

機関番号：84407

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2010

課題番号：19790442

研究課題名（和文） 小児呼吸器感染症に伴う中耳炎の原因微生物の同定に関する研究

研究課題名（英文） Identification of the causal agent of otitis media associated with respiratory infection in children

研究代表者

倉田 貴子 (KURATA TAKAKO)

大阪府立公衆衛生研究所・感染症部・研究員

研究者番号：70435890

研究成果の概要（和文）：今回の研究で開発した3つの Multiplex RT nested PCR 法および2つの nested PCR 系を用いて、中耳炎の原因ウイルスとして報告数の多いRSウイルス感染が疑われた2歳未満の小児の鼻腔吸引液117検体のPCRを行った。全検体のうち107検体(91.45%)から1種類以上のウイルスが、そのうち57検体(48.7%)で2種類以上のウイルスが検出された。検出ウイルスの内訳は61検体(52.13%)でRS、46検体(39.3%)でライノおよびエンテロ、44検体でアデノ(37.6%)、21検体でボカ(19.7%)、9検体(7.7%)でパラインフルエンザ、2検体(1.7%)でヒトメタニューモ、1検体(1.7%)でコロナウイルスであった。複数のウイルスが検出された57検体のうち、38検体(66.6%)で2種類、16検体(28.27%)で3種類、3検体(5.2%)で4種類のウイルスが検出された。主にRNAウイルスとDNAウイルスのセットで検出されることが多く、最も多く見られたパターンはRSウイルスとアデノウイルスの混合感染(21%)であった。

研究成果の概要（英文）：To detect the causal agents of otitis media associated with respiratory infection, we investigated 117 nasal swabs collected from children less than 2 years old who had been suspected to infect by RS virus. Using three multiplex RT nested PCR methods and two conventional nested PCR methods developed in this study, 91.5% of all samples were containing more than one viral agent. Of all, RS virus was detected in 61 (52.1%), Rhino or Enterovirus was detected in 46 (39.3%), Adenovirus was detected in 44 (37.6%), human Bocavirus was detected in 21 (19.7%), Parainfluenza virus was detected in 9 (7.7%), human Metapneumovirus and Coronavirus was detected in one specimen (1.7%). Co-infection was detected in 57 cases (48.7%) and among them, 38 specimens (66.6%) contained two, 16 specimens (28.27%) contained three and 3 specimens (5.2%) contained four agents. Co-infection with RS virus and Adenovirus was most commonly detected in this study (21%).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	0	1,300,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	540,000	3,640,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学・健康科学

キーワード：健康管理、感染症、ウイルス

1. 研究開始当初の背景

乳幼児の上気道感染症は小児科医療の現場でもっとも発生頻度が高い疾患である。鼻漏、喉の痛み、結膜の充血、発熱、頭痛、倦怠感、筋肉痛などその症状や程度は多様である。これらの症状が現れた後、平均 3-4 日で急性中耳炎を発症することが多く、2 歳未満の小児の 70-80%に急性中耳炎の罹患歴があるという報告もある。上気道感染症と急性中耳炎の関連については 1960 年代から研究がなされてきた。急性中耳炎を引き起こす病原因子として、ウイルスと細菌が関与しており、ウイルス性の中耳炎の原因としては、RSウイルス、インフルエンザウイルス、アデノウイルス、パラインフルエンザウイルス、メタニューモウイルス等が、細菌性の中耳炎の原因としては肺炎球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、インフルエンザ菌(*Hemophilus influenzae*)などが主要な病原体として知られている。ウイルスと細菌の混合感染も高い割合で起きているという報告もあるが、混合感染の機序は未だに明らかになっていない。

ウイルス性の中耳炎の可能性が多分にあるにも関わらず、実際の臨床治療では主に肺炎球菌を標的とした抗生物質(アモキシリン)の投与が多くの場合行われて来た。しかし、実際にはウイルスが原因と思われる抗生物質に反応しない症例も多い他、ペニシリン耐性SPが治療上問題となっている。標的とする病原体を把握せずに投与される抗生物質の不適切な使用は、薬剤耐性菌の出現という公衆衛生上重大な問題をひきおこし、小児医療のみならず多くの医療環境において深刻な影響を及ぼすことが危惧される。

2. 研究の目的

本研究では、中耳炎に先行する上気道感染症を呈した小児から採取したサンプルを用いて、上気道感染するほぼ全てのウイルスを対象として multiplex RT-PCR (reverse

transcriptase polymerase chain reaction)および nested PCR によって原因微生物の同定を行い、急性中耳炎におけるそれらの種類と全体に占める割合を明らかにすることを目指す。

3. 研究の方法

中耳炎の主要な原因ウイルスとして報告されているウイルス (RSウイルス、インフルエンザウイルス、アデノウイルス、パラインフルエンザウイルス、メタニューモウイルス)に加えて、ライノウイルス、エンテロウイルス、ヒトボカウイルスを検出できる3つの Multiplex-RT nested PCR系および2つの nested PCR系を構築した。PCR系は既報の論文をもとに検出感度を考慮して改良を行い作成した。

中耳炎の前駆症状となる急性呼吸器感染症に罹患した小児の鼻腔吸引液から抽出した核酸(RNA および DNA)を鋳型として上記の系を用いた PCR を行い、陽性のバンドについては、シーケンスを行って検出されたウイルスを確定した。

4. 研究成果

作成したPCR系を用いて、臨床検体のPCRを行った。当初の目的では呼吸器症状を呈した後に中耳炎となった小児の咽頭ぬぐい液を臨床検体として使用する予定であったが、実際に十分な検体数を確保する事が困難であったため、中耳炎の原因ウイルスとして報告数の多いRSウイルス感染が疑われた2歳未満の小児の鼻腔吸引液117検体を用いた。

PCRの結果、2005年~2009年までに採取された鼻腔吸引液117検体のうち107検体(91.45%)から1種類以上のウイルスが、そのうち57検体(48.7%)で2種類以上のウイルスが検出された。ウイルスの内訳は61検体(52.13%)でRS、

46検体(39.3%)でライノおよびエンテロ、44検体でアデノ(37.6%)、21検体でボカ(19.7%)、9検体(7.7%)でパラインフルエンザ、2検体(1.7%)でヒトメタニューモ、1検体(1.7%)でコロナウイルスであった。複数のウイルスが検出された57検体のうち、38検体(66.6%)で2種類、16検体(28.27%)で3種類、3検体(5.2%)で4種類のウイルスが検出された。主にRNAウイルスとDNAウイルスのセットで検出されることが多く、最も多く見られたパターンはRSとアデノの混合感染(21%)であった。

今回の研究では、RSウイルス感染が考えられた小児において、RSウイルス以外の病因を含む多様なウイルスの混合感染状況を明らかにできた。中耳炎患者検体においても同様な混合感染が予想されるため、直接病因となるウイルスの絞り込みには、さらにコピー数の決定や臨床症状の変化に即した継続的なサンプリング等が必要となる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

Kurata Takako, Miyagawa Hiromi et al. An outbreak of measles classified as genotype H1 in 2008 in Osaka prefecture. Japanese Journal of Infectious Diseases 査読あり 62. 2009. 76-77.

[学会発表] (計1件)

倉田貴子、宮川広実 他. 大阪府内における麻疹ウイルスの分離・検出状況. 2008. 第56回日本ウイルス学会学術集会

6. 研究組織

(1) 研究代表者

倉田貴子 (KURATA TAKAKO)

大阪府立公衆衛生研究所・感染症部・研究員

研究者番号：70435890