

表1. 都民におけるJEVに対する中和抗体保有調査(2004年～2006年)

被検対象(血清)		中和抗体 陽性数 (10倍以上)	中和抗体 陽性率	抗体陽性者 の平均抗体価
採取年	対象数			
2004年	319	183	57.4%	84倍
2005年	311	158	50.8%	162倍
2006年	334	178	53.3%	154倍
計	964	519	53.8%	127倍

表2. 都民におけるJEVのNS1抗体保有調査(2004年～2006年)

被検対象(血清)		NS1抗体 陽性数	中和抗体 陽性者における NS1抗体陽性率	全体における NS1抗体陽性率
採取年	対象数 (中和抗体陽性者)			
2004年	177	16	9.0%	5.0%
2005年	145	7	4.8%	2.3%
2006年	175	9	5.1%	2.7%
計	497	32	6.4%	3.3%

* : 全体におけるNS1抗体陽性率は、各年における搬入血清数
(2004年:319件、2005年:311件、2006年:334件の計964件)を母数として算出した

◎ 陰性対照82件については、全てでNS1抗体は陰性であった。

表3. JEVのNS1抗体陽性者における抗体検査結果(2004年～2006年)

血清採取年	年齢	ワクチン接種歴	中和抗体価	NS1抗体ELISA-index	血清採取年	年齢	ワクチン接種歴	中和抗体価	NS1抗体ELISA-index
2004年	8	有	158	0.258	2005年	26	無	34	0.255
	60	有	174	0.254		58	無	57	0.262
	3	無	87	0.285		22	有	13	0.295
	6	有	191	0.368		39	無	20	0.306
	8	無	103	0.196		8	有	677	0.259
	5	有	213	0.324		7	有	422	0.367
	53	無	10	0.265		6	有	745	0.338
	4	有	250	0.331	2006年	64	無	188	0.205
	3	有	17	0.298		58	無	157	0.274
	11	有	90	0.252		53	無	20	0.479
	47	無	14	0.361		57	不明	534	0.314
	54	不明	20	0.525		8	有	267	0.266
	35	有	120	0.301		6	有	776	0.211
	4	有	488	0.202		19	有	759	0.325
4	有	373	0.576	51	不明	442	0.284		
7	有	210	0.359	68	無	744	0.374		

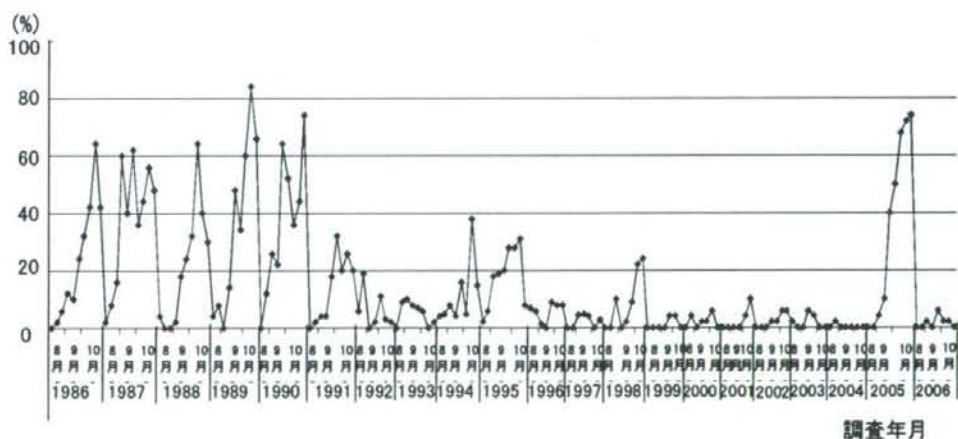


図1. 都内で飼育されたブタにおけるJEVに対する抗体保有率(1986～2006年の8月、9月及び10月の結果)

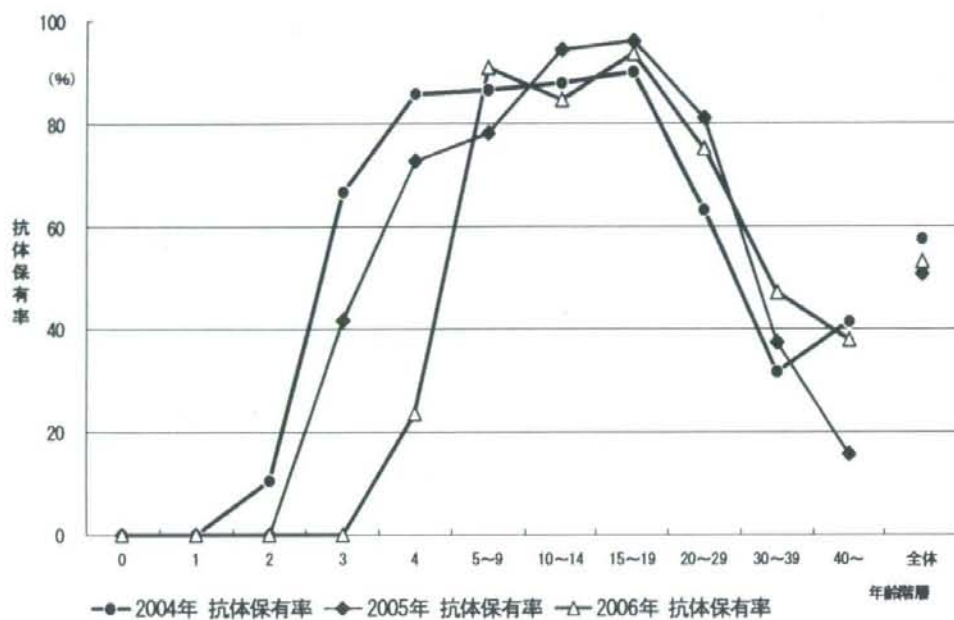


図2. 年齢階層別のJEV中和抗体保有状況(2004年～2006年)

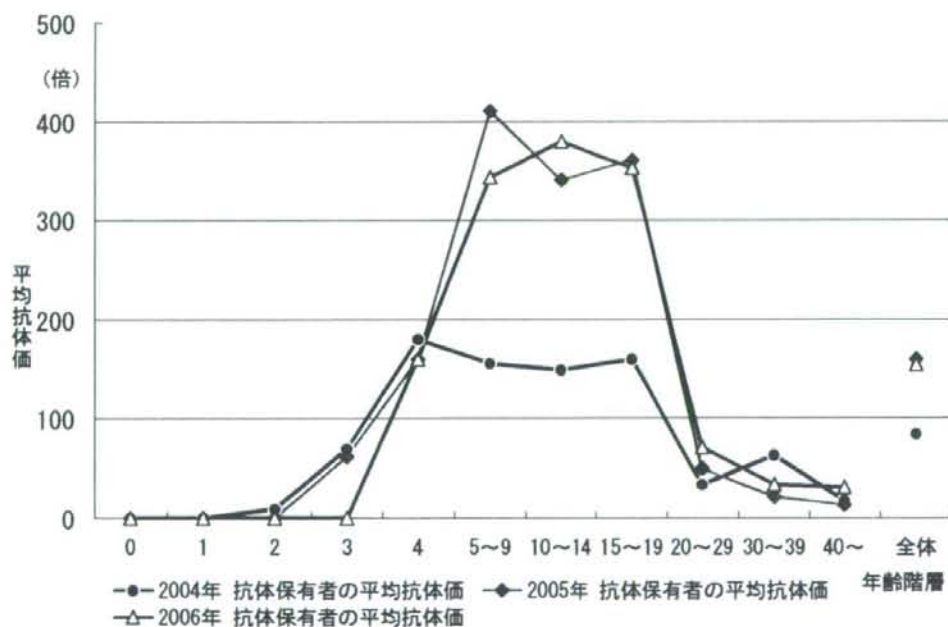


図3. JEV中和抗体保有者における年齢階層別の平均抗体価(2004年～2006年)

「わが国における日本脳炎の現状と今後の戦略に関する研究」
(新興・再興感染症研究事業)

岡山県の都市部および農村部における日本脳炎のリスク調査

研究分担者：寺田喜平（川崎医科大学小児科）

研究協力者：川畑順子（川崎医科大学小児科）

梶俊策（津山中央病院小児科）

内田立志（さとう記念病院小児科）

高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス 1 部）

要旨

日本脳炎汚染地区である岡山県の都市部と農村部における血清抗体（HI 法と EIA 法）の疫学調査から不顕性感染がどの程度あるのかを検討した。2008 年 5～10 月において農村部 179 名、都市部 148 名の残血清から収集、測定した。HI 法では 3 歳未満での抗体陽性者はおらず、3 歳以降では 5～8%の不顕性感染者があり、農村部と都市部の間に有意差はなかった。しかし、EIA-IgG 抗体では生後 13～36 ヶ月で 27～50%の不顕性感染者があり、農村部で有意に多かった。3 歳以降では 24～53%の不顕性感染者が存在し、都市部で有意に多かった。また 3 歳以降のワクチン既接種者における抗体陽性率は、HI 法で 23～51%、EIA-IgG 抗体で 76～77%であり、農村部と都市部の間に有意差はなかった。EIA-IgM 抗体陽性率はすべて 0%であったが、疑陽性例は 9 名あった。小児の不顕性感染が 2～5 割あり、日本脳炎の発生が予想される。

A. 研究目的

岡山県は 2005 年成人 2 例の日本脳炎例を認め、汚染地域と思われる。我々は 2006 年岡山県で都市部と農村部における日本脳炎のリスク調査として、脳炎 3 例と無菌性髄膜炎 17 例の髄液を収集し、RT-PCR で髄液中の日本脳炎ウイルス遺伝子を調べた。都市部である県南部では 0/7 例と陽性例はなかったが、農村部である県北部では無菌性髄膜炎の 3/12 例で陽性を認めた。現在日本

脳炎ワクチンが積極的な勧奨の差し控えによって実質上中止の状態であるので、今後日本脳炎の発生が増加してくる可能性があるのか憂慮される。今回、都市部と農村部の地域における血清抗体の疫学調査から不顕性感染率を調べたので報告する。

B. 研究方法

川崎医大倫理委員会の承諾を得て、2008 年 5～10 月頃に都市部にある川崎医大(川

崎)と、農村部にある津山中央病院(津山)、さとう記念病院(さとう)での患者残血清から日本脳炎ウイルス抗体(HI法、EIA法 IgG、IgM抗体)とその患者のワクチン接種歴を母子手帳あるいは予防接種手帳によって確認した。

C. 研究結果

津山中央病院 57名、さとう記念病院 122名、川崎医大 150名、計 329名から残血清を収集できた。大量ガンマグロブリン療法を受けていた川崎医大の患者 2名は対象から除外した。

1) HI法

HI抗体は、生後 36ヶ月以前では津山およびさとう、川崎すべてで陰性であった。生後 37ヶ月以降でワクチン未接種者の陽性率は、津山 1/18名(5.6%)、さとう 1/23名(4.3%)、川崎 4/38名(1名は市外のため、3名(7.9%))であった。生後 37ヶ月以降の既接種者では、津山 6/15名(40%)、さとう 16/28名(57.1%)、川崎 3/13名(23.1%)であった。そのうち、さとうでは 2名が 160倍と高値であったが、2-MEによる有意な減少はなく、2名とも 6歳であった。

2) EIA法

EIA-IgM抗体のP/N値 2.0以上の陽性例はなかった。疑陽性(P/N値 1.5~2.0未満)は、12ヶ月未満では津山 0/8名、さとう 0/15名、川崎 1/22名(4.5%)で、13~36ヶ月では津山 0/12名、さとう 3/24名(12.5%)、川崎 1/43名(2.3%)、37ヶ月以降未接種者では、津山で 2/18名(11.1%)、さとう 2/23名(8.7%)、川崎 0/41名(0%)であ

った。37ヶ月以降既接種者ではすべて陰性であった。

EIA-IgG抗体陽性は経胎盤移行抗体があるため 13ヶ月以降で検討すると、13~36ヶ月の EIA-IgG抗体陽性率は、津山 10/12名(83.3%)、さとう 8/24名(33.3%)、川崎 11/42名(26.8%)であった。37ヶ月以降未接種者では、津山 3/18名(16.7%)、さとう 7/23名(30.4%)、川崎 20/38名(52.6%)であった。37ヶ月以降既接種者では、津山 13/15名(86.7%)、さとう 20/28(71.4%)、川崎 10/13名(76.9%)であった。

D. 考察

日本脳炎ワクチンは 3歳以降に接種されるので、生後 13~36ヶ月と 37ヶ月以降のワクチン未接種者における抗体陽性者は、不顕性感染と推定される。EIA-IgG抗体に比較して感度の悪い HI法では、37ヶ月未満はすべて陰性で、37ヶ月以降未接種者の陽性率は、農村部 2/41名(4.9%)、都市部 3/38名(7.9%)であった。37ヶ月以降既接種者の陽性率は農村部 22/43名(51.2%)、都市部 3/13名(23.1%)であった。また農村部では抗体価が 160倍と高くブースターがかかっていると思われる症例もあった。これらより、HI法では 3歳未満では抗体陽性者がおらず、3歳以降では 5~8%の不顕性感染者があり、農村部と都市部に有意差はなかった。一方、感度のよい EIA-IgG抗体では、13~36ヶ月では農村部は 18/36名(50%)、都市部 11/41名(26.8%)(両群に有意差 $P=0.03$ 、 χ^2 検定)、37ヶ月以降未接種者では農村部 10/41名(24.4%)、都市部 20/38名(52.6%)(両群に有意差 $P<0.01$ 、

χ^2 検定)、37ヶ月以降既接種者では農村部 33/43名(76.7%)、都市部 10/13名(76.9%)であった。これらより、EIA-IgG抗体では13~36ヶ月で27~50%の不顕性感染者があり、有意に農村部が高かった。37ヶ月以降では24~53%の不顕性感染者が存在し、有意に都市部が高かった。また37ヶ月以降のワクチン既接種者における抗体陽性率は、HI抗体で23~51%、EIA-IgG抗体で76~77%であり、農村部と都市部の間に有意差はなかった。

EIA-IgM抗体陽性率はすべて0%であったが、疑陽性率で見ると12ヶ月未満での農村部0/23名(0%)、都市部1/22名(4.5%)、13~36ヶ月では農村部3/36名(8.3%)、都市部1/43名(2.3%)、37ヶ月以降未接種者では農村部4/41名(5.0%)、都市部0/38名(0%)であった。37ヶ月以降既接種者はすべて陰性であった。またすべて両群に有意差はなかった。

全体の抗体陽性率を農村部と都市部と比較すると、HI法、EIA-IgGおよびEIA-IgM抗体のすべてで農村部が高かった。特に感度の悪いHI法では、農村部が2倍以上高いことから抗体価も高いと予想できた。

E. 結論

全体の抗体陽性率は、農村部の方が高いが、都市部でもHI法およびEIA-IgG抗体で不顕性感染が認められた。岡山県では農村部だけでなく、都市部でも日本脳炎の発生が予想される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

萩田聡子、寺田喜平、片岡直樹、高崎智彦、倉根一郎、梶 俊策、桑門克治、御牧信義、中島英和、高山裕規. 岡山県における日本脳炎のリスク調査. 小児科臨床. 61:795-799 (2008)

寺田喜平. 日本脳炎. 小児内科. 40:1188-1190 (2008)

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

HI法

津山中央病院

さとう記念病院

抗体価	月齢				月齢							
	0-12 13-36		37-		0-12 13-36		37-					
	ワクチンなし	ワクチンあり	ワクチンなし	ワクチンあり	ワクチンなし	ワクチンあり	ワクチンなし	ワクチンあり				
10未満	8	12	17	8	4	50	16	24	22	12	21	24
10	0	0	0	0	0	1	0	0	1	11	10	21
20	0	0	1	1	0	2	0	0	0	3	1	4
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
100以上	0	12	18	18	4	67	16	24	23	28	32	122

HI 160倍の2例は2-MEでは有意な減少はなかった。

EIA-IgG抗体

川崎医科大学附属病院

抗体価	月齢					
	0-12 13-36		37-			
	ワクチンなし	ワクチンあり	ワクチンなし	ワクチンあり		
<0.47	9	20	18	3	18	22
0.47以上	12	11	20	10	18	62
						148

HI法

川崎医科大学附属病院

抗体価	月齢					
	0-12 13-36		37-			
	ワクチンなし	ワクチンあり	ワクチンなし	ワクチンあり		
10未満	22	41	34	10	29	128
10	0	0	1	2	4	9
20	0	0	2	1	1	4
40	0	0	1	0	0	1
80	0	0	0	0	0	0
160	0	0	0	0	0	0
100以上	22	41	38	13	34	148

3ヶ月以降でワクチンなしの陽性1名は市外在住

EIA-IgM抗体

津山中央病院

抗体価	月齢					
	0-12 13-36		37-			
	ワクチンなし	ワクチンあり	ワクチンなし	ワクチンあり		
<1.5	8	12	18	18	4	56
1.5以上	0	0	2	0	0	2
2.0以上	0	0	0	0	0	0
						57

さとう記念病院

<1.5	16	21	21	28	32	117
1.5以上	0	3	2	0	0	5
2.0以上	0	0	0	0	0	0
						122

EIA-IgG抗体

津山中央病院

抗体価	月齢					
	0-12 13-36		37-			
	ワクチンなし	ワクチンあり	ワクチンなし	ワクチンあり		
<0.47	5	2	15	2	2	26
0.47以上	3	10	3	12	2	31
						57

さとう記念病院

<0.47	9	16	16	6	10	59
0.47以上	8	8	7	20	22	53
						122

EIA-IgM抗体

川崎医科大学附属病院

抗体価	月齢					
	0-12 13-36		37-			
	ワクチンなし	ワクチンあり	ワクチンなし	ワクチンあり		
<1.5	21	40	38	13	34	146
<2.0	1	1	0	0	0	2
2.0以上	0	0	0	0	0	0
						148

予防接種歴のない日本脳炎の11歳女児症例

研究分担者 脇口 宏 高知大学小児思春期医学 教授

研究要旨

予防接種歴のない日本脳炎の11歳女児例を報告した。発熱、頭痛、嘔吐、意識障害で発症し、経過中に振戦、眼振、深部腱反射亢進が認められた。髄液検査、脳波、頭部MRI、血清髄液抗体価で日本脳炎と確定診断した。対症療法で後遺症なく回復した。2005年以降の日本脳炎ワクチンの勧奨差し控えに伴う予防接種率の低下による感受性者蓄積の現状があり、自験例のような小児日本脳炎患者の増加が危惧される。2009年5月以降に組織培養ワクチンが使用可能となる見込みであるが、定期接種時期を逃した小児を対象としたキャッチアップ接種などの積極的施策が望まれる。

脇口 宏 高知大学医学部
小児思春期医学 教授
前田明彦 同上 講師
細川卓利 同上 学内講師
綾部 匡之, 玉城 涉 同上 医員
前田賢人, 森田英雄 高知県立安芸病院小児科
佐藤哲也 三豊総合病院小児科

A. 研究目的

日本脳炎ウイルスは、日本などの温帯では水田で発生するコガタアカイエカが媒介する。ブタの抗体獲得状況から、間接的に日本脳炎ウイルスの蔓延状況を調査している。この結果、毎夏、日本脳炎ウイルスを持ったブタが発生しており、国内でも感染の機会はなくなっていない。ヒトの自然感染率も毎年5%前後であると報告もある。日本脳炎を発病するのは感染者の100～1,000人に1人程度である。

わが国における日本脳炎患者は1960年代

は2000例/年であったが、1954年ワクチン接種開始し、さらに1967年には特別対策として成人も接種対象とした後に、患者数が激減した。日本脳炎患者の届出は、1992年以降現在まで10例/年未満でありほとんどが高齢者であった。1999年以後、10歳未満が1例、10歳代3例、30歳代・40歳代各1例と、若年の患者が発生しており注目される。

日本脳炎ワクチンは制度の上では定期接種が継続されているが、重篤な予防接種副反応例発生をきっかけに、2005年5月30日以降は厚生労働省健康局結核感染症課からの通達にしたがって、積極的な接種勧奨を差し控えており、接種率減少のために感染感受性者が増加している。

今後、日本脳炎ウイルス感染症としての脳炎および他の髄膜炎等の中枢神経感染症が増加することが危惧される。このため、本邦における日本脳炎ウイルス感染症発生の現状を把握することが急務である。

我々は2001年に日本脳炎ワクチン接種歴のない11歳女児の日本脳炎患者を経験したので報告する。

B/C. 症例報告

症例は、高知県西部に位置する中村市(現四万十市)に在住の11歳女児。主訴は、発熱、頭痛、嘔吐、意識障害。気管支喘息の既往があるが、家族歴に特記すべきことなし。2001年8月25日から嘔吐が出現し、翌26日に39℃台の発熱と頭痛が出現したため、近医を受診し、CRP0.9 mg/dl、WBC 10,000/mm³でクラリスロマイシンを処方された。翌日、嘔吐が加わり、同医を再診したところ項部硬直が認められ、髄膜炎を疑われ入院した。CRP 3.1 mg/dl、WBC 19,000/mm³、髄液検査で細胞数30/3 mm³、蛋白49.5 mg/dl、糖 54 mg/dlで髄膜炎としてCTX静注で加療された。28日も発熱、嘔吐が持続し、記名力低下、失見当識が出現し、おかしなことを話すようになったため、脳髄膜炎の診断で、幡多けんみん病院に紹介入院となった。

入院時、体温40.4℃、心拍数120/分、血圧118/60mmHg、意識レベルはJCS I-3、名前、年齢などの質問に「わかりません」と答え、時おり了解不能なことを話したが、傾眠はなし。心肺、腹部、口腔内に異常な所見は認めなかった。項部硬直とKernig徴候が陽性であったが、瞳孔は正円同大、対光反射は迅速、運動麻痺、知覚異常、構語障害はなく、深部腱反射は正常で、病的神経反射は陰性であった。

入院時検査成績を表1に示す。白血球 11,870 /mm³、CRP 2.1 mg/dl、低Na血症を認めた。髄液検査で細胞数は1,056/3 mm³で単核細胞優位(62%)の髄液細胞増多があり、蛋白は53 mg/dlと軽度上昇を認めた。髄液中の単

純ヘルペスウイルスPCRは陰性で細菌培養も陰性であった。脳波検査では(図1)限局性徐波を、頭部MRIで(図2)T2強調画像とDiffusion weighted image (DWI)で左側視床と後頭回に高信号域を認め、髄膜炎と診断した。入院時に発熱、意識障害が認められ、振戦、眼振、深部腱反射亢進が認められた(図3)。抗菌薬、アシクロビル静注、グリセオールで加療した。経過中に痙攣は認められなかったが、予防的にバルプロ酸を投与開始した。入院7日後には解熱し、意識障害と神経症状は徐々に改善し、記名力低下を除く諸症状は改善したため、入院3ヵ月後に退院外来フォローとした。退院後に記名力低下も改善し、明らかな後遺症はなく回復した。日本脳炎ウイルスに対する血清HI抗体が、第4病日の10倍から第33病日に320倍まで上昇した。髄液中抗体も第11病日に20倍であり(表2)、日本脳炎と確定診断した。

D. 考察

自験例の臨床経過は、発熱、頭痛、嘔吐、意識障害で発症し、髄膜刺激徴候、振戦、深部腱反射亢進を認め、日本脳炎として典型的といえる経過であった。予防接種歴がない小児例であり、定期予防接種を逃さずを受けていれば予防できた症例であった可能性が高い。

MRI検査は、日本脳炎が既に制圧されつつある時期に当たる1980年代後半に普及したため、日本脳炎に特徴的な所見について詳細に記載した報告は多くない。2007年に縄田らはMRI検査でT2強調画像における、視床、大脳基底核などの高信号は、日本脳炎に特徴的な所見と報告している。さらにPrakashらは(2004年)、日本脳炎におけるDWIの有用性を報告

している。自験例は小児例であったが、成人例同様に、視床および後頭回に片側性にT2およびDWIで高信号域を認め、病巣の描出に有用であった。ヘルペス脳炎などとは異なる分布であり、本症を疑う重要な所見であると考えられた。

1982年～2004年に我が国の日本脳炎報告患者数は361人で、好発年齢のピークは60～70歳代であるが、10歳未満の患者は12%に過ぎない。高齢者の患者が多いことは、日本、韓国、台湾など予防接種が徹底されている地域に共通の疫学的特徴であり、予防接種導入が遅れているアジア諸国で小児期にピークがあることと対照的である。しかし、2006年に熊本県から3歳児例が報告された。2005年5月30日以降は、積極的な予防接種勧奨を差し控えており、予防接種率低下のために感染感受性者が増加し、自験例のような小児例の増加が危惧されている。

日本脳炎ウイルスは、無菌性髄膜炎やポリオ様脊髄炎を発病することは、過去に報告されており、わが国で日本脳炎が大流行していた当時は周知されていた事実であるが、現状では臨床現場では認識されていない。夏季の無菌性髄膜炎、脊髄炎のなかに日本脳炎ウイルスが病因である症例が存在すると予測される。2002年に3名の日本脳炎患者が発生した広島県で後方視的に原因不明の無菌性髄膜炎症例を検討した結果、2000年の夏季に4例の日本脳炎ウイルスによる小児無菌性髄膜炎患者の存在が明らかとなった。

夏季の無菌性髄膜炎、脊髄炎の髄液および血清中の日本脳炎ウイルス遺伝子、抗日本脳炎ウイルス抗体を検査することで、日本脳炎ウイルスに起因する髄膜炎、脊髄炎が、どの程度存在するかを明らかにすることが可能であ

ると推測される。全国拠点調査の一環として、蚊の活動の活発な時期(6月から11月)に高知大学医学部附属病院(小児科)を受診した無菌性髄膜炎、ウイルス性脊髄炎の患者を対象として、日本脳炎ウイルス遺伝子の検出、ウイルス分離、抗体検査(IgM抗体、IgG抗体)を調べる予定である。日本脳炎ウイルス感染症の実態を正確に把握することにより、ワクチン行政など綿密な予防対策を講ずることが可能になると期待される。

E. 結論

予防接種歴のない日本脳炎の11歳女児例を報告した。日本脳炎では頭部MRIでT2強調画像およびDWIで視床・大脳基底核に高信号を認めることが多い。また、ヘルペス脳炎に比べて髄膜刺激徴候を呈する頻度が高い点も、本症を積極的に疑わせる所見である。予防接種率の低下による感受性者蓄積に伴い、自験例のような小児日本脳炎患者が増加することが危惧される。2009年5月以降に組織培養ワクチンが使用可能となる予定であるが、定期接種時期を逃した小児を対象としたキャッチアップ接種など施策が望まれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Uchiyama J, Rashel M, Maeda Y, Takemura I, Sigihara S, Akechi K, Wakiguchi H, Matsuzaki S: Isolation and characterization of a novel *Enterococcus faecalis* bacteriophage ϕ EF24C as a therapeutic candidate. Fed

- er Eur Microbiol Sci 278:200-206, 2008
- Fujieda M, Ishihara M, Morita T, Hayashi Y, Ohta T, Sakano T, Wakiguchi H: Effect of oral mizoribine pulse therapy for frequently relapsing steroid-dependent nephritic syndrome. Clin Nephrol 69:179-184, 2008
- 脇口宏: こどもの感染症が成人で流行している —麻疹、百日咳— 小児科臨床61:1079-1084, 2008
- 脇口宏: 成人の百日咳. こどもの感染症の診かた11:23-24, 2008
- 脇口宏: 第39回日本小児感染症学会 ミートザエキスパート. 感染症診断のピットホール —EBウイルス感染症から学んだこと— 小児感染免疫20:213-218, 2008
- 高杉尚志, 矢野哲也, 臼井大介, 細川卓利, 堂野純孝, 新井淳一, 藤枝幹也, 脇口宏: 高炭酸ガス血症に対して陽陰圧たいがいしき人工呼吸器を試みた慢性呼吸不全の1例. 小児科臨床61: 431-436, 2008
- Oishi T, Fujieda M, Shiraishi T, Ono M, Inoue K, Takahashi A, Ogura H, Wakiguchi H: Infliximab treatment for refractory Kawasaki disease with coronary artery aneurysm —A 1-month-old girl— Circulation J 72:850-852, 2008
- Morisawa Y, Maeda A, Sato T, Hisakawa H, Fujieda, Wakiguchi H: Cytomegalovirus infection and wheezing in infants. Pediatr Intern (in press)
- Matsumoto K, Maeda A, Bochner BS, Wakiguchi H, Saito H: Induction of apoptosis in human basophils by anti-Fas antibody treatment in vitro. International Archives of Allergy and Immunology, 2008
- Sato T, Fujieda M, Maeda A, Tanaka E, Miyamura, Chikamoto H, Hisano M, Akioka Y, Ishiura Y, Dohno S, Hattori M, Wakiguchi H: Monitoring of Epstein-Barr virus load and killer T cells in renal transplant recipients. Clin Nephrol 70: 393-403, 2008
- 国富泰二, 前田明彦, 藤枝幹也: 循環器症候群 (第2版) III-その他の循環器疾患を含めて-VIII. 心筋疾患 リウマチ性心炎. 日本臨床 新領域別症候群シリーズNo.6 271-274, 2008
- 高杉尚志, 寺内芳彦, 矢野哲也, 細川卓利, 前田明彦, 藤枝幹也, 白石泰資, 脇口宏: Haemophilus influenzae type bによる化膿性心外膜炎. 小児内科 40 496-8, 2008
- 玉城渉, 前田明彦, 木原一樹, 高杉尚志, 堂野純孝, 藤枝幹也, 脇口宏, 山遠剛 小倉英郎: 妊婦の梅毒検査は2回必要. ISAR 29: 243-245, 2008
1. 学会発表
- 前田明彦, 藤枝幹也, 古賀真紀子, 脇口宏: 遷延性発熱を呈したParvovirus B19感染症の1例. 高知県ウイルス感染症研究会, 2008年3月高知
- 佐藤哲也, 藤枝幹也, 前田明彦, 石浦嘉人, 堂野純孝, 脇口宏, 田中絵里子, 宮村正和, 久野正貴, 近本裕子, 秋岡佑子, 服部元史: 小児腎移植におけるEBウイルス(EBV)モニタリング —EBV負荷量およびkiller T細胞の推移—. 第18回EBウイルス感染症研究会 2008, 3月, 東京
- 原拓磨, 宗景匡哉, 前田明彦, 島崎洋成, 堂野純孝, 臼井大介, 細川卓利, 広瀬かほり, 濱田昌史, 藤枝幹也, 脇口宏: Mondini内耳奇形に合併した化膿性髄膜炎の1例. 第40回日本小児感染症学会, 2008年11月, 名古屋

屋

Sato T, Fujieda M, Maeda A, Tanaka E, Miyamura, Chikamoto H, Hisano M, Akioka Y, Ishiura Y, Dohno S, Hattori M, Wakiguchi H: Monitoring of Epstein-Barr virus load and killer T cells in renal transplant recipients. The 13th Biennial Conference of the International Association for Research on Epstein-Barr Virus and Associated Diseases, 2008, 11, 広州, 中華人民共和国.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

表1. 検査成績

RBC	408 × 10 ⁴ /mm ³	IgG	1,560 mg/dl
Hb	12.1 g/dl	IgA	169 mg/dl
Ht	35.7 %	IgM	157 mg/dl
Plt	20.7 × 10 ⁴ /mm ³	Mycoplasma (PA)	< 1:40
WBC	11,870 /mm ³	HSV IgM	(-)
TP	7.5 g/dl	HSV IgG	(-)
Glu	143 mg/dl	血液培養	(-)
ALT	11 U/L	髄液	
AST	20 U/L	c.c.	1,056 /3mm ³
LDH	200 U/L	poly	38 %
Crn	0.44 mg/dl	mono	62 %
BUN	14 mg/dl	Prot	53 mg/dl
CRP	2.1 mg/dl	Glu	63 mg/dl
Na	130 mEq/l	HSV-PCR	(-)
K	4.7 mEq/l	細菌培養	(-)
Cl	96 mEq/l		
Ca	8.8 mg/dl		

図1. (入院時脳波)

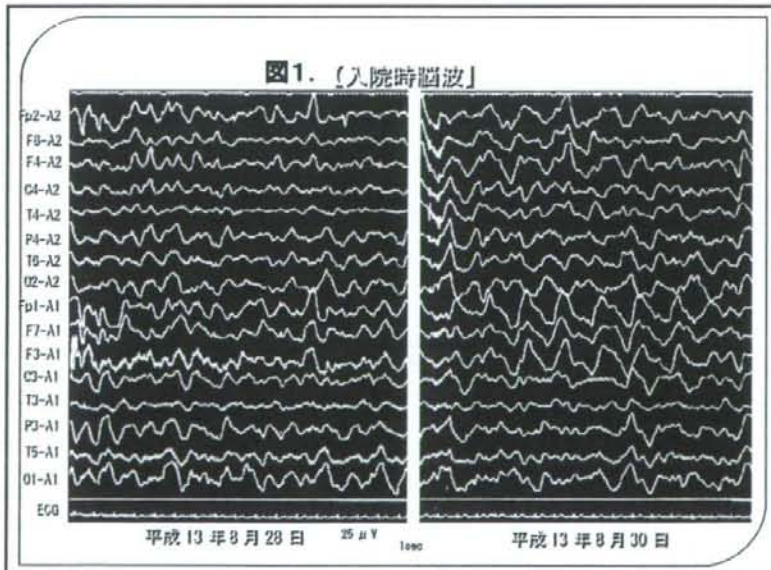


図2. [頭部MRI]

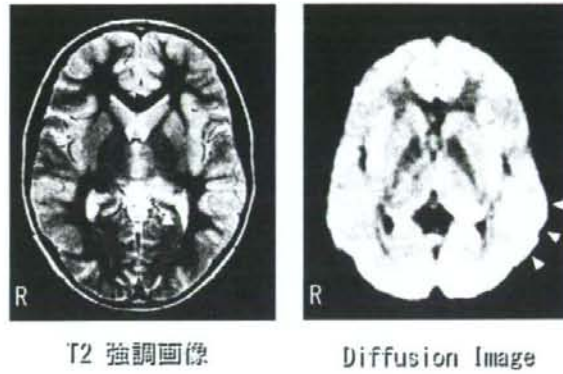


図3.

入院	経過		退院
	田中ビキ一丸補院室 10/26	田中ビキ一丸補院室 10/26	
発熱			
意識障害	JCS 3	JCS 1	
嘔吐			
瞳孔対称性			
自覚運動の減少 - AMT 20/25			
記述障害			
	CTX 1.5 g × 4回/日		
	PAZ 0.5 g × 4回/日		
	ACT 30mg × 3回/日		
	Docu/9-hat-9b 100mg × 3回/日		
		TPA 40mg/日	
2/20	3/1	10/1	11/1 12/1

表2。日本脳炎ウイルス抗体価

検査日（病日）	4	11	33	55
血清				
HI抗体（倍）	10 160	160	320	
2-ME感受性HI抗体（倍）	160	20	320	
髄液中 HI抗体		20		

伴侶動物および野生動物における日本脳炎感染状況の調査

研究分担者 前田 健（山口大学農学部獣医微生物学教室）
研究協力者 佐藤 宏（山口大学農学部獣医寄生虫病学教室）
奥田 優（山口大学農学部獣医内科学教室）
鈴木和男（田辺市ふるさと自然公園センター）
横山真弓（兵庫県立大学森林動物研究センター）
宇仁茂彦（大阪市立大学医動物学教室）
柴崎高宏（大阪府動物愛護畜産課）
大野 佳（山口大学農学部獣医微生物学教室）
下田 宙（山口大学農学部獣医微生物学教室）

研究要旨

近畿地方（兵庫県・大阪府・和歌山県）で捕獲されたアライグマ（2005-2007年）の日本脳炎ウイルス（JEV）に対する中和抗体保有状況を調査した結果、184頭中109頭（59.2%）が陽性であった。兵庫県の抗体陽性率（40.7%）は和歌山県（69.1%）、大阪府（64.5%）の陽性率よりも有意に低いことが示された。北海道のアライグマは20頭中全てが陰性であった。和歌山県で捕獲されたイノシシ36頭中30頭（83.3%）およびタヌキ19頭中12頭（63.2%）がJEV中和抗体陽性であった。同時期（2007年11月から2008年2月）に和歌山県内で捕獲されたアライグマとイノシシのJEV抗体陽性率を比較した結果、アライグマ（59.5%）に比べてイノシシ（86.7%）が有意に高い抗体陽性率であった。日本国内の飼育犬のJEV抗体保有率を調査した結果、603頭中152頭（25.2%）が陽性であった。室外飼育犬（45.3%）は室内飼育犬（8.6%）よりも有意にJEV抗体保有率が高かった。地域別で比較すると四国地方（61.3%）と九州地方（47.1%）のイヌは他の地方（中国・近畿・中部・関東・東北）のイヌより有意に高い抗体保有率であった。一方、東北地方のイヌ（9.9%）は他の地方（近畿・中国・四国・九州）のイヌより有意に低い抗体保有率であった。北海道のイヌ11頭はすべて陰性であった。これらの結果は、JEVの活動が現在も西日本を中心に活発であることを示している。

A. 研究目的

日本脳炎ウイルス（Japanese encephalitis virus: JEV）はヒト、ウマなどに感染し、時に致死的な症状を引き起こす。国内では、ブタにおけるJEV感染の調査を実施することにより、

日本脳炎の流行を定期的に把握している。しかし、養豚場の都市部からの隔離、農業形態の変化による媒介蚊の分布、地球温暖化、外来移入種の増加など様々な要因が日本脳炎ウイルス

の生態に影響を与えていると考えられている。

一方、ヒトでの患者は年間 10 名以下にとどまっている。これは日本脳炎予防接種の効果であると考えられているが、現在は予防接種の積極的勧奨が取り止められており、ワクチン接種を受けていない子供が増加することから、日本脳炎患者の増加が危惧されている。更に、2003 年には北海道から移動されたワクチン未接種のウマで 18 年ぶりの日本脳炎の発生が報告されている。

本研究ではブタでの流行予測調査が国内の JEV 感染の実態を反映しているのか、現在もヒトや動物が日本脳炎感染の脅威にさらされているのかを、伴侶動物と野生動物の調査を実施することにより検証した。

B. 研究方法

1. 血清

アライグマの血清：合計 204 頭のアライグマから血清が回収され、解析に用いられた。そのうち 54 検体は 2005 年 5 月から 2006 年 6 月に兵庫県で回収された。62 検体は 2006 年 6 月から 2007 年 2 月に大阪府で回収された。68 検体は 2007 年 6 月から 2008 年 2 月に回収された。20 検体は 2007 年 5 月から 2007 年 9 月に北海道で回収された。

イノシシの血清：イノシシ 36 頭の血清は 2007 年 11 月から 2008 年 3 月に和歌山県で回収された。

タヌキの血清：タヌキ 19 頭の血清は 2007 年 11 月から 2008 年 3 月に和歌山県で回収された。

イヌの血清：イヌの血清は 2006 年 11 月から 2007 年 10 月にかけて 47 都道府県の動物病院に来院したイヌ 603 頭から回収された。

すべての血清は 56℃で 30 分非働化

した後ウイルス中和試験に供試した。

(倫理面への配慮)

イノシシ・タヌキに関しては、狩猟期に捕獲されたもの、アライグマは特定外来種として捕獲されたものを調べた。

飼育犬に関しては、調査研究に利用する旨の承諾を飼い主に得て採血している。

2. ウイルス

JEV Genotype I である JEV/sw/Chiba/88/2002 株 (国立感染症研究所高崎智彦先生より分与) を用いた。ウイルスの増殖には C6/36 細胞を、ウイルスの力価測定および中和試験には Vero9013 細胞を用いた。

3. ウイルス中和試験

一次スクリーニング：2%ウマ胎児血清(FCS)加 EMEM(GIBCO)で 5 倍希釈した被検血清およびコントロール 100 μ l と 100PFU のウイルスを含むウイルス希釈液 100 μ l を等量混合し、37℃で 90 分間反応させた。その後、6 ウェルプレート (SUMILON) に増殖させた Vero9013 細胞に接種した。37℃で 90 分間ウイルスを吸着後、2 回 EMEM で洗浄し、2ml の 0.8% SeaPlaque Agarose (FMC Bioproduct) を含む 5% FCS 加 EMEM を重層した。4 日後に緩衝ホルマリンで細胞を固定後、クリスタルバイオレットにて生細胞を染色し、プラークを計測した。血清を含まないコントロール群と比べて 80%以上プラークが減少しているものを JEV 抗体陽性と判定した。

二次スクリーニング：一次スクリーニングで JEV 抗体陽性の検体について更に血清を 10 倍から 2 倍階段希釈し、一次スクリーニングと同様の実験を

行い、80%ブランクが減少している最大希釈倍率を中和抗体価とした。

4. 有意差検定

得られたデータの解析には χ^2 検定を実施し、 $p < 0.05$ のものを有意差ありとした。

C. 研究結果

1. アライグマの JEV 中和抗体保有状況

2005年から2008年にかけて近畿地方で捕獲されたアライグマ184頭のJEVに対する中和抗体保有状況を80%ブランク減少法で調査した結果、109頭(59.2%)に1:10以上の抗体価が存在した(表1-3)。また、コントロールとして用いた北海道のアライグマ20頭には1:10以上のウイルス中和抗体は存在しなかった。地域別に比較すると兵庫県のアライグマのJEV抗体保有率(40.7%)は大阪府(64.5%)や和歌山県(69.1%)のものよりも有意に低いことが示された($p < 0.05$) (表1)。和歌山県では体重2.05kgと2.3kgの同時期に捕獲された幼獣で1:2560と1:5120の高いウイルス中和抗体価が認められた。兵庫県では体重0.95kgと0.90kgの新生児がともに1:1280のウイルス中和抗体価を有していた(表2)。日本脳炎に対する抗体保有率に性別、体重別の違いは認められなかった(表3)。

2. イノシシの JEV 中和抗体保有率

2007年11月から2008年3月にかけて和歌山県で捕獲したイノシシ36頭のウイルス中和抗体保有率を調査した結果、30頭(83.3%)に1:10以上のウイルス中和抗体が存在した(表1)。ウイルス中和抗体保有率に性別・体重別に有意差は認められなかった(表4)。

3. タヌキの JEV 中和抗体保有率

2007年11月から2008年3月に和歌山県で捕獲されたタヌキのウイルス中和抗体保有率を調べた結果、19頭中12頭の63.2%が陽性であった(表1)。

4. 同時期・同場所で捕獲されたアライグマとイノシシの JEV 中和抗体保有率の比較

イノシシは猟期が冬季に限られるのに対して、特定外来種であるアライグマは一年中捕獲されている。出産の多くが春先である野生動物の抗体保有率を比較する際、冬季に捕獲されるイノシシはすべてが夏を一度経験しているのに対し、アライグマは夏を経験していない個体もいる。そこで、イノシシと同時期(2007年11月から2008年2月)に和歌山県で捕獲されたアライグマでJEV抗体保有率を比較した(図1)。イノシシは86.7%(30頭中26頭)が陽性であるのに対して、アライグマは59.5%(37頭中22頭)が陽性であった。この中和抗体陽性率には有意差が認められた($p < 0.05$)。

5. 飼育犬における JEV 中和抗体保有状況

日本全国の獣医科病院に来院したイヌ603頭のJEVに対する中和抗体保有状況を調査した結果、152頭(25.2%)に1:10以上の抗体陽性が認められた(表5)。地域別にみると、北海道は0%(11頭0頭)、東北地方は9.9%(81頭中8頭)であったのに対して、四国地方は61.3%(31頭中19頭)、九州地方は47.1%(104頭中49頭)の高い陽性率が認められた(図2)。四国・九州地方は東北、関東、中部、近畿、中国地方、沖縄に比べて有意にJEV抗体保有率が高く、東北地方は関東、中部、近畿、中国、九州、四国地方に比べて有

意に抗体価が低かった ($p < 0.05$)。更に、飼育場所で比較すると、室内飼育犬の 210 頭中 18 頭 (8.6%) が陽性であるのに対し、室外飼育犬の 212 頭中 96 頭 (45.3%) が陽性であった。室外飼育犬は室内飼育犬よりも有意に JEV 中和抗体保有率が高いことが示された ($p < 0.05$)。雌雄差は認められなかった。

D. 考察

1. アライグマ、イノシシ、タヌキなど近畿地方の野生動物で JEV 感染歴があった。
2. 現在、和歌山県や大阪府は感染症流行予測調査事業に参加していないが、野生動物の抗体保有率を調べる限り、依然として JEV が流行していた。
3. 和歌山県は日本で一番豚の飼養数が少ない県であるにもかかわらず、イノシシの JEV 陽性率は非常に高かった。また、アライグマと比較してもイノシシの陽性率が有意に高いことは、この地域での JEV 感染環におけるイノシシの重要性が示唆された。
4. 北海道はアライグマとイヌの結果から、JEV 感染の可能性が少ないことが再確認された。東北地方も他地方に比べて、JEV 感染の可能性が少ないことが示された。
5. イヌの JEV 抗体陽性率から、四国と九州地方で JEV が蔓延していることが再確認された。しかし、九州地方は 2004 年から 2007 年に 14 名の日本脳炎患者が発生したのに対して、四国地方は 1 名しか日本脳炎患者が認められていない。
6. 室内飼育犬は 8.6% の低い JEV 抗体陽性率であったが、JEV 媒介蚊の室内への侵入が日本全国で証明された。

E. 結論

野生動物と伴侶動物の JEV 抗体保有率の結果はブタでの日本脳炎流行予測調査結果と多くの点で一致しており、依然として九州・四国地方を中心に日本各地で日本脳炎ウイルスが活動していることが示された。室内飼育犬での調査は、室外に出ることが少ない幼児や老人も日本脳炎に対する注意喚起が必要であると考えられた。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

前田 健、大野 佳、佐藤 宏「伴侶動物と野生動物における日本脳炎ウイルス感染の血清疫学調査」第 43 回日本脳炎ウイルス生態学研究会 2008 年 6 月 (香川)

大野 佳、前田 健、甲斐一成、佐藤 宏、鈴木和男「野生動物における日本脳炎ウイルスの感染状況」第 146 回日本獣医学会学術集会、2008 年 9 月 (宮崎)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

表1. アライグマ、イノシシ、タヌキの日本脳炎抗体陽性率

捕獲場所	アライグマ	イノシシ	タヌキ
和歌山県	69.1% (47/68)	83.3% (30/36)	63.2% (12/19)
大阪府	64.5% (40/62)	- ^{a)}	-
兵庫県	40.7% (22/54)	-	-
北海道	0% (0/20)	-	-
計	53.4% (109/204)	83.3% (30/36)	63.2% (12/19)

a) Data not available.

表2 JEV に対するウイルス中和抗体価

動物種	捕獲場所	ウイルス中和抗体価										
		<1:10	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120
アライグマ	兵庫県	32	6	4	3	2	3	1	0	2	1	0
	大阪府	22	13	10	6	4	4	3	0	0	0	0
	和歌山県	21	10	13	4	7	3	3	1	1	3	2
	北海道	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
イノシシ	和歌山県	6	8	5	6	1	3	1	1	0	0	0
タヌキ	和歌山県	7	2	5	5	0	0	0	0	0	0	0

表3 アライグマ（兵庫、大阪、和歌山）の性別および体重別による日本脳炎抗体保有率の比較

	性別		体重(kg)		計
	オス	メス	-3.9	4.0-	
陽性頭数	56	53	34	75	109
検査頭数	103	81	56	128	184
陽性率(%)	54.9%	65.4%	60.7%	58.6%	59.2%

表4 イノシシの性別および体重別による日本脳炎抗体保有率の比較

	性別		体重(kg)		計
	オス	メス	-49	50-	
陽性頭数	20	10	20	10	30
検査頭数	23	13	25	11	36
陽性率(%)	87.0%	76.9%	80.0%	90.9%	83.3%