他誌発表論文 (海外)

Human SCARB2-dependent infection by Coxsackievirus A7,A14, and A16 and

Enterovirus 71

Yamayoshi S.¹⁾,Iizuka S.,Yamashita T.²⁾,Minagawa H.²⁾,Mizuta K.³⁾,Okamato M.⁴⁾,Nishimura H.⁴⁾, Sanjoh K.⁵⁾, Katsyshima N.⁶⁾,Itagaki T.⁷⁾,Nagai Y.⁸⁾,Fujii K.¹⁾ and Koike S.¹⁾

1) 東京都臨床医学総合研究所、2)愛知県衛生研究所、3)山形県衛生研究所、4)仙台医療センター、5)三條ク リニック、6)勝島小児科医院、7)山辺こどもクリニック、8)永井小児科医院

Journal of Virology. 86. 5686-5696, 2012

Human enterovirus species A (HEV-A) にはすくなくとも16の血清型のウイルスがあり、手足口病やヘルパンギーナなどの原因ウイルスとなっている。エンテロウイルス71 (EV71) やコクサッキーウイルスA16 (CVA16) の受容体であるhuman scavenger receotor class B,member2(SCARB2)遺伝子を導入したマウスL929細胞(L-SCARB2細胞)にHEV-Aの標準株や臨床分離株が感染するかどうか感染実験を行った結果、EV71、CVA7、CVA14、CVA16は感染したが、CVA2、3、4、5、6、8、10、12は感染しなかった。これらのことからEV71、CVA7、CVA14、CVA16では細胞への感染にSCARB2を介した経路が使われ、それ以外の血清型で使われていないことが示唆された。さらにHEV-Aの細胞への感染経路としてSCARB2を介した経路が重要な役割を果たしているかどうかでHEV-Aは大きく2つのグループに分かれ、そのことが臨床症状にも重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

Detection of multiple human sapoviruses from imported frozen individual clams

Iizuka S., Todaka-Takai R. $^{1)}$, Oshiro H., Kitajima M. $^{2)}$, Waug Q. $^{3)}$, Saif L.J. $^{3)}$, Wakita T. $^{1)}$, Noda M. $^{4)}$, Katayama K. $^{1)}$, Oka T. $^{1)3)}$

1)国立感染症研究所、2)アリゾナ大学、3)オハイオ州立大学、4)国立食品医薬品研究所 Food and Environmental Virology 5. 119-125, 2013

2008年に発生したサポウイルス(SaV)とノロウイルスによる食中毒の原因食材であったアサリ中腸腺60検体を対象にkitajimaらが報告した新規のRT-PCR法を用いてサポウイルス遺伝子の検出を試みたところ41検体が陽性となり、従来法(26検体が陽性)より高い検出率であった。クローニング後のCapsid領域390bpの系統樹解析の結果、検出されたSaVは9つの遺伝子型に分類された。アサリ1個体中に複数の遺伝子型(群)のSaVが存在していることを初めて示した。さらにプールした中腸腺検体に比べ個々の検体を検査したほうが検出率は高く、検出されたSaVの遺伝子型も多様であった。

Yersinia enterocolitica bacteremia and enterocolitis in a previously healthy 20-month-old girl

Takao Ito, Teruaki Suzuki, Jun Kawase, Hiroshi Fukushima, Kenji Nanao

報告書

RD-A細胞を用いたHuman enterovirus A の分離

飯塚節子

エンテロウイルス感染制御のための診断・予防治療に関する国際連携研究 平成24年度総括・分担研究報告書 (厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

平成25(2013)年3月

手足口病やヘルパンギーナの主な原因ウイルスであるHuman enterovirus Aの分離にRD-A細胞を使用することが可能かどうかを臨床検体を用いて検討した。従来の分離法である乳のみマウス(SM)及びVero細胞を用いた分離と比較した結果、コクサッキーウイルスA2(CVA2)~5、8、10はSMとほぼ同じ分離率であり、CVA6、12、16、エンテロウイルス71は分離可能であるが、従来法の1/2程度の分離率であった。CVA14は検討した例数が少ないが、RD-A細胞では分離されなかった。

これらの結果から、RD-A細胞は国内で手足口病やヘルパンギーナの原因ウイルスとなっているほとんどの血清型のHEV-Aの分離に有用な培養細胞と考えられた。

新たに報告されたプライマーによる食品・患者からのサポウイルスの検出

飯塚節子

食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究 平成22年度~24年度総合研究報告書 (厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業)

平成25(2013)年3月

河川水からのサポウイルス(SaV)検出を目的に新たに設計されたプライマーを用いた nested RT-PCR をおこない、アサリ中腸腺および感染性胃腸炎患者からの SaV 検出率を従来法と比較したところ、アサリ、胃腸炎患者とも新規法の検出率が従来法より優れることが明らかとなった。

さらにアサリにおいては PCR 増幅産物をクローニングしシークエンス解析を行った結果、アサリ個体間で異なる遺伝子型の SaV が検出される例があること、同一のアサリから異なる遺伝子型の SaV が検出されることが明らかとなった。

胃腸炎患者検体では新規法の結果はリアルタイム RT-PCR の結果ともほぼ一致した。しかし、新規法はアストロウイルス1型とも反応し、SaV とほぼ同じ分子量の nested PCR 産物を生成することも示された。

パンソルビン・トラップ法による食品からのノロウイルス遺伝子の検出

飯塚節子

食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究 平成24年度総括・研究分担報告書 (厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業)

平成25(2013)年3月

食品検体からの高感度ノロウイルス(NoV)検出法として開発されたパンソルビン・トラップ法(パントラ法)を実際の食中毒事例へ適用し、原因食品と推定された弁当から、患者および従事者あるいは原因施設の拭き取り検体と塩基配列が同一のNoV遺伝子を検出した。パントラ法によって、原因食品から患者と同一の遺伝子配列のNoVを検出した初めての事例であり、NoVによる食中毒発生時の原因食品検査法として有用であった。

感染性胃腸炎患者糞便に対するサポウイルス検出系の比較

飯塚節子

食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究 平成24年度総括・研究分担報告書 (厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業) 平成25(2013)年3月

平成 22、23 年度の研究で、食中毒事例の原因食材と同定したアサリについて従来法と新規法の2つの nested RT-PCR 系を用いてサポウイルス (SaV) の検出を比較したところ、新規法のほうが高い陽性率であった。今年度はこの2法を食中毒事例を含む感染性胃腸炎患者検体を用いて比較した結果、新規法のほうが検出率が高く、リアルタイム RT-PCR の結果ともほぼ一致した。しかし、新規法はアストロウイルス I 型とも反応し、SaV とほぼ同じ分子量の nested PCR 産物を生成することも示された。また、サポウイルスの遺伝子群(genogroup)を増幅産物の長さの違いによって判定する nested RT-PCR 系(genogrouping 法)の検出率が従来法とほぼ同じであること、塩基配列解析をすることなく遺伝子群別の判定が可能であることを検証した。