

表2 ワクチン由来ポリオウイルスによるポリオ流行

国・地域	発生年	ポリオ症例数	血清型	ゲノム遺伝子 組み換え*	推定伝播期間 (年)
エジプト	1988～1993	30	2型	有	10
Hispaniola 島 (ハイチ・ドミニカ)	2000～2001	21	1型	有	2.5
フィリピン	2001	3	1型	有	2.5
マダガスカル	2002	4	2型	有	2.5
中国貴州省	2004	2	1型	無	1
ラオス	2004～2005	1	2型	無	1
マダガスカル	2005	1	3型	有	1.5
Madura 島 (インドネシア)	2005	46	1型	有	1.5
カンボジア	2005～2006	3	3型	有	2.0

\* Sabin 由来株と非 Sabin 株 (C 群エンテロウイルス) との遺伝子組み換えの有無

フィリピンの1型cVDPV, 2004年の中国貴州省の1型cVDPV, 2004～2005年にかけてのラオスでの2型cVDPVの伝播によるAFP(acute flaccid paralysis)症例が確認されており, ワクチン接種率が低い地域ではcVDPV伝播によるポリオ流行のリスクが存在することが示されている(表2)<sup>3)</sup>。2005～2006年にかけて, カンボジアのプノンペン近郊において3例のAFP症例が認められ, そのうち2例の糞便検体から3型ポリオウイルスが分離された。その後の遺伝子解析と疫学調査により, 本事例はカンボジアのワクチン接種率の低い地域で一定期間伝播した3型cVDPVによるポリオ流行であることが強く示唆された。これまで, 1型(Hispaniola島, 中国, インドネシア)および2型(エジプト, マダガスカル)cVDPVによるポリオ流行が報告されていたが, 3型cVDPVによるポリオ流行のリスクを示すものである。

ごくまれではあるが, 主として免疫不全患者がOPV接種あるいはOPV由来ウイルスに感染後, 通常より長期間, 数年間にわたってポリオウイルスを糞便中に排出する事例が報告されている<sup>3)</sup>。持続感染の過程でOPVウイルスは次第に変異を蓄積し, 糞便等に排出されるウイルス(immuno-deficient VDPV: iVDPV)は弱毒OPV株と比較

すると顕著な病原性復帰が認められる。iVDPV症例の多くは, ポリオに対する高い集団免疫を有する先進国で報告されており, iVDPVに由来するポリオ流行は認められていない。しかし, ポリオ根絶認定後OPV接種停止を実施した場合, 増加する感受性人口へiVDPVが伝播しポリオ流行を起こす可能性がある。そのため, iVDPVのサーベイランスと持続感染者のフォローアップは重要である。iVDPV持続感染者の治療法およびウイルス排出を制御する方法は, いまのところ確立されていない。

## VI OPV接種停止戦略とそのリスク

ポリオ根絶認定後, OPV接種を継続した場合の主要な問題点はVAPPおよびVDPVによるポリオ流行の恒常的なリスクである。野生株ポリオ根絶以後, 高いOPV接種率と質の高いサーベイランス活動を維持することは途上国において困難であり, 次第に増加する感受性人口に対してVDPVによるポリオ流行のリスクが高まることが危惧されている。そのため, WHOは世界ポリオ根絶認定後できるだけ速やかにOPV接種停止を行うことを推奨し, OPV使用国に対してサーベイランス活動の維持強化や国際的備蓄ワクチン(mOPV)

の準備等, OPV 接種停止のための具体的な提案を行っている<sup>11)</sup>。しかし, 世界的 OPV 接種停止後一定期間は途上国における大規模なポリオ流行のリスクを無視できないので, WHO の OPV 接種停止戦略には根強い反対意見が存在する<sup>12)</sup>。IPV 導入により OPV 接種停止前後におけるポリオ流行のリスクを低下させることが可能であるが, 定期接種におけるワクチン接種率の低い途上国では IPV 導入は多くの困難を伴う。

### VII ポリオ根絶最終段階における IPV の役割

世界のほとんどを占めるポリオフリーの地域では, OPV による恒常的な VAPP 発生のリスクを無視できないため, IPV の導入が進められている。欧米先進国の多くが現在 IPV を使用しており, 西太平洋地域でも最近ニュージーランド・オーストラリア・韓国で OPV から IPV への切り替えが実施された。日本では長年高い OPV 接種率によりポリオ流行がコントロールされているが, まれに発生する VAPP のリスクを考慮し, 専門家からは IPV の早期導入の必要性が指摘されている<sup>6, 13, 14)</sup>。

先進国の多くで用いられている IPV は, 強毒野生株ポリオウイルスをホルマリンにより不活化することにより製造されている (conventional IPV : cIPV)。IPV 製造施設で取扱う多量かつ高濃度の野生株ポリオウイルスは, OPV 接種停止後ポリオ流行の原因となる危険性を有するため, IPV メーカーは適切な封じ込め基準を満たす製造施設でワクチン製造を行う必要がある<sup>15)</sup>。現在, 日本ポリオ研究所で開発されている弱毒化 Sabin 株を原料とした IPV (sIPV) は cIPV 抗原と比較すると多少抗原性が異なるが, 抗原含有量の調整により十分な中和抗体産生能を有するとされている<sup>16, 17)</sup>。sIPV 製造施設では, 万が一ウイルス漏出が起きた場合の社会的リスクが cIPV と比較すると低いため, 製造施設のバイオセーフティ基準を低く設定できる可能性がある。そのため, 野生株ポリオ根絶前後に途上国で必要とされる安価で大量の IPV の安定供給のため, 途上国の OPV メーカーへの sIPV 製造技術の導入が期待されている<sup>18)</sup>。

### VIII 日本における IPV 導入とその問題点

先進国の定期予防接種に用いられている不活化ワクチンの種類および接種スケジュールは国ごとにまちまちであるが, IPV 単独製剤を定期予防接種スケジュールに組み込むことは, ワクチンそのものおよび接種に関わる社会的コストを大幅に増加させることになるため, cIPV に他の不活化抗原を混合した多価ワクチンが広く用いられている。諸外国の大規模ワクチンメーカーにより商品化されている多価ワクチンの多くは沈降精製百日せきジフテリア破傷風ワクチン (DTaP) と cIPV との混合ワクチンを基本として, ヘモフィルスインフルエンザ B 型菌, B 型肝炎ウイルス等, 他の不活化抗原をさまざまな組み合わせで含む製剤として実用化されている<sup>19)</sup>。

日本ポリオ研究所で開発されている sIPV は, 当初 sIPV 抗原のみを含む製剤を用いて臨床試験が実施されたが, sIPV 抗原単独製剤の開発は中止されている<sup>17)</sup>。それに替わって現在, DTaP と sIPV の混合ワクチン (DTaP-sIPV) の開発が, 国内メーカー数社により進められている<sup>20)</sup>。新たに開発されている DTaP-sIPV に含まれる抗原量の sIPV は, 動物実験レベルでは優れた中和抗体産生能を示した<sup>17)</sup>。今後, 各メーカーにおいて DTaP-sIPV 製剤の安全性や製剤の試験方法について十分に検討した上で, 各々の製剤について臨床試験が開始されることとなるが, 製造承認認可後市場化するまで今後数年を要すると考えられる。

### IX おわりに

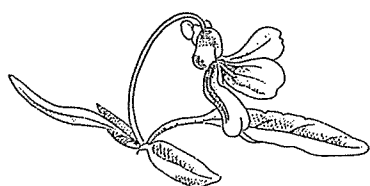
ポリオ根絶計画のための主要なツールとして用いられてきた tOPV が有効性および安全性に優れたワクチンであることは, これまでの世界ポリオ根絶計画の実績からも明らかである。しかし, ポリオ根絶最終段階では有効性および安全性の観点から, tOPV に替わる新たなポリオワクチンが必要とされている。現在, ポリオ流行地を中心に導入が進められている mOPV により世界ポリオ根絶の成否が決まると言っても過言ではなく, インドおよび他の流行国のポリオ発生状況を注視して

特集◎ ワクチンの今日の問題点

いく必要がある。一方、ポリオフリーの地域では OPV 接種に由来する VAPP と VDPV による社会的リスクを低下させるため、できるだけ早期の IPV 導入が必要とされている。日本では、いつ、どのような形で IPV が導入可能となるか、いまだ不透明な点が多いが、一刻も早い DTaP-sIPV の実用化が望まれる。

文 献

- 1) Progress towards interruption of wild poliovirus transmission in 2005. *Wkly Epidemiol Rec* 81 : 165-172, 2006
- 2) Resurgence of wild poliovirus type 1 transmission and consequences of importation--21 countries, 2002-2005. *MMWR* 55 : 145-150, 2006
- 3) Kew OM, et al.: Vaccine-derived polioviruses and the endgame strategy for global polio eradication. *Annu Rev Microbiol* 59 : 587-635, 2005
- 4) Arita I, Nakane M, Fenner F : Is polio eradication realistic ? *Science* 312 : 852-854, 2006
- 5) Center for Disease Control and Prevention : Progress toward poliomyelitis eradication--Nigeria, January 2004-July 2005. *MMWR* 54 : 873-877, 2005
- 6) ポリオおよび麻しんの予防接種に関する検討小委員会：今後のポリオおよび麻しんの予防接種に関する提言. 厚生科学審議会感染症分科会感染症部会第7回ポリオ及び麻しんの予防接種に関する検討小委員会資料, 2003
- 7) Kew OM : What role for inactivated poliovirus vaccine in the eradication endgame ? *J Infect Dis* 193 : 1341-1343, 2006
- 8) Paul Y : Evaluation of OPV efficacy is required for polio eradication in India. *Vaccine* 23 : 3097-3098, 2005
- 9) Heymann DL, Sutter RW, Aylward RB : A global call for new polio vaccines. *Nature* 434 : 699-700, 2005
- 10) Caceres VM, Sutter RW : Sabin monovalent oral polio vaccines : review of past experiences and their potential use after polio eradication. *Clin Infect Dis* 33 : 531-541, 2001
- 11) World Health Organization : Cessation of routine oral polio vaccine (OPV) use after global polio eradication - Framework for National Policy Makers in OPV-Using Countries. 1-10, 2005
- 12) Agol VI, et al. : Don't drop current vaccine until we have new ones. *Nature* 435 : 881, 2005
- 13) 清水博之, 武田直和, 宮村達男 : 不活化ポリオワクチン. *総合臨床* 53 : 1860-1865, 2004
- 14) 清水博之, 武田直和, 宮村達男 : ポリオワクチン. *臨床と微生物* 32 : 441-444, 2005
- 15) Dowdle WR, Wolff C : Post-eradication poliovirus facility-associated community risks. *Biologicals* 34 : 127-132, 2006
- 16) Doi Y, et al. : Progress with inactivated poliovirus vaccines derived from the Sabin strains. *Dev Biol* 105 : 163-169, 2001
- 17) Simizu B, et al. : Development of inactivated poliovirus vaccine derived from Sabin strains. *Biologicals* 34 : 151-154, 2006
- 18) Kreeftenberg H, et al. : Technology transfer of Sabin-IPV to new developing country markets. *Biologicals* 34 : 155-158, 2006
- 19) Duchene M : Production, testing and perspectives of IPV and IPV combination vaccines : GSK biologicals' view. *Biologicals* 34 : 163-166, 2006
- 20) 厚生労働科学研究費補助金医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業, 混合ワクチンの品質確保に関する研究, 平成17年度 総括・分担研究報告書. 2006



# ポリオの疫学

清水博之<sup>1)</sup>

key words ポリオウイルス ポリオワクチン ポリオ根絶計画

## 内容のポイント Q&A

### Q1 わが国と各国ポリオの発生状況は？

1988年時点で125カ国、350,000症例とされたポリオ流行国およびポリオ症例数は、世界ポリオ根絶計画の進展により、2005年現在、ナイジェリア、インド、パキスタン、アフガニスタンの4カ国、2,000症例弱に減少した。日本国内では、1981年代以降、野生株によるポリオ患者は報告されていないが、経口生ポリオワクチンの副反応によるワクチン由来麻痺症例が、少数例ながら発生している。

### Q2 ポリオウイルスの特徴は？

ポリオの原因となるポリオウイルスは、比較的小型のエンベロープを持たない一本鎖RNAウイルスで、3種類の血清型を有する。経口感染後、腸管や咽頭で増殖し、感染後数週間程度糞便中にウイルスが排出され、糞口あるいは経口飛沫感染により伝播する。

### Q3 感染から発症とその後の臨床経過は？

急性灰白髄炎（ポリオ）は、ポリオウイルスの中枢神経組織への感染により引き起こされる急性ウイルス感染症で、一般的には小児麻痺として知られている。典型的な麻痺型ポリオ症例の場合、ポリオウイルスによる運動神経細胞の不可逆的傷害により、四肢の弛緩性麻痺を特徴とするポリオを発症する。重篤な場合、呼吸筋麻痺等により死亡する場合もある。

## はじめに

世界保健機関（World Health Organization；WHO）を中心として進められている世界ポリオ根

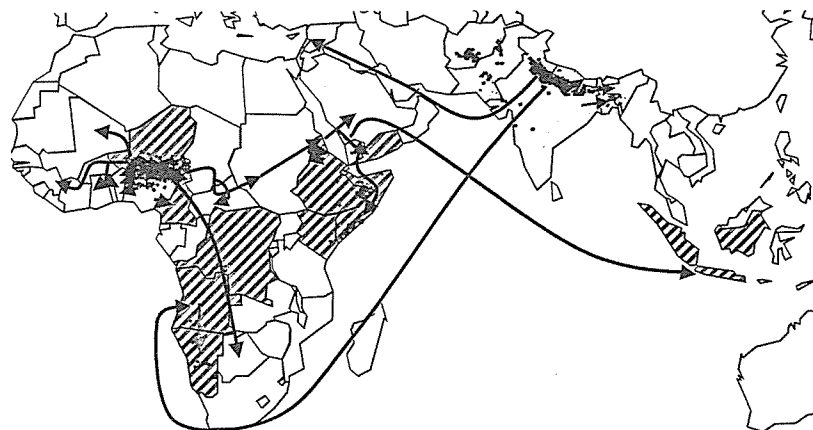
絶計画の進展により、野生株ポリオウイルス流行地域は、2006年現在、ナイジェリア、インド、パキスタン、アフガニスタンの4カ国にまで減少した。途上国におけるポリオ根絶の基本戦略は、有効性および安全性に優れ、安価で接種が容易な経口ポリオワクチン（oral polio vaccine；OPV）の集団接種によって、野生株ポリオウイルス伝播を遮断することであり、ポリオ流行地域では、徹底

\* Epidemiology of Polio

<sup>1)</sup> Hiroyuki Shimizu PhD

国立感染症研究所ウイルス第二部

■ 図1 世界のポリオ症例の分布



2006年11月までの半年間に報告された、ポリオ確定症例1例を1ドットで示した。2006年時点における野生株ポリオ流行国4カ国(ナイジェリア、インド、パキスタン、アフガニスタン)を灰色で、流行国からの輸入ウイルスによるポリオ再流行発生国を斜線で示した。また、2003～2006年における、流行国から周辺国への野生株ポリオウイルス伝播の流れを矢印により図示した。(WHO提供資料(文献3)を改変)

的なOPV接種キャンペーンが進められている。日本では、1950年代から1960年代初頭に発生した大規模なポリオ流行を制圧するため、1961年にOPVが導入された。以来、OPVによるポリオ予防接種により、国内のポリオ流行は完全にコントロールされており、50年近くポリオ流行は発生していない。OPVは、現在も日本を含む世界の多くの地域で用いられているが、まれに発生する副反応等OPV固有の問題点を考慮した新たなポリオワクチン戦略が必要とされている。

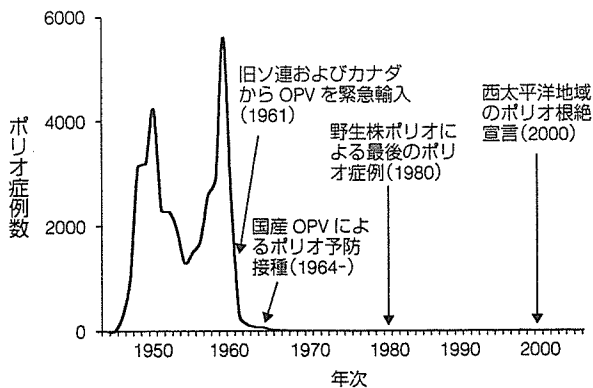
## 世界および日本におけるポリオ発生状況

1988年、WHOにより世界ポリオ根絶計画が提唱されて以来、ポリオ症例数および流行地域は着実に減少し、2006年時点におけるポリオ流行国は4カ国にまで減少した(図1)。しかし、残されたポリオ流行国であるインド、パキスタン、アフガニスタン、ナイジェリアは、それぞれ、解決困難な地域問題を有しており、近い将来ポリオフリーを達成できるか予断を許さない<sup>1)</sup>。さらに、近年大きな問題となっているのは、野生株ポリオ

ウイルスおよびワクチン由来ポリオウイルス(vaccine-derived poliovirus; VDPV)の伝播によるポリオ再流行の発生である。2005～2006年には、ナイジェリアあるいはインドに由来する野生株ポリオウイルスの伝播により、アフリカおよびアジアの多くの国々でポリオ患者の発生が認められ、スーダン、ソマリア、イエメン、インドネシア、ナミビアでは大規模なポリオ再流行を引き起こした<sup>2)</sup>(図1、斜線で表示)。これらの地域でのポリオ再流行は、いったんポリオフリーを達成した多くの地域においてOPV接種率が低下していることを示唆しており、世界ポリオ根絶計画の成否にかかわる大きな問題を提起している<sup>4)</sup>。

日本では、1950年代から1960年代初頭における大規模なポリオ流行に対応するため、開発されて間もないOPVがソ連(当時)およびカナダから緊急輸入された。1961年のOPV導入直後からポリオ症例数は急速に減少し、1960年代中頃までに、国内のポリオ流行は、ほぼ終息した(図2)。1964年から国産OPVの製造が始まり、ポリオ定期予防接種により高いワクチン接種率が維持されており、1981年以降、日本国内では野生株によるポリオ症例は報告されていない。近年確認され

■ 図2 日本のポリオ症例数の推移



(文献5を改変)

ている国内のポリオ患者は、すべてOPVの副反応によるワクチン由来麻痺症例(vaccine-associated paralytic poliomyelitis ; VAPP)である(表1)。

日本、中国を含むWHO西太平洋地域では、OPV接種キャンペーンを中心としたポリオ根絶計画の推進により、1997年のカンボジアの症例を最後として、地域固有のポリオ野生株によるポリオ症例は認められていない<sup>7)</sup>。この結果を受けて、2000年、西太平洋地域のポリオフリーが宣言された。しかし、周辺地域では野生株ポリオウイルス伝播が依然継続しており、従来同様高いOPV接種率を維持するとともに、流行地域からの輸入ウイルスを見逃すことがないように、精度の高いサーベイランスが必要とされている。

## ポリオウイルスとポリオワクチン

ポリオウイルスは、ピコルナウイルス科エンテロウイルス属に属する、比較的小型の一本鎖RNAウイルスである。約7,500塩基のポリオウイルスゲノムRNAを中心に、4種類のカプシド蛋白質が規則的に配置された正二十面体のウイルス粒子構造を有する。多数の血清型を有するエンテロウイルスは現在、分子系統学的関連性により4種類のspecies(A-D)に分類されており、ポリオウイルスは、一部のコクサッキーAウイルスとともに、C群エンテロウイルスに分類される<sup>8)</sup>。ポリ

オウイルスは、他のC群エンテロウイルスと異なる病原性を示し、宿主レセプターの違いが、ポリオウイルスと他のC群エンテロウイルスの病原性の違いを規定していると考えられている。すべてのポリオウイルスは、例外なく、カプシド蛋白質の抗原性の違いにより3種類の血清型(1, 2および3型)に分けられる。

現在使われているポリオワクチンは、弱毒化ポリオウイルス株からなるOPVとポリオウイルスをホルマリン処理した不活化ポリオワクチン(inactivated poliovirus vaccine ; IPV)に分けられる(表2)。いずれのポリオワクチンも、異なる3種類の血清型のポリオウイルス抗原を混合したワクチンとして実用化されている。OPVおよびIPVは、50年余の使用経験により確固たる実績を有する、安全性および有効性に優れたワクチンである。OPVは、途上国におけるポリオ制圧の標準的手法である集団接種に適しているため、現在も世界ポリオ根絶計画の主要なツールとして用いられている<sup>10)</sup>。OPV接種後、弱毒化ポリオウイルスは腸管で増殖し、腸管免疫および血中中和抗体を誘導することによりポリオウイルスに対する免疫を付与し、ポリオ発症を効果的に予防する。

RNAウイルスであるポリオウイルスは増殖過程で変異を蓄積しやすい性質を持ち、腸管でのウイルス増殖の過程で病原性復帰変異株の割合が増加する。病原性復帰変異株によるVAPPのリスクは、極めて小さいが、OPV接種を継続している限り、VAPP発症のリスクが存在する。日本におけるVAPP発症の頻度は、OPV初回接種440万回に1症例程度の割合とされている<sup>11)</sup>。また、近年、ヒスパニオーラ(ハイチおよびドミニカ共和国)、フィリピン、インドネシア等、世界各地でVDPVによるポリオ流行が発生することが示され、OPVによる新たなリスクとして問題となっている<sup>12)</sup>(図3)。OPV接種後、OPVウイルスが短期間コミュニティに伝播することは、これまでも知られていたが、OPV接種率が低い地域では1年以上の長期間OPVウイルスが伝播することにより、ウイルスが変異を蓄積し病原性や伝播能を回復することにより、野生株ポリオウイルスと同様

■表1 日本の年次別定型ポリオ症例数<sup>6)</sup>

年次	症例数			確定症例からの分離ウイルスの血清型						
	計	症例数	ウイルス分離による確定症例	1	2	3	1,2	1,3	2,3	1,2,3
1962	63	27	6	—	1	3	—	—	2	—
1963	20	19	3	—	—	3	—	—	—	—
1964	25	17	8	—	2	2	—	—	4	—
1965	27	18	8	1	1	2	—	1	3	—
1966	21	15	9	—	2	5	—	—	2	—
1967	16	15	8	—	2	3	—	—	3	—
1968	13	12	10	1*	6	2	—	—	1	—
1969	14	13	8	1	4	2	—	—	1	—
1970	5	5	3	—	2	1	—	—	—	—
1971	2	2	2	—	1	1*	—	—	—	—
1972	2	2	2	—	1	—	—	—	1	—
1973	6	6	5	—	4	1	—	—	—	—
1974	3	3	2	—	2	—	—	—	—	—
1975	1	1	1	—	—	—	—	—	—	1
1976	1	1	0	—	—	—	—	—	—	—
1977	2	2	2	—	2	—	—	—	—	—
1978	1	1	1	—	—	—	—	—	1	—
1979	1	1	1	—	1	—	—	—	—	—
1980	4	4	4	1*	1	—	—	—	2	—
1981	4	4	2	—	1	—	—	—	1	—
1982	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
1983	2	2	1	—	1	—	—	—	—	—
1984	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
1985	1	1	1	—	1	—	—	—	—	—
1986	1	1	1	—	—	1	—	—	—	—
1987	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
1988	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
1989	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
1990	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
1991	1	1	1	—	—	—	—	—	1	—
1992	2	2	2	—	—	2	—	—	—	—
1993	3	3	3	—	2	1	—	—	—	—
1994	1	1	1	1	—	—	—	—	—	—
1995	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
1996	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
1997	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
1998	2	2	2	1	—	1	—	—	—	—
1999	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
2000	1	1	1	—	—	1	—	—	—	—
2001	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
2002	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
2003	3	3	3	—	—	2	1	—	—	—
2004	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—

\*：非ワクチン型ポリオウイルス分離株(野生株を含む)

1981年以降にポリオ症例から分離されたポリオウイルスは、すべてワクチン株ポリオウイルスである。

(文献6を改変)



■表2 経口ポリオワクチン(OPV)と不活化ポリオワクチン(IPV)

ポリオワクチンの種類	経口ポリオワクチン (oral polio vaccine : OPV)	不活化ポリオワクチン (inactivated polio vaccine : IPV)
主要な成分	弱毒化ポリオウイルス(Sabin I, II, III株)	ホルマリン不活化ポリオウイルス抗原 (1, 2 および 3 型野生株ポリオウイルス由来)
ワクチン 接種	接種方法	経口
	接種コスト	安価
	集団接種	一斉投与キャンペーン等, 集団接種が容易
ワクチンの価格	安価	比較的高価
効果	接種者	局所(腸管)免疫および液性免疫(血中中和抗体)の誘導
	接種地域	接触者およびコミュニティに伝播することによる集団免疫の付与
	ウイルス伝播の制御	腸管免疫によりウイルス排出伝播効率を低下させる
副反応	接種者・接触者	ごくまれにワクチン由来麻痺による重篤な副反応
	地域	VDPV 伝播によるポリオ流行のリスクがある
	免疫不全患者	OPV 持続感染によるポリオ発症および地域への伝播のリスクがある
使用地域	世界的	野生株ポリオ流行国, すべての途上国
	西太平洋地域	日本, 中国, ベトナム等
その他の特徴	唯一の経口接種可能な生ワクチン	他の抗原との混合が可能であり DPT 等との混合ワクチンが実用化されている
製造	現行の製造施設	国産を含めた比較的小規模なメーカーを含む
	製造設備のバイオセーフティ	弱毒株なので比較的簡便な管理で製造可能
日本での予防接種	現行の予防接種に使用	日本では IPV は認可されておらず, 現在開発中

(文献 9 等を参考に作成)

のポリオ流行を起こすことが, VDPV の詳細な遺伝子解析の結果明らかとなった<sup>14)</sup>. VDPV によるポリオ流行は, 西太平洋地域等ポリオフリーを達成した地域でも発生しており, OPV を使用している地域では, どこでも VDPV 伝播のリスクが存在する<sup>15)</sup>. 世界のほとんどを占めるポリオフリーの地域, とくに欧米先進国の多くは, VAPP および VDPV 伝播のリスクを低下させるため, OPV から IPV へのワクチン戦略の見直しを進めており, 日本でも IPV の早期導入が強く望まれている<sup>16)</sup> (表 2).

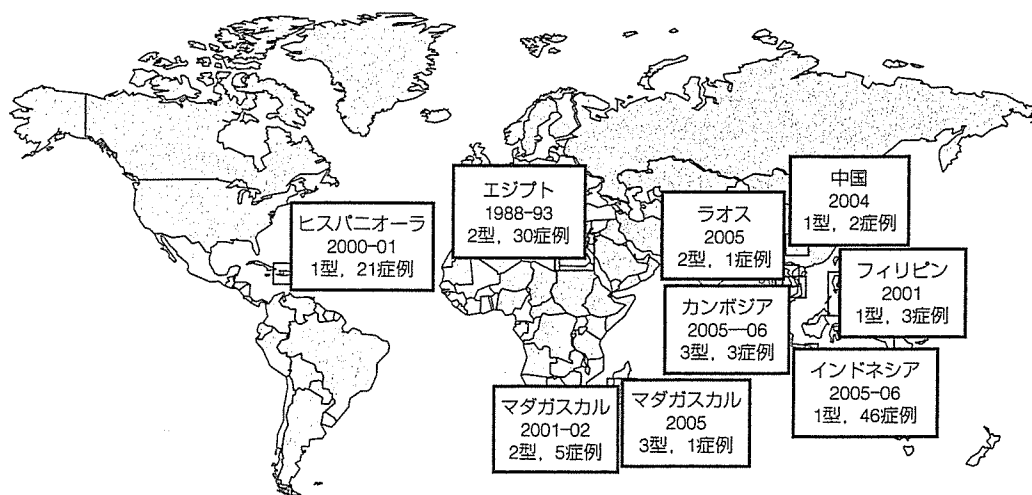


## ポリオウイルスの病原性と ポストポリオ

他の多くのエンテロウイルス感染同様, すべてのポリオウイルス感染者が発症するわけではなく, 感染者の多く(90%以上)は無症状で推移し, 発症者の多く(4~8%程度)は風邪様の軽い発熱性疾患のみで回復する. 典型的な麻痺型ポリオ症例(感染者の1%以下)では, 強毒型ポリオウイルスが中枢神経細胞に侵入・増殖することによる脊髄前角細胞の不可逆的障害により, 四肢の急性弛緩性麻痺を発症する. ヒトポリオウイルスレセプ



■ 図3 ワクチン由来ポリオウイルス (VDPV) によるポリオ流行



これまで同定されたVDPVによるポリオ流行事例(地域名, 発生年次, ポリオ症例数)を図示した. WHO 提供資料(文献13)を改変.

ターを導入したトランスジェニックマウスは, ポリオウイルス感染により, ヒトのポリオ症例と類似した弛緩性麻痺を発症するので, ポリオウイルスに対する感受性および中枢神経病原性発現にはポリオウイルス特異的レセプター発現の有無が重要である. しかし, レセプターの発現および局在のみからポリオウイルスの病原性発現機構を説明することはできないため, 他の複数のウイルスおよび宿主側の機構によりポリオウイルスの中枢神経特異的病原性発現が制御されていると考えられている<sup>17,18)</sup>.

ポリオウイルス感染は急性感染であり, 宿主の免疫成立後, 通常, 感染後2カ月程度で糞便からウイルスが検出できなくなる. ポリオウイルスの長期間持続感染症例が先天性免疫不全患者において報告されているが, ポリオウイルスが持続感染することは, 極めてまれである<sup>12)</sup>. ポストポリオ発症者から, ポリオウイルスゲノムの一部あるいは特異的IgM抗体が高頻度に検出されたとする報告があるが<sup>19)</sup>, これらの結果を積極的に支持する追加データは乏しく, ポリオ発症後数十年間経過した後のポストポリオ症候群の発症に, 持続感染あるいは再活性化したポリオウイルスが直

接関与している可能性は低い.

## ◎ おわりに

ポリオウイルスに対する治療薬は, 今のところ実用化されておらず, ポリオワクチンによる予防接種が, ポリオ発症を防ぐ唯一の手段である. また, ポストポリオ症候群の予防・治療法も見いだされていない. そのため, ポストポリオ患者を減らすための最良の方法は, 一見迂遠であるが, 新規ポリオ患者を減らすこと, すなわち, 世界的ポリオ根絶を達成して, ポリオ発症者を世界レベルでゼロにすることであると考えられる. 日本や欧米先進国では, 大規模なポリオ流行が終息して50年近く経過した現在, ポストポリオ発症者が増加しているが, 近年まであるいは現在もポリオ流行が継続している途上国では, 今後数十年にわたって, ポストポリオ患者が大幅に増加していくことが予想される. 日本や欧米先進国におけるポリオ流行の経験を, 世界ポリオ根絶の達成や途上国におけるポリオ患者およびポストポリオ発症者のケアにさまざまなレベルで役立てていくことが期待されている.

文献

- 1) Grassly NC et al : New strategies for the elimination of polio from India. *Science* 314 : 1150-1153, 2006.
- 2) WHO : Resurgence of wild poliovirus type 1 transmission and effect of importation into polio-free countries, 2002-2005. *Wkly Epidemiol Rec* 81 : 63-68, 2006.
- 3) <http://www.polioeradication.org/content/general/casemap.shtml>
- 4) Arita I et al : Is polio eradication realistic?. *Science* 312 : 852-854, 2006.
- 5) ポリオ根絶委員会「報告書」, 平成 14 年 7 月 30 日, 厚生科学審議会感染症分科会感染症部会第 5 回ポリオ及び麻しんの予防接種に関する検討小委員会, 参考資料 2-1.
- 6) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター: 平成 16 年度感染症流行予測調査報告書, p 18.
- 7) Hagiwara A et al : Genetic analysis of wild polioviruses towards the eradication of poliomyelitis from the Western Pacific Region. *Jpn J Infect Dis* 52 : 146-149, 1999.
- 8) 清水博之: ヒトエンテロウイルスの分類と命名法. *臨床とウイルス* 33 : 211-219, 2005.
- 9) ポリオ根絶委員会「報告書」, 平成 14 年 7 月 30 日, 厚生科学審議会感染症分科会感染症部会第 5 回ポリオ及び麻しんの予防接種に関する検討小委員会, 参考資料 1.
- 10) Sutter RW, Maher C : Mass vaccination campaigns for polio eradication : an essential strategy for success. *Curr Top Microbiol Immunol* 304 : 195-220, 2006.
- 11) 厚生省公衆衛生審議会感染症部会ポリオ予防接種検討小委員会編: ポリオ予防接種検討小委員会報告: 平成 12 年 8 月 31 日 ([http://www1.mhlw.go.jp/topics/polio/tp0831-1\\_a\\_11.html](http://www1.mhlw.go.jp/topics/polio/tp0831-1_a_11.html)).
- 12) Kew OM : Vaccine-derived polioviruses and the endgame strategy for global polio eradication. *Annu Rev Microbiol* 59 : 587-635, 2005.
- 13) Kew OM et al : Circulating vaccine-derived polioviruses : current state of knowledge. *Bull World Health Organ* 82 : 16-23, 2004.
- 14) Kew O et al : Outbreak of poliomyelitis in Hispaniola associated with circulating type 1 vaccine-derived poliovirus. *Science* 296 : 356-359, 2002.
- 15) Shimizu H et al : Circulation of type 1 vaccine-derived poliovirus in the Philippines in 2001. *J Virol* 78 : 13512-13521, 2004.
- 16) 清水博之・他: ポリオワクチン. *臨床と微生物* 32 : 441-444, 2005.
- 17) Ida-Hosonuma M et al : The alpha/beta interferon response controls tissue tropism and pathogenicity of poliovirus. *J Virol* 79 : 4460-4469, 2005.
- 18) Arita M et al : Quantitative analysis of poliomyelitis-like paralysis in mice induced by a poliovirus replicon. *J Gen Virol* 87 : 3317-3327, 2006.
- 19) Leon-Monzon ME et al : Detection of poliovirus antibodies and poliovirus genome in patients with the post-polio syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 753 : 208-218, 1995.

## 五類感染症(定点把握)

## 手足口病

Hand, foot and mouth disease

清水博之

**Key words** : 手足口病, エンテロウイルス感染症, エンテロウイルス 71

## はじめに

手足口病(hand, foot and mouth disease)は、口唇粘膜および四肢末端に現れる水疱性の発疹を特徴とする発熱性疾患で、主として毎年夏季を中心に流行する一般的なエンテロウイルス感染症である。主要な原因ウイルスは、コクサッキーウイルス A16(coxsackievirus A16: CA16)およびエンテロウイルス 71(enterovirus 71: EV71)である。手足口病の予後は良好であるが、EV71 流行時は、CA16 による手足口病流行時と比べて中枢神経合併症の発生頻度が高い。東アジア地域では、EV71 による大規模な手足口病流行時に、死亡例を含む小児の急性脳炎が多発しているため、手足口病に対する注意深いサーベイランスと実験室診断が必要とされている。

## 1. 疫学および臨床症状

手足口病は、口腔粘膜および四肢に現れる水疱性の発疹を特徴とし、主として5歳以下の小児および乳幼児を中心に毎年夏季に流行を起こす<sup>1)</sup>。主要な感染経路は、経口飛沫感染と考えられているが、糞口感染にも留意する必要がある。一過性の水疱疹および発熱を主徴とし、無菌性髄膜炎・熱性けいれん・脱水などの症状により入院治療が必要とされる場合もあるが、一

般に予後は良好である。EV71 による手足口病流行時には、重篤な中枢神経合併症の発生頻度が高いとされている。近年、大規模な手足口病流行時に、死亡例を伴う手足口病重症例が多発したことがマレーシア、台湾などの東アジア地域で報告されており、日本でも散発例ではあるがEV71 感染による重症例が認められている<sup>2-4)</sup>。ワクチン・抗ウイルス剤など、手足口病に対する予防治療法は、いまのところ存在しない。そのため、特にEV71 による手足口病流行時には中枢神経合併症の発生動向の注意深いサーベイランスが必要とされている。

手足口病は、感染症法により五類感染症定点把握疾患に分類されており、全国3,000余の小児科定点より毎週患者数が報告されている。一部の症例については、地方衛生研究所による病原体検査が実施され、ウイルス検出状況が報告されている。それらによると、手足口病の流行は、年により規模が異なり、主要な原因ウイルスも異なる場合が多い。日本では、ここ10年間で、1998年、2000年、2003年に比較的大きな手足口病流行が認められ、主要な原因ウイルスは、それぞれ、CA16、EV71、EV71であった<sup>1)</sup>。

Hiroyuki Shimizu: Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases 国立感染症研究所 ウイルス第二部

表 1 EV71 による手足口病および中枢神経疾患の流行

地 域	年	報告数* (死亡者数)	主な症状*	主な EV71 genogroup
米 国	1969-73	20( 1)	髄膜炎, 脳炎	A
日本(愛媛)	1973	81( 0)	手足口病, 髄膜炎, 脳炎	B1
ブルガリア	1975	705(44)	髄膜炎, 脳炎	B1
ハンガリー	1973	1,550(45)	脳炎, ポリオ様麻痺	B1
オーストラリア	1986	34( 0)	脳 炎	—
香 港	1986	5( 0)	麻 痺	—
マレーシア	1997	—(31)	手足口病, 脳炎	B3, C1
日本(大阪)	1997	3( 3)	手足口病, 脳炎	B3
台 湾	1998	405(78)	手足口病, 脳炎	C2
オーストラリア	1999	6( 0)	麻 痺	—
韓 国	2000	12( 0)	手足口病, 脳炎	C3
日本(兵庫)	2000	30( 1)	手足口病, 髄膜炎, 脳炎	B4
台 湾	2000-01	680(96)	手足口病, 脳炎	B4
中 国	1999-04	19( 0)	手足口病	C4
日本(山形)	2003	25( 0)	手足口病	C4
台 湾	2004-05	18( 0)	手足口病	C4

\*報告数(死亡者数)および症状は, 各報告により対象・基準が異なるため, 実際の流行の規模や重篤度を示すものではない。—: 不明, 記載なし。

## 2. 手足口病の原因となるエンテロウイルス

手足口病の主要な原因ウイルスである CA16 および EV71 は, 分子系統解析に基づくエンテロウイルス属の新たな分類体系により, 同一ウイルス種である A 群エンテロウイルス (*Human enterovirus species A*) に分類されており, 両者は分子系統学的関連性の高いウイルスである<sup>9)</sup>。A 群エンテロウイルスは, CA16 および EV71 のほかに多くの血清型のコクサッキー A ウイルスを含む。コクサッキーウイルス A2, A4, A5, A6, A10 などは, ヘルパンギーナの主要な原因ウイルスであり, 手足口病患者からも, まれに分離される。

東アジア諸国では, 近年, 大規模な手足口病流行の際に死亡例を伴う重篤な中枢神経疾患の多発が報告されている(表 1)<sup>9)</sup>。マレーシア, 台湾, 日本を含めた多くの地域で, 手足口病および重症例からウイルス分離が行われ, 重症例の多くが EV71 感染によることが明らかにされている。この地域で分離された多数の EV71 分離株の分子系統解析が進められ, 2 種類の遺伝子

型である genogroup B および C が同時に伝播していることが明らかにされている。1990 年代後半以降, genogroup B3 および B4, また, genogroup C1 および C2 が, 東アジアの多くの地域で分離されている<sup>6-9)</sup>。日本では従来, genogroup C3 を除く, 様々な genogroup の EV71 が分離されているが, 比較的多く分離される遺伝子型は genogroup B4 および C2 であった。当初中国で認められた genogroup C4 は, 2002 年以降, 中国, 日本および台湾で多く分離されている<sup>10)</sup>。以上の結果より, 様々な遺伝子型の EV71 が, 西太平洋地域の広い範囲で伝播していることが示唆された。また, 特定の遺伝子型の EV71 流行と手足口病重症化の関連性は認められておらず, すべての遺伝子型の EV71 が手足口病流行の原因ウイルスであるとともに, 重篤な中枢神経疾患発症に関与する可能性を有すると考えられている。

## 3. 手足口病の実験室診断

手足口病の臨床症状から原因ウイルスを特定することは困難であり, CA16 と EV71 感染の鑑別診断の観点から, ウイルス学的実験室診断が

表2 EV71 および CA16 検出症例の診断名 (2000-03年)

診断名	EV71				CA16			
	2000	2001	2002	2003	2000	2001	2002	2003
合計	491	24	21	652	218	320	426	139
手足口病*	364	18	20	502	195	290	367	113
髄膜炎	78	1	—	71	1	—	2	8
脳炎・脳症	9**	—	—	4	—	1	1	—
心筋炎	2	—	—	—	1	—	—	—
ヘルパンギーナ	10	1	—	14	1	8	7	5
その他・不明	28	4	1	61	20	21	49	13

\*髄膜炎との合併症例を除く, \*\*小脳失調1例を含む.

(病原微生物検出情報 25: 225, 2004<sup>1)</sup>, 表1より引用)

重要である。ウイルス検査に適切な臨床検体として、糞便、口腔・咽頭・発疹拭い液、水疱内容物などがあげられる。無菌性髄膜炎を呈した手足口病症例の髄液検体からのウイルス分離率は低いため、糞便、口腔・咽頭拭い液などの、髄液以外の検体を採取することが望ましい<sup>11,12)</sup>。EV71 および CA16 の場合、細胞培養によるウイルス分離が可能であるが、ウイルス株により培養細胞に対する感受性は異なり、ウイルス分離効率率は必ずしも高くない。そのため、Vero, RD-18S, RD, HEL, Caco-2 などの培養細胞のうち数種類をウイルス分離に用いることにより、ウイルス分離効率を上げることが必要である。EV71 および多くのコクサッキー A ウイルスに対する抗血清は、一般のエンテロウイルス同定用プール血清には含まれていないので、通常、CA16 および EV71 に対する単味抗血清による同定を試みる。

エンテロウイルス感染症の確定診断は、基本的には、適切な臨床検体からのウイルス分離同定により行うが、検査の迅速化のためウイルス遺伝子検査が多くの実験室で利用されている。中和法による同定が困難なエンテロウイルス分離株の同定にも、ウイルス遺伝子検査は有用である。解析方法および解析領域はいまのところ標準化されていないが、VP1 領域、VP4-VP2 領域を用いた方法が報告されている<sup>13)</sup>。EV71 と CA16 に関しては、適切な遺伝子解析方法を用いた場合、ほぼすべての分離株で、血清型とよく対応した同定が可能である。

#### 4. 手足口病と合併症状

手足口病は、一般的には予後の良い、ありふれた小児の急性ウイルス感染症の一つであるが、EV71 による手足口病流行時は、重篤な中枢神経合併症発生の頻度が高くなることが報告されている。2000-03 年にかけて病原微生物検出情報に報告された、EV71 および CA16 が検出された症例の診断名を表 2 に示した<sup>1)</sup>。2000 年および 2003 年における手足口病流行の主要な原因ウイルスは EV71 であり、高頻度の無菌性髄膜炎症例および比較的多数の脳炎・脳症患者が報告されている。一方、2001-02 年の手足口病の主要な原因ウイルスは CA16 であり、この間の無菌性髄膜炎症例数および脳炎・脳症患者の報告数は低く推移している。以上の結果は、同じ規模の手足口病流行が発生した場合、主要な原因ウイルスが EV71 である場合、重篤な中枢神経合併症の発生動向について、より注意深く監視する必要があることを示している。また、手足口病サーベイランスと流行株を特定するための実験室診断が重要であることを改めて示すものである。

EV71 感染による中枢神経病原性発現機構については、いまのところ不明な点が多い。著者らは、EV71 の中枢神経病原性を解析するためのモデルとして、カニクイザル感染モデルを確立し、EV71 株間の病原性の違い、EV71 とポリオウイルス感染による中枢神経病原性の発現機序、弱毒化にかかわる EV71 ゲノム遺伝子の特

定などについて一連の研究を進めている<sup>13-15)</sup>。EV71 感染による中枢神経病原性の分子メカニズムの解析は、ワクチンや治療薬など、重篤なエンテロウイルス感染症の予防治療につながる基盤的研究として重要である。

### おわりに

手足口病は、毎年夏季を中心として流行する、予後の良い小児の一般的なエンテロウイルス感染症であり、そのつど過度に反応する必要はな

い。しかし、近年、台湾やマレーシアなどで発生した、EV71 による大規模な手足口病の流行時には、短期間に小児の急性死症例が多発し、公衆衛生上大きな問題となった。同様の流行が日本で発生するリスクは少ないため、手足口病のサーベイランスおよびエンテロウイルス実験室診断体制を維持・強化するとともに、ワクチンや治療薬開発につながるエンテロウイルス感染症についての基礎研究を継続することが重要である。

### 文 献

- 1) 手足口病 2000-2003. 病原微生物検出情報 25: 224-231, 2004.
- 2) Ho M, et al: An epidemic of enterovirus 71 infection in Taiwan. *N Engl J Med* 341: 929-935, 1999.
- 3) McMinn PC: An overview of the evolution of enterovirus 71 and its clinical and public health significance. *FEMS Microbiol Rev* 26: 91-107, 2002.
- 4) Fujimoto T, et al: Outbreak of central nervous system disease associated with hand, foot, and mouth disease in Japan during the summer of 2000. *Microbiol Immunol* 46: 621-627, 2002.
- 5) 清水博之: ヒトエンテロウイルスの分類と命名法. *臨床とウイルス* 33: 211-219, 2005.
- 6) Shimizu H, et al: Enterovirus 71 from fatal and nonfatal cases of hand, foot and mouth disease epidemics in Malaysia, Japan and Taiwan in 1997-1998. *Jpn J Infect Dis* 52: 12-15, 1999.
- 7) Brown B, et al: Molecular epidemiology and evolution of enterovirus 71 strains isolated from 1970 to 1998. *J Virol* 73: 9969-9975, 1999.
- 8) McMinn P, et al: Phylogenetic analysis of enterovirus 71 strains isolated during linked epidemics in Malaysia, Singapore, and Western Australia. *J Virol* 75: 7732-7738, 2001.
- 9) Shimizu H, et al: Molecular epidemiology of enterovirus 71 infection in the Western Pacific Region. *Pediatr Int* 46: 231-235, 2004.
- 10) Mizuta K, et al: Frequent importation of enterovirus 71 from surrounding countries into the local community of Yamagata, Japan, between 1998 and 2003. *J Clin Microbiol* 43: 6171-6175, 2005.
- 11) 国立感染症研究所, 地方衛生研究所全国協議会: 手足口病. 病原体検査マニュアル, p1-22, 2003.
- 12) 清水博之: エンテロウイルス 71 感染症の実験室診断. *日本臨牀* 63(増刊号 7): 389-392, 2005.
- 13) Nagata N, et al: Pyramidal and extrapyramidal involvement in experimental infection of cynomolgus monkeys with enterovirus 71. *J Med Virol* 67: 207-216, 2002.
- 14) Nagata N, et al: Differential localization of neurons susceptible to enterovirus 71 and poliovirus type 1 in the central nervous system of cynomolgus monkeys after intravenous inoculation. *J Gen Virol* 85: 2981-2989, 2004.
- 15) Arita M, et al: Temperature-sensitive mutants of enterovirus 71 show attenuation in cynomolgus monkeys. *J Gen Virol* 86: 1391-1401, 2005.

## 5. 培養細胞のポリオウイルス感受性

### — Enders への回答 —

小池 智

東京都医学研究機構・東京都神経科学総合研究所・微生物研究部門

ポリオウイルスは急性灰白髄炎のウイルスであり、脊髄前角の運動神経細胞など中枢神経系に感染して重篤な病変を生じさせるが、神経系以外の組織ではよく増えることができない。in vivoでは厳格にこの組織特異性が存在するにも関わらず、in vitroでは霊長類の単層培養細胞ではどの組織に由来したものであれ殆ど例外なくポリオウイルスは非常によく増殖する。細胞がウイルス感受性を獲得するには生体内からシャーレへ環境変化の過程で、なんらかの細胞内環境が変化することが必要であると考えられていた。この疑問は永らく未解決のままであったが、我々は正常の生体内の状態で維持されている素速く、かつ強力なIFNの応答能力が培養細胞においては低下するためウイルス感受性を獲得するようになることを明らかにした。

#### 1. はじめに

ポリオウイルスはHeLa細胞などの培養細胞株で簡単に増殖させることができる。ウイルス学を研究しているラボに入門すればまず初めに培養細胞にウイルスを感染させる方法を習い、それをブランク法などで定量することを習うであろう。ところが古いウイルス学の論文を読むとウイルスが存在することは動物に接種し発症することにより証明されており、現代と同様の方法でタイターは記載されていない。たとえばはじめてポリオウイルスがトランスミッション可能であることを証明したのもポリオのために死亡したヒト脳のホモジネートをサルに接種し同様の病理学的所見が観察されたことによっている<sup>1)</sup>。ウイルスの継代もサルの脊髄のホモジネートを別の個体に接種するという方法で行われ、定量性もホモジネートを何倍かに希釈して接種したという具合に記載されているのみである<sup>2)</sup>。Theiler's

murine encephalomyelitis virusが分離された頃の論文をみると、ウイルスが存在することを示すために組織のホモジネートをマウスに脳内接種しマヒの有無を指標としている<sup>3)</sup>。脳へ直接ウイルスを接種することがもっとも感度の高い方法であったのでこの方法が用いられた訳である。培養細胞を使用する簡便さを知ってしまった我々にとっては、サルなどの動物を用いてこのような実験をすることの大変さは想像を超えるものがある。現在のような方法でポリオウイルスのタイターが測定されたのはEndersらによってヒト胎児の手足、腸などから調製した初代培養細胞でウイルスが増殖することが証明され<sup>4)</sup>、さらにDulbecco & Vogtによってサルの腎細胞でポリオウイルスを増殖させることができブランクとしてその定量が可能になってからである<sup>5)</sup>。また現行のポリオウイルス生ワクチン株は培養細胞で継代を繰返し培養細胞に馴化させて弱毒化したものである<sup>6)</sup>。1980年代に入り、分子生物学的手法の発達とともにポリオウイルス複製のメカニズムの研究がさかんになされた。ウイルスのmoiや感染開始からの時間など条件を整えることができ、均質な感染系を用いて再現性よく複製機構の研究ができたのは株化細胞を用いた研究ができたからこそである<sup>7,8)</sup>。このように培養細胞系の恩恵は図りしれないものがある。しかし、ウイルスには多くの場合標的組織がきまっていて、それ以外の組織ではほとんど増殖できないことが多い。神経系でしか増殖できないポリオウイルスを別の方法で増殖することはEndersの時代では画

#### 連絡先

〒183-8526 東京都府中市武蔵台 2-6  
 東京都医学研究機構・東京都神経科学総合研究所・微生物研究部門  
 TEL : 042-325-3881  
 FAX : 042-321-8678  
 E-mail : koike@tmin.ac.jp



期的な革新的技術であったはずである。ではこのような革新的な技術（いまとなつては技術ということさえ奇妙であるが）はどのような経緯で開発され、どのような論理的な裏付けがあるのであろうか？

## 2. ポリオウイルスの感染特異性

ポリオウイルスの感染は種特異的で組織特異的である。まず通常のポリオウイルス株の宿主域は霊長類に限定されている。これはポリオウイルスレセプター（PVR）とウイルスの結合特異性によって決定されていることがすでに明らかにされた<sup>9)</sup>。また感染して病変を生じる組織が限定されている<sup>10, 11)</sup>。ポリオウイルスの感染はウイルスを経口的に摂取することからはじまる。チンパンジーの経口感染実験の結果などからウイルスは小腸の粘膜で増殖したのち、扁桃、パイエル板、腸間膜リンパ節などのリンパ装置で増殖すると考えられているが、その増殖の程度は低く激しい病変は観察されない。しかし、ウイルスはここから血流に入り全身に広がる。ウイルス血症となると全身の組織はウイルスに曝されると考えられるが、やはり非神経系組織で

はウイルスの顕著な増殖は見られず、爆発的に増殖するのは脊髄の運動神経細胞などの中枢神経系に限られる。マウスは通常ポリオウイルスの宿主とはならないが、PVR 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス（PVR-tg）は種特異性の壁を越えてポリオウイルス感受性となる<sup>12, 13)</sup>。ヒトと異なり経口感染の効率は非常に低いが、実験的にウイルスを静脈内、腹腔内に接種をするとウイルス血症となる。肝臓、腎臓などではポリオウイルスはほとんど増殖しないが、最終的に中枢神経系に達してマヒを発症することは霊長類と同様である。すなわち、霊長類であれマウスモデルであれ、個体のレベルにおいては神経特異性は厳格に守られている。ところがさまざまな組織を培養するとその特異性はなくなり、増殖がほとんどできないはずの非神経系組織でも単層培養細胞にすることによってウイルスは増えることができるようになる（図1）。つまり組織特異性の喪失が起こるのである。ポリオウイルスの感染の組織特異性と特異性の解除はどのようなメカニズムによって起こるのかは長い間明らかにされることがなかった疑問である。

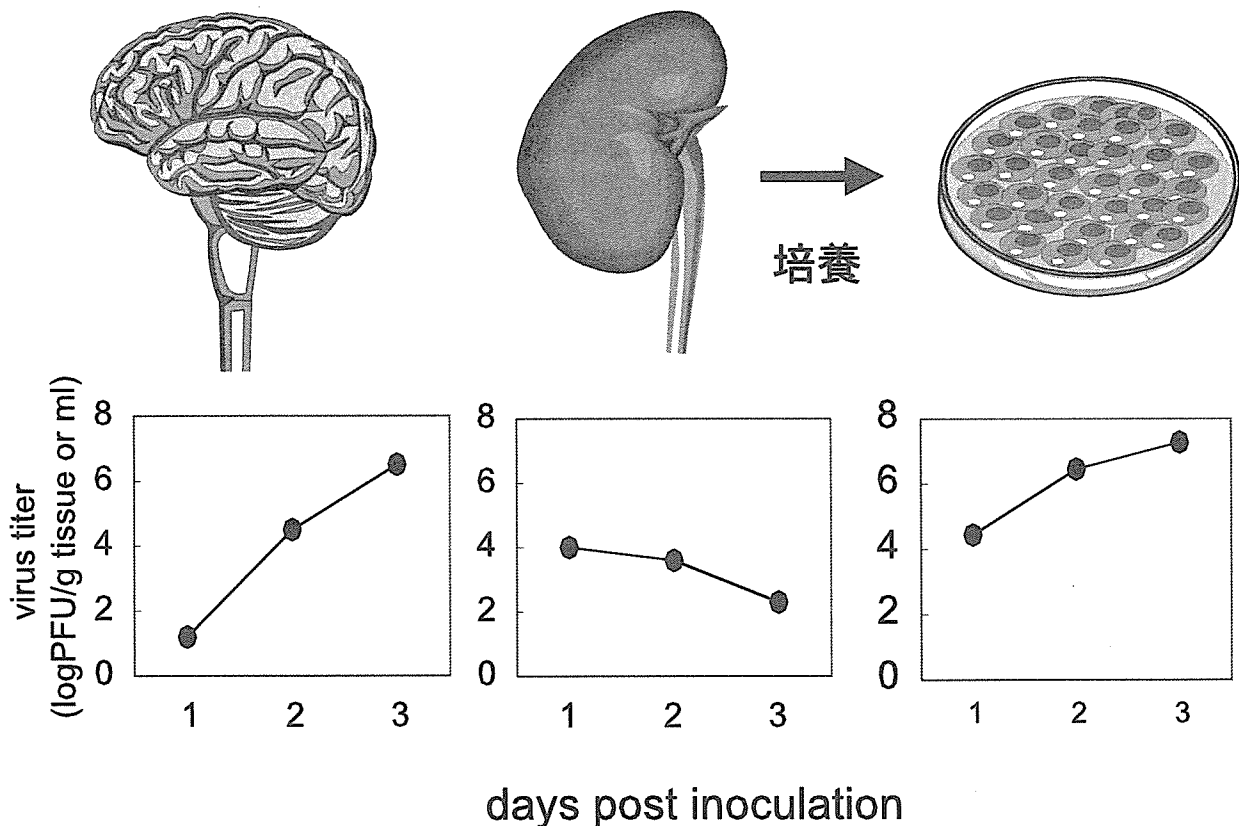


図1 ポリオウイルス感染の組織特異性と特異性の喪失

PVR-tg マウスにポリオウイルスを感染させると脊髄ではウイルスは効率よく増殖し、重篤な病変を生じる（左）。一方腎など非神経系組織ではウイルスの増殖も病変も見られない（中央）。ところが腎細胞を培養するとウイルスは効率よく増殖できるようになる（右）。

### 3. Enders, Dulbecco らによる培養細胞系の確立

培養細胞系を用いて組織特異性の喪失をはじめに示したのは Enders らである<sup>4)</sup>。Enders らはポリオウイルスの生体内の非神経系組織での増殖部位を探ることなどを研究目的の一つとしてヒト胎児の腸、手足などの組織から初代培養細胞を調製しウイルス感受性を調べた。ウイルスが培養細胞の上清に存在するかどうか確認するために、マウスにアダプトした Lansing 株を用いた。Lansing 株は霊長類にも病原性を持つが cotton rat の脳に接種して得られたげっ歯類にも脳炎を起こす性質を持つ株である<sup>14)</sup>。初代培養細胞に少量のウイルス液を加えて培養し、同様の操作を2もしくは3代繰返し、最後の培養上清をマウスの脳に接種し、マヒが発症することを確認した。継代の際の希釈率を計算すると3代の培養の間にウイルスは $10^{17}$ 倍に増殖したと考えられた。この論文では培養細胞が cytopathic effects (CPE) を起こしているかどうか記述がないのだが、CPE を始めて観察したのはこのグループの一員の Robbins であり、Enders が CPE という新しい言葉を作ったということである。

さらに Dulbecco & Vogt はサルの上腎、睾丸から初代培養細胞を作成し、ウイルスを感染させた後に細胞を寒天培地で覆うことによりプラークが形成され、この方法によって再現性よくウイルスの定量が行えることを示した<sup>5)</sup>。培養細胞は鋭敏にウイルスの存在を証明できることから他のウイルスの分離にも使われ、これ以降はなぜこのようなことができるのかという問題はさておき培養細胞系を用いた研究や応用が盛んにされることになる。

### 4. 厳格な神経特異性がなぜ寛容になるのか？

#### — Racaniello らの実験 —

ポリオウイルスの感受性の問題は種特異性、組織特異性、組織特異性の喪失の問題が混然としながら議論されてきた。Holland らはマウスの培養細胞はポリオウイルス感受性を持たないが、ウイルスゲノム RNA をトランスフェクションするとウイルスの増殖が起こることから PVR が細胞のウイルス感受性を決定する因子として重要であることを示した<sup>15, 16)</sup>。これは種特異性に対する回答であるが組織特異性も同様に考えられており、感受性のない生体内の内臓組織には PVR が発現しておらず、培養と同時に PVR が発現しウイルス感受性を獲得すると漠然と考えられていた(図2)。Ren & Racaniello は PVR 遺伝子が単離された後この仮説を検証すべく PVR を発現する tg マウスの腎を用いて実験した<sup>17)</sup>。まず *in situ* hybridization でマウス生体内の腎を調べると培養する前から PVR mRNA は発現していることがわかった。PVR-tg マウスの腎をトリプシンやコラゲナーゼなどのタンパク質分解酵素を用いて分散させ初代培養細胞を調整することができる。PVR-tg マウスの腎を分散させる処理をした直後は、細胞は生きているもののシャーレには付着せず浮遊している。一部の細胞が付着して増殖をはじめ1週間程培養を続けるとききれいな単層培養となるが、この単層培養細胞ではウイルスは増殖することができる。培養開始直後の細胞はタンパク質分解酵素処理によっても PVR が消化されている訳ではなく、ウイルスの結合が起こることにより機能をもつ PVR が発現していることが確認された。しかしウイルスの増殖性はみられなかった。ところ

## ポリオウイルス感受性の獲得機構の仮説

*in vivo*       $\longrightarrow$       *in vitro*

ウイルス複製に必要な因子の発現上昇？

PVR

IRES *trans*-activating factors

ウイルス複製を阻害する因子の発現低下？

図2 培養細胞のポリオウイルス感受性メカニズムの仮説

PVR や IRES *trans*-activating factors などウイルス複製に必要な因子が培養とともに発現が上昇することによってウイルス感受性を獲得するとかつては考えられていたが、Racaniello らの実験によってその可能性が否定された。

が24時間以上経過してからは細胞が浮遊状態であってもウイルスの増殖が認められたと報告している。これらのことから彼等は *in vivo* では発現していなかったPVRが培養操作の後に発現することによってウイルスの感受性が獲得されたのではないこと、しかも重要な変化はウイルスが吸着したあとのステップで起こっていることを結論した。そして彼等はポリオ感染の組織による感受性の違いを規定している機構と培養の前後でウイルス感受性の違いを規定している機構は同じものではないかと考えた。

次に培養の際に変化してウイルス感受性に変化を与える候補と考えられたものは internal ribosome entry によるウイルスタンパクの複製開始効率の変化であった(図2)。Pelletier & Sonenberg によってポリオウイルスの5'非翻訳領域にウイルスタンパクの翻訳開始に必須の internal ribosome entry site (IRES) が発見され<sup>18)</sup>、IRES に結合して IRES を活性化する IRES *trans*-activating factors として polypyrimidine tract-binding protein (PTB), La autoantigen, poly riboC-binding protein-2 (PCBP-2), unr などが同定された<sup>19-23)</sup>。これらの宿主因子が不足するとウイルスタンパクの翻訳開始効率が低下するためにウイルスは増殖できにくくなる。しかし、これらの候補も Racaniello らの実験によって否定された。Kauder & Racaniello は IRES を含むレポーター遺伝子を発現する組換えアデノウイルスを作成し、マウスに感染させた。このレポーター遺伝子は非神経系以外でも発現し、培養前の生体内でも IRES は機能しうることを示した<sup>24)</sup>。彼らは細胞のウイルス感受性に関与しているステップはウイルスの吸着、侵入、さらにウイルスのタンパク合成開始よりもあとのステップであると結論した。

### 5. インターフェロン (IFN) 応答と組織特異性

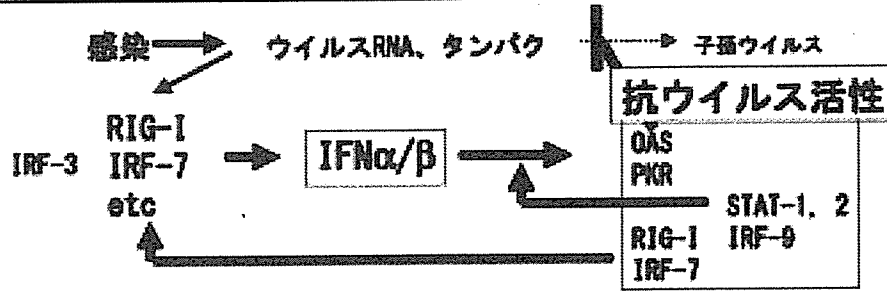
我々は組織特異性を決定する要因として I 型 IFN 応答の組織による違いが重要であることを明らかにした<sup>25-27)</sup>。これを明らかにする過程は最近の総説ですでに述べたので結論だけを簡潔に述べる。PVR-tg マウス生体内の非神経系組織でポリオウイルスの増殖が非常に困難なのはウイルス感染すると IFN 応答が速く、強く起こり複製が妨げられるためである。IFN 応答が起こらない I 型 IFN レセプターノックアウトマウス<sup>28)</sup> と PVR-tg マウスを交配した PVR-tg/Ifnar KO マウスにおいては通常ウイルスの増殖がみられない組織においてもウイルスは増殖することができた。このことは PVR を発現している多くの(すべてかどうかは不確定ではあるが)組織では潜在的にウイルスは複製可能であることを示している。非神経系組織では速く、強い IFN 応答が起こる理由として、これらの組織では神経系組織と比較して、感染が起こっていない状態においても IFN 応答に必要な遺伝子群がより高いレベルで発現していることが考えられる。すなわちこれらの組織では抗ウイルス状態を実現するために必要な 2'-5' oligoadenylate synthetase

(OAS), protein kinase R (PKR) などがはじめから発現していてウイルスの増殖に抵抗しており、さらに RIG-I, MDA5<sup>29, 30)</sup> のような二本鎖 RNA の検出装置、IRF-7<sup>31)</sup> のような IFN 遺伝子の転写に関わる転写因子、IFN-stimulated genes (ISG) の転写に関わる IRF-9, STAT-1, STAT-2 がより多く発現しているためウイルス感染開始直後からより速く応答することができる。1970年代より低濃度の IFN で培養細胞を前処理するとより速く、より強い IFN 応答が起こることが知られておりプライミングと呼ばれている<sup>32)</sup>。これは IFN 応答に関与する上記遺伝子はそれ自身が IFN によって誘導され、正のフィードバックループを形成しているためである<sup>33, 34)</sup>。しがたってプライミングされた細胞では準備万端整っているので応答が起こりはじめると一気に強い抗ウイルス状態となるのでますますウイルス側に不利な状況となる<sup>35, 36)</sup>。一方ウイルスは複製し始めるとプロテアーゼ 2A や 3C の働きにより宿主細胞のタンパク合成を阻害したり、IFN 誘導に関与する転写因子 NF- $\kappa$ B を切断するなどして IFN 応答を抑制することが知られている<sup>37-39)</sup>。通常 HeLa 細胞などにポリオウイルスを感染させても IFN の産生はないことが知られているが、これはそのような IFN 応答抑制が感染後早期に起こるためと考えられる。従って IFN 応答とウイルス増殖のどちらが先手をとるかが大きな問題になり、それによって感染細胞あるいはウイルス増殖の運命が決定される(図3)。ポリオウイルスに対して抵抗を示す非神経系組織中の細胞はすでに IFN 応答の側が先手をとっている格好になっている。このような結果から単層培養を形成する初代培養細胞や株化細胞でポリオウイルスが効率よく増殖できるのは、この IFN 応答によるウイルス複製阻害が起こらなくなっているためではないかと考えた。

### 6. 培養細胞のポリオウイルス感受性と IFN 応答

もし上記の説が正しいのであれば、培養細胞のウイルス感受性の獲得(組織特異性の喪失)は細胞の IFN 応答が低下するために起こるのではないかと推定することができる。この仮説に基づき PVR-tg マウス腎細胞の培養にともなう IFN 応答の変化を調べた<sup>40)</sup>。まず、生体の腎と初代培養細胞での ISG の発現量を調べた。表1に示すように MDA5, STAT-1, STAT-2, IRF-7, IRF-9 などの発現量が半分以下に低下していた。また実際の IFN 応答の素速さを調べるため、PVR-tg マウス個体にはポリオウイルスを静脈内接種し経時的に腎の OAS1a mRNA の発現を調べ、初代培養細胞ではさまざまな moi でポリオウイルスを感染させ、経時的に OAS1a mRNA などの発現を調べた。生体内では応答は6時間以内に起こり OAS1a の上昇が見られた。一方培養細胞ではどのような moi で感染させた場合も OAS1a の上昇は見られなかった(図4)。同様にマウス個体では感染後6時間以内に IFN- $\beta$  の誘導が見られたが、培養細胞ではごく

**プライミングされた細胞での感染**



**プライミングされていない細胞での感染**

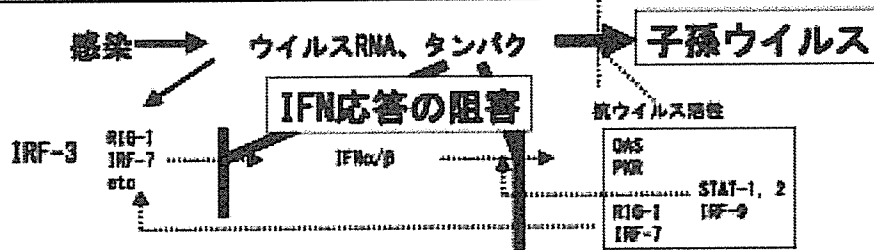


図3 ウイルス増殖に対するIFNによるプライミング効果

細胞を低濃度のIFNで前処理するとRIG-I, MDA5, IRF-7, IRF-9, STAT-1, STAT-2などのISGの発現量が増加する。これによりRIG-I, MDA5によるウイルスRNAの検知, IFN遺伝子の転写, ISGの転写をすぐに行うことができるので, 速く強いIFN応答が可能となり, ウイルスの増殖は抑制される。このとき子孫ウイルスよりも先に多くのIFNが産生され近傍の細胞にも供給されるのでこれらの細胞も含めてウイルス増殖は困難となる。in vivoにおいてはこのような状態にある組織に病変が生じることはない。

一方プライミングされていない細胞ではウイルスタンパクがある程度蓄積すると宿主細胞の翻訳の停止, NF-kBの切断などが起こり, IFN応答を行うことができなくなると考えられる。これによってウイルスは効率よく増殖して感染細胞は死に至る。細胞はIFNをほとんど産生できないので, 近傍の細胞もIFNを受け取ることなく, 増殖した子孫ウイルスの感染を受けてしまうことになる。そのため感染の連鎖が起こりウイルスは効率よく増殖する。

表1 培養による遺伝子の発現量の変化

さまざまな遺伝子のmRNAを定量的RT-PCRで測定し, in vivoの腎の値を100としてin vitroの腎細胞での発現量を示した。MDA5, IRF-7, IRF-9, STAT-1, STAT-2などのISGの発現量が低下している。このために速く強いIFN応答の能力を失ったと考えられた。一方PVR, IRES trans-activating factors, あるいはGAPDHの発現量の低下はみられない。

	in vivo	in vitro
RIG-I	100	85
MDA5	100	42
STAT-1	100	28
STAT-2	100	21
IRF-7	100	16
IRF-9	100	38
PVR	100	137
PTB	100	81
La	100	115
PCBP-2	100	91
unr	100	90
GAPDH	100	98

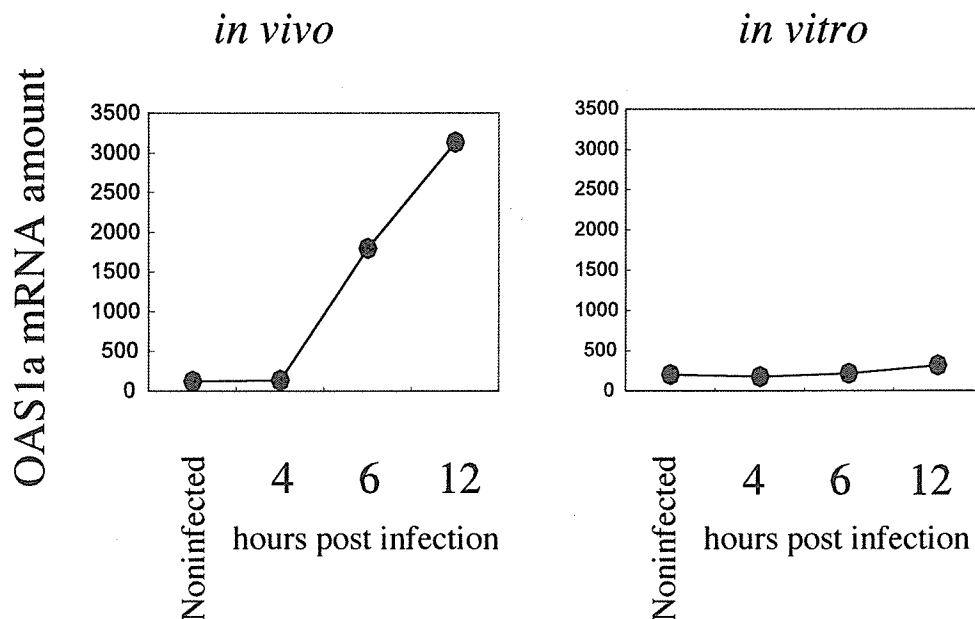


図4 マウス個体中の腎と培養腎細胞の OAS1a の誘導

PVR-tg マウスに 108 PFU のポリオウイルスを静脈内接種し経時的に OAS1a mRNA を定量的 RT-PCR で測定した。また培養腎細胞に moi 10 でウイルスを感染させ、経時的に OAS1a mRNA を定量的 RT-PCR で測定した (左)。マウス個体中では十分な OAS1a の誘導が見られるが、培養細胞ではどのような moi でウイルスを感染させた場合でも誘導はみられない (右)。

わずかな IFN- $\beta$  mRNA が観察されたのみであった。ポリオウイルスの複製は 6 時間程度要することから IFN や ISG の誘導が 6 時間以内に起こるか否かはウイルスの感染が広がるか、広がりが食い止められるかには決定的に重要であるに違いない。

そこで今度は逆に PVR-tg マウス由来の腎細胞に低濃度の IFN を作用させウイルス感染前からこれらの遺伝子の発現レベルを上昇させたのちウイルス感染を行った。するとこのプライミング効果により 6 時間以内に IFN- $\beta$  が上昇し、高 moi で感染させた場合を除いて細胞はウイルスに対して抵抗性を示した。すなわち ISG の発現レベルを上げておけば初代培養細胞といえども生体内の腎細胞と同様にウイルス抵抗性を示すことができた。

ポリオウイルスがよく増殖する HeLa 細胞では応答はさらに鈍化していてどのような moi でポリオウイルスを感染させても IFN- $\beta$  はまったく発現せず、OAS1 遺伝子の上昇も観察されなかった。また HeLa 細胞以外の複数の株化細胞でも少なくとも RIG-I, MDA5, IRF-7, IRF-9 などのいずれかの発現レベルが低くなっており、IFN の誘導も見られなかった。初代培養細胞よりも株化細胞で IFN の誘導が見られない傾向は強いので、細胞を継代していく過程で IFN 応答は鈍化していくか、生育可能な細胞を培養していく操作自体が IFN 応答の鈍い細胞を選択していることになっている可能性がある。いずれにしても生体の中と異なって培養細胞では IFN 応答を維持し続けることが困難なよ

うである。細胞の増殖能力と IFN 応答性の関係は興味深い。がん細胞をさまざまなウイルスを用いて死滅させることが行われているが、特異的に感染させることができるのはこれらの細胞のウイルス抵抗性が生体内においても培養細胞と同様に低いためであるからかも知れない。

一方で Racaniello らの実験によって変動している可能性が否定された PVR や IRES *trans*-activating factors の発現量は彼らの予想通りあまり変化がなかった (表 1)。したがって組織から培養細胞へと環境が変化して細胞がポリオウイルス感受性を獲得する際にもっとも大きな影響を与えるのは IFN 応答であると結論した。

## 7. 終わりに

一見非常に矛盾している生体内とシャーレの中の細胞のポリオウイルス感受性の違いは IFN 応答という共通のキーワードで非常に簡単に説明できることが判明した。ポリオウイルスが複製できるかできないかはどのような場合でも IFN 応答が強く起こるかどうかという点に制限を受けている。このようなメカニズムを IFN response-restricted tropism と呼ぶことを提唱したい。生体内で組織によって IFN 応答の程度が異なったり、培養を開始したりすると IFN 応答が低下するのはどのようなメカニズムによるのは現在不明である。生体内において感染が起こっていない時の ISG の発現レベルは消化管でもっとも高い。食物の摂取とともに侵入してくるウイルスに対して警戒し防御態勢を