

## 2 学会発表

**空中カモガヤ花粉抗原(Dac g)の出現時期と飛散動態**

高橋裕一, 青山正明, 須藤守夫, 安部悦子,  
會田健, 川島茂人, 阪口雅弘, 太田伸男

日本花粉学会第47回大会, 2006年9月13日~15日, 和歌山市

イネ科花粉抗原はスギ花粉抗原のように遠方まで飛散しないと考えられているが, それを示す確実なデータに乏しい。我々は調査地点の近く(周囲1km内)にイネ科植物が繁茂している場所:盛岡市盛岡駅西通マリオス(須藤内科クリニック;以下“盛岡”と略)と繁茂していない場所:山形市岩波(高橋宅;以下“山形”と略)について同時に調査を行い検討した。Dac gの濃度はESRラジカルイムノアッセイ法で測定した。

Dac g交差反応性抗原はスギ花粉シーズンからすでに存在しておりイネ科植物由来と推測された。調査地点の近くに繁茂地がある場所では大飛散するが, 近くに繁茂地がない場所では顕著なピークがみられなかった。これらのことから, 空中Dac g量には調査地点周囲に繁茂しているカモガヤおよびそれと交差反応性のイネ科植物花粉抗原の寄与が大きいと考えられる。また, Dac gはいずれの地点でも降雨日に低く, 最高気温が高い日に多くなる傾向がみられた(3/22-6/30,  $r=0.356$ ,  $n=101$ ,  $p<0.01$ )。

**スギ花粉飛散シーズンとその前後における飲用水  
(水道水, 井戸水)中のCry j 1含量**

高橋裕一, 青山正明

第56回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2006年11月2日~3日, 東京都

スギ林から河川や地下水により運ばれ, 日々我々が飲用している水には花粉から遊離した花粉アレルギーが含まれていないか調べる目的で, 井戸水, 水道水, 雨水, 雪を溶かした水, 池の水, 河川水(貯水池に入る前)のCry j 1をESRラジカルイムノアッセイ法(ESR法)で測定した。試料の一部はVIVAPORE濃縮器あるいは固相抗体法で濃縮した。スギ花粉シーズンの経過は空中Cry j 1値を目安にした。試料中の微量Cry j 1は不安定なので, 採取後すみやかに測定した。水道水ではスギ花粉の飛散ピーク期でもCry j 1は検出限界以下であった。雨水, 雪を溶かした水, 池の水, 河川水には微量のCry j 1が検出された。井戸水の値は検出限界に近かったので, 飛散ピーク期に濃縮し測定したところCry j 1の存在が確認できた。Cry j 1値は終了期には低下していた。今回のCry j 1値から井戸水を飲んでいる地域では, スギ花粉の飛散ピーク時に最大で数ng/日のCry j 1を摂取している計算になる。水道水にはCry j 1が検出されなかった。しかし, 池の水や河川水には検出された。貯水ダムから水道の蛇口まで届く間に検出されなくなる。水道水は塩素処理で失活すると考えられた。

## ダークラム捕集器により得られた大気試料中のCry j 1値 (ラテックス凝集反応・ELISA)とスギ花粉数との関係

安部悦子, 高橋裕一, 青山正明

第56回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2006年11月2日～3日, 東京都

2台のダークラム捕集器を当研究所の屋上に並べて設置し同一時間帯に捕集した試料中のCry j 1量とスギ・ヒノキ科花粉数を調べた。スライドの交換は午後3時30分から4時の間に行った。Cry j 1はラテックス凝集反応(高橋, 青山:アレルギー, 55, 28-33, 2006)およびELISAで測定した。スギ花粉数はカルベラ液で染色し18mm×18mmのカバーガラスの全面をカウントした。土曜日, 日曜日はスライドを交換しないで月曜日に3日分の値とした。

3月16日から4月18日について測定し相互の相関を調べた。ラテックス凝集反応とELISAによるCry j 1では $r=0.8791$ , ラテックス凝集反応によるCry j 1と花粉数では $r=0.8459$ , ELISAによるCry j 1と花粉数では $r=0.9342$ で, いずれも $p<0.01$ で正の相関がみられた。操作の煩雑さについては, ELISAは日々の測定には向かない。ラテックス凝集反応は操作が最も容易で日々の情報提供に向いている方法であることが確認できた。

## 有用地域作物の検索—ヒメウコギの有効利用—

笠原義正, 山田則子, 小野寺準一

日本生薬学会第53回年会, 2006年9月29日～30日, 埼玉県伊奈町

ウコギの根皮は漢方の湯液用法で用いられており, リウマチや神経痛, 水腫, 浮腫にも応用される。このことから炎症反応を抑制することが推測されたので, 急性炎症モデルであるカラゲニン足蹠浮腫の検討を行った。その結果, ウコギ葉, 枝皮, 根皮のいずれについても有意な抗浮腫効果が認められた。カラゲニンの浮腫が最大となる5時間目の抗浮腫効果を比べてみると枝皮が45%浮腫を抑制し最も強い作用と考えられる。抗侵害作用では, ウコギの枝皮と根皮にライシング抑制作用が認められた。この作用は, 枝皮の方が強く, 抗炎症効果とも関連があるものと推測される。さらにウコギは滋養強壮作用があるとされているので, 抗疲労効果の検討を目的として自発運動について調べた。各エキス投与後6時間後までは, 自発運動に何ら変化は認められなかったが24時間後の積算運動量をみるとウコギ根皮については明らかに運動量が増加しており, 抗疲労作用が考えられる。また, 滋養強壮という表現から考えて, 現代人に必要なストレスに対応することを想定し, 拘束ストレスの実験を行った。ウコギ葉を投与したものは用量依存的に潰瘍発生を抑制した。しかし, 枝皮については, 抑制傾向はみられるが有意な効果ではなかった。根皮では潰瘍を有意に抑制するものの用量依存性がみられなかった。

以上, 抗炎症作用は葉, 枝皮, 根皮に見られ特に枝皮が強く, 抗侵害作用は枝皮が強く, 滋養強壮と関連する自発運動増加作用は根皮に, ストレスを軽減する作用は葉と根皮にみられた。植物の部位により作用が異なるのは興味もたれる。これらの結果は山形特産のヒメウコギを有効利用する手がかりになるものと考えられる。

## 山形県におけるトリカブト食中毒とその分析法

伊藤 健, 本間 弘樹, 笠原 義正

山形県公衆衛生学会, 2007年3月7日, 山形市

山形県では、食用のムキタケやシイタケが毒キノコのツキヨタケと、ウラベニホテイシメジが毒キノコのクサウラベニタケと、山菜ではニリンソウやシドケが毒を持つトリカブトと誤認されることが多い。そのなかでもトリカブト属植物には毒性の強いアコニチン系アルカロイド（アコニチン；AC, メサコニチン；MA, ヒパコニチン；HA, ジェサコニチン；JA等）が含まれており、誤食すると死に至る可能性が高い。平成14年には本県で死者も確認されている。今回、これらの食中毒の状況を把握するために情報を収集した。検討の結果、これらのデータから山形では植物性自然毒による中毒（特にトリカブト）が重要な位置を占めていることが示唆された。この中毒の原因を特定するには毒成分を明らかにすることが必要である。我々は、トリカブト属植物の毒成分に関して、従来、高速液体クロマトグラフ（HPLC-UV）とガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）による分析を進めていた。しかしHPLC-UVでは感度の面で、GC/MSでは試料を誘導体化しなければならないなどの問題点があった。そこで今回これらを改善するために高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（LC/MS/MS）を用いて検討した。その結果、4種のアコニチン系アルカロイドそれぞれの分離が良く、直線性の良好な検量線が得られ、回収率は4種とも90%以上で、従来のHPLC-UV、GC/MS法の欠点を補うような迅速で高感度な分析法が得られた。

## hMPV69例の検討—年齢、時期、流行性、同胞内感染の分析—

板垣 勉, 水田 克巳, 安孫子 千恵子, 青木 洋子

第80回日本小児科学会山形地方会, 2006年6月4日, 山形市

平成16・17年の2年間に山形県衛生研究所で96穴マイクロプレート法とRT-PCR法でウィルスの分離検出を試みた。71株（2.9%）が検出され、1～3歳（62.0%）・3～5月（67.6%）に多かった。複数回検出されたのは2名で、同胞内感染率は32%で0～3歳に多く、感染日差は4～6日（66.7%）であった。3施設で施設内流行を認め、施設内流行を示す気道感染症としても注意が必要である。

## hMPVの臨床症状

板垣 勉, 水田 克巳, 安孫子 千恵子, 青木 洋子

第80回日本小児科学会山形地方会, 2006年6月4日, 山形市

平成16・17年の2年間に気道より検出された69例71感染を検討した。有熱期間3～6日（73.6%）・咳鼻汁と発熱日差0～1日（71.5%）・咽頭炎（49.3%）・喉頭炎（7.2%）・気管支炎（34.8%）・喘息様気管支炎（8.7%）・付随症状発疹（7.2%）・中耳炎（7.2%）・下痢（4.3%）・WBC10000未満80.9%・CRP 3.0mg/dl以下（85.6%）・咽喉所見は正常（34.8%）・咽頭後壁リンパ腫大発赤38.0%であった。RSV陽性の症例は発熱11日と長かった。

## 山形市近郊におけるhMPVの流行について —hMPVの遺伝子型と地域流行—

板垣 勉, 勝島 矩子, 水田 克巳, 安孫子 千恵子, 青木 洋子

第16回日本外来小児科学会, 2006年9月2日～3日, 横浜市

＜目的＞山形市近郊におけるhMPVの疫学的調査

＜方法＞2004年～2005年の2年間に気道感染症の診断で採取した鼻咽頭ぬぐい液2445件の検体をから96穴マイクロプレート法 (HEF/HEp-2/VEROE6/MDCK/RD-18S/GMK細胞) によるhMPVの分離とRT-PCR法で遺伝子の検出を行い, 69名より71株のhMPVが検出された (分離67株). 遺伝子配列を検討できた66検体の採取時期と地域から山形市近郊の流行を検討した.

＜結果＞2004年は遺伝子型 B2 型, 17株 B1 型 1 株, 2005年は A2 型 22 株, B1 型 14 株, B2 型 12 株で, A1 型は検出されなかった. 検出率は, 2004年 1.7%, 2005年 4.1%, 流行期では 6.7-11.7% であった. 2005年山辺町で 3 つの型, 中山町で B1 型, 寒河江市西村山郡で A2/B1 型, 山形市で 3 つの型が確認された. 山辺町の 9 通学施設のうち 2 施設で 4 月中旬から 6 月中旬に A2 型, 1 施設で 7 月中旬から 8 月初旬まで B2 型が流行した. カルテ上の同胞感染率は 0-3 歳児に多く, 全体では 32.8% であった. 同一人の複数感染は 2004年 3 月 B2 型, 2005年 4 月 B1 型と 2005年 5 月 A2 型, 8 月 B2 型の感染者が確認された.

＜考察＞現在まで hMPV の混合感染が指摘されていたが, 1 診療所での時系列観察では, 小さなコミュニティでは単一流行型, 大きなコミュニティでは混合流行することがわかった. 流行規模は集団発生と混合流行の規模に左右されることが示唆された.

## PCR法によるウイルス検査へのドットハイブリダイゼーションの活用

須藤 亜寿佳, 青木 洋子, 水田 克巳, 保科 仁, 大谷 勝実

第50回山形県獣医技術研修会, 2006年6月16日, 山形市

衛生研究所では、感染症発生動向調査で県内の医療機関から送付された検体からのウイルス分離を実施している。ウイルス分離には6種類の培養細胞を用いているが、中には培養細胞で分離できないウイルスが存在する。食中毒や感染症で有名なノロウイルスはその代表である。また、検体によってウイルス分離が難しいものが存在する。ウイルス性の脳炎や脳症が疑われる症例から、採取された髄液はウイルス量が少ないため、分離が非常に困難なのが現状である。そのため分離不可のウイルスや髄液の検査には、PCR法によるウイルス遺伝子の増幅と確認試験が有用である。しかし、電気泳動後のゲルから遺伝子を抽出精製するハイブリダイゼーションやシークエンスは特殊機器が必要でランニングコストが高い。そこで、当所では特殊機器を要せずランニングコストも安価なドットハイブリダイゼーションを採用した。これは、PCR法の産物を直接メンブレンに滴下し固定したものをハイブリダイゼーションする方法である。

今回、この方法を応用し、髄液検体のうちヘルペスウイルス(HSV)、ムンプスウイルス(MV)を疑う31検体を対象にPCR法で遺伝子を増幅後ドットハイブリダイゼーションで確認した。その結果、31検体中11検体からHSV遺伝子が、10検体からMV遺伝子が検出され、ドットハイブリダイゼーションで陽性が確認された。平行して培養細胞を用いたウイルス分離を同じく31検体について実施したが、数回の継代を実施してもウイルスは分離されなかった。以上のことからPCR産物を直接用いたドットハイブリダイゼーションの確立により、ウイルス分離が不可能なレベルのウイルスの検出が可能となった。

現在、ウイルス性の脳炎、脳症を疑う症例において原因究明のために髄液の検体が送付されるケースが増加している。今後は、ウイルス分離を基本に、分離困難な症例にドットハイブリダイゼーションを活用していきたい。

## 菌体接着因子SabAの遺伝子構造と*H.pylori*感染との関連

大谷 勝実, 邵 力, 武田 弘明, 福井 忠久,  
河田 純男, 石川 仁, 深尾 彰

第55回東北公衆衛生学会, 2006年7月21日, 盛岡市

【目的】*Helicobacter pylori* (*H.pylori*) の接着因子であるSabA (sialic acid binding adhesion) の遺伝子構造を明らかにするとともに由来する各疾患との関連について検討した。

【方法】2003年8月～2005年7月に山形大学医学部附属病院に来院した胃粘膜病変を有する患者から分離された*H.pylori* 29株 (胃炎9株, 消化性潰瘍12株, 胃癌8株) を対象とした。これらの株の*sabA*遺伝子全塩基配列を決定し、遺伝子の構造解析、核酸・アミノ酸の相同性比較及び分子系統樹解析を行った。

【成績・考察】*sabA*遺伝子の塩基数は2,218～2,260bpで、GC%は平均38.9%であった。全株の遺伝子にはstart codon下流にCT繰り返しが存在した。9株では一つのopen reading frame (ORF) が確認されたが、11株ではCT繰り返しなどによるフレームシフトのためORFの翻訳ができない状態にあった。また点変異、欠失、挿入なども観察され、9株にはstop codonが存在した。塩基配列及びアミノ酸配列の相同性については、疾患内においても、また各疾患の間でも差を認めなかった。また、分子系統樹解析では、分離株は欧米株と明らかに異なるグループであったが、特定の疾患のクラスターはみられず、*sabA*遺伝子と疾患との関連は認められなかった。今後、我が国における*H.pylori*株のSabA蛋白の発現状況及びその発現と胃炎、消化性潰瘍及び胃癌との関連を検討することが必要である。

## 血清型Kawasaki 感染によるつつが虫病

青木 敏也, 金子 紀子, 最上 久美子, 村田 敏夫, 大谷 勝実

第60回日本細菌学会東北支部総会, 2006年8月24日~25日, 福島市

山形県におけるつつが虫病は血清型Karpによるものがほとんどである。平成17年に血清型Kawasaki感染によるつつが虫病2例を確認したので報告する。

【症例1】患者A(54歳, 女性, 新庄市)は平成17年10月10日に発病。刺し口が左胸部に認められ, 発熱(38℃), 全身に発疹があった。リンパ節腫脹は認められなかった。8病日時の血液でPCRにより*O.t*56kDa遺伝子が検出され, 型別したところKawasakiと判明した。Kawasakiに対する抗体価の上昇は8病日では認められなかったが, 19病日時の血液ではIgG 160倍, IgM 10240倍であった。

【症例2】患者B(83歳, 女性, 鮭川村)は平成17年11月10日発病。刺し口が首部に認められ, 発熱(39℃), 全身に発疹があった。リンパ節腫脹は認められなかった。12病日時の血液でPCRにより*O.t*56kDa遺伝子が検出され, 型別したところKawasakiと判明した。Kawasakiに対する抗体価の上昇は12病日ではIgMのみ80倍で, 19病日時の血液でIgG 80倍, IgM 320倍であった。

これら患者2名は, 共に自宅近くの畑で農作業時に感染したと思われる。

血清型Kawasakiは関東以西で晩秋に多発するつつが虫の病原体で, タテツツガムシによって媒介されると言われている。山形県において血清型Kawasakiなどの弱毒株を媒介するツツガムシの調査を今後検討する必要がある。

## 6つの細胞を使用したマイクロプレート変法によるウイルス分離

水田 克巳, 青木 洋子, 須藤 亜寿佳,  
保科 仁, 大谷 勝実, 板垣 勉

第60回日本細菌学会東北支部総会, 2006年8月24日~25日, 福島市

【目的】山形県におけるウイルス性気道感染症の疫学解明

【対象と方法】2004年1月から2005年12月までに病原体定点等で採取した急性気道感染症の患児から採取した鼻咽頭拭い液, 4,113検体についてHEF, Hep-2, VeroE6, MDCK, RD-18S, GMK細胞を用いたマイクロプレート変法によりウイルス分離を行った。

【結果と考察】2年間に, インフルエンザ(AH1, AH3, B, C) 381株, ピコルナウイルス(CoxA, CoxB, エコー, ポリオ, パレコー, ライノ) 349株, パラインフルエンザ(1-4) 246株, アデノウイルス(1-6) 229株, RSウイルス109株, ヒトメタニューモウイルス79株, ムンプスウイルス43株, ヘルペス・サイトメガロウイルス108株の合計1,544株が分離された(分離率37.5%)。RD-18S・GMK細胞の導入でエンテロウイルスの分離効率が上がり, Vero細胞をVeroE6細胞に入れ替えたことによりヒトメタニューモウイルスの分離が可能となったことは第56回, 第59回の本学会で発表したとおりである。更に6種類の細胞の使用に加え, モルモットとニワトリの血球凝集反応やRT-PCR法の併用により分離効率が上昇していると考えられた。



## 1990～2003年の山形におけるエンテロウイルス71型の分子疫学

水田克巳, 青木洋子, 須藤亜寿佳, 保科仁, 大谷勝実,  
松寄葉子, 本郷誠治, 近江彰, 岡本道子, 西村秀一

第60回日本細菌学会東北支部総会, 2006年8月24日～25日, 福島市

【目的】1990～2003年に山形で分離されたエンテロウイルス71型 (EV71) の分子疫学解析

【対象と方法】1990年から2003年に山形県で分離されたEV71の臨床分離株54株について, VP1 (891塩基) の遺伝子解析を行った。

【結果と考察】遺伝子解析の結果, 6種類の遺伝子型 (B2, B4, B5, C1, C2, C4) が認められた。経時的分布を見ると, 1990年はB2とC1, 1993年B1, 1997～99年C2, 2000年はB4とC2, 2001年C2, 2002年C4, 2003年はB5とC4であった。B2が1990～93年, C2が1997～2001年と4～5年にわたって見られたが, いったん消失した遺伝子型が再出現することはない。山形のコミュニティで流行していたEV71は経時的に変化してきたといえる。EV71は重症化をおこすことが知られており, また東南アジア諸国でも山形と同じ遺伝子型の流行が報告されていることから, 広域なEV71の発生動向調査が必要と考えられた。

結核患者接触者検診における全血インターフェロン $\gamma$ 応答測定法の実施状況

青木 敏也, 金子 紀子, 大谷 勝実, 阿彦 忠之

山形県公衆衛生学会, 2007年3月7日, 山形市

## 【はじめに】

結核感染の有無の検査法としては、従来ツベルクリン反応検査（以下、ツ反）が用いられてきた。しかし、ツ反に用いる抗原（PPD）はBCG菌の持つ抗原と高い類似性を持つため、BCG接種を慣行している日本の場合、ツ反陽性が結核菌感染によるものか、BCG接種の影響によるものかの判定が困難であった。

最近、ツ反の問題点を解決する新しい方法として全血インターフェロン $\gamma$ 応答測定法が実用化された。本法は、結核菌群に存在し、BCG菌には存在しないESAT-6およびCFP-10という結核菌特異抗原を用いるため、BCG接種の影響を受けない。このことにより、より正確な結核感染の診断が可能になった。

今年度から当所でも、保健所における結核患者の接触者検診（集団感染対策）に関連した検査として、本法を試行的に実施している。本学会では、村山保健所の協力を得てその実施状況を事例ごとに報告する。

## 【方法】

- ・県内の結核患者4事例を発端とする接触者、計77名を対象とした。
- ・全血インターフェロン $\gamma$ 応答測定法は検査キットQuantiFERON<sup>®</sup> TB-2G（以下、QFT）を用いて行った。QFTの検査手順を図1に示した。判定基準は、陽性0.35 IU/ml以上、陰性0.1 IU/ml未満、疑陽性0.1～0.35 IU/ml未満。

## 【結果と考察】

## 事例1：院内感染対策

入院中の患者が肺結核（喀痰塗抹陽性、G9号）と判明。患者登録2ヵ月後の定期外健康診断では、39歳以下の接触者にツ反を実施し、日本結核病学会予防委員会の「クオンティフェロン<sup>®</sup> TB-2Gの使用指針」を参考に、ツ反発赤径（長径）20mm以上の病院職員4名について予防内服の必要性を判断するためにQFTを実施した。検査の結果、4名全員がQFT陰性であった。図2に4名のツ反長径とQFTの検査結果を示した。従来の便宜的に設定されている「塗抹陽性患者との接触歴あり、かつ、ツ反30mm以上」を「結核感染あり」の基準として用いた場合、ツ反30mm以上の3名は予防内服を指示されていた可能性がある。

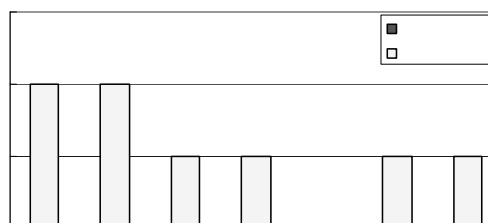
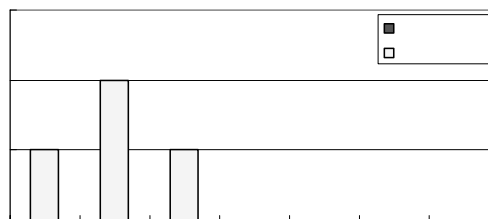


図2 ツ反長径とQFTの検査結果

## 事例2：院内感染対策

入院中の患者が肺結核（喀痰塗抹陽性、G5号）と判明。登録2ヶ月後に39歳以下の対象者全員にツ反を実施し、ツ反長径20mm以上の8名にQFTを実施した。検査の結果、8名全員がQFT陰性であった。図2に8名のツ反長径とQFTの検査結果を示した。8名には過去のツ反成績の記録があり、全員が過去にも今回と同等の反応または強陽性を示していたことも判明したので、上記の患者からの感染はなかったと判断された。

## 事例3：院内感染対策

入院中の患者が肺結核（喀痰塗抹陽性、G7号）と判明。当該患者は入院前から呼吸器症状があったため、接触者検診は入院前と入院中を合わせると61名が対象となった。これら61名全員にツ反に代わる方法としてQFTを実施した。検査の結果は陽性5名、疑陽性3名であった。QFT陽性または疑陽性の8名について、今回の患者との接触状況



のほか、年齢や過去の結核患者との接触歴等を考慮して保健所で検討した結果、QFT陽性の1名とQFT疑陽性の1名に予防内服が指示された。残りの6名は過去の感染の可能性も高いとして経過観察となった。

#### 事例4：家族内感染対策

家族内で肺結核患者（喀痰塗抹陽性、G5号）が発生。患者の家族4名に対しツ反に代わる方法としてQFTを実施した。検査の結果、4名全員が陰性で予防内服は不必要と判断された。

#### 【まとめ】

塗抹陽性肺結核患者の接触者検診におけるツ反で発赤径30mm以上の者（従来は予防内服を指示）であっても、QFTでは大部分が陰性であり、QFTはツ反に比べて結核感染の効率的な診断法として有用と思われた。

集団感染が疑われる場合、可能なら事例3と事例4のように接触者全員にツ反に代えてQFTを行うことが望ましい。しかし、QFT検査キットが高額で検査実施機関も少ない現状では対象人数が多数の場合、ツ反で対象を限定しQFTを実施することも考えられる。

一方でQFTは、特異度が98%であるものの感度は約90%であり、約10%程度の偽陰性を考慮した事後管理が必要なこと、過去の結核感染でも陽性となるなら対象年齢の上限をどうするか？小児におけるQFT検査の妥当性や診断基準をどうするか？などの課題がある。

QFTは現状では試行段階であるが、今後予算化に向けた取り組みが必要と思われる。

## 山形県民の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況

須藤 亜寿佳, 青木 洋子, 保科 仁, 水田 克巳, 大谷 勝実

山形県公衆衛生学会, 2007年3月7日, 山形市

### 【目的】

日本脳炎 (JE) はコガタアカイエカが媒介する感染性疾患である。主な流行地は、東アジア、東南アジアなど広い範囲に渡っているが、日本でも西日本を中心に年間数人程度の発症が確認されている。人は日本脳炎ウイルス (JEV) の終宿主であるが、JEVはカとブタで感染環を形成しており、人の感染状況はブタのウイルス増幅状況が左右すると考えられている。2004年のブタの日本脳炎HI抗体保有状況調査で、青森県、宮城県で抗体保有豚が確認されている。このことから山形県においてもJEV保有カが存在する可能性が示唆される。そこで、今回、山形県民の日本脳炎中和抗体保有状況について調査したので報告する。

### 【材料】

今回の抗体価測定に血清を使用することに同意を得た人の血清317検体を採取し、0～4歳、5～9歳、10～14歳、15～19歳、20～29歳、30～39歳、40～49歳、50～59歳、60歳以上と年齢階級別に分類し測定した。

#### (1) 血清

血清は100 $\mu$ lを2% FBS-MEM溶液で10倍希釈した後56 $^{\circ}$ C 30分で非動化した。非動化した血清は2倍段階希釈し、640倍までの血清希釈液を作成した。

#### (2) ウイルス

国立感染症研究所より分与された日本脳炎ウイルスJaGAR01株を用いた。

#### (3) 細胞

国立感染症研究所より分与されたVero90 13株を6穴プレートに105/ml/wellずつ分注し、4日間37 $^{\circ}$ C CO<sub>2</sub>インキュベーターで培養したものを用いた。

### 【方法】

感染症流行予測調査事業術式により検査を実施した。各希釈段階の血清希釈液とウイルス希釈液を等量混和し37 $^{\circ}$ Cの恒温槽で90分間中和反応させた後、細胞がフルシートになった6穴プレートに接種した。混和液を接種したプレートは37 $^{\circ}$ CのCO<sub>2</sub>インキュベーターで90分間吸着させた。吸着中は15分毎細胞全面が潤うように攪拌した。吸着後、重層培地(2% FBS-MEM-1% メチルセルロース溶液)を重層し、その状態で6日間33 $^{\circ}$ CのCO<sub>2</sub>インキュベーターで培養した。培養後、10%中性緩衝ホルマリン溶液で1時間固定し、その後メチレンブルー染色液で1時間染色した。

染色したプレートを水洗し、できたプラーク数を算定して中和抗体価を決定し、10倍以上を陽性とした。

### 【結果】

調査の結果317検体中33.1%が中和抗体陽性であった。年齢階級別にみると、5～9歳、10～14歳が72.7%、88.6%と陽性率が高かった。全体に年齢が上がるにつれ陽性率は減少していったが、20～29歳では他の年齢に比べて陽性率が21.7%と低かった。また、0～4歳では全員が10倍未満の抗体価であった(図1)。今回の調査では640倍以上の高い抗体保有者がいたが、もっとも多かったのは抗体価

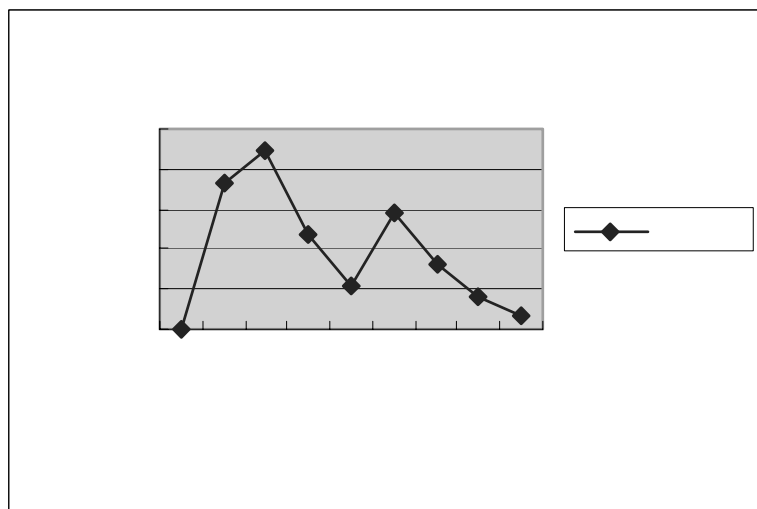


図1 年齢階級別抗体保有率

10倍であった。陽性率と同様に高抗体価の人数も年齢が上がるに連れて減少していった。

#### 【考察】

今回の中和抗体価測定では、5～9歳、10～14歳が高い抗体保有率を示した。これは、平成17年5月の日本脳炎ワクチン積極的勧奨差し控えまでに日本脳炎ワクチンが接種されたためと考えられる。また、0～4歳で抗体保有者がいなかった。これは、0歳では、調査に用いた血清が、母体からの移行抗体が消失する6ヶ月齢以上のものが多かったこと、また1～4歳では日本脳炎ワクチン積極的勧奨差し控えの為と考えられた。20～29歳の抗体保有率が21.7%と低かった。今回調査した20～29歳の血清69件中56件が20～24歳の人のものであった。1994年予防接種法改正により、日本脳炎ワクチン接種が個別接種になっているが、現在20～24歳の人は1995年以降に第2期および第3期の接種を迎える予定であった。しかし、個別接種に変更された事により接種率が低下し、追加免疫が得られず、抗体保有率が低下した可能性が考えられた。2004年の全国調査の結果と比較すると、20～29歳、50～59歳、60歳以上での抗体保有率の低さが目立つため、今後更なる考察が必要と考えられる。

1982年以降山形県での日本脳炎患者の発生は無い。しかし、青森県や宮城県でのブタの抗体保有状況を考えると、山形県内でもJEV保有力が存在する可能性が示唆され、これから先全く発生が無いとは考えにくい状況である。また、2006年発生した狂犬病のように、流行地への旅行などにより海外から持ち帰って発症する可能性も考えられる。以上のことから、今後も県民の抗体保有状況を確認する必要があると考えられた。

調査にご協力いただいた各位に深謝する。

#### 【参考文献】

- 1 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究感染症情報センター：平成16年度（2004年度）感染症流行予測調査報告書，92-113（2006）
- 2 木村三生夫，平山宗宏，堺春美：予防接種の手びき（第8版），近代出版，234-248（2000）