福島県におけるエコーウイルス 9 型の検出状況と分子疫学的解析

北川和寛　鈴木理恵　五十嵐郁美　門馬直太[1)]　金成篤子　吉田学　笹原賢司
衛生研究所　[1)] 県北保健福祉事務所

要　旨

2011 年，2013 年に無菌性髄膜炎の集団発生の報告があり，病原体検索の結果エコーウイルス 9 型が検出された．集団発生の実態解明を目的とし，これまで本県で検出されたウイルスとの比較や構造蛋白質領域（VP4-2，VP1）について分子疫学的な解析を行った．分子疫学的解析の結果，VP4-2，VP1 共に髄膜炎症状に至る重症化症例から検出されるエコーウイルス 9 型は主に上気道炎や発疹症など軽症例から検出されるエコーウイルス 9 型とは明らかに異なるグループを形成しており，エンテロウイルス感染症の病原性の違いが従来考えられていた血清型だけではなく遺伝子型でも規定される可能性が示唆された．

キーワード：エコーウイルス 9 型，無菌性髄膜炎，分子疫学的解析

はじめに

エコーウイルスはピコルナウイルス科エンテロウイルス属のウイルスで，主に夏季に小児の間で流行する．症状は一般的に軽症であり，上気道炎，胃腸炎，発疹等，多様だが，まれに無菌性髄膜炎，脳症等の中枢神経合併症や心筋炎等からの死亡に至る症例も報告されている[1)]．

2011 年 7 月から 11 月にかけて福島県内で無菌性髄膜炎患者が 38 症例報告された．感染症発生動向調査事業により病原体検索が行われ，搬入されたほぼ全ての症例（検体は髄液および咽頭拭い液，糞便）からエコーウイルス 9 型（以下“E9”とする）が検出され，患者の居住地が隣り合う 2 市町に限局していたことから，E9 による無菌性髄膜炎の地域流行であったことが示唆された．その後，2013 年 9 月に再び教育施設を中心に複数の無菌性髄膜炎患者が発生し，患者検体から同様に E9 が検出された．

本研究では，これら 2 つの無菌性髄膜炎を引き起こした E9 について地域流行との関連性やウイルス性状等を解明するため，これまで本県で検出された E9 との比較や分子疫学的な解析を行った．

材料及び方法

感染症発生動向調査により2002年から2013年に搬入された検体（髄液，咽頭拭い液，糞便等）について培養細胞（RD-18S，HEp2，Vero，LLC-MK2）を用いたウイルス分離を試み，国立感染症研究所から分与された抗血清（EP95）を用いた中和試験により同定し，81 検体のE9陽性検体を得た．その後，構造蛋白質VP4-2領域及びVP1領域についてRT-PCR[2-4)]を行い，陽性となった検体についてはダイレクトシークエンス法により塩基配列を決定し，NJ法による系統樹解析を行った．なお，2012年については臨床検体9検体よりVP4-2領域に対するnested RT-PCRを行い，塩基配列解析を行った．

結果及び考察

1　臨床症状と患者年齢層

2002 年から 2013 年に当所で E9 が検出された症例について症状を解析した結果，地域流行が観察された 2011 年，2013 年は 50 症例中 45 症例（90.0%）が髄膜炎症状を伴っていたが，それ以外の年で髄膜炎を併発した症例は 31 症例中 3 症例（9.7%）であった．また，髄膜炎症状を呈した症例の患者年齢を比較すると，2011 年，2013 年は 2 歳から 5 歳までの幼児が 12 症例，6 歳以上の小児が 32 症例，成人が 1 症例と幅広い年齢層で発症していたが，それ以外の年の症例は全て 6 歳以上の小児であった．以上の結果から，2011 年，2013 年に発生した地域流行は 6 歳以上の小児だけでなく 5 歳以下の幼児にも高率に髄膜炎を併発し

ており，これまで当所が経験した症例とは明らかに異なる特徴を示した．

２　分子疫学的解析

2011 年, 2013 年の無菌性髄膜炎の集団感染例から検出された E9 と過去本県において検出された E9 を比較するため，E9 の構造遺伝子（VP4-2，VP1）領域の塩基配列を解析した結果，2011 年，2013 年に検出されたウイルスはほぼ同じ塩基配列であり，それぞれが共通の病原体に由来する集団感染であった可能性が強く示唆された．また，髄膜炎症状に至る重症化症例から検出される E9 は主に上気道炎や発疹症など軽症例から検出される E9 と明らかに異なるグループを形成していた（図 1，図 2）．

今回解析に用いた VP1 領域はウイルス粒子の最も外殻の構造蛋白質をコードしており，塩基配列が頻繁に変化する事が知られている[5]．一方，VP4-2 領域は VP1 よりも内側の構造蛋白質をコードするため塩基配列が比較的安定した領域である[5]．2011 年，2013 年に検出されたウイルスは VP1 だけでなく VP4-2 についても過去に検出されたウイルスとは異なる塩基配列だったことから，これまで報告されていないタイプの遺伝子型である可能性が考えられた．

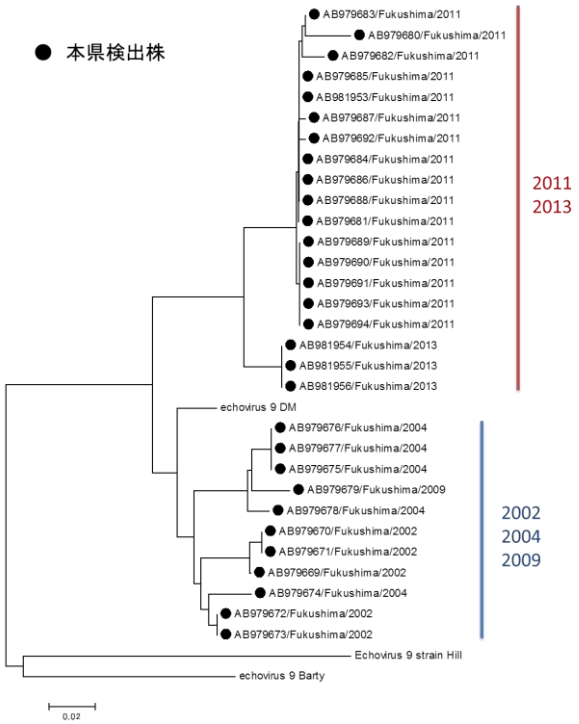

図２　VP1 領域における系統樹（約 555bp）

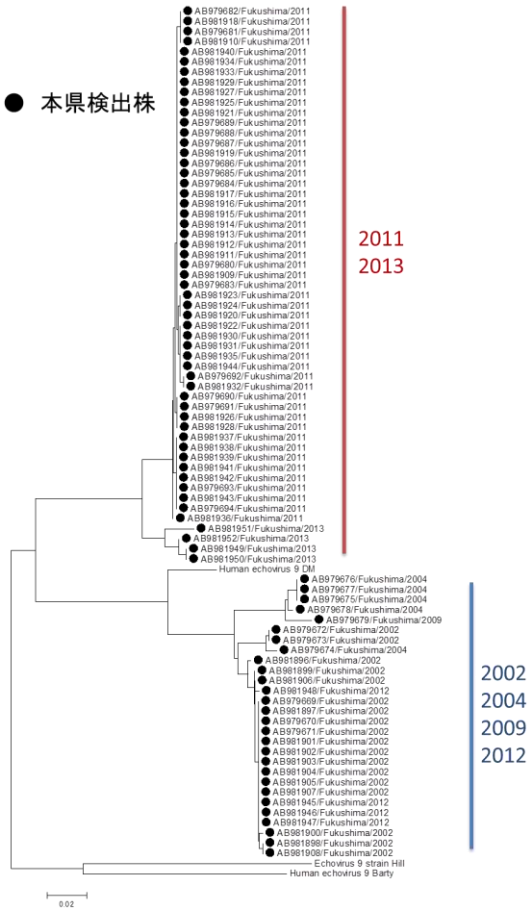

図１　VP4-2 領域における系統樹（564bp）

E9 を含むエンテロウイルスの中にはエンテロウイルス 71 型を代表に中枢神経症状を伴う重症化傾向の強い血清型が存在する．2011 年の集団感染事例においては児童施設でのアウトブレークをきっかけに，複数の自治体に跨る地域流行となり，無菌性髄膜炎患者報告の沈静化までに数カ月を要した．このことから, E9 には少なくとも上気道炎等症状を示す軽症グループと感染力・重症化傾向も高い重症化グループの 2 つの遺伝子型が存在することが示唆され，病原性の違いが従来考えられていた血清型だけではなく遺伝子型でも規定される可能性を示すものであり非常に興味深い．エンテロウイルスは比較的頻繁に遺伝子組換えが発生する事が知られており[6]，病原性や感染力の変化について常に監視する必要がある．そのため，今後も無菌性髄膜炎

等の集団感染や地域流行が疑われる事例においてはより詳細な性状解析を実施していきたい.

謝　辞

本研究を行うにあたり，検体採取のご協力いただきました県民の皆様並びに各医療機関の諸先生，保健所職員の方々に深く感謝いたします.

引用文献

1)多屋馨子，早川丘芳，北本理恵，他，本邦におけるエンテロウイルス感染症の疫学，重症化例の発生動向調査．IASR 病原体微生物検出情報（月報）　2004；25：226-227.

2)石古博昭，島田康司，與那覇麻理，他，遺伝子系統解析によるエンテロウイルスの同定臨床とウイルス　1999；27：283-293.

3)Oberste MS, Maher K, Flemister MR, et al. JCM 2000; 38: 1170-1174.

4)Nix WA, Oberste MS, Pallansch MA, JCM 2006; 44: 2698-2704.

5)Pallansch MA, Roos RP. Enteroviruses. Knipe DM. Fields Virology. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins 2001; 723-775.