

〔報 文〕

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2報)

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部

成相 絵里・中澤 柁哉
中村 幸子・倉本 早苗

〔和文要旨〕

平成28～30年度の3年間に、石川県内で呼吸器感染症と診断された6歳以下の患者から採取された鼻咽頭ぬぐい液474検体について、インフルエンザウイルスを含む呼吸器感染症起因ウイルスを検索した結果、344検体(72.6%)から447のウイルスが検出された。多くのウイルスの季節消長等が解析できた一方、3年間では長期的な流行パターンの特徴をとらえることはできなかった。近年注目されているヒトパレコウイルス3型やエンテロウイルスD68を検出し、季節等との関係を解析することができたが、検体採取ルールが明確でなかったこと等により、好発年齢の解析が困難になるなど課題も見つかった。今後も引き続き感染症発生動向調査事業等を活用し、呼吸器感染症起因ウイルス流行状況の把握に努めたい。

キーワード：呼吸器感染症，ウイルス，ヒトパレコウイルス3型

1 はじめに

呼吸器感染症には、特に乳幼児に対して臨床的に重要なものがあるが、インフルエンザウイルス以外の起因ウイルスについては詳細な解析がなされておらず、疫学的に不明な点が多い。そこで、当センターでは、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として、インフルエンザ以外の小児呼吸器感染症患者の起因ウイルス検索並びに検出ウイルスの遺伝子型等の解析や季節消長等の詳細解析を平成28年4月から平成31年3月までの3年間、調査研究事業として実施した。第1報では、平成28年4月から平成30年6月までに検出されたヒトメタニューモウイルスについて詳細に解析し報告した。本報では、3年間の呼吸器感染症起因ウイルス検出状況をまとめたので報告する。

2 材料と方法

2.1 材 料

平成28年4月から平成31年3月に、県内4施設(病

院2施設、一般診療所2施設)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474人から採取された474検体の鼻咽頭ぬぐい液(以下、検体)を材料とした。患者の年齢、性別、臨床症状等については、検体とともに提出された調査票にて把握した。表1に年齢区分別の検体数を示す。

表1 年齢別検体数(平成28～30年度)

年 齢 (歳)	検 体 採 取 年 度			合 計
	平成28年度	平成29年度	平成30年度	
0	32	46	63	141
1	41	64	56	161
2	27	18	35	80
3	12	11	20	43
4	9	7	10	26
5	3	5	8	16
6	2	1	4	7
合 計	126	152	196	474

Prevalence of the Virus Causing the Respiratory Infection in Ishikawa Prefecture (2nd. Report). by NARIAI Eri, NAKAZAWA Masaya, NAKAMURA Sachiko and KURAMOTO Sanae (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Respiratory infection, Virus, Human parechovirus type 3

2・2 検索ウイルス

RSウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルス属（エンテロウイルス、コクサッキーウイルス、エコーウイルス、ライノウイルス）、コロナウイルス、パラインフルエンザウイルス、ヒトパレコウイルス、ヒトボカウイルス、ヒトメタニューモウイルスを検索対象ウイルスとした。

また、インフルエンザ患者検体の紛れ込みを確認するため、インフルエンザウイルス（A型、B型、C型）も検索した。

2・3 方法

(1) ウイルス遺伝子検出

各ウイルスの検索については、病原体検出マニュアル（国立感染症研究所監修）等^{1)~7)}に準じて実施した。すなわち、QIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN社製）を用いてウイルス遺伝子の抽出を行い、PCR法により各ウイルス遺伝子の検出を行った。

(2) 遺伝子型等の解析

(1)により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社製）で精製した後、BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit（Thermo Fisher Scientific社製）を用いてサイクルシーケンス反応を行った。その後、反応産物をBigDye X Terminator Purification Kit（Thermo Fisher Scientific社製）で精製し、Applied Biosystems 3500 ジェネティックアナライザ（Life Technologies Japan社製）により塩基配列を決定しBLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) による相同性の検索を行い、各ウイルスの遺伝子型等を決定した。

(3) 臨床症状等とウイルス検出結果の解析

検出されたウイルス毎に、調査票に記載された情報の中から、検体採取日、年齢及び臨床症状のうち下気道炎（肺炎、気管支炎）の有無について、集計し解析した。

2・4 倫理的配慮

本研究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 結果と考察

3・1 呼吸器感染症起因ウイルス検出状況

474検体について呼吸器感染症起因ウイルス（インフ

ルエンザウイルスを含む）を検索した結果、344検体（72.6%）から447のウイルスが検出された。このうち、89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167検体（37.4%）、パラインフルエンザウイルス44検体（9.8%）、ヒトパレコウイルス37検体（8.3%）、コクサッキーウイルス34検体（7.6%）、ヒトメタニューモウイルス34検体（7.6%）、コロナウイルス31検体（6.9%）、RSウイルス30検体（6.7%）、アデノウイルス20検体（4.5%）、エコーウイルス15検体（3.4%）、ヒトボカウイルス11検体（2.5%）、エンテロウイルス4検体（0.9%）、インフルエンザウイルス20検体（4.5%）であった（表2）。また、検出ウイルスの内訳は、病院と一般診療所で大きな差はみられなかった（表2）。

表2 ウイルス検出状況（インフルエンザウイルスを含む）

検出ウイルス	病 院	一般診療所	合 計
ライノウイルス	58(37.9%)	109(37.1%)	167(37.4%)
パラインフルエンザウイルス	17(11.1%)	27(9.2%)	44(9.8%)
ヒトパレコウイルス	15(9.8%)	22(7.5%)	37(8.3%)
コクサッキーウイルス	10(6.5%)	24(8.2%)	34(7.6%)
ヒトメタニューモウイルス	10(6.5%)	24(8.2%)	34(7.6%)
コロナウイルス	6(3.9%)	25(8.5%)	31(6.9%)
RSウイルス	15(9.8%)	15(5.1%)	30(6.7%)
アデノウイルス	6(3.9%)	14(4.8%)	20(4.5%)
エコーウイルス	5(3.3%)	10(3.4%)	15(3.4%)
ヒトボカウイルス	6(3.9%)	5(1.7%)	11(2.5%)
エンテロウイルス	2(1.3%)	2(0.7%)	4(0.9%)
インフルエンザウイルス	3(2.0%)	17(5.8%)	20(4.5%)
合 計	153	294	447

3年間合計の月別検体数とウイルス検出状況を表3に示す。なお、陽性数、陽性率はインフルエンザウイルス以外の検索対象ウイルスが検出された検体数と割合である。1月は陽性率が56.3%（18検体/32検体）と他の月に比べやや低いが、インフルエンザウイルス検出状況（表4）をみると、季節性インフルエンザの病原体である、A型及びB型インフルエンザウイルスのみが検出された検体が32検体中4検体あったことから、インフルエンザ患者検体の紛れ込みにより、相対的に低くなったものと推察された。

3・2 各ウイルスの詳細解析

検出されたウイルス毎の解析結果を以下に示す。

表3 検体採取月別陽性数・陽性率（3年間の合計）

	検 体 採 取 月												合計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
検 体 数	40	38	43	44	44	37	47	41	44	32	30	34	474
陽性数*	26	30	27	38	30	26	37	25	32	18	22	21	332
陽性率*(%)	65.0	78.9	62.8	86.4	68.2	70.3	78.7	61.0	72.7	56.3	73.3	61.8	70.0

*インフルエンザウイルス以外の検索対象ウイルスが検出された検体数・割合

表 4 インフルエンザウイルス検出状況 (3年間の合計)

	検体採取月											合計	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2		3
検体数	40	38	43	44	44	37	47	41	44	32	30	34	474
インフルエンザウイルス	A型							(1)	(3)	(4)	(4)	(1)	13 (8)
	B型	1 (0)								1 (1)			2 (1)
	C型	2 (1)		1 (1)					1 (0)			1 (1)	5 (3)

※ () はインフルエンザウイルス (A型、B型、C型) のみ検出された検体数

(1) ライノウイルス

ライノウイルスは167検体から検出され、検出数は最多であり、調査期間中は毎月検出されており (図1)、季節による顕著な変動傾向は認められなかった。ライノウイルスが検出された167検体中66検体 (39.5%) はライノウイルス以外のウイルスも検出されていた。

(2) パラインフルエンザウイルス

パラインフルエンザウイルスはライノウイルスに次いで2番目に多く、44検体から検出された。月別では7月に検出のピークがあった (図2)。血清型別にみると、7月にパラインフルエンザウイルス3型が最多で、7月に多いという季節性は3型によるものであった (図2)。

(3) ヒトパレコウイルス

ヒトパレコウイルスは37検体から検出され、検出されたウイルスの遺伝子型は1型、3型、6型であった。検出のピークはいずれの年も8月であった (図3)。ヒトパレコウイルス3型は、新生児や生後3か月以下の早期乳児に敗血症、髄膜炎などの重症感染症をきたすとされ注目されている⁸⁾。ヒトパレコウイルス3型が検出された検体は14検体あり、うち8検体は0歳の患者から採取された検体で、月齢は0~3か月であった (図4)。また、この8検体が採取されたのは、病院が7検体、一般診療所が1検体であった (図4)。0~3か月の患者検体のほとんどが入院例である病院から提出された検体であったが、この月齢では、感染症を発症すると原因病原体の種類によらず入院となる場合が多いことから明言はできないが、本研究結果も、これまでの報告⁸⁾で示されてきた、ヒトパレコウイルス3型と生後3か月以下の早期乳児における重症化の関連性を支持するものであった。

(4) コクサッキーウイルス

コクサッキーウイルスは34検体から検出され、検出されたウイルスの血清型は様々であった。今回の調査期間中は毎年検出された血清型は無く、年によって流行する血清型が異なっていた (図5)。検出される季節は春~秋に多い傾向がみられた。

(5) ヒトメタニューモウイルス

ヒトメタニューモウイルスは34検体から検出され、5

つのサブグループ (A1, A2a, A2b, B1, B2) のうち、A2b, B1, B2が検出された。ヒトメタニューモウイルスは冬から春にかけて主に検出され、ピークは5月であった (図6)。ヒトメタニューモウイルスの流行時期は、国内においては3~6月と報告された例があり⁹⁾、本研究においてもそれと類似した傾向であった。

(6) コロナウイルス

コロナウイルスは31検体から検出された。コロナウイルスは229E, NL63, OC43, HKU1の4種類がヒトに感染するいわゆる風邪の病原体として知られており、調査期間中に4種類すべてのコロナウイルスが検出され、年によって検出されるコロナウイルスの種類は異なっていた (図7)。また、検出された時期は通年であったが、冬季に多い傾向がみられた (図7)。229EとHKU1は平成29年度のみを検出であったが、長期的な流行のパターンは3年間では特徴をつかめなかった。

(7) RSウイルス

RSウイルスは30検体から検出された。検出時期は7月から検出され始め8月にピークを迎え、以後3月まで徐々に減少していた (図8)。また、年度単位では、検出数が増えるとともに検出期間も長くなっていた (図8)。

RSウイルスは、感染症発生动向調査事業の定点把握対象疾患であるRSウイルス感染症の患者報告数でその流行状況を把握でき、全国の集計では、平成27年度までは、夏頃から始まり秋に入ると患者報告数が急増し、年末をピークに春まで流行が続いていたが、平成28年度以降、報告数の増加が早まり秋にピークを迎えている¹⁰⁾。また、全国では平成29年度と平成30年度は、夏季の報告数がそれまでより増加しており¹⁰⁾、本研究においても平成28年度は9月、平成29年度と平成30年度は8月にピークを迎えており、全国の傾向と同様であった。

検出されたRSウイルスのサブグループは、平成28年度はサブグループBが多く、平成29年度はサブグループAが多かったが、平成30年度はサブグループA, B両方が同程度検出された (図8)。

(8) アデノウイルス

アデノウイルスは20検体から検出され、検出されたウイルスの型は1, 2, 3, 5型であった。検出数が少

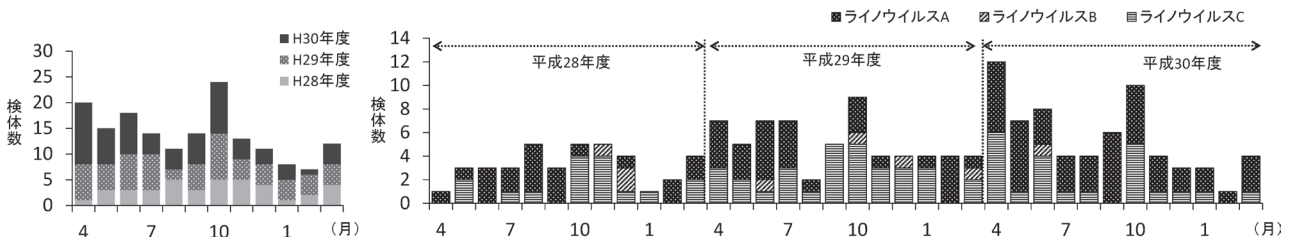


図1 ライノウイルス月別検出状況

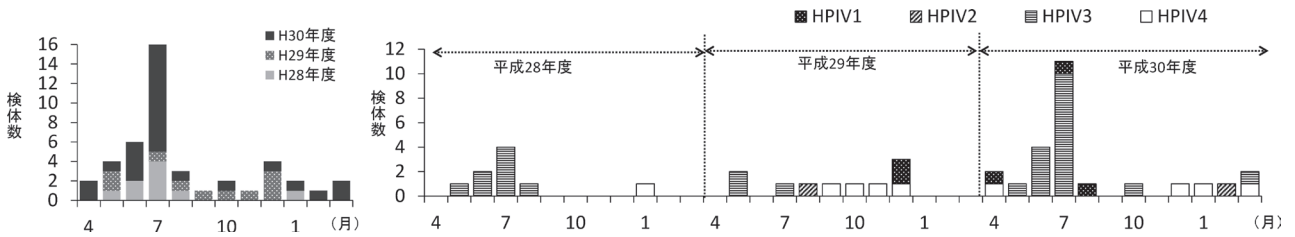


図2 パラインフルエンザウイルス (HPIV) 月別検出状況

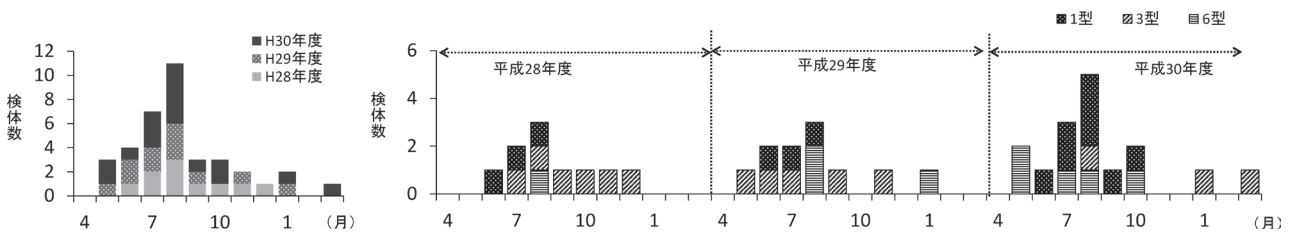


図3 ヒトパレコウイルス月別検出状況

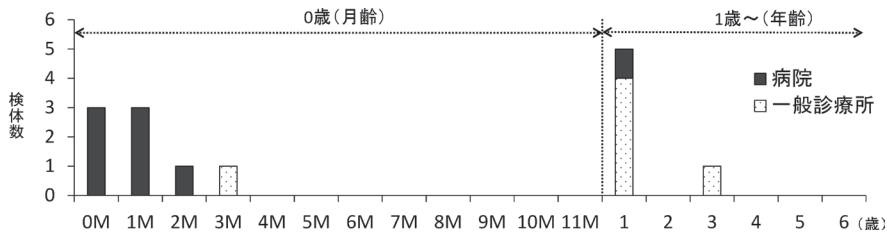


図4 年齢・月齢別ヒトパレコウイルス3型検出状況(病院・一般診療所別)

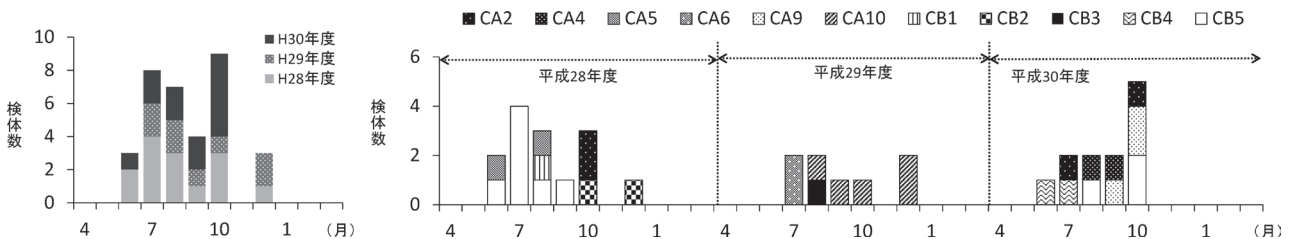


図5 コクサッキーウイルス月別検出状況

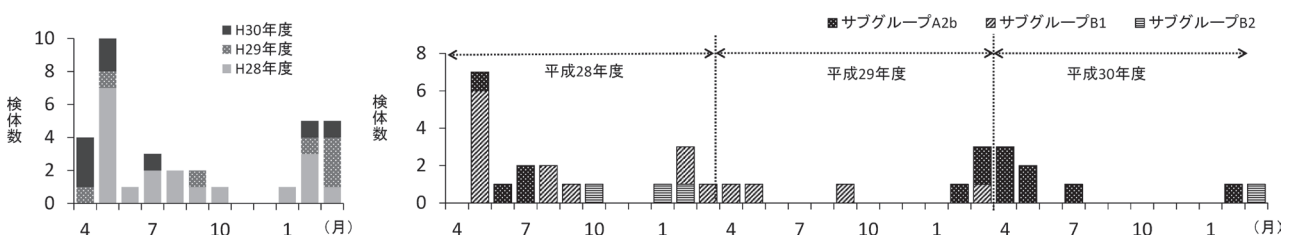


図6 ヒトメタニューモウイルス月別検出状況

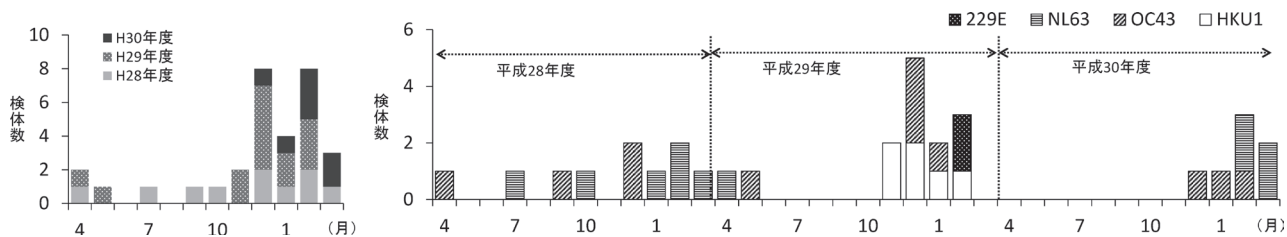


図7 コロナウイルス月別検出状況

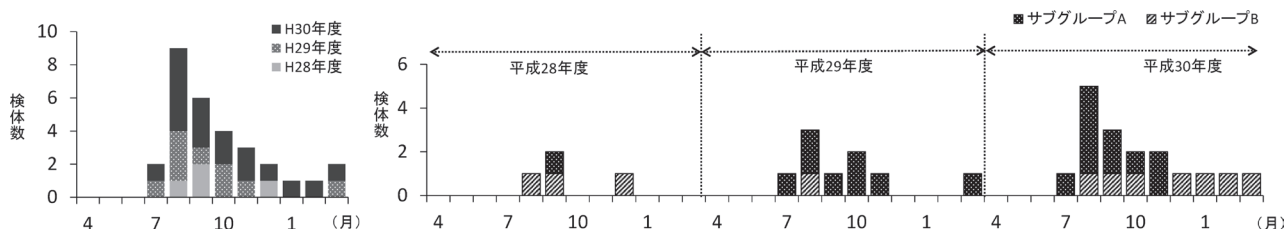


図8 RSウイルス月別検出状況

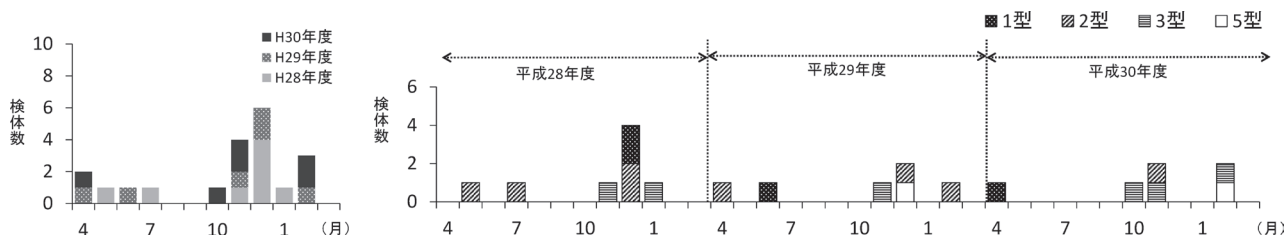


図9 アデノウイルス月別検出状況

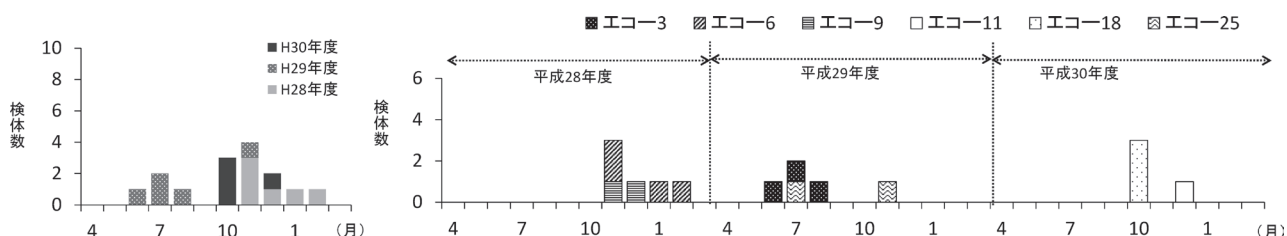


図10 エコーウイルス月別検出状況

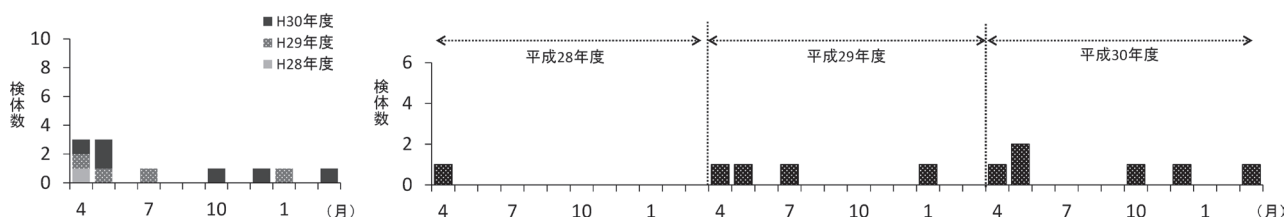


図11 ヒトボカウイルス月別検出状況

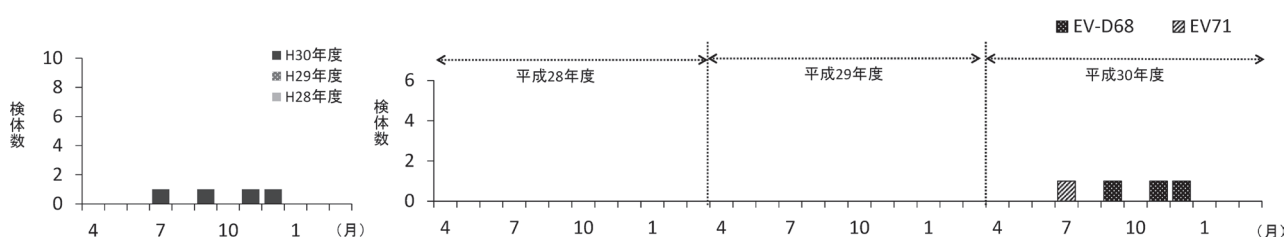


図12 エンテロウイルス月別検出状況

ないため、はっきりした季節変動はわからなかったが、冬季に多く検出される傾向があるようであり、12月が最多であった(図9)。

(9) エコーウイルス

エコーウイルスは15検体から検出された。平成28年度は11月から2月、平成29年度は6月から11月に、平成30年度は10月と12月に検出され、年度によって検出時期が異なっていた(図10)。これは、検出されたエコーウイルスの血清型が年度により異なっていたことによるものと考えられるが、検出数が少なくはっきりしたことはわからなかった。

(10) ヒトボカウイルス

ヒトボカウイルスは11検体から検出された(図11)。三重県の調査ではヒトボカウイルスは春から初夏に検出される傾向が報告されており¹¹⁾、本研究においても検出数は4月と5月が多く、同様の傾向と考えられた。

(11) エンテロウイルス

エンテロウイルスは4検体から検出された。平成30年度のみ検出され、近年、急性弛緩性麻痺との関連が疑われているエンテロウイルスD68が3検体から検出された(図12)。エンテロウイルスD68は日本においては、秋に多く検出されるウイルスで¹²⁾、本研究においても9月～12月に検出されていた。症例報告等¹²⁻¹⁴⁾からエン

テロウイルスD68は数年に一度流行するものと思われるが、長期的な流行のパターンは3年間では特徴をつかめなかった。

3・3 臨床症状等とウイルス検出結果の解析

(1) 年齢別ウイルス検出状況

年齢別ウイルス検出状況を表5に示す。多くのウイルスの年齢別検出状況が、表上段の年齢別検体数の割合とほぼ同じ傾向となった。RSウイルス(3歳以下に集中)やヒトパレコウイルス3型(月齢3か月以下に集中)など、いくつか好発年齢に特徴がみられたウイルスもあったが、検体採取頻度が週に1検体程度であり、検体採取ルールを明確にしなかったことから、特に3～6歳の検体が少なく好発年齢の解析は困難であった。また、協力医療機関を受診した患者総数と年齢別内訳を調査しなかったため、3～6歳の患者が他の年齢に比べ少なかったのか、患者はいたが検体を採取する対象にならなかったのか判断できなかった。

(2) 臨床症状との関連

調査票に記載された臨床症状のうち、重症化の指標として下気道炎(肺炎、気管支炎)発症の有無について、検出されたウイルス毎に集計した(表6)。RSウイルス、ヒトメタニューモウイルス、エンテロウイルスは下気道炎有りの割合が8割以上であったが、ライノウイルス以

表5 年齢別ウイルス検出状況

年齢(歳)	0	1	2	3	4	5	6	合計
検体数 (%)	141 (29.7)	161 (34.0)	80 (16.9)	43 (9.1)	26 (5.5)	16 (3.4)	7 (1.5)	474
陽性数*	94	114	62	32	17	11	2	332
陽性率*(%)	66.7	70.8	77.5	74.4	65.4	68.8	28.6	70.0
ライノウイルス	50 (29.9)	61 (36.5)	24 (14.4)	14 (8.4)	10 (6.0)	6 (3.6)	2 (1.2)	167
パラインフルエンザウイルス	9 (20.5)	17 (38.6)	8 (18.2)	6 (13.6)	4 (9.1)			44
ヒトパレコウイルス	12 (32.4)	19 (51.4)	3 (8.1)	2 (5.4)		1 (2.7)		37
コクサッキーウイルス	6 (17.6)	16 (47.1)	4 (11.8)	3 (8.8)	2 (5.9)	2 (5.9)	1 (2.9)	34
ヒトメタニューモウイルス	8 (23.5)	12 (35.3)	9 (26.5)	2 (5.9)	1 (2.9)	2 (5.9)		34
コロナウイルス	4 (12.9)	10 (32.3)	11 (35.5)	3 (9.7)	2 (6.5)	1 (3.2)		31
RSウイルス	8 (26.7)	9 (30.0)	9 (30.0)	4 (13.3)				30
アデノウイルス	3 (15.0)	10 (50.0)	3 (15.0)	3 (15.0)	1 (5.0)			20
エコーウイルス	5 (33.3)	5 (33.3)	2 (13.3)	1 (6.7)	1 (6.7)	1 (6.7)		15
ヒトボカウイルス	3 (27.3)	6 (54.5)		2 (18.2)				11
エンテロウイルス	2 (50.0)	1 (25.0)		1 (25.0)				4

*インフルエンザウイルス以外の検索対象ウイルスが検出された検体数・割合

外は検出数が少なく、有意差を検証するに至らなかった。

今後も引き続き、感染症発生動向調査事業等を活用し、呼吸器感染症起因ウイルス流行状況の把握に努めたい。

表 6 ウイルス別検出数と下気道炎発症の有無

ウイルス	検出数	下気道炎発症	
		有	(%)
ライノウイルス	167	94	56.3
パラインフルエンザウイルス	44	31	70.5
ヒトパレコウイルス	37	15	40.5
コクサッキーウイルス	34	8	23.5
ヒトメタニューモウイルス	34	28	82.4
コロナウイルス	31	13	41.9
RSウイルス	30	26	86.7
アデノウイルス	20	13	65.0
エコーウイルス	15	4	26.7
ヒトボカウイルス	11	6	54.5
エンテロウイルス	4	4	100.0
合計	427	242	56.7

4 まとめ

(1) 平成 28～30 年度の 3 年間で 474 検体についてインフルエンザウイルスを含む呼吸器感染症起因ウイルスを検索した結果、344 検体 (72.6%) から 447 のウイルスが検出された。

(2) RSウイルスやヒトメタニューモウイルスなど、多くのウイルスの季節消長が解析できた一方、長期的な流行パターンをつかむには 3 年間では短く、特徴をとらえることができなかった。

(3) ヒトパレコウイルス 3 型やエンテロウイルス D68 など近年注目されているウイルスを検出することができたが、検体採取ルールを設けなかったこと等により、好発年齢の解析が困難になる等課題も見つかった。

文 献

- 1) 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>, 令和元年 8 月 30 日
- 2) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル, <https://www0.niid.go.jp/niid/reference/index.html>, 令和元年 8 月 30 日
- 3) Harvala H., Robertson I., McWilliam Leitch E.C., Benschop K., Wolthers K.C., Templeton K., Simmonds P.: Epidemiology and clinical associations of human parechovirus respiratory infections, *J Clin Microbiol.*, **46**, 3446-3453 (2008)
- 4) Woo P.C., Lau S.K., Chu C.M., Chan K.H., Tsoi H.W., Huang Y., Wong B.H., Poon R.W., Cai J.J., Luk

W.K., Poon L.L., Wong S.S., Guan Y., Peiris J.S.: Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia., *J. Virol.*, **79**, 884-895 (2005)

- 5) Vabret A., Mouthon F., Mourez T., Gouarin S., Petitjean J., Freymuth F.: Direct diagnosis of human respiratory coronaviruses 229E and OC43 by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods.*, **97**, 59-66 (2001)
- 6) Vabret A., Mourez T., Dina J., van der Hoek L., Gouarin S., Petitjean J., Brouard J., Freymuth F.: Human coronavirus NL63, France., *Emerg Infect Dis.*, **11**, 1225-1229 (2005)
- 7) Bellau-Pujol S., Vabret A., Legrand L., Dina J., Gouarin S., Petitjean-Lecherbonnier J., Pozzetto B., Ginevra C. and Freymuth F.: Development of three multiplex RT-PCR assays for the detection of 12 respiratory RNA viruses., *J. Virol. Methods*, **126**, 53-63 (2005)
- 8) 齋藤昭彦：小児の新興感染症－新生児，早期乳児におけるヒトパレコウイルス 3 型感染症を中心に－，*小児科臨床*, **68**, 2679-2685 (2015)
- 9) 菊田英明：ヒト・メタニューモウイルス，*ウイルス*, **56**, 173-182 (2006)
- 10) 国立感染症研究所：IDWR 2018 年第 32 週 注目すべき感染症 RSウイルス感染症，*感染症週報*, **20** (32), 8-9 (2018)
- 11) 矢野拓弥，落合 仁，渡辺正博，庵原俊昭：呼吸器症状を呈した小児から検出されたヒトボカウイルスの流行疫学および遺伝子系統樹解析 (2010～2013 年)，*小児感染免疫*, **26**, 369-375 (2014)
- 12) 国立感染症研究所感染症疫学センター，エンテロウイルス D68 型 (EV-D68) に関する国内の疫学状況のまとめ (更新) (2016 年 1 月 20 日現在)，*病原微生物検出情報 (IASR)*, **37**, 193-195 (2016)
- 13) 伊藤健太，堀越裕歩，舟越優，寺川敏郎，清水直樹，鈴木愛，千葉隆司，秋場哲哉，岩下裕子，貞升健志：エンテロウイルス D68 型が検出された小児 4 症例－東京都，*病原微生物検出情報 (IASR)*, **36**, 193-195 (2015)
- 14) 米田立，福岡かほる，堀越裕歩，清水直樹，木下和枝：エンテロウイルス D68 が検出された小児の 3 例－東京都，*病原微生物検出情報 (IASR)*, **39**, 221-222 (2018)