

東京都における病原体レファレンス事業と感染症発生動向調査事業における

不明発疹症のウイルス検査結果（2016～2021年）

鈴木 愛^a，熊谷 遼太^a，原田 幸子^a，糟谷 文^a，天野 有紗^a，
長谷川 道弥^a，森 功次^b，吉田 勲^b，長島 真美^a，貞升 健志^c

東京都では積極的疫学調査の麻しん・風しん検査終了後の陰性検体について、病原体レファレンス事業として追加のウイルス検査を実施している。また、感染症発生動向調査事業において東京都は独自に不明発疹症を対象疾患とし、ウイルス検査を実施している。現状では、麻しん・風しん陰性検体についてはヒトパルボウイルスB19、ヒトヘルペスウイルスの検査を、感染症発生動向調査では患者情報に基づき柔軟に検査項目を設定し、検査を実施している。

今回、2016～2021年まで両検査の結果について比較したところ、病原体レファレンス事業では成人の伝染性紅斑の流行を探知し、感染症発生動向調査事業の不明発疹症からはその年のウイルス流行状況と一致する結果が得られた。

キーワード：病原体レファレンス，感染症発生動向調査，パルボウイルスB19，HHV，不明発疹症，麻しん，風しん，エンテロウイルス

はじめに

ウイルス性発疹症の中で麻しんと風しんは五類感染症全数把握疾患であり、積極的疫学調査の対象疾患である。日本国内では2015年に麻しん排除が達成され¹⁾、現在は輸入例による発生が主体であるが、感染力が非常に強い²⁾ため引き続き監視が必要とされる。一方、風しんは3日はしかとも呼ばれ、一般的には軽症ではあるものの、妊婦の感染においては胎児に影響を及ぼすことが知られており、風しん流行時には先天性風しん症候群の発生が問題となる²⁾。風しんの症状は修飾麻しんと症状が類似し臨床診断が難しいことから²⁾、東京都では2018年より、麻しんまたは風しんと診断された検体については全例について両方の核酸増幅検査を実施している。

さらに、麻しん・風しんが陰性だった検体について、その他の感染症の発生動向を把握する目的で病原体レファレンス事業として追加検査を実施している。本事業は2011年より開始し、当時使用されていた麻しんIgM抗体キットで偽陽性となることの多かったヒトパルボウイルスB19 (PB19)と、2歳以下の小児で発熱性発疹を起こす可能性の高いヒトヘルペスウイルス6,7型 (HHV-6, HHV-7)について検査を実施してきた。2015年にはPB19の流行を探知したことで、麻しん・風しん陰性時の追加検査として固定して行うこととした。

一方、感染症発生動向調査事業で把握するウイルス性発疹疾患としては水痘、手足口病、伝染性紅斑、突発性発疹等が挙げられるが、東京都は独自に不明発疹症を定点把握

疾患に加えており、非典型的な経過をたどる症例からのウイルス探知を試みている。

病原体レファレンス事業における追加検査と、発生動向調査における不明発疹症の検査について2016年から2021年までの6年間の結果を報告する。

材料および方法

1. 供試材料

2016～2021年の間に都の積極的疫学調査（麻しん・風しん）として搬入された検体のうち、麻しん・風しんが陰性であった検体2,435件および、同期間に発生動向調査事業として搬入された不明発疹症644件の臨床検体（咽頭ぬぐい液、鼻汁、血清、尿、水疱内容物）について、QIAmp RNA mini Kit (QIAGEN)を用いて核酸を抽出した。

2. 検査方法

病原体レファレンス事業では、麻しん・風しん陰性の全ての検体にPB19の検査を実施し、さらに患者が2歳以下の場合にはHHV-6, 7の検査を追加した。

感染症発生動向調査では不明発疹症として搬入された検体に対し、麻しん・風しんの検査を全検体に実施し、検体依頼書記載の情報やウイルス流行状況によりその他の検査対象ウイルスを決定した。実施した各検査法は以下のとおりである。

1) 麻しんウイルス (MeV)

病原体検出マニュアル・麻しん³⁾に従いリアルタイム

^a 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科

^c 東京都健康安全研究センター微生物部

PCRを実施した。陽性検体についてはコンベンショナルPCR検査を行い、増幅産物にシーケンス解析を実施し遺伝子型別を決定した。

2) 風しんウイルス (RuV)

2016～2017年は病原体検出マニュアル・風しん⁴⁾に記載されたリアルタイムPCRを実施し、2018年より森ら⁵⁾の方法によるリアルタイムPCRを導入した。陽性検体には病原体検出マニュアル・に従いコンベンショナルPCR、シーケンス解析を実施し遺伝子型別を決定した。

3) ヒトパルボウイルスB19 (PB19)

2016～2020年はKochら⁶⁾、Patouら⁷⁾の方法でコンベンショナルPCRを実施した。2021年からはIshikawaら⁸⁾の方法によるリアルタイムPCRにより検査を実施した。

4) ヒトヘルペスウイルス (HHV-6, 7)

2016～2020年はCollandreら⁹⁾、Dewhurstら¹⁰⁾、Bernemanら¹¹⁾の方法に従いコンベンショナルPCRを、2021年からは病原体検出マニュアル・突発性発疹¹²⁾に記載の方法でリアルタイムPCRを実施した。

5) 単純ヘルペスウイルス (HSV)

長島ら¹³⁾の方法に従いリアルタイムPCRを実施した。

6) 水痘・帯状疱疹ウイルス (VZV)

2016～2021年は本藤ら¹⁴⁾の方法によりコンベンショナルPCRを実施した。2021年からは病原体検出マニュアル・水痘¹⁵⁾に記載の方法でリアルタイムPCRを実施した。

7) EBウイルス (EBV)

Wadaら¹⁶⁾の方法に従いリアルタイムPCRを実施した。

8) エンテロウイルス (EV)

2016～2020年まではKuan¹⁷⁾の方法、病原体検出マニュアル・手足口病¹⁸⁾・ヘルパンギーナ¹⁹⁾・無菌性髄膜炎²⁰⁾に記載の方法でコンベンショナルPCRを実施した。2021年からはこれに加え、Nixら²¹⁾、Verstrepenら²²⁾の方法によりリアルタイムPCRを併用して検査を実施している。

9) アデノウイルス (AD)

病原体検出マニュアル・咽頭結膜熱²³⁾、Miuraら²⁴⁾の方法によりコンベンショナルPCRを実施した。

10) ヒトパレコウイルス (PA)

吉富ら²⁵⁾の方法に従いコンベンショナルPCRを実施した。

結果および考察

1. 病原体レファレンス事業

2018～2019年にかけて大規模な麻しん・風しんの流行があり、積極的疫学調査としての検体数が激増したため、麻しん・風しん検査陰性を扱う病原体レファレンス事業の検体数も増加した。

1) PB19

伝染性紅斑の原因ウイルスであるPB19は、2016年に1件、2017年に2件、2018年に62件、2019年に51件、2020年に2件、そして2021年に1件から検出された（表1）。本疾患は4～6年の流行周期を持ち、風しんの流行時期と重なることが多く²⁶⁾、都内でも2018～2019年の2年間は突出して陽性数が増加していた。また、今回の調査において、2018年では82.3% (51/62)、2019年では88.2% (45/51)が20歳以上から検出され、それ以外の年においても件数は少ないが同様の傾向であった（表1）。

伝染性紅斑は、一般には小児の感染症とされるが、成人では不顕性感染が多いものの、妊婦が初感染すると約20%に経胎盤感染を起こし、約10%が流産あるいは死産の転帰をとるとされる²⁷⁾。しかし本症は、小児科定点における定点把握疾患であるため、発生動向調査において成人の感染状況把握は困難である。そのため、病原体レファレンス事業においてPB19のスクリーニング検査を継続することは成人における隠れた流行を探知する上で疫学上重要であり、今後も継続して行う必要がある。

2) HHV

突発性発疹の原因ウイルスとされるHHVは、2016年はHHV-6が8件、HHV-7が2件、2017年はHHV-6が8件、2018年はHHV-6が15件、2019年はHHV-6が27件、HHV-7が4件、2020年はHHV-6が1件、2021年は検出なしであった（表1）。搬入数の推移に伴い検出数の増減が多少見られるものの、都内の流行状況では過去4年間の報告数にほとんど差がなく、コロナ禍であっても季節・年次に差異のない基準的疾患としての特徴がよく表れている²⁸⁾。本調査ではHHV-6は通常毎年検出されていたが、HHV-7は2016、2019年のみの検出であった（表1）。HHVは突然の高熱と解熱前後の発疹を特徴とし、予後良好な発熱性発疹疾患で、2歳までにほとんどの小児が罹患し免疫を獲得することから、検査対象を2歳以下としている。また、HHVは初感染後生涯にわたり潜伏感染し続ける性質を持つため、乳幼児以外においてはウイルスDNA検出されても初感染であるとの断定は難しいウイルスである。一方で近年、突発性発疹の発症年齢が上昇しているという報告²⁹⁾もあることから、今後も継続して検査を実施していく必要があると考えられる。

3) 原因不明

病原体レファレンス事業において、80～90%の検体でPB19・HHVどちらも検出されず原因不明となった（表2）。2021年病原体レファレンス事業検体34件のうち、PB19と

表1. 病原体レファレンス事業における
検出ウイルスの内訳*

年	PB19	HHV-6	HHV-7	不明	総数
2016	3 (2)	8	2	122	134
2017	2 (2)	8	0	98	108
2018	62 (51)	15	0	366	442
2019	51 (45)	27	4	661	741
2020	2 (2)	1	0	105	108
2021	1 (1)	0	0	33	34
計	121 (103)	59	6	1385	1567

*: 重複感染あり, () 内は20歳以上のPB19検出数

表2. 病原体レファレンス事業における原因不明率

年	検体数	検出なし	不明率
2016	134	122	91.0%
2017	108	98	90.7%
2018	442	366	82.8%
2019	741	661	89.2%
2020	108	105	97.2%
2021	34	33	97.1%

※原因不明とは、PB19とHHV陰性を示す

HHVが不検出であった33件について、発疹性疾患として可能性のある単純ヘルペスウイルス、EBV、VZV、EVのスクリーニングを実施した結果、1件からVZVが検出された。

2. 発生動向調査事業

不明発疹症については、全検体で麻しん・風しんの検査を実施し、その他の項目を症状や感染経路等の情報を基に考慮して追加した。検出結果を表3に示す。不明発疹症の搬入検体数は2018～2019年には約150件程度であったが、2020～2021年はCOVID-19の影響により40～50件程度と激減した。その中で本来積極的疫学調査において扱われるはずの麻しんは2016～2020各年一定数検出されたが、全てワクチン型（A型）であった。風しんはワクチン型（1a型）、野生型（1E型）、型別不明が混在していた。PB19、HHVは毎年必ず検出されているが、非典型的な経過・症状のため伝染性紅斑あるいは突発性発疹と診断がつかなかったためと推測された。病原体レファレンス事業と比較するとHHV-7の検出率が高いが、これは検体依頼書に突発性発疹を疑うという記載があった際にHHVの検査対象である2歳以下という年齢制限を緩和しているのが要因の一つと考えられる。また突発性発疹は原因ウイルスがHHV-6とHHV-7と2種類あるため2回罹患する可能性があり、特に二回目の感染では症状が非典型的なこともあるため、これが不明発疹症とされたと推測される。

また、ヒトパレコウイルス（PA）、アデノウイルス（AD）、EBウイルス（EBV）が検出された年もあった。

表3. 感染症発生動向調査事業不明発疹症
検査陽性結果内訳*

年	MeV	RuV	PB19	HHV(6/7)	EV	EB	PA	AD
2016**	2	1	2	14/2	-	-	-	-
2017	1	4	7	22/7	35	0	3	0
2018	2	11	18	16/5	36	0	0	1
2019	4	4	12	24/9	40	2	0	0
2020	4	1	1	8/4	6	1	0	0
2021	0	0	1	6/2	11	0	0	0

*: 重複感染あり, **: 2016年は5項目のみ

表4. 感染症発生動向調査における不明発疹症から
検出されたエンテロウイルス型別内訳

年	R	CA4	CA6	CA9	E9	他
2017	14	0	5	0	9	E18,E3,CB2,E7,EV71
2018	9	0	0	19	0	CA10,CA16,CB5,E11,E18,EV71
2019	18	0	15	0	0	E25,CA10,CA5,CB3,E18,CA16
2020	5	1	0	0	0	なし
2021	8	2	1	0	0	なし

R（ライノウイルス）、CA（コクサッキーウイルスA群）、E（エコーウイルス）、CB（コクサッキーウイルスB群）

検出されたエンテロウイルス（EV）の概要を表4に示す。どの年もエンテロウイルスが多く検出されたが、型はその年によって多様であった。最も多く検出されているのはライノウイルスであった。2018年の不明発疹症検体からはライノウイルスに次いでCA9が最も多く検出され、これは国内のエンテロウイルス検出状況と一致していた³⁰⁾。また2019年は全国的にCA6による手足口病の流行があった³¹⁾が、不明発疹症検体からもCA6が多く検出され、原因不明とされているものの、典型的な症状や経過を呈していないだけで実際には何らかの発疹性疾患である可能性があり、検査により疾患名の特定が可能な症例も多い。

ま と め

病原体レファレンス事業で行われるPB19、HHVの検査は麻しん・風しん陰性検体における類症鑑別を目的とし、ウイルス流行状況を鑑み検査項目を設定している。麻しん風しん流行時には幅広い年代の発熱性発疹疾患の検体の収集が可能であり、成人の伝染性紅斑のような、小児科定点では捕捉しづらい感染症の探知が可能であった。一方、感染症発生動向調査における不明発疹症は、麻しん風しんではないことを確認するための検査を最初の実施しており、その他は患者の症状等を基に柔軟に検査項目を設定しているため、リアルタイムに流行中のウイルスの動向をつかむことが可能である。両検査の長所を最大限に活用しつつ、都内における発疹疾患のウイルス検索を引き続き行わなければならない。

文 献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課：平成27年3月27日プレスリリース，<https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10601000-Daijinkanboukouseikagakuka-Kouseikagakuka/0000084926.pdf>
(2022年8月29日現在、なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 2) 国立感染症研究所感染症疫学情報センター：感染症情報，<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/430-rubella-intro.html>
(2022年8月29日現在、なお本URLは変更または抹消

- の可能性がある)
- 3) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル・麻疹,
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/measles.v3-4.2017Mar.pdf>
 (2022年8月29日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
 - 4) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル・風疹,
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Rubella20190703.pdf>
 (2022年8月29日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
 - 5) 森 功次, 内田悠太, 鈴木 愛, 他：感染制御と予防衛生, **5**, 46–49, 2021.
 - 6) Koch, W.C., Adler, S.P.: *J.Clin. Microbiol.* **28**, 65–69, 1990.
 - 7) Patou, G., Pillay, D., Myint, S., *et al.*: *J. Clin. Microbiol.* **31**, 540–546, 1993.
 - 8) Ishikawa, A., Yoto, Y., Tsugawa, T., *et al.*: *J. Med. Virol.*, **86**, 2102–2106, 2014.
 - 9) Collandre, H., Aubin, J.T., Agut, H., *et al.*: *J. Virol. Methods*, **31**, 171–179, 1991.
 - 10) Dewhurst, S., McIntyre, K., Schnabel, K., *et al.*: *J. Clin. Microbiol.* **31**, 416–418, 1993.
 - 11) Berneman, Z.N., Ablashi, V.D., Li, G., *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 10552–10556, 1992.
 - 12) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル・・突発性発疹, <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/HHV6and7.pdf>
 (2022年8月29日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
 - 13) 長島真美, 貞升健志, 新開敬行, 他：感染症誌, **81**, 549–554, 2007.
 - 14) 本藤 良, 井上 栄, 大沢 忍, 他：蛋白質・核酸・酵素, **35**, 3034–3040, 1990.
 - 15) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル・水痘,
https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/vzv_2011.pdf
 (2022年8月29日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
 - 16) Wada, K., Kubota, N., Ito, Y., *et al.*: *J. Clin. Microbiol.*, **45**, 1426–1432, 2007.
 - 17) Kuan, M.M.: *J. Clin. Microbiol.*, **35**, 2598–2601, 1997.
 - 18) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル・手足口病, <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/HFMdis.pdf>
 (2022年8月29日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
 - 19) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル・ヘルパンギーナ, <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/herpangina.pdf>
 (2022年8月29日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
 - 20) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル・無菌性髄膜炎, <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/AsepticMening.pdf>
 (2022年8月29日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
 - 21) Nix, W.A., Oberste, M.S., Pallansch, M.A., *et al.*: *J. Clin. Microbiol.* **44**, 2698–2704, 2006.
 - 22) Verstrepen, W.A., Kuhn, S., Kockx, M.M *et al.*: *J. Clin. Microbiol.* **39**, 4093–4096, 2001.
 - 23) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル・咽頭結膜熱・流行性角結膜炎, https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/adeno_v3.pdf
 (2022年8月29日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
 - 24) Miura-Ochiai, R., Shimada, Y., Konno, T., *et al.*: *J. Clin. Microbiol.*, **45**, 958–967, 2007.
 - 25) 吉富秀亮, 石橋哲也, 世良暢之：福岡保健環境研年, **39**, 99–100, 2012.
 - 26) 国立感染症研究所感染症情報センター：感染症週報, **6**, 23, 2004.
 - 27) 国立感染症研究所感染症疫学センター：病原微生物検出情報, **37**, 1–3, 2016.
 - 28) 東京都感染症情報センター：突発性発しんの流行状況, https://idsc.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/diseases/exanthem_subitum/exanthem_subitum/
 (2022年8月29日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
 - 29) 鳥越貞義, 渡辺正博, 山田雅夫：小児感染免疫, **25**, 3–8, 2013.
 - 30) 国立感染症研究所感染症疫学センター：病原微生物検出情報 月別ウイルス検出状況, <https://nesid4g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data58j.pdf>
 (2022年8月29日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性はある)
 - 31) 国立感染症研究所感染症疫学センター：感染症週報, **21**, 29, 2019.

Viral Testing of unexplained rashes in the Pathogenic Reference Project and Sentinel Surveillance conducted from 2016 to 2021 in Tokyo

Ai SUZUKI^a, Ryota KUMAGAI^a, Sachiko HARADA^a, Fumi KASUYA^a, Arisa AMANO^a, Michiya HASEGAWA^a, Koji MORI^a,
Isao YOSHIDA^a, Mami NAGASHIMA^a, and Kenji SADAMASU^a

In the pathogenic reference project, the Tokyo Metropolitan Government conducts additional tests for human parvovirus B19 and human herpesvirus on samples that test negative in active epidemiological surveillance for measles and rubella. In addition, sentinel surveillance independently collects data on unexplained rash symptoms in Tokyo and items to be tested for their viral load are flexibly decided on the basis of the information obtained from the patients.

Test results obtained from these projects, which were conducted from 2016 to 2021, suggested that the pathogenic reference project could detect the symptoms of epidemic erythema and the undetected viruses possibly causing erythema affected the epidemic status in those years.

Keywords: Pathogen Reference Project, Active Epidemiological Surveillance, human parvovirus B19, human herpes virus, unexplained rash, measles, rubella, enterovirus