

SMONにおけるECHO 21型ウイルスの役割

新宮正久（久留米大学医学部ウイルス学講座）

I 緒 言

SMONの病因に関しては中毒説，アレルギー説，代謝障害説，ビタミン欠乏説，感染説があるが，次のような理由から感染性因子特にウイルスの存在が最も考えられる。

- 1) 月別発生をみると6月から9月にかけて患者が多発するということ。
- 2) 流行地があるということ。しかも，この流行は3～4年で終わり，他地区に移るということ。
- 3) 医療関係者に患者が多いということ。
- 4) 浸染度前進現象がみられることがあるということ。⁽¹⁾
- 5) 家族集積性が約20%にみられるということ。⁽²⁾
- 6) 家族内2次患者発生間隔が約2.5ヶ月であるということ。
- 7) 院内発生がみられることがあること。
- 8) SMON患者末梢リンパ球のPHAによるBlastoid Formationの低下がみられるということ。⁽³⁾ これはウイルス性疾患の傍証になると考えられる。
- 9) SMON患者のツペリクリン反応の陰性化がみられるということ。インフルエンザ，麻疹，ポリオ，風疹等のウイルス性疾患の際にしばしば観察される現象から，これもウイルス性疾患の傍証になると考えられる。

しかし，これがウイルス性疾患だとしても単純なる感染症とは考えがたく，むしろ，ウイルスは引き金であって免疫学的機序が発病機序に重要な役割を果すものと考えられる。

著者はSMONの病因について，次のような成績の積み重ねから，病原としてECHO 21型ウイルスを，発病機序としてはECHO 21型ウイルス初感染によるものではなく，再感染をうけた際に発病するという，いわば，特定の神経組織で起こるアレルギー反応であることを主張してきた。^{(5)～(9)}

- 1) かって，SMON患者材料からECHO 21型ウイルスを分離した。しかし，この分離率は高いものではなく，諸条件を揃えた場合でも14%の分離率であった。これは他のウイルス病に比して極めて低いものである。この分離率の低いことは発病機序から説明することができると思われる。
- 2) SMON患者血清中に発病初期，腹部症状出現後1カ月以内にIgMを主とするECHO 21型ウイルスに対する中和抗体を証明することができる。また，SMON患者の80%に神経症状発現時か

ら3ヵ月以内は高いECHO 21型ウイルスに対する補体要求性中和抗体を血清中に、あるいは髄液中に証明することができる。

- 3) 本症患者の同一症例から1カ年以上にわたり数回採血した16例の血清について、補体要求性中和抗体を測定してみると、神経症状の再燃時には補体要求性中和抗体が著明に上昇している。
- 4) SMON流行地(釧路, 室蘭, 呉), 非流行地(防府, 山口, 門司, 久留米, 大村, 宮崎, 日南)の健康人血清1800例をほぼ同時期に集め、ECHO 21型ウイルスに対する中和抗体保有状況を調査したが、本症の流行地は非流行地に比して抗体保有率が高い。
- 5) 最近、わが国住民のECHO 21型ウイルスに対する中和抗体保有率が高くなってきつつある。例えば、九州地方では1964年には40~44%であったものが、1970年には60~70%となり6年間で20~26%も抗体保有率の上昇がみられる。

本論文では、ECHO 21型ウイルス粒子と神経組織との間に共通抗原が存在すること。ECHO 21型ウイルスに対して高い抗体価を維持させることにより、サルにSMON様症状をおこさせることに成功したので、これらの成績についてのべた。

II 実験材料及び方法

モルモット：アレルギー性脳炎を起すに適切なモルモットとして白黒茶ブチのものを特に用意した。

サル：ブタオザル及び日本ザルを用いた。

ECHO 21型ウイルス：prototypeであるFarina株を用いた。

神経組織：ヒト及びカニクイザルの神経組織を用いた。

中和抗体価，補体要求性中和抗体価の測定：既報の方法に準じて行った。⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾

共通抗原を検索する手技：in vitro cell migration inhibition test及びECHO 21型ウイルス免疫血清中の抗体が神経組織乳剤に吸着するか否かを調べる方法によった。

III 実験成績

a) ECHO 21型ウイルスと神経組織との間に存在する共通抗原：

サルを用いてECHOウイルス各型の抗血清を作製する仕事が、わが国でも米国でも行なわれたが、このECHO 21型ウイルスはいずれも最も抗体価の低い抗血清しか得ることができていない。また、ECHO 21型ウイルス髄膜炎患者において、ウイルスが髄液から分離されているにもかかわらず、抗体価の上昇が認められなかったという報告も2~3みることができる。これは、ECHO 21型ウイルス粒子構成成分と生体組織のあるものが類似の抗原性を示しているために、よい抗原とはなりえないのではないかと想像される。そこで、もし、このようなウイルスに対して抗体が高力価に生体内にできたとすると、その抗体は自己の特定の組織を障害する抗体ともなると考えられる。

ヒトの神経白質組織と完全アジュバントを混合してモルモットの皮内に注射すると、約2週間後にア

アレルギー性脳炎を起こして斃れるが、その際血清中にECHO 21型ウイルスに対する補体要求性中和抗体を証明することができる。一方、モルモットにECHO 21型ウイルスと完全アジュバントを混合して免疫を行ない約3週間後に腹腔内に流動パラフィンを注入し、游出してくる腹腔内細胞を集めて、*in vitro cell migration*を行なうと、この*cell migration*はECHO 21型ウイルスの添加によって阻止されるが、ヒトの神経白質組織抽出液を与えても阻止することができる。これらの知見は、ECHO 21型ウイルスと神経白質との間に共通抗原の存在を示すものであろう。

次に体液性免疫の面から検討を加えた。ECHO 21型ウイルスで免疫したサルの免疫血清と神経組織乳剤とを混和し、37°C1時間保つたのち、残存する抗体量を中和抗体価で測定した。使用した神経組織は延髄、脊髄、大脳、小脳、交感神経、後根神経節、視神経及び髄膜である。特に脊髄については部位による抗原物質含有量の差を考慮して、脊髄を13等分して検討を加えた。脊髄特に胸髄から腰髄にかけてECHO 21型ウイルスと同一の抗原性を示すものが存在した。又、小脳及び交感神経にも存在した。一方、大脳、後根神経節、視神経、髄膜には証明しえなかった。更に脊髄組織を0.32Mと0.8Mの蔗糖液を用いて、超遠心法にて分画を試みた。このミエリン画分にECHO 21型ウイルスと共通抗原を証明することができた。

b) サルを用いたSMONの動物実験：

サルにECHO 21型ウイルスを与えて高い抗体価を維持させるべく努力した。サル6頭を用いてウイルス接種法をかえて実験を行なったが、 5×10^8 のECHO 21型ウイルスと完全アジュバントを筋肉中に注射し、3週間後より毎日 10^8 のウイルスの注射を行なった10才以上(ヒトの年齢にして30才以上)の老令のブタオザル *Macaca nemestrina*に50,000倍以上の高い補体要求性中和抗体を長期にわたり接続させることに成功した。このサルは50,000倍以上の高い抗体価を5週間持続した頃から下肢の異常を示し、約9週目には平衡感覚障害、膀胱直腸障害、軟便、大腿中央部以下の痛覚麻痺、下肢趾の冷却感が強いとみられる症状を呈してきた。これらの所見は、いずれもヒトのSMONと極めて類似する症状である。初回免疫後17週目の剖検によれば、腰髄部の側索、特に後脊髄小脳路(Flechsig)および中隔縁束(Flechsig)に薄染色性をみとめた。また、後根神経節細胞の膨化、変性萎縮を認めた。全く同一の条件下で免疫したが、抗体価が3,000倍にしか上昇しなかった日本ザルには、このような所見は認めなかった。また、免疫方法の異なった、しかも抗体価が1,000倍程度にしか上昇しなかった他の4頭のサルにも、このような所見は認められなかった。腸管の組織標本においては、小腸上部から大腸にわたる広範囲な腸管にプラズマ細胞を主とする粘膜への細胞浸潤、一部は筋層におよぶ慢性の炎症が認められた。しかし、この実験では抗体価を高く、しかも長く持続させるために 10^8 のウイルスを毎日連続して与えるという極めて不自然な操作が行われている。このため、注射部位の末梢神経組織を損傷して、これが抗原となり、このため、神経症状が出現したのではないかという危具が残る。そこでECHO 21型ウイルスをDEAEカラムクロマト超遠心法を用いて精製濃縮を行い $10^{10.5}$ TCD50のウイルスを用い、この濃縮ウイルスと完全アジュバントを混和

して体重 8.7 Kg のブタオザル (♂) に注射した。また、対照実験として ECHO 21 型ウイルスの宿主細胞である FL 細胞を同一の精製濃縮操作を行い、完全アジュバントと混合し、体重 5 Kg のブタオザル (♂) に接種した。ウイルス接種ザルは接種後 16 日目に前述のような下肢麻痺が出現したため、剖検を行なったが、前述の病理所見と同様の脊髄の後脊髄小脳路 (Flechsig) の異染色性、脊髄神経節細胞の膨化、変性萎縮がみられ、小腸および大腸における粘膜脱落、プラズマ細胞浸潤、肉芽形成等が認められた。一方、対照の FL 細胞接種ザルには異常を認めず、接種後 56 日目に剖検したが、病理組織学的にも変化を認めなかった。

一方、発症したサル血清について ECHO 21 型ウイルスに対する中和抗体と補体要求性中和抗体を測定したが、極めて高い補体要求性中和抗体を証明することができ、又、中和抗体価より 8 倍以上も高いことから、SMON 患者にみられた血清学的特長と一致した。

IV 総括並びに考按

SMON の病因について、キノホルム中毒説が注目されているが、次にあげる点については説明がなお必要であると考えられる。

- 1) SMON 流行地があり、しかも、この流行地では 3~4 年で非流行地となること、これは釧路、徳島、室蘭、大牟田等ですでに経験済みである。もしキノホルムに原因があるとすれば、その薬剤を好んで投与する医師は更につづけて投薬するために、常に患者が多発せねばならない。
- 2) SMON 患者は男性より女性に多くみられるということ。橋本氏病、リウマチ性関節炎や紅斑性狼瘡のような自己免疫疾患では男性より女性に多いことが知られていることから、これらの疾患と同じ発病機序が最も考え易い。
- 3) SMON 患者の既往歴に虫垂切除が多いこと。虫垂切除者は正常人すなわち非切除者に比して 8 倍も SMON にかかり易いといわれている。これは虫垂が I g M 抗体産生に関与した中樞リンパ組織であるという花岡博士⁽¹²⁾の研究と考え合わせると SMON の発病機序に抗体産生の異常をもたらす条件や、免疫学的発病機序を考えねばならない。
- 4) すでに国体開催地や水害罹災地においてキノホルム製剤が県衛生部で一括購入されてブランケット投与が広く行なわれてきているが、何故 SMON 発生の多発地にならないのであろうか。
- 5) 外国でのキノホルム中毒の症例、例えば Lancet にみられる Berggren 等⁽¹³⁾、Etheridge 等⁽¹⁴⁾の acrodermatitis enteropathica に用いられた中毒例はわが国の SMON と同一疾患とはとても考えられない。
- 6) キノホルムの動物実験といわれている例の大多数はヒトに適用できない程の大量の薬剤が、しかも経口投与以外の方法でなされている。

キノホルムは古くから広く用いられている薬剤であり、もしこの副作用が問題となるとすれば、この薬剤の神経毒性が症状を修飾しているにすぎないのではないだろうか。

むしろ従来問題にならなかったものが最近問題になったことは、キノホルムの副作用を増加させている生体側にこそ問題があるとも考えられる。すでに本邦におけるECHO 21型ウイルスの浸淫は近年、特に広範囲にしかも高度になっており、このウイルスに対する補体要求性抗体は脊髄及び交感神経の神経白質ことにミエリンに対する抗体となることを細胞性免疫と体液性免疫の両面から指摘した。

今までの研究を総括する意味でECHO 21型ウイルスのSMONにおける役割をまとめてみよう。

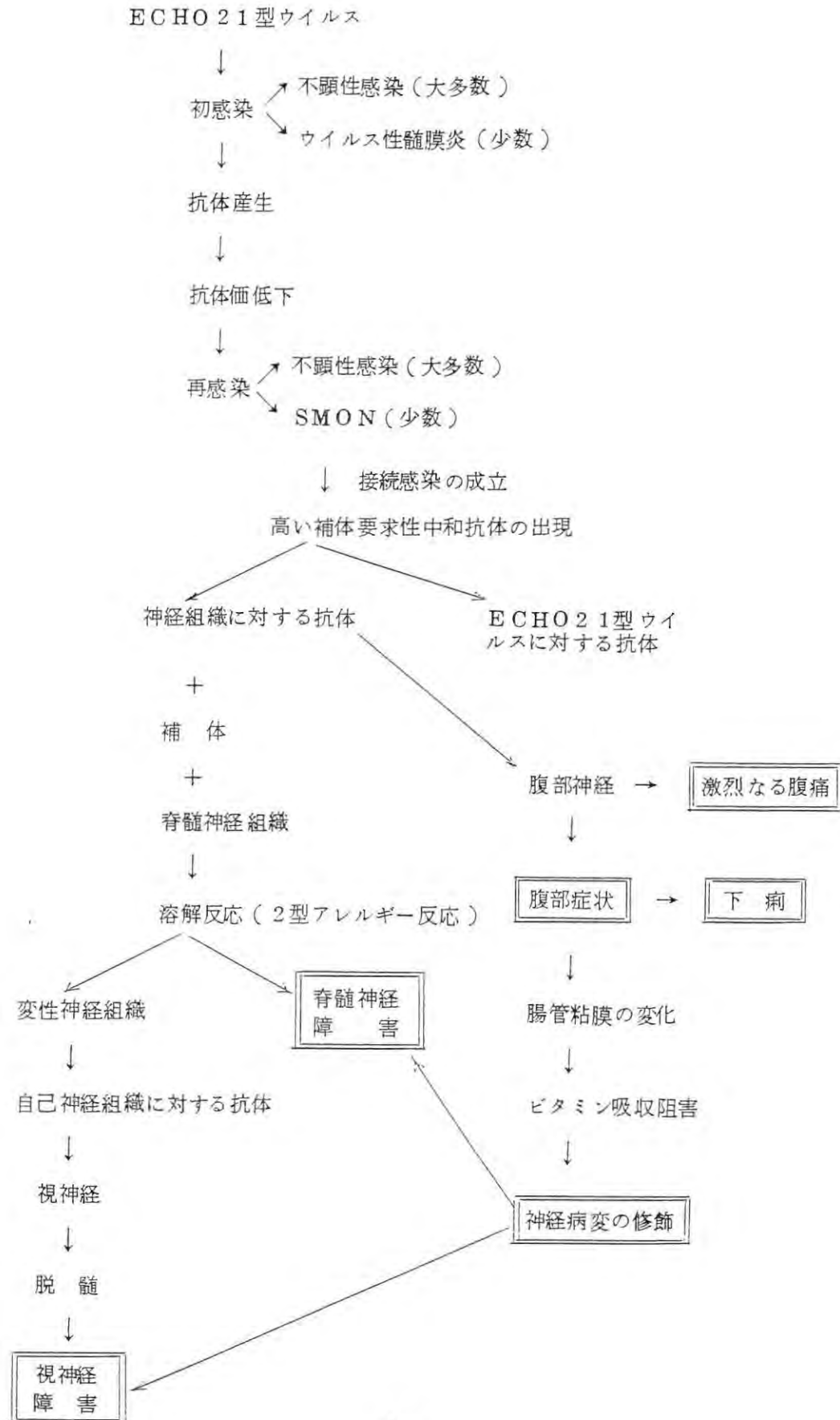
ECHO 21型ウイルスの初感染は多くの場合、幼児期からみられ、他の腸管系ウイルスに比して感染率は低いが過半数の人は30才までにこのウイルスの洗礼をうける。この際、多くの人は不顕性感染に終わり、なんら発病することなく、ECHO 21型ウイルスに対する抗体を獲得する。少数の人は、このウイルスによってウイルス性髄膜炎を起こす人もある。

しかし、いずれの場合でも抗体産生がみられる。長い年月がたち、この幼児が次第に成長するにつれ、抗体価は低下してくる。この時、再感染をうけると多くの人はbooster効果で抗体が再び上昇して不顕性感染に終わるが、特定の人は体内に残っていた抗体がウイルス増殖を許す程度であり、しかも増殖したウイルスとは完全に結合せず持続感染のような型をとった時、SMONという病像を形成するものと考えたい。

この再感染によって出現した持続感染は高い補体要求性中和抗体を出現させ、この抗体はECHO 21型ウイルスに対する抗体であるが、一方、自己の神経組織の特定部分に対する抗体ともなり、この抗体は補体の関与によって特定の神経組織を障害する。この障害はいわゆるtype2のallergic reactionによるものであろう。

腹部神経を障害すれば腹部症状を呈し、激烈なる腹痛、下痢となり、腸管粘膜の病理変化をもたらし、腸管よりのビタミン吸収障害に働けば神経病変の修飾をもたらすことも考えられるし、又異常吸収が増加すれば、キノホルムの吸収が増加することも考えられる。脊髄神経の障害は神経症状を呈し、変性神経組織はさらに抗原となり、自己免疫機序によって脊髄神経の障害を修飾し、さらには視神経の脱髄をもたらし、視神経障害にまで進展するものと考えたい。

図1 SMONの発病機序についての考え方



V 結 論

ECHO 21 型ウイルス粒子と神経組織ことにミエリン画分に共通抗原の存在を体液性免疫と細胞性免疫の両面から指摘することができた。ゆえに、ECHO 21 型ウイルスに対して高い抗体が出現することは自己の神経組織、特にミエリンを障害する抗体となると考えられる。

サルに ECHO 21 型ウイルスとアジュバントを注射し、高い補体要求性抗体を長く持続させることにより、下肢の知覚障害を伴った麻痺を起すことに成功した。又、この発症したサルの血清にみられた抗体像は SMON 患者にみられる血清学的特長と一致した。

SMON における ECHO 21 型ウイルスの役割について今迄の研究成果をまとめ、発病機序についての考察を行った。

参 考 文 献

- (1) 緒方正名，他：岡山県で発生した腹部症状を伴う非特性脳脊髄炎症（SMON）の疫学，日本公衛誌，16：687，1969
- (2) 島田宣浩，他：腹部症状を伴う脳脊髄炎症（SMON）の疫学的研究，岡山県井原市における観察，日伝染会誌，43：99，1969
- (8) 伊藤康彦，松岡幸彦：SMON 患者末梢リンパ球の PHA による Blastoid - formation，医学のあゆみ，74：163，1970
- (4) 近藤喜代太郎，椿忠雄：いわゆる腹部症状を伴う脳脊髄炎症と虫垂切除，臨床神経学，8：143，1968
- (5) 新宮正久，他：腹部症状に続発する脊髄炎の病原に関する研究，日伝染会誌，39：139，1965
- (6) 新宮正久：腹部症状に続発する脊髄炎の発病機序に関する研究，日伝染会誌，39：442，1965
- (7) 新宮正久，他：腹部症状に続発する脊髄炎の近年増加に対する疫学的考察，日伝染会誌，40：247，1966
- (8) 新宮正久，他：腹部症状に続発する脊髄炎の血清疫学，日伝染会誌，40：454，1967
- (9) 新宮正久：SMON 病因論 SMON における ECHO 21 型ウイルスの役割り，最近医学，24：2407，1969
- (10) 野見山重之：ECHO 21 型ウイルスの基礎的性状に関する研究，久留米医誌，33：1413-1424，昭45
- (11) 田中義博：ECHO 21 型ウイルスの免疫学的性状に関する研究，久留米医誌，

33 : 1425 - 1439 , 昭45

- (12) 花岡正男：虫垂と免疫　その免疫中枢としての可能性，科学，39：574 - 581，1969
- (13) L Berggren & O.Hansson：Treating acrodermatitis enteropathica，
Lancet，I，52，1966
- (14) James E. Etheridge Jr. and G.T. Stewart：Treating acrodermatitis
enteropathica. Lancet，I，261 - 262　1966

SMON患者血清のEcho 21型ウイルス に対する補体要求性中和抗体について

原 稔，多ヶ谷 勇（予研，腸内ウイルス部）

I はじめに

久留米大の新宮博士はSMON病の原因としてEcho 21型ウイルスの再感染アレルギー説を主張している。Echo 21型ウイルス説の根拠として、分離率は低いがSMON患者からEcho 21型ウイルスを分離したこと、SMON流行地と非流行地の正常人血清のEcho 21型ウイルスに対する中和抗体保有状況調査によれば、SMON流行地は非流行地に較べてEcho 21型ウイルスの高度の侵淫を示していること等をあげている。

また、SMON患者のEcho 21型ウイルスに対する補体要求性中和抗体価は、神経症状発現からかなり期日を経たものでも中和抗体価より高く、通常この抗体価の比は8倍以上であり、これは本症の血清学的診断に役立てることが出来る。この診断基準として現在2つの条件を用いている。その1つは中和抗体価と補体要求性中和抗体価の比が8倍以上のものであり、他の1つは128倍以上の補体要求性中和抗体価を証明するものである。そこで臨床診断とこの血清学的診断を対比してみると、1つ以上の条件を満足するものは、血清採取の病日を考慮しないで集めた患者血清についてみると、SMONの診断名の場合は83%、SMON疑症では53%、その他の診断名がついている場合は24%であった。これをさらに神経症状発見3ヶ月以内に血清を採取した患者のみに限定してみると、スモンの診断名の場合は95%、スモン疑症では70%が合致を示した。この血清学的診断法はスモンの診断に役立てることが可能である。と述べている。¹⁾

私どもは例数は少ないがSMONと診断された患者血清の補体要求性中和抗体価について、可能な限り久留米大の方法に忠実に従い、厳密な意味での追試を行ったので、その結果について報告する。

II 材料及び方法

患者血清はいずれも岡山県のもので、患者の年齢、性別、発病及び採血年月日については〔表〕に記載したとおりで、井原地区から7名、うち2名は2回採血の計9血清、湯原地区から5名、うち1名は2回採血で計6血清の合計12名の15血清で、神経症状発現から採血までの期間は短いもので2ヶ月、長いものでは23ヶ月であった。

使用したウイルス及び細胞はいずれも久留米大より分与を受けたもので、ウイルスは標準Echo 21

型 Farina P-10 株，細胞は FL 細胞 HS 株である。培養液は久留米大処方による FL 細胞 HS 株のための組織培養液（増殖用として 10% 仔牛血清加 Melnick-Hanks 液，維持用として重曹を除いた 1% スキムミルク加 Melnick-Earle 液）を使用した。

補体要求性中和抗体の測定法も大略久留米大の方法〔血清 0.4 ml を 4 倍希釈し 56°C 30 分非動化後，4 倍段階で 1024 倍まで希釈し，各段階希釈液を 0.5 ml ずつ 2 本の tube に分注し（原法では 0.6 ml ずつ分注とあるが，1.2 ml から 0.6 ml ずつ 2 本はとれない）一列を対照列，一列を補体例とし，対照列には Mg^{++} 食塩水 0.25 ml（原法では 0.3 ml）を各 tube に加え，補体列にはあらかじめ nonspecific inhibitor の含まれていないことを確めた新鮮モルモット血清を 10 倍に Mg^{++} 食塩水で希釈したものを 0.25 ml（原法では 0.3 ml）加える。更にウイルス液（0.1 ml に 200 TCD₅₀ ウイルス含有）を 0.25 ml（原法では 0.3 ml）ずつそれぞれの tube に加えてよく混和し，37°C 1 時間保ち，その 0.8 ml をとり，0.2 ml ずつ 4 本の FL tube に接種する。対照ウイルス液はまず 2 倍に希釈し，これを原液として 10¹ より 10⁴ まで希釈し，2 列の control virus titration を行う。一列は正常の FL tube で他の一列は前述の補体液を更に 2 倍に希釈し，各 tube に 0.1 ml ずつ加えたものである。0.1 ml 接種とする。FL tube は 4～5 日目に titer が 100 TCD₅₀ を示し，この時の血清の中和抗体価を 50% 中和点で判定する。〕に従った。

III 結 果

それぞれの SMON 患者血清の中和抗体価及び補体要求性中和抗体価の成績は〔表〕に記載したとおりである。

〔表〕

地区	血清番号	年令	性	発病年月日		採血年月日	神経症状発現からの月数	中和抗体価	補体要求性中和抗体価	備考
				腹部	神経					
井原	408	35	F	44. 4.12	44. 4.23	44.6.25	2	<4	8	408 と同一人
	409	〃	〃	〃	〃	44.7.23	3	<4	6	
	415	18	F	44. 6. 7		44.8.18	(2)*	<4	<4	
	442	57	F	43. 6.		44.6.20	(12)	8	16	
	451	35	F	43. 3.	43.12.17	44.6.20	6	6	8	451 と同一人
	452	〃	〃	〃	〃	44.8.20	8	6	8	
	456	50	F	44. 4.15	44. 5.22	44.8.18	3	<4	<4	
	460	62	M	44. 5.13	44. 5.18	44.8.14	3	<4	<4	
	468	27	F	43.11.20	44. 1.29	44.6.20	6	<4	8	
湯原	517	23	F	45. 3.		45.6.	(3)	<4	8	530 と同一人
	518	24	M	44.10. 3	44.10. 3	45.6.	9	<4	<4	
	530	31	M	45. 4.		45.8.	(4)	<4	<4	
	544	〃	〃	〃		45.9.	(5)	<4	<4	
	535	44	F	43. 8.30	43. 9.21	45.8.	23	32	128	
	551	71	F	44. 8.22	44. 9.23	45.9.	12	<4	8	

* カッコ内は腹部症状発現からの月数

中和抗体価では4倍以上抗体保有者は12名中3名(25%)で、最高32倍であり、9名は4倍以下を示した。

補体要求性中和抗体価では4倍以上抗体保有者は12名中7名(58%)で、最高128倍を示し、補体要求性中和抗体価の方が中和抗体価よりやや高い値を示したものが7名あったが、その差は最高が4倍で殆んどは2倍前後であり8倍以上のひらきのあるものはなかった。残る5名(42%)は中和抗体価も補体要求性中和抗体価もともに4倍以下で、そのうち3名(血清番号408, 456, 460)は神経症状発現から3ヶ月以内の血清であった。同一患者で2回採血(間隔1~2ヶ月)した3組の血清では、採血時期による抗体価の差は認められなかった。

IV 考察ならびにまとめ

以上の結果を新宮博士のSMON診断基準の条件に当てはめてみると、第1の中和抗体価と補体要求性中和抗体価の比が8倍以上という例は1例もなく、第2の128倍以上の補体要求性中和抗体価を証明するものは、12例中1例のおずか8.3%であった。このように、臨床診断と血清学的診断と対比して、1つ以上の条件を満足するものは、血清採取の病日を考慮しないで集めた患者血清についてみると、SMONの診断名の場合は83%が合致するという新宮博士の成績を肯定することは出来なかった。

また、中和抗体価のみについてみても、私どもの調べた血清は数は少いがすべてSMON流行地の患者のものであるという点から考えて、新宮博士の述べている、SMON流行地の正常人血清の4倍以上の抗体保有率(例えば釧路9.7%, 呉8.7%)は異常に高いと考えざるをえない。²⁾

なお、本実験に用いたFarina P-10株、FL細胞HS株の系を使って、WHO標準馬血清の中和抗体価を測定した結果は8,090倍であった。私どもがMK継代したFarina MK-30株でMK細胞で測定した標準血清の中和抗体価は10,240倍、血清番号535についての価は64倍を示し、Farina P-10株、FL細胞HS株の系で行った場合とほぼ等しい成績がえられた。

文 献

- 1) 新宮正久; 病因論— SMONにおけるEcho21型ウイルスの役割, 最新医学24, 2407-2411, 1969
- 2) 新宮正久, 他; 腹部症状に続発する脊髄炎の血清疫学, 日本伝染病学会誌 40, 454-459, 1967

スモン患者の Echo 21 型ウイルス に対する補体要求性中和抗体について

上田重晴 高橋理明 奥野良臣(阪大微研)

I はじめに

久留米医大の新宮博士はスモン病の原因として Echo 21 型ウイルスの再感染アレルギー説を主張して居り、その中でスモン患者の 80% は神経症状発現時から 3 ヶ月以内では Echo 21 型ウイルスに対し高い補体要求性中和抗体価を示し、中和抗体価に比し 8 倍以上高い値を示すことを報告している。私共は北大阪地区の大手前病院、新千里病院からスモン患者血清の提供を受け、Echo 21 型ウイルスに対する中和抗体価及び補体要求性中和抗体価を測定したので報告する。

II 実験材料及び方法

1. ウイルス

大阪府立公衆衛生研究所より分与を受けた Echo 21 型ウイルスを用いた。同ウイルスは健康児糞便よりカニクイ猿腎細胞を用いて分離、同定され、FL細胞で数代継代されたものである。ウイルス液の FL細胞での感染価は $10^{7.5}$ TCID₅₀/0.1 ml であった。

2. 細胞

当研究室に於てクローニングした Echo 21 型ウイルスに良好な感受性を示す FL細胞 H 2 株を用いた。10% 仔牛血清 (CS) 加 Eagle's MEM (E-MEM) に浮遊させた 15×10^4 コ/ml の細胞を 1 ml づつ 13 mm × 90 mm の tube に分散し 2 日後に使用した。

3. ウイルス希釈液

最終濃度 0.5% ゲラチン加 Dulbecco's PBS(-) (pH 7.0) を用いた。

4. 患者血清希釈液

E-MEM (pH 7.0) を用いた。

5. 補体

新鮮モルモット血清 (10 匹の血清をプールした) を Mg⁺⁺ 食塩水で 10 倍に希釈したものを補体として用いた。補体は中和反応に用いる前に nonspecific inhibitor の含まれていないことを確かめた。

6. 患者血清

患者血清はE. MEMで4倍に希釈し, 56°C 30分加熱, 非動化したのち中和反応に用いた。

7. 中和反応

1.2 mlのE. MEMを入れた tubeの中で前述の4倍希釈患者血清0.4 mlを移す方法で4倍段階希釈し, それを0.6 mlづつ2列の tubeに分けた。1列を対照列, 他の1列を補体列とし, 対照列にはMg⁺⁺食塩水0.3 mlを, 補体列には補体0.3 mlを加えた。次にウイルス液(200 TCID₅₀/0.1 ml)を0.3 mlづつ両列の tubeに加えよく振とう混和したのち, 37°Cに1時間保った。ついで各希釈について0.2 mlづつ各列4本づつのFL tubeに接種し, 37°C 1時間ウイルス吸着処理後2% CS加E. MEMを1 mlづつ加えて37°Cに incubateしCPEの出現を待った。

中和反応に用いたウイルス液は0.5%ゲラチン加PBS(-)を用いて2倍に希釈し, これを原液として10¹より10⁴まで希釈し, 2列の challenge virus titration を行い実際の感染価を測定した。1列は対照でMg⁺⁺食塩水0.1 mlづつを加えたFL tubeであり, 他の1列は前述の補体をMg⁺⁺食塩水で更に2倍希釈したものを0.1 mlづつ加えたFL tubeである。challenge virus は各希釈について0.1 mlづつ接種した。4~5日間37°Cにて incubateした後, challenge virusの titerが100 TCID₅₀を示した時に被験血清の中和抗体価を50%中和点で測定した。

III 成績

別表の通りである。

表 スモン患者血清のEcho 21ウイルス中和抗体価

番号	年齢	性	発症年月日	採血年月日	中和抗体価	補体要求性 中和抗体価
* 1.	32	F	44. 7. 6	44.11. 9	16	16
* 2.	61	F	44. 9.	44.11. 9	4	4
* 3.	22	F	44. 8.	44.11. 9	4	4
* 4.	56	M	44. 9.	〃	<4	<4
* 5.	31	F	44. 8.	〃	16	16
* 6.	49	F	44. 8.	〃	4	4
* 7.	27	F	44. 8.25	〃	64	256
* 8.	75	M	44. 9.	〃	16	16
* 9.	27	M	44. 9.	〃	16	16
* 10.	20	F	44. 5.	〃	<4	<4
* 11.	35	F	44. 9.	44.12.25	<4	<4

	年齢	性	発症年月日	採血年月日	中和抗体価	補体要求性 中和抗体価
*12.	42	F	44.10	44.12.25	16	16
13.	46	F	44. 1.	44.11. 9	16	16
14.	23	F	43. 7.	//	16	64
15.	38	F	44. 4.	//	4	4
16.	38	F	44. 1.	//	64	64
17.	59	F	43.11.	//	4	16
18.	60	F	43.10.	//	16	16
19.	42	F	43.12.	//	16	16
20.	36	M	41. 2.	44.11. 9	16	16
21.	47	F	42. 5.	//	64	64
22.	63	F	39. 7.	44.12.25	<4	4
23.	50	F	43. 3.	//	<4	4
24.	65	F	44. 3.	//	<4	<4
25.	45	M	41.10.	//	4	16
26.	58	F	41. 4.	//	16	16
27.	59	F	40. 8.	//	4	4
28.	34	M	43. 9.	//	64	64
29.	63	M	40.10.	//	64	64
30.	48	F	42. 5.	//	4	16
31.	22	F	43. 6.	//	<4	<4
32.	81	M	40.	45. 1.28	<4	<4
33.	39	F	41. 4.	45. 3.25	4	4
34.	65	F	39.	45. 3.25	4	4
35.	63	F	43. 7.	//	16	16
36.	38	F	42. 7.	//	4	4

* 1～12は神経症状発現から3ヶ月以内に採血したもの

IV 考 察

我々の成績では神経症状発現後3ヶ月以内の患者血清12例を含めてスモン患者血清36例中、補体要求性中和抗体価が中和抗体価に比し8倍以上上昇した例は1例も見出せなかった。又特に高い補体要

求性性中和抗体価も見出せなかった。中和反応に用いたmedium, ウイルス株等は新宮博士のものとは異なるが, 一定量のウイルスを用いての中和反応としてはウイルス学の常法に従ったものである。これらの結果からスモンの原因がEcho 21型ウイルスに特に起因していることは考え難い。

V 結 び

スモン患者36例の血清についてEcho 21型ウイルスに対する中和抗体価及び補体要求性中和抗体価をしらべた。中和抗体価は1: < 4 ~ 1: 64, 補体要求性中和抗体価は1: < 4 ~ 1: 256であり, 補体要求性中和抗体価; 中和抗体価の値は4倍のもの4例, 8倍以上のものはなかった。患者の中, 神経症状発現より3ヶ月以内が明瞭な者12名中, 同上比が4倍上昇したもの1名のみで他は上昇はみられなかった。

文 献

新宮正久, 宇野克彦, 中川 洋: 腹部症状を伴う脳脊髄炎症 (SMON) の免疫学的診断法, 第17回 日本ウイルス学会総会演説抄録

SMON患者血清のエンテロウイルス抗体 保有状況の調査研究

(昭和44-45年度成績のまとめ)

多ヶ谷 勇 (国立予防衛生研究所)

I はじめに

SMON研究協議会病原班の研究活動の一部として、既知の病原ウイルスがSMONの症状発現に何らかの関係がありそうか、またはそのような可能性を否定し得るかを明らかにする必要があることが議論されて来た。このような研究の手はじめとして、エンテロウイルスのいくつかの型に対する中和抗体保有状況を、SMON患者血清および健康人血清について比較検討することとなり、6研究機関の共同研究がなされた。参加機関及び責任者は下に示す通りであった。

北海道衛生研究所	飯 田 広 夫
宮城県衛生研究所	今 野 二 郎
国立予防衛生研究所	中 野 稔
千葉県衛生研究所	芦 原 義 守
受知県衛生研究所	山 田 不 二 造
大阪府公衆衛生研究所	国 田 信 治

II 材料並に方法

SMON患者血清は1968年、1969年に岡山県の湯原、井原両地区で採血されたもので、予研ウイルス中央検査部に凍結保管されていたものである。血清量が限られていることと、出来るだけ多くのウイルスに対して同じ血清の抗体価を測定したいとの要望から、5検体ずつの血清をプールして、湯原地区血清6プール(1969年春採血)、井原地区11プール(1968年春および1969年秋採血)について抗体測定が行われた。健康人血清としては、各機関で手持ちの、あるいは採血し得るもので、SMON患者と年齢、性別など出来るだけ同じ条件のものを、5検体ずつのプールを作って抗体測定を行うことが決められた。

使用ウイルスおよび対応するWHO標準馬血清(約200単位/0.1 mlに希釈されたもの)は予研腸内ウイルス部から分与された。200単位の希釈血清をつくるための希釈倍数はWHOの記載^{1~3)}による抗体価から計算して定められたがエコー33型血清のみはWHOの記載が発表されていないので予研腸内ウイルス部で得られた抗体価から計算された。(表1)

表1 WHO標準血清の中和抗体価

標準血清 ウイルス型	W H O 〔共同研究機関の値の幾何平均値〕	予研腸内ウイルス部
CA 7	10,000 (100)	7,100 (36)
CA 9	7,300 (108)	5,700 (200)
CB 1	33,200 (200)	7,100 (340)
CB 2	12,700 (143)	2,500 (320)
CB 3	4,400 (113)	8,000 (32)
CB 4	26,500 (76)	2,900 (54)
CB 5	40,000 (166)	30,000 (100)
CB 6	65,400 (112)	82,600 (55)
Echo 1	12,500 (85)	13,000 (110)
Echo 4	930 (163)	790 (320)
Echo 6	17,200 (96)	41,000 (40)
Echo 7	17,200 (181)	22,000 (310)
Echo 9	8,910 (102)	8,600 (61)
Echo 12	26,260 (119)	33,000 (145)
Echo 14	2,700 (215)	520 (200)*
		5,880 (180)**
Echo 16	11,400 (136)	5,600 (180)
Echo 25	2,060 (68)	5,120 (68)
Echo 33		40,950 (215)

()は中和に用いられたウイルス量(TCI D₅₀)を示す。

* 濾過しないウイルス ** ミリポアフィルターで濾過したウイルス

研究機関のコードをA, B, C, D, E, Fとし, (A, B), (C, D), (E, F)の3群に分け, 同一群の2機関は同じプール血清を二重に測定するように調整された。今回用いたウイルス型は18の血清型で, 下に示すように5ウイルス群(IからVまで)に分けて, 各研究機関群に割り当てられた。

ウイルス群	ウイルス血清型
I	CA 9 , CB 1 , CB 2 , CB 3
II	CB 4 , CB 5 , E 4 , E 6
III	E 7 , E 9 , E 1 2 , E 2 5
IV	CA 7 , CB 6 , E 1
V	E 1 4 , E 1 6 , E 3 3

註 CA:コクサツキーAウイルス, CB:コクサツキーBウイルス, E:エコーウイルス
 ウイルスはE 4 (Du Toit 株), CA 7 (ABN株)以外はすべて prototype が用いられた。E 1 4 は中和に先立ち, ミリポアフィルターで濾過したものが用いられた。

研究機関群	A, B			C, D			E, F		
ウイルス群	I	IV	V	II	IV	V	III	IV	V
被検血清	2	1	6	2	9	4	4	5	19
プール番号	3		15	3	16		5	18	
	6			7			7		
	14			8			10		
	17			9			13		

患者血清プールは56°30分非働化したのち4倍に希釈されたものが各機関に配られ, 各機関ではそれから更に4倍階段希釈列を作り, 約100 TCID₅₀/0.1 mlのウイルス液と等量混合, 37°に2時間置いた後にサル腎初代細胞培養に接種した。血清の1希釈あたり4本の細胞培養試験管を用いて0.2 mlずつ接種, 7日間観察した。ウイルス接種細胞の維持には0.5%ラクトアルブミン水解物加アール液(重炭酸ナトリウム0.22%)を用いた。ウイルス, 血清の希釈もこの液を用いて行った。7日後またはウイルス対照が約100 TCID₅₀を示した時に判定が行われ50%中和血清希釈終末価の計算が為された。

III 結 果

(a) 標準血清中和抗体価測定の結果

表2に各機関から報告された抗体価をまとめて示してある。概ね予想された200倍前後の値が得られているが, 機関Aでは4種の血清で中和抗体価が得られず, 2種の血清で中和終末価が得られなかった。これは用いた血清希釈列の幅がせまかったことと, 攻撃ウイルスが多すぎたことが原因であろう。機関Bでは1種の血清で中和終末価が得られず, 2種の血清が中和抗体価を示さなかったが, そのうちの抗Echo 16血清については, 機関Fでも同様の結果が示された。機関Fでは3種の血清で中和終末価が得られなかった。機関C, D, Eでは, このような結果は認められず, すべての血清について中和抗

体価が示された。以上述べたような例外的な場合を除けば、各機関で得られた抗体価は比較的よく一致していた。

表2 各機関により測定された希釈WHO標準血清(200単位)の中和抗体価

標準血清 ウイルス型		機			関		
		A	B	C	D	E	F
CA	7	>800 (562)	59 (450)	220 (32)	171 (50)	400 (32)	>512 (502)
CA	9	<50 (178)	159 (170)				
CB	1	40 (100)	118 (316)				
CB	2	>800 (56)	≤59 (1000)				
CB	3	<50 (1000)	200 (100)				
CB	4			43 (32)	242 (100)		
CB	5			330 (250)	133 (75)		
CB	6	100 (>1000)	398 (32)	510 (47)	N D	86 (32)	256 (502)
Echo	1	<50 (1000)	280 (32)	159 (320)	185 (50)	154 (32)	256 (502)
Echo	4			59 (320)	308 (50)		
Echo	6			490 (320)	146 (50)		
Echo	7					200 (32)	>512 (126)
Echo	9					132 (32)	354 (759)
Echo	12					222 (32)	>512 (126)
Echo	14	50 (>1000)	≥560 (456)	490 (47)	83 (100)	400 (100)	512 (795)
Echo	16	50 (177)	≤3 (316)	74 (320)	143 (450)	222 (32)	<16 (795)
Echo	25					286 (32)	128 (502)
Echo	33	<50 (177)	≥280 (42)	71 (100)	100 (200)	200 (300)	16 (126)

()は中和に用いられたウイルス量(TCI D₅₀)を示す

ND: 実施せず。

(b) SMON患者および健康人の血清のエンテロウイルス中和抗体価

各機関より報告されたものをまとめたのが表3である。同一血清に対して同一ウイルスを用いて異なる2機関で得られた抗体価を上下に並べて載せてある。それぞれの血清型のウイルスに対する中和抗体を測定する際に、WHOの標準血清を同時に測定しているため、その時の中和ウイルス量は表1に示されたものである。結果を眺めて見られるように、大部分の血清について、異なる2機関により、ほぼ等しい中和抗体価が示されているが、時として同一ウイルスに対する同一血清の中和抗体価が10倍以上の差を示した場合もあった。中和抗体価が証明されない場合や、中和終末価の出なかった場合もあったが、一応比較の便のために、2機関で得られた同一ウイルスに対する同一血清の中和抗体価の幾何平均を出して表に並記すると同時に、SMON患者血清のそれぞれのウイルスに対する中和抗体価の幾何平均値を表に示した。SMON患者血清で特に何らかの特定のウイルス型に対して異常に高い中和抗体を含むものは見られなかった。健康人血清は機関B、Dで、それぞれ2プールずつが測定されたのみで、広く全般的な傾向をうかがうことが出来ないが、概してSMON患者血清より中和抗体価が高いようであった。これは、あるいはSMON患者ではステロイドホルモンが治療に用いられることもあることと関係があるかも知れないが、健康人血清の検査例数が少ないので何とも云えない。機関Eでも9人の健康人血清の中和抗体測定が為されたが、個別別に測定がなされ、且つ中和終末価の得られていないものもあったので、集計からはずされた。

以上の結果から、しらべられた18の血清型については、SMON患者血清で特に異常に高い中和抗体価を有するものは見られず、直接ないしは間接の関係を示唆するような成績は得られなかった。今回しらべたウイルスは過去7年間のある時期、あるいは何年かに亘って相当多くの分離が病的材料(主として小児の疾患)から為されたものとして、CA9、CB1-5、E4、6、7、9、12、14の各ウイルスが含まれ、それ程多くはないが分離のみられたものとしてE1、25、33があり、あまり分離がみられていないウイルスとしてCA7、CB6およびE16が含まれている。近年比較的高い頻度で分離されたエンテロウイルスは今回の調査にほとんど含まれているが、これ以外のあまり分離頻度の高くないもの、あるいはわが国では未だ分離の報告のない型のウイルスに対する抗体の保有状況もしらべる必要があると思われる。なお、今回は健康人血清があまり数多くしらべられなかったが、今後この仕事を継続して行う場合には、この点の考慮も必要であろう。また標準血清の抗体価測定に際して時として見られたように、機関による大きな差の生じる原因の解明も、この種の共同研究にとっては重要なことである。

表3 スモン患者及び健康人血清のエンテロウイルス中和抗体価

ウイルス型	スモン患者血清															健康人血清					
	湯原1969					井原1968				井原1969						幾何平均	機関B		機関D		幾何平均
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	14	15	16	17		18	19	1	2	
CA 7	64 <4 (16)				8 8 (8)				32 84 (39)				40 48 (44)		8 16 (11)	19	95	32	128	32	60
CA 9		8 24 (14)	8 32 (16)		8 96 (28)					16 96 (39)					<8 16 (11)	19	128	≥181			155
CB 1		<8 9 (8)	24 24 (24)		<4 8 (6)					8 8 (8)					<8 3 (5)	9	32	16			23
CB 2		16 96 (39)	16 24 (20)		128 40 (72)					16 32 (23)			16 32 (23)			31	32	32			32
CB 3		<8 16 (11)	<8 16 (11)		<4 24 (10)					<8 24 (14)			<8 32 (16)			12	64	≥165			105
CB 4		16 32 (23)	100 48 (69)			100 64 (80)	100 72 (85)	40 32 (36)								52			>256	>256	>256
CB 5		8 12 (10)	8 18 (12)			<4 <4 (<4)	4 <4 (4)	<4 <4 (<4)								6			64	128	91
CB 6		<8 16 (11)			8 8 (8)			6 18 (10)					8 <4 (6)		16 365 (76)	13	64	40	128	>256	96
Echo 1		<8 7 (7)			<4 6 (5)			<4 16 (8)					6 32 (14)		4 6 (5)	7	24	24	128	64	47
Echo 4		4 12 (7)	8 48 (20)			8 16 (11)	16 48 (28)	10 64 (25)								16			>256	>256	>256
Echo 6		32 48 (39)	10 32 (18)			32 48 (39)	10 18 (13)	8 32 (16)								22			128	32	64
Echo 7				32 128 (64)	32 256 (91)			8 64 (23)	8 128 (32)	8 45 (19)						38					
Echo 9			20 32 (25)	4 8 (6)		20 16 (18)	8 22 (13)	32 32 (32)								16					
Echo 12			8 45 (19)	4 45 (13)		24 90 (47)	16 128 (45)	8 45 (19)								25					
Echo 14			38 128 (70)	8 3 (5)				8 8 (8)					8 16 (36)			18	64	10	>256	128	68
Echo 16			<4 4 (4)	9 <4 (6)				8 <4 (6)					16 16 (16)			7	<4	≤3	>256	>256	30
Echo 25			16 90 (38)	8 32 (16)		20 180 (60)	20 256 (72)	16 128 (45)								41					
Echo 33			8 12 (10)	8 6 (7)				8 16 (11)					6 90 (23)			12	32	95	128	128	85

A, C, E機関で得られた値は上段, B, D, F機関で得られた値は下段に, ()は2機関で得られた値の幾何平均値を示す。
中和終末価が得られていないものは, しらべられた最低または最高希釈倍数を用いて幾何平均を計算した。

文 献

- 1) Melnick, J.L. & Hampil, B.: WHO Collaborative studies on enterovirus reference antisera (1st report) Bull. Wld Hlth Org. 33, 761-772, 1965
- 2) Hampil, B. & Melnick, J.L.: idem (2nd report) ibid 38, 577-593, 1968
- 3) Melnick, J.L. & Hampil, B.: idem (3rd report) ibid (in press)

北海道におけるSMONの病原に関する研究

飯田 広夫，桜田 教夫，熊谷 満，奥原 広治，佐藤 七七郎，
上田 正義，野呂 新一（北海道立衛生研究所）

I 緒 言

北海道では昭和33年頃よりSMON患者がみられるようになった。北海道衛生部の調査によると昭和44年までに331名の患者が発生している。患者発生数のピークは昭和40年の84名であり、次は昭和41年の53名である。昭和42年以降は減少し、毎年22名の患者がみられるのみである。地区別では釧路市が最も多く、121名であり、室蘭市は89名であった。性別では人口10万対女8.5男3.9で女性に多かった。

われわれは昭和39年からSMONの病原に関する研究を始めた。最初はSMONが特定の地区に集中して発生し、夏季に比較的多く、腹部症状を伴うことから、人の腸管内に増殖するEnterovirusあるいはAdenovirusが原因ではないかと考えた。

したがってこれらのウイルスに重点をおいてウイルス分離の作業を行った。また昭和45年からは感染以外の要因を考慮して尿中のタリウム定量を行うと共に患者血清について血清蛋白分画、 γ -globulin定量、コリンエステラーゼ定量も行った。

II 実験材料および方法

ウイルス分離の目的で採取された患者材料は凍結状態で研究室に送られた。便は10%乳剤としてから、リコール、のどスワブ、尿はそのまま抗生物質を加えてから接種材料とした。ウイルス分離と血清学的検査は微生物検査必携¹⁾に準じて行った。

血清蛋白分画はセルロースアセテート膜（国産セパラックス使用）により0.0012mlの試料を塗布した。ペロナール緩衝液（pH 8.6， $\mu = 0.05$ ）を使用し、0.6 mA/cmの定電流で約40分±5泳動し、弁色乾燥後デンストメーター（OZUMOR-SD91）で波長500m μ で測定した。

γ -globulin定量はバルチゲン（Behring werke社）により規定の方法に従って実施した。

コリンエステラーゼは柴田，高橋法によった。

尿中のタリウム定量は鈴木，小南，宮本らの記載した方法に従って実施した。^{2) 3) 4)}

III 結 果

1. ウイルス分離

昭和39年から行った患者材料からのウイルス分離成績を第1表に示した。分離材料を採取した患者数は347名である。昭和41年からは患者の家族および患者の周辺の人の材料についても分離を試みた。分離材料は便とリコールが主体である。昭和42年のその他の項の47件は昭和40年にSMON研究班で行った共同研究の材料の一部であって、⁵⁾この材料については人胎児腎細胞を用いて分離を行った。

表1 ウイルス分離

年 度	対 象		分 離 材 料							細胞の種類 哺乳マウス (SM)	結 果
	患 者	接 触 者	便	剖 検	リ コ ール	血 液	の ス ワ ど ブ	尿	そ の 他		
39	7	0	6	0	0	0	1	0	0	MK, HeLa, FL, Hep2, SM	0
40	58	0	41	23	41	0	1	0	0	MK, HeLa, SM	CoxA2,1: A4,8:A10,1
41	46	54	51	7	23	3	3	1	0	MK, HeLa, FL, SM	CoxA4,2
42	42	3	33	0	38	3	1	6	47	MK, HeLa, FL, SM	CoxA4,1
43	78	83	150	0	26	0	3	5	0	FL, Vero	0
44	60	21	63	0	42	0	0	0	0	HeLa, Vero, SM	0
45	56	0	40	0	47	0	0	0	0	FL, HeLa	0
計	347	161	278	30	197	6	9	12	47		CoxA, 13株

ウイルス分離は前述のようにEnterovirusとAdenovirusに重点をおいたので、これらのウイルスに感受性のある初代さる腎細胞(MK)、哺乳マウス(SM)および各種の継代細胞を用いた。第1表にみられるようにこれらの細胞の組合せは一定せず、実験室の条件に適したものを用いた。

総件数は579件であって、昭和40年から昭和42年にかけて13株のCoxsackie A群ウイルスが分離された。

2. 血清学的検査

SMONがウイルス感染によるとすれば、既知の病原ウイルスと未知のウイルスに分けられるが、一応既知のウイルスと考え、比較的分離される頻度が高く、しかも、しばしばまひの原因となるウイルスを抗原としてSMON患者血清の中和抗体とHI抗体を測定した。仮に1つのウイルスに対して抗体保有率が高く、かつ高い抗体価の分布を示した場合にそのウイルスを病原と考える方針で行った。

昭和34年から昭和39年までに釧路市で採取された21件の患者血清について、14株のEnterovirus, Adenovirusを含む7株のRespiratory virus, 2株のArbovirusを抗原

として抗体価の測定を行った。⁶⁾ (表2)(表3)

表2 Enterovirus の中和抗体価

No.	virus Type	Polio			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	

表3 Respiratory & Arbo viruses の抗体価

No.	virus Type	Adeno			Influenza		HVJ	Mumps	Arbo	
		2	3	7	A 2	B			中山	JaGAR
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

Enterovirus 中和抗体の内, Coxsackie A7 と Coxsackie B2 に対しては比較的高い抗体保有率を示している。昭和44年から多ヶ谷らが6研究機関の共同研究により SMON 患者血清の Enterovirus 抗体保有状況をみたが, 特に上述の2株に対しては高い抗体保有率を示していない。⁷⁾したがってこの2株は血清採取時期に釧路市とその周辺に侵いんしていたと考えられる。

Respiratory virus と Adenovirus の場合は Adenovirus に対してのみ中和抗体を測定し他は全部 HI 抗体を測定した。第3表からは特に SMON に関連のあるウイルスはみられない。

昭和40年から42年に13株の Coxsackie A群ウイルスが分離されたので, この時期に採取された SMON 患者血清について, 分離株と同型の抗原を用いて補体結合抗体を測定した。(表4)

表4 SMON患者のCox A群ウイルスCF抗体保有状態

抗体価 抗原	<4	4	8	16	32	64	128	計
Cox A2	60	25	9	3	1	0	0	98
Cox A4	72	13	10	2	1	0	0	98
Cox A6	85	9	3	0	1	0	0	98
Cox A10	86	7	2	2	1	0	0	98

各抗原に対する抗体の保有率はきわめて低い。補体結合抗体は中和抗体と比較すると, 早期に低下することが知られているが, 神経症状の出現の時期は腹部症状の発現時よりもかなり経過しているので腹部症状の発現と関係があるかもしれない。しかしその後の時期の分離実験がすべて陰性であることから一過性にこれらのウイルスの侵いんがあったと考えられる。

新宮は昭和40年頃から SMON の病原が ECHO 21 であると主張している。^{8),9)} 昭和40年から42年にわたって北海道において採取された190名の患者血清について ECHO 21 株に対する中和抗体価を測定した。(表5)

表5 SMON患者のECHO 21中和抗体保有状態

抗体価	<4	4	8	16	32	64	128	256	512
陽性数	76	9	48	15	27	7	4	1	3

使用した細胞は FL, 抗原は ECHO 21 Farina 株である。190名中76名(40%)が陰性であり, 64倍以上の抗体価を有するものは15名(7.9%)であって, Enterovirus 感染症としてはかなり低い抗体保有状態である。なお補体要求性抗体については検討していない。

3. 生化学的検査

61人の患者血清について血清蛋白分画を行い, アルブミン, α_1 , α_2 , β の各分画の濃度比(%)をみ

るとともに総蛋白量とA/G比をみた。個体差はみられるが1つの分画に共通した増減はなく、ほぼ正常値の変動範囲内にあった。総蛋白量とA/G比にも異常はみられなかった。

44件の血清についてIgA, IgG, 47件の血清についてIgMの定量を行った。IgGの増量が29件, IgMの増量が10件にみられた。

47件の血清についてコリンエステラーゼの定量を行ったところ, 27名に低下がみられた。

48件の患者尿について実施したタリウムの定量の結果は表6の通りである。

表6 スモン患者尿のタリウム定量

タリウム (ppm)	件数
0.0 ~ 0.10	14
0.11 ~ 0.20	8
0.21 ~ 0.30	11
0.31 ~ 0.40	8
0.41 ~ 0.50	2
0.51 ~	5
計	48

IV 考 察

SMONを感染症と考えたのは特定の地区に患者が夏季に集団発生するという報告からであるが、その後の調査によると患者同志に接触はなく、散発的に発生しており、冬季にもかなりの患者がみられている。

現在までに行ったウイルス分離成績ではEnterovirusとAdenovirusによる感染の可能性は一応否定されるが、神経症状によりSMONと診断される時期は、これらのウイルス分離の目的には遅すぎると考えられる。この種のウイルスの分離は狭い地区で、短い期間に患者が多発する条件が望ましい。

IgGの増量が62%にみられたことはSMONが慢性感染症あるいは自己免疫疾患であることを示唆する。

コリンエステラーゼの減少は実質性肝障害、有機燐、水銀中毒、抗コリンエステラーゼ剤使用時にみられるが、57%に低下がみられたことは、SMONが慢性に経過する消耗性疾患であるためと考えられる。

タリウムの定量を試みたのは、タリウムがOptic neuritisあるいはGeneralized polyneuritisの原因となり、病理解剖学的所見がSMON患者の脊髄の病理解剖像に類似しているからである。¹⁰⁾ なおタリウムをさるに接種すると脊髄の脱髄と側脳室の近くのニューロンの対称性消失によって後肢の失調性のまひを来すとされている。¹¹⁾

タリウム中毒患者の尿中のタリウム定量の例数は少ないが、鈴木が2名のタリウム中毒患者について測定したタリウム量はそれぞれ0.48 ppmと0.20 ppmであったことから、²⁾ SMON患者尿中のタリウム量はかなり高いと考えられるが、今後定量法について更に検討するとともに、多数の健康者およびSMON患者の尿中タリウム量を測定し、比較検討する必要がある。¹²⁾

V 要 約

昭和39年から現在まで、347名のSMON患者と167名の接触者から採取した579件の材料からウイルス分離を試み、13株のCoxsackie A群ウイルスを分離した。Polio, ECHO, Coxsackie B群およびAdeno virusは分離されなかった。Coxsackie A群ウイルスが分離された時期の98名の患者血清について補体結合抗体価を測定したが、同ウイルスが病原agentと考えられる抗体保有状態はみられなかった。

昭和40年から42年に採取された190名のSMON患者についてECHO 21株に対する中和抗体価を測定したが、76名が抗体を保有せず、抗体保有者でも特に高い抗体価を有するものは少なかった。

昭和45年から患者血清について、血清蛋白分画、 γ globulin定量、コリンエステラーゼ定量を行った。44名の血清中、IgGの増量が29名にみられ、47名の血清中コリンエステラーゼの減量が27名にみられた。なお尿中のタリウムの定量も行った。

文 献

- 1) 厚生省監修：微生物検査必携，1966，日本公衆衛生協会
- 2) 鈴木俊雄：Japan Analyst，14，130，1965
- 3) 小南文四郎，小野双葉：Japan Analyst，18，573，1969
- 4) 宮本益夫：Japan Analyst，10，102，1961
- 5) 甲野礼作：最新医学，24，2043，昭和44年
- 6) 桜田教夫，奥原広治，伊東弓多果：北海道立衛生研究所報，第16集，51，昭和41年
- 7) 多ヶ谷勇：スモン調査研究協議会班研究報告プログラム，昭和45年
- 8) 新宮正久ほか：日本伝染病学会誌，39，139，1965
- 9) 新宮正久ほか：日本伝染病学会誌，39，442，1965
- 10) Gottwald, W: Nervenarzt，28，315，1957
- 11) Pentschew, A, Ebner, F, Kovatch, R: Proceediuzs of the 4th International Congress of Neuropathology, V3, 300, 1962
- 12) 飯田広夫：北海道医学雑誌，44，7，1969