

長野県内ではじめて確認されたヒトメタニューモウイルス集団感染の2事例

畔上由佳¹・宮坂たつ子¹・粕尾しず子²・吉田徹也¹・内山友里恵¹
笠原ひとみ¹・上田ひろみ¹・長瀬 博¹・藤田 暁¹

2010年3月から4月にかけて長野県東部および中部の社会福祉施設において、ヒトメタニューモウイルス(hMPV)による集団感染事例が発生した。これら2事例はほぼ同時期に県内で発生したものの、検出されたhMPV株の遺伝子群はそれぞれA2およびB2と異なっていた。このことから、感染源は別であったことが示唆された。なお、今回の集団感染事例は、長野県内で初めてhMPV感染症の存在が確認された事例であった。

キーワード：ヒトメタニューモウイルス (hMPV), 集団感染, 遺伝子型別, RT-PCR

1. はじめに

ヒトメタニューモウイルス(human metapneumovirus: hMPV)は、2001年に発見されたパラミクソウイルス科のニューモウイルス亜科メタニューモウイルス属に属し、約13kbのマイナス1本鎖RNAをゲノムに保有する¹⁾。ウイルス粒子の大きさは100～350nmで、多型またはひも状の形態をとり、エンペロープを有している。血清型は1種類で、遺伝子配列によりAおよびBの2種類の遺伝子群に分けられ^{2)~4)}、さらにそれぞれ2つの遺伝子亜群に分けられる。hMPVは、乳幼児を中心とした小児から成人の呼吸器感染症の原因ウイルスとして、また、高齢者や免疫不全状態の者の急性呼吸器感染症の原因ウイルスの一つとも考えられている。流行はインフルエンザウイルスやRSウイルスの流行が終息しだす3月～4月にピークとなるが、通年発生する。臨床症状はRSウイルスに似ており、上気道炎、気管支炎および肺炎などの下気道炎を引き起こす⁵⁾。また、hMPV感染をきっかけに喘息を発症あるいは増悪する可能性や乳幼児の急性脳症患者からの検出例も報告されている^{6)~8)}ため、注目すべきウイルスである。

これまで県内におけるhMPV感染症の患者発生報告は、散発事例および集団事例ともまったくなかった。ところが、2010年3月～4月、既存の各種ウイルス迅速診断キット陰性の急性呼吸器感染症患者の集団発生2事例について、当所において病原体の検索を行ったところ、hMPVと同定されたのでその概要を報告する。

2. 材料および方法

2.1 検査材料および検体数

検査材料は、医療機関において採取された咽頭拭い液とした。当該試料を充分混和後、3,000回転15分遠沈し、その上清をRNA抽出等に用いた。検体数は8検体(事例1が6検体および事例2が2検体)であった。

2.2 検査項目および検査方法

事例1についてはhMPVの検出を、事例2についてはhMPVおよびパラインフルエンザウイルス(PIV)の検出を試みた。hMPVは、病原体検出マニュアル「ヒトメタニューモウイルス検査マニュアル」⁹⁾に準じて、RT-PCR法による遺伝子検出およびウイルス分離を実施した。PIVは、病原体検出マニュアル「パラインフルエンザウイルス検査マニュアル」¹⁰⁾に準じて、ウイルス分離を実施した。

2.3 検出されたウイルス株の遺伝子型別

RT-PCR法によりhMPV遺伝子陽性となった検体については、ダイレクトシーケンシング法を用い、Fタンパクの一部287-ntの塩基配列を決定した。決定された塩基配列は、BLAST (<http://blast.ddbj.nig.ac.jp/top-j.html>)を用いた相同性検索を行い、検出ウイルスの同定を行った。また、塩基配列は、ClustalW version 1.83 (<http://clustalw.ddbj.nig.ac.jp/top-j.html>)によりアライメントを行った。分子系統樹は近隣結合法を用いて作成し、1,000回ブートストラップを行った。系統樹の描画は、NJplot ([1 長野県環境保全研究所 感染症部 〒380-0944 長野市安茂里米村 1978](http://</p>
</div>
<div data-bbox=)

2 長野県佐久保健福祉事務所 〒385-8533 佐久市跡部 65-1

pbil.univ-lyon1.fr/software/njplot.html) を用いた。なお、遺伝子型別および系統樹の作成には、Kim ら¹¹⁾の参照株を用いた。

3. 結果および考察

3.1 事例の疫学調査

事例 1 は、長野県東部 A 市 (図 1) 内の 3 ヶ所の保育所において、急性呼吸器感染症の集団発生が見られたケースであった (表 1)。園児 7 人が入院し、医療機関で実施したインフルエンザ、RS ウイルス、マイコプラズマおよびアデノウイルス検査はすべて陰性であった。

事例 2 は長野県中部 B 市 (図 1) 内の救護施設で、急性呼吸器感染症集団発生が見られたケースであった (表 1)。本施設の入所者は 132 名で、疫学調査の結果そのうち少なくとも 35 名が発熱、発咳等共通の症状を呈していた。医療機関で実施したインフルエンザ、RS ウイルスおよびレジオネラ検査は、すべて陰性であった。

いずれの事例においても患者の臨床症状は、38 度以上の発熱、下気道炎などで、それ以外の特徴的な症状は認められなかった。

また、今回の事例と同様に社会福祉施設や医療機関において、hMPV による集団感染症の発生報告がされている^{11)~13)}ことから、原因不明の急性呼吸器疾患が発生した場合には、hMPV 感染症を疑う必要があると考えられた。さらに、高齢者や小児等は、呼吸器症状が重症化し死に至ることもあるため、注意を払う必要がある。

表 1 集団感染事例の概要

	事例 1	事例 2
発生年月	2010 年 3 月	2010 年 4 月
発生場所	長野県東部 A 市	長野県中部 B 市
発生施設	保育所 (3 か所)	救護施設
	発熱 (39.0 ~ 40.0°C)	発熱 (38.0 ~ 39.0°C)
患者の 臨床症状	下気道炎	下気道炎 発咳 鼻汁 喘鳴
	(n=6)	(n=2)

3.2 ウイルス学的検査結果

事例 1 は RT-PCR 法により、6 検体中 3 検体が hMPV 遺伝子陽性であった (表 2)。

また事例 2 は、2 検体中 1 検体が hMPV 遺伝子陽性であった (表 2)。さらに、PIV については MDCK



図 1 事例 1 (A 市) および事例 2 (B 市) の発生場所 (○)

細胞および Caco2 細胞で 2 代培養を試みたが不検出であった。

なお、事例 1 および 2 とも LLC-MK2 細胞および VeroE6 細胞を用いた hMPV の分離培養を試みたが、いずれも不検出であった。hMPV は一般的に培養細胞を用いたウイルス分離が困難とされ、RT-PCR 法で陽性となった検体の約 32% しかウイルス分離ができなかったとの報告がある¹⁴⁾。今後 hMPV の分離を行うためには、本ウイルスの増殖が良好なヒト気管上皮細胞株 (16HBE40 細胞株)¹⁵⁾ などをを用いた検索を行う必要があると考えられた。

表 2 ウイルス学的検査結果

検査項目	検査結果 (検出数/検体数)	
	事例 1	事例 2
hMPV ^{a)}	3/6	1/2
PIV ^{b)}	NT ^{c)}	0/2

a) : RT-PCR 法による成績 (分離培養は不検出)

b) : 分離培養による成績 c) : 検査未実施

3.3 hMPV 株の遺伝子解析

検出された hMPV について F 遺伝子の一部塩基配列 (287-nt) を決定し解析したところ、事例 1 の 3 株は相同性 100% であったことから、同一由来株であると示唆された。事例 1 由来株を BLAST 検索したところ、2006 ~ 2008 年に検出された中国の小児急性呼吸器感染症由来株 (accession nos. FJ641064, FJ641083, FJ641105 等) および韓国南部の小児呼吸器疾患由来株 (accession no. DQ023127) と相同性 100% であった。また、2009 年 7 月 ~ 8

月に山口県内の急性呼吸器感染症に罹患した子供から検出された遺伝子型 A2 型株と比較したところ、ほとんどの株が事例 1 由来株と相同であった (accession nos. AB533235, AB533240 等)¹⁶⁾。これらことから当該株は、日本国内を含めた東アジアに広く分布していることが推察された。

さらに、事例 2 由来株の F 遺伝子の一部 314-nt を BLAST 検索したところ、スペイン、アイルランド、アメリカといった欧米で検出された株 (それぞれ accession no. AY152849, EF694065, EU857605) と高い相同性を示した。

事例 1 および事例 2 で検出された hMPV 株を系統樹解析したところ、事例 1 由来株は遺伝子亜群 A2 に、事例 2 由来株は遺伝子亜群 B2 に属した。2 つの事例はほぼ同時期に発生したものの、発生場所が異なり (図 1)、さらに検出された hMPV 株の遺伝子群が異なっていたこと (図 2) から、感染源は別であることが明らかとなった。

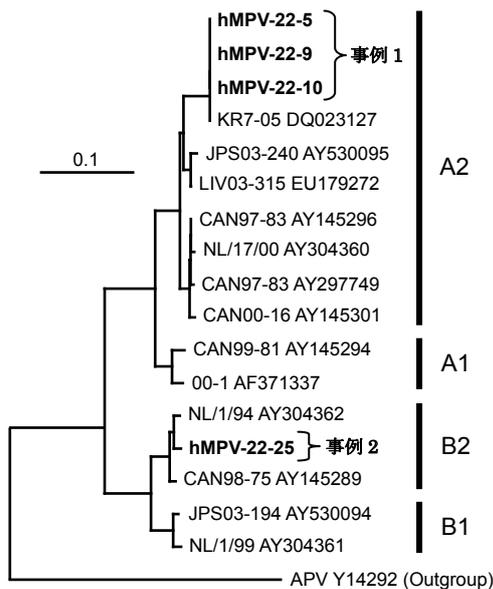


図 2 F (fusion) 遺伝子の一部塩基配列による系統樹解析結果
事例 1 由来株 (hMPV-22-5、hMPV-22-9 および hMPV-22-10) は遺伝子群 A2 に、事例 2 由来株 (hMPV-22-25) は遺伝子群 B2 に分類された。

4. まとめ

長野県内において、初めての hMPV 感染症患者の発生を確認した。

2010 年 3 月～4 月にかけて県内東部および中部の社会福祉施設において、hMPV による集団感染事例が発生した。

2 つの事例はほぼ同時期に発生したものの、検出された hMPV 株の遺伝子群が異なっていたことから、感染源は別であることが明らかになった。

ウイルス性の急性呼吸器感染症が疑われたにもかかわらず、既存の各種ウイルス迅速診断キット陰性の場合には、hMPV 感染症の可能性も考慮した検索が必要である。

hMPV 感染症は感染症法対象外の疾患であるが、急性呼吸器感染症集団感染の原因となることから、的確な感染症予防対策を講ずるためにも、地方衛生研究所における検査の重要性は高いと考えられる。

謝 辞

本調査を行うにあたり、ご協力いただいた患者発生施設を管轄する保健福祉事務所の各位に深謝いたします。

文 献

- 1) van den Hoogen B.G., de Jong J.C., Groen J., Kuiken T., de Groot R., Fouchier R.A. and Osterhaus A.D.M.E. (2001) A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat. Med.*, 7: 719-724.
- 2) van den Hoogen B.G., Bestebroer T.M., Osterhaus A.D. and Fouchier R.A. (2003) Analysis of the sequence of a human metapneumovirus. *Virology*, 295: 119-132.
- 3) Biacchesi S., Skiadopoulos M.H., Boivin G., Hanson C.T., Murphy B.R., Collons P.L. and Buchholz U.J. (2003) Genetic diversity between human metapneumovirus subgroups. *Virology*, 315: 1-9.
- 4) Ishiguro N., Ebihara T., Endo R., Ma X., Kikuta H., Ishiko H. and Kobayashi K. (2004) High genetic diversity of the attachment (G) protein of human metapneumovirus. *J. Clin. Microbiol.*, 42: 3406-3414.
- 5) Williams J.V., Harris P.A., Tollefson S.J., Halburnt-Rush L.L., Pingsterhaus J.M., Edwards K.M., Wright P.F. and Crowe J.E. Jr. (2004) Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. *N.*

- Engl. J. Med., 350: 443-450.
- 6) García-García M.L., Calvo C., Casas I., Bracamonte T., Rellán A., Gozalo F., Tenorio T., and Pérez-Breña P. (2007) Human metapneumovirus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma at age 5. *Pediatr. Pulmonol.*, 42: 458-464.
 - 7) 津田雅世, 石川順一, 吉本昭, 外川正生, 塩見正司, 改田厚, 村上司, 入谷展弘, 久保英幸, 後藤薫, 石井 営次 (2005) Human metapneumovirus 感染に伴ったけいれん重積型急性脳症の 1 例, 病原微生物検出情報, 26: 153.
 - 8) Hata M., Ito M., Kiyosawa S., Kimpara Y., Tanaka S., Yamashita T., Hasegawa A., Kobayashi S., Koyama N. and Minagawa H. (2007) A fatal case of encephalopathy possibly associated with human metapneumovirus infection. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 60: 328-329.
 - 9) 国立感染症研究所・地方衛生研究所全国協議会 (2008) 病原体検査マニュアル(ヒトメタニューモウイルス検査マニュアル) .
 - 10) 国立感染症研究所・地方衛生研究所全国協議会 (2009) 病原体検査マニュアル (パラインフルエンザウイルス検査マニュアル)
 - 11) Kim S., Sung H., Im H.J., Hong S.J and Kim M.N. (2009) Molecular epidemiological investigation of a nosocomial outbreak of human metapneumovirus infection in a pediatric hemato-oncology patient population. *J. Clin. Microbiol.*, 47: 1221-1224.
 - 12) 白石博昭, 豊村研吾, 平泰子, 宮川春美, 三浦久吉, 田中浩二, 山野真由美, 守真奈美, 都留陽子, 千々和勝己, 江藤良樹, 石橋哲也, 世良暢之, 吉村建清, 佐野正, 中山宏 (2006) 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ー福岡県, 病原微生物検出情報, 27: 178-179.
 - 13) Osbourn M., McPhie K.A., Ratnamohan V.M., Dwyer D.E., Durrheim D.N. (2009) Outbreak of human metapneumovirus infection in a residential aged facility. *Commun. Dis. Intell.*, 33: 38-40.
 - 14) Ebihara T., Endo R., Kikuta H., Ishiguro N., Ishiko H., Hara M., Takahashi Y. and Kobayashi K. (2004) Human metapneumovirus infection in Japanese children. *J. Clin. Microbiol.*, 42: 126-132.
 - 15) Ingram R.E., Fenwick F., McGuckin R., Tefari A., Taylor C., Toms G.L. (2006) Detection of human metapneumovirus in respiratory secretions by reverse-transcriptase polymerase chain reaction, indirect immunofluorescence, and virus isolation in human bronchial epithelial cells. *J. Med. Virol.*, 78: 1223-1231.
 - 16) Toda S., Kimura H., Noda M., Mizuta K., Matsumoto T., Suzuki E. and Shirabe K. (2010) Phylogenetic analysis of human metapneumovirus from children with acute respiratory infection in Yamaguchi, Japan, during summer 2009. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 63: 139-140.

Two cases of outbreak of human metapneumovirus infection in Nagano Prefecture

Yuka AZEGAMI¹, Tatsuko MIYASAKA¹, Shizuko KASUO², Tetsuya YOSHIDA¹, Yurie UCHIYAMA¹,
Hitomi KASAHARA¹, Hiromi UEDA¹, Hiroshi NAGASE¹ and Satoru FUJITA¹

¹ Nagano Environmental Conservation Research Institute, Infectious Disease Division,
1978 Komemura, Amori, Nagano 380-0944, Japan

² Saku Health and Welfare Office, 65-1 Atobe, Saku 385-8533, Japan

Abstract

Between March and April in 2010, two outbreaks of human metapneumovirus (hMPV) infection occurred at social welfare facilities in the eastern and the central regions of Nagano Prefecture. Although the outbreaks in these two regions occurred at about the same time, the genogroups of detected hMPV strains were A2 and B2 respectively, suggesting that the sources of infection were different. It is also noteworthy that these outbreaks were the first report of hMPV infection in Nagano Prefecture.