

# 京都府における新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) のリアルタイム PCR検査状況とSARS-CoV-2陽性例の疫学的特徴 (第1報)

永田 瑞絵 藤本 恭史 長谷川 和宏 岩崎 里菜 藤本 直樹

Surveillance of Real-time RT-PCR Testing of Novel Coronavirus Disease-2019 (COVID-19) and Epidemiological Characteristics of SARS-CoV-2 Positive Cases in Kyoto (1st Report)

Mizue EITA Yasushi FUJIMOTO Kazuhiro HASEGAWA Rina IWASAKI Naoki FUJIMOTO

2019年12月に、中華人民共和国の武漢市で新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) による肺炎が流行し、2020年1月15日に国内で初めて新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 患者が発生した。当所では、2020年2月8日から3月31日までに、京都府内 (京都市を除く) で発生したCOVID-19疑い例649名719検体について、SARS-CoV-2検査を行った。退院基準を満たすことを確認する検査 (陰性確認) を除くと629名であり、このうち31名がSARS-CoV-2陽性で、陽性率は4.9%であった。陽性者の男女比は2.1:1、年齢の中央値は38歳で、real-time RT (reverse transcription)-PCR法を用いた検査で得られるCycle threshold values (Ct値) の平均は27.52であった。初めて陽性が判明してから陰性化するまでの日数の平均は18.8日であった。SARS-CoV-2陽性者のうち、有症者では男性が多く、無症者では女性が多かった。男性は女性に比べて検体から検出されるウイルス量が多く、陰性化までに日数を要する傾向があった。高年齢ほど陰性化までに日数がかかる傾向があり、味覚障害又は嗅覚障害があった者の年齢はすべて20代であった。有症者は無症者に比べて、検出されるウイルス量が多く、発症から日数が経過するにつれて検出されるウイルス量は低下した。検体に含まれるウイルス量が多いほど、陰性化までに日数がかかる傾向があった。

キーワード：新型コロナウイルス、Real-time RT-PCR、サイクル数閾値、性差、有症者、無症者

Keywords：Novel coronavirus, Real-time RT-PCR, Cycle threshold values, Sex difference, Symptomatic, Asymptomatic

## はじめに

2019年12月、中華人民共和国湖北省武漢市で原因不明の肺炎症例が多発し、患者検体から新型コロナウイルス (SARS-CoV-2, Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2) が検出された。2020年1月5日、日本国内で初めて新型コロナウイルス感染症 (COVID-19, COrona-Virus Disease-2019) 患者が発生し、1月23日付で厚生労働省より地方衛生研究所における検査対応の協力依頼があり、1月28日には感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律の指定感染症に指定された。COVID-19の流行は全世界へ広がり、世界保健機関 (WHO) は、1月30日にPHEIC (Public Health Emergency of International Concern, 国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態) に該当すると宣言し、3月11日にパンデミック (世界的な大流行) とみなせることを表明した。

当所においては、1月30日にreal-time RT-PCR法による検査体制を構築し、府内 (京都市を除く) での患者発生に備えた。2月8日に初のCOVID-19疑い患者が発生し、それ以来3月31日までに649名719検体の検査を行った。

COVID-19は、年齢や性差、基礎疾患が症状の重篤度、致死率に大きく影響することが報告されていることをふまえて<sup>1,2)</sup>、当所で取り扱ったSARS-CoV-2陽性患者の疫学情報とRT-

PCR法による検査で得られた検体中のウイルス遺伝子コピー数の指標であるCycle threshold values (Ct値) について解析し、一定の傾向がみられたので報告する。

## 材料及び方法

### 1. 材料

2020年2月8日～3月31日までに当所に搬入された649件719検体を検査材料とした。このうち、一度陽性が確認され、退院基準を満たすことを確認するために行う検査 (陰性確認検査) を除いた検査件数は631件697検体で、同一被検者の検査を除くと629名であった。

### 2. 方法

国立感染症研究所が公開する病原体検出マニュアル (<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV20200319.pdf>) に記載のreal-time RT-PCR法<sup>3)</sup>に従って検査を行った。臨床検体は鼻咽頭拭い液あるいは喀痰とし、喀痰はリン酸緩衝生理食塩水で2～3倍に希釈してから、その140 μLを核酸抽出に用いた。核酸抽出試薬としてQIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN NV, Hilden, Germany) を用いて60 μLの核酸抽出液を得た。このうち、5 μLをreal-time RT-PCRに用いた。RT-PCR試薬としてQuantitect Probe RT-PCR Kit (QIAGEN NV, Hilden, Germany) を使用し、N

(令和3年1月26日受理)

セット及びN2セットのそれぞれの領域についてduplicateで行った。Real-time PCR装置はQuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific inc, Massachusetts, USA)を使用し、Threshold Lineを0.02に固定してCt値を算出した。検体のCt値はduplicateの平均値とした。

本研究における陰性化は、厚生労働省健康局結核感染症課長通知(令和2年2月18日付け健感発0218第3号)に基づいて判定した。

## 結果

府内(京都市を除く)において、初めて陽性患者が確認された3月4日から、3月31日までの本府及び全国の新規陽性者数の推移を図1に示す。3月下旬頃の全国の陽性者数の増加にあわせて、府内陽性者数も増加した。この期間中に検査した全検査数から陰性確認検査数を除いた629名中31名が陽性(陽性率4.9%)であった。陽性者の患者情報、real-time RT-

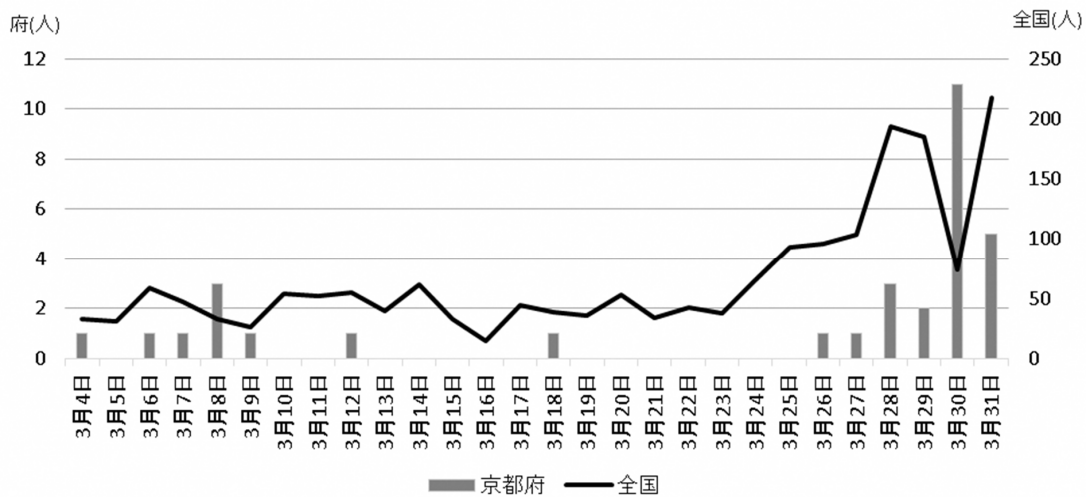


図1. 全国及び京都府の令和2年3月4日から3月31日までの陽性者数の推移

表1. 陽性者の患者情報、検査結果(Ct値)、発症日から採取日までの日数及び陰性化までの日数

番号	年齢	性別	症状	Ct値	発症日から採取日までの日数(日)	陰性化までの日数(日)
No.1	39	男	発熱、咳、肺炎	34.27	5	-
No.2	62	女	発熱、咳	17.65	1	-
No.3	40	女	なし	40.40	-	12
No.4	69	男	なし	23.30	-	30
No.5	62	女	なし	22.99	-	16
No.6	26	女	なし	33.80	-	7
No.7	70	女	発熱	24.45	2	16
No.8	68	男	発熱、咳、肺炎(XP)、全身倦怠感	28.41	5	-
No.9	77	男	発熱、咳、肺炎、食欲不振	25.09	7	16
No.10	30	男	発熱	27.16	1	-
No.11	45	男	発熱、咳	20.96	5	41
No.12	71	女	なし	37.98	-	-
No.13	43	女	なし	32.23	-	16
No.14	22	女	咳、味覚嗅覚異常、鼻づまり、頭痛	38.14	6	-
No.15	22	男	発熱、咳、鼻づまり、頭痛、全身倦怠感、関節筋肉痛	22.22	5	21
No.16	21	男	咽頭痛、頭痛	22.65	3	11
No.17	22	女	嗅覚異常	31.28	2	15
No.18	24	男	発熱、味覚異常、鼻閉	19.56	-	15
No.19	29	男	咳、咽頭痛	21.53	-	22
No.20	31	男	咳	27.57	-	18
No.21	38	男	発熱	20.59	-	-
No.22	43	男	発熱	19.16	-	-
No.23	42	男	なし	38.68	-	22
No.24	44	男	咳、咽頭痛、全身倦怠感	22.11	3	24
No.25	33	男	発熱、咳	22.10	-	24
No.26	22	男	咳、味覚嗅覚異常、頭痛	34.57	5	10
No.27	22	女	発熱、嗅覚異常	36.68	7	-
No.28	32	男	-	19.88	-	-
No.29	30	男	発熱	26.34	-	21
No.30	20	男	肺炎(CT)	21.00	-	-
No.31	61	男	-	40.50	-	-

表中の「-」は不明

PCR検査結果(Ct値)、発症日から採取日までの日数及び陰性化までの日数を表1に示す。陽性者の性別は、男性21名、女性10名で、男性は女性に比べて2倍以上多かった。年齢の中央値は38歳(範囲20~77)であり、その分布は20~29歳が10名(32.3%)、30~39歳が7名(22.6%)、40~49歳が6名(19.4%)、60~69歳が5名(16.1%)、70~79歳が3名(9.7%)であった。陽性者のCt値の平均は27.52(範囲17.65~40.50、標準偏差7.21)であった。陽性者のうち有症者は22名、無症状者は7名、症状の有無不明者は2名であり、有症者22名(20~77歳、中央値31歳)のうち、発熱症状があったのは14名(64%)、咳や咽頭痛があったのは13名(59%)、味覚または嗅覚異常がみられたのは5名(23%)、肺炎症状があったのは4名(18%)であった。また、初めに陽性が判明した日から陰性化までの日数は19名(21~77歳、中央値33歳)に対して、平均18.8日(範囲7~41、標準偏差7.56)であった。

### 考察

検体提出時の症状の有無が判明している陽性者は29名(20歳~77歳、中央値36歳)であり、有症者と無症状者を男女別に比較した結果を表2に示す。有症者22名は男性の割合が高く、無症状者7名は女性の割合が高かった。有症者及び無症状者の性差について $\chi^2$ 検定を行った結果は、 $\chi^2(1, N=29) = 5.575, P = 0.018$ であり、有意差が認められた。

表2. 検体提出時点での有症者と無症状者の男女の比較

	有症者	無症状者	症状不明	合計
男性	17	2	2	21
女性	5	5	0	10
合計	22	7	2	31

陽性者31名について、Ct値を男女別に比較した結果を図2に示す。男性のCt値は中央値22.65、四分位範囲(第1四分位範囲から第3四分位範囲)21.0~27.57で、女性のCt値は中央値33.02、四分位数範囲26.16~37.65であった。Welchのt検定をおこなった結果、5%水準で有意に男性の方がCt値が低いことが分かった。陰性化までの日数が判明している19名について、男女別に陰性化までの日数を比較した結果を図3に示す。男性は中央値21.00日、四分位範囲16.00~24.00で、女性は中央値15.50日、四分位範囲12.75~16.00であった。Welchのt検定をおこなった結果、5%水準で有意に男性の方が陰性化までの日数が長いことが分かった。PCR検査はウイルス遺伝子を検出するものであり、ウイルス量を測定することはできないが、SARS-CoV-2検査について、real-time RT-PCR法で得られたCt値とウイルス培養陽性率とは相関性があることが報告されている<sup>4)</sup>。整理すると、男性は女性に比べて発症者数が多く、検出されるウイルス量も多く、さらに陰性化までに日数を要することがわかる。SARS-CoV-2に対する防御機構には性差がある理由として、ACE2受容体の発現量の差や

呼吸器上皮に発現している宿主のタンパク分解酵素のひとつであるTMPRSS2(Transmembrane protease, serine 2、II型膜貫通型セリンプロテアーゼ)の産生量の差、また免疫応答の差等により、男性に比べて女性の方が有利に働くことが報告されており<sup>5)</sup>、本研究結果と矛盾しない。

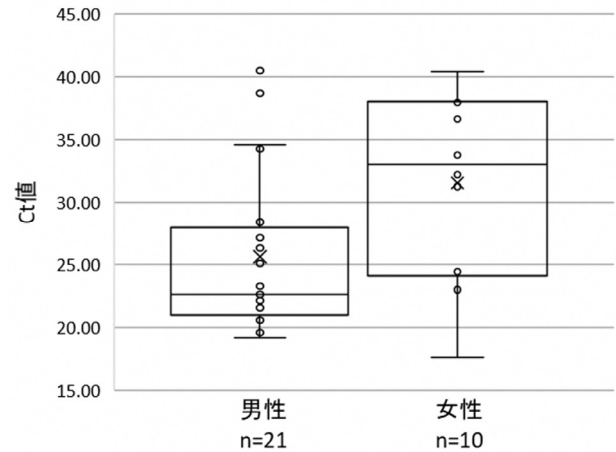


図2. SARS-CoV-2陽性者男女のCt値の比較

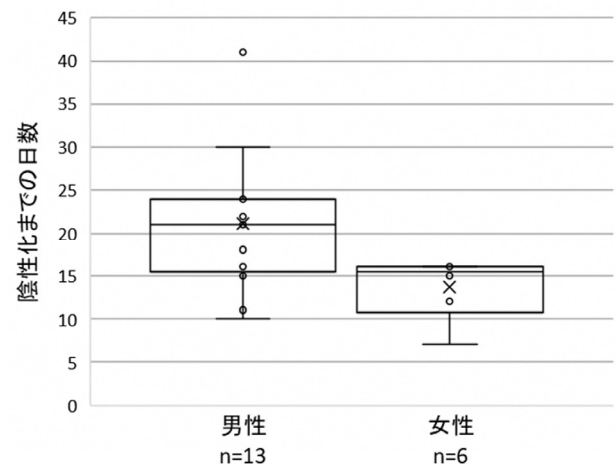


図3. SARS-CoV-2陽性者男女の初めて陽性が判明してから陰性化するまでの日数の比較

陽性が判明してから陰性化するまでの日数が把握できた19名について、陰性化するまでの日数と年齢の散布図を図4に示す。相関係数は0.271であり、得られた結果だけでは年齢と陰性化までの日数との関係は明確ではなかった。高齢ほど、陰性化までに日数を要する傾向が予想されるため、さらに検討を重ねる必要があると考えられる。また、有症者22名について、味覚障害又は嗅覚障害があった者の年齢はすべて20代であった。SARS-CoV-2感染者のうち、味覚及び嗅覚障害の発病率は年齢と負の相関があることが報告されており<sup>6)</sup>、本研究結果と整合性がみられる。

検体提出時の症状の有無が判明している陽性者29名について、無症状者と有症者のCt値を比較した結果を図5に示す。無症状者のCt値は中央値33.80、四分位範囲27.77~38.33で、有症者のCt値は中央値23.55、四分位範囲21.13~28.20であっ

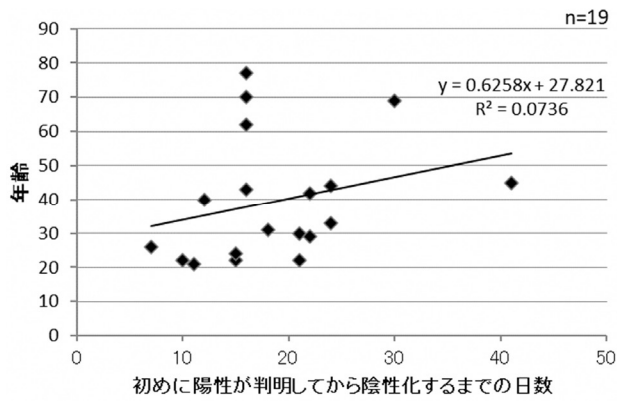


図4. 年齢と初めに陽性が判明してから陰性化するまでの日数の関係

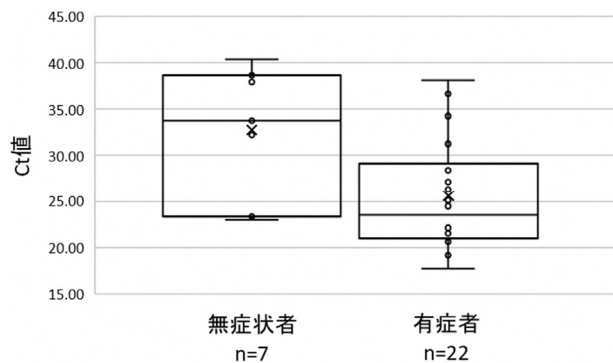


図5. 無症状者と有症者のCt値の比較

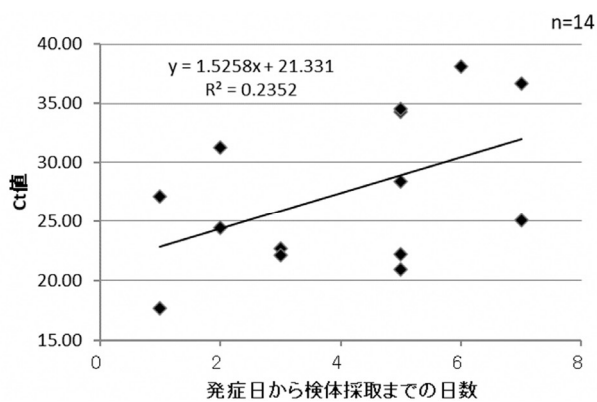


図6. Ct値と発症日から検体採取日までの日数の関係

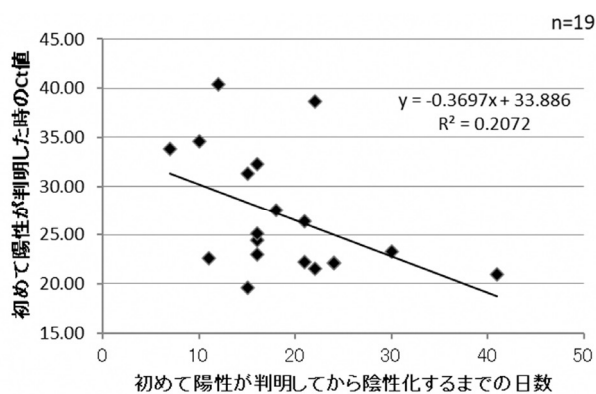


図7. 初めに陽性が判明した時のCt値と陰性化するまでの日数の関係

た。Welchのt検定をおこなった結果、5%水準で有症者の方が無症状者に比べCt値が有意に低く、検出されるウイルス量が多いことが示唆された。

発症日から検体採取までの日数が把握できた14名(21~77歳、中央値34.5歳)について、発症日から検体採取までに要した日数とCt値の関係を図6に示す。相関係数は0.485であり、弱い正の相関があった。また、初めに陽性が判明してから陰性化するまでの日数が把握できた19名について、陰性化までの日数と初めて陽性が判明した時のCt値の関係を図7に示す。相関係数は-0.455であり、弱い負の相関があった。発症から日が経過するにつれてウイルス量は低下することと、初めのウイルス量が多いほど陰性化までに日数を要することが示唆された。

現在、2020年晩秋の時点でCOVID-19は第三波に入ったものと思われる。本報では第一波のみ、すなわち2020年3月31日までの結果を用いたが、第二波以降の結果についても引き続き解析を行い、データを蓄積することで、本府の感染症対策に役立てたい。

### 謝辞

本報の執筆にあたり、細菌・ウイルス課課長の浅井紀夫氏から多くの有益な助言を受けた。また、PCR検査体制の増強のため、細菌・ウイルス課のOB、中丹西保健所食肉・試験検査課、本研究所の理化学課、水質・環境課、大気課からも検査の支援を受けた。感謝します。

### 引用文献

- 1) Petrilli C.M., Jones S.A., Yang J., Rajagopalan H., O'Donnell L., Chernyak Y., Tobin K.A., Cerfolio R.J., Francois F., Horwitz L.I. 2020. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: prospective cohort study. *BMJ*, 369, m1966.
- 2) Gebhard C., Regitz-Zagrosek V., Neuhauser H.K., Morgan R., Klein S.L. 2020. Impact of sex and gender on COVID-19 outcomes in Europe. *Biol. Sex Diff.*, 11(1), 29.
- 3) Shirato K., Nao N., Katano H., Takayama I., Saito S., Kato F., Katoh H., Sakata M., Nakatsu Y., Mori Y., Kageyama T., Matsuyama S., Takeda M. 2020. Development of genetic diagnostic methods for detection for novel coronavirus 2019(nCoV-2019) in Japan. 2019. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 73(4), 304-307.
- 4) Singanayagam A., Patel M., Charlett A., Lopez Bernal J., Saliba V., Ellis J., Ladhani S., Zambon M., Gopal R. 2020. Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR

cycle threshold values in cases of COVID-19. England, January to May 2020. Eurosurveillance, 25(32), 2001483.

- 5) Bunders M.J., Altfeld M. 2020. Implications of sex differences in immunity for SARS-CoV-2 pathogenesis and design of therapeutic interventions. Immunity, 53(3), 1-9.
- 6) Agyeman A.A., Chin K.L., Landersdorfer C.B., Liew D., Ofori-Asenso. R. 2020. Smell and taste dysfunction in patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. Mayo Clin. Proc., 95(8), 1621-1631.