

## 結膜炎関連アデノウイルスの血清疫学 (図3, 表5)

青 木 功 喜 (青木眼科 札幌市)

沢 田 春 美 (北海道衛生研究所疫学部 札幌市)

## Seroepidemiological Study of Conjunctivitis Related Adenoviruses

Koki Aoki

*Aoki Eye Clinic, Sapporo*

Harumi Sawada

*Hokkaido Institute of Public Health, Sapporo*

## 要 約

札幌地方における過去9年間の結膜炎由来549株の分離Adの年次別頻度と患者年齢、及び札幌在住の152名の対照群の、Ad3, 4, 7, 8, 11, 19, 37の血清中和抗体価を測定し、札幌地方におけるこれら病原体の侵襲の実態に検索を加えた。1. Ad3の中和抗体はAdCF陽性群で73.3%、AdCF陰性群で56.1%に認められ、Adの抗体保有状態を検討するには血清中和試験が必要であることが示唆された。2. 中和抗体はAd3と11では66%と52%と高い抗体保有率を認め、最近発生したAd19と37の抗体は共に13%であり、Ad4, 7, 8は35%, 31%, 33%を示していた。3. 結膜炎の患者からはAd3, 4, 8, 11, 19, 37が分離され、年次推移にそれぞれ特徴があったが、Ad7は分離されなかった。4. Ad11の抗体保有率は52%と高いが、結膜炎患者からの分離は1例にのみ認められたに過ぎず、眼疾患以外の感染で抗体を保有している可能性が考えられた。眼疾患のみを起すAd8, 19, 37は、eye to eyeなどの特定の経路でしか流行しないので、呼吸器症状を呈するAd3, 4, 7よりも抗体保有率が低く、今後も眼科医療機関などを中心に流行していくことが考えられる。(日眼 91:181—186, 1987)

キーワード：アデノウイルス結膜炎、分離同定、血清中和抗体価、Ad3, 4, 7, 8, 11, 19, 37型

## Abstract

The seroepidemiology of conjunctivitis related adenoviruses (Ad) has been studied in 152 inhabitants in Sapporo, Japan, by investigating the neutralization test (NT) antibody and complement-fixation (CF) antibody against Ad types 3, 4, 7, 8, 11, 19 and 37. The results were as follows: 1. Type specific serum NT antibody against Ad3 was detected in 73.3% in AdCF positive group, while in 56.1% in AdCF negative one. 2. Type specific NT antibody of Ad3 was detected in 66%, of Ad11 in 52%, of both Ad 19 and Ad37 in 13% and of Ad4, 7, 8 in 35%, 31%, 33%, respectively. 3. During the nine years' survey, 549 isolates of Ad3, 4, 8, 11, 19 and 37 had been obtained from 1217 patients in viral conjunctivitis, but Ad7 was not detected. 4. In spite of the presence of Ad11 NT antibody in 52%, the same Ad type was isolated from only one patient with viral conjunctivitis in this survey. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 91: 181—186, 1987)

Key words: Adnoviral conjunctivitis, virus isolation, serumneutralizing antibody, Ad3, 4, 7, 8, 11, 19,

## I 緒 言

アデノウイルス (Ad) は結膜に親和性を有し、ウイルス性結膜炎で最も多い病原体である。従来から Ad 眼感染症の臨床像としては、Ad3型 (Ad3) の咽頭結膜熱 (PCF) と Ad8型 (Ad8) の流行性角結膜炎 (EKC) がよく知られている。しかし近年 Ad8の EKC と同じ臨床像を示す病因 Ad として、Ad19, 37型 (Ad19, 37) が分離同定され<sup>1)2)</sup>、さらに PCF と EKC の中間型の臨床像を示す、Ad4型 (Ad4) の流行が、1979年以降我が国で認められるようになった<sup>3)</sup>。PCF の病因としては 1960年代の我が国では Ad3以外に Ad7型 (Ad7) が存在していた<sup>4)</sup>。一方 1969年の後半から東南アジアで急性出血性結膜炎 (AHC) の病原体として Ad11型 (Ad11)<sup>5)</sup>が報告され、我が国では急性出血性膀胱炎の病原体として取り上げられている<sup>6)</sup>。我々は過去 9 年間にわたって、札幌のウイルス性結膜炎患者から 549 株の Ad を分離した。今回はこれらの結膜炎関連 Ad の札幌における侵襲度を明らかにするため、宿主側の血清学的背景より結膜炎関連 Ad の疫学について検討を加えた。

## II 対象及び方法

1. 被検血清は最近 5 年間に札幌の一眼科診療所を受診した非結膜炎患者 152 名より、年齢分布を配慮しつつ採取し、血清反応を行うまで -20℃ にて保存した。

2. 血清試験は Microtiter 法で血清中和試験 (NT) と補体結合反応 (CF) を行った。NT に用いた抗原は Ad3 (GB), Ad4 (RI67), Ad7 (Gomen), Ad8 (Trim), Ad11 (Sloksitski), Ad19 (AV587), Ad37 (GW) の各標準株である。なお CF 抗原としては Ad3 を用いた。NT は HEp-2 細胞で行い、抗原力価 100TCID<sub>50</sub>/0.025ml、血清 5~10 単位を用い、中和 37℃ 90 分及び 4℃ 一夜反応させ、以後 37℃ 3 日間観察し、細胞変性効果が完全に抑えられた最高血清希釈倍数の逆数を中和抗体価とした。CF 抗原は HeLa 細胞で増殖させたものを、16 倍に希釈して予研中検法<sup>7)</sup>に準じて使用した。NT, CF 共に 4 倍以上の抗体価を陽性とした。なお補体結合反応は 152 名に行い、中和試験では Ad3, 4, 8, 19 は 152 名に、Ad7, 11, 37 は 86 名についてそれぞれ抗体価を測定した。

3. 1977 年から 1985 年迄の 9 年間に、前記の診療所を受診した結膜炎患者 1217 名から、主に HeLa 細胞を用いて Ad を分離同定出来た 549 例の結果を Ad 抗体保

有状態と、主に年齢別分布を中心に比較検討した。

## III 結 果

### 1. Ad 抗体保有

CF 抗体価が陽性であったのは 152 例中 86 例 (56.6%) で、0~19 歳と 50~59 歳の 2 つの年齢群の間では CF 陽性と陰性の頻度に差があったが、推計学的には有意でなかった。Ad3 と Ad8 の AdCF 陽性群は陰性群より多い傾向が見られたが、最近分離される Ad4 と Ad19 においては差が見られなかった (表 1)。

Ad3 の中和抗体は 152 例中 100 例 (65.8%) と最も高い頻度で、Ad11 が 86 例中 45 例 (52.3%)、Ad4, Ad7 と Ad8 は 30% から 36% の間であり、Ad19 と Ad37 は各々 12.5% と 7% で低い NT 抗体保有率を示していた (図 1)。

Ad3, Ad4, Ad8, Ad19 各型の中和抗体陽性頻度を、CF 陽性群と陰性群別に検索したところ、図 1 の如く Ad3 においては CF 陽性が 86 例中 63 例 (73.3%) で、CF

表 1 アデノウイルス CF 抗体保有者数の年齢別分布

N=152		
年齢	AdCF 陽性	AdCF 陰性
0 - 19	14	3
20 - 29	8	8
30 - 39	11	9
40 - 49	11	11
50 - 59	15	9
60 -	27	26
Total	86	66

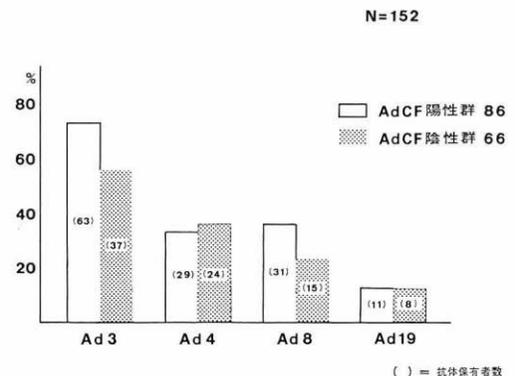
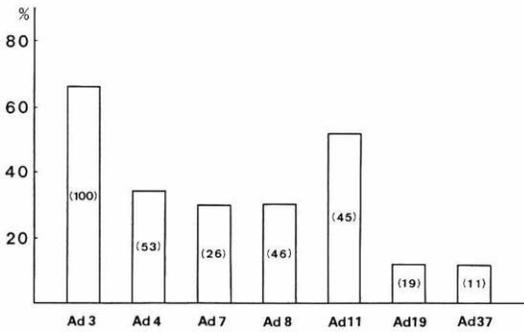


図 1 アデノウイルス型別抗体保有率

Ad3,4,8,19のN=152  
Ad7,11,37のN=86



( ) = 抗体保有者数

図2 アデノウイルス型別中和抗体陽性率

表2 アデノウイルス型別抗体保有者数の年齢別分布

年齢(対象数)	型別				年齢(対象数)	型別		
	Ad3	Ad4	Ad8	Ad19		Ad7	Ad11	Ad37
0-19 (17)	7	2	4	0	0-19 (14)	0	5	0
20-29 (16)	12	0	2	1	20-29 (8)	1	3	1
30-39 (20)	7	6	11	3	30-39 (11)	4	7	0
40-49 (22)	14	5	4	2	40-49 (11)	3	7	1
50-59 (24)	16	10	9	3	50-59 (15)	8	8	1
60- (53)	44	30	20	10	60- (27)	11	15	8
Total (152)	100	53	50	19	Total (86)	27	45	11

陰性の66例中37例(56.1%)との差は有意の傾向を示した(p<0.1)(図2).

年齢別ではAd3とAd11に対するNT抗体保有は若年者層にすでに多く、Ad4は50歳以上の年齢群で56.7%のNT抗体保有がみられた。これに対しAd8は30歳代と50歳代にそれぞれ山がみられた。Ad7は年齢と共に漸増する傾向があった。Ad19とAd37は抗体保有者が少ないために特徴ある傾向を示すに至っていない(表2)。

2. Adの分離

最近9年間のウイルスの分離では、1978年と1981年はエンテロウイルス70の流行年で、Adはほとんど分離されなかった。Ad3は1979年と1983年及び1985年に多く、Ad4は1979年から分離され始め1982、1984、1985年に多く分離された。Ad8の分離は1982年と1985年が少なかった(表3)。これらを年齢別に検討するとAd3は0~9歳代と30~39歳代にそれぞれ山が見られ、A4

表3 型別 Adenovirus 分離数の年次推移

	1977-1985									Total
	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	
Ad3	3	0	16	7	0	0	42	3	11	82
Ad4	0	0	16	3	0	59	8	30	80	196
Ad8	12	2	25	76	0	6	33	19	4	177
Ad19	1	0	1	7	0	0	8	15	5	37
Ad37	0	0	1	2	0	4	33	14	3	57

表4 型別年齢別アデノウイルス分離数

	Ad3	Ad4	Ad8	Ad19	Ad37
0-19	32	41	43	9	19
20-29	18	23	36	13	21
30-39	26	70	34	8	7
40-49	1	13	16	4	6
50-59	3	11	18	1	4
60-	2	38	30	2	0
Total	82	196	177	37	57

は30~39歳代にピークを示している。Ad8は30~39歳代と50~59歳代に2つの山を示し、Ad19と37はいずれも20~29歳に多く分離された(表4)。

3. 抗体保有とウイルス分離の関係

Adの分離はどの型でも20~39歳代に多く見られた。Ad3はウイルス分離の多い30~39歳代に抗体保有率が40%未満を示していた。Ad4の抗体の保有は20~29歳代に少なく、50~59歳代以降では多く見られ、ウイルスの分離は30~39歳に多かった。Ad8は分離頻度が30.2%と20~39歳代に多い傾向があったが、抗体保有とウイルス分離の間で特定の関係は見られず、抗体保有率は30~39歳代と50~59歳代がそれぞれ高かった。Ad19とAd37の抗体保有率は20歳以降に12.5%と12.8%に認め、60歳以降に上昇している傾向を認め、ウイルスの分離は20歳代に多く見られた(図3)。

4. Adの群別組合せとAdの型の数の比較

Ad3, 4, 7, 8, 11, 19, 37のすべての中和抗体を有した症例が1例あり、88歳の女性であった。今回の群別組合せで最も多かったのはB群に属するもので、101例中39例で38.9%を占めていた。B群の中和抗体を有した者がD、E群やD群に属する型の中和抗体も共有している場合は、37例36.6%を占めB群とE群の組合せが

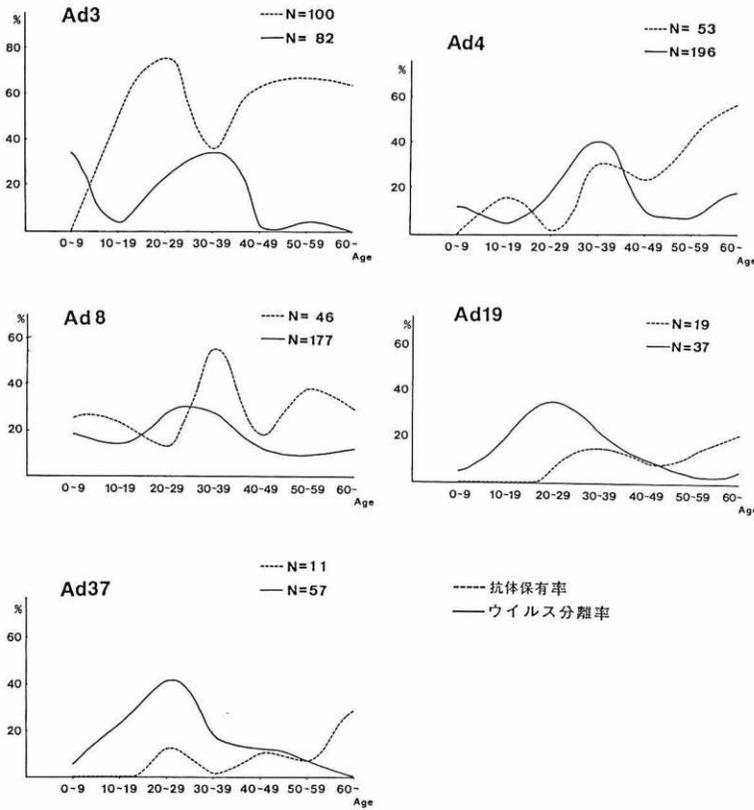


図3 抗体保有とウイルス分離の関係

表5 Ad 群別組合せと Ad 型の数の比較

N=101

Ad型の数 群別組合せ	7	6	5	4	3	2	1	合計
B . D . E	1	2	5	3	6			17
B . D			1	3	10	6		20
B . E				1	2	7		10
B					1	13	25	39
D							10	10
E							5	5
合計	1	2	6	7	19	26	40	101

B群: Ad3.7.11

D群: Ad8.19.37

E群: Ad4

9.9%, これに対してE群のみとD群のみは共に4.9%であった(表5)。

#### IV 考 按

今回結膜炎関連 Ad の抗体保有を検索し, 最近9年

間の Ad 分離状態と比較し, Ad の侵襲状態及び今後の流行予測などを試みてみた. CF 抗体陰性群の中にも中和抗体が認められ, 補体結合抗体のみで血清疫学的検討を行なうのは適切でなく中和抗体を用いる必要がある. そこで以下結膜炎関連 Ad の中和抗体の保有状態について考按する.

Ad B 群の Ad3 は比較的に若年者から高い保有率を示すことは, 他の Ad B 群の Ad1, 2, 5, 6 と同じであることが知られている<sup>8)</sup>. 今回30歳代に抗体保有率が低い傾向が見られたが, Ad3 では地域差が認められ, 幼少時にこれらの流行のない地域に住んでいた人は Ad3 に感染する危険性を有する. Ad3 の流行には周期性があり, その流行時の1979年, 1982年と1985年には小児のみならず成人も例年より多く感染したことは注目される. 最近の分子生物学的方法により, 我が国に広く認められる Ad3 に地域によって異なった DNA variant があるか, 今後検討する必要がある.

Ad E 群の Ad4 の流行は我が国では1979年以降認められているが, これに対する抗体を保有している人は

従来少ないと信じられていた。しかし今回の検討で50歳以上の抗体保有者が52%に見られたことは、以前にAd4の流行があったと考えられる。最近流行のAd4のDNA variantはAd4aであり<sup>9)</sup>、Adの同じ型の再感染はないので、1978年以前のAd4はAd4aより病原性が弱いもので、50歳以上で不顕性感染を起こしていた可能性がある。

Ad B群のAd7は31.4%に抗体保有者があり、我が国では従来Ad7によるPCFがAd3と共に報告されている<sup>8)</sup>。Ad7は我が国に少なく、外国においてはより多く侵襲しており、Ad7のDNA variantも5種類存在し、地域差と年次による違いが確かめられている<sup>10)</sup>。今回の検討では、我々の地域ではここ9年間ウイルス性結膜炎からAd7の分離は1例も認められなかった。しかしAd7の抗体保有率が50歳以上では45.2%に認められ、長期間の周期でこれらのウイルスが流行していた可能性が考えられる。Ad3が多くAd7が少ない我が国と対照的に外国ではAd7が多くAd3が少ない<sup>11)</sup>。又Ad7のDNA variantは多いが、Ad3のvariantの報告は少ない。それがAdの型別の性状の違いによるのか今後注目していきたい。

Ad D群のAd8のNT抗体保有率は33%を示しているに過ぎず、EKCは眼外症状が少ないため眼科施設などを中心にして、限られた特殊な環境の中においてのみ流行していることが多く、抗体保有率は高くない。Ad8はeye to eyeの感染様式で、多量の病原体が局所に感染するために変異を起こす可能性が強い。そのためAd8のDNA variantはAdの中でも最も多く、現在まで7種類報告され<sup>12)</sup>、地域性及び年次変化も認め、今後さらに分子疫学的な検討を必要としている。

Ad B群のAd11は1例で分離したのみであったが、Ad11の抗体保有率は52%に認められた。この札幌での高い抗体保有率に比し結膜炎からの分離例が少ないことは、Ad11はむしろ不顕性感染、他疾患の原因として拡がっている可能性が考えられる。Ad11のDNA variantは現在報告されていない。東南アジアでAd11によるAHCが大流行したが我が国では発生しないのは、Ad11の抗体保有者が我が国では多いためかもしれない。

最近見出されたAd D群のAd19と37は、今回の検討では共に低い抗体保有率を示し、この2つのAdは、最近何らかの原因で発生した新しい型であることが血清疫学的にも証明された。しかもこれらAd D群に属する型は、Ad8と同じく眼科施設を中心に、局所的な拡が

りを見せるため、他の型程広い範囲で抗体保有率を上昇させないため、今後長く感染しDNA variantも大きくできる可能性が強い。

Adの再感染は同じ型の間ではない。しかしAd抗体がどれだけ持続していくかについて、HierholzerはAd8に対する抗体が漸減し、10年後にはAd8が再感染するのではないかと予測している<sup>13)</sup>。同じ群の一つの型のAd感染を受けた初期においては、その群の他の型のAdの感染を受けにくいという推定がなされている。今回のB群のNT抗体保有者は同じ群の他の型の抗体も多く保有しておるが、これに対しD群では違う型を2つ以上同一群の中で保有していなかった。これらのウイルス性結膜炎の再感染の問題については今後長期間の検討を続ける必要がある。

本研究は日本眼科医会昭和60年度学術振興助成金共同研究Aの援助を受けた。

#### 文 献

- 1) Aoki K, Kawana R, Matsumoto I, Wadell G, de Jong JC: Viral conjunctivitis with special reference to adenovirus type 37 and enterovirus 70 infection. *Jpn J Ophthalmol* 30: 158—164, 1986.
- 2) 青木功喜, 沢田春美: アデノウイルス角結膜炎の臨床疫学。臨床とウイルス 14: 152—156, 1986.
- 3) 青木功喜: 流行性角結膜炎の病因の変遷。日本医師会誌 94: 1136—1137, 1985.
- 4) 三井幸彦, 杉浦清治, 大石省三: 宿題報告, 流行性角結膜炎。日眼 63: 3355—3420, 1959.
- 5) Tai FH, Lim HM, Chu S, Wi HY, Hierholzer JC: A new form of acute conjunctivitis epidemic in Taiwan. A simultaneous outbreak of adenovirus type 11 and “acute hemorrhagic conjunctivitis” virus infections. *Chinese J Microbiol* 7: 79—88, 1974.
- 6) Numazaki Y, Shigeta S, Kumashaka T, Miyazawa T, Yamanaka M, Yano N, Takai S, Ishida N: Acute hemorrhagic cystitis in children. *New Engl J Med* 278: 700—705, 1968.
- 7) 井上 栄: マイクロ法による補体結合試験。臨床検査 17: 834, 1973.
- 8) 渡辺 実: アデノウイルスの血清疫学的研究。日本公衛誌 15: 797—801, 1968.
- 9) Ren CS, Nakazono N, Fujii S, Yoshii T, Yamazaki S, Ishii K, Fujinaga K: Genome type analysis of adenovirus type 4 isolates, recently obtained from clinically different syndromes in some areas in Japan. *Japan J Med Sci Biol* 38: 195—199, 1985.
- 10) Wadell G, de Jong JC, Wolontis S: Molecu-

- lar epidemiology of adenoviruses Alternating appearance of two different genome types of adenovirus 7 during epidemic outbreaks in Europe from 1958 to 1980. *Infect Immun* 34 : 368—374, 1981.
- 11) **Wadell G, Hammarskjold ML, Winberg G, Varsanyi TM, Sundell G** : Genetic variability of adenovirus. *Annals of the New York Academy of Sciences* 354 : 16—42, 1980.
- 12) **青木功喜, 川名林治, 沢田春美, 品川森一** : 結膜炎由来アデノウイルス分子疫学—日本とフィリピンと比較—. *日眼* 90 : 1245—1249, 1986.
- 13) **Hierholzer JC, Sprague JB** : Five-year analysis of adenovirus 8 antibody levels in an industrial community following an outbreak of keratoconjunctivitis. *Am J Epidemiol* 110 : 132—140, 1979.
-