

## 感染症流行予測調査事業における日本脳炎感染源調査概要 (平成22年度)

ウイルス課 増本久人 南 亮仁 野田日登美  
江口正宏 古川義朗 轟田清典

キーワード：日本脳炎ウイルス 感染源調査 豚血清 HI抗体価 RT-PCR法

### 1 はじめに

日本脳炎は、日本脳炎ウイルスを媒介する蚊であるコガタアカイエカの刺咬によって感染する重篤な急性脳炎である。日本脳炎は 1999 年 4 月に施行された「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律（感染症法）」に基づく感染症発生動向調査において全数届出の 4 類感染症とされ、サーベイランスが実施されている。感染症流行予測調査事業の一環として、豚の血清を対象に感染源調査（日本脳炎ウイルス HI 抗体価保有調査など）を実施し、同時に豚血清中から RT-PCR 法による遺伝子検出を試み、豚における日本脳炎ウイルス感染の浸淫状況について調査したので報告する。

### 2 材料および方法

#### 1) 感染源調査

本調査は日本脳炎の増幅動物である豚の感染状況を知る目的で実施されているが、平成 22 年度は 7 月上旬から 9 月中旬までの計 8 回、1 回につき 10 頭、合計 80 頭のブタについて調査を実施した。検査術式は、感染症流行予測調査事業検査術式<sup>1)</sup>により HI 抗体価（赤血球凝集抑制試験）を測定した。また、同時に初期感染（IgM 抗体）の指標となる 2-メルカプトエタノール（2-ME）処理法による感受性抗体価についても測定調査を行った。

#### 2) 遺伝子検出（RT-PCR 法）

平成 22 年度の感染源調査で使用した一部のブタ血清について RT-PCR 法による遺伝子検出を試みた。病原体検出マニュアルに準じて実施した。豚血清 500  $\mu$ l からは、QIAamp UltraSens Virus Kit（QIAGEN, USA）を用いて RNA を抽出し、DNase 処理および RT 反応にて cDNA の合成後、日本脳炎ウイルス遺伝子のエンベロープ（E）領域を標的とし、下記の各プライマーセットを用いて PCR 反応を行い増幅産物の陽性バンド（326bp）の検出を試みた。

##### ・1st. PCR プライマー組合せ

(JE8K-S:5' ATG GAA CCC CCC TTC 3' )

(JEER:5' AGC AGG CAC ATT GGT CGC TA 3' )

##### ・Nested PCR プライマー組合せ

(JE8K inner-S:5' ATC GTG GTT GGG AGG GGA GA 3' )

(JEER inner-S:5' AGC ACA CCT CCT GTG GCT AA 3' )

### 3 結果

今回の感染源調査における豚のHI抗体価保有率の上昇は、前年度は8月中旬であったのに対し、今年度は7月下旬に30%のHI抗体保有率を見た。その後、8月上旬は40%、8月中旬には90%に達し、8月下旬90%、9月上旬90%、最終調査の9月中旬まで80%と高いHI抗体保有率を示した。

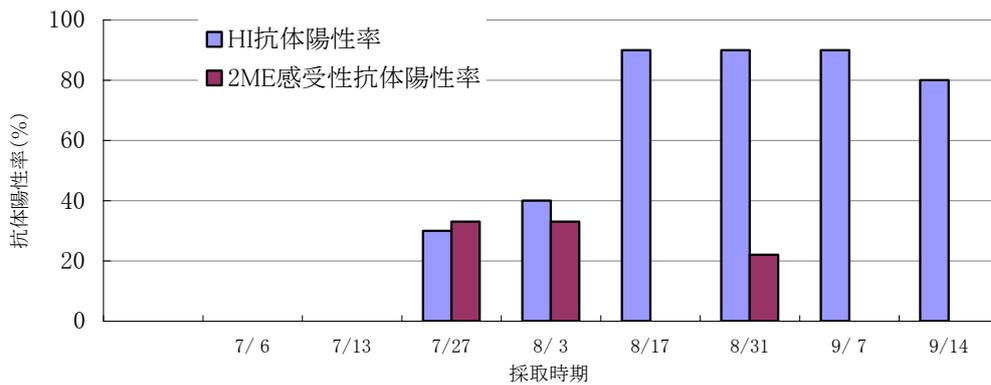
また、初期感染の指標である2-ME感受性抗体保有率(IgM抗体)についても、前年度は9月上旬であったが、今年度は、やや早く7月下旬に33%、8月上旬33%、8月下旬に22%の2-ME感受性抗体保有率を示したが、これ以上の高い2-ME感受性抗体保有率は確認できなかった(表1)(図1)。

表1 平成22年度 豚のHI抗体価保有状況調査結果

採血月日	検査頭数	HI抗体価								HI抗体保有率	2ME感受性抗体保有率
		<10	10	20	40	80	160	320	≥640		
7/6	10	10								0%	0%(0/0)
7/13	10	10								0%	0%(0/0)
7/27	10	7						2	1	30%	33%(1/3)
8/3	10	6		1			1		2	40%	33%(1/3)
8/17	10	1			1	1	4	3		90%	0%(0/9)
8/31	10	1				1	1	6	1	90%	22%(2/9)
9/7	10	1				1	7	1		90%	0%(0/9)
9/14	10	2					2	6		80%	0%(0/8)

図1 平成22年度 豚のHI抗体保有率と2-ME感受性抗体保有率の出現推移

豚の日本脳炎抗体保有率(平成22年度)



#### 2) 平成22年度遺伝子検出(RT-PCR法)結果

今年度、HI抗体価保有率と初期感染の指標とされる2-ME感受性抗体保有率(IgM抗体)の保有率を有す豚の血清についてRNA抽出後、日本脳炎ウイルス遺伝子のE領域を標的としたプライマーを用いてRT-PCR法を試みたが、今回、対象とした豚血清からは日本脳炎ウイルス遺伝子の検出は確認できなかった。

#### 4 考察

日本脳炎ウイルス感染による患者の発生は、予防ワクチンや生活環境の様々な変化などにより、感染患者は激減し、近年では数名の発生を見るにいたっている状況である。その中でも日本脳炎ウイルスによる患者発生の多くが西日本地区で発生しており、特に中国・九州地方に日本脳炎の患者発生が多く報告されている。県内での日本脳炎患者の発生届出は平成17年度8月に60歳台女性患者の届出がされた以降は、患者発生の届けはない。

今回の感染源調査では、日本脳炎ウイルス感染による豚のHI抗体価保有率の上昇時期は、前年度調査に比べ、3週ほど早いHI抗体保有率を示し、初期感染の指標とされる2-ME感受性抗体保有率の上昇も確認され、日本脳炎ウイルスによる汚染注意報発令基準値である抗体価上昇率の50%を越えた。

この結果から、8月以降、ヒトへの日本脳炎ウイルス感染が危惧されたが、感染患者の届出はなかった。

また、遺伝子検出については、平成17年度調査の豚血清から日本脳炎ウイルス1型を検出した経緯もあり今回も検出を試みているが、日本脳炎ウイルス遺伝子は確認できなかった。

しかし、HI抗体保有率の検出状況から豚と蚊の間では、日本脳炎ウイルスによる感染環が形成されていることに変わりはなく、日本脳炎ウイルスの浸淫状況を監視し注意喚起を促す手段として本事業の豚における感染源調査の継続が必要である。

#### 謝辞

この度、日本脳炎ウイルスにおける感染症流行予測調査(感染源)事業にご協力を賜った(社)佐賀県畜産公社及び食肉衛生検査所職員の皆様に厚く御礼を申し上げます。

#### 文献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課：感染症流行予測調査事業検査術式、2002
- 2) 国立感染症研究所、地方衛生研究所全国微生物協議会編：病原体検出マニュアル
- 3) 厚生労働省健康局結核感染症課：平成20年度感染症流行予測調査報告書、2008
- 4) 国立感染症研究所感染症情報センター：日本脳炎 2003～2008、IASR、30(6)、2009
- 5) 高崎智彦：国立感染症研究所ウイルス第一部 日本脳炎ホームページ公開
- 6) 国立感染症研究所感染症情報センター：感染症流行予測調査、日本脳炎速報、IDSC、2010
- 7) 佐賀県衛生薬業センター所報：感染症流行予測調査事業、31、2010