

徳島県における小児のヒトボカウイルスの罹患状況について

徳島県立保健製薬環境センター

川上百美子・嶋田 啓司

The Morbidity of Human Bocavirus at Child in Tokushima Pref.

Yumiko KAWAKAMI and Keiji SHIMADA

Tokushima Prefectural Public Health, Pharmaceutical and Environmental Sciences Center

要 旨

2007年から2010年の間、徳島県感染症発生動向調査として県内の小児科定点医療機関から提出された検体よりヒトボカウイルス (Human Bocavirus, 以下 HBoV) 遺伝子の検出を試みた。全検体からの検出率は2.7%, 呼吸器疾患患者からは4.0%検出された。月別では2~8月に検出しており, 季節性が認められた。2008年と2009年に県内での HBoV の流行が認められた。

Key words: ヒトボカウイルス Human bocavirus, 呼吸器感染症 Respiratory tract infections, 重複感染 coinfection, 徳島県感染症発生動向調査 Tokushima infections disease surveillance

I はじめに

HBoV は, 2005年9月にスウェーデンの呼吸器感染症患者の鼻咽頭液から初めて発見されたウイルスで¹⁾, 以後世界各地で報告されるようになった。我が国においても, 2010年7月, 国立感染症研究所より「ボカウイルス検査マニュアル」²⁾ が示され, 現在多くの地方衛生研究所で検討されている。

HBoV は, パルボウイルス科パルボウイルス亜科ボカウイルス属に分類され, エンベロープを持たない直鎖一本鎖 DNA ウイルスと推定されている。乳幼児呼吸器感染症の原因ウイルスとして考えられているが, 報告数も少なく, さらなる疫学情報の蓄積が必要である。そこで, 2007年から2010年まで徳島県感染症発生動向調査として採取された検体から HBoV の検出を試み, 徳島県における罹患状況など調査し, 臨床症状と合わせ若干の知見を得たので報告する。

II 材料及び方法

1 検査対象

2007年から2010年まで, 徳島県感染症発生動向調査として県内小児科定点医療機関で採取された咽頭拭い液863検体, 糞便303検体, 髄液14検体, 計1180検体を検査対象とした(表1)。

検体内訳として性別は, 男性616検体, 女性561検体, 性別不明3検体, 年齢別は, 0歳177検体, 1歳291検体, 2歳189検体, 3歳96検体, 4歳73検体, 5歳78検体, 6歳以上246検体, 年齢不明30検体であった。臨床診断名別では呼吸器疾患749検体, 胃腸炎278検体, その他の疾患153検体であった。

表1

検体種別	検体数	年齢群	男	女
咽頭拭い液	863	0ヶ月~40歳	454	407
糞便	303	3ヶ月~19歳	150	152
髄液	14	2ヶ月~28歳	12	2
計	1180	0ヶ月~40歳	616	561

2 方法 (図1)

検査方法は, 国立感染症研究所が示した「ボカウイルス検査マニュアル」²⁾ に準じた。

(1) DNA 抽出

QIAamp Viral RNA mini kit (QIAGEN) を用い, 検体よりウイルス DNA を抽出。

(2) PCR

プライマー188F, 542R, TaKaRa Ex Taq Hot Start

Version (TaKaRa) を用い、PCR (94℃10分, 94℃1分・54℃1分・72℃2分×35サイクル, 72℃5分) を実施。

(3) 電気泳動

2%アガロース電気泳動により PCR 産物 (354bp) を確認。

(4) 塩基配列解析

PCR 産物を精製後、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、BLAST による相同性検索を行い HBoV であることを確認。

(5) 有意差検定については、統計解析ソフト SPSS を用いて、 χ^2 検定を行い、 $P < 0.05$ を有意とした。

(6) 系統樹解析

HBoV 遺伝子が確認された検体の一部について、全長シーケンスを行い分子系統樹を作成した。

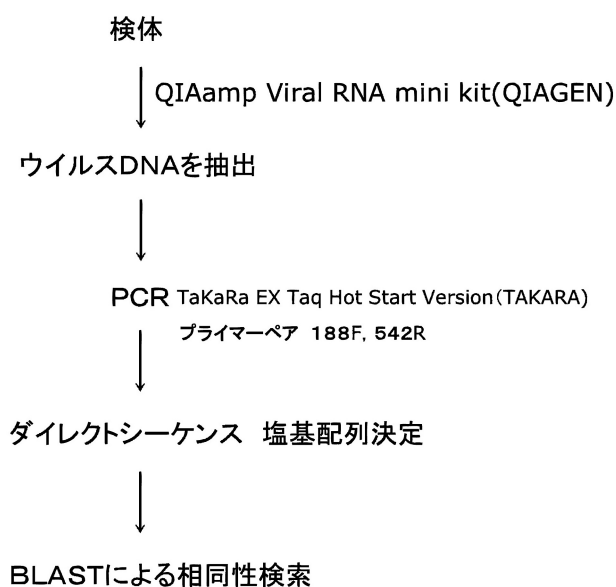


図 1

Ⅲ 結果

- 全1180検体のうち32検体から HBoV が検出され、検出率は2.7%であった。男女別での検出率は、男性2.3% (14/616)、女性3.2% (18/561) であった (表 2)。
- 疾患別での検出率は、呼吸器疾患4.0% (30/749)、胃腸炎0.4% (1/278)、その他の疾患0.7% (1/153) であった (表 3)。
- 年齢別での検出率は、0歳3.4% (6/177)、1歳5.8% (17/291)、2歳2.1% (4/189)、3歳0.0% (0/96)、4歳4.1% (3/73)、5歳2.6% (2/78) であったが、6歳以上の検体から HBoV は検出されなかった (表 3)。
- HBoV が検出された患者の臨床症状を他のウイルス検査結果とともに表 4 にまとめた。陽性となった患者の年齢は6ヶ月から5歳、症状としては、全ての患者に発熱が認められ、下気道炎症状のある患者が多く見受けられた。ヒトメタニューモウイルス、アデノウイルスなど他のウイルスとの重複感染例も25.0% (8/32) 認められた。
- 2007年から2010年まで月別に分類した検出率を図 2 に示した。毎年2月から8月までの間、検出率は3~10%の範囲で推移したが、2008年5月は25%、2009年4月は38.5%と非常に高値を示した。また、9月から1月まではどの年も検出されなかった。
- 検出された一部の HBoV について VP1/VP2領域の分子

表 2

	男	女	合計
検査件数	616	561	1180
陽性数	14	18	32
検出率	2.3%	3.2%	2.7%

表 3

年齢 \ 疾患	全疾患			呼吸器疾患			胃腸炎			その他疾患		
	検体数	陽性数	検出率	検体数	陽性数	検出率	検体数	陽性数	検出率	検体数	陽性数	検出率
0歳	177	6	3.4%	97	5	5.2%	60	0	0.0%	20	1	5.0%
1歳	291	17	5.8%	186	16	8.6%	66	1	1.5%	39	0	0.0%
2歳	189	4	2.1%	123	4	3.3%	39	0	0.0%	27	0	0.0%
3歳	96	0	0.0%	66	0	0.0%	15	0	0.0%	15	0	0.0%
4歳	73	3	4.1%	48	3	6.3%	20	0	0.0%	5	0	0.0%
5歳	78	2	2.6%	52	2	3.8%	16	0	0.0%	10	0	0.0%
6~10歳	185	0	0.0%	132	0	0.0%	35	0	0.0%	18	0	0.0%
11~15歳	40	0	0.0%	24	0	0.0%	6	0	0.0%	10	0	0.0%
16歳以上	21	0	0.0%	6	0	0.0%	12	0	0.0%	3	0	0.0%
年齢不明	30	0	0.0%	15	0	0.0%	9	0	0.0%	6	0	0.0%
合計	1180	32	2.7%	749	30	4.0%	278	1	0.4%	153	1	0.7%

表 4

No	年齢	性別	検体	診断名	臨床症状	発症日	採取日	重複感染	No	年齢	性別	検体	診断名	臨床症状	発症日	採取日	重複感染
1	1	M	TS	急性熱性咽頭炎	発熱(40℃)	3/24/07	3/24/07	-	17	1	M	TS	急性肺炎	発熱(39.3℃) 肺炎 中耳炎	3/27/09	4/9/09	-
2	1	F	TS	気管支炎	発熱(39.1℃) 気管支炎	4/8/07	4/13/07	-	18	1	F	TS	急性熱性咽頭炎	発熱(40℃)	4/8/09	4/14/09	-
3	1	M	便	胃腸炎 気管支炎	発熱 胃腸炎症状 気管支炎	4/10/07	4/16/07	-	19	1	M	TS	気管支炎	発熱(39℃) 気管支炎	4/12/09	4/15/09	-
4	1	M	TS	急性肺炎	発熱(40℃) 肺炎	5/20/07	5/22/07	-	20	1	F	TS	急性肺炎	発熱(40℃) 肺炎	4/11/09	4/16/09	hMPV
5	2	F	TS	喉頭気管支炎	発熱(39.5℃) 気管支炎	8/27/07	8/31/07	hMPV	21	1	M	TS	急性肺炎	発熱(38.5℃) 肺炎	4/2/09	4/23/09	-
6	8M	F	TS	インフルエンザ	発熱(39℃) 気管支炎	2/13/08	2/15/08	-	22	1	F	TS	気管支炎	発熱(39℃) 気管支炎 喘息様	4/20/09	4/22/09	-
7	1	F	TS	咽頭結膜熱	発熱(40℃) 肺炎	2/23/08	2/25/08	Adeno-1	23	1	M	TS	気管支炎	発熱(39℃) 気管支炎	4/20/09	4/24/09	-
8	2	F	TS	急性肺炎	発熱(40℃) 肺炎	3/18/08	3/21/08	-	24	2	F	TS	気管支炎	発熱(39℃) 気管支炎	4/17/09	4/27/09	-
9	4	F	TS	急性肺炎	発熱(39℃) 肺炎	5/21/08	5/23/08	-	25	1	M	TS	気管支炎	発熱(38.8℃) 気管支炎	4/20/09	4/24/09	RS
10	4	M	TS	急性肺炎	発熱(39.5℃) 肺炎	5/23/08	5/27/08	-	26	8M	F	TS	急性熱性咽頭炎	発熱(40℃)	4/30/09	5/2/09	-
11	1	M	TS	急性肺炎	発熱(39℃) 肺炎 嘔吐	5/26/08	5/28/08	-	27	2	F	TS	急性熱性咽頭炎	発熱(40℃) 上気道炎	5/27/09	5/30/09	-
12	4	M	便	胃腸炎	発熱(39.5℃) 嘔吐 肺炎	5/27/08	5/29/08	-	28	1	M	TS	咽頭結膜熱	発熱(39.5℃) 結膜炎 下気道炎	4/12/10	4/16/10	Adeno-2
13	10M	F	TS	咽頭結膜熱	発熱(39.5℃) 気管支炎	5/28/08	5/31/08	Adeno-2	29	1	F	TS	急性熱性咽頭炎	発熱(40℃)	4/25/10	4/27/10	-
14	6M	F	TS	ヘルパンギーナ	発熱(39.4℃) 口内炎	6/22/08	6/23/08	CA-10	30	5	F	TS	肺炎	発熱(39℃) 肺炎	6/13/10	6/18/10	-
15	11M	F	TS	気管支炎	発熱(38.4℃) 気管支炎	7/4/08	7/4/08	-	31	5	F	TS	不明	発熱(40℃) 胃腸炎症状 肺炎	7/14/10	7/17/10	-
16	11M	M	TS	急性肺炎	発熱(39.8℃) 肺炎	4/3/09	4/7/09	hMPV	32	1	M	便	急性熱性咽頭炎	発熱(39℃)	8/4/10	8/7/10	-

検出率(%)

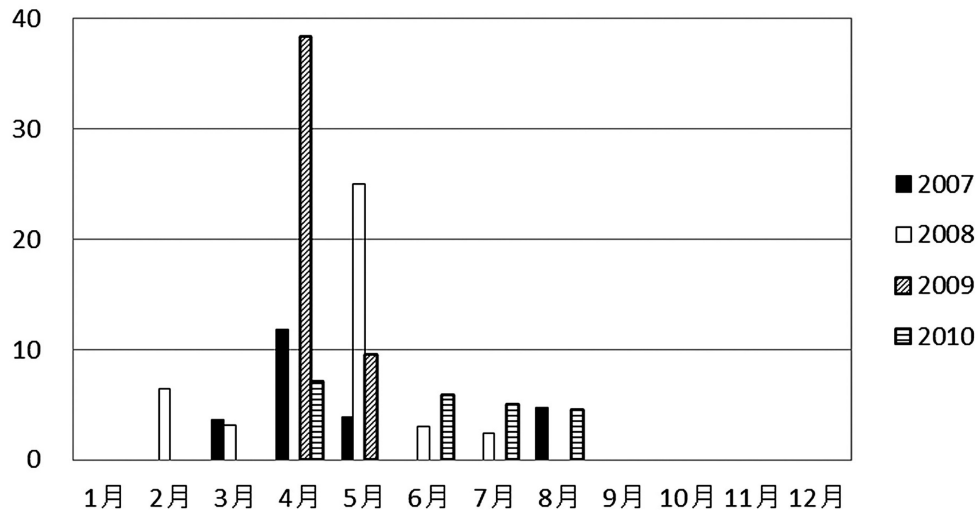


図 2

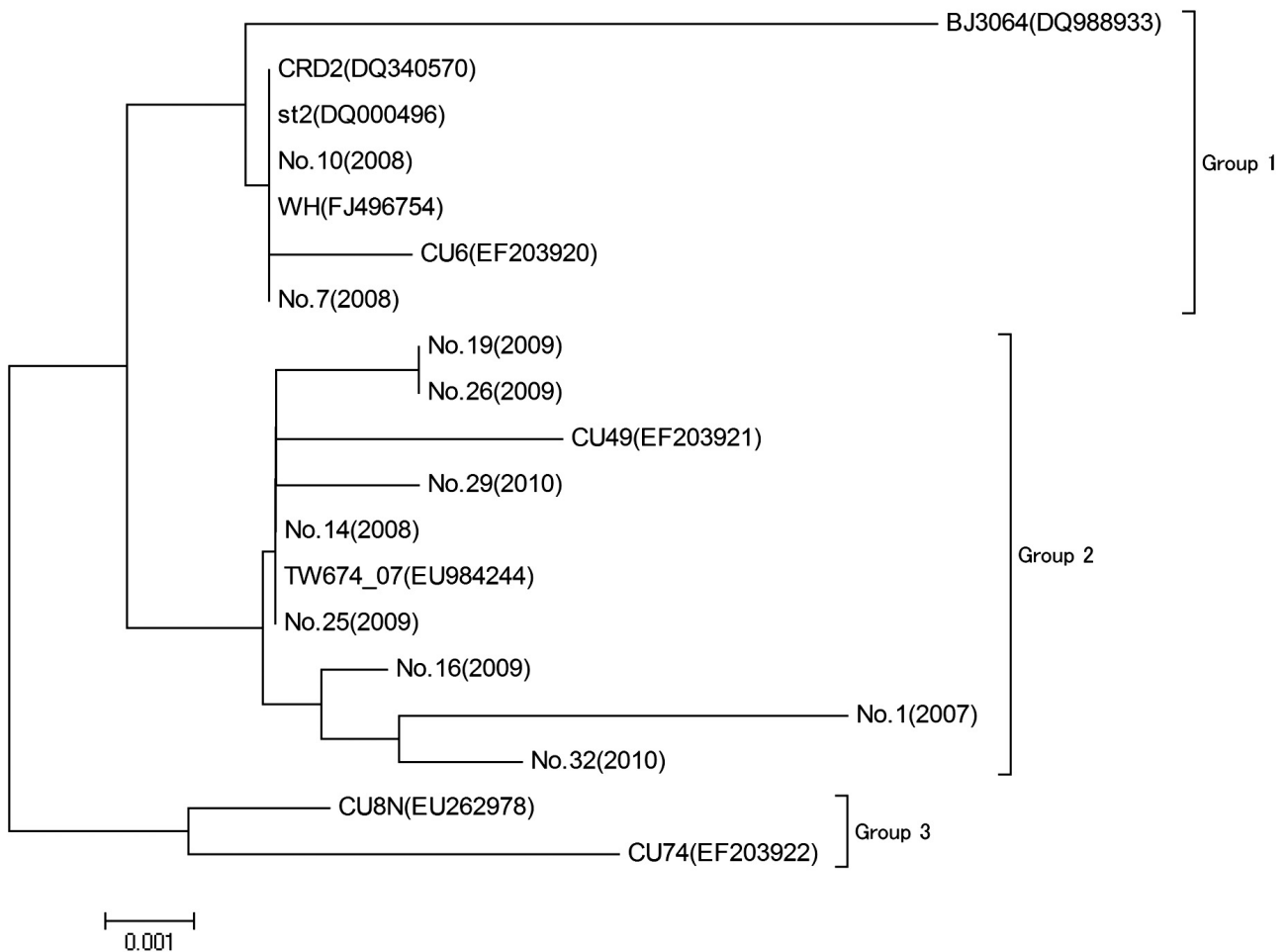


図3

系統樹を作成した²⁾ところ、2008年の検体はグループ1が主で、2009年、2010年の検体はグループ2に属していた(図3)。

IV 考察

2007年から2010年まで徳島県小児科定点医療機関で採取された検体のうち2.7%からHBsAgが検出された。 χ^2 検定を行った結果、検出率に男女別の有意差は認めなかったものの、疾患別では呼吸器疾患の検出率が他の疾患に比べ有意に高く、HBsAgは、乳幼児呼吸器感染症の原因ウイルスとして重要な位置を占めていると考えられた。

呼吸器症状を示さない胃腸炎患者便からの検出報告³⁾もあるが、今回、胃腸炎患者糞便1検体からHBsAgが検出されたが、臨床症状で肺炎も認められたため、胃腸炎症状のみを示す患者からは検出することは出来なかった。

抗体保有率調査により5歳までにほとんどの人がHBsAgの初感染を受けていることが示唆されている⁴⁾。今回の調査でも、6歳以上の検体からHBsAgは検出されず、5歳までに多くの人が抗体を獲得していると考えられた。

HBsAgは、他のウイルスとの重複感染例も多く報告され⁵⁾、今回の調査においても、検出8例で他のウイルスが検出されたが、例数も少なく特定ウイルスとの重複感染を推定することはできなかった。

石黒らの調査によると、HBsAgは1月から7月にわたって検出され、特に2月から5月の冬から春に多く検出されたと報告されている⁶⁾。今回の調査においても、4年間の月別検出率は、2月から8月まで3~10%の範囲で推移し、4月から5月にかけてピークが見られたが、9月から1月までは全く検出されず、季節性を認めた。

さらに、2008年5月は25%、2009年4月は38.5%と非常に高い検出率を示したのに対し、2007年と2010年はピークが見られないことから、徳島県において2008年と2009年に2年続けてHBsAgの流行があったと推定された。HBsAg主要抗原VP1/VP2領域の塩基配列は大きく3つのグループに分類されるが²⁾、2008年に検出されたHBsAgは、主にグループ1に属し、2009年、2010年の検体は、グループ2に属した。2008年及び2009年にかけてHBsAg遺伝子型のグループ1から2への変異が、2年続けての流行の一因とも考えられた。

HBoV は、世界中に広く分布し、今回の調査でもとくに乳幼児呼吸器感染症の原因ウイルスとして重要な位置を占めていると考えられるが、未だに不明な部分も多い。これからも、データを蓄積し、臨床症状も含めながらの検討が重要と考えられた。

V まとめ

- 1 小児感染症患者より、HBoV 遺伝子が2.7%検出された。
- 2 呼吸器疾患からの検出率が高く、胃腸炎症状のみを示す患者からは検出されなかった。
- 3 HBoV 遺伝子は、6歳以上の検体から検出されなかった。
- 4 重複感染は25.0%（8/32）の例で認められた。

- 5 季節性（2月～8月）を認め、2008年から2009年にかけて徳島県において HBoV の流行が認められた。

VI 参考文献

- 1) Allander, T., et al : Proc Natl Acad Sci USA, 102, 12891–12896 (2005)
- 2) ポカウイルス検査マニュアル：国立感染症研究所(2010)
- 3) Vicente, D., et al : Emerg Infect Dis, 13, 636–637 (2007)
- 4) Endo, R., et al : J Clin Microbiol, 45, 3218–3223 (2007)
- 5) Ma, X., et al : J Clin Microbiol, 44, 1132–1134 (2006)
- 6) 石黒信久, 遠藤理香他：モダンメディア, 53, 259–266 (2007)