

資料

福岡県におけるヒトパレコウイルス検出状況

吉富秀亮・石橋哲也・世良暢之

平成22年度及び23年度に感染症発生動向調査事業で搬入された糞便96検体（22年度：38検体、23年度：58検体）について、ヒトパレコウイルス(*Human Parechovirus* : HPeV)の検査を行った結果、13検体からHPeVが検出された。遺伝子解析を実施した結果、HPeV-1が9検体、HPeV-3が2検体、HPeV-4が1検体、HPeV-6が1検体であった。日本国内で流行するHPeVは1型と3型であり、今回の調査結果と一致した。一方で、4型と6型の検出例は稀であり、今後も調査を継続する必要があることが示唆された。

[キーワード：ヒトパレコウイルス、感染症発生動向調査]

1 はじめに

HPeVは、主に小児の胃腸炎や呼吸器疾患患者から分離されるピコルナウイルス科に分類されるウイルスである。1999年にエコーウイルス22型及び23型が独立しHPeV-1及びHPeV-2と改名された。H23年度の全国における感染症発生動向調査において HPeV の 検 出 状 況 は HPeV-NT(Not Typed)が27検体、HPeV-1が71検体、HPeV-3が222検体であり¹⁾、一部の自治体では調査が行われているが、福岡県ではこれまで調査を行っていない。そこで、福岡県におけるHPeV流行を知る手がかりとして過去に感染症発生動向調査事業で搬入された感染性胃腸炎検体についてHPeVの検出を試みた。

2 方法

2・1 検査材料

平成22年度および平成23年度に感染症発生動向調査事業で搬入された糞便96検体を材料とした。

2・2 検査方法

糞便検体をPBSで10%乳剤とし、10000 rpm、20分遠心後の上清からQIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)を用いてウイルスRNAを抽出し、DNase処理した。SuperScript III (Invitrogen)によりRNAからcDNAを作成した。得られたcDNAを用いて、EmeraldAmp PCR Master Mix (TakaraBio)により1stPCR及び2ndPCRを94℃ 3min→94℃ 30sec、50℃ 30sec、72℃ 30sec (35サイクル)→72℃ 5minの反応条件で行い、VP1遺伝子領域を増幅した。PCRに用いたプライマーを表1に示す²⁾。電気泳動を行い、陽性バンドが確認された場合は、PCR産物の精製後、ダイレクトシーケンスを行い、近隣結合法を用いて分子系統樹を作成し、レファレンス株と比較することによって遺伝子型別を行った。レファレンス株は既報³⁾を参考にGenBankに登録され

ている HPeV-1、HPeV-2、HPeV-3、HPeV-4、HPeV-5 及び HPeV-6 の VP3/VP1 領域の塩基配列を収集した。

表1 HPeV 検出用プライマー

	プライマー名	5'-3' 塩基配列	サイズ(塩基)
1st PCR	2090	GAYAATGCGYATMTAYACWATYTGGA	433
	2523	ACWGTAAARATRTCHACATTSATDG	
2nd PCR	2159	TTYTCMACHTGGATGMGGAARAC	299
	2458	DGGYCCATCATCYTGWGCTGA	

3 結果及び考察

表2に HPeV 検出結果を、図1に系統樹解析結果を示す。

表2 HPeV 検出結果

番号	採取年月	年齢	性別	型別結果	同時に検出されたウイルス
1	2010.5	7ヶ月	男	HPeV-1	
2	2010.10	1歳	男	HPeV-1	
3	2010.11	8ヶ月	男	HPeV-1	NoroG II /4
4	2011.1	1歳	女	HPeV-4	NoroG II /4
5	2011.4	1歳	女	HPeV-3	RotaG3P[8]
6	2011.4	9ヶ月	男	HPeV-3	RotaG3P[8]
7	2011.10	10ヶ月	男	HPeV-6	NoroG II /3
8	2011.11	9ヶ月	男	HPeV-1	
9	2011.11	2歳	男	HPeV-1	NoroG II /6
10	2011.11	3歳	男	HPeV-1	
11	2011.11	1歳	女	HPeV-1	
12	2011.12	8ヶ月	女	HPeV-1	NoroG II /6, Polio2
13	2011.12	10ヶ月	女	HPeV-1	

*Noro：ノロウイルス Rota：ロタウイルス

Polio：ポリオウイルス

平成22年度及び23年度の感染症発生動向調査検体96検体中13検体から HPeV 遺伝子が検出された。ダイレクトシーケンスにより決定した塩基数167bpを用いて遺伝子系統樹解析を行い、型別を行った結果、HPeV-1が9検体、HPeV-3が2検体、HPeV-4が1検体、HPeV-6が1検体であった。現在、HPeVは1型から14型まで報告されているが、7型から14型に含まれるウイルスは検出例が

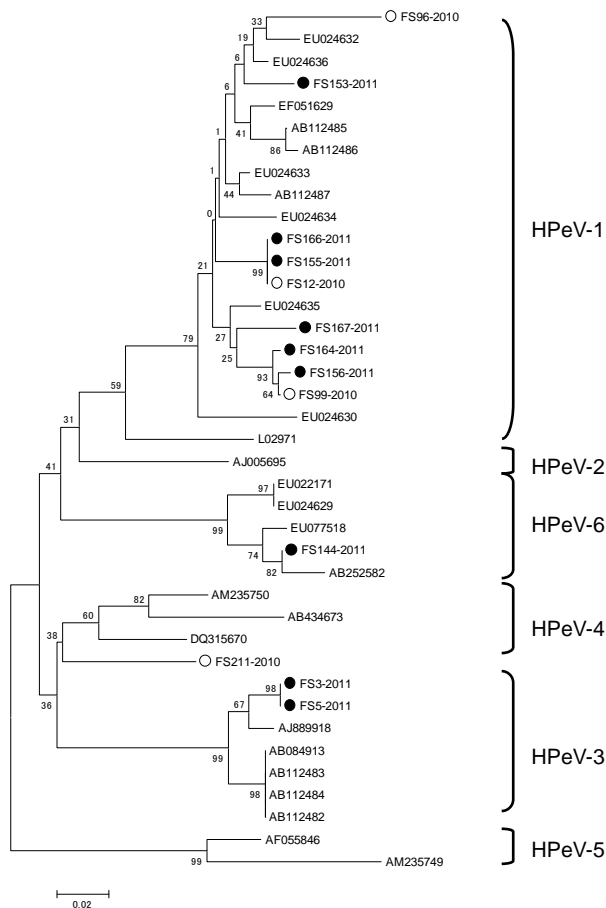


図1 HPeV 遺伝子系統樹解析結果 ○は平成22年度、●は平成23年度に当所で検出した HPeV を示す

少なく、型それぞれの詳細なデータも少ない。そのため、今回は1型から6型までのレファレンス株を用いて遺伝子系統樹解析を行った。日本で主に流行している HPeV は1型と3型とされている⁴⁾。今回検出された亜型も HPeV-1 と HPeV-3 で82%を占めており、国内での主な流行型と類似していた。HPeV-4 及び HPeV-6 については日本国内では報告が数例しかない⁴⁾。詳細な解析を行うために培養細胞によるウイルス分離を行い、全塩基配列の決定を行う必要があると思われた。

系統樹解析の結果、HPeV-1 では、レファレンス株である Harris 株(L02971)とやや離れたクラスターに位置し、遺伝学的多様性がみられた。HPeV-3 ではレファレンス株である Can82853-01 株(AJ889918)と近縁に位置していた。HPeV-4 (FS211-2010) ではレファレンス株である K251176-02 (DQ315670)及び T75-4077 (AM235750)とは遺伝学的に異なるクラスターに位置していた。細胞分離を行い、より詳細な遺伝学的な解析が必要であると思われた。HPeV-6 ではレファレンス株である NII561-2000 株(AB252582)と近縁に位置していた。

検出された13検体中7検体からは他のウイルスも検出

され、ノロウイルス GII が5検体、A群ロタウイルスが2検体から検出された。ノロウイルスとの複合感染は、HPeV-1 が3検体、HPeV-4 が1検体、HPeV-6 が1検体であった。A群ロタウイルスとの複合感染は、HPeV-3 が2検体であった。単独感染の5検体からは、すべて HPeV-1 が検出された。今回、過去に遡って詳細な患者情報等の入手ができなかったために HPeV と他のウイルスの複合感染と病原性に関しては明らかにはできなかった。今後は、詳細な臨床症状等の情報の入手を含めた継続調査を行っていく必要がある。

HPeV は、エンテロウイルスと比較して低年齢者からの検出が多い傾向があると報告されている⁵⁾。今回の調査においても、HPeV が検出された検体提供者の年齢は、1歳以下が11名、2歳、3歳がそれぞれ1名ずつであり同様の傾向を示していた。

4 まとめ

感染症発生動向調査事業で搬入された糞便検体のおよそ10%から HPeV が検出された。検出された亜型は全国的な流行型と類似しており、発生が稀な亜型も検出された。また、他のウイルスとの複合感染が約半数の割合で起こっている可能性が示唆された。今回の調査では糞便検体のみを対象に HPeV の検出を行ったが、HPeV の実態を把握するためには、咽頭ぬぐい液などからも検出を試みる必要があると思われる。今後も HPeV の検出および型別を行うことが、公衆衛生的な観点からも重要である。

文献

- 1) 国立感染症研究所 感染症情報センター 病原体検出情報 : Vol.33, No.6, 2012.
- 2) H. Harvala, *et al.*: J Clin Microbiology, 3446-3453, 2008.
- 3) 若月紀代子、川本大輔、樋脇弘：平成19年度福岡市保健環境研究所所報33号, 122-125, 2007.
- 4) 伊藤雅、山下照夫、皆川洋子：臨床と微生物, 36巻, 3号, 187-192, 2009.
- 5) N. R. Grist, F. J. Bell, F. Assaad: Prog Med Virol, 24, 114-157, 197.