

頭拭い液 (28 検体) はすべて HBoV 遺伝子陰性であった。

HBoV 以外の ARIs ウイルス分離を目的として実施したウイルス分離はすべて陰性であった。

D. 考察

今回、我々は福井県における HBoV の感染実態を把握することを目的の一つとして HBoV-DNA の検索を試みた。その結果、2010 年の 5ARIs 症例から HBoV が検出された。これらの症例ではウイルス分離培養や遺伝子検査で他の ARIs ウイルスは陰性であったことなどを考慮すると HBoV の疾患への関与が強く疑われた。臨床診断名は上気道炎や気管支炎などでこれまでの報告²⁾と同様であった。患者年齢は 1~3 歳で Igarashi らの報告²⁾に比べ年長であるが、受診医療機関の差異とも思われる。

今回試みた HBoV 検出率は 4% を示し、乳幼児を対象にした ARIs サーベイランスの検査項目に今後加えることも必要であると考えられる。

下痢便からは HBoV は検出されなかった。胃腸炎患者の便から HBoV が検出された報告³⁾もあるが、現在までに HBoV の病原性、等に関する知見は十分に得られておらず、いっぽうで、Bovine/Canine parvo virus で

は消化器症状も呈する場合もあることなど、今後も継続した HBoV 検索と疫学情報も含めたデータ集積が必要と思われる。

なお、genogroup 分類を含めた詳細な分子疫学解析を継続実施中である。

E. 結論

ARI サーベイランス体制の拡充を試み、HBoV の検査を可能とした。その結果、福井県で初めて HBoV 遺伝子が検出され、県内 ARIs 症例への関与が示唆された。

F. 参考文献

- 1) Allander, T., et al. (2005) : Cloning of human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 102:12891-12896
- 2) Hishinuma-Igarashi I, et al. (2009) Pylogenetic analysis of Human Bocavirus (HBoV) Detected From Children with Acute Respiratory Infection in Japan. J Infect, 58:311-313
- 3) Chieochansin, T., et al. (2008) Human Bocavirus Infection in Children with Acute Gastroenteritis and Healthy Controls. Jpn. J. Infect. Dis, 61:479-481

表1 ポカウイルス検出患者情報

患者 No	年齢	性別	臨床症状	検体種類	感染年月日	検体採取年月日	ウイルス株名
1	1	M	上気道炎 結膜炎、発熱 (40°C)	咽頭拭い液	15 May. 2010	19 May. 2010	HBoV/Fukui.JPN/20-2010/56
2	1	F	上気道炎、発熱 (38.5°C)	咽頭拭い液	31 May. 2010	31 May. 2010	HBoV/Fukui.JPN/22-2010/71
3	3	M	咽頭炎、発熱 (40°C)	咽頭拭い液	24 Aug. 2010	25 Aug. 2010	HBoV/Fukui.JPN/34-2010/176
4	2	M	気管支炎、発熱 (38.7°C)	咽頭拭い液	28 Oct. 2010	29 Oct. 2010	HBoV/Fukui.JPN/43-2010/219
5	3	F	気管支炎、発熱 (39.3°C)	咽頭拭い液	11 Nov. 2010	11 Nov. 2010	HBoV/Fukui.JPN/45-2010/227

新潟県における急性呼吸器ウイルスサーベイランス（2009～2010年）

研究協力者	昆美也子	新潟県保健環境科学研究所
	渡部 香	新潟県保健環境科学研究所
	田澤 崇	新潟県保健環境科学研究所
	広川智香	新潟県佐渡地域振興局健康福祉環境部
	渡邊香奈子	新潟県保健環境科学研究所
	田村 務	新潟県保健環境科学研究所

研究要旨

急性呼吸器感染症（ARIs）ウイルスサーベイランスを実施した。その結果、パラインフルエンザウイルス、Respiratory Syncytial ウイルスおよびヒトメタニューモウイルス分離株数は、A/H1pdm の流行終息期に増加傾向を示した。

A. 研究目的

急性呼吸器感染症（ARIs）の発生动向を把握するためインフルエンザウイルス（InfV）、パラインフルエンザウイルス（HPIV）、Respiratory Syncytial ウイルス（RSV）、ヒトメタニューモウイルス（HMPV）およびヒトライノウイルス（HRV）等について主にウイルス分離を実施した。特に、2009-2010年は新型インフルエンザ（A/H1pdm）が全国的に流行したことから、A/H1pdm 流行期および前、後におけるARIsウイルスの動向に注目した。

B. 研究方法

1 ARIsウイルスサーベイランス

2009年1月から2010年12月までの間、病原体定点医療機関を受診したARIs患者から採取された咽頭あるいは鼻腔ぬぐい液1,387検体を用い、主として培養細胞を用いたウイルス分離を実施した。また、一部の検体ではRT-PCR増幅産物の系統樹解析を実施した。

C. 研究結果

1 月別検体数とARIsウイルス分離

検体数：例年冬期を除き年間を通じ10～30検体/月であったが、2009年はA/H1pdm流行期間の8月149件に急増、11月は229件と年間最多となった（図1）。

RSV：2009年は1月（2株）および12月（1株）、2010年は1月（2株）、3月（1株）、4月（2株）、5月（2株）および11月（1株）であった。

HRV：2009年は1月、2月、5月（各1株）、6月（2株）、8月（1株）、9月（3株）、10月（5株）、11月（2株）および12月（4株）、2010年は1月、5月、6月、7月（各1株）、8月（3株）、9月（5株）、10月（5株）および11月（4株）であった。また、4検体でA/H1pdmVとHRVが同時に分離された。

HPIV：2009年は9月（1株）、10月（3株）、11月（1株）および12月（1株）、2010年は3月（2株）、4月（3株）、5月（2株）、6月（8株）、および7月（3株）であった。

HMPV：2009年は7月および9月（各1株）、2010年は3月（3株）、4月（3株）、5月（1株）および6月（2株）であった。

A/H1pdmV：A/H1pdmVは2009年6月（14株）に初検出後、2010年4月（2株）まで毎月検出され、計796

株であった。

2 遺伝子解析

RSV : 10 分離株の G 領域遺伝子系統樹解析の結果、6 株が genotypeA、4 株が genogroupB に分類された (図2)。
HMPV : 10 分離株の F 領域遺伝子系統樹解析の結果、9 株が genotypeA2、1 株が genotypeB2 に分類された (図3)。

D. 考察

我々は2009年6月に初めてA/H1pdmVを確認した。その後、患者の増加に伴い、検体数も増加した。A/H1pdmVは初確認から2010年4月まで毎月検出されたが、季節性InfVは2008年までの検出状況とは若干異なり、2009年8月まで検出され、加えて2009年9月以降、2010年3月の間の検出数は僅かに1であった。

いっぽう、RSV、HRV、HPIVおよびHMPVの分離動向をA/H1pdmV流行前および後で比較したところ、A/H1pdmV終息に伴いRSV、PIVおよびHMPVの分離

数は増加傾向を示した。現在、定点患者情報と病原体情報をあわせ更に検討中である。

水田ら (第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会講演要旨集:78) は山形県におけるARIsに関する長期の疫学研究から、HRV、HPIVなどではA/H1pdmV発生前に比し発生後では顕著に活発化していることを報告している。今回、我々の調査は観察期間、集団規模、ARIsウイルス分離技法等、水田らの調査に比肩できるものではなく、継続した調査と不断のサーベイランス体制進展も今後の課題と思われる。

E. 結論

ARIsウイルスサーベイランスの結果、HPIV、RSVおよびHMPV分離株数は、A/H1pdmVの流行終息期に増加傾向を示した。

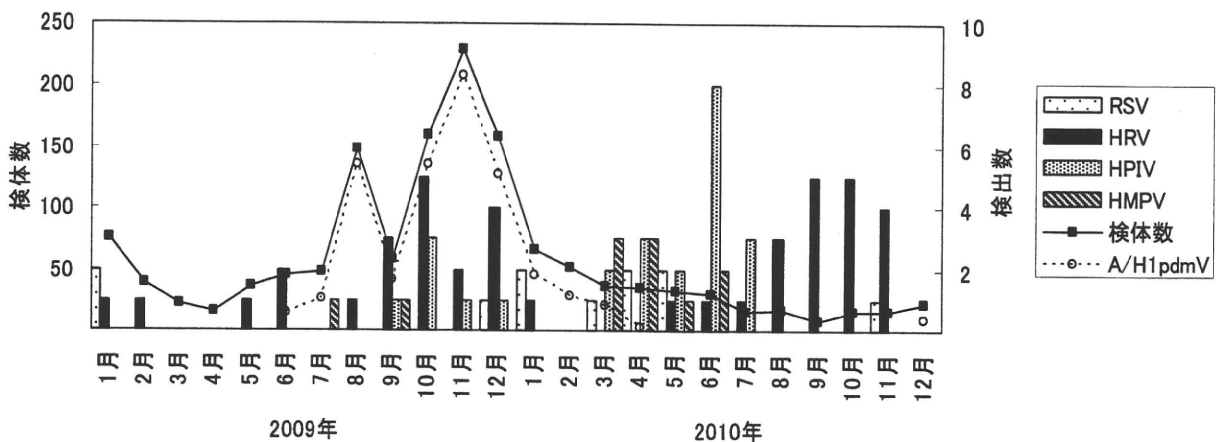


図1 月別検体数の推移とARIsウイルス分離状況

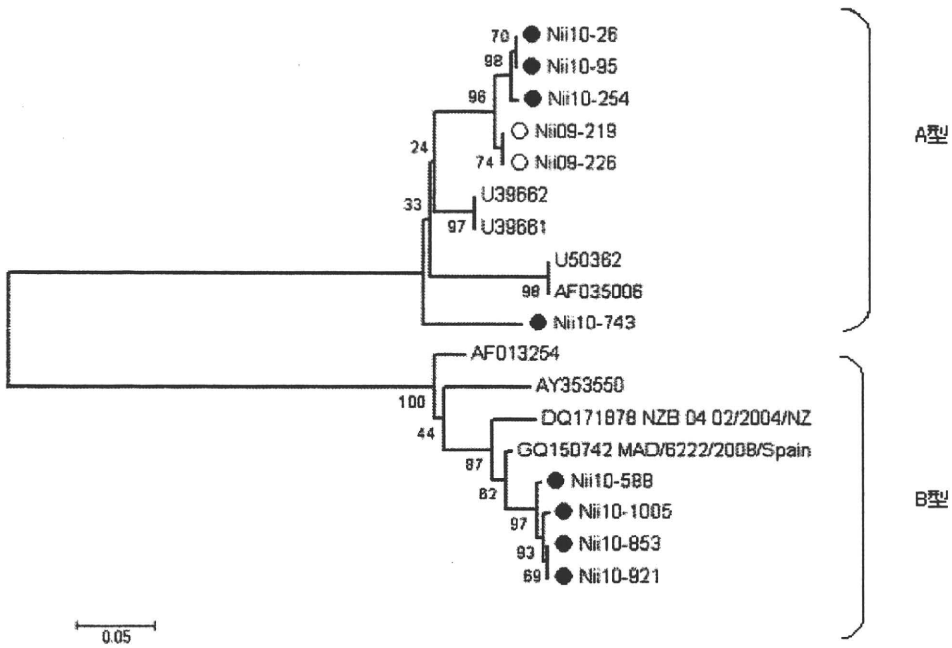


図2 RSV G領域遺伝子分子系統樹(381nt)
 (○: 2009年分離株、●: 2010年分離株)

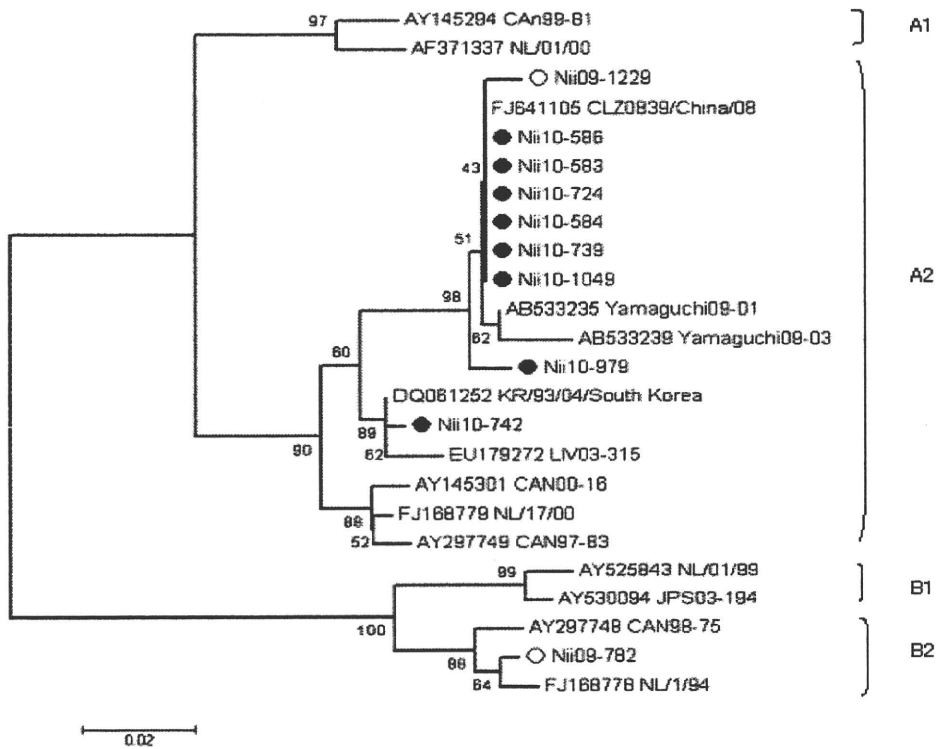


図3 HMPV F領域遺伝子分子系統樹(390nt)
 (○: 2009年分離株、●: 2010年分離株)

呼吸器症状を呈する患者から検出された呼吸器ウイルスについて

研究協力者	中川（岡本） 玲子	山口県環境保健センター
	戸田 昌一	山口県環境保健センター
	渡邊 宜朗	山口県環境保健センター
	濱岡 修二	山口県環境保健センター
	富田 正章	山口県環境保健センター
	調 恒明	山口県環境保健センター

研究要旨

重症呼吸器感染症ウイルスとしてRSウイルスやライノウイルスなどがあげられるが、今回、エンテロウイルス68が検出され、このウイルスも呼吸器症状を悪化させる原因のひとつと考えられた。

A. 研究目的

ウイルス感染により呼吸器症状が悪化し、重症化することは知られているが、実際にどのようなウイルスが検出されるかを知るために、病原体サーベイランス事業の中で採取された検体、また、病原体定点医療機関の中で研究班事業に賛同が得られた機関から採取された検体のうち、呼吸器症状を呈した患者から採取された合計208検体について、ヒトライノウイルス(HRV)、エンテロウイルス(EV)、Respiratory syncytial ウイルス(RSV)、ヒトパラインフルエンザウイルス(HPIV)、ヒトメタニューモウイルス(HMPV)、ヒトボカウイルス(HBoV)について検索を行った。

B. 研究方法

2010年に呼吸器症状を呈して、医療機関を受診した患者から採材された検体（咽頭拭い液または鼻汁）からRNAを抽出後、HRV、EVはEVP4/EVP2領域、RSVはN遺伝子、HPIVはHN遺伝子、HMPVはF遺伝子、HBoVはNP1領域について、PCR法を行い、増幅された遺伝子については塩基配列の解析を行った。

C. 研究結果

HRVAが40件、HRVBが4件、HRVCが31件、EV68が15件、RSVAが11件、RSVBが14件、HPIV1が4件、HPIV2が6件、HPIV3が13件、HPIV4が7件、HMPV A2が7件、HMPV B2が2件、HBoVが4件検出された（表1）。

そのうち重複感染は20件（9.6%）あった。

EV68についてVP4/VP2領域（390nt）について遺伝子解析を行った（図1）。検出された株間の遺伝子相性は90～100%であった。

D. 考察

季節流行のある呼吸器ウイルスとして冬から春先にかけて流行するHMPV、冬期に流行し乳幼児に重篤な呼吸器症状を引き起こすRSVなどがある。

年間を通した検査の結果、EV68は8月から10月の晩夏から初秋にまとまって検出された。国立感染症情報センターに報告されたEV68の検出数を見ても2010年は6～11月にしか報告されておらず、最も多い月は9月であり、今回の検出状況とも一致する。

他のウイルスとの重複感染の例もあるが13件は単独感染であり、このことより、呼吸器症状の発症にEV68が関与していることが考えられる。

この中には喘息症状を起こしている患者もおり、症状の悪化、喘息症状の発現に関与すると考えられる。

E. 結論

呼吸器症状の悪化に関係していると一般的に考えられていたウイルス以外に EV68 (以前は HRV87) も検出されたことより、このウイルスも呼吸器症状を悪化させる原因ウイルスのひとつと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Hasegawa S, Hirano R, Hashimoto K, Haneda Y, Shirabe K, Ichiyama T. Characteristics of pandemic H1N1 influenza viral infection in atopic individuals - Pandemic H1N1

influenza reveals “occult” asthma -

Pediatric Allergy and Immunology, (in press)

2) Hasegawa, S., Matsushige, T., Inoue, H., Shirabe, K., Fukano, R., Ichiyama, T. Serum and cerebrospinal fluid cytokine profile of patients with 2009 pandemic H1N1 influenza virus-associated encephalopathy Cytokine, (in press)

2. 学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

表 1. 月別ウイルス検出数

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
HRVA			1		6	5	6		4	7	6	5	40
HRVB		1		1							2		4
HRVC	1								6	12	7	5	31
EV68								5	6	4			15
RSVA	1	1								2	3	4	11
RSVB					1				1	3	5	4	14
PIV1				1	1		1				1		4
PIV2					1			2	1		2		6
PIV3				1	3	7	2						13
PIV4							1		2	2		2	7
HMPV A2	1		4	1		1							7
HMPV B2		1	1										2
HBoV		1	1	1				1					4
合計	3	4	7	5	12	13	10	8	20	30	26	20	158

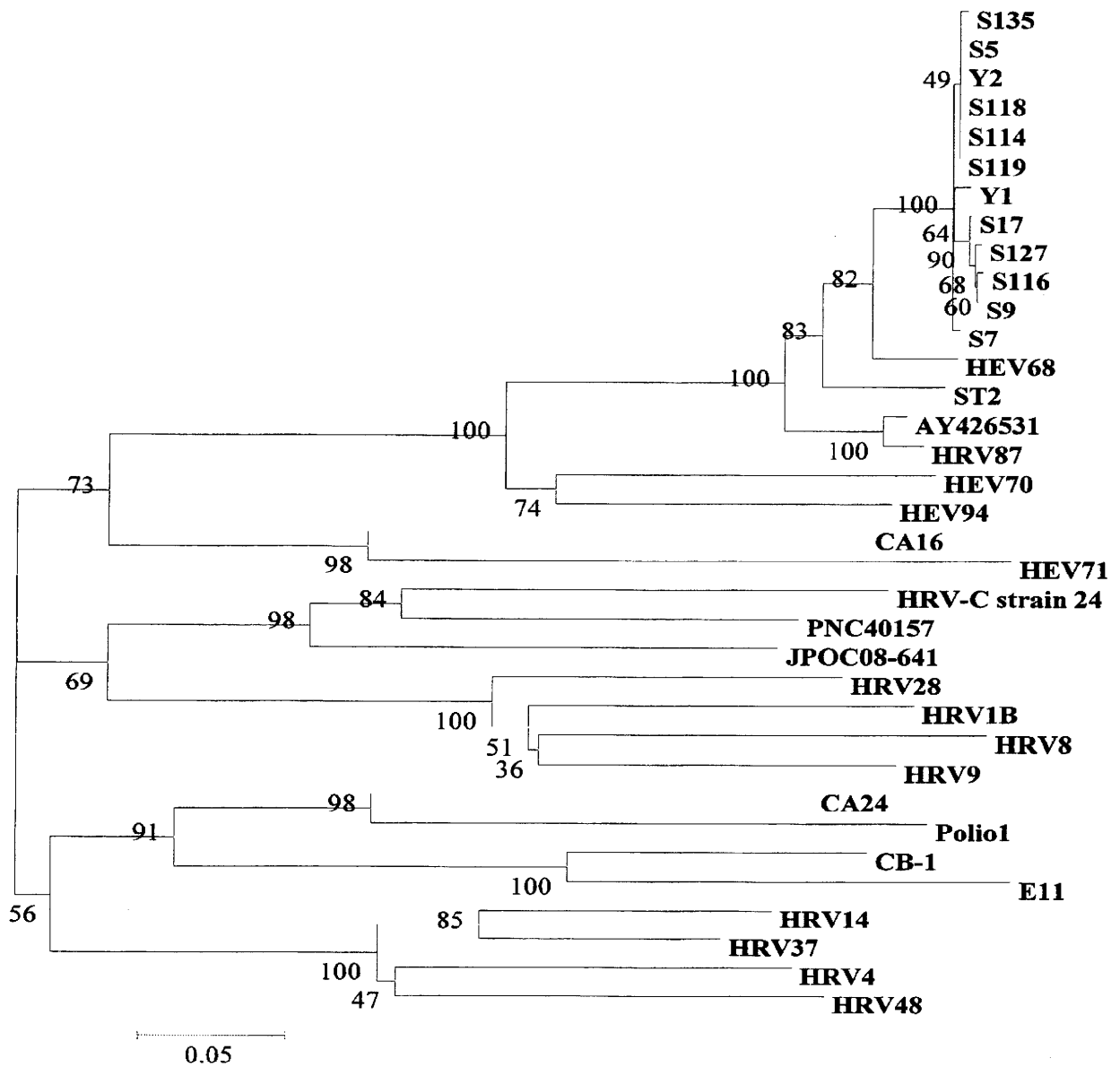


図1 VP4/VP2領域(390nt)分子系統樹

下気道感染症罹患児におけるウイルス検出状況と臨床像

研究協力者 菅井和子 独立行政法人国立病院機構 横浜医療センター小児科
研究協力者 藤塚麻子 独立行政法人国立病院機構 横浜医療センター小児科
本井宏尚 独立行政法人国立病院機構 横浜医療センター小児科
小林慈典 独立行政法人国立病院機構 横浜医療センター小児科
鎌木陽一 独立行政法人国立病院機構 横浜医療センター小児科
荒川美果 栃木県保健環境センター 微生物部
木村博一 国立感染症研究所 感染症情報センター
野田雅博 国立感染症研究所 ウイルス第三部

研究要旨

小児急性疾患による入院の原因としてウイルス感染による下気道感染は多く、喘鳴の原因としても重要である。また、Respiratory Syncytial Virus (RSV) による細気管支炎発症後に気道過敏性亢進が持続し、反復性喘鳴および気管支喘息の発症寄与因子といわれている。さらに、様々なウイルス感染症により気道過敏性が増悪し、気管支喘息発作の誘因となるといわれているが、その中でも近年 Human Rhino Virus (HRV) との関与が大変注目されている[1]。小児下気道感染児における原因ウイルス検索と臨床データの解析を検討した。

2007年11月から2009年3月まで当科に気道感染の診断で入院した児より鼻腔分泌物を採取し、RT-PCR法にてウイルス検索を行った。RSV、HRV、Human Metapneumovirus (HMPV)、Human Parainfluenza Virus (HPIV)、Human Bocavirus (HBoV) のいずれかが検出された全129例（年齢1.3±1.9歳）を対象とし、各症例の臨床像との比較検討を行った。

ウイルス検出結果の内訳は、RSV 55例、HRV 48例、HMPV 3例、HPIV 1例、RSV と HRV の混合感染が 20 例みられた。RSV 単独感染例と HRV 単独感染例を比較すると年齢は有意に RSV 例で低かった ($P<0.05$)。SpO₂ 最低値は RSV 例が有意 ($P<0.05$) に低く、酸素投与有無は RSV 例が有意に多かった ($P<0.05$)。HRV 単独感染例と RSV と HRV 混合感染例を比較したところ、混合感染例が呼吸状態は有意に悪かった。RSV 感染により入院となる児は低年齢で初回喘鳴の児が多かった。気道過敏性を有する児において HRV 感染は重要な喘鳴悪化要因となりさらに RSV との混合感染により重症化することが示唆された。

A. 研究目的

小児期の急性期疾患の中でも気道感染症は非常に多く、特に乳幼児は入院を余儀なくされることも多い。近年共働き家庭の増加により乳児期早期より集団生活に入る児も多く、ウイルス暴露の機会が多い。感染症罹患により児本人が受けるストレスはもちろんのこと保護者の日常生活にも多大な支障をきたす。インフルエンザ菌b型ワクチンや肺炎球菌ワクチンなどの開始により小児細菌感染症に対する予防策もようやく進んできたところではあるが、気道ウイルスに言及すれば積極的な予防策はないに等しい。

小児の気道ウイルス感染の原因ウイルスとその臨床像を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

2007年11月から2009年3月まで当科に下気道感染の診断で入院した児163例より口頭により保護者より同意を得て鼻腔分泌物を採取した。明らかな細菌性肺炎は除外した。鼻汁検体採取に際してのスワブは、Advanced flocced swabs(Copan innovation, Italy)を用い、ウイルス保存輸送液は、既成の Universal Transport Medium(UTM: Copan innovation, Italy)を用いた。採取した保存液は-80℃にて保存し、RT-PCR法にてウイルス検索を行った。Respiratory Syncytial Virus (RSV)、Human Rhino Virus (HRV)、Human Metapneumo Virus (HMPV)、Human Parainfluenza Virus (HPIV)、Human Boca Virus (HBoV)のいずれかが検出された全129例(年齢1.3±1.9歳)を対象とし、各症例の臨床像との比較検討を行った。

C. 研究結果

ウイルス検出結果の内訳は、RSV55例、HRV48例、HMPV3例、HPIV1例、RSVとHRVの混合感染が20例みられた。RSV単独感染例とHRV単独感染例を比較すると年齢は有意にRSV例で低かった($P<0.05$)。SpO₂最低値はRSV例が有意($P<0.05$)に低く、酸素投与有無はRSV例が有意に多かった($P<0.05$) (表1)。RV単独感染例とRSVとHRV混合感染例を比較したと

ころ、混合感染例で呼吸状態は有意に悪かった(表2)。

D. 考察

RSV感染により入院となる児は低年齢で初回喘鳴の児が多い。RSV感染児で酸素需要が有意に高く呼吸状態が悪い児が多いのは、低年齢児であるがため物理的に気道径が細く呼吸障害も来しやすいと考える。

乳幼児期にウイルス性下気道感染症に罹患した場合、重篤になる場合も多く、急性期のみでなく喘鳴を来した患者の約半数は、RSV感染後に気道過敏性亢進が持続することも以前から知られている[2]。さらに、過去のコホートスタディの結果からは、3歳までのRSV下気道感染の既往は、他のウイルスの下気道感染症と違い、5~6歳までの3回/1年間以上の喘鳴と相関があるとのデータ[3]、乳児期に入院を要したRSV感染を起こした児は、アトピー素因などに差がない対照群に比しても、学童期における気管支喘息、アレルギー性鼻結膜炎の罹患率が有意に高値であり、また吸入性アレルギーに対する特異的IgE値陽性率がRSV罹患群で有意に高値であったとの報告もある[4]。このように、RSV感染と気管支喘息発症には強い関連性がある。しかし、一方でRSV感染児の喘鳴は、アレルギー感作と関連しないtransient wheezerである可能性のデータ[5]や、1歳以降の幼児の喘鳴にはむしろHRVとの関連が強く[6]、さらに6歳時に気管支喘息症状のある児では乳幼児期にRVに罹患していた児が有意に多いというデータもある[8]。今回の我々のデータでも、過去に喘鳴の既往のある児、すなわち気道過敏性を有すると思われる児においてRV感染により悪化している例が多かった。

E. 結論

乳幼児期早期にRSV感染に罹患した児が初回喘鳴となることが多く、それを機に喘鳴を繰り返すことも考えられる。また、気道過敏性を有する児においてHRV感染は重要な喘鳴悪化要因となりさらにRSVとの混合感染により重症化することが示唆された。

今後RSV感染後の喘鳴が後の症状にどう影響を及ぼ

すか、気道過敏性素因を有する児が何を契機に悪化するのか検討する必要がある。さらに症例を重ねてウイルス検出の年次推移や個々の喘鳴などの予後、症状に関して経過を追い、喘息増悪時のウイルス感染の関与に関して検討を行う。

F. 引用文献

- 1) Busse, W W. et.al : Role of viral respiratory infections in asthma and asthma exacerbations. *Lancet* :376.:826-834, 2010
- 2) Carlsen KH, Larsen S, Bjerve O et.al: Acute bronchiolitis ; predisposing factors and characterization of infants at risk. *Pediatr Pulmonol* 3 : 153-160,1987
- 3) Martinez FD, Wright AL, Taussig LM,et.al : Asthma and wheezing in the first six years of life. *The Group Health Medical Associates. N Eng J Med* 332 ; 133-138,1995
- 4) Sigurs N, Gustafsson PM, Bjarnason R, et.al : Severe respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy and asthma and allergy at age 13. *Am J Respir Crit Care Med* 171 : 137-141,2005
- 5) Bont L, Steijn M, Van Aalderen WM, et.al : Seasonality of long term wheezing following respiratory syncytial virus lower respiratory tract infection. *Thorax* 59 : 512-516, 2004

- 6) Kotaniemi-Syrjanen A, Vainionpaa R, Reijonen TM, et.al : Rhinovirus-induced wheezing in infancy- the first sign of childhood asthma? *J Allergy Clin Immunol* 111 : 66-71,2003
- 7) Bisgaard H : A randomized trial of montelukast in respiratory syncytial virus postbronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* : 167. 379-383, 2003
- 8) Jackson, D J, et.al : Wheezing rhinovirus illnesses in early life predict asthma development in high-risk children *Am J. Respir Crit Care Med*:178.667-672,200

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Goto-Sugai K, Tsukagoshi H, Mizuta K, Matsuda S, Noda M, Sugai T, Saito Y, Okabe N, Tashiro M, Kozawa K, Tanaka R, Morita Y, Nishina A, and Kimura H: Genotyping and phylogenetic analyses of major genes in respiratory syncytial virus isolated from infants with bronchiolitis. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 63, 393-400. 2010

2. 学会発表

- 1) 本井宏尚、菅井和子、藤塚麻子、小林慈典、木村博一、野田雅博：下気道感染症罹患児におけるウイルス検出状況と臨床像。第59回日本感染症学会東日本地方学術集会、2010年10月21日、東京

表1 RSV 単独陽性群と HRV 単独陽性群の臨床像の比較

	RSV(n=55)	HRV(n=48)	P
年齢(歳)	0.7±0.5	2.0±2.7	<0.001
入院日数(日)	6.6±2.6	4.1±4.0	<0.001
最高発熱(°C)	38.6±0.9	37.8±1.0	<0.001
有熱期間(日)	3.1±2.3	1.1±1.7	<0.001
喘鳴(%)	41(75%)	36(75%)	0.958
喘鳴持続期間(日)	4.1±5.2	6.7±10.4	0.118
SPO ₂ の最低値(%)	95±2.0	96±2.1	<0.01
酸素投与	18(33%)	3(6%)	<0.001
ステロイド投与	21(38%)	26(54%)	0.104
喘鳴の既往	7(13%)	26(54%)	<0.001

表2 HRV 単独陽性群と RSV/HRV 混合陽性群の臨床像の比較

	HRV (n=48)	RSV+HRV (n=20)	P
年齢(歳)	2.0±2.7	1.2±1.3	0.105
入院日数(日)	4.1±4.0	5.5±3.8	0.186
最高発熱(°C)	37.8±1.0	38.3±0.8	<0.05
有熱期間(日)	1.1±1.7	2.3±2.3	<0.05
喘鳴(%)	36(75%)	15(75%)	1.000
喘鳴持続期間(日)	6.7±10.4	5.0±3.5	0.319
SPO ₂ の最低値(%)	96±2.1	95±1.2	<0.05
酸素投与	3(6%)	4(20%)	0.089
ステロイド投与	26(54%)	12(60%)	0.659
喘鳴の既往	26(54%)	8(40%)	0.287

小児急性下気道感染患者における急性呼吸器ウイルス
遺伝子検出と解析（第二報）

研究協力者 荒川 美果 栃木県保健環境センター
船渡川圭次 栃木県保健環境センター
菅井 和子 国立病院機構横浜医療センター小児科
小林 慈典 国立病院機構横浜医療センター小児科
鎌木 陽一 国立病院機構横浜医療センター小児科
藤塚 麻子 横浜市立大学附属市民総合医療センター
小児総合医療センター
木村 博一 国立感染症研究所
野田 雅博 国立感染症研究所

研究要旨

2010年に医療機関を受診した下気道疾患患者115例について、呼吸器ウイルス[Respiratory syncytial ウイルス (RSV)、ヒトライノウイルス (HRV)、ヒトメタニューモウイルス (HMPV)、ヒトパラインフルエンザウイルス (HPIV)、ヒトボカウイルス (HBoV)、アデノウイルス (AdV) およびインフルエンザウイルス (FluV)]の検索を実施した。その結果、RSV 35株、HRV 39株、EV 7株、HPIV 5株、HBoV 4株、AdV 2株およびFluV 1株が検出された。

A. 研究目的

小児急性疾患の中で下気道感染症の割合は非常に高く、原因の多くはウイルス感染であることが知られている。感染ウイルスの種類、感染時期によっては新生児期では重篤となる場合や、乳幼児期の感染により気道過敏性亢進状態が持続し、気管支喘息発症あるいは増悪にも大きく関与する場合がある。

そこで横浜市内の医療機関を受診した下気道疾患患者115例について、急性呼吸器感染症 (ARIs) の主要原因ウイルスのRespiratory syncytial ウイルス (RSV)、ヒトライノウイルス (HRV)、ヒトメタニューモウイルス (HMPV)、ヒトパラインフルエンザウイルス (HPIV)、ヒトボカウイルス (HBoV)、アデノウイルス (AdV) およびインフルエンザウイルス (FluV) のウイルス検出を実施した。

B. 研究方法

2010年に下気道炎症状を呈し、国立病院機構横浜医療センターおよび横浜市立大学附属市民総合医療センター小児総合医療センターを受診し、入院あるいは外来加療を施した児から採取された鼻腔ぬぐい液115検体を用いた。RNA抽出後、RSVはG遺伝子¹²⁾、HRVはVP4/VP2領域遺伝子³⁾、HMPVはF遺伝子⁴⁾、HPIVはHN遺伝子⁵⁾、AdVはhexon遺伝子⁶⁾をRT-PCR法により、またHBoVはNP1領域⁷⁾をPCR法によりそれぞれ増幅した。FluVはリアルタイムPCR法⁸⁾によりA型およびB型を検出した。RSVのG遺伝子、HRVのVP4/VP2領域の増幅産物およびHBoVの全長領域⁹⁾について、塩基配列解析および近隣結合法による系統樹解析を行った。

また、5種類の細胞 (HEp-2、Vero E6、A549、RD18S およびMRC-5細胞) を用いウイルス分離を行った。

C. 研究結果

検体を用いた RT-PCR 法および PCR 法によるウイルス検出成績を図 1 に示した。RSV 陽性 35 検体、HRV 陽性 39 検体、EV 陽性 7 検体、HPIV 陽性 5 検体、HBoV 陽性 4 検体、AdV 陽性 2 検体および FluV 陽性 1 検体であった。このうち 10 例から、複数のウイルス (RSV と FluV : 1 例、HRV と他の ARI ウイルス : 9 例) が検出された。32 検体からはいずれのウイルスも検出されなかった。

ウイルス分離を実施した感染細胞培養液上清を用いた PCR 法によるウイルス検出結果を図 2 に示した。

RSV の G 遺伝子系統樹解析結果を図 3 に示した。35 株を解析した結果、Subgroup A: 25 株、Subgroup B: 10 株に分類された。

HRV の VP4/VP2 領域系統樹解析結果を図 4 に示した。38 株を解析した結果、species A: 19 株、species B: 1 株および species C: 18 株に分類された。また、EV 陽性となった 7 株は、いずれも EV68 近縁株であった。

HBoV の全領域系統樹解析結果を図 5 に示した。解析した 4 株はすべて group1 に分類された。

D. 考察

急性下気道炎症状を呈する患者から採取された鼻腔ぬぐい液 115 検体から ARIs ウイルス検索を実施した結果、83 検体 (72.2%) から RS、HRV、EV、HPIV、HBoV、AdV および FluV のいずれかの ARIs ウイルスが検出された。本研究においては、RSV および HRV 感染例が多く、また HRV と他の ARIs ウイルスとの co-infection と推定された症例が 9 例あった。

35 株の RSV G 遺伝子系統樹解析の結果、Subgroup A に分類された 25 株は 1 株を除いて genotype GA2 に、Subgroup B に分類された 10 株はすべて genotype BA に分類され、系統樹上、遺伝学的に近縁な株が本検討症例に関与していたことが推定された。また、HRV の VP4/VP2 領域系統樹解析結果から、検出株は species A、B および C にわたる遺伝学的に多様なウイルスであった。HBoV の全領域遺伝子の系統樹解析の結果、4 株はすべて group1 に分類された。この 4 例の検体採取時期

4 月から 6 月の間、患者年齢は 7 カ月から 2 歳 5 カ月であった。

E. 結論

急性下気道症状を呈した小児の鼻腔ぬぐい液 115 検体を用い、ARIs ウイルス検索を実施した結果、約 72% の症例から ARIs ウイルスが検出された。検出ウイルス、臨床症状等について詳細解析を継続行う。

F. 参考文献

- 1) Sullender et al.(1993) Analysis of Respiratory Syncytial Virus Genetic Variability with Amplified cDNAs. J Clin Microbiol.31: 1224-1231.
- 2) Parveen et al.(2006) Genetic Variability in the G Protein Gene of Group A and B Respiratory Syncytial Viruses from India. J Clin Microbiol.44:3055-3064.
- 3) 石古博昭ら(1999) 遺伝子系統解析によるエンテロウイルスの同定 臨床とウイルス 27:283-293.
- 4) Peret et al.(2002) Characterization of human metapneumovirus isolated from patients in North America. J Infect Dis. 185: 1660-1663.
- 5) Echevarria et al.(1998) Simultaneous Detection and Identification of Human Parainfluenza Viruses 1,2,and 3 from Clinical Samples by Multiplex PCR. J Clin Microbiol.36:1388-1391.
- 6) Miura-Ochiai et al. (2007) Quantitative detection and rapid identification of human adenoviruses. J Clin Microbiol; 45:958-67.
- 7) Allander et al.(2005) Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. Proc Natl Acad Sci. 102:12891-12896.
- 8) 病原体検出マニュアル H1N1 新型インフルエンザ (国立感染症研究所 2009 年 11 月 ver.2)
- 9) Chieochansin et al. (2007) Complete coding sequences and phylogenetic analysis of Human Bocavirus (HBoV). Virus Res:129, 54-57

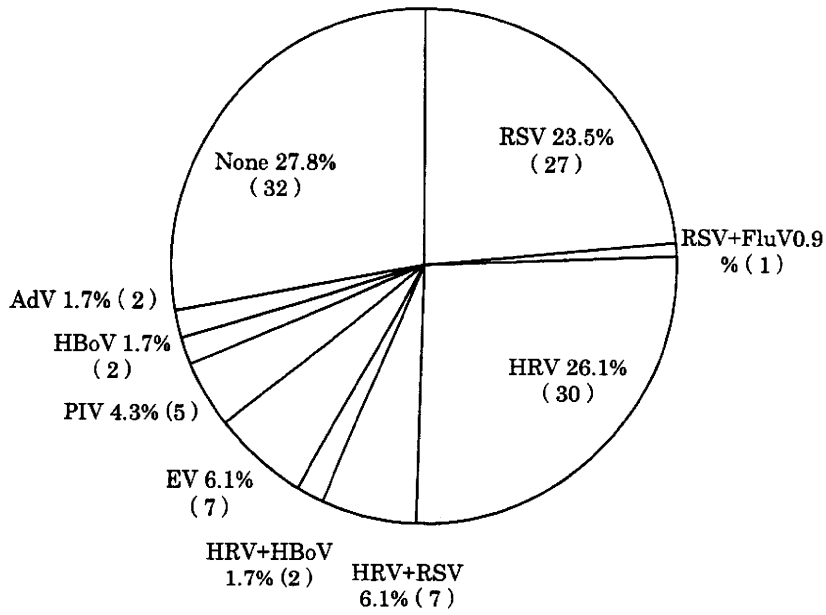


図1 ウイルス検出結果 (検体)

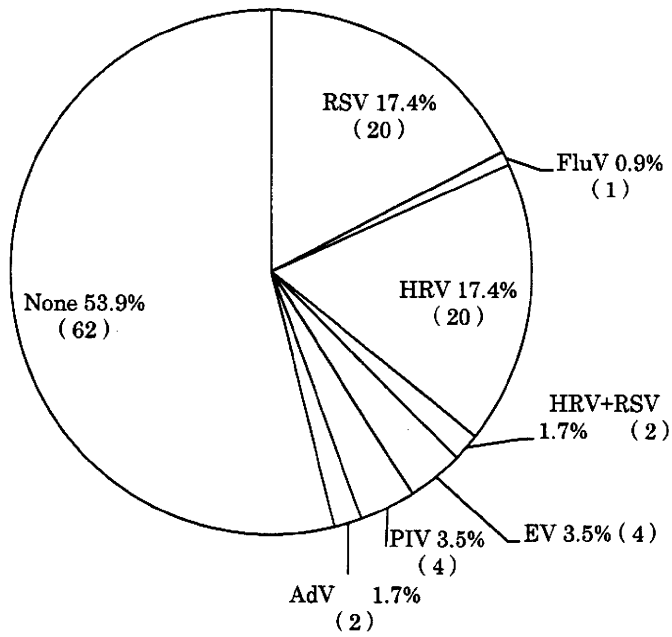


図2 ウイルス検出結果 (感染培養液)

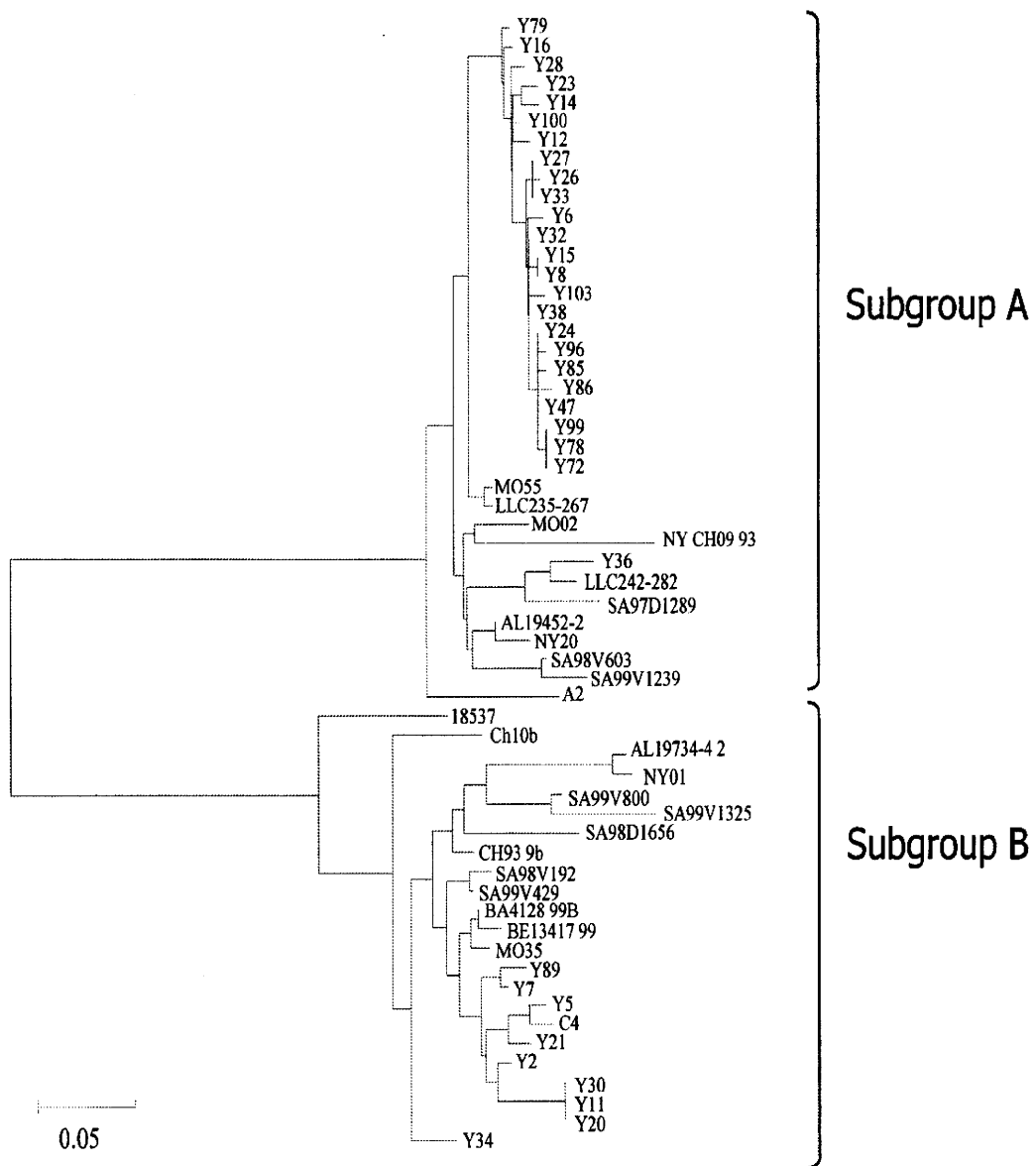


图3 RSV基于G基因的进化树 (Subgroup A, 240 nt; Subgroup B, 294 nt)

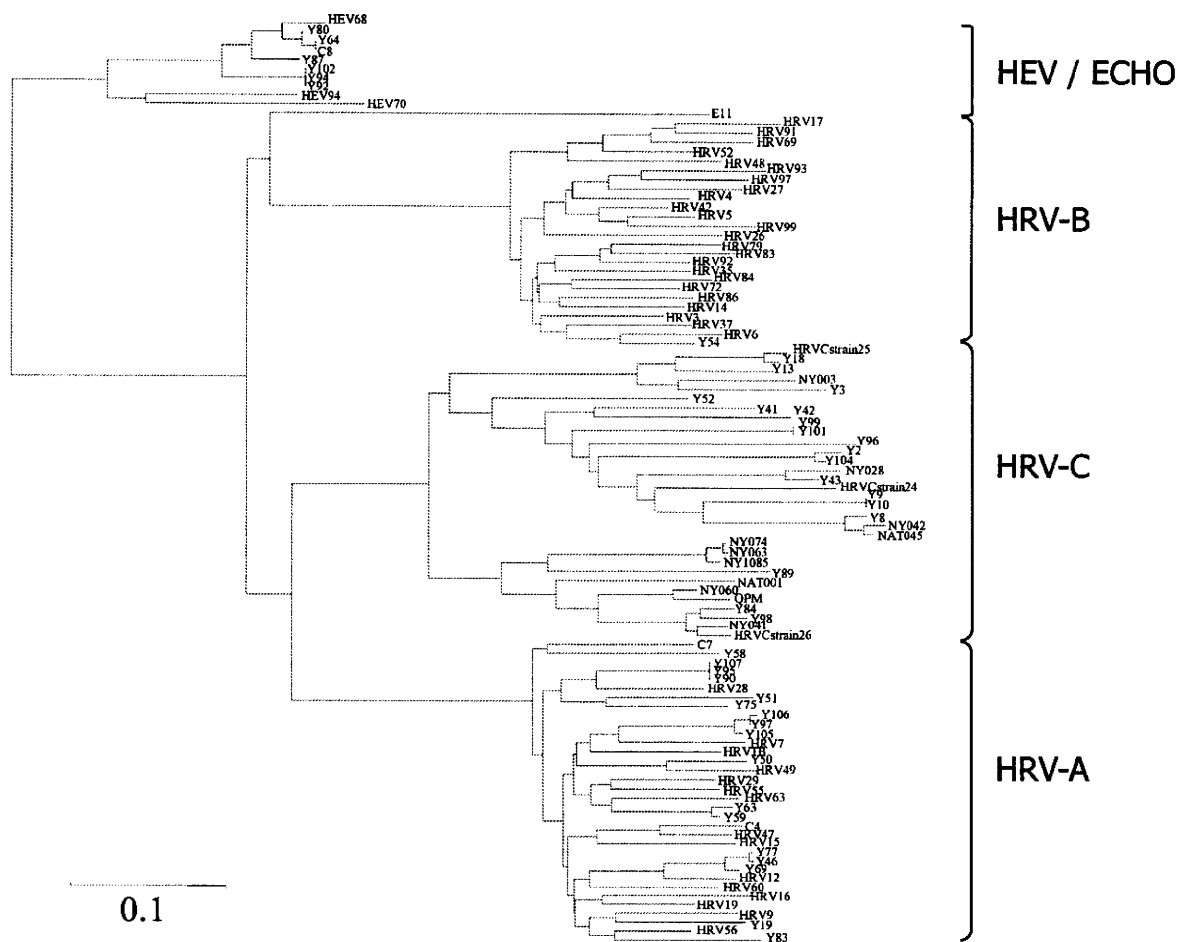


图 4 Phylogenetic tree of HRV based on VP4/VP2 coding region (420 nt)

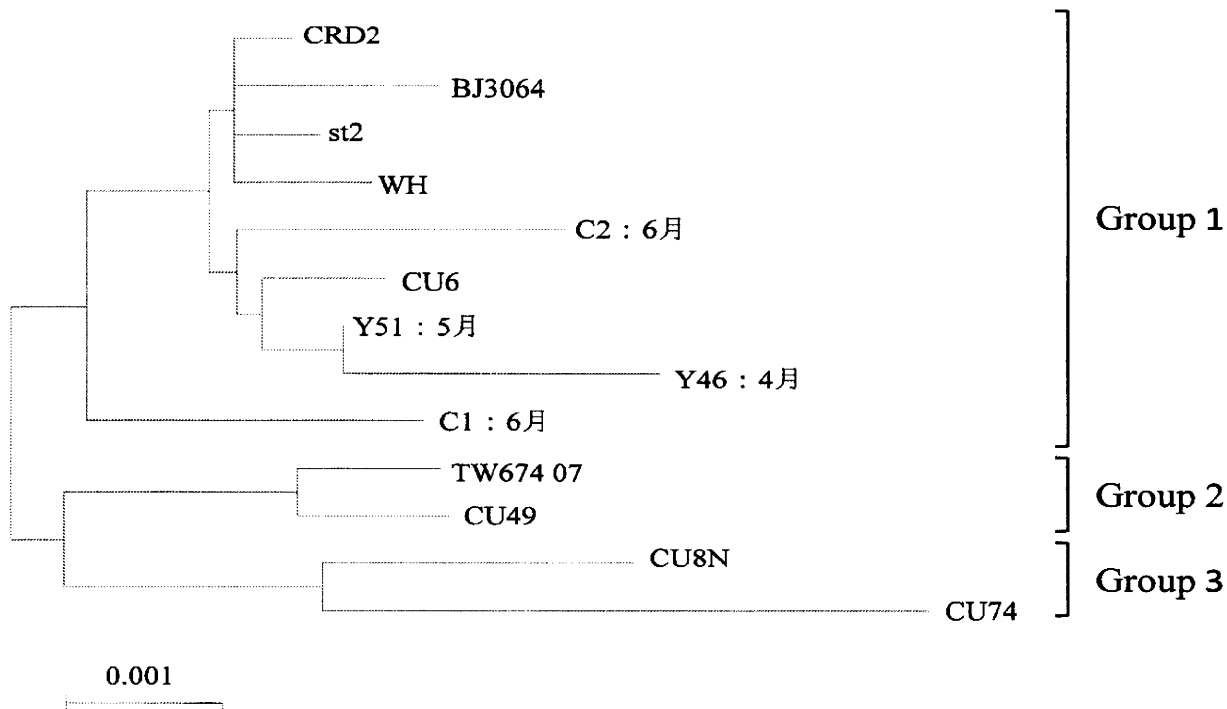


图 5 Phylogenetic tree of human bocavirus(HBoV) based on HBoV full-length genome

島根県におけるヒトメタニューモウイルスの分子疫学

研究協力者 小村珠喜 島根県保健環境科学研究所
野田雅博 国立感染症研究所
木村博一 国立感染症研究所

研究要旨

島根県におけるヒトメタニューモウイルス（HMPV）の浸潤状況を把握するため、2009年に2高齢者福祉施設で発生した集団呼吸器疾患から検出された10株と2009-2010年に実施したウイルスサーベイランスにおいて検出された15株について分子疫学解析を試みた。その結果、本県における両年の流行HMPV株はgenotype B2が主流で次いでA2であり、B1は散発的に検出されたのみであった。

A. 研究目的

2009年に島根県内の2高齢者福祉施設において新型インフルエンザ（AH1pdm）を疑う急性呼吸器疾患（ARIs）の発生があり、いずれの事例もAH1pdm実驗室診断によりは否定された。原因ウイルスを精査したところ、両施設からヒトメタニューモウイルス（HMPV）が計10株、検出された。

いっぽう、2009-2010年の間に実施したウイルスサーベイランスにより、HMPVが計15株、検出された。

そこで、県内のHMPV感染実態を把握するため検出されたHMPVの分子疫学的解析を試みた。

B. 研究方法

2009年の2高齢者福祉施設におけるARI集団発生時の患者から採取された鼻腔ぬぐい液12検体、2009-2010年に県内の医療機関を受診した散発性呼吸器感染症患者から得られた鼻腔咽頭ぬぐい液、それぞれ272、188検体の計472検体を用いた。

HMPVの検索は検体をQIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)でRNAを抽出し、SuperScriptTM(Invitrogen)でcDNAを作成した後、既報¹⁾に準じたPCRにより実施した。増幅産物について塩基配列解析、近隣結合法による系統樹解析を行った。

なお、AH1pdm、Respiratoru Syncytial ウイルス（RSV）、ライノウイルス（HRV）およびヒトパラインフルエンザウイルス（HPIV）の検出を既報²⁴⁾に準じて試みた。

C. 研究結果

1. 高齢者福祉施設におけるARIs集団発生概要とウイルス検索成績

施設1（入所者30名、職員13名）では、2009年7月17日-同26日の間に入所者16名と職員1名、計17名(40%)がARIsと診断された。施設2（入所者99名、職員34名）では、2009年9月28日-10月30日の間に入所者27名(27%)がARIsと診断された。

ウイルス検索の結果、施設1で3株、施設2で7株のHMPVがそれぞれ検出された（表1）。

なお、AH1pdm、RSV、HRVおよびHPIVは検出されなかった。

患者の平均年齢は両施設でそれぞれ82.7歳、65歳であり、38℃以上の発熱および咳を主症状とし、下気道炎の発症率はそれぞれ5.8%、29.6%であった。また、基礎疾患の有無で発症率に差はみられなかったが、基礎疾患のある患者で下気道炎の発症率が有意に高かった(Fisher exact test, $p < 0.05$)。

2. HMPVサーベイランス成績

HMPV サーベイランスを実施した結果、2009 年はインフルエンザ、肺炎等の診断例から 9 株、2010 年は発熱、肺炎等の診断例から 6 株、それぞれ検出された(表 1)。2009 年は新型インフルエンザの流行期である 7-9 月に多く検出され、インフルエンザと診断、採取された検体が半数以上であったが、2010 年はインフルエンザの流行が終息した 3-5 月に検出された。患者の年齢も 11 ヶ月から 93 歳までと幅広い年代から検出され、80 歳以上の高齢者で HMPV が検出された患者 3 名はいずれも肺炎の診断であった。

3. 解析成績

25 株の HMPV *F* 遺伝子の一部の塩基配列解析 (292nt) および近隣接合法による系統樹解析を行った(図 1)。2 集団発生例から検出された株 (Shimane 09-10, Shimane 09-20) の塩基配列の相同性は 100%を示し、genotype はすべて B2 に分類された。

genotype A2 では、2010 年に 2009 年と同一株 (Shimane 10-04 株) が検出された一方で、2009 年とは異なる株 (Shimane 10-01、10-06 株) も 2 株検出された。genotype B1 は、2 年間を通じて 2 株 (Shimane 09-02, 09-04 株) のみで、この 2 株は同一地域で検出されたものであった。genotype B2 の 17 株のうち 2 株 (Shimane 09-01、10-05 株) が遺伝子的にもその他の B2 とは異なる株であったが、残り 15 株に変異は見られなかった。また、集団発生事例の 10 株と 2009 年サーベイランスから検出された 2 株 (Shimane 09-05、Shimane 09-06 株) の塩基配列の相同性は 100%を示した。

D. 考察

島根県では ARIs ウイルスサーベイランス体制の充実を図っている。2009 年 AH1pdm 流行期に 2 件の ARIs 集団発生があった。精査の結果両事例は HMPV に起因する ARIs であったことを明らかにした⁹⁾。

検出された HMPV 株 *F* 遺伝子の一部について相同性、系統樹解析を実施した結果、genotype は B2 が 17 株、A2 が 6 株および B1 が 2 株に分類され、2009 年-2010 年の間に県内で流行した HMPV は B2 が主流であったことが示唆された。とくに、高齢者施設内の流行は 2

施設ともに同一 genotype B2 の HMPV が検出された。

集団内および HMPV サーベイランスにおいて、高齢者の患者の臨床症状は重症化傾向を示しており、高齢者において、重症化との関連や集団感染の原因として HMPV はインフルエンザウイルスとともに注意すべき ARIs ウイルスと考える。

また、本県のこれまで ARIs ウイルスサーベイランスは季節性インフルエンザと AH1pdm 確定検査を主として実施されていたが、検査体制整備の結果、2009 年の AH1pdm 流行期に施設内の HMPV 流行を明らかにした。今回 2009 年-2010 年の 2 年間の流行状況について解析を行ったが、HMPV は幅広い年代において検出され、特に高齢者での動態も注目されることから、今後も更に継続して幅広いサーベイランスを行っていく必要があると考える。

E. 参考文献

- 1) 病原体検出マニュアル : ヒトメタニューモウイルス <http://www.nih.go.jp/niid/reference/hMPV-manual.pdf>
- 2) 病原体検出マニュアル H1N1 新型インフルエンザ (2009 年 5 月 ver.1)
- 3) 病原体検出マニュアル : RS ウイルス <http://www.nih.go.jp/niid/reference/RS-manual.pdf>
- 4) Savolainen C, Blomqvist S, Mulders MN, Hovi T. Genetic clustering of all 102 human rhinovirus prototype strains: serotype 87 is close to human enterovirus 70. *J Gen Virol.* 2002 Feb;83(Pt 2):333-40.
- 5) Aguilar JC, Pérez-Breña MP, García ML, Cruz N, Erdman DD, Echevarría JE. Detection and identification of human parainfluenza viruses 1, 2, 3, and 4 in clinical samples of pediatric patients by multiplex reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol.* 2000 Mar;38(3):1191-5.
- 6) Tamaki Omura, Setsuko Iizuka, Kenji Tabara, Hiroyuki Tsukagoshi, Katsumi Mizuta, Shunji Matsuda, Masahiro Noda, and Hirokazu Kimura, Genetic analysis of *F* gene of human metapneumovirus (HMPV) detected during an outbreak in an old-age home in Shimane Japan, in 2009: *Jpn. J. Infect. Dis.*, 64(1), 85-87, 2011

F. 研究発表

1. 論文発表

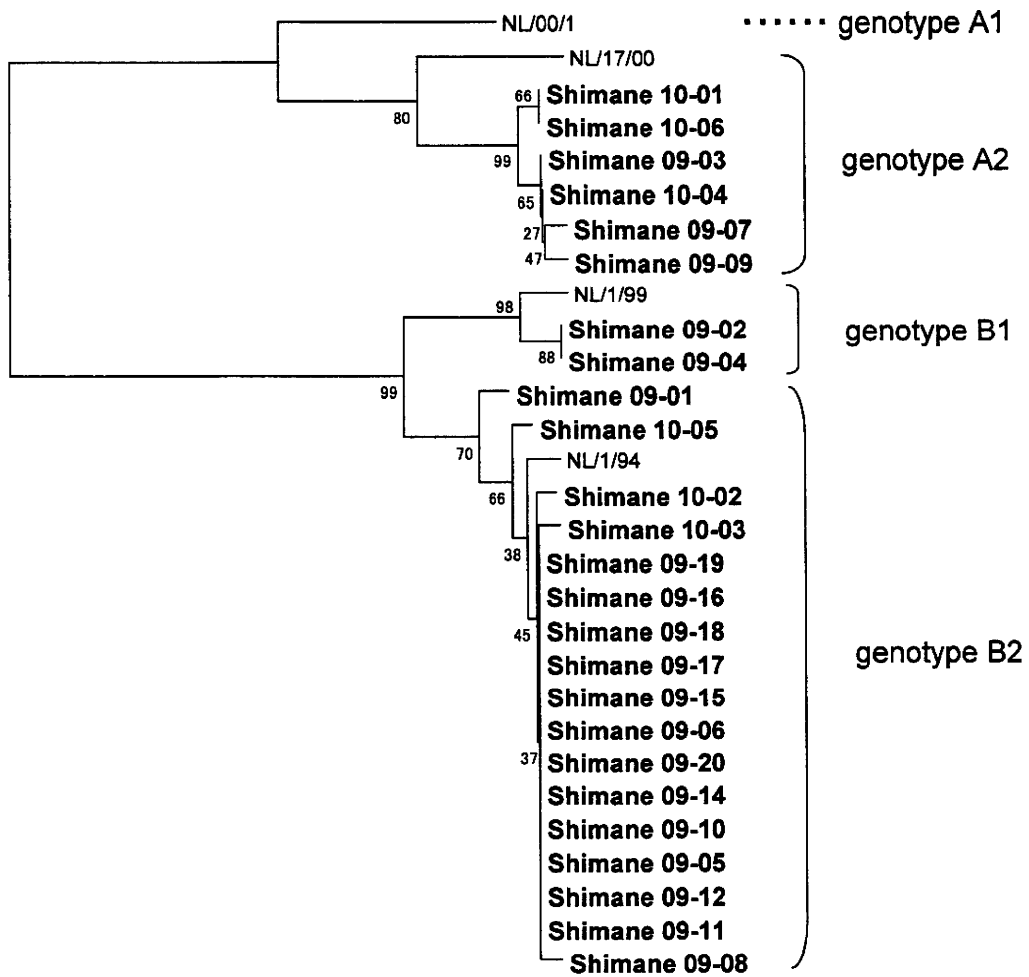
1) Omura T, Iizuka S, Tabara K, Tsukagoshi H, Mizuta K, Matsuda S, Noda M and Kimura H. Genetic analysis of *F* gene of human metapneumovirus (HMPV) detected during an outbreak in an old-age home in Shimane Japan, in 2009: *Jpn. J. Infect. Dis.*,64(1), 85-87, 2011

2. 学会発表

松田俊二、小村珠喜、野田雅博：重症心身障害児(者)病棟における呼吸器感染症の流行について 第80回日本感染症学会西日本地方会学術集会(平成22年11月19、20日)11月20日 松山市 (松山市総合コミュニティセンター)

表1 2009-2010年島根県で検出されたHMPV一覧

年	発生区分	年齢	性別	採取年月日	診断	ウイルス株	遺伝子型
2009	集団(施設1)	91	男	2009/7/30	ARIs	Shimane 09-10	B2
2009	集団(施設1)	81	男	2009/7/30	ARIs	Shimane 09-11	B2
2009	集団(施設1)	93	男	2009/7/30	ARIs	Shimane 09-12	B2
2009	集団(施設2)	56	女	2009/10/23	ARIs	Shimane 09-14	B2
2009	集団(施設2)	56	女	2009/10/23	ARIs	Shimane 09-15	B2
2009	集団(施設2)	69	男	2009/10/23	ARIs	Shimane 09-16	B2
2009	集団(施設2)	65	女	2009/10/23	ARIs	Shimane 09-17	B2
2009	集団(施設2)	55	男	2009/10/23	ARIs	Shimane 09-18	B2
2009	集団(施設2)	65	女	2009/10/23	ARIs	Shimane 09-19	B2
2009	集団(施設2)	61	男	2009/10/30	ARIs	Shimane 09-20	B2
2009	散発	68	男	2009/3/26	インフルエンザ	Shimane 09-01	B2
2009	散発	92	女	2009/7/1	肺炎	Shimane 09-02	B1
2009	散発	5	男	2009/7/22	インフルエンザ	Shimane 09-03	A2
2009	散発	15	女	2009/8/3	インフルエンザ	Shimane 09-04	B1
2009	散発	57	女	2009/8/17	インフルエンザ	Shimane 09-05	B2
2009	散発	4	男	2009/8/12	インフルエンザ	Shimane 09-06	B2
2009	散発	1	女	2009/9/7	扁桃炎	Shimane 09-07	A2
2009	散発	11ヶ月	男	2009/9/8	上気道炎	Shimane 09-08	B2
2009	散発	56	男	2009/12/5	急性呼吸不全	Shimane 09-09	A2
2010	散発	6	女	2010/3/8	インフルエンザ	Shimane 10-01	A2
2010	散発	93	女	2010/3/6	肺炎	Shimane 10-02	B2
2010	散発	6	男	2010/3/24	咽頭炎	Shimane 10-03	B2
2010	散発	1	女	2010/4/19	発熱	Shimane 10-04	A2
2010	散発	81	女	2010/4/22	肺炎	Shimane 10-05	B2
2010	散発	13	女	2010/5/6	発熱	Shimane 10-06	A2



0.02

図1 HMPV F 遺伝子系統樹(292nt)

(太字は島根県検出株)