秋田県衛生科学研究所報　№24．95～98（1980）

1978年秋田県に侵襲したEcho—21型ウイルスについて

佐藤宏康*　原田誠三郎*　高山和子*
高橋久美子*　山脇徳美*　後藤良一*
森田盛大*　長沼雄峯**

Ⅰ　緒　　言

1978年ポリオ感染源調査のおり，被検の糞便50％以上から型別不明の腸管系ウイルスが分離された。同定の結果Echo—21型（E—21）と型別されたが[1]E—21は他のEnterovirusと同様その臨床症状はもちろん疫学像についても解明されていない点が多い。また，全国的にみても過去の分離例は極めて少ない。

本報では秋田県で観察されたE—21の浸淫状況，疫学，分離陽性者の臨床症状及び，E—21に対する細胞の感受性について述べる。

Ⅱ　材料及び方法

A．ウイルス分離同定

分離材料は鹿角市尾去沢地区で採取した糞便37検体，分離方法は流行予測術式に準じ[2]，また同定には初代カニクイ猿腎又はHE（人胎児線維芽）細胞を用いた。

B．抗体価測検査

1．被検血清

抗体保有調査には昭和52年4～12月秋田市，同54年5～7月五城目町で採取された人血清を用いた。年令区分は0～1，2～3，4～6，7～9，10～15，16才以上とし各年令群10検体の合計120検体，また病原診断のための血清は昭和53年5月から同年12月までの間に種々症状を呈した患者より採取された18組の血清を用いた。いずれもMEMで1：4に希釈後56℃30分間非働化して用いた。

2．中和試験

HEAJ（当所でLine化した人胎児由来細胞）に訓化したE—21標準株（当所保存）100TCID$_{50}$/0.1㎖と等量の1：4希釈人血清を37℃で120分間反応後，あらかじめ—PBSで1回洗浄後，血清を含まないMEMで液交換した2本のHEAJ細胞に0.2㎖ずつ接種し，36℃で回転培養を行った。ウイルス対照が100TCID$_{50}$/0.1㎖に達したときCPE陰性を示したものを抗体陽性とした。病原診断ではHE細胞を用い，各ペア血清を4倍階段希釈し上記と同様の方法で行った。

C．E—21及び分離株の感受性試験

1．細胞による感受性試験

E—21標準株は初代サル腎細胞に3代，分離株も初代サル腎細胞で分離後，さらに3代継代した代表株(5885)を用いた。使用した組織培養はHEp＃2，L—132，HEAJ，HE，初代サル腎，GMK，MDCK，JINET細胞である。HEAJとJINETは血清freeの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．哺乳マウスによる感受性試験

当所で出産させた生後48時間以内のdd系自色マウスの皮下及び腹腔内に上記サル腎継代株を接種した。

3．赤血球凝集試験

上記の株についてヒトO型赤血球を用い型の如く行った[3]。

D．免疫血清

抗E—21標準株家免血清は市販のもの，また代表株の抗5885家免血清は自家作製したものである。

E．細菌学的検査

即法に準じて行った[4]。

Ⅲ　成　績

A．ウイルス分離成績

図1に示した如く37検体の糞便より19株のウイルスが分離された。E—21と同定された分離代表株抗5885家免血清を用いて，分離株はすべてE—21と同定された。1—6才まで各年令群から分離されたが，2—3才群が75％と分離率は最大であった。

B．流行前後の保有率の変動

図2に示した如く，流行前と思われる昭和52年では2～3才で20％，16才以上で60％の抗体保有者が認められた。しかし，流行後では全年令群に抗体保有率の上昇が確認され，とくに6才以下に著明であった。

C．E—21が分離された患者の臨床症状と病原診断成績

E—21が分離された3名の臨床症状は表1に示した如く，38℃以上の発熱，咽頭発赤，扁桃肥大は必発であっ

*秋田県衛生科学研究所　**秋田組合総合病院小児科

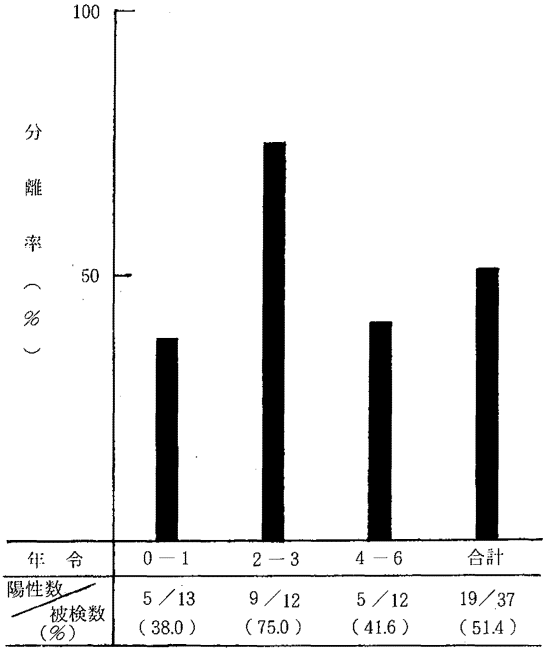

図1　鹿角市尾去沢地区におけるE－21分離状況
（S53年8月）

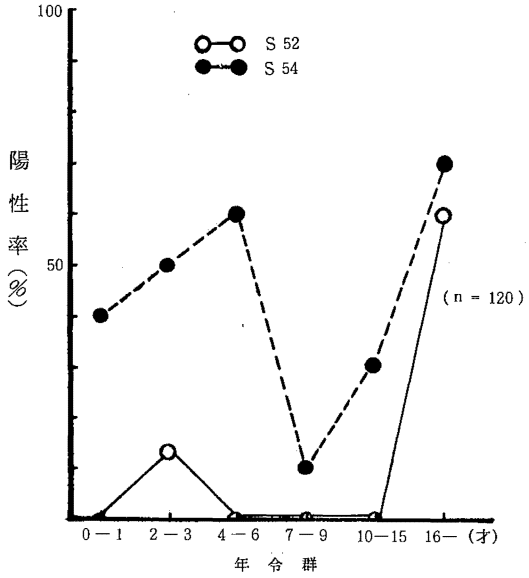

図2　E－21に対する抗体保有率の変動

表1.　E－21が分離された症例の臨床症状と病原検査成績

発病年月日	氏名	年令	性	臨床診断名	臨床症状 最高体温（持続日数）	咽頭発赤	扁桃肥大	苺舌	下痢	発疹	ウイルス検査 分離 細胞	SM*	E－21中和抗体価（病日） 急性期	回復期	細菌検査 PiKe	H・I・B**
53. 7. 22	三○和○	6	男	猩紅熱	40 (3)	＋	＋	＋	－	＋	＋ (E-21)	－	＜8 (3)	64 (175)	－	－
53. 9. 8	鈴○武○	5	男	扁桃炎	39.7 (4)	＋	＋	＋	－	－	＋ (E-21)	－	＜8 (4)	128 (85)	n・t***	n・t
53. 9. 8	柴○勇	3	男	咽頭炎	38 (3)	＋	＋	－	＋	－	＋ (E-21)	－	n・t	n・t	－	－

*　Suckling mouse　　**　Heart Infusion Brouth　　***　not tested

た。また有意の抗体上昇は3例中2例に認められた。ウイルスは細胞でのみ分離された。

一方ペア血清が採取できた種々の疾患についてE－21に対する病原診断を行ったが，有意の抗体上昇を示した症例は認められなかった（**表2**）。

D．各種細胞に対する感受性試験成績

表3に示した如く感受性試験からみた限り違異は認められなかった。

E．交叉中和試験成績

標準株と分離代表株に対する免疫血清の交叉中和試験反応の成績は表4に示した如く分離株は難中和性を示した。

Ⅵ　考　　察

エコーウイルスと疾患の関係は，近年，かなり明確になってきたが，なお，その起病性や疫学像の明らかでないものもあり，E－21はその代表といえる。これまでの報告例をみると無菌性髄膜炎，胃腸症状，上気道炎など（**表5**）の散発例からの分離例などがあるにすぎない。このように少ない理由の一つとして，当初予研から分与されていたシュミットプール血清中に抗E－21型血清が含まれていなかったこと[5]，また分離されたE－21も同定され難い株が多数存在した[6]ことから，未同定として取り扱われたものが多かったことなどがあげられよう。著者らが分離同定したE－21も，E－21標準株による抗血清では同定出来難かった。しかし，分離代表株で作製した抗5885血清がE－21標準株を中和することから，そ

表2.　E－21に対する病原診断成績

No.	氏　　名	年令	性	臨　床　診　断	発病年月日	E－21抗体価（病　日）	備　　考
1	加○谷○晴	5	男	アンギナー	53. 5. 6	<8 (3) 8 (17)	
2	宮○め○み	9	女	急性ウイルス性感染症	53. 6.10	<8 (6) <8 (17)	
3	花○勝○	12	男	手足口病	53. 6.10	<8 (3) <8 (10)	
4	仲○正○	2	男	〃	53. 6.12	<8 (6) <8 (13)	
5	山○美○	1	女	〃	53. 6.16	<8 (4) <8 (12)	
6	羽○悟	2	男	〃	53. 6.12	<8 (3) 8 (10)	
7	山○隆○	2	男	〃	53. 6.16	<8 (2) <8 (12)	
8	菊○康○	1	男	百日咳	53. 8.28	<8 (21) <8 (35)	
9	山○美○	13	女	下痢症	53. 8.31	<8 (5) <8 (20)	
10	三○屋○太	3M	男	百日咳	53. 9.17	<8 (15) <8 (60)	
11	藤○礼○	7	女	猩紅熱	53. 9.22	<8 (4) <8 (11)	T－4
12	間○和○	3M	男	百日咳	53. 9.25	64 (8) 128 (17)	
13	富○信○	11	男	大腸炎	53. 9.29	<8 (4) <8 (13)	
14	船○克○	4	男	猩紅熱	53.11.11	32 (3) 64 (10)	T－4
15	大○毅	8	男	手足口病疑	53.11.13	16 (8) 32 (16)	
16	島○敏○	5	男	〃	53.11.16	32 (5) 32 (13)	
17	岩○重○	8	男	〃	53.11.17	32 (4) 16 (12)	
18	佐○ひ○え	11	女	風疹疑		<8 (4) <8 (11)	

表3.　各種細胞に対する感受性成績

細　　胞	E－21標準株	分　離　株
HEp# 2	+	+
HEAJ	+	+
HE	+	+
初代MK	+	+
GMK	+	+
JINET	+	+
L－132	－	－
MDCK	－	－

+：CPE陽性　　－：CPE陰性

表4.　E－21標準株と分離株の交叉中和試験

抗　　原	抗　血　清	
	E－21標準株	分離株（5885）
E－21標準株	1024	512
分離株（5885）	8	16

の代表株をE－21と同定したわけである。

一方，E－21の好侵襲年令層をみると，E－21の分離率が2～3才群で75%と最も高いこと，また，抗体保有率調査を分析してみると，2～3才群の保有率が最も顕著に上昇していることから，E－21の好発年令のピークは2～3才群と推定された。同じエコーウィルスでもE

表5. E—21ウィルス分離症例（エンテロウイルスを中心とした国内ウィルス分離状況より）

発生年月	症状	分離材料	地区	分離件数
47. 7	上気道炎 麻疹様発疹	糞便	岐阜	1
53. 8	上気道炎	鼻咽頭材料	岡山	1
〃 8	無症状	糞便	愛知	6
〃 10	無菌性髄膜炎	鼻咽頭材料	広島	2
〃 11	上気道炎	〃	岡山	1
54. 1	無症状	糞便	京都	2
〃 2	上気道炎	鼻咽頭材料	石川	2
〃 3	胃腸症状	糞便	京都	1
〃 3	無症状	〃	〃	6
〃 4	上気道炎	鼻咽頭材料	石川	1

—9の流行例では4～9才群が好発年令であったことが報告されている[7]。

発疹症を惹起するEnterovirusとしてE—9，Cox. B—3，Cox.A—9および16，Entero 71など多くが知られているが，E—21については昭和47年の岐阜県の報告[8]が本邦であるにすぎない。今回E—21が分離された3例中1例に発疹が認められたが，E—21が発症を惹起すると早断できないが，少なくとも今後，発疹症とE—21との関係についても注目していく必要があると思われる。

E—21の起病性についてみると，疫学的には2～3才を中心にかなりの侵襲が推定されたのであるが，E—21に対する病原診断では有意上昇者は認められず，また，E—21の分離症例（表5）の約60%は無症状であったことなどから，起病性は弱いものと推定される。

従来E—21はサル腎細胞にCPEを示さないと云われていたが，初代サル腎をはじめ，GMK，JINET，HEAJ，HE，HEp# 2細胞に明瞭なCPEを示した。細胞に対する感受性でみる限り，標準株と分離株に大きな相違はないものと推定された。また，HA産生能，哺乳マウスに対する感受性においても相違は認められなかった。

V まとめ

秋田県に侵襲したE—21型ウイルスを調査し次の成績をえた。

1. E—21感染小児の好侵襲年令は2～3才群であった。しかしE—21の起病性は弱いものと推定された。

2. E—21が分離された3症例のうち1例は発疹を併なっていた。しかし，本疾患がE—21感染によるものであったことを血清学的確認できなかった。

3. 分離株は難中和性を示したが，各種組織培養細胞に対する感受性，HA産生能，哺乳マウスに対する感受性ついて相違は認められなかった。

稿を終えるに当り，貴重なる御意見をいただいた予研，腸内ウイルス部原稔先生に感謝致します。

文献

1) 佐藤宏康たち：昭和53年度ポリオ流行予測調査成績について，秋田県衛生科学研究所報，23，103—107（1978）

2) 原生省公衆生局保健情報課：昭和52年度伝染病流行予測調査検査術式（1977）

3) 国立予防衛生研究所学友会編：ウイルス実験学各論，丸善，209—211（1967）

4) 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，6，215—232（1978）

5) 原稔：私信

6) 原稔：エンテロウイルス同定のための技術的問題点，臨床とウイルス，1，169—176（1973）

7) 佐藤允武たち：1967年青森市に発生したECHOウイルス9型による無菌性髄膜炎について：血清疫学を中心として，臨床小児医学，17(1)，5—8（1969）

8) エンテロウイルスを中心とした国内ウイルス分離状況，医学のあゆみ，89，642（1974）