

1章 東南アジアにおける日本脳炎とデング熱／ デング出血熱

長崎大学熱帯医学研究所 五十嵐 章
〈病原体解析部門 分子構…分野〉

1節 日本脳炎とデング熱／デング出血熱の概要

日本脳炎 (Japanese encephalitis = J E) は高熱, 頭痛, 意識障害を3主徴候とする急性ウイルス性脳炎で, 致命率が10~50%と高く, 生存者の約半数も精神神経障害を伴う後遺症を残すことから恐れられる疾患である。デング熱 (Dengue fever = D F) とデング出血熱 (Dengue hemorrhagic fever = D H F) の病原体は共にデングウイルスである。D Fは発熱, 痛み, 発疹を3主徴候とするが致命率は極めて低い熱帯地域の風土病として古くから知られていた。これに対して1953年フィリピンでの流行以後, 東南アジア諸国で流行するようになったD H Fは, 発熱, 出血傾向, 循環障害を示し, 適切な治療を施さないと12~24時間以内にショック死する危険性が高い。

J EとD F/D H Fは疾患の症状は異なるが, 両疾患の病原体では共に黄熱ウイルスで代表されるフラビウイルス科・フラビウイルス属に分類される¹⁾。伝播様式の点でもJ Eウイルスとデングウイルスは媒介蚊の種類は異なるが, 共に蚊で媒介されるアルボウイルス (節足動物媒介脊椎動物ウイルス) としての共通性を備えている²⁾。更にJ EとD F/D H Fは, 近年東南アジアにおける医学・公衆衛生上の重要課題となっている点でも共通性がある。

2節 日本脳炎 (J E)

1. 伝播様式

日本脳炎 (J E) ウイルスの媒介蚊は水田で発生するコガタアカイエカなど

の蚊である。自然界においてアルボウイルスに感染して流血中にウイルスを産生し（ウイルス血症）媒介蚊の感染源となる脊椎動物を増幅動物と呼ぶ。J E ウイルスの増幅動物としては、家畜ではブタ、野生動物ではサギなどの野鳥が知られている。ヒトはウイルスを保有した媒介蚊に刺されて感染するが、ウイルス血症をほとんど示さず、媒介蚊や他の脊椎動物にウイルスの感染源とならないので、J E ウイルスの伝播サイクルでは終末宿主である。

2. 地理的分布と疫学的現況

J E の名称は1935年日本で最初に病原ウイルスが分離された歴史的事実に基づいているが、J E 及びJ E ウイルスは東アジアから東南アジアを経て南アジアに至るアジアモンスーン地域に広く分布している（図1 A）。この地域の温帯～亜熱帯では夏期の高温と多雨、熱帯では雨期の降雨、に恵まれているために水田での稲作が可能であり、J E の媒介蚊に対して広大な発生源を提供している。一方、回教徒以外は蛋白質食料源としてブタを盛んに飼育しており、J E ウイルスの増幅動物も多数存在する結果、J E の伝播に好都合な状況が成立している。

図2は近年アジアの流行諸国におけるJ E 患者数の年次変化である³⁾。日本では1966年以後患者数は激減し、1972年以後は年間患者数が100名以下の低流行状態が持続している。この原因は予防ワクチンの大規模接種、媒介蚊の減少、生活環境の変化が相まって作用したことが認められている。韓国でも1980年以後患者数が激減してほとんど皆無となったが、この成果は予防ワクチンが徹底的に接種された結果といわれている。中国では1960年代には年間患者数が10万名以上を記録していたが、独自のワクチンを開発して接種を開始して以降、患者数は漸減傾向を示している。しかしながら膨大な人口を抱え、かつ高山と砂漠地帯以外の全国が汚染地域となっており、ワクチンが未だ不十分のために、近年でも年間1～2万名の患者が発生している。

日本と韓国におけるJ E 患者の激減及び中国での漸減傾向と対照的に、1965年以降ヴェトナムで、1969年以降タイで、1978年以降インドとネパールで、1985年以降スリランカで、それぞれJ E が流行して大問題となっている。これらアジアの発展途上国におけるJ E 流行拡大の原因は未だ十分には解析されていない

1章 東南アジアにおける日本脳炎とデング熱／デング出血熱

図1 黄熱・日本脳炎・デング熱／デング出血熱の地理的分布

A：黄熱（斜線）と日本脳炎（黒色）

B：デング熱のみ（斜線）と，デング熱+デング出血熱（黒色）

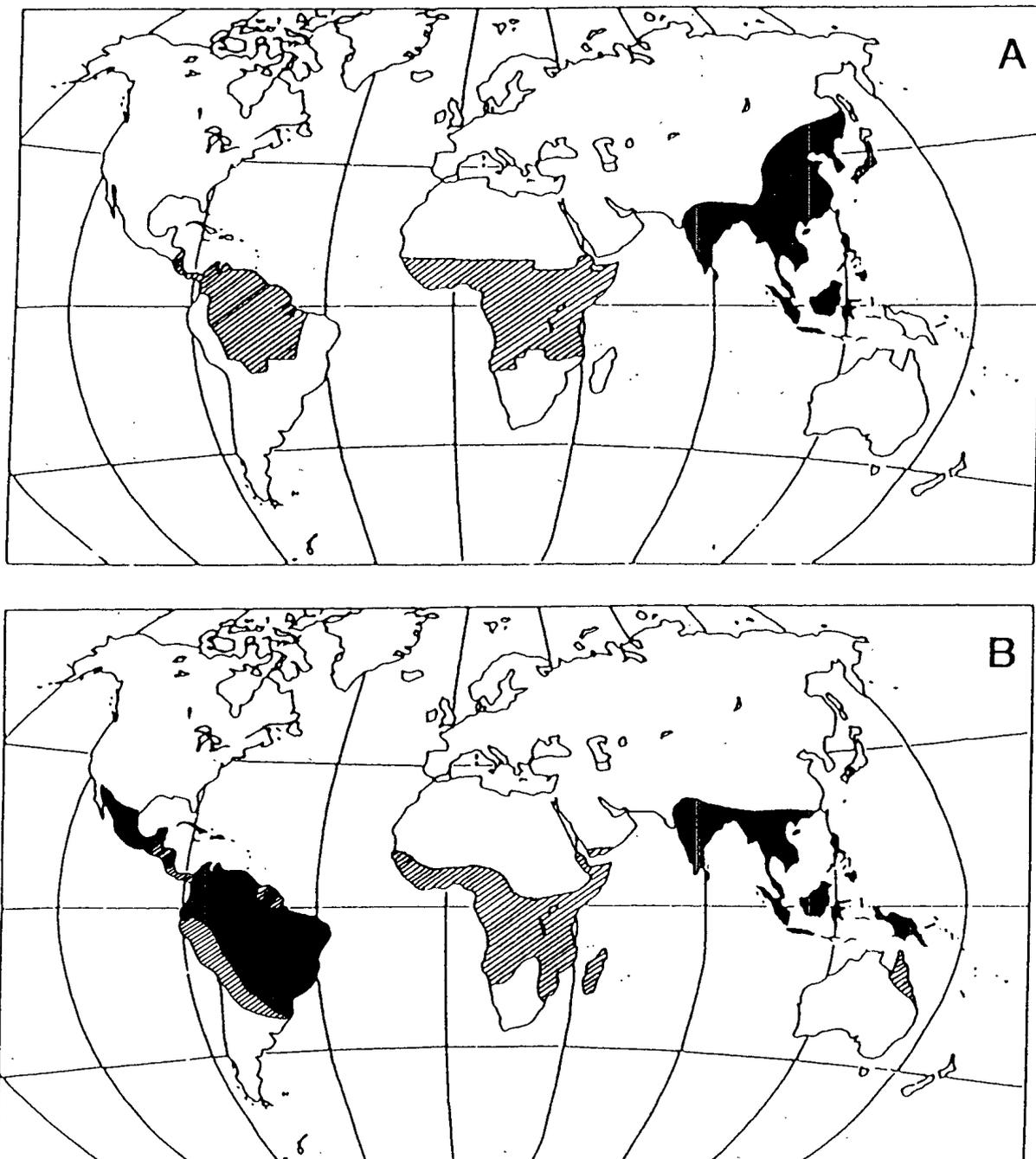
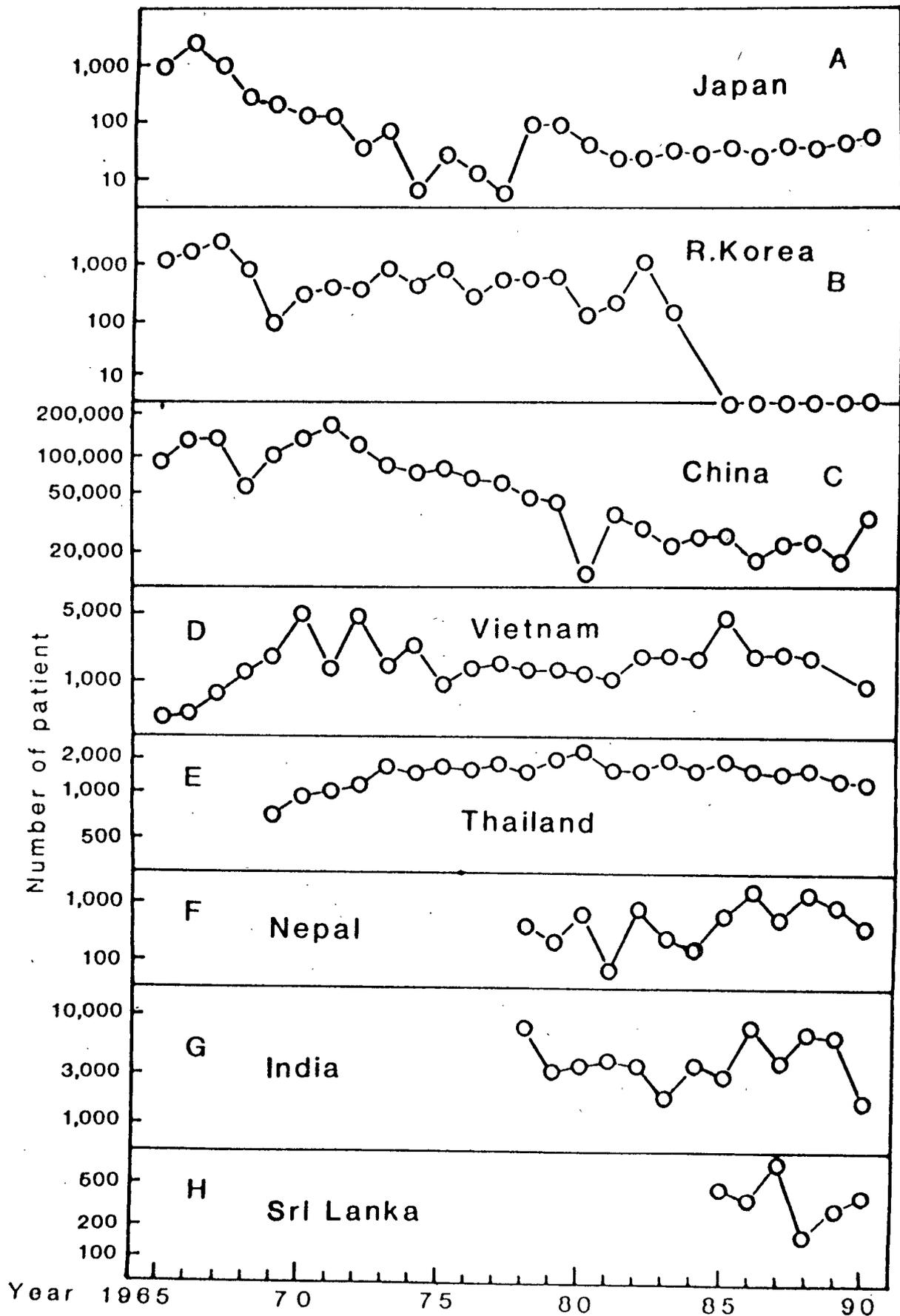


図2 アジアの流行諸国における日本脳炎患者数の年次変動文献³⁾より改変



1章 東南アジアにおける日本脳炎とデング熱／デング出血熱

いが、これら諸国の経済発展と関連しているという見解がある。経済発展は人口増加と相互関係にあるが増加した人口を養うための食料増産を必要とする。J E 流行地域であるアジアモンスーン地域では食料増産は水田の開発と養豚の拡大を意味し、その帰結としてJ E の伝播サイクルが拡大し、患者多発をもたらしている。この考えの妥当性は少なくともスリランカ、ネパール、インドには通用するものであり、森林を切り開いて新しく水田を開発した地域にJ E が流行していることを現地の学者が認めている⁴⁾。

3. アジアにおけるJ E の問題点と対策

他のウイルス性疾患と同様、J E ウイルスに特異的に有効な抗ウイルス剤は存在しないので、J E 患者の治療は対症療法によって生命の維持を図る以外にはない。しかしながら、一度発病すれば恐るべきこの疾患には日本で開発された有効な予防ワクチンが存在する。現行のJ E ワクチンはウイルスを接種して発病したマウスの脳乳剤をフォルマリンで不活化後、ウイルス粒子を高度に精製したもので、その安全性と有効性は証明されている⁵⁾。しかしながら現在J E の流行が問題となっているアジアの発展途上国において大規模接種を実施するには現行ワクチンの価格と供給量が問題である。これを打開するために世界保健機関（WHO）では組み換えDNA技術を用いた第二世代J E ワクチンの開発を提唱し、それを目的とした研究を助成している⁶⁾。残念ながら、本計画によって科学的な成果は得られているが、その成果が本世紀中に実用化される見通しはなさそうである。

4. 流行地における現行日本脳炎ワクチンの現地生産

したがって次善策として、すでに有効性と安全性が保証されている現行日本脳炎ワクチンを流行地で生産することによってワクチンの価格削減を図る計画が進行中である。J E ワクチン生産方法は日本国際協力事業団（JICA）の医療協力計画によってインドとタイに、WHO西太平洋地域事務局（WPRO）の計画によってベトナムに技術移転され、これらの国で生産が開始されている。例えばベトナムでは、製造を開始した1990年には年間生産量が3,000ドーズであったが、1994年には100,000ドーズ、1995年には200,000ドーズを目

標とするまでに生産が拡大されている。品質に関しても現地生産されたワクチンと日本製ワクチンを比較接種した野外試験で、中和抗体産生に差が認められなかった⁷⁾。しかしヴェトナムのJ E流行地の小児すべてにワクチン接種するには年間1,000,000ドーズが必要と試算されており、現在の生産量を5倍に増加するための最大のネックは原材料であるマウスの生産が追いつかないことである。

マウスを出発材料とする現行J Eワクチンの問題は、日本以外のいくつかの国で文化的な問題として重要であるばかりでなく、日本でも動物愛護並びに使用済みマウスの焼却処理や製造工程の観点からも指摘されている⁸⁾。組み換えワクチンが抱える種々の問題点を考慮すれば、現実的な次世代のJ Eワクチンとして細胞培養を用いた製造が考えられる⁹⁾。この方法は特にタイなどの仏教国で受け入れられやすい方法であろう。

5. J Eに関する今後の研究課題

東南アジアにおけるJ Eの実用面の課題であるワクチン改良に対して、研究面における課題は流行状況の地理的相違とウイルス株の遺伝子型に関するものである。図1 Aに示したJ Eが存在するアジアモンスーン地域でも、図2に示した諸国では患者が多発しているのに対して、フィリッピン、マレーシア、インドネシアなどではJ Eウイルスは存在するが、患者数は比較的少数である。米国のChenらは、アジア各地で分離されたJ Eウイルス株の遺伝子PrM領域240塩基の配列を比較解析することによって、これらの分離株が3~4つの遺伝子型に分れることを示し、遺伝子型の相違が上記の疫学的特徴と関連する可能性を指摘している^{10),11)}。しかしながら、我々がマレーシアでのJICA医療協力計画の一環として行ったJ Eウイルスの遺伝子解析の結果では、マレーシアにはJ E多発地域に存在する遺伝子型を含めて少なくとも3つの遺伝子型のJ Eウイルスが存在することが明らかとなった¹²⁾。この結果は遺伝子型の相違で流行の疫学的様相を説明できないことを意味しており、熱帯アジアにおけるJ Eの分子疫学的研究は今後に残された研究課題である。

3節 デング熱／デング出血熱（DF／DHF）

1. 病原体と伝播様式

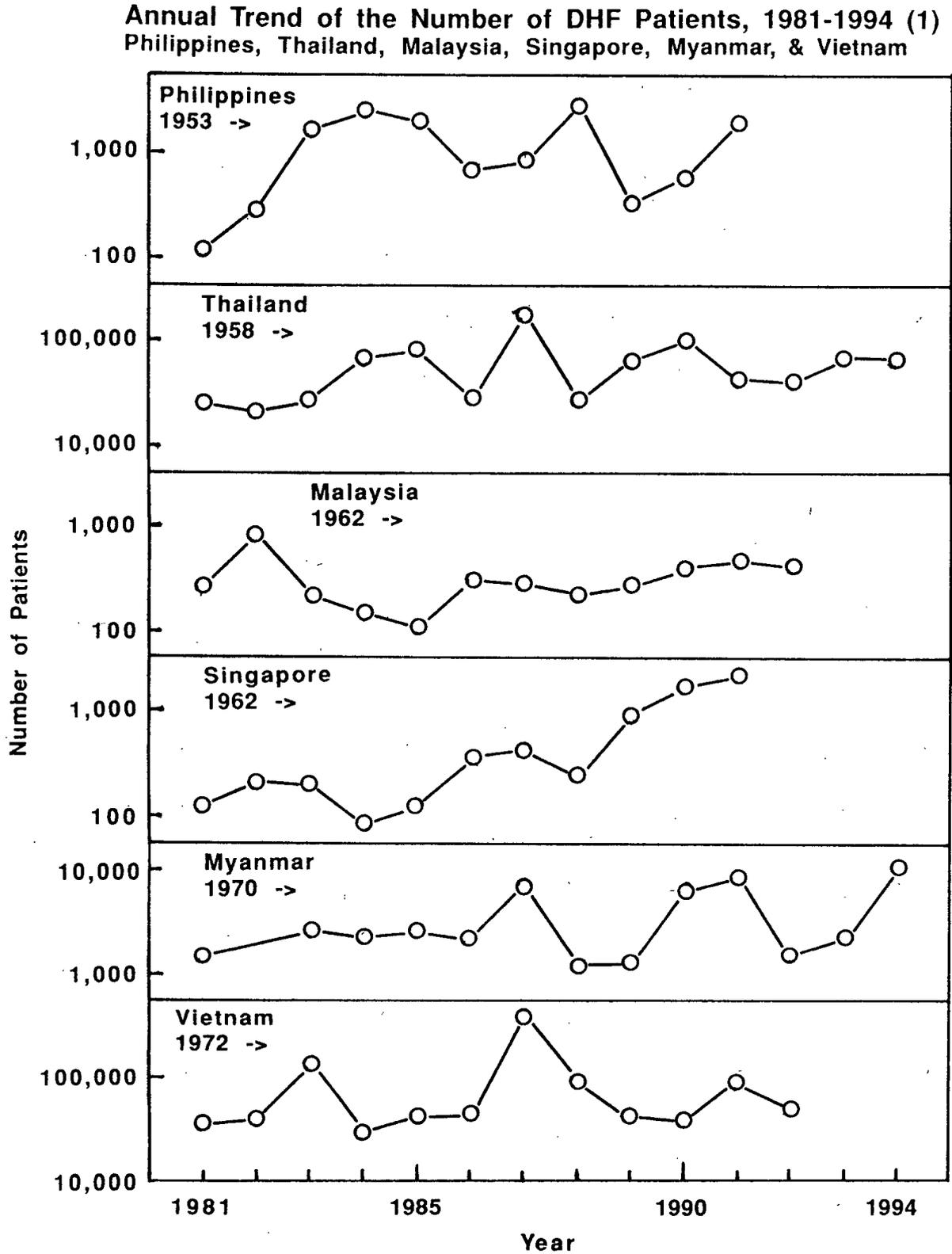
デングウイルスには血清学的に交差反応を示すが長期間の交差免疫が成立しない4つの型（D1, D2, D3, D4）が存在する。都市部における主要媒介蚊であるネッタイシマカは人家の内外にある人工の容器を発生源としてヒトを好んで吸血する。ヒトはデングウイルスに最も感受性の高い脊椎動物で、感染後ウイルス血症を示し媒介蚊にウイルスを与える増幅動物として作用する。ネッタイシマカ以外に農村地域ではヒトスジシマカ、森林では Aedes niveus, 島嶼部では Aedes polynesiensis が媒介蚊として記載されている。

2. DF／DHFの疫学的現状と地理的分布

ネッタイシマカの棲息地域との関係上、DF／DHFは世界の熱帯地域に分布している（図1B）。近年デングウイルス感染症は患者数の増加、流行地域の拡大、重症型DHFの出現によって熱帯地域の大問題となっている¹³⁾。DF／DHFは世界的規模で拡大しているのでこの地図はしばしば書き直さなければならない。すなわちDFが存在する斜線部分が拡大し、その一部は黒色に変化している。DHFは従来東南アジアが流行地域であったが、1981年キューバで流行して以来、最近では西半球での流行が注目の的である。

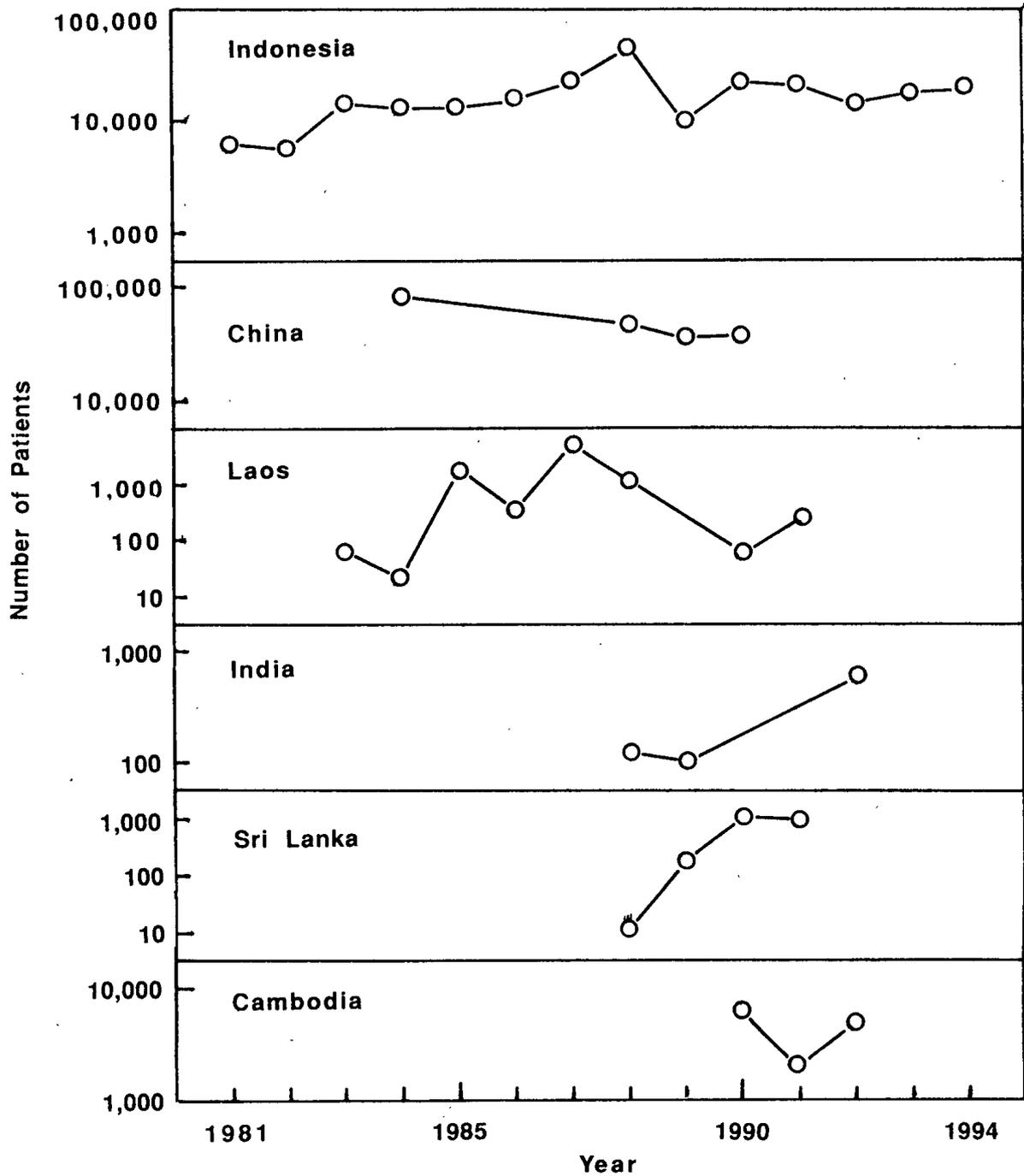
図3はアジア諸国におけるDHF患者数の年次変動を示している。DHFは1953年フィリピンで流行して以来、東南アジア諸国の大都市で相次いで流行し、次第に都市周辺から全国に拡大していった。デング拡大の要因は熱帯諸国における経済発展と密接に関連している。1節2. で述べたように経済発展は人口増加と相互関係にあるが、増加した人口は職を求めて大都市に移住して都市化現象を引き起こしている。その結果、東南アジア～南アジアの大都市に見られるように高密度な人口が劣悪な衛生環境で居住するスラムが広く形成されている。このような状況下ではデングウイルスに感受性の宿主であるヒトの絶対数が多く、密度が高いことと同時に、デングウイルスの主要媒介蚊であるネッタイシマカの発生源となる種々の人工容器が多数・高密度に存在する。し

図3 東南アジア・南アジア諸国におけるデング出血熱患者数の年次変動
文献¹³⁾より改変



1章 東南アジアにおける日本脳炎とデング熱/デング出血熱

Annual Trend of the Number of DHF Patients, 1981-1994 (2)
Indonesia, China, Laos, India, Sri Lanka, & Cambodia



たがって熱帯地域の大都市、殊に雨期は、デングウイルスの伝播に好都合の条件を具備しており、デングウイルス伝播サイクルの拡大は必然的に患者の多発をもたらしている。

一方、航空機で代表される交通手段の発達によって、1つのデング流行地で感染した患者が発病までの潜伏期間中に他の地域に移動する機会が増加した。そのような患者が移動した地域がデングウイルスに感受性のヒトとネッタイシマカが存在する Dengue receptive area であった場合には、この患者によって持ち込まれたウイルスが原因となって爆発的なデングが流行する。その実例は太平洋及びインド洋諸島、中国南部、更には最近の中南米で認められている。

3. DHFの臨床病理と治療法の進歩

DFとDHFの臨床的相違点は、血管壁透過性の亢進による血漿漏出の有無である¹⁴⁾。DHFでは致命的な結末に連なる2つの臨床病理学的変化が進行している。第1は血管壁透過性の亢進→血漿漏出→血液濃縮→hypovolemic shockであり、第2は血小板減少を含む血液凝固系の異常→播種性血管内凝固(DIC)→大量出血である¹⁵⁾。したがってDHFの治療はこれらの変化を是正するために、第1の変化に対しては失われた血漿量に見合うだけの輸液を行い、第2の変化に対しては全血の輸血を行うことである¹⁶⁾。ことに対ショック療法としての輸液は救生命的効果があり、その時期と適正量の判定が重要である。そのためにはヘマトクリットを頻回に測定して正常値の20%以上に上昇しておれば血液濃縮の徴候として輸液の対象となる。注意すべきことは、一度血管外に漏出した血漿が回復期に再吸収されるので過剰の輸液は心肺系統に負担をかけることになるので慎まなければならない。

4. DF/DHFの当面する問題点

輸液療法が導入されて以来、例えばインドネシア流行当初は40%~50%にも達していたDHFの致命率が急激に減少し、数%以下にまで低下した¹⁷⁾。しかしながらこの成果はデングウイルス感染症の問題を根本的に解決したのではない。その理由は患者数が全体的に増加傾向を示しており、それに要する医療費

1章 東南アジアにおける日本脳炎とデング熱／デング出血熱

の問題と、流行期には小児病棟がデング患者で占拠されるために他の緊急事態に対処できなくなることである。DHF患者1人に要する直接医療費は約50米ドルと試算されている¹⁸⁾。この金額は日本などの先進国では大したものではないが、1人当たりのGNPが数百ドルである熱帯地域の発展途上国にとっては由々しき事態である。例えばベトナムでは1987年35万名以上のDHF患者が発生しており、その治療に要した直接医療費は1750万米ドルとなる。この額は当時ベトナムのGDPの約10%にも相当するという。しかもこの金額には間接的な出費である付き添い家族の労働時間の損失や交通費などは含まれていない。

5. DHF発病機構に係る分子レベルでの解析

同じデングウイルスに感染してもある場合には軽症のDFで済むのに対して、別の場合には入院加療を要する重症のDHFになるのはなぜかというDHFの発病機構に関しては、従来から(a)ウイルス毒力説¹⁹⁾と、(b)2次感染説^{20),21)}が対立的に論じられてきた。(a)は単純明快であるがそれを支持する客観的事実に乏しく、(b)はそれを支持するいくつかの状況証拠があるが氷山現象を説明することが困難であった。すなわち、デングの流行地で1回目に感染したデングウイルスの血清型(例えば1型)とは別の型のデングウイルス(例えば2型)に2回目に感染する小児の数は膨大であるが、重症のDHFを発症する

表1 1993年タイ国ナコン・パノムで臨床的に重篤度の異なる患者から分離された2型デングウイルス遺伝子塩基配列に基づく株特異的アミノ酸置換

株の記号	臨床的 重篤度	遺伝子領域、アミノ酸番号、アミノ酸置換											
		PrM		E						NS1			
		130	163	338	396	410	541	614	860	947	1002	1053	1056
ThNH 7/93	DSS	I	I	K	C	V	H	K	R	R	R	G	D
ThNH28/93	DHF II	I	L	K	R	A	H	R	K	K	R	D	D
ThNH52/93	DHF I	I	I	K	C	V	R	R	K	K	K	D	D
ThNHp11/93	DF	R	I	R	C	V	H	K	K	K	K	D	E

文献²²⁾より改編。アミノ酸は1文字表示を使用し、C蛋白質のN末端を1番目とした。

のはその1部（氷山の1角）に過ぎないことを，単純な2次感染説では説明困難である。

我々は1992～93年度，文部省科学研究費助成金の援助によりタイ国で実施した国際学術研究において，同一地域の同一流行時に臨床的に重篤度の異なる患者から分離した2型デングウイルス株を用いて，それらの遺伝子塩基配列を解析している。ThNH7/93株は最も重症のデングショック症候群（Dengue shock syndrome=DSS）患者から，ThNH28/93株はDHF重篤度Ⅱの患者から，ThNH52/93はDHF重篤度Ⅰの患者から，ThNHp11/93は軽症のDF患者からそれぞれ分離された。現在までに構造蛋白質遺伝子（C，PrM/M，E）及び非構造蛋白質の1つ（NS1）遺伝子を解析した結果，これらの領域に存在した株特異的なアミノ酸置換を表1に示している。これらの中でPrM領域のアミノ酸番号130のI→Rの置換はDF株に特異的であり蛋白質の性質を大きく変化させることが予想される。一方NS1領域のアミノ酸番号1053のD→Gの置換はDSS株に特異的であり，この置換も蛋白質の性質を大きく変化させるものと予想される²²⁾。

更に非コード領域の解析結果では，5'末端は完全に保存されていたのに対して，3'末端では株特異的な塩基置換が存在し，その結果殊にDF株に予測される2次構造はDSS/DHF株に対して予測される2次構造と大きく異なることが判明した²³⁾。これらのアミノ酸置換ないしは塩基置換に基づく3'末端の構造変化は，他の流行地域で異なる流行時期に分離された株でも確認する必要がある。更に現時点でこれらの分子レベルでの変化が各ウイルス株のどのような生物学的性状に結びつき，DHFの発病機構に関連しているかは推測の域を出ない。しかしながら蚊培養細胞（C6/36）におけるこれらウイルス株の増殖実験では，重症患者から分離された株（ThNH7/93，ThNH28/93，ThNH52/93）は，軽症患者から分離された株（ThNHp11/93）に比べて，高温での増殖度が高く，分子レベルでの相違と何らかの関連性を示唆する生物学的性状と判断される²⁴⁾。

6. デング媒介蚊防除の新しい方法の試み

デングの予防ワクチンは未だ開発途上であり，残念ながら今世紀中には実用

化される見通しはない。このような現状において利用できる唯一のデング対策は媒介蚊防除である。デング媒介蚊防除方法はWHOの手引きにも記載されており¹⁴⁾、流行地では通常の方法として用いられている。しかしながら残念なことに実施時期など行政的な制約等の関係もあり、期待される成果が得られていない。著者は1985年以来、WHO—WPROの短期コンサルタントとしてヴェトナムを訪れ、JE及びDF/DHFの防除に関与してきた。その勧告の1つとしてデング媒介蚊防除のための野外試験を提案していたが、最近になって実施する機会を与えられた。

その契機は、1983年11月ヴェトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)を訪れた際に、ヴェトナムの研究者が行った成績に興味を引かれたことである。以前WHO—WPROの病害動物担当官であったSelf博士の案に基づき、ペリメトリンを浸漬させた簾を人家の入口や窓に設置するとネッタイシマカなどに対してすぐれた防虫効果が示されていた²⁵⁾。この簾法の難点は効果が3か月に限られていることと、採光及び通風性が良くないことである。NIHEにおける協議の結果、住友化学工業株が開発したオリセット・ネットを簾の代わりに使用する野外試験を行うことに合意した。オリセット・ネットはペリメトリンを練り込んだポリエチレン繊維で編んだ比較的目的の広いネットであり、蚊は飛翔したままでは通過することができないので、通過前に1度ネット上に止まることになる。その際にネット表面のペリメトリンに接触して数分後には死亡することになる。

ヴェトナム北部のHai Hung 県で1994年の流行期に実施したオリセット・ネット野外試験を実施した。試験区域500戸の入口・窓・通気孔にオリセット・ネットを設置して以後、ネッタイシマカは検出限界以下に低下し、試験終了時まで維持された。それに対してネットを設置しなかった対照区域では5月以後の流行期にはネッタイシマカ密度が上昇した。健康学童の血清中のデングウイルスに対するIgM抗体保有状況は、流行期前では試験区域と対照区域で有意差はなかったが、流行期後では試験区域に比べて対照区域では有意に高い抗体保有を示した。このことはオリセット・ネットによってデングウイルスの伝播が遮断されたことを示している。

試験区域の住民から回収されたアンケート調査の結果では、オリセット・

ネットの受入状況は極めて良好であった。この方法はデング媒介蚊にとどまらず、他の病害昆虫に対しても防除効果が認められること、環境汚染がないこと、維持に手間がかからないこと等が受け入れ良好な理由として記載されていた。

デングその他の媒介蚊防除には住民参加の重要性が強調されていることを勘案すれば²⁶⁾、この方法の有効性を他の地域でも立証することと、実用化に向けての経費削減などの工夫が今後の問題であろう。

4 節 結語

J E は日本では患者数も減少して過去の疾患と考えられる傾向にある。デングは日本では第2次世界大戦中の持ち込みによる流行以後は流行していない。しかしながら日本から航空機で数時間内に到達できる東南アジアではこれらの両ウイルス性疾患が蚊によって媒介され大きな問題となっている。この問題に対して日本の研究者として、基礎的及び応用的研究の両面において取り組むべき課題が多く存在する。

文献

- 1) Westaway EG, et al (1985) Intervirology 24 : 183-192
- 2) Berge TO (1975) International Catalogue of Arboviruses. Government Printing Office, Washington DC.
- 3) Igarashi A (1992) Wld Hlth Statist Quart 45 : 299-305
- 4) Igarashi A (1992) pp309-342 In Kurstak E (ed) Control of Virus Diseases, Marcel Dekker, New York
- 5) Hammon WMcD, et al (1971) Immunization for Japanese Encephalitis. Igaku-shoin, Tokyo
- 6) Brandt WE (1988) J Infect Dis 157 : 1105-1111
- 7) 石川信義ほか (1994) 国際保健医療 9 : 125
- 8) 堀内清ほか (1995) 臨床とウイルス 23 : 296-300
- 9) 石川豊数ほか (1996) 第31回日本脳炎ウイルス生態学研究会抄録 26

1章 東南アジアにおける日本脳炎とデング熱／デング出血熱

- 10) Chen WR et al (1990) *J Gen Virol* 71 : 2915-2922
- 11) Chen WR et al (1992) *Am J Trop Med Hyg* 47 : 61-69
- 12) Tsuchie H et al (1996) Thirties Joint Working Conference on Viral Diseases, The Japan-United States Cooperative Medical Science Program 12
- 13) Halstead SB (1993) *Trop Med* 35 : 137-146
- 14) WHO (1985) *Dengue haemorrhagic fever : diagnosis, treatment, and control*, Geneva
- 15) Nimmannitya S (1993) pp48-54 In *Monograph on Dengue/Dengue Haemorrhagic Fever*, WHO, SEARO, New Delhi
- 16) Nimmannitya S (1993) pp55-61 In *Monograph on Dengue/Dengue Haemorrhagic Fever*, WHO, SEARO, New Delhi
- 17) Soedarmo SP (1993) *Trop Med* 35 : 161-172
- 18) Gratz N (1992) *Report in Visits to Countries in Southeast Asia on behalf of the Rockefeller Foundation*
- 19) Rosen L (1977) *Am J Trop Med Hyg* 26 : 337-343
- 20) Russell PK and Brandt WE (1973) *Perspect Virol* 8 : 263-277
- 21) Halstead SB (1988) *Science* 239 : 476-481
- 22) Kyaw Zin Thant et al(1996)*Microbiol Immunol* 40: 205-216
- 23) Mangada MNM and Igarashi A (1996) *Virus Gene* in press
- 24) Pandey B et al (1996) 第33回日本ウイルス学会九州支部総会抄録 40
- 25) Nam VS et al (1993) *Dengue News* 18 : 23-28
- 26) Gubler D (1989) *Am J Trop Med Hyg* 40 : 571-578