2015(H27)~2017(H29)年度 一般研究課題(3年間)

## コロナウイルスの疫学研究

-迅速定量遺伝子検出系およびウイルス分離方法の確立について-

山形県衛生研究所 微生物部 駒林賢一

## ヒトコロナウイルス(HCoV)

HCoV-229E HCoV-NL63

αコロナウイルス属

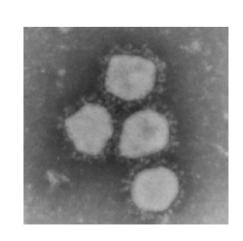
HCoV-OC43 HCoV-HKU1 SARS MERS

βコロナウイルス属



#### 本発表中での「コロナウイルス」

HCoV-NL63の電子顕微鏡写真 van der Hoekら FEMS Microbiol Rev. 2006年より引用



## HCoVの感染状況

## 風邪の原因ウイルス トップ3

(Ecclesら Lancet Infect Dis. 2005年より引用)

1位:ライノウイルス・・・・・・・30-50%

2位:コロナウイルス・・・・・・・ 10-15%

3位:インフルエンザウイルス・・・ 5-15

全国での検出状況(2010~2017)

コロナウイルス検出数

全ウイルス検出数

 $= \frac{1046}{191640} (0.5\%)$ 

うち274件は

山形から

国立感染症研究所 病原体検出情報システムよりデータを引用

## 2013~14年度のHCoV研究

2013-14

- コロナウイルスの遺伝子検出系を確立
- •2010-13年の県内のコロナウイルス流行状況を解明



課題

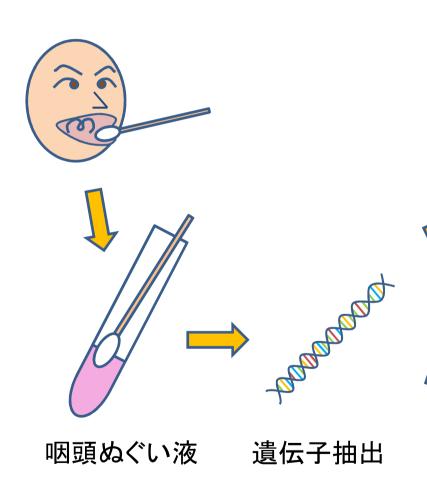
- •遺伝子検出に最短で3日
- ウイルスそのものを使った研究ができない

## 2015~17年度の目的

1. リアルタイムPCRによる迅速遺伝子検出系確立

2. 培養細胞によるウイルス分離方法の確立

# 遺伝子検出系



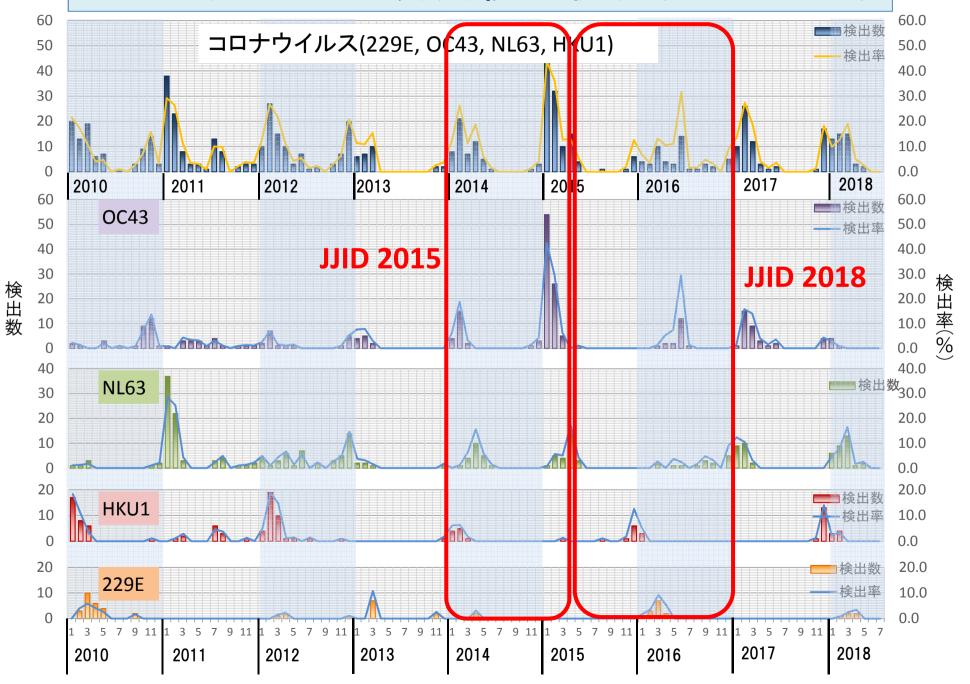
2014年までの手法 3日を要する

コンベンショナル → PCR産物の → 塩基配列決定

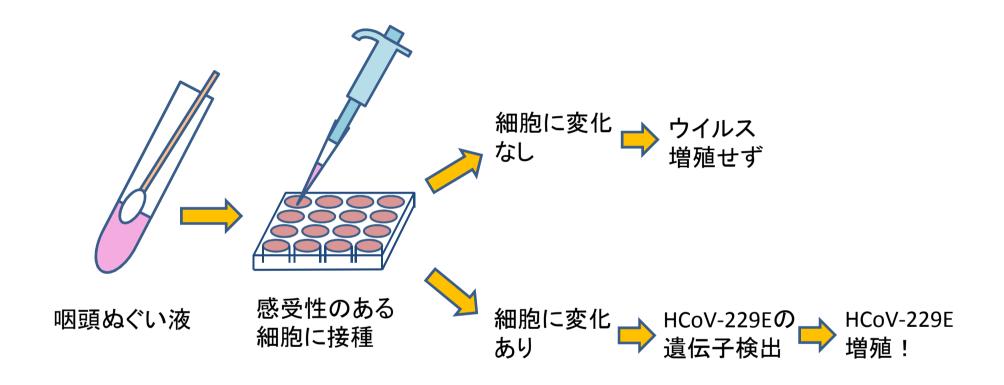
> 2015年以降の手法 即日で結果を得られる

リアルタイム PCR

## コロナウイルスの月別検出状況(2010-2018)



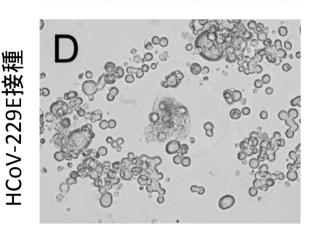
## HCoV-229Eの分離

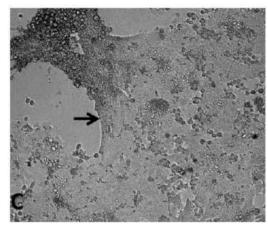


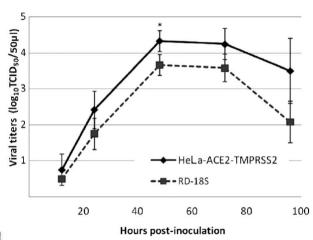
## HCoV-229Eの分離

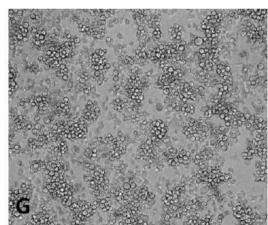
**RD-18S** 

HeLa-ACE2-TMPRSS2









RD-18S細胞よりも HeLa-ACE2-TMPRSS2細胞でよく 増殖する **JJID 2016** 

RD-18S細胞で増殖 **JJID 2015** 

## 2015~17年度の成果まとめ

# 遺伝子検出系

• リアルタイムPCR(迅速化)

#### 流行状況

• OC43 2014/15冬シーズン流行

(JJID 2015)

- OC43 2016年6月流行 (JJID 2018)
- OC43、NL63 2016/17冬シーズン流行

### 229E分離

• RD-18S細胞 (JJID 2015)

● HeLa-ACE2-TMPRSS2細胞 (JJID 2016)

# 今後の課題

疫学調査の継続

- データの蓄積
- 遺伝子の解析

ウイルスの 詳細な解析

- 遺伝子の解析
- ウイルス分離

県民の 抗体保有状況