

Do Phuong Loan 論文内容の要旨

主 論 文

Evolutionary Mechanisms of *Rotavirus A* as studied from Molecular Characterisation of the G2 VP7 Genes and a Rare G1 P[6] Strain Isolated in Japan

G2 VP7 遺伝子およびわが国での希少分離株である G1 P[6] 株の分子解析から考究した
ロタウイルス A の分子進化機構

(Do Phuong Loan 杜芳鸞)

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

遺伝子解析技術の長足の進歩が重症下痢症の最も重要な病因であるロタウイルス A (RVA) の分子疫学的研究を促進してきた。ロタウイルスの分子疫学的研究では、野生株ロタウイルスが時間的、地理的、人間集団の上でどのように分布し、変化していくかという解析を通して RVA の進化のメカニズムを研究する。これには、集団中の優勢な流行株の解析を行う場合と稀な特異な分離株の解析を通して進化のメカニズムをさぐる手がかりを得る場合がある。本研究では、教室の保存ウイルス検体を利用して、日本における G2 ウイルス株の主要中和抗原遺伝子分節 (VP7 遺伝子) の 31 年間の進化の様相を明らかにするとともに、日本で初めて分離された希少株である G1P[6] ウイルス (AU19 株) の全ゲノム解析を通して、ロタウイルスの分子進化のメカニズムの解明に寄与することを目的とした。

対象と方法

ロタウイルス遺伝子のよく保存された末端に設定したプライマーを使った逆転写-PCR 法により、過去 31 年間に収集された 35 株の G2 VP7 遺伝子および AU19 の各遺伝子の全長を増幅し、サンガー法により塩基配列を決定した。決定した塩基配列は、BLAST により DNA データベースを検索して取得した配列を加えて、MEGA 5 により分子系統解析を行った。

結 果

日本の G2VP7 遺伝子は、過去 30 年間にわたり、4 つの系統といくつかの亜系統を段階的に進化してきた。2004 年以降の G2 株のほとんどすべてが属する系統 IVa とは異なる 1980 年代の旧段階の系統群 (IV except IVa) から新しい系統が出現していることを見出した。この新系統は世界中に広がった系統 IVa の特徴である中和抗原エピトープの変異 (D96N) をもっていた。

AU19 の遺伝子型構成は、G1-P[6]-I5-R1-C1-M1-A8-N1-T1-E1-H2 であり、分子系統樹の解析と合わせて、NSP 5 遺伝子以外の遺伝子分節がブタロタウイルスと酷似する一方、NSP 5 遺伝子はブタロタウイルスには全く見られない遺伝子型 H2b であった。したがって、AU19 は、種間伝播を起こしたブタロタウイルスが、きわめてまれな再構成型 NSP 5 遺伝子である H2b をもつヒトロタウイルスとの遺伝子組み換えを起こした変異体であることが分かった。

考 察

わが国のロタウイルス G2 株の VP7 遺伝子は、日本という地理的に限局した地域でみても、1 つの系統から次の系統へと段階的進化をとげていることが分かった。また、旧系統の中から最近になって出現した新系統は、系統 IVa が世界的に広がった原因と思われる中和抗原エピトープに D96N 変異をもつことから、今後世界的な拡散の可能性があると思われた。

AU19 は、種間伝播を起こしたブタロタウイルスとヒトロタウイルスとの遺伝子組み換え体であるが、これまでに検出された H2b 遺伝子との遺伝距離が非常に大きいことから、このようなウイルスが気づかれることなく長期間にわたって低頻度で伝播していたと思われた。

結論

ロタウイルスのゲノム分節の 1 つである G2・VP7 遺伝子は、点突然変異の蓄積により時代とともに断続的かつ段階的に進化していた。また、まれな頻度で動物ロタウイルスが種間伝播を起こし、ヒトロタウイルスの進化に寄与していると思われた。

基礎となった学術論文

1. [Do LP, Nakagomi T, Doan YH, Kitahori Y, Nakagomi O. Molecular evolution of the VP7 gene of Japanese G2 rotaviruses before vaccine introduction. *Archives of Virology* 152: 315-319, 2014](#)
2. [Do LP, Nakagomi T, Nakagomi O. A rare G1P\[6\] super-short human rotavirus strain carrying an H2 genotype on the genetic background of a porcine rotavirus. *Infection Genetics and Evolution* 21: 334-350, 2014](#)