

感染症サーベイランスにおけるウイルス感染症（2019年度）

松本 文昭、小嶋 裕子、浦川 美穂、田栗 利紹

Annual Surveillance Report of Viral Infectious Diseases (2019)

Fumiaki MATSUMOTO, Hiroko OJIMA, Miho URAKAWA and Toshitsugu TAGURI

Key word : Surveillance, Rubella, SFTS, Japanese spotted fever

キーワード: サーベイランス、風しん、重症熱性血小板減少症候群、日本紅斑熱

はじめに

感染症発生動向調査（サーベイランス）は、1999年4月1日に施行された「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（以下、感染症法）に基づき、県内の患者発生状況、病原体の検索等感染症に関する情報をITの活用により早期かつ的確に把握し、その情報を速やかに地域に情報還元（情報提供・公開）することにより、医療機関における適切な初期診断を推進することを目的に実施されている。その後、鳥インフルエンザ（H7N9）や中東呼吸器症候群（MERS）などの新たな感染症の海外における流行や、デング熱の国内感染例の発生¹⁾など、昨今の感染症の発生状況、国際交流の進展、保健医療を取り巻く環境の変化等を踏まえ、感染症に対応する情報収集体制を一層強化するために、2014年11月21日に改正感染症法が公布され、さらに2015年9月の感染症法施行規則（省令）の改正に伴い、「長崎県感染症発生動向調査実施要綱」²⁾（以下、県要綱）の一部改正が行われた。

長崎県環境保健研究センターには改正された県要綱に基づき、県内の医療機関からウイルス性の感染症と診断された患者の検体が適宜採取、搬入されている。そこで、本研究では2019年度に搬入された検体について、ウイルス遺伝子の検索等を行ったのでその結果について報告する。

調査方法

1 検査材料

検査材料は、2019年度に県内の医療機関においてウイルス性の感染症と診断された365名の患者

から採取された合計553検体を対象とする。これらの医療機関は、県要綱に基づき、保健所政令市（長崎市、佐世保市）、及び県立保健所管轄の10地域に基幹定点医療機関及び病原体定点医療機関として選定されている。臨床検体の採取部位の内訳は、咽頭ぬぐい液185検体、鼻腔ぬぐい液130検体、糞便（直腸拭い液を含む）26検体、血液70検体、血清65検体、髄液20検体、尿37検体、およびその他20検体であった。

2 検査方法

改正された感染症法の施行に伴い、国立感染症研究所が発行した病原体検出マニュアルや参考文献等³⁻⁵⁾に準じて、検体の前処理、遺伝子検査、細胞培養、ウイルス分離・同定等について検査標準作業書を作成し、これらに基づき検査した。

調査結果及び考察

表1に疾病別の被検者数及び検体件数の内訳を示す。

1 インフルエンザ（インフルエンザ様疾患を含む）

インフルエンザと診断された260名分の患者検体において、遺伝子検査の結果、インフルエンザウイルスに特異的な遺伝子が252名から検出された。検出されたインフルエンザウイルスの亜型の内訳は、A/H1pdm09が191名と全体の7割以上を占めており、次いでA/H3が42名、B亜型が19名（B/Victoria, 18名、B/Yamagata, 1名）であった。

表 1. 疾病別の被検者数及び検体件数内訳

疾病名	検査材料(内訳)									
	被検者数 (人)	検体数	咽頭拭い液	鼻腔拭い液	糞便 (直腸拭い液)	血液	血清	髄液	尿	その他
インフルエンザ	260	260	132	128						260
手足口病	7	13	7		2	1	1	1	1	13
ヘルパンギーナ	4	4	4							4
無菌性髄膜炎	11	54	10		10	6	8	11	9	54
麻疹・風しん	18	50	16	1		13	3		16	50
デング熱、チクングニア熱	3	3					3			3
急性脳炎・脳症	3	17	2	1	3	2	2	3	3	17
SFTS・リケッチャ感染症	45	100				41	43			100
その他	14	52	14		11	7	5	5	8	52
計	365	553	185	130	26	70	65	20	37	553

感染症法に基づき定点医療機関から報告された長崎県内のインフルエンザ患者数および同時期の全国平均報告数の推移を図 1 に示す。長崎県における流行は、第37週（9月9日から9月15日）に定点あたり報告数が 1.0 人を上回り、長崎県医療政策課はインフルエンザの流行期入りを発表した。9月中の流行入りは過去 5 年間で最も早かった⁶⁾。その後第50週（12月9日から12月15日）に注意報レベル（定点あたり10人）を超えたものの、警報レベル（定点あたり30人）を超えることはなく、2020年第4週（1月20日から1月26日）の 28.95 人をピークとして減少傾向に転じた。

今後も、迅速な注意喚起情報の提供等のまん延防止に向けた取り組みにつなげるために、保健所と協力しながら患者発生数の把握および原因ウイルスの監視を継続することが重要である。

2 手足口病、ヘルパンギーナ

手足口病と診断された 7 名分およびヘルパンギーナと診断された 4 名分の患者検体が搬入された。それらに対して、エンテロウイルス

（Enteroviruses; 以下、EVs）の遺伝子検査を実施した結果、手足口病 7 名中 3 名およびヘルパンギーナ 4 名中 3 名から EVs の遺伝子を検出した。検出した EVs の塩基配列の一部をダイレクトシーケンシング法により決定し、ウイルス型別のためのウェブツール Enterovirus Genotyping tool⁷⁾ により型別した結果、手足口病から検出された 3 株はコクサッキーウイルス（以下、CV）A16 と同定された。ヘルパンギーナから検出された 3 株は CV-A6 と同

定された。遺伝子陽性となった臨床検体を培養細胞に接種しウイルス分離を試みたところ、CV-A6 が 1 株分離された。

手足口病やヘルパンギーナは基本的に予後良好な疾患であるが、EV-A71 のように中枢神経症状を伴う合併症を起しやすい原因ウイルスの報告⁸⁾があり、実際に長崎県内でも流行が認められている⁹⁾。そのため、臨床的な診断で終わることなく今回のように遺伝子型別をすることにより危険なウイルス型の迅速な掌握と臨床現場への情報還元が可能となるために引き続き原因ウイルスの発生動向を注視していく必要がある。

3 無菌性髄膜炎

無菌性髄膜炎と診断された患者検体は 11 名分が搬入された。これらの検体に対し、手足口病と同様の手法で EVs の遺伝子検索を実施した結果、5 名の検体から EVs の遺伝子が検出された。塩基配列解析の結果、検出された EVs の内訳は CV-B3 が 4 名、CV-B4 が 1 名であった。培養細胞を用いたウイルス分離試験の結果、CV-B3 が 3 株、CV-B4 が 1 株分離された。

国立感染症研究所の病原微生物検出情報¹⁰⁾によると、2019年は全国的に Echovirus 30 が最も多く検出され、次いで CV-B5 と CV-B3 が多く検出されており、本県は全国とは若干異なる傾向を示していた。無菌性髄膜炎の原因ウイルスは、その多くを EVs が占めると考えられており¹¹⁾、そのうち CV-B 群は、新生児期の感染では心筋炎や敗血症様疾患等の重篤な症状を惹き起こすことが知られ

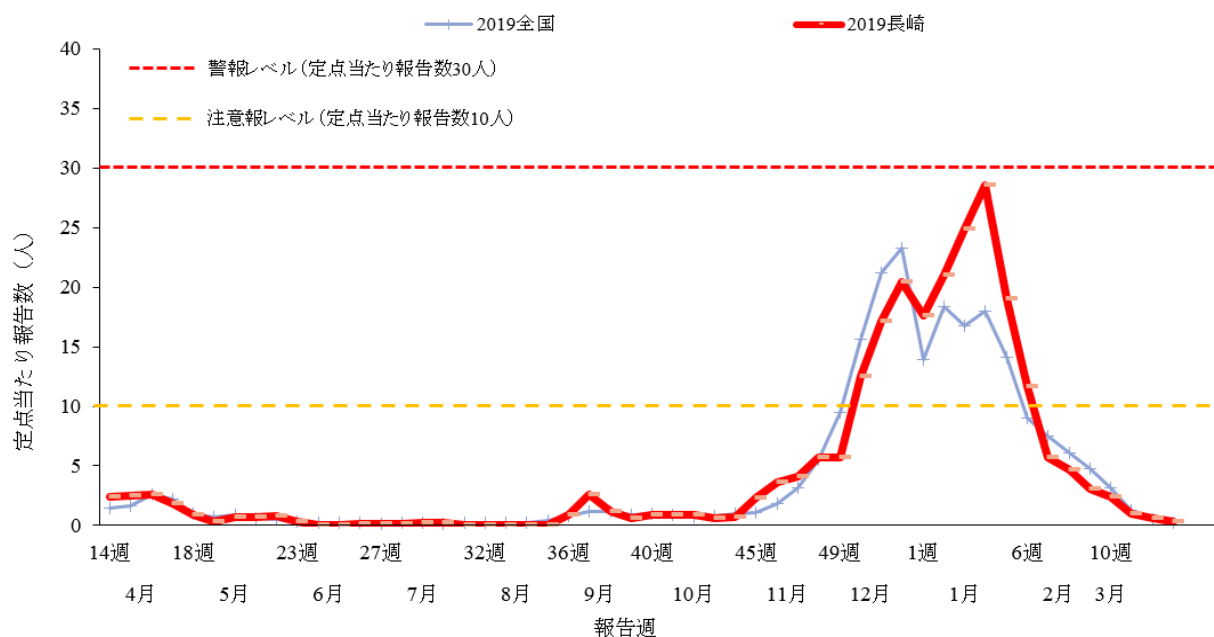


図1. インフルエンザの定点当たり報告数の推移 (2019年度)

ている¹²⁾。このために本疾病のウイルス型別をする意義も手足口病やヘルパンギーナと同様に高く、引き続き本県における流行状況を注視していく必要がある。

4 麻しん・風しん

麻しんまたは風しんを疑う患者検体は、18名分が搬入された。これらの検体に対して麻しんウイルス、風しんウイルスの遺伝子検出を試みたところ、3名から風しんウイルスの遺伝子が検出された。遺伝子陽性となった検体について、遺伝子型別のためにエンベロープ (E) 領域を標的とした RT-PCR を行い、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。検出マニュアルに示された参照配列とともに Clustal W¹³⁾によりアライメントを作成し MEGA ver.6.0¹⁴⁾を用いて近隣結合法¹⁵⁾による分子系統樹解析を実施した (図2)。その結果、検出された風しんウイルスはいずれも遺伝子型 1E に型別された。培養細胞を用いたウイルス分離試験の結果、2名分の検体から風しんウイルスが分離された。

遺伝子型 1E に分類される風しんウイルスは 2018年6月中旬から日本全国で検出されており¹⁶⁾、本県においても同型の風しんウイルスが浸淫していたことが示唆された。風しんウイルスは妊娠中の女性に感染すると胎児に先天的な異常を生じる

先天性風しん症候群を引き起こすことが知られている。そのために、遺伝子検査により病原体を確定し、ウイルス型別を実施して国内の流行状況と比較解析することは重要である。今後も他県との流行を含めて原因ウイルスの発生動向を注視していく必要がある。

5 デング熱・チクングニア熱

デング熱およびチクングニア熱を疑う患者検体は3名分が搬入され、イムノクロマトキットによるデングウイルス NS1 抗原の検出およびデングウイルスとチクングニアウイルスの遺伝子検出を試みた。その結果、NS1 抗原はいずれも検出されなかったが、2名からチクングニアウイルスの遺伝子が検出された。培養細胞を用いたウイルス分離試験の結果、2株のチクングニアウイルスが分離された。

デング熱およびチクングニア熱は、ヒトスジシマカ等のヤブカにより媒介されるウイルス感染症である。ウイルスを保有した蚊に刺されることで感染するため、そのような蚊に刺されないようにすることが重要である。具体的には、長袖・長ズボンの着用、昆虫忌避剤の使用などがあげられる。2015年の蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針の施行以降、長崎県では、長崎市および佐世保市内の公園において、感染症媒介蚊のモニタリン

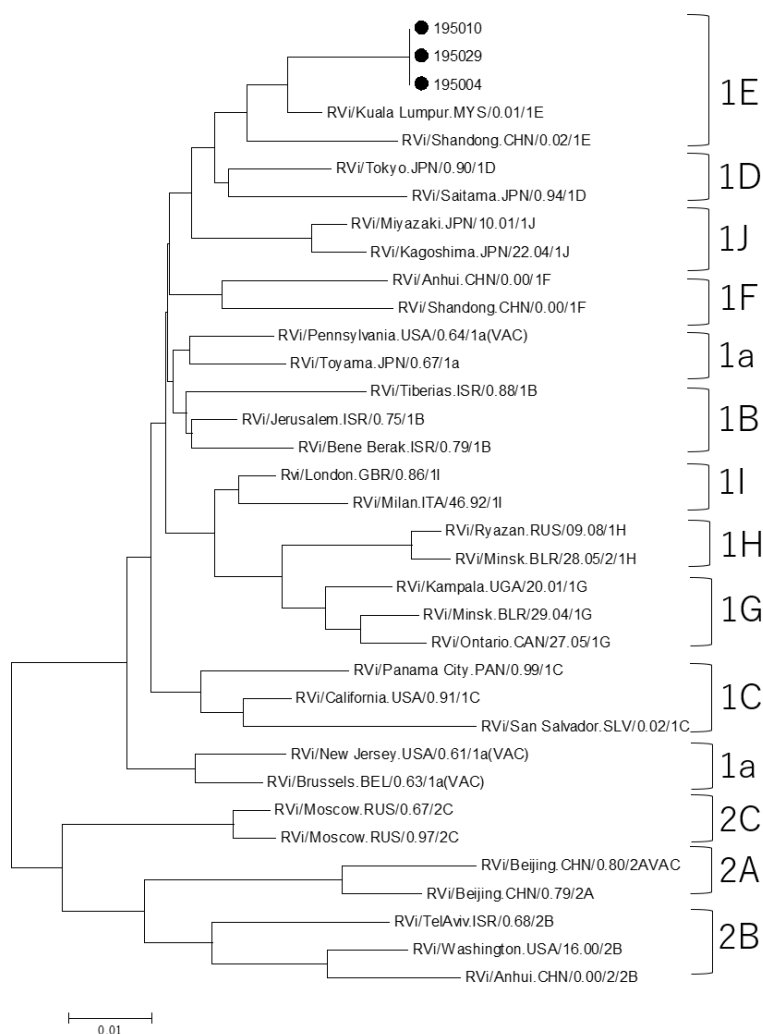


図2. 風しんウイルス E 領域配列に基づく分子系統樹

● : 長崎県検出株

系統樹右側の数字とアルファベットの組み合わせが遺伝子型

グ調査を実施している。当センターでは捕獲された蚊を用いてデング熱およびチクングニア熱の遺伝子検査を行っているが、現在までに長崎県内で捕集された蚊からこれらの原因ウイルスが検出された事例はない。しかし、海外からのクルーズ客船が多く来航する本県の特徴を鑑み、媒介蚊に対するサーベイランスを継続していく必要があると考えられた。

6 急性脳炎・脳症

急性脳炎・脳症を疑う患者検体は3名分が搬入され、EVsおよび日本脳炎ウイルスの遺伝子検査、並びにELISA法による日本脳炎ウイルスIgM抗体の検査が実施された。その結果、2名からEVsの遺伝子が検出され、塩基配列解析の結果CV-A6と

CV-B2と同定された。培養細胞を用いてウイルス分離を試みたがウイルスは分離されなかった。

急性脳炎は、種々の病原体による脳組織の炎症に起因する疾患群の総称である。原因ウイルスが多岐に渡るため特定の疫学パターンをとらないが、インフルエンザ流行期の急性脳症の増加や、EV-A71による手足口病流行時の脳炎死亡例等、特定の病原ウイルスが関係したアウトブレイクも報告されている¹⁷⁾。よって本疾病の病原体特定のための検査は今後も続けていく必要がある。

7 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)、リケッチア感染症

SFTS、リケッチア感染症(つつが虫病および日本紅斑熱)を疑う患者検体は、45名分が搬入された。これらの3疾患は、臨床症状等により区別

表 2. マダニ媒介感染症検査結果一覧

症例No.	性別	年齢	遺伝子検査	抗体検査	症例No.	性別	年齢	遺伝子検査	抗体検査
1	男	79	R.j.	NT	24	女	39	-	-
2	男	5	-	NT	25	女	62	-	-
3	男	32	-	NT	26	男	59	-	NT
4	女	69	-	NT	27	女	78	R.j.	NT
5	男	71	SFTSV	NT	28	女	13	-	NT
6	男	81	R.j.	NT	29	女	68	-	NT
7	女	70	SFTSV	NT	30	女	16	-	NT
8	男	84	-	-	31	男	77	-	NT
9	女	71	R.j.	NT	32	女	82	R.j.	NT
10	男	51	-	NT	33	男	50	R.j.	NT
11	男	69	-	NT	34	男	78	-	NT
12	女	88	SFTSV	NT	35	女	64	-	NT
13	女	67	R.j.	NT	36	男	56	-	NT
14	女	77	SFTSV	NT	37	女	69	-	NT
15	男	86	-	-	38	男	81	-	NT
16	男	6	-	NT	39	男	66	-	NT
17	女	82	R.j.	NT	40	男	85	NT	-
18	女	72	-	NT	41	男	82	NT	R.j.
19	男	53	-	NT	42	女	26	NT	-
20	女	70	-	NT	43	男	70	NT	R.j.
21	男	47	-	NT	44	女	34	-	-
22	男	72	SFTSV	NT	45	男	64	-	-
23	女	39	-	-					

SFTSV: SFTS ウイルス R.j.: *Rickettsia japonica* NT: Not tested - : Negative

することが困難であるため、検査項目を限定することができない。そのため長崎県では3疾患のうちいずれか一つの診断名であっても3項目の遺伝子検査を行っている。遺伝子検査については、SFTS ウイルス、*Orientia tsutsugamushi*、および *Rickettsia japonica* を対象として実施し、ペア血清による抗体価測定は *O. tsutsugamushi* と *R. japonica* を対象として検査を実施している。そのような体制で行われた検査結果を表2に示す。遺伝子検査の結果5名から SFTS ウイルス、8名から *R. japonica* の遺伝子が検出された。ペア血清による抗体価測定を行った11名のうち2名において *R. japonica* に対する特異的抗体価の陽転が認められた。

なお、本年度リケッチア疑いで搬入された検体のうち1名分については主治医がこれら3疾患以外にQ熱も疑っていたことから、国立感染症研究所に同病原体の検査を依頼した。Q熱リケッチア (*Coxiella burnetii*) に対する特異的抗体価測定の結

果、同病原体は検出されなかった(症例No.45)。

SFTS 及びリケッチア感染症は野外の藪や草むらに潜んでいる、病原体を保有しているマダニ類に咬まれることで感染が成立する。感染予防のためには咬まれないことが重要であり、具体的には長袖・長ズボンの着用や作業後の着替え、昆虫忌避剤の使用等があげられる。また、屋外活動後はシャワーや入浴で、マダニに刺されていないか確認を行なうことも重要である¹⁸⁾。

そのほか、県要綱に規定されていない診断名(新生児呼吸器障害、ウイルス性筋炎等)の患者検体14名分が搬入され、それらに対し EVs, ヒトパレコウイルス、ムンプスウイルスの検索を行った。その結果、新生児発熱の患者3名からパレコウイルス3型の遺伝子が検出された。また、急性散在性脊髄炎、急性心膜炎、新生児肝炎とそれぞれ診断された患者3名から CV-B3 が、口内炎と診断された患者から CV-A16 の遺伝子が検出され

た。

以上のように、病原体サーベイランスにおいては、病原体リスクマネジメントの観点から、臨床症状に基づく診断に加えて、遺伝子検査等による病原体の同定と型別、並びにそれらの解析に基づく病原体発生動向の迅速な把握が重要であることは明らかである。本事業の適切かつ確実な遂行のためには、医療機関、保健所および地方衛生研究所が連携して本事業に取り組む必要があり、それらの達成が特殊な病原体に対する注意喚起等の

行政施策、ひいては県民の感染症に対する意識向上につながると考えられる。

謝 辞

感染症発生動向調査にご協力頂いた各定点医療機関及び協力医療機関の諸先生、検体の収集及び搬入にご協力頂きました長崎市、佐世保市、県立各保健所の関係諸氏に深謝する。

参 考 文 献

- 1) 関なおみ：代々木公園を中心とした都内のデング熱国内感染事例発生について, IASR Vol. **36** pp37-38: 2015年 3 月号
- 2) 長崎県感染症情報センター：長崎県感染症発生動向調査実施要綱,
<https://www.pref.nagasaki.jp/bunrui/hukushi-hoken/kansensho/kansen-c/hasseidoukou/>
(2020.6.25)
- 3) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル,
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/labo-manual.html>
(2020.6.25).
- 4) Shama Parveen *et al.*: Genetic Variability in the G Protein Gene of Group A and B Respiratory Syncytial Viruses from India, *J Clin Microbiol*, **44**, 3055-64, (2006)
- 5) 国立感染症研究所（厚生労働科学研究 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「現在、国内で分離・同定できないウイルス性出血熱等の診断等の対応方法に関する研究」班）：SFTS ウイルス検出マニュアル,
(2013).
- 6) 長崎県医療政策課：インフルエンザ流行期入り,
<https://www.pref.nagasaki.jp/press-contents/407496/> (2020.6.25)
- 7) A Kroneman *et al.*: An Automated Genotyping Tool for Enteroviruses and Noroviruses, *J Clin Virol* 2011 Jun;**51**(2):121-5.
- 8) Huang CC *et al.*: Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection, *N Engl J Med*. **341**, pp936-942 (1999)
- 9) 松本 文昭 他：長崎県環境保健研究センター所報 63, (2017) 資料 p.110-115
- 10) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/510-graphs/1532-iasrgv.html>
(2020.6.25)
- 11) 国立感染症研究所：無菌性髄膜炎について
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/520-viral-meningitis.html> (2020.6.25)
- 12) M.A. Pallansch: Coxsackievirus B Epidemiology and Public Health Concerns, In: *The Coxsackie B Viruses*, pp13-30 (1997).
- 13) Thompson JD, *et al.*: CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*, **22**, pp4673-80 (1994).
- 14) Tamura K, *et al.*: MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0, *Mol Biol Evol*, **30**(12), 2725-29, (2013).
- 15) Saitou, N, *et al.*: The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol Biol Evol*, **4**, pp406-425 (1987).
- 16) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報 近年の風疹ウイルスのウイルス学的変遷, IASR Vol. **40** pp134-135:2019年 8 月号
- 17) 国立感染症研究所：急性脳炎（ウエストナイル脳炎、西部ウマ脳炎、ダニ媒介脳炎、東部ウマ脳炎、日本脳炎、ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く）とは,
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/389-encephalitis-intro.html> (2020.6.25)
- 18) 国立感染症研究所：マダニ対策、今できること,
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/2287-ent/3964-madanitaisaku.html> (2020.6.25)