

エンテロウイルスの血清型と遺伝子型

1 はじめに

エンテロウイルスはピコルナウイルス科エンテロウイルス属に分類されている。粒子の直径 22~30nm、プラス 1 本鎖 RNA を持つ球状（正二十面体）ウイルスである。50~56℃で不活化し、エーテル、胆汁酸に抵抗性である。pH3.0 で不活化されない。100 以上の血清型（遺伝子型）が知られ、急性灰白髄炎（ポリオ）、脳炎、無菌性髄膜炎、手足口病、ヘルパンギーナなどの原因となり、毎年世界中で流行が繰り返されている。型の違いによって引き起こされる疾患も異なり、感染防御につながる中和反応も異なるため型別は重要な要素となる。エンテロウイルスの同定は、細胞培養によるウイルス分離が基本で、分離ウイルスを中和反応により型別する。中和反応には型別用抗血清が必要であるが、エンテロウイルス 73 型以降に発見されたエンテロウイルスは遺伝子型別により同定されている。

2 エンテロウイルスの分離

細胞培養か乳のみマウスを用いてウイルス分離がなされる。用いられる細胞は研究所によって異なるが、Vero、HeLa、HEp-2、RD 細胞などが基本となる。用いる細胞により分離されるウイルスも異なり中和反応による同定や、PCR 法に用いるプライマー選定のヒントになる。A 群コクサッキーウイルスの分離は難しく、主に乳のみマウスが用いられてきたが、

RD 細胞の確立により殆どのウイルスが細胞培養可能となった。

3 中和反応による型別

分離されたウイルスはマイクロプレート法による中和反応で型別される。最初はシュミットプール、エンテロプール、エコープールなどのプール血清により型別し、その後、単味血清により型別される。血清型にはポリオウイルス 1 型~3 型、コクサッキーウイルス (CV) A1 型~24 型、B1 型~6 型、エコーウイルス (E) 1 型~33 型、エンテロウイルス (EV) 68 型~71 型が知られている。ただし、CV-A15, 18, 23, E-8, 10, 22, 23, 28 は再分類の結果欠番となっていて 63 血清型に分けられる。EV-72 も A 型肝炎ウイルスにあてがわれていたので欠番で、EV-73 からつぎに述べる遺伝子型別による分類となった。

4 遺伝子型による型別

構造タンパクの 1 つである VP2 領域をコードする遺伝子の解析により、エンテロウイルスは A、B、C 及び D の 4 つのグループに分けられていたが、血清型とは完全には相関していなかった。そこで、中和反応のエピトープが最も多い VP1 領域 (834~951 塩基) の遺伝子解析により、塩基配列の違いと血清型が相関することが分かった。血清型が同じであれば 75% (アミノ酸で 88%) 以上の相同性が認められる。こ

れにより、今まで分離されて中和型別不能であったウイルスが VP1 領域の全配列を決定することで新型か否かが分かるようになった。すなわち、既知の配列と 75%以上の相同性が認められなかった場合、その配列をピコルナウイルス研究班 (<http://www.picornaviridae.com/>) に申請し、系統樹解析により新型と認められれば新たな遺伝子型が命名される。当所が分離したウイルスも、この方法で EV-98 と EV-107 と認められた。現在は、VP1 領域の配列の違いに基づき、ヒト由来のエンテロウイルスは EV-A、B、C 及び D の 4 種 (species) に分類されている (bootstrap 値 100%)。各種に属するエンテ

ロウイルスの血清型 (遺伝子型) を表にまとめた。A 群コクサッキーウイルスは EV-A、B 及び C に分かれる。ポリオウイルスは EV-C に属するが、エンテロウイルスのプロトタイプであることに変わりはない。B 群コクサッキーウイルスとエコーウイルスは全て EV-B に属し、新型も含めて 59 型と最も多い種となっている。また、EV-68 以降は、A、B、C 及び D の各種名もわかるように、例えば EV-71 は、EV-A71 と表記されることとなった。今回は取り上げなかったが、VP1 領域の系統樹解析によりライノウイルス属のウイルスが、エンテロウイルス属の別種 (HRV-A、B 及び C) に分類されている。

表 ヒト由来エンテロウイルスの分類

EV-A (21型)	EV-B (59型)		EV-C (23型)	EV-D (4型)
CV-A2	CV-B1	E-29	PV-1	EV-D68
CV-A3	CV-B2	E-30	PV-2	EV-D70
CV-A4	CV-B3	E-31	PV-3	EV-D94
CV-A5	CV-B4	E-32	CV-A1	EV-D111
CV-A6	CV-B5	E-33	CV-A11	
CV-A7	CV-B6	EV-B69	CV-A13	
CV-A8	CV-A9	EV-B73	CV-A17	
CV-A10	E-1	EV-B74	CV-A19	
CV-A12	E-2	EV-B75	CV-A20	
CV-A14	E-3	EV-B77	CV-A21	
CV-A16	E-4	EV-B78	CV-A22	
EV-A71	E-5	EV-B79	CV-A24	
EV-A76	E-6	EV-B80	EV-C95	
EV-A89	E-7	EV-B81	EV-C96	
EV-A90	E-9	EV-B82	EV-C99	
EV-A91	E-11	EV-B83	EV-C102	
EV-A92	E-12	EV-B84	EV-C104	
EV-A114	E-13	EV-B85	EV-C105	
EV-A119	E-14	EV-B86	EC-C109	
EV-A120	E-15	EV-B87	EV-C113	
EV-A121	E-16	EV-B88	EV-C116	
	E-17	EV-B93	EV-C117	
	E-18	EV-B97	EV-C118	
	E-19	EV-B98		
	E-20	EV-B100		
	E-21	EV-B101		
	E-24	EV-B106		
	E-25	EV-B107		
	E-26	EV-B111		
	E-27			

CV: コクサッキーウイルス、E: エコーウイルス、EV: エンテロウイルス、PV: ポリオウイルス

5 参考文献

- 1) Caro V, Guillot S, Delpeyroux F, Crainic R: Molecular strategy for 'serotyping' of human enteroviruses. *Journal of General Virology* 82: 79-91, 2001.
- 2) Ishiko H, Shimada Y, Yonaha M, Hashimoto, O, Hayashi A, Sakae K, Takeda N: Molecular diagnosis of human enteroviruses by phylogeny-based classification by use of the VP4 sequence. *The Journal of Infectious Diseases* 185: 744-754, 2002.
- 3) Knowles N J, Hyypia T, King A M Q, Lindberg M, Pallansch M A, Palmenberg A C, Simmonds P, Skern T, Stanway G, Yamashita T, Zell R: *Picornaviridae*. *Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses: Ninth report of the International committee on taxonomy of viruses* (King A M Q, Adams M J, Cartens E B, Lefkowitz E J eds), 855-880, 2012, Academic Press-Elsevier, San Diego.
- 4) Melnick J L: Enteroviruses: Polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. *Fields Virology* (Fields B N, Knipe D M, Howley P M eds), 655-712, 1996, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- 5) Oberste M S, Schnurr D, Maher K, al-Busaidy S, Pallansch M A: Molecular identification of new picornaviruses and characterization of a proposed enterovirus 73 serotype. *Journal of General Virology* 82: 409-416, 2001.
- 6) Oberste M S, Maher K, Kilpatrick D R, Pallansch M A: Molecular evolution of the human enteroviruses: Correlation of serotyping with VP1 sequence and application to picornavirus classification. *Journal of Virology* 73: 1941-1948, 1999.
- 7) Yamashita T, Ito M, Tsuzuki H, Sakae K, Minagawa H: Molecular identification of enteroviruses including two new types (EV-98 and EV-107) isolated from Japanese travelers from Asian countries. *Journal of General Virology* 91(4): 1063-1066, 2010.

(文責:生物学部 山下照夫)

愛知衛研技術情報 第39巻第1号 平成27(2015)年 11 月 30 日

照会・連絡先 愛知県衛生研究所

〒462-8576 名古屋市北区辻町字流7番6号

愛知県衛生研究所のホームページ【<http://www.pref.aichi.jp/eiseiken>】

所 長 室 :	052-910-5604	生物学部長 :	052-910-5654
次 長 :	052-910-5683	ウイルス研究室 :	052-910-5674
研 究 監 :	052-910-5684	細菌研究室 :	052-910-5669
総 務 課 :	052-910-5618	医動物研究室 :	052-910-5654
企画情報部長 :	052-910-5619	衛生化学部長 :	052-910-5638
健康科学情報室 :	052-910-5619	医薬食品研究室 :	052-910-5639
		生活科学研究室 :	052-910-5643

代表 FAX : 052-913-3641
