

山口県におけるA型肝炎の血清疫学的研究

山口県衛生公害研究センター (所長: 田中一成)

岩崎 明・中尾利器・松村健道・若月貞子・岡田雅裕
板垣国昭・遠藤隆二・田中一成A Seroepidemiology on Hepatitis A
Virus Infection in Yamaguchi PrefectureAkira IWASAKI, Toshiki NAKAO, Kendo MATSUMURA, Sadako WAKATSUKI
Masahiro OKADA, Kuniaki ITAGAKI, Ryuji ENDO
Kazushige TANAKA*Yamaguchi Prefectural Research Institute of Health (Director: Dr. Kazushige TANAKA)*

はじめに

A型肝炎は、古くから流行性肝炎と呼ばれていたものとはほぼ一致するもので、経口的に感染するウイルス性肝炎である。A型肝炎の本態は、永い間不明であったが、1973年にFeinstone¹⁾が患者の糞便からA型肝炎ウイルス(HAV)粒子を証明したことにより、その研究が一挙に進展してきた。また、森次らによる血清診断法の開発²⁾により本邦におけるA型肝炎患者の血清学的確認³⁾、および各地での発生事例の検討・報告などがなされてきた^{4)~24)}。しかし、A型肝炎患者については届け出制度がなく、その実態は明らかでない。1983年頃に至り各地で多発傾向が出現し注目されてきた²⁵⁾。そこで、本県におけるA型肝炎の血清疫学的調査を実施した。

調査対象

県下住民について、1985年9月から同年12月までの4か月間、次の各年齢階層別に約50~100名を対象に調査した。年齢区分は、0~4歳、5~9歳、10~14歳、15~19歳、20~29歳、30~39歳、40~49歳、50~59歳、60~69歳、70歳以上の10区分で、また、地区別(保健所別)の調査数は、防

府222名、宇部201名、豊田177名、柳井134名、その他22名(山口5、豊浦10、長門7)、合計756名であった。

調査方法

酵素抗体法(ELISA法)を用いて、血清中のA型肝炎抗体を測定した。なお、検査術式は、桑原ら²⁶⁾の示すELISA競合法によった。その概要は次のとおりである。

1 試薬の調整および器材

- 1) 洗浄液 (0.05% Tween 20 加 PBS :
PBS-T)
PBS (NaCl 8.0g, KCl 0.2g,
Na₂HPO₄ 1.15g, KH₂PO₄ 0.2g,
ddw 1000ml)
- 2) Citrate buffer (pH 5.0)
0.1 M Citrate acid 48.5ml,
0.2 M Na₂HPO₄ 51.5ml
- 3) 停止液 (4 N H₂SO₄)
- 4) Primary coating液 (HAV抗体液)
HAV抗体液はA型肝炎患者の回復期血清をPBSで4000倍希釈して使用
(原血清1AHA価5120倍)

- 5) Secondary coating液 (2%牛胎児血清: FCS)
PBS-T 200 ml, FCS 4 ml
 - 6) HAV 抗原液
精製HAV抗原液は, 国立予防衛生研究所森次保雄博士より被分与 (HAVを細胞培養で増殖, 精製したもの)
 - 7) 酵素標識抗体液
A型肝炎患者の回復期血清をペルオキシダーゼで標識したもの²⁷⁾ (PO-Anti HAV) を150倍で使用
PO-Anti HAV 80 μl, HAV 抗体陰性血清 (NHS) 120 μl,
Secondary coating液 12ml
 - 8) 基質溶液
O-phenylenediamine (OPD) 20mg, citrate buffer 50ml, 過酸化水素水 10 μl
 - 9) ELISA用プレート
ファルコン社製#3912を使用
 - 10) プレートリーダー
マイクロプレートリーダー (コロナ電気社製, MTP-12) を使用
- 中国, 四国衛生研究所でデータの統一をはかるため, 上記のうち 4) HAV抗体液, 5) FCS, 6) HAV抗原液, 7) 酵素標識抗体液, OPD, 陽性および陰性コントロール血清は, 同一のもの²⁶⁾を使用 (愛媛県立衛生研究所大瀬戸光明先生が検討の上作製配布)
- 2) HAV抗体測定法
 - 1) Primary coating (HAV抗体液を各wellに0.05ml分注, 4℃一夜)
 - 2) PBS-Tで3回洗浄
 - 3) Secondary coating (2% FCSを各wellに0.2ml分注, 4℃一夜)
 - 4) PBS-Tで3回洗浄
 - 5) HAV抗原液を各wellに0.05ml分注, 4℃一夜
 - 6) PBS-Tで3回洗浄
 - 7) 1:100希釈被検血清を2 wells, およびコントロール血清を4 wells各々0.025ml分注
 - 8) マイクロミキサーで3秒3回振とう
 - 9) 室温30分後酵素標識抗体液を0.025ml分注振とう後室温2時間反応
 - 10) PBS-Tで3回洗浄

- 11) 基質液を0.1mlずつ分注, 暗箱内で室温30分発色 (基質液は使用直前に調整)
- 12) 停止液を0.1ml分注し, 495nm吸光度を測定した.

3 判定方法

各検体2 wells 測定し平均値を用いて次式でインヒビション%を算出して以下の判定基準により判定した.

$$\text{インヒビション\%} =$$

$$\frac{\text{陰性コントロール血清OD値} - \text{被検血清OD値}}{\text{陰性コントロール血清OD値} - \text{陽性コントロール血清OD値}} \times 100$$

4 結果判定基準

インヒビション%が70%以上・・・HAV抗体陽性
インヒビション%が70未満～30%以上・・・再検
または判定保留
インヒビション%が30%未満・・・HAV抗体陰性注) 陰性コントロール血清のOD値が0.5以上, 陽性コントロール血清のOD値が0.1以下の条件からはずれた場合は再検査

調査成績

1 年齢別抗体保有状況 (図1)

0～4歳児では, 59名中2か月齢児の1名(1.7%)が抗体を保有していた. 5～9歳44名, 10～14歳53名, 15～19歳66名中にはいずれも抗体保有者は見られなかった. 20歳代は, 28歳1名, 29歳2名の抗体保有者があり, 3/58(5.2%)であった. また, 30歳代は36/105(34.3%), 40歳代63/109(57.8%), 50歳代90/123(73.2%) 60歳代61/88(69.3%), 70歳代38/51(74.5%)であった.

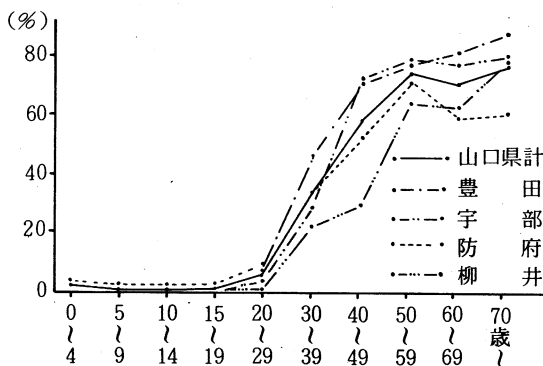


図1 地区別年齢別抗体保有率

即ち、30歳未満では、抗体保有率は極めて低く、30歳以上では、年齢が高くなるにつれ抗体保有率も上昇し、50歳代以降では70%台を維持していた。

2 性別抗体保有状況

図2に示すように、男女の差は見られなかった。

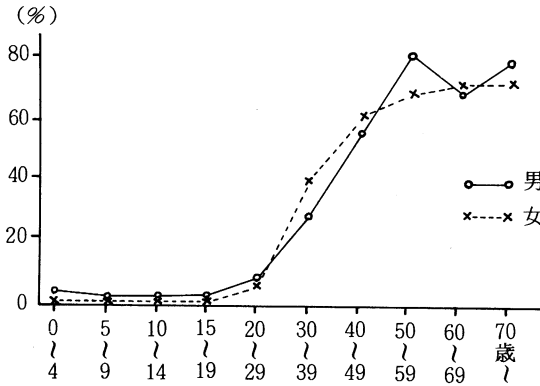


図2 性別年齢別抗体保有率

3 地区別抗体保有状況 (図1)

調査した防府、宇部、豊田、柳井地区の調査数にばらつきがあり、明確にできない点もあるが、防府、宇部両地区は、他地区に比べ高い保有率を示した。柳井地区では、30歳代 5/22 (22.7%)、40歳代 7/24 (29.2%)、50歳代 14/22 (63.6%) で、他の地区に比べ低い保有率であった。

考察

近年、A型肝炎、B型肝炎ともに血清学的診断法が確立した結果、ウイルス性肝炎の型別を決定することが可能となった。1979年A型肝炎研究班の調査によるとA型、B型、非A非B型肝炎がそれぞれ19%、36%、45%の割合となっている²⁵⁾。その後A型肝炎の占める割合が増加していることが指摘され²⁶⁾、1983年に全国的多発傾向がみられた。A型肝炎はHAVが、肝細胞で増殖し胆汁と共に糞便に排出し再び口から入る、いわゆる糞口感染をする疾病であり²⁹⁾、食物、水等の汚染が重要な流行因子となる。1977年佐賀県基山町の小学校における流行事例⁹⁾、1983年福岡県粕屋郡におけるマージャン荘での流行事例²⁰⁾等はいずれも井戸水汚染が原因とされている。近年患者が散発的に各地で発生している⁵⁻²³⁾要因については、川生魚、生貝類、人から人への連鎖伝播等種々の推論はあるが未だ十分解明されていない²⁵⁾。

感染症の疫学調査においてもっとも基本的な知

見を提供してくれるものは、病原体に対する年齢別抗体保有状況である。また、これに影響する因子は過去の当該地域への病原体の浸淫度と伝播様式が第一の因子であるが、このほかに産生された抗体の持続の程度と、病原体の変異の程度とが二次的な因子として働く。HAVは、一度獲得した抗体は終生持続し陽性を示すことが知られており、また、インフルエンザウイルスのように抗原性に変異するということなく²⁵⁾、年齢別抗体陽性率に影響する因子は、もっぱら過去より現在にわたってのHAVの浸淫度ということになる。今回調査した本県の年齢別抗体保有状況は、母子移行抗体と考えられる2か月齢児が1名、28歳1名、29歳2名保有していた。抗体保有率は30歳未満で極めて低く、30歳以上で急激に高くなり50歳代で70%を維持しており、典型的なS字曲線を示した。1979年から1985年に行われた各地の調査成績と比較すると、抗体保有率は厚生省肝炎研究連絡協議会A型肝炎研究班(班長:市田文弘教授)の全国6地区(新潟、松本、岐阜、名古屋、和歌山、長崎)の調査では、10歳以下でほとんど陽性者はなく、10歳代からわずかに上昇し始め、20歳代では20%となり、30歳代に至って急上昇し、40歳代以降は80%以上と高原状態を示していた²⁵⁾。また、青森市³⁰⁾、宮城県内³¹⁾、香川県内³²⁾、愛媛県内²⁶⁾とも同様の傾向であった。このことから、過去、約30年間、A型肝炎の全県下におよぶ大きな流行はなく、また30年以前即ち戦中、戦後の混乱期にはHAVの高濃度の浸淫汚染があったものと考えられる。1955年以降衛生環境の整備特に上水道、下水道等の改善(図3参照)、衛生思想の啓蒙普及等によって、A型肝炎の浸淫度が下がり、その後生まれた若年成人、小児は抗体を保有しない状態をもたらしたものと考えられる。また、近年の流

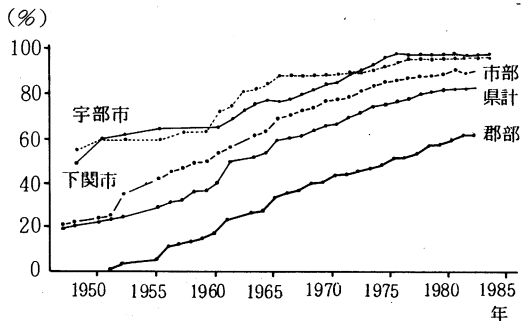


図3 上水道普及率

行は局地的、散発的の発生であり抗体保有率を急上昇させるものではなかったことがうかがえる。

一方、海外に目を向けると^{25, 29)}、地域別抗体保有状況は、北半球では一般的に南に高く、北に低い傾向があることが知られている。即ち、今日でもA型肝炎の流行が続いているタイ、インド、ネパールなど東南アジア諸国や、サモア、フィジー、ニューカレドニアなどオセアニア諸国では乳児期までにほとんどの小児がHAVに感染し免疫を獲得しているが、スウェーデン、ノールウェー、スイスなど北欧や、アメリカなどでは60歳頃にずれこんだ形で抗体保有率が高くなっている。日本、フランス、ドイツ、ベルギーなどはその中間型で30歳頃から抗体保有率が急上昇している。このような地域差は、衛生環境、生活習慣などの要因からなっているものと考えられている。国内では地域的に大差がないとされており²⁵⁾、今回調査した本県内の各地区ともほぼ同様な抗体保有曲線を示しているが、小地区別にみると柳井地区では、30歳代 22.7%、40歳代 29.2%、50歳代 63.6%で、他の地区に比べ低い傾向がみられた。柳井市に隣接する大畠村では、1965年～1967年に流行性肝炎の流行報告がある³³⁾。この報告によると、当該肝炎の流行地域は、大畠村の神代、大畠地区で、隣接の遠崎地区は流行せず、比較的局限した流行であったこと、また、この地区は第2次世界大戦後流行性肝炎が流行していた時期に、その侵襲をまぬがれ、比較的処女地として残り、1965年頃より爆発的に流行がおこったものと推定している。今回我々が調査した柳井地区の抗体保有率が、低いことと符合する成績であった。

このように30歳未満の年齢層では抗体保有率が極めて低いこと、東南アジア諸国では常在的に流行していること^{25, 29)}、および急性肝炎患者の実態調査が行われた中国、四国地区では、各県ともA型肝炎患者の発生が確認されていること等から、局地的な流行および海外渡航者等については今後とも注意する必要がある。

まとめ

本県におけるA型肝炎の血清疫学調査を行い次の結果を得た。

- 1) ELISA法により2か月齢児の母子移行抗体が検出された。
- 2) 年齢別抗体保有状況は、30歳未満では、抗体保有率は極めて少なく、30歳以上では、急激に

抗体を保有し始め、50歳代以降では70%台を維持している。

- 3) 上のことから過去約30年間大きな流行はなかったこと、および30年以前は常在的に浸淫していたものと推察される。

謝辞

稿を終わるにあたり、HAV抗原を分与頂いた国立予防衛生研究所の森次保雄博士、HAV酵素標識抗体等分与頂いた愛媛県立衛生研究所大瀬戸光明先生に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) Feinstone, S. M. et al.: Science. **182**, 1026～1028 (1973)
- 2) Moritugu, Y. et al.: Infect. Immun **13**, 898～908 (1976)
- 3) Moritugu, Y. et al.: Japan J. Med Sci. Biol., **31**, 325～338 (1978)
- 4) 吉沢浩司: 日本臨床. **36** (10), 3503～3506 (1978)
- 5) 小西知己ら: 肝臓. **25** (7), 842～847 (1984)
- 6) 田中智之ら: 臨床成人病. **8** (1), 15～23 (1978)
- 7) 奈良秀八州ら: 肝臓. **19** (1), 9～21 (1978)
- 8) 菅谷仁ら: 肝臓. **19** (10), 1011 (1978)
- 9) 谷川久一ら: 臨床成人病. **8** (1), 39～45 (1978)
- 10) 鈴木司郎ら: 日本臨床. **37** (3), 642～645 (1979)
- 11) 安部弘彦ら: 肝臓. **21** (4), 381～390 (1980)
- 12) 中野哲ら: 肝臓. **20** (7), 643～653 (1979)
- 13) 瀬戸山浩ら: 肝臓. **22** (10), 1386～1392 (1981)
- 14) 安齊哲郎ら: 肝臓. **20** (10), 1109 (1979)
- 15) 増田和彦ら: 肝臓. **23** (7), 722～730 (1982)
- 16) 西原隆ら: 肝臓. **22** (7), 925～932 (1981)
- 17) 鶴崎隆一郎ら: 日本医事新報. (3098), 28～34 (1983)
- 18) 佐々木悟ら: 肝臓. **24** (8), 923 (1983)
- 19) 海老沢功ら: 日本医事新報. (3100), 48～50 (1983)

- 20) 中村好一ら：日本公衆衛生. **31**, 403~410 (1984)
- 21) 船津和夫ら：日本医事新報. (3146), 31~34 (1984)
- 22) 長谷部碩ら：日本医事新報. (3139), 47~49 (1984)
- 23) 西弘次ら：公衆衛生情報. **8**, 16~20 (1985)
- 24) 森次保雄, 戸塚敦子：臨床とウイルス. **14** (3), 264~267 (1986)
- 25) 鈴木司郎ら：臨床とウイルス. **12** (2), 150~153 (1984)
- 26) 桑原広子ら：愛媛県衛生研究所年報. (46), 5~8 (1985)
- 27) Nakane, P. et al. : J. Histochem. & Cytochem., **22** (12), 1084~1091 (1974)
- 28) 田中栄司ら：肝臓. **23** (5), 567 (1982)
- 29) 西岡久壽彌：メディヤサークル. **30** (1), 1~12 (1985)
- 30) 野呂キョウら：青森県衛生研究所報. (21), 52 (1984)
- 31) 白地良一ら：臨床とウイルス. **14** (3), 331~335 (1986)
- 32) 山西重機, 山本忠雄：香川県衛生研究所. (14), 32~34 (1985)
- 33) 岩原定可ら：感染症学雑誌. **44** (6), 331~338 (1970)