

〔課程-2〕

審査の結果の要旨

氏名 プハム ティ キム ニヤン

日本、バングラデシュ、タイ、ベトナム、スリランカの小児急性胃腸炎の原因となるウイルスの中で、最近注目されているアイチウイルス、ヒトパレコウイルス、ヒトボカウイルスに焦点を絞り主として分子疫学的研究を行った。下記の結果を得ている。

1. 小児胃腸炎糞便検体からのアイチウイルス陽性率は、日本、バングラデシュ、タイ、ベトナムでそれぞれ 6.5%, 2.5%, 0.9%, 1.6%であった。バングラデシュ、タイ、ベトナムでは初めての解析結果である。これらの結果は日本でのアイチウイルスの分子疫学を理解するのに有益な情報であった。

2. 我々が検出したアイチウイルス株および既に報告されている参照株のカプシド領域の遺伝子解析から、アイチウイルスは大きく2つに分けられた。1つは遺伝子型 A で日本、ドイツ、タイ、ベトナムの株である。もう1つは遺伝子型 B でバングラデシュやブラジルの株である。2つの遺伝子型の塩基の隔たりは 12.7%かそれ以上であった。塩基的な隔たりはカプシド全体に及んでいた。少なくとも VP0 領域で 14 個のアミノ酸が遺伝子型特異性を示していた。カプシド領域を基にしたアイチウイルスの分類は世界で初めてである。

3. さらにアイチウイルスの遺伝子型 A と B の塩基の違う部位をもとに、新しいプライマーを設定することにより、遺伝子型 A と B を Nested PCR で分けることが出来た。この新しい方法は遺伝子型を区別するのに感度、精度において十分であることがわかった。

4. ヒトパレコウイルスを日本、タイ、スリランカの検体から 8.1%, 14.6%, 8.3% の高い率で見出した。これはこの3カ国で最初の小児急性胃腸炎患児からの報告である。従ってヒトパレコウイルスは胃腸炎を来す稀なウイルスではないことがわかった。以前の研究およびこの研究から小児のウイルス性下痢症の起因ウイルスを調べる場合に、ヒトパレコウイルスを含めて行うことが示唆された。ヒトパレコウイルスの遺伝子型の頻度がタイ、スリランカ

で国によって異なっていた。さらにスリランカの検体での遺伝子解析から、新しい 10, 11 遺伝子型の臨床および分子疫学的成績を初めて報告した。

5 . ロタウイルス、ノロウイルス、アデノウイルス、サポウイルス、アストロウイルス陰性の日本、タイの急性胃腸炎の子どもの糞便が 2%、1.2% にヒトボカウイルスを見出した。2 国の成績からは小児の急性胃腸炎の大きな起因ウイルスではないと思われた。日本では遺伝子属 1 と 2 が、タイでは 2 属が見られた。日本とタイのヒトボカウイルスの疫学的特徴を提示した。

6 . アイチウイルス、ヒトパレコウイルス、エンテロウイルスおよびヒトボカウイルスを同時に検出できる新しい RT-multiplex PCR 法を開発した。これは小児の急性胃腸炎に応用された初めての報告である。RT-monoplex PCR に対して感度、精度ともに高く有効な方法であり、さらに全体的には検査時間も短縮でき、試薬も節約できた。

以上をまとめると

アイチウイルス、ヒトパレコウイルス、ヒトボカウイルスにおいてこれらの国での初めての発見あるいは報告であり、特にヒトパレコウイルス 10, 11 遺伝子型の報告がないので今回の成績は貴重なものと言える。したがってこれらのウイルスも視野にいれた小児急性胃腸炎のルーチンの検査の必要性が示唆された。アイチウイルスのカプシド領域を用いた分類の他に、新しくプライマーを設定することにより nested PCR による遺伝子型 A と B とを区別することが出来た。またヒトパレコウイルスを分類するために、2 つの新しいプライマーを first PCR として設計し、より検出を可能とした。さらに、アイチウイルス、ヒトパレコウイルス、エンテロウイルス、ヒトボカウイルスを臨床検体から検出する新しい multiplex PCR 法を作製した。これらの開発した PCR 法は研究のみならず臨床応用として可能な事がわかった。