

短報

神奈川県域における手足口病、ヘルパンギーナ患者の発生動向および検出ウイルス株の解析

佐野貴子¹, 近内美乃里², 近藤真規子¹,
渡邊寿美¹, 齋藤隆行^{1*}

Epidemiological and virological studies of hand, foot and mouth disease and herpangina cases in Kanagawa Prefecture

Takako SANO, Minori KONNAI, Makiko KONDO,
Sumi WATANABE and Takayuki SAITO

はじめに

手足口病およびヘルパンギーナは、乳幼児を中心に流行するウイルス性疾患であり、毎年流行のピークが夏季に出現する。手足口病は口腔粘膜および手や足などに現れる水疱性発疹を主症状とし、コクサッキーウイルスA16型 (CA16)、コクサッキーウイルスA10型 (CA10) またはエンテロウイルス71型 (EV71) の感染が主な病因となっている¹⁾。ヘルパンギーナは口腔粘膜に現れる水疱性発疹と発熱を特徴とする急性ウイルス性咽頭炎であり、流行性なのはA群コクサッキーウイルスによる感染が主な病因となっている²⁾。どちらの疾患も年によって流行するウイルスが入れ替わり、流行規模にも違いが見られる。

今回、神奈川県域（横浜市、川崎市、横須賀市、相模原市および藤沢市を除く：以下、県域と略）における手足口病およびヘルパンギーナ患者の発生動向および患者検体から2003～2011年の間に検出されたウイルス株について解析を行ったので報告する。

方法

1. 患者発生動向調査

神奈川県感染症情報センターにおいて「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に基づいて行われている感染症発生動向調査において、五類定点把握疾患として定点医療機関から報告された手足口病およびヘルパンギーナ患者数を「定点当たり患者報告数」として週別に集計し、流行状況の解析を行った。

2. ウイルス分離・同定

県域の小児科病原体定点医療機関から得られた手足口病およびヘルパンギーナ患者の咽頭拭い液をRD-18s, RD-A, HeLa, HEp-2, Vero, VeroE6, GMK細胞のうち3～6種類の培養細胞を用いて3代継代培養を行い、細胞変性効果を示したのものについて同定を行った。同定は各ウイルスに対する中和用抗血清を用いた中和試験あるいは直接蛍光抗体法を行った。エンテロウイルス属のA群コクサッキーウイルスは培養細胞での分離困難例が多いことから、2003～2007年においては、哺乳マウスを用いたウイルス分離を実施し、免疫腹水を用いた補体結合反応により同定を行った。2008～2011年においては、咽頭ぬぐい液より直接ウイルスゲノムの遺伝子増幅法 (PCR) を実施した。エンテロウイルス属、ライノウイルス属の同定については、5'NTR-VP4部分領域を標的としたP3 (1st), P4 (2nd) /P5³⁾あるいはVP4-VP2部分領域を標的とした60-80F (1st), EVP4 (2nd) /OL68-71R⁴⁾のプライマーセットを用いてRT-seminested PCRを行った。また、細胞分離株で中和試験で同定不能となったパレコウイルス属株についても、5'NTR 部分領域を標的としたev22+/ev22-⁵⁾あるいはVP1部分領域を標的としたHPeV-VP1-S/HPeV-VP1-AS2⁶⁾のプライマーセットを用いてRT-PCRを実施した。PCR産物は1.5%アガロースゲルを用いて電気泳動し、エチジウムブロマイドで染色後、紫外線下で増幅バンドの有無を確認した。増幅バンドが見られたPCR産物については、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、米国生物工学情報センター (NCBI) が提供する塩基配列データベース (GenBank) に登録されている遺伝子配列との相同性検索を行い、塩基、アミノ酸配列とも最も高い一致度を示す標準株の血清型に基づき同定を行った。また、2008～2011年に同定されたコクサッキーウイルスA6型 (CA6) で遺伝子解析が可能であった株については、VP4部分領域の141bpを用いて系統解析を行った。遺伝距離はkimura-2-parameter法を用いて推定し、ブーツストラップサンプリングを1000回行い、近隣結合法にて系統樹を作成した。

1神奈川県衛生研究所 微生物部
〒253-0087茅ヶ崎市下町屋1-3-1
sano.ipn@pref.kanagawa.jp

* 現企画情報部

2神奈川県衛生研究所 企画情報部

結果および考察

1. 患者発生動向調査

2003～2011年の県域における手足口病患者の定点当たり患者報告数（以下、定点当たり報告数と略）の週別推移を図1に、ヘルパンギーナ患者の定点当たり報告数の週別推移を図2に示した。手足口病では、2008年が定点当たり報告数9.10（第30週）と最も高く、次いで2011年の7.57（第31週）であった。感染症発生動向調査における手足口病の警報レベルの開始基準値である定点当たり報告数5を超えた年は今回の報告の9年間のうち上記の2年であった。ヘルパンギーナでは、2010年が11.44（第28週）と最も高く、次いで2005年の8.49（第28週）であった。ヘルパンギーナの警報レベルである定点当たり報告数6を超えた年は9年間のうち6年あった。手足口病、ヘルパンギーナともに流行のピークは夏期にあるが、流行期間は異なったパターンを示した。手足口病は秋～冬にかけても発生しているのに対し、ヘルパンギーナは夏期のみ集中する傾向にあった。しかしヘルパンギーナの流行は警報レベルを超える年が多く、2003年、2008年も警報レベルに近い流行がみられた。

2 手足口病、ヘルパンギーナ患者のウイルス検出状況および検出ウイルス株の解析

県域における手足口病患者検体からのウイルス検出状況を表1に、ヘルパンギーナ患者検体からのウイルス検出状況を表2に示した。手足口病では、主因ウイルスと

されるCA16、EV71の検出が60%を占め、その他、CA16以外のA群コクサッキーウイルスやライノウイルス、エコーウイルス、パレコウイルス、B群コクサッキーウイルスおよびポリオウイルス（ワクチン接種後検体から検出）、また、口内炎様の症状が類似するアデノウイルスや単純ヘルペスウイルス1型が検出された。CA16は2003年を除き毎年検出されており、特に2008年の流行では、CA16の検出が78%を占めたことから、CA16が主因ウイルスであることが示唆された。また、2010年では、EV71が57%を占めたことから、EV71による流行と推測された。全国的には2003年と2010年にEV71の流行が見られており⁷⁾、当所でも2003年は依頼検体数が少なかったが、分離株6例中5例がEV71であった。EV71は無菌性髄膜炎を併発することもあり、死亡例も報告されている⁸⁾。2011年の流行時には、CA16も検出数の22%を占めていたが、これまでヘルパンギーナの主因ウイルスとされていたCA6が54%と最も多く検出された。CA6が検出された患者の検査依頼票の臨床症状には、従来、手足口病では口腔粘膜、手掌、足底や足背などの四肢末端に出現する発疹が、体幹、臀部や四肢にも出現したとの例がみられた。全国の報告においても2011年はCA6が多く検出されており⁷⁾、従来の水疱よりも大きく、大腿部や臀部まで広範囲に出現した例^{9,10)}や成人において強い発疹症状を呈した例¹⁰⁾、また、手足口病回復後の約1カ月以降に爪甲脱落症が発生した例^{7,11)}も報告されている。海外においては、欧州で2008年に

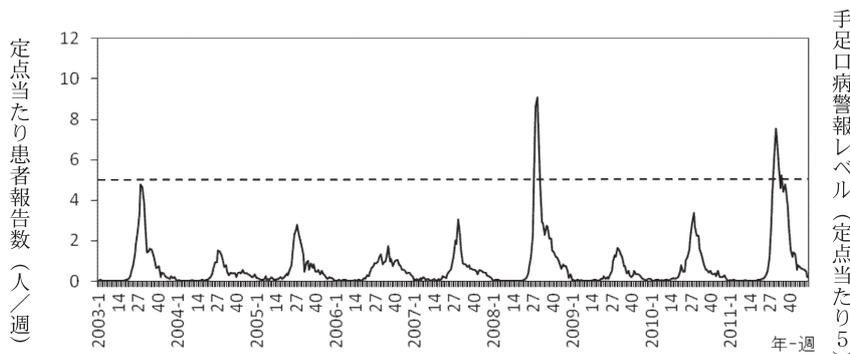


図1 手足口病患者報告数の推移 2003年第1週－2011年第52週

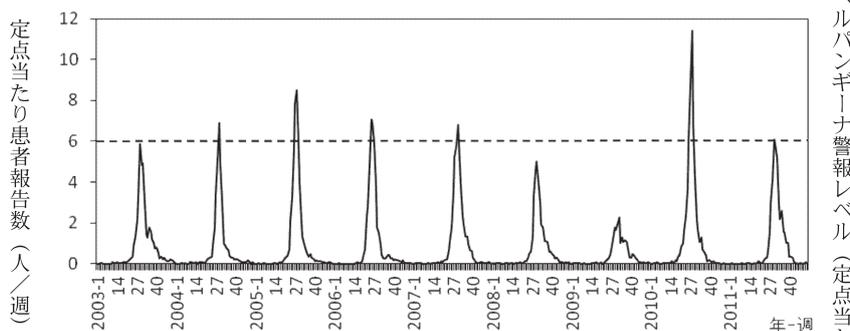


図2 ヘルパンギーナ患者報告数の推移 2003年第1週－2011年第52週

表1 手足口病患者検体からのウイルス検出状況

検出ウイルス	2003年	2004年	2005年	2006年	2007年	2008年	2009年	2010年	2011年	合計
Coxsackie A4	1			3		1		1		6
Coxsackie A5				2	1	1			1	5
Coxsackie A6			8			2	6	14	53	83
Coxsackie A9							2			2
Coxsackie A10					5	4	2	1	12	24
Coxsackie A14			2							2
Coxsackie A16		8	17	32	21	50	6	4	22	160
Coxsackie B1									1	1
Coxsackie B3			1							1
Enterovirus 71	5		13	4	22		10	29		83
Echo 18				7						7
Polio 1					1		1			2
Polio 3					1					1
Rhino						4	4	2	7	17
Parecho 3		1		1		2			3	7
Adeno 2					1		2		1	4
Adeno 5			1							1
Herpes simplex 1				4						4
検出株数	6	9	42	53	51(1)	64	30(3)	51	98(2)	404(6)*
陰性	10	5	10	19	14	17	10	16	22	123
検体数	16	14	52	72	65	81	40	67	120	527
検出率(%)	38	64	81	74	78	79	75	76	82	77

* カッコ内数字は重複検出数

表2 ヘルパンギーナ患者検体からウイルス検出状況

検出ウイルス	2003年	2004年	2005年	2006年	2007年	2008年	2009年	2010年	2011年	合計
Coxsackie A2		3	1		1	8	1	10		24
Coxsackie A4	4	5	1	22		8	1	43		84
Coxsackie A5			1	3	3	5		2	7	21
Coxsackie A6	1	3	15		2	11	9	8	12	61
Coxsackie A9								1		1
Coxsackie A10	8		3	2	20	10	4	9	33	89
Coxsackie A12	9	1	1						1	12
Coxsackie A16		1		1	1	4			1	8
Coxsackie B1									5	5
Coxsackie B2					1					1
Coxsackie B3								1		1
Coxsackie B4							1			1
Coxsackie B5					2			1		3
Enterovirus 71						1		1		2
Echo 6					1					1
Rhino						2		3	3	8
Parecho 1							1			1
Parecho 3						3				3
Parecho 6						4				4
Adeno 1							1			1
Adeno 2		1				3	1			5
Adeno 3		2	1	2						5
Herpes simplex 1			4	2	4	4	1		1	16
Parainfluenza		1								1
Enterovirus NT					1				1	2
検出株数	22	17	27	32	36	63	19(1)	79	63(1)	358(2)*
陰性	10	4	9	9	18	10	3	24	16	103
検体数	32	21	36	41	54	73	22	103	79	461
検出率(%)	69	81	75	78	67	86	86	77	78	78

* カッコ内数字は重複検出数

CA6による手足口病および爪甲脱落症の発生が報告されている¹²⁾。

ヘルパンギーナでは、主因とされるA群コクサッキー

ウイルスの検出が84%を占めた。また、口内炎様の症状が類似する単純ヘルペスウイルス1型、アデノウイルスの検出は手足口病患者よりも多くみられた。その他、

B群コクサッキーウイルス、ライノウイルス、パレコウイルス等が検出された。2005年はCA6が56%，2006年はCA4が69%，2007年はCA10が56%，2010年はCA4が54%，2011年はCA10が52%を占め、毎年血清型が入れ替わり、流行していると考えられた。2011年に手

足口病において、従来ヘルパンギーナの主因ウイルスであるCA6による大規模な流行が起きたことから、2008年以降に手足口病およびヘルパンギーナ患者検体から検出されたCA6について、遺伝子解析が可能であった62株（2011年32株、2010年7株、2009年12株、2008年11

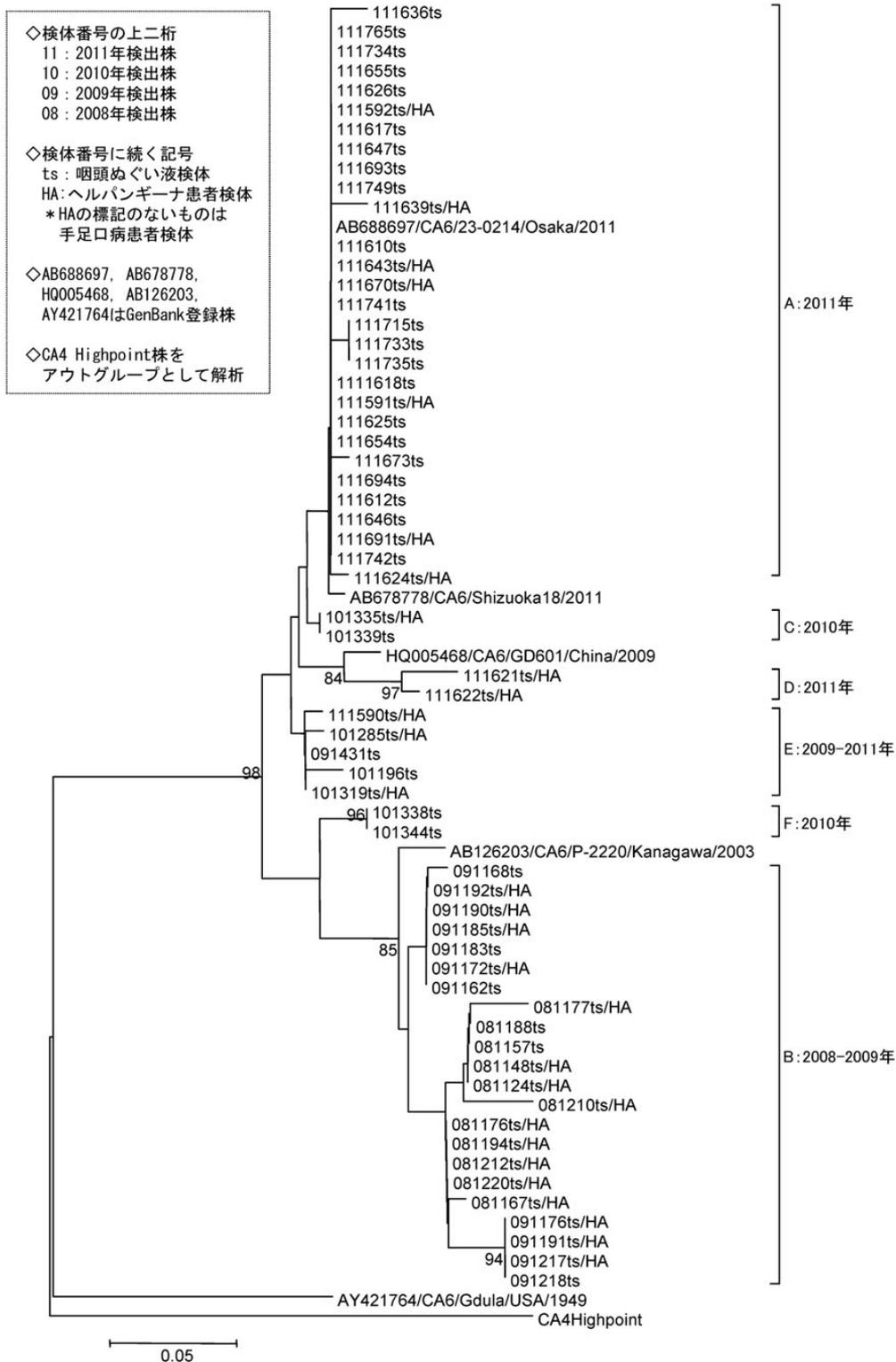


図3 CA6のVP4部分領域（141bp）を用いた系統樹

株)を用いた系統解析を行った(図3)。その結果、2011年に検出された株の多くは、同年に大阪および静岡県で検出されたGenBank登録株(アクセッション番号AB688697, AB678778)と同じクラスターAに分類された。2008~2009年に検出された株の多くは、2003年に横浜でヘルパンギーナ患者検体から検出されたAB126203株と同じクラスターBに分類された。2010年以降に検出された株ではクラスターBに属する株は検出

されず、従来、ヘルパンギーナで流行していたCA6とは異なる株によって2011年の手足口病の流行が引き起こされたと考えられた。

2010年の検出株および2009年と2011年の一部の検出株はクラスターC, D, E, Fに分類された。臨床症状をみると、クラスターEに属する株では体幹や両膝の発疹等の非定型症状を示しており、2011年に流行したCA6の症状と類似していた(表3)。

表3 CA6のVP4部分領域の系統樹においてクラスターC, D, E, Fに分類された検体の臨床症状等

クラスター	検体番号	性別	年齢	検体採取日	診断名	臨床症状・症候等
C	101335ts	男	0歳9カ月	2010/9/8	ヘルパンギーナ	発熱(38℃)
	101339ts	男	32歳8カ月	2010/9/9	手足口病	発熱(37℃), 口内炎, 発疹(水疱, 丘疹, 紅斑), 渡航歴:台湾9/5~9/8
D	111621ts	女	2歳5カ月	2011/7/25	ヘルパンギーナ	発熱(39.2℃), 口内炎
	111622ts	女	1歳11カ月	2011/7/25	ヘルパンギーナ	発熱(39℃), 口内炎, 上気道炎
E	111590ts	女	1歳7カ月	2011/7/6	ヘルパンギーナ	発熱(39.2℃), 口内炎, 発疹(丘疹):体幹(軽症)
	101285ts	女	2歳5カ月	2010/7/27	ヘルパンギーナ	発熱(39.1℃), 口内炎, 発疹(水疱) *発疹は解熱後, 肘膝手首, 関節部中心に多数の2-3mm丘疹, 一部水疱あり, 手足口病とは違う発疹で手掌・足底にはなし
	091431ts	女	1歳5カ月	2009/10/27	手足口病	口内炎, 発疹(水疱, 丘疹), 非定型
	101196ts	男	1歳10カ月	2010/6/11	手足口病	発熱(39.1℃), 口内炎, 上気道炎, 発疹(丘疹)
F	101319ts	女	3歳5カ月	2010/8/26	ヘルパンギーナ	発熱(38.2℃), 口内炎, 上気道炎, 発疹(丘疹):両膝
	101338ts	男	1歳7カ月	2010/9/10	手足口病	発熱(38.1℃), 発疹(紅斑)
	101344ts	男	1歳5カ月	2010/9/25	手足口病	発疹

まとめ

手足口病およびヘルパンギーナは基本的には予後が良好な疾患であるが、手足口病を引き起こすEV71は無菌性髄膜炎を併発することもあり、死亡例も報告されている⁸⁾。2011年にはこれまで報告が少なかったCA6による手足口病が流行し、2008年に次ぐ大きな流行となった。CA6による手足口病の臨床症状は、従来の手、足あるいは口に出現する水疱よりも大きく、大腿部や臀部にも出現し^{9,10)}、また、手足口病回復後の約1カ月以降に発生する爪甲脱落症も報告されている^{7,11)}。CA6による手足口病および爪甲脱落症は2008年に欧州でも報告されており¹²⁾、関連性やCA6の病原性の変化について今後も注視が必要である。毎年の流行状況および原因ウイルスの解析は、疾病の流行を監視する上で極めて重要と考える。

謝辞

本調査を実施するにあたり、多大なご協力を頂きました小児科病原体定点医療機関の先生方および県健康危機管理課の皆様、また、本稿をまとめるにあたり、多大なるご指導を頂きました国立感染症研究所ウイルス第二部の吉田 弘先生に深謝いたします。

(平成24年8月1日受理)

参考文献

- 1) 国立感染症研究所感染症情報センター：感染症の話「手足口病」, 国立感染症研究所感染症発生動向調査週報, 2001年第27号, 8-10 (2001)
- 2) 国立感染症研究所感染症情報センター：感染症の話「ヘルパンギーナ」, 国立感染症研究所感染症発生動向調査週報, 2003年第8号, 10-11 (2003)
- 3) 川俣 治：RT-PCR法によるエンテロウイルス及び

- ライノウイルスの検出系, 新潟医学会雑誌, 111, 633-646 (1997)
- 4) 宗村徹也, 藤本嗣人, 近平雅嗣, 木村博一, 西尾治, 吉田 弘ほか: エンテロウイルス遺伝子診断法における市販RNA抽出キット選択の影響, 感染症学雑誌, **82**, 55-57 (2008)
 - 5) Joki-Korpela P. and Hyypia T. : Diagnosis and Epidemiology of echovirus 22 infections, Clin. Infect. Dis., **26**, 129-136 (1998)
 - 6) 伊藤 雅, 山下照夫, 都築秀明, 椛島由佳, 藤浦明, 長谷川晶子ほか: Human parechovirusの検出ならびに同定方法の検討, 愛知県衛生研究所報, **58**, 1-8 (2008)
 - 7) 国立感染症研究所感染症情報センター: 手足口病 2002~2011年, 国立感染症研究所病原微生物検出情報, **33**, 55-56 (2012)
 - 8) 篠原美千代, 内田和江, 島田慎一, 瀬川由加里, 星野庸二: 埼玉県における2002年のエンテロウイルス71型分離株について, 感染症学雑誌, **75**, 490-494 (2001)
 - 9) 小林正明, 藤本嗣人, 花岡 希, 小長谷昌未, 安井良則, 谷口清州ほか: 2011年のコクサッキーウイルスA6型感染による手足口病の臨床的特徴—静岡県, 国立感染症研究所病原微生物検出情報, **32**, 230-231 (2011)
 - 10) 中田恵子, 山崎謙治, 加瀬哲男: コクサッキーウイルスA6型による手足口病の成人例—大阪府, 国立感染症研究所病原微生物検出情報, **32**, 231 (2011)
 - 11) Fujimoto T., Iizuka S., Enomoto M., Abe K., Yamashita K., Hanaoka N., *et al.*: Hand, foot, and mouth disease caused by coxsackievirus A6, Japan, 2011, Emerg. Infect. Dis., **18**, 337-339 (2012)
 - 12) Österback R., Vuorinen T., Linna T., Susi P., Hyypiä T., and Waris M. : Coxsackievirus A6 and hand, foot, and mouth disease, Finland, Emerg. Infect. Dis., **15**, 1485-1488 (2009)