

厚生労働行政推進調査事業費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）  
分担研究報告書

## 2021 年度における SARS-CoV-2 陰性検体からの呼吸器ウイルス検出

研究分担者 森川佐依子 地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所ウイルス課  
研究協力者 中田 恵子 地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所ウイルス課  
研究協力者 廣井 聡 地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所ウイルス課  
研究協力者 加瀬 哲男 大阪公立大学大学院医学研究科 公衆衛生学

### 研究要旨

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の世界的流行となった2020年3月以降、大阪健康安全基盤研究所ウイルス課（以下当課）で行っている感染症発生動向調査事業に伴う、ウイルス性呼吸器感染症の検出のための患者検体の搬入数は著しく減少した。そこで、昨年度に引き続き2021年度に当課に搬入された新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）検査検体のうち、SARS-CoV-2 遺伝子検査が陰性であった上気道由来検体を用いて A,B 型インフルエンザウイルス、RS ウイルス、エンテロウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス OC43、パラインフルエンザウイルス 3 型の遺伝子検出を試みた。上気道由来検体 174 検体のうち、アデノウイルスは 1 検体から検出された。エンテロウイルス／ライノウイルス共通領域は 11 検体から検出された。VP4/2 領域の系統樹解析による型別を実施した結果、10 検体はライノウイルス、1 検体はエンテロウイルスと同定された。1 検体はアデノウイルスと A 群ライノウイルスの重複感染例であった。1 検体からはパラインフルエンザウイルス 3 型が検出された。インフルエンザウイルス、RS ウイルス、コロナウイルス OC43 は全ての検体で陰性であった。

### A. 研究目的

我々は、インフルエンザワクチンの有効性評価の基礎資料となるインフルエンザの流行状況を把握することを目的として、年間を通じ大阪府内のインフルエンザウイルス株の検出、分離・型別を行い、流行期には流行株や流行規模の解析を行っている。さらにワクチンの有効性を低下させる原因である、インフルエンザウイルス以外のウイルスによる「臨床的インフルエンザ」を検出する目的で、インフルエンザウイルス陰性検体から他の呼吸器ウイルスを網羅的に検出している。2021/2022 インフルエンザシーズンも前年度と同様に COVID-19 の流行期と重複し、インフルエンザの流行が見られず、ウイルス検出のための検体搬入もなかった。そこで、COVID-19 を疑う患者の中に他の呼吸器ウイルスを原因とする患者が紛れ込む可能性を考慮し、SARS-CoV-2 感染が否定された上気道由来検体を用いてインフルエンザウイルスを含めた主な呼吸器ウイルスの検出を試みた。

### B. 研究方法

2021年4月1日から2022年3月31日までに当課にて SARS-CoV-2 遺伝子検査が陰性であった検体から対象を選出した。同一集団発生事例の複数検体からは 1 検体のみを選択した。また、上気道由来検体に該当しない唾液検体は除外し、174 検体を対象とした。

A,B 型インフルエンザウイルス、RS ウイルス、エンテロウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス OC43、パラインフルエンザウイルス 3 型の遺伝子検出を試みた。A,B 型インフルエンザウイルス遺伝子の検出は国立感染症研究所のマニュアルに従いリアルタイム RT-PCR 法を実施した。他のウイルスについては RNA 検体をランダムプライマーにて逆転写し、cDNA を作成後、それぞれのウイルス特異的なプライマーセットを用いたリアルタイム PCR 法を実施した。エンテロウイルスとライノウイルスについてはリアルタイム PCR にて両ウイルスのもつ共通領域を検出し、陽性検体については VP4/2 領域をシーケンスし、塩

基配列を決定後、各ウイルス型の代表株の塩基配列とともに系統樹解析を行い、型別を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究は、地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所倫理審査委員会の承認を得て(承認番号2107-02)、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守して実施したものである。

### C. 研究結果

研究期間中の大阪府内の COVID-19 流行状況は、2021 年度も昨年度と同様の流行像を示し、4 月の中旬をピークとした第 4 波、9 月の中旬をピークとした第 5 波、2022 年 2 月の中旬をピークとした第 6 波と、おおよそ 4 ヶ月毎に流行が見られ、流行毎に 1 日あたりの感染者数、ピーク時の感染者数は増加した。新規感染者数が過去最大となったのは 2022 年 2 月 11 日で、15291 名であった(図 1)。

当課への搬入検体数は COVID-19 の流行状況および民間の臨床検査会社での PCR 検査の拡充に伴い変動した。PCR 検査の対象検体に唾液が採用されることが多くなり、流行の波がピークアウトするタイミングで、対象となる SARS-CoV-2 遺伝子検査陰性の上気道由来検体数は一桁に減少した(2021 年 6、10、11 月(図 2))。174 検体のうち、何らかの呼吸器ウイルスが検出されたのは 12 検体(6.9%)であった。月別の検出率は 0 から 25% と差があった。アデノウイルス、パラインフルエンザウイルス 3 型はそれぞれ 1 検体(0.6%)から検出された。アデノウイルス陽性の 1 検体はライノウイルスとの重複感染例であった。インフルエンザウイルス、RS ウイルス、コロナウイルス OC43 は全ての検体で陰性であった。

エンテロウイルス/ライノウイルス共通領域が検出された 11 検体について VP4/2 領域のシーケンスおよび系統樹解析による型別を実施した結果、10 検体はライノウイルス、1 検体はエンテロウイルス D68 型(2021 年 12 月)であった。検出されたライノウイルスの型は A 群ライノウイルス 4 種、B 群ライノウイルス 1 種、C 群ライノウイルス 3 種であった(図 2、表 1)。

### D. 考察

COVID-19 については 2020 年の国内発生当初は「指定感染症」に指定され、その後「新型インフル

エンザ等感染症」に分類されているため、医師は患者の臨床症状や疫学情報から COVID-19 を疑う場合は、検査にて診断後、直ちに発生届を提出しなければならない。呼吸器ウイルス感染症の臨床症状のみからの原因ウイルスの特定は困難なため、COVID-19 の市中発生以降は、患者に何らかの呼吸器症状が認められた場合は COVID-19 を疑い、検査を実施する流れとなっている。従って、SARS-CoV-2 以外を原因とする呼吸器感染症の流行像は把握しづらく、感染症発生動向調査事業に基づく病原体定点からの検体搬入数も激減した。そこで SARS-CoV-2 以外の呼吸器ウイルスの流行状況を把握することを目的とし、昨年に引き続き SARS-CoV-2 が陰性であった上気道由来検体より他の呼吸器ウイルスを検索した。

呼吸器ウイルスを検出するにあたり、対象検体を上気道由来検体としたため、SARS-CoV-2 検査において特に研究期間後半に多く搬入された唾液検体は除外対象となり、2021 年 11 月には対象検体が 0 となった。

検出された呼吸器ウイルスの主流を占めたのはライノウイルスであり、その遺伝子型は A 群ライノウイルス 4 種、B 群ライノウイルス 1 種、C 群ライノウイルス 3 種と多岐にわたっていた。検出時期は A 群ライノウイルス 58 型が 2021 年の 8 月に 2 検体から検出された以外は、同一月に重複して検出された型はなく、特定の型により流行が形成されているわけではないと考えられた。ライノウイルスは期間を通じて検出されており、インフルエンザや RS ウイルス感染症のように季節性はないことが窺えた。

本研究期間においては、大阪府内では 2021 年の 5 月中旬よりパラインフルエンザウイルス 3 型の保育所での集団発生事例を複数認め(感染症情報解析委員会委員からの情報および複数保健所からの問い合わせによる情報)、4 月中旬から 8 月中旬にかけて RS ウイルスの流行を認めた。全国的にも 2021 年の 5 ~ 8 月に RS ウイルスの流行があり、6 ~ 7 月にはパラインフルエンザウイルス 3 型の検出報告が増加したことが報告されている。

RS ウイルスやパラインフルエンザウイルスと同じく、乳幼児の下気道炎の原因となる C 型インフルエンザウイルスについて、松寄らは、2021 年 7 月に開催されたインフルエンザウイルス研究者交流の会シンポジウムにて、成人血清中の特異抗体の推

移から、小児での流行期に先駆け、非流行期に成人でC型インフルエンザウイルスの感染が起こっており、抗体の選択圧による抗原変異株が小児にもたらされて流行が起こっていることを見出し、報告している。

本研究においては、松崎らの報告とは異なり、パラインフルエンザウイルス3型は小児での流行期終盤の8月に検出されており、成人の感染は先行感染ではなく、小児からの感染が疑われた。また、RSウイルスは全ての検体で陰性であったことより、パラインフルエンザウイルス3型とRSウイルスについては、小児の流行に先行しての成人での流行を検出する結果ではなかった。さらに、小児での流行期においては、SARS-CoV-2の感染者の年齢階層分布とは異なり、両患者の区別が容易であるため、医療機関において判断がつきやすく、紛れ込みが低かったと考えられた。

感染症発生動向調査においても呼吸器感染症の患者報告数が全体に激減していることより、本研究の対象となったCOVID-19を疑う主な年齢層に該当する成人においては、呼吸器ウイルス感染症は全体に低流行であったことが推測された。

従って、COVID-19流行前から実施されてきた冬季の呼吸器疾患対策以上に、マスクの着用、アルコールによる手指消毒等の予防策が徹底されている事、さらに、海外からの感染者の流入を抑える目的で出入国者の制限、入国時の待機期間等が実施、継続されている事が他の呼吸器ウイルスの流行抑制にも効果を発揮していると考えられた。また、本研究で検出されたアデノウイルス、ライノウイルスはいずれもエンベロープを持たないウイルスであり、アルコール消毒に対し抵抗性を持つことから、特にエンベロープを持つウイルスであるインフルエンザウイルス、RSウイルス、コロナウイルスOC43、パラインフルエンザウイルス3型については予防策が流行の抑制に一定の効果をもたらしたと考えられた。

一方、小児においてはRSウイルス感染症、パラインフルエンザウイルス3型感染症が流行したが、前年からの同ウイルスの流行抑制により感受性個体が蓄積し、マスク・手指衛生が徹底しにくい小児にウイルスが持ち込まれたことで大きな流行となったと考えられる。その他の流行が見られていないウイルスについても感受性個体は増加しているため、地域に流入する事で通常よりも大きな流行となる可能性がある。今後も引き続き、呼吸器ウイルスの動態

の把握につとめたい。

## E. 結論

昨年度と同様にCOVID-19の世界的大流行により、感染拡大防止対策である、マスクの着用、アルコールによる手指消毒等の予防策が徹底されている事、出入国者の制限、入国時の待機期間等が実施、継続されている事が呼吸器ウイルスの流行抑制に効果を発揮していると考えられた。しかし、小児ではRSウイルス、パラインフルエンザウイルス3型を原因とする下気道炎が流行したように、感受性個体の増加により、ひとたびウイルスが持ち込まれると大きな流行となる恐れがある。インフルエンザも感受性個体は増加しているため、流行に備えてワクチン接種が推奨される。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表（発表雑誌名巻号・頁・発行年等も記入）

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

図1 大阪府の新型コロナウイルス新規感染者数（日別）  
大阪府オープンデータより作成

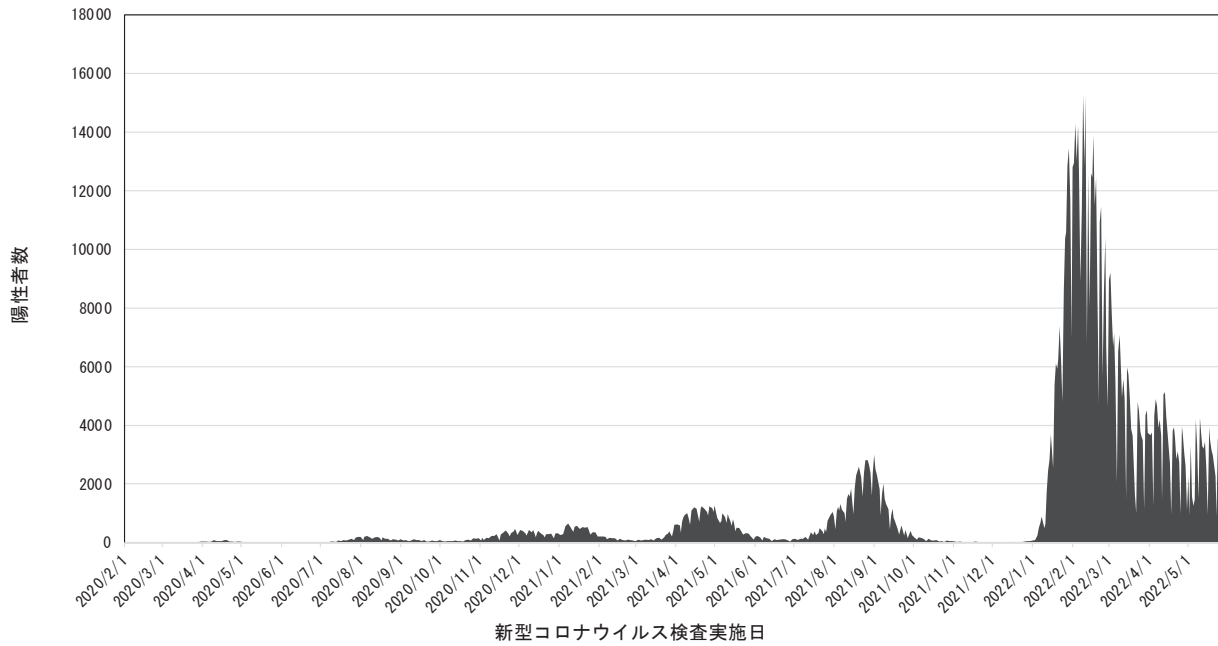


図2. 月別の対象検体数および検出ウイルス  
2021年4月～2022年3月

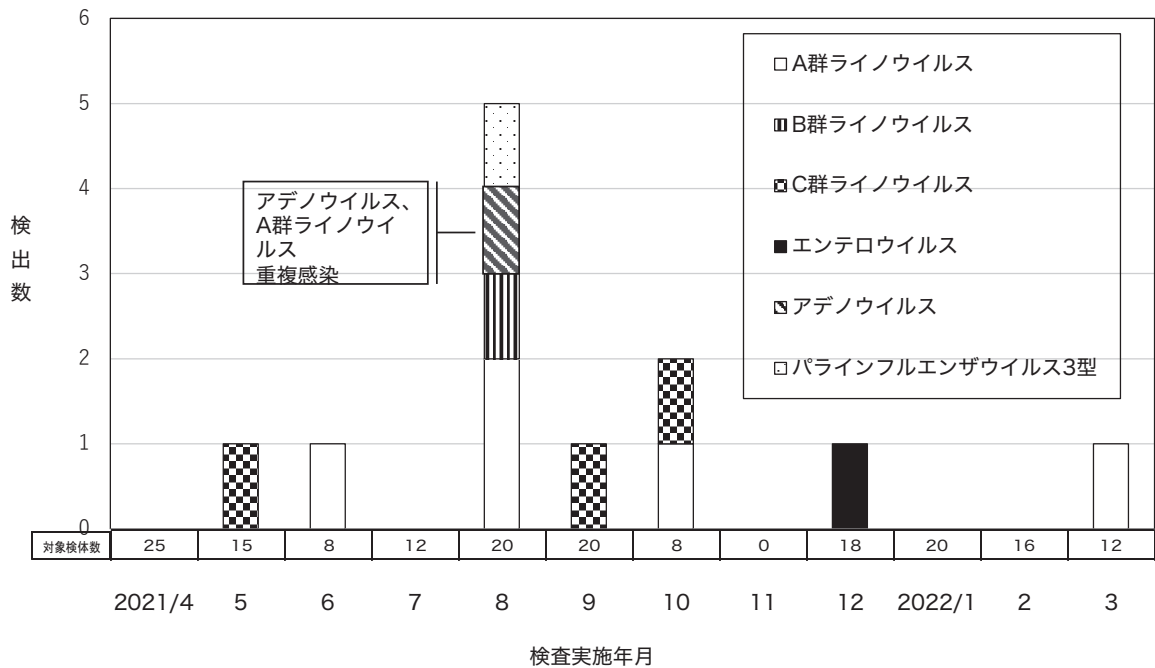


表1 検出ライノウイルスの遺伝子型と検出年月

A群	47型	2021年10月(1)、2022年3月(1)
	58型	2021年8月(2)
	59型	2021年8月(1)*アデノウイルスとの重複
	78型	2021年6月(1)
B群	48型	2021年8月(1)
C群	6型	2021年9月(1)
	37型	2021年5月(1)
	53型	2021年10月(1)