

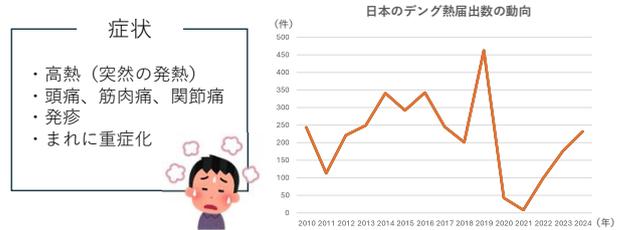
当所におけるデング熱の検出状況 と検査のピットフォール

微生物部 ○水流 奈己、新田 真依子
成田 翼、鬼塚 咲良
県立宮崎病院 山中 篤志、河野 浩一郎

1

デング熱とは

- ・デングウイルス (Dengue virus) による感染症
- ・蚊媒介感染症
- ・4 類感染症
- ・日本では2014年に東京代々木公園で国内感染が報告された
- ・4つの血清型 (1・2・3・4型) がある



2

宮崎県におけるデング熱検出事例 (2010~2025)

No	発生年	年代	性別	検体提出時の症状	遺伝子型	感染推定地域
1	2010	20代	女性	発熱、筋肉痛、下痢、嘔気、嘔吐	2	フィリピン
2	2012	20代	男性	発熱、頭痛、筋肉痛、骨関節痛、発疹、血小板減少、白血球減少	2	インドネシア
3	2012	20代	女性	発熱、筋肉痛、骨関節痛、白血球減少	-	タイ、マレーシア、ラオス
4	2013	40代	男性	発熱、頭痛、関節痛	-	インドネシア
5	2013	10代	女性	発熱、咽頭炎、下痢、腹痛	3	カンボジア
6	2013	30代	男性	発熱、関節痛、嘔気、嘔吐、肝機能障害	1	ベトナム
7	2015	60代	男性	発熱、関節痛、筋肉痛	1	フィリピン
8	2016	30代	男性	発熱、肝機能障害	3	フィリピン
9	2018	10代	男性	発熱、頭痛、発疹	-	フィリピン
10	2019	40代	男性	発熱、丘疹、下痢、肝機能障害	1	スリランカ
11	2019	20代	女性	発熱、紅疹	3	フィリピン
12	2019	20代	女性	発熱、筋肉痛、血小板減少、白血球減少	-	インド
13	2025	50代	男性	発熱、血小板減少、白血球減少	2	タイ
14	2025	60代	男性	発熱、下痢	2	アメリカメキシコ

3

2025年の事例 (No.14) について

7月X日 保健所より、ジカ熱、チクングニア熱の検査の相談
デング熱は医療機関のイムノクロマト (IC) 法の検査キット
により否定
→ 追加でデング熱の検査も依頼。

IgM・IgG抗体

NS1抗原



7月X日 当所にて、デング熱、ジカ熱、チクングニア熱の遺伝子
検査を実施 → **デング熱陽性**

7月X+1日 当所にて遺伝子型別検査を実施し、**血清型2**と判明

4

NS1抗原について

デングウイルスの非構造蛋白であるNS1は感染細胞で合成され、細胞外に分泌される性質があり、特にヒトの細胞では盛んに放出されるため、血液中のNS1蛋白の検出はデングウイルス感染の証明となる。

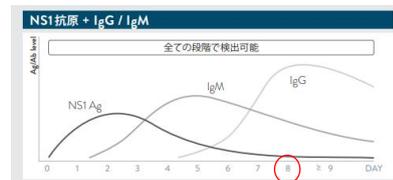
また、**NS1抗原はウイルス遺伝子よりも長く検出できる**ことから本抗原を標的にした検査法は**ウイルス遺伝子が消失したあとも検出が可能であり、デングウイルス感染の診断補助に有用**である。

「SRL検査総合案内」より

5

追加検査結果

	IC		
	NS1	IgM	IgG
8病日	—	—	—
12病日	—	+	—
20病日	—	+	+



出典：バイオラインデングDuONs1Ag+IgG/IgMリーフレット

6

対象と方法

① 対象

No.14の採取日の異なる血清（病日8日、12日、20日）

② 方法

NS1抗原のELISA法による測定：プラテリアデングNS1Agキット

遺伝子量の測定：リアルタイムRT-PCR（タカラバイオ株式会社）

分離培養：RD-18S、HEp-2、Vero、RD-A、CaCo-2細胞を使用※

※通常の発生動向調査事業と同様の細胞を使用

全ゲノム解析：分離培養で得られた株について

TransPlexWholeTranscriptomeAmplification Kit

（Sigma-Aldrich）を用いて全ゲノム解析を実施。

得られた配列をIC法の添付文書に較正用基準物質として

示された株の配列と比較

7

結果

	IC			ELISA (NS1) ※ (COI)	コピー数 (copies/μl)	分離 培養
	NS1 Ag	IgM	IgG			
8病日	—	—	—	54.37**	2.4×10^3	+
12病日	—	+	—	18.0**	1.1×10^2	NT
20病日	—	+	+	0.43	—	NT

※ 1.00以上で陽性

※※ 通常の測定では検出限界以上となったため希釈して測定

IC法の検出感度が低い

性能として検出感度が低い

何らかの理由で今回の株の抗原が
IC法の抗体と結合しにくい

8

IC法の添付文書の確認

4) 最小検出感度 (例示)

4) 最小検出感度 (例示)

デングウイルス NS1 抗原の最小検出感度

血清型 1: $1.93 \times 10^{12.7}$ TCID₅₀/mL

血清型 2: $2.00 \times 10^{12.4}$ TCID₅₀/mL

血清型 3: $1.48 \times 10^{12.2}$ TCID₅₀/mL

血清型 4: $2.54 \times 10^{12.0}$ TCID₅₀/mL

TCID₅₀/mL: Median tissue culture infectious dose (50% 感染量)

抗デングウイルス IgG/IgM 抗体については濃度を規定する標準品が存在していないため、最小検出感度の確認は困難である。

血清型 1: 約 40
血清型 2: 約 275
血清型 3: 約 170
血清型 4: 約 124 (TCID₅₀/mL)

2. 較正用の基準物質に関する情報

デングウイルス NS1 抗原については、下記のウイルス株から調製した自家製標準品を較正用基準物質とする。

デングウイルス NS1 抗原	供給元	カタログ No.	株	濃度 TCID ₅₀ /mL
血清型 1	ATCC	VR1254	Hawaii	$3.95 \times 10^{12.7}$
血清型 2	ATCC	VR1584	NGC-2	$4.1 \times 10^{12.4}$
血清型 3	ATCC	VR1584	NGC-2	$1.9 \times 10^{12.2}$
血清型 4	Colombia Universidad Del Norte	NCBI 498871	Dominican/814669/1981	$1.3 \times 10^{12.0}$

抗デングウイルス IgG/IgM 抗体については、標準品から調製した自家製標準品を較正用基準物質とする。

抗デングウイルス IgG/IgM 抗体については、抗デングウイルス NS1 抗原でウスモノクローナル抗体をヒト IgG 抗体に結合させたものを調製した自家製標準品を較正用基準物質とする。

血清型 2 は感度が最も低い

血清型 1: 約 2.1×10^6
血清型 2: 約 1.4×10^7
血清型 3: 約 1.3×10^6
血清型 4: 約 3.7×10^6

9

全ゲノム解析

変異	ドメイン / 領域	文献で報告されている抗体エпитープ特異性	化学的変化	抗体認識への影響 (予測)
S80T	β-roll (80-89)	Phage display / peptide mapping により 80-89 領域が抗体結合候補として示唆	極性→極性	影響はほとんどなし
I88V			疎水性→疎水性	影響はほとんどなし
T117A	Wing domain (104-123)	Wing loop が複数の抗 NS1 mAb により実験的に同定	極性→疎水性	親和性の軽度低下の可能性
S128L	β-ladder 上流	Computational epitope mapping により 125-133 が抗体結合候補領域	極性→極性 (H結合変化)	抗体結合低下の可能性
Q131H	β-ladder 表面	同上 (125-133 領域)	極性→極性 (H結合変化)	微弱～中程度の影響
R172K	β-ladder	β-ladder (178-273) が主要抗体結合面と実験的に報告	正電荷→正電荷	影響はほとんどなし
K174R	β-ladder	β-ladder (178-273) が主要抗体結合面と実験的に報告	正電荷→正電荷	影響はほとんどなし
F178S	β-ladder 抗体 ホットスポット	170-178 付近が抗体選択性に関与する表面エピトープと報告	疎水性→極性	抗体結合低下/消失の可能性高
F247I	β-ladder 下流	β-ladder 全体が抗体結合面だが 247 は主エピトープ外側	疎水性→疎水性	影響は限定的
K272R	β-ladder C末端	患者由来抗体で 221-266 が結合領域と報告	正電荷→正電荷	影響は小さい

10

対象と方法

① 対象

2010～2025年に当所で遺伝子検査によりデング熱と確定した患者血清 9件

② 方法

NS1抗原の測定

IC法：バイオラインデングDuO NS1 Ag+ IgM/IgG

ELISA法：プラテリアデングNS1Agキット

遺伝子量の測定：リアルタイムRT-PCR（タカラバイオ株式会社）

11

結果

病日	遺伝子型	IC			ELISA (NS1) ※ (COI)	コピー数 (copies/μl)
		NS1Ag	IgM	IgG		
1	3型	—	—	—	106.42**	8.0×10^7
4	3型	+	—	—	1093.28**	8.2×10^6
4	2型	+	—	—	8187.63**	6.1×10^3
7	1型	+	+	—	5873.18**	1.6×10^3
7	1型	+	+	—	4618.33**	4.4×10^4
7	1型	+	+	—	1217.14**	3.3×10^2
8	2型	—	—	—	54.37**	2.4×10^3
9	3型	—	—	—	21.77**	9.7×10^2
12	不明	—	+	+	13.06	—

※ 1.00以上で陽性

※※ 通常の測定では検出限界以上となったため希釈して測定

12

考察

- No.14の結果により、遺伝子検査や培養検査では陽性となるデング熱患者であっても、**IC法**ではNS1抗原、IgM抗体、IgG抗体の**全てが陰性**となる可能性が示唆された
- そのうちNS1抗原が検出されなかった要因として発症から病日が経過していたことによる**抗原量の低下、遺伝子型による検出感度の差、NS1抗原のアミノ酸変異**などが推測された

13

まとめ

- デング熱の診断においては、臨床経過や渡航歴などの疫学情報を重視し、IC法陰性の場合でもデング熱を除外せず、病日等を考慮した異なる検査法による確認が必要
- 積極的な検体の回収によりデータの蓄積を継続

14