

アデノウイルス結膜炎における血清診断

磯部 和美¹⁾, 青木 功喜²⁾, 大野 重昭¹⁾

¹⁾横浜市立大学医学部眼科学教室, ²⁾青木眼科

要 約

アデノウイルス (Ad) 結膜炎患者 17 名について, 分離ウイルスの同定と型特異的抗体価の推移を組血清についての中和試験と赤血球凝集抑制試験 (HI 試験) の結果を比較検討した Ad 3 型, Ad 4 型, Ad 8 型, Ad 19 型, Ad 37 型について, 全例に中和試験を行い, さらに中和試験の結果と, 分離株の血清型分類の結果が一致しなかった症例では, HI 試験を追加して行った. その結果, Ad 3 型, Ad 4 型, Ad 8 型, Ad 37 型による結膜炎の 17 例中 11 例 (65%) で分離株の血清型分類と中和試験の結果が一致した. 結膜から Ad 3 型が分離されたにもかかわらず, 中和抗体を証明できなかった, いわゆる **non responder** が 17 例中 1 例 (6%) に認められた. また, Ad 3 型, Ad 8 型, Ad 37 型が分離された 5 例で, 分離株の血清型分類と中和試験の結果が一致しなかった. これらの症例のうち Ad 8 型あるいは Ad 37 型が分離された 3 症例では, HI 試験の結果, 抗体の随伴上昇が観察された. (日眼会誌 97: 610-613, 1993)

キーワード: アデノウイルス, 結膜炎, 血清抗体, 中和試験, 赤血球凝集抑制試験

Serological Diagnosis of Adenovirus Conjunctivitis

Kazumi Isobe¹⁾, Koki Aoki²⁾ and Shigeaki Ohno¹⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Yokohama City University School of Medicine, ²⁾Aoki Eye Clinic

Abstract

We compared the serum antibody titers against adenoviruses of pair sera and the identification of isolated adenovirus from 17 patients with acute conjunctivitis. Isolated adenoviruses were Ad3 in ten cases, Ad8 in four cases, Ad37 in two cases, and Ad4 in one case. Among these cases, eleven cases showed identical results in a neutralization test. In one patient from whom Ad3 was isolated, no neutralizing antibody was found. In 3 patients from whom Ad8 or Ad37 was isolated, there were discrepancies between serological results of the neutralization test or the hemagglutination inhibition test, and viral isolation. Antibody titers against adenoviruses subgenus D, such as Ad8, 19 and 37 were increased not only for the isolated serotypes, but also for other serotypes of this subgenus. (J Jpn Ophthalmol Soc 97: 610-613, 1993)

Key words: Adenovirus, Conjunctivitis, Serum antibody, Neutralization test, Hemagglutination inhibition test

別刷請求先: 236 横浜市金沢区福浦 3-9 横浜市立大学医学部眼科学教室 磯部 和美
(平成 4 年 8 月 3 日受付, 平成 4 年 12 月 21 日改訂受理)

Reprint requests to: Kazumi Isobe, M.D. Department of Ophthalmology, Yokohama City University School of Medicine, 3-9 Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama 236, Japan

(Received August 3, 1992 and accepted in revised form December 21, 1992)

I 緒 言

アデノウイルス結膜炎は臨床的にはアデノウイルス8型(Ad 8型)による流行性角結膜炎(EKC),あるいはAd 3型による咽頭結膜熱(PCF)の臨床像を示す場合が多いとされてきた¹⁾²⁾. しかし, 1970年代に入ってAd 4型, Ad 19型, Ad 37型が新しく病因として取り上げられ, EKC, PCFの病因は多元的に考える必要が生じている^{3)~5)}. すなわち現在47種類あるアデノウイルス血清型は, 組換えや変異を繰り返して従来の血清型の変異株が流行したり, Ad 37型などの新型のアデノウイルスの流行を起こしている⁶⁾. 血清型の決定は分離できたアデノウイルスの感染性を抗アデノウイルスの標準血清でいかに中和させるかによっている. アデノウイルスのカプシドを形成するファイバーに決定基のある中和試験を用いている限り, アデノウイルスの変異株は正確な血清型別が困難で, アデノウイルスDNA塩基配列の切断像によって始めて正確な型分けが可能となる. 最近, 分子疫学のアプローチによってアデノウイルスの中間型の存在が見出されている⁷⁾. 標準血清による中和試験では, いかに高力価の血清を使用するかによってその判定成績が決まる. 抗体産生能の弱いAd 37型が結膜炎の独立した病因として認められるまでは, Ad 19型に対する標準血清が用いられており, その結果多数の誤認が数年間続いていた⁸⁾. これらのことから最近では塩基配列の切断像による解析がアデノウイルスの同定に用いられ始めている⁹⁾.

本研究ではアデノウイルス結膜炎の血清診断上の問題点を検討するために, 感染結膜部からのアデノウイルスの分離株同定結果と, 患者組血清の中和試験の結果を比較検討したので報告する.

II 方 法

札幌の眼科診療所で臨床的にウイルス性結膜炎と診断された患者の結膜擦過物を採取した. それらをHEK細胞, MK細胞, KB細胞, HeLa細胞に接種し, 細胞変性効果を指標として3代まで盲継代した. 次に, これらの中でアデノウイルスが分離された, 11歳から65歳までの17症例を対象として, 急性期と回復期の2回以上採血し, 組血清とした.

血清試験は, 分離ウイルスの血清型のみならず, アデノウイルス結膜炎の病因として出現頻度の高いAd 3型, Ad 4型, Ad 8型, Ad 19型とAd 37型の5

種類の血清型株を用い, マイクロタイター法で17症例全例に中和試験を行った. さらに中和試験の結果と, 分離アデノウイルスの血清型分類の成績が一致しなかった症例については, 赤血球凝集抑制試験(HI試験)を試みた.

中和試験の抗原として, Ad 3(GB), Ad 4(R 167), Ad 8(Trim), Ad 19(AV 587), Ad 37(GW)の各標準株を用いた. HI試験には, Ad 8(Trim), Ad 19(AV 587), Ad 37(GW)の3株を使用した.

III 結 果

ウイルス分離と中和試験の結果を表1に示す. 分離ウイルスの血清型は, Ad 3型10例, Ad 4型1例, Ad 8型4例, Ad 37型2例の合計17症例であった. このうち, Ad 3型の8例, Ad 4型の1例, Ad 8型の2例, Ad 37型の1例, 合計11例65%において, それぞれの分離ウイルスの同定成績と組血清の中和試験の結果で血清型が一致した.

1例(症例12)では, 結膜からAd 3型が分離されたにもかかわらず, 中和抗体を証明できなかった. 症例は34歳男性で, 分離ウイルスはAd 3型であった. しかし, 中和試験では6病日と20病日の血清でAd 3型, 4型, 8型, 19型, 37型に対する抗体価はいずれも4倍未満であった.

Ad 3型, Ad 8型, Ad 37型が分離された5症例(症例13, 14, 15, 16, 17)では, 分離株の血清型と有意の上昇を示した中和抗体は一致しなかった. これらの患者血清についてHI試験を行ったところ, Ad 8型とAd 37型が分離された例(症例15, 16, 17)では抗体の随伴上昇が観察された(表2).

症例16では分離ウイルスの血清型はAd 8型と同定されたのに対して, 患者血清の中和抗体価は, Ad 8型, Ad 19型, Ad 37型のいずれの型でも28病日には有意の抗体上昇を示し, 感染ウイルス型を特定できなかった. これはHI試験でも同様であり, Ad 8型, Ad 19型, Ad 37型いずれにも抗体価の有意上昇が認められた.

症例17では分離ウイルスの血清型がAd 37型であるのに対して, 中和抗体価は, Ad 19型では8倍から64倍に, またAd 37型では16倍から128倍へと有意の抗体上昇を呈した. HI抗体価は, Ad 19型とAd 37型に対して64倍から128倍に2倍上昇したに過ぎなかった.

表1 アデノウイルス分離株の血清型別と中和抗体価

症例	性	年齢	分離 Ad	中 和 抗 体 価									
				Ad 3 急 回	Ad 4 急 回	Ad 8 急 回	Ad 19 急 回	Ad 37 急 回	Ad 37 急 回	Ad 37 急 回	Ad 37 急 回	Ad 37 急 回	Ad 37 急 回
1	女	11	Ad 3	—*	16**	64	64	—	—	8	16	—	—
2	女	32	Ad 3	—	64	4	4	—	4	—	—	—	—
3	男	36	Ad 3	—	64	—	—	—	—	—	—	—	—
4	男	12	Ad 3	—	16	—	—	—	—	—	—	—	—
5	女	34	Ad 3	16	64	—	—	—	16	16	—	—	4
6	男	25	Ad 3	—	32	—	—	—	—	4	—	—	—
7	女	31	Ad 3	—	16	—	—	—	—	—	—	—	—
8	男	13	Ad 8	32	64	—	—	—	8	—	—	—	—
9	女	12	Ad 8	—	—	128	128	—	16	—	—	—	—
10	男	52	Ad 37	8	8	—	—	—	—	4	—	—	16
11	女	21	Ad 4	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—
12	男	34	Ad 3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	男	34	Ad 3	—	8	—	4	—	—	—	8	—	16
14	男	38	Ad 3	—	16	—	64	—	—	—	8	—	—
15	男	37	Ad 8	32	32	—	—	—	8	—	—	—	4
16	女	33	Ad 8	8	8	—	—	—	4	—	—	4	32
17	男	65	Ad 37	16	16	—	—	—	—	8	64	16	128

急：急性期 回：回復期血清として14から26病日の間に採血 Ad：アデノウイルス

*：抗体価4倍未満 **：抗体価4倍以上の有意の上昇例

表2 抗体の随伴上昇を示した症例

症例	性	年齢	分離 Ad	採血 病日	中 和 試 験					赤血球凝集抑制試験		
					Ad 3	Ad 4	Ad 8	Ad 19	Ad 37	Ad 8	Ad 19	Ad 37
15	男	37	Ad 8	2	32	—*	—	—	—	<8	<8	<8
				14	32	—	8	—	4	32	8	8
				30	32	—	16	4	16	32	16	8
16	女	33	Ad 8	3	8	—	—	—	4	<8	<8	<8
				14	8	—	4	—	32	32	64	64
				28	8	—	16	8	32	32	64	64
17	男	65	Ad 37	6	16	—	—	8	16	64	64	64
				17	16	—	—	64	128	64	128	128
				55	32	—	—	64	128	64	128	128

*：中和抗体価4倍未満 Ad：アデノウイルス

IV 考 按

今回のアデノウイルス感染結膜部からのウイルスの分離・同定成績と、患者組血清の中和試験の結果とを比較検討した結果、以下のような点が明らかとなった。すなわち、アデノウイルス結膜炎のような局所感染においても、65%の患者の組血清で中和抗体価の4倍以上の有意上昇例が観察されたことがあげられる。

一方、症例12では結膜炎の病巣からAd3型が分離

されたが、急性期と回復期を通じた頻回の中和抗体価測定にもかかわらず、Ad3型に対する抗体産生は認められなかった。Ad3型は病原性が強く正常結膜からは分離されないこと、細菌培養で病因として考えられる細菌は分離されなかったことなどから、この患者はアデノウイルス結膜炎であったと考えられた。一般にアデノウイルス結膜炎患者において血清抗体は7病日頃から検出され、遅くとも1か月目には出現する¹⁰⁾。しかし、この患者では45日後でも検出できなかった。今回

の研究により、この様なウイルス感染が成立しているにもかかわらず抗体産生の認められない、いわゆる non responder がアデノウイルス結膜炎にも存在すると考えられることが明らかにされた。

次に血清抗体価についてであるが、症例 15, 16 と 17 においては D 群に属する Ad 8 型, Ad 19 型と Ad 37 型が組血清で有意な抗体上昇を示した。すなわち、症例 15 では Ad 8 型が分離されているにもかかわらず、組血清では Ad 8 型と Ad 37 型に対する中和抗体が上昇していた。症例 16 においても Ad 8 型が分離されていたが、組血清では Ad 8 型に対する抗体価だけではなく、Ad 19 型と Ad 37 型の抗体価も有意に上昇していた。また症例 17 では Ad 37 型が分離され、組血清では Ad 19 型と Ad 37 型の抗体価が上昇していた。したがって、これら 3 症例ではアデノウイルス D 群の共通抗原によって、類属反応を起こしていたことが推測された¹¹⁾。症例 15, 16 および 17 では中和試験と HI 試験のいずれにおいても、近年新しく EKC の病因となった Ad 19 型と Ad 37 型についてはアデノウイルス間の交差反応のレベルが高く、鑑別診断することができなかった。したがって、アデノウイルス D 群の変異株の性状を考える際には、Ad 19 a 型という Ad 8 型と Ad 10 型の recombinant の存在⁷⁾や、米国の EKC の原因ウイルスが Ad 8 → Ad 19 → Ad 37 と 10 年間の間に推移しているという Kemp¹²⁾の報告をもとに、今後さらに検討する必要がある¹³⁾。

一方、Ad 3 型が分離できた 2 症例では、いずれも Ad 3 型抗体価が上昇していたが、この型以外に対しては、症例 13 では Ad 19 型と Ad 37 型の抗体価が、そして症例 14 では Ad 4 型と Ad 19 型の抗体価がそれぞれ上昇していた。分離ウイルスとは異なる Ad 4 型や Ad 37 型の抗体価が組血清でなぞ有意の上昇を示したかについては現時点では不明であるが、血清型の種類の多いアデノウイルスに対してすでに多くの人が感染しており、それと同属のアデノウイルスの感染に際して、抗原の共通性が抗体価の上昇をもたらしたものと推測される。この様な点から、分離ウイルスの同定成績と組血清の抗体価の上昇が一致した症例では診断的意味が多いことが結論づけられる。

文 献

- 1) Bell SD, Rota TR, McComb DE: Adenoviruses isolated from Saudi Arabia. *Am J Trop Med Hyg* 9: 523—526, 1960.
- 2) Jawetz E, Kimura SJ, Hanna L, Coleman VR, Thygeson P, Nicholas A: Studies on the etiology of epidemic keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 40: 200—211, 1955.
- 3) Aoki K, Kato M, Ohtsuka H, Ishii K, Nakazono N, Sawada H: Clinical and etiological study of adenoviral conjunctivitis with special reference to Ad 4 and 19 infection. *Br J Ophthalmol* 66: 776—780, 1984.
- 4) 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.
- 5) 青木功喜: 流行性角結膜炎の病因の変遷—Adenovirus の変異—. *日医誌* 94: 1136—1137, 1985.
- 6) de Jung JC, Wigand R, Wadell G, Keller D, Muzerie CJ, Wermenbol AG, et al: Adenovirus 37: Identification and characterization of a medically important new adenovirus type of subgroup D. *J Med Virol* 7: 105—118, 1981.
- 7) Wadell G, Sundell G, de Jong JC: Characterization of candidate adenovirus 37 by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of virion polypeptides and DNA restriction site mapping. *J Med Virol* 7: 119—125, 1981.
- 8) 青木功喜, 加藤道夫, 大塚秀勇, 中国直樹, 石井慶蔵: 新型ウイルス (Ad37) 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.
- 9) Adrian TH, Wadell G, Hierhalzer JC, Wigand R: DNA restriction analysis of adenovirus prototypes 1 to 41. *Arch Virol* 91: 277—290, 1986.
- 10) Koc J, Wigand R, Weil M: The efficiency of various methods for the diagnosis of adenovirus conjunctivitis. *Zbl Bakt Hyg A* 263: 607—615, 1987.
- 11) 加藤哲夫, 前田章子, 峯川好一, 岡本茂樹, 原 二郎: 結膜炎患者におけるアデノウイルス感染症の診断方法について. *臨床とウイルス* 17: 325—327, 1989.
- 12) Kemp MC, Hieholzer JC, Cabradilla CP, Objeski JF: The changing etiology of epidemic keratoconjunctivitis: Antigenic and restriction enzyme analysis of adenovirus types 19 and 37 isolated over a 10-year period. *J Inf Dis* 148: 24—33, 1983.
- 13) Noda M, Miyamoto Y, Ikeda Y, Matsuushi T, Ogino T: Intermediate human adenovirus type 22/H10, 19, 37 as a new etiological agent of conjunctivitis. *J Clin Microbiol* 29: 1286—1289, 1991.