

原著

ロタウイルス血清抗原量と臨床症状との関連性解析*

菅田 健¹⁾ 吉川 哲史¹⁾ 須賀 定雄¹⁾
浅野 喜造¹⁾ 鈴木 恭子²⁾ 大橋 正博³⁾
西村 直子⁴⁾ 尾崎 隆男⁴⁾

要旨 ロタウイルス性胃腸炎の診断で入院した患児 60 名の血清中ウイルス抗原量を測定し、臨床症状との関連を調べた。ウイルス抗原検出は、VP-6 に対するモノクローナル抗体を用いた酵素抗体法で行った。すべての患児急性期血清から、ロタウイルス抗原が検出された。急性期血清中ウイルス抗原量は、回復期血清に比して有意に高かった ($p < 0.0001$)。発症後のロタウイルス抗原量は第 2 病日でピークに達し、その後は徐々に減少し第 6 病日ではほとんど測定限界以下となった。発熱を認めた群の急性期血清中ウイルス抗原量は、発熱のなかった群に比して有意に高かった ($p = 0.0273$)。肝機能障害、けいれんの有無と血清中ウイルス抗原量との間に関連性はなかった。

はじめに

ロタウイルスは幼小児期における急性胃腸炎を起こす主要な起因病原体であり、毎年全世界で 200 万人以上の入院患者と 50 万人以上の死亡者が発生する。急性期の臨床症状は、軽症なものから致死的な脱水をきたす嘔吐下痢までさまざまである。

これまでロタウイルス感染症は腸管における局所的なウイルス増殖により発症すると考えられていたが、近年急性期に抗原血症やウイルス血症をきたすことが報告された^{1,2)}。ロタウイルス感染に

伴う脳症や肝炎合併例の存在は臨床的にも全身感染症を思わせるが、これまでこれら腸管外合併症と抗原血症との関連性を調べた報告はない。そこで今回われわれは、詳細なウイルス学的解析を実施しロタウイルス抗原血症の確認、ならびにウイルス抗原量と臨床症状との関連性について検討したので報告する。

I. 対象と方法

平成 16 年 12 月 1 日～18 年 4 月 30 日の間に藤田保健衛生大学病院と関連病院（豊川市民病院、刈谷豊田総合病院、愛知県厚生連昭和病院）3 施設

* Analysis of an association between quantity of serum rotavirus antigen and clinical features

Key words : ロタウイルス, 抗原血症, VP-6, 発熱

- 1) 藤田保健衛生大学医学部小児科 Ken Sugata, Tetsushi Yoshikawa, Sadao Suga, Yoshizo Asano (〒 470-1192 豊明市杣掛町田楽ヶ窪 1-98)
- 2) 豊川市民病院小児科 Kyoko Suzuki
- 3) 刈谷豊田総合病院小児科 Masahiro Ohashi
- 4) 愛知県厚生連昭和病院小児科 Naoko Nishimura, Takao Ozaki

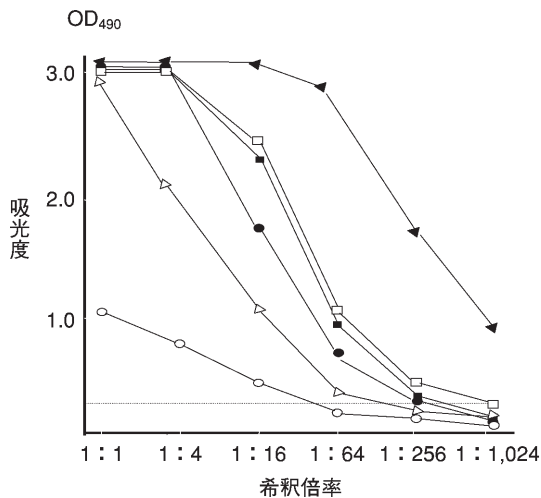


図 1 被検血清の至適希釈倍率の決定

を受診し、ロタウイルス性胃腸炎（便中ウイルス抗原陽性；ロタディップ，栄研化学）と診断され，入院した患児 60 名（男児 40 名，女児 20 名，年齢は 0～6 歳； 1.4 ± 1.4 歳）を対象とした。入院時および退院時にペア血清（各 2 ml）を採取し検査に用いた。研究プロトコールについては本学倫理審査委員会にて承認を受け，研究の参加については保護者からの同意を得た。

血清中のウイルス抗原量の測定方法は以下のとおりである。A 群ロタウイルスに広く反応する VP-6 に対する独自のモノクローナル抗体（YO-156）³⁾を用い，コーティングした 96 穴プレートを使用し，酵素抗体（EIA）法にて被検血清中のウイルス抗原量を測定，OD 値として表現した。被検血清の至適希釈倍率を求めるため，抗原陽性となった血清を 4 倍段階希釈し吸光度を測定した（図 1）。原液を希釈せずに測定した場合，ほとんどの検体で吸光度が 3 以上となった。一方 256 倍まで希釈すると，カットオフ値（0.3 に設定）近辺の吸光度となり差が認められなかった。16 倍では吸光度の定量的な評価が可能となるため，今回の実験では血清を 16 倍希釈し測定した。

発熱，肝機能障害，けいれんなどの臨床症状は診療録をもとに後方視的に調べた。病日についてはいずれかの症状出現日を第 1 病日と定義した。

急性期と回復期の血中ウイルス抗原量の比較は

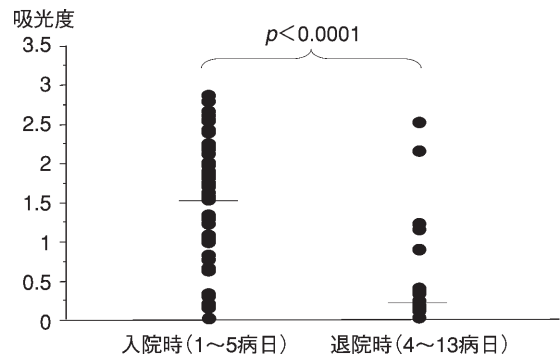


図 2 入院時と退院時の抗原量の比較 (n=60)

Wilcoxon 検定で行い，発熱，肝機能障害，けいれんの有無による血中ウイルス抗原量の比較は Mann-Whitney 検定で解析した。

II. 結 果

すべての急性期患児血清 (2.8 ± 1.2 病日) からロタウイルス抗原が検出された（吸光度 1.53 ± 0.93 ）。一方，退院時血清 (7.5 ± 1.8 病日) については，60 検体中 9 検体（15%）でロタウイルス抗原が検出された。吸光度は 0.25 ± 0.45 で，入院時と比べ明らかに低値を示した ($p < 0.0001$)（図 2）。退院時に吸光度が 2 以上となった検体を 2 例認めたが，いずれも検体採取日が第 4 病日と早期であった。

図 3 に発症後のロタウイルス抗原量の推移を示した。抗原量は第 2 病日でピーク（吸光度 2.02 ± 0.73 ）に達し，その後は徐々に減少して第 6 病日ではほとんど測定限界以下となった。

次に，急性期血清中ウイルス抗原量と発熱の関連性について検討した（図 4）。入院時の体温が 37.5°C 以上を発熱ありと定義した。発熱を認めた群の急性期血清中ウイルス抗原量は 1.7 ± 0.87 ，発熱を認めなかった群は 1.07 ± 0.98 で，発熱あり群で有意に高値を示した ($p = 0.0273$)。

肝機能障害は，AST/ALT のいずれかが 40 IU/L 以上を示した場合と定義した。肝機能障害を認めた群と肝機能障害を認めなかった群の間に抗原量の差は認められなかった（図 5）（ 1.47 ± 0.90 vs 1.65 ± 0.99 , $p = 0.3778$ ）。また，けいれんを認めた群とけいれんを認めなかった群の間でも抗原量の

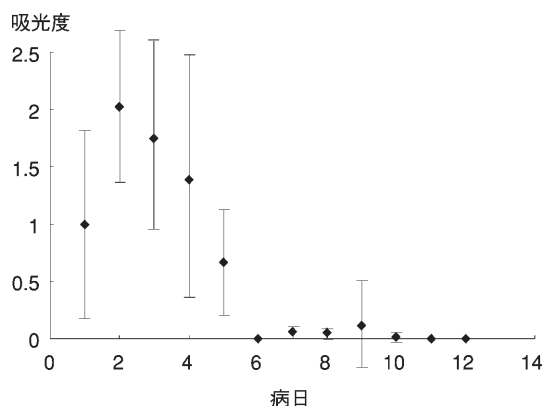


図3 発症後の抗原量の推移

差はなかった (図6) (1.38 ± 1.04 vs 1.56 ± 0.93 , $p=0.6451$). けいれんをきたした7例のうち発熱を伴うけいれんは4例で、下痢に伴う機会関連けいれんが3例あった。

III. 考 察

ロタウイルス性胃腸炎の患者においては嘔吐、下痢が主症状であるが、発熱、肝機能障害のような全身症状を認める症例にもしばしば遭遇する。またロタウイルス性胃腸炎に合併した脳炎症例の髄液から、RT-PCR法によりウイルスゲノムが検出されたという報告もある⁵⁾。2003年にLancetにロタウイルス性胃腸炎患児でのウイルス抗原血症の存在が初めて報告されて以来¹⁾、複数のグループから相次いで同様の報告がなされた^{3,4)}。今回のわれわれの研究でも、入院時の患児全例で抗原が検出されたことから、抗原血症が高頻度に起きていることが確認された。Rayらはロタウイルス性胃腸炎の急性期患児血清の64%から⁴⁾、Fischerらは42.9%からウイルス抗原が検出されたと報告している²⁾。彼らの研究では血清原液を被検検体として用いているが、われわれの研究では16倍希釈の血清を用いているにもかかわらず彼らの報告よりはるかに高い検出率であった。これはわれわれが独自に作製した抗原検出法の感度が優れていた可能性と、検体採取方法の相違によるところが大きいと考えられる。発症後の経時的なウイルス抗原量の推移についてもFischerらが報告しているが²⁾、発症直後の検体でもウイルス抗原陰性の

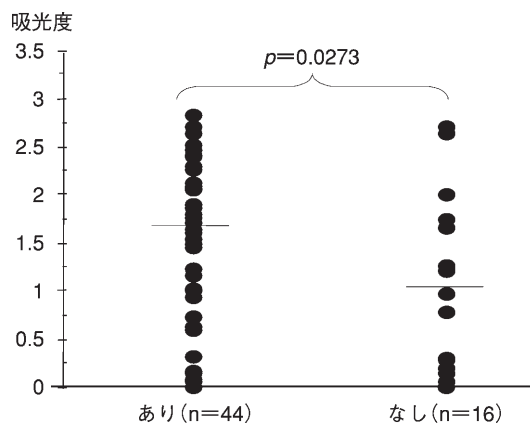


図4 発熱の有無と抗原量の比較

ものも多く、詳細なウイルス抗原量の変化は不明である。一方、今回のわれわれの研究では、図2に示したようにロタウイルス性胃腸炎における抗原血症は発症から第2病日をピークとして5日間程度起きていることが明らかとなった。このような発症直後のダイナミックなロタウイルス抗原血症の推移は、入院患児を経時的にフォローするような研究デザインにより可能であり、ロタウイルス感染症の発症病態を考えるうえでも極めて貴重な成績と思われる。

われわれはこれまでウイルス血症をきたす水痘や突発疹において、それぞれ血中ウイルス量と疾患重症度の間に関連があることを報告してきた^{6,7)}。急性期のウイルス抗原血症の存在が明らかになったロタウイルス性胃腸炎においては、臨床症状と抗原量についての詳細な報告はこれまでなされていない。図4に示したように発熱を認めた群で血清中のウイルス抗原量が有意に高かったことから、発熱はウイルス増殖の強い患者で出現することが示唆された。しかし、ウイルス抗原量とロタウイルス性胃腸炎の主症状である嘔吐、下痢との関連は重症度の評価が難しく今回の研究では解析できなかった。今後新たな前方視的研究を行い検討したい。また現在は各施設がin houseのEIA測定系を用いているため、施設間での抗原量の比較は困難である。将来標準法が定められ、施設間での抗原量比較が可能になることにより、ウイルス抗原量と疾患重症度の関連性解析がさらに

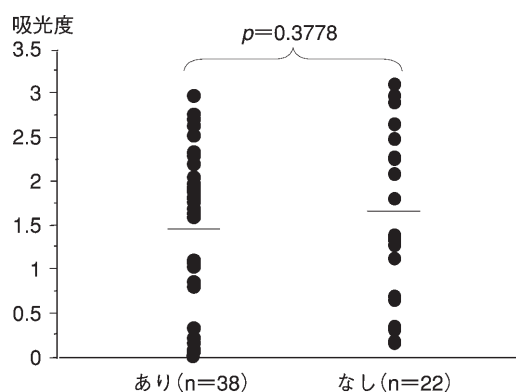


図 5 肝機能障害の有無と抗原量の関連性

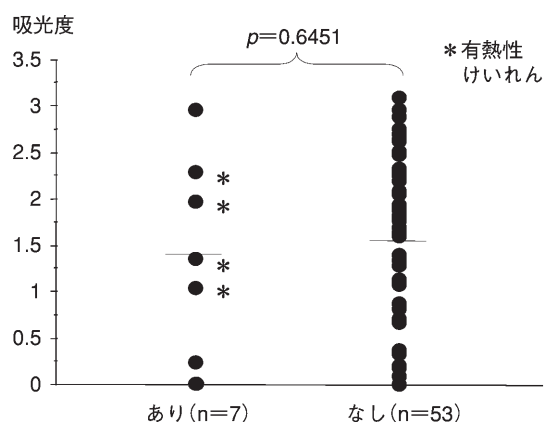


図 6 けいれんの有無と抗原量の関連性

進むことが期待される。

ロタウイルス性胃腸炎に伴う小児の死亡例やウイルス感染実験において、心臓、肺、肝臓、脾臓などの腸管外臓器からロタウイルス RNA や抗原が検出されている^{8,9)}。また、ロタウイルス感染時に脳炎・脳症などの中枢神経系合併症をきたすことはよく知られており、Nishimura らはそのような症例の髄液中から RT-PCR 法によりロタウイルス RNA を検出したと報告している¹⁰⁾。このような腸管外合併症の発症メカニズムとして、各臓器へのウイルスの直接侵襲があるか否かは非常に興味のある点である。今回のわれわれの研究では、肝機能障害と抗原量には相関が認められず (図 5)、けいれんに関しても抗原量との相関はなかった (図 6)。よって今回の結果からは、肝機能障害や中枢神経症状はウイルス増殖とは関連が認められず、間接的なメカニズムで生じることが示唆された。今後、症例数を増し再検討するとともに、患児血清や髄液中サイトカイン濃度を測定するなどして、これら腸管外合併症の発症機序解明をめざしたい。

謝辞：本研究に協力していただいた藤田保健衛生大学ウイルス寄生虫学講座 谷口孝喜教授に深謝いたします。

本論文の要旨は、第 38 回日本小児感染症学会 (2006 年 11 月、高知市) において発表した。

文 献

- 1) Sarah B, et al : Rotavirus antigenaemia and viremia : a common event? Lancet 362 : 1445-1449, 2003
- 2) Fischer T, et al : Rotavirus antigenemia in patients with acute gastroenteritis. J Infect Dis 193 : 913-919, 2005
- 3) Taniguchi K, et al : Production of subgroup-specific monoclonal antibodies against human rotaviruses and their application to an enzyme-linked immunosorbent assay for subgroup determination. J Med Virol 14 : 115-125, 1984
- 4) Ray P, et al : Quantitative evaluation of rotaviral antigenemia in children with acute rotaviral diarrhea. J Infect Dis 194 : 588-593, 2006
- 5) Lynch M, et al : The pathology of rotavirus-associated deaths, using new molecular diagnostics. Clin Infect Dis 37 : 1327-1333, 2003
- 6) Asano Y, et al : Severity of viremia and clinical findings in children with varicella. J Infect Dis 161 : 1095-1098, 1990
- 7) Asano Y, et al : Severity of human herpesvirus-6 viremia and clinical findings in infants with exanthem subitum. J Pediatr 118 : 891-895, 1991
- 8) Coffin SE, et al : Impact of acute rotavirus gastroenteritis on pediatric outpatient practices in the United States. Pediatr Infect Dis J

- 25 : 584-589, 2006
- 9) Crawford S, et al : Rotavirus viremia and extraintestinal viral infection in the neonatal rat model. J Virol 80 : 4820-4832, 2006
- 10) Nishimura S, et al : Detection of rotavirus in cerebrospinal fluid and blood of patients with convulsions and gastroenteritis by means of reverse transcription polymerase chain reaction. Brain Dev 15 : 457-459, 1993

(受付 : 2007 年 5 月 1 日, 受理 : 2007 年 7 月 9 日)

* * *