

富山県における10年間の日本脳炎流行予測 調査結果について（第2報）

富山県衛生研究所

香取 幸治 松浦久美子 中山 喬
今井 澄代 上村 清

はじめに

わが国に於ける日本脳炎患者は1948～1952年頃には北海道を除けば本州、四国、九州と全域にかなり均等に分布していた。それが1953～1959年には東北地方の発生が目立って減少し、1960～1965年西日本の発生のみが著しくなった。その後もほとんどが西日本に発生し1970年以降は九州地区に集中して発生する傾向がみられた。

患者発生数をみると1960～1966年 1,000～2,000名を上下しその後1966年を境に減少が著しく1970年以降は 100名を割る患者数となった。

富山県では1948～1950年に日脳患者 100名内外の大流行が続き、死者も3年間で 113名に達した。その後年々減少し、過去10年間においては1965年2名、1966年2名、1967年3名の真性日脳患者の発生を認めただけで以後1974年まで患者の発生をみない。

このように日本脳炎患者の減少は著しいが、日本脳炎の流行を支配するものとしては媒介蚊であるコガタアカイエカの発生量が最も問題とされ、日本脳炎ウィルスの主な増幅動物である豚の飼育状況、それに住民の免疫抗体等があげられる。しかし、その実態については必ずしも明らかではない。

我々は富山県において1965年～1974年の日本脳炎流行予測事業として、と場豚の日本脳炎のH I 抗体保有率の推移、コガタアカイエ

カからの日本脳炎ウィルス分離、コガタアカイエカの発生消長、それに日本脳炎患者の発生状況を検討してきた。さらに最近の日本脳炎低流行年における健康幼児の日本脳炎免疫抗体を「中和反応」「血球凝集抑制反応」を用いて測定し、日本脳炎ワクチンの接種方法についても検討した。

材料と方法

1) コガタアカイエカの採集方法

1965～1968年の4年間は、富山県下の2～5ヶ所の豚舎にNew Jersey型ライトトラップ(20W、白色、円型蛍光灯)を設置し、毎年6月中旬から10月上旬までコガタアカイエカの消長を調査した。その後毎年広田(富山市)、友杉(富山市)、富山南(富山市)、千里(婦中)、小矢部、氷見、上市、黒部、福野の9地点の豚舎について蚊の採集を行った。豚舎はいづれも豚20～30頭内外が飼育されており、各々に野沢製作所NH-5型ライトトラップ(6W、BL管)をその中間の天井に設置、採集は原則として6月初旬から10月の初めまで、毎週日没から翌朝まで行った。

2) 蚊からのウィルス分離と同定の方法

蚊の採集方法は1965～1968年富山市並びにその周辺の牛舎と豚舎に集まってくるコガタアカイエカを日没から約2時間、捕虫網を振って採集、1968～1970年は富山市南部の富山空港で採集した。日没から2時間半ドライア

イスライトトラップを用いた。採集蚊は場所別に飼育場所に移し、5%砂糖水を餌にして一夜飼育し、翌日冷凍死させ、コガタアカイエカ未吸血雌成虫を選別し、原則として小試に50匹(1968年以降)を1プールとして-80℃のディープフリーザーに保存した。後日哺乳マウス接種時に蚊をディープフリーザーより取り出し、あらかじめ0℃に冷却した乳鉢で蚊1プールの研磨し、PBS-2希釈液(ペニシリン500u/mlとストレプトマイシン500r/mlを含有する2%北海道日本脳炎抗体陰性仔牛血清加PBS)2mlの割合で加え、乳剤とし10,000r.p.m.30分遠心、上清をウイルス分離材料とした。

分離材料を哺乳マウス(生後1~3日)の脳内に0.02mlと腹腔内に0.1mlあて接種した。

1乳剤について1腹8匹を用い、観察は2週間行った。

発症マウスはすべて2~3代継代した。

感染マウス脳よりアセトンエーテル法でHA抗原を作成しHA価を予研法により、VAD(血球希釈液)PH6.0~7.0につき測定した。日脳ウィルスの同定は予研より分与された。JaGAR#01 Rabbit Serun(41)2-8-68を使用した。

3) 豚血中抗体測定

1965~1971年高岡と場と富山と場を、1972年からは富山と場を対象に、原則として6月から11月までの6ヶ月間行い、7月~9月までは毎週1回、その他の月は1~3回の調査を行った。と場では生後5~8ヶ月の豚を20頭あて、と殺後放血時に採血した。

血球凝集抑制反応の測定法

日本脳炎のHI(血球凝集抑制反応)抗体価はJaGAR#01抗原(武田製)と1日令ヒヨコの赤血球とを用いて検査した。検査方法は予研法によった。抑制物質除去のための冷アセトン処理は2度行い、HI抗体価1:10をもって陽性とした。また抗体価1:80以上のものについては2MEに対する態度を調べ2

ME感受性の推移をみた。

4) 健康幼児の日本脳炎抗体測定

黒部市三島保育所園児66名(3~6才)、福光町福光保育所と吉江保育所園児78名(4~6才)を対象に行った。

三島保育所園児は日本脳炎ワクチンの基礎免疫を完了後追加を毎年実施した集団であり、一方、福光、吉江保育所園児は日本脳炎ワクチン接種後2年間未実施の集団で1974年11月4日と1974年11月26日に採血した。

中和抗体の測定方法

中和ウィルスはニワトリ胎児単層細胞培養(CE)に継代のJaGAR#01株(予研分与)を 10^{-2} に希釈し、CE細胞に接種して約40時間後にその培養液を取り出し5%仔牛血清を加え、小試に分注して-80℃に凍結保存したものをを用いた。中和試験の手法は予研法によった。中和抗体価(NT)は血清希釈の1:80でえられたPlague reduction rateをもってあらかじめ作成したチャートから対数抗体価を算出するチャート方式によった。この抗体価は10倍以上を陽性とした。

結果と考察

1) コガタアカイエカの発生消長、日本脳炎ウィルス分離

富山県でのコガタアカイエカの発生消長は1965~1974年の10年間を通して5月下旬から10月上旬までの長い期間に捕集され、発生のピークは7月下旬から8月上旬にあった。

コガタアカイエカの年間連日捕集推定値の年変動を図1に示すが、年々蚊数が減少する傾向にあり、ことに多数捕集地点(数字は年間捕集数推定値の千分の1)に著しい。この減少の主因として農業形態の近代化すなわち土地改良による「水管理の進歩」が水田を蚊の発生場所として不向きにし「早期栽培の普及」が蚊の発生成育を困難にしたことがあげられる。また農業の普及、多頭飼育による衛生管理の向上等も原因としてあげられる。

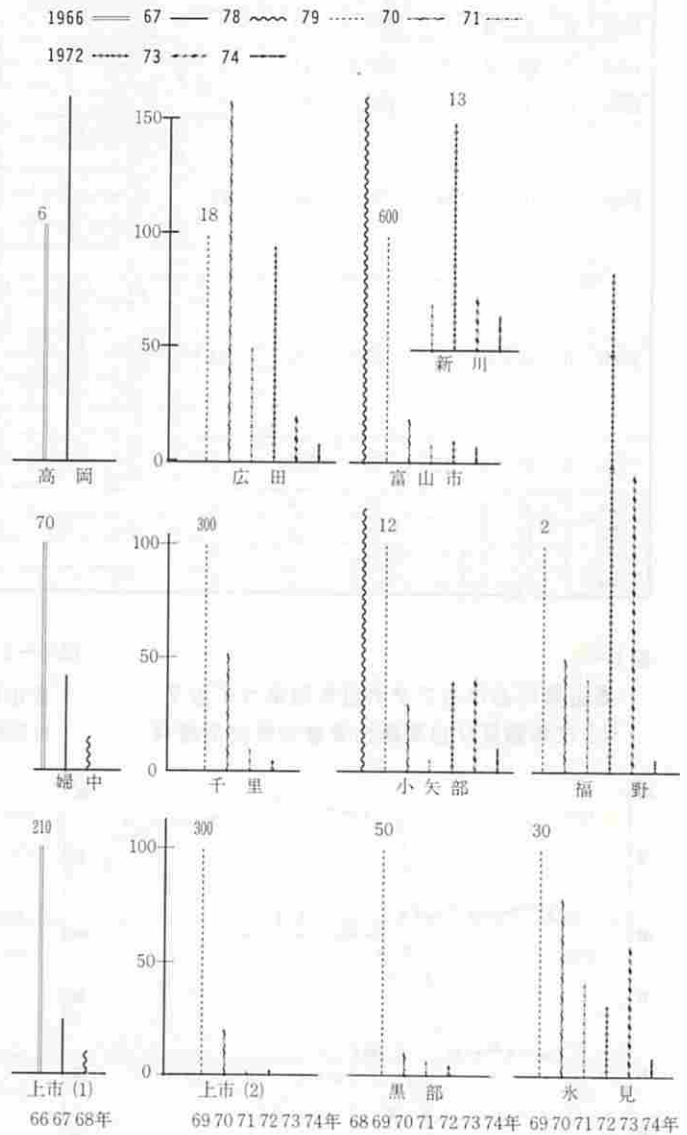
このようにコガタアカイエカの絶対数の減少が日本脳炎の発生を抑制している主因と思われる。

コガタアカイエカからの日本脳炎ウイルス分離状況は表1に示す通りである。

1965年は8月3日から9月1日に捕集したコガタアカイエカ 1,800匹9プール中、8月24日の1プールより分離した豚H I 抗体陽転より10日ほどおくれた。これは当初ウイルス分離技術が未熟だったためと思われる。1966年には7月26日と8月2日にそれぞれ1株分離し初めの分離から豚抗体陽転は7日ほどおくれ、H I 抗体の産生の時期からみてよく一致した。豚抗体陽転のはやさからいって日本脳炎感染蚊は相当数あったと思われる。1968年は7月16日から9月17日に採集したコガタアカイエカ17,000匹86プールから12プール分離した。日脳ウイルスは8月5日から9月5日までの長期間にわたって分離できた。豚抗体との関係では2 M E 感受性抗体の出現の一週間前から分離できた。1969年は6月26日から10月2日まで採集、コガタアカイエカ35,300匹 706プールから41プール分離した。その後1970年にはコガタアカイエカ33,450匹 669プールのウイルス分離を試みたが、8月17日、20日の2回にそれぞれ1株分離できたにすぎず、この年の豚H I 抗体価は陽転が大幅に遅れ10月13日であった。1971年以降は捕集蚊が著しく少なかったための分離に必要なプール数が得られず、1972年8月14日の1株のみで他は全く分離できなかった。この成績は豚H I 抗体の抗体保有率の推移と一致している。

これらのコガタアカイエカからの分離日脳ウイルスはすべてマウス脳内に感染させて抗原を作成した。これらすべての抗原は至適P

図1 富山県下各地点におけるコガタアカイエカ年間推定捕集数の年次変動 (1966, 69, 72年を各々 100とする、数字は連日捕集推定数の1/1,000を示す)



H6.8附近に高い値を示し、免疫血清JaGAR # 01によるTypingの結果JaGAR # 01株に近似していた。

2) と場豚の日本脳炎抗体保有率の年次推移

富山県におけると場豚の日本脳炎抗体保有率の年次推移は図2に示す通りである。

1965年のと場豚抗体保有率の上昇始めは、8月11日73.3%でその後の保有率もほぼ100%

表 I コガタアカイエカからの日脳ウイルス分離状況

年度	検査期間	プールサイズ	プール数	陽性数	陽性月日	検 プール 数	陽性数
1965	8-3~9-1	200	9	1	8-24	3	1
1966	7-19~8-9	200	14	2	7-26	6	1
					8-2	3	1
1967	6-20~8-15	100	20	0			
1968	7-16~9-17	50	86	12	8-5	25	2
					8-12	7	4
					8-15	9	2
					8-19	13	1
					8-26	9	2
					9-5	2	1
1969	6-26~10-2	50	706	41	7-31	188	12
					8-7	43	13
					8-14	87	7
					8-21	58	4
					8-28	66	4
					9-11	21	1
1970	5-25~9-17	50	669	2	8-17	21	1
					8-20	15	1
1971	7-8~9-9	50	64	0			
1972	7-19~9-7	50	40	1	8-14	6	1
1973	7月上旬~8末日	10~50	5	0			
1974	7月上旬~8末日	10~50	4	0			

に達し、長く続き、陽性例についてのH I抗体価 640倍以上の割合も60~80%を維持してきた。このような典型的な豚H I抗体価の推移は1966年1967年と続いた。1968年1969年2 M E感受性抗体も認められたが保有率は100%に達しなかった。又陽性例についてのH I抗体価 640倍以上の割合も大きく後退した。1970年の抗体保有率の上昇はきわめて遅れ、10月に入って初めて50%をこえた。2 M E感受性抗体は8月中旬から9月上旬にかけてみられ10月中旬にも1例みられた。1971年は1970年同様10月に入って急に陽性率50%となり抗体価も 640倍のものまでみ

図 2-1

富山県におけるブタの日本脳炎ウイルスH I抗体価及び日脳届出患者の年次別推移

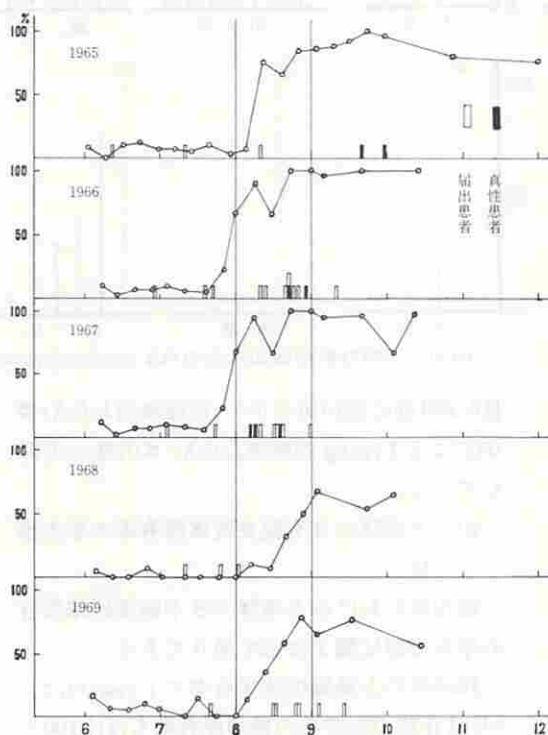
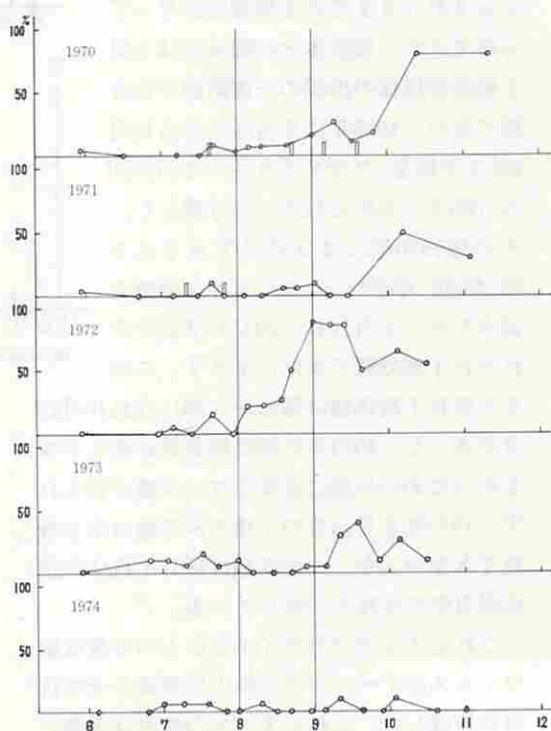


図 2-2

富山県におけるブタの日本脳炎ウイルスH I抗体価及び日脳届出患者の年次別推移



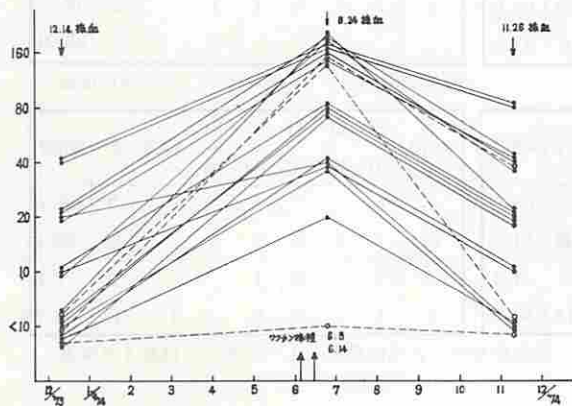
れ、この期の2ME感受性抗体が5例みられた。このようにコガタアカイエカがほとんどみられなくなった時期にもかかわらず新鮮感染のものが多かったことは興味深い現象である。1972年は上昇が比較的早く8月21日に陽性率50%となり2ME感受性抗体は73%認められた。これはコガタアカイエカが多く捕集できた1968年1969年に匹敵し、図1に示すごとく蚊数の増加する地点もあった。又9月13日採血豚にも2ME感受性が認められ、1973年は8月27日に1例の2ME感受性を認めたが抗体の保有率は9月11日~17日に30~40%示しそれ以上上昇せず、2ME感受性抗体は10月15日までみられた。1974年抗体上昇は7月上旬に若干認められたがそれも2ME感受性は示されず過去10年間においてもっとも低い年といえる。

このように過去10年間、豚の抗体保有率の多少の変動があるが年々低下している。豚というきわめて日本脳炎に敏感な感受性動物であるにもかかわらず、日本脳炎保毒蚊の襲撃を受ける機会が少なくなっている。これはコガタアカイエカの絶対数の減少によるものと思われる。又9月、10月の時期はずれに豚抗体の陽転もみられたが一般に抗体価は80~320倍と低くおさえられている。

3) 健康幼児の中和及びHI抗体調査

三島保育所園児のワクチン接種による抗体血の推移は図3に示す。

図3 日脳HI抗体価の推移 (三島保育所)



1973年採血時ワクチン未実施3名、基礎免疫完了者16名について、初年2回接種者並びに追加接種後3週間目の抗体と5ヶ月後のHI抗体価を測定した。その結果、初年2回接種3名の内2名がHI価<10倍から160倍と抗体上昇がみられ、他の一人については抗体の上昇がみられず、5ヶ月後には40倍と<10倍に低下した。一方追加免疫した16名のうち、抗体上昇は2倍:1、4倍:4、8倍:6、16倍:4、32倍:1でありまた5ヶ月後のHI抗体価の低下は2倍:2、4倍:11、8倍:3であった。このように最近の高力価のワクチンは抗体産生がよく、又HI抗体価の減少は顕著でなかった。

中和及びHI抗体価の関係を図4、5に示したが共によく相関し、中和はHIに比べておよそ5倍の感度で検出された。

ワクチン接種とHI、中和の関係は表2に示す。三島保育所園児の基礎免疫完了後のHI抗体保有率は52.5%で追加接種回数が増すにつれて保有率も80.0~83.5%と上昇した。一方中和抗体保有率は基礎免疫後88.9%、追加接種後95.0~100.0と高い率を示した。又福光町吉江保育所園児のように基礎免疫後2年経過した場合でも抗体の保有率はHI:54.2%、中和抗体79.2%と高い率を示した。ワクチン接種が不完全で2年経過後の抗体の保有率はHI:44.4%と50.0%、中和:77.8%と88.9%の高い値を示している。この抗体価は今まで述べた豚HI抗体の推移、コガタア

表3 富山県日脳患者届出状況 (540~49)

		40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	計
届出患者数	真	2	2	3	0	0	0	0	0	0	0	7
	疑	3	10	7	3	7	4	2	0	0	0	36
死亡患者数		1	3	5	1	2	2	1	0	0	0	15
検査件数		4	5	7	3	6	3	1	0	0	0	29
血清学的判定	++	1	1	1	0	0	0	0	-	-	-	3
	+	1	0	2	0	0	0	0	-	-	-	3
	±	0	2	1	0	0	0	0	-	-	-	3
(HI)	-	2	2	3	3	6	3	1	-	-	-	20

カイエカの発生状況などから推測して、まず自然感染による獲得の可能性は非常に少なく、ワクチン接種による産生と思われる。表3に示すように富山県では1968年以降患者が発生していないが今日のような低流行期においては初年2回、翌年1回の基礎免疫を済ませたら3年目頃までは有効なレベルで抗体の維持が期待されると思う。

IV ま と め

富山県における過去10年間のコガタアカイエカの発生消長は農業形態が近代化され水管理の進歩、早期栽培の普及、農薬の普及などによって変化しコガタアカイエカの絶対数が大きく減少した。

日本脳炎にきわめて感受性が高くコガタアカイエカの主要吸血源でもある豚が日本脳炎保毒蚊による襲撃を受ける機会が少なくなっ

図4 HI抗体価と中和抗体価の関係

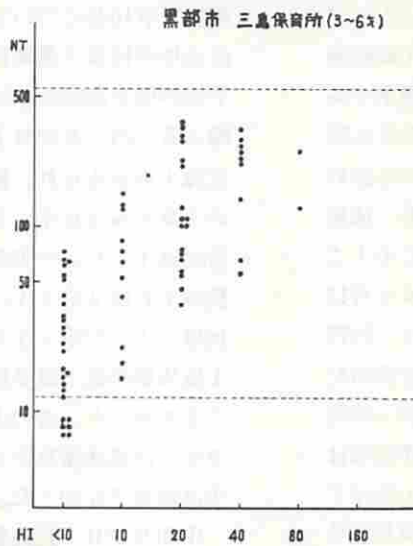
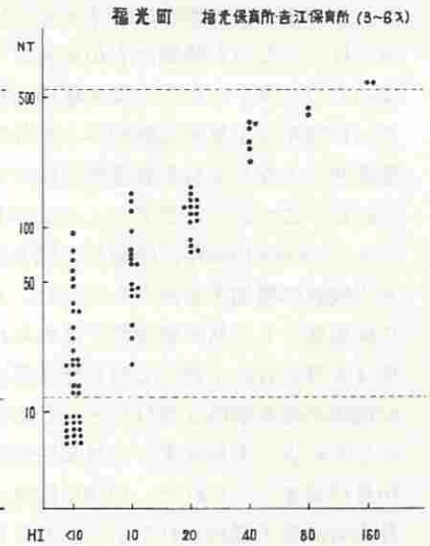


図5 HI抗体価と中和抗体価の関係



たためHI抗体の陽転も大幅に遅れると同時に、HI抗体価が低くおさえられている。それにともない本県においては日本脳炎患者が1968年以降1名も出ていない。しかし依然として日本脳炎ウィルスの汚染が認められ、流行の可能性が存在している。現在の若年層の日本脳炎抗体は自然感染による獲得の可能性が少なくワクチン接種による産生とみなされ、

表2 ワクチン接種歴とHI、NT価の関係

ワクチン歴	H I 価						計	陽性率
	<10	10	20	40	80	160 320		
未実施	4						4	0
基礎免疫 (初年2回 翌年1回)	17	7	8	3	1		36	52.5
" +追加1回	4	4	6	5	1		20	80.0
" +追加2回	1		4	1			6	83.5

NT 価	H I 価						計	陽性率
	<10	10	20	40	80	160 320		
1	2	1					4	75.0
4	5	5	13	5	4		36	88.9
1	1	3	4	7	4		20	95.0
			1	2	3	6	6	100.0

三島保育所(3~6才) 11月26日採血

ワクチン後の経過	H I 価						計	陽性率
	<10	10	20	40	80	160 320		
基礎免疫後	3年	1	2				3	66.6
	2年	2	8	9	5	2	2	48
不完全接種後2年経過	2回	5	1	3			9	44.4
	1回	9	5	3	1		18	50.0

NT 価	H I 価						計	陽性率
	<10	10	20	40	80	160 320		
							3	100.0
10	7	6	6	9	5	5	48	79.2
2	3		3	1			9	77.8
3	1	2	5	6		1	18	88.9

福光保育所・吉江保育所(4~6才) 11月4日採血

ゆえに現在のような低流行期においても基礎免疫を完全に実施し、追加接種を2～3年ごとに行う必要があると思われる。また、従来通りコガタアカイエカの発生消長、と場豚

の抗体の推移並びに住民に対する日本脳炎抗体などを常時監視して日本脳炎の流行に万全を期したい。

文 献

- 1) 上村 清・松田宗之：日本脳炎患者の減少に関する考察——農業形態の近代化がもたらした役割、富山県農村医学研究会誌、3：66—86、1972
- 2) 松田宗之・上村 清・香取幸治・石倉康宏・松浦久美子・中山 喬・渡辺 護・児玉博英・城野 晃・田中英子・西田義雄・坂田竜光：富山県における日本脳炎媒介蚊コガタアカイエカの生態と日本脳炎ウィルスの病理に関する研究(その3)、富山県衛生研究所、昭和47年度日本脳炎調査試験報告書1—39、1972
- 3) 上村 清・渡辺 護：日本脳炎媒介蚊の激減を導いた農業の近代化について、防虫科学 38：245—38：245—253、1973
- 4) 富山県公衆衛生課：富山県における日本脳炎、同課刊、1965—1972
大谷 明：近年の日本脳炎流行の動向、日本公衆衛生学会誌、19：55—59、1972
- 5) 南谷幹夫：日本脳炎ワクチンの新発見、小児臨床、27：814—823、1974
日本公衆衛生協会：微生物検査必携、1966