

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
分担研究報告書

中国・四国小児科におけるEVD68の早期診断体制整備に関する研究

研究分担者 森島恒雄（岡山労災病院 院長）
（岡山大学大学院小児医科学 特命教授）
研究協力者 八代将登（岡山大学大学院小児医科学 助教）

研究要旨

中国・四国小児科におけるエンテロウイルスD68(EVD68)の早期診断体制を整備するため、呼吸器症状がメインのEVD68に対し、RT-PCR法を用いて確定診断を行う体制を岡山大学小児科にて確立した。当施設はこれまで中国四国地区の基幹病院を中心に急性脳炎/脳症の病因解明に対しヘルペス属ウイルスPCRを施行してきたが、これからはEVD68も迅速な確定診断を行うことでEVD68の病態解明に繋げて行きたい。

A．研究目的

中国・四国小児科におけるEVD68の早期診断体制を整備する

B．研究方法

呼吸器症状がメインのEVD68の確定診断のため、RT-PCR法を岡山大学小児科で実施する体制を作る

(倫理面への配慮)

本研究は岡山大学病院倫理委員会へ申請を予定している。

C．研究結果

EVD68のプローブ・プライマーを下記の通り作成した(SIGMA-ALDRICH)

HEV-D68 probe:TCGCACAGTGATAAATCAGCACGG

HEV-D68 Forward:CACTGAACCAGAAGAAGCCA

HEV-D68 Reverse:CCAAAGCTGCTCTACTGAGAAA

参考文献) J Clin Microbiol. 2015 Aug;53(8):2641-7.

Development and Evaluation of an Enterovirus D68 Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay. Wylie TN et.al.

測定系の確認のためのEVD68-RNA positive controlは国立感染症研究所ウイルス第2部清水博之先生にご供与いただいた。

岡山大学小児科において、エンテロウイルスD68の検出法を確立した。

D．考察

当院は中国四国地区の基幹病院を中心に、主に小児科医を対象として急性脳炎/脳症の病原体解析の重要性を啓発し、急性期の検体採取法・保存法・感染症研究所への搬送法の指導を行っている。

また当研究室は2005年よりヘルペス属のウイルス検索を行っている(図1)。

(図1)

岡山大学小児科でのウイルス検索

ヘルペスウイルス属

HSV1 HSV2 VZV EBV CMV HHV6 HHV7

依頼時の病態

急性脳炎/脳症	不明熱
肝機能障害	血球貪食症候群
免疫不全児の発熱・皮疹	移植後の発熱 など

依頼症例数

400-600/年

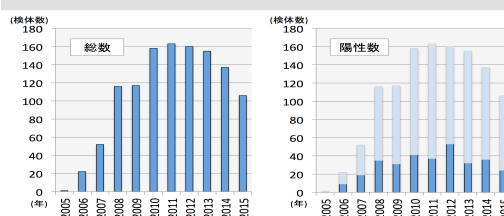
→EVD68追加

特にHHV6はけいれん重積症例で比較的高頻度に検出されており、急性脳炎/脳症の臨床に有用である(図2)。

(図2)

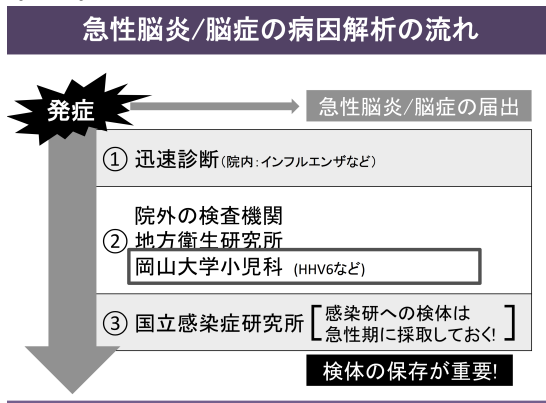
HHV6

依頼目的:急性脳炎・脳症、移植後ほか



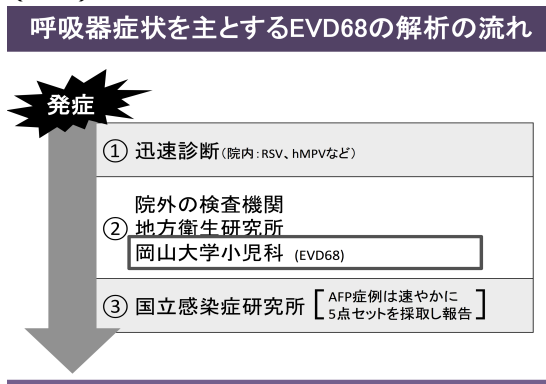
急性脳炎/脳症の病因解析の流れを図3に記載した。まず院内で施行可能な迅速診断を行う。次に院外の検査機関や地方衛生研究所に依頼する。岡山大学病院におけるウイルス検索はここに位置している。上記でも病因が同定できない場合に国立感染症研究所へ依頼を行う。しかしこの時点で検体を採取しても急性期を過ぎており間に合わないため、発症時に5点セットを採取しておくことが重要でありこの点を重点的に啓蒙している。発症時に脳炎/脳症の届け出を行うことも併せて伝える。

(図3)



今回当研究室においてエンテロウイルスD68を検出するRT-PCR法を確立した。呼吸器症状を主とする疾患の病因解析の流れを図4に記載した。まず院内で施行可能な迅速診断を行う。次に院外の検査機関や地方衛生研究所に依頼する。岡山大学病院におけるウイルス検索はここに位置している。経過中に急性弛緩性麻痺(AFP)が出現した場合は速やかに5点セットを採取し国立感染症研究所へ依頼を行う。

(図4)



呼吸器症状が主のEVD68の迅速な確定診断が行われることで、EVD68の病態が明らかになることが期待される。

E. 結論

岡山大学小児科において、エンテロウイルスD68の検出法を確立した。

中国・四国小児科における呼吸器症状が主のEVD68の確定診断に有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1, Miyazaki Y, Morishima T, Yamada M. et al: Monitoring of human herpesviruses-6 and -7 DNA in saliva samples during the acute and convalescent phases of exanthem subitum. J Med Virol. 2017 Apr;89(4):696-702.

2, Nosaka N, Tsukahara K, Yashiro M, et al: Intracranial Pressure Monitoring for Pediatric Acute Encephalopathy. Acta Med Okayama. 2017 Apr;71(2):179-180.

3, Recurrent apnea in an infant with pertussis due to household transmission. Ochi M, Nosaka N, Knaup E, Tsukahara K, Kikkawa T, Fujii Y, Yashiro M, Sato K, Ugawa T, Okada A, Tsukahara H. Clin Case Rep. 2017 Jan 28;5(3):241-245.

4 Letter to the Editor regarding the paper by Sun G et al: Elevated serum levels of neutrophil elastase in patients with influenza virus-associated encephalopathy. J Neuro Sci 2015;349:190-195. Nosaka N, Hatayama K, Fujii Y, Yashiro M, Tsukahara H, Morishima T. J Neurol Sci. 2016 May

2. 学会発表

1, 八代将登、森島恒雄ら：中国四国地区における急性弛緩性麻痺を認める症例の網羅的調査 第57回臨床ウイルス学会 2016年6月/福島

2, 八代将登、森島恒雄ら：リアルタイムPCR法を用いたヘルペスウイルス定量評価の有用性 第48回日本小児感染症学会 2016年11月/岡山

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録

なし
3.その他
なし