

眼科医療従事者におけるヒトアデノウイルス中和抗体保有率の検討

大口 剛司¹⁾, 金子 久俊²⁾, 田川 義継¹⁾, 青木 功喜¹⁾, 大野 重昭¹⁾, 塩田 洋³⁾¹⁾北海道大学大学院医学研究科病態制御学専攻感覚器病学講座眼科学分野²⁾福島県立医科大学眼科学講座³⁾徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部視覚病態学分野

要 約

目 的：院内感染対策の一環として，眼科医療従事者におけるヒトアデノウイルス(*hAdV*)中和抗体保有率を検討した。

方 法：全国 10 施設の眼科病院における医療従事者 288 名を対象とし，結膜炎を引き起こす血清型である *hAdV*-3, 4, 7, 8, 11, 19, 37 に対する中和抗体価を測定した。そして施設別，年代別，職種別(医師，看護師，その他)，*hAdV* 結膜炎既往の有無で保有率を検討した。

結 果：中和抗体保有率は 3 型が 70.1%，4 型が 43.8%，7 型が 18.8%，8 型が 16.3%，11 型が 16.3%，19 型が 8.7% そして 37 型が 6.3% であった。医師は他職

種に比べ 2 倍以上の 8 型抗体保有率を示した。*hAdV* 結膜炎の既往者では，19 および 37 型に対する抗体保有率が高かった。

結 論：眼科医療従事者における *hAdV*-8, 19 および 37 に対する抗体保有率は低く，今後もこれらの血清型による結膜炎の流行および院内感染の可能性が高いことが血清疫学的に示唆された。(日眼会誌 111 : 931-935, 2007)

キーワード：ヒトアデノウイルス結膜炎，眼科医療従事者，中和抗体，保有率

The Study of Prevalence of Neutralization Antibody against Human Adenovirus in Ophthalmological Medical Workers

Takeshi Ohguchi¹⁾, Hisatoshi Kaneko²⁾, Yoshitsugu Tagawa¹⁾, Koki Aoki¹⁾,
Shigeaki Ohno¹⁾ and Hiroshi Shiota³⁾¹⁾Department of Ophthalmology and Visual Sciences, Hokkaido University Graduate School of Medicine²⁾Department of Ophthalmology, Fukushima Medical University School of Medicine³⁾Department of Ophthalmology and Visual Neuroscience, University of Tokushima Graduate School

Abstract

Purpose : We studied the prevalence of neutralization antibodies against human adenovirus (*hAdV*) in ophthalmological medical workers as one measure for the prevention of nosocomial infection.

Methods : The prevalence of neutralization antibodies against *hAdV*-3, -4, -7, -8, -11, -19, and -37, which can cause conjunctivitis, was measured in 288 workers at ten ophthalmological facilities in Japan. We studied the prevalence in different facilities, different generations, different types of workers (doctors, nurses, and others), and their medical history of *hAdV* conjunctivitis.

Results : Among the workers, the prevalence of neutralization antibodies against *hAdV*-3, -4, -7, -8, -11, -19, and -37 was 70.1%, 43.8%, 18.8%, 16.3%, 16.3%, 8.7%, and 6.3%, respectively. The prevalence of neutralization antibodies against *hAdV*-8

was two times higher in doctors than in other workers. People who have a history of *hAdV* conjunctivitis have a high prevalence of neutralization antibodies against *hAdV*-8, -19, and -37.

Conclusions : The prevalence of neutralization antibodies against *hAdV*-8, -19, and -37 was low in the ophthalmological medical workers. These sero-epidemiological data indicate the high possibility of an epidemic of conjunctivitis and occurrence of nosocomial infection caused by these serotypes. Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 111 : 931-935, 2007)

Key words : Human adenovirus conjunctivitis, Ophthalmological medical workers, Neutralization antibody, Prevalence

別刷請求先：060-8638 札幌市北区北 15 条西 7 北海道大学大学院医学研究科病態制御学専攻感覚器病学講座眼科学分野
大口 剛司 E-mail : tohguchi@med.hokudai.ac.jp

(平成 19 年 2 月 26 日受付，平成 19 年 6 月 5 日改訂受理)

Reprint requests to : Takeshi Ohguchi, M.D. Department of Ophthalmology and Visual Sciences, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Kita-15 Nishi-7, Kita-ku, Sapporo 060-8638, Japan

(Received February 26, 2007 and accepted in revised form June 5, 2007)

I 緒 言

ヒトアデノウイルス (*hAdV*) は現在 51 種類の血清型¹⁾が知られており, その DNA の相同性などによりさらに A~F の 6 つの種²⁾に分けられている. このうちヒトに結膜炎を引き起こす血清型は B 種の *hAdV*-3, 7, 11, D 種の *hAdV*-8, 19, 37, そして E 種の *hAdV*-4 の 7 種類が主なものである. 眼感染症サーベイランス情報によると, ある血清型は数年おきに流行を繰り返すことが報告されている. また, D 種による院内感染が全国の大学病院で多発している^{3)~5)}. 著者らは過去 10 年間に約 80% の大学病院で院内感染が発生していること, さらに眼科医療従事者が院内感染の発端者と考えられた施設があったことを報告した⁶⁾. 著者らは以前にウイルス性結膜炎の疫学, 臨床像, 診断, 治療などのガイドラインを作成したが⁷⁾, 今回さらにウイルス性結膜炎院内感染対策委員会を発足させ, その一環として眼科医療従事者における *hAdV* 中和抗体保有率を検討した.

近年, polymerase chain reaction (PCR) などの分子生物学的手法の進歩により *hAdV* のさまざまな分子疫学的検討が可能となっているが, 血清疫学に関する報告はほとんどみられない. 今回著者らは本感染対策委員会に属する眼科施設の医療従事者を対象に *hAdV* 中和抗体保有率を検討したので報告する.

II 対象と方法

全国 10 施設の眼科病院における医療従事者 288 名を対象とした. その内訳は北海道 34 名, 岩手県 20 名, 福島県 16 名, 東京都 A 30 名, 東京都 B 12 名, 京都府 42 名, 兵庫県 53 名, 徳島県 31 名, 鳥取県 31 名, 福岡県 4 名, 熊本県 15 名である. その 288 名の血清を採取し, *hAdV*-3, 4, 7, 8, 11, 19, 37 の 7 種類の血清型の中和抗体価を測定した. 中和抗体の結果を施設別, 年代別 (20 代以下 98 名, 30 代 102 名, 40 代以上 88 名), 職種別 (医師 106 名, 看護師 121 名, その他 45 名) および *hAdV* 結膜炎既往の有無で検討した. なお, その他の職種は主に視能訓練士と受付事務員である. また, 医師, 看護師, その他の職種の年齢分布を表 1 に示した.

中和抗体価の測定は三菱化学ビーシーエル社に依頼し, A 549 細胞を用いた 96 穴マイクロプレート法で以下のように行った.

1. 細 胞

96 穴マイクロプレートに A 549 細胞浮遊液を 1 穴あたり 5×10^3 個の細胞ずつ全穴に播き, 37°C, 5% CO₂ 存在下で 2 日間培養した. その後, 96 穴マイクロプレートの細胞増殖培地を除去し, 2% ウシ胎仔血清 (FBS) 加 MEM 0.050 ml で培地交換 (Back titration 用の 96 穴マイクロプレートには 2% FBS 加 MEM 0.075 ml) した.

表 1 職種別の年齢分布

	20 代以下	30 代	40 代以上
医師	22	50	34
看護師	56	35	30
その他	15	12	18

2. ウ イ ル ス

hAdV-3, 7, 8, 11, 37 の標準株 (prototype, p), *hAdV*-4 と 19 a の臨床分離株 (variant, v) の 7 種類のウイルスを 2% FBS 加 MEM で 100 TCID₅₀/0.025 ml に調製した.

3. 検 体

血清 (デンカ社製の免疫血清, *hAdV*-8 は ATCC 製) を 2% FBS 加 MEM で 4 倍希釈し, 56°C, 30 分間で非動化した. 96 穴トランスファープレートの全穴に 2% FBS 加 MEM を 0.025 ml ずつ滴下し, 非動化済血清を 96 穴トランスファープレートの 1 穴目に 0.025 ml ずつサンプリングした. 1 検体あたり 2 穴使用し, 初希釈 8 倍で管理抗血清も同様に実施した. その後, 8 列目までオートダイリューターで 0.025 ml ずつ 2 倍段階希釈した.

4. 中 和 反 応

上記 3 で 2 倍段階希釈した血清にウイルスを 1 穴あたり 0.025 ml ずつ滴下し, 室温で 30 分間中和反応 (中和反応に使用した 100 TCID₅₀ のウイルスも室温, 30 分間反応) した. 反応後, 上記 1 の細胞に加え (Back titration としての 100 TCID₅₀ のウイルスは, $10^0 \sim 10^3$ 倍まで 10 倍段階希釈し, 0.025 ml/穴, 各希釈 4 穴ずつ接種), 37°C, 5% CO₂ 存在下で 7 日間培養した.

5. 判 定

細胞変性効果 (cytopathic effect, CPE) を光学顕微鏡下で観察した. CPE 陰性を示す希釈倍数を中和抗体価とし, 8 倍以上を陽性とした.

III 結 果

各血清型の中和抗体保有率は表 2 のとおりであり, 3 型が 70.1%, 4 型が 43.8%, 7 型が 18.8%, 8 型が 16.3%, 11 型が 16.3%, 19 型が 8.7% そして 37 型が 6.3% であった. 同じ種で同時に抗体価が上昇していたのは, B 種で 55 名 (19.1%) にみられた. そのうち, 3, 7, 11 型すべてが上昇していたのは 12 名 (21.8%), 3 と 7 型が 19 名 (34.5%), 3 と 11 型が 21 名 (38.2%), 7 と 11 型が 5 名 (9.1%) であった. 一方, D 種で同時に抗体価が上昇していたのは 13 名 (4.5%) であった. そのうち, 8, 19, 37 型すべて上昇していたのは 2 名 (15.4%), 8 と 19 型は 5 名 (38.5%), 8 と 37 型は 4 名 (30.8%), 19 と 37 型は 2 名 (15.4%) であった.

施設別では北海道で *hAdV*-19 と 37, 岩手県で *h*

表 2 HAdV 血清型の施設別中和抗体保有率(%)

	3 p	4 v	7 p	8 p	11 p	19 a	37 p
北海道	64.7	23.5	8.8	29.4	14.7	0	0
岩手県	60	25	10	0	5	5	0
福島県	81.3	31.3	25	31.3	18.8	12.5	6.3
東京都 A	76.7	43.3	30	16.7	20	6.7	6.7
東京都 B	83.3	25	33.3	16.7	33.3	8.3	16.7
京都府	66.7	59.5	12.2	19	14.3	14.3	4.8
兵庫県	76.5	50	19.6	9.8	15.7	7.8	7.8
徳島県	67.7	35.5	22.6	12.9	12.9	9.7	9.7
鳥取県	64.5	51.6	16.1	19.4	25.8	12.9	6.5
福岡県	50	75	25	25	25	25	25
熊本県	80	66.7	26.7	6.7	6.7	6.7	6.7
計	70.1	43.8	18.8	16.3	16.3	8.7	6.3

p：標準株，v：臨床分離株。

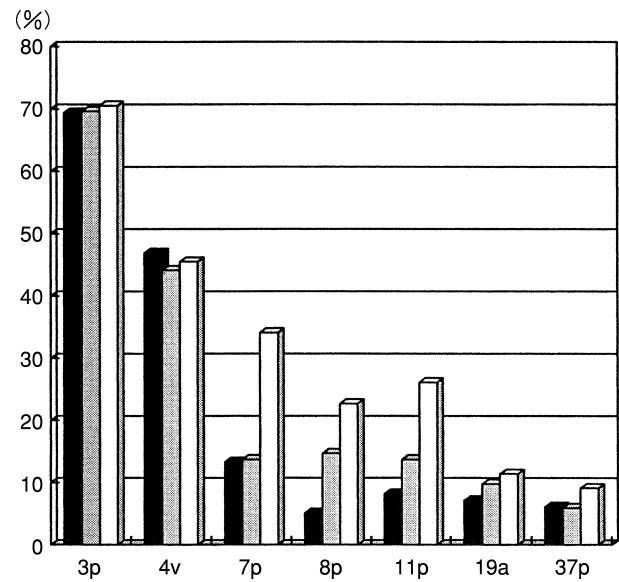


図 1 年代別の中和抗体保有率。

HAdV-3 と 4 は年代別で差はみられなかったが、その他の血清型は年代が進むにつれて高い保有率を示した。
■：20 代以下，■：30 代，□：40 代以上。

AdV-8 と 37 に対する抗体保有者がみられず、その他の血清型も北海道の hAdV-8 を除き、両地域では全国平均より低い保有率であった。年代別の抗体保有率は図 1 に示すとおりであり、3 と 4 型では各年代で差はみられなかった。その他の血清型は年代が進むにつれて高い保有率を示した。職種別抗体保有率は図 2 に示すとおりであり、7 型はその他の職種が看護師の約 3 倍の保有率であった。8 型は医師が看護師およびその他の職種の 2 倍以上の保有率であった。hAdV 結膜炎既往の有無で検討してみると、図 3 に示すように結膜炎の既往があると、8, 19 および 37 型で 2 倍以上の抗体保有率を示したが、

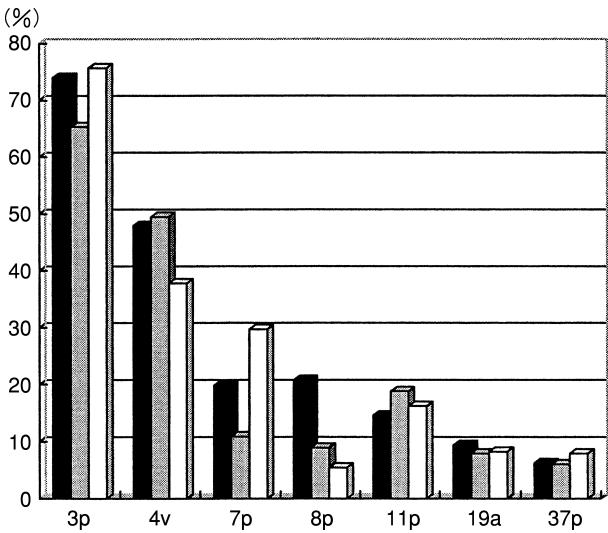


図 2 職種別の中和抗体保有率。

HAdV-7 はその他の職種が看護師の 3 倍、8 型は医師が看護師およびその他の職種の 2 倍以上の保有率であった。
■：医師，■：看護師，□：その他。

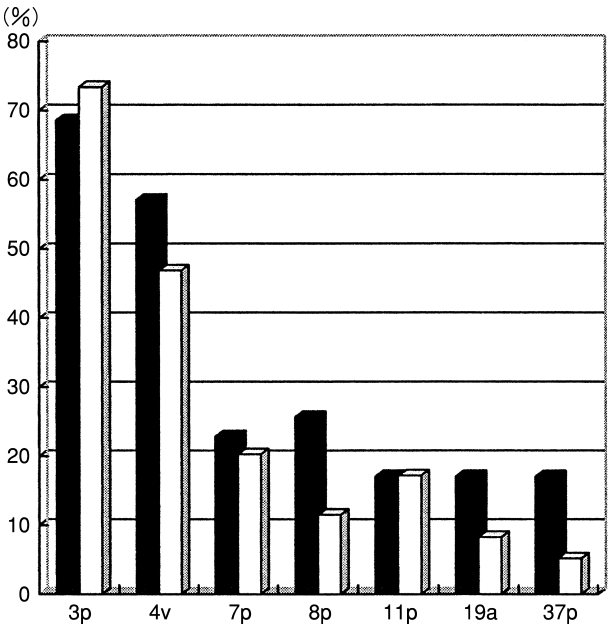


図 3 HAdV 結膜炎既往の有無による中和抗体保有率。
既往ありの人が hAdV-8, 19 および 37 で 2 倍以上の保有率であった。
■：既往あり，□：既往なし。

既往のない群でも、低いながら陽性者がみられた。

IV 考 按

今回の検討の結果、hAdV-3 と 4 は他の血清型に比べ高い保有率を示した。HAdV の中和抗体産生は咽頭結膜熱のように眼外症状を伴う場合と、流行性角結膜炎のように結膜に局限した炎症とではその抗体産生量は異

なると考えられる。B種の *hAdV*-3 と 7 および E 種の *hAdV*-4 は古くから咽頭結膜熱や夏風邪の病因ウイルスとしてよく知られており、特に *hAdV*-3 は学童期に多数感染し、最近の分子疫学的検討では多くの変異を繰り返していることが報告されている⁸⁾。*HAdV*-4 の変異は *hAdV*-3 に比べれば少ないが、変異が起これば感染が多発することが明らかとなっている⁹⁾。一方、D 種の *hAdV*-8, 19 a および 37 も流行と変異が繰り返されている^{10)~12)}が、結膜などへの局所感染がほとんどである。今回の検討からは局所感染と全身感染における中和抗体産生量の相違は不明であるが、一般に結膜炎などの局所感染では中和抗体価の上昇が低いことが推察された。

今回の検討で、同じ種内で中和抗体価が上昇していた例がみられた。しかし、*hAdV* 結膜炎 3,000 例の観察で *hAdV* の再感染は、異なる種では 6% にみられたが、同じ種内では結膜炎の再感染例はみられなかった¹³⁾。現在中和抗体の測定は標準株で免疫された市販標準血清で行われている。しかし、同じ血清型の *hAdV* でも多くの変異が報告され^{8)~12)}、中和試験に使用される標準血清の質により交差反応を起こす可能性がある。特に D 種では、*hAdV*-8 に比べ *hAdV*-19 a と 37 は我が国に侵入したのは遅く、標準免疫血清の作製が遅れている¹⁴⁾。また、近年の遺伝子解析によると *hAdV*-19 a と 37 の差はきわめて少ない¹⁵⁾ことから交差している可能性が示唆された。このため、今回の結果は、交差反応による抗体価の上昇も含まれていると考えられる。今後標準血清の質の向上など中和試験の特異性の改善が必要である。また、同一血清型による *hAdV* 結膜炎再感染例もこれまでに報告されていない。一般にウイルス性の病原体が結膜に感染すると結膜上皮組織にリンパ球が集積し、そのリンパ球がウイルス抗原を認識して、結膜の防御機構が働くと考えられている¹⁶⁾。つまり結膜炎においては全身免疫と局所免疫の両方を考慮する必要がある。中和抗体がなくても、結膜局所では免疫が成立しており、同一血清型の再感染はないと考えられる。

年代別検討では *hAdV*-3 と 4 の抗体保有率はほとんど差がみられなかった。これは大多数が学童期に感染するためと考えられる。中和抗体の持続期間については不明な点が多いが、今回の検討からは数十年間は持続していることが推察された。しかし、急性出血性結膜炎の原因となるエンテロウイルス 70 ではその抗体価の上昇は弱く、7 年後に低下して再感染を起こした報告¹⁷⁾があるので注意が必要である。8 型は医師が看護師およびその他の職種の 2 倍以上の保有率であったのは、19 および 37 型は比較的最近分離されたのに対し、8 型は 50 年以上前から我が国における結膜炎の原因ウイルスとして分離され、感染の機会が多かったのと、医師の年齢が高く分布していることが主な原因と考えられた。

施設別の検討では北海道と岩手県において、どの血清

型もほぼ全国平均より低く、また抗体保有者がいない血清型もみられた。*HAdV* は高温多湿な環境を好むため、寒冷な地域では *hAdV* 感染の絶対数が少ないためと推察された。今後は特に保有者がみられなかった血清型の流行に十分注意する必要がある。

職種別検討では *hAdV*-7 と 8 でやや差がみられたが、院内感染の原因となる *hAdV*-8, 19 a および 37 の抗体保有率はどの職種の眼科医療従事者でも他の血清型に比べ低いことが確認された。

HAdV 結膜炎の既往がある人では、既往のない人と比較し、*hAdV*-8, 19 a および 37 の抗体保有率が 2 倍以上であった。一方、既往がなくてもこれらの抗体保有者がみられた。これは *hAdV* 結膜炎がきわめて軽症で治癒することがあるためと推察された。

以上、眼科医療従事者における *hAdV* 中和抗体保有率を検討した。特に *hAdV*-8, 19 a および 37 の保有率は低く、血清疫学的には今後もこれらのウイルスによる流行および院内感染が発生していく可能性が示唆された。このため、眼科医療従事者は自分の抗体保有状態を把握して診療に従事する必要があると考えられた。

稿を終えるにあたり、ご協力いただきましたウイルス性結膜炎院内感染対策委員の諸先生、ならびに採血にご協力いただきました施設の皆様に心から感謝申し上げます。また、本研究は日本眼科学会からの助成金を用いて行われました。日本眼科学会の研究助成に対し、心から感謝申し上げます。

文 献

- 1) Schnurr D, Dondero ME: Two new candidate adenovirus serotypes. *Intervirology* 36: 79—83, 1993.
- 2) Phillipson L: Structure and assembly of adenoviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 109: 1—52, 1984.
- 3) 金子久俊, 近藤剛史, 藤原聡之, 飯田知弘, 三浦里香, 中嶋治彦, 他: アデノウイルス 37 型変異株による結膜炎院内感染の臨床ウイルス学的検討. *日眼会誌* 109: 489—496, 2005.
- 4) 井上昌幸, 四宮加容, 内藤 毅, 塩田 洋: 流行性角結膜炎の院内感染の検討. *臨眼* 58: 823—826, 2004.
- 5) 高浦典子, 稲田紀子, 嘉村由美, 澤 充: アデノウイルス 37 型結膜炎の院内感染. *眼科* 46: 693—698, 2004.
- 6) 大口剛司, 青木功喜, 有賀俊英, 石古博昭, 田川義継, 大野重昭: ウイルス性結膜炎の大学病院院内感染のアンケート調査. *日本の眼科* 75: 689—692, 2004.
- 7) 内尾英一: アデノウイルス結膜炎のガイドライン. 第 1 章 疫学. *日眼会誌* 107: 2—7, 2003.
- 8) Shiao S, Aoki K, Isobe K, Wang L, Itoh N, Kobayashi N, et al: Genome analysis of Adeno-

- virus type 3 isolated in Japan. *J Clin Microbiol* 34 : 413—416, 1996.
- 9) **Wang L, Aoki K, Isobe K, Shiao S, Toba K, Kobayashi N**, et al : Genome analysis of Adenovirus type 4 strains isolated from acute conjunctivitis in Japan. *Jpn J Ophthalmol* 41 : 308—311, 1997.
- 10) **Ariga T, Shimada Y, Shiratori K, Ohgami Y, Yamazaki S, Tagawa Y**, et al : Five new genome type of adenovirus type 37 caused epidemic keratoconjunctivitis in Sapporo more than 10 years. *J Clin Microbiol* 43 : 726—732, 2005.
- 11) **Adhikary AK, Numaga J, Kaburaki T, Kawashima H, Araie M, Ikeda Y**, et al : Genetic characterization of adenovirus type 8 isolated in Hiroshima city over a 15 year period. *J Clin Pathol* 56 : 120—125, 2003.
- 12) **Tanaka-Yokogui K, Itoh N, Usui N, Takeuchi S, Uchio E, Aoki K**, et al : New genome type of Adenovirus serotype 19 causing nosocomial infections of epidemic keratoconjunctivitis in Japan. *J Med Virol* 65 : 530—533, 2001.
- 13) **青木功喜, 銭 蘭** : ウイルス結膜炎の再感染. *臨眼* 45 : 1133—1137, 1991.
- 14) **青木功喜, 加藤道夫, 大塚秀勇, 中園直樹, 石井慶蔵** : 新型ウイルスによる角結膜炎の臨床疫学的ならびに病原学的研究. *日眼会誌* 89 : 294—298, 1985.
- 15) **Shimada Y, Ariga T, Tagawa Y, Aoki K, Ohno S, Ishiko H** : Molecular diagnosis of human adenovirus D and E by phylogeny-based classification method using a partial hexon sequence. *J Clin Microbiol* 42 : 1577—1584, 2004.
- 16) **田川義継, 斎藤 学, 小阪 貴** : ヒト結膜濾胞のリンパ球サブセット. *臨眼* 40 : 239—242, 1986.
- 17) **Aoki K, Sawada H** : Long term observation of NT antibody after enterovirus 70 infection. *Jpn J Ophthalmol* 36 : 465—468, 1992.
-