

平成23年に高知県で流行したエンテロウイルス

松本 一繁・鍋島 民・細見 卓司^{*1)}・松本 道明・今井 淳^{*2)}

Enteroviruses Outbreaks Detected by Infectious Agents Surveillance System in Kochi, 2011

Kazushige MATSUMOTO, Tami NABESHIMA,
Takushi HOSOMI, Michiaki MATSUMOTO, Toru ANDOU

【要旨】 エンテロウイルスは手足口病、ヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎などの疾患の原因として知られており、特に小児で重要である。高知県では感染症動向調査によりこれらの疾患の発生動向及び病原体の検出を行っている。毎年夏季に患者報告が多く、これに伴って原因ウイルスとしてエンテロウイルスが検出されている。平成23年は年初からエンテロウイルスが検出されており、無菌性髄膜炎などは全国的な流行を反映してエコーウイルス（以下EV）6やコクサッキーウイルスA（以下CA）16が検出されていたが、手足口病、ヘルパンギーナで非常に多くのCA6を検出した。平成23年高知県下のエンテロウイルス流行はCA6によるもので、CA6は非流行期とされる冬季の平成22年第50週からすでに散発的に検出されており、翌年流行の兆しがあったことが示唆された。流行を形成したCA6は遺伝子的にも比較的近似であることが系統樹解析によって裏付けられている。主要な流行を形成した遺伝子型は主に国内で静岡、佐賀で分離された09s82/Saga/JPN/2009株遺伝子型に近似で平成22年第50週に検出され、平成23年初期から中期の流行を形成していた。このことは非流行期におけるウイルス検出とその傾向が、翌シーズンの流行ベースとなる可能性を示している。このように本調査によるエンテロウイルス血清型、遺伝子型データの蓄積と解析は、高知県下での流行ウイルス型の予測に有用であり、さらなるデータの蓄積が必要である。

Key words：エンテロウイルス、コクサッキーウイルスA6、手足口病、ヘルパンギーナ
Enterovirus, Coxsackievirus A6, Hand, foot and mouth disease; HFMD, Helpanguina

I はじめに

エンテロウイルスは、ピコルナウイルス科に属するポリオウイルス、A群コクサッキーウイルス（以下CA）、B群コクサッキーウイルス（以下CB）、エコーウイルス（以下EV）、エンテロウイルス（68～71型）など多数のRNAウイルスの総称である。ウイルスは直径約30 nmのエンベロープを持たない正二十面体、60個の蛋白質サブユニットと+鎖RNAで構成される強固な粒子である。感染様式は経口的であり、胃や腸管内の環境条件や多くの酵素類に抵抗する。ヒトのさまざまな臓器

で増殖するため、手足口病、ヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎、感染性胃腸炎、ウイルス性肺炎などの原因ウイルスとして報告されている。特に小児において重要な疾患である。ウイルスは血清型ごとに免疫は成立するが抗原的に交差しないため、複数のウイルスが流行すると一度感染治癒しても再び同じ疾患にかかることもある。高知県においても初夏から秋にかけて毎年流行し、時に大流行することがある¹⁾。

手足口病、ヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎は感染症動向調査により小児・基幹定点医療機関から定期的に患者数の発生報告を受け、検体を収集、検査して診断

*1) 高知県食肉衛生検査所 *2) 元高知県衛生研究所

された疾患の病原体について調査を行っている。

今回、本調査により県内のエンテロウイルス感染症の流行について若干の知見が得られたので報告する。

II 材料と研究方法

検査材料は、感染症動向調査により、指定した医療機関から送付された患者の咽頭拭い液739検体、髄液59検体、便220検体の合計1018検体を用いて遺伝子学的および培養細胞による中和反応を行った。

遺伝子学的検査ではQiap viral RNA mini kitで遺伝子を抽出し、SuperScript® II RNase H-Reverse Transcriptaseによる逆転写後、エンテロウイルス特異的なプライマー E-F、E-R²⁾でスクリーニングした。陽性となった検体を、CODEHOP VP1 RT-PCR法³⁾およびBigDye® Terminator v3.1 Cycle SequencingKit、Applied Biosystems 3130ジェネティックアナライザを用いて塩基配列を決定した。決定した塩基配列はBLAST検索により最も一致率の高い遺伝情報を分離ウイルス遺伝子とした。また、CA6は分子進化遺伝子分析 (MEGA) ソフトバージョン4.0 (以下MEGA4⁴⁾)分子疫学的解析を行った。解析できた遺伝子情報のうちCA6について近隣接合法、bootstrap1,000回で分子疫学系統樹を作成した。培養細胞による中和反応は、FL、RD-18S、Vero、LLC-MK2の各細胞に接種し、細胞変性反応(CPE)を起こした上清をエンテロウイルス血清抗体により中和してウイルスを同定した。疫学情報は感染症動向調査により得られた疾患名ごとに分類した。

III 結果

エンテロウイルスの分離は平成22年第47週から平成24年第29週までに1018検体検査を行い、中和抗体による同定8件、遺伝子学的検査169件の合計177件検出した。分離したウイルスの内訳は表1のとおりであった。分離ウイルスの週ごとの推移は図1～5のとおりであった。遺伝子解析ができた検体のCA6についてMEGA4による系統樹解析を行った(図6)。

表1 平成22年第50週～平成24年第29週までの分離数

分離ウイルス名	分離数
Coxsackievirus A6	80
Coxsackievirus A9	28
Coxsackievirus A16	17
Coxsackievirus A4	13
Echovirus 6	11
Coxsackievirus A10	9
Coxsackievirus B1	4
Echovirus 7	4
Coxsackievirus B4	3
Echovirus 25	3
Coxsackievirus B2	2
Coxsackievirus A12	1
Coxsackievirus B3	1
Coxsackievirus B5	1
	177

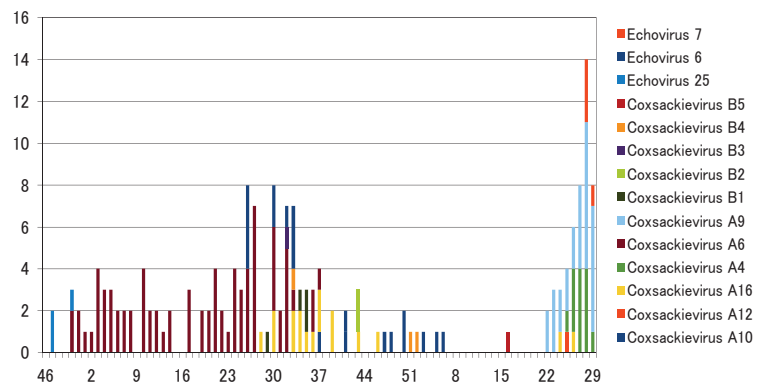


図1 エンテロウイルス週別分離状況

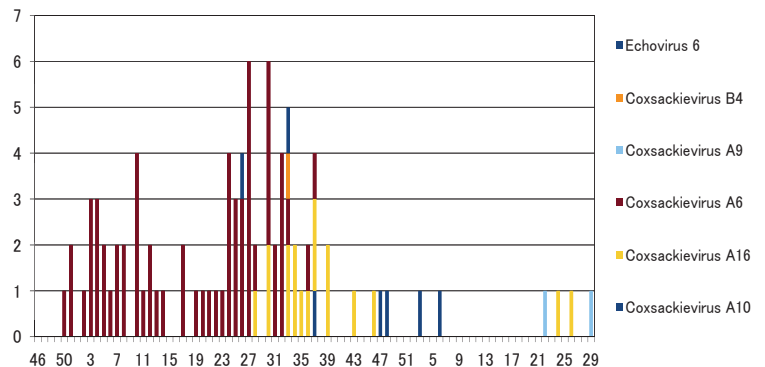


図2 手足口病由来エンテロウイルス週別分離状況

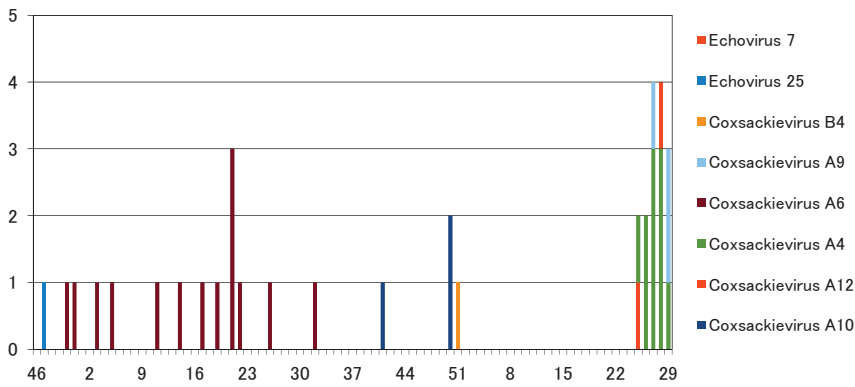


図3 ヘルパンギーナ由来エンテロウイルス週別分離状況

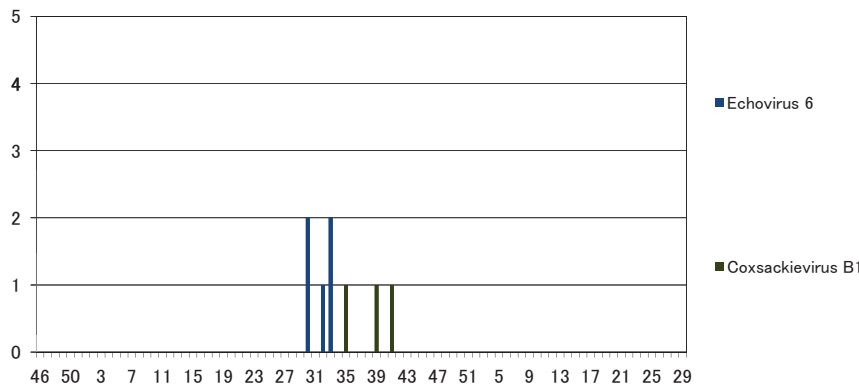


図4 無菌性髄膜炎由来エンテロウイルス週別分離状況

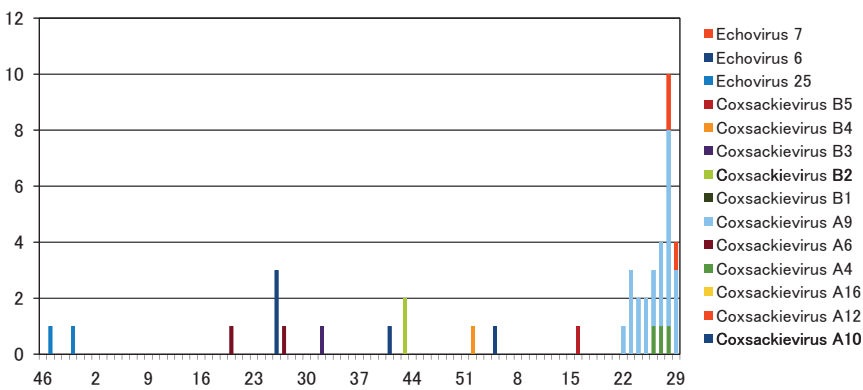


図5 その他疾患由来エンテロウイルス週別分離状況

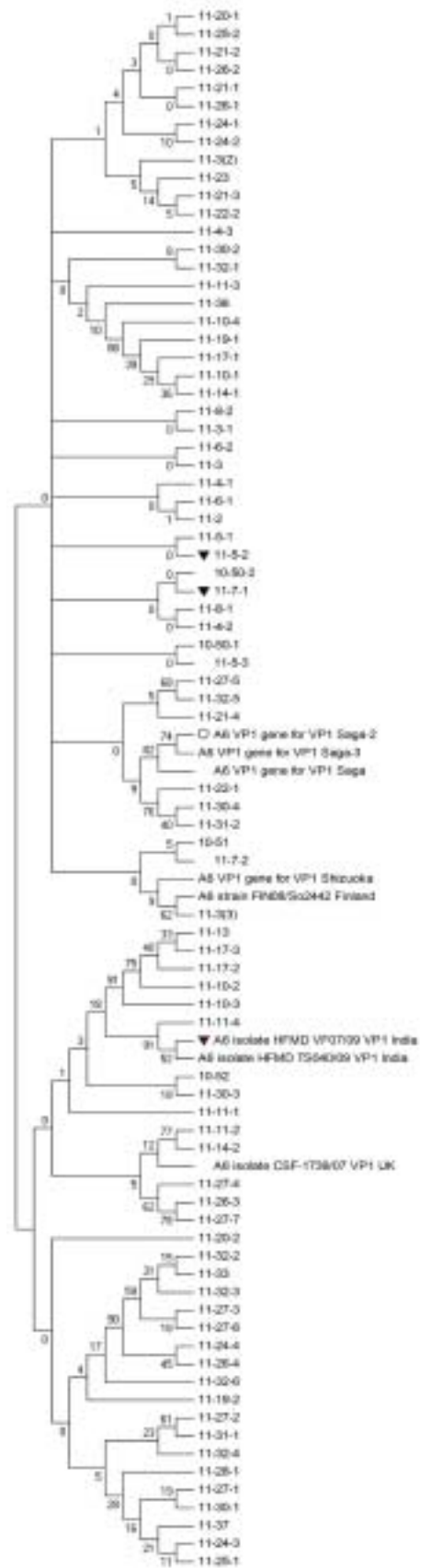


図6 CA6分子疫学的系統樹（単位 p-distance：ウイルス株の標記は分離年一分離週一分離週番号）

検出ウイルスの推移は、平成23年に手足口病やヘルパンギーナではCA6が主要な流行ウイルスであったが、無菌性髄膜炎ではEV6やCB1が主要な流行株であった。全国の検出状況⁵⁾と比較すると無菌性髄膜炎は全国の流行株を反映していたが、手足口病では全国でCA16が、ヘルパンギーナではCA10であり、流行のピークではこれらのウイルスも検出されていたものの高知県内主要流行ウイルスのCA6と異なった。

CA6について系統樹解析を試みたところ、図6のように大きく2グループに分かれた。主要なCA6ウイルス株は平成22年第50週及び51週に分離され、平成23年に静岡で分離された株や佐賀の分離株09s82/Saga/JPN/2009に一致し、ほぼ同一であった。これに対して平成22年第52週分離株をはじめとするグループはインドもしくはイギリス分離株に近く、流行期間中散発的に検出されていた。同じウイルス血清型による流行でも遺伝子型が異なった。

IV 考 察

エンテロウイルスは手足口病、ヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎などの疾患の原因として知られており、特に小児で重要である。高知県では感染症動向調査によりこれらの疾患の発生動向及び病原体の検出を行っている。毎年夏季に患者報告が多く、これに伴って原因ウイルスとしてエンテロウイルスが検出されている。

平成23年は年初からエンテロウイルスが検出されており、無菌性髄膜炎などは全国的な流行を反映してEV6やCA16が検出されていたが、手足口病、ヘルパンギーナで非常に多くのCA6を検出した。平成23年高知県下のエンテロウイルス流行はCA6によるもので、CA6は非流行期とされる冬季の平成22年第50週からすでに散発的に検出されており、翌年流行の兆しがあり、この年の流行を形成したことがうかがえる。このような

CA6の流行は平成17年にも発生している⁶⁾。

流行を形成したCA6は遺伝子的にも比較的近似であることが系統樹解析によって裏付けられている。主要な流行を形成した遺伝子型は主に国内で静岡で分離されたShizuoka 18株や佐賀で分離された11s122/Saga/JPN/2011株の遺伝子に近似で、平成22年第50週に検出され、平成23年初期から中期の流行を形成していた。このことは非流行期におけるウイルス検出とその傾向が、翌シーズンの流行ベースとなる可能性を示している。

このように本調査によるエンテロウイルス血清型、遺伝子型データの蓄積と解析は、高知県下での流行ウイルス型の予測に有用であり、さらなるデータの蓄積が必要である。

IV 文 献

- 1) 千屋誠造ら：高知県におけるコクサッキーA群ウイルスの疫学（1981年～1993年）、高知衛研報，40，33-38，1993
- 2) 谷脇妙ら：エンテロウイルス検出用RT-PCRプライマーの検討，高知衛研報，54，29-34，2008
- 3) Nix WA, *et al.*, J Clin Microbiol 44:2698-2704, 2006
- 4) Comeron JM: A method for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous substitutions per site. *Journal of Molecular Evolution* 41:1152-1159, 1995
- 5) 国立感染症研究所病原微生物検出情報：<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr/510-surveillance/iasr/graphs/1532-iasrgv.html>
- 6) 千屋誠造ら：高知県におけるコクサッキーウイルスA6型による手足口病の流行，高知衛研報，51，37-41，2005