

手足口病患者から検出されたエンテロウイルスの遺伝子解析 (2022年~2024年)

高橋 久美子^a, 岡田 若葉^a, 天野 有紗^a, 熊谷 遼太^a, 長島 真美^b, 三宅 啓文^a, 貞升 健志^c, 千葉 隆司^c

手足口病は、主に乳幼児の口腔粘膜及び手や足などに水疱性の発しんが出現する急性ウイルス性疾患であり、その原因はエンテロウイルス属ウイルスによるものである。感染症発生動向調査により病原体定点医療機関から搬入された手足口病と診断された患者の咽頭拭い液等の検体を検査したところ、2022年から2024年までの3年間に検体161件中137件 (85.1%) からエンテロウイルス属のウイルスが検出された。そのうち、手足口病の主要な原因ウイルスであるコクサッキーウイルスA群6型 (CA6), A群16型 (CA16), またはエンテロウイルス71型が検出されたのは116件 (84.7%) であった。流行の主体となるウイルスは年により異なり、2022年の手足口病流行時に検出されたウイルスは主にCA6であったが、2024年の手足口病の流行は二峰性になり、最初には主にCA6が、後半の流行時には主にCA16が検出された。

キーワード: 手足口病, エンテロウイルス, コクサッキーウイルスA群6型, コクサッキーウイルスA群16型, VP1

はじめに

手足口病は、感染症法において定点医療機関からの届出により把握される五類感染症である。感染症法による発生動向調査¹⁾では、定点医療機関からの届出による疾病の発生状況の把握に加え、病原体定点医療機関が患者から採取した検体について検査を実施し、流行に関与した病原体を特定している。手足口病についても、東京都健康安全研究センター (以下当センター) では、都内の病原体定点医療機関から患者検体提供を受け、原因ウイルスの検出、解析を実施している。

手足口病は²⁾、口腔粘膜および手や足などに水疱性の発しんが出現する急性ウイルス性疾患であり、例年、主に乳幼児を中心に夏から秋に流行する。約3分の1の患者において発熱を伴うが、一般的には軽症で予後は良好な疾患である。主な感染経路は、患者の咳などからの飛まつ感染、水疱内容物や便に排出されたウイルスによる経口・接触感染等である。

東京都内における過去10年間の定点医療機関からの報告状況では、COVID-19流行中の2020年から2023年を除くと、手足口病は小さな流行と警報基準 (5人/定点) を超えるような大きな流行を隔年で繰り返している³⁾。2024年は、24週に警報基準を超えた後50週まで発生が続き、例年になく長期間流行する状況となった。

手足口病の原因となるエンテロウイルスはコクサッキーウイルスA群6型 (以下CA6), コクサッキーウイルスA群16型 (以下CA16), エンテロウイルス71型 (以下EV71) 等である^{4,5)}。従来、手足口病患者から検出されるウイルスは、CA16やEV71が多かったが、2009年以降はCA6の検出が増加し、手足口病の主要な原因ウイルスに加わった⁶⁾。

感染したウイルスにより出現する症状に違いがあり、特にEV71は中枢神経系合併症の発生が他のウイルスより高く、過去に諸外国で死亡例を含む集団感染の報告があり注意が必要である。また、CA6では、発症から数週間後に爪甲脱落症を呈することがあることなどが知られている⁷⁾。

今回、2022年から2024年までの3年間に感染症発生動向調査として定点医療機関から搬入された、手足口病を疑う患者の検体より検出されたエンテロウイルスの検出状況について検討を行ったので報告する。

実験方法

1. 供試材料

2022年から2024年の間に病原体定点医療機関において手足口病の疑いと診断され、発生動向調査事業として搬入された検体161件 (2022年48件, 2023年24件, 2024年89件) を対象とした。なお、検体種の内訳は咽頭拭い液が157件、鼻汁2件、水疱内容物2件であった。

2. 遺伝子検査方法

1) 遺伝子抽出

ウイルスRNAは、Viral RNA mini Kit (QIAGEN) を用いて、検体140 µLから抽出した。

2) エンテロウイルス属の検出及び型別検査

エンテロウイルスの検出は、病原体検出マニュアル⁸⁾に従い、カプシド蛋白領域のVP1領域を利用したCODEHOP PCR法による遺伝子検査、またはVP4-VP2-semi-nested RT PCR法による遺伝子検査、もしくはその両方により実施した。反応後のPCR産物について、BigDye V3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) にて増幅後、ABI

^a 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター企画調整部健康危機管理情報課

^c 東京都健康安全研究センター微生物部

表1. 病原体定点医療機関から手足口病疑いとして搬入された検体からのエンテロウイルス検出状況

搬入年	搬入検体数	陽性数	内訳（複数検出有）						
			CA6	CA16	EV71	CA10	CB	E11	ライノ
2022	48	37	29	5					3
2023	24	21	1	10	5			1	6
2024	89	79	25	29	12	4			2
合計	161	137	55	44	17	4	1	2	26

3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いて塩基配列を決定した。

3) 血清型の決定と分子系統樹解析

エンテロウイルスの血清型の決定は、VP1領域またはVP4-VP2領域の塩基配列解析により行った。

すなわち、前述の方法により得られたVP1領域またはVP4-VP2領域の塩基配列を用いて、NCBIのBlastによる相同性検索、およびNational Institute for Public Health and the Environment が提供している型別分類サイト（<http://www.rivm.nl/mpf/enterovirus/typingtool/#/> 及び <http://www.genomedetective.com/app/typingtool/virus/>）による解析により型別を決定した。

また、得られたVP1領域の配列（CA6は256塩基、CA16は213塩基）を用いて、遺伝子解析ソフトMEGA11により近接結合法による分子系統樹を作成し、データベース上の既登録塩基配列と比較を実施した。なお、樹形の信頼性に関しては、ブートストラップ法を用いて確認した。

結果及び考察

1. エンテロウイルス属の検出状況

東京都における2022年から2024年までの手足口病の定点医療機関からの報告数は、図1のとおりである。3年間のうち、2022年と2024年は、警報基準である5人/定点を超える時期がある状況であった。病原体定点医療機関からの当センターへの疑い例検体の搬入数は、届出数の推移と関連し、

2024年が最も多く、2023年が最も少なかった（表1）。

搬入された検体161件のうち、137件（85.1%）からエンテロウイルス属が検出された（表1）。検出されたエンテロウイルス属の種類は、CA6が55件、CA16が44件、EV71が17件、コクサッキーウイルスA群10型（CA10）が4件、コクサッキーウイルスB群5型（CB5）が1件、エコーウイルス11型（E11）が2件、ライノウイルスが26件であった。また、ライノウイルスのうち11件は他のエンテロウイルス属のウイルスと共に検出された。ライノウイルスは単独の場合でも他のウイルスと共に検出された場合においても検体の搬入時期を通じて満遍なく検出されていた。

2. 3種のエンテロウイルス属（CA6, CA16, EV71）の検出時期

手足口病の主要な原因ウイルスであるCA6, CA16, EV71の3種の検出割合は、最も高い2024年で約74.2%、低い2023年でも66.7%であった。CA6, CA16, およびEV71の検出時期（検体採取週）および手足口病の定点医療機関あたりの患者報告数と3種のウイルスの検出数を図1に示す。

2022年は、第24週のCA16の検出からエンテロウイルス属が連続して検出され始めた。CA16の検出は3週連続した以降、年末までなかったが、第26週からはCA6が検出され始めた。CA6の検出は、第42週まではほぼ連続で検出された。また、2022年は、第30週には報告数が手足口病の警報基準5人/定点を超え、第40週に警報解除となるまで続き、CA6

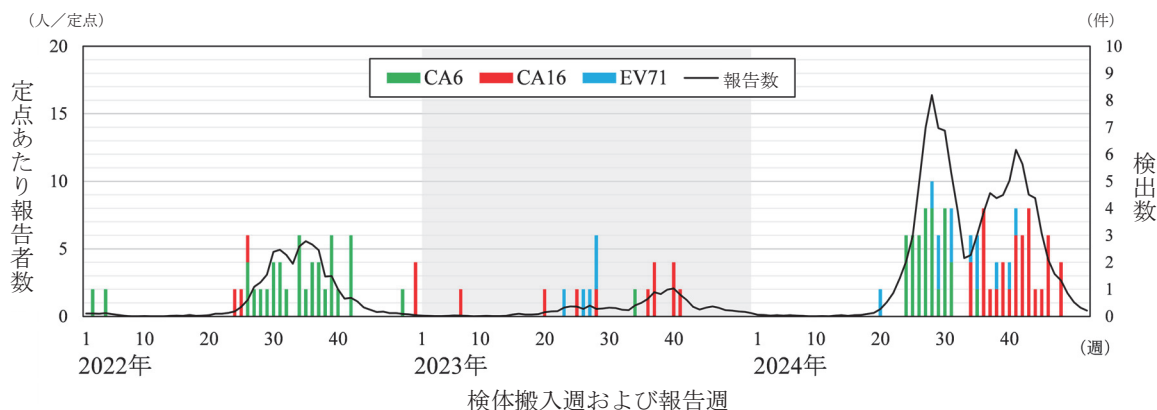


図1. 報告週別の手足口病の患者報告数と3種のエンテロウイルス（CA6, CA16, EV71）の検出数

の検出はこの期間と一致していた。

2023年は、第20週から第30週の間、CA16とEV71が連続して検出された。また、第34週から第41週にもCA16が検出されている。2023年は、手足口病の報告数は警報基準を超えることはなかったが、CA16やEV71の検出された時期は、報告数が増えた時期と一致していた。

2024年、CA6は第24週から第35週まで、EV71は第20週に1件検出した後、第28週から第41週までにそれぞれ集中して検出された。また、CA16はCA6と入れ替わるよ

うに第34週から第48週まで検出された。2024年の手足口病の報告数は第28週と第41週をピークとする二峰性を示したが、これは、前半はCA6と後半はCA16と2種類のウイルスが異なる時期に流行したことに起因すると推察される。

3. CA6及びCA16の分子系統樹解析

1) CA6の分子系統樹解析

CODEHOP PCR法によって得られた2022年から2024年のVP1領域の塩基配列を、2014年以降に東京都で検出した

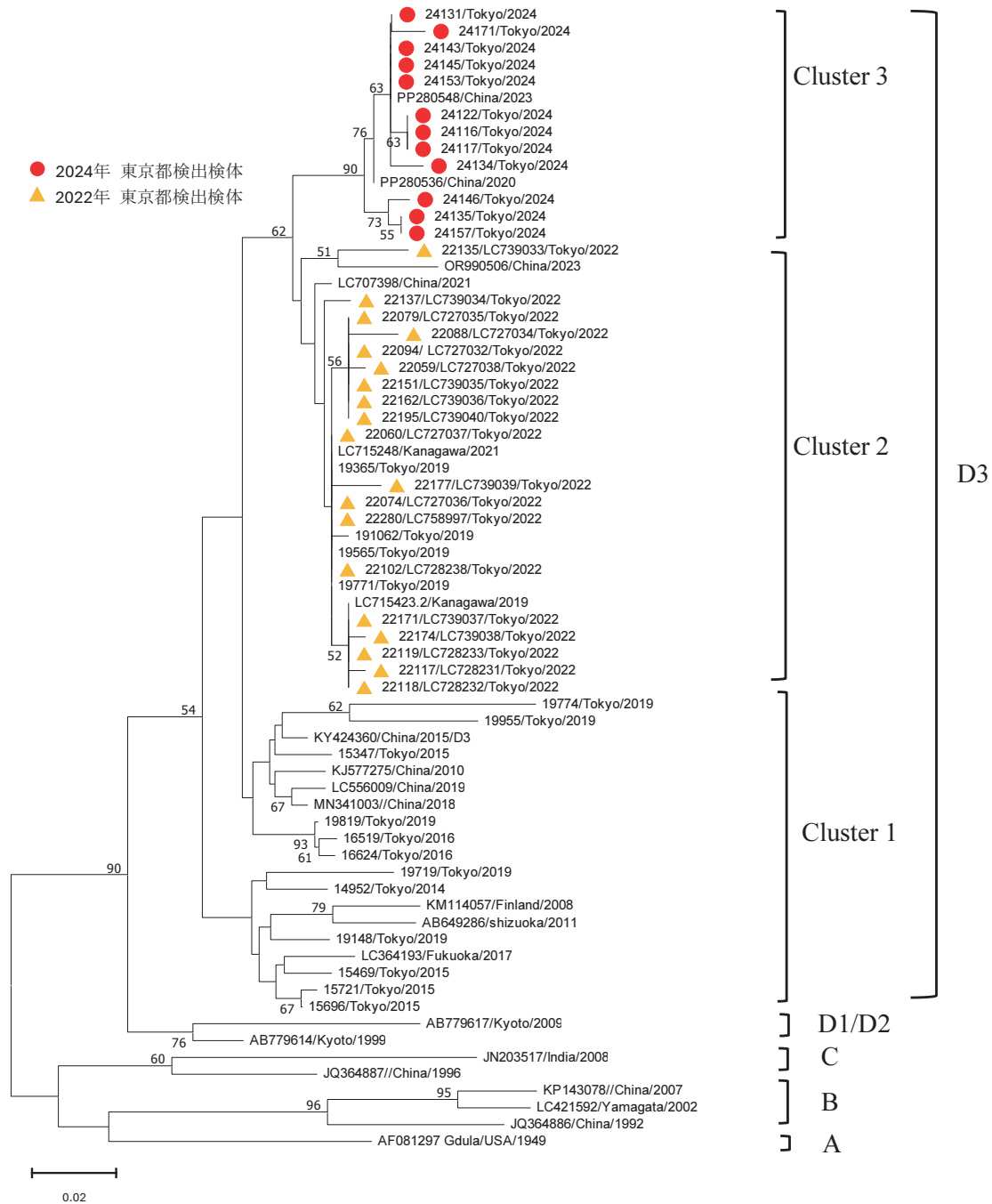


図 2. 東京都において検出された CA6 の分子系統樹解析 (VP1 領域, 256 塩基)

CA6の塩基配列等と共に分子系統樹を作成した(図2)。その結果、流行年ごとにクラスタを形成した。

CA6は、標準株をもととしてA系統、2000年前後に流行していたB系統、インド、中国から報告されたC系統、そしてD系統に大きく分類される⁹⁾。Zhangら¹⁰⁾によると、D系統には2010年頃まで日本などで報告のあるD1系統、2013年頃まで中国で報告されたD2系統、その後報告されているD3系統があるとしている。また、Tsukagoshiらの

報告¹¹⁾では、D3系統を検出された時期によりD系統のCluster 1-3と細分化しており、従来Cluster 1に属する系統が東京都を含む日本各地で検出されていたとしている。また、Tsukagoshiら¹¹⁾は、D系統(ZhangらではD3系統に相当)のCluster 2に日本各地で2019年から2023年に検出したCA6が含まれ、2024年(7月まで)に検出したCA6はそれとは別のCluster 3に含まれていたと報告している。我々の解析でも、東京都で2022年に検出したCA6はすべてCluster 2に含

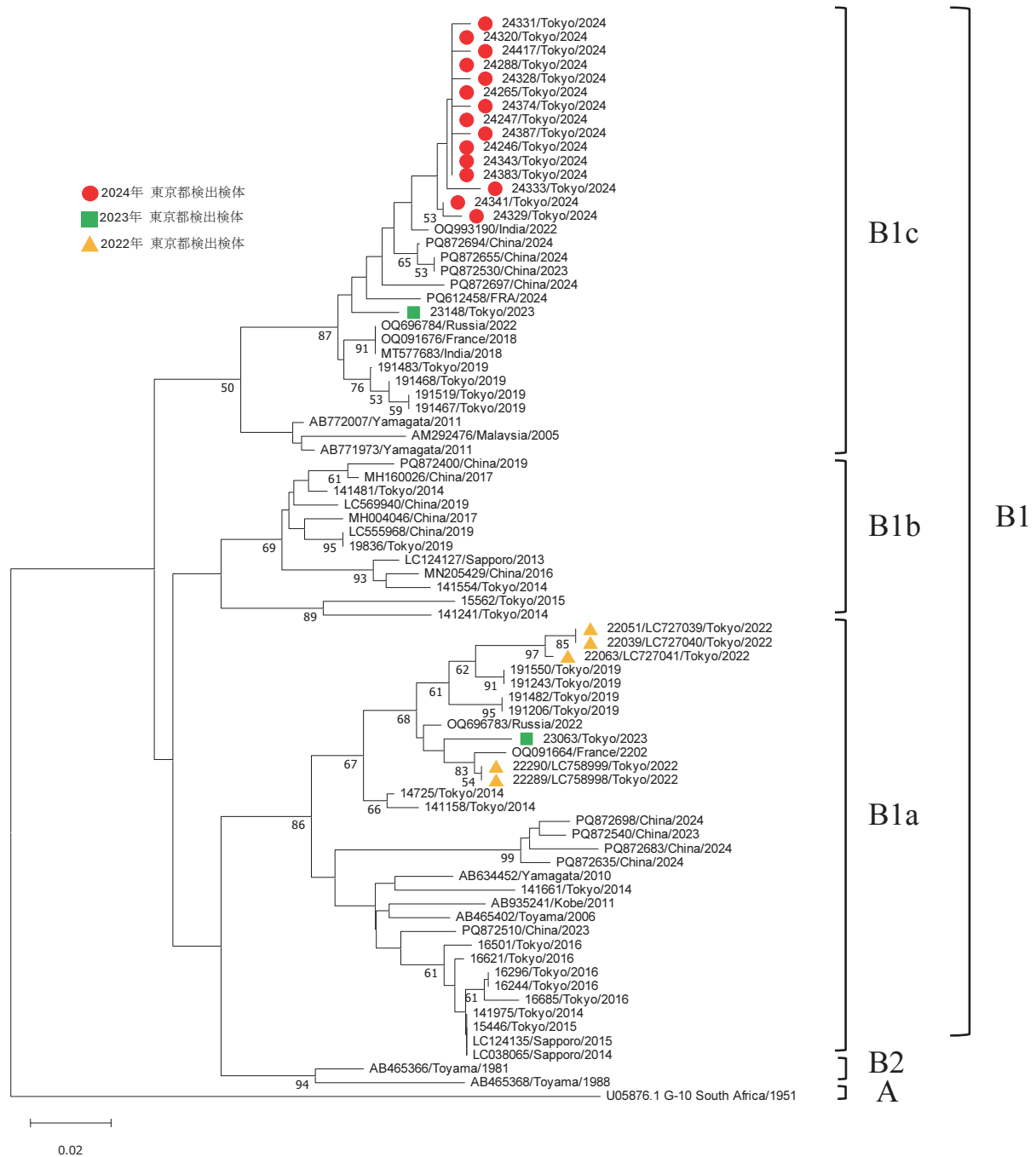


図3. 東京都において検出されたCA16の分子系統樹解析(VP1領域, 213塩基)

まれ、2024年は7月以降も含めてすべてCluster 3に含まれることが確認された。このことから、CA6による手足口病の流行は、2022年はD3系統のCluster 2、2024年はD3系統のCluster 3にそれぞれ属する系統の異なるウイルスによるものであったと考えられる。

2) CA16の分子系統樹解析

CODEHOP PCR法によって得られた2022年から2024年のVP1領域の塩基配列を、2014年以降に東京都で検出したCA16の塩基配列等と共に分子系統樹を作成した(図3)。その結果、流行年ごとにクラスタを形成した。

CA16は、A系統、B1系統、B2系統という3つの遺伝子グループに大きく分類される¹²⁻¹⁴⁾。B2系統は2000年頃には見られなくなったとされ、今回の解析でも東京都で2014年以降に検出されたCA16はすべてB1系統に分類された。また、B1系統はさらにB1a、B1b、B1cの3つの亜系統に分類される^{15,16)}。我々の解析では、2022年の検体はすべてB1a系統、2023年の検体はB1a系統とB1c系統、そして、2024年の検体はすべてB1c系統に分類された。B1c系統は、2023年から2024年にかけて大きく流行した中国での手足口病の一因であった¹⁶⁾。中国との関連性は不明であるが、東京都でも同様に、CA16のB1c系統が2024年に流行した手足口病の後半の流行の一因となっていた。

ま と め

2022年から2024年までの3年間に感染症発生動向調査において病原体定点医療機関から搬入された手足口病患者検体にウイルス検査を実施した。161件中137件からエンテロウイルス属が検出され、手足口病の主要な原因ウイルスであるCA6、CA16、EV71の順に検出数が多かった。

手足口病の報告数が警報基準を超えた2022年はCA6が最も多く検出され、それは分子系統樹解析の結果、国内各地で検出されたCA6と同様にD系統のCluster 2に属していた。また、2024年は二峰性の流行であり前半の流行のピークはD系統のCluster 3に属しているCA6によるものであり、後半の流行はB1系統のB1cに属しているCA16によるものであった。

手足口病は、COVID-19流行中の2020年から2023年を除くと、例年、夏から秋にかけて小さな流行と警報基準を超えるような大きな流行を隔年で繰り返している。2022年か

ら2024年の3年間も同様に隔年の流行が見られたが、2024年は例年とは異なる二峰性の流行となった。これは、CA6とCA16という2種類のウイルスが異なる時期に流行したことに起因した。今後も、海外を含めた流行状況について、エンテロウイルスの血清型や詳細な遺伝子配列の情報に注視していくことが必要と考えられる。

文 献

- 1) 東京都感染症発生動向調査事業実施要綱, 平成12年3月30日, 令和7年3月31日最終改正.
- 2) 国立感染症研究所, IDWR 感染症の話, 手足口病, 2014年10月17日改訂
- 3) 東京都微生物検査情報, **46(2)**, 1-5, 2025.
- 4) 病原微生物検査情報, **38**, 191-192, 2017.
- 5) 鈴木 愛, 長谷川道弥, 岡崎輝江, 他: 東京健安研七 年報, **68**, 49-54, 2017.
- 6) Blomqvist S., Klemola P., Kaijalainen S., et al.: *J Clin Virol.*, **48**, 49-54, 2010.
- 7) 国立健康危機管理研究機構: 感染症情報提供サイト, 手足口病.
<http://d-info.jihs.go.jp/diseases/ta/hfmd/010/hfmd.html>
(2025年7月8日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 8) 国立感染症研究所, 手足口病, 病原体検査マニュアル Ver. 2. 令和5年6月.
- 9) Song Y., Zhang Y., Ji T., et al.: *Sci. Rep.*, **7**, 5491, 2017.
- 10) Zhang M., Chen X., Wang W., et al.: *Infect. Genet. Evol.*, **106**, 105378, 2022.
- 11) Tsukagoshi H., Nagashima M., Takahashi K., et al.: *Jpn. J. Infect. Dis.*, in press.
- 12) Zhang Y., Wang D., Yan D., et al.: *J. Clin. Microbiol.*, **48**: 619-622, 2010.
- 13) Iwai M., Masaki A., Hasegawa S., et al.: *Jpn. J. Infect. Dis.*, **62**: 254-259, 2009.
- 14) Mizuta K., Abiko C., Aoki Y., et al.: *Microbiol. Immunol.*, **57**: 400-405, 2013.
- 15) Hu Y., Jia L., Yu F., et al.: *World J. Pediatr.*, **17**: 508-516, 2021.
- 16) Zeng H., Zeng B., Yi L., et al.: *Viruses.*, **17**: 219-226, 2025.

Genetic Analysis of Enteroviruses Detected in Patients with Hand, Foot, and Mouth Disease (2022–2024)

Kumiko TAKAHASHII^a, Wakaba OKADA^a, Arisa AMANO^a, Ryota KUMAGAI^a, Mami NAGASHIMA^a,
Hirofumi MIYAKE^a, Kenji SADAMASU^a, and Takashi CHIBA^a

Hand, foot, and mouth disease (HFMD) is an acute viral illness characterized by vesicular eruptions on the oral mucosa, hands, feet, and other areas. The responsible pathogens belong to the genus Enterovirus. Between 2022 and 2024, 161 specimens such as throat swabs were collected at designated sentinel medical institutions from patients diagnosed with HFMD, in accordance with the Infectious Disease Surveillance System. Enteroviruses were identified in 137 of the 161 collected specimens, and the 116 specimens were positive for Coxsackievirus A6, A16 or Enterovirus 71, which were recognized as the primary causative pathogens of HFMD. Coxsackievirus A6 was the predominant virus during the HFMD outbreak in 2022. During the HFMD outbreak in 2024, a biphasic pattern was observed, with Coxsackievirus A6 and A16 as the predominant pathogens during the first and second peaks, respectively.

Keywords: Hand, foot, and mouth disease, Enterovirus, Coxsackievirus A6, Coxsackievirus A16, Enterovirus 71

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan