

- metapneumovirus from 2005 to 2011 in Fukui, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 66(1): 56-59, 2013.
- 8) Kobayashi M, Tsukagoshi H, Ishioka T, Mizuta K, Noda M, Morita Y, Ryo A, Kozawa K, Kimura H. Seroepidemiology of saffold cardiovirus (SAFV) genotype 3 in Japan. *J Infect.* 66(2):191-193, 2013.
 - 9) Saitoh M, Takeda M, Gotoh K, Takeuchi F, Sekizuka T, Kuroda M, Mizuta K, Ryo A, Tanaka R, Ishii H, Takada H, Kozawa K, Yoshida A, Noda M, Okabe N, Kimura H. Molecular evolution of hemagglutinin (H) gene in measles virus genotypes D3, D5, D9, and H1. *PLOS ONE.* 7(11):e50660, 2012.
 - 10) Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Ikeda T, Itagaki T, Katsushima F, Katsushima Y, Matsuzaki Y, Noda M, Kimura H, Ahiko T. Epidemiology of parainfluenza virus types 1, 2 and 3 infections based on virus isolation between 2002 and 2011 in Yamagata, Japan. *Microbiol Immunol.* 56(12):855-858, 2012.
 - 11) Mizuta K, Kuroda M, Kurimura M, Yahata Y, Sekizuka T, Aoki Y, Ikeda T, Abiko C, Noda M, Kimura H, Mizutani T, Kato T, Kawanami T, Ahiko T. Epidemic myalgia associated with human parechovirus type 3 infections among adults, Yamagata, Japan, 2008. *Emerg Infect Dis.* 18(11):1787-1793, 2012.
 - 12) Miyakawa K, Sawasaki T, Matsunaga S, Tokarev A, Quinn G, Kimura H, Nomaguchi M, Adachi A, Yamamoto N, Guatelli J, Ryo A. Interferon-Induced SCYL2 Limits Release of HIV-1 by Triggering PP2A-Mediated Dephosphorylation of the Viral Protein Vpu. *Sci Signal.* 5(245):ra73, 2012.
 - 13) Obuchi M, Toda S, Tsukagoshi H, Oogane T, Abiko C, Funatogawa K, Mizuta K, Shirabe K, Kozawa K, Noda M, Kimura H, Tashiro M. Molecular analysis of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus genome associated with fatal infection cases in Gunma, Tochigi, Yamagata, and Yamaguchi Prefectures, Japan during the first pandemic wave. *Jpn J Infect Dis.* 65(4):363-367, 2012.
 - 14) Nidaira M, Taira K, Hamabata H, Kawaki T, Gushi K, Mahoe Y, Maeshiro N, Azama Y, Okano S, Kyan H, Kudaka J, Tsukagoshi H, Noda M, Kimura H. Molecular epidemiology of human metapneumovirus (HMPV) from 2009 to 2011 in Okinawa, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 65(4):337-340, 2012.
 - 15) Kato M, Ishioka T, Kita H, Kozawa K, Hayashi Y, Kimura H. Eosinophil granular proteins damage bronchial epithelial cells infected with respiratory syncytial virus. *Int Arch Allergy Immunol.* 158(1):11-18, 2012.
 - 16) Kon M, Watanabe K, Tazawa T, Watanabe K, Tamura T, Tsukagoshi H, Noda M, Kimura H, Mizuta K. Detection of human coronavirus NL63 and OC43 from children with acute respiratory infections in Niigata, Japan, between 2010 and 2011. *Jpn J Infect Dis.* 65(3):270-272, 2012.
 - 17) Yoshida A, Kiyota N, Kobayashi M, Nishimura K, Tsutsui R, Tsukagoshi H, Hirano E, Yamamoto N, Ryo A, Saitoh

- M, Harada S, Inoue O, Kozawa K, Tanaka R, Noda M, Okabe N, Tashiro M, Mizuta K, Kimura H. Molecular epidemiology of attachment glycoprotein (G) gene in respiratory syncytial virus in children with acute respiratory infection in Japan in 2009/2010. *J Med Microbiol.* 61:820-829, 2012.
- 18) Ikeda T, Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Itagaki T, Katsushima F, Katsushima Y, Matsuzaki Y, Fuji N, Imamura T, Oshitani H, Noda M, Kimura H, Ahiko T. Acute respiratory infections due to enterovirus 68, in Yamagata, Japan between 2005 and 2010. *Microbiol Immunol.* 56(2):139-143, 2012.
- 19) Arakawa M, Okamoto-Nakagawa R, Toda S, Tsukagoshi H, Kobayashi M, Ryo A, Mizuta K, Hasegawa S, Hirano R, Wakiguchi H, Kudo K, Tanaka R, Morita Y, Noda M, Kozawa K, Ichiyama T, Shirabe K, Kimura H. Molecular epidemiological study of human rhinovirus species ABCs from patients with acute respiratory illnesses in Japan. *J Med Microbiol.* 61(Pt 3):410-419, 2012.
- 20) Otsuki N, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kubota T, Nakatsu Y, Chen S, Fukuhara H, Maenaka K, Yamaguchi R, Kuroda M, Takeda M. Canine Distemper Virus with the Intact C Protein Has the Potential to Replicate in Human Epithelial Cells by Using Human Nectin4 as a Receptor. *Virology.* (in press)
- 21) Pratakpiriya W, Seki F, Otsuki N, Sakai K, Fukuhara H, Katamoto H, Hirai T, Maenaka K, Techangamsuwan S, Lan NT, Takeda M, Yamaguchi R. (2012) Nectin4 is an epithelial cell receptor for canine distemper virus and involved in the neurovirulence. *J Virol.* 86. 10207-10.
- 22) Kawase M, Shirato K, van der Hoek L, Taguchi F, Matsuyama S. Simultaneous treatment of human bronchial epithelial cells with serine and cysteine protease inhibitors prevents severe acute respiratory syndrome coronavirus entry. *J Virol.* 2012 Jun; 86(12):6537-45.
- 23) Okayama Y, Kashiwakura J, Sasaki-Sakamoto T, Matsumoto K, Hashimoto N, Ohmori K, Kawakami T, Saito H, Ra C. Ómalizumab inhibits acceleration of FcεRI -mediated responsiveness of immature human mast cells by IgE. *Ann Allergy Asthma Immunol* 108(3): 188-194, 2012.
- 24) Kashiwakura J, Okayama Y, Furue M, Kabashima K, Shimada S, Ra C, Shiraganian RP, Kawakami Y, Kawakami T. Most highly cytokinergic IgEs have polyreactivity to autoantigens. *Allergy, Asthma & Immunology Research* 4(6):332-340, 2012.
- 25) Lee H, Kashiwakura J, Matsuda A, Watanabe Y, Sakamoto-Sasaki T, Matsumoto K, Hashimoto N, Saito S, Ohmori K, Nagaoka M, Tokuhashi Y, Ra C, Okayama Y. Activation of human synovial mast cells from rheumatoid arthritis or osteoarthritis patients in response to aggregated IgG through FcγRI and FcγRII.. *Arthritis Rheum* Oct 10. doi: 10.1002/art.37741, 2012
- 26) Okayama Y, Kashiwakura J, Matsuda A, Sasaki-Sakamoto T, Nunomura S,

- Yokoi N, Ebihara N, Kuroda K, Ohmori K, Saito H, Ra C. The interaction between Lyn and FcεRIβ is indispensable for FcεRI-mediated human mast cell activation. *Allergy* 67(10):1241-9, 2012.
- 27) Ohtsubo-Yoshioka M, Nunomura S, Kataoka TR, Okayama Y, Ra C. Fc receptor beta chain deficiency exacerbates murine arthritis in the anti-type II collagen antibody-induced experimental model. *Mod Rheumatol* Oct 6. [Epub ahead of print] 2012.
- 28) Kataoka TR, Fujimoto M, Moriyoshi K, Koyanagi I, Ueshima C, Kono F, Tsuruyama T, Okayama Y, Ra C, Haga H. PD-1 regulates the growth of human mastocytosis cells. *Allergol Int* In press.
- 29) Ra C, Nunomura S, Okayama Y: Fine-tuning of mast cell activation by FcεRIβ chain. *Frontiers Immunol* doi: 10:3389/fimmu.2012.00112
- 30) Matsunaga S, Sawasaki T, Ode H, Morishita R, Furukawa A, Sakuma R, Sugiura W, Sato H, Katahira M, Takaori-Kondo A, Yamamoto N, Ryo A. Molecular and enzymatic characterization of XMRV protease by a cell-free proteolytic analysis. *J Proteomics*. 2012 Aug 3;75(3):4863-73.
- 31) 松田俊二, 小村珠喜, 塚越博之, 野田雅博, 木村博一. 重症心身障害児(者)病棟におけるヒトメタニューモウイルス感染症の流行. *感染症学雑誌*. 86(2):109-114, 2012.
- 32) 松田俊二, 小村珠喜, 塚越博之, 野田雅博, 木村博一: 重症心身障害児(者)病棟におけるヒトメタニューモウイルス感染症の流行. *感染症学雑誌*, 86 (2)、109-114、2012
- 33) 水田克巳: 呼吸器感染症の病原診断、エンテロウイルス・ライノウイルス. *臨床とウイルス* 40、134-141、2012
- 34) 横井一、田中俊光、水村綾乃、北橋智子: Real-time RT-PCR 法によるRSウイルス遺伝子の検出とサブグループ型別. *感染症学雑誌*、86(5)、569-576、2012
- 35) 吉岡政純、石川和弘、池田雄史、清水恒広、野田雅博、木村博一: 小児における呼吸器感染症から検出されたヒトメタニューモウイルスに関する分子疫学および臨床医学的検討. *感染症学雑誌*、86、2012 (印刷中)
- 36) Okayama Y, Matsuda A, Kashiwakura J, Sasaki-Sakamoto T, Nunomura S, Ohmori K, Gon Y, Asano M, Akihisa T, Terui T, Saito H, Ra C. Distribution and localization of FcεRIβ subunit in human mast cells. In: Marone G, Triggiani M and Genovese A (eds). *Translational Science: from Basic to Clinical Immunology and Allergy*. pp. 105-108. Pacini Editore, Pisa, Italy, 2012.
- 37) 木村博一, 塚越博之, 石井晴之, 吉田綾子, 野田雅博, 小澤邦壽. 呼吸器関連ウイルス(RSV)の基礎と分子疫学. *臨床免疫・アレルギー科*, 58(4): 414-418, 2012.
- 38) 木村博一, 梁明秀, 岡山吉道. 急性呼吸器ウイルス感染と喘息. *感染・炎症・免疫*, 42(2):59-63, 2012.
- 39) 岡山吉道, 柏倉淳一, 羅智靖: ヒトマスト細胞のサブセットとその性状. *臨床免疫・アレルギー科* 57(6):597-600, 2012

- 40) 柏倉淳一, 岡山吉道, 羅智靖: 神経ペプチドによるマスト細胞の活性化
臨床免疫・アレルギー科
57(6):634-638, 2012
- 41) 岡山吉道, 柏倉淳一, 大森一光, 羅智靖: アナフィラキシーショックの病態生理
臨床免疫・アレルギー科
58(5): 571-574, 2012.
- 42) 岡山吉道: マスト細胞とアレルギー
日大医学雑誌 71 (3):203-206, 2012.
- 43) 柏倉淳一, 岡山吉道, 羅智靖: ヒトマスト細胞活性化における PAF および神経ペプチドの役割
臨床免疫・アレルギー科 58(5): 565-570, 2012.
- 44) 岡山吉道, 柏倉淳一, 大森一光, 羅智靖: アナフィラキシーショックの病態生理
臨床免疫・アレルギー科
58(5): 571-574, 2012.
- 45) 岡山吉道, 片岡竜貴: Systemic mastocytosis 日本臨床 別冊 2012 In press

2. 著書

- 1) 木村博一, ウイルスと細菌の滅菌・消毒法. 木村博一編集, 食の安全に関する必要知識と実践, 大阪:メディカルレビュー社, 2012:49-57.

H. 知的財産の出願・登録状況

「幹細胞の安定性維持、複製を制御するためのペプチジルプロリルイソメラーゼ Pin1 の利用」特願:2010-238548 出願日:平成22年10月25日出願人:公立大学法人横浜市立大学 発明者:梁明秀、西真由子

厚生労働科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業

重症呼吸器ウイルス感染症のサーベイランス・病態解明及び制御に関する研究

平成 24 年度 分担研究報告書

研究代表者 木村 博一

平成 25 年 (2013 年) 3 月

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)
分担研究総括(サーベイランスグループ；平成24年度)報告書

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(国立感染症研究所感染症情報センター)

研究協力者

[衛生研究所サーベイランスグループ]

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)、櫛渕(大貫)泉美(栃木県保健環境センター)、中川(岡本)玲子(山口県環境保健センター)、昆美也子(新潟県保健環境科学研究所)、横井 一、田中俊光(千葉市環境保健研究所)、小林美保(群馬県衛生環境研究所)、平野映子、中村雅子(福井県衛生環境研究センター)、清田直子(熊本県保健環境科学研究所)、柴原乃奈(静岡市環境保健研究所)、宇野優香、神田典子(さいたま市健康科学研究センター)、竹内恵美(横須賀市健康安全科学センター)、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)

[小児科臨床グループ]

菅井和子、藤塚麻子*、村田宗紀、宮地裕美子(国立病院機構横浜医療センター小児科、*^現神奈川県立こども医療センター)、斎藤義弘(東京慈恵会医科大学青砥病院小児科)、岩崎志穂(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)、板垣 勉(山辺こどもクリニック)

[重度心身障害児(者)施設グループ]

松田俊二(国立病院機構愛媛病院)、鈴木由美(国立病院機構下志津病院)、岡崎 薫(国立病院機構香川小児病院)

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(sv)急性呼吸器感染症(ARIs)ウイルス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)svARIs 症例検体から ARIs 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)、ヒトパラインフルエンザウイルス(HPIV)等が本疾患へ強く関与していることを明らかにした。2)これら分離・検出株の分子疫学解析結果から、我が国で流行しているそれぞれのウイルスは固有の遺伝学的多様性を有すること、ウイルスによっては特徴的な流行様相を示すこと、等が示唆された。3) 臨床学的、検査診断学的知見を基に、小児科領域の svARIs 重症度基準を策定した(研究分担者；小澤邦寿との共同研究)。4)重度心身障害児(者)施設内の ARIs 流行は HMPV、HRV および HPIV 感染が原因であることを明らかにし、臨床症状・所見等の差異について検証した。

A.研究目的

平成23年度に引き続いて、自治体衛生研究所等で実施されている急性呼吸器感染症(ARIs)サーベイランスを実施し、得られた分離・検出株と症例情報等を基に、svARIsの包括的なウイルスレファレンスおよび疫学ならびに臨床医学的知見の集積と等を行い、各地域および全国レベルでの充実したARIs対策に資するための総合的なレファレンス体制整備等に関する研究を行う。

なお、2012年度に各班員が実施した個別課題の研究報告は後述する。

B.研究方法

サーベイランスグループに与えられた研究課題を遂行するため、昨年度に引き続きつぎの3つのグループを組織し、以下の研究を行った。

[衛生研究所サーベイランスグループ]

自治体衛生研究所における重症(sv)ARIs ウイルスサーベイランス機能充実・強化を図り、積極的な svARIs ウイルスサーベイランス実施と科学的根拠に基づく地域・国の svARIs 感染実態把握ならびに地域住民の健康保持を目的とした衛生行政施策への還元を期す。また、本研究をとおして自治体衛生研究所等と連携し、検査診断に係る側面的技術協力を行う。

[小児科臨床グループ]

小児 svARIs 症例の原因ウイルス究明と臨床像、治療知見等を基盤とした解析を試みる。特に、小児気管支喘息の発症要因、発症時の検出ARIs ウイルス種、検出頻度、ARIs の重症度基準に即し検出ウイルス種、増悪要因、等について前/後方視的解析を行う。とくに今年度は、これまでの研究知見を基にして、新たな svARIs 重症度基準の策定と策定基準に即応した治療指針等の確立を期す。

なお、重症度基準策定に関する研究課題は小澤邦壽(研究分担者；群馬県衛生研究所)との共

同研究課題である。

[重度心身障害児(者)施設グループ]

国立病院に設置されている重度心身障害児(者)施設内で発生した svARIs 症例の原因ウイルス究明と効果的治療、病棟内感染制御を図ることにより、院内施設の衛生医療対策の向上を期す。

重点研究対象ウイルスは、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)、ヒトパラインフルエンザウイルス(HPIV)、ヒトコロナウイルス(HCoV)およびヒトボカウイルス(HBoV)等である。

C.研究結果

[衛生研究所サーベイランスグループ]

1. svARIs ウイルス分離・検出成績

山形県、沖縄県、栃木県、山口県、新潟県、群馬県、福井県、熊本県、千葉市、静岡市、さいたま市および横須賀市のそれぞれの県・市域における svARIs ウイルスサーベイランス(2012年1月～2012年11月末)の結果、RSV:253株、HMPV:150株、HRV:527株、HPIV:150株、HCoV:35株およびHBoV:66株等がそれぞれ分離・検出された。その他、エンテロウイルス(EV)、サフォードカルディオウイルス(SAFV)、パレコウイルス、インフルエンザウイルス(FuIV)およびアデノウイルス(AdV)等の ARIs ウイルスが分離・検出された。

2.山形県域における2002年から2011年の間のHPIV分離成績を基にした疫学解析を試み、つぎの知見を得た。

2-1. HPIV1型(-1)の分離株数は隔年で増多傾向を示したが、流行の明瞭な季節性はない。HPIV-1好発年齢は2-4歳で、HPIV-3患児年齢に比し、やや高い傾向を示す。2002-2009年のHPIV-1分離株182株について、HN遺伝子の塩

基配列(1,233bps)を解析した結果、分離株は大きく2つのクラスターに分類され、これらは1980年代後半に分岐した可能性が推測された。

2-2. HPIV-2はHPIV-1が増多傾向を示した翌年の秋季から冬季に多数分離される傾向を示す。好発年齢は3-5歳であり、HPIV-3好発年齢に比し、やや高い年齢を示す。

2-3. HPIV-3は毎年5-7月期をピークとする、明らかな季節性の流行様相を示す。分離代表株の遺伝子解析結果から、流行株は3つのcladeに分類される。好発年齢は2歳以下の乳幼児が50%以上を占め、低年齢児svARIsの重要な原因ウイルスである。

2-4. HPIV-4が2011年9月~2012年2月にかけて、HPIV-4aおよび-4b混合の地域流行を確認した。

3. 沖縄県域における2010年6月~2012年12月の間、インフルエンザ以外のARIsが疑われた患者から採取された612検体についてARIsウイルスおよび2009年1月~2012年12月の間、いずれのARIsウイルスも不検出であった385検体について、HCoV検索を行った。

3-1. 612検体からRSVが87株(14.2%)、HMPVが23株(3.8%)、HPIVが48株(7.8%)、HRVが34株(5.6%)、HBoVが33株(5.4%)、AdVが50株(8.2%)、EVが72株(11.8%)、ヒトパレコウイルスが19株(3.1%)、FulVが4株(0.7%)、ヒトヘルペスウイルス1型が7株(1.1%)、合計377株のウイルスが326検体(53.3%)から検出された。

3-2. ARIsウイルスも不検出であった385検体から、HCoV 26株(6.8%)が検出された。検出株はHCoV-NL63が8株(2.1%)、-OC43が15株(3.9%)、-HKU1が3株(0.8%)に分類された。

4. 新潟県域における2010年8月から2011年12月までの間に、急性上/下気道炎患者から採取された咽頭および鼻腔ぬぐい液179検体から、HCoV検索を試みた。その結果、2010年12月、2011年1月、2月および7月の検体からHCoV-NL63が10株および2011年2月、3月、5

月、6月および7月の検体からHCoV-OC43が10株検出された。HCoV-229EおよびHCoV-HKU1は検出されなかった。

検出株のスパイク領域の遺伝子解析結果から、HCoV-OC43は2つのクラスターに分かれ、それぞれのクラスターで検出時期が異なっていた。

5. 福井県域の2005年8月から2012年11月の間に、医療機関を受診したARIs患者から採取された鼻咽頭拭い液792検体からRT-PCRによりHMPV検索を行った。その結果、HMPVは55検体(6.9%)から検出され、検出時期は主として1月から6月期であった。検出55株のF遺伝子について系統樹解析等を行った結果、subgroup A2が31株、subgroup B1が2株およびsubgroup B2が22株にそれぞれ分類された。検出株間の相同解析ではsubgroup A2分類株では95.6-100%、subgroup B2分類株では97.5-100%と高かった。また、検出55株のF遺伝子ではpositive selection siteは確認されなかった。

6. 山口県域において2008年4月から2012年12月の間に検出されたRSVについて分子疫学解析を行った。その結果、RSVはほぼ年間を通じて検出された。2008年4月-2010年3月期および2011年4月-2012年12月期はsubgroup A(-A)分類株が、また2010年4月-2011年3月期はsubgroup B(-B)がそれぞれ優勢に検出された。RSV-A分類株のgenotypeはすべてGA2、RSV-B分類株はすべてBAに近縁であった。2012年に検出されたsubgroup Aのうち2株は、G遺伝子上に72塩基の重複を有する変異株であった。

7. 栃木県内の2医療機関に呼吸器疾患治療のため入院した患児から採取された咽頭ぬぐい液92検体を用いて、ARIsウイルスの分離・検出を行った。その結果、RSV:42株、HRV:29株およびHPIV:5株等が分離・検出された。

検出RSVはsubgroup A:40株、subgroup B:2株に分類された。RSV-A分類株は、genotype

NA1 : 38 株および C 末端超可変領域に 72 塩基の重複を有する genotype ON1 : 2 株に分類された。RSV-B 分類株はすべて genotype BA に分類された。

検出 HRV は、species A(-A) : 10 株(34.5%)、species B(-B) : 7 株(24.1%)および species C(-C) : 12 株(41.4%)にそれぞれ分類された。我が国では HRV-A および-C 分類株がこれまで主流とされているが、本研究では HRV-B 分類株が高率(24.1%)に検出された。分子系統樹解析の結果、HRV-A、-B および-C は、それぞれ 7、4 および 8 つの genotype に分類された。HRV-A のうち 5 株および HRV-B のうち 2 株は、これまでの genotype とは異なる genotype に分類された。

8. さいたま市域における夏季(2012 年 5 月から 10 月)の ARIs ウイルスサーベイランスを実施した。その結果、ARIs 患者から採取された 99 検体から、HRV: 27 株、HPIV: 24 株、HMPV: 10 株、RSV: 9 株、EV: 8 株、AdV: 7 株、HBoV: 5 株および HCoV: 2 株が検出され、これまでさいたま市では実態未解明であった夏季の ARIs ウイルス動向が明らかになった。

9. 静岡市内 7 ヶ所の医療機関を受診(2011 年 4 月から 2012 年 10 月)した患者から採取された計 449 検体から、ヒトボカウイルス(HBoV)遺伝子の検出を試みた。その結果、HBoV が 16 検体(3.6%)から検出され、検出株は遺伝子型 1 型および 2 型に分類された。患者年齢は 2 歳未満児が多く、その臨床診断名は多様であった。陽性 16 検体のうち 12 検体(75%)では、AdV など計 9 種類のウイルスが同時に検出された。

10. 我が国の ARIs 患者から検出される HRV-C の VP4/VP2 領域の分子疫学解析を行うため、2009 年 4 月~2011 年 12 月の間に熊本県および栃木県の ARIs 患者から採取された鼻咽腔ぬぐい液あるいは気管吸引液 1,345 検体の HRV 検索を実施した。その結果、165 検体(12.3%)から HRV が検出され、そのうち 63 株が HRV-C であ

った。

代表的な 19 株の HRV-C について、近隣結合(NJ)法と最尤(ML)法による系統樹解析を行い、これら 19 株は 11 の genotype に分類され、いずれも 1870 年代前半を起源として、その後、分岐した可能性が示唆された。また、塩基置換速度は 3.07×10^{-3} substitutions/site/year と推定された。

11. svARI に関与するウイルスの検出法の開発を目的として、Real-time RT-PCR 法による RSV および HMPV 検出系の構築を試みた。その結果、RSV の F 遺伝子に対する Real-time RT-PCR は、RSV 感染症の遺伝子診断に有用であることが明らかとなった。

いっぽう、HMPV の F 遺伝子に対する Real-time RT-PCR は、Nested PCR に比べ感度が低く、特に genotype A2 や B1 に対する検出感度が低い傾向が示唆され、更なるプライマーと TaqMan プローブの改良が必要であると考えられた。

12. 2010 年 11 月から 2012 年 5 月にかけて横浜医療センター小児科を受診した ARIs 患児から採取された鼻腔拭い液 151 検体について、(RT-)PCR により原因ウイルスの検索を行った。その結果、HRV が 43 株、RSV が 21 株、HMPV が 7 株、HPIV が 6 株、AdV が 5 株および HBoV が 7 株、それぞれ検出された。これまでのウイルス検出成績は臨床所見等とあわせて、小児の新たな ARIs 重症度基準の策定の基礎データに活用した。

13. 愛媛病院および下志津病院において重心施設内の ARIs 流行症例について、原因ウイルスの究明を本年度も継続して行った。

13-1. 本年度は HMPV および HRV の流行が確認され、2009 年 10 月から 2012 年 9 月までの 3 年間で HRV:4 回、HMPV:3 回、HPIV:2 回、HCoV と EV がそれぞれ 1 回、合計 11 回の ARIs ウイルス流行が確認された。また、それぞれのウイルスでは流行経過・臨床症状・検査所見などに

特徴がみられた。いっぽう、病原体不明の ARIs 流行も約 30%存在し、実態を明らかにして流行防止を図るには、今後も調査研究の継続が必要と考えられた。

13-2. 重症心身障害児（者）施設において 2011 年 10 月～2012 年 8 月に発生した ARIs 9 事例について、原因ウイルスの探索を試みた。その結果、HRV が 3 事例、HPIV が 2 事例、HMPV が 1 事例、HCoV が 1 事例からそれぞれ検出された。HMPV や HRV はこれまでも当該施設にて流行が確認されており、一定の比率で病棟内流行を引き起こすことが考えられた。また、今年度研究で HPIV および HCoV が初めて原因特定された

D. まとめと考察

衛生研究所グループは、それぞれの地域の svARIs ウイルスサーベイランスを実施し、RSV、HMPV、HRV、HPIV、HBoV および HCoV 等、多数の svARIs ウイルス株が分離・検出された。

水田、板垣班員は山形県域における HPIV 動向を長期にわたり研究し、HPIV-1、-2、-3 および-4(a/b)ではそれぞれ特徴的流行様相を示すこと、好発年齢の差異等を明らかにした。加えて、分離 HPIV-1 株の *HN* 遺伝子を解析し、HPIV-1 は大きく 2 つのクラスターに分類され、これらは 1980 年代後半に分岐した可能性があること、分離 HPIV-3 株は 3 つの *clade* に分類されることを示唆した

仁平、平良班員は沖縄県域の svARIs に RSV、HPIV、HMPV、HRV および HBoV 等が本年度も大きく関与していること、また、これまで原因不明であった ARIs 症例について後方視的検討を加え、そのうちの約 7%は HCoV が原因であったことを解明した。同じく、昆班員は新潟県域の ARIs 症例への HCoV の関与をこれまでウイルス分離により証明していたが、本年度検査診断系に RT-PCR を併用することによりさら

に詳細な感染実態を明らかにした。

平野、中村班員は福井県域の HMPV の分子疫学を試み、域内の検出株は HMPV-A2 および-B2 が主流で、-B1 は僅かであったこと、同一 subgroup 株間は遺伝学的に極めて近縁な株であること、F 遺伝子には *positive selection site* は確認されないことを明らかにした。

岡本班員は山口県域の 5 年間の検出 RSV の分子疫学結果から、年によって RSV-A と-B が相互に流行すること、2012 年検出 RSV-A 株の一部に横井、田中班員が報告した C 末端超可変領域に 72 塩基が挿入された変異株があったことを追加確認した。

櫛淵班員は栃木県域の検出 RSV-A 株でも同様の変異株の存在を確認し、この株は *genotype ON1* に分類されたことを明らかにした。さらに、これまで *genotype GA2* に分類されて株が現在ではさらに進化した *genotype NA1* に分類されることを示した。いっぽう、これまで我が国で検出される HRV は HRV-A および-C が主流であることを本研究班であきらかにしているが、栃木県域の本年度の研究結果から HRV-B が多く検出され、今後のウイルス動向には注意が必要であろう。

宇野班員はさいたま市域ではこれまで未解明であった夏季の ARIs ウイルス動向把握を試み、HRV、HPIV、HMPV、RSV 等が夏季 ARIs 症例に関与していることを明らかにした。今後は年間をとおしての ARIs ウイルス感染実態の把握解明が望まれる。

柴原班員は静岡市域の HBoV 感染実態を把握するため、ARIs 症例とそれ以外の症例検体も含めた(Real-time) PCR を実施した。HBoV 検出率は約 4%で、陽性症例はさまざまな臨床症状を示した。このうち消化器症状を示す症例から得られた鼻腔ぬぐい液および下痢便検体中の DAN コピー数算出を試みたが、更なる検討が必要であった。

清田班員は我が国の HRV-C の分子疫学を解明するため鼻咽腔ぬぐい液等から HRV 検索を実施し、HRV 165 株(検出率: 12.3%)を検出し、うち 63 株が HRV-C であったことを確定した。代表的な 19 株の HRV-C について、NJ 法と最 ML 法による系統樹解析を行い、これら 19 株は 11 の genotype に分類され、いずれも 1870 年代前半を起源として、その後、分岐した可能性を示した。また、塩基置換速度は 3.07×10^{-3} substitutions/site/year と推定した。

横井、田中班員は Real-time RT-PCR による RSV および HMPV 検出系の構築を試み、RSV の *F* 遺伝子に対する Real-time RT-PCR は RSV 感染症の遺伝子診断に有用であることを示し、衛生研究所で実施される感染症発生動向調査事業への活用を図った。いっぽう、HMPV の *F* 遺伝子に対する Real-time RT-PCR は、特に genotype A2 や B1 に対する検出感度が低い傾向を示し、更なる改良が必要である。

小林班員は昨年度に引き続き菅井、村田、宮地班員と共同で svARIs 患児の原因ウイルス検索を実施し、HRV、RSV、HMPV、HPIV および HBoV 等の ARIs ウイルスを多数特定した。

菅井、村田、宮地班員はこれまでのウイルス検索成績と臨床所見等を併せ精査解析し、小児科領域の ARIs 重症度基準を小澤邦寿研究分担者主導のもとに策定した。別掲の当該報告を参照されたい。

松田、鈴木班員は昨年度に引き続き、重心施設内の ARIs 流行症例の原因究明、症例比較検討等と効果的制御法の検証を実施した。今年度は清田班員がウイルス検索、解析を実施し、HRV、HPIV、HMPV、HCoV などに起因する症例であったことを確定するとともにそれぞれの原因ウイルス別の臨床所見、流行様相には特徴的な所見、様相が示される。また、今年度は HPIV および HCoV が原因ウイルスとして新たに追加された。いっぽう、これまでの積極的な原因究

明の試みにもかかわらず、約 30%の症例では原因が依然未解明である。施設内での ARIs 症例は市中のウイルス動向とも連動し重症化傾向を示す場合もあり、注意が必要である。

E. 結論

今年度実施した包括的な svARIs サーベイランスに関する研究成果を以下のとおり結論する。

1. RSV、HMPV、HRV、HPIV、HBoV、HCoV および EV68 などの svARIs への関与を明らかにした。特に、RSV、HMPV、HPIV などの感染は臨床的に重症化傾向を示す。
2. 上記 svARIs ウイルスについて、詳細な分子疫学解析等を行い、それぞれのウイルス感染症の我が国の最近の疫学を明らかにした。
3. それぞれの ARIs ウイルスの代表株について株の保存および GenBank への遺伝情報登録等を実施し、研究資産活用を期した。
4. 医診連携体制のもとに実施した小児 ARIs を対象にした研究成果を基に、小児科領域の ARIs 重症化基準を策定、公開した。
4. 施設内の svARIs ウイルス流行の原因ウイルスを診断し、治療指針、感染拡大防止対策の一助とした。
5. 地方衛生研究所における svARIs ウイルスサーベイランスに係る不断の側面的技術協力を行った。

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) Kon M, Watanabe K, Tazawa T, Watanabe K, Tamura T, Tsukagoshi H, Noda M, Kimura H, Mizuta K: Detection of Human Coronavirus NL63 and OC43 in Children with Acute Respiratory Infections in Niigata, Japan, between 2010 and

2011, Jpn. J. Infect. Dis., 65, 270-272, 2012

- 2) 松田俊二、小村珠喜、塚越博之、野田雅博、木村博一：重症心身障害児(者)病棟におけるヒト・メタニューモウイルス感染症の流行、感染症学雑誌、86(2)、109-114、2012
- 3) 昆美也子、渡部 香、田澤 崇、広川智香、渡邊香奈子：新潟県における新型インフルエンザ流行期とその前後の呼吸器ウイルス検出状況、医学検査、61(3)、548-554、2012
- 4) 横井 一、田中俊光、水村綾乃、北橋智子：Real-time RT-PCR 法によるRS ウイルス遺伝子の検出とサブグループ型別、感染症学雑誌、86(5)、569-576、2012
- 5) 吉岡政純、石川和弘、池田雄史、清水恒広、野田雅博、木村博一：小児における呼吸器感染症から検出されたヒトメタニューモウイルスに関する分子疫学および臨床医学的検討、感染症学雑誌、86(6)、755-762、2012
- 6) 菅井和子、野田雅博、木村博一：感染症迅速診断キットの有用性と限界 2.RS ウイルス、小児科、53(4)、417-422、2012
- 7) 宮地裕美子、菅井和子：ウイルス感染と喘鳴臨床症状への影響、臨床免疫・アレルギー科、58(4)、419-424、2012
- 8) 菅井和子：食物アレルギーとワクチン接種、小児内科、44(12)、2107-2110、2012
- 9) Nakamura M, Hirano E, Ishiguro F, Mizuta K, Noda M, Tanaka R, Tsukagoshi H, Kimura H : Molecular epidemiology of human metapneumo-virus from 2005 to 2011 in Fukui, Japan, Jpn. J. Infect. Dis., 66, 87-89, 2013
- 10) Abiko C, Mizuta K, Aoki Y, Ikeda T, Itagaki T, Noda M, Kimura H, Ahiko T: An outbreak of Children with Acute Respiratory Infections during the Parainfluenza Virus Type 4 Infections among 2011-2012 Winter Season in Yamagata, Japan, Jpn. J. Infect. Dis., 66, 76-78, 2013
- 11) Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Ikeda T, Matsuzaki

Y, Itagaki T, Katsushima F, Katsushima Y, Noda M, Kimura H, Ahiko T: Seasonal patterns of respiratory syncytial virus, influenza A, human metapneumovirus, and, para-influenza type 3 infections based on virus isolation between 2004 and 2011 in Yamagata, Japan. Jpn.J.Infect.Dis. (in press)

12) Matsuda S, Nakamura M, Hirano E, Kiyota N, Omura T, Suzuki Yumi, Noda M, Kimura H: Prevalence of Human Metapneumovirus Infection in Hospital Wards Housing Patients with Severe Motor and Intellectual Disabilities, Jpn J Infect Dis. (received)

2. 学会発表

- 1) 吉田綾子、筒井理華、小林美保、塚越博之、清田直子、西村浩一、平野映子、野田雅博、岡部信彦、木村博一：2009/2010 シーズンに国内で検出されたRS ウイルス G 遺伝子の分子疫学、第 86 回日本感染症学会学術講演、2012 年 4 月、長崎市
- 2) 宮地裕美子、菅井和子、船曳哲典：乳幼児RS ウイルス感染症児の入院時の喘鳴有無による予後の検討、第 24 回日本アレルギー学会春季臨床大会、2012 年 5 月、大阪市
- 3) 仁平 稔、水田克巳、野田雅博、木村博一：亜熱帯気候に属する沖縄県におけるヒトメタニューモウイルスの疫学、第 53 回臨床ウイルス学会、2012 年 6 月、豊中市
- 4) 清田直子、西村浩一、水田克巳、野田雅博、木村博一：熊本県におけるヒトライノウイルスとRS ウイルスの分子疫学、第 53 回臨床ウイルス学会、2012 年 6 月、豊中市
- 5) 水田克巳、野田雅博、木村博一：パレコーウイルス 3 型による成人の筋痛症の流行、第 53 回臨床ウイルス学会、2012 年 6 月、豊中市
- 6) 吉岡政純、近野真由美、水田克巳、野田雅博、木村博一：小児外来における重症呼吸器感染症からのヒトメタニューモウイルス(HMPV)の検

出・分離と臨床的および疫学的検討. 第53回臨床ウイルス学会、2012年6月、豊中市

7) Murata M, Sugai K, Kobayashi M, Suzuki T, Kobayashi Y, Kaburagi Y, Noda M, Kimura H: Identification of respiratory viruses in asthmatic Japanese children with recurrent wheezing, Asia Pacific Association of Pediatric Allergy, Respiriology & Immunology 2012 (joint congress of 16thTaiwan Academy of Pediatric Allergy Asthma Immunology& 34thThe Chinese Society of Immunology), 19_21, Oct.2012, Taipei

30) 清田直子、小林美保、塚越博之、西村浩一、原田誠也、野田雅博、木村博一: 本邦におけるヒト

ライノウイルスCの分子疫学、第82回日本感染症学会中日本・西日本合同地方会学術集会、2012年11月、長崎市

8) Matsuda S, Noda M: Prevalence of human metapneumovirus-infection in hospital wards comprising patients with severe motor and intellectual disabilities. international meeting on emerging diseases and surveillance, 16_17, Feb. 2013, Vienna, Austria

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

-特にパラミクソウイルスの疫学研究-

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 山形県における長期にわたるウイルス分離の結果、(1)ヒトパラインフルエンザ1型(HPIV1)は季節性が明瞭でなく、HPIV2は偶数年の秋～冬、HPIV3は5-7月頃毎年流行する、(2)HPIV4の地域流行が2011年秋～冬にあった、(3)11-12月頃RSウイルス、1-3月頃インフルエンザA型、3-4月頃ヒトメタニューモウイルス、5-7月頃HPIV3、の順に流行のピークがくるなど、小児において重症呼吸器ウイルス感染症をひきおこす原因ウイルスの流行疫学が明らかとなった。

A. 研究目的

パラミクソウイルス科に属するウイルスは、気管支炎や肺炎など重症呼吸器ウイルス感染症の主要な起因ウイルスである。しかし、RSウイルスを除いては、ヒトパラインフルエンザウイルス1-4型(HPIV1-4)、ヒトメタニューモウイルス(HMPV)の報告は限られており、本邦におけるこれらパラミクソウイルスの疫学研究は皆無に近いのが現状である。本年は研究班の活動の中で、ウイルス分離にもとづいたパラミクソウイルスの疫学研究のまとめを試みた。

B. 研究方法

山形県では、1999年から4種類の細胞を、2004年からは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、さらには2008年からはHMV-II細胞を加えたシステムで、呼吸器ウイルス感染症の疫学研究を目的としたウイルス分離を行ってきた。今回は、集大成として、これらのウイルス分離結果の中から、パラミクソウイルスの季節性、罹患年齢、に焦点をあて

て、その疫学的特徴を明らかにするべくデータの解析を行った。

C. 研究結果

(1) HPIV1-3の季節性と罹患年齢

2002-2011年に16,962鼻咽頭拭い液検体から、305株、154株、574株のHPIV1-3をそれぞれ分離した。季節性として、HPIV1は明瞭でなく、HPIV2は偶数年の秋～冬に多い傾向があった。HPIV3は毎年春～秋に明瞭なピークが観察された。罹患年齢は、HPIV3で分離の53.5%は2歳未満であり、年齢の上昇とともに分離率は低下した。それに対しHPIV1-2では、それぞれ2-4歳(2.4-2.7%)、3-5歳(1.1-2.0%)で分離率が高かった[Mizuta K. et al.: Epidemiology of parainfluenza virus type 1, 2, and 3 infections based on virus isolation between 2002 and 2011 in Yamagata, Japan. Microbiol.Immunol. 56:855-858, 2012.]。

(2) HPIV4の季節性と罹患年齢

我々は、HPIV4については、ほとんど分離経験がなかったが、トリプシン加HMV-II細胞及び

LLC-MK2 細胞により 2011 年 10 月から 2012 年 2 月にかけて初めて地域流行を確認した。2011 年 1 月から 2012 年 4 月の 1,499 鼻咽頭拭い液検体から 43 例で RT-PCR 陽性、12 例で分離陽性となったが、そのうち 37 例(86%)は 9 月から 2 月に集中していた。罹患年齢に特徴は見いだせなかった [Abiko C. et al: An outbreak of parainfluenza virus type 4 infections among children with acute respiratory infections in the 2011-12 winter season in Yamagata, Japan. *Jpn.J.Infect.Dis.* (in press)]。

(3) RS ウイルス、インフルエンザウイルス A 型、HMPV、HPIV3 型の季節性と罹患年齢

2004 年から 2011 年までの 13,325 鼻咽頭拭い液検体からのべ 5,515 株のウイルスを分離した。中でも、夏季に多いエンテロウイルスを除いて、明瞭な季節性を示したものは、RS ウイルス、インフルエンザ A 型、HMPV、HPIV3 であった。RS ウイルスは年末の秋～冬、インフルエンザ A 型は 1-3 月頃、HMPV は 3-4 月頃、HPIV3 は 5-7 月頃にピークを作り、概してこの順に流行が見られていた。罹患年齢でいえば、RS ウイルス、HMPV、HPIV3 は 4 歳未満で分離率が 12～13.1% と高かったのに対して、インフルエンザ A 型は学童で 7.3～8.2% と高くなっていた [Mizuta K. et al.: Seasonal patterns of respiratory syncytial virus, influenza A, human metapneumovirus, and, para-influenza type 3 infections based on virus isolation between 2004 and 2011 in Yamagata, Japan. *Jpn.J.Infect.Dis.* (in press)]。

D. 考察と結論

重症呼吸器ウイルス感染症の背景には多数の軽症例が存在する。2009 年の新型インフルエンザ発生時にも、重症インフルエンザ肺炎患者の背景には、幸いにも重症にはならなかった膨大な数の感染者があった。よって重症呼吸器ウイルス感染症対策を進めるには、その背景にある

呼吸器ウイルス感染症全体も合わせてきちんと把握しておく必要がある。

山形県衛生研究所には、原因不明の呼吸器感染症について病院や施設から検索依頼があり、RS ウイルスやパラインフルエンザウイルス、が検出できる場合もあるが、原因不明となってしまうことも多い。

特にパラミクソウイルスは、気管支炎や肺炎といった重症呼吸器ウイルス感染症の起因ウイルスであるが、一般的に RS ウイルスを除いて検査されることも少ない。今回、RS ウイルス以外の HPIV1-3 感染症が地域流行をおこしていることが確認されたことは、これらに起因する重症呼吸器ウイルス感染症が発生していながら、原因ウイルスが特定できていない可能性を示唆するものと考ええる。

RS ウイルス、インフルエンザ A 型についてはすでに迅速診断キットが販売されていたが、HMPV についても 2012 年から発売開始となった。重症呼吸器ウイルス感染症の診断・治療にあつては、臨床症状とあわせて迅速診断キットを活用することが基本となるが、その際、流行の季節性や罹患年齢の特徴を把握していることは診断への大きな手掛かりとなる。HPIV3 については残念ながら迅速診断キットはないが、これら 4 つの疾患について、疫学的特徴を提供できたことは(重症)呼吸器ウイルス感染症対策進歩の一助となったものと考えている。

HPIV4 感染症はデータが限られており、まだ疫学解明には至っていない。HPIV4 による重症感染症の報告もあり、感度が高い RT-PCR 法も併用しながら疫学研究を進めていくことが求められている。

呼吸器ウイルス感染症は、我々誰もが避けては通れない、最も身近な感染症である。しかし、臨床現場では、“感冒”として原因追究もされずに済まされてしまうことが多い。医療を evidence-based の医学にしていくためには、また、

重症呼吸器ウイルス感染症対策を進展させていくためには、呼吸器ウイルス感染症を科学的に診断し、治療していく姿勢・体制を構築していくことが重要と考える。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Kon M., Watanabe K., Tazawa T., Watanabe K., Tamura T., Tsukagoshi H., Noda M., Kimura H. and Mizuta K.: Detection of human coronavirus NL63 and OC43 from children with acute respiratory infections in Niigata, Japan, between 2010 and 2011. *Jpn.J.Infect.Dis.*65:270-271,2012

2) Mizuta K., Kuroda M., Kurimura M., Yahata Y., Sekizuka T., Aoki Y., Ikeda T., Abiko C., Noda M., Kimura H., Mizutani T., Kato T., Kawanami T. and Ahiko T.: Epidemic myalgia associated with human parechovirus type 3 infections among adults, Yamagata, Japan, 2008. *Emerg.Infect.Dis.* 18: 1787-1793,2012.

3) Mizuta K., Abiko C., Aoki Y., Ikeda T., Itagaki T., Katsushima F., Katsushima Y., Matsuzaki Y., Noda M., Kimura H., and Ahiko T.: Epidemiology of parainfluenza virus type 1, 2, and 3 infections based on virus isolation between 2002 and 2011 in Yamagata, Japan. *Microbiol.Immunol.*56:855-858, 2012.

4) 水田克巳：呼吸器感染症の病原診断、エンテロウイルス・ライノウイルス、臨床とウイルス 40：134-141,2012.

5) Abiko C., Mizuta K., Aoki Y., Ikeda T., Itagaki T.,

Noda M., Kimura H. and Ahiko T.: An outbreak of parainfluenza virus type 4 infections among children with acute respiratory infections in the 2011-12 winter season in Yamagata, Japan. *Jpn.J.Infect.Dis.* (in press)

6) Mizuta K. et al.: Seasonal patterns of respiratory syncytial virus, influenza A, human metapneumovirus, and, para-influenza type 3 infections based on virus isolation between 2004 and 2011 in Yamagata, Japan. *Jpn.J.Infect.Dis.* (in press)

2. 学会発表

1) 板垣勉、松寄葉子：一般診療所におけるエンテロウイルス 68 感染症、第 115 回日本小児科学会学術集会、2012 年 4 月 20-22 日、於福岡

2) 水田克巳、野田雅博、木村博一：パレコウイルス 3 型による成人の筋痛症の流行、第 53 回日本臨床ウイルス学会、2012 年 6 月 16-17 日、於大阪

3) 水田克巳、青木洋子、池田辰也、安孫子千恵子、阿彦忠之、野田雅博、木村博一、黒田誠、関塚剛史、栗村正之、八幡芳和、水谷哲也、加藤丈夫、川並透：パレコウイルス 3 型による成人の筋痛症の流行、第 66 回日本細菌学会東北支部総会、2012 年 8 月 23-24 日、於仙台

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

研究報告書

沖縄県における重症呼吸器ウイルスサーベイランス

—特にヒトコロナウイルスの検出状況について—

研究協力者	平良 勝也	沖縄県衛生環境研究所
研究協力者	仁平 稔	沖縄県衛生環境研究所
	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:

沖縄県の重症呼吸器ウイルス感染症の感染実態を明らかにするため、2010年6月~2012年12月に沖縄本島中南部において、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取された612検体の鼻腔・咽頭拭い液について、ウイルス検索を行った。その結果、Respiratory Syncytial ウイルスが87株(14.2%)、ヒトメタニューモウイルスが23株(3.8%)、ヒトパラインフルエンザウイルスが48株(7.8%)、ヒトライノウイルスが34株(5.6%)、ヒトボカウイルスが33株(5.4%)、アデノウイルスが50株(8.2%)、エンテロウイルスが72株(11.8%)、ヒトパレコウイルスが19株(3.1%)、インフルエンザウイルスが4株(0.7%)、ヒトヘルペスウイルス1型が7株(1.1%)、合計377株のウイルスが326検体(53.3%)から検出された。

2009年1月~2012年12月、いずれのウイルスも検出されなかった鼻腔・咽頭拭い液385検体について、ヒトコロナウイルス(HCoV)の検索を行った。その結果、26株(6.8%)のHCoVが検出され、HCoV-NL63が8株(2.1%)、-OC43が15株(3.9%)、-HKU1が3株(0.8%)に分類された。沖縄県の呼吸器感染症へのHCoVの関与を初めて明らかにした。

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のことも多い。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てきた。とくに今年度はヒトコロナウイルス(HCoV)感染症をサーベイランス対象に追加し、研究をおこなった。

B. 研究方法

2010年6月~2012年12月に沖縄本島中南部の医療機関3ヶ所において、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取された臨床検体612検体を試験に供した。呼吸器ウイルスの検索は、昨年と同様のRespiratory Syncytial ウイルス(RSV)、ヒトライノウイルス(HRV)、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)、エンテロウイルス(EV)、アデノウイルス(AdV)、ヒトボカウイルス(HBoV)、ヒトパレコウイルス

(HPeV)およびインフルエンザウイルス(FluV)について、(RT-)PCR およびウイルス分離により実施した。

また、上述の検索および2009年1月~2010年3月の間においてウイルス不検出であり、試験に必要な検体量が残っていた284検体および101検体の計385検体(上気道炎;155検体、下気道炎;186検体、その他;44検体)について、既報[Dare RK, et al.: J Infect Dis, 196, 1321-8, 2007]に準じたプライマー、プローブを用いたリアルタイムPCRによりHCoVの検出を行った。

(倫理面への配慮)

臨床検体は、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)重症呼吸器ウイルスサーベイランス成績

患者の年齢構成は、0~4歳が521例(85.1%)で最も多く、次いで5~9歳が40例(6.5%)、10~14歳が19例(3.1%)、15~19歳が10例(1.6%)、20歳以上が5例(0.8%)および不明が17例(2.8%)であった。

症状別区分は、上気道炎が147例(24.0%)、下気道炎が374例(61.1%)およびその他が91例(14.9%)であった。

喘鳴の有無は、喘鳴ありが312例(51.0%)、喘鳴なしが300例(49.0%)であった。

ウイルス検索の結果、326検体(53.3%)から計377株のウイルスが検出、同定された。内訳はRSVが87株(14.2%)、HMPVが23株(3.8%)、HPIVが48株(7.8%)、HRVが34株(5.6%)、HBoVが33株(5.4%)、AdVが50株(8.2%)、EVが72株(11.8%)、HPeVが19株(3.1%)、FluVが4株(0.7%)およびヘルペスウイルス1型(HHV-1)が7株(1.1%)であった(表1)。

症状別ウイルス検索成績を図1に示した。症

状別ウイルス検出率を比較すると、下気道炎患者が上気道炎患者に比しウイルス検出率は高かった(χ^2 test, $p<0.01$)。検出ウイルス種別ウイルス検出率を比較すると、RSVは上気道炎患者に比し下気道炎患者で、AdVは下気道炎患者に比し上気道炎患者で、それぞれ有意に高く検出された(χ^2 test, $p<0.05$)。

喘鳴の有無別のウイルス検索成績を図2に示した。ウイルス検出率は、喘鳴ありの患者が喘鳴なしの患者よりも高値を示した(χ^2 test, $p<0.01$)。とくに、RSVは喘鳴なしの患者よりも喘鳴ありの患者が、また、AdVおよびHHV-1は喘鳴ありの患者よりも喘鳴なしの患者がそれぞれ高値の検出率を示した(χ^2 test, $p<0.05$)。

(2)HCoV 検出状況

2009年1月~2012年12月の間に行ったウイルスサーベイランスでウイルス不検出であった385検体(上気道炎;155検体、下気道炎;186検体、その他;44検体)について、HCoV検索と型鑑別を試みた。その結果、26株(6.8%)のHCoVが検出され、これらはHCoV-NL63が8株(2.1%)、-OC43が15株(3.9%)および-HKU1が3株(0.8%)に型別された(表2)。

年別にみた検出ウイルスの型は、-CO43は2009、2010、2011および2012年、-NL63は2011および2012年、-HKU1は2009および2012年であるが、各年で四半期ごとの検出数に一定の傾向はみられず、流行の明確な季節性はみられなかった。

検出例の臨床症状は上気道炎が10例(6.5%)、下気道炎が14例(7.5%)、その他が2例(4.5%)で、症状別の各検出率の間に有意差はみられなかった。

喘鳴の有無で比較すると、喘鳴ありの114検体から8検体(7.0%)、喘鳴なしの271検体から18検体(6.6%)が検出されたが、検出率に有意差はみられなかった。

D. 考察

本研究により、沖縄県では多種の呼吸器ウイルスが原因となる呼吸器感染症の存在が明らかとなった。特に RSV は下気道炎および喘鳴を示す患者から多く検出され、沖縄県における重症呼吸器感染症の重要な原因ウイルスの一つと考えられた。

これまでウイルスが未検出であった検体について HCoV の検索を試みた結果、約 7% の検体から HCoV が検出された。これまでにウイルス未検出であった検体を調査対象にした後方視的研究であるが、沖縄県の呼吸器感染症に HCoV が、HPIV、HRV、HBoV と同頻度に関与していることが示された。

今回の検討では HCoV-229E は検出されず、いっぽうで HCoV-OC43 は毎年検出され、とくに 2010 年は HCoV-OC43 のみ検出されるなど、今後、沖縄県における HCoV 感染症の詳細な解析は重要と考える。

E. 結論

1. 呼吸器感染症を疑われた患者のおおむね半数から呼吸器ウイルスが検出される。検出ウイルスのうち、RSV が最も高値の検出率を示し、特に下気道炎および喘鳴症状を示す患者から多く検出されたことから、沖縄県における重症呼吸器感染症の重要な原因ウイルスの一つと考えられる。

2. HCoV は沖縄県の呼吸器感染症の原因ウイルスになることを明らかとした。本県の呼吸器感

染症への HCoV の関与は HPIV、HRV および HBoV と同等と思われる。今後、継続した詳細な疫学解析が必要と考えられた。

3. 新たに HHV-1 の発生が追加確認された。

沖縄県の重症呼吸器ウイルス感染症については、未だ不明な点も多く、サーベイランス機能の向上は重要と考える

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Nidaira M, Taira K, Hamabata H, Kawaki T, Gushi K, Mahoe Y, Maeshiro N, Azama Y, Okano S, Kyan H, Kudaka J, Tsukagoshi H, Noda M, Kimura H.: Molecular epidemiology of human metapneumovirus from 2009 to 2011 in Okinawa, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 65: 337-40. 2012

2) Taira K, Nidaira M, Tsukagoshi H, Arakawa M, Okamoto R, Saito Y, Okazaki K, Tanaka T, Yoshida T, Hirano E, Mizuta K, Noda M, Kozawa K, Kimura H. : Phylogenetic analyses of complete genome in human bocavirus (HBoV) detected from children in Japan. (preparing)

2. 学会発表

1) 仁平 稔、水田克巳、野田雅博、木村博一、平良勝也、真保栄陽子、真栄城徳之、安座間安仙、岡野祥、喜屋武向子、久高潤、塚越博之、浜端宏英、川木達能、具志一男：亜熱帯気候に属する沖縄県におけるヒトメタニューモウイルスの疫学、第 53 回日本臨床ウイルス学会、大阪府豊中市、2012 年 6 月

表 1. ウイルス検索成績

	2010			2011			2012												total	rate	
	6	7-9	10-12	1-3	4-6	7-9	10-12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			12
RSV	3	11	6	9	13	7		1	3	1	2	5	6	8	6	2	4			87	14.2%
HMPV	1	7	1	1	3	2			1	2	3		2							23	3.8%
HPIV	10	3		3	9		2	1		1			9	5	3		1	1		48	7.8%
HRV		3	2	1	6	4	6	2			2	2		2		1		2	1	34	5.6%
HBoV	1	1	6	1	8	1	1		1	2	3	1	4		2				1	33	5.4%
AdV	4	8	10	2	6	2	1			4	2	1	1	3	1	1	2	2		50	8.2%
EV	1	7	5	4	9	6	6	2	3	7	1	5	6	2	4	3			1	72	11.8%
HPeV		2	5	1		5								1	2	2		1		19	3.1%
FluV				1													1	2		4	0.7%
HHV-1		1				1		1	2				1						1	7	1.1%
Not detected	9	46	38	27	21	24	22	3	7	9	10	9	10	8	11	4	9	12	7	286	46.7%

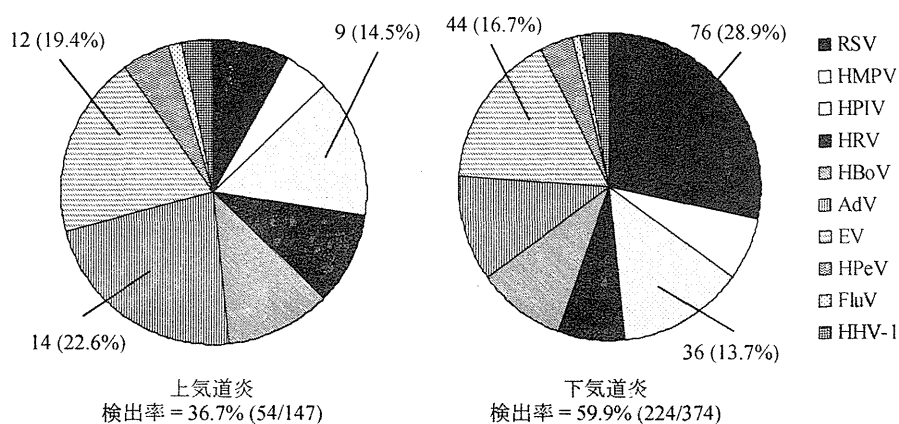


図 1. 症状別ウイルス検索成績
上位 3 種の検出数を示した。