

Epstein-Barr ウイルス IgM 抗体の検出状況, 1999-2006 年:

1 臨床検査会社での集計結果

¹⁾ 株式会社ビー・エム・エル, ²⁾ 大妻女子大学家政学部増井 幸雄¹⁾ 板橋 愛宜¹⁾ 石井 暁¹⁾
伴 文彦¹⁾ 井上 栄²⁾

(平成 19 年 4 月 24 日受付)

(平成 19 年 7 月 30 日受理)

Key words: Epstein-Barr virus, infectious mononucleosis, viral capsid antigen, IgM antibody

要 旨

Epstein-Barr ウイルスのカプシド抗原 (VCA) に対する IgM 抗体検査は, 主として伝染性単核症の病原診断に使われている. 本論文では, 1999~2006 年の 8 年間に全国の医療機関から 1 臨床検査会社に間接蛍光抗体法による VCA-IgM 抗体検査の依頼があった約 18 万件の血清検体の検査結果を集計・解析した. 集計結果は, IgM 抗体陽性数の年齢分布は 2 峰性 (乳幼児期および青年期) を示した. 年齢により男女差があり, 乳幼児では男性が多く, 青年では女性が多かった. IgM 抗体陽性数の月別変動を見ると, 青年層で春から秋にかけて増加が認められた. この検査室データは, 国内の青年層において伝染性単核症が発生していることを示唆している. 今後, 乳幼児期より症状が重い青年層での同症発生の実態を知るための疫学調査が必要であろう.

〔感染症誌 81: 707~713, 2007〕

序 文

Epstein-Barr ウイルス (EBV) は, 初感染では主に伝染性単核症 (IM) を起こし, まれに慢性活動性 EBV 感染症や腫瘍性増殖疾患の原因ともなる^{1)~3)}. IM は, 幼児期では比較的軽微な症状ですむが, 思春期以降では入院を必要とするまでの症状を呈する患者も少なくないと報告されている⁴⁾. 近年国内では, 感染年齢の上昇により思春期以降での IM の増加が指摘されている⁵⁾⁶⁾. しかし, IM は感染症法で定める全数報告疾患, あるいは定点報告疾患でもなく, その発生の全体像は不明な点が多い.

本論文は, 臨床検査会社ビー・エム・エル (以下 BML) で 1999~2006 年の 8 年間に全国の臨床医からの依頼を受けて実施された合計約 18 万の血清検体の EBV のカプシド抗原 (VCA) に対する IgM 抗体測定データを集計・解析したものである. 抗体測定法としては, 間接蛍光抗体法と酵素抗体法 (ELISA) があるが, 今回は依頼数が多く, 標準法にもなっている間接蛍光抗体法の結果について解析を行った. 特に青

年層に注目し, その IgM 陽性検体数の男女別割合, 季節変動を乳幼児群と比較した.

対象と方法

1999 年 1 月から 2006 年 12 月の間に全国の医療機関より BML に依頼され, 患者年齢および性別が記載された検体の VCA に対する IgM 抗体の検査データ 178,558 件を用いた. 使用データの内容は, IgM 抗体の有無, 抗体価, 依頼年月, 診療科, 患者年齢, 性別である. これらの中には, 患者名や個人を特定できるような情報は一切含まれていない. 検査データの利用については, 事前にビー・エム・エル倫理委員会から承認を得た.

使用した測定試薬は, BML 社製造の VCA テスト・BML-「IgM」テストで, 測定方法は, 日沼らの方法⁷⁾に準じた間接蛍光抗体法である. P3HR-1 細胞固定スライドに 1:10 から 2 倍階段希釈した被検血清を反応させ, 次いで, FITC 標識抗ヒト IgM 抗体を反応させ, 特異的蛍光を認めた最高希釈倍数をその血清の抗体価とした. 抗体価が 10 以上を示したものを VCA-IgM 抗体陽性とした.

抗体陽性数の平均値の差の有無は t 検定で調べた.

別刷請求先: (〒350-1101) 川越市市場 1361-1

株式会社ビー・エム・エル

増井 幸雄

平成19年11月20日

Fig. 1 Gender-specific age distribution of IgM-positive specimens tested between 1999 and 2006. Bars show numbers of IgM-positive specimens. Lines show antibody-positive percentages (proportion of IgM-positives among all specimens tested).

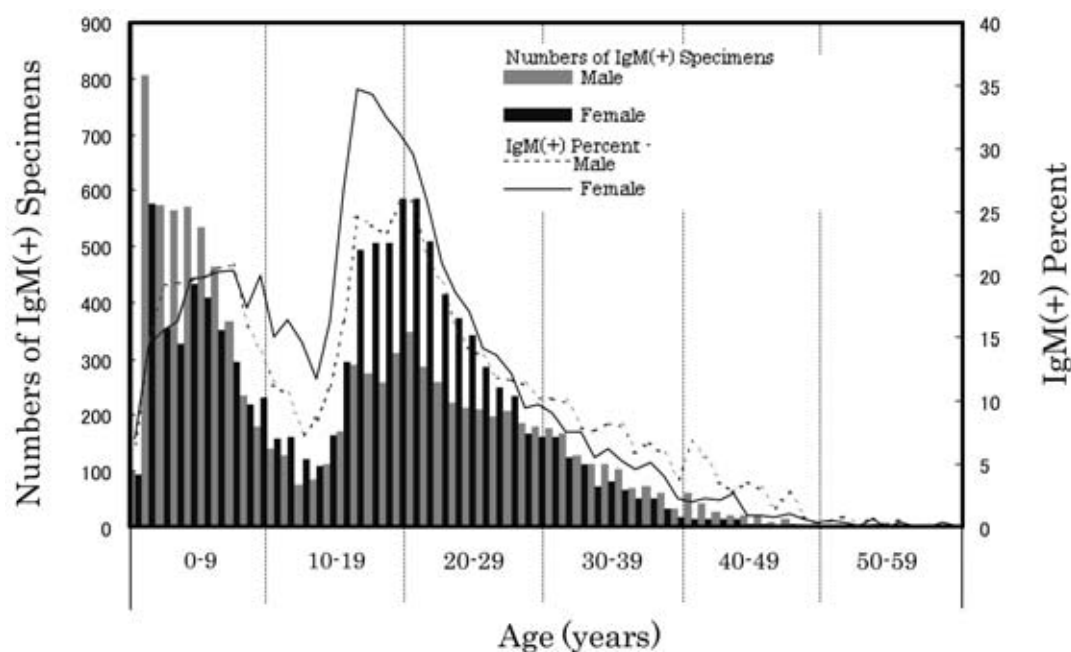
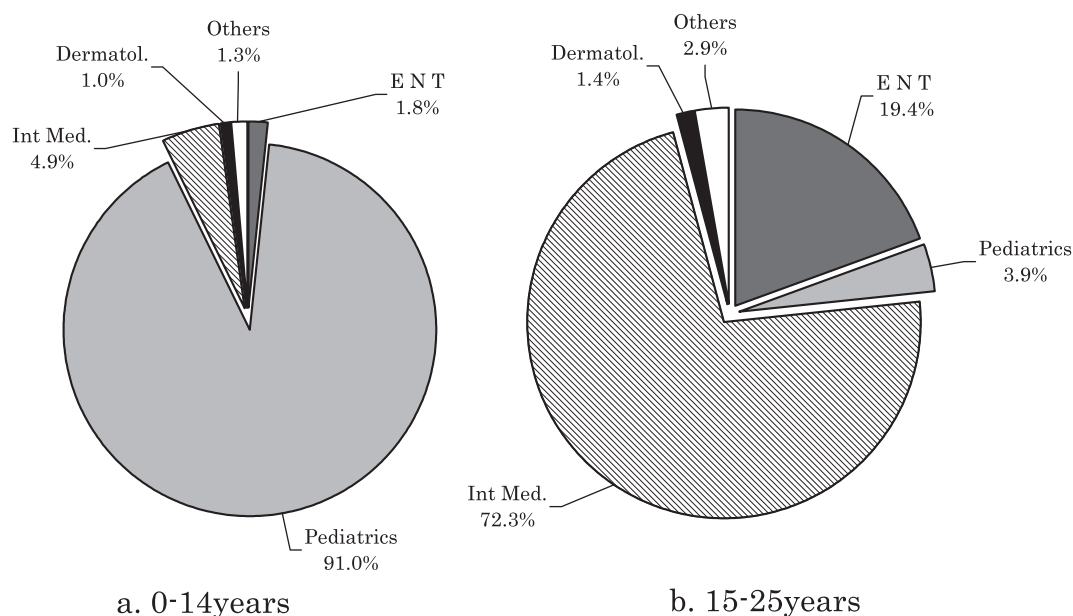


Fig. 2 Proportion of IgM-positive specimens from different clinics. a, 0—14 years-old. b, 15—25 years-old. Int. Med., Internal medicine clinics. ENT, Ear, nose, and throat clinics. Dermatol., Dermatology clinics.



結 果

1. IgM 抗体陽性数の年齢分布

Fig. 1に、8年間の年齢別IgM抗体陽性数と陽性% (陽性数÷依頼数×100)を男女別に示す。陽性数および陽性%ともに、0～14歳と15～25歳で2峰性を示した。0～14歳では、陽性数は1歳がもっとも多く、陽性%はなだらかではあるが7～8歳でピークを示した。15～25歳では、陽性数は19～20歳がピークであ

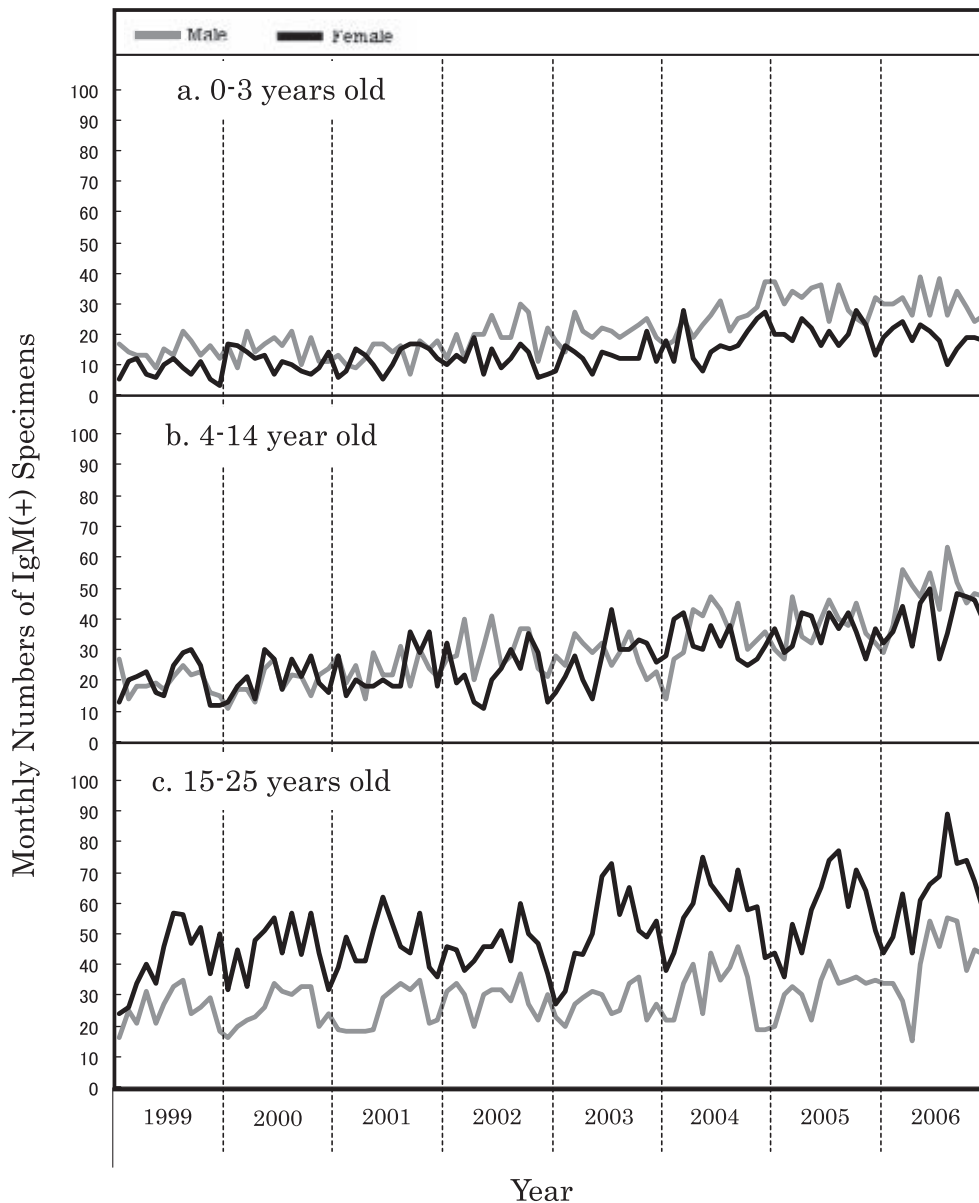
り、陽性%は女性で16歳、男性で19～20歳がもっとも高い数値を示した。

陽性数の男女差をみると8歳まで男が女を上回っており、9～27歳では女が男を上回っていた。

2. 診療科の種類

検査依頼書に診療科の名前の記載があったのは全検体の63%であった。Fig. 2に、IgM抗体陽性例の診療科を年齢群別に示す。0～14歳群では、小児科が91%

Fig. 3 Monthly numbers of IgM-positive specimens for different age groups, 1999–2006. Dark lines, female. Light lines, male.



を占めた。15～25 歳群では、内科が 72%，耳鼻科 19% で、この 2 診療科で 9 割を占めた。15～25 歳群での陽性率は、内科では男性 21%，女性 27% で、耳鼻科では男性 27%，女性 28% であった。

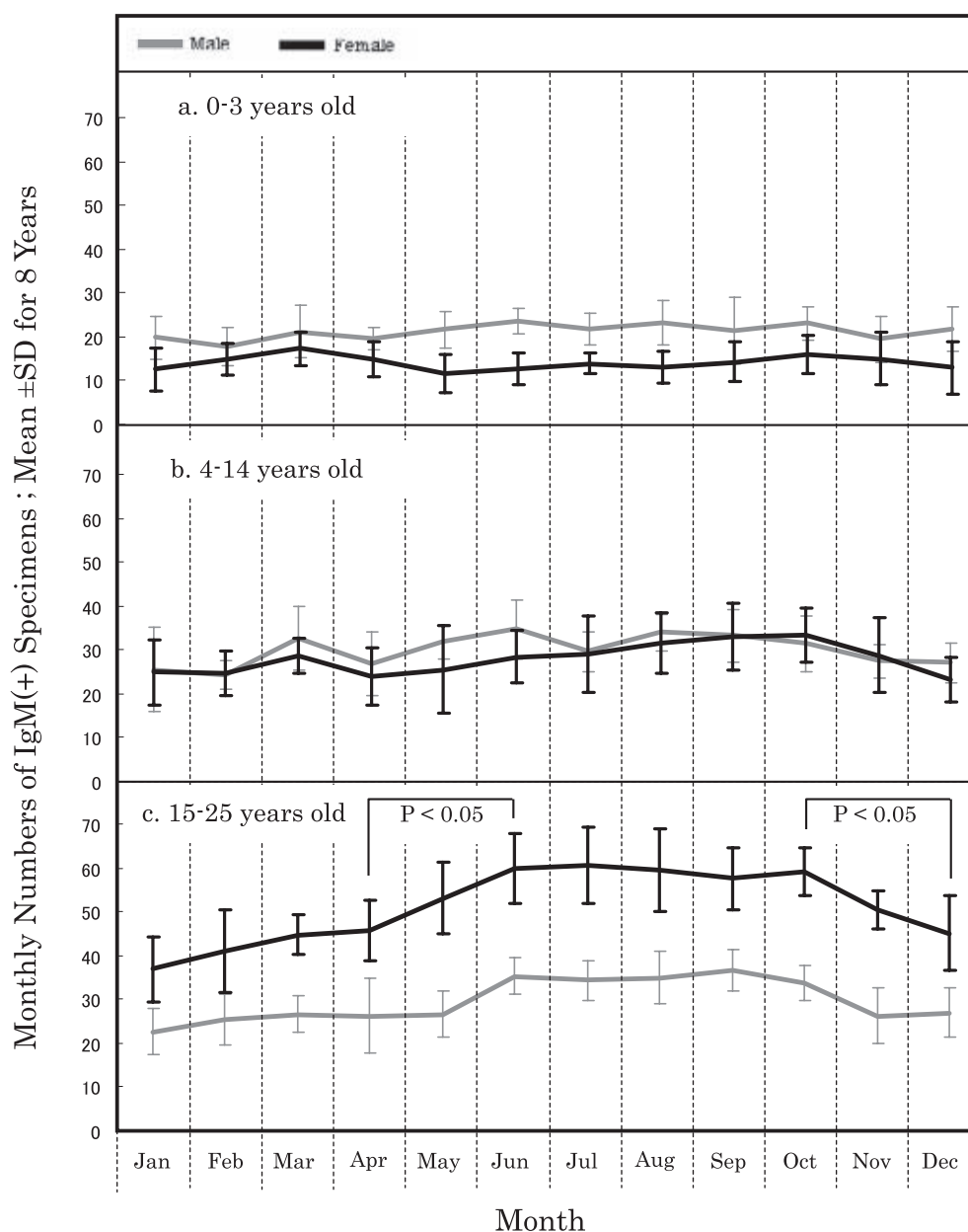
3. IgM 抗体陽性数の月別変動

Fig. 3 に 8 年間の月別の陽性数を示す。年齢層を 0～3 歳、4～14 歳、15～25 歳に分けて男女別に表示した。0～3 歳群では、ほとんどの月で男児が女児を上回る陽性数を示した（男女比 1:0.7）。4～14 歳群では男女間で特徴は認めなかった（男女比 1:0.9）。15～25 歳群では、常に女性の陽性数が多く（男女比 1:1.7）、かつ、男女ともに毎年夏季に陽性数の増加が認められた。

次に、年齢群ごとの陽性数の月別変動を見るために、各年の異なる陽性総数を同じ数に調整して調べた。すなわち、8 年間の陽性総数の年平均値を計算し、この平均値を年ごとの陽性総数で割った商を計算した（この商を係数と名付ける）。各月の陽性数にその年の係数を掛けた積を各月の調整陽性数とした。月ごとに調整陽性数の 8 年間の平均値（平均月別陽性数）およびその標準偏差を計算し、それを図示したものが Fig. 4 である。

平均月別陽性数の男女差をみると、15-25 歳群では女が、0-3 歳群では男が多かった。次に、15-25 歳群の季節差をみると、4・6 月間および 10・12 月間で男女ともに有意差（ $p < 0.05$ ）があった。

Fig. 4 Mean $\pm$ SD of monthly IgM-positive specimens for 8 years. Mean $\pm$ SD (standard deviation) was calculated in the same months for 1996–2006. Vertical lines show $\pm$ one SD.



4. 年齢群別 IgM 抗体価の分布

年齢群別の IgM 抗体価の分布状況を Fig. 5に示す。0～2 歳群では抗体価が 10 を示すものが約 40% を占め、この年齢群での幾何平均抗体価は $22.4 (2^{4.8 \pm 1.19})$ であった。3 歳から 11 歳まで加齢とともに平均抗体価が上昇し、12 歳以上で平均抗体価 50 以上となった。

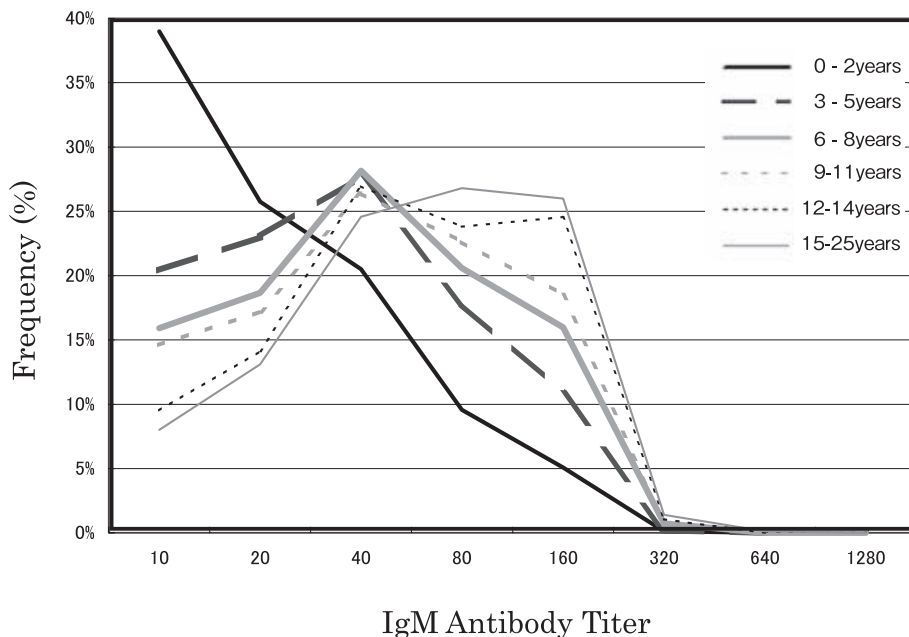
考 察

当論文で解析した VCA-IgM 抗体は、臨床医より臨床検査会社に依頼された血清検査の結果であり、患者の臨床的背景は不明である。検査の動機としては、EBV 初感染による IM の病原診断が主であろう。一部に、慢性活動性 EBV 感染症診断や除外診断および

移植医療関係の検体、同一患者から採取された複数の検体も含まれていると推察される。しかし、IM の病原診断基準となる VCA-IgM 抗体検査データが 8 年間で約 18 万件も集積されているので、この内容を解析することで国内での IM 発生の実態を知るための一助になるものと考えた。

EBV 感染の疫学を知るもう一つの手段として、EBV-IgG 抗体測定による血清疫学調査がある。国内の血清疫学の報告は、1968 年に日沼⁸⁾、1987 年に今井⁹⁾、近年では、2006 年前田⁵⁾と Takeuchi⁶⁾らの報告などがある。これらから、1960 年から 1980 年代では欧米先進国と比較し幼児期の感染率が高く青年期

Fig. 5 IgM-antibody titer distribution in different age groups. Geometric mean antibody titers for groups are as follows: 0-2years, 22.4 ($2^{4.48 \pm 1.19}$), $n=2,501$; 3-5years, 33.9 ($2^{5.08 \pm 1.27}$), $n=2,838$; 6-8years, 41.2 ($2^{5.36 \pm 1.32}$), $n=1,929$; 9-11years, 44.5 ($2^{5.47 \pm 1.33}$), $n=1,000$; 12-14years, 53.8 ($2^{5.75 \pm 1.29}$), $n=672$; 15-25years, 58.3 ($2^{5.86 \pm 1.27}$), $n=7,749$.



の IM が少なかったこと、しかし、近年では幼児期の抗体保有率の低下傾向があることなどが指摘されている。Takeuchi⁶⁾らは、1990 年代の 5~7 歳の VCA-IgG 抗体保有率の減少傾向から、2006 年にはそれが 50% 以下まで下降するとの予想をしている。これらのことは、EBV の初感染が思春期以降に起こる可能性が増すことを示唆しており、今後、青年期に IM の発症が増える傾向が現実的なものとなってきた。しかし、国内の IM 患者のサーベイランス体制がないことなどのため、青年期での IM については、その実態がほとんどわかっていないのが現状であろう。

本論文は、VCA-IgM 抗体測定の結果を解析することで IM 発生の状況を推察することを動機としており、国内では初めての試みである。この解析結果を、まず、国内の IM 発生に関する今までの報告と比較した。

年齢別 IgM 抗体陽性数の分布は 2 峰性を示したが (Fig. 1)、中村らの大学病院での IM の調査¹⁰⁾や銅らの病院での IgM 抗体検査の集計¹¹⁾でも同様の 2 峰性であった。2 つのピークの陽性数はほぼ同程度であり、青年層での IM が少なくないことを示唆している。

次に、男女差であるが、日本人を対象とした調査では、Sumaya ら¹²⁾の IM の診断基準を満たした小児 IM の男女比が 1:0.65 であったとの報告¹³⁾や同様に小児の IM で男女比が 1:0.5 であった¹⁴⁾との報告があるが、青年層の IM の男女差を記載したものはなかった。今

回の集計では、青年期群では小児群とは逆の男女差があり、この傾向は 8 年間の調査期間中も継続していることもわかった。EBV の感染経路として、幼年期は家族および幼児同士から、青年期は異性からが中心といわれており、これは明らかに両群で異なる点である。感染経路が男女で異なることは考えにくいので、EBV 感染後の IM 発症率、症状の程度、および/または受診率に男女差がある可能性がある。なお、データは示していないが、性別により IgM 抗体の産生能に違いがあり、その影響が男女差として出ている可能性も考え、IgM 抗体価の分布を男女に分けて全体と比較したが、抗体価の性差は認められなかった。

年齢別 IgM 抗体陽性数と陽性%とを比較すると、両者は必ずしも相関していない (Fig. 1)。陽性%は、臨床医側からみれば診断的中率とも言い換えることができるが、病状が定型的でなければ診断的中率も低いはずである。一般に小児の IM は、①臨床症状に乏しいこと、② VCA-IgM 抗体の上昇が顕著でないことが、脇口ら¹⁵⁾や藤井ら¹⁶⁾により報告されている。本論文においても、0~3 歳群では IgM 抗体価が低かった (Fig. 5)。乳幼児一学童期では IM の症状が定型的でなく、かつ IgM 抗体の産生が弱いことが影響して陽性%が相対的に低いのであろう。思春期-青年期では、女性の陽性%が男性よりも高かった (Fig. 1)。この年齢群では、女性の方がより典型的な IM の症状が出るのかもしれない。

季節性についてであるが、国内での報告は、小児のEBVが関連したGianotti-Crosti症候群で冬から初夏に好発が認められた¹⁷⁾という一報告があるが、IMに季節性は無いというのが現在までの一般的な見方であった。今回の我々の解析では、青年期にのみ毎年6月から10月(春季から秋季)でIgM陽性数の増加を認めた(Fig. 3c, 4c)。夏季における増加は近年より明確になるように見えた(Fig. 3c)。今までの報告では、幼年期中心のものが多く、幼年期と青年期を分けないで集計したことで、季節変動が隠れてしまった可能性も考えられる。IMの潜伏期が4~7週¹⁸⁾であることを考慮すると、感染の機会が4月から9月頃と考えられる。この時期は、青年層では就学や就職から夏期休暇にかけての時期であり、社会的行動様式や性行動と何らかの関連がある可能性も考えられる。

次に、青年期のIMが多いといわれている欧米諸国の報告と今回の結果を比較した。

まず男女比についてであるが、本論文と同様に臨床検査ラボの血清抗体検査(EBV-IgM抗体や牛、羊赤血球に対する異好抗体)の結果を集計した報告が1982年に米国のCDCグループ¹⁹⁾によりなされている。1974~1976年の約2万2千件の結果を集計したもので、IgM抗体陽性数の男女比は0~4歳群で1:0.7、15~24歳群で1:1.3であった。幼児期では男児が多く、青年期群で女性が優位であるという傾向を示しており、我々の結果とよく似ていると考えられた。

季節性についてであるが、IMの発症に季節性について詳しく報告したのはGrottoら²⁰⁾で、イスラエル軍病院の18~23歳のIM患者で6月から8月に増加が認められた。イギリスでは、成人のIMとホジキン病が3月に多いという報告がある²¹⁾。今回の結果は、イスラエルの報告よりは長い期間とはなるが、夏季を中心としているという点ではGrottoらと似た結果であった。

欧米では、思春期以降にEBV初感染が多く、日本に比べ青年期のIMの研究が多く報告されている。青年期のIMは、治療や入院により教育や社会生活に影響が大きいこともあり、積極的な予防のため、EBVのワクチンが治験段階まで進んでいる²²⁾。このような背景のもと、Edinburgh大学では、1999~2000年に入学した学生コホートを追跡調査した^{23,24)}。結果は、入学者の25%がEBV関連抗体陰性であり、3年後に抗体陰性者の46%に抗体陽転が確認され、IMの発症を確認できたのは陽転者の25%であったという数字を示した。また、学生の性行動をも調べ、思春期以降のEBVの感染様式は、従来から言われてきた唾液を介した接触が主であろうが、性交によるものもある可能性を指摘している²⁵⁾。

今回の解析は、臨床検査会社に依頼された血清検体の検査結果を使っている。つまり、IMの臨床症状のあるEBV感染者が主な集計対象となっている可能性が高いだろう。EBV感染では不顕性感染者も多いとされているが、日本人におけるその実態はまだわかっていない。今後、日本国内でも思春期以降のEBVの初感染が増加すると指摘されている状況で、国民のEBV-IgG抗体保有を調べる血清疫学調査、および一般青年におけるIM発症の実態調査が必要になっていくだろう。

文 献

- 1) Henle G, Henle W, Diehl V: Relation of Burkitt's tumor-associated herpes-type virus to infectious mononucleosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 59: 94-101.
- 2) Niederman JC, McCollum RW, Henle G, Henle W: Infectious mononucleosis. Clinical manifestation in relation to EB virus antibodies. *JAMA* 1968; 203: 205-9.
- 3) 黒田正幸, 今井章介: 伝染性単核症およびEBウイルス関連腫瘍性増殖疾患. *日本臨床* 2003; 61(増刊号2): 222-8.
- 4) Tattévin P, Le Tulzo Y, Minjolle S, Person A, Chapplian JM, Arieux C, *et al.*: Increasing incidence of severe Epstein-Barr virus-related infectious mononucleosis: surveillance study. *Clin Microbiol* 2006; 44: 1873-4.
- 5) 前田明彦, 佐藤哲也, 脇口 宏: EBV感染症の疫学. *日本臨床* 2006; 64(増刊号3): 609-12.
- 6) Takeuchi K, Tanaka-Taya K, Kazuyama Y, Ito YM, Hashimoto S, Fukayama M, *et al.*: Prevalence of Epstein-Barr virus in Japan: Trends and future prediction. *Pathology International* 2006; 56: 112-6.
- 7) 日沼頼夫, 松本正昭, 甲木孝人, 西連寺剛: EBウイルス抗体検索法の実践. *臨床病理* 1978; 35(臨時増刊): 179-89.
- 8) 日沼頼夫, 葉田野玲, 高橋 寿, 須藤恒久: 本邦におけるEBウイルス伝播状況. *日医新報* 1968; 27(2312): 27-9.
- 9) 今井章介, 大里外登郎: EBウイルス感染症とその診断. *臨床と微生物* 1987; 14: 19-25.
- 10) 中村良子, 高井庸子, 島田幸子, 中村久子, 野老晃子, 山本貴子: Epstein-Barrウイルス感染症の疫学的解析. *臨床病理* 1996; 44: 659-64.
- 11) 鋼 雅美, 佐藤 誠, 木村泰治, 平松佳代子, 藤原伸子, 川口光彦: ヘルペスウイルス科の抗体検査について過去10年間におけるサイトメガロウイルスとEBウイルス抗体検査の集計. *岡山済生会総合病院雑誌* 2002; 33: 45-9.
- 12) Sumaya CV, Ench Y: Epstein-Barr virus infectious mononucleosis in children. II. Heterophil antibody and viral-specific responses. *Pediatrics* 1985; 75: 1011-9.
- 13) 鹿野高明, 高橋 豊, 穴倉勉彌: EBウイルスに

- よる小児伝染性単核症の臨床的検討. 日本小児科学会雑誌 2002 ; 106 : 389—93.
- 14) 金兼弘和, 谷内江昭宏, 高野信彦, 宮脇利男, 谷口 昂 : 小児における伝染性単核症. 臨床とウイルス 1989 ; 17 : 405—10.
 - 15) 脇口 宏, 前田明彦, 堂野純孝, 佐藤哲也 : 伝染性単核症. 日本臨床 2006 ; 64 (増刊号 3) : 625—9.
 - 16) 藤井法子, 福島葉子, 房岡 徹, 西村康孝, 吉原隆夫, 粕淵康郎 : 小児の Epstein-Barr virus 感染症 54 例の臨床的検討. 松仁会医学誌 2001 ; 40 : 93—8.
 - 17) 杉野禮俊, 吉田匡司, 津田紀彦, 酒井宏巳, 小池通夫 : 小児科診療所で経験した Gianotti-Crosti 症候群 25 例を中心とする Epstein-Barr ウイルス感染症の臨床的検討. 小児臨床 2002 ; 55 : 1915—20.
 - 18) Rickinson AB, Kieff E : Epstein-Barr virus. In : Fields Virology (ed by Knipe DM, *et al.*). 4th ed, p2575—627, Lippincott, Pennsylvania, 2001.
 - 19) Caldwell GG, Heath CWJ : Surveillance of infectious mononucleosis cases by use of existing data from state laboratories. Public Health Reports 1982 ; 97 (November-December) : 579—82.
 - 20) Grotto I, Mimouni D, Huerta M, Mimouni M, Cohen D, Robin G, *et al.* : Clinical and laboratory presentation of EBV positive infectious mononucleosis in young adults. Epidemiol Infect 2003 ; 131 : 683—9.
 - 21) Douglas AS, Brown T, Reid D : Infectious mononucleosis and Hodgkin's disease—a similar seasonality. Leuk Lymphoma 1996 ; 23 : 323—31.
 - 22) Denis M, Haumont H, Bollen A : Vaccination against Epstein-Barr virus (EBV) : Report of phase II studies using recombinant viral glycoprotein gp350 in healthy adults [abstract 14.01]. Program and Abstracts of the 11th Biennial Conference of the International Association for Research on Epstein-Barr Virus and Associated Diseases. (Regensburg, Germany), 2004 ; p. 305.
 - 23) Crawford DH, Macsween KF, Higgins CD, Thomas R, McAulay K, Williams H, *et al.* : A cohort study among university students : Identification of risk factors for Epstein-Barr virus seroconversion and infectious mononucleosis. CID 2006 ; 43 : 276—82.
 - 24) Crawford DH, Swerdlow AJ, Higgins C, McAulay K, Harrison N, Williams H, *et al.* : Sexual history and Epstein-Barr virus infection. JID 2002 ; 186 : 731—6.
 - 25) Thomas R, Macsween KF, McAulay K, Clutterbuck D, Anderson R, Reid S, *et al.* : Evidence of shared Epstein-Barr viral isolates between sexual partners, and low level EBV in genital secretions. J. Med. Virol 2006 ; 78 : 1204—9.

Detection of IgM Antibody to Epstein-Barr Virus, 1999—2006 : Analysis of Data Collected at a Commercial Diagnostic Laboratory in Japan

Yukio MASUI¹⁾, Yoshinori ITABASHI¹⁾, Akira ISHII¹⁾, Fumihiko BAN¹⁾ & Sakae INOUYE²⁾

¹⁾BML Inc, ²⁾Otsu Women's University

The status of infectious mononucleosis in Japanese youth has been little studied. To gain more information, we analyzed data from tests for Epstein-Barr virus-specific IgM in about 180,000 serum specimens sent to a commercial diagnostic laboratory from clinics nationwide between 1999 and 2006. The IgM antibody to the viral capsid antigen (VCA) was assayed by indirect immunofluorescence with P3HR-1 cells. In an age-distribution graph of IgM positive specimens, two peaks were found both in young children and youth. Boys outnumbered girls in the group of children aged 0 to 3, and vice versa in the group of youth aged 15 to 25. IgM-positive specimens increased from spring to autumn only in the youth group, suggesting that infectious mononucleosis in this group occurs more during this time. Infectious mononucleosis symptoms are more severe in youth, and further epidemiological studies are needed to clarify the disease status in young Japanese adults.