

2021年10月20日

新潟大学

新規エンテロウイルス D68 特異的 PCR 法を開発

－今後の世界的流行に備えて－

エンテロウイルス D68 は子どもに感染すると喘息に似た呼吸器疾患（強い咳が出る、呼吸がゼーゼーするなど）や、急に手足に麻痺が出て高率に後遺症を残すことがある、とても怖いウイルス感染症です。これまでに有効な治療は見つかっていません。

今回、新潟大学大学院医歯学総合研究科小児科学分野の幾瀬樹（大学院生）、齋藤昭彦教授らのグループは、同研究科バイオインフォマティクス分野（奥田修二郎教授ら）との共同研究で、これまで標準的に使われてきた方法よりも、エンテロウイルス D68 をより正確に検査できる方法を新しく開発しました。今後、流行が心配されるエンテロウイルス D68 に対して、このより正確な検査法を用いることで、正確な診断、患者の把握が可能となり、今後の治療法の研究に役立ちます。

1. 研究の背景

エンテロウイルス D68 感染症は喘息に似た呼吸器疾患（強い咳が出る、呼吸がゼーゼーするなど）である喘息発作様呼吸器疾患や、手足に麻痺をきたし高率に後遺症を残す急性弛緩性脊髄炎を起こすことがあります。国外は 2014 年、2016 年、2018 年と、国内では 2015 年、2018 年と周期的な流行が見られています。エンテロウイルス D68 による喘息発作様呼吸器疾患は通常の気管支喘息発作よりも重くなることが多く、集中治療室での治療が必要なことがあります。また急性弛緩性脊髄炎では四肢の麻痺を起こし、約半分の患者さんに後遺症を残します。エンテロウイルス D68 の検出や遺伝子の細かい解析には PCR 法が一般的です。今までは米国ワシントン大学や米国疾病予防管理センター（CDC）が開発した PCR 法がエンテロウイルス D68 の検出や塩基配列の解析の標準的な検査方法でしたが、それらの方法では近年流行しているウイルス株に対して、今回の我々の検討では、十分対応できていないことがわかりました。

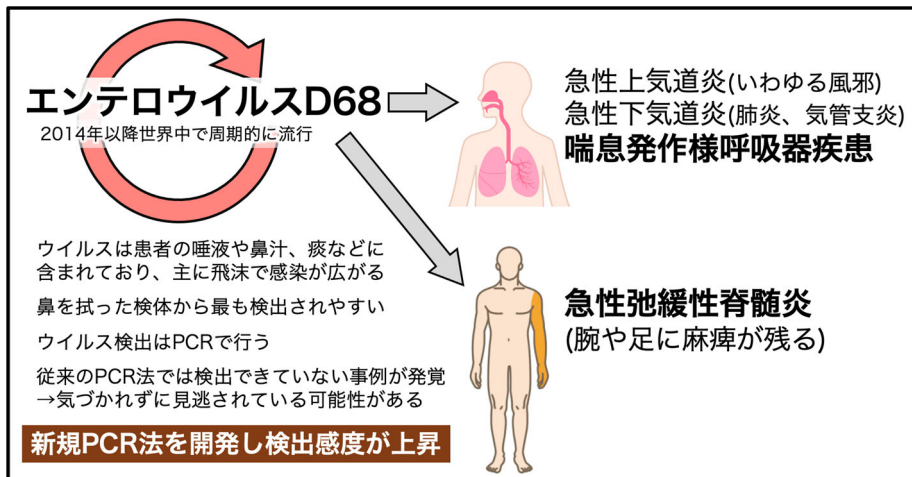
エンテロウイルス D68 感染症のより正確な診断は患者さんの把握に重要で、それが未だ有効な治療法のないエンテロウイルス D68 感染症についての研究が進むために重要と考えています。



真の強さを学ぶ。

新潟大学

NIIGATA UNIVERSITY



II. 研究の概要

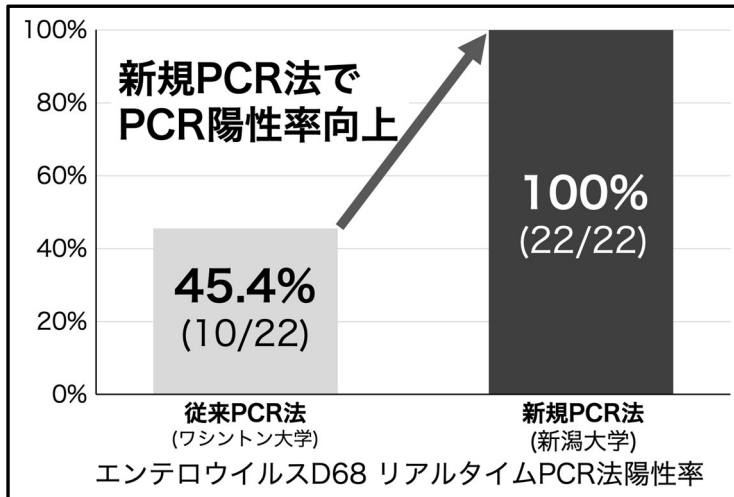
2014年から2018年に流行したエンテロウイルス D68 の RNA の塩基配列を解析し、PCR 法で確認する場所の遺伝子を細かく調べました。すると、これまでの標準的な方法で見つける場所には、遺伝子の変異が見つかり、変異に合わせて 2 種類の新しい PCR 法を開発しました。1 つ目はウイルス検出のためのリアルタイム PCR (NU assay)、2 つ目は遺伝子をより細かく調べるための PCR (N-Set) です。PCR では調べたいウイルスをきちんと検出できる正確さ (感度) の高さと、他のウイルスには検査で陰性 (特異度) の高さが重要です。そのため、エンテロウイルス D68 の 22 検体と、エンテロウイルス D68 以外のウイルス 135 検体を使って、リアルタイム PCR (NU assay) の感度と特異度を調べました。同様に、遺伝子をより細かく調べるための PCR (N-Set) の感度についても調べました。感度については、従来の標準的なワシントン大学の方法と比較しました。また、これまでに登録されているエンテロウイルス D68 の遺伝子 (540 個)、D68 以外のエンテロウイルスの遺伝子 (3683 個) などを使ってコンピューターで解析し、新しく開発した PCR 法がこれまでに登録されているエンテロウイルス D68 と同じかどうかを調べました。

III. 研究の成果

エンテロウイルス D68 の 22 検体で、新しく開発したリアルタイム PCR 法 (NU assay) とこれまでの標準的検査法であるワシントン大学の PCR 法で検査したところ、新しい方法で PCR 陽性率が大幅に上昇しました (100% vs 45.4%)。エンテロウイルス D68 以外のウイルス 135 検体については、新規 PCR 法では陽性になることはありませんでした。塩基配列を調べるための PCR (N-Set) については、標準的な CDC の従来法と比べて PCR 陽性率が高かったです (90.9% vs 72.7%)。また、登録されている過去のエンテロウイルス D68 の塩基配列と、新しい PCR 法との相性をコンピューター解析したところ、特に 2015 年以降のエンテロウイルス D68 の塩基配列との相性がいいことがわかりました。

PCR としての感度と特異度が非常に高いことが確かめられたため、2015 年と 2018 年のエンテロウイルス D68 が流行した時期に新潟県内に認められた急性弛緩性脊髄炎の 11 症例の血液、髄液、咽頭拭い液、便などの検体に従来法と新規 PCR 法を実施しました。その結果、これ

までの方法では 1 例のみエンテロウイルス D68 が陽性だったのに対し、新しい方法では 3 例で検出されました。



IV. 今後の展開

本研究グループは世界の標準的な検査法として知られていた従来法と比べ、より正確な検査法（PCR法）を開発しました。当研究室で急性弛緩性脊髄炎の症例を振り返って調べ直し、従来の方法では検出できなかったエンテロウイルス D68 が検出されたように、今までに原因ウイルスが特定されていない急性弛緩性脊髄炎の検体を再度検査し直す必要があると考えられました。また、エンテロウイルス D68 は 2014 年以降世界的に周期的な流行を示しています。今後も国内外で大きな流行を起こす可能性があり、その際には、我々が開発した新しい方法を用いて、国内はもちろん、世界におけるサーベイランスを行うことで、より正確な診断、患者の把握が可能になると考えています。

V. 研究成果の公表

これらの研究成果は、2021 年 8 月 25 日、米国微生物学会の学会誌である Journal of Clinical Microbiology 誌（Impact factor 5.948）に掲載されました。

論文タイトル：Development of Novel PCR Assays for Improved Detection of Enterovirus D68

著者：幾瀬樹、相澤悠太、瀧原速仁、渡邊香奈子、奥田修二郎、齋藤昭彦

doi: 10.1128/jcm.01151-21

本件に関するお問い合わせ先

新潟大学大学院医歯学総合研究科 小児科学分野
教授 齋藤昭彦（さいとう あきひこ）

E-mail : asaitoh@med.niigata-u.ac.jp