

1988～1989年千葉県内におけるコクサッキーA24型 変異株による眼疾患について

酒井 利郎¹⁾, 春日 邦子¹⁾, 山中 隆也¹⁾
時枝 正吉²⁾, 市村 博¹⁾, 吉井 孝男²⁾

The Epidemic of Acute Haemorrhagic Conjunctivitis and Epidemic Keratoconjunctivitis Due to a Coxsackie Virus A24 Variant in Chiba in 1988-1989

Toshirou SAKAI, Kuniko KASUGA, Takaya YAMANAKA
Masayoshi TOKIEDA, Hiroshi ICHIMURA¹⁾ and Takao YOSHII²⁾

I はじめに

急性出血性結膜炎（以下AHCと略）の原因ウイルスは、エンテロウイルス70（以下EV70と略）とコクサッキーA24変異株（以下CA24vと略）の2つが知られている¹⁾。EV70は、1969年に西アフリカで初めて発生が確認され、その後全世界に広がり、各地で流行を起している。CA24vは、1970年にシンガポールを中心として東南アジアでの流行が確認され、東南アジアに限局して流行を繰り返していた。1985年7月～11月にかけて沖縄県でCA24vによる大きな流行が発生²⁾するまでは、日本でのAHC流行は、EV70のみが分離されCA24vは確認されていなかった。1986年には、神奈川³⁾、和歌山⁴⁾、徳島⁵⁾等本州においても相次いで確認された。本県においても、1988年8月頃より茂原地区に限局してAHC様患者増加の報告があり、ウイルス分離を試みたところCA24vを分離・同定⁶⁾した。又、1989年にも8月～11月にかけて銚子・佐倉・茂原地区においてAHCおよび流行性角結膜炎（以下EKCと略）の流行がみられ、1988年と同様にCA24vを確認した⁷⁾ので、県内住民の抗体調査と合わせて、その概要を報告する。

II 材料および方法

1. 患者発生状況

1988年は、茂原地区眼科定点を受診したAHC様患者数をもとにした。また、CA24vを分離した患者より疫

学的事項を調査した。1989年は、千葉県感染症サーベイランス情報より銚子・佐倉・茂原の3地区におけるAHCおよびEKC患者発生数をもとにした。

2. 検査材料

1988年のウイルス分離材料は、感染症サーベイランス情報で8月～10月にかけてAHC様疾患流行のみられた茂原地区のサーベイランス定点である永吉の眼科病院で22検体の眼ぬぐい液を採取した。1989年は、9月～12月にかけて眼疾患の流行のみられた銚子（市立銚子総合病院、嶋田医院）・佐倉（成田赤十字病院）・茂原（永吉の眼科病院）の3地区より眼ぬぐい液72検体を採取した。血清疫学的調査には、1989年5月～6月に採取した茂原地区（茂原・長柄・長南）の中学2年生の血清200検体を用いた。

3. ウイルス分離

ウイルス分離には、HeLa細胞・RD-18S細胞・Vero細胞を用い、検体を接種後は、細胞変性効果（以下CPEと略）の有無を指標として判定した。分離したウイルスは、中和試験により同定した。

4. 中和試験

1) 中和試験

細胞で分離したウイルスは、2～3代継代して抗原価を高めた後、そのウイルスの100TCID₅₀/0.025mlと等量の20単位中和用CA24v（EH24/70）抗血清ならびにアデノウイルス（1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 19型）抗血清を使用し、RD-18S細胞およびHeLa細胞を用いたマイクロタイター法により同定した。さらに銚子・佐倉・茂原の3地区でCA24vと同定したウイルスを各々5株（計15株）を攻撃ウイルスとしてCA24v株（NV-87-37）抗血清との間で、HeLa細胞を用いたマイクロタイター法による中和試験を実施した。

1) 千葉県衛生研究所

2) 国立予防衛生研究所

(1990年12月20日受理)

2) ブラック中和試験

被検ウイルス株としては、1970年にシンガポールで分離されたEH24/70株、1987年にガーナ共和国で分離されたNV-87-37株および1989年に千葉で分離したChiba/385/89の3株を使用した。また抗血清は、EH24/70株およびNV-87-37株に対する家兔免疫血清をそれぞれ1:4に希釈し、56°C30分非働化し、2倍段階希釈した。それぞれのウイルス株を100TCID₅₀/0.1mlに調整し、その0.3mlとそれぞれの希釈抗血清0.3mlを混合し、37°Cで2時間反応させ、残存ウイルスをブラック法で測定した。細胞は、FL細胞を使用した。

3) 抗体調査

茂原地区中学2年生のCA24vに対する抗体調査は、4倍スクリーニングで行った。被検血清を4倍に希釈し、56°C30分非働化後、100TCID₅₀/0.025mlのウイルスを等量混合してHeLa細胞に接種後、CPEの有無を指標として判定した。なお、使用した攻撃ウイルスは、分離株(Chiba/388/89)とEH24/70株である。なお、今回の中和試験において使用したEH24/70株とNV-87-37株の抗原及び抗血清、アデノ抗血清は国立予防衛生研究所より分与を受けた。

III 結果および考察

1. 患者発生状況

1988年の茂原地区におけるサーベイランス定点を受診したAHC患者数を、図1に示した。患者は、6月頃より散発的にみられていたが、第38週(9月18日~9月24日)には18名と急激に増加し、第40週(9月30日~10月6日)に33名をピークとして第44週まで10名以上の患者が続いた。図2は、1989年の銚子・佐倉・茂原の3地区におけるAHCおよびEKC患者数である。AHCは、1年を通して月に10~20名の患者が見られた。EKCは、6月頃より逐次増加し、9月には151名と最高数を示し、流行は11月まで続いた。AHCの過去5年間における流行状況をサーベイランス情報でみると、沖縄県で流行のあった1985年を除いたこの2~3年は全国でも1,000~2,000名の患者数であるのに対し、千葉県ではこの2年間増加の傾向にあり、それも9月~11月にかけて流行するというパターンをとっている。EKCについては全国とほぼ同様の流行状況である。今回の流行の臨床症状は、1988年は出血傾向がみられたものが多かったが、1989年は出血は少なく、EKC様の患者が多くみられた。

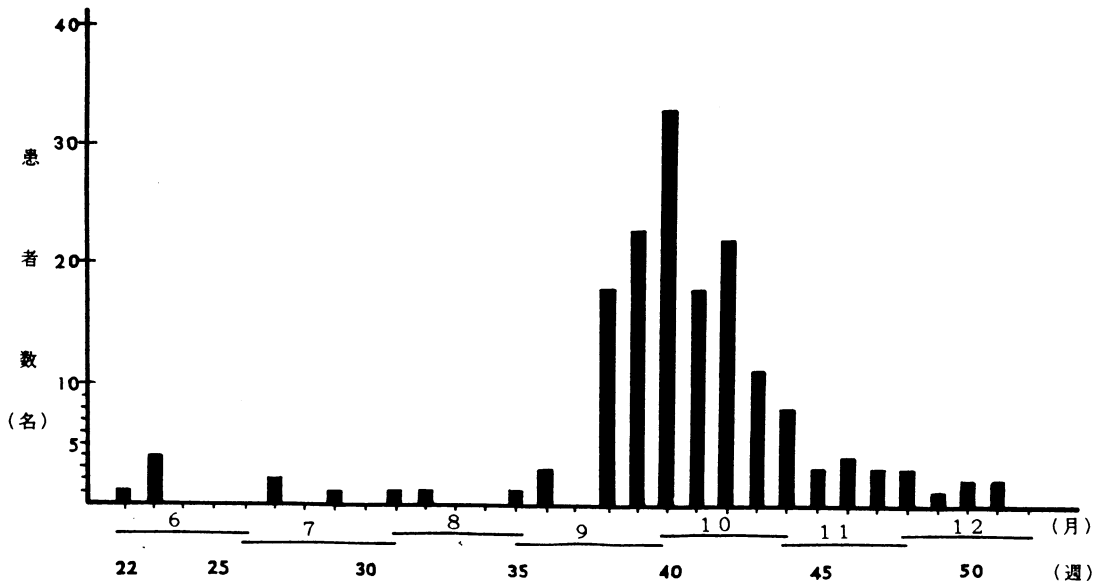


図1 週別にみた眼科定点外来へ来院したAHC様患者(1988)
(茂原市:永吉の眼科病院 千葉弥幸氏より提供)

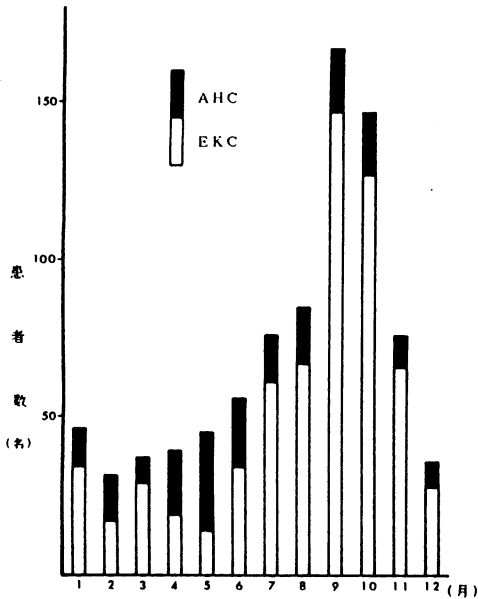


図2 眼疾患感染症情報患者数(銚子・佐倉・茂原) 1989

2. ウイルス分離状況

眼疾患患者からのウイルス分離成績を表1に示した。1988年はAHC様患者22名より眼ぬぐい液を採取し、4名よりCA24vを分離した。これらのうち3名は同一家族であった。この家族の疫学調査では、最初に高校生が学校で感染し、その後2～5日間に家族6名全員が発病していた。1989年は、AHCおよびEKC患者72名より眼ぬぐい液を採取し、43名よりCA24vを、1名よりAdeno3を分離した。CA24vは、流行のピーク時である9月～10月に集中して分離された。CA24vの分離率は、1988年4/22(18%)、1989年は43/72(59.7%)であり、これはシンガポール、高雄、沖縄等の分離率⁹⁾と同様に高い数値となっている。表2にCA24vの細胞別分離成績を示した。1988年は、RD-18S細胞・HeLa細胞・Vero細胞を使用し、ウイルスが分離できたのは、RD-18S細胞だけであった。1989年は、RD-18S細胞、HeLa細胞を使用し、RD-18S細胞で29/49(分離率59.2%)、HeLa細胞で34/72(47.2%)、という分離結果であり、RD-18S細胞・HeLa細胞とも分離率は高かった。

表1 眼疾患患者からのウイルス分離成績

月	検査材料	陽性数/検査材料	分離ウイルス
	眼ぬぐい液(1988)	眼ぬぐい液(1989)	
9	1/2	31/35	CA-24v
10	3/20	12/14	CA-24v
12		1/23	Adeno-3

表2 細胞別分離成績

検査材料	細胞名		
	HeLa	RD-18S	Vero
眼ぬぐい液(1988)	0/22	4/22	0/22
眼ぬぐい液(1989)	34/72	29/49	

3. 中和試験

今回流行したCA24vの県内3地区での抗原性を比較検討する目的で、各地区での分離株を各々5株(計15株)についてNV-87-37抗血清との間で中和試験を行った。各株とも中和抗体価32倍と同じ値を示し、これら3地区のウイルスは抗原的に同じタイプのもと考えられた。

4. ブラック中和試験

本流行の代表株 Chiba/385/89株とCA24vシンガポール株(EH24/70)抗血清及びガーナ株(NV-87-37)抗血清によるブラック中和試験を行った結果を図3、4に示した。Chiba/385/89株は、シンガポール株の抗血清ではホモの株より2⁵低く、ガーナ株に近い値を示した。また、ガーナ株の抗血清では、シンガポール株がホモとほぼ同じ値を示したのに対してChiba/385/89株は、2²以上低い値を示した。以上より、Chiba/385/89株は、シンガポール株、ガーナ株と異なる中和能を有すると推測された。

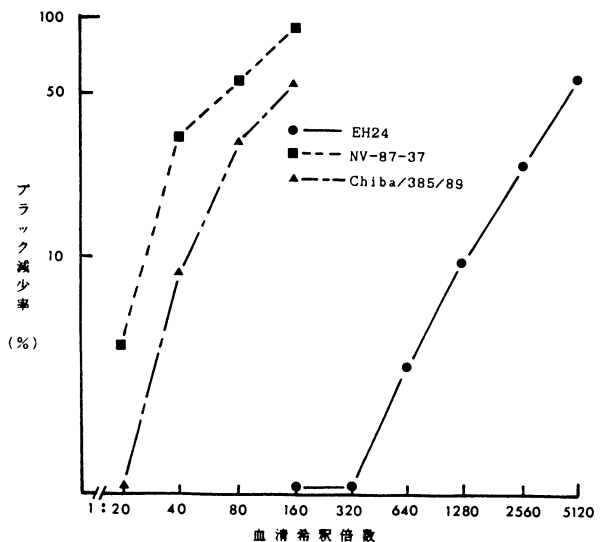


図3 EH24/70ウサギ抗血清(Lot.10)に対するブラック中和試験

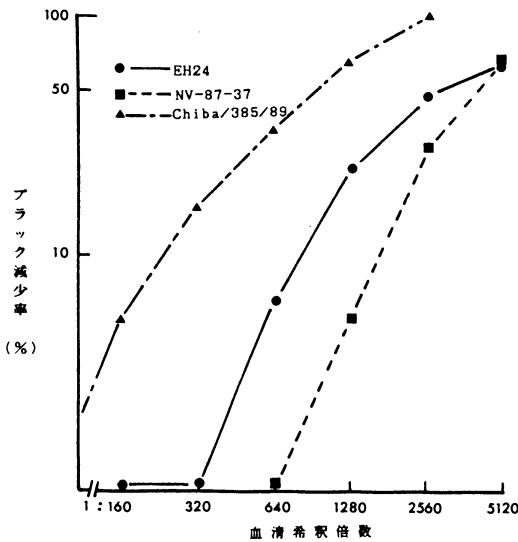


図4 NV-87-37ウサギ抗血清 (Lot.13) に対するプラック中和試験

5. 抗体調査

今回の流行後の1989年5月～6月に採血した茂原地区(茂原・長柄・長南)中学2年生血清200検体の抗体調査では、EH24/70株および分離株(Chiba/388/89)のいずれかに対する4倍以上の中和抗体保有者は5名で抗体保有率2.5%であった。今井ら⁹⁾、近藤ら¹⁰⁾は、CA24vの流行前後の保有率にほとんど差がなく数%の低い抗体保有率を示したことを報告している。今回中学生という限られた年齢群だけではあるが流行後の中和抗体保有率が2.5%と低かったことから、他の報告と考え合わせ、流行前後に住民の免疫状態に変化はなかったと推測される。本県においては、2年連続でCA24vの流行がみられ、また住民の抗体保有状況が低いことから今後も流行が危惧され、本ウイルスの動向に注目していく必要がある。

IV まとめ

1988年～1989年の本県におけるAHCおよびEKC患者より、1988年は22名中4名よりCA24vを、1989年は72名中43名よりCA24v、1名よりAdeno 3を分離した。今回分離したCA24vは、1989年をみると43/72(分離率59.7%)と分離率が非常に高かった。1989年に本県で分離したウイルスの3地区における各株間での抗原性に

差はみられなかった。プラックによる交差中和試験では、シンガポール株およびガーナ株とは異なる中和能を示した。1989年5月～6月に採取した茂原地区中学2年生のCA24vに対する抗体調査では、中和抗体保有率2.5%と低い保有率であった。今回の調査により、1988～1989年の本県におけるAHCおよびEKCの流行にCA24vが深く関わっていたことが明らかになった。

稿のおわりに際し、検体採取に御協力下さいました市立銚子総合病院・嶋田医院・成田赤十字病院・永吉の眼科病院の諸先生方ならびに関係各保健所の職員各位に深謝致します。

V 文献

- 1) 山崎修道:眼科疾患を起こすウイルスの最近の話題, 臨床とウイルス, 14, 2, 134-138, 1986.
- 2) 沖縄県公害衛生研究所, 他:急性出血性結膜炎からのコクサッキーA24(EH24型)の分離, 病原微生物検出情報, 71, 2, 1986.
- 3) 鈴木利壽, 他:神奈川県で確認されたCox. A24ウイルス変異株(EH24)による急性出血性結膜炎, 病原微生物検出情報, 80, 2, 1986.
- 4) 今井健二, 他:急性出血性結膜炎(AHC)からのコクサッキーA24(CA24)変異株(EH24)の分離-和歌山市, 病原微生物検出情報, 80, 2, 1986.
- 5) 山本保男, 他:徳島県におけるCox. A24変異株(EH24)の分離, 病原微生物検出情報, 83, 6, 1987.
- 6) 市村 博, 他:AHC様患者からのCA24の分離-千葉県, 病原微生物検出情報, 107, 4, 1989.
- 7) 酒井利郎, 他:千葉県のAHC, EKC様患者から分離したCox A24変異株の検討, 病原微生物検出情報, 128, 19, 1990.
- 8) 山崎修道:コクサッキーA24変異株による急性出血性結膜炎 1) 歴史的背景, 衛生微生物技術協議会第7回研究会口演要旨集, 73, 1986.
- 9) 今井健二, 他:和歌山県におけるEH24ウイルスの分離と疫学, 臨床とウイルス, 15, 3, 422-423, 1987.
- 10) 近藤真規子, 他:神奈川県で確認されたコクサッキーウイルスA24型変異株(EH24)による急性出血性結膜炎, 臨床とウイルス, 16, 3, 365-368, 1988.