

Doan Hai Yen 論文内容の要旨

主 論 文

Molecular evolution of genotype G2 human rotavirus strains

遺伝子型 G2 ヒトロタウイルスの分子進化

Doan Hai Yen

(團 海燕)

テーシス論文

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：中込 治 教授)

緒 言

世界的に使われているロタウイルスワクチンには G1P[8] 単価のヒトロタウイルスワクチン (Rotarix) と 5 価のヒトロタウイルス・ウシロタウイルス組み換え体ワクチン (RotaTeq) がある。最近、世界各地で、G2P[4] 株の増加が見られ、G2P[4] 株が G1P[8] である単価ワクチン株と血清学的に交差性のないこともあって、G2P[4] 株への関心が高まっている。研究 1 では、データベース上に登録されている G2 ロタウイルス VP7 遺伝子と新たに決定したネパールの G2 VP7 遺伝子の塩基配列情報にもとづいて、34 年間にわたる G2 株の分子進化的変遷を解析することを目的とした。一方、G1P[8] のヒトロタウイルスに代表される Wa genogroup のウイルス株と G2P[4] に代表される DS-1 genogroup の株との間で遺伝子組み換え体が発生することが知られている。そこで、研究 2 では、以前に知られていたがよく解析されていなかった G2P[4] の単一遺伝子分節組み換え体である AU605 株と G2P[4] のプロトタイプである KUN 株の遺伝子型構成を全ゲノム解析によって明らかにすることを目的とした。

対象と方法

ロタウイルス遺伝子分節の末端部分の配列がよく保存されていることを利用して、プライマーを設定し、各遺伝子分節のほぼ全長を逆転写-PCR 法により増幅し、サンガー法により塩基配列を決定した。さらに、G2 株のプロトタイプである DS-1 株をキーとして BLAST により DDBJ のデータベースを検索し、得られた約 500 の候補配列の中から 615 塩基 (アミノ酸残基番号で 87 から 291 に相当する) 以上の長さを持つ配列で、かつ、検出年や検出国などの文献情報が存在する 339 配列を選択した。これにネパールの G2 VP7 遺伝子 45 配列を加えた 384 配列を対象に MEGA4 (N J 法) により解析した。

結 果

研究 1 における系統樹解析により G2 VP7 遺伝子には 4 つの系統といくつかの亜系統が存在することが明らかになった。これらの系統と、ウイルス中和に関与すると推定されている抗原部位にある 4 つのアミノ酸残基 (87, 96, 213, 242) に存在するアミノ酸との間には一定の対応関係があった。また、D96N のアミノ酸変異を特徴とする系統 IVa とその亜系統である S242N を特徴とする IVa-3 が近年もっとも優位を占める G2 VP7 遺伝子であった。とくに最近の 5 年間では、事実上すべての G2 株が系統 IVa となり、その 3 分の 2 を IVa-3 が占めている。2004 年以降に G2 株が急増したネパールの株はすべて IVa-3 であったが、ブラジルでは 2006～2007 年を境に IVa-1 から IVa-3 への変遷が起こっていた。研究 2 においては、AU605 株および KUN 株を全ゲノム解析したところ、AU605 株は、G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N1-T2-E2-H2 という遺伝子型構成をもつ単一遺伝子組み換え体であることが分かった。この結果と以前の RNA-RNA hybridization の結果を合わせて評価することにより、わが国における G2P[4] ロタウイルスの実に 3 分の 1 が NSP2 遺伝子分節の単一遺伝子組み換え体であることが分かった。

考 察

研究 1 から、ロタウイルス G2 株の VP7 遺伝子は、1 つの系統の中から新しい系統が出現し、それが優位となり、その中からまた新たな系統が出現するというダイナミックな変化の中で進化しているものと推定された。また、研究 2 から、G2P[4] ロタウイルスは、G1P[8] と G2P[4] という中和抗原をもつ表層タンパク質のみならず、Wa genogroup と DS-1 genogroup のウイルス株とが安定な組み換え体を形成してそのバランスの中でたくみに進化しているものと思われた。このように G2P[4] ロタウイルスのゲノムは、ダイナミックな進化をしていることがうかがわれ、そのメカニズムあるいは寄与因子を特定することがワクチン導入後に起こる遺伝子型の変化を解釈する鍵となると思われる。