

## 愛媛県の保育施設で発生した不明熱症例からの ヒトパラインフルエンザウイルスの検出

中西千尋 岩城洋己 山下育孝 青木紀子 豊嶋千俊\*<sup>1</sup>  
堀川信昭\*<sup>2</sup> 岡田太一郎\*<sup>2</sup> 阪東成純\*<sup>3</sup> 近藤弘一\*<sup>2</sup> 四宮博人

Keywords : 保育施設, 不明熱, human parainfluenza virus type 3

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の流行が始まった2020年以降, マスク着用等の感染防止対策が徹底されたため, 多くの感染症の発生数は減少した。ところが2021年6月, 発熱を伴う感染症患者が施設内で発生している疑いがあるとして, 松山市内の複数の保育施設から松山市保健所に報告があった。COVID-19は否定されたが同時期に複数施設で不明熱が発生していることから, 地域的な感染流行が疑われた。そこで, これら不明熱患者17名から採取した検体を用いて病原体探索を行ったところ, 17名中14名からヒトパラインフルエンザウイルス(human parainfluenza virus, HPIV)3型が検出された。

HPIV3のPCR増幅産物から決定された塩基配列を用いて系統解析を行ったところ, 14件の塩基配列は相互に高い相同性を示した。HPIV3が検出された患者14名のうち10名が利用する保育施設は3か所に渡っていたため, HPIV3は特定の施設のみではなく地域的に広がっていたことが示唆された。

### はじめに

2020年以降, COVID-19の流行に伴い, 手洗いやマスク着用などの感染症対策が徹底された。これにより多くの感染症の発生数が減少し, 主に小児が罹患する感染症においても同様の傾向が見られた<sup>1)</sup>。例えば, 小児科定点把握疾患である手足口病の定点当たり報告数は, COVID-19流行以前である2019年の127.54人から2020年の5.83人まで, 顕著に減少した<sup>2)</sup>。

このように多くの感染症の発生が抑制されていた中, 2021年6月, 施設内で発熱を伴う同一の感染症患者が発生している疑いがあるとして, 厚生労働省通知<sup>3)</sup>に基づき, 複数の保育施設から松山市保健所に報告があった。そこで「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」に基づき, 同保健所は報告のあった保育施設の患者の検体を採取するとともに, 小児科病原体定点医療機関(医療機関A)に, 不明熱と診断された患者の検体

採取を依頼した。採取された検体について, 病原体探索を行ったのでその概要を報告する。

### 材料と方法

#### 1 検査材料

2021年6月に採取されたCOVID-19が否定された不明熱患者由来の臨床検体(咽頭ぬぐい液, 鼻咽頭ぬぐい液)を検査材料とした。患者はいずれも0~5歳の小児(未就学児)で, 医療機関Aを受診又は保育施設B~D(松山市)を利用していた。全員が発熱を呈し, 体温が記録されていた14名の平均体温は39.2℃であった。その他の症状として咳, 鼻水, 咽頭炎等の上気道症状が認められた。

#### 2 ウイルス分離

ウイルス分離は組織培養用ガラスチューブに培養したFL, RD-18s, Vero細胞を用いて行った。検体200µLを各細胞に接種後3日毎に維持培地を交換し, 細胞変性効果を指標として2週間培養を行った。細胞変性が見られなかったものについては3代まで継代培養を行った。

#### 3 遺伝子検査

対象はエンテロウイルス (EV), アデノウイルス

愛媛県立衛生環境研究所 東温市見奈良1545番地4

\*1 宇和島保健所

\*2 松山市保健所(松山市萱町6丁目30-5)

\*3 愛媛県保健福祉部健康衛生局薬務衛生課

表 1 患者の年齢, 検体の種類, 症状及び検出病原体

| 患者番号 | 施設    | 年齢 | 検体      | 症状                       | 検出病原体 |
|------|-------|----|---------|--------------------------|-------|
| 1    | 医療機関A | 1歳 | 咽頭ぬぐい液  | 発熱(38.6℃)                | HPIV3 |
| 2    |       | 5歳 | 咽頭ぬぐい液  | 発熱(39.1℃)                | HPIV3 |
| 3    |       | 2歳 | 咽頭ぬぐい液  | 発熱(39.0℃)                | -     |
| 4    |       | 1歳 | 咽頭ぬぐい液  | 発熱(39.0℃)                | HPIV3 |
| 5    |       | 3歳 | 咽頭ぬぐい液  | 発熱(39.5℃)                | HPIV3 |
| 6    |       | 1歳 | 咽頭ぬぐい液  | 発熱(39.8℃)                | HPIV3 |
| 7    | 保育施設B | 1歳 | 鼻咽頭ぬぐい液 | 発熱                       | HPIV3 |
| 8    |       | 2歳 | 鼻咽頭ぬぐい液 | 発熱                       | HPIV3 |
| 9    | 保育施設C | 4歳 | 鼻咽頭ぬぐい液 | 発熱(39.3℃), 咳, 痰          | -     |
| 10   |       | 3歳 | 鼻咽頭ぬぐい液 | 発熱(38.9℃), 咳, 鼻水         | HPIV3 |
| 11   |       | 3歳 | 鼻咽頭ぬぐい液 | 発熱(39.0℃), 咳, 嘔吐         | HPIV3 |
| 12   |       | 3歳 | 鼻咽頭ぬぐい液 | 発熱(38.4℃), 咽頭炎, 鼻水, 喉のはれ | HPIV3 |
| 13   | 保育施設D | 2歳 | 鼻咽頭ぬぐい液 | 発熱(40.4℃), 喉のはれ          | HPIV3 |
| 14   |       | 3歳 | 鼻咽頭ぬぐい液 | 発熱(40.2℃)                | HPIV3 |
| 15   |       | 1歳 | 鼻咽頭ぬぐい液 | 発熱(38.6℃)                | HPIV3 |
| 16   |       | 0歳 | 鼻咽頭ぬぐい液 | 発熱(39.6℃)                | HPIV3 |
| 17   | 保育施設E | 2歳 | 鼻咽頭ぬぐい液 | 発熱                       | -     |

(HAdV), ヒトパラインフルエンザウイルス (HPIV) の3種とした。

各検体からのRNA抽出には High Pure Viral RNA kit (Roche Diagnostics K.K.)を用いた。EV は国立感染症研究所の「手足口病 病原体検査マニュアル」に準じてVP1領域を対象としたCODEHOP VP1 RT-snPCR法を実施した。HAdV は国立感染症研究所の「咽頭結膜熱・流行性角結膜炎検査, 診断マニュアル」に準じてHexonC 4領域を対象とした PCR法を行った。HPIVはEchevarríaらの方法<sup>4)</sup>に基づき, HPIV1~3のプライマーを混合した multiplex PCR を行った。

陽性検体については, PCR 増幅産物の塩基配列をダイレクトシーケンス法により決定し, 遺伝子型別を行った。さらに HPIV 型別株については, 最尤法(ML 法)により分子系統樹解析を行った。参照株は日本 DNA データバンク (DDBJ) より取得した<sup>5-9)</sup>。

## 結果

### 1 ウイルス分離

17検体すべてにおいて細胞変性は確認されず, 3代盲継代を行ったが, ウイルスは分離されなかった。

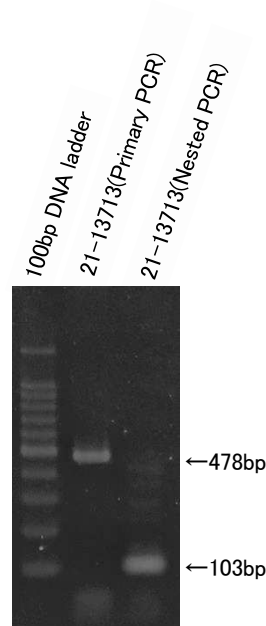


図 1 HPIV3 の Primary PCR 及び Nested PCR の電気泳動像

### 2 遺伝子検査

#### (1) EV

17検体すべての検体で検出されなかった。

#### (2) HAdV

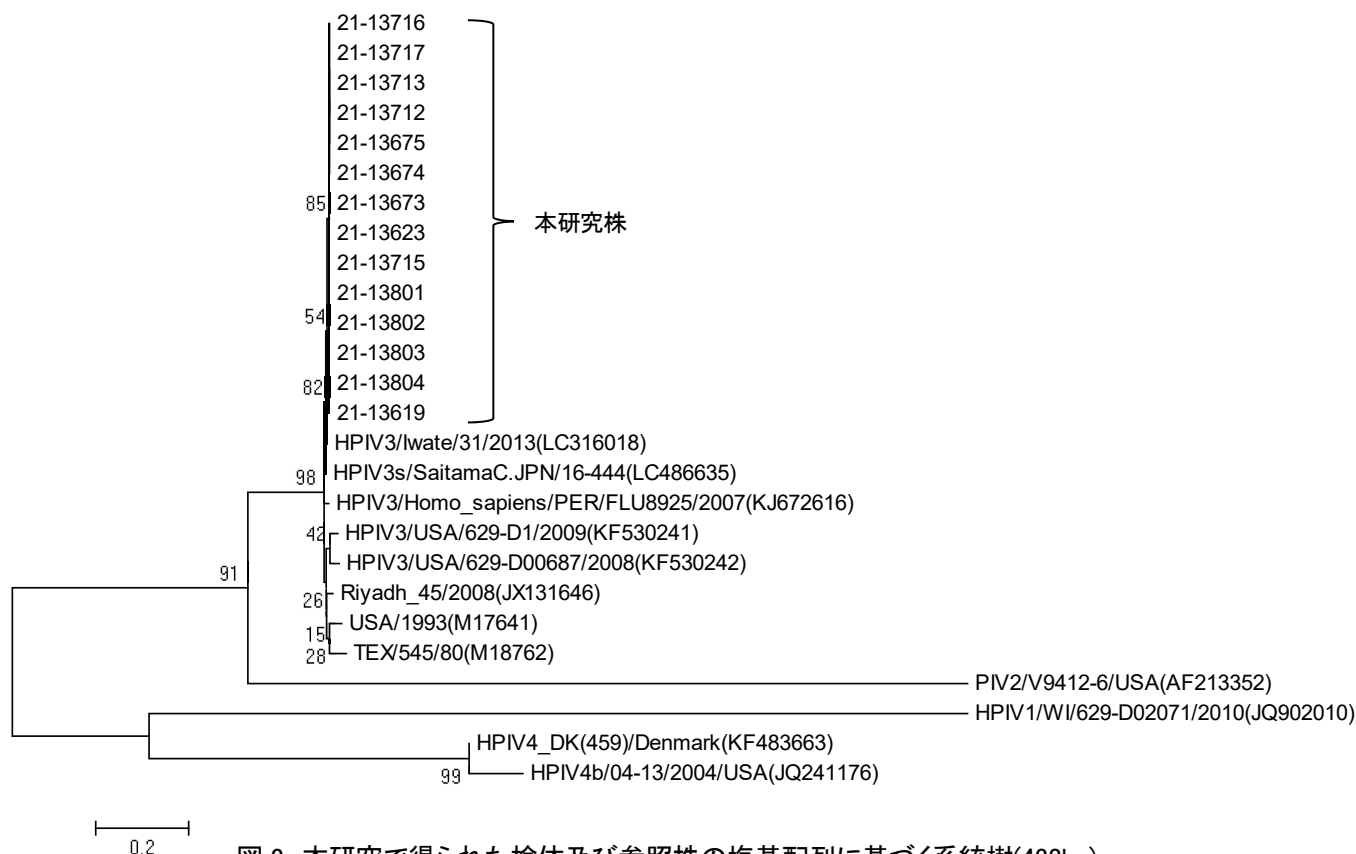


図2 本研究で得られた検体及び参照株の塩基配列に基づく系統樹(438bp)

17検体すべての検体で検出されなかった。

### (3) HPIV

HPIVを標的としたPCRでは、Primary PCRでは14検体で478bp付近に、またNested PCRでは103bp付近にバンドを確認した(図1)。

HPIV3陽性14件についてPrimary PCRで増幅した領域の系統樹解析を行った結果、14株は同一クラスターを形成し、株間の塩基配列の相同性が99.5～100%で近縁であった。さらに、これらはHPIV3/Iwate/31/2013(LC316018)株及びHPIV3s/SaitamaC.JPN/16-444(LC486635)と99%以上の高い相同性を示し、14件すべてHPIV3に分類された(表1, 図2)。

なお、HPIV1, 2はすべての検体で検出されなかった。

### 考察

HPIVはパラミクソウイルス科の一本鎖RNAウイルスの1種であり、呼吸器感染症を引き起こす病原ウイルスの一つである。HPIV1～4の4つの型に分類され、さらにHPIV4はA型とB型の2つのサブタイプに分類される<sup>10)</sup>。血清型により季節性が見られ、HPIV1及びHPIV2は秋から冬にかけて2年ごとに交互に流行する<sup>10,11)</sup>。HPIV3はいわゆる「夏風邪」と呼ばれている感冒の病原体の一つであり、春

表2 HPIV3 年別 NESID 登録数<sup>16)</sup>

| 年    | 登録数(例) |
|------|--------|
| 2015 | 353    |
| 2016 | 321    |
| 2017 | 321    |
| 2018 | 301    |
| 2019 | 370    |
| 2020 | 1      |
| 2021 | 325    |

から初夏に流行する<sup>12)</sup>。またHPIV3はしばしば集団感染を起こすウイルスとしても知られている<sup>13)</sup>。

今回HPIV3は不明熱患者17名中14名(82%)から検出され、株間の塩基配列の相同性が99.5～100%であったことから、2021年6月に遺伝子学的に近縁なHPIV3が流行していたことが示された。このことから、地理的に離れた複数施設で同時期にHPIV3の感染が起きていることが分かる。HPIV3が検出された患者14名のうち利用施設が判明している10名の利用する施設は3か所に渡り、施設間の直線距離は遠いものでは6km以上離れているが、得られたHPIV3の遺伝子配列はいずれも高い相同性を示した。このことから、今回の不明熱はHPIV3が短期間のうちに地

域内で感染拡大したことに起因すると推察される。

本事例と同時期に発生した他自治体の事例では、2021年6月に宮城県で保育施設の園児17名中13名が発熱を伴う風邪様症状を呈し、そのうち検体を採取した5名すべてからHPIV3が検出された<sup>14)</sup>。また、2020年6月には富山市で重症心身障害者病棟の入院患者27名が発熱等を呈しペア血清による抗体検査を行った結果、19名がHPIV3陽性であったと報告されている<sup>15)</sup>。類似事例はいずれも未就学児や重症心身障害者といった感染防止策の徹底が困難と推察される集団で発生している。本県の事例も感染者は類似事例と同様に手指衛生やマスク着用の徹底が難しい未就学児であった。

病原微生物検出情報 (Infectious Agents Surveillance Report, IASR)によると、感染症サーベイランスシステム病原体検出情報に登録されたHPIV3の件数<sup>16)</sup>は2020年には1例であったが、2021年は325例と大幅に増加している。COVID-19流行以前の5ヶ年(2015～2019年)の登録数は300～370例であり、2021年はそれと同程度である(表2)。2021年がCOVID-19流行下で感染症対策が徹底されているにもかかわらず多くの感染者が発生しており、感染力の強さが示唆された。

HPIV3は感染症発生動向調査事業における定点把握疾患等ではなく、十分な解析がなされていないが、本事例のように集団発生も起こりうる病原体である。そのため特に未就学児等の衛生管理が困難な集団における不明熱の病原体探索においてはHPIV3の可能性を検討するべきである。HPIV3については、今後更なる知見の集積が期待される。

## まとめ

- 1 県内複数施設における不明熱の原因ウイルスはHPIV3であると明らかになり、地域で流行が広がった可能性が示唆された。
- 2 COVID-19流行直後の2000年にはHPIV3はほとんど検出されなかったが、2021年には当県だけでなく全国的にCOVID-19流行以前と同等数のHPIV3の流行が見られた。
- 3 HPIV3は夏風邪の一つとして流行をもたらす集団発

生も起こし得る病原ウイルスであり、より詳細なウイルス感染状況について知見の集積が必要である。

## 文献

- 1) Emi Takashita *et al.*: Influenza Other Respir Viruses, 15(4):488- 494, Jul (2021)
- 2) 国立感染症研究所HP:感染症発生動向調査年別報告一覽(定点把握)  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/ydata/11532-report-jb2021.html>
- 3) 平成17年2月22日付け 健発第0222002号 厚生労働省健康局長通知:社会福祉施設等における感染症等発生時に係る報告について
- 4) Juan E. Echevarría *et al.*: J. Clin.Microbiol., 36(5):1388-1391 (1998)
- 5) Eric T. Beck *et al.*: PLoS ONE 7 (9):e46048 (2012)
- 6) Tao,T. *et al.*: J. Virol. 74 (14):6448-6458 (2000)
- 7) TK Gulija *et al.*: J. Med. Microbiol., 66(4):502-510 (2017)
- 8) Alquezar-Planas,D.E *et al.*: Sci Rep 3 (1):1- 10 (2013)
- 9) Abiko C. *et al.*: Jpn. J. Infect. Dis., 66 (1):76- 78 (2013)
- 10) Herickson KJ :Clin Microbiol Rev, 16 (2):242-264(2003)
- 11) Fry A.M. *et al.*: Infect. Dis., 43 (8):1016- 1022 (2006)
- 12) 三浦拓人 他 :仙台医療センター医学雑誌, 10(2): 42-45 (2020)
- 13) Frank J.F. *et al.* Medical Virology 2nd ed. ACADEMIC PRESS, INC.(1976) (北村敬(訳)医学ウイルス学.近代出版:374- 375 (1978))
- 14) IASR, 42(9) 194-195 (2021)
- 15) IASR, 41(9) 170-171 (2020)
- 16) 国立感染症研究所HP:IASR速報グラフアーカイブウイルスその他  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/510-graphs/11319-iasrgv-arco.html>

## Detection of human parainfluenza virus in cases of unknown fever at childcare facilities in Ehime, Japan

Chihiro NAKANISHI, Hiromi IWAKI, Yasutaka YAMASHITA, Noriko AOKI,  
Chitoshi TOYOSHIMA, Nobuaki HORIKAWA, Taichirou OKADA,  
Naritoshi BANDO, Hirokazu KONDOU, Hiroto SHINOMIYA

Since 2020, when the outbreak of COVID-19 began, the number of outbreaks of many infectious diseases have decreased due to thorough measures taken to prevent infection, such as the wearing of masks. However, in June 2021, several childcare facilities in Matsuyama City reported to the Matsuyama City Public Health Center a suspected outbreak of infectious disease patients with fever in their facilities. COVID-19 was ruled out, but a regional outbreak was suspected due to the occurrence of unknown fever at several facilities during the same period. We performed a pathogen search using specimens collected from 17 patients with fever of unknown origin, and detected human parainfluenza virus (HPIV) type 3 in 14 of the 17 patients.

Phylogenetic analysis of the sequences determined from the PCR amplified products of HPIV3 from the specimens showed that the 14 sequences were highly homologous to each other. Childcare facilities used by 10 of the 14 patients in whom HPIV3 was detected were spread over three locations, suggesting that HPIV3 was spread geographically rather than only in one particular facility.