

沖縄県におけるアデノウイルスの分離と抗体保有状況について

糸数清正・大城直雅・大野惇・安里龍二・徳村勝昌

Antibody and Isolation of Adeno Virus in Okinawa Island

Kiyomasa ITOKAZU, Naomasa OSHIRO, Atsushi OHNO,
Ryuji ASATO and Katsumasa TOKUMURA

Key words: Adeno Virus, Neutralizing Antibody, Okinawa

I はじめに

アデノウイルスは、現在候補株を含めて49の血清型が知られており¹⁾、上気道炎患者から多く分離されているが、その他に眼疾患患者及び幼児の下痢症患者からも分離されている¹⁻³⁾。

最近、日本では稀なアデノ7型による、死亡例や重症例の報告がされ話題になっている⁴⁻⁸⁾。今回、九州衛生公害技術協議会ウイルス分科会の共同研究において1993年度から1995年度までの3年間でアデノウイルスの分離とアデノウイルス3, 4, 5, 7, 19型の中和抗体価を測定し、九州におけるアデノウイルスの浸淫状況について検討した。今回は、当所分担の沖縄県の状況について報告する。

II 材料及び方法

1. 材料

(1) ウイルス分離

ウイルス分離に供した検体は、表1に示したとおり、1994年度および1995年度の感染症サーベランス事業の病原体検査や流行予測事業の感染源調査に使用したものであった。検体の由来は、インフルエンザ様疾患患者からの咽頭ぬぐい液及びうがい液の検体が主でその他、眼疾患患者の眼ぬぐい液、無菌性髄膜炎患者の随液および下痢症患者の便であった。

表1. 検体数.

疾患名	1994年度	1995年度	合計
インフルエンザ様疾患	276	130	406
結膜炎	40	20	60
無菌性髄膜炎	—	10	10
下痢症	—	2	2
合計	316	162	478

(2) 中和抗体価測定

中和抗体価測定には、1993年度と1994年度の各保健所の残余血清で一部の低年齢層については、沖縄市と那覇市の2医療機関の小児科の残余血清を使用した。

また、中和抗体価測定に用いた血清の年齢区分や検体数は表2に示した。血清は、総計256検体を使用し年齢層を9区分に分け各年齢層の対象検体数を1993年度は10件、1994年度は20件としたが、1993年度は低年齢層の血清が収集ができなかった。

表2. 中和抗体価測定の検体数.

年齢層	1993年度	1994年度	合計
0~4	1	20	21
5~9	5	20	25
10~14	10	20	30
15~19	10	20	30
20~24	10	20	30
25~29	10	20	30
30~39	10	20	30
40~49	10	20	30
50~	10	20	30
合計	76	180	256

2. 方法

(1) ウイルス分離

ウイルスの分離・同定方法は図1に示した。検体は、前処理として抗生物質添加、遠心分離(3,000rpm, 15分)および濾過滅菌等の処理を行なった後、当日検査に供するものは、HEp-2, RD-18S, Vero, 及びHeLaの4種類の培養細胞に接種しウイルス分離を試みた。また、後日検査に供するものは凍結保存(-80℃)をした。

培養細胞に接種後、HEp-2またはHeLaに細胞変性効果(以下CPE)を認めたものは、ラテックス凝

集法のアデノレックスドライ (第一化学試薬) を使用し一次スクリーニングを行い, アデノウイルス陽性の検体は, 中和試験による型別を行った。

中和試験で使用した抗血清は, 市販の1~7型 (デンカ生研) および国立公衆衛生院より分与された8型であった。

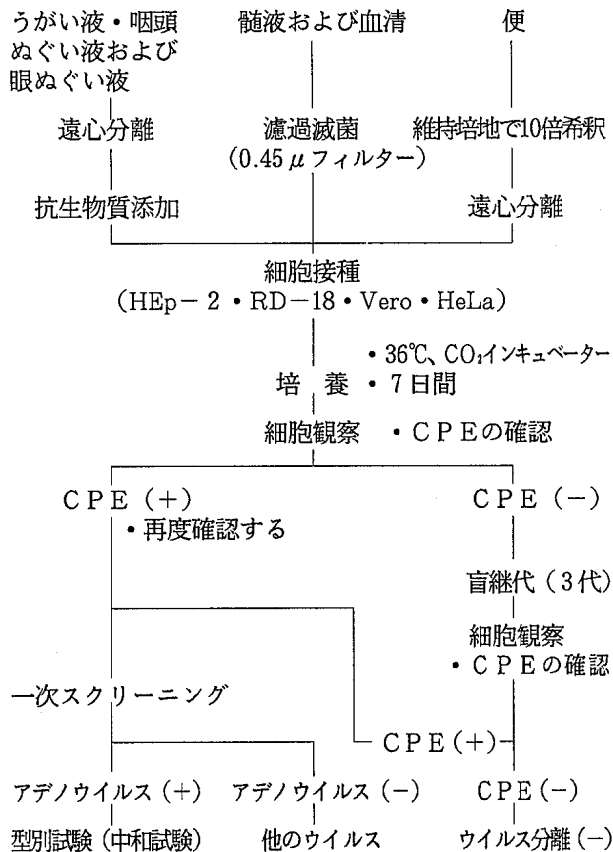


図1. ウイルス分離・同定方法。

3. 中和抗体価測定

中和抗体価測定方法を図2に示す。

血清は, 維持液で4倍希釈し, 滅菌およびインヒビター除去のため, シリンジフィルター (0.45 μ) で濾過滅菌した後, 56°C, 30分間で非働化した。

接種ウイルスは, アデノウイルス3, 4, 5, 7および19型である。これらの標準株は, 国立予防衛生研究所がCenter for Disease Controlより入手したものを分与してもらった。

中和抗体価は, 接種ウイルスを50%以上中和した血清の最高希釈倍数で表し, 8倍以上を抗体陽性とした。

III 結果

1. ウイルス分離状況

1994年度および1995年度の月別アデノウイルス分離株数を表3に示した。

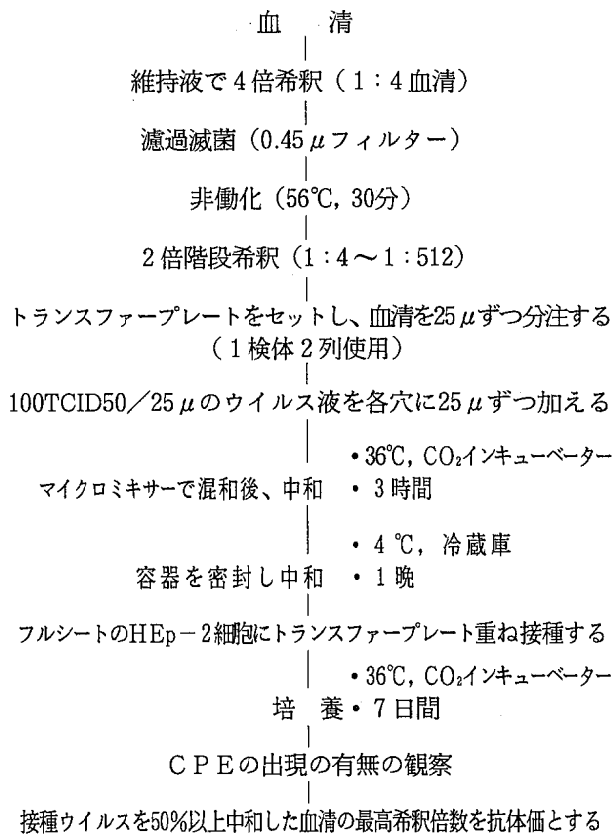


図2. 中和抗体価の測定方法。

表3. 月別アデノウイルス分離株数。

年月 型名	'94										'95			計	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
アデノ1型															
アデノ2型				1							1				2
アデノ3型								1	1		2		2		6
アデノ4型															
アデノ5型				1											1
アデノ6型															
アデノ7型															
アデノ8型															
型不明															
計				2				1	1	1	2		2		9

年月 型名	'95										'96			計	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
アデノ1型	2									1					3
アデノ2型	1								2						3
アデノ3型															
アデノ4型															
アデノ5型															
アデノ6型													1		1
アデノ7型															
アデノ8型										2					2
型不明											*1	1	*1		3
計	3								4	2	1	2			12

*印は, 便由来である。

表4. 1993年度のアデノウイルス中和抗体価.

標準株：アデノ3型

年齢層	検査 人数	中和抗体価							
		<8	8	16	32	64	128	256	≥512
0~4	1	1							
5~9	5	5							
10~14	10	10							
15~19	10	5	1		2	2			
20~24	10	10							
25~29	10	10							
30~39	10	10							
40~49	10	10							
50~	10	10							
計	76	71	1		2	2			

標準株：アデノ4型

年齢層	検査 人数	中和抗体価							
		<8	8	16	32	64	128	256	≥512
0~4	1	1							
5~9	5	5							
10~14	10	7			1	2			
15~19	10	10							
20~24	10	8	2						
25~29	10	8	1	1					
30~39	10	10							
40~49	10	10							
50~	10	10							
計	76	69	3	2	2				

標準株：アデノ5型

年齢層	検査 人数	中和抗体価							
		<8	8	16	32	64	128	256	≥512
0~4	1	1							
5~9	5	1				1	2		1
10~14	10						2	3	5
15~19	10	1			1		4	1	3
20~24	10	2	2				3	1	2
25~29	10	2	1		2	1	2		2
30~39	10	2			2		1	3	2
40~49	10	5	2	2	1				
50~	10	6		4					
計	76	20	5	6	6	2	14	8	15

標準株：アデノ7型

年齢層	検査 人数	中和抗体価							
		<8	8	16	32	64	128	256	≥512
0~4	1	1							
5~9	5	5							
10~14	10	9					1		
15~19	10	10							
20~24	10	8	2						
25~29	10	10							
30~39	10	10							
40~49	10	10							
50~	10	10							
計	76	73	2				1		

標準株：アデノ19型

年齢層	検査 人数	中和抗体価							
		<8	8	16	32	64	128	256	≥512
0~4	1	1							
5~9	5	5							
10~14	10	10							
15~19	10	10							
20~24	10	10							
25~29	10	10							
30~39	10	10							
40~49	10	10							
50~	10	10							
計	76	76							

表5. 1994年度のアデノウイルス中和抗体価.

標準株：アデノ3型

年齢層	検査 人数	中和抗体価							
		<4	4	8	16	32	64	128	256
0~4	20	17	1		2				
5~9	20	16	2	1	1				
10~14	20	19	1						
15~19	20	14	6						
20~24	20	10	6	4					
25~29	20	16	3	1					
30~39	20	14	5	1					
40~49	20	12	5	3					
50~	20	13	2	3	2				
計	180	131	31	13	5				

標準株：アデノ4型

年齢層	検査 人数	中和抗体価							
		<4	4	8	16	32	64	128	256
0~4	20	20							
5~9	20	20							
10~14	20	20							
15~19	20	20							
20~24	20	20							
25~29	20	20							
30~39	20	20							
40~49	20	20							
50~	20	20							
計	180	180							

標準株：アデノ5型

年齢層	検査 人数	中和抗体価							
		<4	4	8	16	32	64	128	256
0~4	20	12		1	2	1		3	1
5~9	20	5		2	2			2	1
10~14	20	3		3	1	1			3
15~19	20	5		2			1	2	1
20~24	20	5	2			1	2	5	1
25~29	20	3	1				4	2	3
30~39	20		2	2		2	4	3	1
40~49	20	1	1		2	3	2	3	
50~	20			1	4	1	1	3	4
計	180	34	6	11	11	9	14	23	15

標準株：アデノ7型

年齢層	検査 人数	中和抗体価							
		<4	4	8	16	32	64	128	256
0~4	20	20							
5~9	20	20							
10~14	20	20							
15~19	20	20							
20~24	20	20							
25~29	20	20							
30~39	20	19	1						
40~49	20	20							
50~	20	19	1						
計	180	178	2						

標準株：アデノ19型

年齢層	検査 人数	中和抗体価							
		<4	4	8	16	32	64	128	256
0~4	20	20							
5~9	20	20							
10~14	20	20							
15~19	20	20							
20~24	20	20							
25~29	20	20							
30~39	20	20							
40~49	20	20							
50~	20	20							
計	180	180							

1994年度は9株分離され、アデノ3型が6株、アデノ2型が2株、アデノ5型が1株であった。1995年度は12株分離され、アデノ1型および2型が3株、アデノ6型が1株でアデノ8型が流行性角結膜炎患者から2株分離された。また、型不明の3株中2株は下痢症患者であった。

今回中和抗体価の測定で用いたアデノ3, 4, 5, 7および19型の5種類の内アデノ4, 7, 19型のウイルスは1株も分離されなかった。

2. 中和抗体価

1993年度と1994年度の各年齢層におけるアデノ3, 4, 5, 7および19型に対する中和抗体価を表4, 5に示す。また、抗体陽性率を表6, 7に示した。

表6. 1993年度のアデノウイルス中和抗体陽性率。

年齢層	検査人数	アデノ3型		アデノ4型		アデノ5型		アデノ7型		アデノ19型	
		陽性数	陽性率	陽性数	陽性率	陽性数	陽性率	陽性数	陽性率	陽性数	陽性率
0~4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5~9	5	0	0	0	0	4	80	0	0	0	0
10~14	10	0	0	3	30	10	100	1	10	0	0
15~19	10	5	50	0	0	9	90	0	0	0	0
20~24	10	0	0	2	20	8	80	2	20	0	0
25~29	10	0	0	2	20	8	80	0	0	0	0
30~39	10	0	0	0	0	8	80	0	0	0	0
40~49	10	0	0	0	0	5	50	0	0	0	0
50~	10	0	0	0	0	4	40	0	0	0	0
計	76	5	7	7	9	56	74	3	4	0	0

*抗体陽性は、抗体価 ≥ 8 とした。

表7. 1994年度のアデノウイルス中和抗体陽性率。

年齢層	検査人数	アデノ3型		アデノ4型		アデノ5型		アデノ7型		アデノ19型	
		陽性数	陽性率	陽性数	陽性率	陽性数	陽性率	陽性数	陽性率	陽性数	陽性率
0~4	20	2	10	0	0	8	40	0	0	0	0
5~9	20	2	10	0	0	15	75	0	0	0	0
10~14	20	0	0	0	0	17	85	0	0	0	0
15~19	20	0	0	0	0	15	75	0	0	0	0
20~24	20	4	20	0	0	13	65	0	0	0	0
25~29	20	1	5	0	0	16	80	0	0	0	0
30~39	20	1	5	0	0	18	90	0	0	0	0
40~49	20	3	15	0	0	18	90	0	0	0	0
50~	20	5	25	0	0	20	100	0	0	0	0
計	180	18	10	0	0	140	78	0	0	0	0

*抗体陽性は、抗体価 ≥ 8 とした。

アデノ3型の抗体陽性者は、1993年度は15~19歳の5人だけであったが、1994年度には10~19歳を除く各年齢層で抗体を保有しており抗体陽性率は10%で抗体価はすべて16倍以下であった。

アデノ4型の抗体陽性者は、1993年度は7人(9%)で抗体価はすべて32倍以下であったが、1994年度には1人も抗体陽性者は検出されなかった。

アデノ5型の抗体陽性者は、1993年度、1994年度はそれぞれ56人、140人で共に各年齢層で抗体を保有し抗体陽性率は70%を越えた。また、抗体価512以上が1993年

度は15人、1994年度は57人で、全体の20%、31%を含めていた。

アデノ7型の陽性者は、1993年度は3人で1994年度には1人も抗体陽性者は検出されなかった。

アデノ19型の陽性者は、1993年度、1994年度共に1人も検出されなかった。

IV 考察

厚生省サーベイランスの12年間のアデノウイルス検出報告によると、アデノ3, 4, 5型は、主に上気道炎や下気道炎の患者の鼻咽喉や角結膜炎患者の眼ぬぐい液から分離され^{1~3)}、ウイルス検出数は、毎年上位5位以内にランクされている⁹⁾。当所で行った1994年度および1995年度のアデノウイルス分離状況では、アデノ3型は1994年度に6株分離され、1994年度の抗体陽性者は1993年度より各年齢層で抗体陽性者が検出されている。これらより1993年から1994年かけてアデノ3型によって感作を受けた可能性が示唆されるが引き続き調査を行い検討する必要がある。

アデノ4型は、当所では分離されておらず、抗体陽性者は、1993年度に7人陽性率9%で抗体保有率は低く、1994年度は1人も検出されていない。このことは、今後アデノ4型による流行の可能性が示唆される。

アデノ5型の分離状況は、1994年6月の1株だけであったが抗体陽性率は、1993, 1994年度共70%以上で高タイトターの陽性者も多い。このことは、最近アデノ5型のウイルスによって感作されたことを示唆している。

アデノ7型は、「病原微生物情報」によると1980~1994年の14年間に累計で30件しか検出されていなかったのが、1995年には75件が検出され¹⁰⁾、山梨県では集団発生⁵⁾した。また、1996年の3月に千葉県で死亡した乳幼児2人から分離された¹⁾。アデノ7型は、呼吸器に関連した疾患から主に分離されるが、基礎疾患を有する患者では重症化のおそれがあり、最近最も警戒が必要なウイルスのひとつである。今回の調査でもウイルスは分離されておらず、抗体陽性率も1993年で4%で1994年は0%であるが当県でも警戒と、今後の病原体検索によるウイルスの監視が必要であろう。

アデノ19型は、流行性角結膜炎患者より主に分離される^{1~3)}が、今回の調査では、九州各県同様にウイルスは分離されておらず抗体陽性者も1人も検出されていない。今後、アデノ19型による流行性角結膜炎の流行が懸念されるが、眼疾患等の局所の疾患では、免疫応答が鈍く抗体が検出されない事例¹¹⁾もあるため今後検討を要する。

V まとめ

今回、1994年4月から1996年3月までのアデノウイルス分離とアデノ3, 4, 5, 7, 19型の中和抗体価を調査したところ下記の4点が示唆された。

1. アデノ3型は、抗体陽性者の推移により1993年から1994年にかけて小規模な流行があった可能性があるがさらに調査検討を要する。
2. アデノ4と19型は、抗体保有者が少なく今後流行する可能性がある。
3. アデノ5型は、過去および最近流行しており、抗体も各年齢層で高いタイターを保有している。
4. アデノ7型は、今後最も警戒しなければならないウイルスであり近い将来流行する可能性がある。

以上より、今後アデノウイルスの動向を警戒する必要性があり、ウイルスを監視する上で感染症サーベランスの病原体検索は重要であり、今まで以上に病原体検索の組織的体制を強化していかなければならないであろう。

VI 文献

- 1) 野田衛・荻野武雄 (1995) アデノウイルス. 臨床とウイルス. 23 (増刊号): 225-230.
- 2) 内田幸男 (1995) 眼のウイルス感染症. 臨床とウイルス. 23 (増刊号): 322-324.
- 3) 中園直樹 (1987) アデノウイルス. ウイルス・クラミジア・リケッチア検査 各論1. (財)日本公衆衛生協会: 68-80.
- 4) 野田衛・桐谷末希・阿部勝彦・池田義文・山田弘二・荻野武雄 (1995) 急性呼吸系疾患患者からのアデノウイルス7型の分離-広島市. 病原微生物検出情報. 16 (11): 3.
- 5) 渡辺由香里・小澤茂・町田篤彦・薬袋勝 (1996) アデノウイルス7型による急性呼吸器疾患の集団発生事例. 病原微生物検出情報. 17 (5): 3.
- 6) 吉田靖宏・布目博子・大木忠士・佐藤泰昌・菊地由生子 (1996) 札幌市におけるアデノウイルス7型の分離. 病原微生物検出情報. 17 (5): 4.
- 7) 厚生省保健医療局 (1996) アデノウイルス7型の流行による死亡事例について (事務連絡).
- 8) 和田靖之・北島晴夫・久保政勝 (1996) アデノウイルス7型による acute respiratory disease with pneumonia の12歳女児例. 感染症雑誌. 70 (5): 500-505.
- 9) Shizuko YAMADERA, Kazuyo YAMASHITA, Masae AKATSUKA, Nobuko KATO, Madoka HASHIDO, Sakae INOUE and Shudo YAMAZAKI (1995), ADENOVIRUS SURVEILLANCE, 1982-1993, JAPAN. Jpn. J. Med. Sci. Biol. 48. 199-210.
- 10) アデノウイルス7型の出現. 病原微生物検出情報. 17 (5): 1.
- 11) 吉野修司・山本正悟・三好康七郎・藪押利香・八木利香 (1994) 1993年に宮崎県で発生した急性出血性結膜炎について. 第20回九州衛生公害技術協議会抄録: 134-135.