

千葉県における咽頭結膜熱の集団発生

篠崎 邦子¹⁾, 山中 隆也²⁾, 時枝 正吉³⁾, 青山 智子²⁾,
池田 力³⁾, 碧井 猛³⁾, 木内 良春⁴⁾

Outbreaks of Pharyngoconjunctive Fever in Chiba Prefecture, 1991

Kuniko SHINOZAKI, Takaya YAMANAKA, Masayoshi TOKIEDA,
Tomoko AOYAMA, Chikara IKEDA, Takeshi AOI
and Yoshiharu KIUCHI

I はじめに

咽頭結膜熱 (PCF) は、発熱、咽頭炎、結膜炎を主症状とし小児に多くみられる疾患である。発生は、夏から秋にかけて多くみられ、特に夏にプールの使用を介在として流行を引き起こす¹⁻³⁾ことからプール熱とも呼ばれている。今回我々は、1991年6月から7月にかけて、千葉県館山市および隣接する三芳村の小学校においてPCFの集団発生を認め、ウイルス学的検索からアデノウイルス3型による感染を確認したので報告する。

II 材料および方法

1. 材料

館山市F小学校、三芳村M小学校で発生したPCF患者43名から眼ぬぐい液、うがい液を、またM小学校の患者からベア血清を採取した。

2. ウイルス分離

細胞は、HaLa細胞を用いた。検体接種した後、細胞変性効果 (CPE) の現れたものを陽性とした。分離ウイルスの同定は、アデノウイルス家兎免疫血清を用いマイクロタイター法で行った。

3. 血清反応

1) 中和試験

抗原は、分離ウイルスを用い100 TCID₅₀/0.025mlに調整した。患者血清は、4倍希釈後56°C30分非動化し二倍階段希釈した。ウイルス抗原と血清はそれぞれ0.025mlずつ等量混合し、37°C1時間反応させHaLa細胞に接種した。CPEの有無を指標としてウイルスが中和された最高希釈倍数の逆数を中和抗体価とした。

2) 補体結合 (CF) 試験

抗原は、市販品 (デンカ生研) アデノウイルス3型CF抗原を用い50%溶血法⁴⁾で行った。

4. DNA切断解析

今回の流行で分離されたアデノウイルス3型分離株と国立予防衛生研究所から分与を受けたアデノウイルス3型標準株を供試ウイルスとした。

ウイルスDNAの抽出、制限酵素による消化、電気泳動は鈴木の方法⁵⁾に準じて行った。

ウイルスDNAは感染細胞より抽出した。すなわち、25cm²培養瓶に増殖させたHaLa細胞にウイルスを感染させ、細胞全体にCPEが生じた時点で感染細胞をトリプシン処理により回収した。PBS (-) で洗浄後、VSB (50mMTris・HCl, 1mMEDTA, 100mMNaCl, pH7.5~8.0) に浮遊させ、ProteinaseKとSDSを加え、50°C温浴で一晩処理した。さらに、フェノール・クロロフォルム抽出を行い、エタノールで沈澱させた後、TE緩衝液 (10mMTris・HCl, 1mMEDTA, pH8.0) に浮遊させウイルスDNAとした。制限酵素は、BamHI, HindIII, SmaI, KpnI, XhoI (宝酒造) を使用し、添付の緩衝液を加え37°C1時間でDNAの消化を行った。電気泳動は、エチジウムブロマイド (0.5 μg/ml) を加えた0.8%アガロースゲルを用い、TAE緩衝液 (40mMTris・HCl, 20mMCH₃COOH, 2mMNa₂EDTA) で20V15時間行った。写真撮影は、紫外線照射で行った。

1) 千葉県衛生研究所

2) 千葉市保健所

3) 館山保健所

4) 木更津保健所

(1992年12月20日受理)

III 結果

1. 発生状況

1991年6月から7月にかけて、館山市およびその周辺の小学校でPCFの集団発生をみた。大きな流行のあっ

た2校についてその発生状況を図1に示した。館山市内のF小学校では、6月12日から患者の発生が始まり、6月28日にピークとなり(欠席率18%)、その後減少したが7月10日頃まで続いた。三芳村M小学校では、6月25日から患者発生を認め、6月30日から急増し、7月8日にピークとなり(欠席率14%)、7月15日頃終息した。プール使用が開始されたのは、両校とも6月初めで、使

用停止はF小学校では6月20日、M小学校では6月30日であった。両校ともプール使用停止8日後患者のピークをむかえていた。患者発生は、全学年におよび罹患率は50%に達していた。

臨床症状は、発熱、結膜炎、風邪様症状(一部咽頭炎を含む)で、特に発熱は特徴的で、38-39℃の高熱が50%以上にみられた。

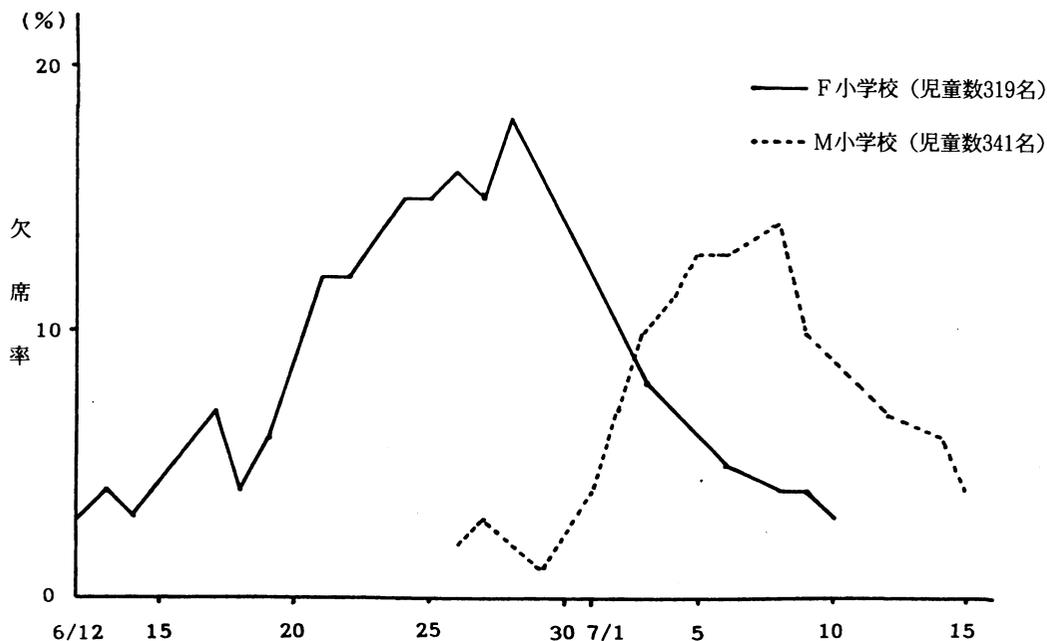


図1 F小学校・M小学校の患者発生状況

2. ウイルス分離

ウイルス分離成績を表1に示した。F小学校では18名中9名(眼ぬぐい液15検体中9検体、うがい液3検体中0)から、M小学校では25名中16名(眼ぬぐい液21検体中8検体、うがい液22検体中13検体)からウイルスを分離した。検体別のウイルス分離成績は、眼ぬぐい液が36検体中17検体、うがい液が25検体中13検体、分離率それぞれ47.2%、52.0%で、両検体に差はなかった。分離ウイルスは、全てアデノウイルス3型であった。

3. 血清反応

17ペア血清について分離ウイルスに対する中和抗体価を測定した。(図2)急性期血清のうち14名は8倍以下で、この回復期血清14検体中13検体は8~64倍の明かな抗体上昇を示したが、残り1検体は変動がなかった。急性期血清が32~64倍の3名は、回復期血清において抗体上昇は認められなかった。

また、アデノウイルス3型に対するCF抗体価を測定した。図3に示したように17名中13名に明かな抗体上昇

表1 ウイルス分離成績

	眼ぬぐい液		うがい液	
	検体数	ウイルス分離陽性数	検体数	ウイルス分離陽性数
F小学校	15	9	3	0
M小学校	21	8	22	13
計	36	17	25	13

を認め、中和抗体価と同様の結果であった。

4. DNA切断解析

アデノウイルス3型標準株と分離株30株について、5種類の制限酵素を用いてDNA切断パターンの比較を行った。分離株は全て同一のパターンを示した。各制限酵素による標準株と分離株のDNA切断パターンを図4に示した。分離株のパターンは、Hind IIIでは標準株と同一であったが、BamHI, Sma I, Kpn I, Xho Iではいずれも異なっていた。

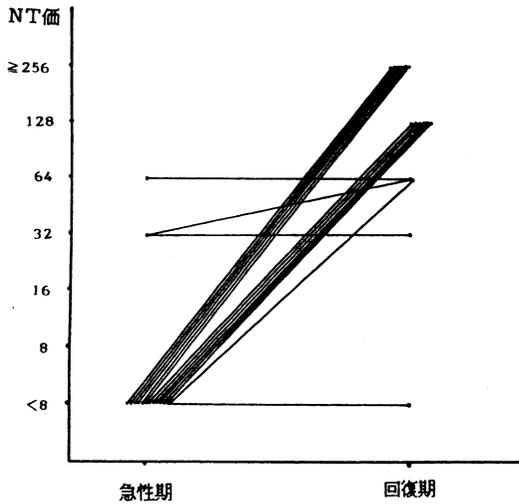


図2 17ペア血清の中和抗体価の変動

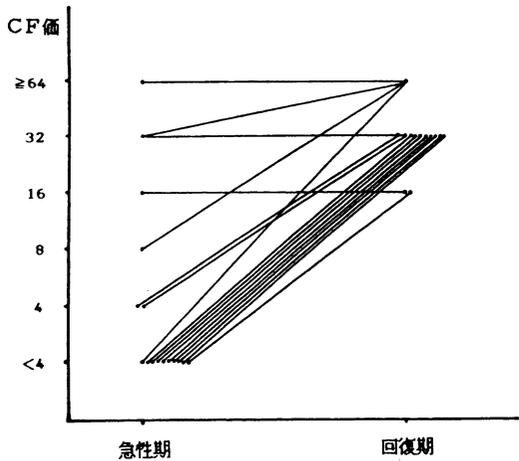


図3 17ペア血清の補体結合抗体価の変動

IV 考察

PCFは、夏季を中心として小児に多発する疾患で、しばしば学童間で集団発生を起こすことが知られ、その原因としてプール遊泳が流行の契機となることが多数報告されている¹⁻³⁾。今回我々は、1991年6月から7月にかけて県内の小学校でPCFの流行をみた。患者発生は、F小学校は6月20日から、M小学校は7月1日から急増し、その分布は両校とも一峰性の正規分布を示した。患者は全学年でみられ、罹患率は50%に達していた。これらのことから、患者は何らかの共通暴露を受けたと考えられ、プール遊泳が流行の要因の一つと推定された。

アデノウイルスは、夏かぜや流行性結膜炎の主な病原体で、プールはその感染の増幅場所となる可能性が高い

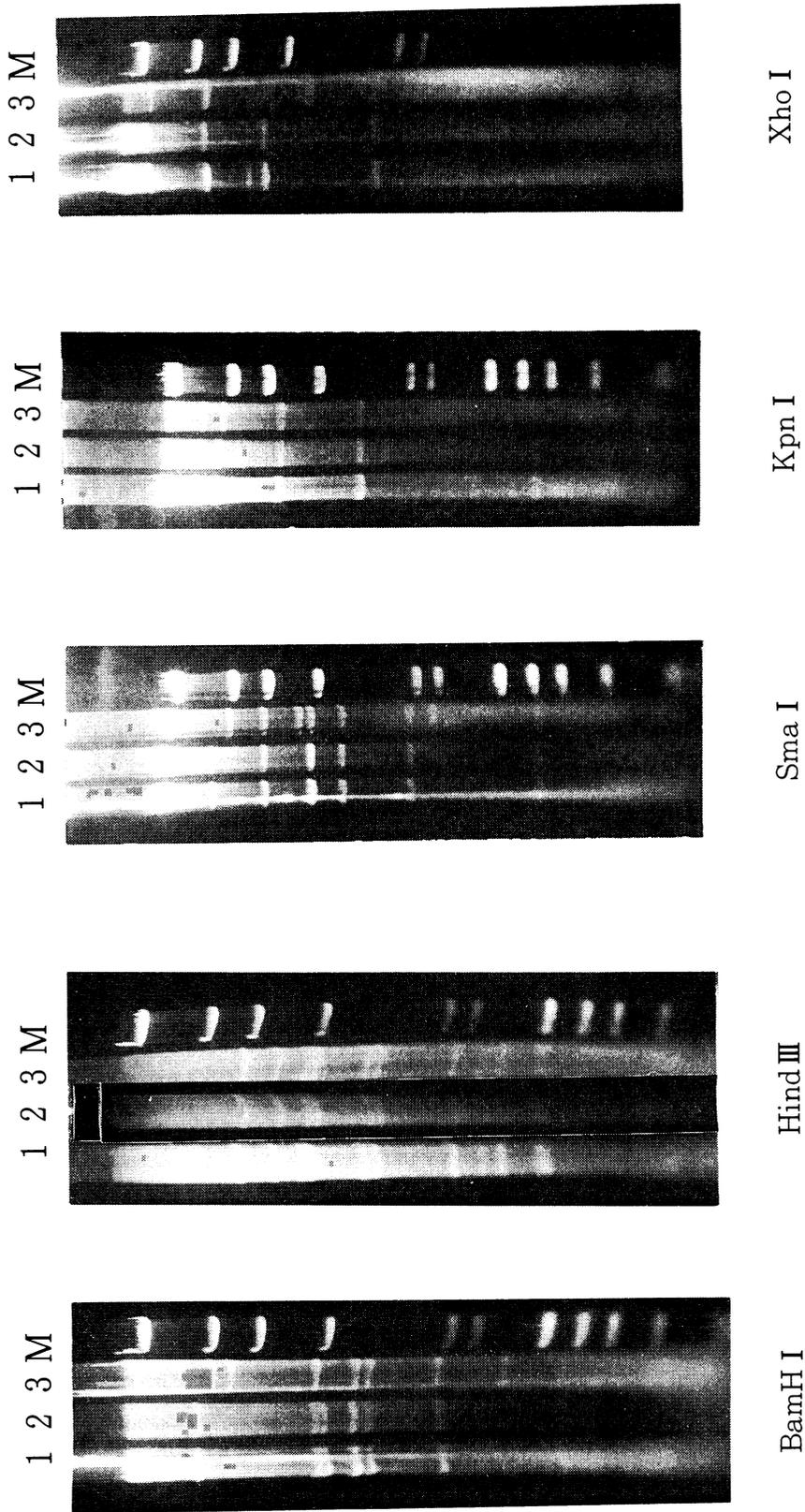
と思われる。今後PCFの予防のために、プールの残留塩素の管理を十分行う必要がある。また、今回の流行はプールの使用停止後も患者が増加し、終息まで20日の日数を要したことから、接触感染により流行が拡大したと思われ、患者発生後は、日常生活の衛生指導が重要と思われた。

今回分離したアデノウイルス3型について、5種類の制限酵素によりDNA切断解析を行った結果、分離株は全て同一のパターンを示した。このことから、今回の流行は同一のウイルスによる感染であったことが確認された。また、分離株のDNA切断パターンはHind IIIを除いた4種類の制限酵素で標準株と異なるパターンを示した。これまで、アデノウイルス3型について数多くのゲノムタイプが報告されている。Wadell⁹⁾は、BamH Iを用いて世界各地の分離株を解析し、標準株と異なるパターンを示すAd 3 aを報告した。Li⁷⁾は、12種類の制限酵素を用いて17種類のゲノムタイプをAndrian⁸⁾は6種類の制限酵素を用いて18種類のゲノムタイプを報告した。今回我々が分離したアデノウイルス3型は、Wadell, Liの報告したAd 3 a, Andrianの報告したD 3のパターンに一致していた。さらに、Li, Andrianは、ゲノムタイプの多くは類似性が高く、その類似性によって、標準株に似たゲノムタイプ (cluster 1) と標準株と異なるゲノムタイプ (cluster 2) の二つのclusterに大別し、Wadellの報告のAd 3 (cluster 1) とAd 3 a (cluster 2) に相当すると述べている。また、これらゲノムタイプは世界的には地理的分布の違いがみられ、cluster 1は、ヨーロッパ、アフリカ、オーストラリア、cluster 2はアメリカ、東アジアでみられると報告している。今回の分離株もcluster 2に属すると思われた。

日本のアデノウイルス3型のDNA切断解析では、野田⁹⁾が広島市で分離した株を6種類の制限酵素を用いて4つのゲノムタイプ (a-d) に分類し、大部分がその一つのゲノムタイプ (Ad 3 a) であったことを示している。この報告は、今回の我々の結果に一致しており、おそらくこのゲノムタイプが日本の主流と思われた。

V まとめ

1991年6月から7月にかけて千葉県館山市および隣接する三芳村の小学校において、PCFの集団発生を認め、ウイルス学的検索からアデノウイルス3型による感染を確認した。分離したアデノウイルス3型は、DNA切断解析により標準株と異なるゲノムタイプであった。



M: マーカー 1, 2: 分離株 3: 標準株
 (λ-HindIII, φ174-HaeIII)

図4 アデノウイルス3型(標準株および分離株)のDNA切断パターン

謝辞

貴重なるウイルス株および抗血清を分与いただきました国立予防衛生研究所吉井孝男先生に深謝します。

参考文献

- 1) 甲野礼作, 平山宗宏, 浜田忠弥, 芦原義守, 中野融 (1959): 昭和33年夏京都市内に流行した咽頭結膜熱に関する研究, 日本医事新報, 1844, 18~22.
- 2) 山岡邦夫, 佐竹利夫, 仲井信夫 (1961): 咽頭結膜熱の集団発生例について, 愛媛県衛生研究所年報, 32, 5~7.
- 3) 市村 博, 橋川皓江, 芦原義守 (1970): 1970年9月千葉県内小学校に発生した咽頭結膜熱の疫学及びウイルス学的考察, 千葉県衛生研究所年報, 18, 37~51.
- 4) 井上 栄 (1973): マイクロ法による補体結合試験, 臨床検査, 17-8, 18~27.
- 5) Suzuki N., Ueno T., Yamashita T., and Fujinaga K. (1981): Grouping of adenoviruses and identification of restriction endonuclease cleavage patterns of adenovirus DNAs using infected cell DNA: simple and practical methods., Microbiol. Immunol., 25(12) 1291-1301.
- 6) Wadell G. (1984): Molecular epidemiology of human adenoviruses., Curr. Top. Microbiol. Immunol., 110, 191-220.
- 7) Li Q. G. and Wadell G. (1988): Comparison of 17 genome types of adenovirus type 3 identified among strains recovered from six continents., J. Clin. Microbiol., 26, 1009-1015.
- 8) Andrian T., Best B., Hierholzer J. C. and Wingand R. (1989): Molecular epidemiology and restriction site mapping of adenovirus type 3 genotypes., J. Clin. Microbiol., 27, 1329-1334.
- 9) 野田 衛, 宮基良子, 池田義文, 松石武昭, 荻野武雄 (1991): 広島市で分離されたアデノウイルス3型および11型のDNA切断解析, 臨床とウイルス, 19-1, 56~61.