秋田県衛生科学研究所報　No.21．89～90（1977）

アデノ8型ウイルスによる流行性角結膜炎の流行について

佐藤宏康*　原田誠三郎*　庄司キク*
森田盛大*

Ⅰ　緒　言

1976年8月下旬から9月上旬にかけて，鷹巣町で流行性角結膜炎とみられる流行が発生したが，ウイルス学的，血清学的検索の結果アデノ8型ウイルスによることが確認されたので報告する。

Ⅱ　流行の概要

1976年8月下旬から9月上旬にかけて北秋田郡鷹巣町周辺で眼に異常を訴える住民が多数発生した。これより少し前の6月初旬森吉町のM小学校で初めての流行が認められ，その後森吉町全体に広がった。8月下旬から9月には前記鷹巣町にも患者が発生した。流行のピークは7月であった。

Ⅲ　検査材料及び検査方法

A．検査材料

1．糞　便

急性期の糞便は採取後，ただちにドライアイスで凍結した。検査時にＳＬＥＫで10%乳剤とし，10,000rpm30分間遠心し，その上清を分離材料とした。

2．角膜上皮ぬぐい液

患者の角膜上皮を滅菌綿棒で静かにぬぐったのち，2mlのＳＬＥＫによく浮遊させ，3,000rpm15分間遠心し，その上清を分離材料とした。

3．咽頭ぬぐい液

ＳＬＥＫに浸した滅菌綿棒で患者の口蓋部をよくぬぐい5mlのＳＬＥＫに浮遊させ，3,000rpm間15分遠心し，その上清を分離材料とした。分離材料（表1.）はいずれも検査時迄－70°Cに保存した。

4．血　清

急性期（7病日以内）血清採取後2週間後に回復期血清を採取したが，ペアで採取できたのは患者6名中3名であった（表1.）。

B．検査方法

1．ウイルス分離

初代カニクイ猿腎(MK)，HEp#2, Human Embryo（HE）細胞を使用した。維持液はウシ胎児血清を2%および$NaHCO_3$を1.7mg/ml濃度に加え，更にペニシリン500IU，ストレプトマイシン500γ，カナマイシン100γを添加した Eagle's MEM を使用した。材料の接種量は0.2ml/Tubeとし糞便材料のみ36°Cで1時間吸着後維持液を交換し，いずれも3～4日ごとに維持液を交換しながら36°Cで回転培養し，CPE の出現を観察した。盲継代はアルコールとドライアイスで5回凍結融解して行った。

2．抗体価測定

a．補体結合（CF）抗体価

ＣＦ抗原は自家製（アデノ5種類混合，プール抗原）とＨＥで分離された 5417株（2代）を用いた。測定はマイクマスター法[1]で行った。

b．赤血球凝集抑制（ＨＡＩ）試験

ラット赤血球を用い，5417株（ＨＥ初代）をＨＡ抗原（抗原価1024倍）としマイクマスター法[1]で実施した。

c．中和試験

5417株（ＨＥ2代）を中和ウイルスとし，ＨＥ細胞を使用した。方法は佐藤ら[2]に準じて行った。

*秋田県衛生科学研究所

Ⅳ 検査成績および考察

被検材料からのウイルス分離成績及び血清学的成績は表1.に示す如くであり，被検者6名中4名が Adeno 8

表1.　ウイルス学的，血清学的検査成績

患者氏名	年令	性別	ウイルス分離成績 1) TS	2) ES	3) ST	採血病日	CF抗体価 アデノプール抗原	分離株5417	HAI抗体価	中和抗体価
K・M	14	F	−	−	nt4)	2	16	8	<8	32
						16	8	8	<8	32
H・I	44	F	−	+5)	nt	7	16	32	<8	8
						21	16	32	16	256
K・Y	8	M	+	+	+	5	nt	nt	nt	nt
M・M	44	F	−	−	nt	7	8	16	<8	8
						21	8	64	<8	16
O・A	4	F	+	+	nt	7	nt	nt	nt	nt
Y・S	54	F	−	−	nt	7	nt	nt	nt	nt

1）咽頭ぬぐい液　2）結膜上皮ぬぐい液　3）糞便
4）not tested　5）アデノウイルス8型分離陽性

型ウイルス感染と判定された。すなわち分離に使用した細胞のうちHEp#2は5代，MKは2代盲継代したが，いかなるウイルスも分離されなかった。しかしHE細胞では代継2代で46.1%（6/13検体）の分離陽性率で，早いもので接種5日目からCPEが観察できた。分離された6株は，国立仙台病院ウイルスセンター（沼崎義夫博士）より分与を受けた Adeno 8型免疫血清で特異的に中和されたので，すべて Adeno 8型ウイルスと同定された。我々が昭和52年度から実施している微生物感染症点観測調査でも，Adeno ウイルスの分離に関して，HE細胞はMK，HEp#2，GMKよりCPEが早く出現する傾向を示し，分離率も優れていた。とくに12日間以上培養して初めてHE細胞にCPEが出現する場合では，他の3種類の細胞での分離は陰性であった（表2.）。従ってHE細胞は Adeno ウイルス感染症の疑われる症例の検索には推奨できる細胞であろうと考えられる。分離材料別の陽性率は糞便1/1（100%），結膜上皮ぬぐい液50%（3/6），咽頭ぬぐい液33.3%（2/6）であった。

Adeno 8型を含まない既製抗原（プール抗原）と5417株抗原でのCF抗体価を比較すると，分離株である5417株に対し高い抗体価を示し，3名中1名に抗体価の有意上昇が認められた。一方，HAI抗体価と中和抗体価がペア血清間で有意上昇を示したのは3例中1例のみであった。

以上を総括すると，Adeno のCF反応は共通抗原であっても分離株によりよく反応すること，HAIより中和抗体価が高く表現され，かつ敏感であった。

表2.　アデノウイルス分離状況

検体番号	使用細胞**** HE	HEp#2	GMK	MK
6007	7*	11	—	9
6008	13	—**	—	—
6028	5	nt***	7	5
6152	7	—	12	—
6158	12	—	—	—
6164	1	3	5	1
6175	nt	nt	6	2
6253	7	7	7	8
6344	3	3	3	3
6399	6	7	7	13
平均日数	6.8	6.2	6.7	5.9
分離率（%）	9/9 (100)	5/8 (63)	7/10 (70)	7/10 (70)

*アデノウイルスと確認できるCPEが出現するまでの日数
**分離陰性
***not etsted
****MKは初代のみ，他は2代継代

Ⅴ 結　論

1．HE細胞で分離された6株すべて Adeno 8型ウイルスであった。

2．ウイルス分離率はHE細胞で46.1%（6/13検体）であったが，同時に使用したHEp#2，MKでは分離陰性であった。

3．分離株を抗原としたCF抗体価で1名，HAIと中和抗体価で1名の計2名に抗体価の有意上昇を認めた。

以上から分離成績と血清学的成績から患者6名中4名が Adeno 8型ウイルス感染と考えられ，1976年鷹巣町で発生した流行性角結膜炎は Adeno 8型ウイルスに起因したものと推定された。

稿を終るにあたり，検体採取に御協力をいただいた，鷹巣町，小林眼科医院，鷹巣保健所関係各位，また抗血清の分与をいただいた国立仙台病院，ウイルスセンター沼崎義夫博士に感謝致します。

文　献

1）ウイルス実験学，総論（改訂二版），国立予防衛生研究所学友会編（1973）

2）佐藤宏康たち：アデノウイルス3型による咽頭結膜熱の発生例について，小児科臨床，22(5)，21－24（1970）