

2002年に流行したエコーウイルス13型の分子疫学的解析

新川 奈緒美 中山 浩一郎 本田 俊郎
 吉國 謙一郎 有馬 忠行¹ 湯又 義勝²
 伊東 祐治³ 西尾 治⁴

1 はじめに

無菌性髄膜炎 (Aseptic meningitis, 以下、「AM」という。) は、毎年、夏季を中心に小児の間で流行し、エコーウイルスやコクサッキーウイルスをはじめとするエンテロウイルスが主因となっている。2002年は全国的にエコーウイルス13型 (以下、「E13」という。) によるAMが流行したけれども、このE13は、欧米での分離報告が大半を占め、本邦では、1980年に岐阜県から1例の分離報告があったのみで、その後2000年まで分離の報告はなかった。

しかし、2001年になると和歌山県、福井県、福島県、大阪市などで分離され、2002年には各地において相次いで報告された。

鹿児島県においては、2002年5月にAM患者の髄液からE13が分離され、8月まで持続的に分離された。そこで、今回の流行で分離されたE13について、疫学的、分子疫学的に解析したので報告する。

2 材料と方法

2.1 材料

2002年4月から2003年3月までに感染症発生動向調査事業に基づき、病原体定点で採取された糞便 (91件)、咽頭うがい液 (42件)、鼻咽頭口腔拭い液 (24件)、髄液 (45件)、その他 (2件) の計204件と行政依頼として搬入されたAM患者髄液 (29件) の計233件の検体を用いた。

2.2 ウイルス分離と同定

ウイルス分離は、実験室診断マニュアルに準拠し¹⁾、HeLa細胞、RD-18s細胞、Vero細胞、Caco-2細胞を用いて、

35℃ 7日間観察した。エンテロウイルス様のCPEの出現したものは、盲継代後、感染価を測定し、100TCID₅₀/25 μlに調整したウイルス液で、20単位の抗エンテロウイルスプール血清 (EP95) 及び単味血清 (デンカ生研) を用いて、中和試験によりウイルスを同定した。

2.3 遺伝子解析

中和試験により、E13と同定された14株について、培養上清からQIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) にてウイルスRNAを抽出し、EVP4/OL68-1プライマーを用いてRT-PCRにより、VP4-VP2領域を増幅した。増幅されたDNAは、ダイターミネーター法により、塩基配列を決定し、UPGMA法により系統解析を行った^{2)~6)}。

3 結果及び考察

検体別ではE13が、髄液から21株、咽頭拭い液から1株、糞便から1株分離された。疾患別では、AMから19人、細菌性髄膜炎から2人、急性気管支炎から1人、感染性胃腸炎から1人で、AM患者からのE13が高頻度に分離された (表1)。

E13が分離された患者の居住地は、鹿児島市、指宿、伊集院、川薩 (旧 川内)、鹿屋、名瀬の保健所管内で、広域に及んでいた。

月別では、5月が4件、6月が7件、7月が10件、8月が2件で、ほとんどが夏季を中心に分離された。

患者の年齢は、8ヶ月から18歳まで認められ、年齢別の内訳は0~4歳が17%、5~9歳が48%、10~14歳が26%、15~19歳が9%と、9歳以下が半数以上を占め、1998年にエコーウイルス30型によるAMが流行した時に比べ、患者の年齢が高かった⁸⁾。これは、これまでE13の流行がなかったことから、住民の抗体のレベルが低いこと

1 鹿児島県立始良病院 〒899-5652 鹿児島県始良郡始良町平松6067
 2 鹿児島県志布志保健所 〒899-7103 鹿児島県曾於郡志布志町志布志二丁目1-11
 3 平成15.3.31付 退職
 4 国立感染症研究所 〒208-0011 東京都武蔵村山市学園四丁目7番地の1

に因る⁷⁾と考えられる。

患者の臨床症状は、発熱を呈した患者が78.2%と最も多く、その他に上気道炎、胃腸炎の症状が認められ、いずれもエコーウイルスに共通の症状であった。

VP4-VP2領域の遺伝子解析を行った14株を、355塩基でアライメントした結果、98.6%の相同性があった(図1)。また、塩基配列を比較するために用いた兵庫県の分離株とも同一であったことから、2002年に国内で分離されたE13は、地域的、遺伝的に類似したウイルスであると推察された。しかしながら、02-83株と02-87株は60番目が

Tに、02-83株、02-87株、02-92株は256番目がGになっており、この2カ所の違いが系統樹上での差となったが、この2塩基の差異が何を意味するのか、単なるpoint mutationなのかどうかについて、今後さらに追求したい。

今回のようなE13の流行は、本邦においては初めてであることから、これまで非病原性のものが病原性を獲得したため流行したのか、あるいは、本邦の流行に先んじて流行のあったスペイン、ドイツ、アメリカ等から持ち込まれたのか等について、今後追求すると共に、監視を継続する必要があると考える。

表1 E13が分離された患者の概要

症例No.	検体No.	地域 (所轄保健所)	年齢	性	発病年月	検体採取 年月	臨床診断名	臨床症状	検体の種類
1	02-35	川薩	3歳	M	2002.5	2002.5	AM	発熱、髄膜炎	髄液
2	02-37	川薩	5歳	F	2002.5	2002.5	細菌性髄膜炎	発熱、髄膜炎	髄液
3	02-38	川薩	5歳	M	2002.5	2002.5	AM	発熱、髄膜炎	髄液
4	02-39	鹿屋	5歳	F	2002.5	2002.5	急性気管支炎	発熱、上気道炎、下気道炎、胃腸炎	咽頭拭い液
5	02-42	指宿	7歳	M	2002.6	2002.6	AM	発熱、髄膜炎	髄液
6	02-47	川薩	5歳	M	2002.6	2002.6	AM	髄膜炎	髄液
7	02-48	指宿	7歳	F	2002.6	2002.6	細菌性髄膜炎	発熱、髄膜炎	髄液
8	02-49	鹿児島市	8ヶ月	M	2002.6	2002.6	感染性胃腸炎	発熱、髄膜炎	糞便
9	02-52	指宿	17歳	M	2002.6	2002.6	AM	発熱、髄膜炎	髄液
10	02-57	川薩	6歳	F	ND	2002.6	AM	髄膜炎	髄液
11	02-G2	伊集院	6歳	M	2002.6	2002.6	AM	発熱、髄膜炎	髄液
12	02-G10	伊集院	6歳	M	2002.7	2002.7	AM	発熱、髄膜炎	髄液
13	02-60	川薩	7歳	M	2002.7	2002.7	AM	髄膜炎	髄液
14	02-65	鹿児島市	4歳	M	2002.7	2002.7	AM	発熱、髄膜炎、上気道炎	髄液
15	02-68	指宿	18歳	F	2002.7	2002.7	AM	発熱、髄膜炎	髄液
16	02-G20	伊集院	11歳	M	2002.7	2002.7	AM	髄膜炎	髄液
17	02-82	名瀬	8歳	M	2002.7	2002.7	AM	髄膜炎、関節痛、筋肉痛、上気道炎、胃腸炎	髄液
18	02-83	川薩	11歳	M	2002.7	2002.7	AM	発熱、髄膜炎	髄液
19	02-87	指宿	11歳	M	2002.7	2002.7	AM	発熱、髄膜炎	髄液
20	02-88	指宿	11歳	M	2002.7	2002.7	AM	発熱、髄膜炎	髄液
21	02-91	川薩	4歳	M	2002.7	2002.7	AM	発熱、髄膜炎	髄液
22	02-92	川薩	11歳	M	ND	2002.8	AM	発熱、髄膜炎	髄液
23	02-104	川薩	13歳	M	2002.8	2002.8	AM	発熱、髄膜炎	髄液

ND ; No Data

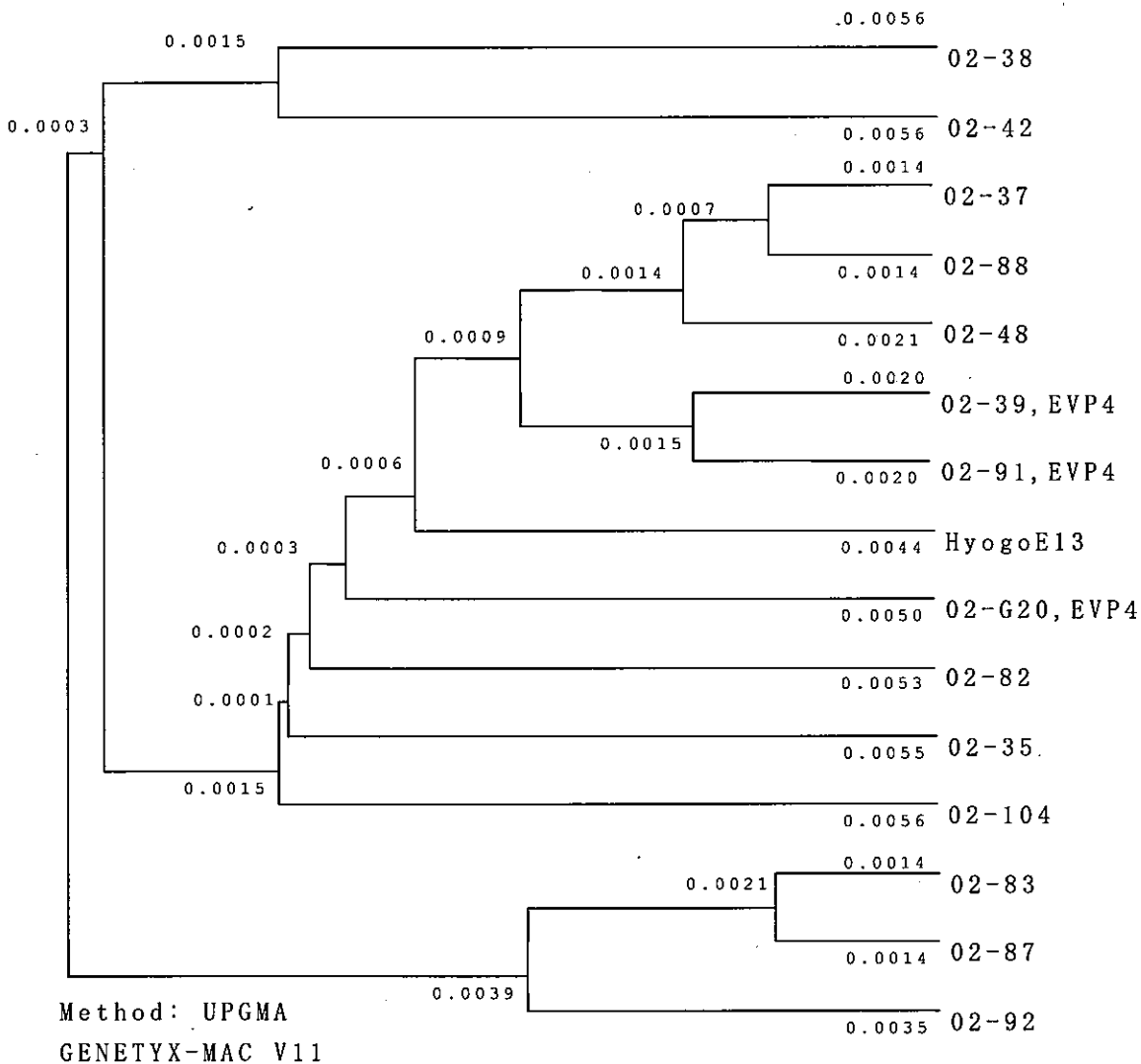


図1 E13分離株のVP4-VP2領域における分子系統解析

参考文献

- 1) 国立感染症研究所；実験室診断マニュアル(2002)
- 2) Tsuguto Fujimoto, Masatsugu Chikahira, et al ; Outbreak of Central Nervous System Disease Associated with Hand, Foot, and Mouth Disease in Japan during the Summer of 2000: Detection and Molecular Epidemiology of Enterovirus 71, Microbiol. Immunol. 46(9), 621-627 (2002)
- 3) 篠原美千代, 内田和江, 他 ; コクサッキーウイルスA16型及びエンテロウイルス71型の検査法の検討, 感染症学雑誌. 73(8), 749-757 (1999)
- 4) 川俣 治 ; RT-PCR法によるエンテロウイルス及びライノウイルスの検出系, 新潟医学会雑誌. 111(10), 633-646 (1997)
- 5) Valerie Caro, Sophie Guillot, et al ; Molecular Strategy for Serotyping of Human Enteroviruses, J. General Virol. 82, 79-91(2001)
- 6) M. Steven Oberste, Kaija Maher, et al ; Typing of Human Enteroviruses by Partial Sequencing of VP1, J. Microbiol. 37(5), 1288-1293(1999)
- 7) 山崎謙治, 奥野良信, 他 ; 2002年大阪府で流行した手足口病の遺伝子診断および分子疫学的解析, 感染症学雑誌. 75(11), 1170-1174(2000)
- 8) 新川奈緒美, 永田告治, 他 ; エコーウイルス30型による無菌性髄膜炎の流行, 鹿児島県衛生研究所報. 35, 40-41(1999)