

2. 2022 年春から秋シーズンの道央圏都市部における呼吸器系ウイルス流行状況解析

○田宮 和真 (北海道立衛生研究所)

【研究目的】

ヒトに感染する呼吸器系ウイルスはインフルエンザウイルス、RS ウイルスなど多くの種が報告されており、その一部は乳幼児などの高リスク者に対して重篤な病態を引き起こすことが知られている。呼吸器系ウイルスはヒトからヒトへと感染が成立するため、感染拡大の防止には適切な公衆衛生対応が求められる。公衆衛生対応の基盤を確立するためには、それぞれのウイルスの集団における感染実態を把握することが重要となる。

インフルエンザや RS ウイルス感染症は、感染症発生動向調査の定点把握疾患に指定されているため、症例の報告に関するトレンドを把握することができる。しかし、対象とされる呼吸器系ウイルスは一部に限られ、実際の各ウイルスの侵淫状況を理解するには十分ではない。そこで本研究では、2022 年 3 月から 2022 年 9 月にかけて当所に搬入された呼吸器由来検体を用いて主要な呼吸器系ウイルス 8 種類のゲノムを検出する RT-qPCR 法を実施することで、新型コロナウイルス流行期のその他の呼吸器系ウイルスの侵淫状況を明らかにすることを目的とした。

【研究の必要性】

呼吸器系ウイルス感染症の高リスク者は乳幼児や高齢者が中心である一方、実社会においてこれらの感染症の拡大に寄与するのは社会的に活動性の高い若年成人や中年世代であると考えられている。2022 年春から秋シーズンはオミクロン株の流行が継続していた一方で、社会的な行動制限が緩和され始めた時期でもある。この期間の呼吸器系ウイルス感染症の流行実態は、今後新型コロナウイルス感染症が一定の季節流行を繰り返すエンデミックに落ち着いた場合の非新型コロナウイルス感染症の流行状況を反映すると考えられる。呼吸器系ウイルス感染症に対するより効果的な予防対策を立案するためには各々のウイルス感染症における流行状況を正確に把握することが必要である。

【研究計画】

1) 検体の抽出

道央圏都市部から当所に新型コロナウイルスの行政検査依頼として搬入された呼吸器由来検体から新型コロナウイルス陰性かつ急性感染症様症状を呈した約 400 検体を抽出する。抽出する検体の年代は 20 歳以上とする。新型コロナウイルスオミクロン株の流行期間にあたる 2022 年 3 月から 9 月までを研究対象期間とする。

2) RT-qPCR 法を用いた各種呼吸器系ウイルスゲノムの検出

呼吸器由来検体から RNA を抽出し、対象とする 8 種の呼吸器系ウイルスゲノム（インフルエンザウイルス A 型 (IAV)、RS ウイルス (RSV)、ヒトライノウイルス (HRV)、ヒトメタニューモウイルス (HMPV)、ヒトアデノウイルス (HAdV)、パラインフルエンザウイルス 1 型 (HPIV1)、ヒトコロナウイルス OC43 (OC43)、ヒトコロナウイルス NL63 (NL63)) を RT-qPCR 法にて検出する。RT-qPCR ではそれぞれのウイルスに特異的な配列に対するプライマーおよびプローブを利用する。

【実施内容・結果】

1) 検体の抽出

道央圏都市部の 1 保健所管内から行政検査依頼のあった 432 検体を抽出した。検体種の内訳は唾液 424 検体、鼻腔拭い液 7 検体、スワブ 1 検体であった（表 1）。検体の年代は 30 代が 160 検体と最も多く、中央値[四分位範囲]は、39[32-49]であった。性別は女性 260 検体、男性 172 検体であった。

表 1 研究対象呼吸器由来検体の属性

検体種	唾液	424	性別	男	260
	鼻腔拭い液	7		女	172
	スワブ	1	保健所受理月	3 月	39
年代	20 代	74		4 月	50
	30 代	160		5 月	60
	40 代	90		6 月	38
	50 代	42		7 月	72
	60 代	33		8 月	162
	70 歳以上	33		9 月	11

2) RT-qPCR 法を用いた各種呼吸器系ウイルスゲノムの検出

432 検体のうち、HRV が 7 症例 9 検体、RSV が 3 症例 3 検体、IAV が 1 症例 1 検体、HAdV

が1症例1検体から検出された(図1,表2)。HMPV、HPiV、OC43、NL63は検出されなかった。1症例からHRVとHAdVがともに検出された。

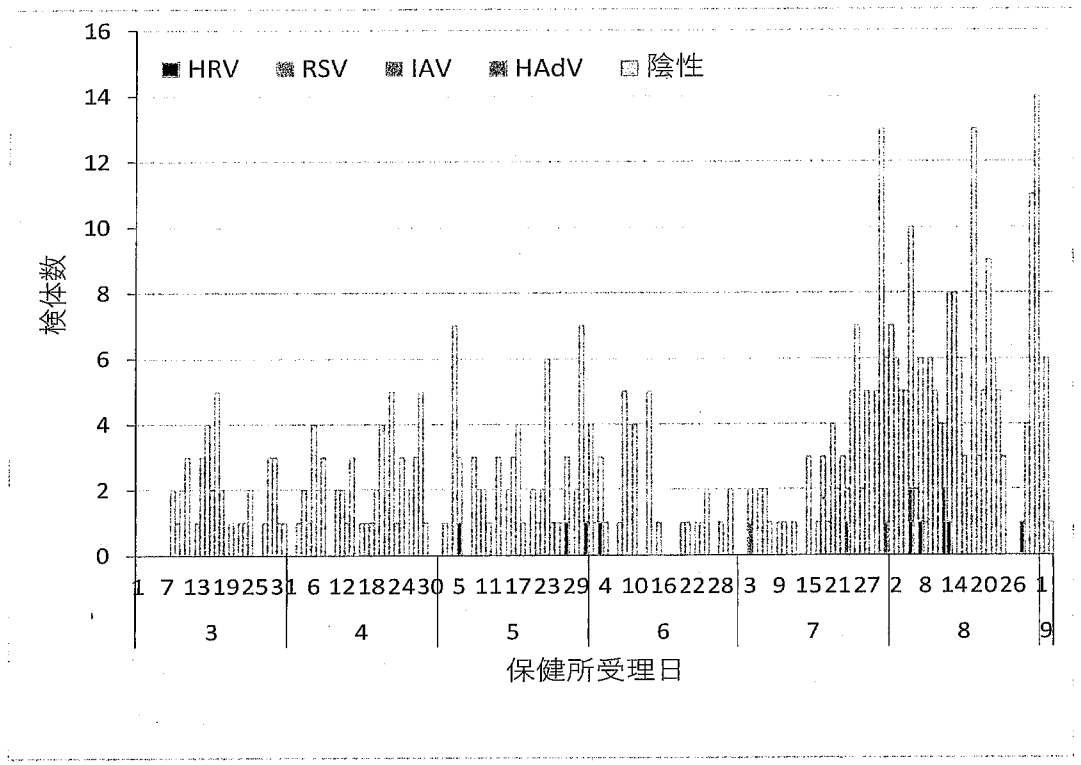


図1 2022年3~9月道央圏SARS-CoV-2陰性検体における各種呼吸器系ウイルス遺伝子検出状況

表2 呼吸器系ウイルス陽性検体の属性(75814と75930、80155と80438は同一症例)

Sample No.	検体受理月	年代	性別	症状	ウイルス種	CT値
72828	5月	30	男	咽頭痛	HRV	30.5
75677	5月	20	男	発熱, 咳, 鼻水, 咽頭痛	HRV	32.2
75814	5月	30	女	鼻水	HRV	38.0
75930	6月	30	女	鼻水, 喉イガイガ感	HRV	30.7
76871	7月	40	男	発熱, 倦怠感, 鼻水, 咳	RSV	31.8
78239	7月	40	女	咳, 咽頭痛	RSV	34.9
79587	7月	40	女	咽頭痛	RSV	31.8
80137	8月	20	女	発熱, 咳, 咽頭痛	IAV	27.8
80155	8月	20	男	咳, 咽頭痛	HRV	29.1
80438	8月	20	男	咳, 咽頭痛	HRV	37.8
81097	8月	30	男	発熱, 倦怠感, 咽頭痛	HRV	37.0
81097	8月	30	男	発熱, 倦怠感, 咽頭痛	HAdV	36.9

81251	8月	20	女	発熱, 咳, 鼻汁	HRV	33.7
83517	8月	20	女	発熱	HRV	26.6

3) 検出された HRV ゲノムにおける遺伝学的解析

HRV 陽性 7 症例の VP4/VP2 部分的領域を解読し、検体由来配列と各型別の参照配列を用いてマルチプルアライメントを実施した。その後最尤法に基づき系統樹を作成した (図 2)。系統解析を実施したところ、7 検体中 6 検体が A 型、1 検体が C 型であった。2 症例が同一の型別 (A49 型) に分類されたが、その他はそれぞれ異なる型別に分類された。

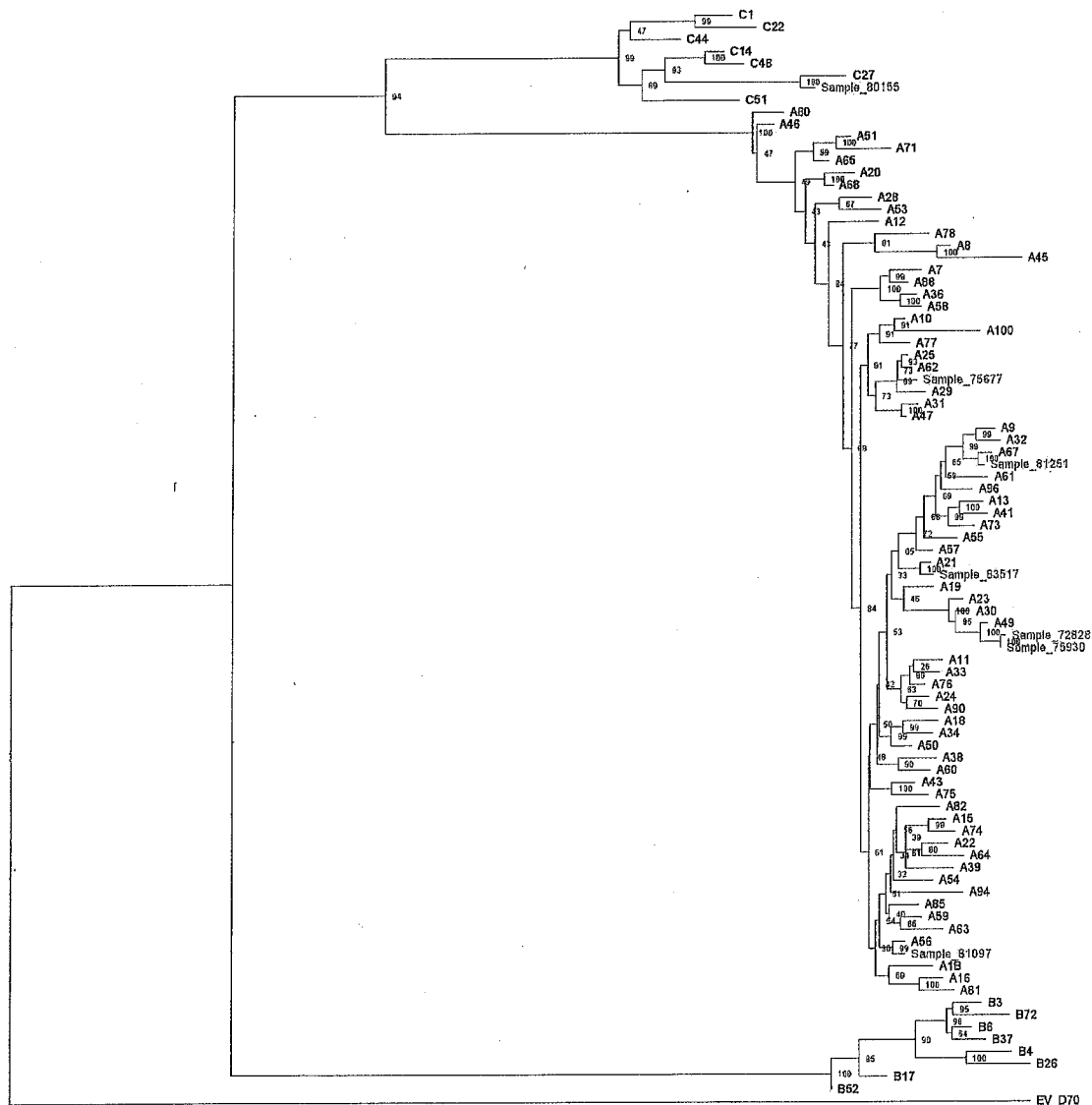


図 2 HRV の VP4/VP2 部分的領域系統樹 (赤：本研究で検出された検体由来ゲノム、黒：参照配列)

【考察と今後の課題】

検体受理月で分類すると、HRVは5月3検体、6月1検体、8月5検体から検出された。IAV、HAdVは8月に各1検体から検出された。一方、RSVは7月に3検体から検出され、ウイルスごとに異なる時期に検出されたことから、季節ごとの流行主体ウイルスの変動が示唆された。HRVは地域内で様々な型別のウイルスが検出されたことから、地域外からの複数回にわたる流入により流行が拡大していたことが示唆された。

陽性率は最高でHRVの2.1%であった。HRVはCOVID-19流行初期下における流行が知られていて、オミクロン株流行期においても同様の傾向が示唆された¹。また、有症状者におけるRSVの陽性率は、外来患者において約3%であったとの報告もあり、先行と比べて本研究の陽性率は低かった²。衛研に検査依頼のあったサンプリング集団の属性に偏りが生じたことが一因と考えられる。

1症例からHRVとHAdVがともに検出された。HAdVは多様な型に分類され、型ごとに呼吸器疾患に限らず、角結膜炎や胃腸炎など異なる病態を引き起こす。そこで型別を試みたが、シーケンス用部分的領域が増幅されなかった。CT値36.9とウイルス量が少なかったことが一因と考えられる。今後は別の領域を対象とした方法を用いることで、呼吸器系ウイルスの共感染が生じていたかどうか特定していきたい。

2024年9月時点、急性呼吸器感染症（ARI）サーベイランスの開始が厚生科学審議会にて議論されている³。各種呼吸器ウイルスの流行動態を各地域で継続的に把握できる体制が整備されることで、流行動態がより詳細に明らかになることが期待される。

【参考文献】

1. Takashita E, Kawakami C, Momoki T, et al. Increased risk of rhinovirus infection in children during the coronavirus disease - 19 pandemic. *Influenza Resp Viruses*. 2021;15(4):488-494. doi:10.1111/irv.12854
2. Morimoto K, Suzuki M, Ishifuji T, et al. The Burden and Etiology of Community-Onset Pneumonia in the Aging Japanese Population: A Multicenter Prospective Study. Viboud C, ed. *PLoS ONE*. 2015;10(3):e0122247. doi:10.1371/journal.pone.0122247
3. 厚生労働省 HP: 第86回厚生科学審議会感染症部会資料, https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_40990.html (確認:2024年9月11日)

【経費使途明細】

使 途	金 額
RT-qPCR 関連試薬 (プライマー、プローブ他)	173,162 円
その他試薬 (KOD One PCR master mix, Random Primer 等)	107,316 円
消耗品 (チューブ、チップ他)	16,442 円
振込手数料 (440 円×1 ・ 550 円×2 ・ 770 円×2)	3,080 円
合 計	300,000 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円