

表 1 ウイルス検出結果

検体採取月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	合計
RSV-A		1			3		4
RSV-B	5	1	2	16	9	7	40
HRV-A	6	7	7	4	4	11	39
HRV-B	2						2
HRV-C	1	3	7				11
HMPV 1b		3	1				4
HMPV 2a		1	1		1	1	4
HMPV 2b	3						3
HPIV 3			7				7
HBoV	1	6	4	3	1		15
AdV	3	2	5		4		14
合計	21	24	34	23	22	19	143

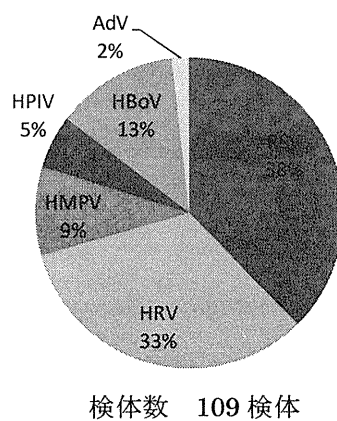
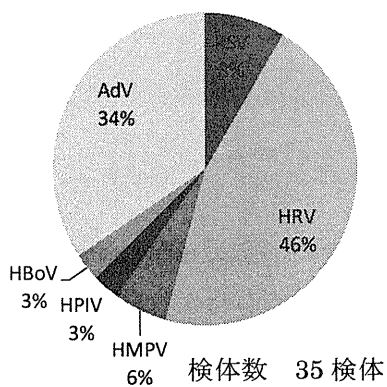


図 1 上気道炎患者から検出されるウイルス

図 2 下気道炎患者から検出されるウイルス

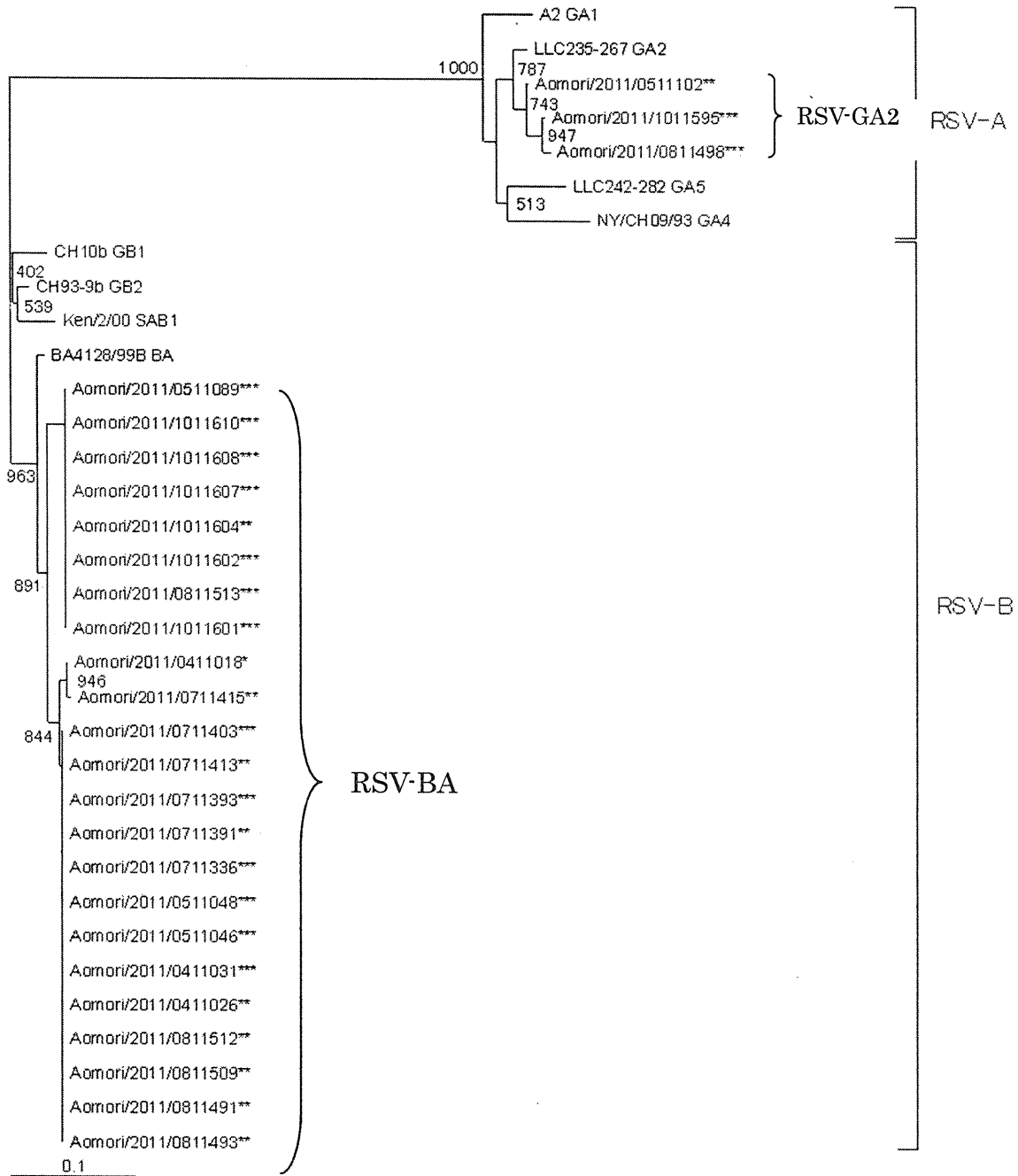


図4 RSV (G 遺伝子 (RSV-A : 371nt、RSV-B : 424nt) 分子系統樹

\* : Bronchitis

\*\* : Bronchiolitis

\*\*\* : Pneumonia

「\*」無し : URI (Upperrespiratory illness)

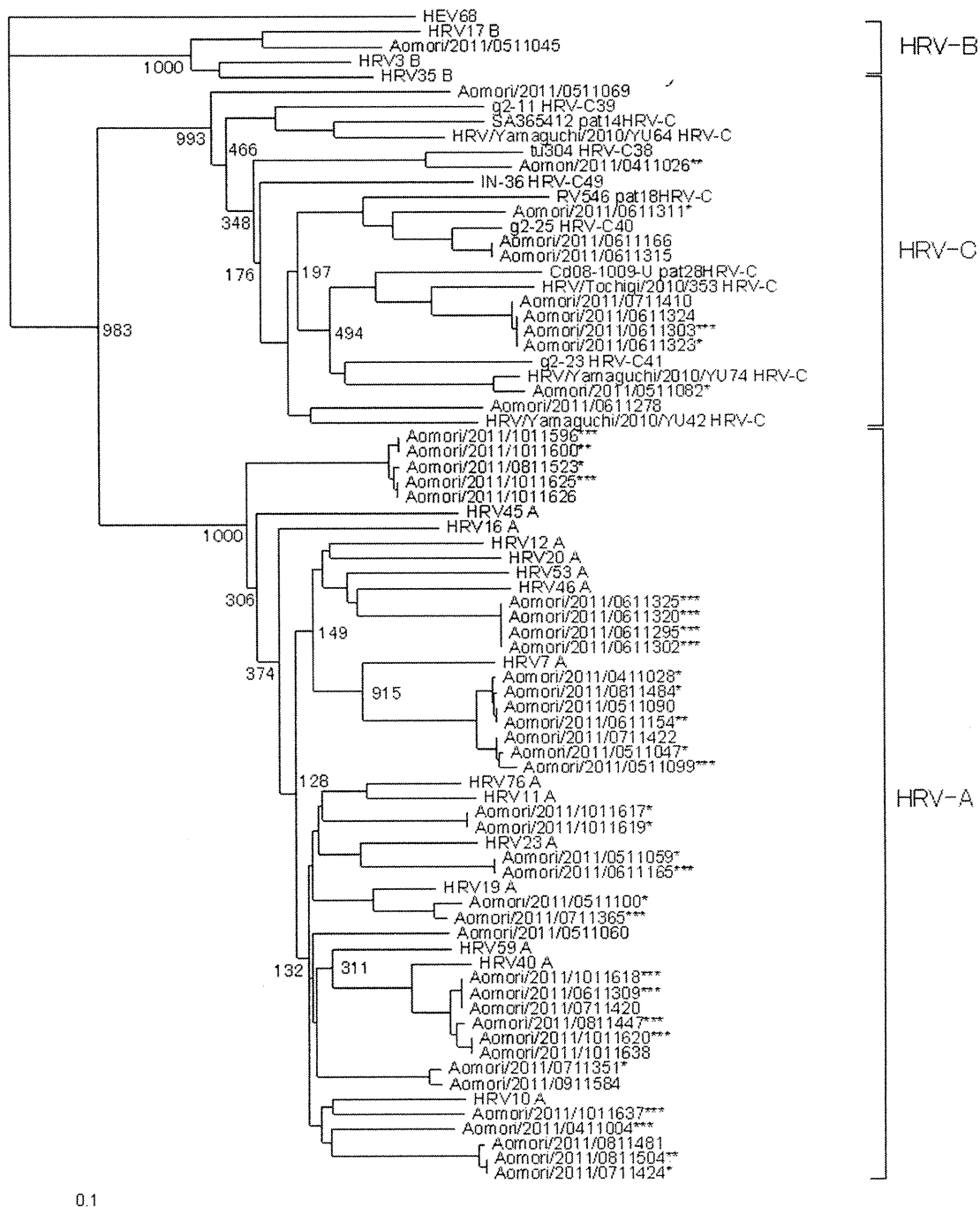


図5 HRV (VP4/VP2 遺伝子 (HRV-A・B : 390nt、HRV-C : 384nt)) 分子系統樹

\* : Bronchitis

\*\* : Bronchiolitis

\*\*\* : Pneumonia

[\*]無し: URI(Upperrespiratory illness)

## 乳幼児 RS ウイルス感染症入院例における退院後の喘鳴に関する検討

研究協力者 宮地裕美子 藤沢市民病院小児科  
研究協力者 菅井 和子 独立行政法人国立病院機構横浜医療センター  
小児科

### 研究要旨

Respiratory syncytial virus(RSV)は乳幼児期の代表的な気道感染ウイルスであり、1歳までに約70%の児、2歳までにはほぼすべての児がRSVに感染することが知られている。RSVに感染した児の多くは上気道炎を呈するのみであるが、一部は急性細気管支炎などの喘鳴を伴う下気道感染症へと進行し、さらにその約半数以上の児が下気道感染症罹患後に気道過敏性の亢進が持続して喘鳴を反復するといわれている。そこで今回、RSウイルス感染後の喘鳴出現頻度やその患者背景について検討した。

2008年7月～2010年5月に迅速検査にて同定され、RSV感染症で当科にて入院加療を行った乳幼児例200例の内、退院後6ヶ月以上経過を追跡できた114例について、退院後の喘鳴出現状況を後方視的に検討した。

入院時平均月例は $11.0 \pm 10.7$ ヶ月。退院後から調査までの期間は $13.9 \pm 5.6$ ヶ月(6-29ヶ月)。入院前、入院時を含めて3回以上喘鳴を認めていた13例を除き、残り101例の内、退院後に喘鳴を認めた例は40例(0-2ヶ月児7例、3-11ヶ月児21例、12ヶ月以上の児12例)であった。40例の内、入院中喘鳴ありは23例、喘鳴なしは17例。退院後喘鳴出現時期は各々 $3.6 \pm 3.1$ カ月、 $5.8 \pm 4.9$ ヶ月、喘息家族歴は7例、0例であった。入院中喘鳴を認めた例ではその後の喘鳴出現までの期間が短く、家族歴も有意に高かった。

RSウイルス罹患後40%の児に喘鳴が出現し、入院中の喘鳴やロイコトリエン拮抗薬内服の有無、月齢に有意差を認めなかった。

RSウイルス感染症入院児において早期に喘鳴を認め、喘息の家族歴を有する児に対しては治療の早期介入や生活環境整備の必要性が示唆された。

### A.研究目的

Respiratory syncytial virus(RSV)は乳幼児期の代表的な気道ウイルスであり細気管支炎や肺炎等の重篤な呼吸器症状を呈し、入院加療を要することが多く、乳幼児期の反復する喘鳴の原因ウイルスとして重要である。

今回、RSV感染後の喘鳴出現頻度とその患者背景について関係性を明らかにし、外来診療上の注意点を見出す目的で以下の検討を行った。

### B.研究方法

2008年7月～2010年5月の間に気道症状(気管支炎、細気管支炎、肺炎等)を呈し、迅速検査にてRSV感染と同定され、当科で入院加療を行った乳幼児例(0-6歳児)。

RSウイルス感染の診断は、入院時の鼻咽頭

ぬぐい液を用い、迅速診断キット(商品名:チェックRSV $\oplus$ , アルフレッサ)にて行った。

対象例に対し、入院病日、入院期間喘鳴の有無、入院時発熱の有無、呼吸数やSpO<sub>2</sub>、WBC、CRPなどの検査結果、基礎疾患の有無、退院後の喘鳴出現状況につき、入院外来診療録を用い、後方視的に調査し、比較検討した。

統計学的解析について、群間の比較は $\chi^2$ 検定、t検定にて行い、有意確率(p値)が0.05未満において有意差ありと判断した。また結果は平均値 $\pm$ 標準偏差で表記した。

### C.研究結果

退院後6ヶ月以上経過を追跡できた114例を検討した。入院時平均月例は $11.0 \pm 10.7$ ヶ月。退院後から調査までの期間は $13.9 \pm 5.6$ ヶ月

(6-29 ヶ月)。入院前、入院時を含めて3回以上喘鳴を認めていた13例を除く101例の内(入院中喘鳴ありは55例、なしは46例)、退院後に喘鳴を認めた例は40例(0-2 ヶ月児7例、3-11 ヶ月児21例、12 ヶ月以上の児12例)であった(図1)。

入院前に喘鳴を認めなかった101例の入院時の入院病日、入院期間、喘鳴の有無、入院時発熱の有無、呼吸数やSpO<sub>2</sub>、白血球数、CRPなどの検査結果は表1の通りであった。退院後喘鳴を認めた群、認めなかった群で入院時の発熱の有無(P=0.04)、喘息家族歴(P=0.04)、入院中のLTRA内服の有無(P=0.01)、胸部Xp上過膨脹所見の有無(P=0.04)については有意差を認めたが、その他入院時の喘鳴の有無やSpO<sub>2</sub>などには有意差を認めなかった。また101例中、入院中LTRA内服児は20例、うち退院後に喘鳴を認めた例は11例であった。

退院後に喘鳴を認めた40例の内、入院中喘鳴ありは23例、喘鳴なしは17例、退院後喘鳴出現時期は各々3.6±3.1カ月、5.8±4.9ヶ月、喘息家族歴は7例、0例で入院中喘鳴を認めた例ではその後の喘鳴出現までの期間が短く、家族歴も有意に高かった(p=0.01)。

退院後に喘鳴認め、LTRA内服を開始した児は29例、平均内服期間は12.6±5.5カ月だった(表2)。

RSウイルス感染症にて入院加療を要した児のうち40%に喘鳴が出現し、入院中の喘鳴やLTRA内服の有無、月齢に有意差を認めなかった。

#### D. 考察

乳幼児期早期のRSVによる重症下気道感染症は、後の喘息発症率を増加させることが多数報告されている<sup>1,2)</sup>。早産児の抗RSVモノクローナル抗体による予防的介入による検討からもRSV感染症の反復性喘鳴や気管支喘息への関与が示唆されている<sup>3)</sup>。

喘鳴出現頻度として、RSウイルス感染群での喘鳴、喘息の発症率は13-60%と米国、欧州を中心に報告されている<sup>4-6)</sup>。日本での追跡調査でも50-60%と報告されている<sup>7,8)</sup>。本検討でもRSV感染症にて入院加療を要した児のうち40%に喘鳴が出現した。

その危険因子として、RSV以外にもタバコ、空気アレルゲンの暴露といった環境因子と、喘息の家族歴、アトピー素因、サイトカイン調節異常などの遺伝因子、乳児での発育段階などの

条件によると推測されている<sup>8,9)</sup>。本検討では、家族歴を有する児はその後の喘鳴発生率が有意に高値であった。

本検討ではRSウイルスによる下気道感染症において、入院早期から喘鳴を認め、家族歴を有する児は、その後の喘鳴反復の出現時期は早期であり、そのようなハイリスク児の治療の早期介入や生活環境整備が必要と考えられた。

予防開始時期や予防期間などについては明確な見解はなく、今後の検討が必要と考えられる。

#### E. 結論

RSV感染症入院児において発症早期に喘鳴を認め、喘息の家族歴を有する児に対しては治療の早期介入や生活環境整備の必要性が示唆された。これらの症例に注意深くフォローアップしていく必要がある。

#### F. 研究成果

##### 1. 学会発表

1) 宮地裕美子、菅井和子：乳幼児RSウイルス感染症入院例における退院後の喘鳴に関する検討、第48回小児アレルギー学会、2011年10月28-30日、福岡市

##### 引用文献

- 1) Sigurs N : Asthma and allergy patterns over 18 years after severe RSV bronchiolitis in the first year of life. *Thorax* 65(12): 1045-52, 2010.
- 2) Lone Graff Stensballe, Simonsen JB, Thomsen SF, Larsen AM et.al : The causal direction in the association between syncytial virus hospitalization and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 123:131-7, 2009.
- 3) Simoes EA : Palivizumab prophylaxis, respiratory syncytial virus, and subsequent recurrent wheezing. *J Pediatr* 151:34-42, 2005.
- 4) Henderson : Hospitalization for RSV bronchiolitis before 12 months of age and subsequent asthma, atopy and wheeze: a longitudinal birth cohort study. *J Pediatr Allergy Immunol* 16(5) : 386-92, 2005.
- 5) Bont L, Steijn M, Van Aalderen WM, et.al: Seasonality of long term wheezing following respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection. *Thorax* 59 : 512-516, 2004.
- 6) Sigurs N, Gustafsson PM, Bjarnason R, et.al : Severe respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy and asthma and allergy at age 13. *Am J Respir Crit Care Med* 171:137-141, 2005.

7) 細木興亜, 長尾みづほ, 平口雪子, 徳田玲子, 藤澤隆夫ら:RS ウイルス感染症入院例における退院後の喘鳴についての検討. アレルギー 58:1513-1520, 2009.

8) 高橋豊,羽田美保, 川原朋乃ら : RS ウイルス感染症により入院した児のその後の喘鳴性疾患罹患に関する検討. 日本小児科学会誌 110:663-7, 2006.

9) Singh AM : Bronchiolitis to asthma: a review and call for studies of gene-virus interactions in asthma causation. Am J Respir Crit Care Med 175:108-119, 2007.

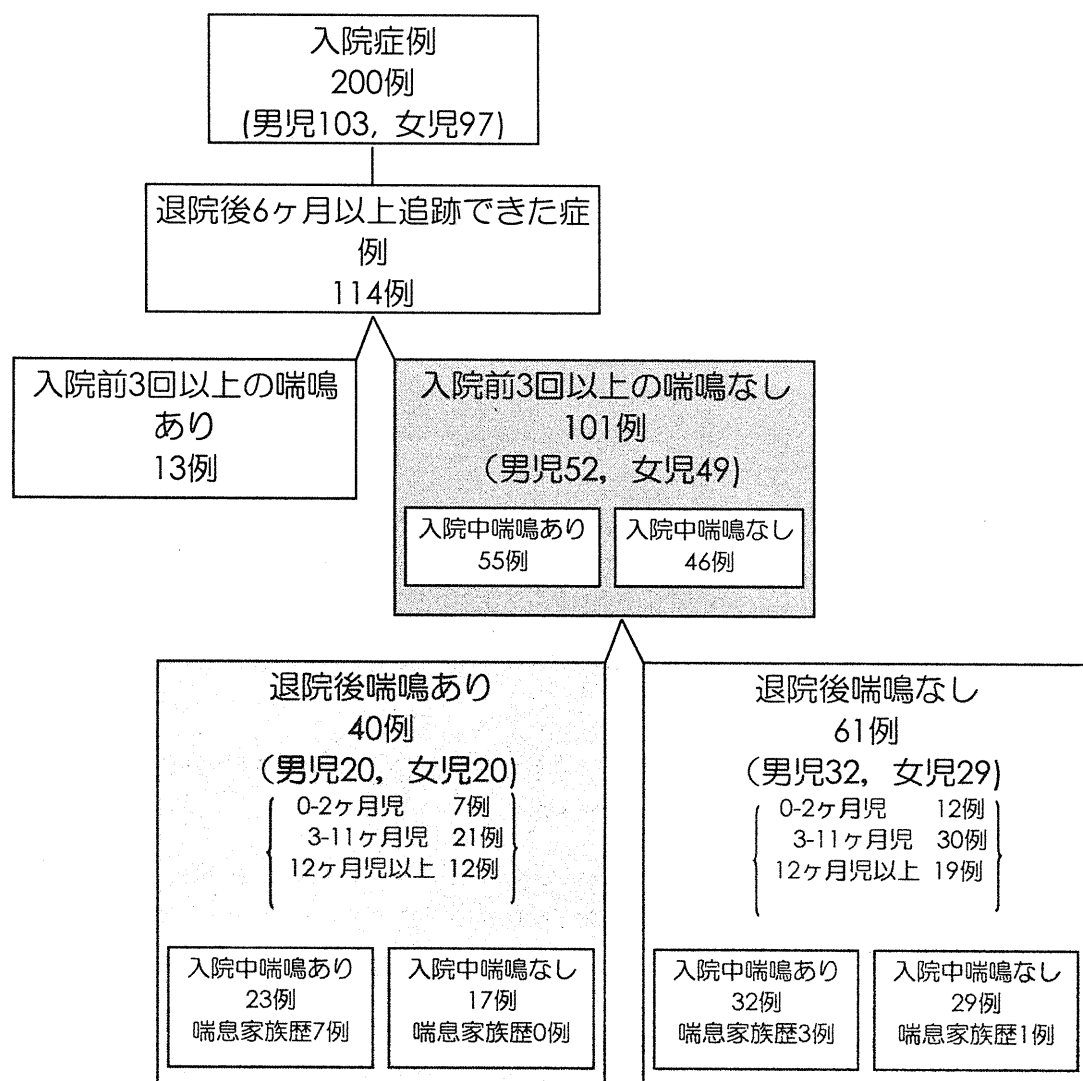


図 1: RS ウイルス感染と同定され当科で入院加療を行った乳幼児例

表1 退院後の喘鳴あり群、なし群での比較

検討例	全体 N=101		退院後喘鳴なし N=61	p 値
男：女(例)	52：49	20：20	32：29	0.80
平均月齢(ヶ月)	10.0±11.0	10.0±9.0	10.0±12	0.76
病日(日)	4.5±1.9	5.0±3.0	5.0±2.0	0.99
期間(日)	6.1±2.2	6.0±3.0	6.0±2.0	0.22
発熱あり(例)	76	29	47	0.04
喘鳴あり(例)	55	23	32	0.60
喘息家族歴(例)	11	7	4	0.04
食物アレルギー歴(例)	7	2	5	0.54
早産児(例)	12	6	6	0.44
呼吸数(回/分)	39.2±8.9	36.9±9.6	37.0±10.0	0.76
SpO <sub>2</sub> (%)	96.4±2.8	96.0±2.0	96.0±3.0	0.89
白血球(/μl)	10200±4200	9600±3700	10600±4500	0.27
好酸球割合(%)	1.0±1.0	1.0±1.0	1.0±1.0	0.41
CRP(mg/dl)	1.4±1.9	1.0±1.0	2.0±2.0	0.06
PvCO <sub>2</sub> (mmHg)	41.0±7.1	41.0±7.0	41.0±7.0	0.59
胸部 Xp 上肺炎像あり (例)	36	14	22	0.91
胸部 Xp 上過膨脹像 あり(例)	18	11	7	0.04
入院中 LTRA 内服あり (例)	20	16	4	0.01
人工呼吸(ICU 管理)(例)	2	2	0	0.08

表2 退院後喘鳴を認めた群の特徴

	退院後喘鳴を認めた 40 例		p 値
	あり 23	なし 17	
入院中の喘鳴(例)	あり 23	なし 17	
平均月齢 (ヶ月)	10±11	10.4±10.7	0.98
退院後喘鳴出現時期(ヶ月)	3.6±3.1	5.8±4.9	0.04
喘鳴家族歴(例)	7	0	0.01
退院後に LTRA 内服を開始し た児(例)	18	11	0.36
LTRA 平均開始時期(ヶ月)	4±4.0	5.75±5.0	0.23
LTRA 平均内服期間(ヶ月)	9.5±5.3	10.4±9.25	0.20
その後、喘鳴にて入院あり (例)	8	4	0.45

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
研究報告書

気道感染症罹患児におけるウイルス検出状況と気管支喘息症状への影響

研究協力者	菅井和子	独立行政法人国立病院機構 横浜医療センター小児科
研究協力者	藤塚麻子	独立行政法人県立病院機構 神奈川県こども医療センターアレルギー科
	村田宗紀	独立行政法人国立病院機構 横浜医療センター小児科
	荒川美果	栃木県保健環境センター(現)栃木県北 健康福祉センター
	野田雅博	国立感染症研究所感染症情報センター
	木村博一	国立感染症研究所感染症情報センター

### 研究要旨

小児の急性疾患で気道ウイルス感染の占める割合は大きいですが、喘鳴、気管支喘息発症、悪化要因との強い関連性が近年数多く報告されている[1, 2]。2歳までにすべての小児が感染する Respiratory Syncytial Virus（以下 RSV）と喘鳴、喘息発症、アレルギー発症に関し、米国 Tucson より Taussig が報告した Martinez らのコホート[3]、スウェーデン Sigurs[4, 5]らの報告等で、乳児期の RSV 細気管支炎罹患が後の喘鳴反復や肺機能低下へ影響することが明らかにされた。

最近の研究では、RSV 以外にも Human Rhinovirus（以下 HRV）と気管支喘息発症との関連が話題になっている[6-11]。これまでの研究では、呼吸器ウイルスが乳幼児期に下気道感染をおこし、同時にアレルギー感作が起こった場合、アレルギー性喘息発症の引き金となるとの考えが導かれている[12]。これらの研究を踏まえ、我々は急性喘鳴や喘息増悪に関与する種々の呼吸器ウイルスと臨床所見等に関し検討してきた[13]。

今年度の研究では、RSV 単独感染例と HRV 単独感染例を比較すると年齢は有意に RSV 例で低かった ( $P<0.05$ )。診察時の SpO<sub>2</sub> 最低値は RSV 例が有意 ( $P<0.05$ ) に低く、酸素投与有無は RSV 例が有意に多かった ( $P<0.05$ )。RV 単独感染例と RSV と HRV 混合感染例の比較では、混合感染例で呼吸状態は有意に悪かった。この結果より、従来報告と同様に RSV は低月齢児で初回喘鳴の原因ウイルスとして重要で、感染時の月齢が低い方が入院、重症化のリスクが高いことが証明された。また、HRV は反復喘鳴の児で喘鳴の悪化要因となり、特に年長喘息児で重症化するリスクが高く、喘息児の呼吸症状増悪に HRV 感染関与の可能性が示唆された。

### A. 研究目的

小児期の急性期疾患の中でも気道感染症は非常に多く、特に乳幼児は入院を余儀なくされることも多い。近年共働き家庭の増加により乳児期早期より集団生活に入る児も多く、ウイルス暴露の機会が多い。感染症罹患により児本人が受けるストレスはもちろんのこと保護者の日常生活にも多大な支障をきたす。インフルエンザ菌 b 型ワクチンや肺炎球菌ワクチンなどの開始により小児細菌感染症に対しての予防策もようやく進んできたところで

はあるが、気道ウイルスに言及すれば積極的な予防策はないに等しい。

小児の気道ウイルス感染の原因ウイルスとその臨床像ならびに気管支喘息患児における影響を明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

2010年1月から11月に急性呼吸器症状のため当院外来を受診または当院に入院した児114例。PCR法を用いて、患者の鼻汁からRSV、HRV、EVなど主要呼吸器ウイルスを検出した。



後方視的に、患者の呼吸器症状をカルテで調査し、入院中の症状の重症度を多呼吸数の有無、喘鳴の有無、陥没呼吸の有無、SpO<sub>2</sub>の低下、哺乳障害の有無を用いてスコア化した。家族の喫煙、ペットの有無などは電話により調査。統計学的検討には unpaired t test, Fisher's test を用いた。

鼻汁検体採取に際してのスワブは、Advanced flocculated swabs(Copan innovation, Italy)を用い、ウイルス保存輸送液は、既成の Universal Transport Medium( UTM : Copan innovation, Italy )を用いた。採取した保存液は-80Cにて保存し、RT-PCR法にてウイルス検索を行った。Respiratory Syncytial Virus (RSV), Human Rhino Virus (HRV), Human Metapneumo Virus (HMPV), Human Parainfluenza Virus (HPIV), Human Boca Virus (HBoV) の検出結果と、各症例の臨床像との比較検討を行った。

### C.研究結果

ウイルス検出結果の内訳は、RSV 55 例、HRV48 例、HMPV 3 例、HPIV1 例、RSV と HRV の混合感染が 20 例みられた。RSV 単独感染例と HRV 単独感染例を比較すると年齢は有意に RSV 例で低かった (P<0.05)。SpO<sub>2</sub>最低値は RSV 例が有意 (P<0.05) に低く、酸素投与有無は RSV 例が有意に多かった (P<0.05) (表 1)。RV 単独感染例と RSV と HRV 混合感染例を比較したところ、混合感染例で呼吸状態は有意に悪かった (表 2)。

### D.考察

RSV 感染により入院となる児は低年齢で初回喘鳴の児が多い。RSV 感染児で酸素需要が有意に高く呼吸状態が悪い児が多いのは、低年齢児であるがため物理的に気道径が細く呼吸障害も来しやすいと考える。

乳幼児期にウイルス性下気道感染症に罹患した場合、重篤になる場合も多く、急性期のみでなく喘鳴を来した患者の約半数は、RSV 感染後に気道過敏性亢進が持続することも以前から知られている[5]。このように、RSV 感染と気管支喘息発症には強い関連性がある。しかし一方で、RSV 感染児の喘鳴は、1 歳以降の幼児の喘鳴にはむしろ HRV との関連が強く、さらに 6 歳時に気管支喘息症状のある児では乳幼児期に RV に罹患していた児が有意

に多いという報告もある[11]。今回の我々の結果においても、過去に喘鳴の既往のある児、すなわち気道過敏性を有すると思われる児において RV 感染により悪化している例が多かった。

過去の多数の報告より理解できるように、乳児期早期の気道ウイルス感染が反復喘鳴や気管支喘息の発症に強く関連しているのは明らかであるが、その機序の詳細は明らかにされていない。Mizuta らは、気道感染罹患児の HRV の分子疫学を報告[10]、我々は、昨年度下気道感染罹患児における RSV、HRV の分子疫学の詳細を報告したように[13]、気道感染児における分子疫学の解明はすすんできている。

しかしながら、未だこれらのウイルス感染の予防に関しては、RSV において抗 RSV ヒト化モノクローナル抗体製剤であるシナジス®筋注用(一般名: Palivizumab)の予防効果が報告[14]されているに留まり、有効なワクチンも未だもっていない。この生物学的製剤は、在胎 35 週未満の早産児、慢性肺疾患の児、先天性心疾患の児にしか保険適応が認められていない。流行開始時期より流行期に月 1 回筋注を行っている。また、シナジスは体重 1kg あたり、15mg の筋注を行う (100mg/ml) が、50mg 製剤 1 本が約 8 万円かかり、この薬剤のみに気道感染罹患後の喘息発症、反復喘鳴の予防効果を全面的に期待するのは、費用対効果等から考慮しても疑問もある。

### E.結論

乳幼児期早期に RSV 感染に罹患した児が初回喘鳴となることが多く、それを機に喘鳴を繰り返すことも考えられる。また、気道過敏性を有する児において HRV 感染は重要な喘鳴悪化要因となりさらに RSV との混合感染により重症化することが示唆された。

今後 RSV 感染後の喘鳴が後の症状にどう影響を及ぼすか、気道過敏性素因を有する児が何を契機に悪化するのか検討する必要がある。さらに症例を重ねてウイルス検出の年次推移や個々の喘鳴などの予後、症状に関して経過を追い、喘息増悪時のウイルス感染の関与に関して検討を行う。また、これらの気道ウイルスに対する有効なワクチンの開発が切望される。

### F.研究成果

## 1. 論文公表

1) Fujitsuka A., Tsukagoshi H., Arakawa M., Sugai-Goto K., Ryo A., Okayama Y., Mizuta K., Nishina A., Yoshizumi M., Kaburagi Y., Noda M., Tashiro M., Okabe N., Mori M., Yokota S., and Kimura H. : A molecular epidemiological study of respiratory viruses detected in Japanese children with acute wheezing illness. *BMC Infect Dis*, 11: 168- 2011

## 2. 著書

1) 木村博一、菅井和子、田代真人 : Respiratory Syncytial (RS) ウイルス、ウイルス感染症の検査・診断スタンダード、第 I 部 臨床編 第 2 章 呼吸器症候群、編集 田代真人、牛島廣治、羊土社、2011 年 7 月 15 日第 1 刷

## 3. 学会報告

1) Fujitsuka A., Sugai K., Arakawa M., Mori M., Noda M., and Kimura H. : Effects of respiratory viral infections on the lower respiratory tracts of children, especially asthmatic children . European Respiratory Society Annual Congress, September 24-28 2011, Amsterdam (Thematic Poster session)

2) 菅井和子、藤塚麻子、高増哲也、塚越博之、岡山吉道、吉原重美、野田雅博、横田俊平、木村博一 : ウイルス感染の喘息に及ぼす臨床的影響、第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会シンポジウム、2011 年 11 月 10-12 日、東京都

3) 木村博一、野田雅博、塚越博之、菅井和子、田代真人、小澤邦壽、岡部信彦 : 呼吸器ウイルス-特に喘息関連ウイルス (RSV) の基礎と最新の分子疫学-、第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会シンポジウム、2011 年 11 月 10-12 日 東京都

4) 菅井和子 : 乳幼児の喘鳴性疾患における呼吸器ウイルス感染 : 第 8 回横浜小児先端医療セミナー、2011 年 9 月 9 日、横浜市

5) 木村博一、塚越博之、野田雅博、岡山吉道、菅井和子、小澤邦壽、梁明秀、田代真人、水田克巳、岡部信彦 : 呼吸器ウイルス-特に喘息関連ウイルスの基礎、分子疫学および感染細胞のサイトカイン産生、第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会教育講演、2011 年 11 月 10-12 日、東京都

6) 塚越博之、藤塚麻子、菅井和子、森雅亮、横田俊平、野田雅博、木村博一 : 喘鳴を呈する急性下気道感染児から検出された呼吸器ウイルスの疫学的解析、第 60 回日本感染症学会東日本地方会、2011 年 10 月 26-28 日、山形市

7) 藤塚麻子、菅井和子、塩谷裕美、小林慈典、鏑木陽一、森雅亮 : 呼吸器ウイルスによる下気道感染時の喘息児への影響 : 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2011 年 11 月 10-12 日、東京都

## 引用文献

1) Martinez, F.D., et al. : Asthma and wheezing in the first six years of life. *The Group Health Medical Associates. N Engl J Med*, 332(3), 133-8, 1995

2) Martinez, F.D., et al. : Differential immune responses to acute lower respiratory illness in early life and subsequent development of persistent wheezing and asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 102(6 Pt 1):, 915-20, 1998

3) Taussig, L.M., et al., : Tucson Children's Respiratory Study: 1980 to present. *J Allergy Clin Immunol*, 111(4): 661-75; quiz 676, 2003

4) Sigurs, N., et al. : Severe respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy and asthma and allergy at age 13. *Am J Respir Crit Care Med* 171(2): 137-41, 2005

5) Sigurs, N., et al. : Asthma and allergy patterns over 18 years after severe RSV bronchiolitis in the first year of life. *Thorax*, 65(12): 1045-52, 2010

6) Kotaniemi-Syrjänen, A., et al. : Rhinovirus-induced wheezing in infancy--the first sign of childhood asthma? *J Allergy Clin Immunol*, 111(1): 66-71, 2003

7) Korppi, M., et al. : Rhinovirus-associated wheezing in infancy: comparison with respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J*, 23(11): 995-9, 2004

8) Jackson, D.J. : The role of rhinovirus infections in the development of early childhood asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 10(2): 133-8, 2010

9) Jartti, T. and M. Korppi : Rhinovirus- induced bronchiolitis and asthma development. *Pediatr Allergy Immunol*, 22(4), 350-5, 2011

10) Mizuta, K., et al. : Phylogenetic and cluster analysis of human rhinovirus species A (HRV-A) isolated from children with acute respiratory infections in Yamagata, Japan. *Virus Res*, 147(2): 265-74, 2010

11) Jackson, D.J., et al. : Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children. *Am J Respir Crit Care Med*, 178(7): 667-72, 2008

12) Jartti, T., et al. : Allergic sensitization is asso-

ciated with rhinovirus-, but not other virus-, induced wheezing in children. *Pediatr Allergy Immunol*, 21(7): 1008-14, 2010

13) Fujitsuka, A., et al. : A molecular epidemiological study of respiratory viruses detected in Japanese children with acute wheezing illness.

*BMC Infect Dis*, 11: 168, 2011

14) Simoes, E.A., et al. : The effect of respiratory syncytial virus on subsequent recurrent wheezing in atopic and nonatopic children. *J Allergy Clin Immunol*, 126(2): 256-62, 2010

表1 Background of patients

表1

Sex (boys : girls)	70 : 44
Age at investigation (months)	26.6 ± 28.9
Age range	1 month - 13 years
Hospitalized patients	86 (75.4%)
Asthmatic patients	58 (50.9%)

表2 a. Characteristics of RSV patients

	Asthmatic children n=9 (%)	Non-asthmatic children n=17 (%)	P value
Sex (boys : girls)	7 : 2	10 : 7	0.418
Age at investigation (months)	21.1 ± 14.4	15.2 ± 13.1	0.319
Not hospitalized : Hospitalized	1 : 8	6 : 11	0.357
Mild symptoms : Severe symptoms	3 : 6	10 : 7	0.411

表2 b.  
Age at investigation (months)

Not hospitalized 26.0 ± 14.2	Hospitalized 9.3 ± 8.2	0.007
Mild symptoms 20.0 ± 13.8	Severe symptoms 8.4 ± 8.9	0.07

表 4. Characteristics of HRV patients

	Asthmatic children n=22 (%)	Non-asthmatic children n=8 (%)	P value
Sex (boys : girls)	16 : 6	5 : 3	0.666
Age at investigation (months)	27.9 ± 20.6	11.6 ± 10.7	0.045*
Not Hospitalized : Hospitalized	4 : 18	2 : 6	0.645
Mild symptoms : Severe symptoms	9 : 13	7 : 1	0.039**

sugai

## 山口県で検出されたパラインフルエンザウイルス 4 型について

研究協力者	中川（岡本） 玲子	山口県環境保健センター
	戸田 昌一	山口県環境保健センター
	渡邊 宜朗	山口県環境保健センター
	濱岡 修二	山口県環境保健センター
	富田 正章	山口県環境保健センター
	調 恒明	山口県環境保健センター

### 研究要旨

重症呼吸器感染症の原因ウイルスの一つにヒトパラインフルエンザウイルス（HPIV）がある。HPIV には 1-4 型が知られているが、その中でも HPIV4 による感染では、症状が軽く報告数も少ないため、これまであまり重要視されてこなかった。しかし、近年、重症例からの検出報告もあるため、2010 年及び 2011 年の 2 年間に山口県内で呼吸器疾患患者より採取された 600 検体について HRV、HMPV、HBoV、HPIV 等について検索を行ったところ 22 検体から HPIV4 が検出された。HPIV4 陽性患者の症状から HPIV4 が重症呼吸器症の原因ウイルスとなることが示唆された。

### A. 研究目的

重い呼吸器症状を引き起こすウイルスとして、ヒトライノウイルス(HRV)、エンテロウイルス(EV)、Respiratory syncytial ウイルス(RSV)、ヒトパラインフルエンザウイルス(HPIV)、ヒトメタニューモウイルス(HMPV)、ヒトボカウイルス(HBoV)などが知られている。HPIV には 1-4 型があり、HPIV1、HPIV2 はグループを引き起こすが、HPIV2 の検出はまれである。また、HPIV3 は春から初夏にかけて流行し、集団感染を起こすことがあるといわれている。

HPIV4 は他の型に比べ症状が軽く、報告数も少ないため、あまり重要視されていなかった。しかし、近年、重症患者から検出された報告もあり、HPIV の流行を把握するため呼吸器疾患患者から検体から本ウイルスの検出を試みた。また、重複感染も考慮し、その他の呼吸器感染症原因ウイルスなどの検出も試みた。

### B. 研究方法

2010-2011 年に呼吸器症状を呈して、医療機関を受診した患者から採材された検体（咽頭拭い液等）から RNA を抽出後、HPIV の 1-3 型は *HN* 遺伝子、4 型は *P* 遺伝子、また、その他に HRV、EV は *EVP4/EVP2* 領域、RSV は *N* 遺伝

子、HMPV は *F* 遺伝子、HBoV は *NP1* 領域、アデノウイルスは *hexon* 遺伝子、ヒトヘルペスウイルスはポリメラーゼ領域について RT-PCR 法または、PCR 法を行った。便検体についてはノロウイルス、サポウイルスの *capsid* 領域について RT-PCR 法を行った。増幅された遺伝子については塩基配列の解析を行った。

また、Vero E6 細胞、HEp-2 細胞、RD 細胞、Vero 細胞を用いてウイルス分離を行った。

### C. 研究結果

600 検体について検索を行った結果、検体からは HPIV1 型 7 株、HPIV2 型 9 株、HPIV3 型 66 株、HPIV4 型 22 株が検出された（図 1）。また、Vero 細胞または Vero E6 細胞で HPIV1 型 4 株、HPIV2 型 11 株、HPIV3 型 19 株、HPIV4 型 2 株が分離された。HPIV2 については 1 検体で 2 種類の細胞から分離されたものもあった。

9 検体からは他のウイルスも検出された（表 1）。

検出された HPIV4 の *P* 遺伝子（202bp）について、遺伝子解析を行った結果、HPIV4a は 16 株、HPIV4b は 6 株検出され、HPIV4a の方が多く検出された（図 3）。

### D. 考察

HPIV は一年中検出されるが、HPIV3 は春先に流行を起し、多く検出されると言われており、今回も HPIV3 については春先から初夏にかけて多く検出された。

HPIV4 については、ほぼ一年中検出されるが、10 月をピークに 7 月から 12 月に多く検出された (図 2)。

また、型別の検出割合をみると HPIV4 が HPIV3 に次いで多く検出された (図 1)。

HPIV4 が検出された 22 検体のうち 13 検体で HPIV4 のみが検出され、残りの 9 検体では他のウイルスも検出された重複感染であった。単独感染 13 例のうち、上気道感染症は 3 例のみであり、8 例に気管支炎、気管支喘息、気管支肺炎など重症の呼吸器症状が見られた (表 2)。

HPIV4 単独感染でも重症な症状が見られるため、HPIV4 も注意すべきウイルスと考えられた。

分子疫学解析によると、今回検出された株は HPIV4a、HPIV4b とともに 2 つのグループに分けることが出来ると考えられた。しかし、データベース上に登録されている株数も少ないため、解析を行うためには今後のさらなるデータの集積が必要であると考えられた。

## E. 結論

これまで、重症呼吸器疾患の原因ウイルスとして注目されていない HPIV4 が小児の重症呼吸器疾患患者から比較的高率に検出されたことから、今後、注目すべきウイルスのひとつと考えられた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Hasegawa S., Hirano R., Okamoto-Nakagawa R., Ichiyama T., Shirabe K. and Ichiyama T. : Enterovirus 68 infection in children with asthma attacks: Virus-induced asthma in Japanese children. *Allergy*, 2011, 66(12):1618-20.

2) Arakawa M., Okamoto-Nakagawa R., Toda S., Tsukagoshi H., Kobayashi M., Ryo A., Mizuta K., Hasegawa S., Hirano R., Wakiguchi H., Kudo K., Tanaka R., Morita Y., Noda M., Kozawa K., Ichiyama T., Shirabe K. and Kimura H.: Molecular epidemiological study of human rhinovirus species ABCs from patients with acute respiratory illnesses in Japan. *J. Med. Microbiol.* 2011 Oct 20. [Epub ahead of print]

### 2. 学会発表

なし

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

表1 2010-2011年のHPIV4 検出検体一覧  
(Italic:Vero E6 細胞でウイルスが分離された)

No.	Sample collection day d/m/y	age/sex	Diagnosis	Sample	Genotype	others
1	14/07/2010	2/F	上気道感染症	咽頭拭い液	HPIV4b	
2	30/08/2010	1/F	気管支炎・呼吸不全	咽頭拭い液	HPIV4a	RhinoA , HBoV
3	30/08/2010	2/F	気管支喘息 (重度発作)	鼻汁	HPIV4a	
4	17/09/2010	5/M	気管支喘息・気管支炎	咽頭拭い液	HPIV4a	
5	22/09/2010	5/M	気管支肺炎	咽頭拭い液	HPIV4a	
6	01/10/2010	1/M	気管支喘息 (中度発作)	咽頭拭い液	HPIV4a	
7	05/10/2010	2/M	気管支肺炎	咽頭拭い液	HPIV4a	
8	06/10/2010	1/M	上気道感染症・下痢	便	HPIV4a	SapoG1
9	14/10/2010	0/M	気管支炎	咽頭拭い液	HPIV4a	RhinoA
10	03/12/2010	0/M	上気道感染症	咽頭拭い液	HPIV4a	RhinoC
11	10/12/2010	0/M	喘息性気管支炎	咽頭拭い液	<i>HPIV4a</i>	
12	21/01/2011	2/F	インフルエンザ様疾患	咽頭拭い液	HPIV4a	
13	10/05/2011	1/F	痙攣重積群発	咽頭拭い液	HPIV4a	Adeno3
14	07/07/2011	1/M	気管支喘息	鼻汁	<i>HPIV4b</i>	
15	13/07/2011	1/M	気管支喘息	咽頭拭い液	HPIV4a	RhinoC
16	30/09/2011	2/M	上気道感染症	咽頭拭い液	HPIV4b	
17	01/10/2011	2/F	上気道感染症	咽頭拭い液	HPIV4b	
18	03/10/2011	2/F	気管支炎	咽頭拭い液	HPIV4b	
19	06/10/2011	1/M	気管支炎	咽頭拭い液	HPIV4a	
20	05/11/2011	1/M	気管支炎	咽頭拭い液	HPIV4a	RhinoA
21	09/11/2011	1/M	上気道感染症	咽頭拭い液	HPIV4a	RhinoC,HBoV,HPV1
22	30/11/2011	1/M	アデノウイルス肺炎・ 熱性痙攣集積	喀痰	HPIV4a	Adeno,HPV1,CMV

表 2 感染型別診断名

infection type	Number	Diagnosis	Number
単独感染	13	上気道感染症	3
		気管支炎	2
		気管支喘息	4
		気管支肺炎	2
		インフルエンザ様疾患	1
		喘息性気管支炎	1
重複感染	9	上気道感染症	3
		気管支炎	3
		気管支喘息	1
		アデノウイルス肺炎	1
		熱性痙攣集積	1

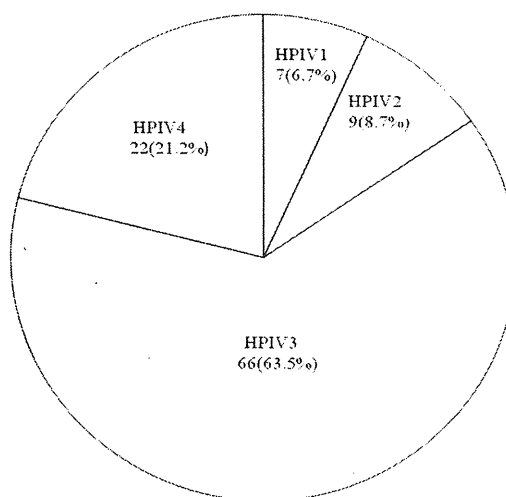


図 1 HPIV の型別検出割合

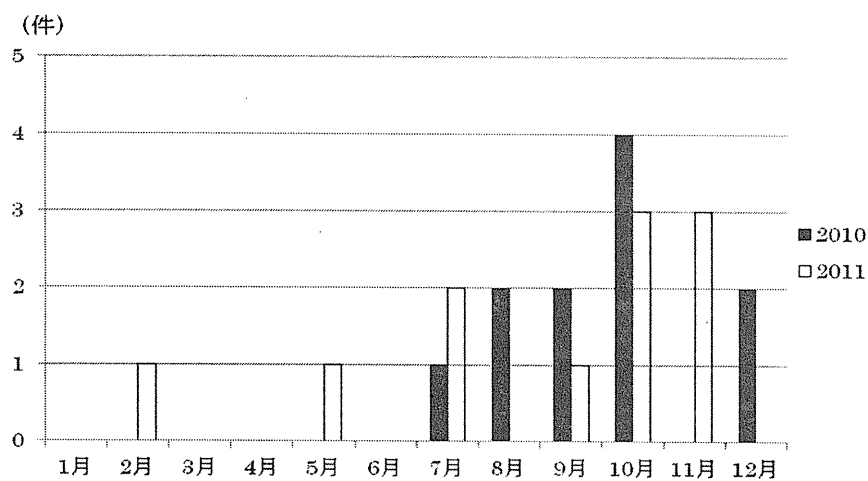
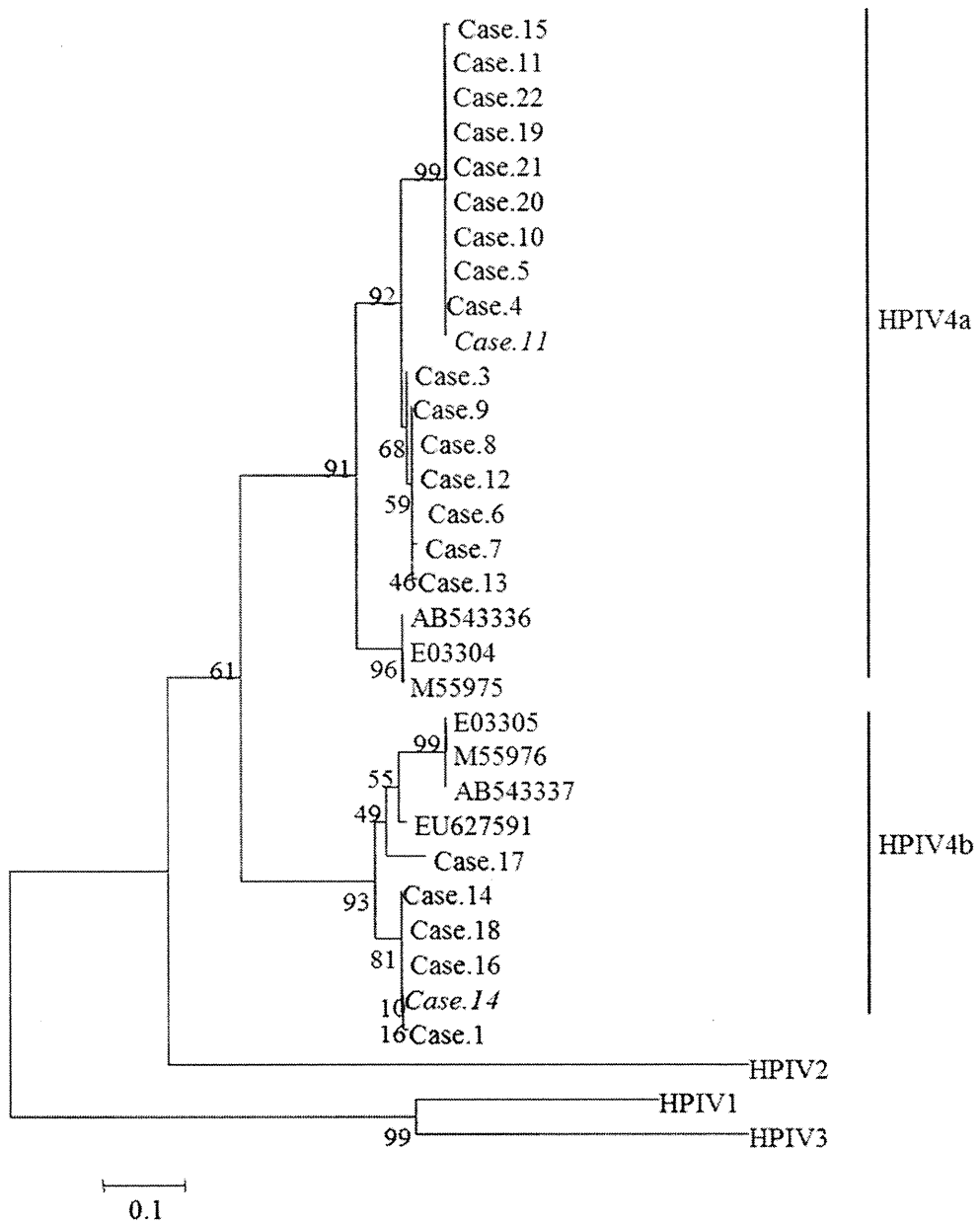


図 2 月別検出数





☒ 3 Phylogenetic tree of the partial sequence of phosphoprotein genes (202bp)  
*(Italic: isolated viral strain)*

重症心身障害児（者）施設における呼吸器感染症の原因ウイルス検索

研究協力者	中村 雅子	福井県衛生環境研究センター
	平野 映子	福井県衛生環境研究センター
	小和田和誠	福井県衛生環境研究センター
	松田 俊二	国立病院機構愛媛病院
	鈴木 由美	国立病院機構下志津病院
研究分担者	野田 雅博	国立感染症研究所

研究要旨

重症心身障害児（者）施設において 2011 年に発生した呼吸器感染症（ARIs）6 事例の原因ウイルス検索を試みた。その結果、2 事例からヒトメタニューモウイルス（HMPV）が計 14 株、1 事例からヒトライノウイルス（HRV）が計 5 株検出された。HMPV 検出株は genotype A2; 13 株と genotype B2; 1 株および HRV 検出株は HRV43 型; 4 株と HRV 64 型; 1 株にそれぞれ分類された。

A. 研究目的

重症心身障害児（者）施設においては、多数の児（者）が長期間入院しているため感染症がしばしば発生する。とくに急性呼吸器感染症（ARI）は年間数回の発生をみるが、インフルエンザウイルス以外の病原体が特定された例は少ない（松田ら、:医療、62、679-683、2008）。

我われは 2007 年から一重症心身障害児（者）施設における ARI の原因検索を試み、Respiratory Syncytial ウイルス（RSV）、ヒトライノウイルス（HRV）およびヒトメタニューモウイルス（HMPV）の関与を特定している。

本報告では 2011 年度に実施した ARI ウイルス検索成績を報告する。

B. 研究方法

国立病院機構愛媛病院および下志津病院の重症心身障害児（者）施設において、2011 年 4 月～9 月に発生した ARI6 事例の患者 34 名から採取された鼻腔拭い液 34 検体および咽頭拭い液 12 検体を検査材料として用いた（表 1）。拭い液はウイルス輸送培地（UTM-RT MINI transport medium; COPAN, Italy）に保存し、供試まで-80°Cに保存した。

EZ1 Virus Mini Kit v2.0(QIAGEN)を用い、検体 200μL から核酸抽出液 60μL を得て、(RT-)PCR 法に用いた。

RSV G 遺伝子および HMPV F 遺伝子の一部を既報（Teresa C.T.Peret et al. : J.Gen.Virol., 79,

2221-2229,1998、Teresa C.T.Peret et al.: J.Infect Dis., 185, 1660-1663, 2002）に準じ、AccessQuick RT-PCR System (Promega)を使用する one-step RT-PCR 法を行なった。

ヒトボカウイルス（HBoV）は既報（Allander T.et al.: Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 102, 12891-12896, 2005）に準じ、NP1 領域を標的にした PCR 法を行なった。

HRV およびエンテロウイルスは、VP-1 領域を既報（W.Allan Nix et al.: J. Clin. Microbiol., 44, 2698-2704, 2006）に準じ、また VP4/VP2 領域を既報（Savolainen C.et al.: J.Gen.Virol., 83, 333-340, 2002）に準じ、それぞれ標的にした RT-PCR 法を行なった。それぞれの増幅産物の塩基配列を BLAST 検索することにより型別同定した。

ウイルス分離は、3 種類の細胞（HEp-2 細胞、CaCo-2 細胞および MRC-5 細胞）を用いて行なった。各細胞の培養条件は HEp-2 細胞では 35°C、1 週間ごとに 3 代継代培養、CaCo-2 細胞では 37°C、1 週間ごとに 3 代継代培養、および MRC-5 細胞では 35°C、2 週間ごとに 2 代継代培養した。

C. 研究結果

事例 C、D および E からそれぞれ HMPV あるいは HRV が検出された（表 2）が、事例 A、B および F では病原ウイルスは特定できなかった。

事例 C は、19 名中 13 名の鼻腔拭い液から HMPV が検出され、増幅遺伝子（317bp）の相同解析結果から、13 株の遺伝子配列は 100%一

致し、いずれも遺伝子型 A2 に分類された (図 1)。7 名では鼻腔拭い液と咽頭拭い液の両検体を供試したところ、いずれの検体からも HMPV が検出された。HMPV が検出された患者の平均年齢は  $45.8 \pm 10.7$  才、臨床症状は発熱 13 名、咳および鼻汁が各 3 名であった。

事例 D は 1 名から HMPV が検出され、その遺伝子型は B2 に分類された。

事例 E は、5 名の鼻腔拭い液から HRV A 型が検出された。VP-1 領域 339bp、および VP4/VP2 領域 401bp の遺伝子解析の結果、検出された 5 株のうち 4 株は HRV 43 型に分類され、遺伝子配列は 100% 一致していた。他の 1 株は HRV 64 型に分類された (図 2、3)。HRV43 型 4 株は VP-1 と VP4/VP2 領域を標的に増幅する両法で検出されたが、HRV64 型 1 株は VP-1 領域を標的にした方法でのみ検出された。HRV が検出された患者の平均年齢は  $19.2 \pm 15.5$  才、臨床症状は発熱 5 名、鼻汁 2 名、痰 2 名および発咳 1 名であった。

ウイルス分離は MRC-5 細胞に接種 1 代目で 3 株、接種 2 代目で 1 株が分離された。4 株の分離株の感染培養液を用い、RT-PCR 法を実施した結果、これら 4 分離株はすべて HRV と同定された。

#### D. 考察

事例 C の ARI は HMPV が主因であったと考えられる。事例 D は 3 名中 1 名からのみ HMPV が検出されたが、検査数が少ないためこの事例の主因とは断定できなかった。これまで当該施設では ARI 事例から HMPV A2 および/あるいは B2 が検出 (松田ら、2009) されており、今

回も同型の株が検出された。集団生活施設での HMPV の流行はこれまでもいくつか報告されているが、その多くは春季から初夏の発生に対し、本事例は晩夏から初秋の発生であった。地域の ARI ウイルス動向に注意が必要とも思われる。

事例 E は HRV が主因と考えられた。我々のこれまでの検討から地域、施設では多様な型の HRV が検出されている。いっぽう、当該ウイルスは小児、成人の感染喘息に強く関与するウイルスとして近年注目されており、集団内での HRV 動態に関して継続精査が必要と考える。

遺伝子検出・解析法を 2 つの領域 (VP-1 および VP4/VP2 領域) で比較した結果、いずれの領域でもほぼ同等の結果が得られた。HRV-64 型 1 株が VP4/VP2 領域では検出されなかったが、併せて検討したウイルス分離ではこの株のみが陰性であったことから、ウイルス量が少なかった可能性が考えられる。

#### E. 結論

重症心身障害児 (者) 施設の ARI 事例から HMPV および HRV を検出した。これまでの検討と併せて、これらのウイルスが集団施設での ARI 原因ウイルスとして重要であることが確認された。

#### F. 研究発表

- 1 論文発表  
なし
- 2 学会発表  
なし

表 1 発生事例概要

事例	施設	患者No.	検体数		発症日 (検体採取者)
			鼻腔拭い液	咽頭拭い液	
A	愛媛病院	E1~E4	4	4	4/15~4/26
B	愛媛病院	E5	1	1	6/3
C	愛媛病院	E6~E24	19	7	8/22~10/12
D	下志津病院	S1~S3	3		8/1~8/2
E	下志津病院	S4~S9	6		8/13~8/19
F	下志津病院	S10	1		9/20
計			34	12	

表2 ウイルス検出成績

事例	No.	年齢	性別	臨床症状	発症日	採取日	検出ウイルス (遺伝子(血清)型)	
C	E-6-2	35	F	発熱	8/22	8/22	HMPV	(A2)
	E-7-2	59	F	発熱	8/26	8/26	HMPV	(A2)
	E-8-2	41	M	発熱	8/27	8/28	HMPV	(A2)
	E-9-2	45	M	発熱、鼻汁	8/26	8/29	HMPV	(A2)
	E-10-2	46	M	発熱	8/26	8/29	HMPV	(A2)
	E-11-2	35	F	発熱	8/28	8/31	HMPV	(A2)
	E-12-2	49	F	発熱	8/28	8/31	HMPV	(A2)
	E-13	32	M	発熱	9/1	9/3	HMPV	(A2)
	E-14	32	M	発熱、鼻汁	9/2	9/3	HMPV	(A2)
	E-15	47	M	発熱、咳	9/3	9/3	HMPV	(A2)
	E-16	67	F	発熱、咳	9/20	9/20	HMPV	(A2)
	E-17	53	M	発熱、鼻汁	9/20	9/22	HMPV	(A2)
	E-19	52	M	発熱、咳	9/28	10/1	HMPV	(A2)
D	S-1	29	F	発熱	8/2	8/3	HMPV	(B2)
E	S-4	46	M	発熱、咳、鼻汁	8/16	8/18	HRV	(43型)
	S-5	7	F	発熱、痰	8/17	8/18	HRV	(64型)
	S-6	15	F	発熱、痰	8/15	8/18	HRV	(43型)
	S-7	11	F	発熱、鼻汁	8/13	8/18	HRV	(43型)
	S-8	17	F	発熱	8/19	8/19	HRV	(43型)

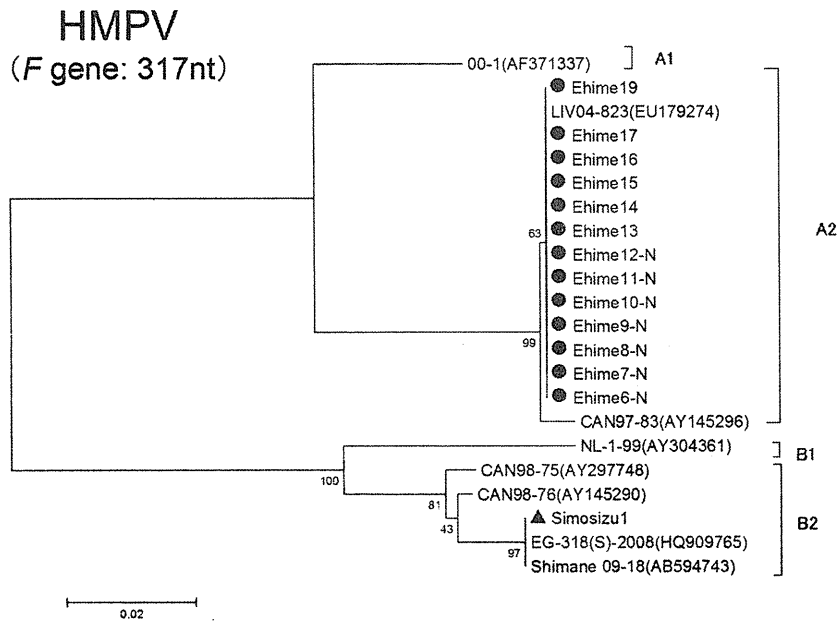


図1 HMPV F領域遺伝子分子系統樹(317nt)

●および▲が本事例株、他は参照株