

長野県における手足口病患者からのウイルス分離状況 (2004年～2008年)

内山友里恵¹・畔上由佳¹・粕尾しず子¹
吉田徹也¹・薩摩林一代¹・白石 崇¹

キーワード：手足口病，エンテロウイルス，発生動向調査事業

1. はじめに

手足口病 (hand, foot and mouth disease) は，口腔粘膜および手や足などに現れる水疱性の発疹を主症状とした急性ウイルス感染症であり，乳幼児を中心に夏季に流行する疾患である。病原ウイルスは主に，コクサッキーウイルス A 群 16 型 (以下 CA16) やエンテロウイルス 71 型 (以下 EV71) で，その他として，コクサッキーウイルス A 群 6 型 (以下 CA6)，9 型，10 型などがある。手足口病は，年によって流行するウイルスが入れ替わり，流行規模にも変化がみられることが知られている^{1), 2)}。

EV71 に感染した場合は，髄膜炎，脳炎などの中枢神経の合併症を引き起こす割合が，比較的高いことが明らかとなっており，EV71 が流行しているシーズンは，手足口病患者の経過を注意深く観察し，合併症に対する警戒を行う必要がある³⁾。中国においては 2008 年 3 月～4 月に EV71 感染の流行が発生し，20 名以上の患者が神経原性肺水腫などの合併症で死亡したとの報告がなされている⁴⁾。また，EV71 以外の CA16 や CA6 が，急性脳症患者から検出されたとの報告もあることから^{5), 6)}，これらの検出状況についても監視が必要である。

このような中で，長野県における手足口病の病原ウイルス分離状況は，EV71 が高率に分離された 2006 年に高橋ら⁷⁾が報告したが，それ以外は無かった。今回，長野県において 2004 年～2008 年の 5 年間における手足口病の病原ウイルス分離状況および発生状況の概要をまとめたので報告する。

2. 検査対象と方法

2.1 検査対象

検査対象は，感染症発生動向調査事業において

2004 年～2008 年の 5 年間に長野県内の定点医療機関で，手足口病として臨床診断された患者から採取された 143 検体とした。その内訳は，咽頭ぬぐい液 141 検体，糞便 1 検体，舌潰瘍部擦過物 1 検体であった。

2.2 ウイルス分離同定方法

ウイルスの分離は，次のとおり実施した。咽頭ぬぐい液および舌潰瘍部擦過物は攪拌後，3000rpm で 20 分間遠心分離した。糞便は試料 1g に高濃度抗生物質 (Penicillin 500 u/ml および Streptomycin 500 μ /ml) を含む PBS (Phosphate-buffered saline) 8.5ml およびクロロホルム 1.5ml を加え，激しく攪拌後，3000rpm で 20 分間遠心分離した。遠心分離上清液 100 μ l を Vero, HEp-2, MDCK, LLC, Vero9013 および RD-18s 細胞に接種し，35 $^{\circ}$ C，5% CO₂ 下で一週間培養した。判定は細胞変性効果 (cytopathic effect : 以下 CPE) の出現をもってウイルス分離陽性とし，CPE が認められなかったものはさらに 3 代まで継代培養を行った後，判定した。

細胞培養でウイルス分離陽性と判定されたものは，病原体検査マニュアル⁸⁾ に準じ，中和試験を用いてウイルス同定を試みた。

2.3 遺伝子学的検査方法

中和試験で同定が困難だった場合，培養上清液から RNA を抽出し，病原体検査マニュアル⁸⁾ に準じ，Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction 法 (以下 RT-PCR 法) を用いてエンテロウイルスの遺伝子検出を試みた。さらに，エンテロウイルスと確認されたものは，EV71 および CA16 を同定するために，山崎ら⁹⁾の方法により Nested Polymerase Chain Reaction 法 (以下 Nested-PCR 法) を実施した。

1 長野県環境保全研究所 保健衛生部 〒380-0944 長野市安茂里米村 1978

3. 結果および考察

3.1 長野県における手足口病患者からのウイルス分離状況

手足口病患者からの年次別ウイルス分離状況を表1に示した。143検体のうち、107検体から何らかのウイルスが分離され、分離率は74.8%だった。ウイルスが分離された107検体のうち3検体は、2種類のウイルスが重複して検出された。内訳は、CA16およびEV71、CA16およびアデノウイルス2型、EV71およびアデノウイルス3型であった。アデノウイルスが2株分離されているものの、いずれも単独の感染ではなかったことから、当該ウイルスが手足口病を引き起こした可能性は、低いと考えられる。

2004年から2008年の5年間に手足口病患者から分離されたエンテロウイルスのうち、最も高率に分離されたのはCA16で55.4% (61/110株)であった。中でも2008年はCA16が93.7% (30/32株)と非常に高率に分離された。

2008年における全国の手足口病患者から分離さ

表1 手足口病患者からの年次別ウイルス分離成績

分離ウイルス\年	分離株数					合計
	2004	2005	2006	2007	2008	
コクサッキーウイルス						
A群2型	1					1
A群6型		1		1		2
A群9型			1			1
A群10型		1			2	3
A群16型	7	6	5	13	30	61
B群3型	1			3		4
エンテロウイルス71型	2		34			36
アデノウイルス						
2型		1				1
3型			1			1
合計	11	9	41	17	32	110

れたウイルスもCA16が82.4% (324/393株)と最も高率に分離されていた。全国的に手足口病原因ウイルスは、CA16とEV71が周期的に流行を繰り返しており、EV71を主体とする流行は、2000年、2003年、2006年と2年おきに認められている²⁾。2008年に長野県において分離されたCA16株の多くは、国立感染症研究所から分与された抗血清を用いた中和反応では判定が困難であった。これは、ウイルスが伝播の過程で次第に抗原性が変化し、既存の抗血清で中和されにくい株が出現した可能性が推測された⁸⁾。しかしながら、中和反応による判定が困難な株についても、RT-PCR法およびNested-PCR法を用いることによって、良好にCA16を同定することができた。

2006年は高橋らが報告したように、EV71が非常に高率(82.9%)に分離された年であった。この年は、長野県だけでなく愛知県や山形県といった国内の一部地域においてもEV71の流行を認めていたことが明らかにされている⁷⁾。

3.2 手足口病患者発生状況および年齢分布

2004年～2008年の長野県および全国における週別手足口病患者報告数の推移を図1に示した。長野県では、2004年、2006年、2008年と1年おきに全国の報告数を上回るピークが認められた。特に2008年の第30週は、定点あたり8人を上回り、過去5年で最も多く、過去10年をみても手足口病患者定点あたり週別報告数が最も報告数が多かった。全国における手足口病患者定点あたり週別報告数は、2008年の第29週に定点あたり3.45人を記録し、長野県の成績と同様に過去5年間で最も多かった。また、過去10年間では、1998年、2000

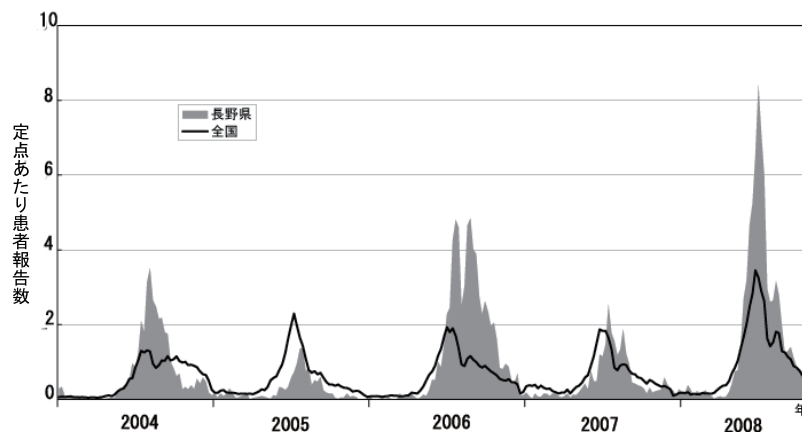


図1 過去5年間の手足口病の流行の推移

表2 地区別定点あたり手足口病患者数の年次推移

地区\年	2004	2005	2006	2007	2008
東信	21.2	13.7	32.4	20.0	72.7
北信	9.0	11.3	73.3	40.6	80.3
中信	16.5	19.2	96.8	31.2	89.2
南信	94.3	9.8	60.1	10.0	54.8
全県	36.5	13.2	67.1	25.9	73.9

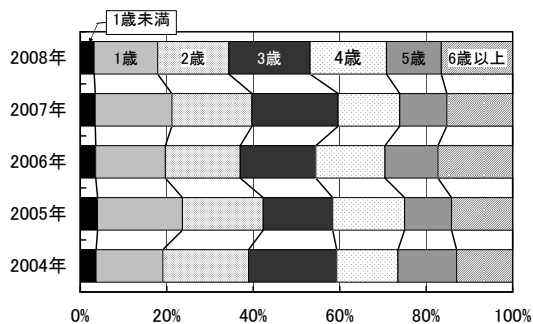


図2 手足口病患者の年次別年齢分布

年および2003年にも週別定点あたり4人を超える大規模なピークを認め、全国でも数年間隔で手足口病の流行が繰り返されている¹⁾。

長野県内4地区(東信, 中信, 南信および北信)における定点あたり手足口病患者数の年次推移を表2に示した。2004年は南信地区に手足口病の大規模な流行があり、2006年は中信地区および北信地区、2008年は東信, 中信および北信地区で大規模な流行を認めた。長野県においても、手足口病の流行には地域性のある可能性が示唆された。

長野県において報告された手足口病患者の年次別年齢分布を図2に示した。本疾患の好発年齢は乳幼児とされており、今回の調査でも5歳以下で80%以上を占めた。年次による年齢分布の変化はほとんどみられなかった。

4. まとめ

2004年～2008年の5年間に長野県内の手足口病患者から、CA16が最も多く分離された。しかし、

2006年はEV71が多く分離された。長野県では、2004年、2006年、2008年と1年おきに全国を上回る流行が認められ、特に2008年は長野県の過去10年で最も手足口病が流行した年であった。

今後も感染症発生動向調査およびウイルス分離調査を継続し、経年的な流行状況を把握することが必要と考えられる。

文献

- 1) 国立感染症情報センターホームページ IDWR <http://idsc.nih.go.jp/idwr/indexj.html>
- 2) 国立感染症情報センターホームページ IASR <http://idsc.nih.go.jp/iasr/indexj.html>
- 3) 国立感染症研究所感染症情報センター (2008) 注目すべき感染症「手足口病」. 感染症発生動向調査感染症週報, 10, (24), 10-14.
- 4) WHO (2008) Enterovirus, China, Weekly Epidemiological Record 83, 169-170.
- 5) 梅垣康弘, 宇野典子, 近野真由美, 唐牛良明 (2002) 急性脳症と診断された10歳男児髄液からのコクサッキーウイルスA16型の検出. 病原微生物検出情報, 23, 173-174.
- 6) 藤本嗣人, 近平雅嗣, 増田邦義 他 (2002) 脳症患者の咽頭ぬぐい液および髄液から検出されたA群コクサッキーウイルス. 病原微生物検出情報, 23, 174.
- 7) 高橋夕子, 畔上由佳, 粕尾しず子, 中沢春幸, 小林正人, 和田啓子 (2007) 2006年の長野県におけるエンテロウイルス71型分離状況. 長野県環境保全研究所 研究報告, 3, 107-111.
- 8) 清水博之, 米山徹夫, 吉田弘, 山下照夫 (2003) 病原体検査マニュアル. 手足口病, 1-22.
- 9) 山崎謙治, 奥野良信 (2000) 2000年大阪府で流行した手足口病の遺伝子診断および分子疫学的解析. 感染症学雑誌, 75, 11.

Isolation of Viruses from Hand, Foot and Mouth Disease
in Nagano Prefecture from 2004 to 2008

Yurie UCHIYAMA, Yuka AZEGAMI, Shizuko KASUO, Tetsuya YOSHIDA
Kazuyo SATSUMABAYASHI and Takashi SHIRAISHI

*Nagano Environmental Conservation Research Institute, Public Health Division,
1978 Komemura Amori, Nagano 380-0944, Japan*