

包括的な重症呼吸器ウイルス感染症のサーベイランスに関する研究

研究分担者

野田雅博（国立感染症研究所ウイルス第三部）

研究協力者

水田克巳（山形県衛生研究所） 平良勝也 仁平稔（沖縄県衛生環境研究所）

荒川美果（栃木県保健環境センター） 小村珠喜（島根県保健環境科学研究所）

岡本玲子（山口県環境保健センター） 横井一 田中俊光（千葉市環境保健研究所）

大内好美 吉田時子（滋賀県衛生科学センター） 昆美也子（新潟県保健環境科学研究所）

平野映子（福井県衛生環境研究センター） 吉岡政純（京都市衛生環境研究所）

清田直子（熊本県保健環境科学研究所） 筒井理華 吉田綾子（青森県環境保健センター）

斎藤義弘（東京慈恵会医科大学小児科） 菅井和子（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科） 松田俊二（国立病院機構愛媛病院）

板垣勉（山辺こどもクリニック） 森田幸雄（東京家政大学家政学部）

黒田誠（国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター）

水谷哲也（国立感染症研究所ウイルス第一部）

研究代表者

木村博一（国立感染症研究所感染症情報センター）

研究要旨

包括的な重症呼吸器ウイルス感染症（svARI）のサーベイランスに関する研究を行った結果、以下の知見が得られた。1)svARI 症例由来検体のウイルス検索を試みた結果、Respiratory Syncytial ウイルス（RSV）、ヒトメタニューモウイルス（HMPV）、ヒトライノウイルス（HRV）、ヒトボカウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス等が本疾患へ関与していることが明らかになった。また分子疫学解析結果から、我が国で流行している各々のウイルスは固有の遺伝学的多様性を有することが示唆された。2)ウイルス感染による喘鳴は、RSV と HRV の関与が主体であることがわかった。3)施設内の感染症流行の svARI の原因究明を試みた結果、これらの事例は主に HMPV および HRV が原因であることが示唆された。4)ウイルス網羅遺伝子検出（RDV）法や次世代シーケンサーによるウイルス遺伝子解析は、不明疾患に極めて有効な実験室内診断検査法であることが示唆された。

A. 研究目的

我が国におけるウイルスサーベイランスは自治体衛生研究所、医療機関、大学医学部等の連携体制のもとに実施されている。しかし、気管支炎や肺炎などの重症感染症を引き起こす多くの重症呼吸器ウイルス感染症（svARI）の実態及び病態は充分には解明されてい

ない。そこで、国内で実施された感染症発生動向調査等から得られた分離株や患者情報を基に、svARI患者の包括的なウイルスサーベイランス及び患者発生実態調査等を行い、全国レベルでの充実した呼吸器感染症対策に資するための総合的なレファレンス体制整備および機能強化に関する研究を行った。

B. 研究方法

以下の項目について研究を実施した。

1. 各地域レベルで感染症発生動向調査等により収集された急性呼吸器感染症 (ARI) 患者検体から呼吸器ウイルス分離・検出と解析を実施し、ウイルス学的・疫学的に svARI の因果関係を明らかにした。また、代表株の系統保存・遺伝子情報の集積を行った。
2. 既知ウイルス感染が否定された場合あるいは起因ウイルス確定不能の場合には、ウイルス網羅的検出 (RDV) 法等の技法を用いて、起因ウイルス感染について検討した。
3. 血清疫学調査を試み、それぞれのウイルスの流行実態を血清疫学的に把握した。
4. svARI患者における気管支喘息発症リスク因子とウイルス学的要因について検討した。
5. 医療施設内におけるARIの感染実態を調査し、院内感染制御に関する方策を検討した。

C. 研究結果

1. 山形県、青森県、栃木県、千葉市、新潟県、福井県、滋賀県、京都市、島根県、山口県、熊本県および沖縄県域の svARI ウイルスサーベイランスの結果 (2010年1月~11月)、Respiratory Syncytial ウイルス (RSV) 148株、ヒトメタニューモウイルス (HMPV) 205株、ヒトライノウイルス (HRV) 224株、ヒトパラインフルエンザウイルス (HPIV) 271株およびヒトボカウイルス (HBoV) 28株がそれぞれ分離・検出された。その他、インフルエンザウイルス (InfV)、アデノウイルス (AdV) およびエンテロウイルス (EV) 等が分離・検出された。
2. 2002-2009年の間に山形県において分離された計401株の HPIV3 型 (HPIV3) の疫学解析を行った。その結果、HPIV3 は毎年必ず5-7月頃に流行し、この季節の svARI では、病因として HPIV3 を考慮すべきであることが明らかになった。
3. 上記分離株のうち279株について、分子疫学的解析を実施した。HN領域遺伝子の塩基配列 (1,352bps) を決定した。現在、詳細遺伝学的解析を実施中である。
4. 沖縄県のインフルエンザ確定患者を除く ARI 患者

181 検体の咽頭拭い液について、ウイルス検索を行った。その結果、AdV22株、RSV20株、HPIV13株、HMPV9株、EV9株、HBoV8株およびHRV5株がそれぞれ検出された。

5. 栃木県、千葉市、福井県、滋賀県および沖縄県から集積された HBoV 検出症例28例について、疫学的解析を実施した。その結果、71.4% (20/28) は下気道炎を呈しており、53.6% (15/28) は他のウイルスと重複感染していた。栃木県5株、沖縄県4株、千葉市3株の HBoV 全長ゲノム (5,299bp) を解析し、国内外の既報告株と分子系統解析を実施した結果、日本国内の HBoV は3つのグループに分類された。

6. 2009年1月~2010年12月の間に、千葉市内1小児科クリニックで採取された鼻汁145検体について、下気道炎またはRSV感染児から svARI ウイルス分離・検出を実施した。その結果、(RT-) PCR による各ウイルスの検出株数 (検出率) は、RSV72株 (49.7%)、HRV36株 (24.8%)、HMPV8株 (5.5%)、HBoVが8株 (5.5%) であった。また、24株のRSV分離株の分子系統解析を行った結果、Subgroup A: 13株 (genotype GA2:12株およびGA5:1株)、Subgroup B: 1株 (genotype: BA) にそれぞれ分類される株であった。また、Subgroup Bに分類された1株では、Subgroup A (genotype GA2) のクローンも検出された。

7. 2009年1月~2010年11月の間に、福井県内の医療機関を受診した ARIs 等患者から採取された咽頭拭い液等を用いて、HBoV 遺伝子検索を試みた。その結果、供試した120検体のうち咽頭拭い液5検体から HBoV 遺伝子が検出され、ARIs への関与が示唆された。下痢便からは検出されなかった。現在、詳細な遺伝子解析を実施中である。

8. 新潟県ではウイルス分離を主にして ARIs ウイルスサーベイランスを実施し、新型インフルエンザ (A/H1pdm) 流行中および前後のウイルス分離動向を検討した。その結果、A/H1pdm の流行終息期の HPIV、RSV および HMPV 分離株数は、流行前後に比し、増加傾向を示した。

9. 山口県内の ARI ウイルスサーベイランス (2010年)

を実施した結果、HRV(species A) 40 株、HRV(species B) 4 株、HRV(species C) 31 株、EV68 15 株、RSV (Subgroup A) 11 株、RSV (Subgroup B) 14 株、HPIV1 が 4 株、HPIV2 が 6 株、HPIV3 が 13 株、HPIV4 型 7 株、HMPV (genotype A2) 7 株、HMPV (genotype B2) 2 株、HBoV4 株がそれぞれ検出された。重複感染は 20 例 (9.6%) あった。

10. EV68 検出株について VP4/VP2 領域 (390nt) の遺伝子解析を行った結果、検出株間の遺伝子相同性は 90~100%であった。現在、継続解析中である。

11. 起因ウイルス確定不能の svARI 症例について、ウイルス網羅的検出 (RDV) 法等の技法を応用した起因ウイルスの特定を試みた。その結果、Saffold cardio ウイルス、Parecho ウイルス等の感染が診定された。

12. 横浜医療センター小児科の入院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。その結果、RSV 55 例、HRV48 例、HMPV 3 例、HPIV1 例、RSV と HRV の混合感染が 20 例確認された。そこでいずれかのウイルスが検出された計 129 例 (年齢 1.3 ± 1.9 歳) を対象に、ウイルス検出と臨床像との比較検討を行った。その結果、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 例で低い ($p < 0.05$)、SpO2 最低値は RSV 例が有意 ($p < 0.05$) に低く、酸素投与有無は RSV 例が有意に多い ($p < 0.05$)。HRV 単独感染例と RSV と HRV 混合感染例で比較した場合、混合感染例で呼吸状態は有意に悪く、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。これらの知見から、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。

13. 2010 年に横浜医療センター小児科を受診した下気道疾患患者 115 例について、RSV、HRV、HMPV、HPIV、HBoV、AdV および InfV 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 InfV 1 株が検出された。

14. 島根県における 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。

15. 全国 49 重症心身障害児 (者) 施設を対象とした感染症発生に関する調査では、1 病棟あたり 0.5 回/年の流行があり、愛媛病院を含む中四国 10 施設では 1 病棟あたり 0.5~1 回/年の流行がみられた。流行した病原体は、InfV とノロウイルスが多かったが、半数以上は病原体不明の ARI であった。愛媛病院の 2009 年 11 月の ARI 流行例のウイルス検索では HRV が、また 2010 年 4 月の ARI 流行例では HMPV が確認された。ストレプトコッカス、HRV、HMPV、マイコプラズマ感染者の臨床経過・症状にはそれぞれ特徴がみられ、HRV は流行性が強かったが症状は軽く数日で回復、HMPV は流行性中等度であったが症状は強く 1 週間ほど持続した。

16. 愛媛病院重症心身障害児施設患者等の svARI ウイルス血清抗体検査を実施し、現在、成績集計中である。

17. 地方衛生研究所等の技術者を対象としたウイルス研修 (事業主体: 国立保健医療科学院) 等において、ARI ウイルスサーベイランス等に関する技術研修を実施した。

D. 考察

衛生研究所グループはそれぞれの地域の svARI ウイルスサーベイランスを実施した。とくに本年は AH1pdm 流行の翌年にあたりウイルスの動向が注目された。2010 年 1 月~11 月集計で、RSV148 株、HMPV205 株、HRV224 株、HPIV271 株および HBoV28 株がそれぞれ分離・検出された。東日本地域 (山形県) では svARI ウイルス、とくに HPIV や HRV の動向が AH1pdm 流行後で若干異なった様相を呈することを、西日本地域 (沖縄県) では svARI ウイルス動向は東日本地域のそれとは異なった様相を、それぞれ示している。

地域単位で実施された RSV、HMPV、HRV および HPIV 等の疫学、分子疫学解析からいくつかの興味ある知見が得られた。このうち今年度、HPIV-3、HBoV お

よびHRVを重点的に検討した。

HPIV-3は東日本地域（山形県）では毎年3月から7月の間に必ず流行が確認され、計279分離株のHN領域遺伝子の系統解析の結果、分離株は大きく3~4つのクラスターに分類されることを明らかにした。HPIVは重症化するARIウイルスであり、衛生研究所において実施されるウイルスサーベイランスの検査診断強化対象ウイルスである。

HBoVは今年度新たに28株が検出され、わが国では大きく3つのクラスターに分類される株がこれまで流行しており地域特性の可能性も推定されるが、更に株の収集、解析等、検討が必要である。また、HBoVと遺伝学上、近縁と考えられるヒト以外の哺乳動物由来のパルボウイルスとの間で、生物学的、遺伝子学的性状の異同を検討するための検討を進めている

HRVはVP4/VP2遺伝子領域の系統解析の結果、我が国で流行したHRV-Aは8~11クラスターに分類されることを明らかにしているが、今年度、全国的なEV-68の流行を確認した。

医学部、大学、医療機関グループはsvARI患者における気管支喘息発症リスク因子とウイルス学的要因について分離・検出ウイルスと臨床所見をもとに解析・検討した。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ること、さらにRSVとの混合感染により重症化することを明らかにし、同症例の治療にあたり感染ウイルスの特定等が重要な指針になることを示した。

また、全国重度心身障害児施設内の感染症流行の実態調査から、いずれの施設においてもARI流行の発生頻度は低くなく、原因検索を試みInfVのほかにHMPVやHRVが主要な原因ウイルスであったこと、臨床所見からHMPV感染により重症化することもあることを明らかにした。さらに、高齢者施設内のHMPV流行例から小児のみならず高齢者においても重症化することを示した。今後、前述したHPIVと同様にHMPVも衛生研究所において実施されるウイルスサーベイランスの検査診断強化対象ウイルスである。

ARIは我々の日常生活に極めて密着している感染症

と考えられるが、重要度の認識に乏しい感染症でもある。しかし、PCRによるウイルス検索結果から、複数ウイルスの感染例がかなりの頻度でみられた。RSVとHRVの感染が喘鳴悪化要因の一つであることから、svARIの重症化機序に関する検討は重要であろう。

現在、衛生研究所で実施されているウイルスサーベイランスに係る検査技法は、テクノロジーの進展、人材交代と技術の継承困難等の要因によりPCR検査法を主要な方法として実施している機関が増加している。しかし、効果的ウイルスサーベイランスを中長期的視点で評価すると、ウイルス分離はPCRに比し労力面、迅速性、簡便性等で劣るものの、株（ウイルス粒子本体）が保存されていることから、研究資産としての価値は極めて高く、後方視的研究も容易に実施可能である。いっぽう、ウイルス網羅的検出法はウイルス分離、PCRで解明することの困難であった症例において、高い有効性を示し原因ウイルスが解明された。

時代の変遷にそって、感染症も変遷し、新興・再興感染症も多く出現している現在、ウイルスサーベイランス実施に際し、Public health laboratoryである衛生研究所として、種々の技法を効果的に併用できる機能を有した、より効果的かつ積極的な責務遂行が期待される。

今後、さまざまな機会を活用してARIの重要性の啓発、技術紹介・普及、人材育成側面援助に努めていきたい。

E. 結論

包括的な重症呼吸器ウイルス感染症のサーベイランスに関する研究を行った。研究第一年次の成果は以下のとおりである。

1. RSV、HPIV、HRV、HMPV、HBoVおよびEV-68等のさまざまなウイルスのsvARIへの関与を確定した。
2. RSV、HPIV、HRV、HMPV、HBoVおよびEV-68について詳細な分子疫学解析、流行株の生物学的性状検討を行い、それぞれのウイルスの代表株について遺伝情報をgenbankへ登録した。
3. RSVとHRV感染に起因する病態、とくに感染喘息への関与を臨床ウイルス学および遺伝学的に検討した。

4. 施設内の感染症流行実態の原因究明を試み、原因の一部を確定した。
5. 地方衛生研究所におけるARI ウイルスサーベイランスに関わる実験室体制整備に係る側面的支援を行った。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mizuta K., Abiko C., Aoki Y., Ikeda T., Itagaki T., Katsushima N., Matsuzaki Y., Hongo S., Noda M., Kimura H. and Ahiko T. Endemicity of human metapneumovirus sub genogroups A2 and B2 in Yamagata, Japan, between 2004 and 2009. *Microbiol.Immunol.*, 54: 634-638, 2010.
- 2) Itagaki T., Abiko C., Ikeda T., Aoki Y., Seto J., Mizuta K., Ahiko T., Tsukagoshi H., Nagano M., Noda M., Mizutani T., and Kimura H. Sequence and phylogenetic analyses of Saffold cardiovirus from children with exudative tonsillitis in Yamagata, Japan. *Scand.J.Infect.Dis.* 42:950-952, 2010
- 3) 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
- 4) Nakamura, M., Taira, K., Tsukagoshi, H., Itokazu, K., Nidaira, M., Okano, S., Kudaka, J., Noda, M., Takeda, M., Kimura, H. Detection of various respiratory viruses in patients with influenza-like illness before and after emergence of the 2009 pandemic H1N1 influenza virus in Okinawa. *Jpn J Infect Dis*, 64, 87-89, 2011
- 5) 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

6) 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)

7) Omura T, Iizuka S, Tabara K, Tsukagoshi H, Mizuta K, Matsuda S, Noda M and Kimura H. Detection of Human Metapneumovirus Genomes during an Outbreak of Bronchitis and Pneumonia in a Geriatric Care Home in Shimane, Japan, in Autumn 2009: *Jpn. J. Infect. Dis.*, 64(1): 85-87, 2011.

2. 学会発表

- 1) 水田克巳、池田辰也、青木洋子、安孫子千恵子、板垣勉、勝島史夫、勝島由利子、阿彦忠之：新型インフルエンザによる呼吸器ウイルス流行への Interference について、第 64 回日本細菌学会東北支部総会、2010 年 8 月 19-20 日、仙台市
- 2) 水田克巳：感染症臨床の現場と地衛研との連携-臨床検体からのウイルス分離にもとづいた疫学研究-、第 59 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、2010 年 10 月 21-22 日、東京都
- 3) 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
- 4) 板垣勉、池田辰也、安孫子千恵子、水田克巳、松寄葉子、塚越博之、野田雅博、木村博一：Saffold cardiovirus 感染症と診断された 5 例、第 20 回日本外来小児科学会年次集会、2010 年 8 月 27-29 日、福岡市
- 5) 板垣勉、松寄葉子：1 歳未満児のヒトメタニューモウイルス(hMPV)感染症、第 42 回日本小児感染症学会総会・学術集会、2010 年 11 月 27・28 日、仙台市
- 6) 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、2010 年 11 月 19、

20日、松山市

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし。

重症呼吸器ウイルス感染症のサーベイランスに関する研究

特にパラインフルエンザ3型の疫学研究

研究協力者 水田 克巳 山形県衛生研究所 副所長

板垣 勉 山辺こどもクリニック 院長

研究要旨

2002-2009年に山形で分離したパラインフルエンザウイルス3型（HPIV3）の疫学解析を行った。401株のウイルス分離の結果、HPIV3は毎年必ず5-7月頃に流行し、この季節の重症気道感染症（下気道炎）では、病因としてHPIV3を考えなければならないことが明らかとなった。うち279株について、HN部分の塩基配列（1352bps）を決定した。詳細な解析は現在実施中である。

A. 研究目的

重症呼吸器感染症をひきおこすウイルスの実態（サーベイランス）は、本邦においてはデータが非常に限られている。特にパラインフルエンザウイルスは下気道炎をおこすウイルスの1つであるが、検出報告数が少ない。我が国のみならず、パラインフルエンザウイルスの遺伝子解析データを見ても、驚くほど少なく、世界的にパラインフルエンザウイルスの解析はほとんど行われていないに等しいのが現状である。

山形県では、ウイルスを分離し、保存し、解析することの延長線上にしか中長期的なウイルス感染症対策は存在しえないという考えに立ち、呼吸器ウイルスの分離・保存を続けてきた。今年度は、2002年から2009年までに山形で分離されたパラインフルエンザウイルス3型（HPIV3）の疫学研究のまとめとして、分離株のシーケンス解析を行った。

B. 研究方法

6種類の細胞を用いたマイクロプレート法（Mizuta K. et al. Jpn. J. Infect. Dis. 61:196-201, 2008）を使用し、ウイルス分離を行った。2008年11月からはHMV-II細胞も併用した。2002年から2009年までにMDCK、VeroE6、HMV-II細胞で分離されたHPIV3は、年毎にそれぞれ

24株、54株、43株、72株、26株、41株、46株、95株の合計401株となった。これらの分離株のうち279株について、HN領域の1352bpsの遺伝子配列を決定した。

C. 研究結果

ウイルス分離の結果から、ピークを単純に月別ウイルス分離数で見ると、毎年必ず5-7月頃に流行があることが明瞭となった（図1）。すなわち、この季節の下気道炎では、HPIV3が病因となっている可能性があるが、現状ではほとんどこのウイルスの検索がなされておらず、病原体診断ができていない実態があると考えられる。

HN部分の1352bps解析の結果、これまでに全体で塩基として93%以上の相同性の中で変異がおきていることがわかった。

D. 考察と結論

HPIV3は毎年必ず5-7月に流行をおこしていることが明瞭となった。このことから、この季節の重症呼吸器ウイルス感染症（下気道炎）では、HPIV3が病因として考えられるが、実際にはHPIV3の検索はほとんどなされていないのが実態である。研究成果を公表し、

“5-7月の重症呼吸器ウイルス感染症ではHPIV3を考
 えるべきである“ことを提言する必要がある。

遺伝子解析結果は、世界のどこにもない膨大なデー
 タであり、抗原性も含めてさらに詳細な解析を実施中
 である。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mizuta K., Abiko C., Aoki Y., Ikeda T., Itagaki T., Katsushima N., Matsuzaki Y., Hongo S., Noda M., Kimura H. and Ahiko T: Endemicity of human metapneumovirus sub genogroups A2 and B2 in Yamagata, Japan, between 2004 and 2009. Microbiol.Immunol.54:634-638,2010.
- 2) Itagaki T., Abiko C., Ikeda T., Aoki Y., Seto J., Mizuta K., Ahiko T., Tsukagoshi H., Nagano M., Noda M., Mizutani T., and Kimura H. Sequence and phylogenetic analyses of Saffold cardiovirus from children with exudative tonsillitis in Yamagata, Japan. Scand.J.Infect.Dis. 42:950-952,2010

2. 学会発表

- 1) 水田克巳、池田辰也、青木洋子、安孫子千恵子、板垣勉、勝島史夫、勝島由利子、阿彦忠之：新型インフルエンザによる呼吸器ウイルス流行へのInterferenceについて、第64回日本細菌学会東北支部総会、2010年8月19-20日、於仙台市
- 2) 水田克巳：感染症臨床の現場と地衛研との連携-臨床検体からのウイルス分離にもとづいた疫学研究-、第59回日本感染症学会東日本地方会学術集会、2010年10月21-22日、於東京
- 3) 板垣勉、池田辰也、安孫子千恵子、水田克巳、松寄葉子、塚越博之、野田雅博、木村博一：Saffold cardiovirus 感染症と診断された5例、第20回日本外来小児科学会年次集会、2010年8月27-29日、於福岡
- 4) 板垣勉、松寄葉子：1歳未満児のヒトメタニューモウイルス(hMPV)感染症、第42回日本小児感染症学会総会・学術集会、2010年11月27・28日、於仙台

図1. 山形県におけるパラインフルエンザ3型月別分離数

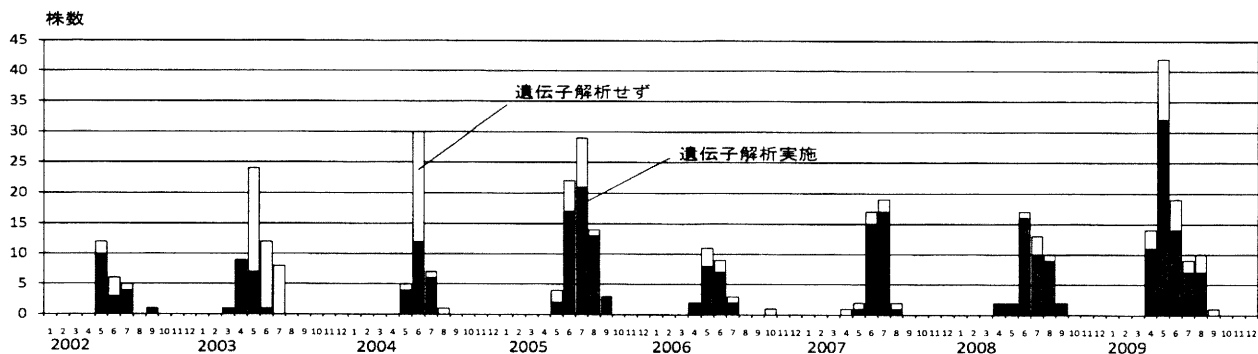
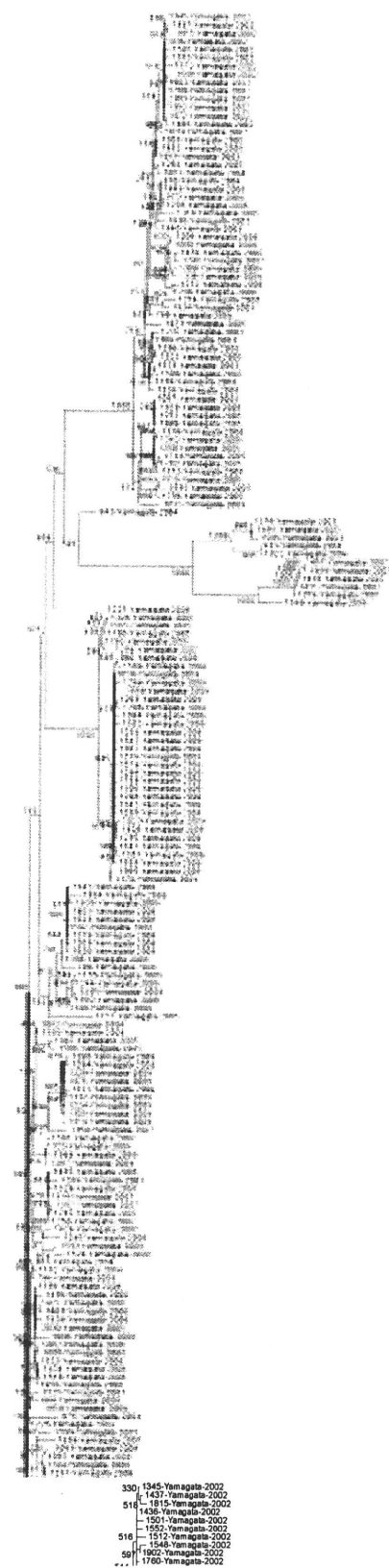


図2 パラインフルエンザ 3 型山形分離株 (2002-2009 年) の HN 遺伝子による系統樹



沖縄県における重症呼吸器ウイルスサーベイランス
—特にヒトボカウイルス(HBoV)の疫学・分子系統解析について—

研究協力者	平良 勝也	沖縄県衛生環境研究所
	仁平 稔	沖縄県衛生環境研究所
	糸数 清正	沖縄県衛生環境研究所
	荒川 美果	栃木県保健環境センター
	田中 俊光	千葉市環境保健研究所
	大内 好美	滋賀県衛生科学センター
	平野 映子	福井県衛生環境研究センター
	野田 雅博	国立感染症研究所ウイルス第三部
	木村 博一	国立感染症研究所感染症情報センター

研究要旨

沖縄県の重症呼吸器ウイルス感染症の実態を明らかにするため、インフルエンザ以外の呼吸器感染症が疑われた患者から採集された181検体の咽頭拭い液について、ウイルス検索を行った。その結果、アデノウイルスが22株、Respiratory Syncytial ウイルスが20株、ヒトパラインフルエンザウイルスが13株、ヒトメタニューモウイルスが9株、エンテロウイルスが9株、ヒトボカウイルス(HBoV)が8株およびヒトライノウイルスが5株、合計86株が検出された。また、栃木県、千葉市、福井県、滋賀県および沖縄県から集積されたHBoV検出症例28例について、疫学的解析を実施した。その結果、71.4%(20/28)は下気道炎を呈しており、53.6%(15/28)は他のウイルスと重複感染していた。栃木県5株、沖縄県4株、千葉市3株のHBoV全長ゲノム(5,299bp)を解析し、国内外の既報告株と分子系統解析を実施した結果、日本国内のHBoVは3つのグループに分類された。

A. 研究目的

多くの呼吸器ウイルスは、気管支炎や肺炎などの重症呼吸器感染症を引き起こすことが知られているが、本邦においてその実態は不明である。本研究では、沖縄県における重症呼吸器ウイルス感染症の実態を明らかにするため、重症呼吸器ウイルスサーベイランスを実施した。また、ヒトボカウイルス(HBoV)に焦点を当て、栃木県、千葉市、福井県、滋賀県および沖縄県から集積されたHBoV検出症例について、疫学的および分子系統解析を実施した。

B. 研究方法

2010年5月~12月に沖縄本島中南部の3ヶ所の医療機関において、インフルエンザ以外の呼吸器感染症を疑われた患者から、臨床検体(咽頭拭い液)181検体を採集し、試験に供した。呼吸器ウイルスの検索は、Respiratory Syncytial ウイルス(RSV)、ライノウイルス(HRV)、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)、エンテロウイルス(EV)、アデノウイルス(Ad)およびHBoVについてRT-PCR法、PCR法および培養細胞法により実施した。また、HBoVについては、千葉市10例、沖縄県8例、栃木県5例、福井県3例、滋賀県2例、合計28例の検出症例を集積し、疫学的解析を実施するとともに、全長ゲノム

(5,299bp)を解析し、国内外の既報告株と分子系統解析を実施した。

(倫理面への配慮)

咽頭拭い液は、医師が診察時に口頭で同意を得た上で採取したものであることから、倫理面の問題はないと判断した。

C. 研究結果

(1)重症呼吸器サーベイランス成績

181 症例の患者の年齢群をみると、0-4 歳が 150 例で最も多く、次いで 5-9 歳が 16 例、10-14 歳が 4 例、15-19 歳が 3 例および不明が 8 例であった(図 1)。症状別では、下気道炎が 95 例、上気道炎が 52 例、上・下気道炎が 10 例およびその他が 24 例であった(図 2)。

ウイルス検索の結果(表 1)、86 株のウイルスが検出、同定され、その内訳は Ad が 22 株、RSV が 20 株、HPIV が 13 株、HMPV が 9 株、EV が 9 株、HBoV が 8 株および HRV が 5 株であった。また、RSV は 7 月にやや多いが通年、HMPV は 6-9 月、HPIV は 6-7 月、HBoV は 11-12 月に多く検出された。

症状別にウイルス検出状況をみると(図 3,4)、RSV は下気道炎症状を示した患者から、AdV は上気道炎症状を示した患者からの検出率が高かった ($p<0.05$)。

(2)HBoV の疫学および分子系統解析

疫学的解析の結果(表 2)、患者年齢は 0-4 歳の小児でほとんどを占めていたが、58 歳の症例においても 1 例確認された。患者は 1 年を通して確認されたが、沖縄県では 11-12 月、栃木県および滋賀県では 4-5 月に患者が集中していた。症状は 20 例(71.4%)が下気道炎、8 例(28.6%)が上気道炎を呈していた。15 例(53.6%)が他の呼吸器ウイルスとの重複感染し、内訳は HRV が 6 例、RSV が 4 例、AdV が 3 例、EV が 1 例であった。また、本県において、同一患者から 1 か月後に再度 HBoV が検出された症例があった (No.100346 と No.100381)。2 回目に検出された株については、全長ゲノムの解析はできなかったが、共に解析できた領域 (633-3181bp の 2549nt) のホモロジーは 100%一致した。

全長ゲノム (5,299bp) の解析は、栃木県 5 株、千葉

市 3 株、沖縄県 4 株について成功し、分子系統解析の結果(図 5)、日本国内の HBoV は 3 つのグループに分類された。

D. 考察

今回の調査の結果、沖縄県においても多くの呼吸器ウイルスが重症呼吸器感染症の原因となっており、いくつかのウイルスについては発生に季節性があることが明らかとなった。特に、RSV は下気道炎患者から多く検出され、発生は通年性であったことから、沖縄県における重症呼吸器感染症の原因ウイルスとして、重要なウイルスの一つと考えられた。

HBoV はこれまでに報告されている通り、今回の解析でも多くは小児であったが、58 歳の症例においても 1 例見られ、また、約半数で重複感染が確認された。患者の発生は沖縄県で 11-12 月、栃木県および滋賀県では 4-5 月に集中し、症状については 71.4%が下気道炎症状を呈していたが、今回、当県では 1-4 月に調査を行っておらず、検体の多くが下気道炎症状を呈する患者から採取されたことなど、これらについては今後も継続してデータを蓄積させていくことが必要と考えられた。

沖縄県において、1 ヶ月後に再度 HBoV が検出された症例があった。共に解析できた 2549bp のホモロジーが 100%一致したことから、同じウイルスに再度感染した可能性、あるいは、HBoV が 1 ヶ月間、持続感染した可能性が考えられた。

分子系統解析の結果、国内の HBoV は 3 つのグループに分類された。しかし、国内で検出された HBoV 株は未だ少なく、地域性の解析には更なる株の集積が必要である。

E. 結論

重症呼吸器ウイルス感染症については、まだ不明な点が多く、本サーベイランスを定着させる必要がある。HBoV は重症呼吸器ウイルス感染症に密接に関与している可能性が考えられるが、今後もデータの蓄積が必要である。

F. 参考文献

Allander T et al.(2005)Cloning of human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. Medical Science.

102:12891-12896.

Hishinuma-Igarashi I et al. (2009)

Phylogenetic analysis of human bocavirus (HboV) detected from children with acute respiratory infection in Japan. J Infect. 58: 311-313.

G. 研究発表

1. 論文発表 :

Nakamura, M., Taira, K., Tsukagoshi, H., Itokazu, K., Nidaira, M., Okano, S., Kudaka, J., Noda, M., Takeda, M., Kimura, H. Detection of various respiratory viruses in patients with influenza-like illness before and after emergence of the 2009 pandemic H1N1 influenza virus in Okinawa. Jpn J Infect Dis, 64, 87-89, 2011

2. 学会発表 : なし

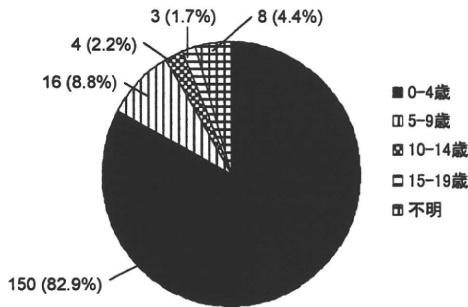


図1: 年齢群ごとの検体数

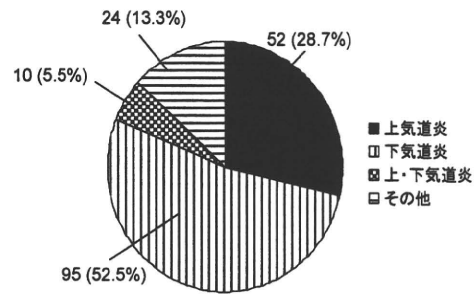


図2: 症状ごとの検体数

表1 : ウイルス検索成績

	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total	rate (%)
RSV		3	5	3	3	2	2	2	20	11.2%
hMPV		1	2	3	2			1	9	5.0%
PIV1									0	0.0%
PIV2					1				1	0.6%
PIV3		10	2						12	6.7%
HRV			1		2		2		5	2.8%
Enterovirus		1	2	2		2		2	9	5.0%
HBoV		1			1		4	2	8	4.5%
Adenovirus		4	2	2	4		8	2	22	12.3%
Not typed	2	5	1	3	2	1			14	7.8%
Not detected		5	17	17	12	16	13	15	95	53.1%

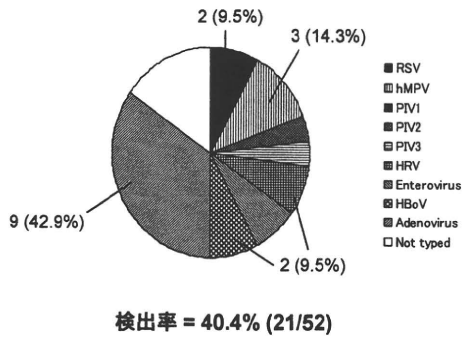


図3:上気道炎症患者からのウイルス検索成績
 上気道炎症状を呈した52名中21名から、1種以上のウイルスが検出され、21名から検出されたウイルスの内、Enterovirus、未同定のウイルスを除き、上位3種の検出数を示した

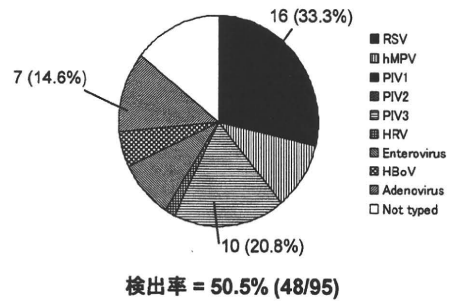


図4:下気道炎症患者からのウイルス検索成績
 下気道炎症状を呈した95名中48名から、1種以上のウイルスが検出され、48名から検出されたウイルスの内、Enterovirus、未同定のウイルスを除き、上位3種の検出数を示した

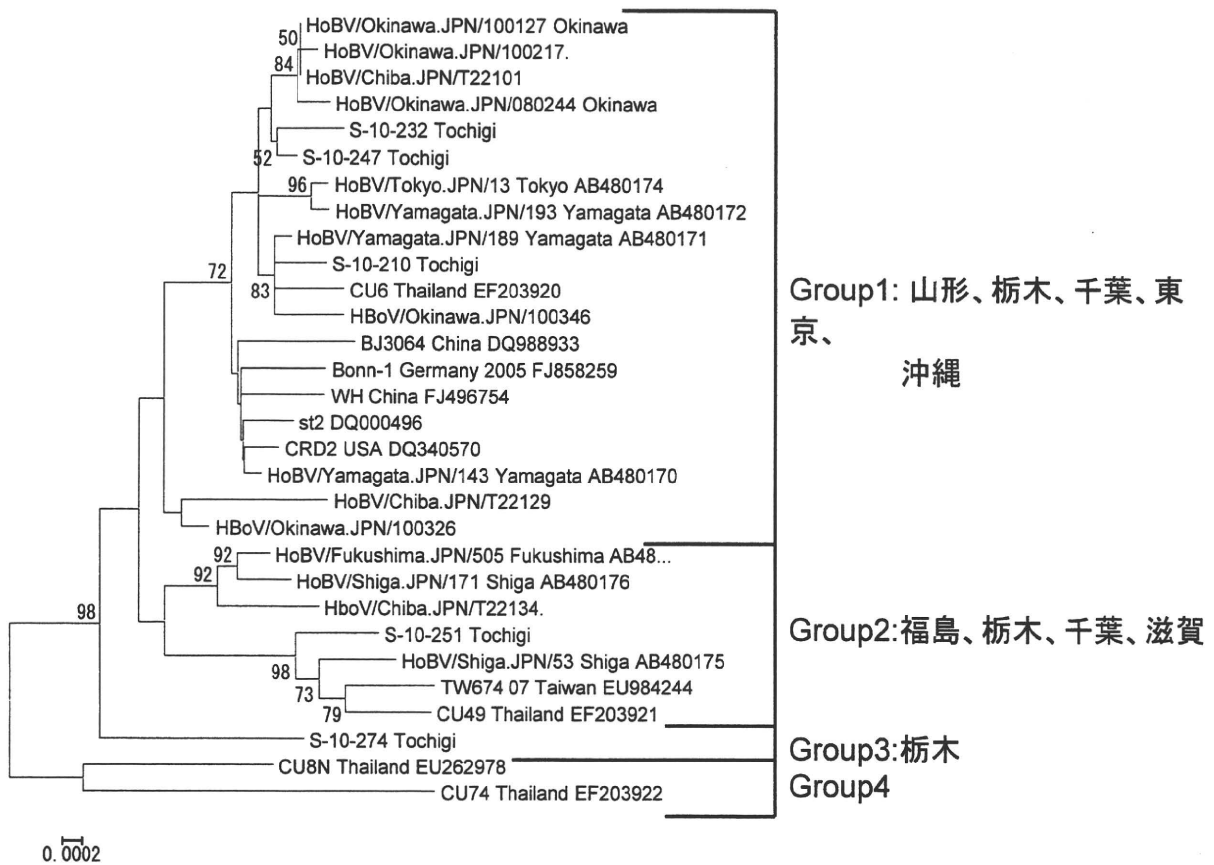


図5: 全長ゲノム (5,299bp) に基づく HBoV 系統樹

それぞれの Group に属する株のうち、国内で検出された株についてはその県名を示した

表2 : HBoV 患者情報

Area	Patient No.	Date of Hospitalization	Sex	Age*	Fever (°C)	Symptoms	Mixed infections	full sequence**
Fukui	FS/176/2010	2010/8/25	M	3Y	40.0	上気道炎		
	FS/219/2010	2010/10/29	M	2Y	38.7	下気道炎		
	FS/227/2010	2010/11/11	F	3Y	39.3	下気道炎		
Tochigi	S-10-210	2010/4/24	F	9M	37.4	下気道炎	HRV	○
	S-10-232	2010/5/12	M	3Y	38	下気道炎		○
	S-10-247	2010/5/19	M	11M	38.1	下気道炎	HRV	○
	S-10-251	2010/5/19	F	4Y	39.3	下気道炎		○
	S-10-274	2010/5/26	F	4Y	38.5	下気道炎	HRV	○
Chiba	21101	2009/5/23	F	1Y	39.0	下気道炎		○
	21134	2009/9/9	F	3Y	38.3	下気道炎	RSV	○
	22007	2010/1/5	M	12Y	39.4	上気道炎		
	22010	2010/1/5	M	1Y	39.0	下気道炎		
	22105	2010/3/2	M	2Y	38.8	上気道炎	HRV	
	22129	2010/4/7	F	1Y	39.5	下気道炎		○
	22150	2010/5/7	F	58Y	39.4	上気道炎	hMPV	
	22279	2010/10/27	F	9M		下気道炎	RSV	
	22306	2010/11/22	F	1Y	40.0	下気道炎	RSV	
22323	2010/12/1	M	2Y	39.2	下気道炎	Adenovirus		
Siga	20090063	2009/5/11	F	1Y		下気道炎		
	20100044	2010/5/19	F	1Y	40.2	下気道炎		
Okinawa	100127	2010/6/22	M	1Y	39.0	上気道炎	Adenovirus 1	○
	100217	2010/9/1	F	1Y	37.6	喘鳴	HRV	○
	100326	2010/11/4	M	10M	39.7	下気道炎		○
	100331	2010/11/12	F	5Y	37.2	下気道炎	HRV	
	100346	2010/11/27	F	8M	37.0	下気道炎	RSV	○
	100348	2010/11/29	M	8M	39.0	上気道炎		
	100365	2010/12/18	M	7M	38.0	下気道炎	Enterovirus	
	100381	2010/12/25	F	8M	39.0	上気道炎	Adenovirus 3	

*Yは年齢を示し、Mは0歳児における月齢を示した

**全長ゲノムが解析できた株を○で示した

千葉市内の1小児科クリニックにおける重症呼吸器ウイルスの検出状況

研究協力者 田中俊光（千葉市環境保健研究所）

研究要旨

2009年1月から2010年12月までの期間に、千葉市内の1小児科クリニックで採取された鼻汁145検体について、呼吸器ウイルスの検出を行った。鼻汁145検体中、(RT-)PCRによる各ウイルスの検出数（検出率）は、Respiratory Syncytial ウイルス（RSV）が72検体（49.7%）、ヒトライノウイルス（HRV）が36検体（24.8%）、ヒトメタニューモウイルス（HMPV）が8検体（5.5%）、ヒトボカウイルス（HBoV）が8検体（5.5%）であった。また、培養細胞により24検体からRSVが分離され、分子系統解析を行った結果、13検体からサブグループA（遺伝子型GA2が12株、GA5が1株）、10検体からサブグループB（遺伝子型BA）が検出された。また、1株からサブグループA（遺伝子型GA2）とB（遺伝子型BA）の両方が検出された。

A. 研究目的

呼吸器ウイルスの包括的なサーベイランスの一環として、1小児科クリニックにおいて下気道炎、またはRSV感染症と診断された患者を対象にRSV、HRV、HMPV、HBoVの検出を行い、病原ウイルスの特定及び系統解析をすることにより地域的な流行状況を把握し、公衆衛生行政における感染症予防対策に活用することを目的とした。

B. 研究方法

2009年1月から2010年12月までの期間に、千葉市内の1小児科クリニックで下気道炎（肺炎、気管支炎）と診断された89名の患者、及びRSV感染症と診断された56名の患者の計145名から、受診時に保護者の同意を得た上で採取した鼻汁を検体とした。Nylon Regular Flocked Swab（Copan）で鼻汁を採取の後、Universal Transport Medium（Copan）に良く浸し、10°C以下で保持して1週間以内に当所に搬入した。搬入後、速やかに遠心分離を行い、その上清を分取してHigh Pure Viral RNA Kit（Roche）を用いてウイルス核酸を抽出した。

(RT-)PCRは病原体検出マニュアル（国立感染症研究所）に準拠した。すなわちRSVについてはStocktonらの報告したN蛋白領域を標的とした方法、HRVについてはSavolainenらが報告したVP42領域を標的とした方

法、HMPVについてはPeretらが報告したF蛋白領域を標的とした方法、HBoVについてはAllanderらが報告したNP1領域を標的とした方法を用いた。

また、ウイルス分離を目的にVero-E6、HEp-2、RD-18S、CaCo-2、MDCK細胞に検体上清を接種した。RSV特有のCPE（合胞形成）が確認された検体については、培養上清から上記と同様にRNAを抽出し、Peretらが報告したG蛋白領域を標的としたRT-PCRを実施した。

臨床検体からの直接(RT-)PCR産物、培養上清のRT-PCR産物はHigh Pure PCR Product Purification Kit（Roche）で精製した後、Big Dye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit（Applied Biosystems）を用いてシーケンス反応を行い、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer（Applied Biosystems）を使用してダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。また、得られた塩基配列についてはDDBJのBLASTで検索を行い、既知のウイルスとの相同性を確認した。なお、培養上清に対して行ったRSVのRT-PCRで得られた塩基配列についてはMEGA4を使用し、Clustal Wによるアライメント後、NJ法により分子系統樹を作成した。

C. 研究結果

検査を実施した145検体のうち、複数のウイルスが検出されたものも含め、臨床検体からの直接(RT-)PCR

とウイルス分離で、117 検体 (80.7%) からウイルスが検出された。各ウイルスの検出数 (率) は、RSV が 72 検体 (49.7%)、HRV が 36 検体 (24.8%)、HMPV が 8 検体 (5.5%)、HBoV が 8 検体 (5.5%)、アデノウイルス (AdV) が 4 検体 (2.8%)、コクサッキーウイルス (CV) が 1 検体 (0.7%)、単純ヘルペスウイルス (HSV) が 1 検体 (0.7%) であった。

診断名別では、下気道炎と診断された 89 検体中、63 検体 (70.8%) からウイルスが検出され、各ウイルスの検出数 (率) は、HRV が 32 検体 (36.0%)、RSV が 20 検体 (22.5%)、HMPV が 8 検体 (9.0%)、HBoV が 7 検体 (7.9%)、AdV が 3 検体 (3.4%)、CV が 1 検体 (1.1%)、HSV が 1 検体 (1.1%) であった (表 1)。なお、ウイルスが検出された 63 検体のうち、8 検体から複数のウイルスが検出された。

RSV 感染症と診断された 56 検体中、54 検体 (96.4%) からウイルスが検出され、各ウイルスの検出数 (率) は、RSV が 52 検体 (92.9%)、HRV が 4 検体 (7.1%)、HBoV が 1 検体 (1.8%)、AdV が 1 検体 (1.8%) であった (表 2)。

また、培養細胞に RSV 特有の CPE (合胞形成) を認められたものは 24 検体で、培養上清の RT-PCR の結果、サブグループ A が 13 検体、サブグループ B が 10 検体、サブグループ A と B の両方が 1 検体から検出された。RSV の分子系統樹を図 1 に示した。サブグループ A では 14 株のうち 13 株が遺伝子型 GA2、1 株が GA5 に分類された。サブグループ B の 11 株はすべて遺伝子型 BA に分類された。

D. 考 察

2 年間にわたり、1 小児科クリニックにおいて検出される呼吸器ウイルスを調査した。その結果、全検体の 80.7% からウイルスが検出された。当該小児科クリニックでは、呼吸器疾患患者に対して、インフルエンザウイルスや RSV や AdV などの市販迅速診断キットによる検査を状況に応じて実施しており、RSV 感染症と診断された 56 名のうち、54 名が RSV 迅速診断キット陽性であった。このことが RSV 感染症と診断された患者からのウイルス検出率を高めている要因であると考えられる。下気道炎と診断された 89 名は、上記市販迅速診断キット陰性のものであるが、HRV が 32 検体 (36.0%) と最も多く検出され、一般に症状が軽いと考えられて

いた一方で、小児において肺炎や気管支炎などを引き起こす公衆衛生上重要なウイルスであることが示唆された。なお、検出された 32 検体の遺伝子群は、A と C がそれぞれ 16 検体ずつで、遺伝子群 B が検出されないことが特徴であった (表 3)。次に検出数が多かったのは RSV であったが、検出された 20 検体 (22.5%) のうち、17 検体がサブグループ A で、サブグループ B に比べて優位であった。これに対し RSV 感染症と診断された患者では、検出された 52 検体の RSV のうちサブグループ A が 24 検体、サブグループ B が 27 検体、サブグループ A と B の両方が 1 検体と、サブグループによる優位差がみられなかった。また、RSV 感染症と診断された患者の臨床症状は上気道炎が 6 名、下気道炎が 39 名、上気道炎と下気道炎の両方を呈したものが 11 名と、下気道炎を呈した患者が多かったが、臨床症状によっても検出されるサブグループによる優位差は見られなかった (表 4)。このことは RSV の市販迅速診断キットの反応性と RSV のサブグループの間に何らかの相関があるものと考えられたが、今後の更なる抗原解析や遺伝子解析等の検証が必要である。

この他、下気道炎患者から HMPV が 8 検体、HBoV が 7 検体から検出されたが、HMPV が 8 検体すべて単独で検出されているのに対し、HBoV は 7 検体中、単独で検出されたのが 2 検体に過ぎず、残りの 4 検体は RSV、1 検体が HRV と一緒に検出されるなど、他のウイルスと混合感染を呈していることが特徴であった。

培養細胞により分離された RSV の遺伝子解析の結果、サブグループ A の遺伝子型 GA2、GA5、サブグループ B の遺伝子型 BA が検出された。このことは近年、世界で流行している RSV の遺伝子型に合致しているが、2005 年以降、国内での遺伝子型 GA5 の検出は珍しく、GA5 が本市に浸潤しているかにも興味を持たれた。そこで GA5 が検出された検体が採取された時期より前に採取され、分離陰性であった臨床検体のうち、サブグループ A が検出された 8 検体について G 蛋白領域の RT-PCR を実施して遺伝子解析を行ったが、8 検体ともすべて遺伝子型 GA2 であった。遺伝子型 GA5 が検出された患者についての情報を主治医から得たが、海外渡航歴も無く、他の患者と同じく周辺の保育所に通っており、疫学的な特徴は認められなかった。

2 年間にわたり、1 小児科クリニックにおいて検出される呼吸器ウイルスを調査することにより、地域で

の流行状況を把握することができた。しかし、呼吸器ウイルスの全体像を明らかにするには、更なる調査が必要と考えられ、今後、パラインフルエンザウイルスなどの他の急性呼吸器感染症ウイルスを検査項目に加え、解析していくことが重要であると考ええる。

E. 結論

2009年1月から2010年12月までの期間に、千葉市内の1小児科クリニックで採取された鼻汁145検体について、呼吸器ウイルスの検出を行った。鼻汁145検体中、(RT-)PCRによる各ウイルスの検出数(率)は、RSVが72検体(49.7%)、HRVが36検体(24.8%)、HMPVが8検体(5.5%)、HBoVが8検体(5.5%)であった。また、培養細胞により24検体からRSVが分離され、分子系統解析を行った結果、13検体からサブグループA(遺伝子型GA2が12株、GA5が1株)、10検体からサブグループB(遺伝子型BA)が検出された。また、1株からサブグループA(遺伝子型GA2)とB

(遺伝子型BA)の両方が検出された。下気道炎と診断された89検体中からは、63検体(70.8%)からウイルスが検出され、各ウイルスの検出数(率)は、HRVが32検体(36.0%)、RSVが20検体(22.5%)、HMPVが8検体(9.0%)、HBoVが7検体(7.9%)、AdVが3検体(3.4%)、CVが1検体(1.1%)、HSVが1検体(1.1%)であり、HRVが一般に症状が軽いと考えられていた一方で、小児において肺炎や気管支炎などを引き起こす公衆衛生上重要なウイルスであることが示唆された。

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

表1.下気道炎と診断された検体からのウイルス検出状況

検出ウイルス	検出数	検出率(%)
HRV	28	31.5
RSV	14	15.7
HMPV	8	9.0
RSV+HBoV	3	3.4
HBoV	2	2.2
RSV+HRV	2	2.2
HRV+HBoV	1	1.1
RSV+HBoV+AdV	1	1.1
HRV+AdV	1	1.1
AdV	1	1.1
CV	1	1.1
HSV	1	1.1
計	63	70.8

表2.RSV感染症と診断された検体からのウイルス検出状況

検出ウイルス	検出数	検出率(%)
RSV	48	85.7
HRV	2	3.6
RSV+HRV	2	3.6
RSV+HBoV	1	1.8
RSV+AdV	1	1.8
計	54	96.4

表3. 下気道炎と診断された検体から検出したウイルスの型別

検出ウイルス	検出数	検出率(%)	型	検出数
HRV	32	36.0	A	16
			C	16
RSV	20	22.5	A	17
			B	3
HMPV	8	9.0	A2	4
			B1	1
			B2	3
HBoV	7	7.9		7
AdV	3	3.4	1	1
			2	2
CV	1	1.1	B4	1
HSV	1	1.1		1

表 4.RSV 感染症の臨床症状と遺伝子型別

臨床症状	検体数	サブグループ	検出数
上気道炎	6	A	2
		B	3
下気道炎	39	A	18
		B	18
上気道炎 + 下気道炎	11	A	4
		B	6
計	56	A+B	1

サブグループ A

サブグループ B

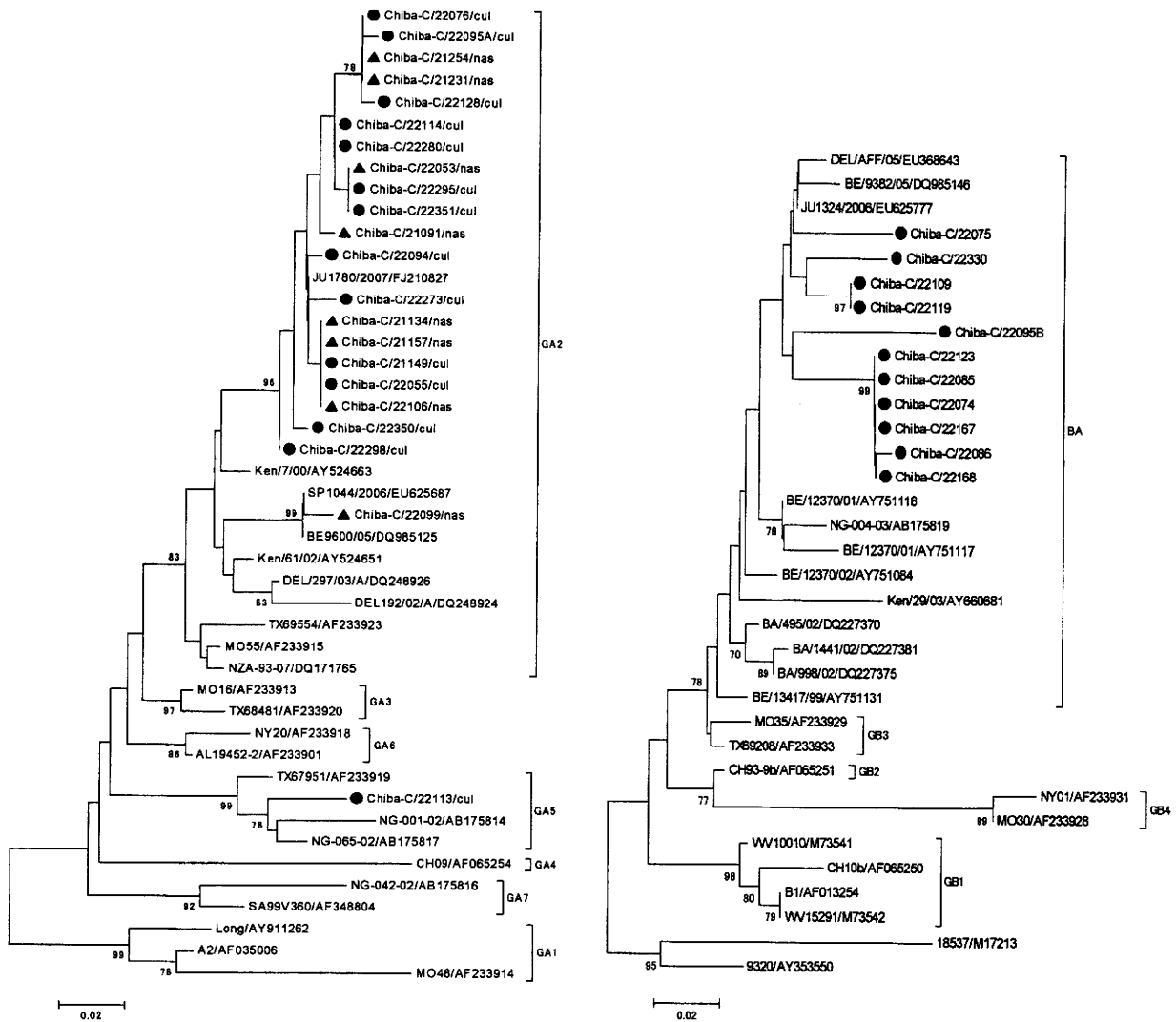


図 1.RSV サブグループ A 及び B の G 蛋白領域遺伝子の塩基配列に基づく分子系統樹

※Chiba-C/21091～22351 は千葉市検出株。●は分離株、▲は臨床検体由来を示す。

Bootstrap Value は 70%以上を表示。

福井県におけるヒトボカウイルス（中間報告）

研究協力者 平野 映子 福井県衛生環境研究センター
小和田和誠 福井県衛生環境研究センター
中村 雅子 福井県衛生環境研究センター
石畝 史 福井県衛生環境研究センター
望月 典郎 福井県衛生環境研究センター
野田 雅博 国立感染症研究所

研究要旨

2009年1月～2010年11月の間に、福井県内の医療機関を受診した急性呼吸器感染症（ARIs）等患者から採取された咽頭拭い液および下痢便を用いて、ヒトボカウイルス（HBoV）遺伝子検索を試みた。その結果、供試した120検体のうち咽頭拭い液5検体からHBoV遺伝子が検出され、ARIsへの関与が示唆された。

A. 研究目的

ヒトボカウイルス（HBoV）は2005年にスウェーデンにおいて急性呼吸器感染症（ARIs）患者から発見された新しいウイルス¹⁾で、その後各国からも同様の報告がなされている。福井県ではこれまでウイルスサーベイランスは、インフルエンザウイルス、Respiratory Syncytial ウイルス、ヒトメタニューモウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス、などを主に実施してきたが、原因ウイルスが特定されない検体も約45%みられる。そこで、ARIsウイルスサーベイランスの精度向上とあわせて県内ARIsへのHBoVの関与を把握するためにHBoVの検出を試みた。

B. 研究方法

2009年1月～2010年12月の間に県内4ヶ所の医療機関を受診したARIs、下痢症および不明熱患者から採取された計120検体を用いた。検体の内訳は、2009年；咽頭拭い液28検体、2010年；咽頭拭い液70検体および便22検体であり、いずれも原因ウイルスが特定されなかった症例を選定した。

遺伝子検索はDNA抽出後、Igarashiらの方法²⁾に準

じてNPI領域の一部をPCR法により増幅し、目的とする増幅産物を精製後、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、DDBJのBLAST検索により同源性解析を行った。

ウイルス分離はHEp-2およびCaco-2細胞を用い、37℃で7日間隔で分離培養を試みた。

C. 研究結果

供試した計120検体のうち、2010年ARIs患者から採取された咽頭拭い液5検体からHBoV遺伝子が検出された。患者年齢はいずれも3歳以下の乳幼児で、臨床症状は咽頭炎（1）、上気道炎（2）、気管支炎（2）、結膜炎（1）および発熱（38℃以上）を主徴とした。検体の採取時期は5月（2）、8月（1）、10月（1）および11月1であった（表1）。検出された5株

（Fukui.JPN/20-2010/56、Fukui.JPN/22-2010/71、Fukui.JPN/34-2010/176、Fukui.JPN/43-2010/219およびFukui.JPN/45-2010/227）はシーケンス後、同源性検索の結果、いずれもHBoVと同源性が極めて高かった。

一方、2010年下痢症、不明熱患者から採取された便（22検体）および2009年ARIs患者から採取された咽