

## 集団下痢症由来のウイルス様粒子について

春日 邦子<sup>1)</sup> 山辺 靖子<sup>1)</sup> 浅岡 勲<sup>1)</sup> 時枝 正吉<sup>1)</sup>  
市村 博<sup>1)</sup> 曾田 研二<sup>1)</sup> 松野 重夫<sup>2)</sup> 向山 淳司<sup>2)</sup>

### A Small Round Virus-Like Particle Associated with Acute Gastroenteritis in Chiba Prefecture

Kuniko KASUGA<sup>1)</sup>, Yasuko YAMABE<sup>1)</sup>, Isao ASAOKA<sup>1)</sup>, Masayoshi TOKIEDA<sup>1)</sup>,  
Hiroshi ICHIMURA<sup>1)</sup>, Kenji SODA<sup>1)</sup>, Shigeo MATSUNO<sup>2)</sup> and Junji MUKOOYAMA<sup>2)</sup>

#### はじめに

秋から冬にかけて小児の間で多発する下痢症は白痢・仮性小児コレラと呼ばれていたが、長い間その病原体は確認されていなかった。1973年 Bishop ら<sup>1)</sup>は、急性胃腸炎児の十二指腸の生検材料からウイルス様粒子をはじめて発見し、その後、乳幼児下痢症の便からも同様の粒子が検出された<sup>2,3,4)</sup>。本粒子は、その形態的特徴からロタウイルスと呼ばれ、乳幼児下痢症の主たる病原体としてその病原性は確立している。

ロタウイルスの発見以来、各国で下痢症ウイルスについての関心が高まり、糞便を電子顕微鏡で観察する方法によって多くのウイルスが検出されるようになった。Norwalk 因子は、1972年 Kapikian ら<sup>5)</sup>によって検出された小型粒子である。小学校<sup>6)</sup>や乳児院<sup>7)</sup>の流行例からは、calicivirus が検出され、さらに新しい粒子として浦沢ら<sup>8)</sup>が音更因子<sup>オトツツ</sup>を、今野ら<sup>9)</sup>が SRC 因子を報告している。

今回、筆者らも県内F小学校において集団発生した急性胃腸炎の1患者糞便から、特徴的な形態を有するウイルス様粒子を検出したので、その発生状況および検出粒子の性状について報告する。

#### I 材料および方法

##### 1. 材料

1980年5月下旬から6月にかけて県内F小学校で発生した急性胃腸炎患者から採取した。糞便は7名から、血清は急性期と回復期(2週後)の組血清として6名、回

復期のみの単血清として6名から採取した。

##### 2. 電顕による観察

糞便材料は、Bishopら<sup>3)</sup>の方法に従って精製し電顕観察の材料とした。ウイルス粒子を検出した糞便材料と患者血清との抗原抗体反応を免疫電顕(IEM)法により検討した。いずれの試料も酢酸ウランによるネガティブ染色を施し、透過型電子顕微鏡(日本電子製 JEM 100S)を用い加速電圧80KVにて観察と写真撮影に供した。また、検出した粒子は塩化セシウムを用いた密度勾配遠心分画法により浮上密度の測定を行い、その分画を電顕観察により確認した。

##### 3. ウイルス分離および血清反応

10%糞便乳剤の遠心上清をGMK細胞、LLCMK<sub>2</sub>細胞およびVero細胞に接種し、3回継代した。また、糞便の細菌学的検査もあわせて行った。

血清について、ヒトロタウイルス(HRV)に対する免疫凝着赤血球凝集(IAHA)抗体を井上の方法<sup>10)</sup>に準じて測定した。

#### II 発生状況および臨床症状

1980年5月29日より6月5日にかけて、県内F小学校において、急性胃腸炎の集団発生をみた。患者の発症状況は、図1にみられるように5月31日の73名をピークとした分布を示し、一週間余りで終息した。これは共通一斉暴露を思わせるものであった。患者の発生は全学年におよび、特に5学年の児童では50%近くが発症したほか、職員33名中6名の患者がみられ、学校全体では787名中192名(24%)が罹患した。

臨床症状は腹痛・下痢を主徴とし、頭痛や発熱もみられたが、嘔吐は比較的少なかった。症状は全体的に軽く、2、3日で快復した。

1) 千葉県衛生研究所  
2) 国立予防衛生研究所  
(1981年10月6日受理)

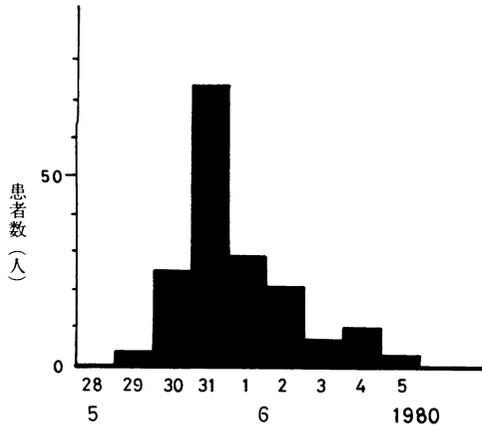


図1. 日別患者発生数

表1. 学年別患者数

学年	在籍数	患者数 (%)
1	102	14 (14)
2	134	20 (15)
3	134	33 (25)
4	136	35 (26)
5	122	59 (48)
6	126	25 (20)
職員	33	6 (18)
計	787	192 (24)

表2. 臨床症状

臨床症状	患者数 (%)
腹痛	162 (84)
下痢	142 (74)
頭痛	53 (28)
発熱	50 (26)
嘔気	42 (22)
嘔吐	22 (11)

### III 結果

#### 1. 糞便ウイルスの検出および性状

電顕観察を行った糞便7検体中1検体に、直径30~40 nmの球形のウイルス様粒子を検出した。粒子の形態は、辺縁が比較的明瞭で突起状のものがみられ、粒子表面にカプソメア（規則的配列構造物）と類似の構造がみられる。塩化セシウムを用いた浮上密度の測定では1.37~1.38g/mlであった。

今回検出したウイルス様粒子と浦沢らが検出している音更因子との関連性について調べた結果、音更因子抗血清とのIEM反応は陰性であり、血清学的類似性は否定

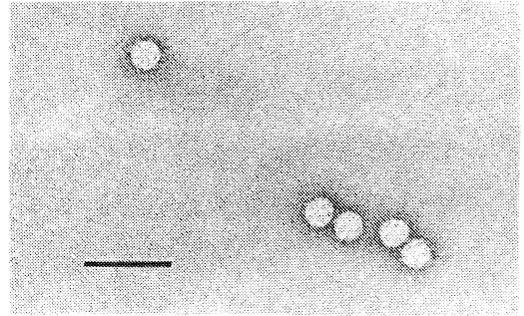


図2. 急性胃腸炎患者から検出されたウイルス様粒子 (図中の横線は100nmを表わす)

的であった。

なお、3種類の細胞 (GMK細胞, LLCMK<sub>2</sub>細胞およびVero細胞) を用いたウイルス分離はいずれも陰性であった。

糞便の細菌学的検査では、8名中7名からO91:H7の血清型の大腸菌が分離されたが、これまでのところ、この大腸菌の病原性については知られていない。

表3. 電顕的検査および血清反応

患者No.	年齢 (才)	EM	No. 1による IEM		IAHA 抗体 (HRV)	
			回復期	回復期	急性期	回復期
1	8	+	+			
2	9	-	-			128
3	8	-	-			16
4	8	-	-			32
5	8	-	-			256
6	9	-	-			64
7	8	-	-			
8	49				32	128
9	41				128	128
10	51				64	64
11	25				32	32
12	43				32	64
13	32				16	16

#### 2. 血清反応

急性胃腸炎をおこした患者の回復期血清について、検出ウイルス様粒子を抗原としたIEM反応を行った結果、粒子を検出したホモの血清のみに凝集がみられたが、他の患者血清はすべて陰性であった。

HRVに対するIAHA抗体の測定では、組血清の得られた職員6名中1名のみ有意な抗体価の上昇がみられた。

#### IV 考察

急性胃腸炎をひきおこすウイルスとして、ロタウイルスの他に Norwalk 因子, astrovirus<sup>11)</sup>, calicivirus, coronavirus<sup>12)</sup>, などが知られている。ロタウイルスは、2本鎖RNAとして分類学上の位置が確立され、その病原性も確立されている。その他のウイルスは、培養細胞で増殖しないことから、電顕的検索による検出が有力な手段となっている。病原性については、人体への感染実験を行った Norwalk 因子の例がある。

今回、本県下で発生した急性胃腸炎の患者糞便1検体から30~40nmの粒子を検出した。本粒子と患者血清とのIEM反応では、粒子を検出した血清において凝集がみられ、他の血清では反応がみられず、検出粒子と下痢症との関連性を明らかにすることはできなかった。

Norwalk 因子などの小型粒子による下痢症では、潜伏期間は24~48時間と短かく、ウイルスの排泄も発病後急速に消失することが知られている<sup>13)</sup>。食中毒様の症状を示すウイルス性下痢症では、その発生情報が保健所の食品衛生担当者を経由する場合が多く、そのため検体採取の時期が遅れることが少なくない。流行期間およびウイルスの排泄期間の短いウイルス性下痢症では、適切な検査材料を得ることが困難であることが多い。今回ウイルス粒子の検出率が低かった理由の一つとして、このような要因が考えられる。

今回の流行の細菌学的検査では、病原性は認められていないが、同じ血清型の大腸菌を分離した。Bishopら<sup>4)</sup>は、新生児室のロタウイルスの流行の際、同時に病原大腸菌を分離し、下痢症の原因として大腸菌が二次的に作用したと考えている。また、ロタウイルスは、ほとんどが乳児期に感染を経験し抗体を保有するため、学童や成人が下痢を発症するには、ロタウイルス以外の何らかの要因が関与している可能性があり、その要因の一つとして細菌の相乗作用が考えられている<sup>15)</sup>。これらのことから、今回分離した大腸菌は、下痢症の成立に、何らかの形で関与していることを考慮する必要がある。今後、このような症例を多く集め、病因について検討をさらに加えたいと思う。(今回検出したウイルス様粒子は astrovirus に類似しているとの示唆を、1981年3月仙台市での文部省総合研究A下痢症班会議において受けたが、今のところ血清学的確認は行っていない。)

#### V まとめ

1980年5月下旬から6月初旬にかけて、千葉県下の小

学校において集団発生した急性胃腸炎の糞便から1例、小型粒子を検出した。本粒子は、浮上密度1.37~1.38 g/mlで、血清学的には音更因子と異なるものであった。

#### 謝辞

ウイルス様粒子の検出にあたって、貴重な御教示を賜った札幌医大浦沢正三教授ならびに谷口孝喜博士に御礼申し上げます。また、検体採取にご協力いただいた県衛生部、木更津保健所および学校関係者各位に御礼申し上げます。

#### 参考文献

- 1) Bishop, R. F., Davidson, G. P., Holmes, I. H. and Ruck, B. J.: Lancet, 2, 1281, 1973.
- 2) Flewett, T. H., Bryden, A. S. and Davies, H.: Lancet, 2, 1497, 1973.
- 3) Bishop, R. F., Davidson, G. P., Holmes, I. H. and Ruck, B. J.: Lancet, 1, 149-151, 1974.
- 4) 鈴木 宏, 遠藤広子, 五十嵐裕, 中川 洋, 田村庸信, 今野多助: 小児科臨床28, 37-42, 1975.
- 5) Kapikian, A. Z., Wyatt, R. G., Dolin, R., Thornhill, T. S., Kalica, A. R. and Chanock, R. M.: J. Virol., 10, 1975-1981, 1972.
- 6) 大石 功, 前田章子: 第26回日本ウイルス学会演説抄録, p. 327, 1978.
- 7) Chiba, S., Sakuma, Y., Kogasaka, R., Akihara, M., Horino, K., Nakao, T. and Fukui, M.: J. Med. Virol., 4, 249-254, 1979.
- 8) Taniguchi, K., Urasawa, S. and Urasawa, T.: J. clin. Microbil., 10, 730-736, 1979.
- 9) 今野多助, 鈴木 宏, 角田 行, 千葉 良, 石田名香雄: 臨床とウイルス7, 383-385, 1979.
- 10) 井上 栄: 臨床とウイルス9, 53-57, 1981.
- 11) Madeley, C. R. and Cosgrove, B. P.: Lancet, 2, 124, 1975.
- 12) Caul, E. O., Paver, W. K. and Clarke, S. K. R.: Lancet, 1, 1192, 1975.
- 13) 今野多助: 日本医事新報2721, 125, 1976.
- 14) Bishop, R. F., Hewstone, A. S., Davidson, G. P., Tounley, R. R. W., Holmes, I. H. and Ruck, B. J.: J. Clin. Path., 29, 46-49, 1976.
- 15) 浦沢正三, 秋葉澄伯: 臨床とウイルス7, 339-349, 1979.