と年齢	性別: 男 ・ 女 年齢: 歳 ヶ月
検査依頼の有無	有 無
検査方法と結果(後日御報告下さっても結構です)	分離・培養(咽頭ぬぐい液) 分離・培養(血液) RT-PCR法(咽頭ぬぐい液) RT-PCR法(血液) 麻疹IgM抗体 麻疹IgG抗体の陽転 麻疹IgG抗体の有意上昇 その他
ワクチン接種歴(1回目)	不明 単抗原 MR MMR 未接種
ワクチン接種年月日(1回目)(後日御報告下さっても結構です)	
ワクチン製造メーカー(1回目)(後日御報告下さっても結構です)	武田 阪大微研 北里 千葉
ワクチンロットNo. (1回目)(後日御報告下さっても結構です)	
ワクチン接種歴(2回目)	不明 単抗原 MR MMR 未接種
ワクチン接種年月日(2回目)(後日御報告下さっても結構です)	
ワクチン製造メーカー(2回目)(後日御報告下さっても結構です)	武田 阪大微研 北里 千葉

ワクチンロットNo. (2回目)(後日御報告下さっても結構です)	
報告基準(後日御報告下さっても結構です)	臨床症状のみ 検査の結果のみ 臨床症状と検査の両方
転帰(後日御報告下さい)	外来治療で回復 入院治療で回復 合併症あり(内容についてはメモ欄に) 後遺症あり(内容についてはメモ欄に) 死亡(理由についてはメモ欄に) 麻疹を否定(理由についてはメモ欄に)
報告者氏名	
電子メールアドレス	
メモ(関係者公開用)	※ 学校名、推定される感染源、流行状況、また症状や検査の詳細などはこちらに記入してください(なお、クラス名等個人が特定化されるおそれのある場合は下記の非公開メモにご記入ください)
メモ(非公開・個人用)	

図1：都道府県の表示



図2：市区町村の表示

1. の4 都府の沖島級における市町村毎の報告地図



図3：年齢別登録数

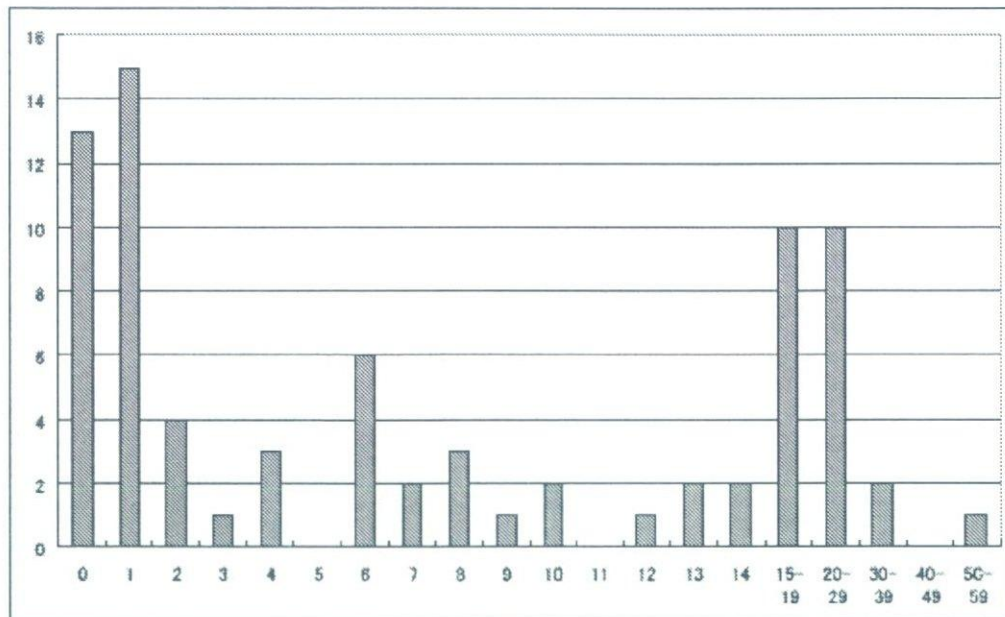


図4：都道府県別登録数

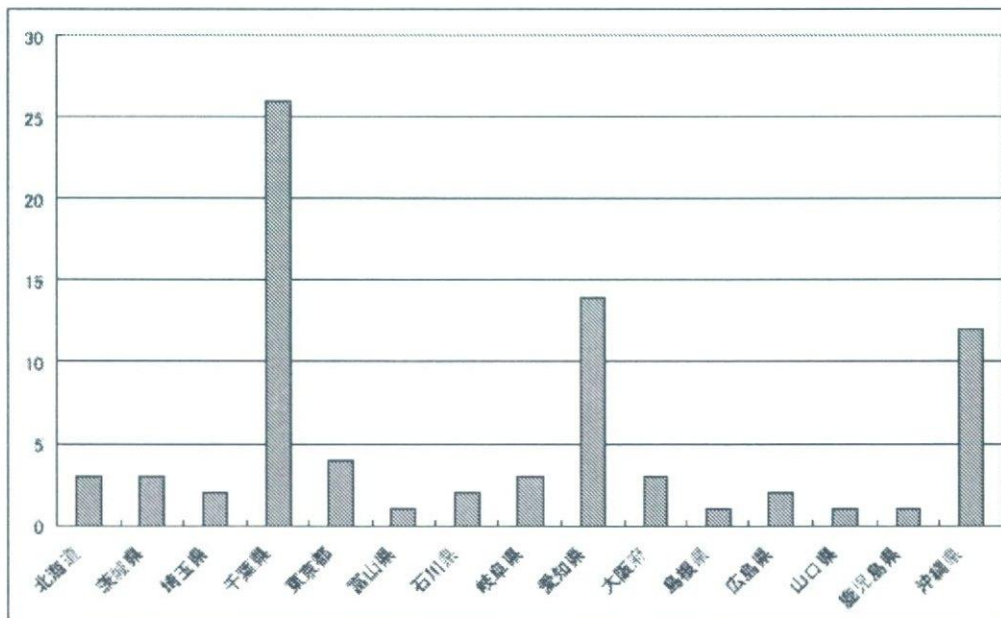


図5：ワクチン接種歴

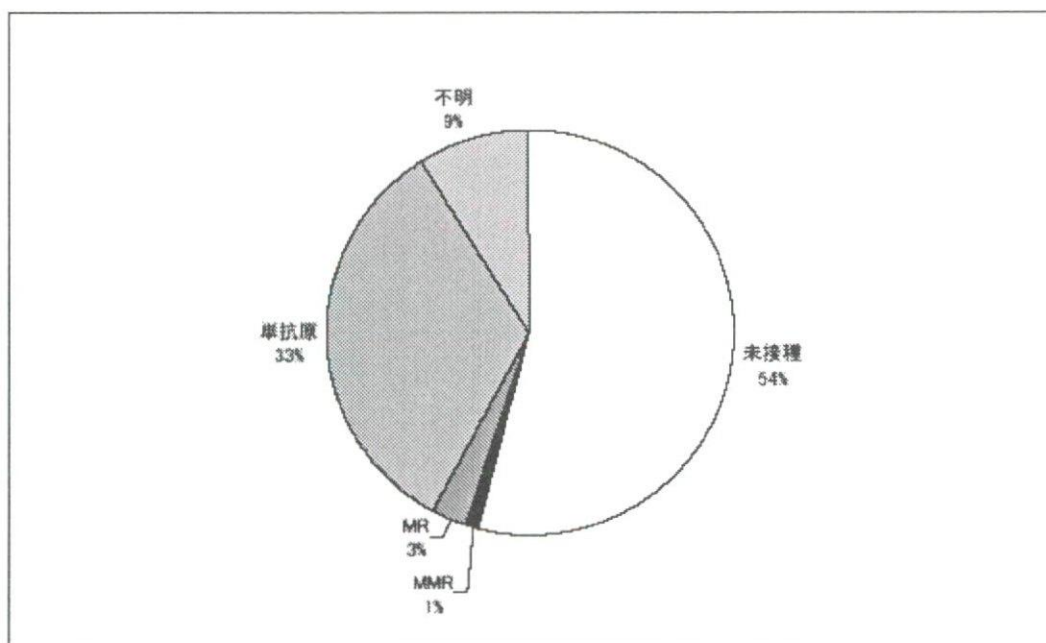


図6：診断から登録までの期間

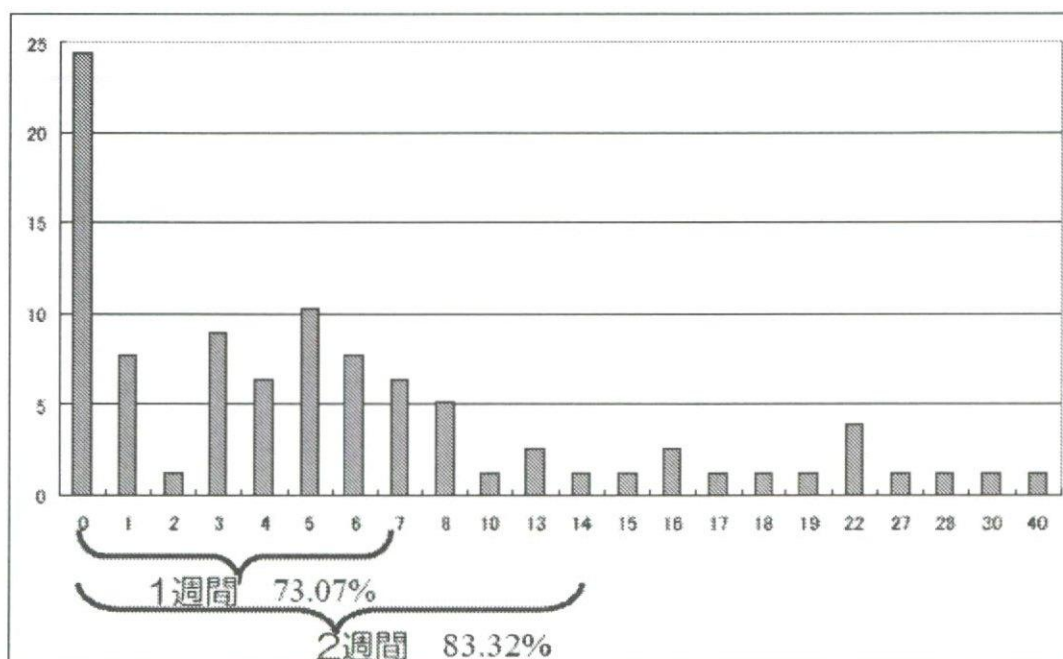
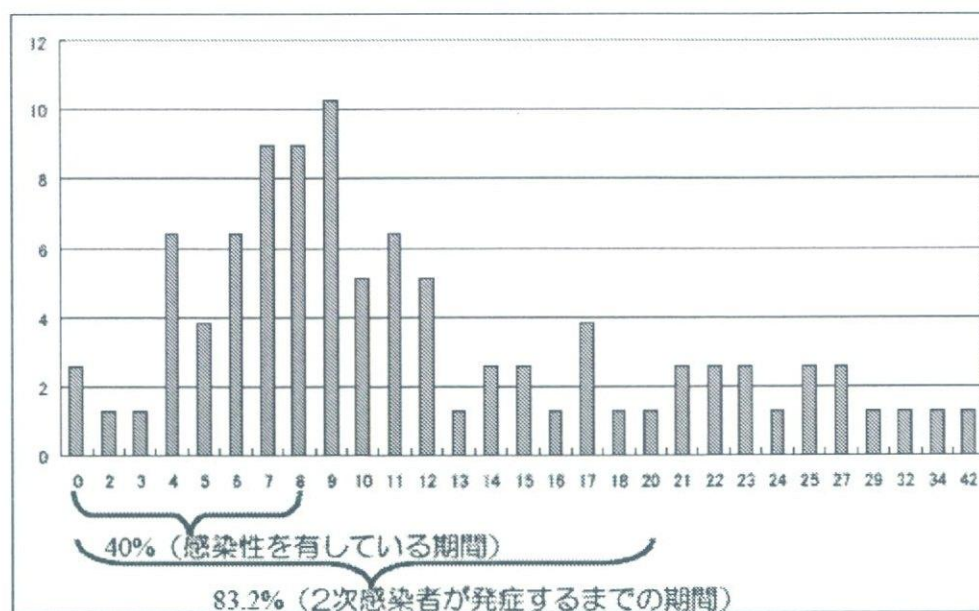


図7：発症から登録までの期間



平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業
予防接種で予防可能疾患の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究

分担報告書「水痘ワクチンによる水痘の軽症化の有効性と医療経済学的検討」

松岡伊津夫 松岡小児科医院
松岡明子 松岡小児科医院
鷹尾友紀子 財団法人阪大微生物病研究会
組橋英明 財団法人阪大微生物病研究会
大日康史 国立感染症研究所感染症情報センター
菅原民枝 国立感染症研究所感染症情報センター

要約

目的：水痘ワクチンは有効率は高いが、その感染予防に加えて、ワクチンによる軽症化効果、またその医療経済学的帰結を検討する。その上で水痘ワクチンによる軽症化も含めて、その費用対効果を検討する。

方法：2005 年 4～7 月に水痘の流行が発生した幼稚園を対象として、流行時の水痘罹患者に限定して追跡的に 2006 年 10 月初旬に、アンケート方式によって実施した。軽症化を定義する重症化の指標としては、発熱、発疹数、医師による重症かどうかの診断、の 3 つの軸を併用的に用いる。医療経済学的な意味での軽症化効果としては、看護のための家族の休業日数、家族看護者の年齢、職業からその機会費用を推測する。

結果：水痘ワクチンの軽症化効果は、ほぼ全ての重症化の指標においても有意であり有効性は 0.84-0.94 であった。受診回数ではワクチン接種群・未接種群ではほぼ差がないが、家族看護日数では接種群は未接種群と比べて平均 1.1 日の有意に短かった。その結果、医療費では有意な差がないものの家族看護費用では有意な差があり、合計の疾病負担では 8,966 円、接種群の方が軽いと推測された。

考察：水痘罹患のピークは幼稚園就園以前であることから、また地域性等からもこの調査結果を全国に拡大することは危険であるが、水痘罹患の疾病負担は 382.6 億円と推定された。仮に定期接種化され 90%の接種率を実現した場合、便益費用比は 1.48 となる。これは先行研究 2 からは大きく下回るが、なお政策的に有効である。

A. 研究目的

水痘ワクチンは有効率が 80%とされ、その定期接種に向けての議論が行われ¹⁾、また定期接種化された場合の費用対効果についても検討されており、その政策的有効性も非常に高いことが示された²⁾。しかしながらここでは、ワクチン不全によって罹患した者の病態は、ワクチン未接種者の罹患と同じであると仮定されており、ワクチンによる軽症化効果、またその医療経済学的帰結を検討する。その上で水痘ワクチンによる軽症化も含めて、その費用対効果を検討する。

チンによる軽症化効果、またその医療経済学的帰結を検討する。その上で水痘ワクチンによる軽症化も含めて、その費用対効果を検討する。

B. 材料と方法

2005 年 4～7 月に水痘の流行が発生した M 幼稚園（2005 年当時、494 人（年少 174 人、年中 159 人、年長 161 人））を対象

とする。この流行状況は先行研究³⁾によって調査が2005年7月下旬に行われ報告されており、そこから感染予防率、つまりワクチン不全の割合を得る。

本研究での調査は、流行時の水痘罹患者に限定して追跡的に2006年10月初旬に、アンケート方式によって実施した。調査内容は、接種の有無、罹患の有無、重症度(体温、発疹数、医師の診断)、受診の回数、家族看護日数、家族看護者、家族看護者の年齢及び職業である。

分析手法としては、まず感染予防効果は先行研究から引用する³⁾。軽症化効果を検討する。軽症化を定義する重症化の指標としては、発熱、発疹数、医師による重症かどうかの診断、の3つの軸を併用的に用いる。医療経済学的な意味での軽症化効果としては、看護のための家族の休業日数、家族看護者の年齢、職業からその機会費用を推測する。その際の賃金は、先行研究による²⁾。また、通院回数、患児の年齢から、先行研究²⁾で調査された医療費の分布に合わせて、医療費を推定する。家族看護費用、医療費及びその合計に関しての接種群と非接種群での比較を行う。

また、目安のために今回の推定に基づいて接種率を30%として接種者の水痘罹患に伴う疾病負担と、未接種者の水痘罹患に伴う疾病負担の日本全体での推定を求める。

◆倫理的配慮

第一回目調査は調査票、データは破棄されており、文献からの検討である。第2回調査は、保護者による調査票記入と水痘による欠席期間の幼稚園への問い合わせについての同意を書面にて得る。回収後、同意書と調査票、休園日数の情報は分離し、同意書は財団法人阪大微生物病研究会で保管、データは国立感染症研究所で処理を行い匿名化をはかる。なお、本稿は国立感染症研究所医学研究倫理審査を受け、承認されている(平成17年8月25日付受付番号68「予防接種の需要に関する調

査・研究」)。

C.結果

調査の回収状況を表1に示す。先行研究では感染予防における有効率(表2)は58.2(95%CI[38.8,71.5])%とされている。

水痘ワクチンの軽症化効果(表3)は、未罹患者を含まない医師の診断による場合のみが有意ではないが、それ以外は全て有意であり未罹患者を含んだ場合の軽症化における有効性は0.84-0.94であった。

受診回数ではワクチン接種群・未接種群でほぼ差がないが(図1)、家族看護日数では接種群は未接種群と比べて平均1.1日の有意に短かった(図2)。また図3-5に両群の家族看護日数の違いを重症度別に示している。

表4に両群における家族看護日数、医療費及びその合計を示しており、医療費では有意な差がないものの家族看護費用では有意な差があり、合計の疾病負担は8,966円、接種群の方が軽いと推定された。そこから日本全体では未接種者での水痘罹患の疾病負担が336.7億円、接種者での水痘罹患の疾病負担が45.9億円と推定され、合計382.6億円と推定された。

D 考察

本稿での研究内容と離れるが先行研究における感染予防における有効率は一般的に言われている水痘ワクチンの有効率約70~80%⁴⁾に比べ低い。これは幼稚園という濃厚接触の環境での有効性を評価しているためであると推測される。先行研究でもそうした濃厚接触下での有効性が、地域あるいは一般児童における有効性よりも低いことは指摘されている^{5,6)}。また集団が4-6歳と比較的に接種後経過年数が重なることによって二次ワクチン不全の傾向があるのかもしれない⁵⁾。

他方で、軽症化においては有意な有効性を認めた。特に発熱に比べ発疹の程度に、より高い軽

症化効果が見られた。これはそのまま家族看護日数の短さとなって現れた。

しかしながら先行研究²⁾と比べ、家族看護費用が約6割であった。これは対象が幼稚園での流行であるため、保護者の就業率が低く、また年齢が偏っているためであると推測される。また、今回の調査は流行1年後に実施したため思い出しバイアスがあると思われ、そのために家族看護日数が低く出る傾向にあったのかもしれない。

水痘罹患のピークは幼稚園就園以前であることから、また地域性等からもこの調査結果を全国に拡大することは危険であるが、水痘罹患の疾病負担は382.6億円と推定された。これは先行研究²⁾での推定559億円よりも大幅に少ない。仮に定期接種化され90%の接種率を実現した場合、未接種者の疾病負担は現行の1/7、接種者の疾病負担が0.9/0.3=3倍となることから日本全体での疾病負担は185.8億円となる。これは現行の疾病負担から150.9億円の軽減である。他方で定期接種化に伴い接種率が60%ポイント向上した際の接種費用は102億円であることから便益費用比は1.48となる。これは先行研究²⁾での5以上とは大きく下回るが、なお政策的に有効である。

またこの幼稚園に当てはめて考えてみると未接種者 187名の90%が接種したとして、疾病負担の軽減ではかられる増分便益は、187（未接種者）*0.813（未接種者の罹患率）*43733（未接種者の疾病負担:円）-187*0.813*0.418*0.9(接種率)*34767（接種者の疾病負担:円）-187（未接種者）*0.1*0.813（未接種者の罹患率）*43733（未接種者の疾病負担:円）=3995429（円）である。他方で、増分負担は未接種者168名(187名の90%)の接種費用であるので、(8500(ワクチン接種費)+2500(家族看護負担))*187*0.9=1851300円である。その比率である増分便益費用比は2.1582となる。つまり接種にかかる費用の2.16倍は便益を享受することができる。

E. 結論

本稿は、後ろ向きのしかも1年以上経過した段階での調査であることから自ずから限界があると思われる。したがって、本稿の結果からの水痘ワクチンの評価をすることは危険である。しかしながらこのような状況においてもなお1以上の便益費用比が得られたことは特筆に値すると思われる。

今後は、前向きに、発症、病態、家族看護負担を同時にデータ収集する研究が必要である。また増分便益費用比に関しても単にその平均値を求めるだけでなく、その信頼区間、特に95%下限が1を上回っているかどうかを確認する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 論文発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

特になし

参考文献

- [3] 予防接種検討会, 予防接種に関する検討会中間報告書, 2005年3月.
- [4] 菅原民枝、大日康史他「水痘ワクチン定期接種化の費用対効果分析」感染症学雑誌第80巻第3号, pp.212-219, 2006
- [5] 松岡伊津夫、松本明子「松本市のM幼稚園に流行した水痘の疫学的調査とワクチン接種の有無」 予防接種に関する文献集(36) 財団法人予防接種リサーチセンター
- [6] 神谷 齊 他, 水痘ワクチン前方視的調査全国集計(第7報)、平成10年7月、厚生省予

防接種研究班、予防接種リサーチセンター

- [7] Karin Galil M.D., et al, Outbreak of Varicella at A Day-care Center Despite Vaccination, N Engl J Med, Vol. 347, No.24, pp. 1909-1915

神谷 齊 他, 厚生労働科学研究「安全なワクチン確保とその接種方法に関する総合研究報告書」
水痘ワクチン前方視的調査全国集計

表1：アンケートの背景

	第1回調査	第2回調査
目的	水痘ワクチンの有効性 (感染予防・軽症化)を検討する ため	ワクチン接種による経済効果を 検討するため
実施期間	2005年7月下旬	2006年10月初旬
対象者	2005年在籍全園児	2005年在籍全園児のうち、第1回調査 にて水痘罹患と回答した園児170名
実施数	494名	142名
回収数	462枚	117枚
回収率	93.5%	82.4%
棄却数	222名 2005年以前既罹患園児	5名 データ使用の同意が得られなかった
解析数	240枚	112枚 1

表2：感染予防

	接種群	未接種群	計	有効率	95% 信頼区間
罹患	18	152	170	0.582	[0.388, 0.715]
未罹患	35	35	70		
計	53	187	240		

表3：軽症化の有効率

	未罹患者データ を含まず	未罹患者データ を含む
発熱 【発熱の有無】	0.537 [0.763,0.928]	0.840 [0.631,0.930]
発疹 【30個以下、以上】	0.740 [0.690,0.927]	0.910 [0.648,0.977]
医師の診断 【軽い、中くらい& 重い】	0.826 [-0.128,0.973]	0.939 [0.565,0.991]

出典：第2回調査

出典：第1、2回調査³

図1：受診回数の分布

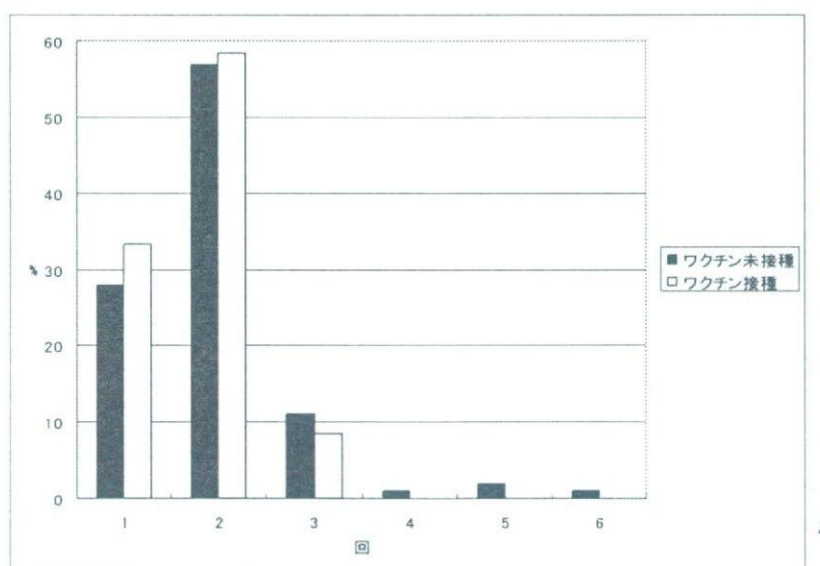
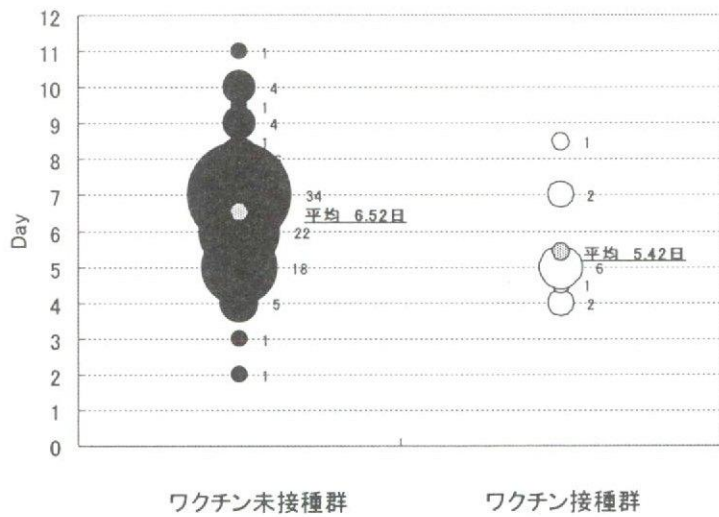


図2：家族看護日数の分布と平均日数の差の検定



5

図3：重症度別家族看護日数（発熱）

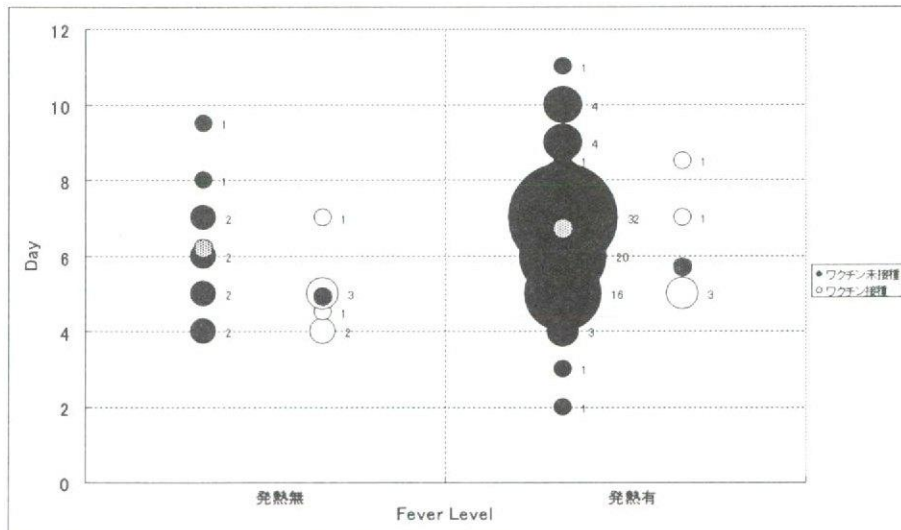


図4：重症度別家族看護日数（発疹数）

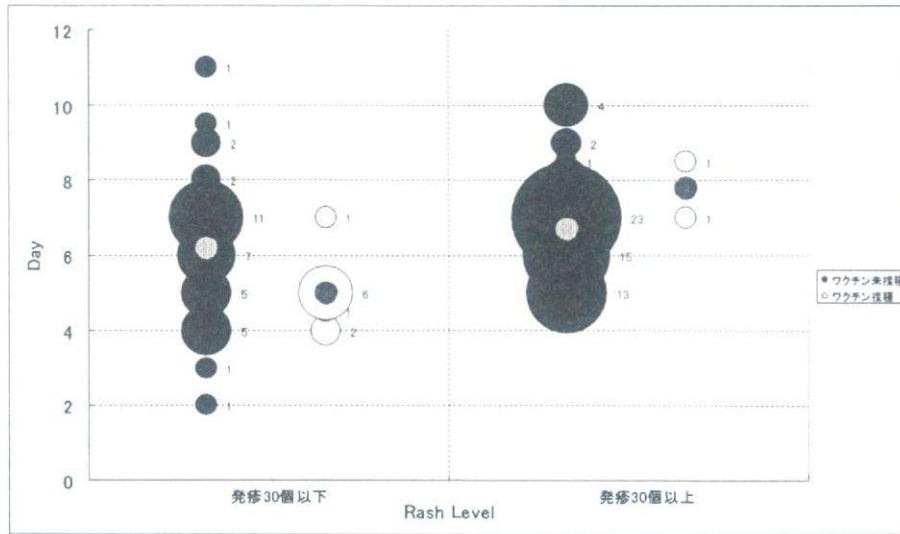


図5：重症度別家族看護日数
(医師の診断)

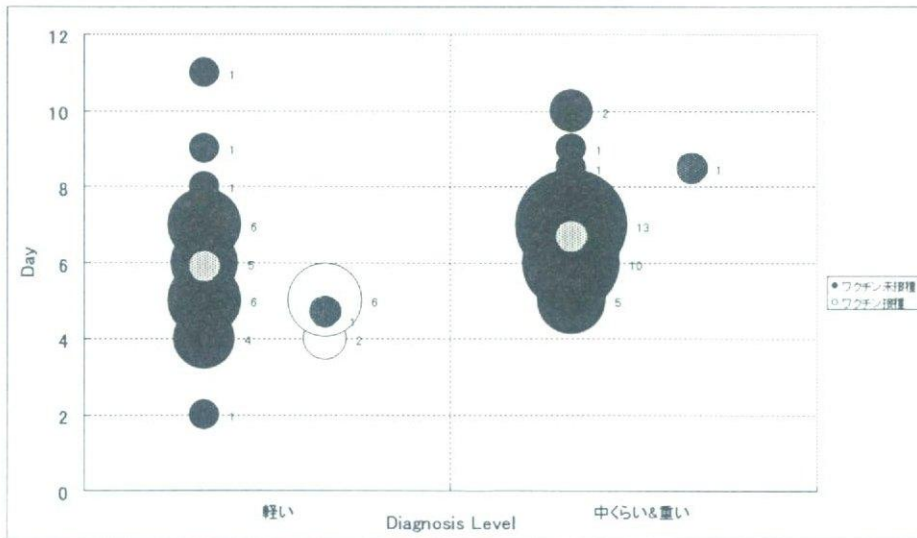


表4：ワクチン接種の有無による
疾病負担

	家族看護費用	医療費	合計
ワクチン未接種群	34,471円	9,269円	43,733円
ワクチン接種群	25,404円	9,296円	34,767円
差	9,067円	-31円	8,966円
確率値	0.000	0.922	0.000

表5：日本全体の疾病負担の推測

ワクチン未接種者の疾病負担	336.7億円
ワクチン接種者の疾病負担	45.9億円

平成 18 年厚生労働省科学研究費補助金新興再興感染症研究事業
「予防接種で予防可能疾患の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究」
主任研究者：岡部信彦 国立感染症研究所 感染症情報センター長

「日本脳炎ウイルス感染症積極的サーベイランス」

ー 沖縄県における急性ウイルス性脳炎・無菌性髄膜炎強化サーベイランスー

協力研究者：中島一敏、多屋馨子、佐藤弘、上野久美 国立感染症研究所感染症情報センター
沖縄県福祉保健部健康増進課：譜久山民子、田盛広三
沖縄県衛生環境研究所微生物室：大野惇
琉球大学医学部病原生物学分野：只野昌之

研究要旨

平成 17 年 5 月 30 日厚生労働省によりだされた「定期の予防接種における日本脳炎ワクチン接種の積極的勧奨の差し控えについて」の勧告により、沖縄県では、2005 年度日本脳炎ワクチン(JEVac)の積極的な接種を中止した。一方、ブタにおける抗日本脳炎抗体陽性率は例年ほぼ 100%となり、時にヒトの症例も発生(平成 3 年以降 4 名)していることから、日本脳炎ウイルス(JEV)感染症の積極的な把握を目的とし、沖縄県全県的な急性脳炎及び無菌性髄膜炎の強化サーベイランスを構築した。本強化サーベイランスは、感染症法に基づく国の感染症発生動向調査の強化、と位置づけ、県内基幹定点病院、保健所、県庁、沖縄県衛生環境研究所微生物室、琉球大学医学部病原生物学分野、国立感染症研究所感染症情報センター間での症例情報、病原体検索用の臨床検体伝達のネットワークを構築した。ブタで JEV 感染が発生する期間に、調査医療機関に入院した無菌性髄膜炎及び急性ウイルス性脳炎の症例を、診断後直ちに報告、同時にウイルス検索目的の臨床検体を提出して頂いた。病原体検索は、沖縄県衛生研究所微生物室、琉球大学医学部病原生物学分野(旧ウイルス学講座)、国立感染症研究所感染症情報センターで分担して行われた。検査結果は、保健所が各医療機関へフィードバックした。

昨年度は、平成 17 年 9 月 15 日から 10 月 31 日を調査期間とし 17 例の報告を受けたが JEV 感染はなかった。今年度は、平成 18 年 7 月 13 日から 10 月 28 日を調査期間とした。20 例から検体提出があった。臨床診断の内訳は、無菌性髄膜炎(流行性耳下腺炎疑い 1 例、手足口病疑い 1 例含む)14 例、ウイルス性脳炎 3 例、その他 3 例(不明熱、レプトスピラ症疑い、情報無し各 1)であった。病原体検索の結果、JEV 感染は確認されなかった。無菌性髄膜炎症例のうち、9 例の臨床検体からウイルスが分離された。分離ウイルスは、Echo18 分離 1 例、Echo30 分離 4 例、EV71 分離 2 例(手足口病症例含む)、型不明ウイルス 2 例(Vero9013 細胞にて、流行性耳下腺炎 1 例含む)であった。急性脳炎症例の臨床検体からは、病原体は検出されなかった。

調査票の未記入など、本サーベイランスの強化改善が必要な点が確認されたが、本研究で構築されたネットワークは日本脳炎ウイルス感染症の把握に非常に有益であり、さらにそれ以外の感染症に対する危機管理上も有益である。今後も、改善、強化しながら継続する必要があると考えられた。

A. 研究背景と目的

平成 17 年 5 月 30 日厚生労働省によりだされた

「定期の予防接種における日本脳炎ワクチン接種の積極的勧奨の差し控えについて」の勧告により、沖縄県では、現在日本脳炎ワクチンの積極的な接種を実施していない。しかし、この厚生労働省の措置はあくまで副反応への懸念からの行政判断であり、日本脳炎の感染リスクと予防接種の効果を考慮したものではなかった。沖縄県は、歴史的にも日本脳炎ウイルスの浸淫地域と考えられており、平成3年には米軍基地内で3名の患者発生、平成10年には1名の報告があった。人の感染源となるブタの日本脳炎ウイルス感染状況調査によると、今年も陽性率は低いながら抗体陽性ブタが確認されており、県内の日本脳炎患者発生が懸念される。一方で、日本脳炎の診断は必ずしも容易では無いと考えられている。事実、上記4症例は商業の衛生検査所で施行された臨床検査では診断が着いておらず、全て琉球大学医学部ウイルス学講座で病原体診断がついたものである。

治療可能かつ重篤な急性脳炎として、単純ヘルペス脳炎があるが、その検査室診断に必要とされる「髄液中のウイルス検出」は保険適応となっておらず、確定診断は容易ではなかった。

日本脳炎ウイルス感染の一部は無菌性髄膜炎の経過をたどる。無菌性髄膜炎の殆どは自然治癒するが、近年、アジア各国でEV71による重篤な中枢神経感染が報告されているが、今年、隣の台湾での発生が確認されている。

医療機関からの迅速報告、積極的な病原体検索を通して、沖縄県における日本脳炎ウイルス感染症の現状を把握する事を主目的、単純ヘルペス脳炎、エンテロウイルスによる無菌性髄膜炎及び脳炎の発生状況の把握を副目的として、平成17年9月、感染症法に基づく急性脳炎、無菌性髄膜炎の強化サーベイランスを開始した。本年度はその2年目である。

B. 研究方法

沖縄県福祉保健部健康増進課及び国立感染症研究所感染症情報センターが主体となり、感染症法に基づく感染症発生動向調査を強化する枠組みを用いた。下記調査期間に下記調査医療機関に入院した無菌性髄膜炎及び急性ウイルス性

脳炎の症例を、診断後直ちに医療機関から保健所へ報告し、ウイルス検索目的の臨床検体を沖縄県環境衛生研究所へ提出して頂いた。(図1)病原体検索は、沖縄県衛生研究所微生物室、琉球大学医学部病原生物分野(旧ウイルス学講座)、国立感染症研究所感染症情報センターで分担して行われた。検査結果は、保健所が各医療機関へフィードバックした。

調査期間

平成17年7月13日から10月28日

症例報告協力医療機関

沖縄県内の全基幹病院定点となっている医療機関: 県立北部病院、県立中部病院、県立南部医療センター、中頭病院(以上沖縄本島)、県立宮古病院(宮古島)、県立八重山病院(石垣島)

症例の報告、情報伝達、検体の搬送

症例診断後(病原体診断確定を待たずに)、直ちに医療機関から保健所への報告を求めた。症例情報は、沖縄県福祉保健部健康増進課がとりまとめ、感染症情報センターが共有した。病原体検索のための臨床検体は、保健所を通じ沖縄県環境衛生研究所へ搬送、分注保管されたのち、必要に応じ、琉球大学医学部病原生物分野(旧ウイルス学講座)、国立感染症研究所感染症情報センターへ一部の検体を搬送することとした。検査結果情報は、県健康増進課が取りまとめ、保健所を通じて医療機関へ還元された。

・ 報告対象症例

平成18年7月13日から10月28日の間に、沖縄県内の基幹病院に入院した、「急性ウイルス性脳炎が疑われる症例」及び「無菌性髄膜炎症例」。症例定義に関しては、感染症発生動向調査における、日本脳炎、急性脳炎、ウエストナイル熱、無菌性髄膜炎の届け出基準(資料1)をもとにした。ただし、病原体検索結果を必要しない、とした。

・ 報告項目

症例人口動態情報、曝露・リスク要因関連情報、症状・経過・診断検査情報などを症例

報告様式(資料2)にて報告を求めた。また、第一報以外に、第二報、転帰確定時報告を求めた。医療機関における検体採取と検体搬送に関しては、検体採取及び搬送ガイドライン(資料3)を作成し、保健所、協力医療機関へ配布した。

検査項目及び病院にて実施する検査

無菌性髄膜炎及び急性ウイルス性脳炎の病原体検索として、医療機関で実施、もしくは外注で実施可能な検査は、各医療機関で実施することを推奨した。本調査における検査実施機関では、病原体診断上重要でかつ保険適応とならないウイルス分離や遺伝子増幅法(PCR等)を、にて実施することを原則とした。

- ・ 本調査において検索対象とした病原体
 - 無菌性髄膜炎;日本脳炎ウイルス感染、(ウエストナイルウイルス感染)、エンテロウイルス感染
 - 急性ウイルス性脳炎;日本脳炎ウイルス感染、(ウエストナイルウイルス感染)、単純ヘルペスウイルス感染、エンテロウイルス感染、アデノウイルス感染

下記の項目については、各医療機関で実施することを推奨した。

- ・ 必要に応じた細菌学的検索
- ・ ペア血清による抗体価検査
- ・ 抗単純ヘルペスウイルス IgG 抗体価の髄液:血清比検査(2-3週間程度空けたペアにて実施)

各検査実施機関における検査項目と方法

- ・ 沖縄県衛生環境研究所

材料および方法

(1) ウイルス分離

供試材料は感染症発生動向調査(動向調査)に基づき、2005年7月13日から10月28日までに県内の7医療機関において、無菌性髄膜炎及び急性ウイルス性脳炎と臨床診断又は疑われた患者の髄液、血清、便検体をウイルス分離に供した。

ウイルス分離は、髄液及び便を定法に従い処

理した後、単層培養した HeLa、Hep-2、RD 及び VeroE6 細胞に接種し、1週間隔で3代盲継代培養後、細胞変性効果(CPE)の有無を確認した。分離されたウイルスの型別同定は、国立感染症研究所より分与された中和用プール血清 EP95、デンカ生研のE~G、L~Nプール血清及びCoxA9単味血清の9種類の抗エンテロウイルス血清を用いて中和試験を行った。

(2) ウイルス RNA 抽出

患者の髄液検体の 100 μ l から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)を用いて RNA の抽出を行った。乾固後の RNA は 30 μ l の BufferAVE に溶解し、RNA 抽出液として用いた。

(3) ウイルス遺伝子増幅法(PCR法)

ア エンテロウイルスの検出

RNA 抽出液5 μ l を RT-PCR Taq Mix 液 (Super Script One-Step RT-PCR with Platinum Taq ; Invitrogen) 45 μ l に加え、48°C 30 分、94°C 2分反応させた後 94°C 30 秒、50°C 30 秒、65°C 60 秒の条件を 35 サイクル、65°C 15 分反応させる One-Step RT-PCR 法で行った。

プライマーは5'NCR から VP2 領域の約 650bp を増幅するプライマーペア (EVP4, OL68-1)を用いた。

イ 日本脳炎ウイルスの検出

1stPCR は RNA 抽出液5 μ l を RT-PCR Taq Mix 液 (Super Script One-Step RT-PCR with Platinum Taq ; Invitrogen) 45 μ l に加え、53°C 30 分、94°C 2分反応させた後 94°C 60 秒、53°C 60 秒、72°C 60 秒の条件を 35 サイクル、72°C 15 分反応させる One-Step RT-PCR 法で行った。さらに、Nested PCR は 1stPCR 液2 μ l を Nested PCR Taq Mix 液 (Premix Taq ; Takara) 45 μ l に加え、94°C 2分反応させた後 94°C 60 秒、53°C 60 秒、72°C 60 秒の条件を 25 サイクル、72°C 15 分反応させた。

1stPCR に使用したプライマーは約 381bp を増幅するプライマーペア (JE8k, JEER) を用い、Nested PCR プライマーでは約 326bp を増幅するプライマーペア (JE8kinner-S, JEERinner-C)を用いた。

ウ PCR産物(テンプレート)の確認

テンプレート8 μ l とローリングバッファー2 μ l を混和し、2%アガロースゲルで電気泳動を行い、泳動後のゲルを0.5 μ g/mlのエチジウムブロマイド染色液で染色した後、紫外線照射で写真撮影し、バンドの確認を行った。

・ 琉球大学医学部病原生物学分野

(1) 患者材料

沖縄県衛生環境研究所にて保存された無菌性髄膜炎及び急性ウイルス性脳炎と診断あるいは疑われた症例の髄液をウイルス分離に供した。

(2) 細胞

ヒトスジシマカ由来C6/36細胞株は1mMの非必須アミノ酸、10%牛胎児血清 (FBS) を含むイーグル変法最少必須培地 (E-MEM) を用いて28°Cで培養した。ヒト咽頭癌由来HEp-2細胞株およびハムスター腎由来BHK-21細胞株は10%FBS含E-MEMを用いて37°Cで培養した。

(3) JEV分離

試験管培養のC6/36細胞に50から100マイクロリットルの患者材料を接種し、観察を続けながら2週間毎に計3回ブラインドパッサージした。各ブラインドパッサージの後に、培養上清の一部をBHK-21細胞に接種し、抗JEウサギ血清を1次抗体とした間接酵素抗体法にて免疫染色してJEVの検出を行った。

(4) その他のウイルスの分離

24ウェルプレートに培養したHEp-2細胞に患者材料(50 マイクロリットル/ウェル)を接種し、CPEの出現を指標として2週間毎に計3回ブラインドパッサージした。

- ・ 国立感染症研究所感染症情報センター以下の検査体制を構築した。

(1) ウイルスDNAの検出

患者の髄液から市販キットを用いてDNAを抽出し、ヘルペスウイルス科(単純ヘルペスウイルス1型:HSV-1及び2型:HSV-2、ヒトヘルペスウイルス6型:HHV-6 variant A及びHHV-6 variant B)について semi-nested PCRにより特異的増幅を試みた。PCRの反応容量及び温度条件等は

「病原体検出マニュアル(国立感染症研究所/地方衛生研究所全国協議会)」に準じた。

(2) 抗体の検出

患者の血清検体から市販キットを用いて添付の説明書に従い、単純ヘルペスウイルスに対するIgG及びIgM抗体の検出を試みた。

情報の取り扱い

- ・ 直接病院との情報(及び検体)交換は管轄保健所が行った。
- ・ 一次情報の保管、管理は全て沖縄県福祉保健部健康増進課が行った。
- ・ 結果のとりまとめ及び解析は、沖縄県福祉保健部健康増進課及び感染研情報センターが行った。

法的根拠と倫理的側面

本調査は、感染症法に基づく感染症発生動向調査の報告の強化と、同法の規定に基づき実施される、感染症対策のために県が主体となり実施する調査である。そのため、文部科学省・厚生労働省発「疫学研究に関する倫理指針」の適応範囲外と位置づけられるが、一時情報(個票)は全て沖縄県福祉保健部健康増進課が管理し、本調査以外の目的では使用しない。また、発表など情報還元においては、個人が特定されないよう十分注意する。

C. 研究結果

症例報告

本調査に参加した医療機関より20症例が報告された。(表2)報告様式に記載された、報告時診断名は、無菌性髄膜炎(疑い含む)14例、急性ウイルス性脳炎(疑い)3例、その他3例(不明熱、レプトスピラ症疑い、情報無し各1例)であった。無菌性髄膜炎(疑い)14例には、流行性耳下腺炎による髄膜炎疑い1例、耳下腺腫脹は無いが症例が通う幼稚園で流行性耳下腺炎流行ありが1例、手足口病疑い1例を含んでいた。1例は報告様式が未提出であった。

病原体検索結果

・ 沖縄県衛生環境研究所

(1) ウイルス分離状況

無菌性髄膜炎症例

無菌性髄膜炎(疑い含む)と臨床診断された症例の髄液 14 検体中 6 検体から、RD、HeLa、VeroE6、Hep-2 細胞でウイルスが分離された。ウイルスは、Echo18:1 例、Echo30:4 例、型不明:2 例であった。型別が同定出来なかったウイルス 1 株は、流行性耳下腺炎症例から分離されたものであった。

血清は一検体のみウイルス分離に供されたが分離されなかった。

4 例の便検体のうち 3 検体からウイルスが分離された。Echo30:1 例、EV71:2 例であった。EV71 が便から分離された症例の髄液ではウイルスは分離されず、Echo30 が分離された症例の髄液では同ウイルスが分離された。

急性ウイルス性脳炎症例

髄液 2 検体、血清 1 検体、便 1 検体のいずれからもウイルスは分離されなかった。

その他

レプトスピラ疑い症例の髄液、不明熱症例の髄液、報告様式無しの症例の髄液及び便からウイルス分離を試みたが陰性であった。

(2) ウイルス遺伝子検出状況

エンテロウイルス及び日本脳炎ウイルス遺伝子の検出を患者の髄液 19 検体からPCR法で試みたが、検出されなかった。

・ 琉球大学医学部病原生物学分野

日本脳炎ウイルス感染は確認されなかった。

・ 国立感染症研究所感染症情報センター

採取検体量及び臨床経過から、検体分与が無く、検査を実施しなかった

D. 考察

本研究では、感染症発生動向調査強化のため、新たな関係機関:医療機関、公衆衛生行政、検査研究機関のネットワークが構築された。日本脳炎ウイルス感染症は、医療機関と商業衛生検査機関だけで、症例を高い精度で診断することは容易ではないと思われ、ラボと密接に繋がった今回のネットワークは極めて重要であると考ええる。

2005 年の 17 例同様、2006 年報告の 20 例では日本脳炎ウイルス感染症はいなかった。

例年、沖縄では、ブタの抗日本脳炎ウイルス抗体陽性率の上昇は 5~6 月頃に確認されるが、2005 年及び 2006 年は、例年より遅く 8 月によく 50%以上の陽性率となったことから、ブタにおける流行が早く終わったためヒトの感染機会が少なかったことが影響したのではないかと考えられた。

昨年の本調査では、報告様式記載欄の未記入項目が少なく、さらに追加報告が殆ど得られなかった事が大きな反省点であったが、本年は報告様式の記載状況が改善し、臨床経過を報告する第二報の報告も増え、徐々にではあるが、本サーベイランスの運用状況が改善していると考えられた。

しかし、まだ、保健所を通じた医療機関への病原体検索結果の還元や、報告状況の還元も適切に行われてはならず、医療機関と保健所、県庁、検査協力機関との双方向のコミュニケーション強化が必要と考えられた。

現時点において、組織培養による日本脳炎ワクチンの導入や、定期予防接種の再勧奨に関しては不明である。本研究の強化サーベイランスは引き続き必要性が高いと考える。また、本研究で構築した新たなネットワークは、日本脳炎ウイルス感染症の把握以外においても、地域の感染症対策推進や感染症危機管理においても有益であり、積極的な強化、活用が望ましいと考える。

[制約]

・基幹病院にて実施するため、全県の症例を完全に把握するものではない