

特異中和抗体価を指標としたエコーウイルス 13 型に対する血清疫学調査

東方美保・中村雅子・春木伸一*・松本和男・堀川武夫

Seroepidemiological Studies of Echovirus Type 13 in Fukui Prefecture

Miho TOHO, Masako NAKAMURA, Shinichi HARUKI, Kazuo MATSUMOTO, Takeo HORIKAWA

1 はじめに

エンテロウイルスは、急性熱性疾患、発疹症、中枢神経系疾患などさまざまな疾患を引き起こす病原体であり、当センターでは 1979 年から、無菌性髄膜炎・手足口病・ヘルパンギーナ等の患者由来検体からのウイルス分離を通して、福井県内での動態調査を行っている。

特に無菌性髄膜炎では、病原ウイルスの種類と流行規模に一定のパターンが存在することが明らかとなってきた。すなわち、B 群コクサッキーウイルスなどは 1～3 年の短期周期で検出され地域限局的な小流行に終わりがちなこと、それに対しエコーウイルスは 6 年以上の長い周期ごとに発生が観察されることが多くウイルスの種類によっては大規模な流行となる可能性があること、などである¹⁾。

県内におけるエンテロウイルスの流行では、エコーウイルス 30 型による 1983 年、1990/91 年、1997/98 年の無菌性髄膜炎の流行がもっとも大規模であったが、それに次ぐ規模として、2002 年のエコーウイルス 13 型 (E13) による無菌性髄膜炎の流行²⁾が挙げられる。

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が、福井県では 2001 年 9 月中旬に無菌性髄膜炎を発症した生後 1 ヶ月の男児髄液より E13 が 1979 年の調査開始以来初めて分離された³⁾。その後 2001 年秋から 2002 年にかけて全国的に流行が広がり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ぎ結果的に大流行となった²⁾。

そこで、この E13 による無菌性髄膜炎の大流行の前後に採取した県内住民血清を用い、E13 について現在と過去の感染状況を明らかにする目的で血清疫学調査を行ったので報告する。

2 材料と方法

2.1 材料

A 病院職員の血清、および、A 病院・B 病院で治療のため

に採取された血清の残部を用いた。それぞれの年齢区分で 20 検体ずつ、0～69 歳までの全 9 区分で計 180 検体を目標として採取した。

その結果、流行前としては 2000 年 9～10 月に 152 検体、2001 年 10～11 月に 176 検体、流行後としては 2003 年 9～10 月に 180 検体を採取できた。

2.2 方法

中和抗体価はマイクロプレート中和試験法で測定した。100TCID₅₀/25 μ L のウイルス液と、等量の希釈した血清を混和し、37℃、60 分反応させた後、HEp-2 細胞に接種して CPE を抑制するかどうかを観察した。まず 8 倍希釈血清を用いたスクリーニングの後、8 倍陽性血清について連続 2 倍段階希釈し、CPE を抑制した最高希釈倍数の逆数を中和抗体価とした。

攻撃ウイルスにはエコーウイルス 13 型 Fukui 株 (2001 年 9 月福井県内の無菌性髄膜炎患者より分離した、Fukui/491/2001 株) を用いた。また 2003 年に採取した血清の一部については、エコーウイルス 13 型標準株である DHL-53 Del Carman 株を攻撃ウイルスとした場合の中和抗体価も測定した。

3 結果

3.1 流行前の中和抗体保有状況

2000 年 9～10 月に県内住民 152 名から採取した血清のエコーウイルス 13 型 Fukui 株に対する中和抗体価は、表 1 のとおりであった。8 倍陽性者が 40 歳以上で 5 名確認されただけであり、全体の抗体保有率は 3.3%であった。また、無菌性髄膜炎患者から初めてエコーウイルス 13 型 Fukui 株が分離された直後の 2001 年 10～11 月に採取した血清では、3.4%の抗体保有率であった (表 2)。

3.2 流行後の中和抗体保有状況

2003 年 9～10 月に採取した県内住民血清の中和抗体価は、表 3 のとおりである。全年齢層の平均抗体保有率は 40.6%と、流行前の抗体保有率 (表 1, 2) にくらべ大幅に上昇

* 福井県立病院

表1. 年齢区分別の中和抗体保有率(2000年 9～10月採取)

年齢区分 (歳)	検体数	エコーウイルス13型(Fukui株)に対する中和抗体価								陽性数	保有率 (%)
		<×8	×8	×16	×32	×64	×128	×256	≥×512		
0～4	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
5～9	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
10～14	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
15～19	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
20～29	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
30～39	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
40～49	20	18	2	0	0	0	0	0	0	2	10.0
50～59	12	9	3	0	0	0	0	0	0	3	25.0
60～69	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
計	152	147	5	0	0	0	0	0	0	5	3.3

中和抗体価8倍以上を陽性＝抗体保有とする

表2. 年齢区分別の中和抗体保有率(2001年 10～11月採取)

年齢区分 (歳)	検体数	エコーウイルス13型(Fukui株)に対する中和抗体価								陽性数	保有率 (%)
		<×8	×8	×16	×32	×64	×128	×256	≥×512		
0～4	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
5～9	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
10～14	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
15～19	20	19	0	1	0	0	0	0	0	1	5.0
20～29	20	19	0	1	0	0	0	0	0	1	5.0
30～39	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
40～49	20	17	2	0	1	0	0	0	0	3	15.0
50～59	20	19	1	0	0	0	0	0	0	1	5.0
60～69	16	16	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
計	176	170	3	2	1	0	0	0	0	6	3.4

中和抗体価8倍以上を陽性＝抗体保有とする

表3. 年齢区分別の中和抗体保有率(2003年 9～10月採取血清)

年齢区分 (歳)	検体数	エコーウイルス13型(Fukui株)に対する中和抗体価								陽性数	保有率 (%)
		<×8	×8	×16	×32	×64	×128	×256	≥×512		
0～4	20	8	2	1	1	0	1	2	5	12	60.0
5～9	20	5	1	0	1	0	7	2	4	15	75.0
10～14	20	8	1	0	1	1	3	4	2	12	60.0
15～19	20	18	1	1	0	0	0	0	0	2	10.0
20～29	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
30～39	20	13	1	0	2	2	2	0	0	7	35.0
40～49	20	14	0	1	2	1	1	1	0	6	30.0
50～59	20	15	1	3	0	1	0	0	0	5	25.0
60～69	20	6	4	2	6	1	1	0	0	14	70.0
計	180	107	11	8	13	6	15	9	11	73	40.6

中和抗体価8倍以上を陽性＝抗体保有とする

した。年齢区分別に抗体保有率の変動をグラフ化(図1)し、中和抗体価の分布状況も考慮したところ、抗体保有状況の変動傾向は次の5グループに大別された。

① 0～4歳・5～9歳・10～14歳の3区分

保有率の増加が60.0～75.0%と高く、2003年の中和抗体価の分布も128倍以上が陽性の過半数を占めた。

② 15～19歳・20～29歳

3回の調査を通して保有率が0.0～10.0%と低かった。

③ 30～39歳

保有率の上昇は35.0%で、中和抗体価は64倍を中心とした分布状況であった。

④ 40～49歳・50～59歳の2区分

2000年・2001年の調査でもわずかながら抗体保有が確認されていた年齢区分であり、保有率増加率は最大20.0%

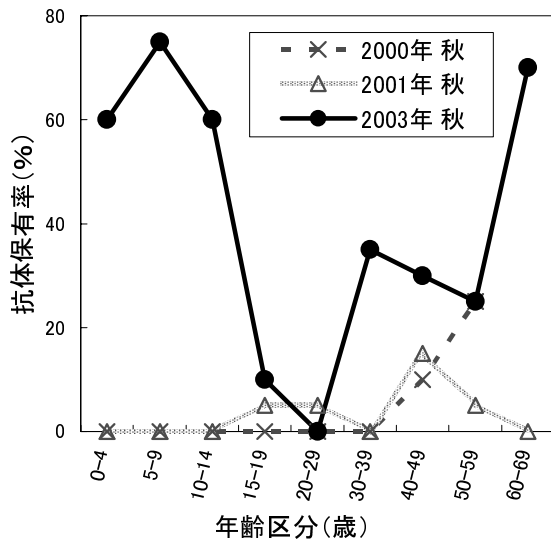


図1. 抗体保有率の変動

だった。

⑤ 60～69歳

70.0%と高い保有率増加を示したが、中和抗体価は32倍を中心とする低めの値で分布していた。

3.3 標準株に対する中和抗体価の測定および比較

流行ウイルスの抗原性を調べるため、2003年に採取した血清の一部について、標準株に対する中和抗体価を測定し、Fukui株(県内分離株)に対する中和抗体価と比較した(表4)。ややFukui株に対する値が高めであったが、ほぼ同ような反応を示した。

4 考察

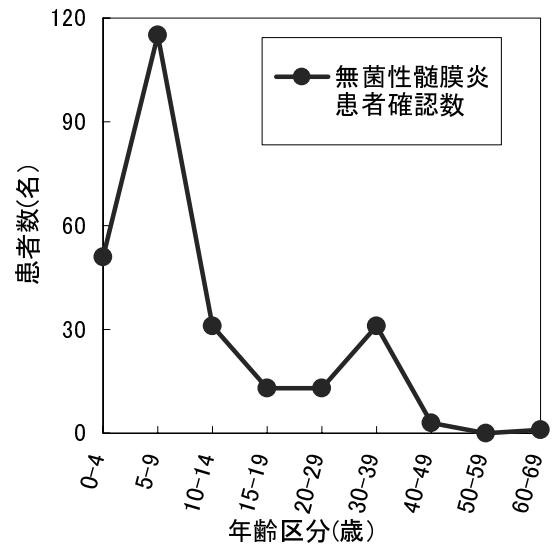


図2. 無菌性髄膜炎患者確認情報

表4. 標準株とFukui株での中和抗体価の差

		標準株	
		< ×8	×8
Fukui株	< ×8	32	2
	×8	4	0

		標準株				
		< ×64	×64	×128	×256	≥ ×512
Fukui株	×128	1	3	4	0	1
	×256	1	0	1	3	1
	≥ ×512	0	0	1	3	5

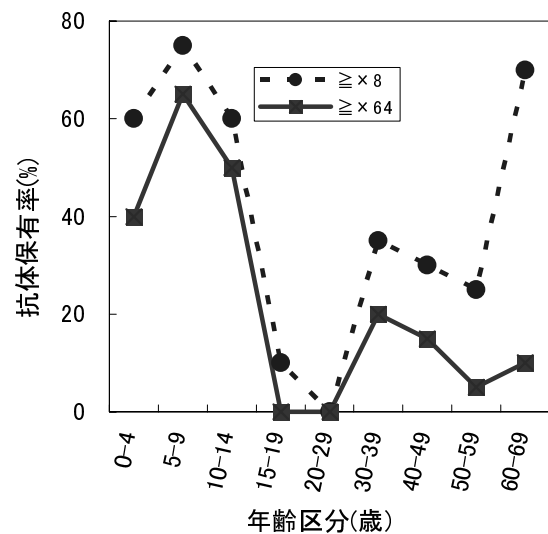


図3. 2003年中和抗体価の分布

まず、流行前の抗体保有状況についてであるが、2000 年・2001 年どちらの調査でも、抗体保有率は約 3%と非常に低かった。この結果によれば E13 に対する地域的免疫度はほぼ皆無であり、いったんウイルス侵淫が始まれば大流行につながりかねない、ということで、2002 年 2 月には県内の医療関係者に対し注意を喚起した³⁾が、その後危惧した通りの大きな流行となった。

2002 年の、E13 が主要病原体と推定された無菌性髄膜炎流行における患者発生状況を解析する²⁾と、患者の 75%以上が集中していた 14 歳以下の年齢層が流行の中心になっていたと推定された(図2;医療機関からの無菌性髄膜炎患者報告集計数)。今回の調査結果ではまさにその年齢区分で抗体保有率の大幅な上昇が確認され、E13 の流行を裏付けるデータとなった。さらに③30～39 歳も、無菌性髄膜炎患者がやや多かった年齢区分であったが、中和抗体価の上昇が確認された。この年齢区分は、流行の中心であった乳幼児・小児の親の年代にあたり、接触機会が多いために感染拡大の機会も多かったと想像されており、実際に血清疫学的にも感染の広がりを確認できた。このように、抗体保有率の変動と無菌性髄膜炎患者確認数に相関性が認められた。

また、①の年齢区分では抗体保有率から 60.0～75.0%が E13 に感染したと推定されるが、無菌性髄膜炎を発症したのはその感染者のうちのごく一部であった。すなわち、E13 の無菌性髄膜炎発症指数は非常に低いことが判明した。

一方、⑤60～69 歳の高年齢者層も高い抗体保有率を示した。現在の小児科中心の調査形式では高齢者患者数を把握することは難しく、実態は不明であるが、思った以上に易感染宿主層なのかもしれない。しかし、抗体産生能力は低年齢層にくらべ低いことが判明した。流行後に 128 倍以上の高抗体価を示す人の割合(図3)が、陽性者全体で 48%(35/73)を占めるものの、その大半は低年齢者層に限られていたことから明らかである。

日本国内への E13 の侵淫については、広島県⁵⁾や山形県⁶⁾で 2001 年採取の血清を用いた調査において、50 歳以上の年齢層で約 50%以上の抗体保有率が測定されたことから、以前にも侵淫していた可能性が高いとする報告がある。福井県での 2000 年の調査結果においては、50 歳以上の年齢層においても抗体保有率は低く、以前に侵淫があったとは考えにくい結果が得られており、地域によりウイルスの流行が異なっていた可能性が示唆された。

また、標準株に対する中和抗体価を測定し、Fukui 株(県内分離株)に対する中和抗体価と比較した結果、ヒトの血清を用いる限り大きな差は見られず、中和に関する抗原性状はほぼ同じであると考えられた。これは、Fukui 株が、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⁶⁾こととも合致する。

なお、E13 は 2003 年以降、福井県内では全く分離されず、その動向を捉えにくくなっている。しかし、無菌性髄膜炎などの発症には至らないまでも、不顕性感染などによるウイルス侵淫が続いている可能性もある。今回のような血清疫学調査を

さらに続けられれば、以前の調査結果と比較することで、新たな流行があるのかどうかを知ることができる。今後もウイルス分離検査と連動させつつ必要な時期に血清疫学調査を行って、E13 の監視を続けていくことが大切であろう。

5 まとめ

2002 年福井県において E13 による無菌性髄膜炎が大規模に流行したので、流行前(2000 年・2001 年)と流行後(2003 年)の血清を用い、E13Fukui 株に対する中和抗体価を測定する血清疫学調査を行った。

その結果、2000 年・2001 年採取の血清では 3%と非常に低い抗体保有率であったのに対し、2003 年採取の血清では、40%まで上昇した。特に抗体保有率が高かったのは 14 歳以下と 60～69 歳の年齢区分であり、60～75%に及んだ。2002 年の無菌性髄膜炎流行の中心となった年齢層である 14 歳以下、またその親の年代にあたる 30～39 歳は、中和抗体価自体も 64 倍以上が多い高値での分布であり感染によって抗体を獲得したと考えられた。また、2003 年に採取した血清の一部を用いて、E13 標準株および Fukui 株に対する中和抗体価を測定し比較したが、大きな差は見られず、抗原的な変異は推定されなかった。

6 謝辞

血清採取にご協力いただきました県民、医療機関および健康福祉センターの方々に感謝いたします。

7 参考文献

- 1) 松本和男他:福井県における無菌性髄膜炎起因エンテロウイルスの流行周期,福井県衛生研究所年報,第 35 集,46-50(1998)
- 2) 東方美保他: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,福井県衛生環境研究センター年報,第 1 号,100-105 (2003)
- 3) 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)
- 4) 国立感染症研究所感染症情報センター:無菌性髄膜炎関連エンテロウイルスの動向 1999～2002,IASR,23,193-194(2002)
- 5) 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)
- 6) Mizuta K et al.:Re-emergence of echovirus type 13 infections in 2002 in Yamagata, Japan., J Infect, 47(3),243-247(2003)