

## エンテロウイルス 71 型の遺伝子解析による福島県の 手足口病の地域流行及び変異の解析

北川和寛 塚田敬子<sup>1)</sup> 五十嵐郁美 門馬直太 二本松久子 金成篤子 佐藤弘子<sup>2)</sup>  
微生物課 県中支所<sup>1)</sup> 前福島県衛生研究所<sup>2)</sup>

### 要 旨

当所において過去 30 年間に検出されたエンテロウイルス 71 型について遺伝子解析を実施した。抗原性に関与する VP1 領域から得られた塩基配列より系統樹解析を実施した結果、エンテロウイルス 71 型は年ごとに一種類の遺伝子型が単一で流行していることが多く、B および C 型の各種遺伝子型が入れ替わり検出された。また、複数の遺伝子型による混合流行が認められる年においては手足口病患者が多数報告されていた。

キーワード：エンテロウイルス 71 型，手足口病，遺伝子型解析

#### はじめに

手足口病は手足の指先，または口唇にあらわれる水泡性発疹を特徴とする発熱性のウイルス感染症で，主に小児の間で流行することが知られている<sup>1)</sup>。多様なウイルスが原因ウイルスとなるが，主にエンテロウイルス 71 型（以下“EV71”とする）とコクサッキーウイルス A 群 16 型（以下“CA16”とする）が知られている<sup>1)</sup>。本疾患は，一般的に予後は良好であるが，EV71 に感染した場合は，まれに髄膜炎や脳炎などを併発するため，EV71 による重症化が近年注目されている<sup>1)</sup>。そこで，本報では手足口病の原因ウイルスであり重症化が危惧されている EV71 について，本県で検出された分離株より分子疫学的解析を行った。

#### 材料及び方法

##### 1 ウイルス分離及び同定

1983年より30年間に渡って当所に搬入された手足口病患者検体について，各種細胞（Vero, RD18S等）によるウイルス分離を行った。同定は，国立感染症研究所より分与された抗血清による中和試験を行い，同定したEV71の214件及びCA16の416件を用いた。

##### 2 分子疫学的解析

福島県感染症発生動向調査により検出されたEV71分離株の中から，検出年毎に代表的な162件を抽出し，抗原性に関与するVP1領域全

長を標的としたRT-PCRを行った<sup>1)</sup>。増幅されたVP1遺伝子領域（891bp）の塩基配列をダイレクトシーケンス法（BigDye Terminator v3, 1 Cycle Sequencing Kit, Applied Biosystems）により決定し，NJ法による分子系統樹を作成した後，標準株<sup>3-5)</sup>をもとに遺伝子型に分類した。

#### 結果及び考察

##### 1 手足口病の発生状況とウイルス検出数

本県の手足口病患者報告数およびウイルス検出数について比較した結果（図1；患者数の集計は1999年から開始<sup>6)</sup>），2011年を除いて原因ウイルスの約9割がEV71とCA16であり，両ウイルスの検出割合は年によって異なった。2011年は過去2番目に患者数が多く報告された年だったが，主な原因ウイルスは既存の培養細胞では分離が困難なコクサッキーウイルス A 群 6 型（以下“CA6”とする）であった。また，患者が多く報告された年は，ウイルス検出数も増加する傾向が認められた（2002年，2003年，2005年，2007年，2011年）。

##### 2 EV71 と CA16 の検出割合

年によって EV71 と CA16 の検出割合が異なったため，その割合を年次別に集計した（図2；EV71 と CA16 の総検出数を比で集計）。その結果，EV71 と CA16 が検出される割合が約3年周期で変動する傾向が認められた。EV71

が高率に検出された 2003 年や 2010 年には患者数も数多く報告されており、EV71 が他の

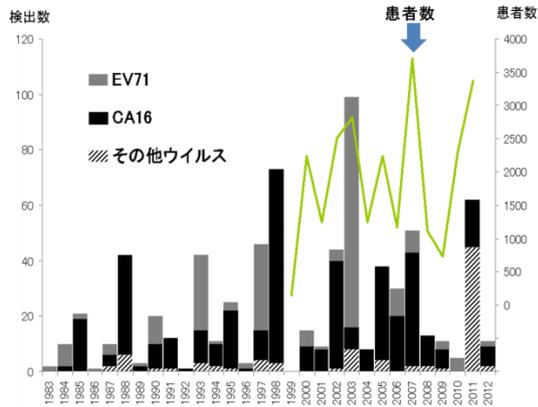


図1 福島県における手足口病患者数及びウイルス検出数

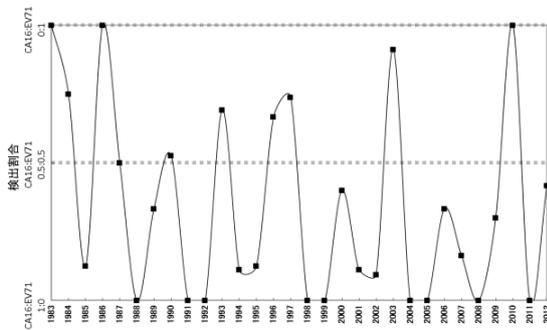


図2 年次別 EV71 と CA16 の検出割合

ウイルスより重症化しやすいことと併せると、このような年は特に注意する必要があるものと思われる。

### 3 分子疫学的解析

EV71 はカプシドタンパク質 VP1 の分子系統樹解析により A, B, C 3 つの遺伝子型に分類され、さらに B1~B5, C1~C5 のサブグループに分けられる<sup>1)</sup>。EV71 分子系統樹解析の結果、162 株中 37 株が B 型、125 株が C 型のグループに分類された (図 3)。最も多く検出されたサブグループは C4 の 50 株であり、C1, C2 の 36 株がついで多く検出され、年によって主に検出される遺伝子型は異なっていた (図 4)。

複数の遺伝子型が検出される年もあり、

2000 年、2003 年は本県だけでなく全国でも患者が多数報告されていた<sup>6)</sup>。このことから、複数の遺伝子型が混合流行する年においては多数の患者が発生する可能性が示唆された。

2012 年は 2003 年以来約 10 年ぶりに B 型が検出された。2011 年には CA6 が主な流行の原因ウイルスとなっており、これまでとは異なる傾向がみられる。そのため今後はこれまでの培養細胞による分離に加え、遺伝子検査を積極的に導入したモニタリングを行い、手足口病の発生動向に注視する必要がある。さらに、抗原性に関与する VP1 遺伝子の分子疫学的解析結果からも EV71 の遺伝子型は頻繁に変化しており、抗原性が変化することで患者数が増加する可能性も考えられることから、EV71 の遺伝子型についても引き続きモニタリングしていきたい。

### まとめ

1 感染症発生動向調査により採取された検体から約 3 年周期で高率に EV71 が検出された。また、高率に EV71 が検出された年は手足口病患者も多数報告されていた。

2 過去 30 年の遺伝子解析結果から、EV71 は年ごとに一種類の遺伝子型が単一で流行していることが多く、B および C 型の各種遺伝子型が入れ替わり検出された。

3 EV71 について複数の遺伝子型による混合流行が認められる年においては、手足口病患者が多数報告されていた。

### 謝辞

本研究は財団法人大同生命厚生事業団 (地域保健福祉研究助成) より助成を頂き、遂行されました。深く感謝いたします。

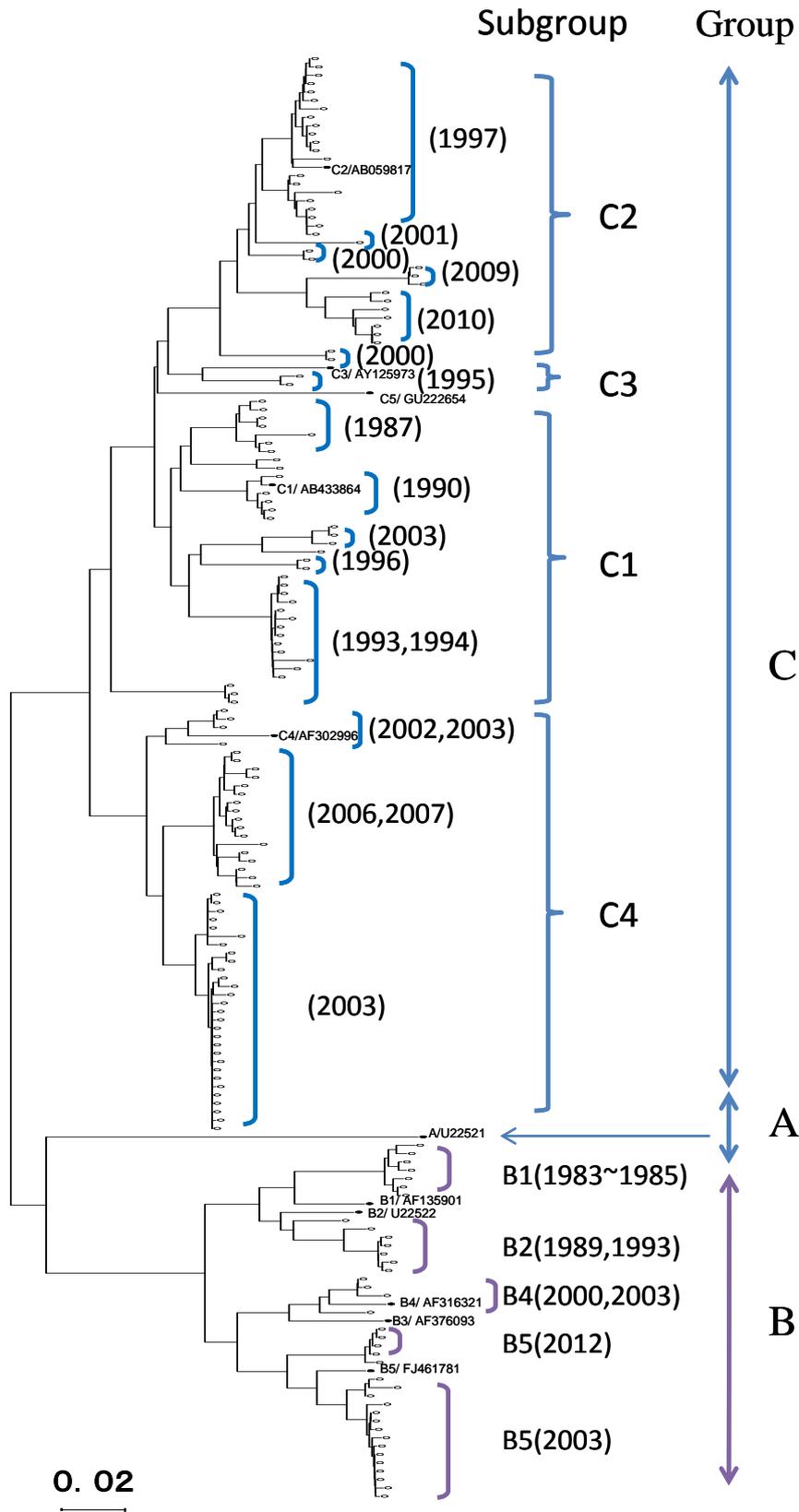


図3 EV71 VP1 領域における系統樹 (891bp)  
「 ( ) の中は検出年を示した」

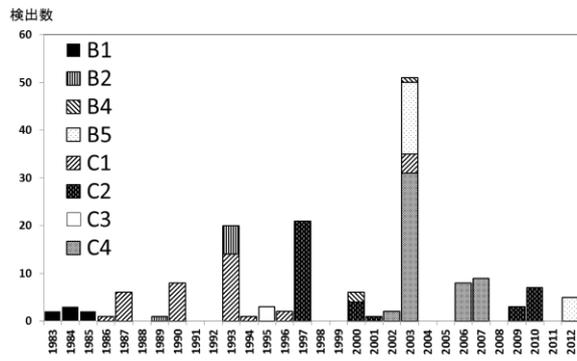


図4 年次別遺伝子型検出数

### 引用文献

- 1) 清水博之：東アジアにおけるエンテロウイルス71型感染症の流行. 病原微生物検出情報 30:9-10, 2009
- 2) Journal of Medical Virology 67:207-216 (2002)
- 3) Shimizu H., et al., Pediatr. Int. 46: 231-235, 2004
- 4) International Journal of Infectious Diseases Volume 14, Issue 12 , Pages e1076-e1081, December 2010.
- 5) J. Clin. Microbiol. January 2011 49:1 419-422; published ahead of print 17 November 2010.
- 6) 感染症発生動向調査年報  
<http://idsc.nih.go.jp/idwr/CDROM/Main.html>  
 2012/10/26