

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	ROHAIZAT Hassan Mohd
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 884 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	2013 年から 2015 年にマレーシアで流行したインフルエンザ B 型山形系統の分子疫学的特徴およびノイラミニダーゼ阻害剤に対する感受性に関する研究
論文審査委員	主査 教授 菊地 利明 副査 教授 松本 壮吉 副査 教授 齋藤 玲子

博士論文の要旨

【目的】 マレーシアにおける B 型インフルエンザ (B 型) の分子疫学的特徴およびノイラミニダーゼ阻害剤 (NAI) に対する薬剤感受性について今まで十分調査されてこなかったため、それらを解明することを目的とした。

【方法】 2013 年 8 月～2015 年 5 月に、マレーシア国セランゴール州においてインフルエンザ様症状の患者 302 名から、迅速診断キットを用いてインフルエンザウイルスをスクリーニングした。ウイルス分離培養とリアルタイム PCR を用いてウイルス系統を判別した。分離株よりヘマグルチニン (HA) およびノイラミニダーゼ (NA) 遺伝子のシークエンスを行った。遺伝子系統樹解析を用い、インフルエンザワクチン株や、同時期にアジア周辺諸国で採取された株と比較した。さらに、4 種の NAI に対する IC_{50} (50%阻害濃度) を蛍光法により測定することにより薬剤感受性を判定した。

【結果】 検出された全ての B 型山形系統の HA および NA 遺伝子は WHO が 2015 年の南半球ワクチン株として指定した B/Phuket/3073/2013 に代表されるクレード 3 に属していた。HA 遺伝子の大半は、遺伝子系統樹において、タイやインドネシアの B 型山形系統クレード 3 の株の周辺に集まっていた。特に B/Malaysia/14MA116/2015 に代表される 10 株は、ほぼ同一配列を持ち、ブートストラップ値が 85%を示して独立したグループを形成した。NA 遺伝子に関しては、HA 遺伝子と同様に流行株はクレード 3 であり 2015 年の南半球ワクチン株と同じグループに属していたが、2014 年の B 型ワクチン株 (クレード 2) とは異なっていた。検出された B 型山形系統の NA 遺伝子は、タイ、ミャンマー、タイ、ネパール、香港、日本およびオセアニアの株と近縁であった。興味深いことに、HA 遺伝子の同一グループ 10 株のうち、8 株は NA も同じグループに属していたが、2 株は少し異なる配列をもち別のマレーシアの株と集簇していた。これは、マイナーではあるものの、クレード内の遺伝子再集合が HA 遺伝子と NA 遺伝子の間で起こったことを示している。マレーシアで採取された B 型山形系統株は、日本の株 43 株同様に 4 種類全ての NAI に対して感受性であった。

【考察】 我々が分離した B 型山形系統は、2014 年の南半球ワクチン株 (クレード 2) とは明らかに抗原性が異なり、B/Phuket/3073/2013 様 (クレード 3) ウイルスに近縁であるため、2014 年の南半球ワクチンが有効ではない可能性がある。東南アジアを巻き込んだ WHO のサーベイランスが不

十分であることが原因の1つである。B型ワクチン不一致によるワクチン効果への影響を最小限に抑えるために、WHOは2013年に加盟国に対し、従来の三価ワクチンまたは、B/Brisbane/60/2008様ウイルスを加えた2つのB型を含む四価ワクチンを推奨することを決定した。我々は、HA遺伝子とNA遺伝子でグループが異なる非常にマイナーなクレード内遺伝子再集合株を見いだした。一般的にB型は遺伝子再集合が起りやすく、B型山形とB型ビクトリアでの系統間や、B山形系統のクレード間遺伝子再集合が知られている。我々の分離株からはそのようなメジャーな遺伝子再集合株はいずれも検出されなかった。B型はアミノ酸のポイント変異によって生じる変化より、遺伝子再集合を繰り返して進化している。今後も新たな遺伝子再集合により新しい抗原性の株が出現する可能性があるため監視が必要である。我々がマレーシアで分離したB型はNAIであるペラムビル、オセルタミビル、ザナミビル、ラニナミビルに対して全て感受性であった。マレーシアの流行株への本格的なインフルエンザの薬剤感受性調査としては本報告が初である。マレーシアでは通常、インフルエンザの治療にNAIを用いていない。しかし、今後NAIの処方がマレーシアで増えた場合や輸入による耐性株の増加はあり得る。このため、日常のサーベイランスで感受性を監視する必要がある。

【結語】 本研究において調査したマレーシアのB型は全て山形系統であり、クレード3に属していた。これらの流行株はマレーシアに近接した南アジアおよびオセアニア諸国で流行していたB型株と遺伝子的に近縁であった。2014年WHO推奨の南半球のB型ワクチン株とは異なっていた。HA遺伝子とNA遺伝子でグループが異なる、マイナーなクレード内遺伝子再集合体が2株見つかった。本研究において調査した全てのB型株は4種類のNAIに対して感受性であった。マレーシアで流行するB型の発生動向、ウイルスの遺伝学的特徴および薬剤感受性を明らかにするために今後も継続的な調査が必要である。

審査結果の要旨

マレーシアにおけるB型インフルエンザウイルスの分子疫学的特徴やノイラミニダーゼ阻害剤に対する薬剤感受性について、十分な情報は得られていない。そこで、2013年8月～2015年5月にマレーシア国セラゴール州の患者から分離培養したインフルエンザウイルスを用いて、その遺伝子と薬剤感受性を解析した。その結果、検出された全てのB型インフルエンザウイルスは山形系統で、WHOが2015年の南半球ワクチン株として指定したB/Phuket/3073/2013に代表されるクレード3に属していることがわかった。HA遺伝子の大半は、遺伝子系統樹において、タイやインドネシアのB型山形系統クレード3の株の周辺に集まっていた。NA遺伝子もクレード3で、2015年の南半球ワクチン株と同じグループに属していた。そしてこれらのB型山形系統株はすべて、ノイラミニダーゼ阻害剤に対して感受性であった。結論として、今回分離培養されたB型インフルエンザウイルスは、マレーシアに近接した南アジアおよびオセアニア諸国で流行していた株と遺伝子的に近縁であった。本論文は「マレーシアで流行するインフルエンザウイルスを今後も調査し続けることが、この地域の保健衛生上重要であること」を示した点に、博士論文としての価値を認める。