

昭和53, 54年度流行した手足口病患者からのウイルス分離成績について

佐藤宏康* 原田誠三郎* 高山和子*
高橋久美子* 森田盛大*
岡村敏弘** 長沼雄峰*** 鈴木敬謙****

I 緒言

秋田県では昭和53年度に引き続き54年度にも Hand, Foot and Mouth Disease (HFMD) の流行が観察された。一般にEnterovirus による感染症の好発季節は夏期であるが、昭和54年度に侵襲したHFMDの病原ウイルスは夏の終りに出現し、秋さらには冬期間でも散発的に分離されるなど、従来のHFMDの流行とは多少とも異なる様相を呈した。

本報では、53年度のEnterovirus 71 (E-71) によるHFMDの流行と比較させながら、54年度に流行したCoxsackie A-16 (Cox. A-16)ウイルスによるHFMDの概況と、ウイルス分離率について比較検討したので報告する。

II 材料及び方法

A. 分離材料

定点観測調査時にHFMDと診断された患者から検体を採取した。すなわち、昭和53年度は39名より咽頭拭い液39検体、水疱液3検体、昭和54年度は28名より咽頭拭い液28検体、水疱液8検体、糞便1検体である。

B. ウイルス分離

1. 細胞による分離

既報に準じて行った¹⁾。使用細胞は初代サル腎(MK)、HEA J細胞、HE(人胎児線維芽細胞)を用いた。HEA J細胞は血清を含まないMEM、他は2%に牛胎児血清を含むMEMを維持液として用いた。

2. 哺乳マウスによる分離

当所では飼育した生後48時間以内の哺乳マウス(SM)の腹腔内に検体を0.05mlずつ接種し、14日間発症の有無を観察した。

3. 同定用抗血清

抗血清は秋田大学医学部微生物学教室、須藤恒久教授より被分与の抗Cox.A-16家兔血清及び抗E-71家兔血清を用いた。またCox.A-4、Herpes Simplexおよび

*秋田県衛生科学研究所 **由利組合総合病院小児科
秋田組合総合病院小児科 *山本組合総合病院小児科

Polio ウイルスに対する抗血清は当所で作成したものを使用した。

C. 同定方法

常法に準じて行った²⁾。

III 成績

A. 情報収集患者数と検体採取数及びウイルス分離成績

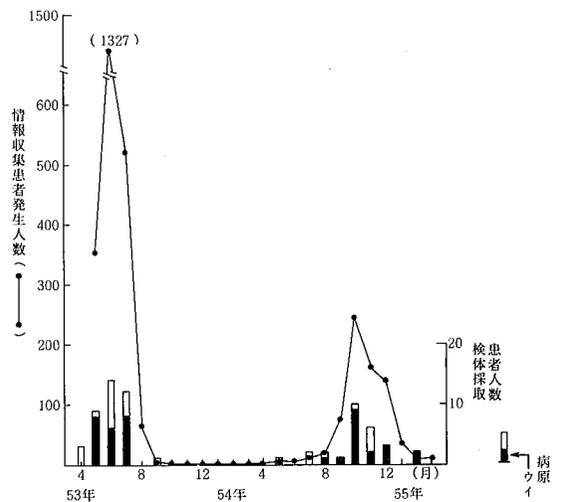


図1. 昭和53~54年度の手足口病患者発生数とウイルス分離成績

図1に示した如く、秋田県微生物感染症速報によれば53年度の患者発生ピークは6月で1327名であった。この期間の検体採取数は最も多く14検体であったが、分離株数は6株であった。54年度の患者発生は前年に比較して全体的に少なく、ピーク時の10月で245名であった。そして、11、12月と情報収集患者発生数が暫次減少するとともに検体採取数も減少する傾向にあった。55年2月に2株のCox.A-16が分離されたが、この月の情報収集患者数は僅か9名であった。

表1. 53年度 HFMD患者からのウイルス分離成績

No	氏名	年齢	性	採取地区	採取年月日	病日	細胞による分離		同定結果
							咽頭拭液	水疱内容	
1	M・R	1	男	由利	53.4.17	2	-		
2	K・M	2	"	"	"	2	-		
3	T・K	1	女	"	"	2	-		
4	T・R	1	男	山本	53.5.11	2	+		E-71
5	S・N	10M	女	"	"	1	+		E-71
6	K・H	1	男	"	"	1	+		E-71
7	T・K	7	女	"	53.5.12	7	+		E-71
8	T・M	9M	"	"	"	2	+		E-71
9	E・K	9M	"	"	53.5.15	1	+		E-71
10	T・R	3	男	"	"	3	+		E-71
11	N・Y	10M	"	由利	53.6.5	2	-		
12	T・K	4	女	"	"	3	-		
13	K・M	3	男	山本	53.5.27	3	-		
14	T・A	2	"	"	"	3	+		E-71
15	H・S	1	"	秋田	53.6.2	5	+		Adeno
16	H・K	4	女	"	53.6.12	3	+	-	E-71
17	T・K	9	男	"	53.6.19	5	-		
18	T・S	3	"	"	"	2	-		
19	N・I	2	女	"	"	2	+		E-71
20	K・K	2	"	"	"	4	-		
21	S・E	7M	"	"	53.6.26	3	+		E-71
22	T・K	3	男	"	"	4	+		Cox. A-7
23	S・O	11M	女	"	"	2	+		E-71
24	T・N	6	男	"	"	3	+		E-71
25	K・M	3	女	"	"	4	+		E-71
26	T・S	3	男	"	53.7.3	3	+		E-71
27	R・K	2	"	"	"	2	+		E-71
28	S・K	6	"	"	"	3	-	-	
29	T・T	11M	"	"	"	2	+	-	E-71
30	T・N	1	女	"	53.7.10	3	-		
31	N・K	1	"	"	"	2	-		
32	K・Y	2	男	"	"	3	+		E-71
33	N・S	4	男	"	"	2	-		
34	N・H	1	"	"	"	2	+		E-71
35	O・K	2	女	"	53.7.17	3	+		E-71
36	O・T	4	男	"	"	3	+		E-71
37	K・H	2	"	"	"	4	+		E-71
38	Y・O	1	"	"	53.9.11	8	-		
39	K・T	4	"	由利	53.6.5	5	-		

表2. 54年度HFMD患者からのウイルス分離成績

No.	氏名	年令	性	採取地区	採取年月日	病日	咽頭拭液		水疱内容		糞便		同定結果
							HEAJ	SM*	HEAJ	SM	HEAJ	SM	
1	H・S	1	男	由利	54. 5.21	7	-	-					
2	I・N	1	女	秋田	54. 7. 1	2	-	+					Cox. A-4
3	I・N	11M	"	"	54. 7.14	3	-	-	-	-			
4	K・T	13	男	"	54. 8.13	3	-	-					
5	O・T	1	女	山本	54. 8.18	3	+	+	-	n・t**			Cox. A-16
6	I・M	1	"	秋田	54. 9.19	3	+	+	+	-	-	+	Cox. A-16
7	K・K	1	"	山本	54.10. 8	3	-	n・t					
8	O・H	2	"	"	54.10.15	3	+	+	+	-			Cox. A-16
9	Y・E	3	"	"	54.10.18	3	+	+					Cox. A-16
10	M・T	15	"	"	"	2	+	+					Cox. A-16
11	I・K	3	"	"	54.10.22	2	+	n・t					Cox. A-16
12	T・S	10M	男	秋田	"	2	+	n・t	+	n・t			Cox. A-16
13	H・K	1	女	"	"	3	+	n・t					Cox. A-16
14	S・N	4	男	"	54.10.29	2	+	n・t	+	n・t			Cox. A-16
15	S・M	3	女	山本	54.10.22	2	+	n・t					Cox. A-16
16	N・S	2	"	秋田	54.11. 5	6	+	n・t					Cox. A-16
17	K・M	3	"	"	54.10.24	2	+	n・t	+	n・t			Cox. A-16
18	N・M	2	"	"	54.11.19	8	+	n・t					Herpes Simplex
19	T・S	1	男	"	"	4	-	n・t					
20	K・K	3	"	"	"	4	-	n・t	-	n・t			
21	S・M	5	"	"	"	4	+	n・t					Cox. A-16
22	O・A	1	女	山本	54.11.26	4	+	n・t					Polio -I
23	W・T	9M	"	由利	54.12. 3	2	+	n・t					Cox. A-16
24	O・Y	2	"	秋田	54.12.17	2	+	n・t					Cox. A-16
25	S・Y	2	"	山本	"	2	+	n・t					Cox. A-16
26	K・N	10M	"	由利	55. 2.25	11	-	n・t					
27	K・M	2	"	山本	55. 2.28	2	+	n・t					Cox. A-16
28	K・M	5	"	"	"	2	+	n・t					Cox. A-16

* Suckling mouse

** Not tested

B. ウイルス分離同定成績

昭和53年度のHFMD患者からのウイルス分離同定成績は表1に示したとおりであった。すなわち、39症例中24症例(61.5%)の咽頭拭液からウイルスが分離された。同定の結果E-71, 22株, Adeno, Cox. A-7 が各々1株でいずれもHEAJ細胞で分離された。水疱液3検体からの分離はいずれも陰性であった。SMによる分離は実施しなかった。

54年度の分離同定成績は表2に示したとおりで、28症例中21症例(75.0%)がウイルス分離陽性であった。同定の結果Cox. A-16, 18株, Cox. A-4, Herpes Simplex

Polio I型各1株であった。SMでのみ陽性を示したのはCox. A-4が分離された1例、糞便よりCox. A-16が分離された2例のみであった。分離材料別にHEAJ細胞とSMによる分離を比較すると、それぞれ咽頭拭液64% (18/28), 66% (6/9)とほぼ同程度であった。しかし、水疱液からの分離率はHEAJ細胞62.5% (5/8), SMは3検体とも陰性であった。

C. ウイルス分離率と年令分布

図2に示した如く、6才以下でのE-71の分離率は7-11月85.7%と最高で2才75%, 3才, 6才50%, 4才40%, 1才33.3%の順であった。一方、Cox. A-16分離率は4

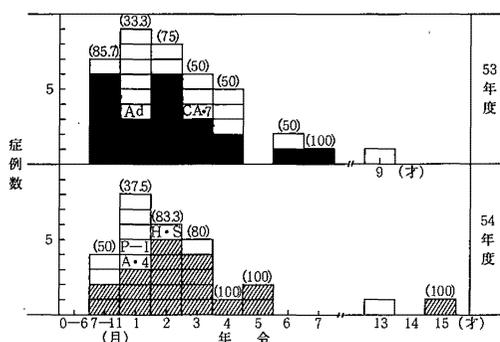


図2. HFMD患者からのウイルス分離率と年齢分布

才, 5才100%, 2才83.3%, 3才80%, 7-11月50%, 1才37.5%といずれも1才児での分離率が低かった。またE-71では7-11月, 2才児と比較的年令の低い小児で分離率が高いのに対し, Cox.A-16では3-5才のいく分年長児に分離率の高い傾向が観察された。

D. ウイルス分離率と経過病日

咽頭拭い液からの分離率を比較すると, E-71は1病日100%, 2病日50%, 3病日61.5%であった。3病日までの平均分離率60%, 4病日までのそれは58.8%であった。一方, Cox.A-16の分離率は2病日91.7%, 3病日62.5%, 4病日25%であった。3病日までの平均分離率は80%, 4病日までのそれは70.8%といずれのウイルスについても感染後の病日経過にしたがい分離率は低下する傾向にあった。E-71は7病日, Cox.A-16では6病日まで咽頭拭い液から分離陽性であった。水泡液からのウイルス分離ではE-71流行例3例すべて陰性であった

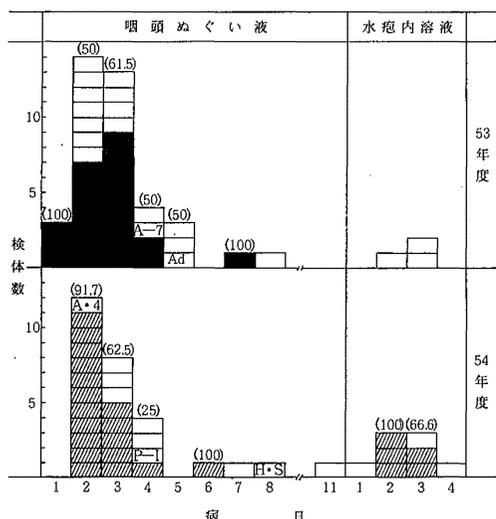


図3. HFMD患者からのウイルス分離率と病日分布

が, Cox.A-16感染症例では4病日以内で8例中5例(62.5%)が陽性であった(図3)。

IV. 考 察

従来HFMDはその病原を相互に換えながら, 2-3年の間隔で流行をくりかえしてきた³⁾。昭和53年夏の流行ウイルスはE-71であった。⁴⁾ところが, 翌54年にもHFMDの流行が観察され2年連続の流行となった。秋田県微生物感染症発生状況速報によって情報収集された患者数と病原検索のために, 検体採取された患者数の関係を見ると, 両者は必ずしも正比例関係にはない。しかし, 定点観測が速急なる病原検出確認ということに目的をおいていることを考えると, その目的を十分に果したものと確信している。すなわち, 53年の流行では6月のピーク前にE-71が病原であることを診断し, また54年の流行では8月にはCox.A-16を検出確認していたからである。しかしながら流行の規模を把握し解析するためには, 情報収集と病原検索に加え疫学的調査が必要であると思われる。

Cox.A-16の侵襲はE-71の流行より比較的mildであったことを示していると考えられるが, これには季節的要因が大きく影響しているものと推定された。すなわち, E-71は5-7月とEnterovirusの流行期に一致していたのに対し, Cox.A-16の流行はEnterovirusの流行期としてはむしろ異常とも思える10-12月に流行したためと推定された。またCox.A-16は55年2月にも分離されるなど, その侵襲は極めて活発であること, および総体的に患者発生数が少数であったことなどから, 55年夏期に再度Cox.A-16によるHFMDの流行が懸念された。

E-71の分離ではHEA J細胞がMK細胞より分離率が高かったが, 川本⁵⁾もMK細胞が劣ることを報告している。また, SMを用いてE-71が分離された例は本邦では報告されていないようである。一方, Cox.A-16ではHEA J細胞, SMの両系でよく分離された。従って, 著者らはHFMDの流行例では分離材料をHEA J細胞とSMの両系に接種し, 両系でウイルス分離陽性ならばCox.A-16, HEA J細胞にのみCPE陽性であればE-71, SMでのみの発症ではCox.A-16以外のCox.A群ウイルスを疑って, それぞれ同定にかけて大きな誤りはないものと考えている。しかし, 季節はずれの散発症例からの分離では慎重な同定が必要である。

検体採取された患者の好発年令はいずれの流行例でも1才児がピークであったが, 過去の報告例^{6), 7), 8), 9)}でも3才以下が圧倒的に多い。

E-71の検体別分離率は56.4%であったが, 30-50%台の報告^{5), 7), 9)}が多い。また, 水泡液からの分離報告^{5), 11)}

では50～80%台である。Cox. A-16の分離率は咽頭拭い液で64.3%、水泡液で62.5%であったが、一般にはいずれも50～60%台の報告^{10), 12)}が多い。また髄液からの報告^{8), 9), 12)}もある。しかし、一般に髄液の採取は糞便、咽頭拭い液に比較し困難である。分離率の差は検体の種類と病日、および分離に使用する培養系によって左右される場合が多い。糞便からのウイルス排泄は比較的長期間に及ぶので、HFMDをはじめとするEnterovirns感染症では糞便又は直腸拭い液を咽頭拭い液と同時に採取し、かつ、3病日以内の検体採取であればウイルス分離率(病原診断率)の向上が期待できよう。とくに、E-71の分離ではMK細胞は好適ではなく、むしろHEA J細胞⁴⁾、CMK₁-S₁細胞⁵⁾、GMK細胞⁹⁾などの継代細胞がよい成績を得ている。

54年度にはHFMDと診断された患者の咽頭から1株のCox. A-4が分離されたが、E-71、Cox. A-16以外のウイルスにも注目し、HFMDの病原を解明していく必要があると考えられる。

V. ま と め

昭和53～54年度に流行したHFMD患者から相異なる病原を検出し以下の成績をえた。

1. 定点観測での検体採取数は必ずしも情報収集患者数に比例しないが、病原の早期検出と解明には、その目的を十分達成していることが確認された。

2. E-71はHEA J細胞で高率に分離され、Cox. A-16はHEA J細胞、SMの両系で分離された。したがって、両系を併用することによりHEMD病因の早期解折の可能性が示唆された。

3. E-71は3才以下の小児でよく分離され、Cox. A-16は2～5才で分離が高かった。また、いずれも3病日以内の検体からの分離率が高かったが今後、糞便材料の採取も必要である。

稿を終えるに当り抗血清を分与して下さった秋田大学

医学部微生物学教室、須藤恒久教授に感謝いたします。

文 献

- 1) 森田盛大たち：1976—1977年度の微生物感染症定点観測成績について、秋田県衛生科学研究所報，22，65—90（1974）
- 2) ウイルス実験学，各論，国立予防衛生研究所学友会編，丸善（1964）
- 3) 須藤恒久：手足口病，内科，44，777—779（1979）
- 4) 原田誠三郎たち：1978年，秋田県に流行した手足口病（HFMD）の病原診断成績と血清疫学的研究，秋田県衛生科学研究所報，23，65—70（1979）
- 5) 川本尋義たち：昭和53年岐阜県内に流行した手足口病の疫学的，ウイルス学的検索，岐衛研所報，24，10—14（1979）
- 6) 芦原義守：疫学的にみた手足口病，臨床とウイルス，2，81—84（1974）
- 7) 西尾治たち：1978年に愛知県下で流行したEnterovirus type 71による手足口病について，愛知衛研報，30，15—19（1980）
- 8) 出口雅経たち：今次流行の手足口病—1978年長崎県大村市での流行例—，臨床とウイルス，7，32—35（1979）
- 9) 高見俊才たち：エンテロウイルス71型によるHFMD—1978年愛媛県における流行について—，臨床とウイルス，7，104—108（1979）
- 10) 名取克郎：1969—70年に流行したHand, Foot and Mouth Diseaseにおけるウイルス学的検討，臨床とウイルス，2，85—90（1974）
- 11) 藤本純一郎たち：1978年岐阜県で流行したエンテロウイルス71型によるHand, Foot and Mouth Disease，臨床とウイルス，8，208—212（1980）
- 12) 安川史郎たち：昭和45年夏愛知県下のHand, Foot and Mouth 病の発生の概要とウイルス学的検査成績，愛知衛研報，22，13—18（1972）