

茨城県における小児の重症呼吸器感染症に関与する ウイルス遺伝子の網羅解析について

○齋藤 葵, 川隅綾子, 後藤慶子, 石川加奈子, 本谷 匠¹, 深谷節子

¹現:筑西保健所

要旨

平成 28 年 4 月～平成 31 年 3 月に、入院を伴う呼吸器感染症の小児 75 人を対象として呼吸器感染症起因ウイルス等の遺伝子検査を行った。また、臨床症状、入院日数、細菌検査の結果等の患者情報を調査し、重症化や長期化に影響を及ぼす因子について解析を行った。

本研究におけるウイルスの検出状況と解析結果について報告する。

キーワード：呼吸器感染症 リアルタイム RT-PCR ライノウイルス RS ウイルス

1. はじめに

小児にとってウイルス性呼吸器感染症は「風邪」として頻度の高い疾患である。また、小児の呼吸器感染症は患者数が多いばかりでなく、疾患・病態が多様であり、気管支炎や肺炎となることもある。しかし、関与しているウイルスの多くが気管支炎や肺炎を起こしうる上に、急性期における病因ウイルスの特定は、迅速診断が可能なウイルス（インフルエンザ、RS ウイルス、アデノウイルス等）以外は困難であり、臨床診断となっていることが多い¹⁾²⁾。

そこで、入院を伴う小児の呼吸器感染症患者を対象にウイルス遺伝子検査を行うとともに、臨床症状、入院日数、細菌検査の結果等の患者情報を調査し、重症化や長期化に影響を及ぼす因子について解析を行った。平成 28 年 4 月～平成 31 年 3 月におけるウイルス検出状況と解析結果について報告する。

2. 調査方法

2-1. 材料

平成 28 年 4 月～平成 31 年 3 月に県内 5 か所の医療機関を受診した小児（15 歳未満）のうち、入院を伴う呼吸器感染症の患者（保護者）にインフォームドコンセントを行い、同意

が得られた 75 人を対象とした。月別の検査人数は図 1 のとおりであった。検体は 78 検体（鼻腔ぬぐい液 41 検体、咽頭ぬぐい液 26 検体、気管吸引液 7 検体、喀痰 3 検体、血清 1 検体）であった。

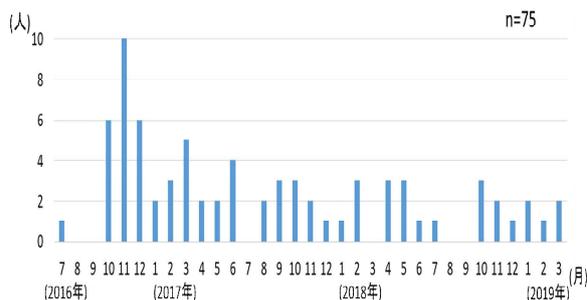


図 1 月別検査人数

2-2. 方法

2-2-1. リアルタイム(RT-)PCR

衛生研究所に搬入された臨床検体は、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA を抽出し、FTD Respiratory pathogens 21 (理研ジェネシス) を用いてリアルタイム (RT-)PCR 法によるウイルス等の遺伝子検出を行った。検査項目はインフルエンザ A, B (Infl A, B), RS ウイルス (RSV), ライノウイルス (HRV), ヒトコロナウイルス (HCoV) (NL63, 229E, OC43, HKU1), パラインフルエンザウイルス 1～4 型 (PIV1～4),

アデノウイルス (AdV), エンテロウイルス属 (EV), ヒトパレコウイルス (HPeV), ヒトボカウイルス (HBoV), ヒトメタニューモウイルス (HMPV)の呼吸器感染症起因ウイルスに加えて, 細菌に分類される肺炎マイコプラズマ (*M.pn*) とした。

2-2-2. 分子系統樹解析

リアルタイム (RT-)PCR 法において HRV のウイルス遺伝子が検出された検体は VP2/4 遺伝子, RSV が検出された検体は G 遺伝子の一部についてダイレクトシーケンス法を用いて塩基配列を決定し, 分子系統樹解析を行った。

2-2-3. 患者調査

年齢, 性別, 診断名, 臨床症状等の患者情報の調査を行った。

年齢別・男女別人数を図 2 に示した。男女別人数は男 39 人 (52.0%), 女 36 人 (48.0%) であった。平均年齢は 2 歳 0.5 カ月, 中央値は 1 歳 1.0 ヶ月であった。0 歳 7.0 ヶ月未満が多く, 2 歳未満が 70.7% であった。

診断名は肺炎が最も多く, 44 人 (58.7%) であった。次いで細気管支炎が 16 人 (21.3%), その他が 15 人 (20.0%) であった。

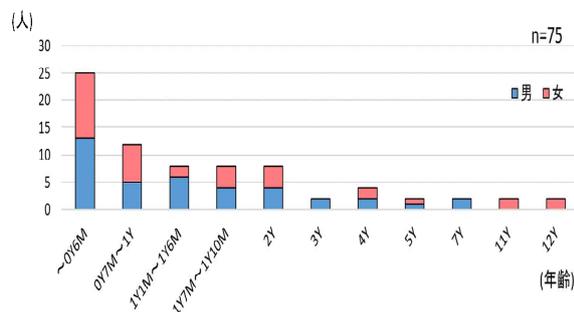


図 2 年齢別・男女別人数

重症度スコアの判定

患者情報のうち, 臨床症状を用いて重症度の判定を行った。Clinical Scoring System³⁾を引用し, 呼吸数・喘鳴・チアノーゼ・努力呼吸の

4 項目を, 各 4 段階で評価した (表 1)。各スコアの合計を重症度スコアと定義し, 重症度 (mild:0~6, moderate:7~9, severe:10~12) を判定した。

表 1 Clinical Scoring System

スコア	呼吸数	喘鳴	チアノーゼ	努力呼吸
0	<30回/分	なし	なし	なし
1	31-45回/分	呼気終末:聴診器	口囲:泣時のみ	±
2	46-60回/分	呼気・吸気全体:聴診器	口囲:安静時	++
3	>60回/分	呼気・吸気全体:聴診器なし	全身性:安静時	++++

退院後調査

入院日数や細菌検査の結果, 転帰について退院後調査を行い, 最終診断を確認した。

統計解析

各症例の患者情報を用いた統計解析を行い, 重症度スコアや入院日数に関する因子について検討した。

さらに重症例 (moderate, severe) についても, 同様の解析を行った。

3. 結果

3-1. 重症度別人数

重症度別人数は, mild 36 人 (48.0%), moderate 25 人 (33.3%), severe 14 人 (18.7%) であり, mild が約半数を占めた。

年齢別・重症度別人数を図 3 に示した。年齢の中央値は, mild 0 歳 11.0 ヶ月, moderate 1 歳 6.0 ヶ月, severe 0 歳 8.0 ヶ月であった。

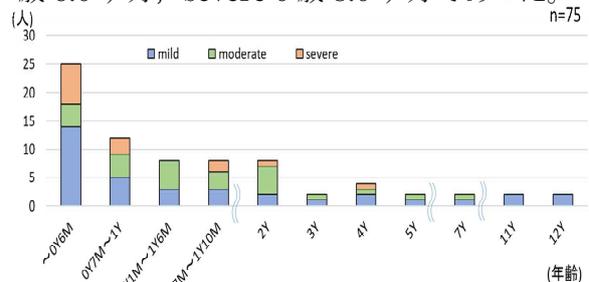


図 3 年齢別・重症度別人数

3-2. 小児の呼吸器感染症患者

3-2-1. 検出状況

リアルタイム(RT-)PCR の結果を図 4 に示した。75 人中 70 人 (93.3%) からウイルス遺伝子が検出された。最も多く検出されたウイルスは HRV (33 人, 44.0%) であり、次いで RSV (18 人, 24.0%) であった。

ウイルス重複検出症例 (16 人) では、HRV (14 人) が最も多く検出された。

3-2-2. 分子系統樹解析

HRV の分子系統樹解析の結果を図 5 に示した。HRV-A がやや多かったものの、HRV-A, HRV-B, HRV-C いずれも検出された。遺伝子群による重症度の差はみられなかった。

RSV の分子系統樹解析の結果を図 6 に示した。RSV-A は遺伝子型 ON1 (7 人), RSV-B は遺伝子型 BA9 (9 人) に分類された。遺伝子型による重症度の差はみられなかった。

3-2-3. 患者調査及び統計解析

退院後調査の結果を表 2 に示した。重症度が高い症例ほど、細菌の検出率が高い傾向がみられた。

表 2 退院後調査の結果

	人数(人)	mild	moderate	severe	
重症度	75	36	25	14	
平均入院日数(日)	75	17.5	8.6	16.2	
人工呼吸管理あり	75	18 (50.0%)	12 (48.0%)	12 (85.7%)	
SpO ₂ <90%あり	75	27 (75.0%)	22 (88.0%)	14 (100.0%)	
抗生物質の処方	処方あり	59 (78.7%)	26 (72.2%)	22 (88.0%)	11 (78.6%)
	処方なし	7 (9.3%)	4 (11.1%)	2 (8.0%)	1 (7.1%)
	不明	9 (12.0%)	6 (16.7%)	1 (4.0%)	2 (14.3%)
細菌検査結果	細菌検出	30	10 (27.8%)	9 (36.0%)	11 (78.6%)
	細菌不検出	45	26 (72.2%)	16 (64.0%)	3 (21.4%)
基礎疾患等あり	35	17 (47.2%)	12 (48.0%)	6 (42.9%)	
死亡例	1	-	-	1	

ウイルスと細菌の検出状況を図 7 に示した。ウイルスと細菌の重複検出症例は 75 人中 26 人 (34.7%) であった。重症度が高い症例ほど、ウイルスと細菌の重複検出の割合が高い傾向がみられた。

小児の呼吸器感染症患者 75 人のうち、ウイルスが検出された 70 人について統計解析を行った結果、ウイルスと細菌の重複検出症例は、ウイルスのみ検出症例よりも重症度スコアが有意に高かった ($p<0.05$)。

また、入院日数について解析を行った結果、ウイルスと細菌の重複検出症例は、ウイルスのみ検出症例よりも入院日数が有意に長かった ($p<0.01$)。

さらに、小児の呼吸器感染症患者 75 人について解析を行った結果、基礎疾患等あり症例は基礎疾患等なし症例よりも入院日数が有意に長かった ($p<0.001$)。

3-3. 重症例

3-3-1. 検出状況

moderate および severe 症例の合計 39 人のうち、37 人 (94.9%) からウイルスが検出された。最も多く検出されたウイルスは HRV (15 人, 38.5%) であり、次いで RSV (10 人, 25.6%) であった。

ウイルス重複検出症例 (8 人) では、全ての症例から HRV が検出された。

3-3-2. 分子系統樹解析

HRV の分子系統樹解析の結果は図 5 のとおりである。HRV-A が多く、HRV-B は severe 1 人、HRV-C は moderate 2 人であった。

RSV の分子系統樹解析の結果を図 6 に示した。RSV-A は遺伝子型 ON1 (5 人), RSV-B は遺伝子型 BA9 (4 人) に分類された。遺伝子型による重症度の差はみられなかった。

3-3-3. 患者調査及び統計解析

ウイルスと細菌の重複検出症例は、39 人中 18 人 (46.5%) であった (図 7)。

重症例 39 人のうち、ウイルスが検出された 37 人について統計解析を行った結果、ウイルスと細菌の重複検出症例は、ウイルスのみ検出症例よりも重症度スコアが有意に高かった ($p<0.01$)。

また、入院日数について解析を行った結果、ウイルスと細菌の重複検出症例は、ウイルスのみ検出症例よりも入院日数が有意に長かった ($p<0.05$)。

しかし、基礎疾患等の有無と入院日数について重症例 39 人のみで解析した結果、有意差は認められなかった。

4. 考察

入院を伴う小児の呼吸器感染症患者 75 人中 70 人 (93.3%) からウイルス遺伝子が検出されたことから、小児呼吸器感染症の多くはウイルスが関与していることが示唆された。また、最も多く検出されたウイルスは HRV (33 人, 44.0%) であり、次いで RSV (18 人, 24.0%) であったことから、小児の呼吸器感染症には HRV と RSV が多く関与していることが示唆された。

さらに、ウイルスと細菌の重複検出症例は、ウイルスのみ検出症例よりも重症度スコアが高く、入院日数も長かったことから、ウイルスと細菌の重複検出が重症度に影響を与えていることが推測された。

5. 謝辞

本調査についてご協力いただいた各医療機関の皆様に深謝いたします。

6. 参考文献

- 1) 砂川慶介, 他. こどもの感染症の診かた. 臨床医薬研究協会. 2009. p.67-68.
- 2) 尾内一信, 他. 小児呼吸器感染症診療ガイドライン 2017. 協和企画. 2016. p.179-183.
- 3) Tal A, et al, Dexamethasone and Salbutamol in the Treatment of Acute Wheezing in Infants. Pediatrics 1983 ; 71 : 13-8

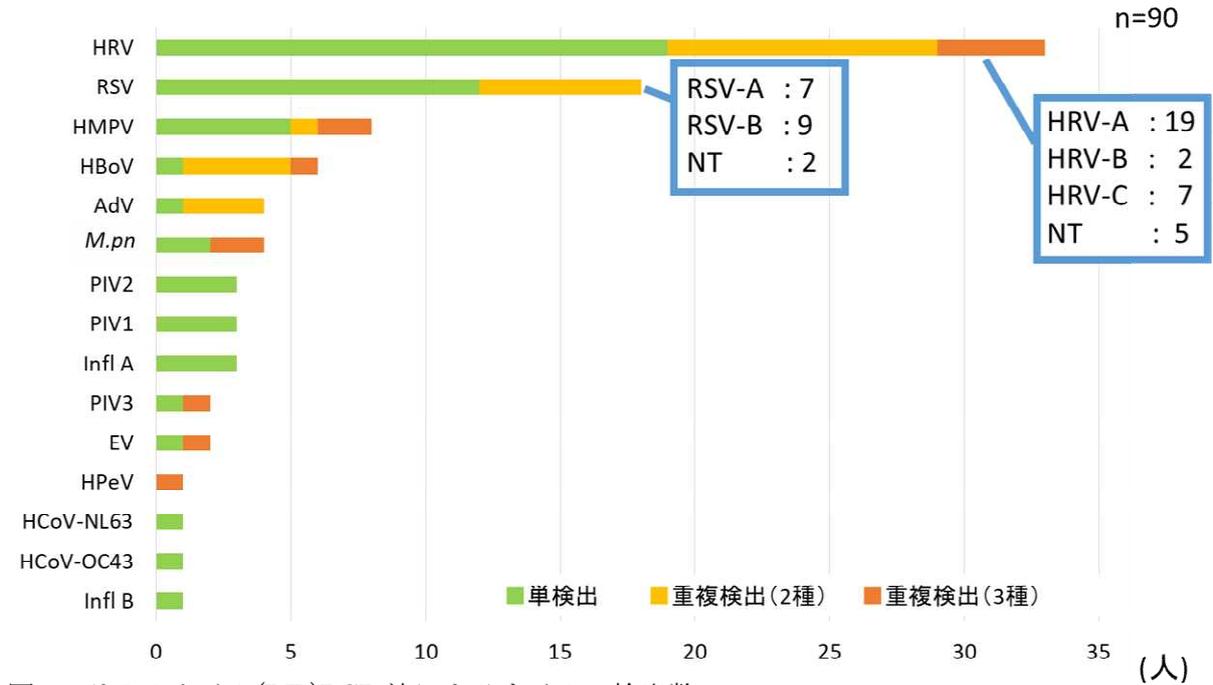


図4 リアルタイム(RT-)PCR法によるウイルス検出数

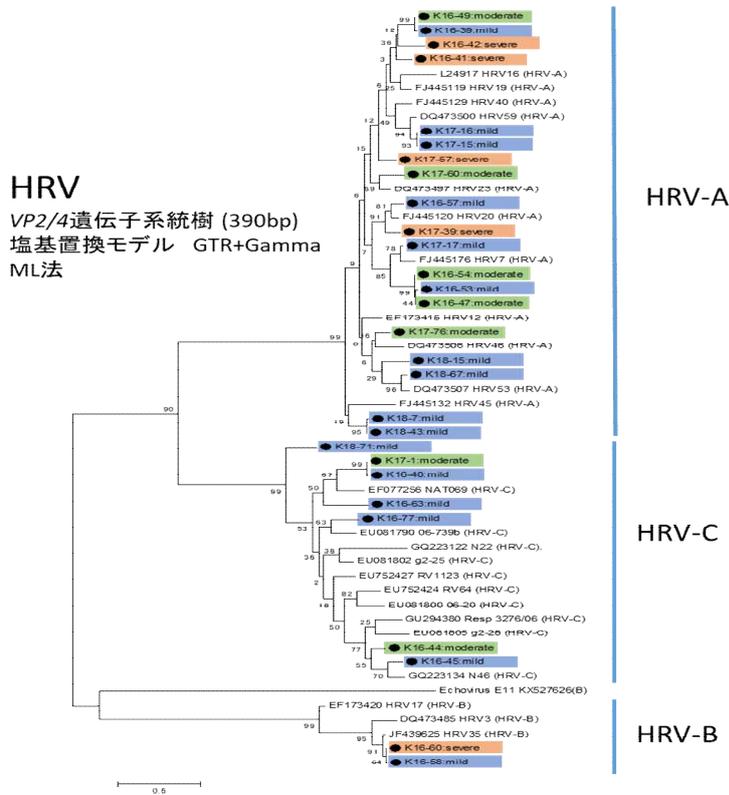


図5 ウイルス遺伝子系統樹解析 (HRV)

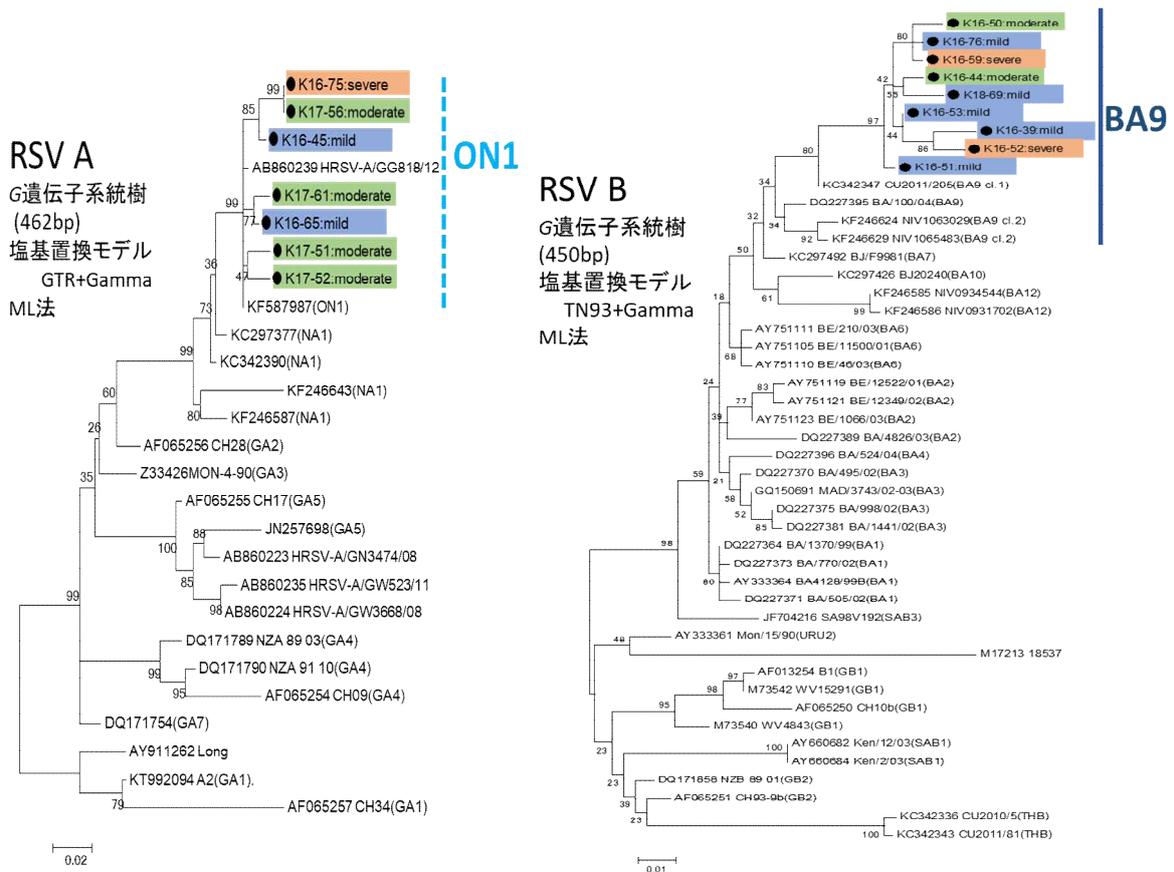


図6 ウイルス遺伝子系統樹解析 (RSV)

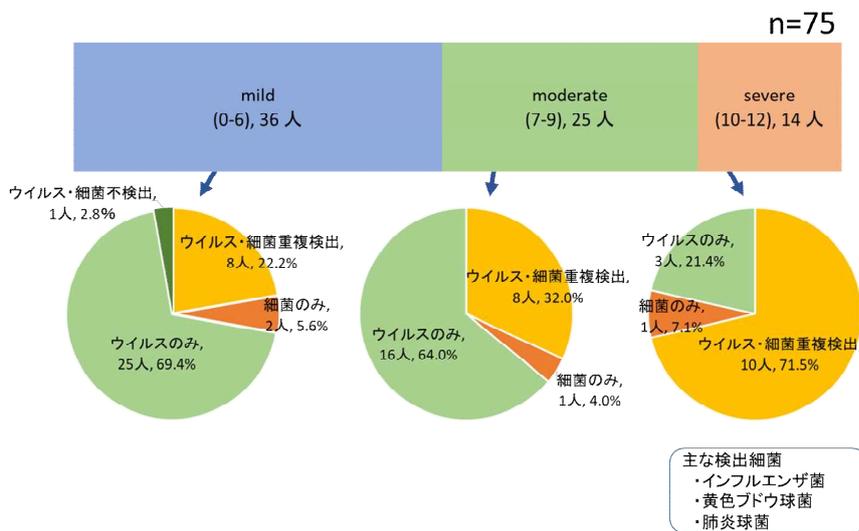


図7 重症度別ウイルス・細菌検出状況