

日本腦炎與疫苗

黃高彬

一、介紹及歷史

日本腦炎是一種經蚊子媒介傳染的病毒性疾病，在亞洲，它是兒童最常見的病毒性腦炎，據估計，每年至少有50,000個病例，10,000個病例因而死亡[1,2]。其病原是日本腦炎病毒，屬於黃色病毒（Flavivirus），1924年，此病毒首先在日本從死亡病例的腦組織分離出來，當年，日本爆發流行的病例數高達6,125例。至目前，至少有5屬26種蚊子能傳染日本腦炎，其中最主要的是三斑家蚊（*Culex tritaeniorhynchus*），而環紋家蚊（*Culex annulus*）、尖音家蚊（*Culex pipiens*）、東鄉斑蚊（*Aedes togoi*）、白頭家蚊（*Culex fusocephalus*）、白吻家蚊（*Culex vishnui*）和環喙家蚊（*Culex annulirostris*）等均能媒介此病[3]。

日本腦炎過去稱為「日本B型腦炎」（Japanese B Encephalitis）或「日本夏季腦炎」（Japanese Summer Encephalitis），廣泛的分佈於日本、韓國、中國大陸、臺灣、中南半島、菲律賓、印尼、印度、關島和蘇聯等亞洲地區國家，緬甸、孟加拉、印尼、馬來西亞、越南、斯里蘭卡和尼泊爾等更屬於高度流行地區，這些地區的致死率很高，可達20～50%[4]。

本病流行於夏季，感染多為不顯性，顯性與不顯性之比約為1：300～500。除人類外，多種動物亦會受感染，如豬、牛、馬、蝙蝠、蜥蜴、青蛙、蛇和烏龜；豬更是與每年流行有關的增幅動物宿主（amplifying host）。

據文獻記載，日本學者Sakai 首先在1935年報告臺灣「夏季腦炎」病例，根據其臨床表徵，「夏季腦炎」很可能就是現在所謂的「日本腦炎」[5]。1938年，Kobayashi 自臺北「流行性腦炎」死亡病例分離出日本腦炎病毒，証實臺灣有日本腦炎存在[6]。由於日本腦炎每年夏天均會流行，而且致死率高，為有效防治此病，政府在1955年將其列為報告傳染病。1958年，葛雷斯頓（Grayston）、王三聘和顏春暉等人自臺大醫院一名8歲死亡病例之腦組織再度分離出日本腦炎病毒[7]。1967年全臺灣地區共有1,024報告病例，每十萬人口發生率為7.66，致死率為20.1%，而確定病例的發生率為10萬分之2.05[8]。1968年對2歲幼童實施二劑全面預防接種以後，報告病例數和確定病例數均逐年下降[9]，1968至1975年間確定病例數介於44～279之間，1976至1985年則在36～67之間；1986年開始，每年確定病例數則介於6～35之間，除1992年的11.1%外，致死率也都降到10%以下。1997年只有6個確定病例，發生率是每10萬分之0.03，1998和1999年的確定病例數分別是22和24，而2000年至2010年每年的病例數則是介於13～35之間，但死亡病例數多在2個以下〈表一〉。流行的季節依確定病例來分析，近二十年來，每增十年，流行高峰月份即提前1個月，1966～1968年的高峰是8月，1976～1978年高峰為7月，1986年以後至今，流行尖峰均為6月開始，此與增幅動物宿主的抗日本腦炎病毒血清盛行率有關，1980年以後，臺灣的豬的血清盛行率在5月份即已超過50%，臺灣南部往往比北部快1～2個星期到達50%以上，一般而言，豬的抗日本腦炎病毒血清盛行率超過50%時，

表一、臺灣地區日本腦炎報告和確定病例數

年度	報告病例數	確定病例數
1994	214	13
1995	284	27
1996	332	21
1997	342	6
1998	417	22
1999	412	24
2000	387	13
2001	400	33
2002	310	19
2003	309	25
2004	319	32
2005	306	35
2006	251	29
2007	263	37
2008	261	17
2009	260	18
2010	341	33

在1個月內即可上昇超過90%，人的流行尖峰也就提前至6月開始[10]。

確定病例年齡層近年來有持續升高的趨勢，臺灣地區確定病例1976年以後10歲以下的發生率已下降，1986～1988年10歲以下的發生率更大幅下滑，10～19歲發生率居次，20歲以上的發生率上升，而1995年更以30～39歲的發生率最高，可能因為近二十幾年來流行幅度減小，加上這些人可能沒有接種疫苗，所以發生率升高[8]。1996年的病例年齡平均分佈在5到44歲之間，此後至2006年，病例年齡多集中在30歲至59歲之間，是否顯示年齡增長，抗體保護力減低？有待進一步研究或更換疫苗。

本病流行地區廣泛，遍及臺灣地區，各縣市均有病例分佈，惟其發生率之長期變遷較不規則，根據1966～1988年的分析，花蓮縣、臺東縣、桃園縣、新竹縣市及苗栗縣的發生率較高。1989～1991年三年確定病例的地理分佈以大臺北盆地及高屏流域病例最多[8]，其次是桃竹苗經中部延伸至嘉南平原[11]。1994年以彰化縣和臺北縣的病例數較多，1995年則是臺北市和臺中縣最多[12]。1998年高雄縣市的病例數佔全部的41%，1999年臺北縣的病例數稍多，其餘則分佈在其他縣市，只有1例死亡。2000年以後至2006年，以臺北縣、臺中縣、彰化縣、臺南縣、高雄縣和屏東縣之病例數較多，顯示病例多在鄉間平原。

二、微生物

日本腦炎病毒是黃色病毒屬中之一種，本屬有70種病毒[13]，除日本腦炎病毒外，黃熱病（yellow fever）病毒和多種其他病毒的基因序列均已被定位出來。形態上，黃色病毒是球形，直徑約40～50微米（nm），有一層脂質外膜，膜上分布細小而短的小突起（spikes），膜內有核蛋白和單股RNA構成的核，直徑為30微米[14]。外膜表面的突起包含有糖化外套（glycosylated envelope, E）和膜（membrane, M）蛋白，成熟型的膜前蛋白（premembrane, prM, protein）。日本腦炎病毒RNA的長度是10,976核苷酸，有一組不間斷的ORF（open reading frame）密碼。黃色病毒可在脊椎和節肢動物的細胞複製，病毒可經接受器進入細胞，其路徑有二，一是經由形成的小囊泡（coated vesicles）進入，或是直接與漿膜融合而進入[15]。

分離自不同地區和不同時期的日本腦炎病毒可藉多株和單株抗體（polyclonal and monoclonal antibodies），雙向凝膠電泳法（two-dimensional gel electrophoresis）和基因定序法（genomic

sequencing) 進行生化特性、抗原性和基因關係的比較[16-18]，日本腦炎病毒的分子種系發生 (molecular phylogeny) 是根據病毒膜前 (prM) 蛋白240核苷酸的序列 (nucleotide sequence)，將日本腦炎病毒分成4種不同的基因型 (genotypes)，最大的一型包含分離自日本、琉球、中國大陸、臺灣、越南、菲律賓、斯里蘭卡、印度和尼泊爾；第二型來自泰國北部、柬埔寨；第三型分離自泰國南部、馬來西亞、沙勞越、澳洲和印尼；第四型是5株印尼株，分別分離自爪哇 (Java)、巴里 (Bali)、佛羅里斯 (Flores)，這5株彼此相似但不同於別的印尼株[19-24]。

分離自同一地區但不同時期的日本腦炎病毒，其核苷酸序列有相當程度的相似性，如分離自越南的日本腦炎病毒株在1964和1988年的差異性只有3.2%，琉球病毒株在1968和1992年的差異性只有4%，但小差異確實存在，或許將來亦有可能造成基因型置換或移位 (displacement) [20-22]。

三、致病機轉及免疫學

當被日本腦炎病毒感染的蚊子叮咬人體時，病毒先在局部淋巴結複製，隨後病毒散佈至他處繼續複製，進入血液中形成病毒血症，再進一步侵犯中樞神經，病毒可經由胞外間隙或在細胞內直接進入中樞神經[25]，活化的幫助型T細胞 (helper T-cells) 藉巨噬細胞和淋巴細胞匯集在血管週圍造成炎症反應，此炎症反應會清除感染的神經原而形成神經膠原結節 (glial nodules) [26]。存在腦脊髓液的主要細胞是幫助型 (CD4+) T細胞和B淋巴球，且大多存在於血管週圍之間隙[27]。臨床上發現死亡的病人腦脊髓液 α -干擾素 (interferon alfa) 數值很高，但病毒特異性的IgM和IgG數值卻很低，顯示局部抗體產生的不良或延遲導致無法抑制病毒繁殖，造成不好的後果[28]。相反的，在痊癒的病人身上發

現對結構和非結構性蛋白會產生抗體，呈現CD4+和CD8+T細胞增殖性反應，以對抗病毒[29]，但是也有人提出此反應與存活無關的報告[30]。

有關細胞素（cytokines）在致病機轉和恢復上的角色，至目前為止尚無明確的調查報告。干擾素在感染後並沒有治療效果。一氧化氮（NO）在體外可抑制日本腦炎病毒複製，然而在動物實驗上不但沒有效果反而會使感染變嚴重[31]。

為什麼幾百個感染者只有1個會演變成有症狀的疾病？至今尚不清楚，或許和年齡、基因和後天的宿主因素有關[32-33]，基因的因素在小白鼠已被描述過，所以有人建議是否可在白人和亞裔人口中找出流行病學的差異性[34]。

四、臨床表現

絕大部份的感染是不顯性的，只有約250分之1的機會會導致有症狀的病變[34]，臨床的主要表徵是腦炎、較不嚴重的無菌性腦膜炎與單純的發燒合併頭痛，輕微的表徵往往沒有被診斷出來[35]。

病人在4～14天的潛伏期後，初期症狀類似感冒，有發燒、頭痛、煩躁不安、流鼻水、咳嗽、噁心、嘔吐、食慾不振、腹痛、感覺異常等症狀，很容易因而延誤診斷治療。接著病情開始惡化，病人在2～3天內出現言語不順、運動障礙、腦膜刺激、意識不清、痙攣（尤其是小孩）、肌肉僵硬、步履蹣跚、不隨意性運動、深腱反射過度或低下和病理性反射現象。超過75%的小孩病人會抽筋，相反的，大人常有頭痛和類腦膜炎（meningism）症狀。

全身無力和過度反射是很常見的，局部的運動障礙如截癱、半身不遂、四肢麻痺和腦神經麻痺（特別是顏面神經）也常看

到，但感覺異常則很少見。隨後併發症即開始出現，包括呼吸急促、高血壓、肺積水、尿液滯留和因腦壓升高引起的視乳突水腫等，錐體外徑路症候如震顫、面具樣臉、四肢僵直等均是日本腦炎的特殊表徵，但也有可能因早期的全身無力而變得不明顯。病人可能意識變差而進入昏睡或昏迷，需要呼吸器幫助呼吸，有些病例發燒在第6～7天左右消退，神經症狀在第二週末開始慢慢緩解，這些病人多可存活下來，但是，嚴重的病例常發燒不退，甚至體溫更高，神經症狀更嚴重，出現重度昏迷和心、肺、腎衰竭，病人多在7～10天內死亡，少有超過14天者。

實驗室檢查會有末梢血液白血球和中性球升高與貧血現象，血鈉降低是抗利尿荷爾蒙分泌不當所致，是很常見的，腦脊髓液中白血球增加，從少數幾個到幾百個均有可能，以淋巴球為主，50%的病人蛋白質會有中等度增加。電腦斷層（computed tomography, CT）和核磁共振（magnetic resonance imaging, MRI）掃描會顯示有低密度區和不正常的訊號強度，如視丘、基底核和橋腦等處[36]。視丘的急性病變對其他原因引起的腦炎的鑑別診斷是有幫助的，核磁共振掃描 T2-weighted在視丘部位會出現高強度的病變，代表出血現象。脊柱病變亦會出現在核磁共振掃描，顯示日本腦炎不只有腦炎病變，亦有脊髓炎。腦波（electroencephalography, EEG）會有典型的彌漫性 δ 波出現。

五、診斷

日本腦炎因為有地域性的關係，所以在流行地區、流行季節或旅遊者曾至流行地區而有腦炎的症狀時均要懷疑患上本病的可能性，確定診斷則要靠實驗室的証實。

日本腦炎病毒在神經侵犯前期（preneuroinvasive phase），也就是發病後3～7天內可從血液中找到，若用Toxorhynchites

splendens 蚊子培養，68%病人的腦脊髓液可以找到病毒[37]，培養可用的細胞包括Vero，LLC-MK2和PS細胞，若在體液中找不到病毒，則可由腦組織中病毒的存在証實感染。C6/36 和AP61蚊細胞和T. splendens 蚊子胸內接種也是敏感的分離病毒方法。

血清學診斷是最廣泛被使用來診斷日本腦炎，其中又以特異性IgM抗體，以酵素免疫分析法（ELISA）法最常用，此特異性IgM抗體可由腦脊髓液和血清中檢查出來，75%的病人在病發4天內可測出抗體，幾乎所有的病人在病發7天後均可測得此特異性抗體[38]，腦脊髓液中IgM特異抗體在被測出之前，約有30%的病人可藉由間接螢光（IF）抗體測出細胞中的抗原，但此法的敏感性（58%）遠低於IgM ELISA[37]。聚合酶鏈鎖反應（polymerase chain reaction，PCR）和T-7 promoter based assay已被用來測定腦脊液中的病毒，然而，其實用性仍有待加強[39]。傳統的特異性診斷方法是由抗體力價在恢復期比急性期有四倍或四倍以上的增加來判定，這些抗體的檢測方法包括紅血球凝集抑制試驗（hemagglutination inhibition）、補體結合試驗（complement fixation）、間接螢光抗體（IF antibody）、酵素免疫分析法（ELISA）或中和試驗（neutralization），但需要和登革病毒和西尼羅病毒（West Nile viruses）鑑別，因為會有偽陽性反應產生[40]。

六、治療

日本腦炎並沒有特異性的治療方法，但支持性療法即可明顯的降低罹病率和死亡率。Mannitol 和glycerol用來降低腦壓。Trihexyphenidyl hydrochloride 和中樞dopamine催化劑可治療急性錐體外徑路症候群[41]。中國大陸發展出來的鼠中和單株抗體在一個小型臨床對照試驗中顯示可改善臨床的結果[42]。另外，在

小白鼠和猴子的試驗也提出干擾素應會有正面效果的潛力[43]。當病人有細菌性感染發生時，抗生素的使用是必需的。至於抗病毒藥物，如ribavirin體外試驗有效，但實際的臨床效果仍有待評估。類固醇的使用，除末期之神經病變外，並無明顯的好處。

七、預後

罹患日本腦炎的病人中20~30%會死亡，有些病人是在猛爆病程進行幾天後即死亡，也有在持續昏迷後才死亡。小於10歲的病兒較容易死亡，若倖存也更容易有神經後遺症，整體而言，30~50%的存活者會遺留嚴重的神經症狀[44]。主要的後遺症包括記憶喪失、認知缺陷、行為障礙、痙攣、無力或麻痺、肢體張力不正常和不協調等，在小兒病例，運動方面的不正常多可以獲得改善或甚至痊癒，但行為和精神上缺陷的恢復則至少需2~5年，而且，只有75%會恢復。

預後不良的因子有（1）前驅期很短、（2）意識深度障礙、（3）呼吸官能障礙、（4）持續性延長性發燒、（5）局部病灶、（6）持續性痙攣、（7）錐體外徑路症候或病理性反射[45,46]。

有報告顯示，在某些病例雖然病好了，但感染並沒有完全被排除，急性期過後幾個月復發，即使病人已經具有循環抗體，仍可由病人週邊血液的淋巴球中發現日本腦炎病毒。也有病人在痊癒後幾個月臨床上沒有症狀，但血液中仍帶有病毒。亞急性或持續性的感染是可能的，約有5%的病人腦脊髓液中帶有病毒的期間可達3個星期，或帶有IgM抗體達50~180天，臨床上意義則尚不清楚[47]。50%以上的存活病人，其腦波在一年後仍屬不正常。

八、疫苗

根據Wang等人對病媒蚊的調查，發現臺灣的日本腦炎病媒蚊

是以三斑家蚊和環紋家蚊為主[3]。動物的血清學研究顯示：豬是此病毒的主要增幅動物[48]。這些特徵的了解有助於防疫工作之推行，而對人類和增幅動物做全面性的疫苗接種，是控制此病有效且實際的方法之一。目前在人體使用的日本腦炎疫苗有三種：第1種是源自鼠腦的不活化疫苗（mouse brain-derived inactivated vaccine），第2種是經細胞培養的不活化疫苗（cell culture-derived inactivated vaccine），第3種是活的減毒疫苗（live attenuated vaccine）[49]。

（一）源自鼠腦不活化疫苗（mouse brain-derived inactivated vaccine）

日本腦炎源自鼠腦不活化疫苗首先於1954年從鼠腦組織萃取病毒（Nakayama strain）經福馬林去活化處理後製成，1965年再以高速離心法和乙醇－硫酸魚精蛋白（protamine sulfate）純化，減少疫苗的鼠蛋白含量，因而降低「接種後腦炎」（post-vaccination encephalitis）的發生率[53]。此疫苗廣泛的使用於日本、韓國、臺灣、越南、泰國、印度等國家。1965年許等人在臺灣北部北、桃、竹、苗四縣對24萬3～7歲兒童進行疫苗效果評估，結果顯示經二劑接種後可產生81%的保護力[9]。1967年由臺灣血清疫苗研究製造所（後來改為預防醫學研究所，現在已併入疾病管制局）開始自製生產日本腦炎疫苗，產品均經日本國立預防衛生研究所檢驗合格，疫苗品質之化學、安全、不活化和無菌試驗等均完全合標準[54]。1968年臺灣地區即開始對2歲小孩展開二劑全面預防接種。1974年，除二劑基礎接種外，隔年再一劑追加接種。1983年，再增加國小一年級的追加接種。1968年日本腦炎疫苗全面接種後，病例的發生率逐年下降，至1975年達到最低點，1976年以後發生率雖稍有起伏，但大致呈現穩定狀態，由近

三十年臺灣的流行狀況可以看出日本腦炎疫苗仍有相當效果，每年雖有二、三百個報告病例，但確定病例每年均介於6~35之間。然而，根據許等於1995年對3~6歲幼童之血清流行病學調查結果發現，完成三劑疫苗接種者，中和抗體陽性率為67%，接種二劑者為66%，僅接種一劑者為33%，未接種者為40%，顯示雖然自然感染率高，但接種二劑以上疫苗接種者仍具較高的保護力[55]。平均而言，接受3劑疫苗，在10年內的疫苗效果仍可超過80%。接種時程為出生滿15個月大時接種第一劑，隔2週後接種第二劑，隔年（出生滿27個月）接種第三劑，於國小入學時接種第四劑。未滿3歲之幼兒每次皮下注射0.5ml，3歲以上幼兒每次接種1ml。

除了中山株（Nakayama strain）外，此類疫苗另外發展出北京株（Beijing-1 strain）疫苗，比中山株有較高的異種抗體（heterologous antibody）力價[56]。1984年又發展出雙價（bivalent）疫苗，包含中山株和北京株[57]，在泰國的研究發現第一劑打中山株，隔1~4週打雙價疫苗，其有效率可達到91%，比單獨打中山株者高，若以中和試驗抗體測血清陽轉率，在接種後一個月陽轉率高達98%，但一年後會降到79%[58]，本疫苗的缺點是較貴。臺灣的另一篇報告顯示：根據過去30年的經驗，單劑的中山株日本腦炎疫苗即有足夠的保護力，特別是對經濟條件較差的地區或國家人民[59]。

此類疫苗有中等度的副作用，會有輕微和一過敏性的局部和全身性反應，1989年後在歐洲、北美和澳洲旅遊者接種後發現會導致蕁麻疹、四肢、口唇和口咽部腫脹與呼吸困難，低血壓、多形性紅斑、結節性紅斑和關節腫等，澳洲和加拿大的發生率遠高於歐洲[60]。

（二）經細胞培養的不活化疫苗（cell culture-derived inactivated vaccine）

本疫苗於1967年由中國大陸利用P3株在初級大鼠腎細胞（primary hamster kidney cells, PHK cells）培養製成，針對6～12個月大的嬰兒接種，1週後打第二劑，在中國大陸的試驗發現罹病率可降低4～20倍，本製劑雖然不貴，但血清陽轉率在前2劑接種後只有60%，第2年的追加接種雖可達93%的陽轉率，但2年後只剩下68%[61]。法國巴斯德馬里士（Pasteur Merieux）正在研發一種高純度Vero細胞培養的不活化疫苗，已進入臨床試驗階段，第2期的實驗，血清陽轉率高達95～100%[62]。

（三）活的減毒疫苗（live attenuated vaccine）

1988年中國大陸四川成都生物製劑研究所由初級大鼠腎細胞培養SA14-14-2病毒株製成活的減毒疫苗，SA14-14-2的前身是SA14-5-3，由於該疫苗的免疫性不夠強，經繼代培養後選殖的SA14-14-2病毒株製成的疫苗，接種一劑的有效率（effectiveness）達80%，一年後接種第二劑後，其有效率高達97.5%，保護期間至少有5年，此活性疫苗在中國大陸已有超過2億小孩接種，它不但便宜，而且安全，副作用極少，或許它可在國際上被廣泛使用來預防日本腦炎[63-65]。

尼泊爾從1999年開始使用單劑SA14-14-2疫苗來預防，1年的保護率是98.5%，5年的保護率仍可達96.2%[66,67]。

除了上述三種已使用多年的疫苗外，還有超過10種的日本腦炎疫苗在研發中，分述如下：

- （1）Vero cell culture-based.
- （2）Recombinant protein-based.
- （3）Envelope protein synthesized in the E. coli expression system.
- （4）Protein synthesized in the baculovirus expression system.

(5) Particulate virus immunogens synthesized in cell culture-based expression systems. (6) Recombinant virus-based. (7) Recombinant poxviruses synthesizing virus proteins. (8) Recombinant adenovirus synthesizing virus proteins. (9) Recombinant yellow fever virus expressing virus proteins. (10) Plasmid DNA-based. (11) DNA vaccines expressing virus structural proteins. (12) DNA vaccines expressing virus nonstructural proteins[68]。

在日本，源自鼠腦不活化疫苗（mouse brain-derived inactivated vaccine）已於2005年停產，原因是：（1）其中的安定劑含gelatin，（2）含鼠腦蛋白或神經組織，容易導致過敏反應甚或腦神經病變，如急性散播性腦脊髓炎（acute disseminated encephalomyelitis, ADEM）[69,70]。至今，已有2種新的日本腦炎疫苗上市：

1. 源自Vero cell不活化日本腦炎疫苗（Vero cell-derived, inactivated JE virus vaccine），又稱為IC51日本腦炎疫苗或Ixiao，已於2009年在美國、歐洲、加拿大、香港、以色列和澳洲上市，但僅用於18歲以上之成年人，其免疫反應、保護力和安全性均令人滿意[71,72]。
2. Chimeric 活性減毒日本腦炎疫苗（chimeric live-attenuated Japanese encephalitis vaccine），它是將日本腦炎病毒株SA14-14-2中之結構基因（prM和E）併入黃熱病疫苗病毒之非結構基因（nonstructural genes）中，只要單劑即可達94～99%的保護效果，本疫苗已在澳洲和泰國上市使用[73]。

【作者簡介】

黃高彬

◎現任

中國醫藥大學附設醫院小兒感染科主任

感控小組主任

感控制委員會主任委員

臺灣寄生蟲學會理事長

臺灣醫院感染管制學會常務理事

臺灣微生物學會監事



◎學歷

高雄醫學院醫學士

高雄醫學院熱帶醫學研究所醫學碩士

高雄醫學院醫學研究所醫學博士

◎經歷

長庚紀念醫院高雄分院 兒童內科部部主任、臨床教授

高雄醫學大學醫學系小兒科副教授

高雄醫學大學醫學系寄生蟲學科副教授

高雄醫學大學熱帶醫學研究中心主任

高雄醫學大學附設中和紀念醫院一般小兒科主任

高雄醫學大學附設中和紀念醫院感染控制管理委員會召集人

臺灣醫院感染管制學會理事長（第二屆）

臺灣寄生蟲學會理事長（第六、七、九屆）

臺灣兒科醫學會理事

臺灣感染症醫學會理事

【參考文獻】

1. WHO. Annex Table 3 Burden of disease in DALYs by cause, sex and mortality stratum in WHO Regions, an estimate for 2001; 2002. P.192-7.
2. Umenai T, Krzysko R, Bektimirov TA, Assaad FA. Japanese encephalitis: Current worldwide status. *Bull World Health Organ* 1985 ; 63:625-31.
3. Wang SP, Grayston JT, Hu SMK. Encephalitis on Taiwan III. Virus isolation from mosquitoes. 1962 ; 11:141-8.
4. Burke DS, Leske CJ. Japanese encephalitis. In Monath TP (ed) . *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*. Vol.3. Boca Raton, FL, CRC Press 1988 ; 63-92.
5. Sakai K. Summer encephalitis among children in northern Formosa , Taiwan . *Igakkai Zasshi* 1935; 34:87-8.
6. Kobayashi H. On the virus of encephalitis epidemica isolated in Taihoku and Sintiku provinces in the summer, 1938. *Acta Jap Med Trop* 1940; 2:55-62.
7. Grayston JT, Wang SP, Yen CH. Ecephalitis on Taiwan I. Introduction and epidemiology. *Am J Trop Med Hyg* 1962 ; 11:126-30.
8. 吳盈昌、連日清、郭兆溪。揮之不去的夏季訪客－日本腦炎。科學月刊 1989 ; 20 : 750-7.
9. Hsu TC, Chow LP, Wei HY, Chen CL, Hsu ST, Huang CT, Kitaoka M, and Sunaga H. A controlled field trial for an evaluation of effectiveness of mouse-brain Japanese encephalitis vaccine. *JFMA* 1971; 70:55- 61.
10. Wu YC, Huang YS. Chien LJ, Lin TL, Yueh YY, Tseng WL, Chang KJ and Wang GR. The epidemiology of Japanese encephalitis on Taiwan during 1966-1997. *Am J Trop Med Hyg* 1999 ; 61 (1) :78-84.
11. 強國井、曾燦璋。臺灣地區日本腦炎血清流行病學之研究（1989年1月～1991年12月）。中華微免雜誌 1992 ; 25:25-37.
12. 行政院衛生署預防醫學研究所。民國八十三、四年臺灣地區日本腦炎偵測年報。民國八十五年八月；1-46.
13. Kuno G, Chang G-JJ, Tsuchiya KR, et al . Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *J Virol* 1998 ; 72:73-83.
14. Murphy PA. Togavirus morphology and morphogenesis. In Schlesinger RW (ed) .

- The Togaviruses : Biology , Structure and Replication . New York, Academic Press, 1980, pp 241-316.
15. Gollins SW, Porterfield JS. Flavivirus infection enhancement in macrophages: An electron microscopic study of viral cellular entry . J Gen Virol 1985 ; 66:1969-1982.
 16. Poidinger M, Hall RA, Mackenzie JS. Molecular characterization of the Japanese encephalitis serocomplex of the flavivirus genus. Virology 1996 ; 218: 417-21.
 17. Hasegawa T, Yoshida M, Kobayashi Y, Fujita S. Antigenic analysis of Japanese encephalitis viruses in Asian by using monoclonal antibodies. Vaccine 1995; 13:1713-21.
 18. Hasegawa T, Yoshida M, Fujita S, Kobayashi Y. Comparison of structural proteins among antigenically different Japanese encephalitis virus strains. Vaccine 1994; 12:841-4.
 19. Chen WR, Tesh RB, Rico-Hesse R. Genetic variation of Japanese encephalitis virus in nature. J Gen Virol 1990; 71:2915-20.
 20. Chen WR, Rico-Hesse R, Yesh RB. A new genotype of Japanese encephalitis virus from Indonesiay. Am J Trop Med Hygiene 1992; 47:61-9.
 21. Huong Vt, Ha QDQ , Deubel V. Genetic study of Japanese encephalitis viruses from Vietnam. Am J Trop Med Hyg 1993 ;49:538-44.
 22. Tsuchie H, Oda K, Vythilingam I, et al. Genotypes of Japanese encephalitis virus isolated in three states in Malaysia. Am J Trop Med Hyg 1997; 56:153-8.
 23. Ma SP, Arakaki S, Makino Y, Fukunaga T. Molecular epidemiology of Japanese encephalitis virus in Okinawa. Microbiol Immunol 1996; 40:847-55.
 24. Chung YJ, Nam JH, Ban SJ, Cho HW. Antigenic and genetic analysis of Japanese encephalitis viruses isolated from Korea. Am J Trop Med Hyg 1996; 55:91-7.
 25. Hase T, Summers PL, Ray P. Entry and replication of Japanese encephalitis virus in cultured neurogenic cells. J Virol Methods 1990; 30:205-14.
 26. Li ZS, Hong SF, Gong NL. Immunohistochemical study of Japanese B encephalitis. Chin Med J 1988; 101:768-71.
 27. Iwasaki Y, Sako K, Tsunoda I, Ohara Y. Phenotypes of mononuclear cell infiltrates

in human central nervous system. *Acta Neuropathol* (Berl) 1993; 85:653-7.

28. Ghosh SN, Prasad SR, Thakare JP, et al. Evidence for synthesis of immunoglobulins within central nervous system of Japanese encephalitis cases. *Indian J Med Res* 1987; 86:276-83.
29. Konishi E, Kurane I, Mason PW, et al. Japanese encephalitis virus-specific proliferative responses of human peripheral blood T lymphocytes. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 53:278-83.
30. Desai A, Ravi V, Chandramuki A, Gourie-Devi M. Proliferative response of human peripheral blood mononuclear cells to Japanese encephalitis virus. *Microbiol Immunol* 1995; 39:269-273.
31. Lin Y, Huang Y, Ma S, et al. Inhibition of Japanese encephalitis virus infection by nitric oxide: Antiviral effect of nitric oxide on RNA virus replication. *J Virol* 1997; 71:5227-35.
32. Ogata A, Nagashima K, Hall WW, et al. Japanese encephalitis virus neurotropism is dependent on the degree of neuronal maturity. *J Virol* 1991; 65:880-6.
33. Kiura K, Onodera T, Nishida A, et al. A single gene controls resistance to Japanese encephalitis virus in mice. *Arch Virol* 1990; 112:261-70.
34. Halstead SB, Grosz CR. Subclinical Japanese encephalitis. I. Infection of Americans with limited residence in Korea. *Am J Hyg* 1962; 75:190-201.
35. Lincoln AF, Sivertson SE. Acute phase of Japanese B encephalitis. Two hundred and one cases in American soldiers, Korea, 1950. *JAMA* 1952; 150:268-73.
36. Kumar R, Misra Uk, Kalita J, et al. MRI in Japanese encephalitis. *Neuroradiology* 1997; 39:180-4.
37. Gajanana A, Samuel PP, Thenmozhi V, Rajendran R. An Appraisal of some recent diagnostic assays for Japanese encephalitis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1996; 27:673-9.
38. Innis BL, Nisalak A, Nimmannitya S, et al. An enzyme-linked immunosorbent assay to Characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis cocirculate. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 40:418-27.
39. Meiyu F, Huosheng C, Cuihua C, et al. Detection of flaviviruses by reverse

- transcriptase-polymerase chain reaction with the universal primer set. *Microbiol Immunol* 1997; 41:209-13.
40. Burke DS, Nisalak A, Gentry MK. Detection of flavivirus antibodies in human serum by epitope-blocking immunoassay. *J Med Virol* 1987; 23:165-73.
 41. Huy BV, Tu HC, Luan TV, Lindqvist R. Early mental and neurological sequelae after Japanese B encephalitis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1994; 25:549-53.
 42. Ma WY, Jiang SZ, Zhang MJ, et al. Preliminary observations on treatment of patients with Japanese B encephalitis with monoclonal antibody. *J Med Coll PLA* 1992; 7:299-302.
 43. Harinasuta C, Nimmanitya S, Titsyakorn U. The effect of interferon alpha A on two cases of Japanese encephalitis in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1985 ;16:332-6.
 44. World Health Organization. Japanese encephalitis vaccines. *Wkly Epidemiol Rec* 2006; 81:331-40.
 45. Kumar R, Mathur A, Singh KB, et al. Clinical sequelae of Japanese encephalitis in children. *Indian J Med Res* [A] 1993;97:9-13.
 46. Ravi V, Parida S, Desai A, et al. Correlation of tumor necrosis factor levels in the serum and cerebrospinal fluid with clinical outcome in Japanese encephalitis. *J Med Virol* 1997;51:132-6.
 47. Ravi V, Desai A, Shenoy PK, et al. Persistence of Japanese encephalitis virus in the human nervous system. *J Med Virol* 1993;40:326-9.
 48. Wang SP, Grayston JT, Chu IH. Encephalitis on Taiwan V. Animal and bird serology. *Am J Trop Med Hyg* 1962; 11:155-8.
 49. Sabchareon A, and Yoksan S. Japanese encephalitis. *Ann Trop Paediat* 1998; 18:S67-S71.
 50. Chambers TJ, Tsai TF, Pervivkov Y, Monath TP. Vaccine development against dengue and Japanese encephalitis: Report of a World Health Organization meeting. *Vaccine* 1997; 15:1494-1502.
 51. Konishi E, Kurane I, Mason PW, et al. Induction of Japanese encephalitis virus-

specific cytotoxic T lymphocytes in humans by poxvirus-based JE vaccine candidates. *Vaccine* 1998;16:842-9.

52. Guirakhoo F, Zhang Zx, Chambers TJ, Delagrave S, Arroyo J, Barrett ADT, and Monath TP. Immunogenicity, genetic stability, and protective efficacy of a recombinant, chimeric yellow fever-Japanese encephalitis virus (ChimeriVax-JE) as a live, attenuated vaccine candidate against Japanese encephalitis. *Virology* 1999; 257:363-72.
53. Takaku K, Yamashita T, Osanai I, et al. Japanese encephalitis purified vaccine. *Biken J* 1968;11:25-39.
54. 許書刀。國內生產之預防疫苗及其接種。中兒醫誌1972;13:174-83.
55. 許麗卿、吳盈昌、何美鄉等。臺灣鄉村地區3~6歲兒童日本腦炎病毒感染的血清流行病學調查。疫情報導1995;11:229-39.
56. Kitano T, Yabe S, Kobayashi M, et al. Immunogenicity of JE Nakayama and Beijing-1 vaccines. *JE HFRS Bull* 1986; 1:37-41.
57. Hoke CH, Nisalak A, Sangawhipa N, et al. Protection against Japanese encephalitis by inactivated vaccines. *N Engl J Med* 1988; 319:608-14.
58. Rojanasuphot S, Charoensook O, Ungchusak K, Srijagrawalwong A, Panthumachinda B. A field trial of inactivated mouse brain Japanese encephalitis vaccines produced in Thailand. *Mosquito-Borne Dis Bull* 1991; 8:11-16.
59. Yang SE, Pan MJ, Tseng HF, et al. The efficacy of mouse-brain inactivated Nakayama strain Japanese encephalitis vaccine – Results from 30 years experience in Taiwan. *Vaccine* 2006; 24:2669-73.
60. CDC. Inactivated Japanese encephalitis virus vaccine: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 1993; 42:1-13.
61. Xin YY. Japanese encephalitis vaccine implementation in China. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1995; 26 (suppl. 3) : 51-3.
62. Lyons A, Kanesa-athan N, Kuschner RA, et al. A Phase 2 study of a purified, inactivated virus vaccine to prevent Japanese encephalitis. *Vaccine* 2007; 25:3445-53.
63. Liu ZL, Hennessy S, Strom BL, et al. Short term safety of live attenuated Japanese

- encephalitis vaccine (SA 14-14-2) : result of a randomized trial with 26,239 subjects. *J Infect Dis* 1997;176:1366-9.
64. Hennessy S, Zhengle L, Tsai TF, et al. Effectiveness of live-attenuated Japanese encephalitis vaccine (SA14-14-2) : a case-control study. *Lancet* 1996; 347:1583-6.
65. Tsai TF, Yong-Xon Y, Li Li J, et al. Immunogenicity of live attenuated SA14-14-2 Japanese encephalitis vaccine-A comparison of 1- and 3-month immunization schedules. *J Infect Dis* 1998; 177:221-3.
66. Ohrr H, Tandan JB, Sohn YM, et al. Effect of single dose of SA14-14-2 vaccine 1 year after immunisation in Nepalese children with Japanese encephalitis : a case-control study. *Lancet* 2005; 366 (9494) :1375-8.
67. Tandan JB, Ohrr H, Sohn YM, et al. Single dose of SA14-14-2 vaccine provides long-term protection against Japanese encephalitis : A case-control study in Nepalese children 5 years after immunization. *Vaccine* 2007; 25:5041-5.
68. Bharati K, and Vrati S. Japanese encephalitis : development of new candidate vaccines. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2006; 4 (2) :313-24.
69. Sakaguchi M, Inouye S. Two patterns of systemic immediate-type reactions to Japanese encephalitis vaccines. *Vaccines* 1998;16:68-9.
70. Sakaguchi M, Nakashima K, Takahashi H, et al. Anaphylaxis to Japanese encephalitis vaccine. *Allergy* 2001;56:804-5.
71. Schuller E, Klingler A, Dubischar-Kastner, et al. Safety profile of the Vero cell-derived Japanese encephalitis virus (JEV) vaccine IXIARO. *Vaccine* 2011;29:8669-76.
72. Wilder-Smith A and Halstead SB. Japanese encephalitis: update on vaccines and vaccine recommendations. *Curr Opin Infect Dis* 2010;23:426-31.
73. Ishikaw T, Wang G, Widman DG, et al. Enhancing the utility of a prM/E-expressing chimeric vaccine for Japanese encephalitis by addition of the JEV NS1 gene. *Vaccine* 2011; 29:7444-55.