

## 論文の内容の要旨

論文題目 **Molecular Epidemiology of Rotaviruses and Characterization of Unusual Strains Isolated from Humans and Piglet with Acute Gastroenteritis in Thailand**

和訳 タイ国において急性胃腸炎に感染したヒトおよびブタから分離した  
ロタウイルスの分子疫学と稀な株の特性に関する研究

指導教員 水口 雅 教授  
東京大学大学院医学系研究科  
平成17年4月入学  
保健学博士課程  
国際保健学専攻

氏名 **Khamrin Pattara** (カムリン・パターラ)

## 要 旨

A 群ロタウイルスは乳幼児や新生仔ブタを含む多くの若い動物に急性胃腸炎や重篤な下痢を引き起こす最も重要な病因である。チェンマイ州におけるロタウイルス感染の研究は約 20 年前に始まった。蓄積されたデータからそれぞれの年でロタウイルス最頻出ゲノタイプは変化することがわかった。この研究ではタイ国、チェンマイ州で A 群ロタウイルスのゲノタイプ分布パターンが変化していることを示し、ヒトと仔ブタから分離したロタウイルスの稀な株の分子的特性について報告する。2002-2004 年の研究では、下痢で入院した小児の便検体から RT-PCR 法で A 群ロタウイルスの存在を調べ、その G および P ゲノタイプを異なったプライマー・セットのプールを使用した multiplex-PCR 法で同定した。下痢で入院した小児患者合計 263 の便検体の結果から、98 検体(37.3%)は A 群ロタウイルス陽性であった。4 種類の G、P ゲノタイプの組み合わせ、G1P[8]、G2P[4]、G3P[9]、G9P[8]がこの研究で見いだされた。年間の流行における G/P ゲノタイプ組み合わせの比較頻度を調べると、驚くべきことに 2000-2002 年のみ、G9P[8]が最も優勢なゲノタイプであることがわかった。しかし、2003 年から 2004 年の間ではその流行頻度は急激に低下した。一方 G2P[4]は 2003 年の一年間に再び増加し、G1P[8]は 2004 年度の最頻出株となった。これらの観察の結果からタイ国、チェンマイ州で流行している A 群ロタウイルスゲノタイプの分布は年ごとに変化することがわかる。

さらにこの研究では二つの一般的でないヒトロタウイルス G3P[3]と G3P[9]ゲノタイプの株を見だし、その分子遺伝的解析を行った。これらの株はヒトに時折見いだされるが一般的ではないゲノタイプである。ヒトロタウイルス G3P[3](CMH222 株)の VP4、VP6、VP7、NSP4 遺伝子分節の配列解析によりその特性を調べ、GenBank のデータベース上の参照株の配列と比較した。CMH222 株の VP4 配列はヤギの P[3](GRV 株)と核酸レベルで 90.6%、アミノ酸レベルで 96.4%と最も相同性が高かった。興味深いことに VP7 配列はサルの G3 ロタウイルス (RRV 株) と核酸レベルで 88.0%、アミノ酸レベルで 98.1%と最も相同性が高かった。これに対してヒトロタウイルス G3P[3]の参照株(Ro1845 と HCR3 株)とくらべると VP4 と VP7 の同一性は低かった。さらに、VP6 と NSP4 の配列解析ではサルロタウイルス VP6 の Subgroup I (SG I)、ヤギロタウイルス genetic group C とそれぞれ関連性が高かった。これらの結果から CMH222 株はリアソータント株、すなわち複数回の種間感染を繰り返した結果として、ヒト、ヤギ、サル由来のウイルスの分節集合が起きたと考えられる。この研究で特性を調べたほかの稀なロタウイルス株は G3P[9]である。これらの 2 株、すなわち CMH120/04 株と CMH134/04 株は 2004 年に分離された。この二つの株については VP6、VP7、VP8\*、NSP4 遺伝子分節の分子解析を行った。この二つの株のゲノム配列を参照株と比較すると、G3P[9]である AU-1 prototype 株との近い関係が明らかとなった。すなわち VP8\*遺伝子の解析をしたところ、P[9]である ヒトロタウイルスやネコの参照株と、アミノ酸配列が高レベル (94.9-98.3%) で一致した。最も高い同一性はヒトロタウイルス AU-1 株との間にあった。VP7 遺伝子配列の解析結果では G3 ヒトロタウイルスである KC814 株と最も一致した。これら VP7 と VP8\*遺伝子の結果から、CMH120/0 株と CMH134/04 株は G3P[9]ゲノタイプに属することがわかった。さらに VP6 遺伝子の分類では SG I に、NSP4 遺伝子では genetic group C に分類されることがわかった。これら小児科患者からの稀な G3P[9]ロタウイルスに関する知見は、タイ国のチェンマイ州におけるヒト A 群ロタウイルスが遺伝的にも、抗原的にも多様性を持つことを示している。我々の知る限り、タイ国においてロタウイルス G3P[3]と G3P[9]の同定は初めてである。

タイ国チェンマイ州におけるブタロタウイルス感染の疫学調査を 2000 年 6 月から 2001 年 7 月までおこなった。A 群ロタウイルスが陽性であった一検体 (CHP034 株) では、この株の G ゲノタイプ、P ゲノタイプはゲノタイプング用 multiplex RT-PCR 法では決定できなかった。そこでこの研究ではこのブタロタウイルス (PoRV) CMP034 株について VP4、VP6、VP7、NSP4、NSP5/6 遺伝子の核酸配列を調べることでさらに検討した。VP4 遺伝子の分子特性の結果から、現在まで確認されている 26 種類の P ゲノタイプとはアミノ酸レベルで 56.7-76.6%と低い一致率であることがわかった。この VP4 配列の系統樹解析の結果、CMP034 株は他の既知の 26 種類の P ゲノタイプとは離れた関係にあり、別の分枝上に存在した。VP7 遺伝子の配列解析では PoRV の G2 様参照株 34461-4 とアミノ酸レベルで 94.7%の一致であったが、ヒトの G2 ロタウイルスとは低い同一性であった。VP7 遺伝子の系統樹解析では G2 ロタウイルスには宿主由来を基盤として 2 つの主たる linkage がある。

ブタロタウイルス CMP034 株は PoRV 34461-4 株とともに、主たる G2 ヒトロタウイルスとは別の新しい linkage に分類された。さらに、この株はブタロタウイルス類似の NSP5/6 に、そして VP6 は SG I に分類される一方、NSP4 では genetic group B のヒトロタウイルスに似た特性を持っていた。これらの知見より CMP034 株は新しい P[27] ゲノタイプと考えられた。

まとめると今回の研究ではタイ国チェンマイ地方で 2002 年から 2004 年において下痢で入院した小児から得たロタウイルスの G、P ゲノタイプの頻度を調べその分布が変化していることを示した。さらにロタウイルスのいくつかの稀な株や新しい P[27]ゲノタイプを報告した。これらの株の遺伝子配列の分子解析からヒトロタウイルスの進化が動物のロタウイルスの進化と強く関連しておきることがはっきりした。