

2008年夏期に広島市において多発した パレコウイルス3型について

山本美和子 阿部 勝彦 国寄 勝也* 国井 悦子
伊藤 文明 笠間 良雄

1999年に新たにピコルナウイルス科パレコウイルス属に分類されたウイルスであるパレコウイルスは、現在まで14の血清型/遺伝子型の報告がある¹⁾。本邦では1型および3型の報告が多いが、まだその病原性等について明かではない。本市においては2006年夏期に次いで、2008年夏期にもパレコウイルス3型の検出が多発した。患者の発生は夏期に集中し、患者は生後3カ月までの乳児が8割を占め、主症状は発熱であるが、その他さまざまな症状を呈した。さらに、2004年から2008年までに分離された株について、VP1領域での系統樹(アミノ酸配列)を作成することにより、2008年に分離されたほとんどの株が、2004年から2006年までの分離株と、別のクラスターを形成していることが分かった。

キーワード： ヒトパレコウイルス3型、乳幼児感染、発熱

はじめに

パレコウイルスは1999年にピコルナウイルス科エンテロウイルス属エコーウイルス22型、23型が生物学的、遺伝子学的にエンテロウイルス属と異なることから、それぞれパレコウイルス1型、2型と改名された。それ以後、現在までに14の血清型/遺伝子型が報告¹⁾されている。本市においては、1型および3型の検出が多く、特に、2006年、2008年夏期に3型の検出が多発した²⁾。市販の血清型別のためのパレコウイルスの抗血清は1型しかないため、今回は、抗原性に関与しているといわれるVP1領域(305bp)の塩基配列により遺伝子型を決定した。パレコウイルスについては様々な報告がなされているが、いまだ不明な部分も多い。今回2008年夏期に多発したパレコウイルス3型について、発生動向調査依頼票等を基に、臨床症状等についてのデータをまとめ、また、2004年から2008年までに分離された株について、VP1領域での遺伝子解析を行い、若干の知見を得たので報告する。

材料および方法

広島市結核・感染症発生動向調査事業により、2008年1月から12月に定点医療機関を受診した

876人の患者から採取された1293検体を材料とした。診断名、臨床症状等は発生動向調査依頼票のデータを使用した。

ウイルス分離は、4種類の細胞(HE, HEp-2, RD-18s, Vero)を使用した。36°C炭酸ガスフラン器で2週間静置培養を行い、細胞変性効果(CPE)が現れなかったものは2代目まで継代した。

Vero細胞において、パレコウイルス様CPEの出現したものは、市販(デンカ生研製)の抗パレコウイルス1型血清で中和試験を行った。中和できなかったものについて、5'UTR領域を増幅するリアルタイムPCR³⁾を行った。リアルタイムPCR法で陽性のものは、VP1領域を増幅するRT-PCR⁴⁾を行い、

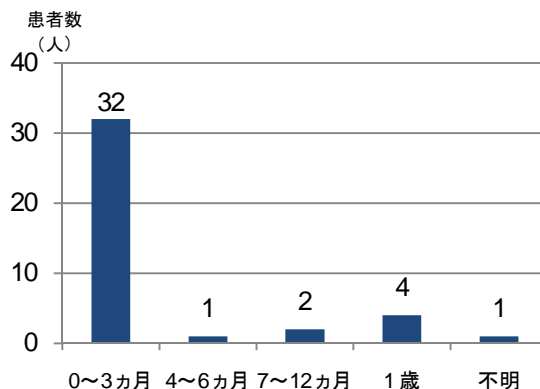


図1 患者の年齢

*: 現 環境局環境保全課

表1 検体別検体数および陽性検体数

検体名	陽性検体数	検査検体数
咽頭拭い液	29	744
糞便	24	325
髄液	5	126
尿	0	86
結膜拭い液	0	4
皮膚擦過物	0	3
その他	0	5
計	58	1293

ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。パレコウイルス標準株⁴⁾HPeV-1(accession no., L02971), HPeV-2(AJ005695), HPeV-3(AB084913), HPeV-4(AM235750, DQ315670), HPeV-5(AF055846, AM235749), HPeV-6(AB252582)を基にNJ法で系統樹を作成し、遺伝子型を決定した。

結 果

検査した 1293 検体, 876 人の患者のうち 58 検体(4.5%), 40 人(4.6%)からパレコウイルス 3 型が検出された。

検出された患者の年齢(図 1)は、生後 3 カ月までが最も多く、32 人(80%)であった。

月別患者数(図 2)は、6 月、7 月が 11 人、8 月が 13 人、9 月 4 人、10 月 1 人であった。

検体別検出状況(表 1)は、多い順に咽頭拭い液 29 検体、糞便 24 検体、髄液 5 検体であった。また、パレコウイルス 3 型が検出された患者から採取された全検体のパレコウイルス 3 型の検出率(表 2)は糞便が最も多く 77%、咽頭拭い液 73%、髄液 45%であった。尿からは検出されなかった。

患者の臨床症状は、発熱 39 人(98%)、胃腸炎症状 7 人(18%)、上気道炎 7 人(18%)、発疹 5 人(13%)、神経系症状 5 人(13%)、下気道炎 2 人(5%)

表2 パレコウイルス 3 型陽性患者から採取された全検体からの検体別陽性率

検体名	陽性検体数	全検体数
咽頭拭い液	29(73%)	40
糞便	24(77%)	31
髄液	5(45%)	11
尿	0(0%)	3
計	58(68%)	85

患者数 (人)

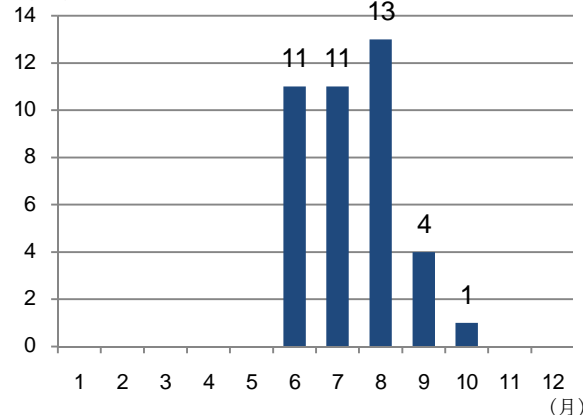


図2 月別検出患者数

であった。また、発熱を呈した患者の 6 割は最高体温が 39°C を超えていた(図 3)。

患者の臨床診断名は、不明熱 21 人、呼吸器疾患 7 人、無菌性髄膜炎 5 人、発疹性疾患 3 人、咽頭結膜熱 2 人、感染性胃腸炎 1 人であった。

VP1 領域(305bp)での系統樹(塩基配列)は図 4 のとおりで、分離株間の相同性は 99.3~99.7%、標準株と分離株の相同性は 95.0~96.0%であった。

考 察

広島市においては、パレコウイルス 3 型は、2006 年に多く検出され¹⁾、2007 年には検出されなかったものの、再び 2008 年に多く検出された。検出時期は両年ともに 6 月から 8 月に多く、パレコウイルス 3 型は夏期に流行するウイルスであることが示唆された。夏期に流行するものの、流行は毎年ではなく、数年おきに繰り返されるのではないかと考えられる。

患者の年齢は、生後 3 カ月までの乳幼児に多い

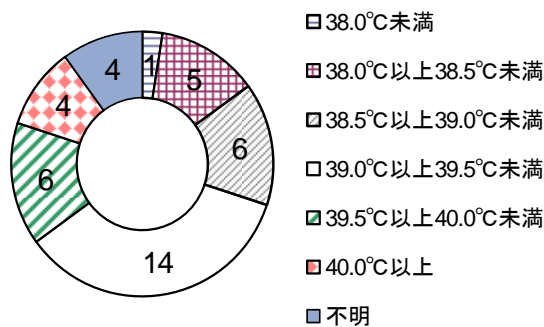


図3 患者の最高体温

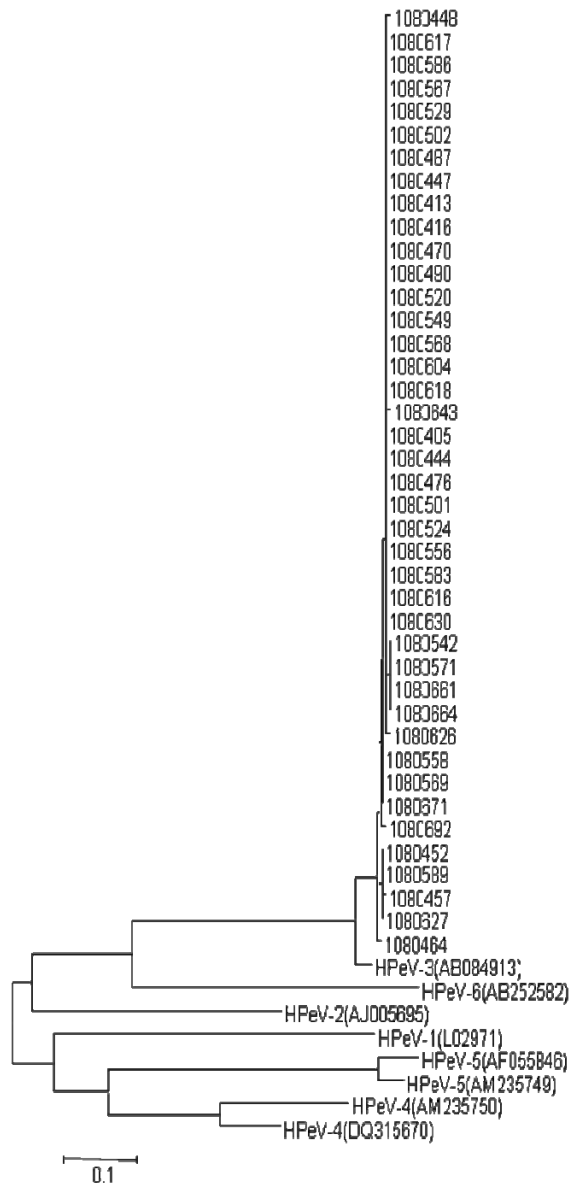


図4 VP1領域の系統樹(塩基配列)

ことが特徴的で、通常母親からの移行抗体があると思われる時期に発病している。

検体別検出状況では、咽頭拭い液が最も多く、糞便 24 検体、髄液 5 検体であった。また、パレコウイルス 3 型が検出された患者から採取されたすべての検体からの検出率では、糞便 77%、咽頭拭い液 73%と、糞便の方が咽頭拭い液より若干高かった。陽性患者の髄液からは 45%で検出されており、有用な検体と考えられる。

臨床症状は、発熱が 39 人(98%)の患者でみられた。発熱を呈した患者の平均最高体温は 39.1℃と高熱であった。発熱だけの患者の他、胃腸炎症

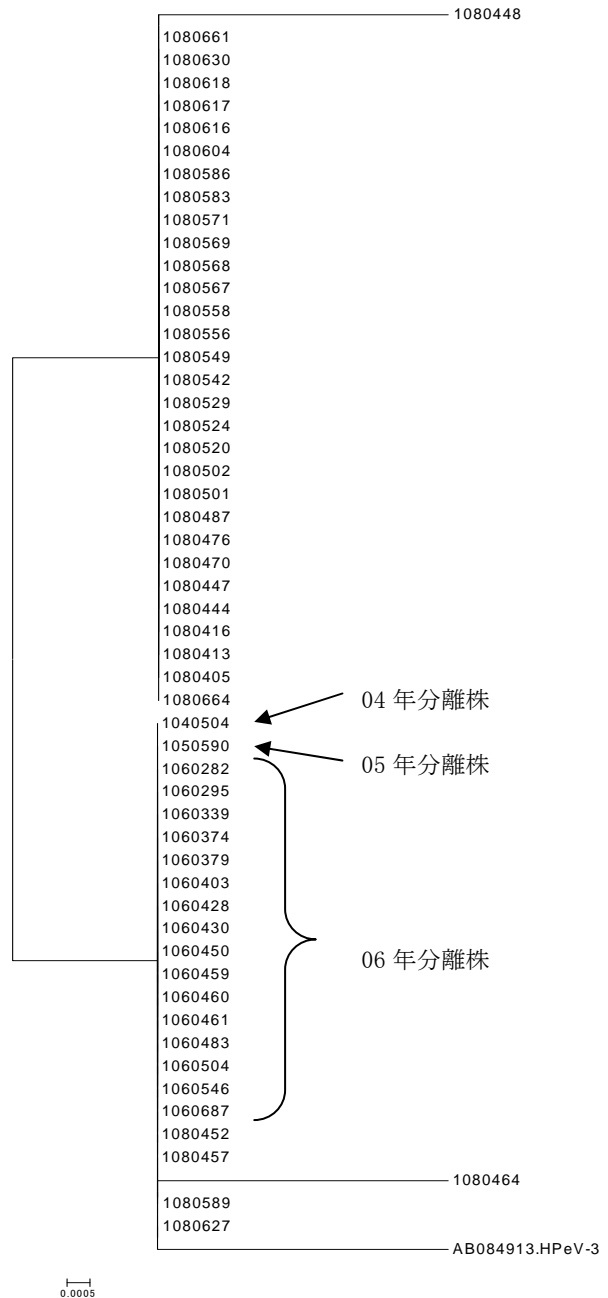


図5 2004年～2008年分離株のVP1領域の系統樹(アミノ酸配列)

状、呼吸器症状、発疹、髄膜炎等神経症状を呈する患者もいた。

診断名は、不明熱が多かったが、症状と同じく、さまざまな診断名であった。

2004年から2008年の主な分離株についてVP1領域(157aa)での系統樹(アミノ酸配列)(図5)を作成した。2008年のほとんどの分離株は2004年から2006年の分離株と別のクラスターを形成し、その違いは1アミノ酸であった。

パレコウイルス3型は、数年おきに流行が繰り返されることが示唆され、今回の調査では、前回の流行(2006年)から少し変異していることがうかがえた。また、生後3カ月までの乳幼児になぜ発生が多いのか等について、今後は抗体調査等も行い、解明していければと考えている。

謝 辞

広島市結核・感染症発生動向調査事業に日頃よりご協力頂いている定点医療機関各位に深謝いたします。

文 献

- 1) 伊藤 雅 他: ヒトパレコウイルス, 臨床と微生物, 36(3), 187~198(2009)
- 2) 山本美和子 他: 広島市におけるヒトパレコウイルスの発生動向(2004-2007年), 広島市衛生研究所年報, 27, 69~71(2008)
- 3) Corless, C.E., et al: Development and Evaluation of a 'Real-Time' RT-PCR for the Detection of Enterovirus and Parechovirus RNA in CSF and Throat Swab Samples, J Med Virol, 67, 555~562(2002)
- 4) 伊藤 雅 他: Human parechovirus の検出ならびに同定方法の検討, 愛知県衛生研究所報, 58, 1-8(2008)