

香川県における日本脳炎の疫学的調査

山本忠雄・山西重機・岡崎秀信

I はじめに

日本脳炎患者の発生は全国的に減少の傾向にあり、本県においても昭和53年に真性患者が2名発生して以来、昭和56年までの間に真性患者の発生は認められない。

しかし流行期には毎年、日本脳炎ウイルス保有蚊(以下有毒蚊という)の出現が観察されており、日本脳炎流行は今後とも予断はゆるされない。

そこで本年は日本脳炎流行予測事業として従来より実施してきたと畜場豚の日本脳炎赤血球凝集抑制抗体(以下HI抗体という)の調査の他に、有毒蚊の消長、コガタアカイエカから日本脳炎ウイルスを分離する場合の乳呑みマウス(以下SMという)とヒトスジマカ培養細胞クローンC₆/36(以下C₆/36細胞という)を使った場合の分離率の比較等を行ったので報告する。

ら採血し検査材料とした。検査方法は厚生省が「伝染病流行予測調査術式」に示す方法に準拠した。

2. コガタアカイエカからのウイルスの分離

コガタアカイエカは県内の畜舎で捕虫網を使って採取し、3日間飼育の後、-80℃の超低温槽中に凍結保存し、逐次分離の用に供した。検査方法としては、日本脳炎ウイルスを分離する場合に従来より一般的に用いられているSM法と、比較的新らしい方法であるC₆/36細胞法の両検査方法で行った。SM法については、国立予防衛生研究所学会編「ウイルス実験学各論²⁾」に記載されている方法に準拠した。C₆/36細胞法はIgarashi, Aらの方法³⁾に準拠した、即ち試験管にC₆/36細胞がほぼ単一層を形成するまで培養し、検体(SM法で調整したもの)0.1 mlを接種し、28℃で7日間(14日間)培養の後、この培養液を用いて補体結合反応を行い同定した。

II 材料および方法

1. と畜場豚のHI抗体の測定

と畜場豚は県内で飼育されていた生後約6ヶ月の豚か

III 調査成績

1. と畜場豚のHI抗体並びに感染初期抗体(IgM)の消長

昭和56年には8月下旬からHI抗体の陽転化がはじま

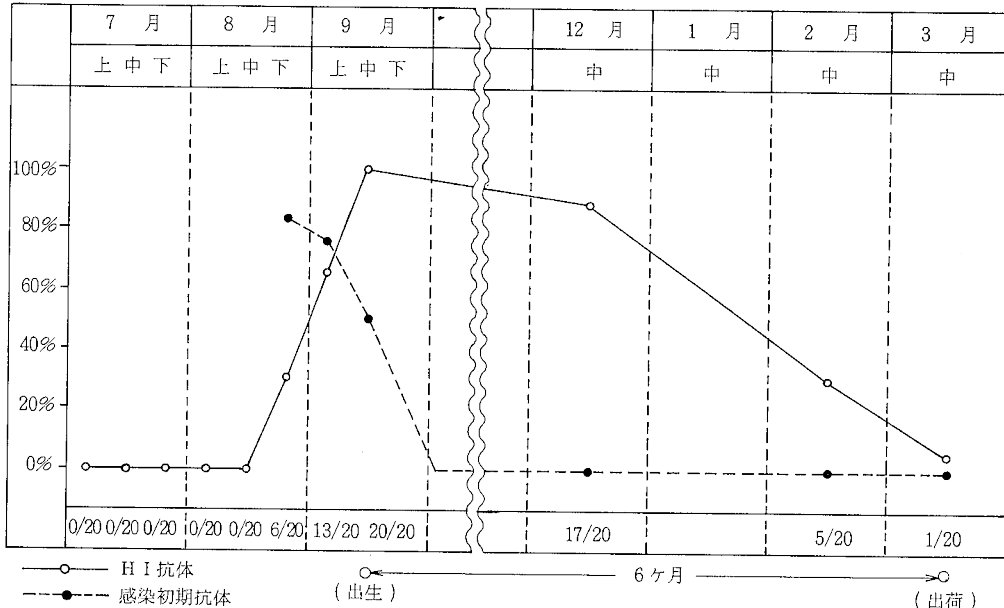


表1 と畜場豚の日本脳炎HI抗体並びに感染初期抗体(IgM)の消長(昭和56年度)

り、H I 抗体の保有率が50%をこえたのは9月上旬と遅かった。そして9月中旬になってH I 抗体保有率が100%に達している。その後のH I 抗体の推移をみると、12月中旬には85%に、2月中旬には25%、3月中旬には5%へと、段々H I 抗体保有率が下がっている。又感染初期抗体は、この年ウイルスをはじめて分離した8月10日から約10日遅れた8月下旬には83.3%と高率に検出されている。9月上旬には75.0%、9月中旬には52.6%に下っており、12月中旬、2月中旬、3月中旬ではそれぞれ検出されなかった。

2. と畜場豚のH I 抗体保有率が50%をこえた月日（日本脳炎汚染推定地区指定月日）

昭和42年には、7月下旬に早くもH I 抗体保有率が50%をこえている。これに対して昭和56年には、9月上旬になってやっと50%をこえている。平均では8月中旬に50%をこえている。但し昭和47年、昭和49年、昭和52年にはH I 抗体陽転率の最高が50%に達していない。

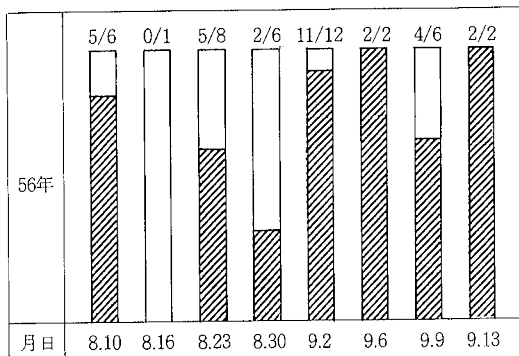
3. 有毒蚊の消長

昭和56年には7月19日から9月13日までの間にコガタアカイエカを50プール採取してSM法とC₆/36細胞法の両検査法を使ってウイルスの分離を試みたところ、8月10日から9月13日までの間に採取した43プールのうち31プールからウイルスを分離することが出来た。又ウイルスが分離されはじめる時期はと畜場豚のH I 抗体が陽転しはじめる約10日前であった。

表2 と畜場豚のH I 抗体保有率が50%をこえた月日（日本脳炎汚染推定地区指定月日）

	H I 抗体が50%陽転した月日	7 月		8 月		9 月
		下	上	中	下	上
41年	8・9					
42年	7・31					
43年	8・19					
44年	8・11					
45年	8・20					
46年	8・13					
47年	(-)					
48年	8・28					
49年	(-)					
50年	8・18					
51年	8・30					
52年	(-)					
53年	8・7					
54年	8・13					
55年	8・11					
56年	9・7					
平均	8・17					

表3 有毒蚊の消長（ウイルスの分離）



○棒グラフ上部の数字：分母はウイルス分離を試みた件数、分子はウイルスの分離件数。
○と畜場豚のH I 抗体は8月下旬（8月24日）採血分より上昇しはじめている。

表4 SMB法とC₆/36細胞法による分離成績の比較（昭和56年）

分離方法	分離件数	備 考
SMB (+)・C ₆ /36細胞 (+)	24	
SMB (+)・C ₆ /36細胞 (-)	1	
SMB (-)・C ₆ /36細胞 (+)	1	
SMB (検査不能)・C ₆ /36細胞 (+)	5	検体接種後における日本脳炎による発症とは別のSMの非特異性早死
SMB (-)・C ₆ /36細胞 (-)	19	

$$\text{両検査法の一致率} = \frac{24 + 19}{50} = 86\%$$

4. ウイルスを分離する場合のSMとC₆/36細胞を使った場合の分離率の比較

昭和56年に、50プールの検体について両検査法を用いてウイルスの分離率の比較を行ったところ、両検査法とも陽性のものが24プール、陰性のものが19プール、即ち両検査法の一致率は86%と高かった。SM法で陽性、C₆/36細胞法で陰性は1プール。SM法で陰性、C₆/36細胞法で陽性が1プール、SM法で検査不能、C₆/36細胞法で陽性が5プールであった。

IV 考 察

1. ウイルス分離を行う場合の両検査法の比較で、C₆/36細胞法で陽性、SM法でSMが死亡し検査不能になったのが5プールあった。これはSMに検体接種を行った後に、日本脳炎による発症とは別に、それ以前（検

体接種後2日以内)にSMが死亡し検査不能になったものである。この原因についてはよくわからないが、1つには子育ての下手な親マウスがいること。もう1つの原因としては、SMBに検体を接種することによりその物理的刺戟によりSMの挙動が少しおかしくなる、このような場合に分娩で神経質になっている親マウスの中には、このSMを喰い殺すものがあるのではないかと考えられる。

2. C₆/36細胞法では1検体について、それぞれ2本の試験管に検体を接種した。1本は7日間、残りの1本は14日間培養の後に補体結合反応により同定を行った。7日間の培養液で陰性、14日間の培養液で陽性が1プー

ルあった。又この逆の場合も1プー ルあった。一般的にみて7日間の培養液で弱陽性(+)であったものが14日間の培養液で強陽性(++)になったものが相当あり、補体結合反応で同定する場合には14日間の培養の方が判定が容易であった。

3. 両検査法における検査上の特徴については表5に示したとおり、それぞれ一長一短があった。一度に多数検体の処理をしなければならないような場合には、C₆/36細胞法が適しており、一度の検体処理数が少ないような場合には、どちらか一方の方法を使用すればよいとも考えられるけれども、ウイルスの分離率をより高める面から両検査法を併用することが望ましい。

表5 日本脳炎ウイルスを分離する場合のSMB法とC₆/36細胞法の検査上の特徴

項 目	SMB 法	C ₆ /36 細胞法
1. 多数検体の処理性	SMを一度に多数準備することが困難	容 易
2. 検査不能の有無	SMの非特異性の早死が低率ながら発生する	無
3. 管理の容易性	飼料・水の給与・床敷の交換・検体接種後は1日2回の観察	容 易 (28℃ふ卵器中)
4. 判定の容易性	脳症状を呈した後、死亡するので判定は容易	CFテストで同定するが、抗原が少ないと判定が困難な場合がある
5. 検査期間	10日(3日~7日)	2週間(7日~14日)
6. 感受性	良 好	良 好

V 結 論

1. 昭和56年はHI抗体の陽転しはじめる時期並びにHI抗体保有率が50%をこえる時期は例年より遅かったが、9月中旬になってHI抗体保有率が100%に達している。その後HI抗体保有率は表1のとおり段々減少し、3月中旬におけると畜場豚のHI抗体保有率は5%に減少している。

2. 感染初期抗体(IgM)は有毒蚊の出現している時期には高率に検出されているが、その後急激に減少している。

3. と畜場豚のHI抗体保有率が50%をこえる時期は毎年、多少異っているが平均では8月中旬であった。

4. 有毒蚊はと畜場豚のHI抗体が陽転しはじめる約10日前(8月10日)に現われはじめ、9月中旬頃に終息している。

5. ウイルス分離率の比較では検査成績はよく一致していたが、SMを使った場合は検体接種後に日本脳炎に

よる発症とは別に、それ以前にSMが死亡し、検査不能になった分だけ分離率が低かった。又検査の容易性(労力、施設、備品、多数検体の処理性)等からもC₆/36細胞を使用した方が少しすぐれていた。

文 献

- 1) 厚生省公衆衛生局保健情報課, 伝染病流行予測調査検査術式 60~73 1978
- 2) 国立予防衛生研究所学友会, ウイルス実験学各論 131~132 1975
- 3) Igarashi, A. Buei, K. Ueba, N. Yoshida, M. Ito, S. Nakamura, H. Sasao, F. Fukai, K. Isolation of viruses from female *Culex Tritaeniorhynchus* in *Aedes Albopictus* cell cultures. *Am. Trop. Med. Hyg.* 30(2), pp. 449~460 1981
- 4) 五十嵐章
ヒトスジシマカ培養細胞クローンC₆/36を用いた野外採集コガタアカイエカからの日本脳炎ウイルスの分離方法, 熱帯医学第22巻第4号 255~264 1980