

福井県におけるコロナウイルスの検出

五十嵐映子・佐藤かおり・酒井妙子・東方美保

Detection of Human Coronavirus in Fukui Prefecture

Eiko IGARASHI, Kaori SATO, Taeko SAKAI, Miho TOHO

1. はじめに

2003年に中国でアウトブレイクをおこした SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome)、2011年に中東で新たに確認された MERS (Middle East Respiratory Syndrome coronavirus) はコロナウイルス科に属するコロナウイルス (以下「HCoV」) の一種である。ヒトに感染する HCoV として HCoV-OC43、HCoV-229E、HCoV-HKU1、HCoV-NL63 が報告されている。

HCoV 感染症は普通感冒の 15~35% を占める¹⁾といわれている。症状はインフルエンザのように高熱・悪寒・関節痛などの強い全身症状になることはなく、鼻汁やくしゃみを伴う微熱程度にとどまることが多い²⁾。5歳ごろまでにほとんどのヒトが感染すると言われている³⁾。

福井県ではこれまで呼吸器感染症におけるウイルスサーベイランスとして、インフルエンザウイルス、Respiratory Syncytial ウイルス (HRSV)、ヒトメタニューモウイルス、ライノウイルス、アデノウイルスおよびボカウイルス (HBoV) の検索を主に実施してきたが、約 5 割の検体において起因ウイルスが特定されていない⁴⁾。

2010~2013年の国内における呼吸器ウイルスの検出状況において、コロナウイルスが占める割合は 0.4%であった⁵⁾。HCoV についての調査を行っている機関は少なく、HCoV による呼吸器感染症の実態は不明な点が多い。

県内の呼吸器感染症への HCoV の関与を把握するため新たに HCoV の検索を実施したのでその結果を報告する。

2. 方法

2.1 検査材料

2013年1月~2016年12月に県内の医療機関を受診し、上気道炎、下気道炎等の呼吸器感染症を呈した患者から採取された咽頭拭い液、鼻汁および鼻腔拭い液等 1,631 検体を試験に供した。

年別の供試検体数は 2013 年は 276 検体、2014 年は 490 検体、2015 年は 501 検体、2016 年は 364 検体であった。供試検体の患者年齢は 0 歳から 93 歳 (平均: 3.5±7.5 歳、中央値: 1.8 歳) であった (表 1)。

表 1 年齢別供試検体数

年齢 (歳)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11~20	21~60	60以上	不明
検体数 (検体)	360	514	254	160	100	69	44	34	18	18	7	23	14	11	5

2.2 検査方法

2.2.1 遺伝子検索

臨床検体を 3,000rpm で 10 分遠心し、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いてウイルス遺伝子を抽出した。Primescript RT reagent kit (Takara Bio) を用いて逆転写反応を行い、229E⁶⁾、OC43⁶⁾、NL63⁷⁾および HKU1⁸⁾について ExTaq (Takara Bio) を用いた PCR 法により遺伝子の検索を実施した。

2.2.2 遺伝子型の同定

遺伝子の増幅が確認された検体の増幅産物を MinElute PCR purification kit (QIAGEN) を用いて精製し、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) を用いてサイクルシーケンシング反応を実施した。BigDye X Terminator® Purification Kit (Applied Biosystems) を用いて精製し、ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いてシーケンシング解析を実施した。決定した塩基配列の BLAST 検索により遺伝子型を同定した。

2.2.3 疫学解析

HCoV が検出された患者情報を用いて、検体採取月、患者年齢および診断名について解析を実施した。

3. 結果および考察

3.1 検出状況

供試検体 1,631 検体のうち 30 検体から HCoV が検出され、検出率は 1.8%であった。呼吸器検体からのコロナウイルスの検出率は山形県では 7.6%⁵⁾、イギリスでは 2.3%⁸⁾と報告されているが、本県における検出率はそれらより低かった。

表 2 検出状況

月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	total
2013	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2
2014	0	1	2	2	2	0	0	1	0	0	0	4	12
2015	6	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	15
2016	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
total	6	7	4	2	3	0	0	1	0	0	1	6	30

(例)

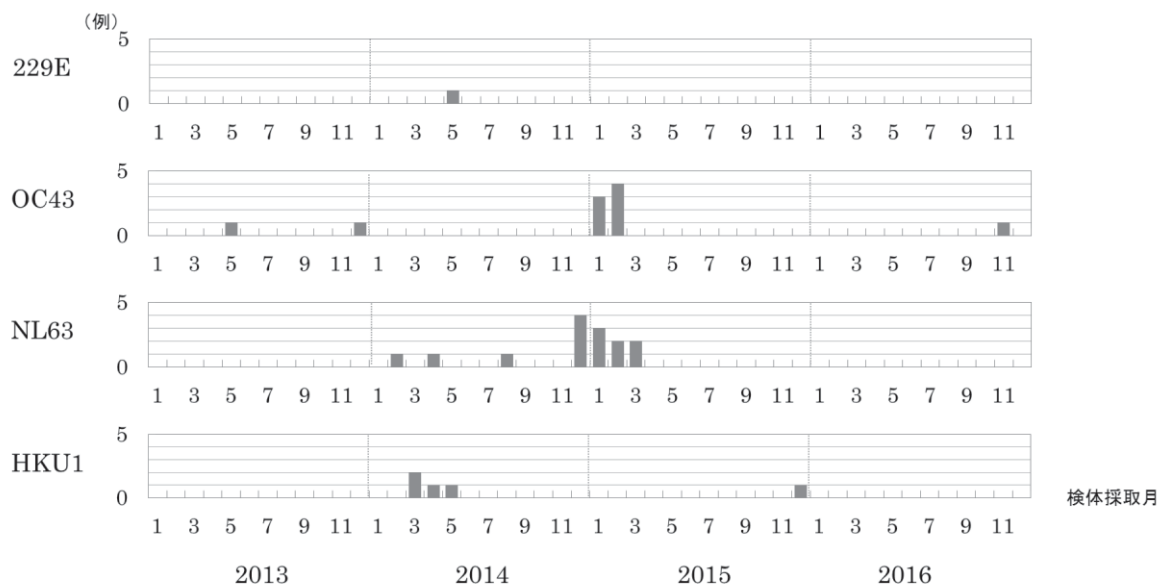


図1 遺伝子型別検出状況

HCoV は1～5、8、11 および12月に検出され、特に1～3月および12月の冬に多く検出された。HCoV は年間を通じて検出されるが、主に冬に流行すると報告⁵⁾されており、本県においても主に冬に流行がみられた。

また、全ての年においてHCoV が検出され、特に2014 および2015年に多く検出された。年による流行の偏りがみられた(表2)。

3.2 遺伝子型の同定

HCoV が検出された30例のうち、1例が229E、10例がOC43、14例がNL63型および5例がHKU1であった。HCoV の検出はOC43、NL63、HKU1、229Eの順で多いとの報告^{8),9)}もあるが、本県ではNL63 が最も多く検出された。

OC43 は2013、2015 および2016年に検出され、1、2、5、11 および12月に検出された。NL63 は2014 および2015年に検出され、1～4、8 および12月に検出された。HKU1 は2014年3～5月および2015年12月に検出された(図1)。

山形県において229Eは春に多く検出されていたが、他の遺伝子型に比べ検出率は低くその実態については不明な点が多い⁹⁾。今回の調査においても1例(3.3%)のみの検出であり、解析を実施するには不十分であった。

OC43は2013年1～4月に三重県¹⁰⁾および山形県⁵⁾において流行がみられたが、本県では2013年には5月と12月に1例ずつ検出されたのみで流行はみられなかった。2015年1～2月には9例検出され、当県において流行がみられた。山形県においても2015年1～4月に流行がみられた¹¹⁾。全国でも2014年12月～2015年4月のOC43の検出件数が多かった⁹⁾ことから、この時期は全国的にOC43が流行していたと考えられる。

NL63は2014年12月～2015年3月に11例検出され、流行がみられた。山形県においても2015年2～5月¹²⁾に流行がみられた。

HKU1は山形県において2010年と2012年に流行し、周期性がみられた⁵⁾。本県では2014年に流行が見られたが、その他の年では2015年に1例あるのみで周期性はみられなかった。

流行の季節性もしくは周期性がみられる遺伝子型もあるが、実態については不明な点が多い。

3.3 HCoV 陽性者の年齢

HCoV 陽性者の年齢は0～5、7 および22歳であった(平均 2.9 ± 4.0 歳)。30例のうち28例は5歳以下の乳幼児からの検出であった。0歳児は約3割、1歳児は約3割、2歳児は約1割、3歳児は約1割を占めていた。小児の患者年齢の平均は 2.3 ± 1.8 歳であった。HCoVと同様に5歳までにはほとんどが感染するといわれている²⁾HBov(1.4±0.8歳)に比べ高かった¹³⁾。

遺伝子型別にみると、229Eは1歳児、HKU1は0～3歳児、NL63は0～5、7歳児および22歳の成人、OC43は0～3および5歳時から検出された(図2)。HKU1が検出された0歳児の月齢は4、5か月、OC43は3、4、6、11か月、NL63は10か月であり、低年齢層からも検出された。

三重県においてHCoVが検出された患者の約6割は0～2歳児で、生後1か月の乳児からも検出された¹⁰⁾。山形県において2016年6月に見られた流行では0-1歳児からの検出が多かった¹²⁾。

これらのことからHCoVも小児における呼吸器感染症に関与していることが示唆された。

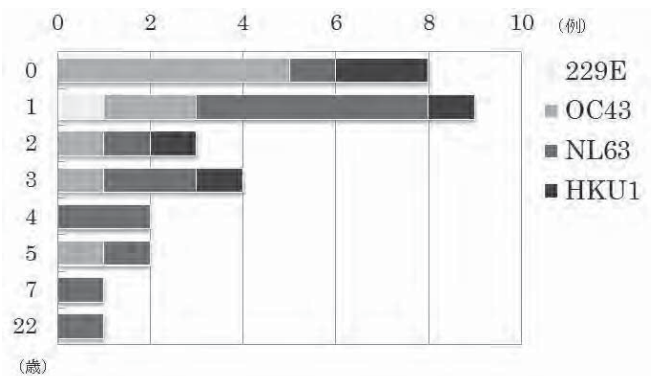


図2 年齢分布

3. 4 HCoV 陽性者の臨床診断名

HCoV 陽性者の臨床診断名について解析したところ、30例のうち17例は上気道炎、13例は下気道炎を呈していた(図3)。2010~2011年に新潟県で検出されたHCoV 17例では下気道炎(4例)より上気道炎(13例)を呈している割合が高かった¹⁴⁾。本県でも下気道炎より上気道炎からHCoVが検出される割合が高かった。

遺伝子型別にみると、229Eの1例は上気道炎を呈した患者からの検出であった。OC43は10例のうち6例は上気道炎、4例は下気道炎検体からの検出であった。NL63は14例のうち8例は上気道炎、6例は下気道炎検体からの検出であった。HKU1は5例のうち2例は上気道炎、3例は下気道炎検体からの検出であった。

OC43が検出され下気道炎を呈していた4例の患者年齢は全て0歳児であり、OC43は低年齢の乳幼児において重症化がみられた。

HCoVは軽症の呼吸器感染症の原因ウイルスの一つとして知られているが、NL63はクループに関与し¹⁵⁾、OC43は呼吸器症状で入院した児から多く検出された¹⁶⁾との報告もあり、この二つの遺伝子型が重症化に深く関与していると考えられている。

今回の調査においてNL63、OC43およびHKU1が下気道炎検体から検出され、HCoVの呼吸器感染症の重症化への関与が示唆された。

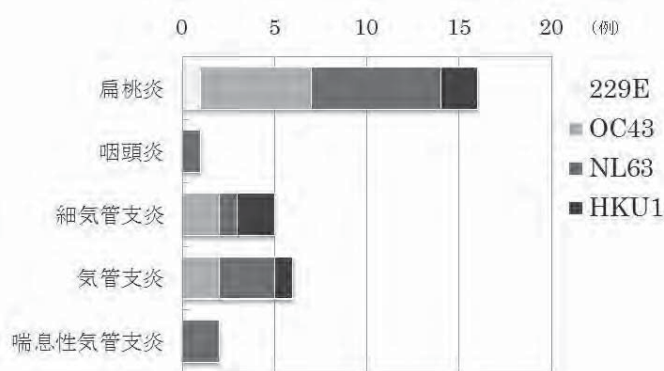


図3 臨床診断名

4. まとめ

2013年から2017年に福井県内の呼吸器感染症を呈した患者から採取された咽頭拭い液等を用いてHCoV検出を試みたところ、供試検体1,631検体中30検体から検出された。これまで福井県内におけるHCoVの浸潤状況は不明であったが、県内においても小児の呼吸器感染症に関与していることが示唆された。

HCoVは軽症の呼吸器感染症の原因ウイルスの一つとして知られているが、重症化への関与も示唆された。呼吸器感染症について、流行の季節性や重症化については依然として不明な点も多いため、更なる疫学情報等の蓄積が必要である。

謝辞

検体の採取の御協力を賜りました各健康福祉センター、医療機関の方々に感謝いたします。

参考文献

- 1) Li W. et al. : The S proteins of human coronavirus NL63 and severe acute respiratory syndrome coronavirus bind overlapping regions of ACE2, *Virology*, **2**, 367-374(2007)
- 2) 田代真人 他: ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 羊土社, 東京(2011)
- 3) 松山州徳: 中東呼吸器症候群(MERS) コロナウイルス感染症, *モダンメディア*, **60**(4), 137-142(2014)
- 4) 中村雅子 他: サーベイランスにおける呼吸器感染症からのウイルス検出(2010年度), 福井県衛生環境研究センター年報, **9**, 93-96 (2010)
- 5) Matoba Y. et al. : Detection of the Human Coronavirus 229E, HKU1, NL63, and OC43 between 2010 and 2013 in Yamagata, Japan, *Jpn. I. Infect. Dis.*, **68**, 138-141(2015)
- 6) Vabret A. et al. : Direct diagnosis of human respiratory coronaviruses 229E and OC43 by the polymerase chain reaction, *J. Virological Methods*, **97**, 59-66 (2001)
- 7) Vabret A. et al. : Human Coronavirus NL63, France, *Emer. Infect. Dis.*, **11**, 1225-1229(2005)
- 8) Guant E.R. et al. : Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method, *J. Clin. Microbiol.*, **48**, 2940-2947(2010)
- 9) IASR 病原微生物検出情報 : <https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/archive/2016/virus/inf11116.pdf>
- 10) 矢野拓弥 他: 三重県における急性呼吸器症状を呈した小児から検出されたコロナウイルス(HCoV-OC43), *感染症学雑誌*, **88**(5), 708-710(2015)
- 11) Matoba Y. et al. : An outbreak of Human Coronavirus OC43 during the 2014-2015 influenza Season in Yamagata, Japan, *Jpn. I. Infect. Dis.*, **68**, 442-445(2015)
- 12) Matoba Y. et al. : Trends of Human Coronaviruses in Yamagata, Japan in 2015-2016 Focusing on the OC43 Outbreak of June 2016, *Jpn. I. Infect. Dis.*, **71**, 167-169(2018)
- 13) 平野映子 他: 福井県におけるボカウイルスの検出, 福井県衛生環境研究センター年報, **12**, 72-75(2013)
- 14) Kon M. et al. : Detection of human coronavirus NL63 and OC43 in children with acute respiratory infections in Niigata, Japan, between 2010 and 2011, *Jpn. I. Infect. Dis.*, **65**, 270-272(2012)
- 15) 鶴岡洋子 他: 気管挿管を要した、ヒトコロナウイルス NL63 による重症クループ症候群の一例, *小児感染免疫*, **29**(1), 61-66(2017)
- 16) Epidemiology and clinical characteristics of human coronaviruses OC43, 229E, NL63, and HKU1: a study of hospitalized children with acute respiratory tract infection in Guangzhou, China, *Eur. J. Microbiol. Infect. Dis.*, **37**, 353-369(2018)