

氏名	Tacharoenmuang Ratana		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	乙第552号		
学位授与の日付	2020年3月8日		
学位論文題名	High prevalence of equine-like G3P[8] rotavirus in children and adults with acute gastroenteritis in Thailand 「タイの小児および成人ロタウイルス胃腸炎患者から高頻度に検出されたウマ様G3P[8]株の解析」 Journal of Medical Virology. 2020;92(2):174-186		
指導教授	吉川 哲 史		
論文審査委員	主査 教授	土 井 洋 平	
	副査 教授	村 田 貴 之	
	教授	高 橋 和 男	

## 論文内容の要旨

### 【緒言と目的】

ロタウイルス胃腸炎により、アジア・アフリカの発展途上国を中心に年間20万人以上の乳幼児が死亡している。タイにおいてもロタウイルス感染症の疾病負担は大きい。ロタウイルスゲノムは、全11本の分節2本鎖RNA(dsRNA)で構成される。ビリオン最外殻のVP7とVP4は、独立した2つの血清型(遺伝子型)GおよびPタイプを規定し、Gが36種類、Pが51種類と多様性は顕著である。さらに、残る9遺伝子にも多様性が認められ、全11本の遺伝子型VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5で表記する。ヒトロタウイルスの殆どはWa様遺伝子群あるいはDS-1様遺伝子群の2つに属するが、全11本に基づく遺伝子型は、それぞれG1/3/4/9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1とG2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2と表記される。ヒトロタウイルスの90%以上は、G1P[8]、G2P[4]、G3P[8]、G4P[8]、G9P[8]の5種類が占めるが、その分布は年と地域によって変遷し、異なる型の混合感染により多様性が増えていく場合がある。そこで、タイにおけるヒトロタウイルス株の遺伝子型の変遷とそのメカニズムを調査検討した。

### 【対象と方法】

タイの6地域(バンコク都、ウドンタニ県、ブエンカーン県、プーケット県、ターク県、チャントブリ県)の医療機関において、2014～2016年に急性胃腸炎と診断された小児および成人の入院および外来患者の便検体1867例を調査対象とした。10%便懸濁液からdsRNAゲノム抽出後、VP7とVP4遺伝子のsemi-nested RT-PCRを行い、G/Pタイプを決定した。また、dsRNAゲノムのポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)解析を行った。一部の検体については、サンガーダイレクトシーケンシングによりVP7遺伝子配列を、あるいはMiSeq次世代シーケンサーにより全ゲノム塩基配列を決定した。

### 【結果と考察】

ロタウイルスは便検体514/1867例(27.5%)で検出された。全体でのG/Pタイプの分布頻度は、G1P[8](44.7%)が最も多く、続いてG3P[8](33.7%)、G2P[4](11.5%)、G8P[8](7.0%)、G9P[8](1.3%)であった。加えて、非定型的G/PタイプとしてG3P[9](0.8%)、G3P[10](0.4%)、G4P[6](0.4%)、G10P[14](0.2%)も検出された。G1P[8]は2014年には64.4%を占めたものの、2016年までに6.1%と大きく検出頻度が減少した。一方で、G3P[8]は2014年にわずか5.5%であったものの2015年には65.3%となり、さらに2016年には89.8%を占めるまでに大きく増加した。PAGE解析においては、G3P[8]株の殆ど(135/140; 96.4%)がShortの泳動像を示したことから、これらG3P[8]株のバックボーン遺伝子はDS-1様遺伝子群であることが示唆された。そこで、Shortの泳動像を示したうち98株のG3P[8]についてVP7遺伝子の系統樹解析を行ったところ、これらは全て、世界各国から出現の報告が相次いでおり、世界的な感染拡大の兆しを見せているDS-1様(ウマ様)G3P[8]株であることが明らかとなった。さらに、代表的な2株(MS2014-0134とDBM2016-096)については全ゲノム塩基配列に基づく系統樹解析を行ったところ、NSP4遺伝子についてそれぞれヒトとウシのロタウイルスという、異なった由来の分節遺伝子を有することが示された。

### 【結語】

2014～2016年において、タイの小児および成人における最も主要なロタウイルス株がG1P[8]からG3P[8]に大きく変遷したことを見出した。さらに、これらG3P[8]株の大部分は、世界的な感染拡大の兆しを見せているウマ様G3P[8]株であることを示し、その遺伝子構成の詳細についても明らかにした。

## 論文審査結果の要旨

グループAロタウイルス(RVA)は下痢や嘔吐を主とする急性胃腸炎の原因ウイルスであり、乳児、幼児では重症化することがある重要な病原体である。RVAに対しては単価、5価などのワクチンが実用化されており、タイを含む途上国で乳児に対する接種が始まりつつある。RVAには多くの遺伝子型とこれに対応する血清型があり、有効なワクチンを展開するためにはその地域でのウイルスの疫学を経時的かつ網羅的にサーベイすることが必須である。本研究において申請者らはタイの6州で2014年から2016年までに収集された下痢便1867検体につきRVAの陽性率、その遺伝子型を調査した。このうち514検体でRVAが陽性であった。全体としてはG1P[8]株が最も多く、これにG3P[8]、G2P[4]、G8P[8]各株が続いた。しかし最多のG1P[8]株は2014年から2016年にかけて大きく減少しており、これに代わって2015年と2016年にはG3P[8]株が最も多くなった。このG3P[8]株の多くは電気泳動で狭い泳動距離を示すshort RNA profileを示し、RNAシーケンスによりウマ様G3P[8]株であることが判明した。このうち2株については更に全塩基配列を決定し、ウシ様またはヒト様のNSP4蛋白をコードしていることが明らかになった。

本研究はRVA感染症が多く発生するタイにおける大規模な分子疫学研究の成果であり、RVAの遺伝子型が短いスパンで交代していく疫学変化を分子レベルで詳細に解析したものである。ここで得られた知見はタイの公衆衛生政策に重要な情報を提供すると共に、今後のワクチン開発にも有益となることが期待される。また本論文はウイルス学分野での有力誌に採択・掲載されていること、参考論文と一貫した研究テーマが展開されていることも勘案し、学位論文に値するものと評価された。