

## 7 1964年、北海道において分離した Coxsackie A 群ウイルスについて

北海道立衛生研究所

奥原 広治 桜田 教夫  
佐藤 七七朗 野呂 新一  
飯田 広夫

## 緒 言

1964年6月から12月に亘つて、北海道にコクサツキーA群ウイルスによるポリオ様麻痺疾患および無菌性髄膜炎の散発的発生がみられた。

コクサツキーA群ウイルスによる疾患はきわめて多く、ポリオ様麻痺疾患<sup>1)~7)</sup>を始め、ヘルパンギーナ<sup>6) 7)</sup>、無菌性髄膜炎<sup>4) 11)~13)</sup>、夏かぜ<sup>14)~17)</sup>、3日熱発疹<sup>18) 19)</sup>、急性呼吸器疾患<sup>20)~23)</sup>、発疹<sup>24)~27)</sup>などの疾患群があげられ、その症候は特に一定せず、多種多様の症候群<sup>28) 29)</sup>として現われる。

コクサツキーウイルスは1947年 Dalldrof および Sickles<sup>30)</sup>によつて、2名のポリオ様麻痺患児の糞便を哺乳マウスに接種し、マウスに麻痺を起すウイルスを分離したのが最初の報告である。このウイルスは同患者の発生地名にちなんでコクサツキーウイルスと命名<sup>31)</sup>された。コクサツキーウイルスはその後の研究で哺乳マウスに対する病変の相違によつて、A群およびB群に大別され<sup>32) 33)</sup>、現今抗原的にA群ウイルスは24型、B群ウイルスは6型に分類<sup>34)</sup>されている。

本邦におけるコクサツキーA群ウイルスの分離は、Dalldrof, Sickles<sup>30)</sup>らの分離の4年後の1951年東京において局地的小流行を見た不明熱性疾患患者<sup>35)</sup>より福見ら<sup>36)</sup>がA群ウイルスの1型および4型を分離したのが最初の報告例である。その後本ウイルスによる疾患が注目され、ギラン・バレー症候群<sup>37) 38)</sup>、ヘルパンギーナ<sup>39)~41)</sup>、夏かぜ<sup>16) 17) 45)</sup>、無菌性髄膜炎<sup>46)</sup>、麻痺様疾患<sup>5) 47)</sup>、感冒下痢性<sup>17)</sup>などの疾患群から、毎年のようにウイルスが分離されて来た。

一方北海道では1961年札幌市に流行したヘルパンギーナ患者糞便その他よりA5型ウイルスを分離<sup>43)</sup>したのが最初で、著者らのウイルス分離は2回目になるが、今回の報告は本邦では比較的少ない麻痺様患者及び無菌性髄膜炎患者糞便および髄液よりA群ウイルスを分離したので報告する。なお、これら分離例の臨床所見については別に報告する。

## 実験材料並びに方法

材料処理：被検材料は各患者発生地の保健所あるいは病院より当研究室にほぼ凍結の状態ですらされてきた患者の糞

便、髄液および血清などである。これらの材料の処理は著者らの研究室で行つているエンテロウイルス検索処理方法に従つた。即ち糞便は直ちにペニシリン 500単位/ml、ストレプトマイシン 5007/ml を添加した Hanks 液 (pH 7.4~7.6) で約10%の糞便乳剤を作り、3,000r.p.m. 30分間遠心沈澱した上清液を接種材料とした。髄液は抗生物質を加えず、そのまま接種に供した。以上の材料は-20°Cに保存した。

血清は-20°Cに保存し、使用の際50°C 30分間非動化した。

哺乳マウス接種：哺乳マウスは当所で生産した雑系のマウスで、生後日数を経過したマウスはウイルスに対する感受性が劣るといわれているので<sup>38) 48) 49)</sup>、生後3日以内の哺乳マウスを使用し、この際2腹以上のマウスを使用する場合、感受性を考慮して2腹分のマウスをプールして使用した。

材料の接種部位は、感染経路として脳内、腹腔内、および皮下接種いずれもほぼ同様に感染<sup>1)</sup>するので、容易に行える皮下接種法によつた。接種に際して、出血と接種材料の漏出を防ぐために、肩甲骨間の皮下を通し、後足間背部皮下に0.03ml宛注射した。材料の接種はウイルスの分離に限つて、哺乳マウスの大きさを考慮して、規定量を超える場合もあつた。

一定の潜伏期を経て発症し、著明な麻痺症状を示すか、あるいはその疑いのあるマウスを集めて頭部、四肢、尾、内臓および皮膚を除去し、残つた躯幹を磨り潰し、前記の抗生物質添加 Hanks 液を加えて10%乳剤を作り、3,000 r.p.m. 30分間遠心した上清液をウイルス液とした。この10%筋乳剤は-20°Cに保存すると多量の沈澱物が生ずるので、使用の際再遠心し、上清液を使用した。

細胞接種：今回の麻痺様疾患および無菌性髄膜炎の流行に当つて、コクサツキーA群ウイルス以外の腸内ウイルスの感染も考えられるので細胞接種によるウイルス分離も行つた。使用した細胞は HeLa-S3, HEP#2, および FL細胞の3種類を使用した。流行の後半に猿腎細胞も入手することができたので併せて使用した。細胞への接種は、細胞試験管2本に0.2ml宛接種して、室温に約1時間吸着を行つた後、維持培地としてウマ血清2%加 YLE 液を1ml宛分注し、37°Cに培養、7日間観察して、CPを指標としたウイルス分離を行つた。

標準ウイルス株；著者の1人桜田が406部隊総合医学研究所ウイルス部より分与を受けたコクサツキーA群ウイルスの1型から19型まで19株のウイルスであつて、当研究室で哺乳マウスおよび細胞接種により継代保存しているものを使用した。

分離ウイルスの同定試験：分離ウイルスの型別決定はすべて中和試験によつた。即ち、免疫血清の20単位<sup>30)</sup>を含む希釈液と100LD<sub>50</sub>を含むウイルス希釈液を等量に混合して、37°Cに2時間置いた後、更に4°Cの冷蔵庫に1夜おいた材料を哺乳マウスの皮下に0.03ml宛接種して、マウスの生死を10日間観察した。

判定は、同時に100LD<sub>50</sub>の対照ウイルスを接種したマウスが3〜4日で麻痺症状で死亡し、免疫血清を加えた材料を接種したマウスが生き残つた場合は用いた免疫血清と同型のウイルスであると決定した。

患者血清の中和抗体価測定；患者血清を1:4、1:16、1:64、1:256、1:1,024の如く希釈を行い、各血清希釈液と100LD<sub>50</sub>のウイルス液とを等量に混合した。この材料の処置はウイルス同定試験の際とすべて同様に行つた。抗体価は接種哺乳マウスの半数以上を防禦した血清最大希釈倍数を中和抗体価とした。

実験成績

哺乳マウス接種によるウイルス分離

コクサツキー群Aウイルスによる患者の散発発生地は第1図に示したように、札幌附近を中心として天塩、留萌、旭川、岩見沢、美唄、由仁、江別、札幌、余市、倶知安および室蘭の広範な地域に亘つている。これらの地区から送られて来た材料は第1表に示したように糞便39件、髄液14件に達し、なお同地区から集められた患者血清は50件におよんだ。これらの材料を哺乳マウスに接種してマウスに特有の弛緩性麻痺症状を示し、ウイルス陽性となつた患者材料は第2表に示した。即ち、無菌性髄膜炎患者糞便より榎本株および中川株の2株、麻痺様疾患患者糞便より斎藤

(便)株、上浦株および千葉株の3株、麻痺様疾患患者髄液より斎藤(髄)株、川本株および白瀬株の3株、計8株のウイルスが分離された。このうちの斎藤(便)株および

第1図 患者発生地区



第1表 患者発生地区及びウイルス検索材料

| 流行地及び材料蒐集機関 | 依 類<br>検 査 別  | 検 査 材 料 |       | ウイ<br>ル ス<br>陽 性 |
|-------------|---------------|---------|-------|------------------|
|             |               | 糞 便     | 液 計   |                  |
| 地区          | 機 関           |         |       |                  |
| 天 塩         | 天 塩 保 健 所     | ポリオ     | 1 —   | 1 1              |
| 留 萌         | 留 萌 保 健 所     | 〃       | 1 —   | 1 —              |
| 旭 川         | 旭 川 保 健 所     | 〃       | 1 —   | 1 —              |
|             | 旭 川 赤 十 字 病 院 | 〃       | 1 —   | 1 —              |
| 岩見沢         | 岩見沢保健所        | 無菌性髄膜炎  | 12 3  | 15 —             |
| 美 唄         | 市立美唄病院        | ポリオ     | 2 1   | 3 1              |
| 由 仁         | 由 仁 保 健 所     | 〃       | 1 1   | 2 1              |
| 江 別         | 江 別 保 健 所     | 〃       | 1 —   | 1 —              |
|             | 市立江別総合病院      | 無菌性髄膜炎  | 6 —   | 6 1              |
| 札 幌         | 札幌中央保健所       | ポリオ     | 1 —   | 1 —              |
|             | 北海道大学病院       | 〃       | 2 4   | 6 3              |
|             | 市立札幌病院        | 無菌性髄膜炎  | 6 4   | 10 1             |
| 余 市         | 余 市 病 院       | 〃       | — 1   | 1 —              |
| 室 蘭         | 市立室蘭総合病院      | 〃       | 4 —   | 4 ※ 1            |
| 計           |               |         | 39 14 | 53 9             |

注 ※ ポリオウイルスII型。

第2表 患者材料より哺乳マウスによるウイルス分離

| 材番<br>料号 | 患 者     | 年 齢 | 性 別 | 材 料    |                     |     |     | ウイ ル ス の 分 離 |         |       |         |       |         |                       |
|----------|---------|-----|-----|--------|---------------------|-----|-----|--------------|---------|-------|---------|-------|---------|-----------------------|
|          |         |     |     | 依頼検査別※ | 検体採取<br>(受付)<br>月 日 | 糞 便 | 髄 液 | 初 代          |         | 2 代   |         | 3 代   |         | 分<br>離<br>ス<br>イ<br>型 |
|          |         |     |     |        |                     |     |     | SM※          | 死日<br>数 | SM    | 死日<br>数 | SM    | 死日<br>数 |                       |
| 14       | 榎 本 ○ 徳 |     | ♂   | 無菌性髄膜炎 | 64.6.18             | ○   |     | 9/9          | 3       | 7/7   | 4       |       |         | 4                     |
| 17       | 斎 藤 寛之○ | 63  | ♂   | ポリオ    | 64.7.14             |     | ○   | 11/11        | 5       | 9/9   | 2       | 10/10 | 2       | 4                     |
| 18       | 〃       |     |     |        |                     | ○   |     | 7/7          | 5       | 6/6   | 2       | 10/10 | 2       | 4                     |
| 107      | 上 浦 ○ 子 | 9   | ♀   | ポリオ    | 64.9.26             | ○   |     | 5/5          | 7       | 8/8   | 3       | 12/12 | 2       | 4                     |
| 112      | 中 川 健 ○ |     | ♂   | 無菌性髄膜炎 | 64.9.29             | ○   |     | 9/9          | 5       | 8/8   | 5       | 10/10 | 2       | 4                     |
| 114      | 川 本 ○ 男 | 14  | ♂   | ポリオ    | 64.9.30             |     | ○   | 9/9          | 4       | 8/8   | 5       | 12/12 | 2       | 4                     |
| 115      | 千 葉 晴 ○ | 1   | ♂   | 〃      | 64.10.5             | ○   |     | 9/9          | 5       | 8/8   | 3       | 8/8   | 3       | 2                     |
| 134      | 白 瀬 ○ 子 |     | ♀   | 〃      | 64.12.7             |     | ○   | 5/5          | 5       | 10/10 | 2       |       |         | 2                     |

注 ※: 哺乳マウス (SM), ※ 検査別疾患名は依頼通りに記載した。

斎藤（髄）株の2株は同患者の糞便および髄液から同時に分離されたものである。

ウイルスの分離経過は、材料接種後早くて2日、遅くて5日後には後肢に軽度の麻痺がみられ、症状は急速に進行し、コクサツキア群ウイルス特有の定型的な躯幹、四肢の弛緩性麻痺を起し、ほぼ24時間以内にマウスは死亡する。この感染マウスの10%筋乳剤を次の新哺乳マウスに感染させると、潜伏期は次第に短縮されて、2～日以内に麻痺症状で死亡する。分離されたウイルスに対する生後72時間以内の哺乳マウスの感受性はかなり鋭敏で、接種マウスの殆んどは例外なく麻痺を起して死亡した。藤原<sup>37)</sup>はコクサツキア群ウイルス分離の際に、接種マウスが明らかに後肢麻痺の症状を示したが、回復し、不全型麻痺症状で陰性に終つた例を記載しているので、著者らは2乃至3代継代を重ねて、ウイルスを確実に固定した場合にのみ、ウイルス陽性とした。またコクサツキア群ウイルス感染材料からのウイルス分離に際しては、実験室内マウスの汚染が問題<sup>38) 39)</sup>となること、また、経口感染の成立<sup>31)</sup>することなどから、動物実験には特に注意を払い、斎藤株、中川株および千葉株の材料については、哺乳マウス再接種試験を行い、外部よりのウイルスの迷入でないことおよびその再現性を確めた上でウイルス陽性とし、実験の正確を期した。

細胞接種によるウイルス分離

哺乳マウス接種によるコクサツキア群ウイルスの分離を試みる一方、全国的にエコーウイルスおよびコクサツキアB群ウイルスによる流行<sup>42)</sup>がみられたので、HeLa-S3, Hep #2 および FL 継代細胞のほか、初代培養猿腎細胞などを併用してウイルス分離を行った。その結果、室蘭地区から送られた糞便材料からポリオII型ウイルス（井内株）1株が分離されたほかはすべて陰性であつた。このようなことから、著者らが集めた患者材料はほぼコクサツキア群ウイルス感染症によるものと考えられた。

分離ウイルスの型別決定

分離されたウイルスの同定に当つて、コクサツキア群ウイルス同定の標準抗血清がなかつたので、著者らはまず分離したウイルス株で動物の免疫を行い、その免疫血清に対してコクサツキア群標準ウイルスに対する中和試験で同免疫血清の型を決定して、分離ウイルスの同定試験を行った。

動物の免疫に用いたウイルスは、患者の髄液より分離された斎藤（髄）株を使用した。

免疫抗原は、感染哺乳マウスの筋10%乳剤で、この抗原の感染価はほぼ $10^{-7}$ ～ $10^{-8}$ であつた。この抗原とアシユバント<sup>53)</sup> (Arlacel A 9 + 流動パラフィン I) とを等量に混合したアシユバント処理抗原を体重約 400g のモルモット2頭の皮下に5ml 宛注射し、7日後より抗原を5ml 宛2回、最終は10ml 宛7日間隔で皮下に注射して、最終注射より7日後に全採血した。

この2頭のモルモット免疫血清は、斎藤（髄）株に対する中和抗体価は1:64を示した。

本免疫血清を用いてA群標準ウイルス株との間に中和試験を行うに当つては、まず過去の流行にみられた麻痺様疾患および無菌性髄膜炎に関係あると思われるA4型<sup>34)~55)</sup>、A7型<sup>47) 56) 57)</sup>、A9型<sup>58)~60)</sup>の3株を選んで中和試験を行った。その成績を第3表に示した。即ち、斎藤（髄）株免疫血清によつて、使用したA型標準ウイルス3株のうち、A4型ウイルスのみが完全に中和され、マウスは全部生き残つた。これに反してA7型およびA9型のウイルス株はこの血清によつて中和されず、抗原対照マウスと同様に全部発症し、躯幹四肢の弛緩性麻痺を起して死亡した。この中和試験の成績から、本斎藤（髄）株免疫血清はA4型ウイルスに対する抗血清であり、免疫に使用した斎藤（髄）株はA4型ウイルスであることが確認された。

第3表 分離ウイルス斎藤（髄）株免疫血清と標準A型ウイルス株及び分離ウイルス株との中和試験

| ウイルス株  | 免疫血清 | 中和試験  | ウイルス対照 |
|--------|------|-------|--------|
| C-A 4  |      | 0 / 9 | 9 / 9  |
| C-A 7  |      | 9 / 9 | 9 / 9  |
| C-A 9  |      | 9 / 9 | 9 / 9  |
| 榎本株    |      | 0 / 8 | 9 / 9  |
| 斎藤（髄）株 |      | 0 / 9 | 8 / 8  |
| 斎藤（便）株 |      | 0 / 9 | 9 / 9  |
| 上浦株    |      | 0 / 9 | 9 / 9  |
| 中川株    |      | 0 / 9 | 9 / 9  |
| 川本株    |      | 0 / 8 | 8 / 8  |
| 千葉株    |      | 8 / 8 | 8 / 8  |
| 白瀬株    |      | 8 / 8 | 8 / 8  |

そこでこの斎藤（髄）株モルモット免疫血清を使用して、分離ウイルス株に対する中和同定試験を行った。その成績を第3表に併記した。即ち、分離ウイルスの8株の同定を行ったところ榎本株、斎藤（髄）株、斎藤（便）株、上浦株、中川株および川本株の6株はこの免疫血清で完全に中和され、マウスは全部生き残つた。この成績から6株はA4型ウイルスであることが証明された。これに反して千葉株および白瀬株の2株は、本免疫血清では中和されず、抗原対照マウスと同様に、マウスは全部死亡した。従つてこの2株のウイルスはA4型以外のウイルスであることが判つた。

そこでまた前回と同様に分離ウイルス株で動物免疫を行い、その免疫血清で同定試験を行うことにした。

ウイルス株は患者の髄液から分離した白瀬株を抗原に使用した。前回と同様に、感染哺乳マウスの10%筋乳剤の感染価は $10^{-7.5}$ であつた。

今回の免疫に用いたのは、体重約2kgの家兎1頭で、第1日抗原1ml、4日1ml、更に4日後2ml 宛静脈内と腹腔内にそれぞれ注射、最終注射より7日後に全採血、全日数26日間の短い期間で免疫を終らせた。本免疫血清は白瀬株に対する中和抗体価は1:256以上を示した。

次いで、本家兎免疫血清のA群標準ウイルスに対する中和試験に当つて、まず本邦で最も多く分離されているA2型<sup>41)</sup>、札幌市でヘルパンギーナの流行より分離されたA5型<sup>42)</sup>およびボリオ患児より分離されたA5型ウイルス<sup>5) 6)</sup>を目標において中和試験を行つた。その成績を第4表に示した。即ち、白瀬株免疫血清でA2型ウイルスのみが完全に中和され、マウスは全部生き残つた。これに反してA5型ウイルスのそれは中和されず、マウスは全部発症死亡した。この中和試験の成績で、本免疫血清はA2型ウイルスに対する抗血清であり、使用した白瀬株はA2型ウイルスであることが確認された。

第4表 分離ウイルス白瀬株免疫血清と標準A型ウイルス株及び分離ウイルス株との中和試験

| ウイルス株  | 免疫血清 | 中和試験 | ウイルス対照 |
|--------|------|------|--------|
| C-A2   |      | 0/7  | 7/7    |
| C-A5   |      | 7/7  | 7/7    |
| 白瀬株    |      | 0/7  | 7/7    |
| 千葉株    |      | 0/7  | 7/7    |
| 斎藤(髓)株 |      | 7/7  | 7/7    |

そこで同様にこの免疫血清で千葉株および白瀬株の2株と確認の意味で斎藤(髓)株の3株で中和同定試験を行つた。この成績を第4表に併記した。即ち、千葉株はこの免疫血清で完全に中和され、A2型ウイルスと決定された。なお斎藤(髓)株は、中和されずマウスは発症して全部死亡した。

標準プール抗血清による同定試験

著者らは、コクサツキーA群ウイルス同定の標準抗血清の手持がなかつたので、分離ウイルスに対する抗血清を作り、これに標準ウイルスを当て、中和試験を行うという間

第5表 コクサツキーウイルス同定用プール抗血清

| Pool No. |       |       |       |       |       |    |
|----------|-------|-------|-------|-------|-------|----|
| 1        | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     |    |
| C-A1     | C-A2  | C-A3  | C-A4  | C-A5  | C-A6  | 7  |
| C-A7     | C-A8  | C-A9  | C-A10 | C-A11 | C-A12 | 8  |
| C-A13    | C-A14 | C-A15 | C-A16 | C-A17 | C-A18 | 9  |
| C-A19    | C-A20 | C-A21 | C-A22 | C-A24 | C-B1  | 10 |
| C-B2     | C-B3  | C-B4  | C-B5  | C-B6  |       | 11 |

注 プール血清の最終濃度は各型別に0.015ml中、C-A群は20単位、C-B群は10単位を含む、

※ C-A4のみ6単位。

接の同定試験を行つたが、その後国立予防衛生研究所腸内ウイルス部の厚意により、A群およびB群ウイルス同定用のプール抗血清の分与を受けたので、一応確認する目的で中和同定試験を行つた。プール抗血清の型別内容は第5表の通りである。このプール抗血清による中和試験で確認した成績を第6表に示した。なおその後、全部のウイルス株を予研に送付したが、その同定試験の成績は著者らの成績と全く一致した。

第6表 プール抗血清による分離ウイルスの中和試験

| プール抗血清 | ウイルス | 分離ウイルス株 |     |     |     |
|--------|------|---------|-----|-----|-----|
|        |      | 斎藤(髓)株  | 中川株 | 千葉株 | 白瀬株 |
| 1      |      | 5/5     | 5/5 | 5/5 | 5/5 |
| 2      |      | 5/5     | 5/5 | 0/5 | 0/5 |
| 3      |      | 5/5     | 5/5 | 5/5 | 5/5 |
| 4      |      | 0/5     | 5/5 | 5/5 | 5/5 |
| 5      |      | 5/5     | 5/5 | 5/5 | 5/5 |
| 6      |      | 5/5     | 5/5 | 5/5 | 5/5 |
| 7      |      | 0/5     | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| 8      |      | 5/5     | 5/5 | 5/5 | 5/5 |
| 9      |      | 5/5     | 5/5 | 5/5 | 5/5 |
| 10     |      | 5/5     | 5/5 | 5/5 | 5/5 |
| ウイルス対照 |      | 5/5     | 5/5 | 5/5 | 5/5 |

分離ウイルスの哺乳マウスに対する病原性

著者らは今回コクサツキーA群ウイルス分離に当つて、生後72時間以内の哺乳マウスを主として用いた。哺乳マウスのA群ウイルスに対する感受性は幼若なものほど高いこ

第7表 斎藤(髓)株及び白瀬株に対するマウスの感受性

| 実験日 | 哺乳マウス日齢 | 斎藤(髓)株 |     | 白瀬株   |     |
|-----|---------|--------|-----|-------|-----|
|     |         | 潜伏期    | 麻痺死 | 潜伏期   | 麻痺死 |
| 1   | 1       | 2-3    | 5/5 | 2-3   | 5/5 |
|     | 2       | 2-3    | 5/5 | 2-3   | 5/5 |
|     | 3       | 3-4    | 5/5 | 3-4   | 5/5 |
|     | 4       | 4-5    | 5/5 | 4-5   | 5/5 |
|     | 5       | 4-5    | 5/5 | 4-5   | 5/5 |
|     | 6       | 4-5    | 5/5 | 5-6   | 5/5 |
|     | 7       | 4-5    | 5/5 | 6-7   | 5/5 |
|     | 8       | 5-6    | 5/5 | 6-7   | 5/5 |
|     | 9       | 7-8    | 5/5 | 8-9   | 5/5 |
|     | 10      | 9-10   | 5/5 | 10-12 | 5/5 |
| 2   | 7       | 6-7    | 6/6 | 7-8   | 6/6 |
|     | 8       | 9-10   | 6/6 | 9-10  | 6/6 |
|     | 9       | 9-10   | 6/6 | 10-11 | 6/6 |
|     | 10      | 10-12  | 2/6 | 10-11 | 3/6 |

注 ウイルス接種量 100LD<sub>50</sub>。

とが知られているが、生後10日の哺乳マウスでも感受性を示すが、株によつてかなり差異がみられる<sup>38) 48)</sup> ようである。

今回分離した A 2 型白瀬株および A 4 型斎藤 (髓) 株ウイルスの 100LD<sub>50</sub> を哺乳マウスの皮下に接種して、その感受性を調べた成績を第 7 表に示した。その成績によると、生後10日目の哺乳マウスは感性受を示すが、日齢の長ずるに従つて潜伏期が著しく延長する。また生後10日の哺乳マウスでは一旦発症麻痺症状を示し、特に後肢の無力状態が著明で呼吸促進を来たして死亡するが、接種マウスのうちには数日すると次第に回復し、生き残るものもみられた。

なお A 2 型白瀬株および A 4 型斎藤 (髓) 株の間には特に感受性の差異は認められなかつた。

ちなみに、生後 3 日以内の哺乳マウスで分離ウイルス 8 株の感染価を測定した成績を第 8 表に示した。その LD<sub>50</sub> 価は 10<sup>-6.5</sup>~10<sup>-8.5</sup> の間を示している。

第 8 表 分離ウイルス株の毒力

| No. | ウイルス株    | LD <sub>50</sub> |
|-----|----------|------------------|
| 1   | 榎本株      | -6.5             |
| 2   | 斎藤 (髓) 株 | -8.5             |
| 3   | 斎藤 (便) 株 | -8.5             |
| 4   | 上浦株      | -7.5             |
| 5   | 中川株      | -6.5             |
| 6   | 川本株      | -8.5             |
| 7   | 千葉株      | -7.5             |
| 8   | 白瀬株      | -8.0             |

患者血清の中和抗体価

今回行つた患者血清の中和抗体価の測定は、ウイルスの分離された患者血清であるが、ベア血清が少なく、血清学的診断上における決定的な意義には乏しいが、分離ウイルスとの関係を知る上にじゅうぶん価値を有するものと信ずる。

なお、血清採取時期については、糞便材料と同時期に送られて来た血清は、病日あるいは採取時期など明らかではないが、第 1 回に送られて来たものを急性期血清とみなした。それらの血清の中和抗体価は、第 9 表にみられるように、A 4 型ウイルスの分離された急性期血清のみのグループである榎本血清では中和抗体価 4 倍以下で抗体は認められなかつたが、上浦血清および川本血清では 1,024 倍の中和抗体価を示し、急性期血清とみなしてはかなり高い抗体価を示した。一方、ベア血清の斎藤血清および中川血清の中和抗体価は、前者では急性期、回復期の血清とも抗体価が 4 倍以下で抗体が認められず、後者では急性期血清が 64 倍、回復期血清が 256 倍で、確かに抗体価の上昇しているのが認められる。

第 9 表 患者血清の中和抗体価

| 患者     | 中和抗体価 | A 2 型ウイルスに対する中和抗体価 |      | A 4 型ウイルスに対する中和抗体価 |     |
|--------|-------|--------------------|------|--------------------|-----|
|        |       | 急性期                | 回復期  | 急性期                | 回復期 |
| 榎本 ○徳  | 4     | 4                  | —    | < 4                | —   |
| 斎藤寛之 ○ | 4     | 16                 | 16   | < 4                | < 4 |
| 上浦 ○子  | 4     | > 64               | —    | 1,024              | —   |
| 中川 健 ○ | 4     | > 64               | > 64 | 64                 | 256 |
| 川本 ○男  | 4     | 16                 | —    | 1,024              | —   |
| 千葉 晴 ○ | 2     | < 4                | 256  | 256                | 64  |
| 白瀬 ○子  | 2     | —                  | —    | —                  | —   |

A 2 型ウイルスの分離されたグループでは、患者の血清は 2 名で、そのうち 1 名は血清不足のため測定はできなかつた。1 名の千葉血清の A 2 型ウイルスに対する中和抗体価は、急性期血清が 4 倍以下であり、回復期血清が 256 倍で、明らかに有意の抗体上昇を示している。

患者血清の採取時期という点では、中川の急性期血清が既に 64 倍まで抗体価がみられることと、上浦血清および川村血清の 2 例では更に高く 1,024 倍の抗体価を示したが、この 2 例の血清の第 2 回採血ではおそらく差がないか、コクサツキー A 群ウイルス感染症における抗体の持続期間が短いといわれる点からあるいは抗体価が低くでることも考えられる。ウイルス性疾患の血清学的診断における病日と採血時期とは、じゅうぶん考慮を要することを示している。

このように分離ウイルス型に対する中和抗体を測定する一方、交叉的に A 2 型ウイルスおよび A 4 型ウイルスに対する中和抗体を測定してみた。その結果、明らかに A 4 型ウイルスの分離された患者血清中に A 2 型ウイルスに対する抗体が証明され、そのまた逆の成績も証明された。ここで特に注目されたのは斎藤血清である。この患者は、糞便および髄液から同時に A 4 型ウイルスが陽性となつているにも拘わらず、該当ウイルスに対する抗体の産生がなく、A 2 型ウイルスに対して低いながら抗体を有している。この理由について不明であるが、この患者が過去において少くとも A 2 型ウイルスの感染を受けたことだけは推定できる。

考 察

1964年 6 月頃から札幌附近を中心とした北海道のかなり広範な地域に亘つて、麻痺様疾患および無菌性髄膜炎の散発的発生がみられ、12 月に至りようやく終熄した。これらの地域より送られて来た患者の糞便 39 件および髄液 14 件についてウイルス学的検索を行つた結果、哺乳マウスに対して、駆幹四肢に特有の弛緩性麻痺を起して、マウスをたおすウイルスを糞便より 5 株、髄液より 3 株、計 8 株分離した。

この分離ウイルスは、マウスに対する病原性からコクサツキーA群に属し、A群型抗血清による中和同定試験の結果、分離ウイルスの千葉株および白瀬株はA2型ウイルスであり、榎本株、斎藤(髄)株、斎藤(便)株、上浦株、中川株および川本株はA4型ウイルスであつて、今回の散発発生はコクサツキーA群ウイルスによる感染症であることを明かにし得た。

細胞培養によるウイルス分離では、ポリオII型ウイルス(井内株)1株が分離されたほかすべて陰性であつた。

コクサツキーA群ウイルスは、きわめて広範に分布し、通常患者の糞便および咽頭ぬぐい液<sup>62)</sup>に最も多く検出され、また髄液<sup>24) 46) 51) 63)</sup>からも証明されている。このほか本ウイルスによつて Viremia の起ることも知られ、全血からウイルスが分離<sup>54) 64)</sup>されている。また健康者の糞便からウイルスの分離<sup>6) 9) 65)~67)</sup>される一方、自然界における蝇、汚水<sup>2) 68) 69)</sup>などからも分離されている。この様に患者の組織、排泄物、健康者の糞便、咽頭部および昆虫あるいは自然界などに広範に分布することなどから Huebner<sup>9)</sup>はコクサツキーウイルスの病原検素には、発病時にウイルスの証明されること、患者の陽性ウイルスに対する抗体の証明されること、および対照群として健康者よりウイルスの分離を行つて、患者と健康者との間に著しい差異のあることなどが必要で、この3つの条件が満たされて始めて本ウイルスと疾患との間の因果関係が有意であると提唱した。

このようなことを考慮に置いて、今回糞便よりウイルス陽性となつても直ちに疾患起因ウイルスと断定できないものとしたが、患者の髄液よりウイルス陽性となつたことと例数が少ないので不十分な点もあるが、中川血清および千葉血清の2例のペア血清の分離ウイルスに対する中和抗体価の有意の上昇がみられる点、および細胞接種ではほとんど陰性で、本疾患群の起因ウイルスの分離されていない点などから、Huebnerの3条件がじゆうぶん満たされなくとも、本流行の起因ウイルスであるとしても差支えないものと考えた。

コクサツキーA群ウイルスによる無菌性髄膜炎および麻痺性疾患については、A7型ウイルスおよびA9型ウイルスによる報告<sup>47) 56)~60)</sup>がみられ、成書<sup>70) 71)</sup>にも記載され注目されている。A4型ウイルスに関しては、患者の糞便および死後の髄液からウイルスが分離<sup>34) 55)</sup>され、猿の脳内接種で中枢神経を侵すことなど麻痺との関係が注目されている。またA2型ウイルスについては明らかに麻痺疾患との関連の証明された報告はないが、死亡した患児の中枢神経からウイルスが分離され、患児死亡の重要な原因と考えられている<sup>55)</sup>。

今回の散発発生例から分離されたA2型ウイルスおよびA4型ウイルスは、ヘルパンギーナあるいは無菌性髄膜炎の起因ウイルスとして知られ<sup>29)</sup>、本邦では、ヘルパンギーナおよび夏かぜの患児の糞便から多数分離<sup>61)</sup>されている。

このように比較的軽い疾患をひき起すウイルスでも、明らかに麻痺様患者からの分離例のある点から考えて、エンテロウイルスの大部分は、不顕性感染のうちに低抗力を獲得し、発病にうち勝つか、あるいは軽い症候で終るものであるが、ウイルスの病原性の増大、宿主側の防禦力の低下、気候、環境などの悪条件が重なり、ウイルスの中枢神経に侵入するチャンスがあると、時に重篤な病状に進行し得るのではなからうかと考えられる。

血清学的診断におけるA2型ウイルスおよびA4型ウイルスに対する中和抗体価は、ペア血清例が少なく、じゆうぶんな成績は得られなかつたが、A2型千葉株およびA4型中川株分離の2例のペア血清の中和抗体価は明らかに有意の上昇を示している。また、糞便および髄液から同時にA4型ウイルスの分離された斎藤血清は急性期および回復期血清とも分離ウイルスに対する中和抗体が認められなかつた。しかし、A2型ウイルスに対する抗体を保有していることから、これは種々の型のウイルスに対する反応性の個体差であるのかも知れない。この点は不明である。

コクサツキーウイルス感染症にみられる血清中和抗体価については、Melnick<sup>72)</sup>は発病後直ちに上昇すると述べ、石川<sup>75)</sup>は2病日で上昇し始めているものが多いと述べている。中和抗体は少くとも1年以上持続<sup>74)</sup>すると云われ、Melnick<sup>72)</sup>、Kraft<sup>73)</sup>らは急激に上昇出現して半年乃至1年後まで持続すると述べている。古前<sup>38)</sup>は第3病日まで陰性であつたが、18病日では100倍に上昇し、3ヶ月後には10倍に低下したと云い、吉松<sup>76)</sup>は2年間に亘り中和抗体価の消長を調べ、著しく低下することを認めている。また大田<sup>40)</sup>は抗体価の上昇を認めたが半年後には検出されなくなつたと述べている。

A4型ウイルスの分離された上浦および中川の急性期血清で1,024倍の高い抗体価を示したことは、糞便中に長期に亘つてウイルスの排泄される<sup>8) 43) 68) 71)</sup>ことなど考え合せて、本例では感染日数のかなり経過したことも考えられるし、あるいは急性期に抗体価の急激に上昇したことも考えられる。

なお、分離ウイルスに対する中和抗体測定のほか、交叉的にA2型ウイルスおよびA4型ウイルスに対する中和抗体を調べた結果では、明らかに過去においてA2型およびA4型のウイルスによる感染のあつたことが推定された。

## 結 語

1) 1964年、夏季北海道において散発的発生をみた麻痺様疾患および無菌性髄膜炎の患者糞便39例および蓋液14例について、哺乳マウスおよび細胞接種により、ウイルス学的検索を行つた結果、哺乳マウスに対して躯幹四肢に特有の弛緩性麻痺を伴つてこれをたおすウイルスを8株分離した。

2) 分離したウイルスは、免疫、血清学的同定によりコ

クサツキーA群に属し、2株はコクサツキーA 2型ウイルス、6株はコクサツキーA 4型ウイルスと決定された。

3) 分離ウイルスと疾患との関係は、無菌性髄膜炎患者糞便よりA 4型ウイルス2株、麻疹様疾患患者糞便よりA 2型ウイルス1株およびA 4型ウイルス2株が分離され、同疾患患者髄液よりA 2型ウイルス1株およびA 4型ウイルス2株が分離された。

4) 患者血清の中和抗体価の上昇は、患者へ血清では分離型ウイルスに対して、2例に有意の抗体上昇を認めた。

## 文 献

- 1) Dalldorf, G., Sickles, G. M., Plager, H., and Gifford, R. A virus recovered from the feces of "poliomyelitis" patient pathogenic for suckling mice, *J. Exp. Med.* 89 ; 567-582, 1949.
- 2) Melnick, J. L., Shaw, E. w., and Curnen, E. C. A virus isolated from patients diagnosed as nonparalytic poliomyelitis, or aseptic meningitis, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 71 ; 344-349, 1949.
- 3) Curnen, E. C., Shaw, E. W., and Melnick, J. L. Disease resembling nonparalytic poliomyelitis associated with A virus pathogenic for infant mice, *J. Am. Med. Ass.* 141 ; 894-901, 1949.
- 4) Curnen, E. C. Human disease associated with Coxsackie viruses, *Bull. N. Y. Acad. Med.* 26 ; 335-342, 1950.
- 5) 中村兼次, 渡辺悌吉, 福見秀雄, 横田 勉, Coxsackie virus を証明し得たボリオ患児の1例, *日本小児科学会誌*, 58 ; 283~286, 1954.
- 6) Huedner, R. J., Cole, R. M., Beeman, E. A., Bell, J. A., and peers, J. H. Herpangina ; Etiological studies of a specific infectious disease, *J. A. M. A.* 145 ; 628-633, 1951.
- 7) Parrott, R. H., Ross, S., Burke, F. G., and Rice, E. C. Herpangina, clinical studies of a specific infectious disease *New Eng. J. Med.* 245 ; 275-280, 1951.
- 8) Cole, R. M., Bell, J. A., Beeman, E. A., and Huebner, R. J. Studies of Coxsackie viruses ; Odservation on epidemiological aspects of group A virus, *Am. J. Pud. Health.* 41 ; 1,342-1,358, 1951.
- 9) Huebner, R. J., Beeman, E. A., Cole, R. M., Beigelman, P. M., and Bell, J. A. The importance of Coxsackie viruses in human disease, Particulary Herpangina and epidemic pleurodynia, *New Eng. J. Med.* 247 ; 249-256, 285-289, 1952.
- 10) 中村兼次, 渡辺悌吉, 増田義一, 石川昭, 福見秀雄, 横田勉, 平山雄, 昭和30年夏季東京地方にみられたヘルパンギーナの流行について, *日本医事新報*, 1,733 ; 38~44, 1957.
- 11) Melnick, J. L. The poliomyelittis, encephalomyocarditis and Coxsackie groups of viruses, *Bact. Rev.* 14 ; 233-244, 1950.
- 12) Habel, K., Silverberg, R. J., and Shelokov, A. Isolation of enteric viruses from causes of aseptic meningitis, *Ann. N. Y. Acad. Cci* 67 ; 223-229, 1957.
- 13) Johnson, T., Jönsson, B., Lycke. E., and Victorin, B. Studies of an epibemic of aseptic meningitis associated with Coxsackie and ECHO viruses, 1 *Virological observations, Arch. ges. Virustorsch*, 7 ; 384-393, 1957.
- 14) Sabin, A. B., and Steigman, A. J. Poliomyelitis of low virulence in patients with epidemic of "Summer Grippe or Sore Throat", *Am. J. Hyg.* 49 ; 176-193, 1949.
- 15) Dalldorf, G., and Gifford, R. Clinical and epidemiologic observation of Coxsackie virus infection, *New Eng. J. Med.* 244 ; 868-873. 1951.
- 16) 中村兼次, 渡辺悌吉, 上村菊明, 渡辺嗟智子, 田多井恭子, 小児のグリツベ様疾患とコクサツキーウイルス, *治療*, 36 ; 69~75, 1954.
- 17) 増田義一, 小児におけるコクサツキーウイルス感染症に関する研究, 第3編かぜ疾患群におけるコクサツキーウイルスの病原的意義に関する研究, *日本小児科学会誌*, 63 ; 1,333~1,338, 1956.
- 18) Webb, C. H., Walfe, S. G., and Howitt, B. F. "3 days fever" and epidemic febrile disease of childhood with virus studies, *Am. J. Dis. Child.* 30 ; 245-253, 1950.
- 19) Howitt, B. F. Recovery of Coxsackie group of viruses from humsn Sources, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 73 ; 443-448, 1950.
- 20) Lennette, E. H., Fox, V. L., Schmidt, N. J., and Culver, J. O. An apparently new virus recoveds from Patients with mild respiratory disease, *Am. J. Hyg.* 68 ; 272-287, 1958.
- 21) Schmidt, N. J., Fox, V. L., and Lennette, E. H. Immunologic identification of Coxsackie A 21 virus with Coe virus, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 107 ; 63-65, 1961.
- 22) Johnson, K. M., Bloom, H. H., Mufson, M. A., and Chanock, R. M. Acute respiratory disease associated with Coxsackie A 21 virus infection, *J. A. M. A.* 179 ; 120-127, 1962.
- 23) Bloom, H. H., Lejeune, C., Johnson, K. M., Mufson,

- M. A., and Chanock, R. M. Acute respiratory disease associated with Coxsackie A 21 virus infection, J. A. M. A. 179 ; 128-133, 1962.
- 24) Lerner, A. M. Klin, J. O., Levin, H. S., and Finland, M. Infection due to Coxsackie virus group A, Type 9 in Boston 1959, with special reference to exanthems and pneumonia, New Eng. J. Med. 263 ; 1,265-1,272, 1960.
- 25) Robinson, C. R., DOane, F. W., and Rhodes, A. J. Report of outbreak of febrile illness with pharyngeal lesions and exanthem ; Summer 1957, isolation of group A, Coxsackie virus, Canad. Med. Ass. J. 79 ; 616-621, 1958.
- 26) Mogoffin, R. L., Jackson, E.w., and Lennett, E. H. Vesicular Stomatitis and exanthem : Syndrom associated with Coxsackie virus, Type A 16 : J. A. M. A. 175, 441-445, 1961.
- 27) Robinson, C. R., and Rhodes, A. J. vesicular exanthem and stomatitis report of an epidemic due to Coxsackie virus group A, tyoe 16, New Eng. J. Med. 256, 1,104-1,105, 1961.
- 28) Mcnair Scott, T. F. Clinical syndromes associated with enterovirus and Reo virus infections, Adv. Virus Res. 8 ; 165-197, 1961.
- 29) Kibrick, S. Current status of Coxsackie and ECHO viruses in human disease, prog. in Med. Virology, 6 ; 27-70, 1964.
- 30) Dalldorf, G., and Sickles, G. M. An unidentified filtrable agent isolation from the feces of children with paralysis, Science, 108 ; 61-62, 1946.
- 31) Dalldorf, G. The Coxsackie group of viruses, Science, 110 ; 594. 1949.
- 32) Dalldorf, G. The Coxsackie viruses, Bull. N. Y. Acad. Med. 26 ; 329-335, 1950.
- 33) Gifford, R., and Dalldorf, G. Morbit anatomy of experimental Coxsackie virus infection, Am. J. path. 27 ; 1,047-1,063, 1951.
- 34) Committee on enteroviruses, Classification of human enterovirus, Virology, 16 ; 501-504, 1962.
- 35) 内山敬司, 川上定太郎, 酒寄淳見, 小笠原晃, 石神省吾, Coxsackie virus 病—(局地的小流行を見た不明熱性疾患)一疫学並に臨床的観察—, 日本医事新報, 1,455 ; 15~20, 1951,
- 36) 福見秀雄, 横田勉, Coxsackie virus 病—病原学的研究—, 日本医事新報, 1,955, 20~27, 1952.
- 37) 藤原弘, 古前敏明, 瀬戸内海沿岸に流行せる所謂ランドリー・ギラン・バレー症候群の病原に関する研究, II コクサツキウイルスの分離, ウィルス, 3 ; 32~39, 1953.
- 38) 古前敏明, ギラン・バレー症候群を呈する多発性神経根炎患児より分離した Coxsackie ウィルスの分離並にその免疫血清学的検索, ウィルス, 8 ; 22~33, 1958.
- 39) 浜本英次, 古前敏明, 古谷明, 大山昭郎, 大田勉, 多生美喜雄, 喜多村勇, 吉本辰雄, ヘルパンギーナの室内流行, その臨床と病原, 日本小児科学会誌, 59 ; 633, 1955.
- 40) 大田勉, 乳児哺育室におけるヘルパンギーナの流行, 第2編コクサツキウイルスの分離及び患者血清抗体について, 日本小児科学会誌, 62 ; 617~623, 1958.
- 41) 増田義一, 小児におけるコクサツキウイルス感染症に関する研究, 日本小児科学会誌, 63 ; 334~340, 1959.
- 42) 山本治, 館野功, 前田竹麿, 伊藤昭, 茨城県下に流行したヘルパンギーナについて, 日本医事新報, 1,718 ; 9~11, 1957.
- 43) 桜田教夫, 佐藤七七朗, 飯田広夫, 佐伯義人, 我妻義則, 1961年札幌市に発生したヘリパンギーナの流行について, 北海道立衛生研究所報, 13 ; 68~71, 1962.
- 44) 沢田啓司, 平山宗宏, 日野原正幸, 高島宏哉, 東京都内2乳児院におけるヘルパンギーナの流行について, 日本伝染病学会誌, 35 ; 678, 1962.
- 45) 市川哲郎, 小児の夏季感冒に関する研究, 第2編組織培養法による腸管ウイルスの分離, 日本小児科学会誌, 61 ; 207~212, 1957.
- 46) 日沼頼夫, 村井良通, 福田実, 中沢美喜子, 石田名香雄, 中尾享, 1961年東北地方に流行した無菌性髄膜炎のウイルス学的研究, 小児科臨床, 15 ; 637~682, 1962.
- 47) 芦原義守, 川村紘輝, 竹内京子, 沢田茂夫, 河合通夫, Coxsackie virus による麻疹症例について, 小児科診療, 26 ; 1,493~1,495, 1963.
- 48) Howes, D. w. Studies of Coxseckie virus, 1 Comparison of age-susceptibility relationship in mice, Austral. J. Exp. Med. Sci. 32 ; 253-264, 1954.
- 49) ウィルス実験室診断法, 臨床ウイルス談話会編, 1964, 日本栄養化学.
- 50) Committee on the enteroviruses, the enteroviruses, Am. J. Pub. Health. 47 ; 1,556-1,567, 1957.
- 51) Kaplan, A. A., and Melnick, J. L. Oral administration of Coxsaeki viruses to newborn and adult mice, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 76 ; 312-315, 1951.
- 52) 無菌性髄膜炎の流行について, 厚生省, 1964.
- 53) 免疫血清, 細菌学実習提要, 199~205, 1958, 丸善.
- 54) Gear, J. Coxsackie virus infection in Southern Africa, yale. J. Biol. Med. 34 ; 389-303, 1961-2.
- 55) Expert committee on poliomyelitis : 5 enterovirus



- infection, WHO. Technical report series, 203 : 45-49, 1960.
- 56) Johnson, T., and Lundmark, C. Identification of the "Fourth Type" of poliomyelitis virus, *Lancet*, 272 : 1,148-1,149, 1957.
- 57) Grist, N. R. Isolation of Coxsackie A 7 virus in Scotland, *Lancet*, 1, 1960 : 1,054-1,055, 1960.
- 58) Hammon, W. M., Yohn, D. S., Ludwig, E. H., Pavia, R. A., and Sather, G. E. Study of certain nonpoliomyelitis and poliomyelitis enterovirus infection, *J. A. M. A.* 167 : 727-735, 1958.
- 59) MacCallum, F. O. Infectious with Coxsackie viruses, *Virus and Rickettsial Diseases of Man*, 305-311, 1961.
- 60) 中尾享, 新田敏雄, 三浦良一, 尾形邦彦, 高木雅代, 久米敏夫, 信田和子, 日沼頼夫, 昭和36年, 青森地方に流行せる無菌性髄膜炎について, *小児科臨床*, 15 : 652~657, 1962.
- 61) 横田勉, 日本におけるA群コクサツキウイルスの型分布, *ウイルス*, 6 : 461~471, 1956.
- 62) Beeman, E. A., Huebner, R. J., and Cole, R. M. Studies of Coxsackie Viruses laboratory aspects of group A virus, *Am. J. Hyg.* 55 : 83-107, 1952.
- 63) Davis, D. C., Melnick, J. L., and Conn, N. H. Poliomyelitis and aseptic meningitis, A two year field and laboratory study in Connecticut, *J. Lab. and Clin. Med.* 51 : 97-117, 1959.
- 64) 佐伯義人, 我妻義則, 飯田広夫, 桜田教夫, 佐藤七七朗, ウイルス血症を証明したヘルパンギーナの例, *日本伝染病学会誌*, 37 : 237~240, 1963.
- 65) Ranzenhofer, E. R., Dizon, F. C., Lipton, N. M., and Steigman, A. L. Clinical paralytic poliomyelitis due to Coxsackie virus group A, Type 7, *New Eng. J. Med.* 259 : 182, 1958.
- 66) Huebner, R. J., Armstrong, C., Beeman, E. A., and Cole, R. M. Studies of Coxsackie virus preliminary report on Occurrence of Coxsackie virus in a Southern Maryland Community, *J. A. M. A.* 144, 609-613, 1950.
- 67) 久保田卓, 岡山地方における Coxsackie virus に関する研究, 第1編非特定小児からの分離, *ウイルス*, 8 : 151~158, 1958.
- 68) Melnick, J. L., Emmans, J., Coffey, J. H., and Schopf, H. Seasonal Distribution of Coxsackie viruses in urban sewage and flies, *Am. J. Hyg.* 59 : 164-184, 1954.
- 69) Kelly, S. M., Clark, M. E., and Coleman, M. B. Demonstration of infectious agents in sewage, *Am. J. Pub. Health.* 45 : 1,438-1,46, 1955.
- 70) Melnick, J. L., Wenner, H. A., and Rosen, L. The enterovirus, *Diagnostic procedures for Viral and Rickettsial Diseases*, 194-242, 1964.
- 71) 日沼頼夫, ビコルナウイルス; コクサツキウイルス, *ウイルス学*, 774~779, 1964, 朝倉.
- 72) Melnick, J. L., and Ledinko, N. Immunological reactions of the Coxsackie viruses, 1 The neutralization test application, *J. Exp. Med.* 92 : 463-482, 1950.
- 73) 石川昭, 小児期血清のA群コクサツキウイルスに対する中和抗体に関する研究, 第1編ヘルパンギーナ患児におけるA群コクサツキウイルスに対する血清中和抗体価の消長について, *日本小児科学会誌*, 63 : 321~327, 1959.
- 74) Tobin, J. O. H. Coxsackie viruses, *Brit. Med. Bull.* 9 : 201-205, 1953.
- 75) Kraft, L. M., and Melnick, J. L. Complement Fixation test with homologous and heterologous types of Coxsackie virus in man, *J. Immunol.* 68 : 297-318, 1952.
- 76) 吉松正邦, コクサツキウイルスの抗体分布に関する研究, II コクサツキウイルス土肥株及び奥村株血清抗体価の時間的推移について, *ウイルス*, 7 : 185~189, 1957.

#### 7 Coxsackie A Group Viruses Isolated in Hokkaido in 1964

Hiroji Okuhara, Norio Sakurada, Nanao Sato, Shinichi Noro and Hiroo Iida  
(Hokkaido Institute of Public Health)

Virological and serological examinations carried out on sporadic cases of aseptic meningitis and paralytic diseases in Hokkaido in 1964 revealed that some of these cases had been caused by Coxsackie A group viruses. Thus Coxsackie A-4 virus was isolated from 2 fecal samples of aseptic meningitis, from 2 cerebrospinal fluid samples and 2 fecal samples of paralytic cases. Coxsackie A-2 virus was isolated from 1 cerebrospinal fluid and 1 fecal sample of paralytic cases.

In some of these cases, the results of the serological examination supported the possible role of the viruses as an etiological agent.