

事業区分	経常研究(基盤)	研究期間	平成 21 年度 ~ 平成 23 年度	評価区分	事後評価
研究テーマ名 (副題)	無菌性髄膜炎の集団発生を惹き起こすエコーウイルスのウイルス分子性状に関する研究 (ウイルスの分子解剖; 同一種のウイルスによる多彩な病態(疾病)を決定するウイルス側の本質に迫る)				
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) 吾郷昌信			

< 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 感染源の解明等に関する研究

1 研究の概要(100 文字)

2005 年に長崎県下で無菌性髄膜炎(AM)の流行を惹き起こしたエコーウイルス 9 型(E9)のウイルス分子性状を明らかにし、病原性に関与する遺伝子部位を探索し、AM の集団発生の制御に繋がる研究基盤を構築する。	
研究項目	エコーウイルス 9 型(E9) 遺伝子の全塩基配列の決定及び比較解析 E9 変異導入ウイルスの作製 病原性関連遺伝子領域の探索

2 研究の必要性

1) 社会的・経済的背景及びニーズ エンテロウイルス(EV) は、主に小児を中心に感染、流行する常在性ウイルスである。EV による無菌性髄膜炎(AM)は、EV のうち主に E9 等を含むヒト EV グループ B に属するウイルスにより惹起される。2005 年には長崎県下で E9 による AM の中規模な集団発生が認められた。これらの EV による AM は、重篤な症状を呈するものの一般に予後良好であるが、流行の規模によっては、地域医療の観点からも重要であり、社会的にも重要な問題を引き起こすことが多い。AM の原因ウイルスであるグループ B に属する同じ EV でも軽微な感冒症状で終わる場合もあり、病原性の差異に関するウイルス側の要因については殆ど究明されていない。したがって、効果的な治療法が存在しない常在性ウイルスの中に時に AM のような重篤な症状を惹き起こすウイルスの特異的検出、流行予測及び効果的制御を可能にする健康危機管理社会の構築が望まれている。
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 グループ C に属するポリオウイルスでは神経病原性に関する分子遺伝学検討が行われているが、これらとは病原性の発現メカニズムが異なることが推定される E9 の属する EV グループ B の各ウイルスについては、病原性、特に神経病原性に関する検討は行われていない。

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	H 21	H 22	H 23	H 24	単位
E9 遺伝子の全塩基配列の決定及び比較解析	E9 標準株	目標	1	/	/	/	株数
		実績	1	/	/	/	
	E9 AM由来株	目標	30	20	/	/	株数
		実績	30	20	/	/	
	E9 AM 以外の軽微な疾患由来株	目標	30	20	/	/	株数
		実績	29	20	/	/	
変異導入ウイルスの作製	標準株 AM 由来株 AM 以外の軽微な疾患由来株	目標	/	各 1	/	/	株数
		実績	/	各 1	/	/	
病原性関連部位の探索	変異導入ウイルス、組換えウイルスの作製	目標	/	80	20	/	達成率
		実績	/	80	20	/	
	変異導入ウイルス、組換えウイルスの性状解析	目標	/	10	90	/	
		実績	/	10	90	/	

1) 参加研究機関等の役割分担

ウイルス株等の供与; 島根保環研、感染研ウイルス第二部

基本的に研究は、当センター保健科において実施するが、解析機器や実験設備等、当センターで賄えない場合は、適宜支援(当該設備機器の使用)を要請; 長崎大学熱帯医学研究所、大阪大学微生物病研究所他

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	35,834	26,990	8,844				8,844
21年度	12,207	9,063	3,144				3,144
22年度	11,826	8,976	2,850				2,850
23年度	11,801	8,951	2,850				2,850
24年度							
25年度							

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) 特になし

4 有効性

研究項目	成果指標	目標	実績	H	H	H	H	H	得られる成果の補足説明等
				21	22	23	24	25	
	AM 患者由来 E9 と軽微な疾患由来 EV の遺伝子全長の比較解析	100 (達成率)	100	60	40				両者が普遍的に相違する遺伝子領域の特定
	作製した変異導入 E9 のウイルス性状に関する比較解析	100 (達成率)	100		10	90			病原性に関する遺伝子領域の示唆
	研究結果に関する情報提供	1回	3	2	1	0			学会報告、論文

1) 従来技術・先行技術と比較した新規性、優位性

研究項目 : AM由来のE9全遺伝子を網羅的に解析した例は無い。

研究項目 : E9の病原性に関する分子遺伝学的研究は無い。

研究項目 : E9の属するヒトエンテロウイルスBのAM等の神経病原性に関する報告は皆無である。

2) 成果の普及

研究成果の社会・経済への還元シナリオ

E9のAMに関する遺伝子領域が特定できれば、これを特異的に検出する診断系や抗ウイルス剤開発の可能性にも繋がる。常在性ウイルスに存在する重篤型ウイルスによる重篤感染症の流行予測および制御による健康危機管理社会の構築への貢献。また、可逆的な神経症状しか示さないIEVグループBに属するウイルスの神経病原性解明の糸口になる可能性もある。

研究成果による社会・経済への波及効果の見込み

・経済効果 : AM 発症者の大半は小児であることから、入院欠席等に伴う家族の直接的な経済的負担だけでなく、付き添い、看病等のために家族が就業の制約を受けることから社会的経済損失も招く。本研究に端を発し、的確な感染症制御に発展すれば負の経済効果の解消への波及効果が期待できる。

(研究開発の途中で見直した事項)

特になし

種類	自己評価	研究評価委員会
事前	<p>(20年度) 評価結果 (総合評価段階: A)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・必要性 A ・2005年、全国的にもまれな事例として、幼児、学童期を中心にエンテロウイルスによる無菌性髄膜炎の集団発生が本県内であったが、この疾患は、時に重篤な症状に至る事もあり効果的根治療法がない現在、今後も同様の事態の発生も懸念される。 ・このため、最新の分子遺伝学的技術により、無菌性髄膜炎を惹起するウイルスを特異的に検出する診断系の開発や同属ウイルスの神経病原性発現メカニズムの解明研究を行い当該疾患への予防的措置確立のため、技術開発を行うことは公衆衛生面での県民生活の質の向上の観点で必要である。 ・効率性 A ・研究手法も最先端の技術を駆使し、必要な場合は、大学、国等の有力関係研究機関との連携体制も確立している。 <p>また、必要な研究項目ごとに活動目標を定量的に定め、その到達度を評価・検証していく</p> <ul style="list-style-type: none"> ・有効性 S ・研究素材としてのEV9は当センターのみ保有しており、かつ最先端技術により、ゲノム解析を行い、無菌性髄膜炎の誘発する遺伝子領域を特定し、この部分を特異的に検出できる診断系の開発につながることも十分に期待できる。 ・更に、ヒトエンテロウイルスBの神経病原性の研究開発の端緒にもなりうるなど新規性がある。この研究成果は当該疾患の感染の拡大防止等につながる。 ・必要な研究項目ごとに、成果目標を定量的に定め、その到達度を評価・検証し確実な成果創出に努める。 ・総合評価 S ・無菌性髄膜炎を引き起こすウイルスへの根本的、効果的治療法がない中で、過去本県での集団発生の事例にも鑑み、感染症の予防につなげる技術開発という観点からこの研究は意義がある。 ・現在、他地方衛研では取り組み事例のない最新の分子遺伝学的解析技術を駆使して、当該ウイルスの病原性、増殖性に関する遺伝子領域を特定し、特異的に検出する診断技術の開発、神経病原性発現メカニズム解明に取り組む。 	<p>(20年度) 評価結果 (総合評価段階: A)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・必要性 A 無菌性髄膜炎を惹き起こすウイルスが長崎県特有のものとは言えないが、これまでに他の機関で研究がなされておらず、同ウイルスを保有するセンターが、県の行政施策に沿った感染症診断系の確立と、健康危機管理体制の確立という観点で、実施する必要性は高い。 ・効率性 A 集団発生した患者のウイルス検体と軽微患者由来のウイルス検体を比較して病原に關与する基本的解明を行うという研究の道筋が明白である。長崎大学熱帯医学研究所などの研究機関との連携により研究を効率的に進めてもらいたい。 ・有効性 A 感染性クローンを用いた分子遺伝学的解析手法等の先進的技術を利用しており成果が期待できる。他のウイルスの病原性の解明にも繋がるものと期待される。 ・総合評価 A 今後、気候変動に伴う感染性疾患の増加等が予想されることからきわめて重要な研究である。県下で無菌性髄膜炎が流行したことを活かし、研究成果を上げるとともに、長崎県環境保健研究センターの研究レベルの向上に繋げてもらいたい。
	対応	<p>対応</p> <p>(効率性)長崎大学熱帯医学研究所、大阪大学微生物病研究所、国立感染症研究所、島根県保健環境科学研究所、大阪府立公衆衛生研究所、愛知衛研等との研究協力体制は構築済みである。</p>

<p>(22年度) 評価結果 (総合評価段階: A)</p> <p>・必要性 A</p> <p>2005年、全国的にもまれな事例として、幼児、学童を中心にエンテロウイルスによる無菌性髄膜炎(AM)の集団発生が本県内であったが、効果的な診断・治療法がない現在、今後も同様の事態の発生も懸念される。このため、AMの原因となる同属ウイルスの神経病原性発現メカニズムの解明に向け、原因となったエコーウイルス9型(E9)の分子性状を明らかにすることによりウイルス病原性に関する分子遺伝学的研究法の基盤を構築することは、公衆衛生上、今後のウイルス感染症制御における質の向上の観点およびウイルス性疾患の特異的な診断・治療法開発に発展させるためにも必要である。</p> <p>・効率性 A</p> <p>懸念された比較対照のAM以外の軽微な疾患から分離されたE9のウイルス株も予定していた地衛研の協力により無事入手でき、効率的に研究が進行している。また、新型インフルエンザの流行による遅れを実験法の改良などにより効率化を図り、ほぼ計画通りの進捗をみせている。</p> <p>・有効性 A</p> <p>比較解析により、AM患者由来分離株に特異的な変異(領域)の可能性を示唆するデータが集積しつつある。また、変異導入ウイルス作製に関する準備も順調に推移しており、ほぼ計画通りの進捗状況である。</p> <p>・総合評価 A</p> <p>研究開始当初、新型インフルエンザのアウトブレイクがあり、計画実施に大幅な支障をきたしたが、多検体同時処理ができる実験法の改良等を行って遅れの回復に努め、計画に近い進捗状況にまで回復させた。AM由来株に特異性に関与する可能性を示唆するデータも出つつあり、今後の推移が期待される。</p>	<p>(22年度) 評価結果 (総合評価段階: A)</p> <p>・必要性 A</p> <p>今後も県内で発生する危険性があり、ウイルス性病原のメカニズム解明は健康危機管理体制の確立に向けて必要な研究である。</p> <p>・効率性 A</p> <p>協力機関との連携体制が十分図られている。また、実験方法の改良等により新型インフルエンザ対策等の緊急業務との両立が図られており、効率性が高い。</p> <p>・有効性 A</p> <p>本研究の成果は、他の類縁ウイルスの病原性解明や診断系構築にもつながることが期待される。</p> <p>・総合評価 A</p> <p>計画どおりの進捗がみられている。最終的にE9ウイルスの病原性に関して重要な知見が得られ、その成果については県民が利用できるかたちでまとめたきたい。</p>
<p>対応</p>	<p>対応</p> <p>E9の病原性の差異を反映させるウイルス側の要因を見出すべく今後も研究計画に沿って着実に進めていきたい。研究成果は、関係学会及び論文発表を通じて広く専門家に公表し、県民に対しては感染症情報センター等を通じてAM発症率の高いE9の流行の兆しをいち早く伝えて感染予防を促すとともに講演会、施設紹介等の中でこのウイルスの性状についてわかりやすく解説していく予定である。</p>

<p>(24年度) 評価結果 (総合評価段階: A)</p> <p>・必要性 A 2005年、全国的にもまれな事例として、幼児、学童を中心にエンテロウイルスによる無菌性髄膜炎 (AM) の集団発生が本県内であったが、効果的な診断・治療法がない現在、今後も同様の事態の発生も懸念される。このため、AMの原因となる同属ウイルスの神経病原性発現メカニズムの解明に向け、原因となったエコーウイルス9型(E9)の分子性状を明らかにすることによりウイルス病原性に関する分子遺伝学的研究法の基盤を構築することは、公衆衛生上、今後のウイルス感染症制御における質の向上の観点およびウイルス性疾患の特異的な診断・治療法開発に発展させるためにも必要である。</p> <p>・効率性 A 協力研究機関によるウイルス株等の分与並びに技術協力、支援および実験法の改良による効率化により計画通りに所定の検討事項に関する研究を遂行できた。</p> <p>・有効性 A 遺伝子の比較解析により、AM患者由来分離株に見出された特異的な変異領域を基に検討を行ったところ、培養細胞における増殖性に関与すると思われる遺伝子領域の存在が示唆された。さらに、今回の結果は、E9が属するヒトエンテロウイルス(EV)Bに属する他のウイルスの病原性解明への応用が期待できるものとする。また、CODEHOP snPCRに基づくEVの型別同定法の改変により200以上存在するEVの網羅的型別同定を可能にした。本研究成果の一部を2009年および2010年の日本ウイルス学会学術集会等で発表した。</p> <p>・総合評価 A AM患者由来株に病原性と密接に関連すると考えられる細胞内増殖性に関与すると思われる遺伝子領域が見いだされた意義は大である。本研究の成果は、同属の他のウイルスの病原性解明の一助となるものと思われる。また、本研究途上で得られた成果の一部を学会等で報告してきた。E9の神経病原性のメカニズムを明らかにするためにはさらに詳細な検討が必要であり、今後の進展が期待される。</p>	<p>(24年度) 評価結果 (総合評価段階: A)</p> <p>・必要性 A 県内で発生した事例に対する研究であり、今後の流行に備えて治療や予防法の確立に必要な研究であったと判断される。さらに、最終的には治療薬の開発を目指した研究であり、県民の健康に貢献する研究としても必要性は高いと考えられる。</p> <p>・効率性 A 強毒性株と弱毒性株との差異を調べ、構造的・機能的な違いを認め、毒性評価を比べるのは効率的と考えられた。また、全国のウイルス研究に強い施設や研究者との連携体制が図られ、効率的に遂行されたと判断される。</p> <p>・有効性 A 強毒性との関連性やメカニズムの解明までには至っていないのが残念だが、ウイルスの増殖速度に関連すると考えられる領域を見出すことに成功しており、無菌性髄膜炎を惹き起こしうるウイルスについて解明の糸口となる可能性もあることから、計画以上の成果が得られたと考えられる。今後のウイルス薬の開発に有効と思われる。</p> <p>・総合評価 A 計画は概ね達成している。本研究は、他のウイルスによる病原性解明にも繋がるものと考えられ、今後その成果を活かして神経病原性発症のメカニズムの解明や診断キットの開発、創薬開発につなげてほしい。総合的に、この研究は有益であったと評価できる。</p>
<p>対応</p>	<p>対応 本研究を基に、神経病原性発症のメカニズムの解明に向けてさらに注力し、診断系の開発や創薬の足掛りを見出せるような研究に発展できるよう鋭意努力したい。</p>