

# 内田隆一 論文内容の要旨

## 主 論 文

Molecular Epidemiology of Rotavirus Diarrhea among Children and Adults in Nepal:  
Detection of G12 Strains with P[6] or P[8] and a G11P[25] strain.  
ネパールにおける小児と成人のロタウイルス下痢症の分子疫学:複数の G12、  
P[6]ないし P[8]株と一つの G11P[25]株の検出

Ryuichi Uchida(内田隆一), Basu Dev Pandey, Jeevan Bahadur Sherchand, Kamurddin  
Ahmed, Michiyo Yokoo(横尾美智代), Toyoko Nakagomi(中込とよ子), Luis E. Cuevas,  
Nigel A. Cunliffe, C. A. Hart, Osamu Nakagomi(中込治)

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY • 44 巻 10 号 p3499-3505. 2006 年

長崎大学大学院医学研究科  
新興感染症病態制御学系専攻  
(指導教授: 中込治 教授)

## 緒 言

ロタウイルス下痢症により発展途上国を中心に世界で年間 70 万人の小児が死亡しているといわれ、現在 2 つの弱毒生ワクチンが開発され世界規模での導入が待たれている。ロタウイルスの中和抗原である表面タンパク VP7 と VP4 により、G type (G 血清型/G 遺伝子型)、P type (P 血清型/P 遺伝子型) が規定され、ワクチン導入に際し流行株の G および P type の把握は不可欠である。一方 electropherotype はロタウイルス株のゲノムの多様性の評価、個の株の同定に有用である。成人・年長児のほとんどが過去にロタウイルス感染を経験しているが、反復感染も生じることが知られ、年齢群ごとの流行株の比較は本症の伝播と防御の理解に重要である。ネパールの小児死亡率は高いが、本症の疫学情報は少なく、流行株の分子疫学的解析は未だ行われていない。本研究の目的は、ネパールの小児・成人における流行ロタウイルスの G および P type と electropherotype の分布を明らかにし、ワクチンの有効性を揺るがす新興株の出現を明らかにすることである。

## 対象と方法

2003 年 9 月から 2004 年 8 月の 1 年間にネパール国カトマンズ市の 2 つの拠点病院において小児・成人の急性下痢症患者 1315 名から便検体を採取し、ELISA 法により A 群ロタウイルス抗原の検出を行った。同陽性検体よりフェノール抽出にてロタウイルスゲノム RNA を抽出した。VP7 遺伝子を RT-PCR で増幅後、G type 特異的プライマー

(G1, 2, 3, 4, 8, 9)により Nested PCR を行い G type を決定し、同様に VP4 遺伝子を増幅後、P type 特異的プライマー (P[8], [4], [6], [9]) にて P type を決定した。RT-PCR で G type 判定不能の検体は、VP7 遺伝子の Direct Sequencing により抗原決定領域 A, B, C のアミノ酸配列を標準株と比較し G type を決定した。ロタウイルスゲノム RNA のポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、11 本のゲノム RNA 分節の泳動パターンを個々に比較し electropherotype を決定し、E1, E2, E3 のように命名した。

## 結 果

急性下痢症患者 1315 名の便検体のうち 153 検体 (12%) で ELISA によりロタウイルスが検出され、年齢別には 5 歳未満で 116/666 名 (17%)、5~14 歳の年長児で 18/260 名 (7%)、15 歳以上の成人で 19/385 名 (5%) がロタウイルス下痢症だった。本症患者のうち 3~23 ヶ月の小児が 68% と大半を占め、3 ヶ月未満の小児は 2% だった。

同陽性検体中 142 検体で VP7 遺伝子が増幅され、G1P[8] が 100 検体 (71%) と優位を占め、G12P[6] または P[8] が 29 検体 (20%) と第 2 位を占めた。3 つの年齢群いずれでも、G1P[8] が 69~76% と同様に優位を占め、G12 もいずれの年齢群でも認められた。

また同陽性検体中 57 検体 (37%) において 19 種類の多様な electropherotype が認められた。これらは G2P[4] の株を除きすべてが Long RNA pattern を示した。このうち E3, E7, E9 の 3 種の electropherotype があわせて 33 検体 (58%) と共同で優位を占めた (co-dominant)。これらは同じ G1P[8] でも、年齢別に見ると E9 は 5 才未満が多く、E3 は 5 歳以上が多い傾向が認められた (統計学的有意差なし)。G12 の検体でも、7 種類の electropherotype が確認された。

## 考 察

G および P type の分布に関していずれの年齢群においても差異なく、現行ワクチンが含む G1P[8] が優位を占めた。これは年長児や成人のロタウイルス下痢症は G2P[4] が多いとする過去の文献と対照をなす。一方、多様な electropherotype の存在はネパールのロタウイルスのゲノムの多様性を示し、その分布に関して、同じ G1P[8] でも年齢による差異の可能性が示唆された。electropherotype の差異が、ロタウイルスの防御に関わる何らかの差異を包含するか否か今後明らかにすべき問題である。

ネパールの注目すべき特徴は G12 株が全体の 20% を占め、かつ、すべての年齢群で検出され、さらに G12 の中でゲノムの多様性が認められたことである。また世界的に見ても、G12 株は従来ごく稀に検出されたのみだったが、最近インドとアルゼンチンで、各々 17%、7% とかなりの比率で検出された。それゆえ G12 ロタウイルス株はワクチンの有効性を揺るがしうる新興株として、今後継続した監視が必要である。また、G11P[25] 株の検出はバングラデシュに続き世界で 2 番目である。ネパールのロタウイルス株のゲノムの多様性は新たな株出現の温床となる可能性が示唆される。