

下痢症に関するウイルス学的研究 (第3報)

佐藤 宏 康* 原 田 誠三郎* 高 山 和 子*
庄 司 キ ク* 後 藤 良 一* 山 脇 徳 美*
斉 藤 志保子* 高 橋 久美子* 佐々木 光 穂*
森 田 盛 大*

I. 緒 言

前報¹⁾²⁾につづき下痢症患者糞便中の病原検索を行なったので、その成績について報告する。また、サルロタウイルス SA-11 を用いヒトロタウイルス患者の血清学的診断への有用性について検討した。さらにロタウイルスの生態学的研究の一環として犬血清中のロタウイルス抗体保有状況を SA-11 を用いて調査したので報告する。

II 材料及び方法

A. 糞便材料

病原検索のための糞便は昭和54年4月から55年3月までの1年間に定点観測調査で採取した49検体を用いた。

B. 血清材料

1. 人血清

昭和53~54年度に定点観測調査で下痢症と診断された患者の12ペア血清で、必ずしもロタウイルス感染者ではない。

2. 犬血清

昭和54年10月から12月にかけて秋田保健所で捕獲した野犬の一部69頭から採血した。

C. SA-11による中和試験

予研、腸内ウイルス部より被分与の SA-11 を初代カニクイ猿腎(MK)細胞に3代継代後、中和抗原として使用した。中和試験法は既法³⁾に準じチューブ法により行った。

D. ロタウイルス検出法

實方ら⁴⁾のポリスチレン粒子を用いた逆受身凝集反応(R-PHA)法によった。抗血清は SA-11 感染 MK 細胞の上清を超速心により濃縮後、Sucrose 密度勾配にて精製した粒子をフレンドのインコンプリートの Adjuvant を用いて免疫したモルモットより採取した。

E. ロタウイルスの補体結合反応

Bishop ら⁵⁾の方法に準じ、乳幼児下痢便より濃縮精製したウイルス粒子を CF 抗原とし、マイクロタイター法⁶⁾により行った。

F. 組織培養及び哺乳マウスによる分離 既法⁷⁾に準じて行った。

III 成 績

A. 下痢症患者からの病原検索成績

表1に示したごとく検出された病原はロタウイルスが最も多く16名、また血清診断でロタウイルス感染が確認された2名を含め、合計18名36.7%であった。病因と推定された細菌は病原性大腸菌 K60:O26 1名, S. typhimurium 2名の計3名(6.1%)であった。組織培養ではアデノウイルスが2名(4%)から検出された。哺乳マウスでは分離されなかった。一方、CF抗体価では急性期から高い価を示す症例が多かった。R-PHAでロタウイルスの検出が陰性でもCF抗体価で有意の上昇を示した者が2名認められた。また、R-PHA陽性でもペア血清で反応しない症例もあった。

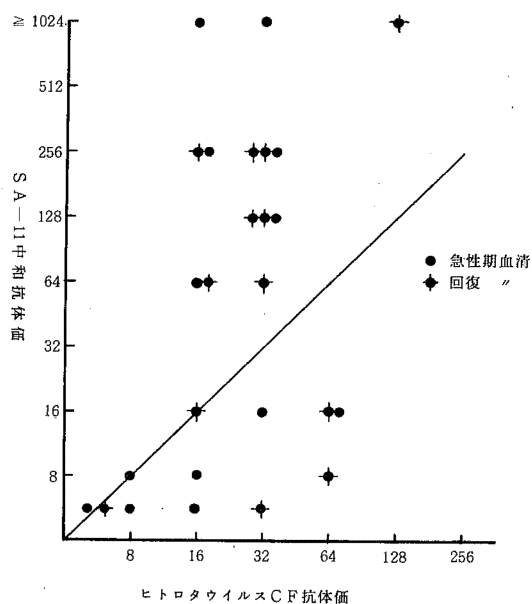


図1. SA-11中和抗体価とヒトロタウイルスCF抗体価の比較

* 秋田県衛生科学研究所

表 1. 下痢症患者からの病原検査成績

No.	氏 名	性	年令	検体採取月日	病日	糞便よりの病原検出				補 体 結 合 反 応				病 原 診 断
						組織培養	哺乳マウス	細菌	R-PHA	Adeno		Rota		
										急性期	回復期	急性期	回復期	
1	A・T	m	11	4・27	2	—	—	+	—	nt*	nt	nt	nt	病原大腸菌 (K60：O26)
2	Y・M	f	4	6・25	3	—	—	—	—	nt	nt	nt	nt	
3	S・S	m	10	6・26	2	—	—	—	—	nt	nt	nt	nt	
4	I・T	m	13	6・27	4	—	—	—	—	nt	nt	nt	nt	
5	S・M	f	7	8・23	4	—	—	—	+	nt	nt	nt	nt	Rotavirus
6	S・O	m	10	8・23	3	—	—	—	—	× 8	× 8	× 16	× 16	
7	F・J	f	7	8・23	1	—	—	—	—	nt	nt	nt	nt	Rotavirus
8	N・R	f	6	8・24	2	—	—	—	+	× 16	× 16	× 16	× 32	
9	S・M	f	2	8・24	4	—	—	—	—	nt	nt	nt	nt	
10	K・A	f	6	8・27	2	—	—	—	—	nt	nt	nt	nt	S. typhimurium S. typhimurium
11	K・M	f	10	8・27	3	—	—	—	—	nt	nt	nt	nt	
12	A・S	f	11	8・27	1	—	—	—	—	nt	nt	nt	nt	
13	K・K	m	7	9・10	4	—	—	+	—	× 16	× 16	× 16	× 16	
14	F・U	f	14	9・10	4	—	—	+	—	< 8	< 8	< 32	× 32	Rotavirus
15	K・S	f	13	9・18	5	—	—	—	—	nt	nt	nt	nt	
16	S・H	m	6	9・17	2	—	—	—	—	nt	nt	nt	nt	
17	T・T	m	11	9・17	2	—	—	—	—	nt	nt	nt	nt	
18	S・S	m	14	10・26	5	—	—	—	+	× 16	× 16	× 8	< 8	Rotavirus
19	I・T	m	9	10・22	2	—	—	—	—	nt	nt	nt	nt	
20	K・M	m	8	11・12	4	—	nt	—	—	nt	nt	nt	nt	
21	I・T	m	4	11・12	4	—	nt	—	—	< 8	nt	× 16	nt	
22	I・T	m	3	11・12	4	—	nt	—	—	< 8	nt	× 8	nt	Rotavirus (血清) Rotavirus (血清)
23	O・H	f	3	11・26	2	—	nt	—	—	< 8	< 8	× 8	× 32	
24	K・S	f	3	11・26	6	—	nt	—	—	× 16	× 16	× 16	× 128	
25	M・N	f	5	11・26	3	—	nt	—	—	nt	nt	nt	nt	
26	I・H	m	1	11・26	0	—	nt	—	—	× 16	nt	< 8	nt	Rotavirus
27	T・H	m	1	11・26	6	—	nt	—	+	× 64	nt	× 16	nt	
28	K・T	f	1	11・26	6	—	nt	—	—	< 8	nt	× 8	nt	
29	M・A	f	2	11・26	3	—	nt	—	+	× 16	× 16	× 8	× 16	
30	Y・N	m	14	11・26	4	—	nt	—	—	< 8	nt	× 8	nt	Rotavirus
31	S・H	m	3	11・26	3	—	nt	—	+	× 8	nt	× 16	nt	
32	T・J	f	6	11・28	1	—	nt	—	+	nt	nt	nt	nt	
33	T・H	m	6	11・20	3	—	nt	—	—	nt	nt	nt	nt	
34	I・H	m	1	11・29	4	—	nt	—	+	nt	nt	nt	nt	Rotavirus
35	M・M	m	1	12・10	5	—	nt	—	+	nt	nt	nt	nt	
36	K・K	f	1	12・18	4	—	nt	—	+	nt	nt	nt	nt	
37	S・I	f	1	1・14	2	—	nt	—	+	nt	nt	nt	nt	
38	H・U	f	8	1・28	2	—	nt	—	+	nt	nt	nt	nt	Rotavirus
39	S・M	f	11	2・13	3	—	nt	—	+	nt	nt	nt	nt	
40	S・G	m	14	2・13	2	—	nt	—	+	nt	nt	nt	nt	
41	H・T	f	1	2・18	2	—	nt	—	+	nt	nt	nt	nt	
42	K・S	m	5	2・18	2	—	nt	—	+	nt	nt	nt	nt	Rotavirus
43	I・M	f	5	2・18	4	—	nt	—	—	nt	nt	nt	nt	
44	S・M	f	6	2・25	2	—	nt	—	—	nt	nt	nt	nt	
45	S・U	f	2	2・25	10	—	nt	—	—	nt	nt	nt	nt	
46	S・M	m	7	3・3	2	+	nt	—	—	nt	nt	nt	nt	Adenovirus Adenovirus
47	I・T	f	4 M	3・3	2	+	nt	—	—	nt	nt	nt	nt	
48	G・T	m	5	3・10	3	—	nt	—	—	nt	nt	nt	nt	
49	E・A	m	9	3・17	3	—	nt	—	—	nt	nt	nt	nt	

* not tested

表2. 犬血清のSA-11に対する中和抗体価の分布

検体採取月日	検体数	SA-11に対する中和抗体価						平均陽性率
		< 8	8	16	32	64	≥ 128	
10. 12	13	7	0	1	1	0	4	46.2
19	13	7	1	2	0	0	3	46.2
26	7	1	0	2	1	2	1	85.7
11. 2	12	7	1	2	0	1	1	41.7
9	3	1	0	1	0	0	1	66.7
16	6	2	0	0	0	0	4	66.7
22	6	4	0	0	0	0	2	33.3
30	1	0	0	0	0	0	1	10.0
12. 7	6	2	0	1	0	0	3	66.7
14	2	2	0	0	0	0	0	0.0
合計 (%)	69 (100)	33 (47.8)	2 (2.9)	9 (13.0)	2 (2.9)	3 (4.3)	20 (29.0)	36 (52.2)

B. SA-11中和抗体価とヒトロタウイルスCF抗体価の関係

たて軸にはSA-11に対する中和抗体価、横軸にはヒトロタウイルスに対するCF抗体価を示し、両者の関係を図1に示した。CF価では8-64倍の価を示す者が多く、とくに16-32倍の例では中和抗体価は16倍以下と64倍以上に分られた。さらに、中和で高い価を示す群と、CFで高い価を示す群の二群に分けられた。しかし、CFで8-32, 16-128と有意上昇例では中和でも<4-128, 8-1024といずれも有意上昇を示し、感度ではSA-11による中和法が優れていた。

C. 犬のロタウイルス抗体保有状況

犬血清中のSA-11に対する中和抗体価の分布は表2に示したとおりであった。すなわち、69頭中36頭、52.2%が8倍以上の中和抗体価を保有していた。抗体価の分布では8-32倍が18.8%, 64倍以上の抗体価を保有する犬が全体の1/3を占め、犬の世界にもSA-11類似のウイルスが広く侵襲していることが確認された。

IV 考 察

非細菌性胃腸炎あるいは、嘔吐下痢症を惹起するウイルスとして、Rotavirusをはじめ、Norwalk agent⁸⁾, Calicivirus⁹⁾, Coronavirus¹⁰⁾¹¹⁾, 組織培養では分離されないAdenovirus¹²⁾など多くが病原として報告されている。著者らも大曲市での嘔吐下痢症流行例¹³⁾を、また昭和54年2月大館市を中心に発生した嘔吐下痢症例については本誌上で別報した。

下痢症患者糞便49例からの病原検査成績ではRotavirusが最も多く、次いでSalmonella菌、Adenovirus、病原大腸菌であり、52年度¹⁾、53年度²⁾の調査成績と同様な

傾向であった。しかし、電顕による検索が常時できなかったもので、いわゆる小形粒子の検出はできなかった。今後Rotavirus以外の下痢起病性の小形粒子の検索も必要と思われる。また、Campyobacterの検索も併わせて行う必要がある。

従来、人のロタウイルス感染の診断に多く用いられてきた牛のロタウイルス(NCDV)は家畜伝染病上の問題から使用が制限され、またCPEが明瞭でないことも指摘されていた。

一方、SA-11はNCDVに比較しCPEも明瞭であり、とくに乳児のロタウイルス感染症の診断には有用であることが原³⁾によって報告されている。今回SA-11による中和抗体価とヒトロタウイルスによるCF抗体価を比較検討したところ、CFでの有意上昇例は、中和試験でもより著明な上昇を示したことから、SA-11の中和試験によるロタウイルス感染症の診断は極めて有用であることを確認した。しかし、SA-11の中和に強く反応する抗体と、ヒトロタウイルスCFに強く反応する抗体の二群が存在するが、これは測定方法により検出される抗体の種類が異なることがあげられるが、さらに抗原の相違もあげられる。ヒトロタウイルスは少なくとも2種以上が知られ、1型と2型では感染年令のピークが異なることが報告¹⁴⁾されている。ヒトロタウイルスの組織培養法が開発途上にある現在、ウシ、サル、鳥類¹⁵⁾のロタウイルスも含め、その抗原構造を総括的に解析する必要があるのではないだろうか。さて、生態学的研究の一環として、犬に対するロタウイルス保有状況を調査したが、52.2%に抗体が証明された。これが自然界におけるロタウイルスの生態にいかなる意味をもつのか、ヒトと動物ロタウイルスの共通性も含め解明していきたい。

V 結 論

1. 下痢症患者糞便49検体からの病原検査成績は、ロタウイルス36.7%, 細菌6.1%, アデノウイルス4%であった。
2. サルロタウイルスを用いた中和試験はCPEも明瞭で、ヒトロタウイルスを用いたCFより感度がよく病原診断に有用であることが示唆された。
3. 犬69頭中52.2%にサルロタウイルスによって検出される中和抗体を保有していた。

文 献

- 1) 佐藤宏康たち：下痢症に関するウイルス学的研究，秋田県衛生科学研究所報，22，107—113（1978）
- 2) 佐藤宏康たち：下痢症に関するウイルス学的研究（第2報），秋田県衛生科学研究所報，23，77—81（1979）
- 3) 原稔たち：下痢症患者および動物血清のウシロタウイルスとサルロタウイルスに対する中和抗体価の比較，第27回日本ウイルス学会総会演説抄録，320（1979）
- 4) 實方剛たち：R—PHA法の改良とスライド凝集反応による糞便からのHRVの検出，第27回日本ウイルス学会総会演説抄録，321（1979）
- 5) Bishop, R.F., et al: Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extract from children with gastroenteritis, *Lancet*, 1, 149—151（1974）
- 6) 甲野礼作たち：臨床ウイルス学，1，講談社サイエ
ンティフィック，血清学的検査法（森田盛大），45—85（1978）
- 7) 森田盛大たち：秋田県における1976—1977年度の感染症定点観測成績について，*臨床とウイルス*，6，214—232（1978）
- 8) Adler, J.L., et al: Winter vomiting disease *J. Inf. Dis.*, 119, 668—673（1969）
- 9) Cubitt, W.D., et al: Winter vomiting disease caused by Calicivirus, *Journal of Clinical Pathology*, 32, 786—793（1979）
- 10) Caul, E.O., et al: Coronavirus propagated from patient with Non-bacterial gastroenteritis, *Lancet*, 2, 953—954（1975）
- 11) Caul, E.O., et al: Further studies on human enteric coronavirus, *Arch. Virol.*, 54, 107—117（1977）
- 12) Flewett, T.H., et al: Epidemic viral enteritis in a longstay children's ward. *Lancet*, 1, 4—5（1975）
- 13) 佐藤宏康たち：1975年12月中旬，秋田県大曲市内の保育園に多発した嘔吐下痢症，*臨床とウイルス*，5，70—72（1977）
- 14) Brandt, C.D., et al: Comparative epidemiology of two rotavirus serotypes and other viral agents associated with pediatric gastroenteritis, *Am. J. Epidemiol.*, 110, 243—253（1979）
- 15) McNulty, M.S., et al: Isolation and cell culture propagation of rotaviruses from Turkeys and chickens, *Archives of Virology*, 61, 13—21（1979）