

表 小児の日本脳炎

初発症状
発熱：81%，頭痛：10%，嘔吐：6.5%
全経過を通して
頭痛：71%，嘔吐：61%，下痢：7.8%
痙攣：98.7% (他報告では40~70%)
前駆期<2日36%，2~5日49%
髄膜刺激症状：35%
筋トーンス 亢進：51%，低下：25%
胃出血：54.5%

[文献5]より引用)

開となった。5年間のワクチン接種率低下で感染感受性者が増加しているため、日本脳炎の小児患者が増加することがないか厳重な監視を必要とする時期にある。本稿では、日本脳炎について概説し、ワクチン接種の意義について述べたい。



病原体・疾患の概要

1. 日本脳炎ウイルス

日本脳炎ウイルス (Japanese encephalitis virus; JEV) は、フラビウイルス科のフラビウイルス属に分類される約70種のウイルスの1つで、直径約50 nmの球状エンベロープウイルスであり、プラスセンスで約11 kbの一本鎖RNAを有する。コード領域 (ORF) にはエンベロープ (E)、prM、C蛋白という3種類の構造蛋白と7種類のNS (non-structural) 蛋白がコードされている。E蛋白が、レセプターと結合し、中和抗体のエピトープ、神経毒性に関与する重要な構造蛋白と考えられている。

JEVの血清型は単一であるが¹⁾、遺伝子型はI~V型に分類され、地理的な偏在が認められる。以前は日本・韓国ともにIII型が主体であったが、1990年台初頭を境にI型にシフトしており²⁾、2000年台前半に日本のブタから分離されたウイルスはすべてI型であった³⁾。IV型は1980~1981年にインドネシアで分離された株のみで、V型は1952年にシンガポールで確認された1株のみである。

JEVは、水田で繁殖するコガタアカイエカが媒介し、ブタが吸血されて感染し、高いレベルのウイルス血症を起こし、蚊へのウイルス供給源となるため、ブタがウイルス増殖動物として重要で

ある。コガタアカイエカが大量発生する季節、日本においては7~10月にかけてウイルス感染蚊が増加するため、この期間に患者発生を認める⁴⁾。ブタ以外に、イノシシやトリにも感染し、JEVのリザーバーとなることが示されている。JEVは日本、中国、韓国、台湾などの東アジアからタイ、ベトナム、フィリピン、インドネシアなど東南アジア、インド、ネパール、パキスタンなど西アジア、パプアニューギニア、オーストラリア北部までアジア全域に広く分布している。

2. 日本脳炎

JEVによって惹起される病態は、夏かぜ様の熱性疾患から、髄膜炎、予後不良な脳炎まで多様である。不顕性感染例が多く存在する。蚊刺により体内に侵入したJEVは、所属リンパ節で増殖したのちに、ウイルス血症を起こし脳内に侵入する。潜伏期は6~16日とされる。

日本脳炎は、微熱、食欲不振などの2~5日間の前駆期を経て、高熱、頭痛、痙攣、意識障害が出現する。悪心・嘔吐などの消化器症状を伴うことが多い。髄膜刺激症状、麻痺、筋硬直、不随意運動などの神経症状を伴うことが多い(表)⁵⁾。

末梢血白血球は $10,000/\text{mm}^3$ に増加する例が少なくないが、CRP上昇は軽度にとどまる。髄液細胞増多(単核球優位)は半数以上にみられ、 $1,000/\text{mm}^3$ に及ぶ例もある。髄液蛋白も軽度上昇する例が多い。脳波は典型的には高振幅徐波を認め、頭部MRIではT2強調画像および拡散強調画像で高信号域を視床、大脳皮質に認めることが多く、特に視床病変は本症に特異性が高い変化である⁶⁾。自験例(11歳女児)のMRI所見を図3に示す。

病原診断は、髄液からウイルス分離もしくはPCR法で検出すれば確定できるが、病初期で約1/3程度と診断感度は高くない。2~4週間間隔で採取されたペア血清でHI抗体の4倍以上の上昇を確認するか、髄液IgM抗体がEIA法で陽性であれば診断できる。7~10月の間に発症した脳炎・脳症例では、ペア血清と髄液を冷凍保存しておくことが重要である。国立感染症研究所ウイルス第一部第2室(<http://www.nih.go.jp/vir1/NVL/JEVMeeting.htm>)に依頼し検索する。

重篤な例では1週間ほどの経過で死亡する。軽

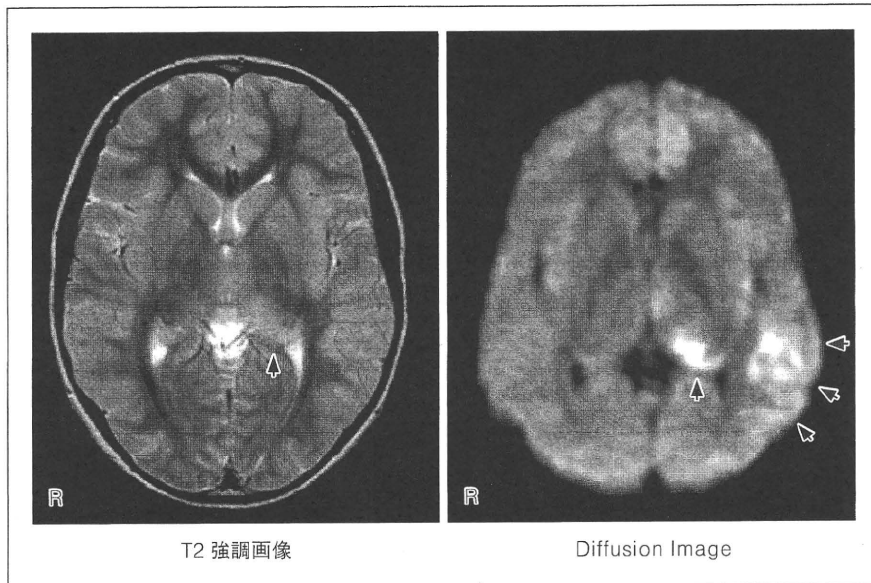


図3 頭部MRI像(11歳女児, 日本脳炎例)

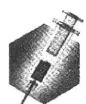
症例は10~14日間で解熱し, 1~2か月で回復する。死亡率は20~30%で, 死を免れたとしても約半数で知能障害, 麻痺などの後遺症を残すとされる。

3. 日本脳炎ウイルスの不顕性感染

JEVは不顕性感染が多いことが特徴の1つに挙げられる。1950~1960年代の韓国および日本における検討で, 不顕性: 顕性感染比は25:1~1,000:1^{7~9)}と幅がある。近年の日本に関してはワクチンの影響があること, 流行するJEV遺伝子型の変異もあるので評価が難しいが, 300~1,000:1¹⁰⁾と考えるのが妥当であろう。

4. 日本脳炎ウイルスの自然感染

JEVの自然感染率は, 地域差があり南ほど高い傾向があるが, 1940~1950年代は1年間当たり約5~10%と報告されている^{11,12)}。2001年の東北から九州に位置する8県の住民(総数1,765人)の年間自然感染率は0.2~3.4%であり¹³⁾, 増幅動物であるブタの調査同様, ヒトに関してもJEV自然感染が減少しているとはいえない。

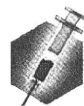


疫学

日本脳炎は, 古くは日本で1871年に流行と思われる記載が認められ, 1935年に初めてウイルス分離に成功した¹⁴⁾。現在は世界で年間50,000人が罹患, 10,000人が死亡している¹⁵⁾。

日本では, 1960年代には数百~2,000人台の患者が報告されていたが, 1970年代になって100人を下回るようになり, 1992年以降は年間10人未満で推移している(図2)。患者減少の理由として, ワクチンの効果, コガタアカイエカが増殖する水田の減少, 蚊に刺される機会の減少, 増幅動物であるブタの飼育環境の変化, 医療サイドの問題として診断機会の減少に伴う診断もれなどが挙げられる。現在日本国内で活動しているウイルスの弱毒化の可能性も否定できない。

日本脳炎は感染症法(2003年)の第四類感染症であり, 診断した医師は直ちに保健所長に届け出なければならない。



ワクチンの必要性

日本脳炎ワクチン(中山株)は1954年に勧奨接種として開始され, 1967年に特別対策として接種された。1989年には, 免疫原性が高く, 各国の分離株に対してより高い交叉性をもった中和抗体を誘導する, 北京株に変更された。1994年に現行の制度すなわち定期接種として実施されるようになった。

日本脳炎の治療として, リバビリンの経口投与¹⁶⁾や副腎皮質ステロイド静注¹⁷⁾などが試みられているが, 特異的治療として確かに有効とされるものではなく, 痙攣や脳浮腫に対する対症療法に

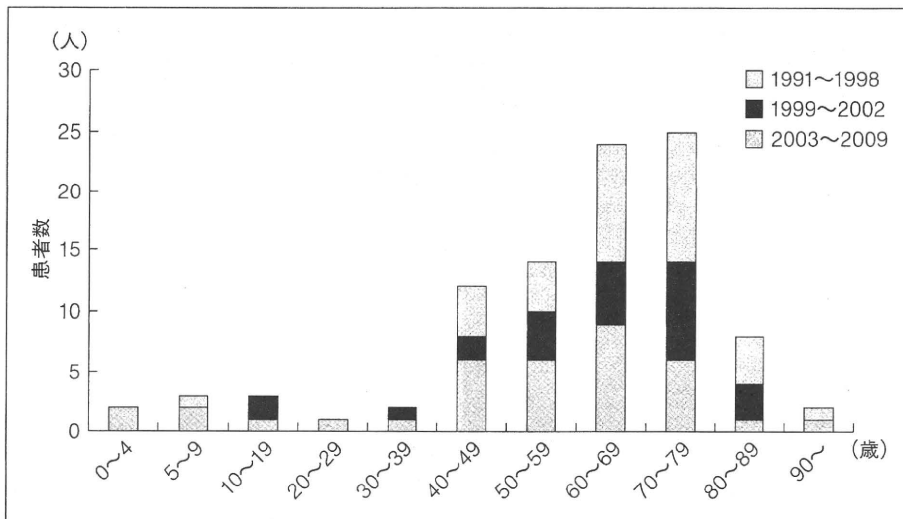


図4 国内日本脳炎患者の年齢分布(1991~2009年)

感染症情報センターの報告によると過去19年で、0~4歳は2例、5~9歳は3例、10歳代が3例発症が認められる。自験例は1歳6か月であり、過去19年間での最年少例であった。小児例は、少数ではあるが、1999~2002年と2003~2009年の例と比較すると、数年単位で徐々に増えてきている可能性がある。

とどまる。したがって、JEVが今なお日本で蔓延している状況、脳炎を発症した場合の予後の悪さを考えれば、予防以外になく、予防接種継続が必要であることは論を待たない。



ワクチンの効果と副反応

ワクチン接種開始後の患者数激減という事実から、疫学的にワクチンの有効性は顕著なものである。ワクチン導入に先立って、効果を確認するために、1948~1949年に岡山で行った調査¹⁸⁾では、ワクチン接種群(1回もしくは2回接種)31,923人中罹患者が4人であったのに対し、非接種群51,493人中罹患者は30人であった。改良前の初期のワクチンのデータだが、予防効果は明らかであった。台湾での二重盲検法による検討の結果、マウス脳ワクチンの発症予防効果は約80%と推定されている。加えて、1982~1996年までの日本脳炎確認患者個人票に基づく全確定患者数(324例)の中で、95%がワクチン未接種またはワクチン歴不明であり、ワクチン接種の有効性が示されている。組織培養(新)ワクチンに関しては、抗体上昇は旧ワクチン同等かそれ以上であることから、同様の効果が得られるものと期待される。

一方、日本脳炎ワクチンの副反応として最も注目されるのはADEMである。冒頭で述べたよう

に、マウス脳ワクチンが顕著な実績を上げたにもかかわらず中止となった理由、すなわちADEM発症との因果関係は、理論的リスクを背景とした漠然とした危惧であり、突然の中止に残念な思いを残している医師も多いであろう。事実、2005年の日本脳炎予防接種の勧奨差し控えに対し、2006年にWHOは「日本で政策を変更したことは望ましいことではない」と見解を述べている。2009年から実用化された組織培養ワクチンは製造工程で微量のウシ血清を用いており、理論的にはプリオンを持ち込む可能性がゼロではないが、同様の工程を経たワクチンでプリオン病を起こした例は世界中で1例もなく、これも杞憂に近いと考えてよい。ADEMのリスクもほかのワクチン同様にゼロではない。軽微な副反応としての、接種部位の局所反応や一過性の発熱は、ほかの不活化ワクチンと同程度には認められる。



現状の問題点と展望

マウス脳由来日本脳炎ワクチンの「勧奨差し控え」通達によって、接種率低下でJEV感受性者が蓄積し増加しているため、日本脳炎の小児患者の増加が予想される。1991~2009年の本邦における日本脳炎患者の年齢分布を図4に示す。措置の前後で幸い日本脳炎患者の総数は増加していな

いが、やや小児例の発生が目立ってきたように思われる。熊本県で2006年に3歳児、2009年に7歳児が、高知県で2009年に1歳児が日本脳炎に罹患しており、引き続き厳重な監視が必要である。

組織培養日本脳炎ワクチンはマウス脳由来ワクチンとの併用による効果・副作用の評価について目下検討が進行中である。2010年4月現在、組織培養ワクチンの勧奨接種が再開されたのは1期初回の定期接種だけであるが、1期追加接種や2期での接種についても使用できる日は近いと期待される。早急に未接種世代のキャッチアップ接種を開始すること、長期的な免疫原性、疫学的効果の評価についても新ワクチンの課題である。

2009年に発症した1歳6か月児例は過去20年間で最年少例であった。年少例の発症が続けば接種推奨年齢を現在の3歳から時期を前倒しにする(定期接種可能年齢は0歳6か月以上)ことも考慮すべきと思われる。疾患サーベイランス充実も不可欠であり、そのためには、診断をもれなく行い、現状把握を確実にすることも重要である。

日本で蔓延しているJEVの遺伝子型がⅢ型からⅠ型にシフトしていることが、発症数減少または軽症化につながっているかどうかについては確実な証拠がなく、病原性、神経毒性に関するウイルス学的研究や疫学的調査の蓄積を待たなくてはならない。2000年以降に台湾南部で発症した11例の成人患者では1例も後遺症はみられなかった¹⁹⁾という。日本では2005～2009年の5か年の報告例30例の大多数がⅠ型ウイルスであった可能性が高いが、2007年に発症した2例(40歳代と80歳代)は死亡しており(国立感染症研究所感染症情報センターHP)、Ⅰ型であったとしても予後が著しく好転しているという証拠は現在のところ乏しい。過去に大流行をもたらしたⅢ型ウイルスが分布している、東南アジア、中国に渡航、駐在する者は、事前に予防接種を受けることが重要である。



おわりに

2005年に多くの疑問を投げかけた、マウス脳由来日本脳炎ワクチンの「勧奨差し控え」通達で

は、有識者たちは蚊帳の外であった印象が拭えない。しかし、この事件を機に、米国のACIP (Advisory Committee on Immunization Practices)のような制度導入が日本でも必要との議論が湧き起こった。海外とのワクチンギャップを埋めるために、ぜひ日本版ACIPの実現を目指したい。

文献

- 1) Kuzuhara S, Nakamura H, Hayashida K, et al : Non-clinical trial and phase I clinical trials of a Vero cell-derived inactivated Japanese encephalitis virus vaccine. *Vaccine* 21 : 4519-4526, 2003
- 2) Ma SP, Yoshida Y, Makino Y, et al : Short report : a major genotype of Japanese encephalitis virus currently circulating in Japan. *Am J Trop Med Hyg* 69 : 151-154, 2003
- 3) Nerome R, Tajima S, Takasaki T, et al : Molecular epidemiological analyses of Japanese encephalitis virus isolates from swine in Japan from 2002 to 2004. *J Gen Virol* 88 : 2762-2768, 2007
- 4) Arai S, Matsunaga Y, Takasaki T, et al : Japanese encephalitis : Surveillance and Elimination effort in Japan from 1982 to 2004. *Jpn J Infect Dis* 61 : 333-338, 2008
- 5) Kumar R, Tripathi P, Singh S, et al : Clinical features in children hospitalized during the 2005 epidemic of Japanese encephalitis in Uttar Pradesh, India. *Clin Infect Dis* 43 : 123-131, 2006
- 6) Dung NM, Turtle L, Chong WK, et al : An evaluation of the usefulness of neuroimaging for the diagnosis of Japanese encephalitis. *J Neurol* [Epub ahead of print] 2009
- 7) Halstead SB, Grosz CR : Subclinical Japanese encephalitis. I. Infection of Americans with limited residence in Korea. *Am J Hyg* 75 : 190-201, 1962
- 8) Southam CM : Serological studies of encephalitis in Japan. III. Epidemic encephalitis other than Japanese B encephalitis in Tokyo. *J Infect Dis* 99 : 170-173, 1956
- 9) Grossman RA, Edelman RE, Willhight M, et al : Study of Japanese encephalitis virus in Chiang-mai valley, Thailand. III. Human seroepidemiology and inapparent infections. *Am J Epidemiol* 98 : 133-149, 1973
- 10) 倉根一郎 : 開発中の日本脳炎ワクチン. *小児科* 47 : 321-325, 2006
- 11) Bawell MB, Deuel RE Jr, et al : Status and significance of inapparent infection with virus of Japanese B encephalitis in Japan in 1946. *Am J Hyg* 51 : 1-12, 1950
- 12) Southam CM : Serological studies of encephalitis

- in Japan. II. Inapparent infections by Japanese B encephalitis virus. *J Infect Dis* 99 : 163-169, 1956
- 13) Konishi E, Shoda M, Yamamoto S, et al : Natural infection with Japanese encephalitis virus among inhabitants of Japan : a nationwide survey of antibodies against nonstructural 1 protein. *Vaccine* 24 : 3054-3056, 2006
 - 14) Lewis L, Taylor HG, et al : Japanese B encephalitis ; clinical observations in an outbreak on Okinawa Shima. *Arch Neurol Psychiatry* 57 : 430-463, 1947
 - 15) Tsai TF : New initiatives for the control of Japanese encephalitis by vaccination : minutes of a WHO/CVI meeting, Bangkok, Thailand, 13-15 October 1998. *Vaccine* 18 : 1-25, 2008
 - 16) Kumar R, Tripathi P, Baranwal M, et al : Randomized, controlled trial of oral ribavirin for Japanese encephalitis in children in Uttar Pradesh, India. *Clin Infect Dis* 48 : 400-406, 2009
 - 17) Hoke CH Jr, Vaughn DW, Nisalak A, et al : Effect of high-dose dexamethasone on the outcome of acute encephalitis due to Japanese encephalitis virus. *J Infect Dis* 165 : 631-637, 1992
 - 18) Ando K, Satterwhite JP : Evaluation of Japanese B encephalitis vaccine. III. Okayama field trial, 1946-1949. *Am J Hyg* 63 : 230-237, 1956
 - 19) Chen KM, Tsai HC, Sy CL, et al : Clinical manifestations of Japanese encephalitis in southern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 42 : 296-302, 2009

Summary

Japanese encephalitis

Akihiko Maeda¹⁾, Hiroshi Wakiguchi²⁾

Japanese encephalitis (JE) was common in Japan in 1960's. Universal immunization has dramatically suppressed the number of JE cases to less than 10 per year. The regular national surveillance shows that the seropositivity of JE virus in pigs that are the reservoirs for the virus remains high in Japan, especially in southern area. Since JE virus is thus prevalent in Japan, the universal immunization against JE virus should be continued in Japan. In 2005, a severe patient who presented with acute disseminated encephalo-myelitis occurred after receiving the 4th dose of the former mouse brain-derived JEV vaccine, and the rate of vaccinees decreased from 80% to 5%. As JE virus-susceptible children are thereafter increasing, the surveillance of JE patients is now extremely important. A new JE vaccine derived from the cell culture virus has been approved to be used as immunization program and universal immunization program has been restarted since April, 2005. A catch up immunization for the children who missed JE vaccination these five years is expected to be started promptly.

[*Rinsho Kensa* 54 : 1306-1312, 2010]

1, 2) Department of Pediatrics, Kochi Medical School, Kohasu, Oko-cho, Nanko-ku, Kochi 783-8505, Japan

MEDICAL BOOK INFORMATION

医学書院

電子辞書SR-A10001

●2009年
価格76,500円(本体72,857円+税5%)
[ISBN978-4-260-70065-8]

『医学書院 医学大辞典 第2版』(2009年改訂)、膨大な薬のデータを収録した『治療薬マニュアル2008』、世界標準の医学辞典『ステッドマン医学大辞典 改訂第6版』(2008年改訂)を、この1台に収録。コンテンツの引き比べができる「ツイン検索」、高精細の液晶による図版表示、一般英単語のみならず医学用語のネイティブ発声も可能にした、医学のスペシャリストのための電子辞書。



ヒトパピローマウイルスワクチンと少子化対策

高知大学教育研究部医療学系臨床医学部門

わき ぐち ひろし
脇 口 宏

はじめに

ヒトパピローマウイルス (HPV) が子宮頸ガンの主要な原因であることは周知である。HPV は100以上の型が知られており、皮膚型と粘膜型とに分類される。粘膜型は子宮頸ガン組織で検出されるか否かによって高リスク群と低リスク群とに分類される。皮膚型は非生殖器系イボの原因となり、粘膜型は呼吸器乳頭腫症、肛門生殖器イボ、子宮頸部粘膜上皮異形成、子宮頸ガンと関連する。子宮頸ガンの原因となる高リスク HPV には18以上の型が知られており、16, 18, 31, 45型が高頻度であるが、なかでも16型と18型が主体である。肛門や性器の HPV 病変は主に性行為によって感染し、Red Book (R-Book 2006)¹⁾によれば米国では思春期女性の40%以上に感染しているが、思春期以前の女兒に HPV 感染が確認されれば性的虐待の可能性を示唆すると記載されている。現状ではわが国の女性における感染率は10%程度と報告されているが、性活動は欧米化しており、近いうちに米国レベルの感染率になることが危惧される。

I. HPV 感染による臨床病変

HPV 感染の臨床像は尋常性疣贅、足底イボ、扁平イボ、糸状疣贅、呼吸器性乳頭腫症などである (表 1)。Red Book (R-Book

2006)¹⁾によれば、

- 尋常性疣贅は手、指、爪床に多発する。足底イボは有痛性で角質増殖を伴う。
- 扁平疣は小児、思春期の顔面、四肢に多発する小型で扁平な疣である。
- 糸状疣贅は顔面、頸部に生じる。
- 尖圭コンジロームは肛門、性器に発生するイボで、皮膚色をした2~3mmから数cm以下のカリフラワー様の不規則な形状をしたイボである。痛みはないが、痒み、熱感、出血などが見られる。

子宮頸ガンの99%以上が HPV による。感染後数年以内に異形成病変が発生し、その後ガン化する。HPV 感染が成立した女性の90%は6カ月以内にウイルスが排除される一過性感染である。持続感染が成立した女性の90%においても経過とともにウイルスが自然に排除され、前ガン病変 (CIN 2~CIN 3) を形成するのは10%で、HPV 感染例全体の1%程度である。前ガン病変形成例の10~30% (感染例の0.1~0.3%程度) が子宮頸ガンに進展する。ガンに進展するまでは前ガン病変 (CIN 2~CIN 3) の多くは自然にウイルスが排除され、正常に回復する。すなわち、わが国の女性10,000人のうち1~3人が子宮頸ガンを発症することになり、10万人当たりの発生数は11人強である。

II. 子宮頸ガンの臨床

子宮体部ガンでは病初期から不正性器出血

表1 HPV 感染に伴う臨床病変

部位	臨床的発現	型
生殖管	尖圭コンジローマ	6, 11, 42, 43, 44, 55, その他
	性器悪性腫瘍	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56
呼吸気道	呼吸器乳頭腫	6, 11
口腔	局所性上皮過形成	13, 32
	口腔乳頭腫	6, 7, 11, 16, 32
皮膚	足蹠イボ	1, 2, 4
	扁平イボ	3, 10, 28, 41
	ブツチャーイボ	7
	疣贅状表皮異形成	5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19~25, 36, 46, 47

が見られるのに対して子宮頸ガンは無症状である。さらに、子宮体部ガンは生活習慣病の様相を呈し、50歳代の肥満型、未経産婦に多いのに対して子宮頸ガンは20~30歳代の母親に多く、その大半は HPV が原因である。HPV 感染後約10年でガンが発症するので、セックスデビューが早い女性では20歳代前半に発ガンする危険性があることになる。

重要な点は幼い子どもを育児中~受験生を持つ母親に多いということである。育児中の母親ということは、父親も若く、家庭そのものがまだ安定していない時期である。このような時期に、母親が子宮ガンを発症すると、家庭はさらに不安定になり、母親の育児に対する姿勢にも悪影響が生じることが危惧される。受験生であれば、勉強にも多大な影響が出るであろう。母親の精神状態が不安定かつ悲劇的状况に陥り、平静な心で育てられなかった子どもの将来が悲惨であることは、小児科医であれば理解できるはずである。ネグレクト、過干渉、笑顔のない家庭などは、両親の悲しみと子の不安亢進など、愛着形成にも悪影響が出ることは容易に想像できる。ある意味では、このことが最も重要かつ危険なことであるかもしれない。



Ⅲ. HPV ワクチンの効果

1. HPV 抗体反応

現在わが国で市販されている HPV 2 価ワクチンは HPV16型と18型 2 種類のハイリスクウイルスを含んでいる。ワクチン接種回数は 0, 1, 6 カ月後の 3 回である。3 回接種することで、2 回接種の 7~10 倍の十分な抗体価 (図 1) と長期間の抗体持続が得られる²⁾。さらに、成人に接種するよりも、小児期に接種した方が 2 倍以上に高い抗体価が得られる³⁾ ことを忘れてはならない。高い抗体価は 6 年以上持続することが確認されており、20 年以上持続することが推定されている⁴⁾⁵⁾。

2. 子宮頸ガン予防効果

HPV16型と18型を含む 2 価ワクチンの接種 4 年後の HPV16型と18型による前ガン病変 (CIN 2) 予防効果⁷⁾ は、初交前の未感染例ではワクチン接種例の 1/5,449 例 (0.02%) が CIN 2 病変を形成したのに対して、非接種例では 63/5,436 例 (1.2%) で、ワクチン接種例では明らかに低率である。これに対して、性交経験例を含む一般女性群の HPV 遺伝子陽性頻度は 16 型が 5.4%, 18 型が 2.3% であったが、4 年後に前ガン病変を

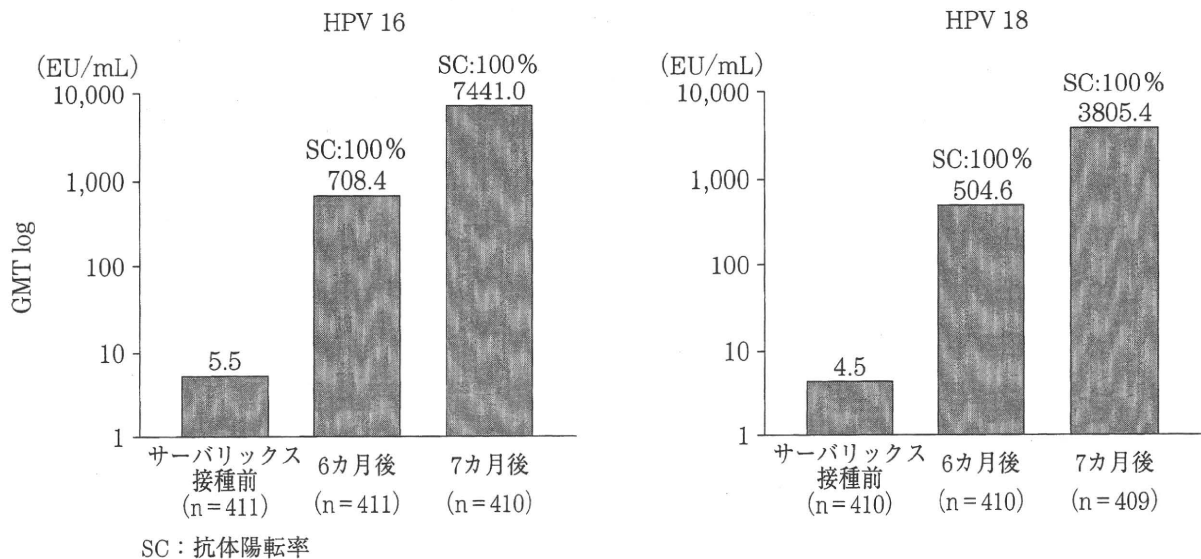


図1 HPV ワクチン接種後の抗体価・抗体陽転率²⁾

表2 HPV 2 価ワクチン接種後4年間の HPV16型・18型に起因する前がん状態予防効果⁷⁾

HPV-008 試験

対象群	ワクチン群 (症例数)	対照群 (症例数)	ワクチンの有効性 (96.1% CI)	p 値
TVC-Naïve 初交前の女兒を想定	1/5,449	63/5,436	98.4% (90.4-100.0)	<0.0001
ATP-E 性交経験がある女性を含む 一般女性を想定 全員3回接種	1/7,344	53/7,312	98.1% (88.4-100.0)	<0.0001
TVC-E 性交経験がある女性を含む 一般女性を想定 3回未満接種者も含む	2/8,040	87/8,080	97.7% (91.0-99.8)	<0.0001

形成したのはワクチン接種例が2/8,040例(0.02%)、非接種例が87/8,080例(1.1%)であった。ワクチン接種群では明らかに低率で、ワクチンの有効率は接種前の性交経験にかかわらず約98%であった(表2)。前ガン病変の原因ウイルスを限定しない場合には、初交前の例ではワクチン接種例が33/5,449例(0.6%)、非接種例が110/5,436例(2.0%)で70%の有効率、性交経験例を含む一般女性では接種例が81/8,602例(0.9%)、非接種例が192/8,621例(2.2%)で58%の有効率であった(表3)。接種後4年間の観察では2回

接種でも十分な予防効果が観察された⁵⁾。

以上のデータから、HPV ワクチンは初交前の接種がより有効であり、米国のように11~12歳の女子に接種する(図2)のが最も効果的であろうが、すでに HPV 感染が成立している可能性がある成人に対しても、その後の感染を予防することで十分な効果が期待できるといえることが分かる。わが国では、11~14歳の接種を推奨しているが、将来的には「小学校卒業前に HPV ワクチン接種」あるいは「中学校入学のお祝いに HPV ワクチン接種」のように接種推奨期間を短縮した方

表3 4年後の CIN 2 病変出現頻度⁷⁾

HPV-008 試験

対象群	ワクチン群 (症例数)	対照群 (症例数)	ワクチンの有効性 (96.1% CI)	p 値
TVC-Naïve 初交前の女兒を想定	33/5,449	110/5,436	70.2% (54.7-80.9)	<0.0001
ATP-E 性交経験がある女性を含む 一般女性を想定 全員 3 回接種	54/7,863	142/7,853	61.9% (46.7-73.2)	<0.0001
TVC-E 性交経験がある女性を含む 一般女性を想定 3 回未満接種者も含む	81/8,602	192/8,621	57.8% (44.2-68.3)	<0.0001

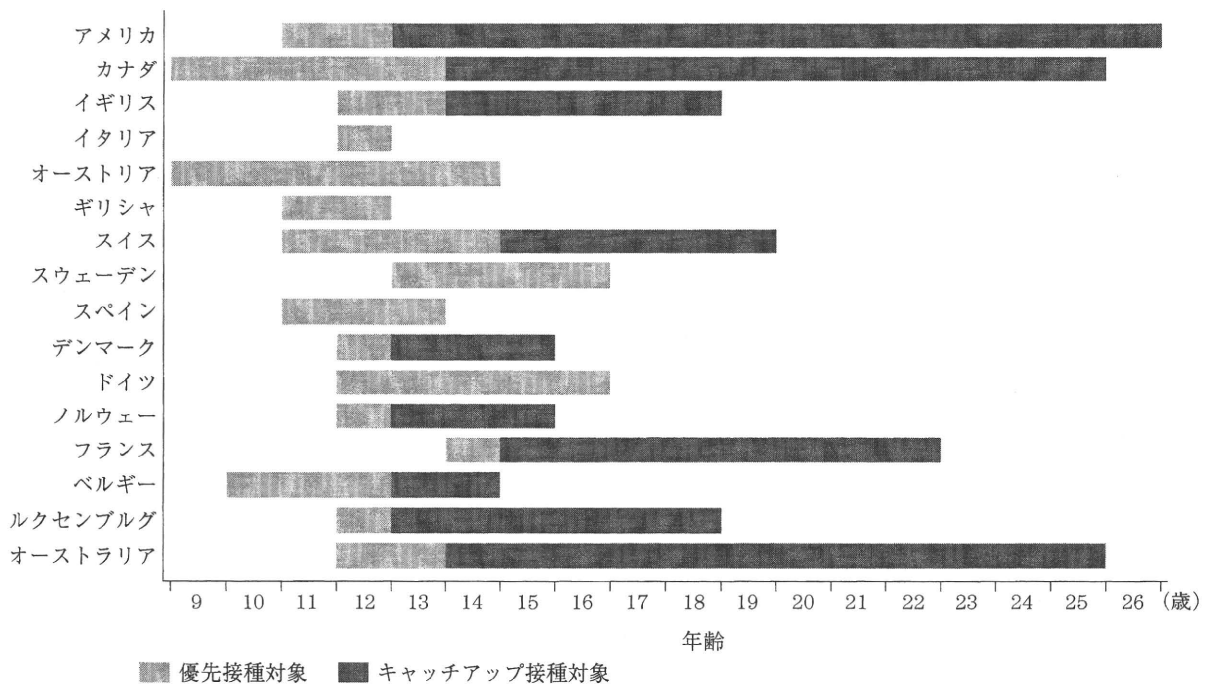


図2 各国の HPV ワクチン接種年齢⁶⁾

が、接種に対する意識が高まるのではないだろうか。

IV. わが国の予防接種率はなぜ低い？

わが国のワクチン接種率は定期接種ワクチンでさえも90%程度に止まり、95%にはなかなか届いていない。そのことが、わが国の麻疹コントロールを困難にし、いまだに麻疹の

発生数が多い理由である。任意接種ワクチンにいたっては目を覆うばかりの低い接種率であり、対策の必要性が叫ばれて久しい。

そこで、わが国のワクチン接種率が低い理由の考察を試みた(表4)。わが国は、農業国で島国である。外国から国土を蹂躪されたのは第2次世界大戦が初めてである。村社会の長、あるいはお上の指示に従って集団の安全を保ってきた歴史的事実が、DNA にまで

表4 わが国の予防接種率はなぜ低い？

<ul style="list-style-type: none"> ・自己責任の概念が未熟 —自分の健康は自分で、子どもは親が守る —健康向上には費用がかかる —副作用が怖い
<ul style="list-style-type: none"> ・仕事を休んでまで…？ —解雇される？ 収入減少？
<ul style="list-style-type: none"> ・学校を休ませてまで…？ —内申書に影響？ 受験勉強に不利？
<ul style="list-style-type: none"> ・教育と医療の協力体制が不十分 —医療は教育に口出し無用？

染みついている習慣と感じる程である。わが子の健康を守るのは国や医師ではなく親である、健康を守るためには経済的負担も必要である、医療・薬剤には一定の副作用が存在する、などへの強い拒否感があると感じられない。

次に、女性の社会進出によって、仕事を休んでまで子どもを病院に連れて行けない保護者が急増していることと、受験を有利に進めるために、学校を休ませてまで子どもを病院に連れて行くことへの抵抗感が著しく強い現実がある。子どもの病院受診を理由に仕事を休むと、保護者が著しく不利益を被ることさえ稀ではない。さらに、学校サイドと医療現場との意識に乖離があり、現状ではわが国のワクチン接種率の向上は実現困難であると言わざるをえない。

V. 少子化対策としてのワクチンの意義

前項の隘路を排除することが必要であろう。すなわち、わが国の国民に自己責任の概念を植え付けることが必須である。このような意識は、保育園、小学校時代からの教育によるしかなく、一世代の短期間で根を張ることは困難である。教育界の医療介入に対する抵抗感の強さを考慮すれば、スムーズに運ん

だとしても実現には数十年を要するのではないだろうか。

短期的効果を得るのは法律によるワクチン接種の義務化、無料化である。日本国民に染みついている「お上意識」が抜けきるには想像を絶する長時間を要することであろう。その間、無策のままに手をこまねいていれば、わが国の少子化はさらに拍車がかかり、数十年後には日本国内で日本人の子どもは少数派になっていることであろう。政府は「子ども手当」を育児支援の目玉にしている。子ども手当は、少子化の解決には効なき結果になるだろうが、すべてのワクチンの無料化は子ども手当の数分の1の金額で実現可能であろうし、法律による義務化を待たなくても90%程度の接種率が期待できるであろう。さらには、保育園の定員増、施設拡大、無料化も実施すれば、若い両親の育児不安は著しく軽減されると考えるのは筆者だけではないはずである。子どもを社会全体で育てるとはこのようなことではないだろうか。

高校の無料化、子ども手当では少子化対策にならないことは、ほぼすべての国民が分かっていることである。育児不安を軽減するには、乳幼児を育児中の親に対する精神的、物理的、空間的援助が必須である。義務教育（いわゆる学校教育ではない）の低年齢化を図り、親にできない育児、しつけを補助することに加え、愛着形成、社会性、共感性を涵養し、異年次の子ども社会を形成して子ども社会における自然発生的なルール作りなどを可能とすることなどが、将来この国を背負うべき子ども達を健全な成人に育てる素地、環境を整えることになるはずである。3歳から義務教育化する必要はないのであろうが、保育園・幼稚園を解体再構成し、勉強ではなく、小学校からの集団生活に必要なルール、習慣、社会性、交渉力、個人の能力の違いの認識力などを身につけるべき保育園で行われているような教育を希望者全員に行い、入園

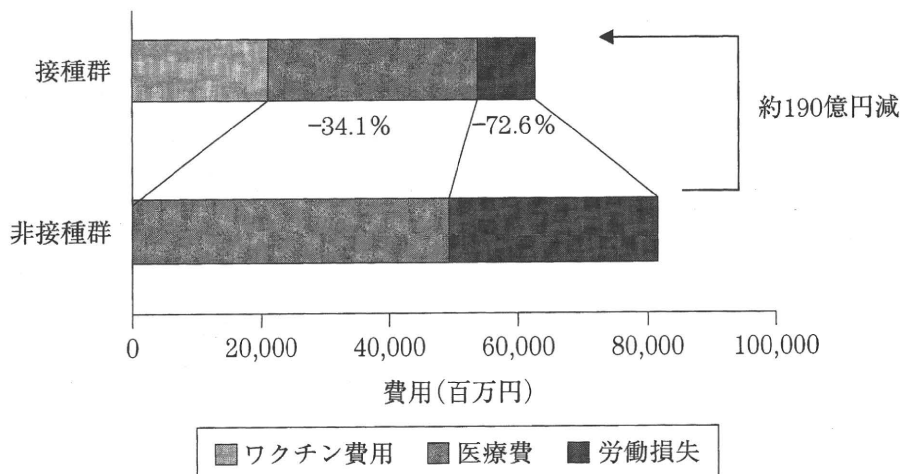


図3 予防ワクチン接種による社会的費用の変化⁸⁾

する3歳までに施設での感染対策としてワクチンを接種することを習慣づければ、MRワクチンの2期接種率も向上するであろう。

さらに、3種混合ワクチン(DPT)に加え、Hibワクチン、肺炎球菌ワクチンが生後6カ月までに接種されれば、小児科夜間診療所を受診する発熱患者の大半が、無治療で経過観察できる発熱として対応可能となる。化膿性髄膜炎などの重症細菌感染のリスクがなくなれば、脳炎・脳症などの一部のみが鑑別対象となり時間外受診が必要な患者は激減するはずである。そうなれば、乳幼児に対する夜間診療は特定機能病院などの当直医だけで対応可能となり、小児科医の業務は著しく軽減され、QOLが向上することは明白である。さらに、HPVワクチン、Hibワクチン、肺炎球菌ワクチン接種によって、子宮頸ガン、化膿性髄膜炎などの医療費が削減され、後遺症による福祉の負担や母親のガン罹患による家庭・子どもの不安抑制の効果、罹患者が健康であった場合の生産力など(図3)を考慮すれば、ワクチン接種は決して財政負担を増やすものではなく⁸⁾、財政難を解消しうる勝れた政策となることも明白である。

文 献

1) 岡部信彦監修：最新感染症ガイド R-Book2006,

日本小児医事出版社 p. 473~476, 2007

- 2) Konno R, Dobbelaere KO, Godeaux OO, Tamura S, Yoshikawa H : Immunogenicity, reactogenicity, and safety of human papillomavirus 16/18 AS04-adjuvanted vaccine in Japanese women : interim analysis of a phase II, double-blind, randomized controlled trial at month 7. *Int J Gynecol Cancer* 19 : 905~911, 2009
- 3) 神谷 齊, 奥谷まり絵 : 10~15歳の日本人健康女性を対象とした子宮頸癌予防ワクチン Cervarix (HPV-16/18 AS04アジュバントワクチン) の免疫原性と安全性の評価. *小児科臨床* 62 : 2451~2460, 2009
- 4) Keam SJ, Harper DM : Human papillomavirus types 16 and 18 vaccine (recombinant, AS04 adjuvanted, adsorbed) [Cervarix]. *Drugs* 68 : 359~372, 2008
- 5) David M-P, Hardt K, Tibaldi F, Dubin G, Descamps D, Van Herck K, Van Damme P : Modelling of long-term persistence of anti-HPV-16 and anti-HPV-18 antibodies induced by an AS04-adjuvanted cervical cancer vaccine. *EUROGIN* Nov 13 : 67, 2008
- 6) Wright, Jr TC : Current status of HPV vaccination recommendation. *HPV Today* 14 : 8~9, 2008
- 7) Paavonen J, Naud P, Salmerón J, Wheeler CM, Chow SN, Apter D, Kitchener H, Castellsague X, Teixeira JC, Skinner SR, Hedrick J, Jaisamrarn U, Limson G, Garland S, Szarewski A, Romanowski B, Aoki FY, Schwarz TF, Poppe WA, Bosch FX, Jenkins D, Hardt K, Zahaf T, Descamps D, Struyf F, Lehtinen M, Dubin G ; HPV PATRICIA Study Group, Greenacre M : Efficacy of human papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against cervical infection and precancer cau-

sed by oncogenic HPV types (PATRICIA) :
final analysis of a double-blind, randomised
study in young women. Lancet 374 : 301~
314, 2009

8) 今野 良, 笹川寿之, 福田 敬 : 日本人女性に
おける子宮頸癌予防ワクチンの費用効果分析.
産婦人科治療 97 : 530~542, 2008

学会案内

日本小児精神神経学会ホームページ :

<http://www.jsppn.jp/index.html>

【第104回日本小児精神神経学会】

会 長 : 橋本俊顕 (徳島赤十字ひのみね総合療育センター : 園長)

会 期 : 平成22年11月13日 (土曜) ~14日 (日曜)

会 場 : 徳島県郷土文化会館あわぎんホール <http://www.kyoubun.or.jp>

テーマ : これからの小児精神神経学 : バイオマーカーを求めて

第104回事務局長 : 森 健治

第104回事務局 : 〒770-8503 徳島県徳島市蔵本町3-18-15

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部発生発達医学講座小児医学分野

Fax : 088-631-8697

E-mail : moriken@clin.med.tokushima-u.ac.jp

【第105回日本小児精神神経学会】

会 長 : 遠藤太郎 (新潟大学大学院医歯学総合研究科精神医学分野 : 助教)

会 期 : 平成23年6月18日 (土曜) ~19日 (日曜)

会 場 : 朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター <http://www.tokimesse.com/>

第105回事務局長 : 田村 立

第105回事務局 : 〒951-8510 新潟市旭町通1-757

新潟大学医歯学総合研究科精神医学分野

FAX 025-227-0777

E-mail : 105jsppn@gmail.com

【第106回日本小児精神神経学会】

会 長 : 山崎知克 (浜松市発達医療総合福祉センター : センター長)

会 期 : 平成23年11月26日 (土曜) ~27日 (日曜)

会 場 : アクトシティ浜松 中ホール <http://www.actcity.jp>

(〒432-8023 静岡県浜松市中区鴨江2丁目11-1)

第106回事務局長 : 内山 敏

第106回事務局 : 〒434-0023 静岡県浜松市浜北区高菌775-1

浜松市発達医療総合福祉センター

Fax 053-586-8808

E-mail : jsppn106@gmail.com

ロタウイルス

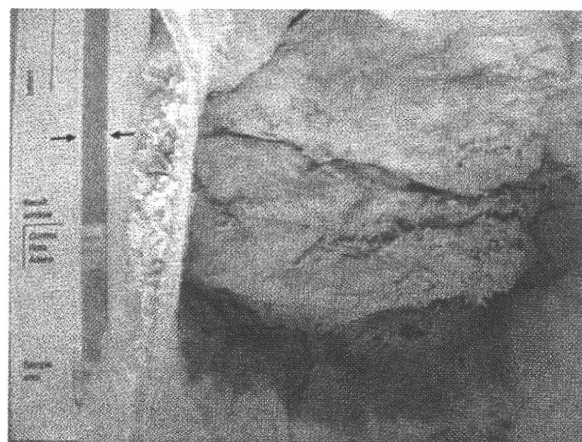
前田 明彦・藤枝 幹也・脇口 宏

異常値の出るメカニズムと臨床的意義

ロタウイルスはレオウイルス科の二本鎖RNAウイルスであり、白色ないし黄白色の下痢を特徴とする胃腸炎を起こす。従来は1~2月に流行し、冬季の嘔吐下痢であったが、近年、4~5月の春の感染症に変わってきている。潜伏期間は1~3日で糞口感染する。

5歳までにほとんどの子どもが感染する。生涯免疫ではなく、何度でも感染は起きるが、初めての罹患が最も重症化しやすい。予備能の低い0~2歳児がロタウイルス胃腸炎に罹患すると容易に脱水を起こし、入院治療を要することも多い。稀に脳症の合併例も経験される。今なおわが国でも死亡例が報告されており、世界中で1年間に1億1千万人が罹患、200万人が入院し、44万人が死亡している。脱水の極期に腎前性腎不全を起こすことは一般的に認識されていたが、高尿酸血症から尿酸結石を合併し、極期を超えた時期に腎後性腎不全を起こす例があることが報告され、注目されている。

ウイルス性胃腸炎の原因としてほかにノロウイルス、アデノウイルス、サポウイルス、アストロウイルス、エンテロウイルスなどがあり、食餌療法や脱水への対応は同様であるが、嘔吐と下痢の程度では、ロタウイルスが最も重症な病像を呈する。近年、便を用いた迅速抗原診断(イムノクロマト法)が汎用されるようになり、



【図1】ロタウイルス腸炎の白色便と迅速診断

ウイルス特異的診断が可能となった。流行時には臨床症状と特徴的な便性状(図1)から診断は容易であるが、伝染力がきわめて強いので、入院患者の感染管理などの目的でも病原性診断は重要である。

ロタウイルスはA~G群に分類され、ヒトにはA, B, C群が感染する。わが国ではA群が多い。さらにA群ロタウイルスは構造蛋白VP7の抗原性により、G血清型1~14型に型別される。わが国ではG1~G4が流行の主流であったが、近年G9株やG12株の割合が増加していると報告されており、今後の動向に注意が必要である。長年、ロタウイルスは腸管に限局した感染症と考えられてきたが、最近の研究でウイルス血症を起こすことが証明された。

臨床上の重要性と選択

■迅速抗原検査(イムノクロマト法)

便を用いてウイルス抗原を抗原・抗体反応で検出する方法で、10～15分で結果が判明する。下痢が始まっている患者では、直腸スワブを検体とした場合でも、便とほぼ同等の有用性がある。感度・特異度ともに優れているが、A群ロタウイルス特異的な抗体を使用しているため、B群、C群のロタウイルスは検出できない。

■RT-PCR(reverse transcription polymerase chain reaction)法

便検体中のウイルス特異的RNAを検出する方法である。用いるプライマーによりA・B・C群の判別も可能であり、また、A群のG血清型判別も可能である。したがって、疫学調査には有意義である。イムノクロマト法よりも感度が高いが、検査に時間がかかり、特殊な設備も必要である。

■ウイルス分離

サル腎細胞 MA104 やヒト結腸癌細胞 Coco2 を用いれば可能であるが、時間と労力が必要なため、一般的ではない。

■検体採取、輸送、保存上の注意点

便検体は1gほどを通常の便容器に入れて-20～-30℃に冷凍保存することが可能である。

正常と異常の判断

イムノクロマト法ではコントロールラインが陽性となった場合に検査が有効として結果判定を行う。B群、C群ウイルスは検出できないので偽陰性となる点に注意する。

検査費用と保険請求

イムノクロマト法は保険適応(75点)である。

予防

経口生ワクチン(メルク社, RotaTeq[®])が2007年から、米国で乳児を対象に接種が開始され、効果を上げている。先発(1998年)のワイス社, RotaShield[®]は腸重積を増加させたため失格となったが、RotaTeq[®]は腸重積の副作用はなく、有効性が示された¹⁾。このワクチンは血清型G1～G4ウイルスに有効であり、わが国でも、近い将来、導入が期待されている。

文献

- 1) Vesikari T, et al : Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. N Engl J Med 354 : 23-33, 2006



Original Article

Diagnosis of infectious mononucleosis caused by Epstein–Barr virus in infants

Sumitaka Dohno, Akihiko Maeda, Yoshihito Ishiura, Tetsuya Sato, Mikiya Fujieda and Hiroshi Wakiguchi

Department of Pediatrics, Kochi Medical School, National University Corporation Kochi University, Okoh-cho, Nankoku, Japan

Abstract *Background:* The diagnosis of infectious mononucleosis (IM) is usually on serologic tests. The responses of anti-Epstein–Barr virus (anti-EBV) antibodies are weak in infants. The authors encountered some IM infants in whom anti-EBV antibodies were undetectable during early stage, although EBV genome was found in their blood. The aim of the present study was therefore to clarify the frequency of anti-EBV-antibody negative IM cases.

Methods: The EBV serostatus of 104 IM children diagnosed on Sumaya criteria was retrospectively studied. The EBV genome in peripheral blood mononuclear cells was measured.

Results: The anti-viral capsid antigen-IgM (anti-VCA-IgM)-positive rate in the acute phase was only 25% in infants but 80% in patients ≥ 4 years of age. Twenty percent of the infants were negative for all anti-EBV antibodies and required repeated serologic tests. For infants, the significant rise in anti-VCA-IgG was the most sensitive marker. Three seronegative infants with IM symptoms, with circulating EBV genome during acute phase, were eventually considered as having IM on anti-VCA-IgG seroconversion thereafter.

Conclusions: To diagnose IM in infants the serologic test alone in the acute phase is not sensitive enough. It is proposed that the EBV genome be evaluated in peripheral blood mononuclear cells when infants presenting with IM symptoms are negative for anti-EBV antibodies during the acute phase.

Key words antibody, Epstein–Barr virus, infant, infectious mononucleosis, virus load.

Epstein–Barr virus (EBV) is ubiquitous in the human population, with most individuals being infected by early adulthood. Primary EBV infection is usually asymptomatic, but some children and, more often, approximately half of adolescents and young adults develop infectious mononucleosis (IM), which resolves spontaneously after the emergence of EBV-specific immunity.¹

Sumaya and Ench described clinical and general laboratory findings of IM in children.² Most of the primary EBV infections in infants, however, are mild or subclinical,^{3,4} and other pathogens such as cytomegalovirus, HIV and toxoplasma also produce similar clinical and laboratory findings.⁵ Therefore, reliable serologic tests are important for making a definitive diagnosis.

Henle *et al.* clarified the EBV-specific serologic criteria for diagnosing an acute primary EBV infection,⁶ as described in the Sumaya and Ench study.² Anti-viral capsid antigen (anti-VCA) IgM antibody, however, quickly disappears,⁷ and false-positive IgM reactions occur due to cross-reactivity with other recent infections.⁸ With regard to anti-EBV nuclear antigen

(anti-EBNA) antibody, 7% of children have detectable anti-EBNA antibodies within 2 weeks after primary EBV infection.⁷ Anti-early antigen (anti-EA) IgG was detected in only 60% of infants with anti-VCA-IgG seroconversion, and 12% of infants were found to have anti-EA-IgG delayed by 4 months.⁹ This variability of serologic findings complicates the diagnosis of IM, especially in children.

Molecular techniques have advanced and detection of the EBV genome has now become available, along with serologic tests. EBV-DNA is detectable in peripheral blood lymphocytes in 54–94% of EBV-seropositive healthy subjects on polymerase chain reaction (PCR).^{10,11} Detection of cell-free virus DNA in serum is suggested to be useful for the diagnosis of primary EBV infection,^{8,12} but it is also detectable in reactivated EBV infections such as chronic active EBV infection and post-transplant lymphoproliferative disease.

The purpose of the present study was to evaluate the rate of VCA-IgM- and/or VCA-IgG-negative Japanese patients during the acute phase of IM. We encountered three patients compatible with IM who had the EBV genome in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) despite the absence of anti-EBV antibodies in the acute phase of the illness. These cases prompted us to review the EBV serostatus of Japanese children with IM, diagnosed according to the Sumaya criteria, and analyze the relationship between age and antibody titers against EBV.

Correspondence: Akihiko Maeda, MD, Department of Pediatrics, Kochi Medical School, National University Corporation Kochi University, Kohasu, Okoh-cho, Nankoku 783-8505, Japan. Email: maedaa@kochi-u.ac.jp

Received 15 March 2009; revised 6 December 2009; accepted 28 December 2009.

Methods

Patients and specimens

We reviewed the clinical records of 104 Japanese children with EBV-IM at the Department of Pediatrics, Kochi Medical School Hospital, during the 15 years from 1988 through 2003. Diagnosis of EBV-IM was based on Sumaya criteria. The patients ranged in age from 2 months to 13 years. EBV serology was performed using a commercially based laboratory immunofluorescence assay (IF; SRL, Hachioji City, Japan). Anti-EBV antibodies were regarded as positive when the titer was $\geq 1 : 10$. Association with other pathogens including cytomegalovirus, toxoplasma, adenovirus, HIV and *streptococcus pyogenes* was routinely ruled out. PBMC were collected from 35 patients during the acute phase of the illness for the measurement of EBV genome. Serum samples were obtained during different phases after onset: acute phase, ≤ 3 weeks; convalescence, 4–8 weeks; late phase, 9–28 weeks; and very late phase, ≥ 29 weeks after disease onset. We compared anti-EBV antibody titers among four age groups: 0–11 months, 12–23 months, 24–47 months, and ≥ 4 years old. The study was approved by the institutional ethics committee of Kochi Medical School.

Semi-quantitative polymerase chain reaction

Peripheral blood mononuclear cells were isolated on ficoll-hypaque from heparinized peripheral blood. DNA was extracted with phenol-chloroform-ethanol precipitation. The extracted DNA was quantified using a spectrophotometer, adjusted to 0.25 g/L DNA, and used as the PCR template. A nested PCR assay was done to amplify the conserved region encoding gp220 (within the BamHI-L fragment), and Southern blotting was used to confirm specificity, using the BamHI-L fragment as a probe. The quantity of EBV-DNA in PBMC was determined in a limiting dilution experiment as described previously.¹³ The minimal limit for the positive result was converted into the virus load (copies/ μ g DNA from PBMC). One μ g DNA corresponds to 2.5×10^5 PBMC approximately.

Quantitative real-time polymerase chain reaction

DNA was extracted from PBMC using the FlexiGene DNA Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's instructions. The PCR assay was performed in a 20 μ L reaction mixture containing EBV Latent Membrane Protein1 (LMP1) specific primers 5'-GTTGATCTCCTTTGGCTCCTC-3' (genome coordinates 168358–168338) and 5'-GTGTCTGCCCTCGTTGG-3' (genome coordinates 168191–168207) and fluorogenic probes (5'-TGATGAACA CCACCACGATGACTCC-3'-FITC (168287–168263) and LC Red 640-5'-TCCCGCACCCTCAACAAGCTAC-3' (168261–168240)) using the QuantiTect Probe PCR (Qiagen) for fluorescence resonance energy transfer-based detection. The EBV-positive Burkitt lymphoma cell line Namalva, which contains a single copy of the EBV genome per cell, was used as a positive control. The β -globin gene was used as an internal control. The standards were prepared with a plasmid containing LMP1 and β -globin. The PCR reaction was performed for 40 cycles using a

Table 1 Serum anti-EBV-VCA antibodies during acute-phase of IM (at first consultation) vs patient age

Patient age (years)	anti-VCA IgM n (%)	anti-VCA IgG n (%)
<1	6/24 (25.0)	19/24 (79.2)
1	9/23 (39.1)	20/23 (87.0)
2–3	11/17 (64.7)	17/17 (100)
≥ 4	32/40 (80.0)	40/40 (100)

EBV, Epstein–Barr virus; IM, infectious mononucleosis; VCA, viral capsid antigen.

LightCycler quick system 350S, and the data were analyzed using LightCycler software ver3.5 (Roche, Basel, Switzerland). The virus load was expressed as copies/ μ g DNA from PBMC.

Statistical analysis

The geometric mean titers (GMT) of IF antibody were compared between each pair of age groups on non-parametric Mann–Whitney *U*-test. IF titer $< 1 : 10$ was considered to be 1 for data analysis. The χ^2 test, Yates χ^2 test, and Fisher exact probability test were used, as appropriate, to compare the rates of infants developing positive IF antibody titer ($\geq 1 : 10$) among groups. $P < 0.05$ was considered to be statistically significant in all analyses. Statistical analysis was performed using a statistical program file, Stata (version 8.0; StataCorp, College Station, TX, USA).

Results

Anti-VCA IgM in IM patients

Anti-VCA-IgM-positive rates in the acute phase of IM were compared among the age groups (Table 1). Anti-VCA IgM antibody was measured at the first consultation ≤ 3 weeks after onset (acute phase of IM). The disease onset was defined as the appearance of fever. The positive rates increased with age, that is, in patients < 1 year old (infants), in 1-year-old patients, in 2–3-year-old children, and in children ≥ 4 years of age, in the acute phase were 25.0%, 39.1%, 64.7% and 80.0%, respectively. There were significant differences in VCA-IgM-positive rates, as indicated in Table 1, between the patients < 1 year old and ≥ 1 year of age ($P < 0.01$), between those < 2 years old versus ≥ 2 years old ($P < 0.01$), between patients < 4 years of age and ≥ 4 years old ($P < 0.01$), and also between patients < 1 year old and ≥ 4 years old ($P < 0.01$), and the 1-year-old patients and patients ≥ 4 years of age ($P < 0.01$). The GMT for VCA-IgM of patients < 1 year old was $1.29 \pm 0.55 \log_2$ units and those of patients > 4 years of age was $2.7 \pm 1.26 \log_2$ units. The difference was statistically significant ($P < 0.01$). In most patients, VCA-IgM had become negative by 8 weeks after the onset of IM, and all cases were negative at 29 weeks (data not shown). Serum VCA-IgM, which yields conclusive information in the diagnosis of IM, was relatively low in titers and was less sensitive in younger patients.

Anti-VCA IgG in IM patients

Positive rates for anti-VCA IgG during the acute phase of IM in different age groups are listed in Table 1. Anti-VCA IgG antibody was measured at the first consultation ≤ 3 weeks after the

Table 2 Serum anti-EA IgG antibody vs IM onset stage and patient age

Patient age (years)	Onset–3 weeks <i>n</i> (%)	4–8 weeks <i>n</i> (%)	9–28 weeks <i>n</i> (%)	≥29 weeks <i>n</i> (%)
<1	0/22 (0)	0/17 (0)	1/17 (5.82)	1/7 (14.3)
1	4/22 (18.1)	3/14 (21.4)	5/15 (33.3)	2/11 (18.2)
2–3	4/17 (23.5)	7/11 (63.6)	5/11 (45.5)	3/7 (42.9)
≥4	19/30 (63.3)	12/27 (44.4)	16/34 (47.1)	6/16 (37.5)

EA, early antigen; IM, infectious mononucleosis.

onset (acute phase of IM). In 92.3% of patients with IM, serum anti-VCA IgG was positive during the acute phase. The anti-VCA-IgG positive rates of the patients <1 year old and 1-year-old patients, during the acute phase, were 79.2% and 87.0%, respectively, and the remaining young patients with negative VCA-IgG required repeated serology. All of the IM patients ≥2 years of age had positive anti-VCA-IgG during the acute phase. There was a significant difference in the anti-VCA-IgG-positive rates between patients <1 year old and those ≥4 years of age ($P < 0.05$). The GMT for VCA-IgG of infants with IM ($3.46 \pm 1.82 \log_2$ units) during the acute phase were significantly lower than those of patients ≥4 years of age ($6.35 \pm 1.76 \log_2$ units; $P < 0.01$). Whereas the VCA-IgG titer had already peaked in the acute phase of IM in patients ≥4 years of age, it increased over time in the patients <1 year old and in patients 12–47 months old (data not shown). Fourfold or greater anti-VCA-IgG titer rises in paired sera contributed to the diagnosis of IM in 73.7% of patients <1 year old, in 50.0% of 1-year-old patients, and in 33.3% of 2–3 year-old patients, but in only 5.9% of patients ≥4 years of age.

Anti-EA IgG in IM patients

Positive rates of serum anti-EA-IgG antibodies at different stages after onset are given in Table 2. Anti-EA IgG was tested in different stages; ≤3 weeks, at 4–8 weeks, at 9–28 weeks, and ≥29 weeks since IM onset. The anti-EA-IgG positive rate in patients <1 year old, 1-year-old patients, 24–47-month-old patients, and those ≥4 years of age in the acute phase were 0%, 18.1%, 23.5% and 63.3%, respectively. Approximately 40% of patients older than 2 years of age were positive for anti-EA IgG for at least 29 weeks of illness.

Anti-EBNA antibody in IM patients

The positive rates of serum anti-EBNA antibody in different stages after IM onset are listed in Table 3. In more than half of the

patients, anti-EBNA antibody seroconversion occurred 9–28 weeks after the onset of IM and no significant age-dependent difference was noted. In the very late phase (≥29 weeks after the onset), approximately 20% of the patients remained negative for anti-EBNA antibody. The anti-EBNA-antibody titers peaked later than 29 weeks after the onset, and were distributed between <1 : 10 and 1 : 160. The median titer in this very late phase was 1 : 40 in all age groups (data not shown).

EBV loads in PBMC

Peripheral blood mononuclear cells were collected during the acute phase of illness from 35 patients who were serologically defined as having IM. EBV genome was detectable in all the PBMC samples (Fig. 1). Their EBV loads ranged from 6.9×10^1 to 5.6×10^4 copies/μg DNA measured quantitatively on real-time PCR ($n = 15$) and from 10^2 to 10^5 copies/μg DNA on semi-quantitative PCR using the limiting dilution method ($n = 20$). No correlation was found between EBV load and patient age or any of the EBV-specific antibodies titers (data not shown).

EBV seronegativity during the acute phase

Eight IM patients were negative for all serum antibodies to EBV at the time of presentation, while all three patients tested were positive for the EBV genome in PBMC during the seronegative phase. The remaining five patients failed to be tested for EBV genome due to the lack of available PBMC. The diagnosis was thereafter confirmed by seroconversion of anti-VCA-IgG in all eight patients. The data of the three patients whose PBMC were evaluated for EBV genome are summarized in Table 4. The EBV genomes were detectable in PBMC using quantitative (patient 2) and semiquantitative PCR (patients 1 and 3), while a panel of anti-EBV antibodies yielded negative results in the acute phase in all patients (on the 28th day in patient 1, 11th day in patient 2, and the ninth day in patient 3 after onset,

Table 3 Serum anti-EBNA antibody vs IM onset stage and patient age

Patient age (years)	Onset–3 weeks <i>n</i> (%)	4–8 weeks <i>n</i> (%)	9–28 weeks <i>n</i> (%)	≥29 weeks <i>n</i> (%)
<1	0/24 (0)	2/17 (11.8)	10/16 (62.5)	7/8 (87.5)
1	1/23 (4.3)	1/13 (7.7)	9/17 (52.9)	11/12 (91.7)
2–3	1/17 (5.9)	0/9 (0)	7/12 (58.3)	6/7 (85.7)
≥4	0/40 (0)	3/28 (10.7)	14/34 (41.2)	11/17 (64.7)

EBNA, Epstein–Barr virus nuclear antigen; IM, infectious mononucleosis.

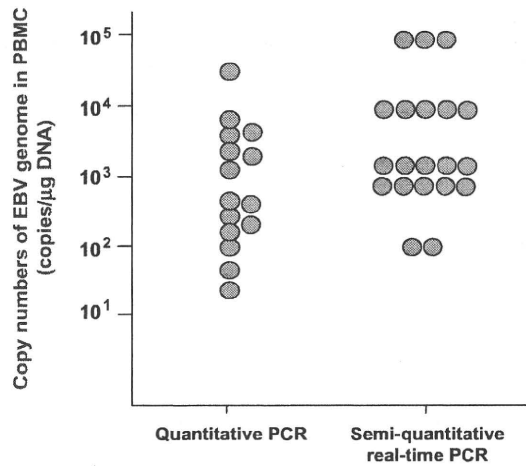


Fig. 1 Copy numbers of Epstein–Barr virus (EBV) genome in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) collected from infectious mononucleosis patients. PCR, polymerase chain reaction.

respectively). The EBV serostatus determination was followed by seroconversion of anti-VCA-IgG, confirmed on the 42nd day in patient 1, 36th day in patient 2 and 15th day of illness in patient 3, respectively, leading to a definitive diagnosis of EBV primary infection. All of the patients recovered without residual disease.

Discussion

Sumaya and Ench commented on EBV serodiagnosis for IM in infants and children,^{7,14} and the present data were largely consistent with those findings. Anti-VCA-IgM lasted only 1–2 months. There were, however, many problems in the diagnosis of infantile IM. Many patients with IM had negative results for anti-VCA-IgM in the acute phase. The EA antibody was positive in only 30% of patients with IM, and was often detectable for many months following the onset of IM. Significant (\geq fourfold) rises in VCA-IgG and EA-IgG titers were not usually recognized during the acute primary infection because these antibody titers generally have already peaked in the acute phase, although these antibody titers were very low in patients <1 year old. Both the positive rate and titer of the anti-VCA-IgG, -IgM, and anti-EA IgG showed a clear age dependence.

In the present study we re-evaluated the serologic requirements described in the Sumaya diagnostic criteria for IM in

childhood² by reviewing the present patient series, in an effort to identify more accurate criteria for very young patients during the acute phase. Although there are previous longitudinal analyses dealing with the clinical and serological findings of infantile EBV IM,^{3,4,9} those studies included only a small number of symptomatic cases showing seroconversion. We studied 104 IM patients including 47 0–1-year-old patients, and found lower positive rates for VCA-IgM and anti-VCA-IgG in 0–1-year-old patients.

We evaluated the diagnostic value of the Sumaya serologic criteria,² that is, anti-VCA IgM and anti-VCA IgG in the acute–convalescent phases. The present data show that one can underdiagnose IM when the Sumaya criteria are applied to patients <1 year old and 1-year-old patients. The anti-VCA IgM positive rate in the acute phase was only 25.0% in the IM infants, while being 80% in patients \geq 4 years of age. In the acute phase of IM, 20.8% of the infants were negative for all anti-EBV antibodies including anti-VCA-IgG, and required repeated serological tests for diagnosis. Importantly, even if acute phase serum lacks anti-EBV antibodies, one cannot rule out the diagnosis of IM. For younger patients <1 year old, the criterion of a \geq fourfold rise in anti-VCA IgG during the disease course, was clearly most useful for diagnosis while IgM was less useful, indicating that, in these cases, repeated blood examinations are necessary. In contrast, for patients \geq 2 years old, the early detection of VCA-IgM criterion was most useful. Anti-EA antibody as well as anti-VCA-IgM/IgG had lower positive rates and lower titers in younger patients. These results might be due to the relatively weak antibody responses in infants and young children compared with those in older patients.

Detection of cell-free EBV-DNA in serum is reportedly of diagnostic value for primary EBV infection.^{8,12,15} Yamamoto *et al.* described the EBV-DNA positive ratio in IM patient sera as being 100% during the acute phase, decreasing to 44% in the convalescent phase, whereas no EBV-DNA was detected in either EBV-seropositive or EBV-seronegative healthy individuals.¹⁶ Stevens *et al.*, however, stated that sera were not desirable specimens for EBV-DNA load monitoring because it was impossible to distinguish cell-free virus genomes from DNA originating from uncontrolled cell lysis, which might lead to non-reproducible results or overestimation of the DNA load.¹⁷ B lymphocytes are obviously the major target cell of EBV infection not only in lytic infection but also in latent infection. We previously showed that not only in IM patients, but also in 47% of healthy children, the EBV genome was detectable in PBMC. In contrast, none of the asymptomatic EBV-seronegative children was shown

Table 4 Acute-phase EBV-seronegative IM patient data ($n = 3$)

Patient	Sex	Age (months)	EBV-DNA loads in PBMC (copies/ μ gDNA)		Seroconversion (days after onset)	Atypical lymphocytes (μ L)	
			First consultation (days after onset)	Peak (days after onset)		First consultation (days after onset)	Peak (days after onset)
1	M	6	10^4 (28)	10^4 (28,42)	42	2934 (28)	2934 (28)
2	M	8	3.6×10^2 (11)	5.0×10^2 (65)	36	1146 (11)	1146 (11)
3	F	12	10^2 (9)	10^3 (19)	15	1494 (9)	2960 (15)

EBNA, Epstein–Barr virus nuclear antigen; EBV, Epstein–Barr virus; IM, infectious mononucleosis; PBMC, peripheral blood mononuclear cells.

to carry EBV genome in PBMC.¹³ With regard to the detection methods, the loop-mediated isothermal amplification method has been recently reported to be a new and quick method that can be used as a substitution for PCR assay, and is available for the detection of EBV genome.¹⁸ Because our previous study documented the usefulness of a PCR method for virus load detection in PBMC,¹³ the present analysis utilized the PCR method and detected EBV loads in PBMC. As a result, all the serologically defined IM patients tested were proven to carry detectable EBV genome in PBMC.

We encountered three patients with IM, who were EBV-genome positive and seronegative during the acute phase. Follow-up serological tests confirmed anti-VCA-IgG seroconversion and the definite diagnosis of IM on the 42nd, 36th and 15th days of illness, respectively. It is conceivable that the diagnosis of IM during the window period when EBV-specific antibodies remain undetectable could be compensated for by the detection of circulating EBV genome in the acute phase of IM. The weak and delayed antibody production in infants may be due to their immunological immaturity.

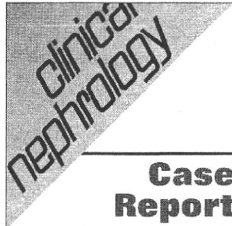
Herein, we propose a criterion that serves as a useful diagnostic supplement in serologically indeterminate EBV infections. We believe that adding "presence of the EBV genome in PBMC during the acute phase in anti-EBV-antibody-negative patients" to the criteria would increase diagnostic sensitivity, particularly for infants and young children with IM-like features.

Acknowledgments

The authors thank Ms Ai Uchida-Kitamura and Ms Sachi Takemoto for their skillful technical assistance.

References

- Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. *N. Engl. J. Med.* 2000; **343**: 481–92.
- Sumaya CV, Ench Y. Epstein-Barr virus infectious mononucleosis in children. I. Clinical and general laboratory findings. *Pediatrics* 1985; **75**: 1003–10.
- Biggar RJ, Henle G, Böcker J, Lennette ET, Fleisher G, Henle W. Primary Epstein-Barr virus infections in African infants. II. Clinical and serological observations during seroconversion. *Int. J. Cancer* 1978; **22**: 244–50.
- Fleisher G, Henle W, Henle G, Lennette ET, Biggar RJ. Primary infection with Epstein-Barr virus in infants in the United States: Clinical and serologic observations. *J. Infect. Dis.* 1979; **139**: 553–8.
- Evans AS. Infectious mononucleosis and other mono-like syndromes. *N. Engl. J. Med.* 1972; **286**: 836–8.
- Henle W, Henle GE, Horwitz CA. Epstein-Barr virus specific diagnostic tests in infectious mononucleosis. *Hum. Pathol.* 1974; **5**: 551–65.
- Sumaya CV, Ench Y. Epstein-Barr virus infectious mononucleosis in children. II. Heterophil antibody and viral-specific responses. *Pediatrics* 1985; **75**: 1011–19.
- Chan KH, Ng MH, Seto WH, Peiris JS. Epstein-Barr virus (EBV) DNA in sera of patients with primary EBV infection. *J. Clin. Microbiol.* 2001; **39**: 4152–4.
- Chan KH, Tam JS, Peiris JS, Seto WH, Ng MH. Epstein-Barr virus (EBV) infection in infancy. *J. Clin. Virol.* 2001; **21**: 57–62.
- Wagner HJ, Bein G, Bitsch A, Kirchner H. Detection and quantification of latently infected B lymphocytes in Epstein-Barr virus-seropositive, healthy individuals by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 1992; **30**: 2826–9.
- Gopal MR, Thomson BJ, Fox J, Tedder RS, Honess RW. Detection by PCR of HHV-6 and EBV DNA in blood and oropharynx of healthy adults and HIV-seropositives. *Lancet* 1990; **335**: 1598–9.
- Pitetti RD, Laus S, Wadowsky RM. Clinical evaluation of a quantitative real time polymerase chain reaction assay for diagnosis of primary Epstein-Barr virus infection in children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2003; **22**: 736–9.
- Maeda A, Wakiguchi H, Yokoyama W, Hisakawa H, Tomoda T, Kurashige T. Persistently high Epstein-Barr virus (EBV) loads in peripheral blood lymphocytes from patients with chronic active EBV infection. *J. Infect. Dis.* 1999; **179**: 1012–15.
- Sumaya CV. Epstein-Barr virus serologic testing: Diagnostic indications and interpretations. *Pediatr. Infect. Dis.* 1986; **5**: 337–42.
- Bauer CC, Aberle SW, Popow-Kraupp T, Kapitan M, Hofmann H, Puchhammer-Stöckl E. Serum Epstein-Barr virus DNA load in primary Epstein-Barr virus infection. *J. Med. Virol.* 2005; **75**: 54–8.
- Yamamoto M, Kimura H, Hironaka T *et al.* Detection and quantification of virus DNA in plasma of patients with Epstein-Barr virus-associated diseases. *J. Clin. Microbiol.* 1995; **33**: 1765–8.
- Stevens SJ, Pronk I, Middeldorp JM. Toward standardization of Epstein-Barr virus DNA load monitoring: Unfractionated whole blood as preferred clinical specimen. *J. Clin. Microbiol.* 2001; **39**: 1211–16.
- Iwata S, Shibata Y, Kawada J *et al.* Rapid detection of Epstein-Barr virus DNA by loop-mediated isothermal amplification method. *J. Clin. Virol.* 2006; **37**: 128–33.



Four cases of postrenal renal failure induced by renal stone associated with rotavirus infection

T. Morita¹, A. Ashida², M. Fujieda¹, A. Hayashi¹, A. Maeda¹, K. Ohta³, M. Shimizu³, T. Sekine⁴, T. Igarashi⁴, H. Tamai² and H. Wakiguchi¹

¹Department of Pediatrics, Kochi Medical School, Kochi University, Kochi,

²Department of Pediatrics, Osaka Medical College, Osaka,

³Department of Pediatrics, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University, Kanazawa, and ⁴Department of Pediatrics,

Graduate School of Medical Science, the University of Tokyo, Tokyo, Japan

©2010 Dustri-Verlag Dr. K. Feistle
ISSN 0301-0430

Key words

rotavirus infection –
uroammoniac calculi –
uric acid transporter –
postrenal renal failure

Abstract. Rotavirus (RV) is a common pathogen that causes acute gastroenteritis in childhood. Some cases with RV infection also have prerenal renal failure induced by dehydration associated with vomiting and diarrhea. Here, we report 4 patients with RV infection who developed postrenal renal failure induced by urinary tract obstruction with uroammoniac calculi or crystals. The patients did not have metabolic disorders or abnormalities of the urinary tract, and increased urinary excretion of uric acid was not recognized at discharge. In addition, no abnormalities in the uric acid transporter (URAT1) were found in any of the patients. Uric acid stone formation was considered to have originated from the low pH caused by dehydration and the increase of urinary uric acid excretion from damaged cells.

Introduction

Rotavirus (RV) is a common pathogen that causes gastroenteritis in childhood. Patients often have vomiting, diarrhea and fever, and some develop severe dehydration and prerenal renal failure due to RV. We experienced four cases of RV infection in which the general condition worsened after hydration because of postrenal renal failure with urinary tract obstruction by uroammoniac stones or crystals. These patients did not have metabolic disorders, urinary tract infection, congenital urinary tract abnormalities, or uric acid transporter receptor 1 (URAT1) gene mutations [1, 2, 3]. Here, we report the clinical courses and discuss the possible mechanism of postrenal renal failure in RV infection.

Case report

Clinical and laboratory data for the 4 cases are given in Table 1, and findings in ultrasound scans of the kidney and abdominal computed tomography (CT) on admission are shown in Figure 1. RV antigen in the stool was positive in all cases. The patients had previously been healthy with no medical problems and no family history of metabolic disease. No URAT1 mutation was found in peripheral leukocytes in all cases.

Case 1

The patient was an 11-month-old boy with a 5-day history of vomiting and watery diarrhea who was initially treated at a local hospital. Severe vomiting and poor water intake continued and his level of consciousness worsened. He was admitted to hospital and hydrated. This resulted in improvement of consciousness, but oliguria persisted. Laboratory data showed increases in blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (Crn) and he was referred to our hospital because of acute renal failure. Crystals of uroammonia were found in urine, but fractional excretion of uric acid (UA) (FEUA) was not measured on admission. An ultrasound scan of the kidney showed bilateral hydronephrosis (Society for Fetal Urology (SFU) Grade I – II) without other anatomical abnormalities. No calculi were found in the ultrasound scan because of the small size of calculi, but abdominal CT demonstrated calculi in the bilateral urinary tract. When the size of the stone is

Received
March 19, 2009
accepted in revised form
May 8, 2009

Correspondence to
M. Fujieda, MD
Department of Pediatrics,
Kochi Medical School, Kochi University,
Kohasu, Oko-cho, Nankoku, Kochi
783-8505, Japan
fujiedam@kochi-u.ac.jp