

28

血清学的調査による *Campylobacter jejuni* の感染-発症割合推定に基づいた障害調整生存年数の定量化

Quantification of Disability Adjusted Life Years based on the estimation of the illness-to-infection ratio with *Campylobacter jejuni* by serological survey

浅田安廣, 大河内由美子, 伊藤禎彦 (京都大学)

Yasuhiro ASADA, Yumiko OHKOUCHI, Sadahiko ITOH (Kyoto Univ.)

1. 緒言

現在の日本の水道システムは、消毒副生成物による健康影響問題のほか、カルキ臭をはじめとする水道水の異臭味による水道離れが問題視されており、将来は塩素注入量を低減し満足度の高い水道システムを構築する必要がある。しかし、残留塩素濃度の低減は微生物リスクの増大に直結しうることから、同時に微生物リスク管理手法の高度化を進めることが重要である。

一般に微生物の種類によって疾患の深刻さや死亡率が大きく異なるため、多種多様な健康影響を評価する指標が微生物リスク定量には必要である。ここで、疾病要因による多種多様な健康影響の大きさを表す指標として障害調整生存年数 (Disability Adjusted Life Years: DALYs) がある。飲料水の安全評価の分野では、WHO (世界保健機関) が数種類の微生物と化学物質を取り上げて DALYs の定量化作業を実施している¹⁾。しかし、水道水中の病原微生物に感染しても実際には不顕性感染で終わるケースが多い。そのため微生物リスクを DALYs を用いて定量する場合、微生物感染が成立した人のうち発症した人の割合 (感染-発症割合) が DALYs 推定値に影響を与える因子の一つであると考えられる。そこで対象とする微生物ごとに、感染-発症割合を推定する必要がある。

飲料水による水系感染症の主要原因菌のひとつに *Campylobacter jejuni* がある。*C. jejuni* 感染による感染-発症割合に関する有用な情報は乏しく、安全側サイドの考え方や既往研究²⁾に基づき、感染-発症割合が 1.2~100% と広範囲で設定されているのが現状である。そのため感染-発症割合は DALYs 計算する上で、大きな不確実性を持っていると考えられる。このような背景に基づき本研究では *C. jejuni* を対象とし、初めに血清学的調査に基づいて *C. jejuni* 感染による感染-発症割合の推定を行った。そして、推定した感染-発症割合を用いて *C. jejuni* 感染者 1 人あたりの DALYs の定量を試みた。

2. 実験方法

2.1. 血清中の *C. jejuni* に対する抗体価の測定

国立感染症研究所に保管されている血清の中で、京都府で 2006 年~2008 年に採取された血清 140 サンプルを使用した。なお、各年齢区分ごと (5~9 歳、10~19 歳、20~29 歳、30~39 歳、40~49 歳、50~59 歳、60 歳以上) に 20 検体、男女比が 1:1 になるように設定した。

次に、血清中の *C. jejuni* に対する抗体価を定量した。対象とする抗体クラスは、immunoglobulin A (IgA)、IgG、IgM とした。なお抗体価測定には、SERION ELISA classic *Campylobacter jejuni* IgG/IgA/IgM キットを使用した。

2.2. 血清学的調査に基づいた感染-発症割合の推定

感染-発症割合の推定には、一般集団における不顕性感染者 (感染者) 数と顕性感染者 (発症者) 数の把握が必要である。感染者数については、2.1. により得られた抗体価結果に基づいて推定を行った。既往研究では、顕性感染者集団、不顕性感染者集団、健常者集団の順に抗体価レベルが低くなる傾向にあると報告している^{3,4)}。そこで得られた抗体価分布に対して感染者と健常者を判別する陽性カットオフ値を設定し、抗体価陽性と判断された集団を感染者の集団と定義した。そして、140 サンプル中の感染者サンプル数割合を一般集団における感染者割合とみなした。

C. jejuni 感染は、主要な汚染源の一つである養鶏場などの畜産業が盛んな地域で多いと予想される。そのため発症者数の推定には、京都府と産業形態の違いが小さいと考えられ、*C. jejuni* 菌体分離数の報告率が 100% である神戸市を選択した。しかし、神戸市の市内定点病院検査室ならびに神戸市環境保健研究所、

神戸市中央市民病院で分離された *C. jejuni* 報告数の集計データのみでは、実際の被害実態を把握できない。そこで、図1に示す宮城県で実施された急性下痢症疾患の実被害者数推定研究の考え方⁵⁾に従い、神戸市での *C. jejuni* 感染症実患者数を推定した。なお、ここでの *C. jejuni* 感染症実患者数を発症者数と設定した。そして、得られた一般集団における感染者数と発症者数から、感染-発症割合を推定した。

2.3. *C. jejuni* 感染者 1 人当たりの DALYs の定量

DALYs は、早期死亡によって失われた生存年数 (Years of Life Lost: YLL) と、障害をもって生存する年数 (Years Lived with Disability: YLD) との和で表される。先進国における *Campylobacter* の感染による DALYs は、1000 人の胃腸炎がある場合に、YLD は 3.2、YLL は 1.4 と推算されており、 $3.2 + 1.4 = 4.6$ DALYs と求められている¹⁾。ここで感染者から発症者の発生割合は、推定した感染-発症割合 $P_{inf-ill}$ を用いることとした。そして、以下の式により感染者 1 人当たりの DALYs を試算した。

$$\text{感染者 1 人当たりの DALYs} = 1(\text{人}) \times P_{inf-ill} \times 4.6 (\text{DALYs} \cdot 1000 \text{ 人}) / 1000 (\text{人}) \quad (1)$$

3. 実験結果と考察

3.1. 血清学的調査による一般集団における感染者割合の推定

得られた抗体価分布に対して、感染者と健常者のカットオフ値 (陽性カットオフ値) を設定して感染者判定を行った。キットには、発症者を判定するカットオフ値が設定されている。このカットオフ値は、およそ 400 人の血清を分析した結果から得られた値である。そして急性胃腸炎の糞便検査判定との比較の結果、キットのカットオフ値が発症者を示すカットオフ値として妥当なものであることが示されている。一方で感染者は症状を示さないことから、キットにおける健常者集団にも感染者集団が含まれていると考えられる。そのためキットの発症者判定カットオフ値は、発症者と感染者のカットオフ値として用いることとした。次に感染者と健常者のカットオフ値 (陽性カットオフ値) の設定を行った。既往研究では、発症者、感染者、健常者に対してそれぞれ抗体価を ELISA 法を用いて吸光度で測定しており、各集団における吸光度上昇の差が確認された^{3,4)}。そこで本研究では、各集団において *C. jejuni* 曝露後に最も高い上昇を示した時の吸光度平均値^{3,4)}を用いて、その上昇比率からカットオフ値の設定を行った。カットオフ値設定方法の概念図を図2に示す。その結果、吸光度上昇率は IgA 抗体で 2.4~2.6 倍、IgG 抗体で 1.7~1.8 倍、IgM 抗体で 1.3~2.6 倍であった。そして得られた各抗体クラスの吸光度上昇率とキットの発症者カットオフ吸光度値を用いて、感染者のカットオフ吸光度値を推定し、キットの説明書に記載してある吸光度と抗体価の関係式からカットオフ吸光度値を抗体価に変換した。その結果、陽性カットオフ値は、IgA 抗体で 8.2~9.0 U/mL、IgG 抗体で 13.2~14.9 U/mL、IgM 抗体で 21.9~47.3 U/mL の範囲となった。

次に、感染者を判定するために抗体クラスの設定を行った。各抗体クラスには、それぞれ特有の

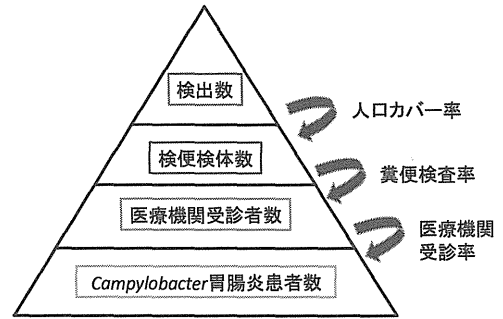


図1 *C. jejuni* 感染症実患者数推定の概念図⁵⁾

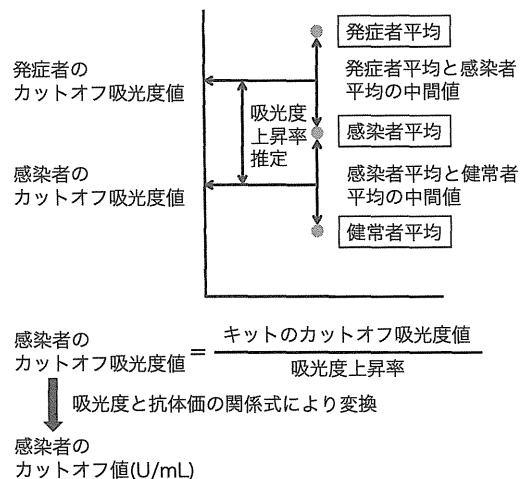


図2 感染者カットオフ値設定方法の概念図

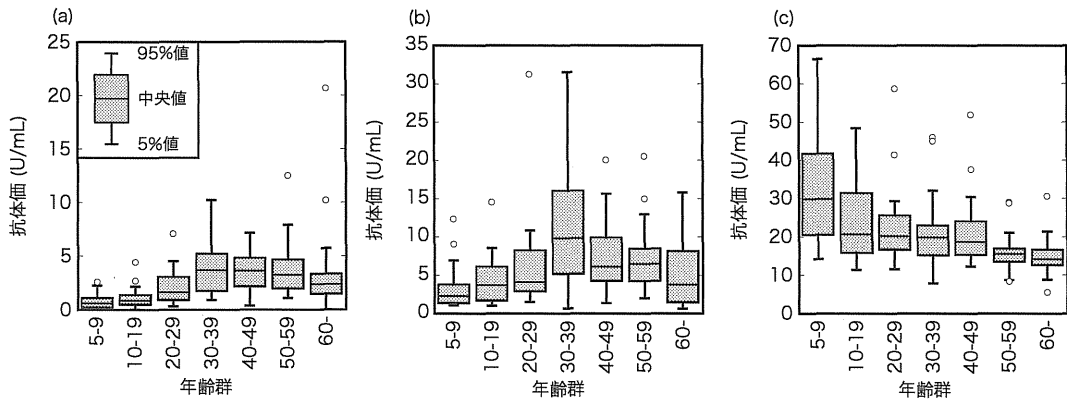


図3 年齢群ごとの抗体価分布
(a) IgA 抗体 (b) IgG 抗体 (c) IgM 抗体)

特徴がある。IgA 抗体は感染後短期間で抗体価が上昇し、2 ヶ月程度で健常者と同レベルまで低下する傾向を持つ⁶⁾。IgM 抗体は抗体価上昇期間の傾向は IgA 抗体と同様であるが、低下度合は IgA 抗体と異なり個人により多少バラツキがあり、若年者において抗体価上昇を強く示す傾向にある⁶⁾。IgG 抗体は抗体価の持続期間が長く、1 年以上も高い抗体価を持続するケースもある⁶⁾。そのため、直近での感染履歴判定においては、偽陽性を示すケースが考えられる。本研究ではまず抗体価測定結果に対して、各抗体クラスの年齢群ごとの抗体価分布を調べた。各抗体クラスの年齢群ごとの抗体価分布を図3に示す。この結果でも、IgM 抗体は若年者で高い抗体価を示しており、一方で IgA、IgG 抗体は 30-39 歳でピークを示し、その後徐々に低下する傾向となった。そのため若年者の判定には IgM 抗体が有効であり、年配者の判定には IgA 抗体あるいは IgG 抗体が有効であると判断した。以上の検討と IgG 抗体の偽陽性を示す可能性を考慮し、感染者の判定には IgA 抗体、IgM 抗体を利用し、IgA 抗体あるいは IgM 抗体でカットオフ値以上の抗体価を示したサンプルを、採血年に感染した経歴を持つサンプル (感染者サンプル) と判定した。この結果、一般集団における感染者割合は 7.9~35.0% と推定された。

3.2. 感染-発症割合の推定及び C. jejuni 感染者 1 人当たりの DALYs 定量

発症者数の推定に際して、2006 年から 2008 年の市内定点病院検査室ならびに神戸市環境保健研究所、神戸市中央市民病院で分離された C. jejuni 検出数を調査した結果、2,159 件であった。C. jejuni 検出数から実患者数を推定する上で必要な補正係数として、検査機関の神戸市受診者人口のカバー率 (人口カバー率)、医療機関受診率、糞便検査率が挙げられる⁵⁾。ここで人口カバー率は、神戸市全体と検査機関での外来患者延数から推定を行った。結果として、31.7% を得た。一方、医療機関受診率と糞便検査率は宮城県における電話住民調査⁵⁾ で推定された平均値 32.0% と 10.9% を利用した。その結果、2006 年から 2008 年の 3 年間における C. jejuni 感染症実患者数は、195,262 人と推定された。

これらの結果を踏まえて、C. jejuni 感染による感染-発症割合を推定した。推定に用いた各パラメータの値を表 1 にまとめる。3.1. で推定した感染者割合より神戸市における 3 年間の C. jejuni 感染者数は、362,759~1,607,161 人と推定された。そして、神戸市における 3 年間の C. jejuni 感染症実患者数から、感染

表 1 感染-発症割合推定に用いた各パラメータ値

感染者割合(%)	感染者数(人) (2006~2008年)	補正係数(発症者数推定)		
		人口カバー率(%)	医療機関受診率(%)	糞便検査率(%)
7.9~35.0	362,759~1,607,161	31.7	32.0	10.9
C.jejuni検出数(件) (2006~2008年)	発症者数(人) (2006~2008年)	感染-発症割合(%)		
2,159	195,262	12.1~53.8		

表 2 感染－発症割合を用いた感染者 1 人あたりの DALYs 推定値

感染－発症割合(%)	感染者1人あたりのDALYs(DALYs)
12.1 (最小値)	5.6×10^{-4}
53.8 (最大値)	2.5×10^{-3}
100 (安全側サイド)	4.6×10^{-3}
1.2 (Havelaar <i>et al</i>) ²⁾	5.5×10^{-5}

－発症割合は 12.1~53.8% と推定された。Black らのボランティア試験結果では感染－発症割合が 0~60.0% の範囲で存在しており³⁾、今回得られた推定値もこの範囲内にあった。そこで、DALYs の定量には本研究で推定した感染－発症割合を用いることとした。

ここでは、感染－発症割合の最大値と最小値を用いて式 (1) に基づき、*C. jejuni* 感染者 1 人あたりの DALYs を定量した。DALYs の計算結果を表 2 にまとめる。感染－発症割合の最大値と最小値を用いた場合の DALYs 推定値の差は、約 4.4 倍であった。感染－発症割合範囲が 1.2~100% の場合、DALYs が約 83 倍差があるのに対して、本研究で得られた感染－発症割合を用いることで DALYs 推定値の変動差を小さくすることができた。そのため、血清学的調査に基づいた感染－発症割合の推定により不確実性を低くすることができたといえる。しかし感染－発症割合推定には既往研究のデータを用いており、利用可能なデータは限られているため、これ以上不確実性を低くすることはできない。そこで今後は、統計学的手法を用いて感染－発症割合を推定し、感染－発症割合による DALYs 定量の不確実性について検討を行っていく。

4. 結言

水道水の微生物リスク評価指標として DALYs を取り上げ、その計算過程において不確実性が高い因子である感染－発症割合を、*C. jejuni* を対象とし血清学的調査を用いて推定した。血清学的調査により、一般集団における感染者割合は 7.9~35.0% と推定され、推定された発症者数から *C. jejuni* 感染による感染－発症割合を 12.1~53.8% と評価した。次に推定した感染－発症割合を用いて、*C. jejuni* 感染者 1 人あたりの DALYs を試算したところ、 5.6×10^{-4} ~ 2.5×10^{-3} DALYs と推定された。また本研究で推定された感染－発症割合を用いることにより、不確実性を大幅に低下することができ、血清学的調査を用いた感染－発症割合の推定により DALYs 定量の精度向上が可能となった。

謝辞 本研究で用いた血清サンプルは、国立感染症研究所から分与されたものである。記して謝意を表す。本研究を行うにあたり有益なる御助言を賜りました京都大学大学院工学研究科 松井利仁准教授に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) Havelaar, A. H. and Melse, J. M.: *RIVM report 734301022*, 2003.
- 2) Havelaar, A. H., van Pelt, W., Ang, C. W., Wagenaar, J. A., Gross, U., van Putten, J. P. M. and Newell, D. G.: *Crit. Rev. Microbiol.*, Vol.35, No.1, pp.1-22, 2009.
- 3) Black, R. E, Levine, M. M., Clements, M. L., Hughes, T. P. and Blaser, M. J.: *J. Infect. Dis.*, Vol.157, No.3, pp.472-479, 1988.
- 4) Blaser, M. J. and Duncan, D.: *Infect. Immun.*, Vol.44, No.2, pp.292-298, 1984.
- 5) 春日文子, 窪田邦宏: 厚生労働科学研究費補助金 食品衛生関連情報の効率的な活用に関する研究 平成 19 年度 / 平成 20 年度分担研究報告書.
- 6) Strid, M. A., Engberg, J., Larsen, L. B., Begtrup, K., Mølbak, K. and Kroghfelt, K. A.: *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, Vol.8, No.2, pp.314-319, 2001.

キーワード: 障害調整生存年数, カンピロバクタージェジュニ, 血清学的調査, 感染－発症割合

Key Words: Disability Adjusted Life Years, *Campylobacter jejuni*, Serological survey, Illness-to-infection ratio