

9 釧路市におけるいわゆる非特異性脳脊髄炎症の血清学的研究について

北海道立衛生研究所
釧路市立総合病院

桜田 教夫 奥原 広治
伊東 弓多果

緒 言

昭和34年頃から釧路市およびその周辺において主として胃腸障害を前駆症状とする脊髄炎、多発性硬化症、視束脊髄炎等の患者が多数発生し、現在迄に50名の患者が報告されている。

一方わが国の各地においても同様な症状を呈する患者の発生が相次いで報告されるようになり、祖父江らは366例の腹部症状を前駆とする神経障害の分析を試みている²⁾。これらの疾患群はその病因としてウイルス感染症、真菌感染症、急性感染による中毒、アレルギー、循環障害、栄養障害等が考えられている³⁾が現在までにその原因が全く明らかにはされていない。

われわれは本疾患群の病因を追究する目的で調査を開始したが第一に感染症、特にウイルスの感染による発病を仮定した。しかしその後発生した患者はわずか1名であつたのでウイルス分離に重点をおかず、過去に発生した20名の患者血清と前述の1名の患者の血清について各種のウイルスに対する抗体を測定した。すなわち現在まひの起因株と考えられる14株の Enteroviruses、2株の Arboviruses に対する抗体を測定し、同時に日常臨床において最も多く遭遇する7株の Respiratory viruses の抗体も測定し、全部の血清に対して最も高い抗体産生をもたらす抗原ウイルスをもつて本疾患群の起因ウイルスと推定する方針をとつた。

対象並びに方法

i 血清

今回の調査の目的で採取した血清は21件であつて、その内容は第1表に示す通りである。すべて昭和34年以降、釧路において発生した下痢を前駆症としたいわゆる非特異性脳脊髄炎症の患者である。その内No. 6、No. 13、No. 17例はいわゆる D'evic 氏病様症状を呈した重症例で視束、脊髄の高度の病変を思わせる例である。他は脊髄、末梢神経に主病変のあるものであり、No. 12は脊髄、末梢神経障害の他に、軽い視束症状があり、眼底に視神経萎縮の像のある例である。

2 抗原

Enteroviruses : Poliovirus はI型は Mahoney 株、II型は MEF1 株、III型は Saukett 株である。中和試験には HeLa S3 細胞を使用した。

Coxsackie viruses はA群として7型、9型、23型、B群として2型、3型、4型、5型を使用した。このうちA7株は当研究所において HeLa S3 細胞、A9株は FL17 細胞、A23株は FL17 細胞にそれぞれ馴化されており、中和試験にはこれらの細胞を使用した。B群の4株は HeLa S3 細胞を用いて中和試験を行つた。

ECHO viruses は2型、4型、6型、16型株を使用し、FL17 細胞を用いて中和試験を行つた。

Coxsackie および ECHO viruses の抗原株は全部 Prototype strain を使用した。

Respiratory viruses : Adeno virus としては2、3、7型を用いた。この内2型は昭和37年の北海道における伝染病流行予測事業調査の際、健康者の糞便から分離された株であつて、東京大学伝染病研究所試験製造室の型決め用アデノウイルス免疫血清⁴⁾によつて同定された。

Influenza virus はA2型としては昭和34年にわれわれが分離した⁵⁾ A2/小樽/1/59株、B型としてはB/世田谷/3/56株を抗原に用いた。

HVJ は山田らが昭和29年に小樽市に発生した無菌性髄膜炎の患者から分離した安井株を用いた⁶⁾、Mumps ウィルスは Enders 株を抗原として HVJ と共に HI test を行つた。

Arbo viruses : B群の日本脳炎ウィルスを抗原とした。使用した株は昭和10年に分離した中山株と昭和34年に分離した JaGA-r-01 株であつて、両方共国立予研ウイルスリケツチア部ウイルス第4室で調整され、凍結乾燥された株である。

3 中和試験

Enteroviruses および Adenoviruses に対する中和抗体の測定は先に弱毒生ポリオウイルスワクチン研究協議会がワクチン投与のウイルス学的、免疫学的検討を行つた際の術式⁷⁾で現在ポリオの流行予測事業にそのまま使用されているものを使用した。ただし使用した細胞は前述のごとく抗原ウイルスに最も感受性の高い細胞があるいはウイルスの馴化に用いられた細胞である。また血清希釈は1:4、1:16、1:64の3段階を用いた。

4 赤血球凝集抑制試験 (HI test)

Influenza, HVJ, Mumps の HI test は衛生検査指針に示されている方法⁸⁾に準じたが赤血球浮遊液は希釈血清に抗原を加え、その後一夜放置してから加えた⁹⁾。

第1表 採血者の既往歴

No.	氏名	性	年齢	発病月日	腹部症状の有無	疾患	経過	後遺症の有無
1	山崎 洵子	♀	19	39.7.4	(+)下痢, 腹痛	視束脊髄炎型	不良	⊕視力障害, 歩行不能
2	馬場 タミ	♀	67	39.6.15	〃	脊髄炎型	良	⊕シビレ感, 歩行障害
3	荒木 正一	♂	59	37.7.末	〃	〃	不良	⊕歩行障害, シビレ感
4	長瀬 由紀子	♀	23	37.10.5	(+)腹痛	〃	良好	⊕シビレ感
5	石塚 キヨ	♀	51	39.2.20	(+)下痢, 腹痛	〃	〃	⊕シビレ感, 歩行障害
6	高岡 トシ	♀	42	39.6.6	(+)腹痛	〃	良好	⊕シビレ感
7	渡辺 忠	♂	46	36.8.初	(+)下痢, 腹痛	〃	〃	〃
8	高木 義男	♂	55	38.12.8	〃	〃	〃	(-)殆んどなし
9	佐久間 光枝	♀	48	39.5.25	(+)腹痛	〃	〃	⊕シビレ感
10	山本 まり子	♀	44	39.5.18	〃	〃	不良	死亡(胃癌)
11	金森 格治	♂	62	36.8.初	〃	〃	良好	⊕シビレ感
12	清水 政身	♂	47	36.10.20	〃	脊髄炎型+球後視神経炎	〃	〃
13	桑原 ミヨ子	♀	26	36.10.7	〃	視束脊髄炎型	不良	⊕盲, 歩行不能
14	織田 タツ	♀	60	37.9.24	〃	脊髄炎型	〃	⊕歩行障害
15	八島 ヨシエ	♀	66	37.8.2	(+)下痢, 腹痛	〃	〃	⊕シビレ感, 歩行障害
16	白戸 ミドリ	♀	27	38.9.8	(+)腹痛	〃	良好	⊕シビレ感
17	本田 孝二	♂	34	36.8.12	〃	視束脊髄炎型	不良	⊕視力障害, 歩行障害, シビレ感
18	山谷 千代吉	♂	59	38.6.10	〃	脊髄炎型	良好	⊕シビレ感
19	桂川 文子	♀	25	37.5.初	(+)下痢, 腹痛	〃	〃	〃
20	福田 リセ	♀	57	39.5.5	〃	〃	〃	〃
21	五味 ワカ	♀	53	34.5.27	〃	〃	不良	⊕歩行不能, シビレ感

Arbo viruses の HI test は国立予研ウイルスリケツチア部ウイルス第4室編集・発行の「日本脳炎ウイルスの血球凝集反応及び血清診断のための血球凝集抑制反応の新しい方法について」¹⁰⁾に従った。被検血清の nonspecific inhibitor はカオリンを用いて除去した。

なお陽性対照血清として昭和37年に岩手県に発生した日本脳炎の患者血清を用いた。

実験結果

1 Enteroviruses の中和抗体

既に述べたごとく今回の調査は患者血清について過去の感染を推定する回顧的診断法であつて、この目的のためには感染後4~20ヶ月で消失する補体結合抗体の測定よりも数年間持続するとされている中和抗体の測定が適していると考えられる¹¹⁾。

第2表は14株の Enterovirus に対する21件の血清の中和抗体価である。

一つのウイルスに対して21件の血清の大多数が特に高い抗体価を示している傾向はみられない。

Polio viruses に対してはI, II, III型共に高い抗体価保有率を示しているが、昭和38年度の伝染病流行予測事業の結果¹²⁾では20歳以上で全国から採取された血清の中和抗体価4倍以上の保有率がI型91.6% (701人中), II型

92.8% (710人中), III型89.5% (685人中)となつてのことからはほぼ同様な傾向にあると考えられる。また64倍スクリーニングでは全国平均がI型51.2% (392人中), II型51.8% (396人中), III型42.9% (328人中)であることから釧路市においてはむしろ低いと言える。

Coxsackie A群ウイルスに対する中和抗体価では7型抗体が9型および23型よりもかなり高い。Cox A7型ウイルスは古くから人にポリオ様のまひを起すウイルスとして知られており、1960年にScotlandでは33人の患者から本ウイルスが分離され、そのうち7名がまひ、1名が死亡している¹³⁾。

Coxsackie B群ウイルスでは2型が全体に高い抗体価を示し、3, 4, 5型は低い。

ECHO viruses に対しては2, 4, 6, 16型は抗体価が全体に低いか、あるいは全く保有せず、この4株のECHO viruses が過去に釧路地区に侵襲していたとは考えられない。

以上の結果から比較的抗体の保有率の高いのはCox A7型およびCox B2型であり、この二つのウイルスが過去に釧路地区に侵襲していたことは明らかであるが、これらのウイルスの人への病原性と今回の調査の対象になつた疾患群との結びつきについては今後の研究を待たなければならぬ。

第2表 Enterovirus の中和抗体価

No.	virus Type			Cox A			Cox B				ECHO			
	I	II	III	7	9	23	2	3	4	5	2	4	6	16
1	8	64	16	32	4	< 4	8	< 4	8	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
2	8	16	16	32	< 4	4	16	< 4	16	< 4	16	8	8	8
3	4	4	8	32	< 4	4	16	< 4	< 4	< 4	4	< 4	< 4	4
4	8	4	16	32	4	< 4	16	< 4	< 4	< 4	4	< 4	< 4	8
5	16	8	8	32	< 4	4	32	< 4	4	< 4	4	8	< 4	< 4
6	64	32	128	128	4	< 4	32	64	64	64	4	32	32	8
7	16	8	16	32	< 4	< 4	< 4	16	8	128	< 4	< 4	4	4
8	32	128	16	128	< 4	< 4	64	64	8	64	4	< 4	< 4	8
9	4	16	128	64	< 4	< 4	16	64	4	64	32	< 4	< 4	8
10	< 4	32	16	128	< 4	< 4	512	16	4	8	8	4	< 4	4
11	8	8	16	32	< 4	< 4	8	4	32	64	< 4	< 4	< 4	4
12	32	8	8	16	< 4	< 4	256	16	4	8	< 4	< 4	< 4	4
13	1,024	4	64	8	4	< 4	64	< 4	64	8	< 4	< 4	< 4	< 4
14	16	32	8	16	< 4	< 4	16	8	8	< 4	< 4	< 4	< 4	4
15	4	128	8	4	< 4	8	16	8	< 4	< 4	4	4	< 4	< 4
16	128	64	16	128	< 4	8	32	8	32	< 4	32	4	4	4
17	128	8	32	128	< 4	< 4	64	4	8	< 4	8	8	4	4
18	8	8	< 4	128	< 4	< 4	64	< 4	4	< 4	8	4	< 4	8
19	< 4	16	4	64	< 4	< 4	4	8	8	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
20	32	8	< 4	16	< 4	16	8	< 4	8	4	64	< 4	< 4	< 4
21	32	32	128	32	< 4	8	< 4	4	< 4	< 4	8	< 4	< 4	4

2 Respiratory Viruses の抗体

7株の Respiratory viruses と2株の Arbo viruses に対する21件の血清の抗体価は第3表に示す通りである。

Adeno virus に対する抗体価の測定は従来北海道では行われていないが、7型に対しては全く抗体が無く、われわれが分離した2型に対してのみ15名が抗体を保有することが証明された。

Influenza A 2, B, HVJ, Mumps のうち、HVJ の人への病原性については明らかではないが、他の三つのウイルスによる流行はほとんど毎年、冬から春にかけてであると考えられ、被検血清の大部分が20歳以上の成人から採取されたことから第3表にみられるような抗体価を示すのも当然と考えられる。

3 Arbo viruses の抗体

第3表にみられるように2株の Arbo virus に対する HI 抗体は全部陰性である。

日本脳炎ウイルスに対する HI 抗体は補体結合抗体よりは持続するが中和抗体よりは持続期間が短いと言われる¹⁴⁾。1948年から1952年に亘つて三浦、北岡らは北海道の各地から人および馬の血清を集めて中和試験を行った結果では釧路地区ではウイルスの撒布がなく、同地区は非流行地であるとしている¹⁵⁾。この結果はわれわれの HI test の

成績と一致するが今後は被検血清について中和抗体の測定も必要であろう。

考 察

今回報告した釧路市におけるいわゆる非特異性脳脊髄炎症の患者は昭和34年頃からみられているが、発生の時期が5月から10月にかけている点と、胃腸障害のうち特に下痢が神経症状に前駆している点から季節的な要因を前提とする消化器系の伝染性疾患が考えられる。

一方12月、1月の冬季にも患者が発生していることは前述の仮定をくつがえしている。また集中的に患者発生の認められる地区がないのみならず、同一家族内の接触感染と考えられる例もなく、胃腸障害も必発する症状でないことから感染の Agent が宿主に到達する経路の追及が不可能に近い。

日比野らは昭和37年に徳島市内に発生した40例の症例の内、接触感染と考えられる4症例を報告している¹⁶⁾。その内3例は患者と接触してからそれぞれ1ヶ月半、6ヶ月、1年後に発病している。また同一論文に記載されている山形県の発生例では3人の家族内発生を報告しているが、発病までの期間は1年および2年である。これらの症例は接触感染の可能性を示す貴重な報告であるが、1ヶ月半から

第3表 Respiratory & Arbo viruses の抗体価

No.	virus Type	Adeno			Influenza		HVJ	Mumps	Arbo	
		2	3	7	A 2	B			中	山
1		16	< 4	< 4	< 32	256	256	512	< 40	< 40
2		16	< 4	< 4	128	< 32	32	128	< 40	< 40
3		4	< 4	< 4	64	64	64	128	< 40	< 40
4		16	< 4	< 4	512	64	32	256	< 40	< 40
5		16	< 4	< 4	128	1,024	128	128	< 40	< 40
6		< 4	< 4	< 4	< 32	< 32	32	256	< 40	< 40
7		< 4	< 4	< 4	< 32	512	128	256	< 40	< 40
8		16	< 4	< 4	< 32	256	< 32	128	< 40	< 40
9		< 4	< 4	< 4	< 32	256	128	256	< 40	< 40
10		32	< 4	< 4	< 32	1,024	128	256	< 40	< 40
11		< 4	< 4	< 4	< 32	< 32	32	128	< 40	< 40
12		< 4	< 4	< 4	< 32	512	64	256	< 40	< 40
13		32	< 4	< 4	< 32	64	512	512	< 40	< 40
14		16	< 4	< 4	< 32	32	128	128	< 40	< 40
15		< 4	< 4	< 4	< 32	< 32	128	128	< 40	< 40
16		8	< 4	< 4	< 32	512	< 32	256	< 40	< 40
17		16	< 4	< 4	< 32	256	64	256	< 40	< 40
18		16	< 4	< 4	< 32	128	64	128	< 40	< 40
19		32	< 4	< 4	< 32	256	64	128	< 40	< 40
20		4	< 4	< 4	< 32	32	64	64	< 40	< 40
21		16	< 4	< 4	※NT	NT	NT	NT	< 40	< 40

注 Not tested

2年までの期間を潜伏期とみなすか、あるいはたまたま接触者が一定の期間において新たに感染したかを決定する手段は現在見当たらない。

本疾患の臨床像が本邦において従来みられなかつた特異なものであることに注目されるようになってから、わが国においてもしばしば諸外国における benign myalgic encephalitis, Iceland disease, epidemic neuromyasthenia 等と呼ばれる clinical syndrome が引用されている¹⁷⁾。現在本邦における症例と前述の syndrome とは異るとされているようであるが、諸外国の報告例には明らかに感染を疑わせる記載がある。

1953年の Washington D. C. における看護婦の集団に発生した例では Bethesda-Ballerap 群の細菌の感染と患者との間に一定の関連が認められた。これらの菌をもつて病原とは決め難いが流行の原因となつた Agent が fecal contamination によつて伝播されたことが推定された。

1955年の London における Royal Free Hospital の約300人の medical staff の罹患の際には疫学的な立場からこの疾患が case-to-case の接触によりまんえんし潜伏期は約5～6日であることが推定された。その1例ではわずか30分の接触で感染が成立したことを報告している¹⁹⁾。

これら諸外国の発生例においても病原体は依然不明であり、原因が不明である限りわが国の症例が全く諸外国の疾患群と異るとは断定出来ないと考えられる。

これらのことから一応感染性の Agent を考えて調査を始めたが細菌学的検査は患者材料について既に行われ陰性に終つているので省略した。

今回使用したウイルス株は Entero virus でまひを起すとされている株を選んだが、これらの株以外にもまひを起す株があり²⁰⁾、また従来まひの起因株でないといわれた株も今後まひを起す可能性が考えられる。しかし全部の Entero viruses に対する抗体測定は事実上不可能に近く、この点からもわれわれの行つた方法はウイルス性疾患の基本とされているウイルス分離、抗体価の推移の測定のような断定的な結果は期待出来ない。

抗原に使用した Entero virus の内 Polio virus はまひ、無菌性髄膜炎、夏かぜ、心筋炎等の原因になる²¹⁾ことは古くから知られている。Coxsackie A群のウイルスには Polio virus によるのと区別の出来ないまひを起す株として4, 7, 9, 23の4型が知られている。前述の如くA7株は HeLa S3 細胞、A9株とA23株はE17細胞に馴化されており、in vitro における血清検査が可能であつた

がA 4株はどの細胞にも馴化させることが出来なかつた。

Coxsackie B群の内、2, 3, 4, 6型はまひを起すことが知られている²²⁾。ECHO 4, 6, 9, 16型は mild paralysis あるいは脳炎を起すとされている²³⁾。

Respiratory viruses のように主として上気道の上皮細胞に感染、増殖するウイルス群が一次的に神経症状を起すとは考えられないが、これらは日常最も遭遇するウイルスである。Adeno virus の3, 7型は Acute Respiratory Disease, Pharyngoconjunctival fever, Febrile pharyngitis 等の疾患から最も多く分離されている²⁴⁾。HVJ の人への病原性については 現在疑問があるようだ²⁵⁾が過去の症例からこれらの神経系の疾患との関連も考えられる。Mumps virus が Meningoencephalitis を起すことについては古くから多くの報告がある²¹⁾。

結 論

昭和34年以降、釧路市を中心に50名のいわゆる非特異性脳脊髄炎の患者が発生した。

この疾患の本態を追究する調査が始められた昭和39年からはほとんど患者の発生がなく、病原体の分離は不可能であつたので21名の過去の患者から採血し、血清抗体の保有状態から病原体を推定することにした。

14株の Entero virus について中和抗体を測定したが Coxsackie A 7株と Coxsackie B 2株に対する抗体保有状態が比較的高かつた。Polio virus に対しては全国平均とほぼ同じであり、Coxsackie A 9, A23, B 3, B 4, B 5および ECHO 2, 4, 6, 16株に対する抗体保有率は低かつた。

7株の Respiratory virus について抗体測定を行つたが Influenza A 2, B, HVJ, Mumps に対する HI 抗体保有状態も本疾患との関連がなく、Adeno 3, 7型に対する中和抗体は全くなかつた。

日本脳炎ウイルスの中山株, JaGAR-01 株に対する HI 抗体は全部陰性であつた。

文 献

- 1) 伊東弓多果, 佐藤直正, 西村正義, 古川博: 臨床神経学, 第4, 47~52, 昭39.
- 2) 租父江逸郎, 安藤一也: 日本医事新報 (2116号), 3~9, 昭39.
- 3) 高崎浩: 日本医事新報 (1935号), 115, 昭36.
- 4) Seijiro Uchida et al: Jap. J. Exp. Med. 29, 121~129, 1959.
- 5) 桜田教夫, 奥原広治, 飯田広夫: 北海道立衛生研究所報, 第11集, 39~42, 昭35.
- 6) 山田守英, 市橋保雄: 小児科臨床, 7, 1954.
- 7) 弱毒生ポリオウイルスワクチン協議会: 生ワクチン授与のウイルス学的, 免疫学的検討, 1962.

- 8) 厚生省編纂: 衛生検査指針, I (VII), 1957.
- 9) 桜田教夫, 奥原広治, 佐藤七七郎, 飯田広夫: 北海道立衛生研究所報, 第13集, 21~25.
- 10) 国立予防衛生研究所ウイルスリケツチア部ウイルス第4室: 日本脳炎ウイルスの血球凝集反応及び血清診断のための血球凝集抑制反応の新しい方法について, 1962年7月改訂, 第2版.
- 11) John R. Paul and Joseph L. Melnick: Diagnostic Procedures for Virus and Rickettsial Diseases, 2nd Edition.
- 12) 厚生省公衆衛生局防疫課: 昭和38年度伝染病流行予測事業結果報告 (中間報告).
- 13) N. R. Crist: The Lancet. 1, 1054, 1960.
- 14) 大谷明: 日本臨床, 18: 113~116, 1960.
- 15) 三浦悌二, 北岡正見: ウイルス, 5, 62~73, 1955.
- 16) 日比野勝, 日比野敏行: 日本医事新報 (2059号), 18~24, 昭38.
- 17) E. D. Acheson: Amer. Jr. Med. 26, 569~595, 1959.
- 18) Alexis Shelokov et al: New England J. Med. 257, 345~355, 1957.
- 19) Dennis Geffen et al: Brit Med. J. 2, 895~906, 1957.
- 20) Sidney Kibrick: Progr. med. Virol., 6, 27~70, 1964.
- 21) A. J. Beale: Textbook of Virology 4th Edition. 1962.
- 22) Hildegard Plager: Ann. N. Y. Acad. Sci. 101, Article. 2, 390~397, 1962.
- 23) F. O. Mac Callum: Virus and Rickettsial Diseases of Man. 3rd Ed. 1961.
- 24) J. van der Veen: Am. Rev. Respiratory Dis. 88, Part 2, 167~180, 1963.
- 25) 川喜田愛郎ほか: 日本医事新報 (1943号), 24~34, 1961.

9 On the Serological Study of Nonspecific Encephalo-Myelopathy Found at Kushiro District, Hokkaido.

Norio Sakurada, Hiroji Okuhara (Hokkaido Institute of Public Health)
Yutaka Ito (Kushiro Municipal Hospital)

For the purpose of pursuing an etiological agent of peculiar disease spreading at Kushiro district since 1958, twenty one sera were collected at Kushiro Municipal Hospital from patients suffered from so called nonspecific encephalo-myelopathy previously.

Antibody levels against 14 enteroviruses, 7 respiratory viruses and 2 Arbo viruses were measured by neutralization test or heamagglutination-inhibition test.

Though most patients had high titer of Coxsackie A 9 and Coxsackie B 2 antibodies, definite conclusion as etiological agents could not be drawn from these results.

Respiratory viruses and Arbo viruses were not involved in the etiological role of this disease.