

日本脳炎の血清疫学的研究

川 副 広 俊
かわ そえ ひろ とし

長崎大学風土病研究所ウイルス学部（主任：福見秀雄教授）

（昭和42年2月6日受付）

Serological Study of Japanese Encephalitis

Hirotoishi Kawasoe

*Department of Virology, Research Institute of Endemics,
Nagasaki University (Director; Prof. Dr. H. Fukumi)*

Abstract

With the cases of Japanese encephalitis at the time of its epidemic in Nagasaki prefecture as an object, this research has been carried on in order to clarify the phase of its active prevalence by confirming the cases through serological and virological methods and also to clear the infiltration of Japanese encephalitis virus by investigation the condition of antibodies carried by the prefectural people, obtaining the results as follows :

1) As the result of serum diagnosis carried out in 1964 of 31 from among 57 reported cases of Japanese encephalitis, 11 cases were confirmed. In 1965, 33 cases were confirmed as the result of serum diagnosis made of 70 out of 86 reported cases of Japanese encephalitis. In addition, in 1965, from among the persons who were reported to be the cases of Japanese encephalitis and yet who were negatived as the result of serum diagnosis, some were confirmed to have been suffering from aseptic meningitis caused by ECHO 4, Cox. B1 and B5 virus respectively.

2) In consequence of the investigation into HI antibody holding in serum carried out in 1964 of 714 persons in normal health in various parts of Nagasaki prefecture, the positivity proved amounting to 35.3%, the antibody titer showing 1:10—1:80 in most cases. As to the rate of positivity, when classified according to three age groups, the highest one was found in the advanced aged group with the early aged group ranking next, and the lowest in the rising generation group. After the epidemic period of Japanese encephalitis, the rate of positivity was increased by about 8%.

3) In 1965, with 566 primary school children as an object, investigation into HI antibody holding value in serum was carried out in May and November, before and after the epidemic period of Japanese encephalitis, for the purpose of clarifying the change in the value as to each child. Out of 65 children who had not been vaccinated, 3 children who had not have antibody in May were found having antibody titer of 1:10 or 1:20 in November for the first time and a child was found showing increase by 4 times in his antibody holding value. This fact is considered to have been caused by inapparent infection of Japanese encephalitis virus during summer in 1965.

As to 501 children who had been vaccinated, the rate of their positivity showed 9.1% increase from 22.8% in May to 31.9% in November. It was also revealed that the antibody holding value in November was generally higher than in May. In addition, the antibody holding condition of those children in each primary school showed different phases according to the location and environment of the three primary schools.

緒 言

日本脳炎（以下日脳と略す）は小児麻痺が激減した現在、我国において最も恐るべき伝染病として猛威を振っている。周知の如く、日脳は毎年夏期に流行を繰り返す、冬期には全くその影を潜め、この時期の日脳ウイルスの行方については、二・三の仮説はあるが未だ確証はなく不明である。

日脳ウイルスの自然界での動態に関する研究は三田村等（1939）の岡山地方での報告を最初に、最近では群馬、大阪、福岡地方等で行われているが、長崎県においても1964年より林等（1965, 1966）及高橋等（1965, 1966）によって野外捕集蚊よりの日脳ウイルス分離を主な指標として調査が開始された。その結果、長崎県下の野外におけるウイルス保有蚊の出現時期及びその消長は従来の関東地方、岡山地方等の成績に比して、かなり異った様相を呈していることが明らかになった。また三舟（1965）の報告によればコガタアカイエカの体内での日脳ウイルスの越冬が実験的に可能なことが示され、自然界における日脳ウイルスの冬期の潜在を解明する一つの端緒が見出された。

日脳流行のメカニズムを解明するためには、上記の如くウイルスの動態を明らかにすることは勿論、患者

の発生状況を把握し、その地区住民の免疫抗体の保有状況を知ることが極めて重要であることは論を俟たない。

長崎県下においても、最近では昭和36年を最高に毎年多数の日脳患者の発生をみている。しかし、その殆んどは臨床診断に基く届出患者であり、血清学的或はウイルス学的裏付けを与えられたものは極めて少い。臨床的に日脳と類似の症状を呈する疾患は多々あるが、殊に無菌性髄膜炎は最も紛らわしく、これらの患者が日脳届出患者の中に混入していることは容易に想像できる。そこで著者は、1964年及び1965年の日脳届出患者について血清学的、ウイルス学的診断を試み、日脳患者を確認して日脳の顕性流行の様相を明らかにすると共に、日脳を血清学的に否定された患者については無菌性髄膜炎の原因と考えられる若干のウイルス抗原を使用して血清学的に鑑別診断を試みた。一方、県下住民の日脳に対する抗体保有状況を調査し、併せて小学校学童の流行期前後の日脳に対する抗体価の変動についても測定を行ない、これらを総合して日脳ウイルスの長崎県下における浸淫状態を明らかにするため本研究を行った。

材料及び方法

I. 患者血清

臨床的に日脳と診断され、伝染病舎に隔離された患者につき、入院直後に第1回目の採血を行ない、後、その患者が死亡しないしは軽快退院するまで約1週間々隔

で毎回5 mlの採血を行なった。血液は4°Cに一夜放置後血清を分離し、分離した血清は検査に供するまで-20°Cに保存した。

II. ヘパリン血

患者血液からの日脳ウイルス分離を目的として、患者が伝染病舎に入ると同時に0.02%のヘパリンを含むpuck液で内部を湿した注射器で約1mlの採血を行ない、直ちに7~8匹の同腹の生後2ないし3日目の乳呑みマウス脳内に各0.02ml宛接種した。その後マウスを14日間観察し、発症の有無を調べた。

III. 糞便

無菌性髄膜炎患者からのウイルス分離を試みるため、20%グリセリン加ブイオン5ml中に約2gの患者糞便をとり-20°Cに保存した。使用にあたっては、これをストレプトマイシン、ペニシリン加 Earle 液で最終濃度5~10%になるように溶解希釈した上、3,000 r.p.m. 30分の遠心沈澱を3回繰り返したのち、その最終上清を猿腎及び HeLa 細胞の組織培養管それぞれ3本に各0.1ml宛接種して、細胞変性効果の有無を10日間にわたって観察した。

IV. 健康人血清

a) 一般健康人血清

1964年の3月から9月にかけて、離島を除く長崎県下各地の健康人714名より採血、血清を分離し、-20°Cに保存した。被採血者は1才より86才までの各年令層に及んでいる。

b) 小学校学童血清

1965年に長崎市内磨屋小学校、大村市内竹松小学校及び南高来郡愛野小学校の学童3年から5年までの計566名を対象に5月及び11月の2回にわたって同一人より採血し、血清分離の後、検査に供するまで-20°C

に保存した。

V. 赤血球凝集抑制試験 (HI)

赤血球凝集抑制試験 (以下HIと略す) の術式はClarke and Casalsの変法である大谷等の方法に準じた。抗原には化血研より分与をうけたJaGAR 01株のアセトン・エーテル抽出抗原及び自家製のJaGAR 01株のアセトン・エーテル抽出抗原を使用した。被験血清にはすべてアセトン処理を施し、血球としては生後1日以内のヒヨコ血球を用いた。血清の稀釈は1964年の患者では1:40から1:5,120, 1965年の患者では1:10から1:5,120までとした。日脳患者としての診断基準は、対血清の得られた患者ではそのHI価に4倍以上の上昇を認め、かつ、回復期のHI価が1:160以上、及び単一血清のみの患者ではHI価が1:640以上をとり、これに該当するものを日脳確認患者とした。また一般健康人及び学童においては、血清稀釈は1:10から1:1,280までとし、1:10以上のHI価を示したものをHI抗体陽性とした。

VI. 補体結合反応 (CFT)

補体結合反応 (以下CFTと略す) の術式は予研の方法に準じ、微量法で行った。抗原にはHI抗原と同一のものを使用した。血清稀釈は患者の場合には1:4から1:128までとした。一般健康人では血清稀釈は1:4から1:16まで、学童では1:2から1:8までとし、それぞれ1:4、1:2以上の抗体価を示したものをCF抗体陽性とした。

研究 成績

I. 日脳患者発生状況

1964年には長崎県下において57名の日脳届出患者が発生した。9名は後に転症となり48名が臨床的に日脳と診断された。初発患者は転症例を除けば、7月13日に発生し、終発は11月21日であった。患者の大多数は7月下旬から8月中旬にかけて集中的に発生しており、9月には20日に発病した1例、10月には8日発病の1例、そして11月には21日発病した1例のみであった。全患者中、単一ないし対血清の得られた患者は7月16日発病の患者を最初、9月20日発病の患者を最終に合計31名であった。このうちHIで日脳と診断できた患者は11名で、最初の確認が7月20日発病の患者、最終が8月30日発病の患者であった。これらの患者はすべてHIで診断できたものである。勿論HIと同時にCFTでも有意の抗体上昇を示した例も含まれてい

たが、CFT単独で日脳と判定できた患者は1名も認められなかった。確認患者は7月下旬より8月上旬にかけて集中しており、8月30日発病の患者のみ後れて確認できている。(Fig. 1.)

届出患者を年令別に見ると、61才以上が18名と最も多く、次いで51~60才の11名及び10才以下の9名であり、31~40才が3名と最も少い。また確認患者では最も多いのはやはり61才以上の6名であり、次いで21~30才の2名で、一方10才以下においては1名の確認患者も出ていない。(Fig. 2.)

次に長崎県を7地区に分けて、その患者の発生状況を比較してみた。7地区とは、すなわち、北部(佐世保市、平戸市、松浦市、北松浦郡の大部分)、中部(大村市、諫早市、東彼杵郡、北高来郡)、南西部(長崎市、西彼杵郡)そして南東部(島原市、南高来郡)の

Fig. 1. Occurrence time of Japanese encephalitis cases in Nagasaki prefecture in 1964 and 1965.

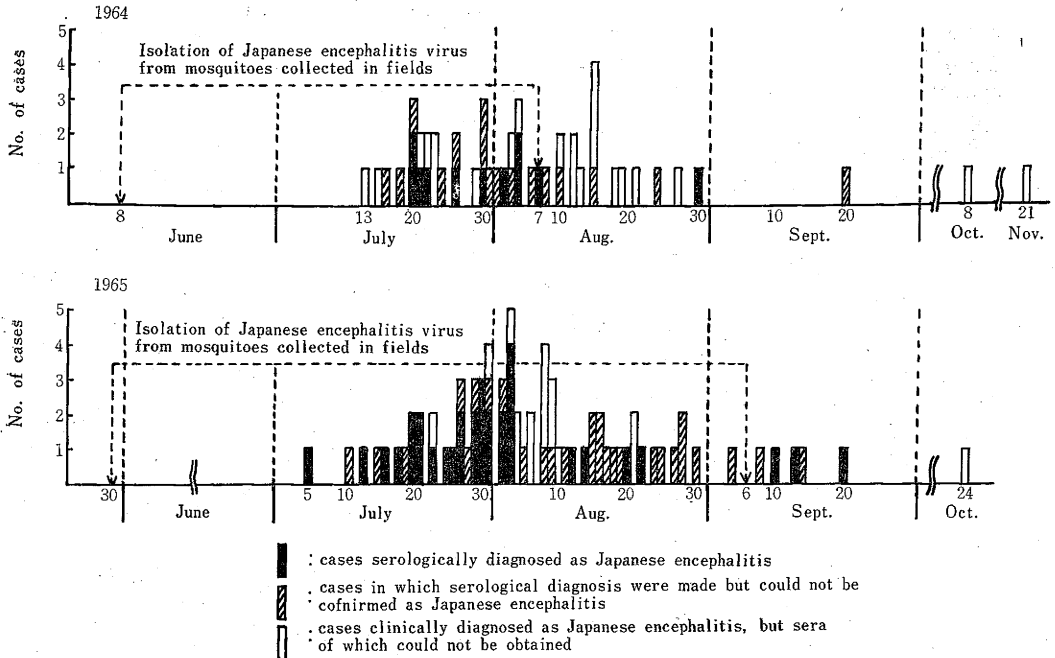
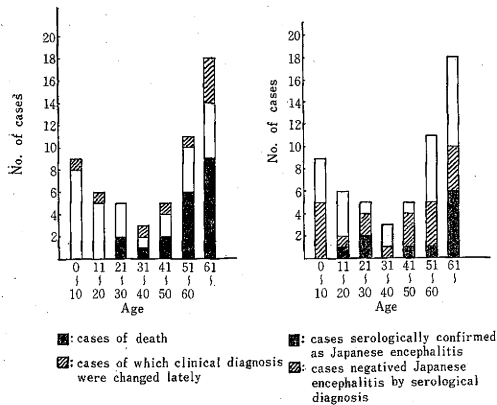


Fig. 2. Occurrence of Japanese encephalitis cases in various ages in 1964.



本土4地区と壱岐、対馬及び五島の離島3地区である。その結果、確認患者の最も多かったのは北部で7名であった。これに反して南西部では届出患者は多かったにもかかわらず確認患者はわずか2名であった。1964年には初発確認患者は南東部、中部及び北部にはほぼ時を同じくして発生している。(Fig. 3.)

1965年には86名の届出患者が発生した。初発は7月5日、終発は10月24日発病の患者であった。軽症は18名で結局68名が臨床的に日脳と診断されている。血清

を入手しえた患者は70名であり、HIで日脳と診断された患者が32名、また死亡後の脳組織の螢光抗体法により、日脳と診断された患者が1名あり、日脳確認患者は計33名であった。最初の確認患者は7月5日発病であり、最終は9月20日発病であった。1965年も1964年同様CFTのみで確認された患者は1名もいなかった。確認患者発生の最盛期は届出患者の最も多かった7月下旬より8月上旬までに集中しており、患者発生のパターンも1964年とほぼ同様であった。しかし1965年においては1964年に比して初発確認患者の発生は2週間早く、また最終確認患者は3週間遅く、確認患者数も大巾に増加しており、流行が大きかったことがいえる。(Fig. 1.)

年齢別の患者発生数においては1964年とほぼ同様の傾向がみられた。すなわち61才以上の21名を最高に、次いで10才以下の16名であったが、一方、31~40才においては少く8名であった。1965年で特異なことは51~60才に最低の5名しか患者発生をみとめなかったことである。確認患者数では61才以上が、11名で最も多く、これに次いで11~20才、21~30才、及び41~50才のそれぞれ5名で、逆に10才以下の小児では2名と少くなっている。(Fig. 4.)

また地区別の患者発生をみると、初発確認患者は南

Fig. 3. Occurrence time of Japanese encephalitis cases in various areas in Nagasaki prefecture, 1964.

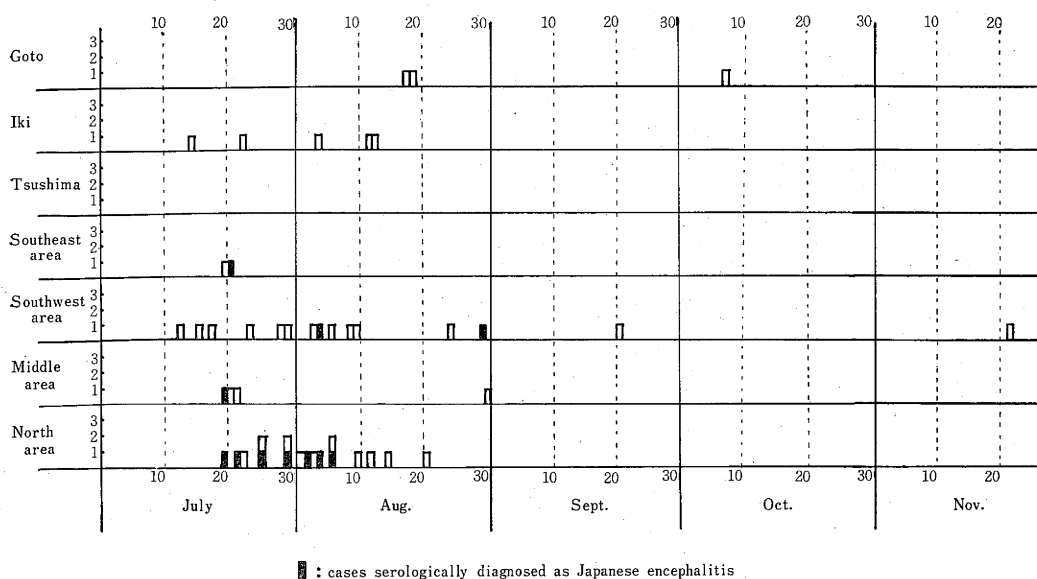
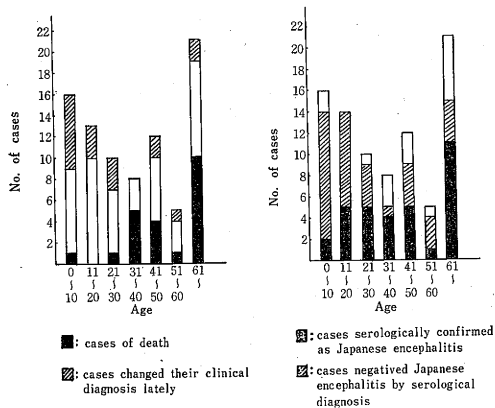


Fig. 4. Occurrence of Japanese encephalitis cases in various ages in 1965.



西部の7月5日を最初に、南東部の7月13日、中部の7月16日そして最も遅れて北部の7月25日に発生している。北進現象の様相がうかがわれる。また南西部や北部においては、まとまって発生していた確認患者が一旦跡絶え、1ヶ月以上の空白期を経た後再び1名、2名と出現しているのが特徴的である。離島では本土よりやや遅れて確認患者の発生がみられている。(Fig. 5.)

II. ウイルス分離

患者血液中より日脳ウイルスを分離する目的で、届出患者中1964年には22名、1965年には7名の患者から

血液を採取して、乳のみマウス脳内に接種し、このマウスの発症の有無を14日間にわたって観察した。しかし日脳ウイルスはついに検出できなかった。

一方、日脳類似の症状を引き起す無菌性髄膜炎の原因と考えられる Coxsackie, ECHO 等のウイルスを分離するために1964年の届出患者中14名につき、その糞便を入手し、猿腎細胞及び HeLa 細胞に接種し、細胞変性効果の出現の有無を10日間にわたって観察した。しかしウイルス分離は陰性の結果に終わった。

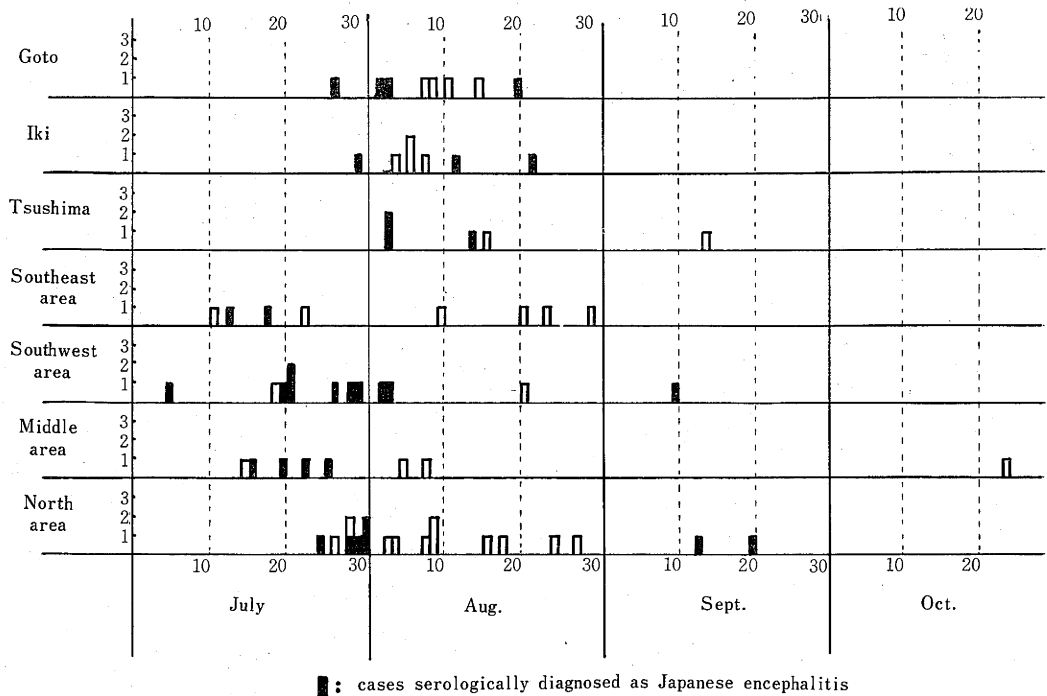
III. 日脳類似疾患の鑑別

日脳類似の臨床症状を呈する疾患は多数あるが、最も紛らわしい疾患として無菌性髄膜炎が考えられる。そこで、日脳と確認できなかった患者のうち1964年に10名、1965年に17名の対血清を使用して、1964年には Polio I, II, III, Cox. A9, B1, B5, ECHO 4, Mumps, 1965年には Cox. A9, B1, B5, ECHO 4, Mumps ウイルスの各抗原に対する抗体価の上昇の有無を CFT で検査した。その結果1964年の患者ではいずれの抗原に対しても抗体価の上昇は認められなかったが、1965年の患者中で ECHO 4 に2名、Cox. B1, B5 にそれぞれ1名が有意の抗体上昇を示したものがあつた。従つてこれら4名はそれぞれのウイルスを原因とする無菌性髄膜炎患者であつたと考えられる。

IV. 患者の臨床症状

1965年の届出患者中、34名につき、その臨床症状を

Fig. 5. Occurrence time of Japanese encephalitis cases in various areas in Nagasaki prefecture in 1965.



調査した。この34名の患者は血清診断により日脳と認
 認されたもの14名、無菌性髄膜炎4名、いずれにも該
 当しないもの16名であった。この3群の症状をそれぞ
 れまとめて比較してみた。その結果、日脳群は他の群
 に比較して全身症状、消化器症状等には大した差は認
 められなかったが、精神、神経症状において各症状の
 発生頻度が大であった。特徴的なことは有熱期間が長
 く、全観察例に 38°C以上の発熱が認められている上に、
 意識障害の発生頻度が高く、その持続期間も長いこと
 である。また興奮、不随意運動、筋緊張等が他の群
 よりかなり多くみられ、項部硬直は全例に、また
 Kernig徴候も85.7%に認められている。

無菌性髄膜炎群は観察例が4例で少いが、発熱状

態、有熱期間、意識障害などは日脳群と異り、いずれ
 も軽度であった。(Fig. 6.)

入院時髄液所見では3群間に大した差は認められ
 なかったが、髄液中の細胞数において日脳群が200個
 以上を数えるものが、他群に比してやや多かった。

V. 健康人の日脳に対する抗体保有状況

1964年3月から9月にかけて離島を除く長崎県下各
 地より、1才及び86才に及ぶ各年齢層の健康人から総
 数714件の血清を蒐集し、HI抗体及びCF抗体を指
 標に、日脳に対する県下住民の抗体保有状況を調査し
 た。

a) HI抗体保有状況

健康人血清714件中1:10以上のHI抗体価を認め

Table 1. Possessing condition of HI antibody against Japanese encephalitis virus among 714 persons in normal health residing in Nagasaki prefecture.

No. of tested	No. of negative	HI antibody titer								No. of positive
		10 ×	20 ×	40 ×	80 ×	160 ×	320 ×	640 ×	1280 × ≤	
714	462	54	63	64	43	13	4	8	3	252 (35.3%)

Fig. 6. Clinical symptoms of patients in 1965.

symptom	Japanese encephalitis		unconfirmed cases		aseptic meningitis	
	50	100%	50	100%	50	100%
general fatigue	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
anorexia	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
chill	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
headache	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
nausea	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
vomiting	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
diarrhea	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
fever	under 38°C	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]
	over 38°C					
	1-2 days	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]
	3-5 days	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]
disturbance of consciousness	1-2 days	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]
	3-5 days	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]
	6- days	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]
	negative	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]	[Bar]
excitation	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
involuntary movement	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
muscle tonus	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
spasm	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
stiffness of the neck	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
Kernig sign	[Bar]		[Bar]		[Bar]	
pathol. reflex	[Bar]		[Bar]		[Bar]	

Table 2. Comparison of HI antibody holding conditions among the three groups divided by age.

Age	No. of tested	No. of negative	HI antibody titer								No. of positive
			10x	20x	40x	80x	160x	320x	640x	1280x ≤	
0~20	127	87	8	14	5	8	3	1	0	1	40(31.5%)
21~40	306	221	29	19	18	13	4	1	0	1	85(27.8%)
41~	281	154	17	30	41	22	7	2	8	1	127(45.2%)

たものは252件で陽性率は 35.3%であった。保有抗体価の分布をみると 1 : 20及び 1 : 40が最も多く、次いで 1 : 10, 1 : 80の順であった。中には 1 : 640,

1 : 1280以上という高い抗体価を示したものが11件認められた。

20才単位で年齢別に分けると、41才以上におい

Table 3. Possessing condition of HI antibody at the time of before and during epidemic period and after.

	No. of tested	No. of negative	HI antibody titer								No. of positive
			10×	20×	40×	80×	160×	320×	640×	1280× \leq	
March— May	330	228	25	21	27	16	9	1	1	2	102(30.9%)
June— Sep.	384	234	29	42	37	27	4	3	7	1	150(39.1%)

(before epidemic period : March—May, during epidemic period and after : June—September)

て陽性率は最も高く45.2% (検査数231, 陽性数127) で次いで20才以下の31.5% (検査数127, 陽性数40), 21~40才が最も低く27.8% (検査数306, 陽性数85) であった。陽性中の保有抗体価をみると, 高い陽性率を示した41才以上で1:40程度の比較的高い抗体価を有するものが多くみられるのに反し, 陽性率の低い21~40才では1:10程度の低い抗体価を有するものが多く認められた。

1964年には林等(1965)により6月8日に野外蚊からの日脳ウイルス分離が行われており, すでにこの時期にはウイルス保有蚊が野外に飛翔しており, 住民は日脳ウイルスの感染を受ける機会があったと考えられる。この理由から上記714件の血清を3月から5月にかけて採血した分を日脳流行期前血清, 6月から9月の分を流行期以後の血清と両者に分けてその陽性率を比較してみた。その結果, 流行期前では陽性率30.9% (検査数330, 陽性数102), 流行期以後では39.1% (検査数384, 陽性数150) で流行期以後に8.2%の陽性率の増加が認められた。なお, 1:640以上の抗体価を保有したものは流行期前に3件, 流行期以後に8件であった。(Table 1,2,3.)

b) C F 抗体保有状況

C F T で1:4以上の抗体価を認めたものは714件中29件で陽性率は4.1%であった。陽性29件中26件はH I 抗体も併せ持った血清であったが, 他の3件はC F 抗体のみ保有しておりその値はいずれも1:4に止まっている。保有抗体価の分布をみると1:4が20件, 1:8が7件, 1:16以上が2件であった。なおH I 抗体価とC F 抗体価の間にはその高さにおいて特別な関係は見出せなかった。

VI. 小学校学童の日脳流行期前後における抗体保有状況

1965年に長崎県下3地区の小学校を選び, その3年から5年までの学童566名を対象に5月及び11月の2

回にわたって同一人より採血し, その日脳に対する抗体価の変動を調査した。選んだ小学校は長崎市内磨屋小学校, 大村市内竹松小学校及び南高来郡愛野町愛野小学校の3校であり, それぞれ位置的に特色がある。磨屋小学はその学童の通学域内に水田, 畑の殆んどみられない長崎市内の中心街に位置している。採血数は186名である。竹松小学校は大村市の近郊に位置し, 市街地と共にその周辺には主として畑が多い。採血数は183名である。また愛野小学校は島原半島のつけ根に位置し, 周囲は水田, 畑は囲まれている。採血数は197名である。

抗体価の測定はH I, C F 両抗体について行ったが, まずH I 抗体保有状況について述べる。

最近是一般に日脳ワクチン接種が普及し, 特に学童においてはかなりの数がワクチン接種を受けている。今回採血の対象とした566名の学童の中でも1965年の夏期にワクチン接種を受けたものが501名あった。接種時期は3小学校共6月であった。初めにワクチン接種をうけなかった学童65名の抗体価の変動をみてみる。学童65名中5月, 11月共ないしはその何れか一方に1:10以上の抗体価を認めたものが16件存在した。5月には抗体価1:10以下で11月に始めて1:10以上となったものが3件あり, その11月における抗体価は1件が1:10, 他の2件は1:20であった。また5月にすでに抗体を有しており, 11月にその価がさらに上昇したものが5件で1:10から1:20が2件, 1:40から1:80が2件そして1:40から1:160が1件であった。不顕性感染の判定基準として11月に初めて1:10以上の抗体価を認めたもの及び11月に4倍以上の抗体価の上昇を示したものを採った結果, この基準に合致したものが4件(6.2%)認められた。

なお5月, 11月共に抗体を認めたにもかかわらずその価が不変であったものが6件あり, 一方11月に抗体価の低下をみたものは少く僅か2件であった。(Fig. 7.)

Fig. 7. Fluctuation of antibody titer in each child who had not been vaccinated in Summer, 1965.

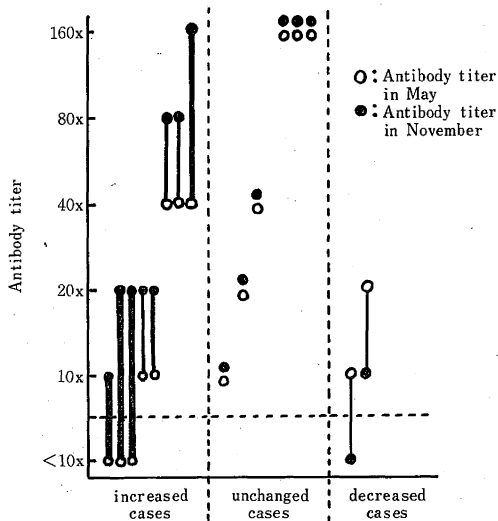
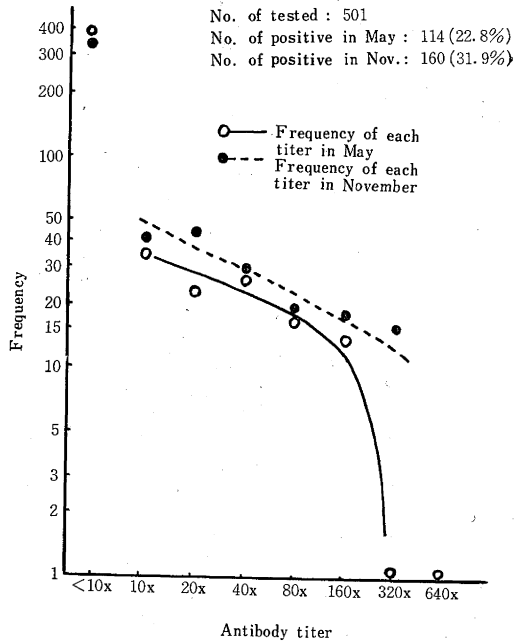


Fig. 8. Possessing condition of HI antibody among the school children who had been vaccinated in Summer, 1965.



次にワクチン接種をうけた学童 501名の抗体価の変動をみると、5月既に陽性であったものが114件(22.8%)、これに対し11月には陽性 160件(31.9%)で陽性率において 9.1%の増加をみた。また保有抗体価分布では、いずれの抗体価においても11月に多くなっているが、特に1:320という高い抗体価を有するものが増加している。(Fig. 8.) また各 個 体 別 の 抗 体 価 の 変 動 を み る と、11月に上昇したものが 116件(23.2%)で、このうち11月に初めて1:10以上の抗体価を示したものが、60件(12.0%)あり、その内訳は1:10が30件、1:20が20件、1:40が7件、そして1:160と大巾な上昇を認めたものが3件あった。5月、11月共抗体を有しながら、その価が不変であったものが41件(8.2%)にみられた。逆に11月に低下をみたものは19件(3.7%)とかなり少なかったが、中には1:80から1:10以下、1:160から1:10以下及び1:640から1:80へと大巾な低下をみたものがあつた。

次に学校別に分けて抗体価の変動をみた。まず磨屋小学校では5月採血時の陽性は27件(16.9%)で3校中最も少なかったが、11月には陽性54件(33.8%)となり、陽性率で16.9%の増加であった。これは11月の陽性率では3校中最も高く、また陽性率の増加も最も著しい。しかし、11月の陽性中でもその保有抗体価は低く1:10、1:20のものが多かつた。

次に各 個 体 別 の 変 動 で は 11 月 に 上 昇 を 見 た も の が 47

件、うち11月に始めて陽性となつたものが30件(18.8%)であつたが、その保有抗体価は1:10が18件、1:20が11件、1:160が1件と全般的に低かつた。

竹松小学校では5月陽性が33件(20.1%)で保有抗体価は1:20、1:40が多く、1:640という高い抗体価を示したのもも1件認められた。11月には陽性47件(28.7%)で8.6%の陽性率の増加をみた。11月には1:160及び1:320という高い抗体価を示すものが多くなつている。各 個 体 別 の 抗 体 価 の 変 動 を み る と、11月に上昇したものが42件(25.6%)と磨屋小学校に次いで多い。また5月にすでに1:10以上の抗体を有しており、11月にさらに上昇を示したものが多いのが竹松小の特徴である。

愛野小学校では5月にすでに抗体を有していたものが54件(30.5%)と他校に比較して極めて高く、11月には陽性33.3%とわずかに2.8%の増加を認めたにすぎなかつた。またその保有抗体価も5月、11月にわたつて大差はない。各 個 体 別 の 変 動 を み て も、11月に上昇したものは27件(15.3%)と3校中最も少く、11月に始めて抗体を証明できたものも12件(6.8%)と極めて低い。これに反して5月、11月の抗体価の不変のもの

Fig. 9. Condition of HI antibody held among children in each school.

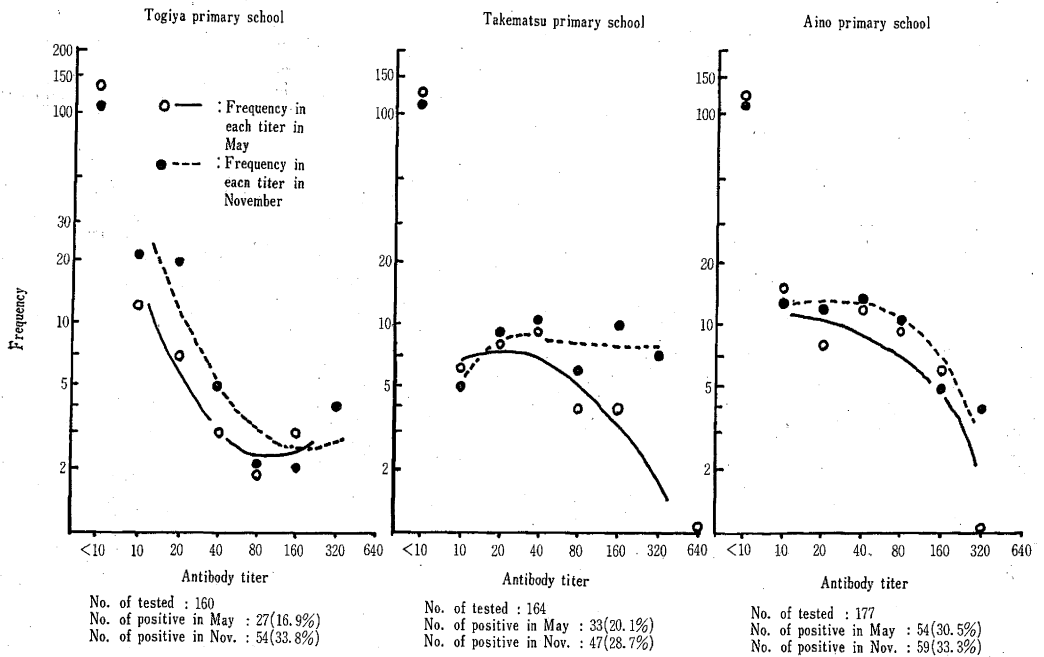
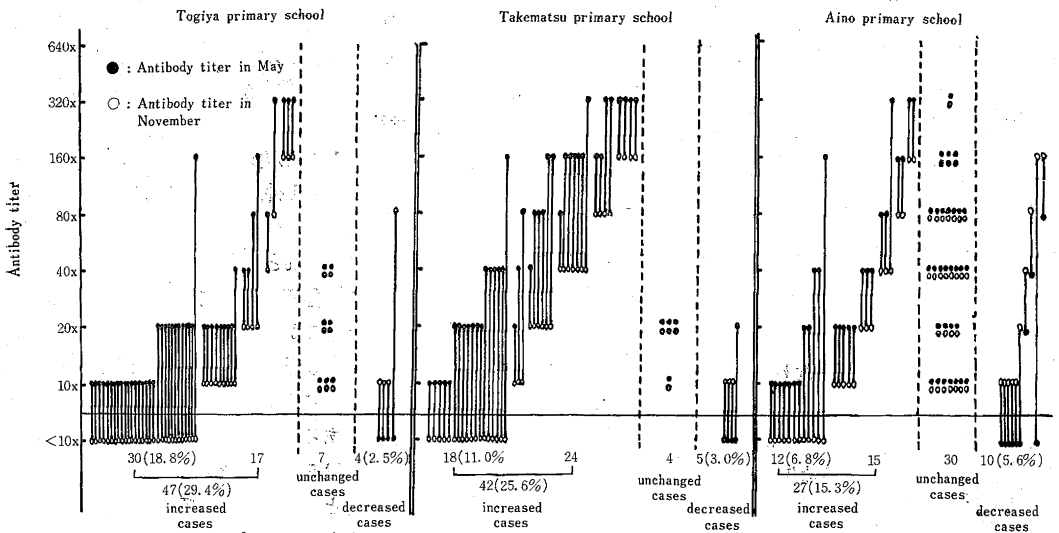


Fig. 10. Fluctuation of antibody titer in each child in each school.



のが30件と多く、また11月に抗体価の低下したのも10件(5.6%)と3校中最も多い。(Fig. 9.10.)

次に566名の学童のうち5月、11月共、ないしはそのいずれか一方に1:10以上のHI抗体を認めた176名につき、CFTを行った。その結果、5月、11月

共、ないしはそのいずれか一方に1:2以上の抗体価を認めたものは23件(13.1%)、うち11月に始めてCF抗体を証明し得たものが15件(8.5%)あり、1:2が12件、1:4が2件、1:8以上が1件であった。また5月、11月共抗体を有しながらその値が不変

のものが18件あり1:2が11件, 1:4が6件, 1:8以上が1件となっている。逆に11月に低下したもの

は2件でいずれも1:2から1:2以下になったものであった。

考 察

1964年及び1965年の長崎県下の日脳届出患者数はそれぞれ57名, 86名であった。過去数年間の県下の届出患者数は, 1963年が106名で最も多く, 1958年の103名がこれに次いでいる。届出患者数からみれば, 1964年は中等度, 1965年はかなり大きい流行であったといえる。1963年以前の患者については全く血清学的診断は行われておらず, 真の日脳患者数は不明である。1964年及び1965年の届出患者の中で, 血清診断を施行した患者に対する日脳確認患者の割合はそれぞれ35.3%, 48.5%であった。大谷(1960)は日脳疑似症の血清検査の結果, 日脳と確認できるのは検査件数の30~40%にすぎないと述べている。今回の検査結果でも略々同様であった。しかし発病後早期に死亡して血清を入手しえなかった患者や第一回目の採血直後に死亡し, その後の抗体上昇の有無を追跡できなかった患者が多数存在した。死亡した患者の脳材料が得られなかったため, 脳からの日脳ウイルス分離は実施することができなかったが, 1965年に, ただ1症例にすぎなかったが, 経鼻腔で少量の脳組織を採り, これを材料として螢光体法により日脳と確認できた例を経験した。このことから死亡者中にも真の日脳患者が多数含まれていることは容易に考えられ, 従って1964年, 1965年の真の日脳患者はそれぞれの確認患者数11名, 33名を大中に上まわると思われる。ちなみに1964年における死亡者は20名であり, このうち単一血清のみにしろ血清が得られた患者は6名, 確認できた患者は1名であった。1965年には22名の死亡者を数え, 血清診断を行い得た例は10名で, 確認し得た患者は6名であった。

1965年の春から夏にかけて九州地方, 殊に北九州市及び大村市で ECHO 4 型ウイルスを原因とする無菌性髄膜炎の発生をみた。この流行に引き続いて, 無菌性髄膜炎の患者についての血清診断を依頼された例が多数あった。これらの患者については, その対血清を使用して無菌性髄膜炎の主な原因と考えられる ECHO, Cox. A, Cox. B, Mumps ウイルス等の他に日脳ウイルスについても, その抗体上昇の有無を調査してみた。その結果, 日脳ウイルスにのみ抗体上昇を証明しえた患者が3名認められた。これらの患者は勿論, 日脳届出患者数の中には含まれていない。従って隠れた日脳患者が存在することも明らかである。この

様に発病後早期に死亡する患者や隠れた患者が存在すること等から, 真の日脳患者の実態を明らかにすることは, なお困難なことである。

一方, 日脳届出患者の中で血清学的に日脳を否定された患者について, 無菌性髄膜炎に対する検査を行った結果, ECHO 4 ウイルス, Cox. B1, Cox. B5 ウイルスをそれぞれ原因とする無菌性髄膜炎患者が確認された。また1965年の患者について行った臨床症状の調査では, 日脳確認患者群が他の群に比較して発熱, 意識障害等において特徴ある所見が得られたが, しかしこれは患者を比較的長期にわたって観察した場合に認められたものであって, 初発症状には殆んど両群の間には差は認めなかった。従って発病初期の日脳の診断は, 臨床的にみてもかなり難しいものと言わねばならない。要するに日脳類似の症状をもって発病した患者については, 無菌性髄膜炎或はその他の疾患との鑑別及び予後判定の上からも出来るだけ早期から血清学的及びウイルス学的診断を始める必要のあることは, あらためて言及するまでもないことであろう。

最近では, 従来比較的患者発生の多かった若年層に患者減少の傾向がみられ, 逆に以前に少なかった青年層に患者発生の増加が認められることが報告されている。長崎県下でも1964年, 1965年にわたり, 届出患者の数の上からでは, 若年層と老人に発生数は多いが, しかし確認患者の数をみると, 青壮年層においても多く一方若年層, 殊に10才以下においては極めて少い。長崎県においても年令的にみて全国的な傾向に準じた発生状況を呈している。最近では県下でも日脳のワクチン接種が普及し, 特に学童の間ではその普及率は著しい。幼若年層に患者発生が少いのは, 恐らくワクチン接種もその一因であろう。

林等(1965, 1964)の報告によれば, 長崎県下における野外捕集蚊からの日脳ウイルス分離は, 1964年には6月8日を始めとして8月7日まで続き, 1965年には5月30日から9月6日まで認められている。また高橋等(1965)によれば1964年には5月19日にすでに野外蚊よりの日脳ウイルス分離が行われている。日脳確認患者は1964年には7月20日から8月30日まで認められ, 1965年では7月5日より9月20日まで発生している。従ってウイルス保有蚊の出現と, 日脳確認患者発生

との間には1964年では8週間、1965年では5週間の空白期が認められる。群馬県では、ウイルス保有蚊の出現は初発確認患者発生に先行すること2〜3週間であり、毎年ほぼ同様の傾向にあることが確認されている。長崎県においては両者の開きが異常に大きい。この傾向は1964年、1965年共にみられ、県下のウイルス保有蚊と患者発生との関係における一つの特徴といえるかもしれない。また1964年に比較して、野外蚊よりのウイルス分離の期間が長く初秋まで続いた1965年には確認患者の発生もこれに随伴して、遅くまで認められた。この事実から患者発生の時期の長短は、自然界における日脳ウイルスの散布期間に関係あるものと推定される。

長崎県下の健康人のHI抗体保有率は35.3%であり、東京地方における角田等(1965)や名古屋地方に於ける須永等(1964)の報告と大同小異であった。

抗体保有率を年令的にみた場合、21〜40才が他の年齢層に較べて保有率が低い。この年齢層において、最近患者がやや多発の傾向にあることと考え合せると興味深い。

なお、流行期以後の1:640以上の高い抗体価を保有していたものが8名(2.8%)に認められた。これらは、採血時以前に脳炎症状を呈していないこと、前年の夏期以前からの抗体がなおこのような高価で15ヶ月以上にもわたって持続しているとは考え難いこと等から1964年夏期の不顕性感染の一部を示しているものと考えられる。また流行期前にも1:640以上の抗体価を示したものが3件あった。このうち2件は5月下旬島原半島の小浜町で採血したものである。小浜町に隣接した愛野町では、すでに5月19日に野外蚊よりの日脳

ウイルスが分離されており、従ってこの時期には小浜町でも野外ウネルス保有蚊の飛翔がみられ、地区住民は感染を受ける機会も充分あったと考えられる。ゆえに、この2件についても、1964年夏期の感染の結果によるものと思われるが、血清が単一であるため断言は下し難い。

1965年の小学校学童の不顕性感染率は6.2%であった。東京、大阪、島根、名古屋地方等では1.2%〜4%の成績が得られている。松尾等(1965)の1964年の長崎県下島原小学校の調査においては8.2%に不顕性感染を認めている。長崎県下では他の地域に比して、やや高い結果が得られている。なお今回の調査では5月すでに抗体価を示していたもののうち4件が11月に2倍の上昇を示した。2回目の採血時期が11月とやや流行期から時間的に経過していたため、2倍の開きに止まったものと考えられる。

ワクチン接種をうけた学童の抗体保有率は学校別で大きな差がみられた。市街地の小学校ではワクチン接種後の抗体保有率はワクチン接種前の約2倍に増加したが、保有抗体価分布では、ワクチン接種前後共低価のものが多かった。一方田園地方の小学校ではワクチン接種前の抗体保有率がすでにかなり高く、接種後の保有率は接種前に比して殆んどその差異は認められなかった。しかし保有抗体価は接種後に於て幾分高めのものが多かった。いずれにせよ、ワクチン接種のHI抗体価への影響は多分にあったと思われる。2回目の採血の時期を今少し早目に行なうか或はワクチン接種直後に中間的な採血を試みていたならば、このことはなお一層判然としたのではないかと考えられる。

総 括 と 結 論

長崎県下の流行期における日脳患者を血清学的及びウイルス学的に確認し、日脳の顕性流行の様相を明らかにすると共に、県下住民の日脳に対する抗体保有状況を調査し、日脳ウイルスの浸淫状況を明らかにするために本研究を行い、次の結果を得た。

1) 1964年の日脳届出患者57名中、31名につき血清学的及びウイルス学的診断を行い11名の日脳患者を確認した。1965年には届出患者86名中、70名につき血清学的及びウイルス学的診断を行い、33名の日脳患者を確認した。1965年には日脳を血清学的に否定された患者の中でECHO 4, Cox. B1, B5, ウイルスをそれぞれ原因とする無菌性髄膜炎患者を確認した。

2) 1964年に長崎県下各地の健康人714名の血清について、その日脳に対するHI抗体保有率を調査したところ、陽性率は35.3%であった。保有抗体価は1:20及び1:40が最も多かった。年令的にみると陽性率は高年齢層において最も高く、次いで若年齢層に高く、青年層において最も低いことが判明した。また日脳流行期後に陽性率に約8%の上昇が認められた。

3) 1965年には小学校学童566名につき、日脳流行期をはさんで5月及び11月の2回にわたって同一人より採血し、HI抗体価の変動を調べた。566名の学童のうち1965年夏期に日脳ワクチンの接種を受けなかった学童は65名であった。これらの学童中、5月に比

して11月に始めて抗体価を認めたもの及び11月に4倍以上の抗体価の上昇を認めたものは4名(6.2%)であった。これは1965年夏期における日脳ウイルスの不顕性感染を示すものと考えられる。

一方、ワクチン接種をうけた501名の学童では、5月の陽性率22.8%が11月には31.9%となり9.1%の増加をみた。また11月には、その保有抗体価も全体的に高くなっていることが明らかとなった。加えて3小学校の地理的位置、周囲の環境により、その抗体保有状況

にかなりの差があることが判明した。

稿を終るに当り終始熱心な御指導、御校閲を賜った恩師福見秀雄教授に心から感謝致します。また材料採取に際し、多大の御便宜と御協力を頂いた長崎市立長崎病院、佐世保市立厚生病院、関係保健所及び学校当局各位、並びに終始協力を頂いた教室員各位に厚くお礼申し上げます。

本論文の要旨は昭和41年4月6日、第39回日本細菌学会総会において発表した。

文 献

- 1) Buescher, E. I., Scherer, W. F., Grossberg, S. E., Chanock, R. M. and Philpot, V. B., : Immunologic studies of Japanese encephalitis in Japan. I. Antibody responses following overt infection of man. *J. Immunol.*, **83**: 583—593, 1959.
- 2) Clarke, D. H. & Casals J., : Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, **7**: 561—573, 1958.
- 3) 服部忠順：日本脳炎の臨床的疫学的研究(第2報) 日本脳炎患者の血清反応 特に血球凝集抑制反応及び補体結合反応について。 *日本伝染病学会雑誌*, **38**(2): 33—42, 1964.
- 4) Hayashi, K., Mifune, K., Motomura, I., Matuo, S., Kawasoe, H. and Futatsuki, K. : Isolation of Japanese encephalitis virus from mosquitoes collected in Omura district, Nagasaki Prefecture, Japan, in 1964. *End. Dis. Bull. Nagasaki Univ.* **7**(3) : 155—164, 1965.
- 5) Hayashi, K., Mifune, K. and Shichijo, A. : Problems on overwintering of Japanese encephalitis virus in Japan. *End. Dis. Bull. Nagasaki Univ.* **7**(2) : 99—106, 1965.
- 6) Hayashi, K., Mifune, K., Shichijo, A., Kawasoe, H., Matsuo, S., Futatsuki, K., Omori, N., Wada, Y., Ito, S., Kawai, S., Nishigaki, J., Abe, Y., Makiya, K. and Kamisono, Y. : Ecological studies on Japanese encephalitis virus. Isolation of Japanese encephalitis virus from mosquitoes collected in Nagasaki and Kagoshima districts, Japan, in 1965. *End. Dis. Bull., Nagasaki Univ.* **8**(2) : 61—73, 1966.
- 7) 平石克平, 角田孝穂, 大谷 明, 奥野 剛, 清水 明 : 東京都およびその近郊在住の青年層における日本脳炎ウイルス中和抗体保有状況, 第38回日本伝染病学会総会一般演説要旨, *日本伝染病学会雑誌*, **38**(7) : 255—256, 1964.
- 8) 石井慶蔵：日本脳炎のウイルス学的診断を中心として。 *日本伝染病学会雑誌*, **32**(10) : 777—783, 1959.
- 9) 唐木利朗, 工藤節子, 杉山雄吉, 服部忠順, 中山建治, 福味七寿, 甲野礼作：京都市における日本脳炎ワクチン接種前後の健康人HI抗体の分布について。第38回日本伝染病学会一般演説要旨, *日本伝染病学会雑誌*, **38**(7) : 225, 1964.
- 10) 国立予防衛生研究所ウイルスリケツチア部ウイルス第4室：日本脳炎ウイルスの血球凝集反応及び血球凝集抑制反応の新しい方法について。1961年。
- 11) 国立予防衛生研究所リケツチアウイルス部ウイルス第4室：ウイルス同定及び血清診断のための微量補体結合反応の術式について。1961年。
- 12) 松田心一：日本脳炎の疫学的考察——特にその予防接種効果の検討一。 *日本伝染病学会雑誌*, **35**(3) : 244—277, 1961.
- 13) 松尾礼三, 熊 正昭, 野口英太郎：1964年、長崎県下住民の日本脳炎HI抗体保有率の分布と不顕性感染率について。 *長崎県衛生研究所年報VI* (昭和39年度版) : 21—24, 1965.
- 14) 松尾幸子：未公刊資料。
- 15) Mifune, K. : Transmission of Japanese encephalitis virus to susceptible pigs by mosquitoes of *Culex tritaeniorhynchus* after experimental hibernation. *Endem. Dis. Bull. Nagasaki Univ.* **7**(3) : 178—191, 1965.
- 16) 三田村篤四郎, 北岡正見, 渡辺 漸, 天神 智, 細井輝彦, 関 応一, 正畑一正, 徐慶一郎, 清水孟行：昭和

- 13年に於ける岡山市の蚊の季節的消長並びにその有毒性について、東京医事新誌, 3144:1980—1983, 1939.
- 17) 大谷 明: 日本脳炎及びその関連疾患の血清診断。日本臨床, 18(12): 113—117, 1960.
- 18) 大谷 明: 日本脳炎の予防接種。小児科臨床, 17(1): 32—42, 1964.
- 19) 大谷 明, 高橋三雄, 緒方隆幸, 片岡政夫, 奥野剛, 松山達夫, 中村忠義: 群馬県におけるコガタアカイエカの日本脳炎ウイルス保有の年度別変化と、その人の日本脳炎流行との関係について。第11回日本ウイルス学会総会講演要旨, 12, 1963.
- 20) 斉藤孝一, 小林幸二: 島根県における日本脳炎の調査研究。日本伝染病学会第13回西日本地方会, 日本伝染病学会雑誌, 38(10): 387, 1965.
- 21) Scherer, W. F., Kitaoka, M., Grossberg, S. E., Okuno, T., Ogata, T. and Chanock, R. M.: Immunologic studies of Japanese encephalitis in Japan. 2. Antibody responses following inapparent human infection. J. Immunol., 83: 594—604, 1959.
- 22) Southam, C. M.: Serologic studies of encephalitis in Japan. 1. Hemagglutination-inhibiting, complement-fixing, and neutralizing antibody following overt Japanese B encephalitis. J. Infect. Dis., 99: 155—162, 1956.
- 23) Southam, C. M.: Serological studies of encephalitis in Japan. 2. Inapparent infection by Japanese B encephalitis virus. J. Infect. Dis., 99: 163—169, 1956.
- 24) 角田孝穂, 松原義雄, 平石克平, 大谷 明, 奥野剛: 日本脳炎ウイルス抗体保有状況と不顕性感染。日本医事新報, 2145: 8—11 1965.
- 25) 須永 寛, 島田博隆, 岡崎一治, 岡田 博: 日本脳炎の疫学的研究。第3報 東海地方住民間におけるHI抗体の分布と感染発生時期の推定。第33回日本伝染病学会総会一般演説要旨, 日本伝染病学会雑誌, 38(7): 225, 1964.
- 26) Takahashi, K., Matsuo, R., Kuma, M. and Noguchi, H.: Studies on mosquito infection with Japanese encephalitis virus in 1964 in Nagasaki Prefecture. : End. Dis. Bull. Nagasaki Univ., 7(3): 165—177. 1965.
- 27) 高橋克己, 松尾礼三, 熊 正昭, 野口英太郎, 東 房之: 1965年, 長崎県における日本脳炎流行の疫学的研究。第1報, コガタアカイエカよりの日本脳炎ウイルス分離状況。長崎大学風土病紀要, 8(1): 1—7, 1966.
- 28) 高橋克己, 松尾礼三, 熊 正昭, 野口英太郎, 藤原青晃, 東 房之: 1965年, 長崎県における日本脳炎流行の疫学的研究。第3報, 日本脳炎ウイルスの蚊, 豚, 人感染の総括的関連性について。長崎大学風土病紀要, 8(1): 18—28, 1966.
- 29) 高橋克己, 山本英穂, 大塚 悟, 真子憲治: 福岡県における野外棲息蚊よりの日本脳炎ウイルス分離, 日本伝染病学会第10回西日本地方会抄録, 日本伝染病学会雑誌, 37(2): 62, 1962.