

島根県で検出された RS ウイルスの分子疫学解析

和田美江子・飯塚節子

キーワード：RS ウイルス、遺伝子型、系統樹

Genotyping and Phylogenetic Analysis of Human Respiratory Syncytial virus in Shimane

Mieko Wada, Setsuko IIZUKA

Key word: Respiratory syncytial virus, Genotyping, Phylogenetic Tree

1. はじめに

RS ウイルス (以下、「RSV」と表記) は、上気道炎や下気道炎を引き起こす代表的なウイルスである。乳幼児における肺炎の約 50%、細気管支炎の 50~90%が RS ウイルス感染症による。特に乳幼児は、重症化しやすく、インフルエンザと比較して、致死率が高いとされている。2 歳までに殆どが感染し、抗体を保有するが、感染防御には十分な効果を発揮しないため、生涯にわたって再感染し、成人では軽症のかぜ症状であるが、高齢者は、インフルエンザと同程度の肺炎発症が認められ致死率も高い。また、RSV 感染症は、感染症発生動向調査での小児科定点把握疾患に指定されており、当県では、2004 年 1 月以降その動向について把握している。

RSV は、パラミクソウイルス科ニューモウイルス亜科ニューモウイルス属に分類され、抗原性の違いから A と B の subgroup に分類される。島根県においては、2009 年から、RSV について、ウイルス粒子の構成に関与する M2 遺伝子をターゲットとして検出し、subgroup A と B の 2 つに分類してきていた。しかし、2011 年にウイルス表面のエンベロープに存在し、細胞への吸着に関与する glycoprotein (G 蛋白) をコードする G 遺伝子による分類法に変更した。このことから genotype による詳細な分類ができるようになった。

既項「呼吸器ウイルス感染症患者検体からのウイルス検出状況」のとおり、RSV は、約 7 年間で 114 件検出された。この項では、2007 年からの検体に遡って行った G 遺伝子による疫学的及び系統樹解析結果について報告する。

2. 材料と方法

2. 1 対象検体

前項「呼吸器ウイルス感染症患者検体からのウイル

ス検出状況」に記載のとおり。

ただし、検体については、咽頭/鼻腔拭い液のみを対象としており、合計 1384 件。

2. 2 遺伝子検査方法

前項「呼吸器ウイルス感染症患者検体からのウイルス検出状況」に記載のとおりで、MEGA ver6.0 による近接結合法を用いて、遺伝子型別及び系統樹解析を実施した。

3. 結果と考察

3. 1 RSV 感染症の発生動向と RSV 検出状況

RSV 感染症は、例年、10 月頃から報告数が増加し、12 月から 1 月をピークとした流行状況であったが、近年、その立ち上がりが早くなってきている。2012/13 シーズンは、9 月に一定点当たり 5.0 件を超えたが、ピークは 12 月であった。2013/14 シーズンは、8 月に一定点当たり 4.0 件を超え、9 月にシーズンのピークの一定点当たり 8.8 件を示し、その後漸次減少し、例年の流行時期である 12 月から 1 月にかけての報告数は少なかった (図 1)。

RSV の検出数は、流行期である冬季に検出数が多かったが、2012/13 シーズン、2013/14 シーズンの RSV 感染症の流行時期の早期化を反映し、2012/13 シーズンは秋季に 2013/14 シーズンは、夏・秋季に検出数が多かった。

2. 2 シーズン毎の subgroup の状況

1 シーズンの検出数が 10 件以上の 2007/08 (13 件)、2009/10 (14 件)、2011/12 (25 件)、2012/13 (26 件)、2013/14 (25 件) シーズンの subgroup A と B の割合を経年的にみても、A の割合が漸次増加してきており、2011/12 シーズン 88%、2012/13 シーズンに 84.6%

を占めていたが、2013/14 シーズンには 36%と減少していた(図 3)。

3. 3 G 遺伝子による型別 (表 1)

M2 遺伝子をターゲットとして行った検査で陽性だったもので、検体が残っているものを変更後の方法で検査し分類した。114 件の内、subgroupA で 7 件が、B で 10 件は変更後の方法で検査できなかった。

G 遺伝子により分類した結果では、subgroupA の 61 件の内 54 件は NA1 で、NA2 は 2007/08 シーズンのみ 2 件検出されている。2008/09 シーズン以降 subgroupA の主流は NA1 で、2011/12、2012/13 シーズンに多くを占めていたが、2013/14 シーズンには 5 件と減少し、ON1 が 4 件検出された。2012/13 シーズンに 1 件、シーケンスが全長読めず分類できない検体があった。

subgroupB では、36 件中 35 件が BA 型であった。2013/14 シーズンに検出された 1 件は、PCR 反応の増幅産物のサイズが 149bps で、BLAST 検索により 2012 年ラトビアで検出された株と 100%一致していたが型別はできなかった。

BA 型では、2007/08 シーズンに BA7 が 2 件が検出されたが、このシーズンは BA10 も 7 件検出されていた。2009/10 シーズン以降は、BA 型では BA9 と BA10 のみ検出されており、2013/14 シーズンは BA9 が 14 件と多かった。

3. 4 系統樹解析

当所で検出された株の内、subgroupA 60 株、subgroupB 32 株を用いて系統樹解析を行った。

subgroupA では、2006/07 シーズンに検出された株の内 6 株と 2012/13 シーズンの 1 株 (Sep12/0553c) は同一株であった。2012/13 シーズンに検出された株の内 9 株と 2008/09 シーズンの 1 株 (Sep08/0744w) 株は同一の株であった。2011/12 シーズンの 1 株 (Jan12/0055w)、2012/13 シーズンの検出株の内 3 株及び 2013/14 シーズンに検出された株の内 4 株は同一の株であった(図 4)。

subgroupB では、2006/07 シーズンに検出された 2 株は同一の株であった。また、2009/10 シーズンに検出

された 3 株は同一の株であった。それ以外のシーズンは、シーズン内で様々な株が検出されていた(図 5)。

3. 5 ON1 について

2013/14 シーズンに subgroupA で新たに検出された ON1 は、2010 年にカナダで検出された新しい遺伝子型で、NA1 の亜型とされる。本邦では、2012 年に千葉市での検出例が報告されている¹⁾。

島根県では、2013/14 シーズンに ON1 が 4 例検出されているが、いずれも 1 歳以下で、内 2 例は、夏季に発病している。また、3 例は重症呼吸器感染患者の検体提供を依頼している東部の医療機関からのものであった(表 2)。

4 例の内 1 例は、Hep2 細胞による継代 3 代目で分離できた。

表2 ON1の検出例

年齢	発病日	診断名	地区
1 歳	2013年7月22日	気管支炎	東部
1 歳	2013年8月8日	上気道炎	東部
1 歳	2013年10月1日	RSウイルス感染症	中部
11ヶ月	2014年1月7日	下気道炎	東部

4. まとめ

近年、冬季に流行するとされている RSV 感染症の流行の立ち上がりが早くなってきている。それに伴い、RSV も年間を通じて検出されるようになった。

G 遺伝子による分類では、2011/12 シーズン、2012/13 シーズンに多く分離された subgroupA の NA1 は、2013/14 シーズンに減少し、NA1 の亜型である ON1 が検出され始めた。

RSV 感染症の早期化は、新たな ON1 の出現と関連しているのか、今後 NA1 が減少し ON1 が増加していくのか、今後も注視していく必要がある。

参考文献

- 1) 病原微生物検出情報 Vol 33 No4(2012.4)

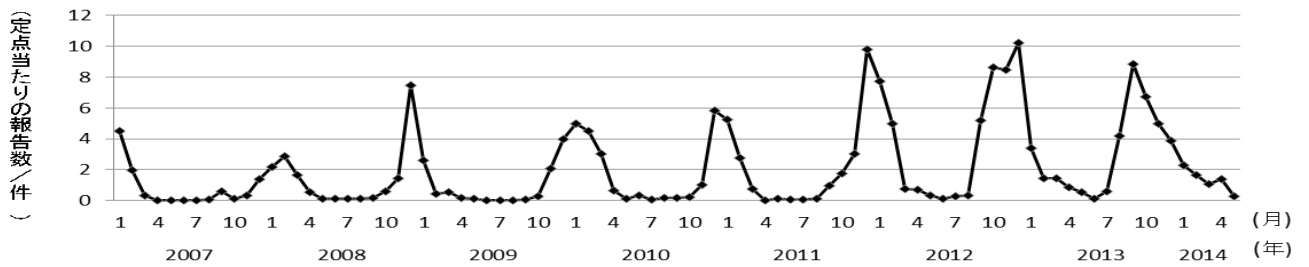


図1 島根県の感染症発生動向調査におけるRSV感染症の報告数(一定点・月当たり)

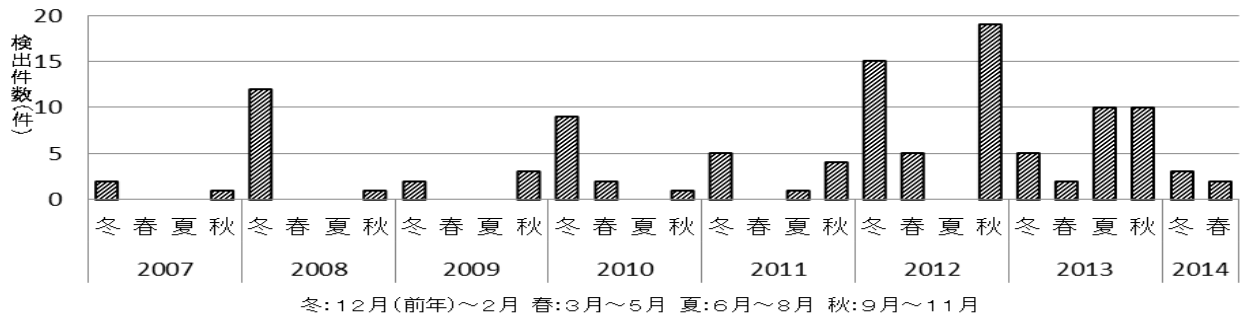


図2 四季毎のRSVの検出状況

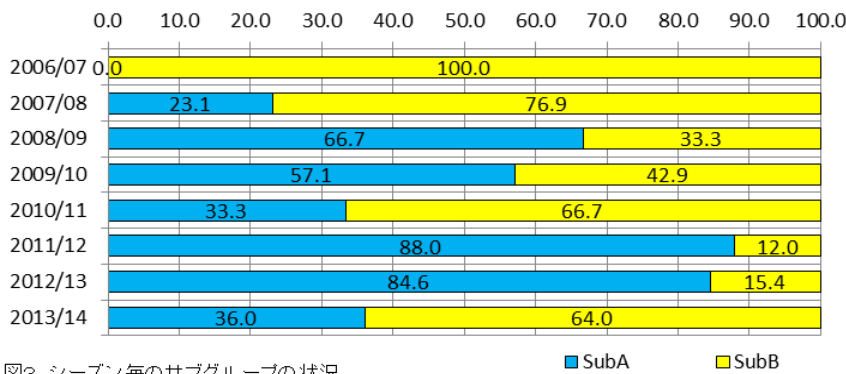


図3 シーズン毎のサブグループの状況

表1 G遺伝子によるシーズン毎の型別

	RSV+													
	サブグループA型							サブグループB型						
	M2 遺伝子	G遺伝子						M2 遺伝子	G遺伝子					
		A							BA				B型 不明	
NA1		NA2	ON1	不明	BA7	BA9	BA10							
06/07	2						2	2		2				
07/08	13	3		1	2		10	1	9	2		7		
08/09	3	2	1	1			1	1						
09/10	14	8	3	5			6	3	3		3			
10/11	6	2		2			4	4						
11/12	25	22	3	19			3	1	2		1	1		
12/13	26	22		21		1	4		4		4			
13/14	25	9		5		4	16		16		14	1	1	
合計	114	68	7	54	2	4	1	46	10	35	2	24	9	1

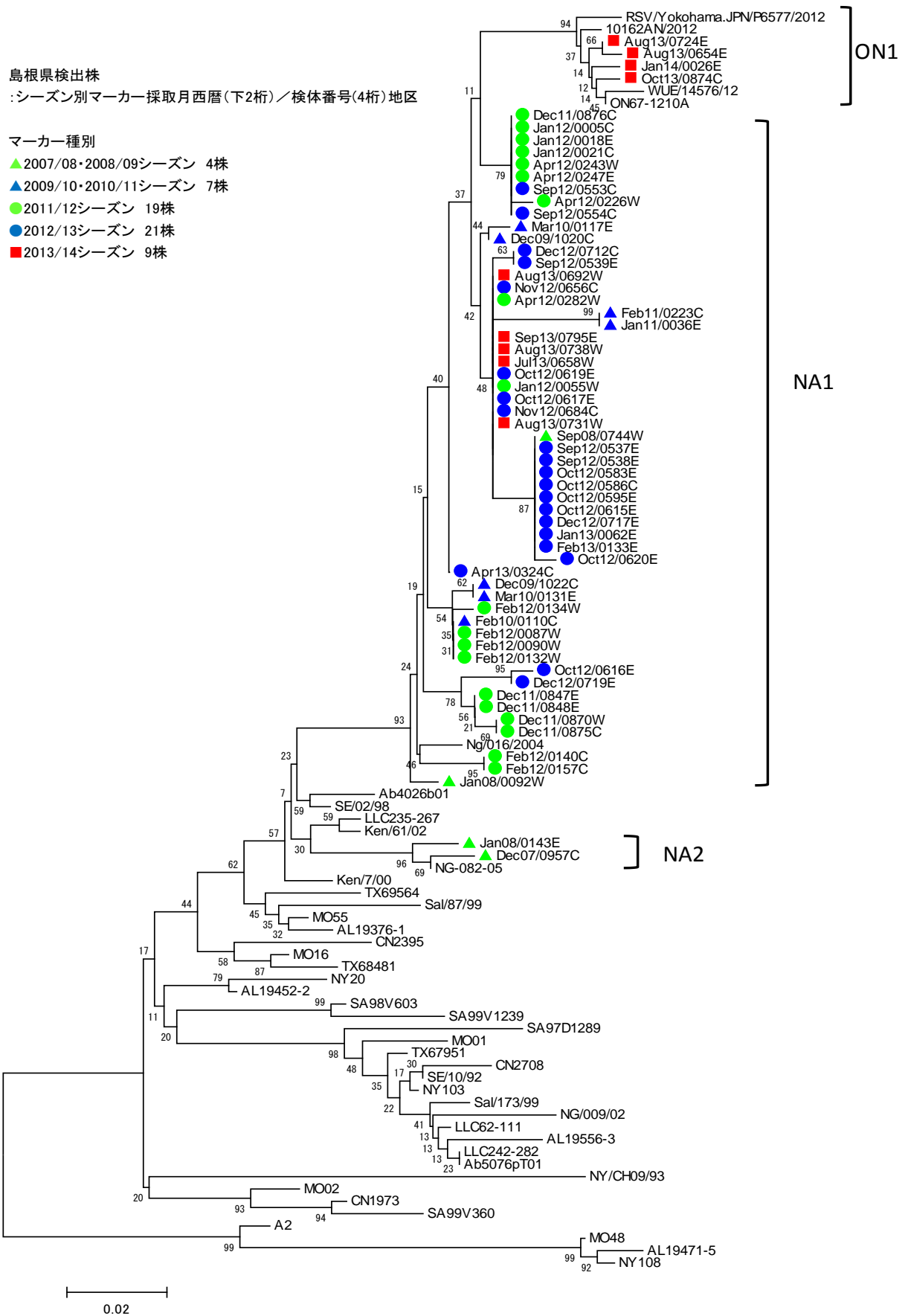


図4 G遺伝子領域のRSV-Aの塩基配列に基づく分子系統樹

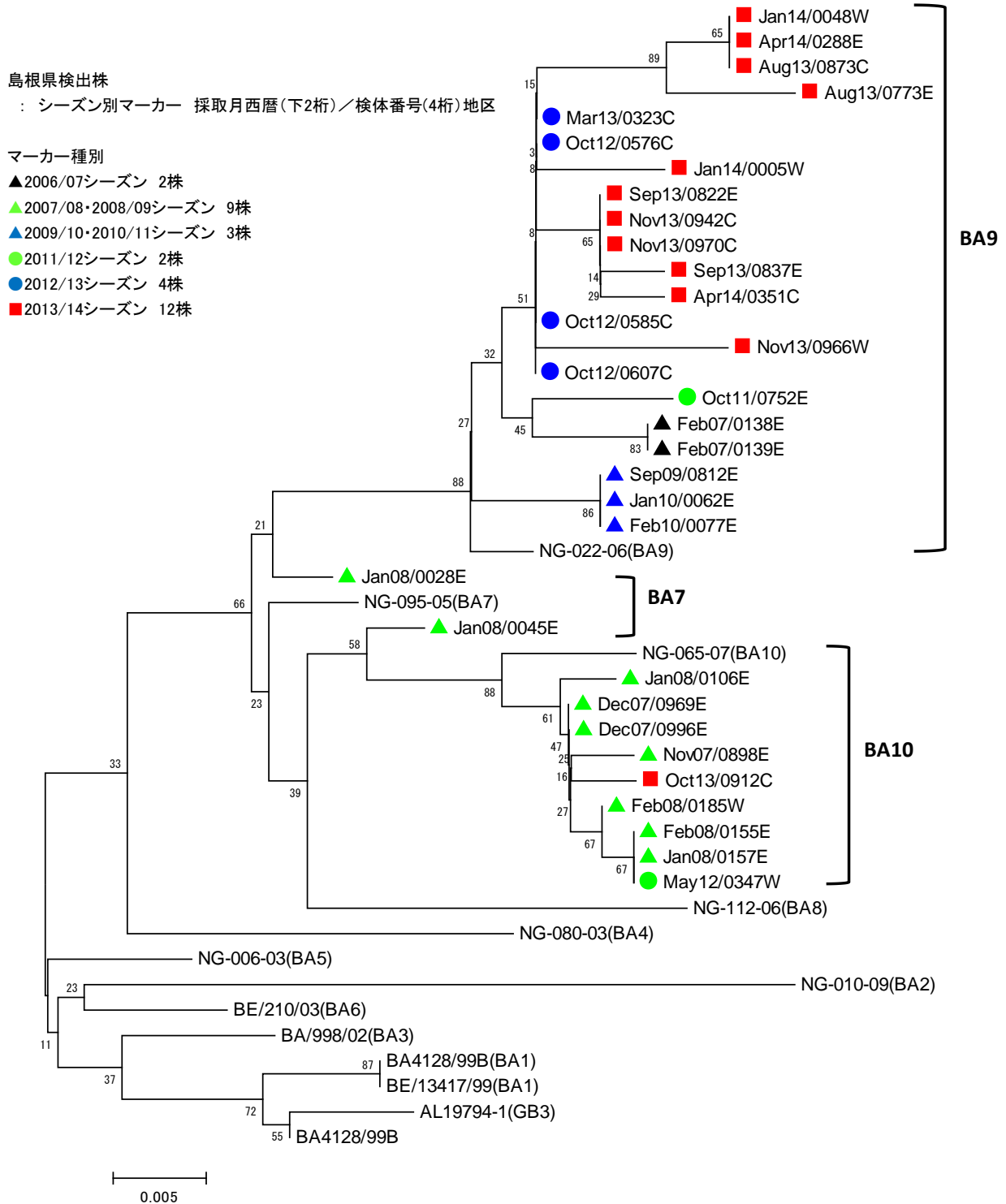


図5 G遺伝子領域のRSV-Bの塩基配列に基づく分子系統樹