



臨床研究部
からの
お便り

新型コロナウイルスの検査の工夫

第32回

年末年始にかけて、自費でPCR検査を受ける方が増えているという報道をよくみかけましたね。新型コロナウイルスの検査診断法は、日本で新型コロナウイルスが確認された当初PCR検査(ウイルスの核酸の一部を増幅する検査)のみでしたが、現在さまざまな検査の方法があり、より短時間で結果が出るようになりました。

当院でも検査導入時は、従来のリアルタイムRT-PCR法(ウイルスの核酸抽出を実施後に逆転写反応とリアルタイムで核酸増幅を検出する方法)を行っていました。この方法は、最小検出感度が高く、ごく微量のウイルスも検出できますし、そのウイルス量も測定可能な方法ですが、検査時間が長く操作が煩雑という面がありました。そこで、検査時間が短く、操作が比較的簡便なRT-LAMP法(LAMP法による核酸増幅検査)という検査も採用しました。しかし、RT-LAMP法は、迅速に結果を出すことを目的としている定性検査(定性検査とは陰性が陽性を判断する検査)であり、ウイルス量を推定することはできません。臨床検査は、なるべく早く陰性が陽性を知ることが重要です。しかし、まだ病気についてわからないことが多い新型コロナウイルスの遺伝子量を知ることが、臨床症状、疫学的リンク等とあわせて考えることにより、新しいメカニズム解明につながります。

そこで臨床研究部では、研究の一環として、RT-LAMP法を実施した残余検体で、ダイレクリアルタイムRT-PCR法(核酸抽出なしで逆転写反応からリアルタイムで核酸増幅を検出する方法)を用いて、ウイルスの遺伝子量を定量できないか実験を行ってみました。

対象は、RT-LAMP法による新型コロナウイルス検査用として採取した検体(LAMP検査用の専用処理検体)のうち陽性となった20本です。

方法は、ダイレクリアルタイムPCR法の検査キットと定量するために必要な検量線作成のためのコントロールを用いて行いました。

結果は、対象20本のうちダイレクリアルタイムPCR法で陽性となったのは16本でした。それら検体のウイルスの遺伝子量は、1.4コピー(遺伝子量の単位で1コピーがウイルス1

個に相当します)から3141コピーであったという事がわかりました。また、RT-LAMP法の検査結果は、陰性・陽性という表示の他に核酸増幅の様子がグラフで表示され測定時間のうち何分に増幅がみられたかという数値(Tt値といいます)も表示されます。このTt値とダイレクリアルタイムPCR法でコピー数を決定するときの増幅回数(Ct値といいます)に相関関係があることも確認できました。

20本と対象数は少ないですが、今回の実験によってRT-LAMP法を実施した残余検体から、さらに詳しくウイルスの遺伝子量が推定できるという可能性を確認することができました。また、LAMP法の増幅曲線におけるTt値をみることで、およそのウイルス遺伝子量を推察することも可能であることがわかりました。単に陽性・陰性という結果を見るだけでは無く、検査の過程である増幅曲線をみることによってより多くの情報が得られるんですね。

ウイルスの遺伝子量については、無症状者と有症状者で排出量が同等であるといった報告や、罹患者の背景や死亡率がウイルス量に相関しているといった報告もあり、たくさんの研究で測定されています。一方では、陽性と言っても、たとえば1000コピー以下ではほとんど感染性はないと考えられており、陽性と言うことが必ずしも感染性があるとは限りません。最近軽症者が多いのは、みなさんがマスクをされているので、吸入するウイルス量が低いからだという報告もあり、このウイルスについてはまだまだわからないことがいっぱいあります。今後も少しずつ実験を重ね、さまざまな取り組みに広がっていきたいと思っています。

(臨床研究部 根来 麻奈美、谷口 清州)

各検査の特徴

検査法	専用検査機器	最小検出感度	検査時間	同時測定検体数	検体採取液
リアルタイムRT-PCR	必要	5コピー	2~3時間	20 (ワンステップ法)	VTM(ウイルス輸送保存液)
RT-LAMP	必要	10コピー	40分	14検体	専用抽出液
自動 RT-PCR検査	必要	5コピー	40分	6検体	専用抽出液
抗原定量(CLEIA法)	必要	100コピー	17分	1検体ずつ自動測定	専用抽出液
抗原定性(迅速診断キット)	不要	1,600コピー	15分	1検体ずつ手動検査	キット抽出液