

ノート

福井県内におけるエコーウイルス13型による無菌性髄膜炎の流行

東方 美保・中村 雅子・松本 和男・浅田 恒夫*¹・堀川 武夫

An epidemic of aseptic meningitis associated with echovirus type 13 in Fukui Prefecture.

Miho TOHO, Masako NAKAMURA, Kazuo MATSUMOTO, Tsuneo ASADA, Takeo HORIKAWA

1 はじめに

当センターでは1979年から、福井県内でのエンテロウイルスの動態調査をおこなっている。近年では1997/98年にエコーウイルス30型が全国的に大流行したが、そののちは複数の種類のウイルスがそれぞれ限られた地域で小規模に流行する傾向が続いた。

そんな中、2001年9月半ばに無菌性髄膜炎を発症した生後1ヶ月の男児髄液より、エコーウイルス13型(E13)が分離された¹⁾。E13は、1999年まで世界的に稀なウイルスであり、日本国内での分離報告も1980年の1件のみと、ほとんど確認されていなかった。そこで県内住民血清における中和抗体保有率を調べたところ、2000・2001年秋期の時点で非常に低く、大流行につながる可能性が危惧されたので、2002年2月には県内の医療関係者に対し注意を喚起した¹⁾。

いっぽう福井県でのE13分離と前後する2001年秋から2002年にかけて全国的にE13流行が広がり^{2)~4)}、福井県においても2002年3月から流行が本格化して無菌性髄膜炎患者からの分離が相次いだ¹⁾。そこで福井県内におけるE13を主要病原体とする無菌性髄膜炎の流行について概要を報告する。

2 材料および方法

2.1 検査材料

12医療機関(福井県感染症発生動向調査病原体検査4定点を含む小児科および神経内科)から当センターに搬入された、無菌性髄膜炎あるいはその疑いがあると臨床的に診断された患者(106症例)から2002年2~11月にかけて採取された髄液(109検体)・咽頭拭い液(11検体)・糞便(8検体)を検査対象材料とした。また6医療機関からは検体搬入患者以外の無菌性髄膜炎患者情報(156症例)についても提供を受け、あわせて疫学的解析を行った。

2.2 検査方法

2.2.1 培養細胞を用いたウイルス分離

各種検体(糞便はMEM培地を加えて10%乳剤とする)

は、粗遠心後の上清を0.45μmフィルターにて濾過滅菌し各種培養細胞(CaCo-2・RD-18S・HEp-2細胞等)に接種した。少なくとも2代目まで継代し細胞変性効果の有無を観察した。エンテロウイルス様の細胞変性効果が現れたウイルス分離株は、シュミットプール血清、抗エコーウイルスプール血清、または単一抗血清(デンカ生研)を用いた中和試験で同定した。

2.2.2 RT-PCR法による分離ウイルス株からのエンテロウイルスVP1遺伝子増幅および増幅産物のダイレクトシーケンス法による核酸塩基配列決定

ウイルス分離株の一部について、SV total RNA extraction Kit (Promega) のキット添付説明書に従ってウイルスRNAを抽出した。VP1遺伝子部分にObersterらが設定したエンテロウイルス検出用プライマー⁵⁾を用いてRT-PCRを行い、得られた増幅産物の核酸塩基配列を、BigDye Terminator v3.0 Cycle Sequencing Kitを用いたダイレクトシーケンス法により、ABI PRISM 377で決定した。

3 結果および考察

ウイルス分離を試みた106症例(128検体)のうち、75症例(84検体)からウイルスが分離された(図1および表1)。もっとも多かったのはE13で、71症例(79検体)から分離

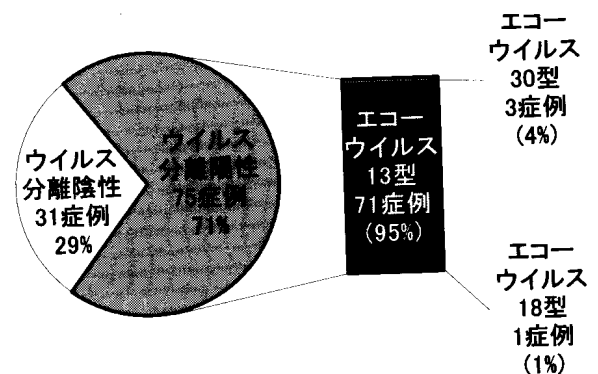


図1. 無菌性髄膜炎患者からのウイルス分離結果

*¹ 福井県自然保護センター

表1. 検体種類別ウイルス分離結果

検体種類別	髄液	咽頭拭い液	糞便	総計
エコーウイルス13型	66	8	5	79
エコーウイルス18型	1			1
エコーウイルス30型	2		2	4
陰性	40	3	1	44
総計	109	11	8	128

された。他のウイルスとしては、エコーウイルス18型（E18）が1症例（1検体）、エコーウイルス30型（E30）が3症例（4検体）分離されたのみであった。

なお搬入された検体の種類は、無菌性髄膜炎疑いであったためかほとんどが髄液（109検体）で、咽頭拭い液（11検体）・糞便（8検体）は少なかった。ウイルス分離陽性であった75症例のうち、髄液以外の検体からしか分離できなかったのは8症例で、残り67症例は髄液から分離可能であり、無菌性髄膜炎の原因病原体としての信頼性が高いと思われた。

なお、県内の定点医療機関からの発生患者報告数を健康福祉センター・健康増進課がまとめている感染症発生動向調査患者報告数によれば、2002年の無菌性髄膜炎については、わずかな患者発生しか見られなかった過去3年とは異なり、第26週（6月末）をピークとする大きな流行が確認された（図2）。また、当センターへの無菌性髄膜炎患者検体搬入症例数から判断すると、1990/91・1997/98年のE30による大流行に次ぐ、過去24年間において最大規模の流行といえる（図3）。

協力医療機関から当センターに提供された情報のみの患者も含め、ウイルス分離結果を患者発病週ごとに棒グラフ化した。同時に感染症発生動向調査による患者報告数を折れ線グラフで示すと、増減傾向が棒グラフとほぼ重なった（図4）。福井県全体としては、第7週ごろから患者発生が目立ちはじめ、第13週すなわち3月終わりごろからE13が分離されるようになった。第19週（5月初め）ごろからは患者数が急速に増大し、6月終わりでピークに達した後減少に転じ、9月ごろにはほぼ終息した、という流行状況だった。

さらに各地区別に同様の解析を行ったところ、流行の立ち上がりで地区的な差が見られた（図5）。すなわち、2月終わりから患者が発生し始めた丹南地区では3月終わりからE13分離例が見られるのに対し、他の5地区は第19週以降になってからである。したがって県内での流行は、丹南地区で始まりしばらくは限局的な地区内流行にとどまっていたが、第19週ごろから他の5地区へと広がったと推測された。それが結果として、全県的に見たとき患者の急増として現れたと考えられる。

また、流行終盤の患者発生が二州地区に限られることも明らかとなった。他の5地区ではほとんど患者発生が目立

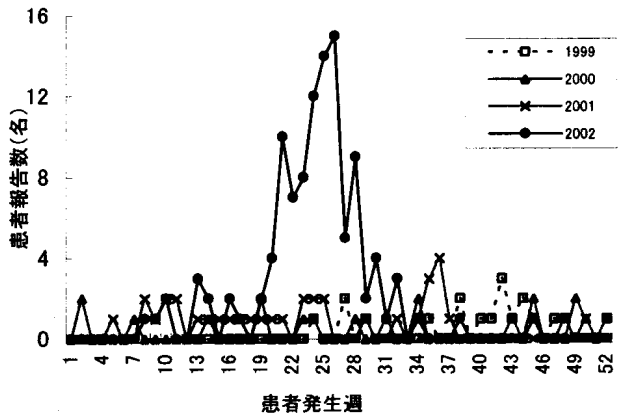


図2. 無菌性髄膜炎患者の発生動向

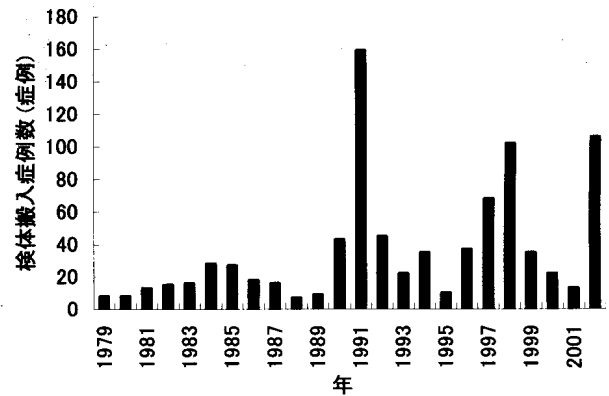


図3. 無菌性髄膜炎患者ウイルス分離検査搬入症例数の変動

たなくなった第38週以降に、E30の分離例が二州地区に3症例集中していた。福井県内でのE30の前回流行（1997/98年）は嶺北地方が中心であり二州地区を含めた嶺南地方での患者発生がごく少なかったことからすると、E30未感染の感受性者が二州地区には比較的多く、E30が侵入した場合広がりやすい状況にあったと考えられる。

なお2002年のE30流行は、他に広島⁴⁾や岡山など中国地方を中心とする西日本で報告されているものの、二州地区でのE30分離との関連性についてははっきりせず、検討の余地が残る。

市町村別の地図を無菌性髄膜炎患者発生数に応じて塗り分け、ウイルス分離数を円でプロットした（図6）。8週間ごとの移り変わりを追うと、第3週～第10週には鯖江市および周辺市町村で少し患者発生がみられたただけだったが、第11週～第18週でE13分離数および患者発生数とともに増え、第19週～第26週には患者発生もE13も全県域に広がり、その後各地区で徐々に終息してゆく、という動きがうかがえた。

E13分離患者の年齢分布を調べたところ、無菌性髄膜炎の一般的な好発年齢とされる幼児・学童期にとどまらず、

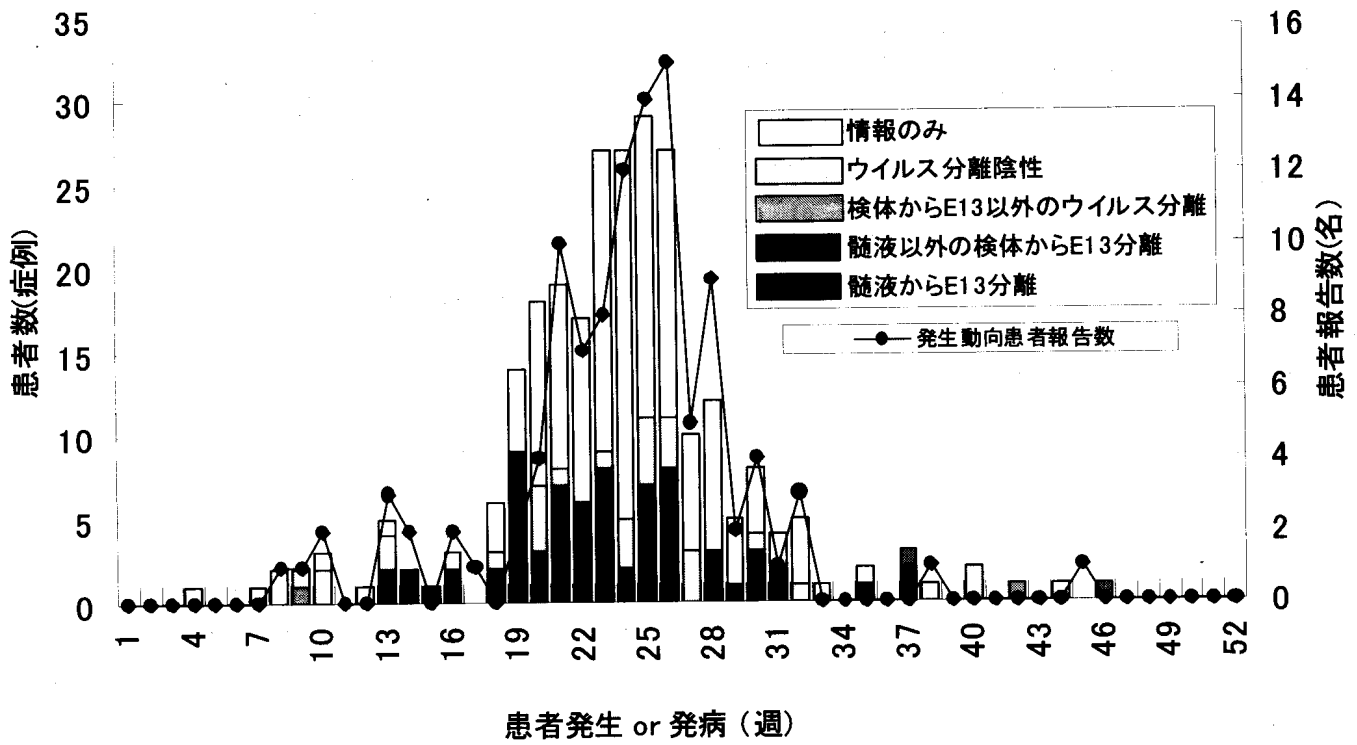


図4. 無菌性髄膜炎患者の発生動向とウイルス分離結果 (福井県全域)

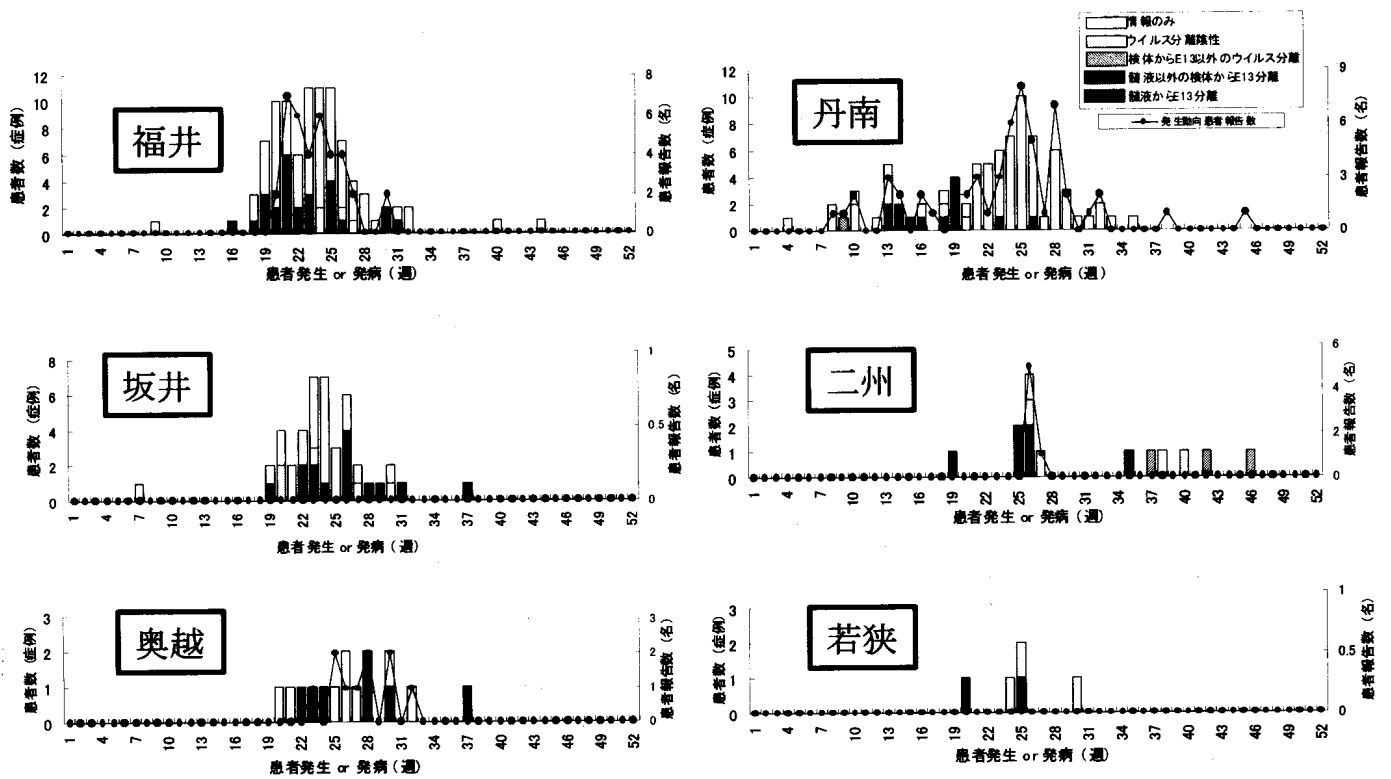


図5. 無菌性髄膜炎患者の発生動向とウイルス分離結果 (地区別)

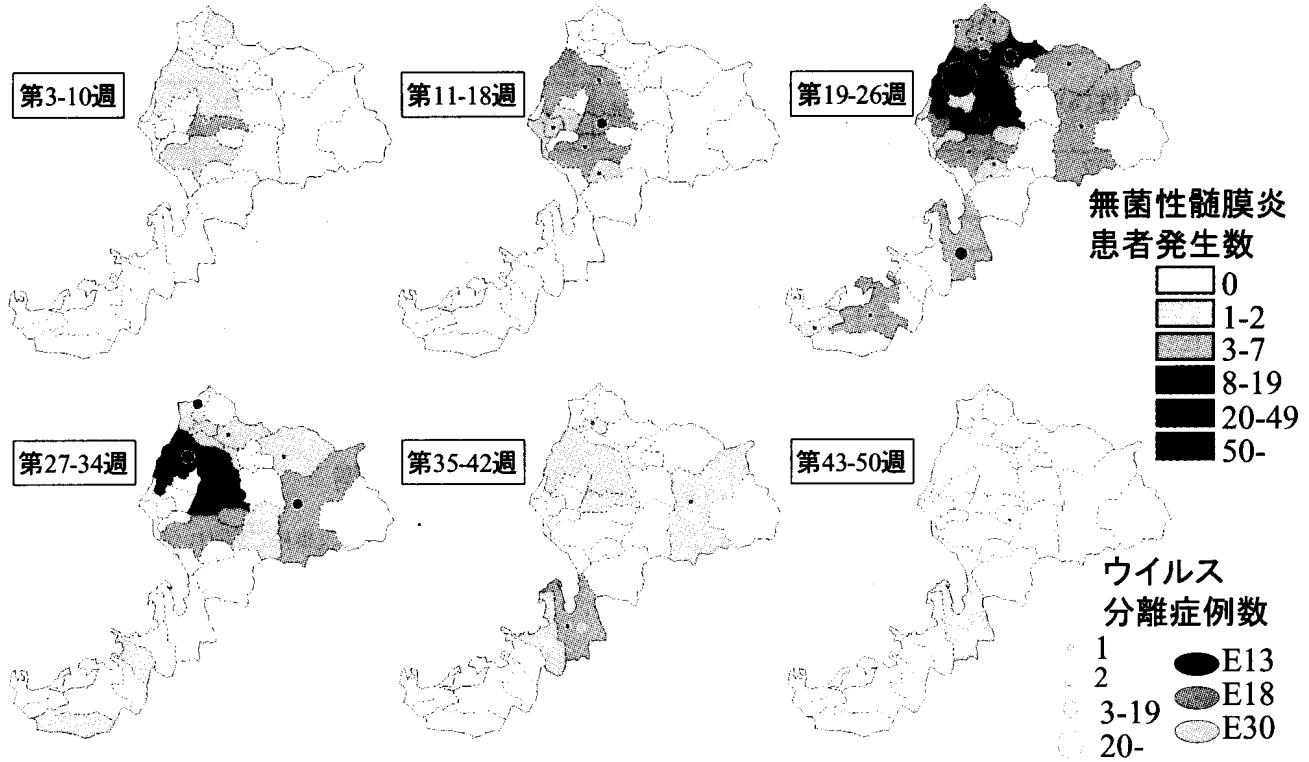


図6. 無菌性髄膜炎患者発生および分離ウイルスの広がり

年長児や成人にも及んだ(図7)。以前に行った県内住民血清における抗E13中和抗体保有率調査結果から推定された、幅広い年代層にわたる感受性者の蓄積状態¹⁾とよく関連する発生状況であった。

また検体が搬入された全ての患者(106症例)に情報のみ提供を受けた患者(156症例)を加えた262症例を男女別かつ年齢別にグラフ化した(図8)ところ、E13分離患者での分布と比較して、低年齢層の割合がやや高くなったものの、図7とほぼ同じ傾向を示した。さらに、成人患者が集中している年齢層は、20代後半から40歳にかけてであり、小児期の子を持つ親の年代と重なった。担当医からの情報提供によれば、家族内感染、特に子から親への感染拡大を伴う症例が数例含まれており、このような感染経路により

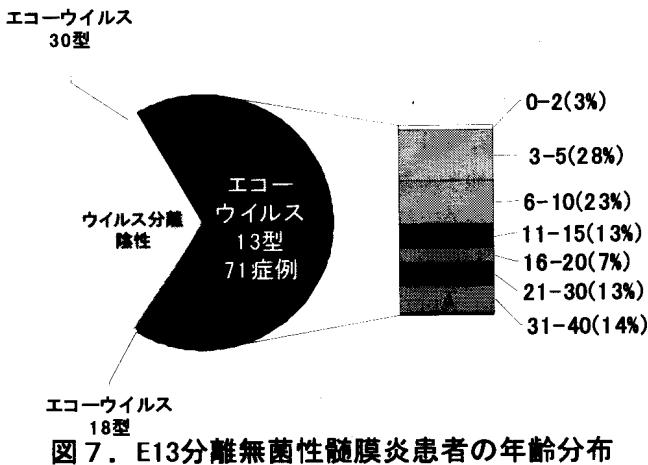


図7. E13分離無菌性髄膜炎患者の年齢分布

感染が拡大した可能性も高い。

E13は、1953年に分離されたDel Carmen株が標準株であり、世界的に初めての本格的な流行として、2000年にイングランドやウェールズ⁶⁾、ドイツ⁷⁾、2001年にアメリカ⁸⁾、そして、日本国内(福井県内での初分離例と前後して福島県²⁾、大阪市³⁾など、2002年には広島⁴⁾など各地、

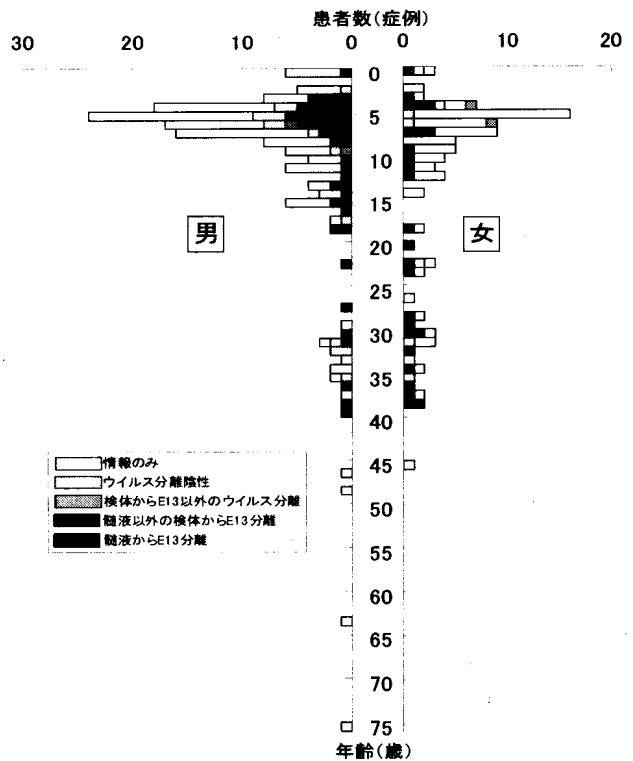


図8. 無菌性髄膜炎患者の年齢分布

表2. VP1領域遺伝子における相同性比較

相同性(%)		核酸 (279 nt)						
		Fukui/02	Hiroshima/02	Fukushima/01	Fukui/01	Magdeburg/01	Krefeld/00	Del Carmen/53
アミノ酸 (93 a.a.)	Fukui/02		98.9	99.3	97.8	97.5	99.3	79.6
	Hiroshima/02	100.0		99.6	98.2	97.8	98.9	80.3
	Fukushima/01	100.0	100.0		98.6	98.2	99.3	79.9
	Fukui/01	100.0	100.0	100.0		99.6	97.8	79.2
	Magdeburg/01	100.0	100.0	100.0	100.0		97.5	78.5
	Krefeld/00	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0		80.3
	Del Carmen/53	94.6	94.6	94.6	94.6	94.6	94.6	

における分離が報告されている。福井県内での分離株の一部についてVP1遺伝子領域塩基配列を決定し、FASTAプログラムを用いて類似配列を検索したところ、表2に示した国内外の2000～2002年E13流行株（標準株以外は 流行地/年 の形式で表記）が、核酸レベルで97～99%、アミノ酸レベルでは100%、と高い相同性を示し、遺伝的に高度に類似していることが確認された。

一方標準株Del Carmen株に対しては、核酸レベルでの相同性が79%とやや低く、ウイルスの由来に隔りがある可能性が示された。しかし、アミノ酸レベルでの相同性が94.6%と高くタンパク質としての変異は少ないため、標準株との抗原性の差は小さいと考えられた。実際、福井での分離株は、標準株を用いて作成された抗血清で容易に中和されている。

E13の本格的な流行は初めてであり、今後どのように流行が繰り返され定着してゆくのか、新型ウイルス侵襲の一つのモデルケースとしても、注意深く監視してゆくことが必要と考えられる。

4 ま と め

2002年福井県において大規模な無菌性髄膜炎の流行が発生したので、106症例（128検体）の患者検体についてウイルス分離を試みる一方、無菌性髄膜炎患者情報（284症例）について疫学的解析を行った。

地区別の患者発生状況およびウイルス分離結果から判断すると、2月中旬ごろから丹南地区で見られはじめた患者発生が4月下旬あたりに福井・坂井など他地区へ広がり、7月初め頃ピークに達し9月中旬でほぼ終息に向かった、今回の無菌性髄膜炎流行の主要病原体はE13であると推定された。

さらにE13福井県内分離株のVP1遺伝子部分の塩基配列を解析したところ、2000～2002年に国内外で流行したE13分離株に対し高い相同性を示し、遺伝的に高度に類似していることが確認された。

5 謝 辞

検体採取および患者情報収集にご協力いただきました後記の臨床医の方々（敬称略、順不同）に深謝いたします。

福井県立病院	小児科	春木 伸一
公立丹南病院	小児科	布施田 哲也
福井県立病院	神経内科	野口 もえ子
福井社会保険病院	小児科	渡辺 康宏
福井医科大学附属病院	第二内科	筒井 広美
市立敦賀病院	小児科	西尾 夏人
公立小浜病院	小児科	原 慶和
町立三国病院	小児科	小畑 浩一郎
福井医科大学附属病院	小児科	鈴木 孝三
福井愛育病院	小児科	筒井 淳奈
ふじもとこどもクリニック		藤本 巖
福井赤十字病院	小児科	轟 夕起子

参 考 文 献

- 1) 東方美保他：エコーウイルス13型による無菌性髄膜炎の流行および県内住民抗体保有状況—福井県, IASR, 23, 172-173 (2002)
- 2) 菅野正彦他：髄膜炎患者からのエコーウイルス13型の分離—福島県, IASR, 22, 317-318 (2001)
- 3) 久保英幸他：エコーウイルス13型の分離状況—大阪市, IASR, 22, 121 (2002)
- 4) 高尾信一他：エコーウイルス13型および30型による無菌性髄膜炎の流行—広島県, IASR, 23, 196 (2002)
- 5) Oberste MS et al. : Comparison of Classic and Molecular Approaches for the Identification of Untapeable Enteroviruses., J.Clin.Microbiol., 38, 1170-1174 (2000)
- 6) :Viral meningitis associated with increase in echovirus type 13., Commun Dis Rep CDR Wkly,

- 10, 277-280 (2000)
- 7) Diedrich S et al. : Aseptic meningitis in Germany associated with echovirus type 13., BMC Infect Dis : 1 (1), 14 (2001)
- 8) :Echovirus type 13--United States, 2001., MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 50, 777-780 (2001)