



Title	小児呼吸器感染症の病態と治療法の検討 : ヒトボカウイルス感染症とインフルエンザ
Author(s)	中川, 直子
Description	配架番号 : 2125
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11601号
Issue Date	2014-12-25
DOI	<a href="https://doi.org/10.14943/doctoral.k11601">https://doi.org/10.14943/doctoral.k11601</a>
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/57761">https://hdl.handle.net/2115/57761</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Naoko_Nakagawa.pdf



## 学位論文

小児呼吸器感染症の病態と治療法の検討：

ヒトボカウイルス感染症とインフルエンザ

(The pathogenesis and treatment of respiratory tract infections  
in children : Human bocavirus and influenza virus infections.)

2014年12月

北海道大学

中川直子

## 目 次

発表論文目録および学会発表目録	1 頁
論文の背景	3 頁
略語表	4 頁
第一章 小児呼吸器感染症患者におけるヒトボカウイルス 1, 2, 3 および 4 の 検出状況	
1. 緒言	5 頁
2. テーマに関してなにがわかっている、何がわかっていないのか	6 頁
3. この研究では何を明らかにしようとするのか	6 頁
4. 研究方法	6 頁
5. 結果	9 頁
6. 考察	13 頁
7. 結語	13 頁
第二章 小児インフルエンザ患者における 2 種類の吸入型抗インフルエンザ薬 (ザナミビルとラニナミビル) の解熱効果の違いに関する検討	
1. 緒言	14 頁
2. テーマに関してなにがわかっている、何がわかっていないのか	14 頁
3. この研究では何を明らかにしようとするのか	14 頁
4. 研究方法	16 頁
5. 結果	17 頁
6. 考察	23 頁
7. 結語	25 頁
謝辞	26 頁
引用文献	27 頁

## 発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

1. Naoko Koseki, Shinobu Teramoto, Miki Kaiho, Rika Gomi-Endo, Mikio Yoshioka, Yutaka Takahashi, Tsuguyo Nakayama, Hiroyuki Sawada, Mutsuko Konno, Hiroshi Ushijima, Hideaki Kikuta, Tadashi Ariga, Nobuhisa Ishiguro,

Detection of Human Bocaviruses 1 to 4 from Nasopharyngeal Swab Samples Collected from Patients with Respiratory Tract Infections.

Journal of Clinical Microbiology. 2012 Jun;50(6):2118-21 (2012年)

2. Naoko Koseki, Miki Kaiho, Hideaki Kikuta, Koji Oba, Takehiro Togashi, Tadashi Ariga, Nobuhisa Ishiguro,

Comparison of the clinical effectiveness of zanamivir and laninamivir octanoate for children with influenza A(H3N2) and B in the 2011-2012 season.

Influenza and Other Respiratory Viruses. 2014 Mar;8(2):151-8 (2013年)

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1. 小関直子、寺本忍、菊田英明、有賀正、石黒信久、

呼吸器感染症患者の鼻咽頭拭い液におけるヒトボカウイルス 1, 2, 3 および 4 の検出状況

第 43 回日本小児感染症学会 2011 年 10 月 29 日 30 日 岡山

2. Naoko Koseki, Shinobu Teramoto, Hideaki Kikuta, Tadashi Ariga, Nobuhisa Ishiguro,

Detection of human bocavirus 1, 2, 3, 4 from nasopharyngeal swab samples collected from patients with respiratory tract infections

第9回日中ウイルス国際学会 2012年6月12日13日 札幌

3. 小関直子、石黒信久、有賀正、菊田英明、渡辺徹、富樫武弘

小児インフルエンザ患者における2種類の吸入型抗インフルエンザ薬（ラニナミビル、ザナミビル）の解熱効果の違いに関する検討

第44回日本小児感染症学会 2012年11月24日25日 北九州

4. 小関直子、石黒信久、有賀正、菊田英明、渡辺徹、富樫武弘

小児インフルエンザ患者でのラニナミビルとザナミビルの解熱効果の違いに関する検討

第116回日本小児科学会学術集会 2013年4月19日～21日 広島

## 論文の背景

感染症は人類が誕生して以来、大きな脅威の一つである。抗菌薬の開発や公衆衛生の改善にもかかわらず、5歳未満児の死因に関する世界規模の集計（2008年）をみると、感染症（肺炎18%、下痢症15%、マラリア8%など）が68%を占めている。日本国内に限っても、5歳未満の小児の死因の23.5%は感染症（肺炎7.0%、下痢1.4%、敗血症2.0%、髄膜炎0.5%、他の感染症12.6%）である<sup>1</sup>。感染症は、社会的要因として都市化や過密、貧困、交通機関の発達による高速移動や国際化、宿主要因として易感染性（高齢化、糖尿病、免疫抑制薬や臓器移植）、病原体要因として病原性の変化や薬剤抵抗性などが与し、既知の病原体による感染症対策のみならず、未知の病原体や新しい病原体に対する研究には非常に重要な意味がある。

近年発見されたウイルスの一つにヒトボカウイルス（Human bocavirus、以下HBoVと略す）が挙げられる。元々、HBoVは呼吸器感染症患者の鼻咽頭ぬぐい液から検出されたウイルスであるが、その後、胃腸炎患者の便から新たにHBoV2、HBoV3、HBoV4が発見されたので、最初に発見されたHBoVはHBoV1と記載されるようになった。HBoV1-4検出患者の臨床症状は呼吸器症状から胃腸炎症状まで多岐にわたっていること<sup>2</sup>、HBoV1-4と同時に他のウイルスが検出されることが多いこと、症状のない患者からもHBoV1-4が検出されること、感染後長期間排泄が継続することなどが、このウイルスと疾患との因果関係の解釈を難しくしている<sup>2</sup>。

既知の病原体の代表としてインフルエンザウイルスが挙げられる。インフルエンザウイルスは変異を繰り返しながら過去に何度も人類に大流行を起こしており、現在も世界的な脅威となっている。2009年4月にこれまでのA/H1N1株とは全く抗原性の異なるブタ由来のA/H1N1新型インフルエンザウイルス（A/H1N1pdm09）がメキシコで発生し、その後、急速に世界中で流行したことは記憶に新しい。多くの国で多数の患者の重症例、死亡例が報告されたが、日本の死亡者数は他国に比して著名に少なかった。その理由として、医療機関への早期受診や抗インフルエンザ薬の早期治療が挙げられている<sup>3-5</sup>。今後のインフルエンザ流行に備えるためには、抗インフルエンザ薬の適切な使用法を知ることが重要である。

本研究では、小児呼吸器感染症領域において新しく発見されたHBoV感染症の病態解析を行うと同時に（第一章）、既知の感染症としてインフルエンザを取り上げて、2種類の吸入型ノイラミニダーゼ阻害薬（ザナミビルとラニナミビル）の治療効果の比較検討を行った（第二章）。

## 略語表

AdV	adenovirus
HBoV	human bocavirus
HCoV	human coronavirus
HEV	human enterovirus
hMPV	human metapneumovirus
HRV	human rhinovirus
IC50	50% inhibitory concentration
InfVA	influenza virus typeA
InfVB	influenza virus typeB
KIPy-V	KI polyomavirus
LO	laninamivir
NAI	neuraminidase inhibitor
NS	not significant
OT	oseltamivir
PIV	parainfluenza virus
RSV	respiratory syncytial virus
WUPyV	WU polyomavirus
ZN	zanamivir

## 第一章 小児呼吸器感染症患者におけるヒトボカウイルス 1, 2, 3 および 4 の 検出状況

### 1. 緒言

2005 年、スウェーデンの呼吸器感染症患者の保存鼻咽頭液から抽出した DNA から、エンベロープをもたない直鎖一本鎖 DNA ウイルスがクローニングされた<sup>6</sup>。このウイルスは、鼻咽頭から採取した検体を用いて、核酸の増幅とクローニングによって得られた産物から確認された最初のウイルスであった。このウイルスは、塩基配列からパルボウイルス科 (Family *Parvoviridae*) パルボウイルス亜科 (Subfamily *Parvovirinae*) ボカウイルス属 (Genus *Bocavirus*) に分類され、ヒトボカウイルス (human bocavirus: 以下 HBoV と記す) と命名された。その後、2009 年から 2010 年に、新たに胃腸炎患者の便から 3 つの HBoV が検出され HBoV2、HBoV3、HBoV4 と命名された (以下、最初に発見された HBoV を HBoV1 と記す)。HBoV は、世界に広く存在し、人の呼吸器や便の検体、血清<sup>7,8</sup>、扁桃<sup>9,10</sup>、唾液<sup>10</sup>、尿<sup>11</sup>、河川<sup>12</sup> から polymerase chain reaction (PCR) によって検出された。HBoV1 は、呼吸器感染症の 1.6~19%の人から検出されるが<sup>6,13-17</sup>、HBoV1 と比べると HBoV2-4 は多く人の便から検出されることから胃腸炎の原因と関連性が推測されている<sup>18-20</sup>。

表1 Parvoviridae Family (パルボウイルス科) に属する代表的なウイルスの分類  
A Novel Parvovirus to Infect Humans. Intervirology 51: 116-122, 2008 を改変<sup>21</sup>

Subfamily(亜科)	Genus(属)	Human species	Veterinary species
<i>Parvovirinae</i>	<i>Parvovirus</i>		<i>Feline virus</i>
			<i>Minute virus of canines</i>
			Porcine parvovirus
			<i>Minute virus of mice</i>
	<i>Bocavirus</i>	<i>Human bocavirus</i>	<i>Canine minute virus</i>
			<i>Bovine parvovirus</i>
	<i>Amdovirus</i>		<i>Aleutian mink disease virus</i>
<i>Erythrovirus</i>	<i>Parvovirus B19</i>	<i>Parvovirus of cynomolgus monkeys</i>	
<i>Dependovirus</i>		<i>Adeno-associated virus 1/4</i>	<i>Adeno-associated virus 1/4</i>
		<i>Adeno-associated virus 2/3/5</i>	<i>Bovine adeno-associated virus</i>
<i>Unclassified</i>		<i>PARV4 PARV5</i>	
<i>Densoviridae</i>	<i>Densovirus</i>		<i>Culex pipiens densovirus</i>
	<i>Iteravirus</i>		<i>Bombyx mori densovirus</i>
	<i>Brevidensovirus</i>		<i>Aedes aegyptii densovirus</i>

## 2. テーマに関してなにがわかっている、何がわかっていないのか

HBoV と疾患の関連性についてはまだ不明な点が多い。過去に報告のあった呼吸器感染症と胃腸炎から検出されたヒトボカウイルスについて述べると、HBoV1 は、呼吸器のみならず、便や血清からも検出され、呼吸器、便においてその他の病原体との同時感染率が高く、無症状の場合も高率に検出される<sup>22</sup>。HBoV1 は、すべての年齢の患者から検出されるが、特に、呼吸器症状を認める幼少児から検出されることが多い。HBoV1 に感染した患者は、発熱、咳、喘鳴、無呼吸など多彩な症状を示す<sup>23-25</sup>。HBoV2 は稀に咽頭や気道から検出されるが<sup>26</sup>、主に便から検出される。HBoV3 と HBoV4 は便から検出されるのみで、現在のところ、咽頭や気道からの検出は知られていない。

表 2 HBoV1-4 の検出頻度と検出部位に関する報告<sup>2, 17, 27, 28</sup>

	HBoV1	HBoV2	HBoV3	HBoV4
咽頭・気道	報告あり (2-15%)	報告あり (2%)	報告なし	報告なし
便	報告あり (0.5-2%)	報告あり (1-5%)	報告あり (1%)	報告あり (1%)
血清	報告あり (2-5%)	報告なし	報告なし	報告なし

## 3. この研究では何を明らかにしようとするのか

これまでの報告から HBoV1 は呼吸器感染症との関係性が高いことが示唆される。また、HBoV2, HBoV3, HBoV4 は主に胃腸炎患者から検出されているが、呼吸器感染症との関連性は不明である。そこで、本研究では、小児呼吸器感染症患者の鼻咽頭拭い液における HBoV1、HBoV2、HBoV3、HBoV4（以下 HBoV1-4 と記載する）の検出状況を検索して、HBoV2-4 と小児呼吸器感染症との関連性について検討した。

## 4. 研究方法

### (1) 材料

2005 年 6 月から 2011 年 8 月の期間に道内 4 施設（KKR 札幌医療センター、北海道社会保険病院、札幌厚生病院、市立根室病院）の小児科で親のインフォームドコンセントを得た小児呼吸器感染症患者からの鼻咽頭ぬぐい液検体を使用した。

## (2) RNA 抽出、DNA 抽出、cDNA 作成について

鼻咽頭ぬぐい液から RNA を抽出するには acid guanidium-phenol-chloroform 法を用いた。鼻咽頭ぬぐい液が付着した綿棒を RNA-Bee-RNA ISOLATION REAGENT (amsbio, Lake Forest, CA) 500  $\mu$ l と共にエッペンドルフチューブに入れて攪拌した。クロロホルム 100  $\mu$ l を加えて 30 秒攪拌後、30 分間氷枕して 15,000rpm、15 分間、4°Cにて遠心した。得られた上清 200  $\mu$ l に等量のイソプロパノールを加えて 30 秒攪拌後、15 分間氷枕して、-80°Cで一晩冷却後、15,000rpm、15 分間、4°Cにて遠心した。得られたペレットを 70%エタノールで洗浄後、乾燥させて 30  $\mu$ l の DEPC 水に溶解した。

鼻咽頭ぬぐい液から DNA を抽出するに前述の RNA 抽出後の有機層と中間層に 2.5 倍量エタノールを加えて攪拌した後に 15,000rpm、15 分間、4°Cにて遠心した。得られたペレットを 70%エタノールで洗浄後、乾燥させて 90  $\mu$ l の TE バッファー (含 RNase) に溶解した。

## (3) PCR 法、nested PCR 法、real-time PCR 法によるウイルスゲノムの検出

呼吸器感染症患者の鼻咽頭ぬぐい液から抽出した DNA あるいは合成した cDNA を鋳型として、human metapneumovirus (hMPV), human coronavirus (HCoV), human bocavirus (HBoV), respiratory syncytial virus (RSV), human rhinovirus (HRV), human enterovirus (HEV), adenovirus (AdV), influenza virus type A (InfVA), influenza virus type B (InfVB), parainfluenza virus (PIV) 1-3, KI polyomavirus (KIPyV), WU polyomavirus (WUPyV) を PCR 法、nested PCR 法、real-time PCR 法にて検出した。各プライマー、PCR の条件は表 3 に記載した

6, 19, 29-34。

表3 PCR法、nested PCR法、RT-PCR法による呼吸器感染ウイルスゲノムのためのプライマーとPCR条件

検出するウイルス	DNA/cDNA		名称	プライマー		PCR条件	産物サイズ
	Forward/Reverse	配列		Forward/Reverse	配列		
WUPyV	Forward	DNA	AG0044	5'-TGTTACAAATAGCTGCAGGTCAA-3'	5'-TGTTACAAATAGCTGCAGGTCAA-3'	94°C5分-(94°C30秒-56°C30秒-72°C60秒)×40サイクル-72°C7分	250bp
	Reverse	DNA	AG0045	5'-GCTGCATAATGGGAGTACC-3'	5'-GCTGCATAATGGGAGTACC-3'		
KIPyV (1st)	Forward	DNA	POLVPI-39F	5'-AAGGCCAAGAAGTCAAGTTTC-3'	5'-AAGGCCAAGAAGTCAAGTTTC-3'	94°C5分-(94°C60秒-54°C60秒-72°C120秒)×35サイクル-72°C7分	325bp
	Reverse	DNA	POLVPI-363R	5'-ACACTCACTAACTTGAATTTGG-3'	5'-ACACTCACTAACTTGAATTTGG-3'		
KIPyV (nested)	Forward	DNA	POLVPI-118F	5'-GTA CCA CTG TCA GAA GAA AC-3'	5'-GTA CCA CTG TCA GAA GAA AC-3'	94°C5分-(94°C60秒-54°C60秒-72°C120秒)×35サイクル-72°C7分	207bp
	Reverse	DNA	POLVPI-324R	5'-JTC TGC CAG GCT GTA ACA TAC-3'	5'-JTC TGC CAG GCT GTA ACA TAC-3'		
HBoV	Forward	DNA	HBoV F	5'-GAGCTCTGTAAAGTACTATTAC-3'	5'-GAGCTCTGTAAAGTACTATTAC-3'	94°C10分-(94°C60秒-54°C60秒-72°C120秒)×35サイクル-72°C7分	354bp
	Reverse	DNA	HBoV R	5'-CTCTGTGTGACTGAATACAG-3'	5'-CTCTGTGTGACTGAATACAG-3'		
AdV	Forward	DNA	Adn U-S2	5'-JTCCTCCATGGCNCAACAAY-3'	5'-JTCCTCCATGGCNCAACAAY-3'	94°C5分-(94°C30秒-60°C30秒-72°C60秒)×40サイクル-72°C7分	554bp
	Reverse	DNA	And U-A2	5'-TGCKKRCATIRGGCTGRAAGTT-3'	5'-TGCKKRCATIRGGCTGRAAGTT-3'		
hMPV	Forward	cDNA	NL-N F	5'-CATATAAGCATGCTATATTTAAAAGAGTCTC-3'	5'-CATATAAGCATGCTATATTTAAAAGAGTCTC-3'	94°C5分-(94°C30秒-60°C30秒)×45サイクル	163bp
	Reverse	cDNA	NL-N R	5'-CCTATTTCTGCGCATATTTGTAATCAG-3'	5'-CCTATTTCTGCGCATATTTGTAATCAG-3'		
HRV	Forward	cDNA	OL68-1	5'-GGTAAATTCACACCANCC-3'	5'-GGTAAATTCACACCANCC-3'	94°C5分-(94°C30秒-55°C30秒-72°C60秒)×40サイクル-72°C7分	~630bp
	Reverse	cDNA	EV2	5'-CCTCCGGCCCTGAATCGGCTAAT-3'	5'-CCTCCGGCCCTGAATCGGCTAAT-3'		
HEV	Forward	cDNA	OL68-1	5'-GGTAAATTCACACCANCC-3'	5'-GGTAAATTCACACCANCC-3'	94°C5分-(94°C30秒-55°C30秒-72°C60秒)×40サイクル-72°C7分	~750bp
	Reverse	cDNA	EV2	5'-CCTCCGGCCCTGAATCGGCTAAT-3'	5'-CCTCCGGCCCTGAATCGGCTAAT-3'		
HCoV	Forward	cDNA	CV2Bp	5'-ACTCARWTRAAATYNAATAYGC-3'	5'-ACTCARWTRAAATYNAATAYGC-3'	94°C5分-(94°C30秒-40°C30秒-72°C30秒)×5サイクル-(94°C30秒-50°C30秒-72°C30秒)×35サイクル-72°C7分	251bp
	Reverse	cDNA	CV4Bm	5'-TCACAYTTWGGATARTGCCA-3'	5'-TCACAYTTWGGATARTGCCA-3'		
RSV	Forward	cDNA	RSVN3	5'-GGGAGAGTGGCTCCAGAATACAGGC-3'	5'-GGGAGAGTGGCTCCAGAATACAGGC-3'	94°C5分-(94°C30秒-68°C30秒)×40サイクル-72°C7分	348bp
	Reverse	cDNA	RSVN5	5'-AGCATCACTTGCCTGAACCATAGGC-3'	5'-AGCATCACTTGCCTGAACCATAGGC-3'		
PIV1	Forward	cDNA	PIV1PR3	5'-TCTGGCGGAGGAGCAATTATACCTGG-3'	5'-TCTGGCGGAGGAGCAATTATACCTGG-3'	94°C5分-(94°C30秒-68°C30秒)×40サイクル-72°C7分	84bp
	Reverse	cDNA	PIV1PR5	5'-ATCTGCATCACTGTCACACTCGGGC-3'	5'-ATCTGCATCACTGTCACACTCGGGC-3'		
PIV2	Forward	cDNA	PIV2PR3	5'-AACTATGTCCAGAGGAGGTCTGG-3'	5'-AACTATGTCCAGAGGAGGTCTGG-3'	94°C5分-(94°C30秒-68°C30秒)×40サイクル-72°C7分	164bp
	Reverse	cDNA	PIV2PR5	5'-CCATGCCTGCATAAAGCACACTGTAGC-3'	5'-CCATGCCTGCATAAAGCACACTGTAGC-3'		
PIV3	Forward	cDNA	PIV3PR3	5'-ACCAGAAACTATCTGTCAGAACGGC-3'	5'-ACCAGAAACTATCTGTCAGAACGGC-3'	94°C5分-(94°C30秒-68°C30秒)×40サイクル-72°C7分	234bp
	Reverse	cDNA	PIV3PR5	5'-GATCCACTGTGTACCCGCTCAATACC-3'	5'-GATCCACTGTGTACCCGCTCAATACC-3'		
InflA	Forward	cDNA	FluA matrix sense	5'-AGCCGAGATCGCGCAGAGACTTGAAG-3'	5'-AGCCGAGATCGCGCAGAGACTTGAAG-3'	94°C5分-(94°C30秒-68°C30秒)×40サイクル-72°C7分	324bp
	Reverse	cDNA	FluA matrix antisense	5'-CCCATGCAACTGGCAAGTGCACC-3'	5'-CCCATGCAACTGGCAAGTGCACC-3'		
InflB	Forward	cDNA	FluB NS sense	5'-CACAAATTGAGGTGGTCC-3'	5'-CACAAATTGAGGTGGTCC-3'	94°C5分-(94°C30秒-55°C30秒)×40サイクル-72°C7分	111bp
	Reverse	cDNA	FluB NS antisense	5'-GACCAGGGTAGTCAAGGGC-3'	5'-GACCAGGGTAGTCAAGGGC-3'		



(2) 鼻咽頭ぬぐい液中の HBoV1-4 の検出頻度 (表 5)

4つの病院での小児呼吸器感染症患者、757名(男436人、女321人)、年齢は1ヶ月～11歳(平均年齢17.9ヶ月)からの鼻咽頭ぬぐい液850検体を対象とし調査した。我々の採取した850検体中、145検体(17.1%)からHBoVが検出され、その内訳はHBoV1 132検体(15.5%)、HBoV2 5検体(0.6%)、HBoV3 3検体(0.4%)、HBoV4 5検体(0.6%)であった。2名のHBoV1が検出された2検体は、2ヶ月前にもHBoV1が検出されていた。その他の検体から検出されたHBoV1-4は異なる患者からの検体であった。

(3) 他の呼吸器感染ウイルスとの同時検出 (表 5, 6)

HBoV1が検出された132検体のうち76検体(57.6%)はHBoV1の単独検出で、他の呼吸器ウイルスは検出されなかった。HBoV2が検出された5検体のうち3検体(60.0%)、HBoV4が検出された5検体のうち4検体(80%)は各々のHBoVの単独検出で、他の呼吸器ウイルスは検出されなかった。

表 5 咽頭ぬぐい液中の HBoV1-4 の検出頻度

	HBoV 陽性数/全検体数 (%)	HBoV 単独検出数/HBoV 陽性数 (%)
HBoV1	132/850 (15.5%)	76/132 (57.6%)
HBoV2	5/850 (0.6%)	3/5 (60.0%)
HBoV3	3/850 (0.4%)	0/3 (0%)
HBoV4	5/850 (0.6%)	4/5 (80.0%)
合計	145/850 (17.1%)	83/145 (57.2%)

表 6 HBoV と同時検出された呼吸器感染症ウイルス

	複数ウイルス検出 /HBoV 陽性数 (%)	呼吸器感染ウイルス									
		hMPV	RSV	HRV	KIPyV	WUPyV	FluB	PIV1	PIV3	AdV	HCoV
HBoV1	56/132 (42.6%)	20	15	10	7	7	2	2	2	1	1
HBoV2	2/5 (40.0%)	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
HBoV3	3/3 (100.0%)	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
HBoV4	1/5 (20.0%)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	62/145 (42.8%)	22	18	10	7	8	2	2	2	1	1

(4) HBoV 検出の季節性 (図 2)

HBoV の検出に季節性があるか検討した。HBoV1 は、ほぼ通年で検出され、はっきりとした季節性は認められなかった。比較的、7月8月の夏に少ない傾向を示した。HBoV2-4 は検出数が少なく季節性は確認できなかった。

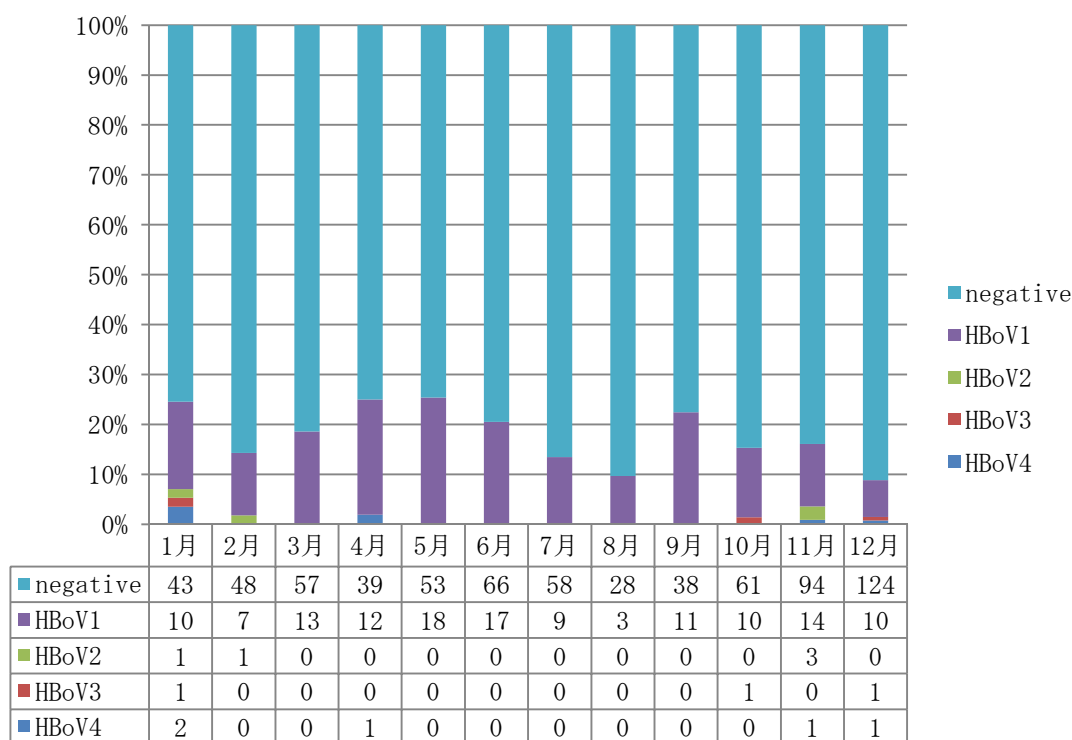


図 2 HBoV1-4 の検出月 (率)

(5) HBoV 検出患者の年齢 (図 3, 図 4)

HBoV が検出された患者の年齢に偏りがあるかを検討した。HBoV1 の検出数は、7ヶ月から1歳をピークとして乳幼児に多い傾向を認めたが、検体数で補正した検出率では、6ヶ月以下の年齢層から3歳1か月から3歳6ヶ月の年齢層まで、ほぼ同率だった。HBoV2-4 は、検出数が少なく、年齢層の傾向を確認できなかった。

(6) HBoV のコピー数

HBoV のコピー数は、HBoV1 陽性の 132 検体のうち 67 検体 (50.8%) が  $5.5 \times 10^4$  コピー/ml 以上、残りの 65 検体は  $1.2 \times 10^4$  から  $5.5 \times 10^4$  コピー/ml の間であった。HBoV2-4 は  $2.3 \times 10^3$  から  $1.2 \times 10^4$  コピー/ml であり、HBoV1 のコピー数に比べて HBoV2-4 は少なかった。

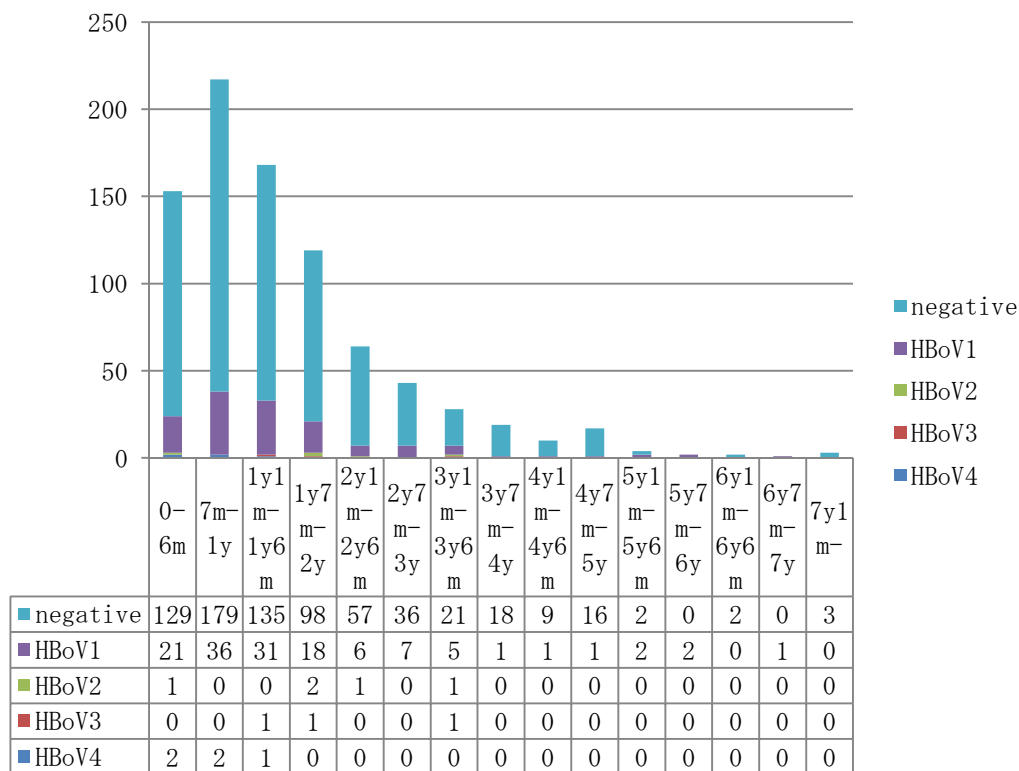


図3 年齢層別の HBov1-4 検出患者数

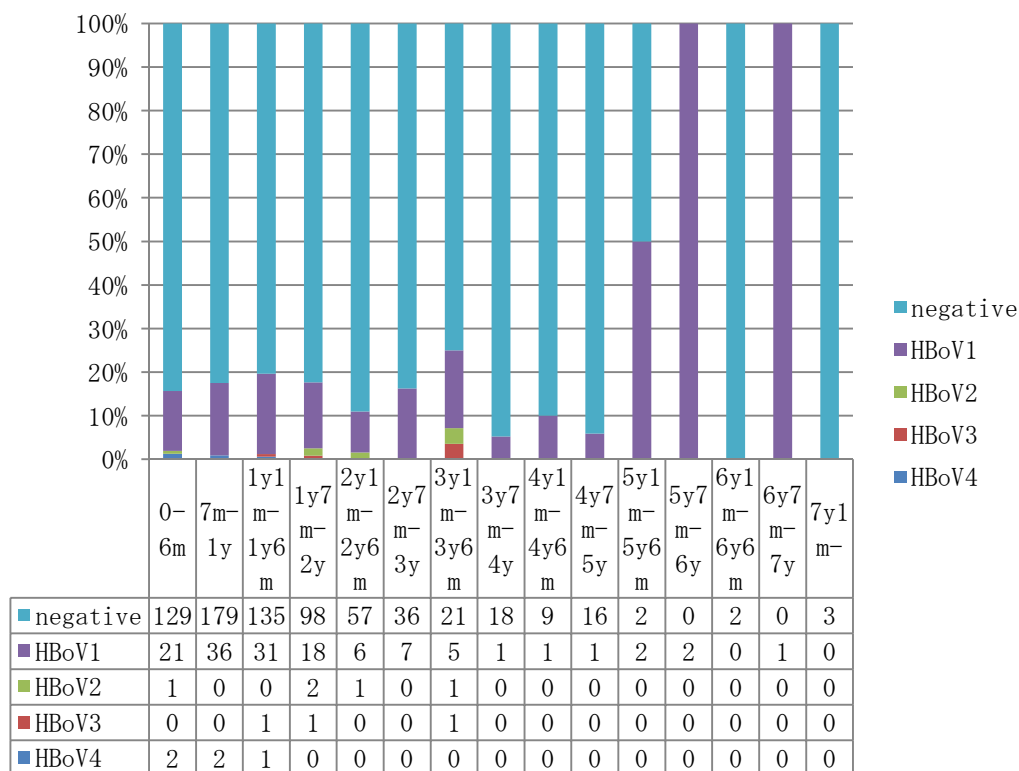


図4 年齢層別の HBov1-4 検出患者率

## 6. 考察

HBoV1 の検出率 (15.5%) は、過去に報告された検出率 (1.61-19%)<sup>6,13,14,16,17,35</sup> とほぼ同じであった。咽頭から HBoV1 が検出された症例の血清から HBoV が検出されるなど、HBoV1 は呼吸器感染症に強く関連していると推定されているが<sup>7</sup>、これを指示する結果である。

HBoV2 の検出率は 0.6% であり、過去に報告された咽頭ぬぐい液中の HBoV2 検出率と比べて低値 (中国で 4.3%<sup>36</sup>、韓国で 2.3%<sup>26</sup>) であった。HBoV2 が検出された 5 検体中 3 検体 (60%) では他の呼吸器感染症ウイルスは検出されず、HBoV2 は呼吸器感染症に何らかの役割を持っている可能性が考えられた。イギリスとタイで採取された呼吸器検体 (6524 検体) から HBoV2 は検出されなかったと報告されたが<sup>37</sup>、検体の大部分 (6524 検体中 6138 検体) はプール検体であり、希釈により検出感度が低下したとためと推定される。

本研究では、小児呼吸器感染症患者の鼻咽頭ぬぐい液から HBoV3 (0.4%) と HBoV4 (0.6%) が検出されたが、過去に同様の報告はない。特に、HBoV4 が検出された 5 検体中 4 検体 (80%) から他の呼吸器ウイルスは検出されなかった。上記右 HBoV2 と同様に、HBoV4 も呼吸器感染症に何らかの役割を持っている可能性が考えられた。

HBoV2 (0.6%) , HBoV3 (0.4%) , HBoV4 (0.6%) の検出率は、HBoV1 の検出率 (15.5%) に比較すると低く、HBoV1 と比べると、HBoV2-4 と呼吸器感染症との関連性は限定的である可能性がある。しかしながら、近年、Plastic bronchitis に罹患した 4 歳児から HBoV2 が検出されたとの報告もあり<sup>38</sup>、症例を積み重ねる必要がある。

## 7. 結語

本研究では、呼吸器感染症と関連が深いとされている HBoV1 に加えて、HBoV2-4 が小児呼吸器感染症患者の鼻咽頭ぬぐい液から検出された。過去に HBoV3 と HBoV4 が呼吸器感染症患者から検出されたとの報告はない。また、他の呼吸器感染症ウイルスは検出されず、HBoV2 や HBoV4 が単独で検出された検体が存在したことから、HBoV2 と HBoV4 は呼吸器感染症に何らかの役割を持っていると考えられた。

原因不明の小児呼吸器感染症では HBoV1 以外にも HBoV2-4 が関与している可能性がある。

## 第二章 小児インフルエンザ患者における 2 種類の吸入型抗インフルエンザ薬 (ザナミビルとラニナミビル) の解熱効果の違いに関する検討

### 1. 緒言

オセルタミビル (以下 OT) やザナミビル (以下 ZN) などのノイラミニダーゼ阻害剤 (以下 NAI) は、世界中で A 型、B 型インフルエンザの治療に使われている<sup>39</sup>。NAI を発症から 48 時間以内に使用すれば、自然経過と比較しおおよそ 1-1.5 日有熱期間を短縮できるといわれている<sup>40-42</sup>。日本では、迅速診断キットを用いてインフルエンザの早期診断を行い、NAI による治療を開始することが一般的となっているが、2009 年に出現した A (H1N1) pdm 感染症による死亡数が非常に少なかった理由の一つとして NAI による早期治療が挙げられている<sup>3-5</sup>。現在、日本では、インフルエンザの治療に 4 種類の NAI が使用可能である。OT と ZN は発売開始から 10 年以上が経過した薬であるが、ラニナミビル (以下 LO) とペラミビルは 2010 年に発売された比較的新しい薬であり、小児における使用経験が少ない。

### 2. テーマに関して何がわかっていて、何がわかっていないのか

A 型インフルエンザ (H3N2, H1N1, H1N1pdm09)、B 型インフルエンザに対する OT と ZN の比較 (報告 a, c, d, f, h)<sup>43,44</sup>、A 型インフルエンザ (H3N2) と B 型インフルエンザに対する OT と LO の比較を行ったところ (報告 b, i)<sup>45</sup>、治療開始から解熱までの時間に有意差はなかった (表 1)。H274Y 変異をもつ A/H1N1 に感染した患者を LO で治療したところ、OT で治療するよりも治療開始から解熱までの時間が有意に短くなった (表 1) (報告 e)<sup>45</sup>。

小児のインフルエンザ患者を対象に吸入型の NAI である ZN と LO の効果を比較検討した報告は 2 編存在する<sup>44,46</sup>。A 型および B 型インフルエンザの患者を対象に、LO あるいは ZN 吸入後から解熱までの時間を比較したところ有意差はなかった (報告 g, j)<sup>46</sup> (表 1)。A 型インフルエンザ (H3N2) の患者に対して、3 種類の NAI (OT, LO, ZN) 投与後から解熱までの時間を比較したところ有意差はなかった (報告 c)<sup>44</sup> (表 1)。ただし、いずれの報告においても、ZN 治療群あるいは LN 治療群の患者数が少ない。

### 3. この研究では何を明らかにしようとするのか

我々は、小児における、A 型インフルエンザ (H3N2) と B 型インフルエンザに対して 2 つの吸入型 NAI である ZN と LO の効果を、治療開始から解熱までの時間を効果の指標として前向き観察研究で検討した。前項に記載した理由から、ZN 群と LO 群は各々 300 名以上となることを目標とした。

表1 小児におけるNAIの治療開始から解熱までの時間における効果の比較

	NAI	人数	平均年齢±SD (範囲)	解熱までの時間* (範囲)	
A/H3N2 (報告 a)	OT	91	8.0±3.1 (4.0-15.9)	32.4±18.72 (12.0-96.0)	NS
	ZN	35	9.7±3.3 (4.0-15.7)	33.6±18.0 (12.0-84.0)	
A/H3N2 (報告 b)	OT	16	6.7±1.5 (3-9)	21.3 (19.3-31.6)	NS
	LO, 40mg	11	6.8±1.4 (3-9)	42.9 (24.3-46.3)	
	LO, 20mg	12	6.9±1.5 (4-9)	34.5 (9.6-70.4)	
A/H3N2 (報告 c)	OT	104	5.1±2.5	23.0 (22.0-24.0)	注1
	ZN	94	9.1±2.0	24.0 (23.3-24.7)	
	LO	9	10.2±2.3	32.0 (5.7-58.3)	
	Peramivir	4	8.8±3.9	17.0 (7.2-26.8)	
A/H1N1 (報告 d)	OT	24	6.4±2.2 (4.0-12.0)	42.96±18.96 (12.0-84.0)	NS
	ZN	12	8.1±2.1 (6.0-13.7)	36.96±14.88 (12-60.0)	
A/H1N1 (報告 e)	OT	32	6.7±1.5 (3-9)	49.3 (33.5-62.8)	注2
	LO, 40mg	40	6.8±1.4 (3-9)	30.5 (21.4-41.6)	
	LO, 20mg	40	6.9±1.5 (4-9)	23.8 (20.1-38.3)	
A/H1N1pdm 09(報告 f)	OT	15	4.6±2.0	23.5 (19.7-27.3)	NS
	ZN	30	9.7±2.9	24.0 (17.6-30.4)	
A 型 (報告 g)	ZN	41	9.68±3.03(4.58-15.9)	36 (32.3-53.0)	NS
	LO	39	10.3±3.43(3.42-15.3)	34 (29.8-43.0)	
B 型 (報告 h)	OT	128	9.9±3.1 (4.0-15.5)	44.64±25.92 (12.0-120.0)	NS
	ZN	58	10.6±2.8 (4.5-15.5)	40.08±24.0 (12.0-96.0)	
B 型 (報告 i)	OT	10	6.7±1.5 (3-9)	45.6(40.8-86.5)	NS
	LO, 40mg	10	6.8±1.4 (3-9)	48.6 (38.1-67.7)	
	LO, 20mg	9	6.9±1.5 (4-9)	59.0 (43.6-83.5)	
B 型 (報告 j)	ZN	16	9.68±3.03(4.58-15.9)	42 (26.6-62.7)	NS
	LO	16	10.3±3.43(3.42-15.3)	47 (24.3-71.8)	

NAI: neuraminidase inhibitor, OT: oseltamivir, ZN: zanamivir, LO, laninamivir, NS: not significant. \* 治療開始から解熱するまでの時間。

注1: Peramivir 治療群が4薬剤の中で最も早く熱が下がり、多変量解析ではOTに対して有意差あり。

注2: 対象となった112人中108人がH274Y変異のあるA/H1N1に感染しており、LOによる治療の方がOTによる治療よりも治療開始から解熱までの時間が有意に短くなった。

文献<sup>43</sup>(報告 a. d. h) 文献<sup>44</sup>(報告 c. f.) 文献<sup>45</sup>(b. e. i) 文献<sup>46</sup>(報告 g. j)

## 4. 研究方法

### (1) 患者

道内 30 施設の小児科クリニックまたは総合病院の小児科の協力を得て、2012 年 1 月から 4 月にかけて、小児科の外来を受診し、体温が 37.5 度以上の発熱があり、インフルエンザ迅速検査陽性となった 5 歳以上 18 歳以下で、本研究への同意が得られた外来患者を対象とした。患者は、ZN (1 日 2 回、5 日間吸入) または L0 (単回吸入) で治療をした。どの薬を処方するかは、診察した医師の判断に任せた。医師及び患者には調査票を配り、各種患者情報と体温の推移の記載を依頼した (詳細は次項参照)。調査票の記入が不備な症例、経過中の最高体温が 37.5°C に達しない者、発症 (体温が 37.5 度以上になった時間) から NAI の吸入までの時間が 48 時間以上の患者は対象から除外した。

### (2) 情報の収集方法

年齢や性別、インフルエンザの迅速診断結果は、診察した医師に記録を依頼した。初めて 37.5 度以上になった発症時間、調査シーズンのインフルエンザワクチン接種を行った回数、吸入薬の種類 (ZN または L0)、最初に吸入薬を使った時間、吸入薬の使用回数は、子供の親に記録を依頼した。また、親には少なくとも一日 4 回の体温測定を依頼し、体温表に記録を依頼した。37.5 度未満の体温が 48 時間以上続けば、解熱したと判断した。もし、体温が、一旦 37.5 度未満を 24 時間以上維持した後に再び 37.5 度以上に体温が上昇する場合は二峰性発熱と診断した。

### (3) イムノクロマト法によるインフルエンザ迅速診断と遺伝子検査

インフルエンザの診断は Clearline® Influenza A/B(H1N1) 2009 (Alere Medical Co., Japan) の迅速診断キットを採用した。この迅速診断キットは、インフルエンザの型と亜型 (A/H3N2、A/H1N1pdm09、B) を区別することができる。迅速検査の残り液は -20°C で保存し遺伝子検査に用いた。

迅速検査の残り液から acid guanidium-phenol-chloroform 法を用いて RNA を抽出して、First-Strand cDNA Synthesis Kit (GE Healthcare, UK) を用いて cDNA を合成した。Real-time PCR はプロトコールに従って行った。<sup>47,48</sup>

### (4) 統計学的解析方法

統計学的なデータは、平均±SD または比率で表した。時間により変動する変数は中央値で表した。連続変数を比較する場合は、Student の t 検定を用いた。度数の分析は  $\chi^2$  test を用いた。有熱時間の分布は、Kaplan-Meier 法で表し、ZN と L0 の治療群の予想される有熱時間の比較には、log-rank test を用いた。

さらに、有熱時間を独立変数、ZN か LO の抗インフルエンザ薬の選択、年齢、性別、ワクチン接種の有無、発症から NAI による治療開始までの時間を従属変数として Cox 回帰分析を行った。ロジステック回帰分析は、二峰性発熱に影響を与える決定因子として、年齢、性別、抗インフルエンザ薬の選択、インフルエンザの型、ワクチン接種の有無、発症から吸入までの時間、の解析に用いた。両側検定の  $P$  値は  $<0.05$  を統計学的に有意とした。すべての統計学的な解析は、JMP® version 10.0.0 (SAS Institute, Cary, NC, USA) で行った。

## 5. 結果

### (1) 対象患者について

対象となった患者は、ZN 治療群 338 人 (A/H3N2 型 234 人、B 型 104 人)、LO 治療群 314 人 (A/H3N2 型 213 人、B 型 101 人) であった (表 2)。

表 2 インフルエンザ A/H3N2 型と B 型に感染し研究対象となった患者の背景

	ZN 治療群	LO 治療群	$P$
患者数	338	314	
年齢 (歳)			
平均 $\pm$ 標準偏差	9.4 $\pm$ 2.7	9.8 $\pm$ 2.7	0.070
範囲	5 - 18	5 - 16	
女性患者数 (%)	165 (48.8%)	140 (44.6%)	0.279
男性患者数 (%)	173 (51.2%)	174 (55.4%)	
インフルエンザ予防接種の有無			
接種あり (%)	176 (52.1%)	167 (53.2%)	0.776
接種なし (%)	162 (47.9%)	147 (46.8%)	
迅速検査結果 (%)	338 (100%)	314 (100%)	
A/H3N2 型 (%)	234 (69.2%)	213 (67.8%)	0.701
B 型 (%)	104 (30.8%)	101 (32.2%)	
治療開始までの時間：平均 $\pm$ 標準偏差	18.6 $\pm$ 11.5	20.1 $\pm$ 9.9	0.078

A (H1N1pdm) に感染した患者は 2 人いたが、人数が少ないことから解析対象から除外した。患者背景として、年齢、性別、インフルエンザ予防接種の有無、迅速検査結果のインフルエンザ型、治療開始までの時間を評価した場合には、ZN 治療群、LN 治療群の 2 群間にすべての項目で偏りはなかった。

ZN の吸入回数は、5 回 (50mg) が 4 人、6 回 (60mg) が 11 人、7 回 (70mg) が 7 人、8 回 (80mg) が 10 人、9 回 (90mg) が 5 人、10 回 (100mg) が 301 人で

あった。

二つの治療薬での有害事象の報告はなかった。

## (2) 遺伝子検査結果

インフルエンザの迅速検査の残り液から、インフルエンザ A/H3N2 型が陽性となった 447 検体から 100 検体、また、インフルエンザ B 型が陽性となった 205 検体から 50 検体を任意に抽出して遺伝子検査を行ったところ、迅速検査結果と遺伝子検査結果は全て一致した。

## (3) ZN と L0 の治療効果の比較

インフルエンザ A/H3N2 型と B 型に対して、ZN と L0 で治療した群において、最初の吸入から解熱までの有熱時間を Kaplan-Meier 法で比較したが、両治療群の間で有意差は認められなかった (図 1)。インフルエンザ A/H3N2 型と B 型において解析してみても有意差は認められなかった。

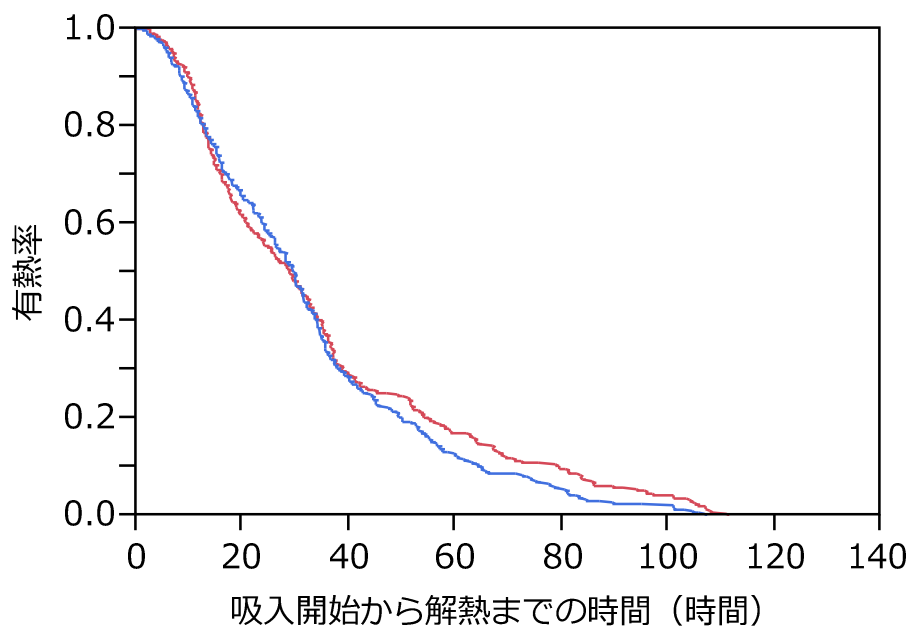


図 1 インフルエンザ A/H3N2 型と B 型について ZN 治療群 (—) と L0 治療群 (—) の 37.5 度未満まで解熱する経過を Kaplan-Meier 法で表した。

(log-rank test  $\chi^2=2.5$ , d. f.=1,  $p=0.117$ )

## (4) インフルエンザ A/H3N2 型とインフルエンザ B 型に対する治療効果の比較

ZN 治療群についてインフルエンザ A/H3N2 型とインフルエンザ B 型に対する治

療効果を比較したところ、インフルエンザ B 群で有意に有熱時間が長い結果となった (図 2A)。L0 治療群についても同様の結果が得られた (図 2B)。

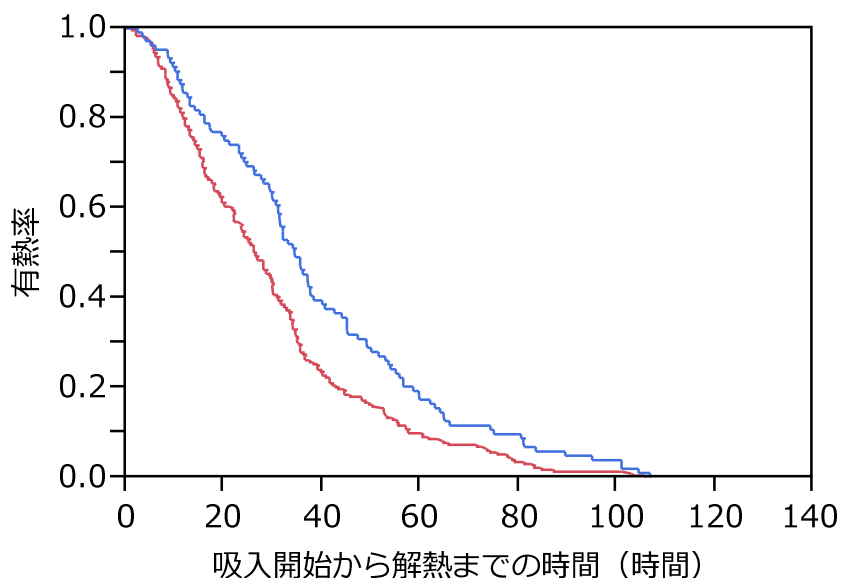


図 2A インフルエンザ A/H3N2 型 (—) と B 型 (—) の患者を ZN で治療した場合の解熱する経過を Kaplan-Meier 法で表した。(log-rank test  $\chi^2=10.5$ , d. f. =1,  $p=0.001$ )

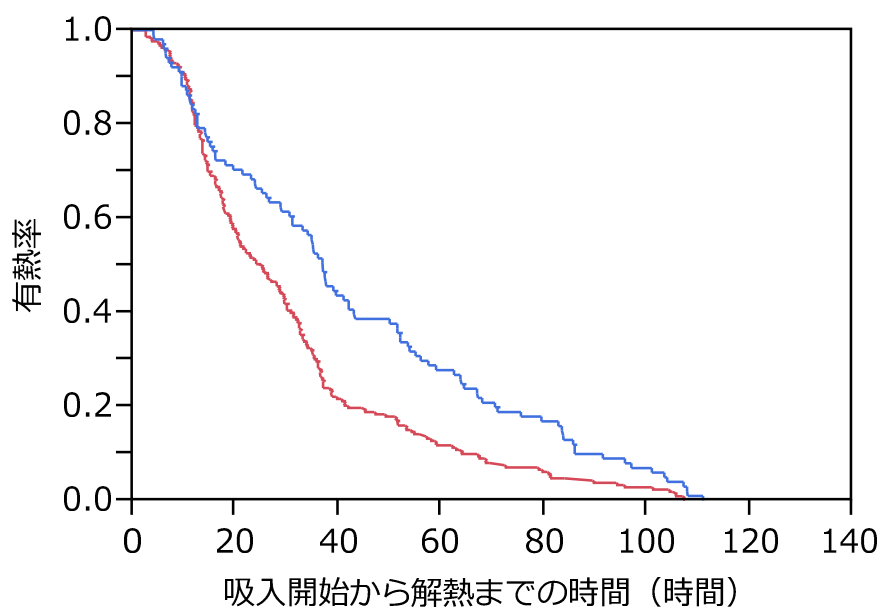


図 2B インフルエンザ A/H3N2 型 (—) と B 型 (—) の患者を L0 で治療した場合の解熱する経過を Kaplan-Meier 法で表した。(log-rank test  $\chi^2=15.2$ , d. f. =1,  $p<0.001$ )

(5) 年齢層別の治療効果の比較

治療開始からの有熱時間を、年齢層別に Kaplan-Meier 法により評価した (図 3A, 3B)。検定では、小さな年齢ほど有熱時間が伸びる傾向があり、有意差が認められた。

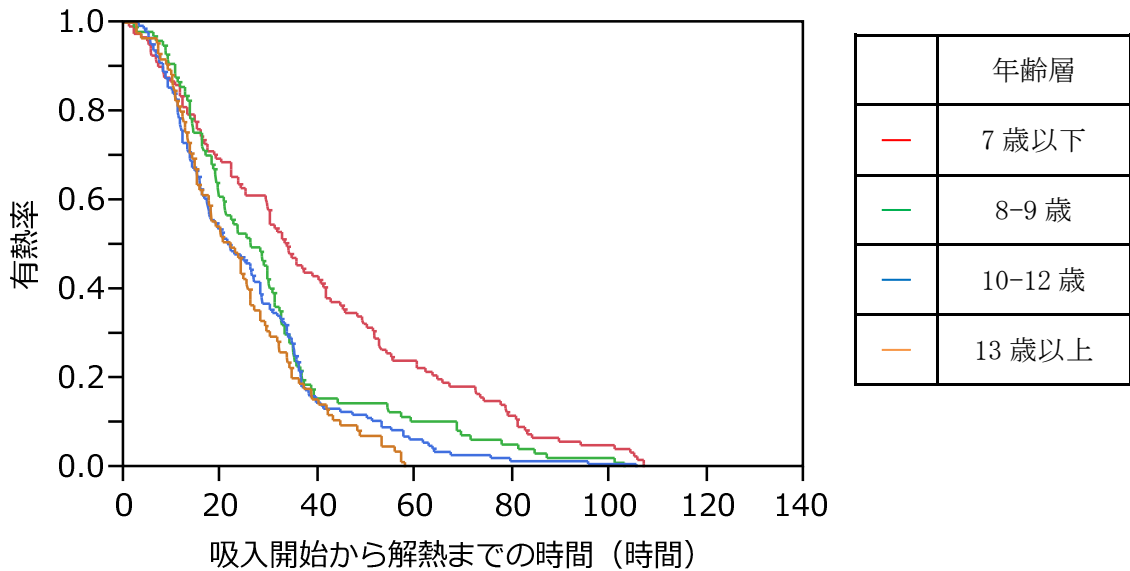


図 3A インフルエンザ A/H3N2 型の患者の解熱する経過を年齢層別に Kaplan-Meier 法で表した。(log-rank test  $\chi^2=33.1$ , d. f. =3,  $p<0.001$ )

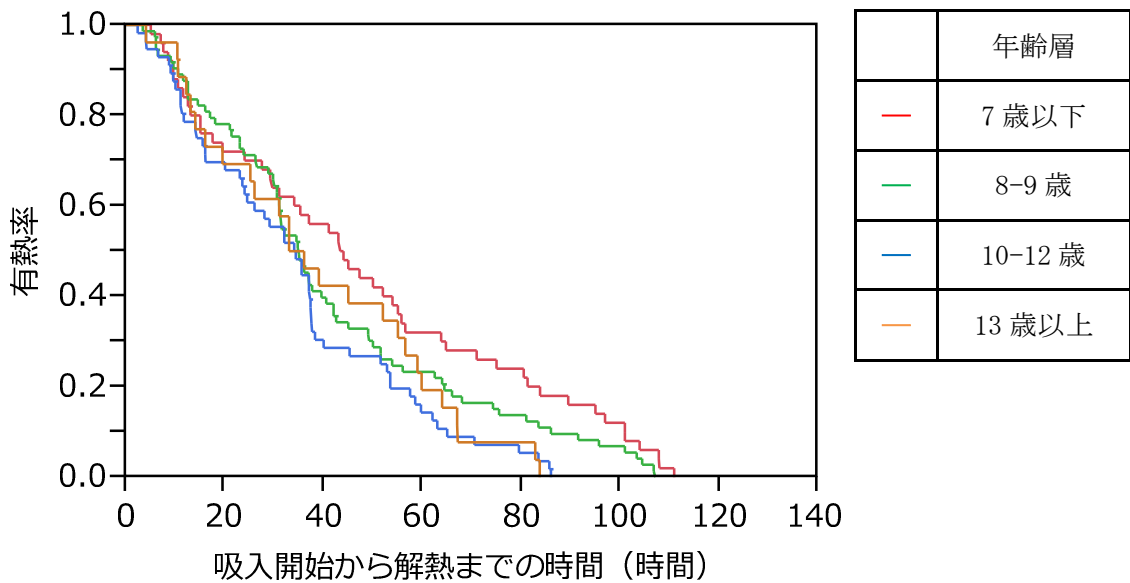


図 3B インフルエンザ B 型の患者の 37.5 度未満まで解熱する経過を年齢層別に Kaplan-Meier 法で表した。(log-rank test  $\chi^2=9.6$ , d. f. =3,  $p=0.022$ )

(6) 治療開始から解熱までの時間に影響を与える因子

吸入から解熱までの時間に関与する因子をCox回帰分析による多変量解析で分析すると、抗インフルエンザ薬の選択と予防接種の有無は、有意に影響を与える因子とならなかったが、年齢（ハザード比 0.91  $p < 0.001$ ）、インフルエンザ型（ハザード比 1.6  $p < 0.001$ ）に有意差があり、性別（ハザード比 1.17  $p = 0.049$ ）と発症から吸入開始までの時間（ハザード比 0.99  $P = 0.042$ ）に僅かであるが有意差を認めた（表 3）。

表 3 Cox 回帰分析による治療開始から解熱までの時間に影響を与える因子

独立因子	ハザード比 (95%信頼区間)	p
年齢 <sup>+</sup>	0.91 (0.88-0.93)	<0.001*
性別 <sup>++</sup>	1.17 (1.00-1.37)	0.049
抗インフルエンザ薬	1.15 (0.98-1.34)	0.082
インフルエンザの型 <sup>+++</sup>	1.60 (1.35-1.90)	<0.001*
ワクチン接種	0.93 (0.79-1.09)	0.375
発症から吸入までの時間	0.99 (0.99-1.0)	0.042

<sup>+</sup> 吸入から解熱までの時間は、一歳年齢が上がると短くなる。（ハザード比 0.91）

<sup>++</sup> 吸入から解熱までの時間は、女性に比べて男性では長くなる。（ハザード比 1.17）

<sup>+++</sup> 吸入から解熱までの時間は、A型に比べてB型では長くなる。（ハザード比 1.60）

(7) 二峰性発熱について：

二峰性発熱は、インフルエンザ A/H3N2 型では 447 人中 19 人（4.3%）、インフルエンザ B 型では 205 人中 15 人（7.3%）、全体では 652 人中 34 人（5.2%）に認められた（表 4）。

これらの患者は、肺炎や急性中耳炎など他の感染症を併発していないことを確認した。二峰性発熱の頻度は、L0 治療群では（28 人，8.9%）、ZN 治療群（6 人，1.8%）より有意に高い結果となった（表 4 A  $\chi^2$ -test  $p < 0.001$ ）。また、患者をインフルエンザ A/H3N2 型とインフルエンザ B 型に分けて検討しても、同様に L0 治療群が ZN 治療群より二峰性発熱の頻度が有意に高い結果となった（表 4 B, C）。また、二峰性発熱は、治療から 36 時間から 94 時間で始まり（中央値 56.5 時間）、51 時間から 107 時間で終わる（中央値 75.4 時間）傾向があった（図 4）。

表 4 二峰性発熱を認めた患者

治療群	二峰性発熱		計	$\chi^2$ test
	有 (%)	無 (%)		
(A) インフルエンザ A/H3N2 型, B 型				
ZN	6 (1.8)	332 (98.2)	338 (100.0)	$P < 0.001$
LO	28 (8.9)	286 (91.1)	314 (100.0)	
計	34 (5.2)	618 (94.8)	652 (100.0)	
(B) インフルエンザ A/H3N2 型				
ZN	4 (1.7)	230 (98.3)	234 (100.0)	$p = 0.005$
LO	15 (7.0)	198 (93.0)	213 (100.0)	
計	19 (4.3)	428 (95.7)	447 (100.0)	
(C) インフルエンザ B 型				
ZN	2 (1.9)	102 (98.1)	104 (100.0%)	$p = 0.003$
LO	13 (12.9)	88 (87.1)	101 (100.0%)	
計	15 (7.3)	190 (92.7)	205 (100.0%)	

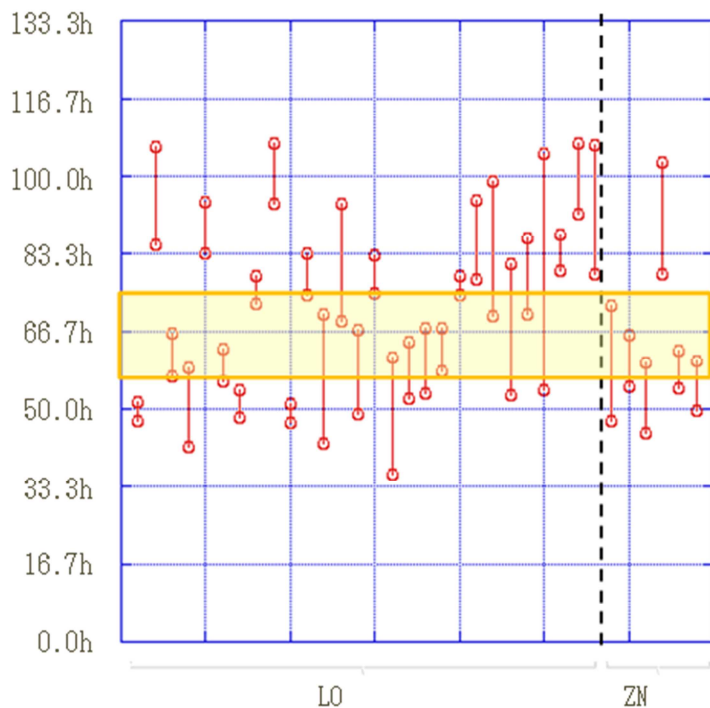


図 4 二峰性発熱の始まりと終わりのタイミング

#### (8) 二峰性発熱の出現に影響を与える因子

二峰性発熱の出現に関与する因子をロジステック回帰分析で分析すると、性別 ( $p=0.061$ )、インフルエンザ型 ( $p=0.175$ )、予防接種の有無 ( $p=0.726$ )、発症から吸入までの時間 ( $p=0.418$ ) は有意な因子とならなかったが、年齢 (オッズ比 0.016  $p=0.016$ ) と抗インフルエンザ薬を ZN か L0 かの選択 (オッズ比 5.80  $p<0.001$ ) が有意な因子である結果となった(表 5)。この結果から、二峰性発熱は、年齢が 1 歳下がると 1.19 倍高い確率で起こる、ZN に比べて L0 は 5.80 倍高い確率で起こる、という結果となった。

表 5 ロジステック回帰分析による二峰性発熱の出現に影響を与える因子

独立因子	オッズ比	(95%信頼区間)	P
年齢 <sup>+</sup>	1.19	(1.03-1.39)	0.016*
性別	1.20	(0.59-2.46)	0.616
抗インフルエンザ薬 <sup>++</sup>	5.80	(2.51-15.79)	<0.001*
インフルエンザの型	1.65	(0.79-3.38)	0.175
ワクチン接種	1.14	(0.55-2.34)	0.726
発症～吸入の時間	0.99	(0.95-1.02)	0.418

<sup>+</sup>年齢が 1 歳さがると、二峰性発熱は 1.19 倍出現する確率が高くなる。

<sup>++</sup>L0 で治療するほうが ZN で治療するより、二峰性発熱は 5.8 倍出現する確率が高くなる。

## 6. 考察

### (1) ZN と L0 開始後の有熱期間の比較

インフルエンザ A/H3N2 型における ZN と L0 開始後の有熱期間、インフルエンザ B 型における ZN と L0 開始後の有熱期間には有意差は見られなかった (図 1, 表 3)。この結果は過去の報告と一致する<sup>44, 46</sup>。

一方、ZN による有熱期間をインフルエンザ A/H3N2 型とインフルエンザ B 型で比較すると、インフルエンザ B 型の有熱期間が長かった (図 2, 表 3)。L0 開始後の有熱期間に関しても同様のことが言える。

過去には、OT をインフルエンザ B に使用した場合、インフルエンザ A より効果が劣るという報告がある<sup>49, 50</sup>。同様に ZN をインフルエンザ B 型に使用した場合、インフルエンザ A/H3N2 型より効果が劣るという報告もあり<sup>43</sup>。インフルエンザ B 型に対して NAI の効果が劣る点は今回の研究結果と一致している。その

一因として、OT のインフルエンザ B に対する 50% inhibitory concentration (IC50) がインフルエンザ A/H3N2 型に対する IC50 よりも高いことが挙げられている<sup>51</sup>。

一方、ZN に関しては、インフルエンザ A/H3N2 型に対する IC50 とインフルエンザ B に対する IC50 がほとんど変わらないとする報告と<sup>51</sup>、インフルエンザ B に対する IC50 がインフルエンザ A/H3N2 型に対する IC50 よりも高いとする報告まで様々であり<sup>52</sup>、IC50 のみで一元的には説明することはできない。

L0 に関しては、本研究の結果とは反対に、小児において L0 がインフルエンザ A/H3N2 型とインフルエンザ B 型に対する有熱時間に有意差がないとの報告もあった<sup>45</sup>。2008-2009 年と 2010-2011 年に患者から分離したインフルエンザ B に対する L0 の IC50 (19.43±3.58、22.13±6.85) は、インフルエンザ A/H3N2 型の IC50 (2.29±0.58、3.45±1.34) より高いという結果もあり (第一三共 [https://www.medicallibrary-dsc.info/di/inavir\\_dry\\_powder\\_inhaler\\_20mg/pdf/if\\_ina\\_1312\\_07.pdf](https://www.medicallibrary-dsc.info/di/inavir_dry_powder_inhaler_20mg/pdf/if_ina_1312_07.pdf))、小児における L0 のインフルエンザ B 型に対する効果はさらなる臨床研究による検討が必要と思われた。

## (2) 患者の年齢層と NAI に対する効果

ZN または L0 の初回投与後からの有熱時間は、年齢が上がると短くなる傾向が示された (図 3, 表 3)。過去にも、インフルエンザ A と B に感染した児をアマンタジンと OT で治療した際に、0-6 歳のほうが 7 歳より有熱時間が長いという結果が報告されていた<sup>53</sup>。また、インフルエンザ A または B に感染した患者を OT で治療した場合、1 歳年齢が上がると有熱期間が 2.4 時間短くなるとの報告もあった<sup>54</sup>。本研究では、ZN においても同様のこと (年齢が上がるほど有熱期間が短くなる) が示された。低年齢の児では免疫システムが未熟なことがその一因と思われた<sup>55</sup>

## (3) 二峰性発熱

インフルエンザの二峰性発熱は、インフルエンザ A/H3N2 型、インフルエンザ A/H1N1 型、インフルエンザ B 型に感染した患者を NAI で治療しなかった場合、インフルエンザ A/H3N2 型とインフルエンザ B 型に感染した患者を OT で治療した場合にも観察されている<sup>54</sup>。

本研究では、インフルエンザ A/H3N2 型の患者の 4.3%、インフルエンザ B 型の患者の 7.3% に二峰性発熱が観察できた (表 4)。二峰性発熱は 1 歳年齢が上がると 1.19 倍その確率が下がり、二峰性発熱が認められる確率は、L0 で治療した場合は ZN で治療した場合より、5.80 倍上がることが認められた (表 5)。二峰性発熱の患者を図 1 の部分から除くと、ZN 治療群と L0 治療群のカーブは殆ど重な

る。

ZN治療群とL0治療群における二峰性発熱の頻度の違いにはいくつかの原因が考えられる。第一に、吸入薬のコンプライアンス（服用状況）の問題が挙げられる。ZNは1日2回、5日間と合計10回の吸入の機会があるのに対して、L0は単回の吸入治療であり、吸入の機会は1回のみである。10歳以下の小児で、L0の単回吸入が十分にできなかった場合、治療が不十分となり、二峰性発熱の頻度が高くなる可能性がある。一方、ZNは合計10回の吸入機会があるが、本研究でZNの吸入回数が10回に満たなかった患者は37人、全体の10.9%いたが、その中に二峰性発熱を起こした患者はいなかった。

一方、インフルエンザAの患者をOTで治療した場合、1-5歳の患者の方が6-12歳の患者より二峰性発熱が起こる頻度が高かったという報告があった<sup>54</sup>。1-5歳の患者も6-12歳の患者もOTのコンプライアンスは同じと考えられるので、年齢に由来する免疫機能の未熟成が二峰性発熱の原因となり得ると考えられた。

#### (4) 本研究の限界

本研究の限界は、非ランダムな観察研究である。どの薬を処方するかは診察した患者の医師の判断に委ねており、測定不能なバイアスが発生し、結果、ZN群とL0群のウイルス量に差が出た可能性も否定できない。本研究では、無治療やプラセボ（NAIを使用しない）の条件がない。また、ウイルス学的な検討、特に二峰性発熱の患者のウイルス量の変化などの追跡ができていない。

## 7. 結語

インフルエンザA/H3N2型とインフルエンザB型をZNとL0で治療した場合、有熱時間の長さには2群間で有意な差はなかった。有熱時間は男児に比べて女児では僅かに短くなり、年長児ほど有意に短くなり、インフルエンザA/H3N2型に比べてインフルエンザB型では有意に長くなった。二峰性発熱はより低年齢の小児に起こりやすく、ZN治療群よりもL0治療群で有意に多く見られた。

小児のインフルエンザ治療に際しては、NAIの特性を考慮して処方することが重要である。10歳以下の小児にL0を使用する際には、十分な吸入を行わせるために、医療機関や薬局で吸入を実施する事が大切である。

## 謝 辞

本研究を行う機会を与えていただきました北海道大学大学院医学研究科小児科学分野 有賀正教授に深甚なる感謝の意を表します。また、直接ご指導いただきました北海道大学病院 感染制御部 診療教授 石黒信久先生、統計学的な解析にご助言をいただきました北海道大学病院 高度先進医療支援センター 講師 (現東京大学大学院医学系研究科 公共健康医学専攻 生物統計学分野 准教授) 大庭幸治先生、研究計画にご助言をいただきました北海道大学客員教授 菊田英明先生、札幌市立大学看護学部 特任教授 富樫武弘先生、研究の技術的なご助言を頂きました日本大学医学部病態病理学微生物学分野 客員教授 牛島廣治先生、北海道大学大学院医学研究科小児科学分野 技術補助員 海方美紀様に深謝いたします。検体採取にご協力いただきました五味(遠藤)理香先生、森田啓介先生、稲川昭先生、岡村暁子先生、山崎茂先生、梶井直文先生、信太知先生、永島哲郎先生、仲西正憲先生、寺本忍先生、高橋豊先生、鹿野高明先生、吉岡幹朗先生、上野範博先生、今野武津子先生、川村信明先生、石坂明人先生、高田公彦先生、竹林武恭先生、富澤一浩先生、椿原圭二先生、飯塚進先生、外木秀文先生、長野奈緒子先生、柴田睦郎先生、澤田博行先生、古山秀人先生、中山承代先生、小笠原由法先生、松菌嘉裕先生、小池明美先生、古賀康嗣先生、村下眞理先生、畑江芳郎先生、有岡秀樹先生、宇加江進先生、山中樹先生、渡辺徹先生に深謝いたします。

## 引用文献

- 1 Black, R. E. *et al.* Global, regional, and national causes of child mortality in 2008: a systematic analysis. *Lancet* **375**, 1969-1987, (2010).
- 2 Jartti, T. *et al.* Human bocavirus-the first 5 years. *Rev. Med. Virol.* **22**, 46-64,(2012).
- 3 Patients hospitalized with 2009 pandemic influenza A (H1N1) - New York City, May 2009. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report* **58**, 1436-1440 (2010).
- 4 Louie, J. K., Acosta, M., Jamieson, D. J. & Honein, M. A. Severe 2009 H1N1 influenza in pregnant and postpartum women in California. *N. Engl. J. Med.* **362**, 27-35, (2010).
- 5 Jamieson, D. J. *et al.* H1N1 2009 influenza virus infection during pregnancy in the USA. *Lancet* **374**, 451-458, (2009).
- 6 Allander, T. *et al.* Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102**, 12891-12896, (2005).
- 7 Allander, T. *et al.* Human bocavirus and acute wheezing in children. *Clin. Infect. Dis.* **44**, 904-910, (2007).
- 8 Christensen, A., Nordbo, S. A., Krokstad, S., Rognlien, A. G. & Dollner, H. Human bocavirus in children: mono-detection, high viral load and viraemia are associated with respiratory tract infection. *J. Clin. Virol.* **49**, 158-162, (2010).
- 9 Lu, X., Gooding, L. R. & Erdman, D. D. Human bocavirus in tonsillar lymphocytes. *Emerg. Infect. Dis.* **14**, 1332-1334, (2008).
- 10 Martin, E. T. *et al.* Detection of bocavirus in saliva of children with and without respiratory illness. *J. Clin. Microbiol.* **47**, 4131-4132, (2009).
- 11 Pozo, F. *et al.* High incidence of human bocavirus infection in children in Spain. *J. Clin. Virol.* **40**, 224-228, (2007).
- 12 Hamza, I. A., Jurzik, L., Wilhelm, M. & Uberla, K. Detection and quantification of human bocavirus in river water. *J. Gen. Virol.* **90**, 2634-2637, (2009).
- 13 Bastien, N. *et al.* Detection of human bocavirus in Canadian children in a 1-year study. *J. Clin. Microbiol.* **45**, 610-613, (2007).
- 14 Brieu, N., Guyon, G., Rodiere, M., Segondy, M. & Foulongne, V.

- Human bocavirus infection in children with respiratory tract disease. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **27**, 969-973, (2008).
- 15 Choi, E. H. *et al.* The association of newly identified respiratory viruses with lower respiratory tract infections in Korean children, 2000-2005. *Clin. Infect. Dis.* **43**, 585-592, (2006).
- 16 Ma, X. *et al.* Detection of human bocavirus in Japanese children with lower respiratory tract infections. *J. Clin. Microbiol.* **44**, 1132-1134, (2006).
- 17 Neske, F. *et al.* Real-time PCR for diagnosis of human bocavirus infections and phylogenetic analysis. *J. Clin. Microbiol.* **45**, 2116-2122, (2007).
- 18 Arthur, J. L., Higgins, G. D., Davidson, G. P., Givney, R. C. & Ratcliff, R. M. A novel bocavirus associated with acute gastroenteritis in Australian children. *PLoS Pathog.* **5**, e1000391, (2009).
- 19 Kapoor, A. *et al.* Human bocaviruses are highly diverse, dispersed, recombination prone, and prevalent in enteric infections. *J. Infect. Dis.* **201**, 1633-1643, (2010).
- 20 Kapoor, A. *et al.* A newly identified bocavirus species in human stool. *J. Infect. Dis.* **199**, 196-200, (2009).
- 21 Lindner, J. & Modrow, S. Human bocavirus--a novel parvovirus to infect humans. *Intervirology* **51**, 116-122, (2008).
- 22 Martin, E. T. *et al.* Frequent and prolonged shedding of bocavirus in young children attending daycare. *J. Infect. Dis.* **201**, 1625-1632, (2010).
- 23 Al-Rousan, H. O. *et al.* Human bocavirus in Jordan: prevalence and clinical symptoms in hospitalised paediatric patients and molecular virus characterisation. *Singapore Med. J.* **52**, 365-369 (2011).
- 24 Khamrin, P. *et al.* Detection of human bocavirus 1 and 2 from children with acute gastroenteritis in Japan. *J. Med. Virol.* **84**, 901-905, (2012).
- 25 Moriyama, Y. *et al.* Distinctive clinical features of human bocavirus in children younger than 2 years. *Eur. J. Pediatr.* **169**, 1087-1092, (2010).
- 26 Han, T. H., Chung, J. Y. & Hwang, E. S. Human bocavirus 2 in children, South Korea. *Emerg. Infect. Dis.* **15**, 1698-1700, (2009).
- 27 Karalar, L. *et al.* Prevalence and clinical aspects of human bocavirus infection in children. *Clin. Microbiol. Infect.* **16**, 633-639, (2010).
- 28 Tozer, S. J. *et al.* Detection of human bocavirus in respiratory, fecal,

- and blood samples by real-time PCR. *J. Med. virol.* **81**, 488-493, (2009).
- 29 Allander, T. *et al.* Identification of a third human polyomavirus. *J. Virol.* **81**, 4130-4136, (2007).
- 30 Maertzdorf, J. *et al.* Real-time reverse transcriptase PCR assay for detection of human metapneumoviruses from all known genetic lineages. *J. Clin. Microbiol.* **42**, 981-986 (2004).
- 31 Miura-Ochiai, R. *et al.* Quantitative detection and rapid identification of human adenoviruses. *J. Clin. Microbiol.* **45**, 958-967, (2007).
- 32 Osiowy, C. Direct detection of respiratory syncytial virus, parainfluenza virus, and adenovirus in clinical respiratory specimens by a multiplex reverse transcription-PCR assay. *J. Clin. Microbiol.* **36**, 3149-3154 (1998).
- 33 Poddar, S. K. Influenza virus types and subtypes detection by single step single tube multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and agarose gel electrophoresis. *J. Virol. Methods* **99**, 63-70 (2002).
- 34 Stephensen, C. B., Casebolt, D. B. & Gangopadhyay, N. N. Phylogenetic analysis of a highly conserved region of the polymerase gene from 11 coronaviruses and development of a consensus polymerase chain reaction assay. *Virus. Res.* **60**, 181-189 (1999).
- 35 Monteny, M., Niesters, H. G., Moll, H. A. & Berger, M. Y. Human bocavirus in febrile children, The Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* **13**, 180-182, (2007).
- 36 Song, J. R. *et al.* Novel human bocavirus in children with acute respiratory tract infection. *Emerg. Infect. Dis.* **16**, 324-327, (2010).
- 37 Chieochansin, T., Kapoor, A., Delwart, E., Poovorawan, Y. & Simmonds, P. Absence of detectable replication of human bocavirus species 2 in respiratory tract. *Emerg. Infect. Dis.* **15**, 1503-1505, (2009).
- 38 Nagaoki, Y., Ishida, T., Tsuda, H. & Ishiguro, N. Detection of Human Bocavirus 2 DNA from a Girl with Plastic Bronchitis. *Journal of US-China Medical Science*, **11**, 47-48 (2014).
- 39 Harper, S. A. *et al.* Seasonal influenza in adults and children--diagnosis, treatment, chemoprophylaxis, and institutional outbreak management: clinical practice guidelines of the Infectious

- Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* **48**, 1003-1032, (2009).
- 40 Hayden, F. G. *et al.* Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenza virus infections. GG167 Influenza Study Group. *N. Engl. J. Med.* **337**, 874-880, (1997).
- 41 Treanor, J. J. *et al.* Efficacy and safety of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in treating acute influenza: a randomized controlled trial. US Oral Neuraminidase Study Group. *JAMA* **283**, 1016-1024 (2000).
- 42 Whitley, R. J. *et al.* Oral oseltamivir treatment of influenza in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **20**, 127-133 (2001).
- 43 Sugaya, N. *et al.* Comparison of the clinical effectiveness of oseltamivir and zanamivir against influenza virus infection in children. *Clin. Infect. Dis.* **47**, 339-345, (2008).
- 44 Shobugawa, Y. *et al.* Clinical effectiveness of neuraminidase inhibitors--oseltamivir, zanamivir, laninamivir, and peramivir--for treatment of influenza A(H3N2) and A(H1N1)pdm09 infection: an observational study in the 2010-2011 influenza season in Japan. *J. Infect. Chemother.* **18**, 858-864, (2012).
- 45 Sugaya, N. & Ohashi, Y. Long-acting neuraminidase inhibitor laninamivir octanoate (CS-8958) versus oseltamivir as treatment for children with influenza virus infection. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **54**, 2575-2582, (2010).
- 46 Katsumi, Y. *et al.* Effect of a single inhalation of laninamivir octanoate in children with influenza. *Pediatrics* **129**, e1431-1436, (2012).
- 47 Nakauchi, M. *et al.* One-step real-time reverse transcription-PCR assays for detecting and subtyping pandemic influenza A/H1N1 2009, seasonal influenza A/H1N1, and seasonal influenza A/H3N2 viruses. *J. Virol. Methods* **171**, 156-162, (2011).
- 48 WHO information for molecular diagnosis of influenza virus - update. Available at [http://www.who.int/influenza/gisrs\\_laboratory/molecular\\_diagnosis/en/](http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/molecular_diagnosis/en/).
- 49 Kawai, N. *et al.* Factors influencing the effectiveness of oseltamivir and amantadine for the treatment of influenza: a multicenter study from Japan of the 2002-2003 influenza season. *Clin. Infect. Dis.* **40**, 1309-1316, (2005).

- 50 Sugaya, N. *et al.* Lower clinical effectiveness of oseltamivir against influenza B contrasted with influenza A infection in children. *Clin. Infect. Dis.* **44**, 197-202, (2007).
- 51 Ferraris, O., Kessler, N. & Lina, B. Sensitivity of influenza viruses to zanamivir and oseltamivir: a study performed on viruses circulating in France prior to the introduction of neuraminidase inhibitors in clinical practice. *Antiviral Res.* **68**, 43-48, (2005).
- 52 Ikematsu, H., Kawai, N. & Kashiwagi, S. In vitro neuraminidase inhibitory activities of four neuraminidase inhibitors against influenza viruses isolated in the 2010-2011 season in Japan. *J. Infect. Chemother.* **18**, 529-533, (2012).
- 53 Sato, M. *et al.* Effectiveness of oseltamivir treatment among children with influenza A or B virus infections during four successive winters in Niigata City, Japan. *Tohoku J. Exp. Med.* **214**, 113-120 (2008).
- 54 Suzuki, E. & Ichihara, K. The course of fever following influenza virus infection in children treated with oseltamivir. *J. Med. Virol.* **80**, 1065-1071, (2008).
- 55 Munoz, F. M. Influenza virus infection in infancy and early childhood. *Paediatr. Respir. Rev.* **4**, 99-104 (2003).