

小児から分離されたアデノウイルスの疫学的調査研究 (1979～1991)

小澤 茂 跡部里香 鷹野茂夫 三木 康 日野原正幸*¹ 横山 宏*²
井上利男*³ 小松史俊*⁴ 若尾 朗*⁵

Epidemiological Studies on Adeno Virus Isolated from Children
in Yamanashi Prefecture (1979～1991)

Shigeru OZAWA, Rika ATOBE, Shigeo TAKANO
Yasushi MIKI, Masayuki HINOHARA, Hiroshi YOKOYAMA
Toshio INOUE, Fumitoshi KOMATSU and Hogara WAKAO

ヒトアデノウイルスは現在1～47型の血清型が知られているが、ヒトの疾病として問題のあるのは限られた血清型である。疾病と血清型との間には一応の傾向が認められる。主な起因ウイルスは、咽頭結膜熱では3型と7型、流行性角結膜炎では8型、急性出血性膀胱炎では11型、21型などである。近年、19型、37型による流行性角結膜炎、また乳幼児の下痢症の起因ウイルスとして40型、41型が報告され、アデノウイルスによる疾病がまた注目されるようになった^{1, 2)}。

著者らは山梨県におけるウイルス性疾患の流行の実態を把握し、これらの疾患の流行予測や予防対策のための基礎資料を提供する目的で、約20年前から県内の小児病院に受診する患児を対象に病因ウイルスの検索を行ってきた。この調査のなかで、小児の上気道疾患からしばしばアデノウイルスが分離され、またアデノウイルスによる咽頭結膜熱の流行が何度も観察された。本報では1979年1月から1991年3月までの約12年間のアデノウイルスの検出成績について報告する。

材料と方法

1. ウイルス分離材料

1979年1月～1991年3月に山梨県内の小児科、内科病院に受診した患者、および集団発生時の学童から採取された咽頭ぬぐい液、眼ぬぐい液、糞便などをウイルス分離材料にした。検体採取方法は感染症サーベイランス事業検査指針の方法に準じて行った。ただしウイルス保存液にはイーグルMEM培地に0.1%牛血清アルブミン、ペニシリン100u/ml, ストレプトマイシン100 μg/ml, ファングゾン20 μg/mlを添加したものをを用いた。検体は接種まで-70℃に保存した。

2. ウイルス分離、同定

アデノウイルスの分離には主としてHEp-2細胞とCMK細胞を用いた。また87年からはRD-18S細胞も使用した。維持培地には上述のウイルス保存液と同じ組成のものを用いた。検体を接種した細胞は37℃で培養し、1週間ごとに3代継代した。細胞変性効果(CPE)の出現したものは、国立予防衛生研究所から分与されたアデノウイルス抗血清を用いた中和反応でウイルスの同定、および型別を行った。なおアデノウイルス1～8型の抗血清で中和されなかった場合はアデノウイルス3型CF用抗血清(デンカ生研製)を用いたCF反応、またはア

*1: 国立甲府病院, *2: 県立中央病院

*3: 井上内科・小児科医院, *4: 小松小児科医院

*5: 若尾小児科医院

デノレックス（オリオン社製）でアデノウイルスであることを確認した。

3. 小児科・内科における咽頭結膜熱患者発生状況

山梨県および全国の月別咽頭結膜熱患者発生報告数は感染症サーベイランス事業における週別、疾病別の患者情報（以下、週報と呼ぶ）から算出した。81～86年においては、週報の咽頭結膜熱患者数は小児科・内科と眼科の報告数を合わせたものとして集計されていた。しかし山梨県の場合、眼科からの報告はほとんど無く、週報掲載の患者報告数を小児科・内科の患者数とみなすことができるので、小児科・内科における月別、1定点医療機関あたりの患者数（以下、定点率という）は週報から算出した1ヵ月の患者報告数を小児科・内科定点数で除した値とした。一方全国の月別定点率は1ヵ月の患者報告数を小児科・内科定点数と眼科定点数の和で除して算出した。

87年以降は小児科・内科だけの患者数も報告されるようになったので、小児科・内科における定点率は小児科・内科だけの患者報告数を小児科・内科定点数で除した値とした。

結果と考察

1. ウイルス検出概況

1979年1月～91年3月の約12年間に、4,211名の患者の検体からウイルスの検出を試み、196名（4.7%）からアデノウイルスを検出した。このうち1名は糞便からラテックス凝集法でアデノウイルス抗原が検出されたが、

培養細胞ではウイルスが分離されなかった。分離ウイルスの血清型は3型が75名（38.3%）と一番多く、ついで2型39（19.9%）、4型25（12.8%）、1型23（11.7%）、5型20（10.2%）、6型11（5.6%）の順であった。残りの2名から分離された株は1～8型の抗血清では中和されないが、アデノ群共通のCF抗原を有していることから、1～8型以外のアデノウイルスであると考えられる。

アデノウイルスが検出された検体の種類をみると、咽頭ぬぐい液のみから検出されたものが166例と最も多く、ついで糞便のみから11例、眼ぬぐい液のみから6例、同一患者の咽頭ぬぐい液と糞便の両方から6例、咽頭ぬぐい液と眼ぬぐい液の両方から5例、リンパ節組織から2例が検出された。

2. 年次別ウイルス検出状況

年次別のウイルス検出状況を表1に示した。1985年までは毎年300～500名の患者からウイルス分離を行ってきたが、86年からは主要な定点医院での検体採取が不可能になったため、検体数が減少した。それに伴って86～89年はアデノウイルスの検出数も減少した。90年には新たな定点医院も加わり、検体数は増加を示した。年次別のアデノウイルスの検出率は0.8～13%と年次により差異が認められた。検出率が高かった81, 84, 90年は共に3型が多く検出され、3型の流行が検出率を上昇させていることが認められた。

各血清型の年次別分離状況を見ると、1型、2型はほぼ毎年1～6株分離され、年次別の消長が認められなかった。また5型、6型は、84年までは1, 2型と同様な傾向が見られたが、85～90年の5年間は、86年に6型、

表1 年次別アデノウイルス検出状況

年	患者数	アデノウイルス							計	検出率 %
		1型	2型	3型	4型	5型	6型	NT		
1979	403	3	2		3	1	2	1	12	3.0
1980	399	3	6	1		3	1		14	3.5
1981	467	4	3	9	15	3	2		36	7.7
1982	416	3	5	1	5	2	1	1	18	4.3
1983	478	1	6	6		3	2		18	3.8
1984	339		5	34		5			44	13.0
1985	501	1	3						4	0.8
1986	259	3	2				2		7	2.7
1987	158			3					3	1.9
1988	188	2	1			2			5	2.7
1989	141	1	1						2	1.4
1990	306	2	4	20	2				28	9.2
1991	156		1	1		1	1	1	5	3.2
計	4,211	23	39	75	25	20	11	3	196	4.7
(%)		(11.7)	(19.9)	(38.3)	(12.8)	(10.2)	(5.6)	(1.5)		

NT: not typed

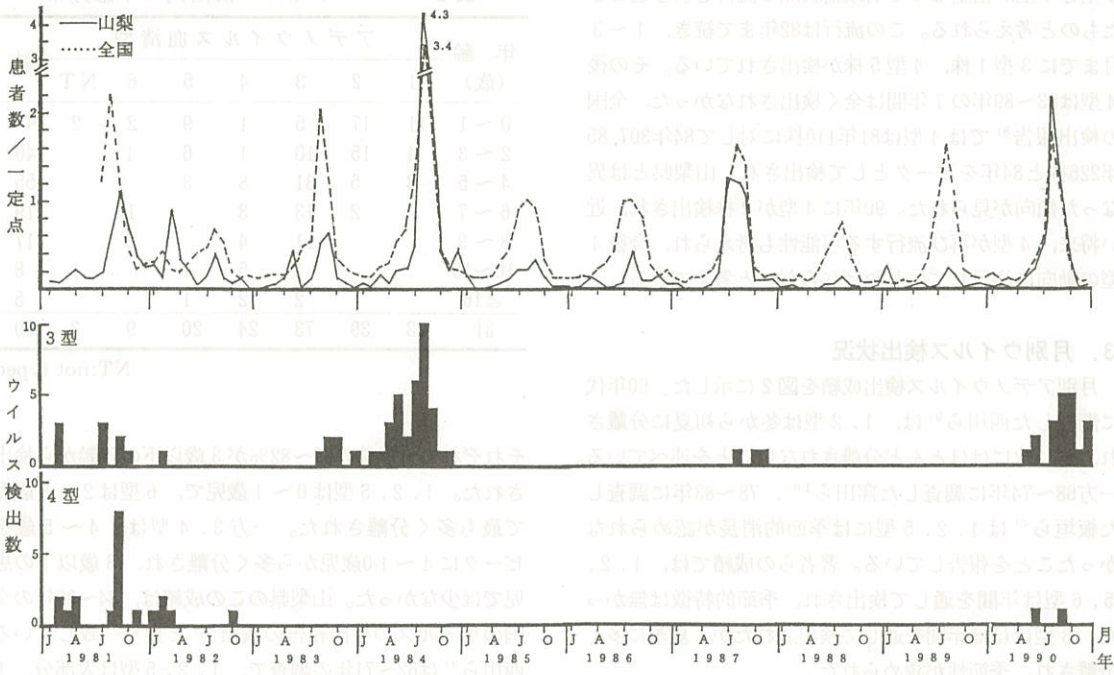


図1 月別、一定点あたりの咽頭結膜熱患者数とアデノ3, 4型ウイルス検出数の推移

88年5型がそれぞれ2株分離されただけであった。著者らのこの成績は、70年から80年代にかけて実施された木村ら³⁾の石川県での調査や板垣ら⁴⁾の島根県の調査結果と類似していた。

これに対し、3型、4型では年次別消長が認められた。3型は7型とともに咽頭結膜熱（プール熱）の主な起因ウイルスと考えられ、夏季にプールを介して散発的流行を引き起こすことが知られている^{1, 2)}。山梨県でも64年、69年に3型によるプール熱の流行の報告⁵⁾があり、また著者らも78年に2つの小学校で3型によるプール熱の集団発生を経験した。81年から厚生省が実施する感染症サーベイランス事業が開始され、咽頭結膜熱患者発生の経年的推移が把握できるようになった。図1には、81～90年における全国と山梨県の月別、一定点内科、小児科医療機関あたりの咽頭結膜熱患者数（月別定点率）の推移を示した。全国では、ほとんど毎年夏季に咽頭結膜熱患者が増加し、患者発生ピーク時の定点率が1.0以上を示さなかった年は82年と88年だけであった。これに比べて山梨県の場合は、81～82年、84年、87年、90年とほぼ2年おきに咽頭結膜熱患者が多く発生していることが認められた。

ウイルス検出成績をみると、咽頭結膜熱の流行年の患者発生ピークに一致して、アデノ3型ウイルスが比較的多く検出された。またここで検出された3型は咽頭結膜熱患者由来のものが多かった（後述）。ただ咽頭結膜熱

の患者発生が比較的多かった87年には3型が3株分離されただけだった。この年には他の血清型のアデノウイルスも検出されなく、前述したように定点の医療機関の変更とそれに伴う検体数の減少がウイルス検出成績にも影響を及ぼしたものと考えられる。以上の結果から山梨県におけるアデノ3型ウイルスによる咽頭結膜熱は78, 81, 84, 87, 90年とほぼ2年おきに流行を繰り返していることが明らかとなった。

一方アデノ4型ウイルスは、欧米では軍隊などの特殊の集団内で急性呼吸器疾患、いわゆる新兵熱を引き起こすことが知られている¹⁾が、我が国では1978年以前にはほとんど4型は検出されなかった。79年1月頃から全国各地で検出され、集団発生も報告されるようになった^{3, 6, 7)}。山梨県では79年7月に咽頭炎患者2名から、8月に咽頭結膜熱患者1名から4型が初めて分離された。80年には検出されなかったが、81年になって咽頭結膜熱や上気道疾患の患者15名から4型が検出され、4型が県内で流行していることが認められた。4型検出者15名の内9名は、8月末～9月に咽頭結膜熱の集団発生があった2施設の罹患者であった。1つの施設は小学校で、検査した8名の学童中3名から4型が分離された。またもう1つは重心身障害施設で入院者8名中6名から4型が分離された。前述したように81年には3型も多く検出され、図1に示すように咽頭結膜熱の患者発生パターンとアデノ3型、4型の分離状況がよく一致することから、

3型と4型が相重なって咽頭結膜熱の流行を引き起こしたものと考えられる。この流行は82年まで続き、1～3月までに3型1株、4型5株が検出されている。その後4型は83～89年の7年間は全く検出されなかった。全国の検出報告⁹⁾では4型は81年110株に対して84年307、85年226株と84年をピークとして検出され、山梨県とは異なった傾向が見られた。90年に4型が2株検出され、近い将来、4型が再び流行する可能性も考えられ、今後4型の動向に注目していかなければならないと考えている。

3. 月別ウイルス検出状況

月別アデノウイルス検出成績を図2に示した。60年代に調査した西川ら⁹⁾は、1, 2型は冬から初夏に分離され、夏、秋にはほとんど分離されないことを述べている。一方68～74年に調査した窪田ら¹⁰⁾、78～83年に調査した板垣ら⁴⁾は1, 2, 5型には季節的消長が認められなかったことを報告している。著者らの成績では、1, 2, 5, 6型は年間を通して検出され、季節の特徴はなかった。3型はほぼ年間を通して検出されたが、夏季に多く分離され、季節性が認められた。

4型は、全国の検出報告^{8, 11)}では夏季に多く分離されていた。山梨県では、9月に2施設の集団発生が重なったため、この月の4型検出数が多かった。しかし6～8月は他の季節の検出数と変わらず、4型には3型のような明瞭な季節的特色は認められなかった。

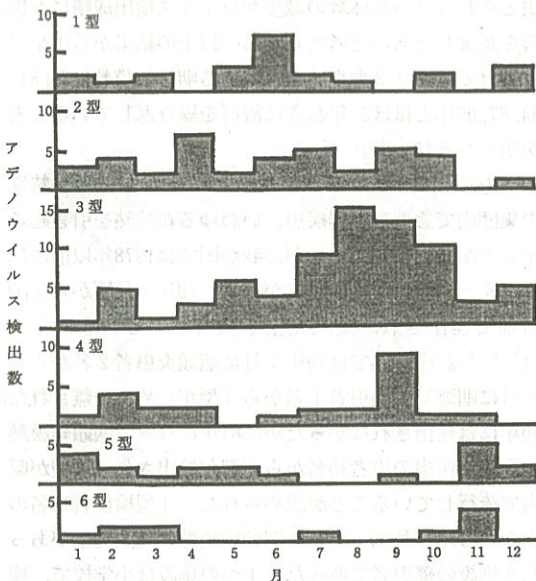


図2 月別アデノウイルス検出数

4. 検出ウイルスと年齢

アデノウイルスが検出された患者のうち不詳者を除いた190例の年齢分布を表2に示した。1, 2, 5, 6型では、

表2 アデノウイルス検出例の年齢分布

年齢 (歳)	アデノウイルス血清型							計
	1	2	3	4	5	6	NT	
0～1	11	17	5	1	9	2	2	47
2～3	4	15	10	1	6	4		40
4～5	8	5	31	8	3			55
6～7		2	13	3		1		19
8～9			11	4		2		17
10～15			1	5	1		1	8
≥16			2	2	1			5
計	23	39	73	24	20	9	3	190

NT: not typed

それぞれの分離株の65～82%が3歳以下の年齢から検出された。1, 2, 5型は0～1歳児で、6型は2～3歳児で最も多く分離された。一方3, 4型は、4～5歳をピークに4～10歳児から多く分離され、3歳以下の患児では少なかった。山梨県のこの成績は、84～88年の全国のウイルスの検出報告の成績¹²⁾と良く一致している。西川ら⁹⁾は62～71年の調査で、1, 2, 5型は大部分、1歳以下から分離され、3型は5～8歳で最も多く分離されたと述べ、窪田ら¹⁰⁾は68～74年の調査で、1, 2, 5, 6型は6歳未満から、3型は主として6歳以上から分離される傾向があると報告している。これら60年代、70年代の成績と80年代の我々の成績とはほぼ同じ傾向が認められた。ただ80年代の山梨および全国の検出成績では3型が4歳児から最も多く分離され、従来よりも3型の罹患年齢が低下する傾向が認められた。

5. 検出ウイルスと臨床病型

アデノウイルス検出例の臨床症状を図3に示した。症状不詳を除く195例中、発熱91%、上気道炎92%、結膜炎24%、胃腸炎(下痢症)14%、発疹6%であった。また発熱者の60%が39度以上の高熱を示していた。この成績は西川ら⁹⁾の調査結果と類似していた。しかし84～88年の全国の検出情報¹²⁾では発熱が56%、上気道炎が51%と我々の成績に比べ低率であった。この違いは、主として小児科患者での我々の成績に対して、全国情報では、無熱者の多い内科や眼科の高年齢層の患者の成績も含まれているためであろうと考えられる。

検出ウイルス型と臨床症状との関連性をみると、結膜炎は3型の検出例で39%、4型で48%と高率に認められ、他の型では少なかった。これは先に述べた西川ら⁹⁾や全国情報の成績¹²⁾と良く一致していた。また5, 6型が他の型に比べ、下気道炎の症状を起こす頻度が若干高い傾向がみられた他は、症状とウイルス型の間では特に関連性のあるものは認められなかった。

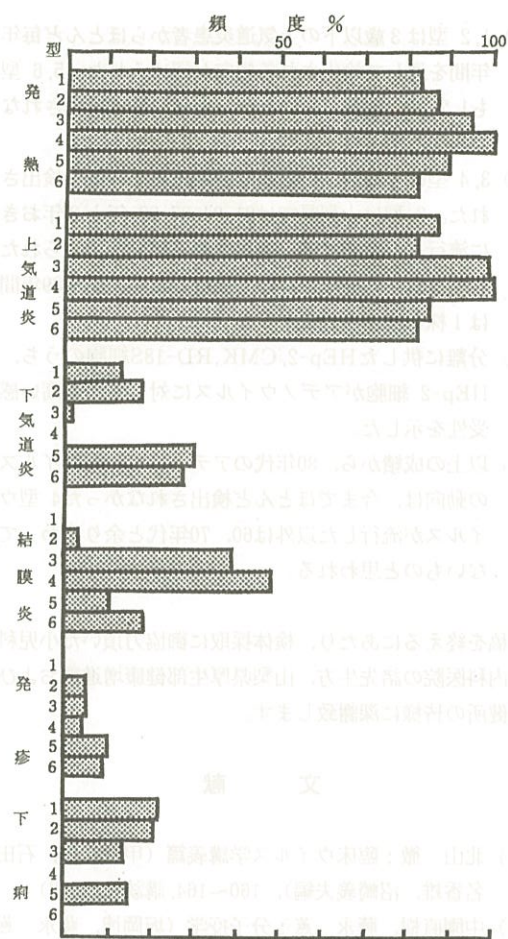


図3 アデノウイルス検出例の臨床症状

検出ウイルスと検体採取時の診断名との関連性を表3に示した。アデノウイルスが最も多く検出されたのは、咽頭炎74株 (38.3%)，次いで咽頭結膜熱41株 (20.9%)であった。各診断名におけるアデノウイルスの検出率をみると、咽頭結膜熱患者では51.3%と高率で、その分離ウイルス41株のうち3型が25株61%、4型が13株32%と両型でほとんどを占めていた。3型が咽頭結膜熱をよく引き起こすことは多くの報告がある^{1, 2)}が、今回の調査で4型も咽頭結膜熱に引き起こしやすいことが示唆された。一方咽頭炎患者からの検出率は7.6%で、分離株41株のうち3型が24株32%と一番多く、ついで2型16株22%、1型15株20%であり、4, 5, 6型は1~3型より若干低率であった。咽頭結膜熱、咽頭炎、感冒などの呼吸器系疾患が全分離株の約80%を占め、アデノウイルスと小児のかぜ症候群との間に深い関連性が認められた。

腫脹した腸間膜リンパ腺炎が原因で起こると思われる腸重積症と1, 2, 5, 型との関連性が報告されている²⁾が、著者らも腸重積症2例の腸間膜リンパ腺組織からそれぞれアデノ1型と2型ウイルスを分離した。一方発疹症から2, 3, 5型、下痢症から1, 2, 3, 5, 6型が分離された。しかしこのウイルスは感染発病後のウイルス排泄期間が長く、しかも扁桃腺などに不顕性の持続感染を引き起こすので、分離例にみられた臨床病型について、検出ウイルスが直接の原因であると必ずしも特定することはできないと考えられる。

同一検体からアデノウイルスと別の異なったウイルスが同時に分離された例が報告^{4, 13)}されているが、著者

表3 臨床診断名別アデノウイルス検出状況

臨床診断名	患者数	アデノウイルス							計	検出率 %
		1型	2型	3型	4型	5型	6型	NT		
普通感冒	146	1	6	3		2		1	13	8.9
咽頭炎	973	15	16	24	5	7	6	1	74	7.6
咽頭結膜熱	80		1	25	13	1	1		41	51.3
インフルエンザ	913	1	3	12	6	2			24	2.6
気管支炎・肺炎	174	1	2			2	1		6	3.4
ヘルパンギーナ	185		1	1		1			3	1.6
急性熱性疾患	21		1	2		1	1		5	23.8
発疹症	485		1	4		1			6	1.2
胃腸炎・下痢症	498	2	6	2		3	1	1	15	3.0
腸重積症	2	1	1						2	100.0
無菌性髄膜炎	22		1				1		2	9.1
その他	678	2		1	1				4	0.6
不祥	34			1					1	2.9
計	4,211	23	39	75	25	20	11	3	196	4.7
(%)		(11.7)	(19.9)	(38.3)	(12.8)	(10.2)	(5.6)	(1.5)		

NT: not typed

らの今回の検出例の中には同一検体からの同時分離例は見られなかった。しかし同時に採取された手足口病の患者の咽頭ぬぐい液と糞便から各々コクサッキーA16 ウイルスとアデノ2型ウイルスが分離されたものが一例あった。

6. アデノウイルスに対する培養細胞の感受性

今回の調査期間のうち9年間はHEp-2細胞とCMK細胞を併用してアデノウイルスの分離を行った。両細胞のアデノウイルスに対する感受性を比較したものを表4に示した。分離株145例のうちHEp-2細胞では140(97%)、CMK細胞では79(54%)が分離され、CMK細胞はHEp-2細胞に比べアデノウイルスに対する感受性が劣っていた。両細胞共アデノウイルスの型による著しい感受性の差異は認められなかった。87年からは上記の2細胞にRD-18S細胞を加えてアデノウイルスの分離を実施した。この期間に分離された40例のうちHEp-2細胞で分離されたのは38(95%)、CMK細胞では21(53%)、RD-18S細胞では15(38%)で、RD-18S細胞はCMK細胞よりさらにアデノウイルスに対する感受性が劣っていた。以上の結果から、この3種類の細胞の中ではHEp-2細胞がアデノウイルスの分離に一番適した細胞であった。

表4 検出アデノウイルスと細胞感受性

血清型	分離株数	細胞別分離株数(%)	
		HEp-2	CMK
1	20	19(95)	13(65)
2	28	26(93)	20(71)
3	41	40(98)	17(41)
4	28	27(96)	13(46)
5	17	17(100)	9(53)
6	9	9(100)	6(67)
NT	2	2(100)	1(50)
計	145	140(97)	79(54)

NT: not typed

ま と め

1979年1月から1991年3月までの約12年間、山梨県内の主として小児科医院に受診した患児、および咽頭結膜熱の集団発生の患者を対象としてアデノウイルスの分離を実施した結果、以下の知見を得た。

- 1) 調査期間内に4,211名の患者から196例のアデノウイルスを検出した。最も多く検出されたのは、3型75例、で、ついで2型39、4型25、1型23、5型20、6型11、その他の型3例の順であった。

- 2) 1,2型は3歳以下の上気道炎患者からほとんど毎年、年間を通して検出される傾向が認められた。5,6型も1,2型と類似していたが、85年以降は検出されない年次もあった。
- 3) 3,4型は4歳以上の咽頭結膜熱患者から多く検出された。3型は山梨県では81,84,87,90年と2年おきに流行し、夏季に多く検出される傾向が認められた。4型は81年から82年にかけて流行したが、83~89年間は1株も検出されなかった。
- 4) 分離に供したHEp-2, CMK, RD-18S細胞のうち、HEp-2細胞がアデノウイルスに対して最も高い感受性を示した。
- 5) 以上の成績から、80年代のアデノ1~6型ウイルスの動向は、今までほとんど検出されなかった4型ウイルスが流行した以外は60,70年代と余り変わらないものと思われる。

稿を終えるにあたり、検体採取に御協力頂いた小児科・内科医院の諸先生方、山梨県厚生部健康増進課および保健所の皆様に深謝致します。

文 献

- 1) 北山 徹：臨床ウイルス学講義篇(甲野礼作、石田名香雄、沼崎義夫編)、160~164、講談社(1978)
- 2) 中園直樹、藤永 薫：分子疫学(坂岡博、藤永 薫編)、134~138、共立出版(1990)
- 3) 木村晋亮、梶 哲夫、尾西 一、尾山光一、吉野彦助：石川衛公研年報、19、332~340(1982)
- 4) 板垣朝夫ら：島根衛公研年報、25、27~30(1983)
- 5) 三木 康、矢ヶ崎保昌：山梨衛研年報、11、97~99(1969)
- 6) 遠藤貞郎、野村泰弘、小島基義、母里啓子：臨床とウイルス、10、71~74(1982)
- 7) 上羽 修ら：公衆衛生、45、665~668(1981)
- 8) 国立予防衛生研究所：病原微生物検出情報、11、41(1990)
- 9) 西川文雄ら：第20回日本ウイルス学会総会 講演予稿集、2010(1972)
- 10) 窪田 勉、吉田英一、市川哲郎：静岡衛研年報、19、35~39(1976)
- 11) 国立予防衛生研究所：病原微生物検出情報、38、1、18(1983)
- 12) 国立予防衛生研究所：病原微生物検出情報、10、216(1988)
- 13) 吉田靖子、関根整治、藪内 清：東京衛研年報、35、82~88(1984)