

〔短 報〕

# 石川県における呼吸器感染症起因ウイルスの流行状況(第1報)

— ヒトメタニューモウイルスの詳細解析 —

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部 ウイルスグループ

児玉 洋江・中澤 柁哉  
成相 絵里・倉本 早苗

## 〔和文要旨〕

小児急性呼吸器感染症患者から採取された159検体について呼吸器感染症起因ウイルスの検索を行った結果、119検体(74.8%)から152のウイルスが検出された。ヒトメタニューモウイルスは21検体(13.2%)から検出され、サブグループの内訳はA2bが4株、B1が14株、B2が3株であった。解析が可能であったA2b 3株はいずれもG遺伝子の同一部位に180塩基の重複配列挿入変異があった。検出ウイルスと下気道炎の有無について解析した結果、ヒトメタニューモウイルスが検出された患者のみが有意に下気道炎を呈していた。

キーワード：ヒトメタニューモウイルス，呼吸器感染症，下気道炎

本稿は第29回臨床微生物学会総会・学術集会(平成30年2月11日 岐阜県)において発表した。

## 1 はじめに

ヒトメタニューモウイルス(Human metapneumovirus 以下、hMPV)は、2001年に初めて発見されたウイルスであり、乳幼児の呼吸器感染症起因ウイルスの1つである<sup>1)</sup>。

hMPVはウイルス粒子表面のタンパク構造の違いから2つのグループ(A, B)に大別され、さらに5種類のサブグループ(A1, A2a, A2b, B1, B2)に分類される。このうちサブグループA2bについては、G遺伝子に重複配列挿入をもつ株が報告されている<sup>2)3)</sup>。

当センターでは、調査研究事業として小児における呼吸器感染症起因ウイルスの流行状況を把握することを目的に、インフルエンザ以外の小児急性呼吸器感染症患者の起因ウイルス検索を実施している。本報では、2016年4月から2017年6月に採取された検体における起因ウイルスの検索結果のうち、主にhMPVについて実施した詳細解析の結果を報告する。

## 2 材料と方法

### 2・1 材 料

2016年4月から2017年6月に、県内4カ所(病院2カ所、一般診療所2カ所)の協力医療機関に受診あるいは入院した、発熱、上気道炎、下気道炎等の症状を有するインフルエンザ以外の呼吸器感染症と診断された6歳以下の患者のうち、同意が得られた159人から採取された159検体の鼻咽頭ぬぐい液(以下、検体)を材料とした。

患児の臨床症状等については、検体とともに提出された調査表にて把握した。

### 2・2 検索ウイルス

ライノウイルス、hMPV、コクサッキーウイルス、コロナウイルス、ヒトパレコウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス、エコーウイルス、RSウイルス、ヒトボカウイルスを検索対象ウイルスとした。

Prevalence of the Virus causing the respiratory infection in Ishikawa Prefecture (1st. Report).

— Analysis of Human Metapneumovirus —

by KODAMA Hiroe, NAKAZAWA Masaya, NARIAI Eri and KURAMOTO Sanae (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

**Key words** : Human Metapneumovirus, Respiratory infection, Lower respiratory inflammation

### 2・3 方法

#### (1) ウイルス検索

各ウイルスの検索については、病原体検出マニュアル<sup>4)</sup>等に準じて実施した。すなわち、QIAamp Viral RNA Mini kit (QIAGEN社)を用いて遺伝子の抽出を行い、PCR法による各ウイルス遺伝子の検出を行った。各ウイルスの遺伝子を検出したPCR増幅産物をQIAquick PCR Purification kit (QIAGEN社)により精製した後、BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequence Kit (Life Technologies社 以下、LT社)を用いてサイクルシークエンス反応を行った。その後、反応産物をBigDye X Terminator (LT社製)で精製し、Applied Biosystems 3500 ジェネティックアナライザ (LT社)により塩基配列を決定しウイルスの同定を行った。なお、PCR法、サイクルシークエンス反応はともにGeneAmp PCR System 9700またはVeriti (LT社製)を用いた。

#### (2) hMPVの詳細解析

(1)にて決定したhMPVのF遺伝子領域の塩基配列について、系統樹解析によりサブグループの分類を行った。さらに、サブグループA2bに分類されたhMPVについては、Saikusaら<sup>2)</sup>の方法に基づき、G遺伝子領域の検出および解析を(1)と同様に実施し、重複配列挿入の有無を確認するとともに、公共のデータベースに登録された国内外で検出されたhMPVと相同性を比較した。

#### (3) 臨床症状とウイルス検出結果の解析

患者の臨床情報から肺炎や気管支炎などの下気道炎の有無を抽出し、各ウイルス検出結果との関係についてカイ二乗検定による解析を行った。なお、有意水準は5%とした。

### 2・4 倫理的配慮

本調査は石川県保健環境センター医学倫理審査委員会(平成27年12月18日開催)の承認を得て実施した。

## 3 成績

### 3・1 呼吸器感染症起因ウイルス検出状況

159検体について呼吸器感染症起因ウイルスを検索した結果、119検体(74.8%)から152のウイルスが検出された。このうち、26検体からは複数のウイルスが検出された。

検出ウイルスの内訳は、ライノウイルス58検体(36.5%)、hMPV 21検体(13.2%)、コクサッキーウイルス14検体(8.8%)、コロナウイルス12検体(7.5%)、ヒトパレコウイルス12検体(7.5%)、パラインフルエンザウイルス11検体(6.9%)、アデノウイルス10検体(6.2%)、エコーウイルス7検体(4.4%)、RSウイルス4検体(2.5%)、ヒトボカウイルス3検体(1.9%)であった(表1)。

表1 ウイルス別の検出患者数と下気道炎発症の有無

ウイルス	検出患者数 (%)	下気道炎発症		P値*
		有 (%)	無 (%)	
ライノウイルス	58 (36.5)	35 (60.3)	23 (39.7)	0.12
ヒトメタニューモウイルス	21 (13.2)	19 (90.5)	2 ( 9.5)	<0.01
コクサッキーウイルス	14 ( 8.8)	5 (35.7)	9 (64.3)	0.20
コロナウイルス	12 ( 7.5)	6 (50.0)	6 (50.0)	0.87
ヒトパレコウイルス	12 ( 7.5)	6 (50.0)	6 (50.0)	0.87
パラインフルエンザウイルス	11 ( 6.9)	8 (72.7)	3 (27.3)	0.16
アデノウイルス	10 ( 6.2)	7 (70.0)	3 (30.0)	0.24
エコーウイルス	7 ( 4.4)	2 (28.6)	5 (71.4)	0.2
RSウイルス	4 ( 2.5)	2 (50.0)	2 (50.0)	0.93
ヒトボカウイルス	3 ( 1.9)	2 (66.7)	1 (33.3)	0.61

\* : 各ウイルスの検出と下気道炎発症の有無に関する $\chi^2$ 検定  
P値が0.05未満の場合、当該ウイルスの感染が下気道炎発症と有意に関連していると推定される。

### 3・2 hMPVの詳細解析

解析の結果、21検体から検出されたhMPVのサブグループの内訳は、A2bが4株、B1が14株、B2が3株であった。なお、hMPVの検出時期は、検出数が少ないため明確ではないがほぼ通年であった(図1)。A2b 4株のうち、G遺伝子の解析が可能であったのは3株であり、それらの塩基配列は数塩基程度の違いであった。G遺伝子は、細胞膜内領域、膜貫通領域、膜外領域に分類されるが、前述の3株はいずれも膜外領域に180塩基の重複配列挿入があった。同様の変異をもつ株は、2014年から2016年に横浜市<sup>2)</sup>、2015年から2016年にスペイン<sup>3)</sup>で報告されている。今回解析が可能であった3株の塩基配列はこれらと10塩基程度の違いであった(図2)。

### 3・3 臨床症状とウイルス検出結果の解析

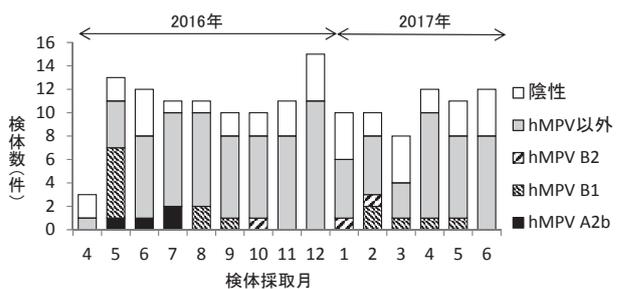


図1 月別hMPV検出状況(2016年4月~2017年6月)

ウイルスが検出された患者119人のうち、下気道炎を呈していたのは、69人(58.0%)であった。一方、いずれのウイルスも検出されなかった40人のうち、下気道炎を呈していたのは14人(35.0%)であった。

検出されたウイルス別に下気道炎を呈していた患者の割合をみると、hMPVは90.5%(21人中19人)と高く、このほかのウイルスについては、ライノウイルスは60.3%、コクサッキーウイルスは35.7%、コロナウイルスは50.0%、ヒトパレコウイルスは50.0%、パラインフルエンザウイルス72.7%、アデノウイルスは70.0%、エ

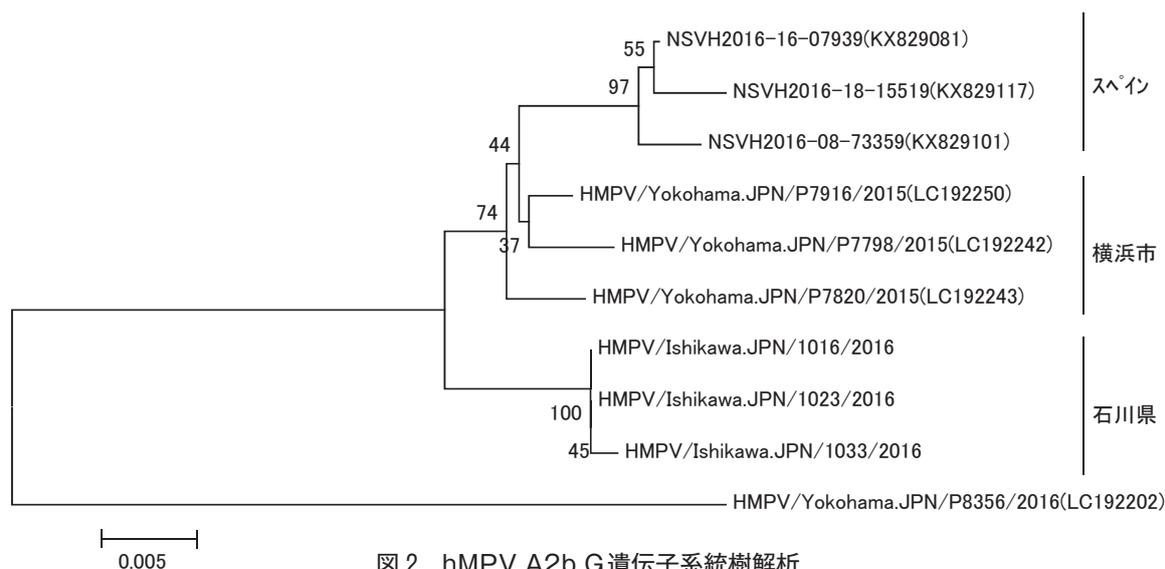


図 2 hMPV A2b G 遺伝子系統樹解析

コーウイルスは28.6%，RSウイルスは50.0%，ヒトボカウイルス66.7%であった。

各ウイルスの検出と下気道炎の有無についてカイ二乗検定を行った結果，hMPVが検出された患者は有意に下気道症状を呈していたが，この他のウイルスが検出された患者に関しては有意差がみられなかった（表1）。

また，hMPVが検出された患者について，下気道炎を呈していた患者数をサブグループ別にみると，A2bは4人全て（100.0%），B1が14人中13人（92.9%），B2が3人中2人（66.7%）であった

#### 4 考 察

今回の解析では，hMPVサブグループA1は検出されなかった。同様の調査を行った山形県<sup>5)</sup>や福井県<sup>6)</sup>においても，サブグループA1は検出されておらず，今回の解析結果は既報と同様の傾向であったと考えられる。一方，今回の解析ではhMPVは検出数は少ないものの，ほぼ通年で検出された。前述の調査<sup>5)6)</sup>では年ごとに検出時期が異なっておりいることから，今後更に解析を継続し，経年的にhMPVの流行状況を把握する必要がある。

G遺伝子の膜外領域に180塩基の重複配列挿入をもつサブグループA2bの変異株は，これまでに横浜市とスペインで報告されている<sup>2)3)</sup>。Gタンパク質の膜外領域は，宿主の免疫反応を回避する働きがあり，180塩基の重複配列の挿入によりその効果がさらに増強する可能性があると考えられている<sup>2)</sup>。実際にPinanaら<sup>3)</sup>は，180塩基の重複配列をもつhMPVに感染した小児の臨床症状をもとに，その株の病原性が増加していた可能性を示唆している。今回，我々の解析においてはA2b変異株が検出された患者は全て下気道炎を呈していたが，検出数が少なく，変異株の病原性について詳細な検討はできなかった。近年，横浜市では，G遺伝子に111塩基の重複配列

をもつA2b変異株の検出も報告されており<sup>7)</sup>，hMPVに関してはウイルスの検出のみならず，塩基配列の解析によるG遺伝子の変異を把握することが重要であると考えられた。

乳幼児はhMPV感染により下気道炎が高頻度にみられることが報告されており<sup>1)</sup>，今回の解析でも同様の傾向がみられた。近年では成人や高齢者においてもhMPVが肺炎の起因ウイルスとなる例がみられ，一部では死亡例の報告もある<sup>8)</sup>。hMPVなどのインフルエンザ以外の呼吸器感染症は感染症発生動向調査事業の対象感染症ではないことから，その流行状況や性状の把握が困難な状態にある。このため，今後も調査研究事業により小児における呼吸器感染症起因ウイルスの流行状況を把握するとともに，hMPVのみならず，検出されたウイルスの詳細な解析を継続する必要があると考えている。

#### 5 ま と め

##### (1) 呼吸器感染症起因ウイルス検出状況

159検体について呼吸器感染症起因ウイルス検索を実施した結果，119検体（74.8%）から152のウイルスが検出され，このうち，hMPVは21検体（13.5%）から検出された。

##### (2) hMPVの詳細解析

検出されたhMPVのサブグループの内訳は，A2bが4株，B1が14株，B2が3株であり，G遺伝子の解析が可能であった3株は，いずれもG遺伝子の膜外領域に180塩基の重複配列挿入変異があった。

##### (3) 臨床症状とウイルス検出結果の解析

hMPVが検出された患者は有意に下気道炎を呈していたが，この他のウイルスが検出された患者に関しては有意差がみられなかった。

## 文 献

- 1) 菊田英明：ヒト・メタニューモウイルス，ウイルス，**56**, 173-182 (2006)
- 2) SAIKUSA Miwako, KAWAKAMI Chiharu, NAO Naganori, TAKEDA Makoto, USUKU Shuzo, SASAO Tadayoshi, NISHIMOTO Kimiko, TOYOZAWA Takahiro: 180-Nucleotide Duplication in the G Gene of Human metapneumovirus A2b Subgroup Strains Circulating in Yokohama City, Japan, since 2014, *Microbiol.*, **14**, 1-11 (2017)
- 3) PINANA Maria, VILA Jorgina, GIMFERRER Laura, VALLS Maria, ANDRES Cristina, RAMON Jevier, CODINA Maria, MARTIN Maria, FUENTES Francisco, SAIZ Rosario, ALCUBILLA Pilar, RODRIGO Carlos, PUMAROLA Tomas, ANTON Andres: Genetic variability of human metapneumovirus A strain circulating in Catalonia during the 2014–2015 and 2015–2016 seasons-A 180-nucleotide G gene duplication reported, *Abstracts of the 19th Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology*, 125 (2016)
- 4) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル，<https://www.niid.go.jp/niid/ja/labo-manual.html>, 平成30年8月30日
- 5) MIZUTA Katsumi, ABIKO Chieko, AOKI Yoko, IKEDA Tatsuya, ITAGAKI Tsutomu, KATSUSHIMA Noriko, MATSUZAKI Yoko, HONGO Seiji, NODA Masahiro, KIMURA Hirokazu, AHIKO Tadayuki: Endemicity of human metapneumovirus subgenogroups A2 and B2 in Yamagata, Japan, between 2004 and 2009, *Microbiol. Immunol.*, **54**, 10 (2010)
- 6) NAKAMURA Masako, HIRANO Eiko, ISHIGURO Fubito, MIZUTA Katsumi, NODA Masahiro, TANAKA Ryota, TSUKAGOSHI Hiroyuki, KIMURA Hirokazu: Molecular epidemiology of human metapneumovirus from 2005 to 2011 in Fukui, Jpn. *J. Infect. Dis.* **66**, 56–59 (2013)
- 7) 七種美和子, 川上千春, 宇宿秀三, 笹尾忠由, 大久保一郎, 豊津隆弘, 直亨則, 竹田誠：G遺伝子に111塩基の重複配列をもつ株の流行について，第49回日本小児感染症学会総会・学術集会，243 (2017)
- 8) 国立感染症研究所：高齢者施設におけるヒトメタニューモウイルス感染症集団発生疑い事例，病原微生物検出状況，**38**, 248-250 (2017)