

# 昭和40年7月～11月、秋田県内に発生した 無菌性髄膜炎のウイルス学的検索

秋田県立中央病院中央検査部微生物検査科

須 藤 恒 久  
森 田 盛 大

秋田県衛生科学研究所細菌病理科

坂 本 昭 男  
庄 司 キ ク  
藤 沢 宗 一

所謂無菌性髄膜炎の病原としては種々のウイルス群が  
数えあげられるが、その中でも疫学的に最も重要なもの  
は Enterovirus 群によるものである。我国でも、最近  
のウイルス学的検索の進歩により Coxsackie B群或は  
ECHO virus 群による無菌性髄膜炎の大流行が把握さ  
れている。昭和35年の西日本における Coxsackie B—5  
による流行<sup>(1)(2)</sup>、昭和36年の東北地方における同じく  
Coxsackie B—5及び Coxsackie A—9の流行<sup>(3)</sup>、又、  
一昨年<sup>(4)(5)(6)</sup>の北海道、九州を除く本州各地での ECHO—4  
virus による無菌性髄膜炎流行等は広範なものとして注  
目されている。特に、昨年<sup>(7)</sup>の ECHO—4 virus による  
流行は世界的にも最も大規模な流行であったと考えられ  
ている。我国での無菌性髄膜炎の検索は昭和30年頃より  
国立予防衛生研究所、或は各地方の大学の微生物学教室  
が中心となりポリオを主な対象として行なわれてきたが、  
最近漸く、各県の衛生研究所にもウイルスの検索設備が  
拡大され、この方面の検索が行なわれる様になったので  
ある。

処で、我が秋田県でも恐らく全国的に無菌性髄膜炎が  
流行したような場合に相当数の患者の発生があったもの  
と推定される。昭和33年、東北地方に発生したポリオの  
検索中<sup>(8)</sup>、大曲に発生した無菌性髄膜炎の症例から、我々  
が東北大学で我国最初の Coxsackie B—3型ウイルスを  
分離した<sup>(9)</sup>ことは、県内の症例からウイルスを分離した最

初の例であろう。下って、昭和39年全国的に ECHO  
virus 4型による無菌性髄膜炎の流行があった際にも大  
曲市の4症例からECHO—4型ウイルスが日沼等によっ  
て分離<sup>(10)</sup>され、その当時の流行が県内にも波及していたこ  
とを明らかに示すものである。然し乍ら、県内の施設に  
於て、ウイルス学的検索が行なわれ得なかったことか  
ら、毎年<sup>(11)</sup>の流行の実態については全く明らかにされてい  
ない。昨年夏以来、秋田県立中央病院中央検査部微生物  
検査科及び秋田県衛生科学研究所が協力して県内におけ  
るウイルス性疾患の検索を開始し、先ず、昭和40年度の  
無菌性髄膜炎症例につきウイルス分離と血清診断による  
ウイルス学的検索を行なった。その結果、県内各地の病  
院で診察された161例の無菌性髄膜炎から昭和41年4月  
現在に於て47例の病原を確認し得たので、一応そのウ  
イルス学的検索の結果について報告したい。

## (1) 検査材料

昭和40年7月～11月に秋田県内各地で無菌性髄膜炎の  
患者が相当数発生した。

その中、表1にあげた県内各地の病院で診察された無  
菌性髄膜炎患者から採取された糞便及びウイルス分離の  
検体とし送付された。血清診断の検体として患者血清が  
送付された。

表1 昭和40年7月～11月秋田県内に発生した無菌性髄膜炎の被検症数及び検体数

診療病院	被検症例 総数	ウイルス分離				血清診断			
		被検 症例数	糞便	髄液	被検 検体数	ペア血清 送付症例	非ペア血清 送付症例	血清非採 取症例	血清件数
大館公立病院	95	53	32	41	73	59	19	17	145
花岡鉦山病院	20	20	19	9	28	12	3	5	27
山本組合病院	11	11	11	0	11	0	0	11	0
市立秋田病院	2	2	2	1	3	1	1	0	3
県立中央病院	13	13	13	12	25	12	0	1	24
平鹿病院	13	3	2	1	3	0	13	0	13
その他 秋田開業2 大曲 1 米内沢病院1	7	7	7	7	12	6	1	0	13
計	161例	109例	86件	71件	157件	90例	37例	34例	225件

ウイルス分離の検体は採取後直ちに氷と共に送付され到着後-20°C以下に保存した。秋田市内の病院で採取した検体はほとんどの条件をみたしたが、他の県内各病で採取された検体は設備の関係や地理的条件から必ずしも適当な条件下に保存又は送付されておらず、これが、分離率に大きく反映しているものと思われる。

検査を依頼されたのは161例についてであるが、表1にあげた様にウイルス分離の検体を送付されたのは109例で、その中、糞便86件、髄液71件、計157件である。

糞便は牛血清アルブミンを含むSLE液で10%の懸濁液とし、3,000rpm 15分2回又は10,000rpm 30分1回の遠心を行ない、上清を-70°Cに凍結して分離迄保存した。髄液はそのまま2-3本の小試験管に分注し-70°Cに保存した。

血清は計127例から225件の送付があったが、内ペア血清の得られたものは90例で、これを血清診断の検体とした。

血清は全て-20°C以下に保存した。

## (2) ウイルスの分離とその結果

ウイルス分離はHEp-2, VERO, 初代猿腎細胞(PrMK)及び初代アフリカミドリ猿腎細胞(GM)等を用いて行なった。

HEp-2細胞はEagleのMinimum Essential Medium(MEM)に15%の仔牛血清を、VERO細胞はYLEに15%仔牛血清を、PrMK又はGMは4%仔牛血清加LH液を夫々細胞増殖用培養液とし、検体接種後の維持液には2%仔牛血清加MEMを用いた。

増殖液及び維持液には100u/mlのPenicilline, 100γ/mlのStreptomycine及び50u/mlのNystatineを抗生物質として含有させた。

又、一部の培養液にはTetracycline 20γ/mlをPPL Oの防除に使用した。

分離操作に当り、糞便の検体については、一検体当り3本の細胞チューブを用い、前記遠心上清0.1mlを予め1mlの細胞維持液で液を交換したチューブに接種した。

接種してから33°Cに2時間静置後維持液を交換して、再び33°Cに静置又は廻転培養した。

髄液は0.2mlを同様接種し、そのまま33°Cに培養した。

以後5日目に液を交換して10日間観察し、細胞変性効果(CPE)を認めた場合にはそれをそのまま-70°Cに凍結し、又2-3代継代して固定に供した。

同定は国立予防衛生研究所甲野、芦原博士及び東北大学細菌学教室より分与された標準血清を用い、中和試験によって、これを行なった。又、人O型血球による赤血球凝集反応をも行い、ウイルス群推定の手段とした。

ウイルス分離を行なった109例から、表2に示す様に、ECHO-4型ウイルスを10株、ECHO-6型ウイルスを18株、Cox A-9型ウイルスを1株、Adeno-3型ウイルスを1株、型未同定のAdeno型CPEを示すもの2株及びCoxsackie B群には属せずECHO-6でもなく人O型血清を凝集するEnterovirus様CPEを示すものが2株、同じく未同定でCox B群でなく人血球を凝集しないEnterovirusと思われるもの1株計35株が分離された。

ECHO-4型ウイルスは全てPrMKのみで分離され、

表 2 昭和40年秋田県内に発生した無菌性髄膜炎症例のウイルス分離結果 (診療病院別)

病 院	検査症例数	ウイルス分離陽性		分 離 ウ イ ル ス 型		
		例 数	分離率%	ECHO-4	ECHO-6	其 の 他
大 館 公 立 病 院	53	11	20.8	3	4	Enterovirus—2 Adeno—2
花 岡 鉦 山 病 院	20	4	20.0	2	2	
山 本 組 合 病 院	11	3	27.2		2	Adeno—3…1
市 立 秋 田 病 院	2	2	100.0	2		
県 立 中 央 病 院	13	9	69.3	1	6	Coxsackie A—9…1 Enterovirus……………1
平 鹿 病 院	3	2	66.6	1	1	
そ の 他 (秋田市開業 米内沢病院 大曲開業)	7	4	57.2	1	3	
計	109	35	32.1	10	18	7

又 Cox A-9は髄液からGMのみで分離されたものである。

ECHO-6型はHEp-2細胞で分離されたものが大部分である。同検体の依頼病院別の分離数とその結果は表2に示した通りで、県北地区の病院の検体からの分離率が一般に低いことは採取から送付迄の保存、輸送に大きな影響を受けたものと解せられる。

### (3) 血清診断とその結果

分離の成績によって流行の大勢はECHO-4型及びECHO-6型であろうと推定されたので、VERC細胞とECHO-4型、Du Toit株の組合せと、HEp-2細胞とECHO-6型 D'Amori株を用いて中和抗体価の測定による血清診断を行なった。

100TCD<sub>50</sub> 10.0mlのVirusを用い、ウイルス対照にCPEを認めてから48時間目にReed and Muenchの方法により50%中和抗体価を測定した。ペア血清間で4倍以上の上昇をもって有意とした。

ペア血清が得られた90例中、昭和40年4月15日現在に於てECHO-4型或はECHO-6型による感染を証明したものが夫々7例と10例であり、その中分離陽性で抗体上昇を示したものを5例を除けば全て分離陰性に終わったものである。従ってウイルスの分離されたもの35例に、

血清診断のみで病原の確認されたもの12例、計47例が一応病原と思われるウイルスが判明したわけであるが、血清診断は尚続行中であるので、病原判明数は尚増加の見込である。

### (4) 疫学的考察

昭和40年7月~11月中に県内各地の病院で無菌性髄膜炎と診断されたもので、我々が検索した161例の中47例からは一応病原と関連するウイルスが判明したが(表3、4)その大半はECHO-4型ウイルスとECHO-6型ウイルスであった。糞便からAdeno virus 3型及び他のAdeno virusと思われるvirusが分離された症例はペア血清が得られていないものがあり、又これと臨床像との関係が明らかでない、これが無菌性髄膜炎の原因か否かは明らかでない。又、未同定のEnterovirusらしいvirusの分離された症例中1例(No 73)は一過性のマヒを以て発症しているので更に詳細な検索を必要とするものである。

従って、ECHO-4及びECHO-6についてみると、これを月別に又県内を一応県北部、中央部、県南部に分けると(図1、2)ECHO-4型ウイルス、ECHO-6型ウイルス共に先ず県北に多く発生し、以後次第に県の中央部から南部に流行したものの様である。特に、秋田

表3 昭和40年県内に発生しウイルス学的に診断された無菌性髄膜炎症例とその病因

(昭和41年4月15日現在)

患者番号	年齢, 性	診療病院名	発病月	ウイルス分離		血清診断	病原診断	備考
				糞便	髄液			
6	2-♀	山本組合病院	7	ECHO-6	/	/	ECHO-6	能代保健所
7	1-♂	〃	7	Adeno 3	/	/	Adeno-3?	〃
10	4-♀	〃	8	ECHO-6	/	/	ECHO-6	〃
14	6-♂	花岡敏山病院	7	-	/	ECHO-4	ECHO-4	大館 〃
16	10-♀	〃	7	ECHO-4	-	ECHO-4	ECHO-4	〃
20	7-♂	〃	7	-	-	ECHO-4	ECHO-4	〃
23	11-♀	〃	7	-	-	ECHO-6	ECHO-6	〃
24	7-♂	〃	7	ECHO-4	/	/	ECHO-4	〃
29	4-♂	〃	7	ECHO-6	/	/	ECHO-6	〃
30	5-♂	〃	7	ECHO-6	/	/	ECHO-6	〃
33	2-♂	大館公立病院	7	/	ECHO-6	ECHO-6	ECHO-6	〃
34	12-♂	〃	7	/	-	ECHO-4	ECHO-4	〃
37	4-♂	〃	7	/	-	ECHO-4	ECHO-4	〃
38	10-♀	〃	7	-	-	ECHO-4	ECHO-4	〃
40	2-♂	〃	7	ECHO-6	-	ECHO-6	ECHO-6	〃
44	6-♀	〃	7	ECHO-4	-	/	ECHO-4	〃
48	11-♂	〃	7	-	/	ECHO-6	ECHO-6	〃
51	7-♂	〃	7	Entero	-			〃
55	8-♀	〃	7	ECHO-6		/	ECHO-6	〃
63	5-♂	〃	7	ECHO-6	-	/	ECHO-6	〃
64	1-♂	〃	7	ECHO-4	/	ECHO-4	ECHO-4 又はECHO-6	〃
66	5-♂	〃	7	ECHO-4	/		ECHO-4	〃
116	2-♂	〃	8			ECHO-6	ECHO-6	〃
117	4-♂	〃	8			ECHO-6	ECHO-6	〃
121	10-♂	〃	8	/		ECHO-6	ECHO-6	〃
123	4-♀	〃	8	/	/	ECHO-6	ECHO-6	〃
128	4-♂	〃	8	/	/	ECHO-6	ECHO-6	〃
153	1-♂	〃	10	Entero	-	/		〃
168	8-♂	〃	10	Adeno	-			〃
175	0.7-♂	〃	11	Adeno	/	/		〃

11	4-♀	市立秋田病院	7	ECHO-4	—		ECHO-4	秋田保健所
68	4-♂	〃	8	ECHO-4	—	/	ECHO-4	〃
73	9-♂	県立中央病院	9	Entero	—			〃 一過性麻痺
75	3-♂	〃	8	ECHO-6	—		ECHO-6	秋田保健所
76	6-♂	〃	9	ECHO-4	—		ECHO-4	〃
78	11-♀	〃	8	ECHO-6	—		ECHO-6	〃
79	7-♀	〃	8	ECHO-6	—		ECHO-6	〃
163	3-♂	〃	9	ECHO-6	—		ECHO-6	〃
160	5-♀	〃	11	ECHO-6	/		ECHO-6	〃
161	10-♂	〃	10	ECHO-6	/		ECHO-6	〃
180	8-♂	〃	11	—	Coxsackie A-9		Coxsackie A-9	〃
112	7-♂	土崎小泉医院	10	ECHO-6	—		ECHO-6	〃
159	4-♂	平鹿病院	10	ECHO-4	/	/	ECHO-4	横手保健所
185	1-♀	〃	10	ECHO-6	/	/	ECHO-6	〃
70	11-♂	秋田内田医院	9	ECHO-4	—		ECHO-4	秋田保健所
71	10-♂	〃	9	ECHO-6	ECHO-6	ECHO-6	ECHO-6	〃
80	16-♀	〃	9	ECHO-6	—		ECHO-6	〃

表 4 昭和40年秋田県内に発生した無菌性髄膜炎のウイルス学的検索結果  
(ウイルス分離及び血清診断) 昭41.4.15現在

	検 査 種 類					ウイルス学的に診断された症例	
	ウ イ ル ス 分 離			検 体 種 類			血清診断 (中和抗体)
	被検症例数	被検検体数					
被 検 数	109	157	86	71	90例	161	
陽 性 数	35	36	33	3	12 (除分離(+))例	47	
陽 性 率 %	32.1	22.9	38.4	4.2	××	××	
ウ イ ル ス 型	ECHO-4	10	10	10	0	5	15
	ECHO-6	18	19	17	2	7	25
	その他*	7	7	Adeno-3-1 Adeno?-2 Entero-3	Coxsackie A, 9-1		7

註 \* 分離株の同定続行中      ×× 血清診断続行中

昭和40年秋田県内に発生した無菌性髄膜炎の病因別分布

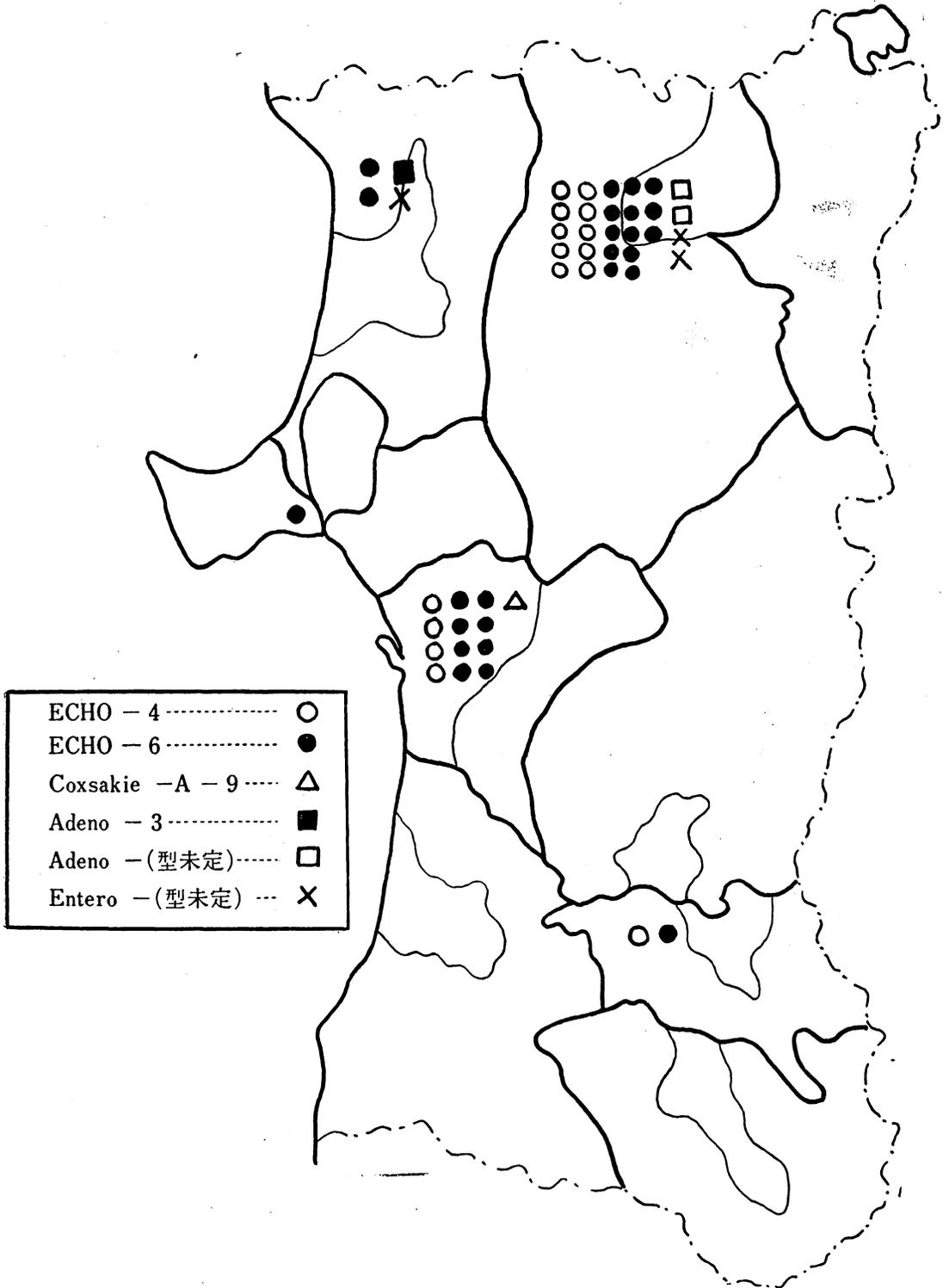
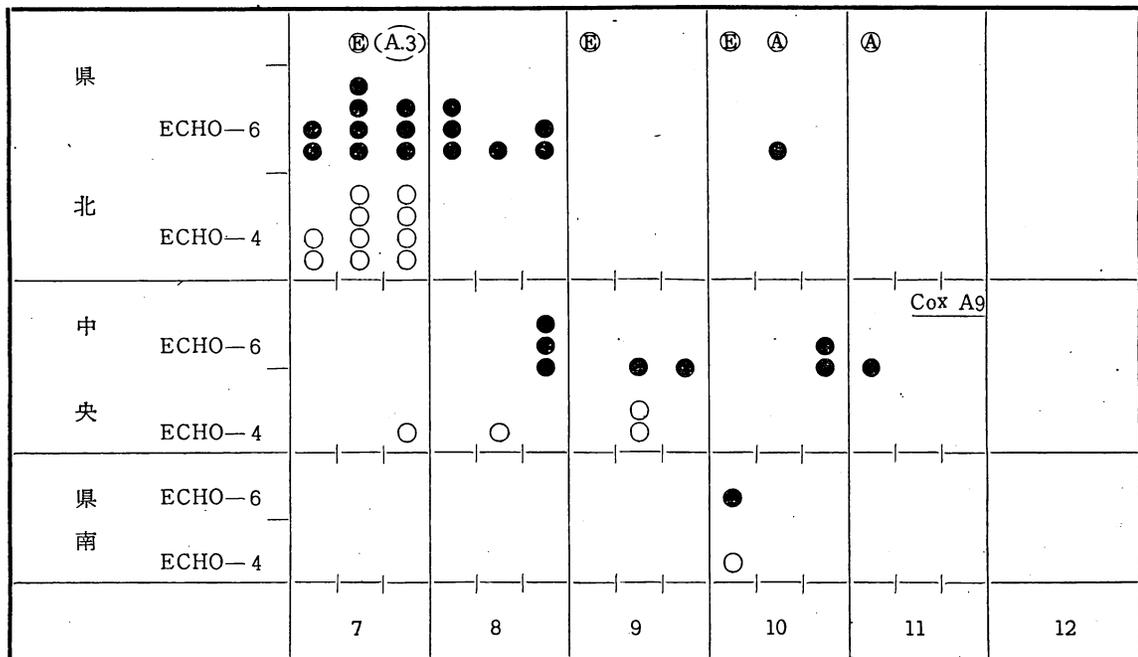


図 2 病原の判明した無菌性髄膜炎の地域別、月別分布 ⓔ—Entero  
ⓐ—Adeno  
昭和40年7月～12月 秋田県



市の北東部に於ては9月に小地区で流行したが、その病原としてECHO—4型ウイルスとECHO—6型ウイルスが同時に存在したことが明らかである。

昭和39年度に、大曲市周辺でECHO—4型ウイルスによる本症の例があることから、前年度に既に本県内に本ウイルスの侵襲があったことは明らかであるが、県北地区には及んでおらなかったために免疫を有しているものが少く、今回の大きな流行のもととなっているかもしれない。

ECHO—6型ウイルスの流行は北海道で昭和40年度に知られており、又青森、岩手、静岡等でも同じくECHO—6型ウイルスの流行がみられている。

この様に、毎年のように主たる流行があるのは、集団の免疫構成が主因であろうと思われるが、次夏に流行があるか、又、あるとすればそれは何型のウイルスによるものになりやすいかは、集団の抗体をしらべることである程度迄推定出来ることで、流行予測上必要なことであると思われる。

稿を終るに当り、標準株ウイルス及び抗血清を分与された国立予防衛生研究所甲野、芦原両博士及び東北大学医学部細菌学教室石田教授、又、種々御便宜下さった中

央病院前多院長、中込中検部長、児玉衛生科学研究所長に謝意を表する。

尚本研究の要旨は、昭和41年5月29日日本小児科学会、秋田、青森合同地方会で発表した。又、研究に要した費用の一部は、秋田県立中央病院医学研究費によった。

文 献

- 1) 西沢義人. 他; 小児科 2, 676 昭和36
- 2) 甲野礼作. 他; 小児科 2, 699. 昭和36
- 3) 日沼頼夫. 他; 小児科臨床 15, 673 昭和37
- 4) 日沼頼夫. 大井也昌; 医学のあゆみ 51, 498 昭和37
- 5) 森田盛大. 他; ウィルス 15, 23 昭和40
- 6) 中尾享. 他; 日本医事新報 No 2148, 10 昭和40
- 7) Reisaku Kōno VIII. International Congress of Pediatrics 1965 発表
- 8) 須藤恒久. 他; 総合医学 17, 371 昭和35
- 9) 須藤恒久. 他; 総合医学 18, 401 昭和36
- 10) 日沼頼夫. 私信