

事業区分	経常研究(基盤)	研究期間	平成28年度～平成30年度	評価区分	事後評価
研究テーマ名 (副題)	長崎県におけるエンテロウイルス感染症の分子疫学解析 (エンテロウイルス感染症の重症化に関するウイルス側因子の探索)				
主管の機関・科(研究室)	研究代表者名	環境保健研究センター・保健科 松本 文昭			

<県総合計画等での位置づけ>

長崎県総合計画	人が輝く長崎県 2.一人ひとりをきめ細かく支える (1)医療をみんなで支える体制づくり
長崎県科学技術振興ビジョン	第3章 長崎県の科学技術振興の基本的な考え方と推進方策 2-2.安全・安心な県民生活の基盤を支える施策 ・新興感染症、再興感染症への対応
環境保健研究センター運営計画	【重点目標5】「感染症の究明・拡大防止」を図る ①感染源の解明等に関する研究

1 研究の概要(100文字)

長崎県内のエンテロウイルス(EV)が疑われる患者検体を用いて、EV 遺伝子の検出及び分子疫学解析を行い、県内流行のトレンドを明らかにするとともに、重症化に関するウイルス側因子の探索を行う。	
研究項目	① EV 感染疑い症例検体の収集と解析 ② 県内 EV 流行動態の把握 ③ EV 感染症重症化に関するウイルス側因子の探索

2 研究の必要性

1) 社会的・経済的背景及びニーズ	EV 感染症は、多種多様なウイルスを含むエンテロウイルス属による感染症であることから、ポリオ無菌性膜炎等の重症疾患から手足口病やヘルパンギーナ等軽症疾患まで幅広い臨床症状からなる疾病群をさす。一般的にはいわゆる夏風邪として夏期に主に小児を中心として流行する感染症であり、県内でも毎年数千例の患者報告がなされているため、原因ウイルスの把握が求められているところである。また、予防のためのワクチンや効果的な治療薬は無く、基本的に予後は良好であるものの、ウイルスの種類によっては重篤な合併症を引き起こすことが知られており、とりわけ九州北部では妊婦からの垂直感染による死亡例も報告されている。原因となる EV はその抗原性の差異に基づき多くの血清型に分類されているが、同一血清型による軽症例と重症例が存在するため、宿主側、ウイルス側双方の重症化因子の探索が重要となっている。また、EV はリコンビネーション(遺伝子組み換え)を起こすことが知られており、2013 年には本県においても劇症型心筋炎により死亡した胎児から EV のリコンビナント株を分離している。海外ではリコンビナント株によるアウトブレイクもしばしば報告されている。しかしながら、国内におけるまん延状況については、現状のサーベイランスでは、それらを把握することが極めて困難な状況にある。
2) 国、他県、市町、民間での実施の状況または実施の可能性	EV 感染症におけるウイルス側因子の探索は特定のウイルス株(EV71、CA16)を中心とする報告はあるものの、重症化への関与因子等、他の株を含めた詳細解析は不十分で、国内においては、リコンビナント株の発生状況は報告されていない。本県における感染症の流行動態を明らかにし、適切なまん延防止策をとることは、長崎県の地方衛生研究所である当センターに求められているところである。感染症発生動向調査事業に基づく病原体サーベイランスでは、手足口病やヘルパンギーナなど EV 軽症例の検体を集めることが可能であるため、重症例から分離されたウイルスとの比較解析等を効率的に行い得るのは、現状では当センターだけである。

3 効率性(研究項目と内容・方法)

研究項目	研究内容・方法	活動指標		H28	H29	H30	単位
①	患者検体からの EV 遺伝子検出	検体数	目標	軽症例 100 重症例 10	軽症例 100 重症例 10	軽症例 100 重症例 10	数

			実績	軽症例 107 重症例 28 検体 /5 症例	軽症例 139 重症例 59 検体 /14 症例	軽症例 124 重症例 62 検体 /13 症例			
②	分子疫学解析による流行動態の把握	系統樹作成	目標 実績	1 1	1 1	1 1			個
③	重症例及び比較対象となる軽症例の全塩基配列の決定	解析株数	目標 実績	2 2	10 10	10 12			数

1) 参加研究機関等の役割分担

- ①長崎大学病院 小児科学教室：重症感染例に関する臨床情報および検体の提供
- ②国立感染症研究所：次世代シーケンサーによる解析補助

2) 予算

研究予算 (千円)	計 (千円)	人件費 (千円)	研究費 (千円)	財源			
				国庫	県債	その他	一財
全体予算	31,237	24,060	7,177				7,177
28年度	10,475	8,042	2,433				2,433
29年度	10,479	8,046	2,433				2,433
30年度	10,283	7,972	2,311				2,311

- ※ 過去の年度は実績、当該年度は現計予算、次年度以降は案
- ※ 人件費は職員人件費の見積額

(研究開発の途中で見直した事項)

4 有効性

研究項目	成果指標	目標	実績	H 28	H 29	H 30	H 31	H 32	得られる成果の補足説明等
①②	流行動態の広報及び注意喚起	3回	3回	1	1	1			重篤な合併症を起こしやすいウイルスの流行があった場合、適宜注意喚起を行う。
③	学会等発表	1回	2回		1	1			重症例分離株と軽症例分離株との遺伝子比較解析結果に関する発表を行う

1) 従来技術・先行技術と比較した新規性、優位性

EV 感染症重症化に関わるウイルス側要因の探索を実施するうえで、以下の新規性、優位性を有する。

- ① 重症例を引き起こしたウイルス株に加え、国内でほとんど報告例がない EV リコンビナント株及び患者材料を既に保有している。
- ② 重症例 3 株及びリコンビナント株の全塩基配列を既に決定している。
- ③ 感染症発生動向調査事業の情報集約機関であることから、EV 感染症の軽症例検体を多く収集出来るほか、長崎大学病院の参加を得て重症例検体を収集できる。

2) 成果の普及

■研究成果の社会・経済・県民等への還元シナリオ

- ① 長崎県感染症情報センターや関係機関を通して県内流行状況を周知。重症例を惹起しやすい株が分離・検出された場合、同株の流行を認めた場合は、注意喚起を併せて行う。
- ② 研究者及び医師等の専門家に対しては、学会発表等を通して研究成果の周知を図る。
- ③ 長崎県内で実施されている医師間の勉強会に参加して小児科や産科医師への周知を図る。

■研究成果による社会・経済・県民等への波及効果(経済効果、県民の生活・環境の質の向上、行政施策への貢献等)の見込み

解析結果を行政や医療の現場に還元することで、疫学情報に基づくまん延防止対策や適切な医療の提供へとつながり、県民の生活の質の向上に寄与することが出来る。

(研究開発の途中で見直した事項)

種類	自己評価	研究評価委員会
事前	<p>(27 年度) 評価結果 (総合評価段階: A )</p> <p>・必要性 S EV は、いわゆる夏風邪の原因ウイルスとして知られている。EV 感染症は、県内でも毎年数千例の患者報告がなされている。しかし、臨床現場のニーズがあるにも関わらず、原因となった EV の流行動態は、その詳細は、ほとんど把握出来ていない。また、九州北部では EV 感染症による重症例及び EV リコンビナント株による死亡例も発生している。</p> <p>このような事例の発生を防止するため、県内における EV の流行動態把握及び重症例分離株と軽症例分離株の比較解析研究並びにこれらに基づく注意喚起等の患者発生予防対策が必要である。</p> <p>・効率性 A 県内で発生した重篤な症例が搬入される長崎大学病院小児科学教室と連携することで、効率的に重症例検体を収集できる。また解析においては、全塩基配列解析等これまで当センターで実施してきた技術を用いて解析が可能であり、当センターで実施できない部分であっても、国立感染症研究所の協力を得て効率よく研究を行うことが出来る。</p> <p>また、重症例の臨床検体及び国内では報告事例のないリコンビナント株を保有しているため、県内まん延株との比較解析により病原性に関与するウイルス側要因を効率的に探索出来る。</p> <p>・有効性 A EV 感染症は、原因ウイルスの種類によっては、重篤な合併症を併発することが知られており、県内の EV 流行動態を把握することで、科学的根拠に基づく注意喚起が可能となる。</p> <p>さらに、同一型のウイルスに感染しても軽症で推移する場合と致命的な経過をたどる場合があることから、重症例と軽症例とを比較解析し、病原性に関与する変異部位等を特定できれば、EV に対するより詳細なリスク評価が可能となり、本研究で得られるデータは、その基礎となり得る。</p> <p>・総合評価 A 全塩基配列の決定及び軽症例と重症例との比較解析により病原性に関与する遺伝子領域を特定出来れば、毎年のように流行する EV に対する正確なリスク評価が可能となる。</p> <p>また、医療最前線のニーズに応え、病原体の解析情</p>	<p>(27 年度) 評価結果 (総合評価段階: A )</p> <p>・必要性 S 県内でも死亡例があり、新生児にとって致命的となりうる EV 感染症に関する本研究は、重症化に関与するウイルス側の要因を究明するもので、必要性は高い。</p> <p>・効率性 A 他の研究機関との連携により、検体入手やデータ解析の協力体制が整えられており、効率的な研究が期待できる。</p> <p>他の研究機関ともデータや知見の交換交流を行い、有意性の向上とスピードアップを図って欲しい。</p> <p>・有効性 A 県民の健康を衛るうえで有効な研究であり、成果が大いに期待される。研究成果は産科医、小児科医をはじめ県民へ迅速に提供することを検討して欲しい。</p> <p>・総合評価 A 研究成果が県民の生活に大きく影響を与えるものであり、県の研究として、大いに期待される研究である。</p> <p>医療機関との連携も取れており、病原性ウイルス等の遺伝情報の整備により、医療現場での活用、予防</p>

	<p>報を臨床医に還元することで、疫学情報に基づく医療の提供へとつながり、県民生活の質の向上に寄与することができる。</p>	<p>対策にもつながることから、迅速な情報発信方法を含め研究を推進されたい。</p>
	<p>対応</p>	<p>対応 他の研究機関とのデータ交換等も視野に入れて効率的に解析を進めていく。 また、結果の迅速な情報発信方法についても、関係機関と連携・協調しながら検討していく。</p>
途 中	<p>( 年度) 評価結果 (総合評価段階: ) ・必要性  ・効率性  ・有効性  ・総合評価</p>	<p>( 年度) 評価結果 (総合評価段階: ) ・必要性  ・効率性  ・有効性  ・総合評価</p>
	<p>対応</p>	<p>対応</p>
事 後	<p>(元年度) 評価結果 (総合評価段階: A ) ・必要性 S EV 感染症のうち最もポピュラーな疾患である手足口病は 2017 年に全国的な流行が起こった。長崎県においては、流行ピークの夏場を過ぎた 9 月以降に非ポリオの EVs では最も神経病原性が高い EV-A71 による小流行が確認された。また、同年 6~8 月にかけては、痙攣群発や新生児敗血症様症候群から CV-B4 の検出が相次ぎ、科学的根拠に基づく注意喚起や患者発生予防対策を行ううえで必要な研究であったと考える。</p> <p>・効率性 A EVs 流行動態の詳細把握のため、長崎県内 10 箇所の協力医療機関より年間を通じた検体提供を受け強化サーベイランスを実施した。その結果、3 年間で 370 検体を検査・解析し、303 検体から EVs の遺伝子を検出のうえ、137 株の分離株を得た。その一部を用いて各調査年における EVs 流行株の系統樹解析を行った。</p> <p>長崎県内の三次医療機関(長崎大学病院、国立病院機構長崎医療センター、佐世保市総合医療センター)と連携し、EVs 感染が疑われる重症例のうち、研究協力が得られた 31 症例から 143 検体を収集・解析した。それらから分離した EVs 並びに強化サーベイランスの結果得られた軽症例由来株に、福岡県、熊本県から分与された 6 株を加えた合計 24 株の EVs 全塩基配列を決定した。</p>	<p>(元年度) 評価結果 (総合評価段階: A ) ・必要性 S 県内でも重症例や死亡例が発生しているエンテロウイルス感染症について、県内における流行動態を明らかにし、重症化に関与するウイルス側因子について探索を行うことは、適切な蔓延防止対策をとるためにも重要であり、必要性の高い研究であった。</p> <p>・効率性 A 医療機関や他の研究機関と連携し、目標を上回る重症例及び対照とする軽症例の検体を収集し解析することができており、計画通りに進捗したと考えられる。</p>

<p>・有効性 A  県内流行株の把握を通年で進めていたことから本県では 2013 年以降検出事例がなく、流行拡大が懸念された EV-A71 による季節はずれの小流行に際して、共同研究者を通じて県内の小児科医に迅速な注意喚起を行うことが出来た。また、各年毎の解析結果を共同研究機関および協力研究機関に提供することで、県内で流行した EVs の分子疫学的な解析結果を臨床医と共有することが出来た。</p> <p>重症化関与因子の探索においては、重症例由来ウイルスのみが有する特徴的な変異等を見出すことはできなかったが、いずれのウイルスも非構造タンパク質領域に他の EVs との組み換えを示唆するデータが得られ、異なる流行時期に分離された同型ウイルスを解析した結果、その遺伝子的傾向は流行時期ごとに特異的であることを見出した。</p> <p>・総合評価 A  調査期間中の EVs 流行株を解析することで遺伝子的な特徴や流行期を外れた EVs の地域流行を早期に探知することが出来た。また、全塩基配列解析による重症例由来株と軽症例由来株の比較解析の結果、重症例ウイルスに特異的な遺伝子的特徴は確認できなかったものの、非構造タンパク質領域が他の EVs B 種との組み換えを起こしていること、その遺伝子的傾向が流行時期によって特徴的であることを見出した。</p>	<p>・有効性 A  検体の収集、解析、流行動態の把握、重症化関与因子の探索において、概ね計画通りの成果が得られている。また、EVA71 による季節はずれの小流行に際して、県内の小児科医に迅速な注意喚起を行っており、有効性は高い。</p> <p>・総合評価 A  目標通りの成果が得られ、解析結果を臨床医に還元するなど、県民の防疫対策として必要な研究であった。今後も継続的に調査するとともに、本県で得られた解析データを、他県で得られている解析データと相互に共有することで、より有効なエンテロウイルス感染症の防疫対策につなげることを期待する。</p>
<p>対応</p>	<p>対応</p>