秋田県衛生科学研究所年報　№29　63～66（1985）

Cox. A—16型ウイルスによる手足口病の流行について

佐藤宏康*　原田誠三郎*　安部真理子*
森田盛大*

Ⅰ 緒　　言

コクサッキーA16型（Cox. A—16）ウイルスによる手足口病は，昭和44～45年の流行に続き，50年，54～55年，59年とほぼ4～5間年隔で流行してきた。

このうち，昭和55年と59年に流行したCox. A—16の侵襲像と分離株の性状について比較検討したので報告する。

Ⅱ 材料及び方法

A 材　科

1 使用ウイルス株

水疱由来の9344株（55年分離代表株）と同じく10918株（59年分離代表株），及び標準株G—10である。エンテロウイルス71型は名古屋株を用いた。

2 使用細胞

当所で細胞化した人胎児由来HEAJ細胞を使用した。

3 被検人血清及び免疫血清

被検血清はいずれも秋田市内で採取した。54年4月50人，55年8月50人，58年10月70人，59年度8月75人である。年令区分はそれぞれ，0～1，2～3，4～6，7～9，10～15の5年令群とした。また，手足口病患者血清は55年流行時の4組血清，59年流行時の3組血清と4単血清を用いた。免疫血清は，それぞれの株について，2層分配法[1]にて濃縮した抗原をIncomplete adjuvantとともに，ウサギまたは，モルモットに免疫して作製した。

B 方　法

1 中和抗体測定法

U型Microplateを用いたまき込み方式[2]で行なった。被検人血清はいずれもMEMで1：8に希釈後56℃30分間非働化して試験に供した。

2 PlaqueによるCloning法

既法[3]に準じて行なった。すなわち，Difco Agarnobleを最終濃度1.6%に含むMEMを用いた。HEAJ細胞6×10^5／mlの6mlを直径6cmのシャーレにまき，2日間5%炭酸ガス培養器で培養した。ウイルス接種後，一次重層を行ない，さらに3日目Neutral Redを含むAgarnoble MEMで二次重層を行ない，2日目にPlagueの径を測定し，継代した。

Ⅲ 成　　績

A 55年及び59年の患者発生状況

秋田県微生物感染症発生状況速報によって集計された，患者発生数を地域別，月別に図1に示した。4月から9月にかけてみると，55年での患者発生ピークは6～7月に認められた。患者発生総数は約2200のうち，県北部33

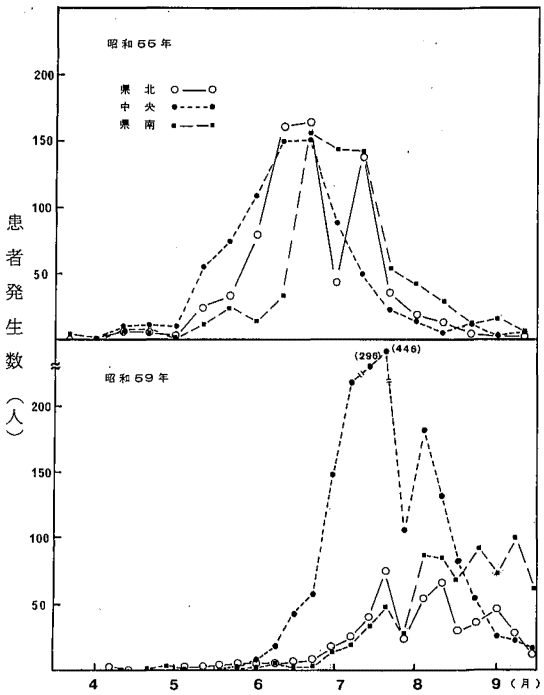

図1　地域別手足口病患者発生状況

*秋田県衛生科学研究所

%，県中央部35%，県南部32%と，ほぼ同様の患者発生状況であった。一方，59年の患者発生ピークは7～8月にみられた。県北部17.3%，県中央部59.4%，県南部23.3%と，県中央部での発生が著明であった。また，59年度の地域別，年令別患者発生状況を図2に示した。すなわち，9月末までの患者発生総数3189名中，1～4才群は全体の66.3%と最も多く，県中央部では1849名中の37.9%を占めた。

B　流行前後の抗体価の推移

G—10を中和抗原としてMicro法にて中和抗体価を測定した。成績は図3に示した。すなわち，下段は流行前，上段は流行後の抗体価の分布と幾何平均を示した。55年では3才以下の年令群で抗体価の上昇が著明であった。59年は4～6才群にも上昇が認められ，感染年会の幅が大きいことが明確となった。一方，全体の幾何平均も55年の流行では18.7から26.6，または，59年の流行では32.0から38.2へと上昇傾向を示した。

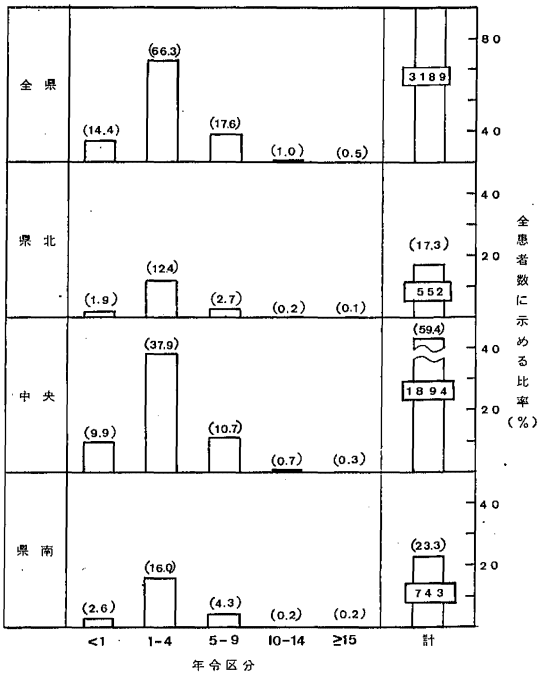

図2　手足口病患者の年令（昭和59年）

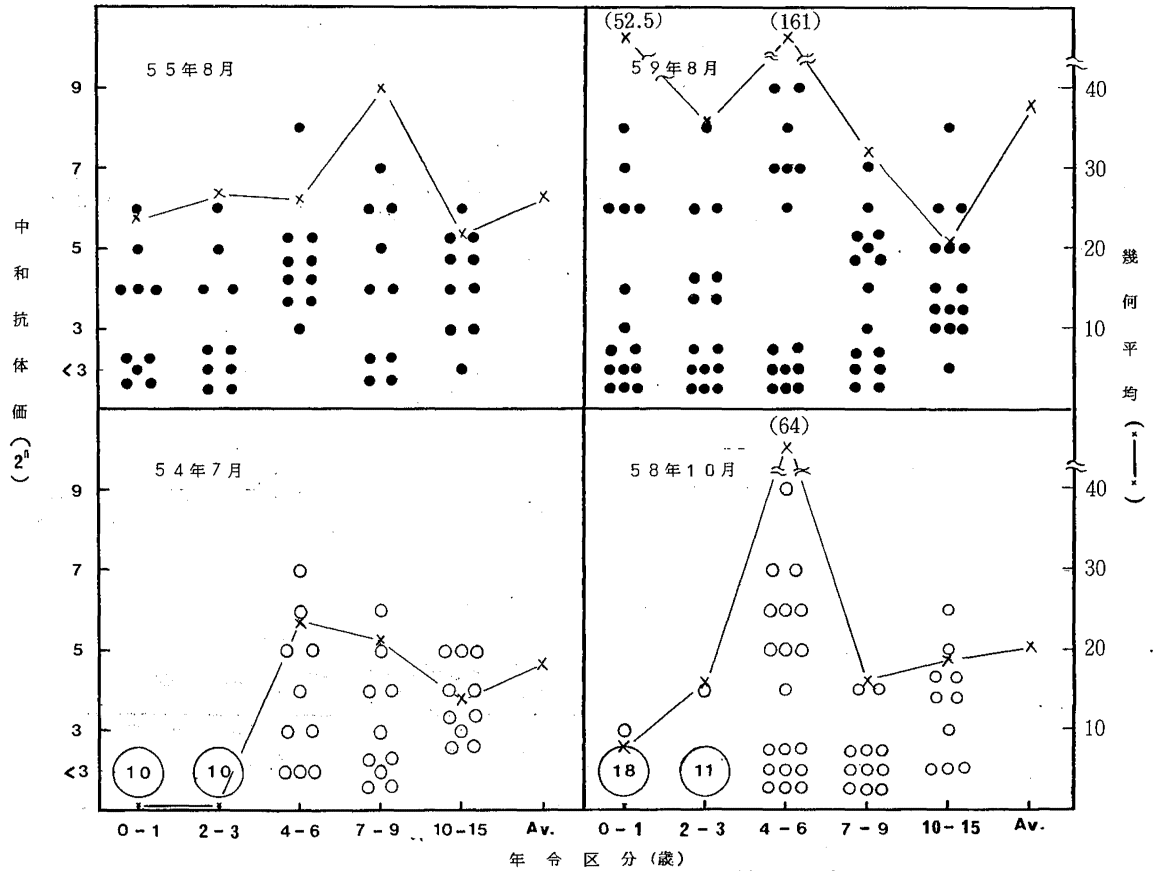

図3　手足口病流行前後の Cox，A—16（G—10）に対する抗体価の推移

C 患者の血清反応

表1に示した。上段は55年の手足口病患者血清，下段は59年の患者血清である。いずれもエンテロウイルス71型に抗体のない人の血清を用いた。G—10に対しては有意の抗体上昇又は，中和抗体価が認められるが，分離株に対しては中和反応は認められなかった。

表1　手足病患者の血清反応

No.	氏　名	年　令	性	発病年月日	血清番号（病日）	中和抗体価			
						9344	10918	G－10	ENT.－71
1	K. Y	5	F	55. 5. 17	41466 (3)	＜8	＜8	＜8	＜8
					43266 (38)	＜8	＜8	128	＜8
2	U. S	5	M	55. 7. 4	41540 (4)	＜8	＜8	8	＜8
					25832 (10)	＜8	＜8	64	＜8
3	U. U	6	M	55. 7. 6	41541 (2)	＜8	＜8	＜8	＜8
					25833 (8)	＜8	＜8	32	＜8
4	S. M	6	M	55. 7. 6	41543 (2)	＜8	＜8	16	＜8
					25859 (10)	＜8	＜8	64	＜8
5	I. N	1	M	59. 7. 13	44127 (4)	＜8	＜8	32	＜8
					43885 (10)	8	＜8	128	＜8
6	Y. Y	5	M	59. 7. 19	44145 (2)	＜8	＜8	＜8	＜8
					43887 (8)	＜8	＜8	32	＜8
7	I. M	4	M	59. 8. 4	44154 (4)	＜8	＜8	16	＜8
					43895 (11)	＜8	＜8	128	＜8
8	H. R	1	M	59. 7. 24	80400 (15)	＜8	＜8	256	＜8
9	S. H	1	M	59. 7. 24	80406 (15)	＜8	＜8	128	＜8
10	M. U	1	M	59. 8. 3	80420 (5)	＜8	＜8	16	＜8
11	S. R	1	M	59. 7. 24	80421 (15)	＜8	＜8	128	＜8

D Cloning株の交差反応

G—10は直径1㎜前後の単一なSmall plaqueを形成した。しかし，両分離株は大，小種々のPlapueを形成した。それぞれの株から2㎜以下をSmall size，4㎜以上をLage saizeとして，3代Cloningを行ない，さらにHEAJ細胞に1代継代した株を抗原として，免疫血清と交差反応を行ない，その成績を表2に示した。9344—O (Original)株は抗G—10血清と反応しないが，CloningされたL，S株では低いながらも反応を示す。9344—O株と10918—O株は抗9344血清と抗10918血清及び抗G—10血清に対し，同じ抗体価を示すがCloning後の9344—L，9344—S株，及び10918—S株では反応に差が認められる。すなわち，9344—S株と10918—S株では抗9344血清に対し32倍以上，また，抗10918血清に対し8倍の差を認め，Cloning株は各Original株の示した性状と明らかに異なる反応を示した。

表2　Cloning 株との交差反応

抗　原		免疫血清		
		抗 9344	抗 10918	抗 G－10
9344	O*	128	64	＜8
	L**	＞1024	128	8
	S***	＞1024	12	8
10918	O	128	64	＜8
	L	128	32	＜8
	S	32	16	＜8
G－10	O	＞1024	128	＞1024
	S	1024	256	＞1024

* original　** Large size
*** small size

Ⅳ 考　　察

55年度の手足口病患者発生状況は，県北部，県中央部，県南部とも32～35%の間であり全県侵襲型であったが，59年は県中央部が60%近くを占めた。このことから県中央部が侵襲の中心であったと考えられた。

59年の流行年令は1～4才群が66.3%を占め，また，流行前後の抗体保有状況の変動から，6才以下でも上昇は著明であった。しかし55年では3才以下が感染集団であったと推定された。このようなことから感染年令幅の大きいことが，59年の患者多発の一因であったと推定された。Cloning前の9344株（9344－O株），10918株（10918—O株）及びG—10株（G—10—O株）と55年，59年患者血清との反応（表1）では，G—10株に対してのみ反応する。また，Cloning前の分離株，9344—O株，10918—O株は抗9344血清，抗10918血清，抗G－10血清に対し同称の反応態度を示すことから，同一の性状を有する株と推定された。

しかし，Cloning後の交差反応成績（表2）はCloning前の交差反応とは若干異なる。すなわち，9344—L，9344—S株は抗G—10血清とわずかに反応すること，また，9344－S株と10918—S株では，抗9344血清に対し32倍以上，また抗10918血清に対しては8倍の差を認める。細胞で分離されたCox.A—16ウイルスの分離株は，種々異なる性状のウイルスが含まれていると考えられる。したがって，分離された株にどのような性状のウイルスが含まれているか，また，どのような性状のウイルスがCloningされたかによっても，交差反応に相違が生じることが示唆された。

Ⅴ ま と め

55年，59年のCox.A—16による手足口病の流行状況と分離株の性状を比較検討し，以下の成績を得た。

1　55年の流行は全県侵襲型，59年は県中央部侵襲型であった。

2　55年の患者年令は3才以下が中心，59年は6才以下に多く，患者年令幅の大きいことが多発の一因と考えられた。

3　Cloning株はOriginal株と異なる交差反応を示した。

本論文の要旨は第38回日本細菌学会東北支部総会（天童市）において発表した。

文　　献

1）原田誠三郎たち：水性二層分配法（ポリエチレングリコールとデキストランサルフェートナトリウム）を用いたエコー9ウイルスの分配組成系の比較検討について，秋田県衛生科学研究所報，24，101—103(1980)

2）佐藤宏康たち：各種マイクロトレイ法の比較とその応用，臨床とウイルス，5，350—353（1977）

3）原田試三郎たち：エコーウイルス30型による無菌性髄膜炎の流行，秋田県衛生科学研究所報，28，83—88（1984）