

## RSウイルスサーベイランス手法の開発 — (2017-18年シーズンの本邦におけるRSウイルスの分子疫学研究) に関する研究 —

研究分担者 齋藤 玲子 新潟大学大学院医歯学総合研究科 国際保健学分野  
研究協力者 小田切 崇 新潟大学大学院医歯学総合研究科 国際保健学分野

### 研究要旨

全国10地域の小児医療機関と協力し、RSウイルスの垂直サーベイランスを行った。2017年7月から同年12月14日まで164症例の鼻腔検体が収集され、そのうち迅速診断キット陽性が128件(78.0%)、陰性が36件(22.0%)であった。型別ではA型が92件(66.2%)、B型が37件(26.6%)、型別不明が10件(7.2%)と判定された。地域別では三重をのぞくほとんどの県でA型が優勢であった。我々の調査では全国的な流行ピークは8月であり、感染症発生動向調査のピークの9月より1カ月ほど早かった。感染症発生動向調査より、RSウイルス感染症の県別発生状況をみたところ、平成29年は5-6月頃に北海道・東北地区から流行がはじまり、全国的に9月にピークに達しており、例年より1-3カ月早かった。G遺伝子第2高度可変部のシーケンスを解析したところ、A型の遺伝子型はON1型、B型はBA9型であり、前年度と比べ遺伝子変異は認められず、流行の早期化はG蛋白の遺伝子変異によるものではないと推測された。このような遺伝子型の監視や、流行時期の変化などを把握するためにも、今後もRSウイルスの分子疫学調査を実施し疫学データの集積を続けることが重要である。

### A. 研究目的

RSウイルス感染症は、乳幼児に「かぜ」を引き起こす呼吸器ウイルス感染症であり、感染症発生動向調査の5類定点疾患（小児科）として全国の患者発生動向が把握されている。平成28年度に改正感染症法が施行され、感染症発生動向調査との連動をめざし、病原体サーベイランスが強化された。しかしながら、現行ではRSウイルス感染症は、病原体サーベイランスの対象となっていないため、全国的な病原体動向が把握されていない。我々は、全国各地の小児科医と協力し、RSウイルスの病原体の垂直サーベイランスを行ったため、結果を報告する。

### B. 研究方法

2017-2018年シーズンに10地域（北海道、新潟、東京、静岡、三重、奈良、香川、山口、熊本、沖縄）の小児科医療機関（外来および入院）の臨床医に調査を依頼した。発熱、咳、鼻汁などの急性

呼吸器症状を呈して外来を受診した小児に対し、保護者に対し十分なインフォームドコンセントを得た上で、主治医が患児の鼻腔ぬぐい、または鼻腔吸引液を採取し、RSV迅速診断キットによるスクリーニングを行った。入院患者に対しては主治医が調査への協力を保護者に依頼し、インフォームドコンセントを得られた患者を対象とした。迅速診断キットで陽性と判断された場合に、性、年齢、発症日、受診日、受診時の体温や症状について記録し、検体は、ウイルス輸送培地に保存した。採取された検体は、新潟大学に輸送され、臨床検体からRNAを抽出し、M蛋白遺伝子をターゲットとしたリアルタイムPCRにより、RSVを検出した。A型、B型の型別を、F蛋白遺伝子をターゲットにしたリアルタイムPCRにより行った。二つの検出法でRSVが陽性だった検体についてG蛋白第二可変領域をターゲットにしたコンベンショナルPCRを行い、PCR産物を遺伝子シーケンスした。得られたウイルスの遺伝

子型分類は、樹形図解析 (NJ法) により行った。なお、迅速診断キット陰性症例についても同様に承諾を得た上で検体採取と臨床情報の聴取を行った。キット陽性、陰性とも、可能であれば、週に各1例ずつ検体を採取するよう各地の臨床医に依頼した。

(倫理面への配慮)

本調査においては、検体採取と患者情報聴取に当たって各医療機関にて患者および保護者に十分な説明を行い、保護者から承諾書を取得した。調査については新潟大学医学部倫理委員会にて承認を受けた。

### C. 研究結果

2017年7月から同年12月14日までに、164症例が収集された。そのうち迅速診断キット陽性が128件 (78.0%)、陰性が36件 (22.0%) であった (表1)。M遺伝子のリアルタイムPCR陽性は139件 (87.8%)、陰性は25件 (15.2%) であった。リアルタイムPCRを元にした迅速診断キットの感度は93.6%、特異度は90.4%と良好な一致を示した。

採集された検体のうち、194症例はリアルタイムPCRによる型別検査でA型が92件 (66.2%)、B型が37件 (26.6%)、型別不明が10件 (7.2%) と判定された。地域別では三重をのぞくほとんどの県でA型が優勢であった。(図1)。

平成29年 (2017年) 疫学曲線では、当教室のデータでの流行のピークは、8月でありA型が優勢の流行であった (図2)。感染症発生動向調査におけるピークは9月であり、われわれの調査より1カ月遅れであった。いずれにせよ流行のピークは夏～初秋にあり、直近10年間の感染症発生動向調査と比較して最も早かった。これまでは流行ピークであった12-1月の初冬には流行が終息しており患者はほとんどみられなかった。感染症発生動向調査を用いてRS患者発生数を県別に地図化したところ、2017年は5月に北海道から流行が始まり、6-7月には東北地方を中心に東京、九州にも患者がみられ、9月には全国的なピークを迎えた (図3)。東北地方の流行が早かったためか、西日本では11月になっても流行が続いていたが、

最終的には12月には患者は少なくなりほぼ流行は終息した。

樹形図解析では、遺伝子型ではA型を20件、B型を12件遺伝子解析したところA型は全てON1型であり、B型はBA9型であった。ON1型はこれまで前2シーズンに検出されたものと近似した配列であり、BA9も、前シーズン (2016-2017年) に検出されたBA9と似た配列であった (図4、図5)。A型、B型ともに地域に特徴的な株は認められず全国的に似た株が流行していた。

### D. 考察

2017-18年シーズンは全国的にA型が優勢であった。過去の調査を振り返ると、前シーズンはB型が優勢であり、2シーズン前はA型とB型が混合流行していた。流行するRSウイルスの型はA型とB型が交互に入れ替わることが知られており、今年度はB型からA型優勢に転じたものと思われる。流行する型が入れ替わる原因は、型に特異的な集団免疫の蓄積によるものと考えられる。

疫学曲線を見ると、2017年はこれまでで最も流行のピークが早く、8-9月に患者が多かった。今回のわれわれのG蛋白の第二可変領域の遺伝子型別解析では、前シーズンまでに流行した株と変わりは無かったため、ウイルスの変異により流行時期が早まったとは考えにくい。これまでわれわれは、気象とRSウイルスの流行の関係を解析してきており、夏の降水日の増加によりRSウイルス患者が多くなることを見だしてきた。このため、今回の流行早期化は、夏の天候不順と関係があると考えている。しかしながら、われわれがシークエンスしているのはG蛋白の第二可変領域の限られた領域であるため、それ以外の部位による抗原性の変異が、早期流行の原因である可能性は否めない。今後は、G蛋白の全長、さらには抗原性に関連が深いF蛋白をシークエンスする必要がある。

### E. 結論

われわれの研究は、国の感染症発生動向調査を補完する垂直サーベイランスとして遂行した。われわれの調査により、2017年の夏の流行はウイル

ス変異によるものではない可能性が示された。これらは、感染症発生動向調査から得られない情報であるため、われわれの垂直サーベイランスの有用性が示された。今後は、気象要因とあわせて、流行早期化の原因を複合的に解析する必要があると考えられた。

謝辞：日本外来小児科学会リサーチ委員会の先生方

○永井崇雄先生（香川；永井小児科医院）

長田伸夫先生（北海道；ひらおか公園小児科）

富本和彦先生（青森；とみもと小児科クリニック）

加地はるみ先生（東京；加地クリニック）

西藤成雄先生（滋賀；西藤小児科こどもの呼吸器・アレルギークリニック）

青木才一志先生（奈良；あおき小児科）

鈴木英太郎先生（山口；鈴木小児科医院）

島田康先生（熊本；しまだ小児科）

浜端宏英先生（沖縄；アワセ第一医院）

日本外来小児科学会リサーチ委員会以外の先生方

佐野康子先生（新潟；佐野医院）

田中敏博先生（静岡；静岡厚生病院小児科）

谷口清州先生（三重；国立病院機構三重病院）

中村晴奈先生（三重；国立病院機構三重病院）

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Hibino A, Saito R, Taniguchi K, Zaraket R,

Shobugawa Y, Matsui T, Suzuki H, the Japanese HRSV Collaborative Study Group., Molecular epidemiology of human respiratory syncytial virus among children in Japan during three seasons and hospitalization risk of genotype ON1. Plos One (in press)

2) Shobugawa Y, Takeuchi T, Hibino A, Hassan MR, Yagami R, Kondo H, Odagiri T, and Saito R., Occurrence of human respiratory syncytial virus in summer in Japan. *Epidemiology and infection* 2017; 145(2): 272-284.

3) 齋藤玲子、RSウイルス 検査を通して考える感染症対策 看護実践の科学 2017; 42(13): 50-56. (平成29年12月)

### 2. 学会発表

なし

## 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

### 3. その他

なし

表1 2017-2018年シーズンの各地の検体数、迅速診断キット陽性数、リアルタイムPCR陽性数

地域	2017-18					
	Sample	Rapid Kit			Realtime PCR	
		RSV (+)	RSV (-)	Unknown	RSV (+)	RSV (-)
北海道	25	10 (40.0)	15 (60.0)	0 (0.0)	14 (56.0)	11 (44.0)
青森	-	-	-	-	-	-
新潟	5	4 (80.0)	1 (20.0)	0 (0.0)	4 (80.0)	1 (20.0)
東京	17	14 (82.4)	3 (17.6)	0 (0.0)	16 (94.1)	1 (5.9)
静岡	2	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	0 (0.0)
滋賀	-	-	-	-	-	-
三重	36	36 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	36 (100.0)	0 (0.0)
奈良	0	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
香川	23	12 (52.2)	11 (47.8)	0 (0.0)	17 (73.9)	6 (26.1)
山口	9	6 (66.7)	3 (33.3)	0 (0.0)	6 (66.7)	3 (33.3)
熊本	29	27 (93.1)	2 (6.9)	0 (0.0)	27 (93.1)	2 (6.9)
沖縄	18	17 (94.4)	1 (5.6)	0 (0.0)	17 (94.0)	1 (5.6)
合計	164	128 (78.0)	36 (22.0)	0 (0.0)	139 (87.8)	25 (15.2)

- : 検体採取なし(=調査対象地域外)

図1. 2017-18シーズンの各地域におけるRSVの型別割合

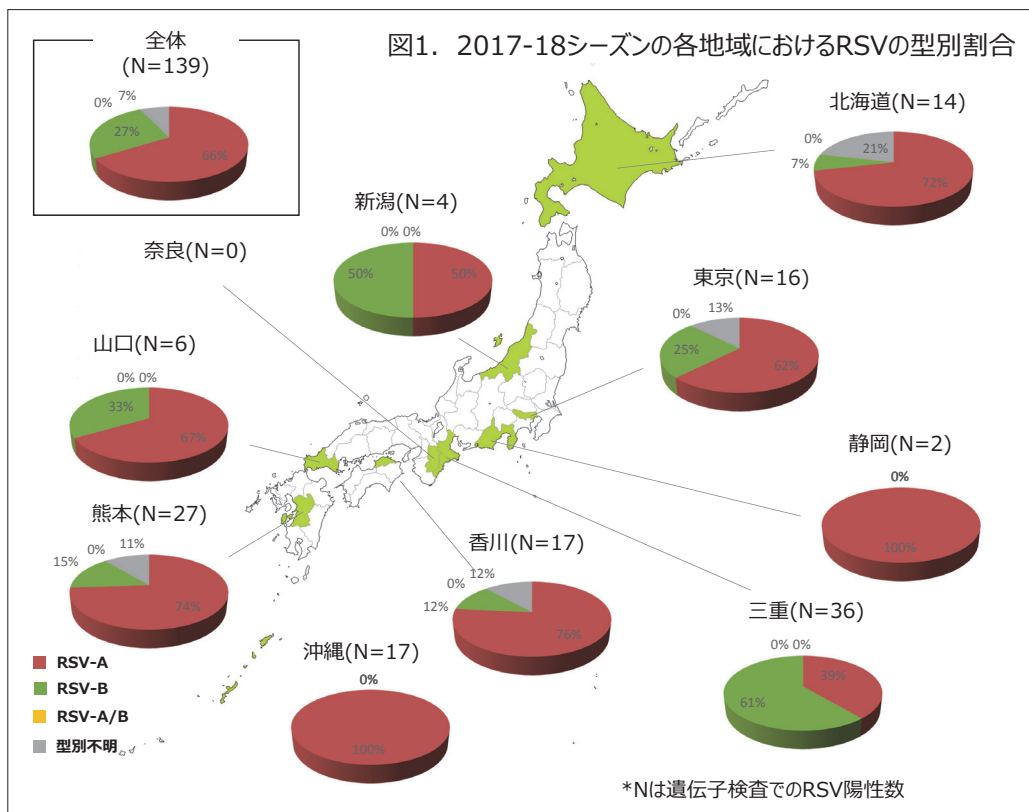


図2. 2017-18年のRSV疫学曲線

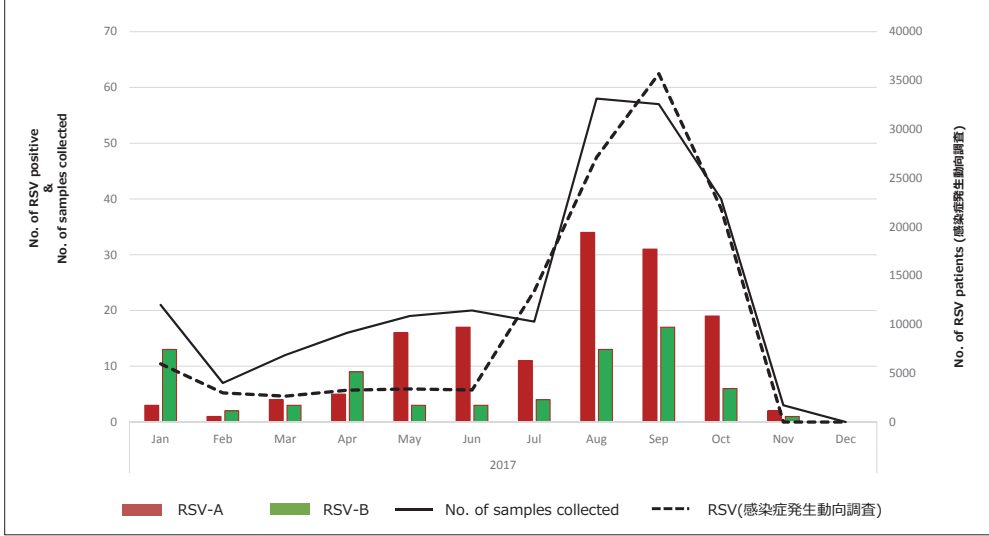


図3. 2017年 各都道府県の月別RSV定点当たりの報告数

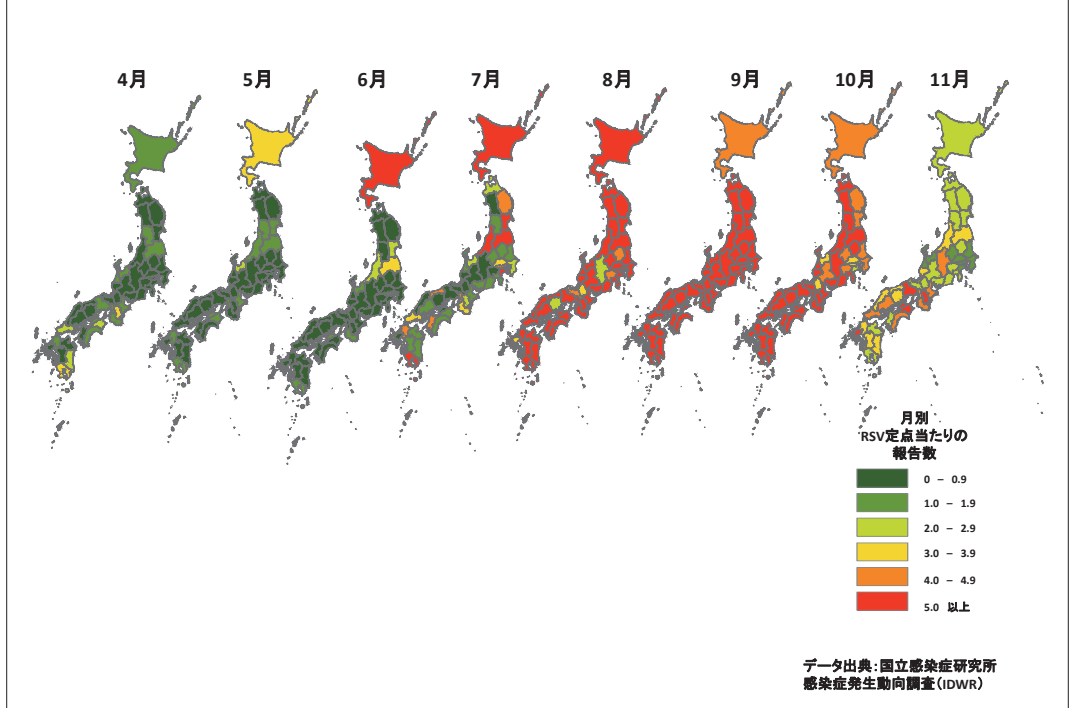
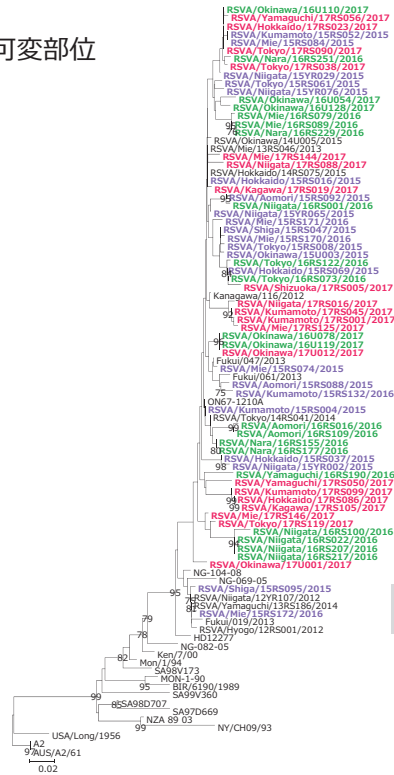


図4 RSV-A G遺伝子第二可変部位  
樹形図解析

2015-16年  
2016-17年  
2017-18年



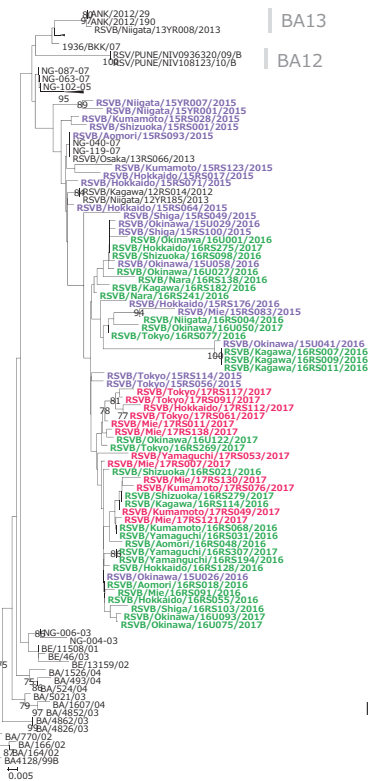
ON1

NA1

Neighbor joining method  
Boot strap 1000  
ON1: nt 342 bp  
Other: nt 270 bp

図5 RSV-B G遺伝子第二可変部位  
樹形図解析

2015-16年  
2016-17年  
2017-18年



BA13

BA12

BA9

Neighbor joining method  
Boot strap 1000  
nt 324 bp