

千葉市における急性脳炎患者からのウイルス検出状況について

坂本 美砂子、水村 綾乃、西川 和佳子

(環境保健研究所 健康科学課)

要 旨 平成 25 年から平成 27 年までの急性脳炎（脳症）患者からのウイルス検出状況は、128 検体（47 例）のうち 42 検体（30 例）から 51 件のウイルスが検出され、HHV-6 が 18 件（12 例）と最も多かった。HHV-6 が検出された 12 例のうち、髄液から検出された 4 例については、HHV-6 が病因と考えられた。

Key Words : 急性脳炎, HHV-6

1. はじめに

急性脳炎は、感染症の予防及び感染症の患者に関する法律における全数把握対象の五類感染症であり、平成 23 年には全国で 258 例の報告があった¹⁾。しかし、そのうち 119 例（46.1%）は原因不明となっており、急性脳炎・脳症を引き起こす感染症の実態を解明することが重要な課題となっている¹⁾。

千葉市では感染症発生動向調査事業において、急性脳炎（脳症を含む。）に対する有効かつ的確な診断・治療に係る対策を図るため、医療機関から依頼を受けた急性脳炎のウイルス検査を実施している。平成 25 年から平成 27 年までの期間に発症した急性脳炎患者からのウイルス検出状況について、若干の知見を得たので報告する。

2. 急性脳炎（脳症）患者の概要

当該期間に発症し、当所でウイルス検査を実施した急性脳炎患者は 47 例（男性 25 例、女性 22 例）であった。年齢幅は 0～64 歳で、0 歳が最も多く 10 例、次いで 1 歳が 8 例であり、0～1 歳が全体の 38.3%を占めた。患者は通年で発症しており、7 月が最も多い 10 例であった。臨床症状は脳炎・脳症のほかに、発熱 43 例（91.5%）、意識障害 31 例（66.0%）、けいれん 31 例（66.0%）、胃腸炎 15 例（31.9%）、上気道炎・下気道炎 11 例（23.4%）、肝機能障害 7 例（14.9%）、発疹 4 例（8.5%）であった。また、発熱の最高体温は 37.5～42.0℃（平均 39.4℃）であった。

3. 検査材料と方法

これら 47 例から採取された臨床材料計 128 検体（髄液 45 検体、血液 18 検体、尿 5 検体、咽頭ぬぐい液 33 検体、鼻汁 2 検体、喀痰 1 検体、ふん便・直腸ぬぐい液 24 検体）を検査材料としてウイルスの遺伝子検出および分離を実施した。

対象ウイルスは、ヒトヘルペスウイルス 6 型（HHV-6）、ヒトヘルペスウイルス 7 型（HHV-7）、単純ヘルペスウイルス（HSV）、水痘・帯状疱疹ウイルス（VZV）、ヒトエンテロウイルス（HEV）、ムンプスウイルス（MuV）、ヒトアデノウイルス（HAdV）の 7 種類とした。さらに、症状および年齢に応じて、そのほかのウイルスについても併せて実施した。

検体 200 μL から High Pure Viral RNA Kit（Roche 社製）を用いてウイルス核酸を抽出し、一部については DNaseI 処理後、Super Script III（Invitrogen 社製）にて cDNA を作成し、それぞれウイルス遺伝子検査に供した。

HHV-6²⁾、HHV-7²⁾、HSV³⁾、VZV⁴⁾については Real-time PCR 法を実施した。HEV⁵⁾、MuV⁶⁾、HAdV⁷⁾については Conventional（RT）-PCR 法を実施し、得られた PCR 産物についてダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定した。

ウイルス分離は RD-A または RD-18S、VeroE6、HEp-2、CaCo-2 および MDCK 細胞を用いた。

4. 結果

検査を実施した 128 検体のうち 42 検体から 51 件の

ウイルスが検出された。対象ウイルスにおいては 33 件のウイルス遺伝子が検出され、HHV-6 が 18 件、HHV-7 が 9 件、HSV が 1 件、HEV が 5 件であった。HEV 遺伝子は、NCBI における Blast の検索結果からコクサッキーウイルス A10 (CA10) 3 件、コクサッキーウイルス A9 (CA9) 1 件、コクサッキーウイルス B5 (CB5) 1 件であることが明らかになった。CB5 は、髄液を接種した HEp-2 および CaCo-2 細胞に細胞変性効果 (CPE) が確認され、その培養上清から検出された。なお、VZV、MuV、HAdV は検出されなかった。

症状等に応じて実施したほかのウイルスは 18 件検出された。上気道炎・下気道炎の症例検体からは、インフルエンザウイルス (Flu) 3 件、RS ウイルス (RSV) 2 件、ヒトメタニューモウイルス 2 件、ヒトライノウイルス (HRV) 5 件、ヒトコロナウイルス 1 件が検出された。Flu3 件のうち 2 件は Real-time RT-PCR 法¹¹⁾によって AH1pdm09 が検出され、ほか 1 件については鼻汁を接種した CaCo-2 および MDCK 細胞に CPE が確認され、赤血球凝集阻止試験にて AH3 型に同定された。胃腸炎症状からは、A 群ロタウイルス¹²⁾ 1 件、ノロウイルス¹³⁾ が 1 件、発疹症からはヒトパルボウイルス B19 (B19)¹⁴⁾ が 2 件検出された。また、1 歳未満の患者について実施したヒトパレコウイルス¹⁵⁾ は 1 件検出された。

ウイルスが検出された検体は、髄液 5 検体、血液 6 検体、尿 1 検体、咽頭ぬぐい液 21 検体、鼻汁 2 検体、喀痰 1 検体、ふん便・直腸ぬぐい液 6 検体であった。このうち咽頭ぬぐい液 7 検体からは複数のウイルスが検出された (表 1)。

表 1 複数のウイルスが検出された咽頭ぬぐい液

検体	検出ウイルス		
1	HHV-6	HHV-7	RSV
2	HHV-7	CA10	HRV
3	HHV-6	HRV	
4	HHV-6	B19	
5	HHV-7	CA9	
6	HHV-7	CA10	
7	RSV	HRV	

急性脳炎患者 47 例中 30 例からウイルスが検出されたが、HHV-6 は最も多く、12 例 (男性 3 例、女性 9 例) から検出された。HHV-6 が検出された患者と急性脳炎患者の概要を比較したところ、0~1 歳の占める割合 (75.0%)、けいれん (91.7%) および発疹 (25.0%)

の占める割合が高くなった (図 1)。

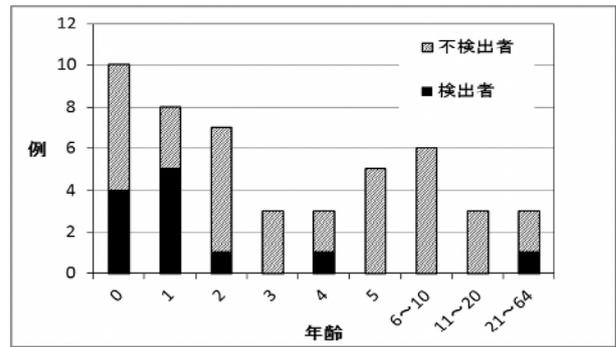


図 1 急性脳炎患者の年齢別 HHV-6 検出状況

HHV-6 が検出されたのは 18 検体 (髄液 4 検体、血液 5 検体、尿 1 検体、咽頭ぬぐい液 7 検体、ふん便・直腸ぬぐい液 1 検体) であった。髄液から HHV-6 が検出された 4 例のうち 3 例の患者は、ほかの臨床検体からも HHV-6 が検出された。また、HHV-6 が検出された 5 例の患者から HHV-7、RSV、HRV、B19 も検出された (表 2)。

表 2 HHV-6 検出者の状況

症例	年齢	臨床検体の検査結果				
		髄液	血液	咽頭ぬぐい液	F	尿他
1	0	-		HHV-6、HRV	-	
2	1	HHV-6		HHV-6		
3	4	-		HHV-6	-	
4	0	-		HHV-6		
5	1	-	HHV-6	HHV-6		
6	64	-			-	HHV-6 HHV-7 ^{*1}
7	1	HHV-6		-	HHV-6	
8	0	-	HHV-6 ^{*2}	-	-	
9	1	HHV-6	-	HRV	-	
10	2	-	HHV-6	HHV-6		
				HHV-7、RSV		
11	1	-	HHV-6			
12	0	HHV-6		HHV-6、B19		

F: 糞便または直腸ぬぐい液 空欄: 未実施

*¹ 喀痰から検出 *² 採取時期が異なる 2 検体

5. 考察

感染症発生動向調査において、急性脳炎は低年齢の乳幼児に発症が多く、0~14 歳の原因と推定された病原体は、Flu が最も多い 37.3%、次いで HHV-6 が 5.0%

であるが¹⁶⁾、当所では HHV-6 が最も多く、25.5%の急性脳炎患者から検出された。

HHV-6 は突発性発疹の原因でもあり、3 歳までに 95%以上の乳幼児が抗体陽性となり、初感染以降は唾液腺などに存続して潜伏感染状態となる¹⁷⁾。そのため、ウイルス学的な診断としては通常 HHV-6 が存在しない部位(髄液等)からの DNA 検出が求められる¹⁷⁾。このことから、髄液から HHV-6 遺伝子が検出された 4 例については、HHV-6 が急性脳炎の原因であると考えられた。また、HHV-6 の初感染は幼少時に多く、HHV-6 による脳症はけいれんの合併頻度が高い特徴があることから¹⁸⁾、髄液から検出されなかった症例についても HHV-6 が病因である可能性が示唆された。

急性脳炎は特定のウイルスを原因とするものではなく、種々の病原体の感染症による脳実質の感染症である。したがって、当所では複数のウイルスを対象としており、さらに、症状等に応じてそのほかのウイルスについても検査を実施している。

ただし、ウイルス遺伝子検出は高感度であるが、検出されたウイルスは必ずしも全てが急性脳炎の原因ではなく、潜伏感染状態やほかの症状の起因になった場合等がある。しかしながら、急性脳炎の約半数が原因不明であるうえに病因は多岐にわたる現状では、地域的流行および国内外の発生動向も視野に入れ、今後も同様の方針でウイルス検査を実施することが、病因解明につながると考えられる。

文 献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課,日本脳炎及び予防接種後を含む急性脳炎・脳症等の実態把握について,平成 25 年 11 月 22 日,事務連絡
- 2) Kaoru Wada et al. : Multiplex real-time PCR for the simultaneous detection of herpes simplex virus, human herpesvirus 6, and human herpesvirus 7, *Microbiol Immunol*, 2009, 22 - 29
- 3) 長島真美 他 : 単純ヘルペス 1 型および 2 型ウイルス検査のための Multiplex Real-time PCR 法の開発, *感染症学雑誌*, 2007, 549 - 554
- 4) Paul A.Campsall et al. : Detection and Genotyping of Varicella-Zoster Virus by TaqMan Allelic Discrimination Real-time PCR, *J. Clin. Microbiol.*, 2004, 1409 - 1413
- 5) 石古博昭 他 : 遺伝子系統解析によるエンテロウイルスの同定, *臨床とウイルス* 27, 1999, 283 - 286
- 6) 国立感染症研究所 : ムンプスウイルス病原体検査マニュアル, 病原体検出マニュアル, 2003
- 7) 岡田峰幸 他 : ヘキソン領域遺伝子解析によるアデノウイルス型別法の検討, *千葉衛研報告* 第 28 号, 2004, 15 - 18
- 8) 横井一 他 : Real-time RT-PCR 法による RS ウイルス遺伝子の検出とサブグループ型別, *感染症学雑誌*, 2012, 569 - 576
- 9) 水村綾乃 他 : リアルタイム RT-PCR によるヒトメタニューモウイルス遺伝子の検出, *千葉市環境保健研究所年報* 第 21 号, 2014, 47 - 50
- 10) Leen Vijgen et al. : A Pan-coronavirus RT-PCR Assay for Detection of All Known Coronaviruses, *Methods Mol. Biol.* 454, 2008, 3 - 12
- 11) 国立感染症研究所 : インフルエンザ診断マニュアル, 病原体検出マニュアル, 2012
- 12) Catriona Logan et al. : Real-time Reverse Transcription-PCR for Detection of Rotavirus and Adenovirus as Causative Agents of Acute Viral Gastroenteritis in Children, *J. Clin. Microbiol.*, 2006, 3189 - 3195
- 13) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長,「ノロウイルスの検出法について」の一部改正について,平成 25 年 10 月 22 日,食安監発 1022 第 1 号
- 14) Claudia Aberham et al. : A quantitative, internally controlled real-time PCR Assay for the detection of parvovirus B19 DNA, *J. Virol. Method* 92, 2001, 183 - 191
- 15) Paivi Joki-Korpela et al. : Diagnosis and Epidemiology of Echovirus 22 infections, *Clinical Infectious Diseases*, 1998, 129 - 136
- 16) 国立感染症研究所 : 急性脳炎 2004~2007.8, *IASR Vol.28*, 2007, 339-340
- 17) 国立感染症研究所 : 突発性発疹, 病原体検査マニュアル, 2015
- 18) 森島恒雄 : 2.小児の急性脳炎・脳症の現状, *ウイルス* 第 59 巻第 1 号, 2009, 59 - 66