

福井県内の小児および高齢者におけるヒトメタニューモウイルスとRSウイルスの流行状況

中村 雅子・東方 美保・川畠 光政^{*1}・浅田 恒夫^{*1}

Epidemiological Study of Human Metapneumovirus and Respiratory Syncytial Virus among Children and Elderly in Fukui Prefecture

Masako NAKAMURA,Miho TOHO,Mitsumasa KAWABATA,Tsuneo ASADA

2007年4月～2009年3月、福井県内の小児科や高齢者施設等において呼吸器系症状を呈した患者から採取された鼻咽頭ぬぐい液373検体（小児科254検体、高齢者施設等119検体）について、ヒトメタニューモウイルス（hMPV）とRSウイルス（RSV）の検出を行った。

その結果、小児科の検体からはhMPVが23検体およびRSVが109検体検出された。また、保育所におけるRSVの流行（A型とB型の同時流行）、身体障害者療護施設におけるhMPVの集団感染および高齢者施設におけるRSV（A型）の流行が確認された。これらのウイルスは県内に広く侵淫し、急性呼吸器感染症の一因となっていることが明らかになった。

hMPVは検出数に季節的な変動は少なく、どの時期もA2とB2の2つのサブグループの株が検出されていた。

RSVは冬季だけでなく夏季にも多く検出された。分子系統樹をみると、A型はGA2とGA5、B型はBAに属していた。2008年以降に検出されたウイルスはGA2の中でもこれまでと異なるクラスターを形成しており、これが2008年夏季の流行の原因ウイルスとなっていた。また、B型はレファレンス株(18537)に較べG領域に20個のアミノ酸が挿入された変異株であった。

1. はじめに

呼吸器系疾患の原因となる病原体は数多いが、新型インフルエンザなどの健康危機管理に備え、同様な症状を起す他の病原体の流行状況を把握しておくことは、健康危機管理上重要である。

ヒトメタニューモウイルス（human metapneumovirus；hMPV）は、2001年にオランダで発見されたウイルスである¹⁾。日本では2003年に初めて分離され²⁾、主に小児の呼吸器感染症の原因として知られている³⁾⁴⁾が、国外では成人や高齢者の報告もある⁵⁾。発見から日が浅く、流行時期や好発年齢層、再感染の有無などの疫学的な実態や臨床像などはまだ解明されていない。

RSウイルス（respiratory syncytial virus；RSV）は急性呼吸器感染症の原因ウイルスのひとつであり、特に小児の下気道感染症の主要な病因とされている⁶⁾⁷⁾。日本などの温暖な地域では毎年冬のインフルエンザシーズン前に流行を繰り返し⁸⁾⁹⁾、2歳までの乳幼児のほぼ100%が一度はRSVに罹患すると言われている¹⁰⁾。また、高齢者の下気道感染症の起因病原体となることも指摘されている¹¹⁾。

今回我々はhMPVとRSVについて、県内の侵淫状況や流行状況を把握し、地域の感染予防対策に活用することを目的として調査を行なったので、その概要を報告する。

2. 材料と方法

2. 1 調査期間

2007年4月から2009年3月までの2年間

2. 2 検査材料

県内の小児科2箇所、高齢者施設等5施設において上気道炎、下気道炎などの呼吸器系症状を呈した患者（インフルエンザを除く）から採取された鼻咽頭ぬぐい液373検体（小児科254検体、高齢者施設等119検体）。

2. 3 検査方法

2. 3. 1 RT-PCR法による遺伝子の検出

RNA抽出は、MinElute Virus Spin Kit (QIAGEN)を用いた。RT反応および1st-PCRはAccessQuick RT-PCR System (Promega)を用いてone-stepで行い、2nd-PCRにはPCR-Master Mix (Promega)を用いた。

プライマーは、hMPVは高尾ら¹²⁾が報告したhMPVのFusion (F)領域を增幅するプライマーを使用した。RSVは1st-PCRにはTeresa¹³⁾らが、2nd-PCRにはMizuhro.S¹⁴⁾らが報告したRSVのGlycoprotein (G)領域を增幅するプライマーを使用した。

2. 3. 2 遺伝子解析

RT-PCR法の2nd-PCR産物を用いて、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、解読された塩基配列のうち、hMPVは340bp、RSVは270bpについてBLAST検索を行なった。また、調査期間以前（2005年～2007年3

*1) 元福井県衛生環境研究センター

月)に検出された株も加え、ClustalWを用いた近隣結合法により分子系統樹を作成した。

3. 結 果

3. 1 小児における流行状況

3. 1. 1 散発例

小児科で採取された254検体を検査したところ、hMPVが23検体およびRSVが109検体検出された。RSVのサブタイプはA型が60検体、B型が44検体、A型B型両方が検出されたのが5検体であった。

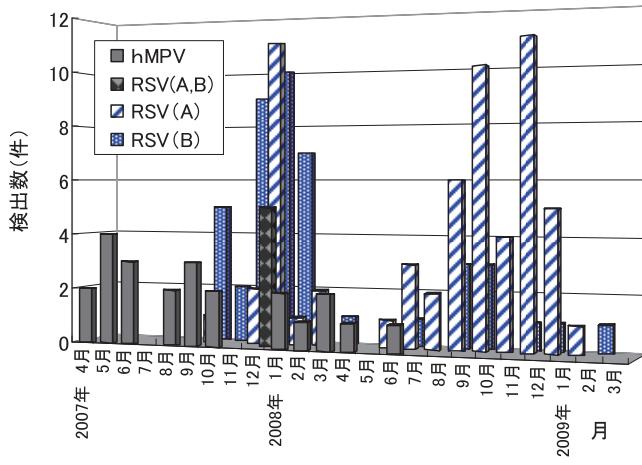


図1 hMPV、RSV検出状況

hMPVは2007年はほぼ毎月検出され、季節的な変動は少なかったが、2008年7月以降は検出されなかつた。

RSVは2007年は9月以降に検出され、2008年1月にかけての冬季に多く検出された。この期間はB型が多かったが、12月にはA型とB型が混在しており、A型とB型の両方が検出される検体もあった。2008年2~5月には一旦少なくなったが、6月以降にふたたび検出数が増え、夏季から12月にかけて多く検出された。この期間はA型が多かった(図1)。

年齢別の検出状況では、hMPV、RSVともに0~3才から検出された。hMPVは1才からの検出が最も多かつたが、各年齢であまり差はなかった。RSVはA型が0~2才からの検出が多かったのに対し、B型は0才特に6ヶ月以下から多く検出され、年齢が上がるに従って少なくなっていた(図2)。

陽性となった検体の臨床症状をみると、hMPV、RSV

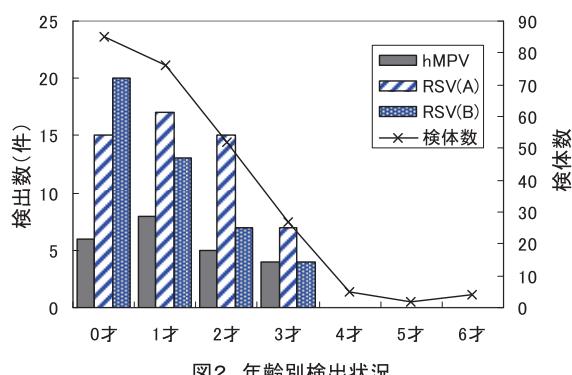


図2 年齢別検出状況

ともに気管支炎や細気管支炎などの下気道炎が多く、hMPVは69.6%(16/23)、RSVは87.2%(95/109)を占めた。この中で細気管支炎はRSVでは27.5%(30/109)を占めたが、hMPVは17.4%(4/23)であった(図3)。上気道炎や咽頭炎などはhMPVでは26.1%(6/23)であったが、RSVは10.1%(11/109)と少なかった。平均発熱は、hMPVが 39.22 ± 0.71 度、RSVが 38.64 ± 0.94 度(A型が 38.94 ± 0.81 度、B型が 38.24 ± 0.96 度)で、hMPVの方が有意($p < 0.01$)に高かった。

なお、これらの検体はHEp-2細胞と一部CaCo-2細胞を用いた他のウイルス検索も併せて行った。その結果、hMPVとコクサッキーウィルスB4との重複感染が1例、RSV(B型)とアデノウイルス2型との重複感染が1例あつた。hMPVとRSVの重複感染例はなかつた。

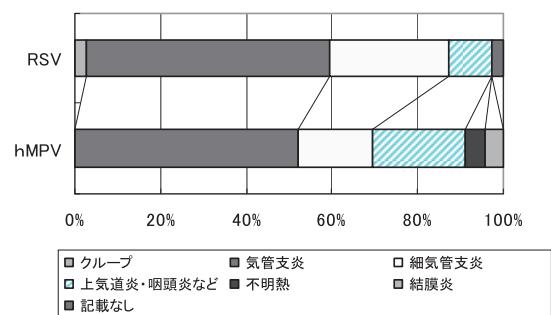


図3 臨床症状

3. 1. 2 保育所におけるRSVの集団感染事例

2007年11月下旬から12月中旬にX市の保育所(園児数214名、年齢0~6歳)においてRSV感染症の流行があつた。有症者52名のうち、医療機関を受診しRSV感染症と診断されたのは14名(2才が5名、1才が4名、0才が3名、4才と5才が各1名)であった。症状は咳(14/14)、発熱(12/14)、鼻水・鼻づまり(12/14)などであり、最高発熱は平均39.2度、38.0度以上の有熱期間は平均3.0日であつた。

小児科受診者の鼻汁8検体を検査し、全検体からRSVが検出された。サブグループはA型が3検体、B型が2検体であり、残る3検体からはA型とB型の両方が検出された(図1、2のデータに含む)。遺伝子解析の結果、検出されたウイルスはA型、B型それぞれに100%一致し、いずれもこの時期県内で流行していたウイルスとも100%相同であった。

3. 2 高齢者等における流行状況

3. 2. 1 散発例

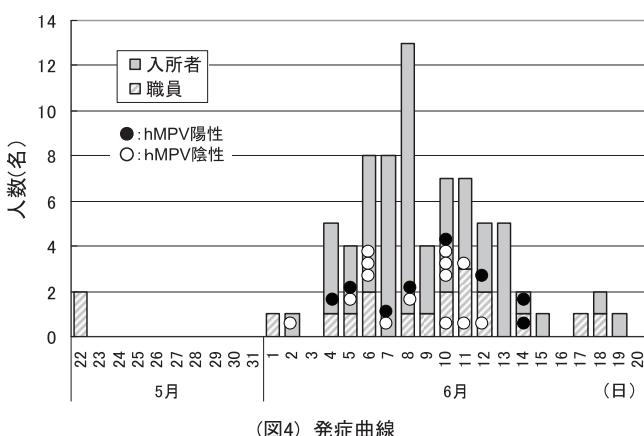
内科や高齢者施設において散発例から採取された61検体を検査した。hMPVおよびRSVは検出されず、他のウイルスの検索でアデノウイルス3型が2検体、ライノウイルスが2検体検出された。

3. 2. 2 身体障害者施設におけるhMPVの集団感染事例

2008年5月下旬から6月中旬、Y市の身体障害者療護施設(入所者97名、職員64名、入所者の平均年齢59.7

歳)において呼吸器系疾患の集団発生があった。発症者数は入所者58名、職員19名であり、入所者のうち18名が入院、そのうち2名が死亡した。死亡者の直接死因は細菌性肺炎によるものと診断された。主な症状は咳・発熱等であったが、発熱を示し重症化した者は入所者に多く、職員は咳のみなど軽症であった。患者発生状況を図4に示す。

25名の咽頭拭い液を採取し、呼吸器系ウイルスの検索を行った。その結果、hMPVのRT-PCR法で8名(入所者7名、職員1名)の検体からhMPVのF蛋白を示すバンドが検出された。これはダイレクトシークエンスによりhMPVと同定され、340bpの塩基配列は全ての検体で100%一致していた。なお、死亡者のうち1名については検査を行ったが、hMPVを含めウイルスは検出されなかった。



(図4) 発症曲線

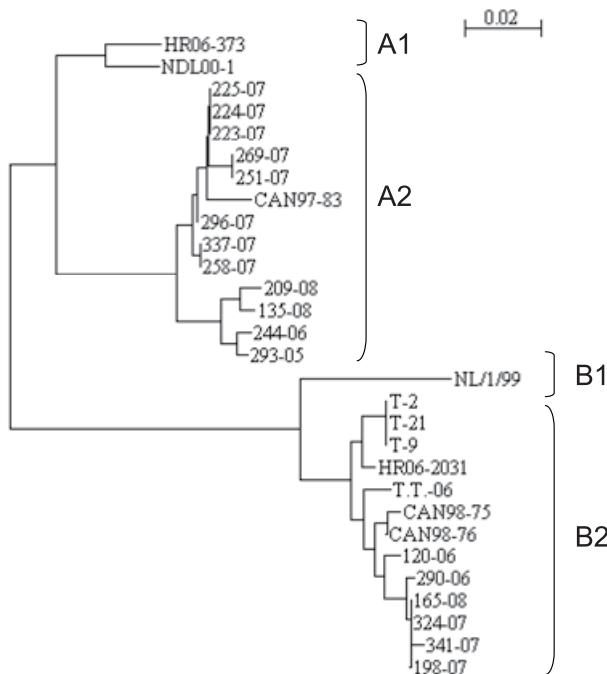


図5 hMPVの分子系統樹(F遺伝子領域)
HR06-373, NDL00-1:A1参照株、CAN97-83:A2参照株
NL/1/99:B1参照株、CAN98-75,CAN98-76,HR06-2031:B2参照株
それ以外は2005年～2008年の福井県検出株

3. 2. 3 高齢者施設におけるRSVの集団感染事例

2009年11月上旬から中旬、Z市の高齢者施設(入居者100名)で、かぜ様疾患の流行があった。この期間に発熱などの症状があった入居者14名の鼻咽頭拭い液を採取し、hMPVとRSVのRT-PCR法による検査を行なったところ、6名の検体からRSV(A型)が検出された。ウイルスが検出された6名の症状は咽頭炎・咳などであり、平均発熱は 38.03 ± 0.29 度であった。

3. 3 ウィルスの遺伝子解析

3. 3. 1 hMPV

hMPVの分子系統樹は、A1,A2,B1およびB2の4つのサブグループに分けられるが、検出された株はA2が12株、B2が17株であった。2006年以降、どの時期においてもこの2つのサブグループの株が検出されていた(図5、6)。3.2.2の集団発生で検出されたウイルス(図5のT-2、T-9およびT-21)はB2に属しており、これは2006年にクロアチアで分離されたウイルス(HR06-2031)と99%相同であった。

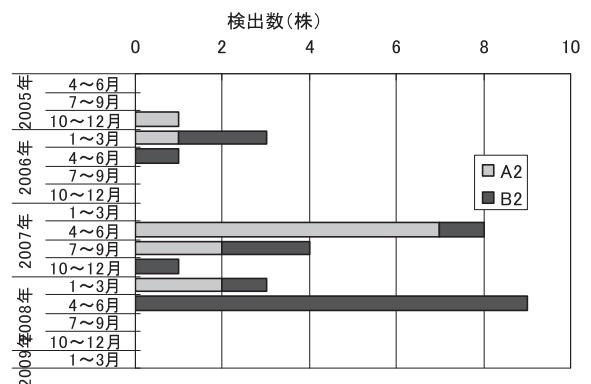


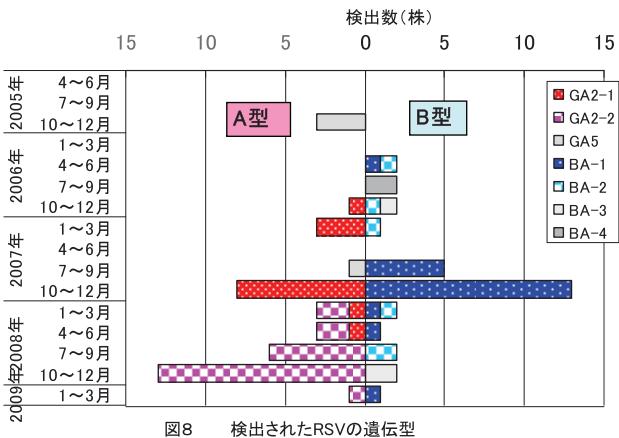
図6 検出されたhMPVの遺伝子型

3. 3. 2 RSV

RSV(A型)については、2005/06シーズンの3株はTeresaらの分類¹³⁾によるGA5に、2006/07シーズン以後の39株は主にGA2に分類された。GA2は2007/08シーズン前半までの14株(GA2-1)とそれ以後の24株(GA2-2)の2つに分けられ、クラスター内ではそれぞれに98.5~100%相同であった(図7、8)。GA2-2はGA2-1とは数%異なっており、これが2008年夏季の流行の原因ウイルスとなっていた。3.2.3の高齢者施設で流行したウイルス(図7のHi-09-3, Hi-09-14)も、GA2-2に属しており、この時期小児散発例から検出されたウイルスと100%一致していた。

RSV(B型)については、調査した33株すべてが同じクラスター(BA)に属しており、なかでも2007/08シーズンの株はほぼすべて100%相同であった。この株を含む22株(BA-1)と比較すると、他の11株は7~16塩基の相違があった(BA-2, BA-3, BA-4)(図8, 9)。

なお、B型はすべてレファレンス株(18537)に較べ20個のアミノ酸が挿入されている変異株であった(図10)。挿入部位のアミノ酸配列はほとんどが一致していたが、2個異なるものがBA-2に属する株の中に1株、BA-3に属する株の中に2株あった。



4. 考 察

hMPV や RSV に感染した場合、臨床の場で病原ウイルスが判明することは少なく、これまで福井県における流行の実態は不明であった。今回の調査では小児や高齢者の呼吸器感染症の検体から hMPV や RSV が高率に検出され、これらのウイルスは県内に広く侵淫し、急性呼吸器感染症の一因となっていることが明らかになった。

hMPV は、3~6 月に流行があるされているが³⁾、今回の調査では季節的な変動は少なかった。2006 年以降、どの時期も 2 つのサブグループの株が検出されており、異なるクラスターのウイルスが同時に流行する形態をとっていた。これは高尾らの報告¹⁵⁾と同様であった。

近年は、小児だけでなく高齢者施設などの hMPV 感染事例が報告されている^{16) 17)}。今回調査した身体障害者施設での hMPV 集団感染事例では、入所者に合併症を有するものが多く、嚥下や喀痰排出の障害を持つもの多かったことが感染拡大や重症化につながった可能性がある¹⁸⁾。感染経路は職員を介した感染や食堂での感染と推測され、このような感染リスクの高い集団では日頃から十

分な健康危機管理対策を講じる必要があると考えられた。

RSV は、インフルエンザ流行前の 11 月～翌年 1 月に流行があるとされるが、夏季の流行の報告もある^{19) 20)}。我々の調査では冬季間に大きな流行はあったものの、それ以外の時期にも検出されていた。特に 2008 年夏季は多く検出されたが、感染症発生動向調査の患者報告ではその変動はとらえられていなかった。

A 型、B 型のどちらかが優勢になる時期もあったが、両方のウイルスが同時流行する時期もあり、この場合は流行の規模が大きくなっていた。また、A 型、B 型ともに時期ごとにそれぞれひとつのクラスターのウイルスが流行していたが、2008 年以降に検出されたウイルスは GA2 の中でもこれまでと異なるクラスターを形成しており、これが 2008 年夏季の流行の原因ウイルスとなっていた。また、B 型は福井県で検出された株はすべて同じ BA に属しており、これは G 領域に 20 個のアミノ酸が挿入された変異株であった。このような変異株は Trento ら²¹⁾が 1999 年にアルゼンチンにて検出し、国内では札幌市や新潟県にて検出された報告がある^{14) 22)}。Nagai ら²³⁾により札幌市の乳児施設での集団感染も報告されている。

今回調査した保育所の集団発生では、地域流行していた A 型、B 型両方の RSV がほぼ同時に保育所に侵入し、混合して感染が拡大していったと考えられた²⁴⁾。流行の後期では A 型、B 型両方の遺伝子が検出された検体があり、由井らが報告²⁵⁾しているように重感染の可能性があった。RSV 感染症が保育所などで起こった場合、低年齢の集団では高率に感染を受けるので流行の抑制が困難である²⁶⁾とされる。志水ら²⁷⁾はある乳幼児施設では毎年のように RSV の流行に悩まされ、100%が感染した年もあったと報告している。本事例でも短期間に効率よく感染が拡大し、0 才児や 1 才児のクラスでの発症率はかなり高かった²⁴⁾。迅速診断キットの保険適用は重症例に限られており、医療機関で RSV 感染症と確定診断されることは少ないが、RSV の流行時期には低年齢を中心に飛沫感染に加え接触感染の予防策を徹底することが望まれる。

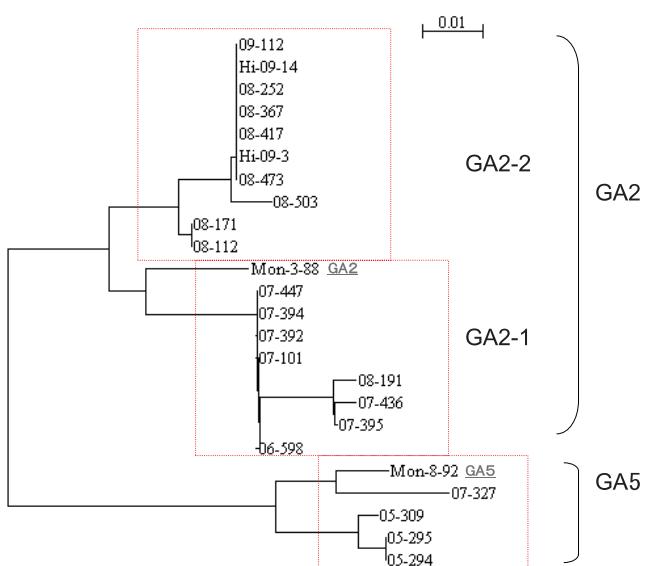


図7 RSV(A型)の分子系統樹(G遺伝子領域)
Mon3-88: GA2参照株、Mon8-92: GA5参照株、
それ以外は2005年～2009年の福井県検出株

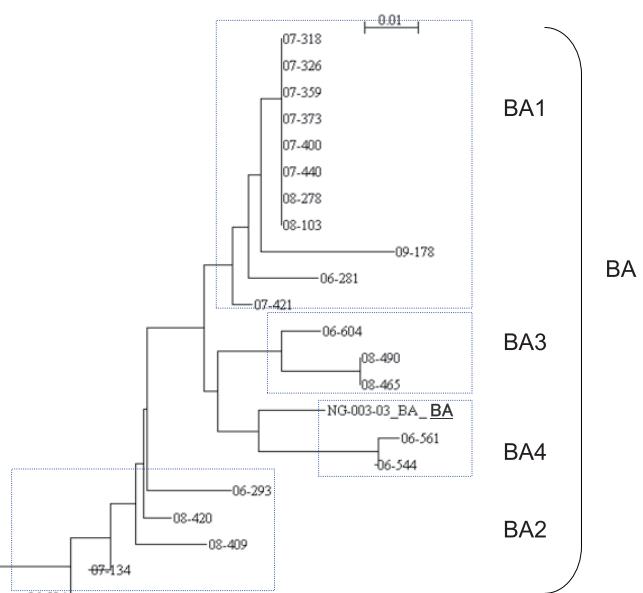


図9 RSV(B型)の分子系統樹(G遺伝子領域)
NG-003-03: BA参照株、それ以外は2005年～2008年の福井県検出株

5. まとめ

- ・2007年4月～2009年3月、県内の小児科および高齢者施設等で採取された鼻咽頭ぬぐい液373検体を検査し、hMPVが23検体およびRSVが109検体検出された。RSVはあまり報告のない夏季にも検出された。
- ・保育所でのRSVの流行(A型とB型の同時流行)、身体障害者療護施設でのhMPVの集団感染および高齢者施設でのRSV(A型)の流行が確認された。
- ・遺伝子型はhMPVはA2とB2、RAV(A型)はGA2とGA5、RSV(B型)はBAに属していた。
- ・RSV(B型)はG領域に20個のアミノ酸が挿入された変異株であった。

謝 辞

この調査を行うにあたり、検体採取にご協力いただきました各医療機関および施設等の方々に深謝いたします。

参考文献

- 1) van den Hoogen B.G. et al : A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease., Nat.Med., 7, 719-724(2001)
- 2) 後藤郁男他：インフルエンザ様患者からのhuman metapneumovirusの分離－宮城県、病原微生物検出情報, 24, 64-65(2003)
- 3) 菊田英明：ヒト・メタニューモウイルス感染症、臨床とウイルス, 34, 409-416(2006)
- 4) Takashi Ebihara et al : Human Metapneumovirus Infection in Japanese Children, J.Clin.Microbiol, 42, 126-132(2004)
- 5) Guy Bovin et al : Virological Features and Clinical Manifestations Associated with Human Metapneumovirus: A New Paramyxo virus Responsible for Acute Respiratory-Tract Infections in All Age Groups, J.Infect.Dis.186, 1330-1334(2002)
- 6) 永井和重：RSウイルス感染症の病態、臨床とウイルス, 34, 403-408(2006)
- 7) 西條政幸他：北海道における小児の下気道感染症に関する疫学的研究－特にrespiratory syncytial virusに注目して－、感染症学雑誌, 68, 1-7(1994)
- 8) 七種美和子他：横浜市におけるrespiratory syncytial virus流行の疫学的解析、感染症学雑誌, 79, 381-387(2005)
- 9) 金子光延他：小児科診療におけるインフルエンザ様疾患とRSウイルス感染症の疫学的干渉現象、感染症学雑誌, 76, 121-122(2002)
- 10) 堤裕幸：RSウイルス感染症、感染症学雑誌, 79, 857-863(2005)
- 11) Scott F.Dowell et al: Respiratory Syncytial Virus Is an Important Cause of Community-Acquired Lower Respiratory Infection among Hospitalized Adults , J.Infect.Dis., 174, 456-62(1996)
- 12) 高尾信一他：本邦において初めて流行が確認された小児のhuman metapneumovirus感染症の臨床的、疫学的解析、感染症学会誌, 78, 129-137(2004)
- 13) Teresa C.T.Peret et al : Circulation patterns of genetically distinct group A and B strains of human respiratory syncytial virus in a community. , J.Gen.Viro., 79, 2221-2229(1998)
- 14) Mizuho Sato et al : Molecular Epidemiology of Respiratory Syncytial Virus Infections among Children with Acute Respiratory Symptoms in a Community over Three Seasons., J Clin Microbiol., 43, 36-40(2005)
- 15) 高尾信一他：広島県内で認められた、異なる遺伝子グループに属するヒト・メタニューモウイルスの混合流行について、広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告, 15, 11-16(2007)
- 16) 白石博昭他：高齢者福祉施設におけるヒトメタニューモウイルス集団感染事例－福岡県、病原微生物検出情報, 27, 178-179(2006)
- 17) 渡邊王志他：特別養護老人ホームにおけるヒトメタニューモウイルスの流行、第53回日本ウイルス学界学術集会抄録集, 325(2005)
- 18) 中村雅子他：身体障害者療護施設の集団感染事例からのヒトメタニューモウイルスの検出－福井県－、病原微生物検出情報, 29, 282-283(2008)
- 19) 岡本道子他：仙台市内および仙台市周辺における真

	221	231	240		241	251	261
18537(JaB1)	PAKVPKKE I I TNP AAKPTLKT				TERDTSI SQSTVLD T ITPKY T		
S91-30(GB1)	. . . TTE . . TT . . T T T . L . H .		
T97-2(GB3)	L . . TL . . . T . . T . . S N . T T . S . H .		
S00-4	L . . TL . . . TTI . . T . . P . .	TEGDTSTS QSTVLD T TTSKH		 T T . S . H .		
S02-71	. . . T . . P . . . R TP		
FS/561/06	L . . T . . . TTI . . T . . PE . . R T . . . I . . . T . S . I H .		
FS/388/07	L . . T . . . TTI . . T . . P . . . R T . . . I . . . T . S . H .		
FS/465/08	L . . T . . GTTI . . T . . P . . . R . .	Q . P T . . . I . . . T . S . H .		
FS/604/06	L . . T . . GTTI . . T . . P . . . G . .	Q T . . . I . . . T . S . H .		
FS/293/06	L . . T . . . TTF . . T . . P . . . R . .	CS FA . . . T . S . H .		

図10 RSV(B型)のG蛋白領域のアミノ酸配列

18537:参照株 S91-30, T97-2, S00-4, S02-71:Y.Kuroiwa²²⁾報告株
他は福井分離株

夏のRSウイルス感染症の流行、2004年7～8月、病原微生物検出情報、25, 265-266(2004)

20) 改田厚他：保育所におけるRSウイルスの集団感染事例、病原微生物検出情報、25, 235-236(2004)

21) Trento A. et al : Major changes in the G protein of human respiratory syncytial virus isolates introduced by a duplication of 60 nucleotides., J Gen Virol , 84, 3115-3120(2003)

22) Yuki Kuroiwa et al. : A phylogenetic study of human respiratory syncytial viruses group A and B strains isolated in two cities in Japan from 1980-2002., J Med Virol , 76, 241-247(2005)

23) Nagai K : Nosocomial outbreak of respiratory

syncytial virus subgroup B variants with the 60 nucleotides-duplicated G protein gene., J Med Virol, 74(1), 161-165(2004)

24) 中村雅子他：保育所で発生したRSウイルス感染症の疫学調査、福井県衛生環境研究センター年報、6, 72-75(2007)

25) 由井郁子他：RSウイルス再感染例とsubgroupA,Bの重複感染－15シーズン(1985-2000)の調査、第47回日本臨床ウイルス学会プログラム抄録集, S39(2006)

26) 宮川宏実：インフルエンザ、RSウイルス感染症、臨床と微生物、33, 713-718(2006)

27) 志水哲也：2005/2006年シーズンにおける小児RSウイルス感染症の検討、日小医会報、34, 185-190(2007)