

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	日比野 亮信
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 824 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	Molecular epidemiology of human respiratory syncytial virus among children in Japan during three seasons and hospitalization risk of genotype ON1 (日本の小児における 3 シーズンにわたる RS ウイルスの分子疫学と遺伝子型 ON1 の入院リスクについて)
論文審査委員	主査 教授 齋藤 昭彦 副査 教授 菊地 利明 副査 教授 齋藤 玲子

博士論文の要旨

【背景と目的】 RS ウイルスは乳幼児の急性下気道感染症の主要な原因である。RS ウイルスは A 型と B 型の 2 つのサブグループに分かれ、さらに G 蛋白上の第二超可変領域(HVR2)の塩基配列をもとに遺伝子型に分けられる。2010 年にカナダから A 型の新遺伝子型、ON1 が報告された。ON1 は HVR2 に 72 塩基挿入をもつユニークな塩基配列を有しており、急速に世界に拡散し世界中で優勢株となっている。2014 年 12 月の国立感染症研究所の報告では、RS ウイルス感染症が 3 万件を超えた。本邦では全国的な RS ウイルスの分子疫学調査が施行されていないため、新遺伝子型の流行状況や大規模流行と遺伝子型との関係性について明確になっていない。申請者らは 2012-2013 から 2014-2015 までの 3 シーズンで、全国的な RS ウイルスの分子疫学調査を本邦で初めて行った。さらに遺伝子型と入院リスクとの関係性についても検討した。

【対象と方法】 2012 年 9 月から 2015 年 8 月までの 3 シーズンに 17 都道府県(北海道、青森県、東京都、千葉県、神奈川県、新潟県、静岡県、愛知県、三重県、滋賀県、大阪府、兵庫県、香川県、山口県、福岡県、熊本県、沖縄県)の 18 小児医療施設で調査を行った。対象としたのは 5 歳以下で上気道症状を主訴に受診し、迅速診断キットでスクリーニングされた症例とした。鼻腔吸引もしくは鼻腔スワブから検体を採取した。同時に年齢、発症日、出生時情報などの患者基礎情報や臨床経過などを記録した。リアルタイム PCR でサブグルーピングを行い、その後 G 蛋白上の HVR2 についてシーケンス解析を施行し遺伝子型別と系統樹解析を行った。本研究で収集された RS ウイルス症例検体と、国の感染症発生動向調査の 5 類定点報告の RS ウイルス患者の報告数もとに疫学曲線を作成し、流行パターン解析を行った。さらに、RS ウイルスの遺伝子型 (NA1、ON1、BA9、BA10)が入院リスクに影響するか単変量・多変量解析を行い検討した。

【結果】 2012 年 9 月から 2015 年 8 月までの 3 シーズンで収集された呼吸器検体は 744 件 (シーズン別では 358 件、260 件、126 件)だった。744 件の検体のうち 572 件がリアルタイム PCR で RS ウイルス陽性となり、うち 400 件が A 型、172 件が B 型だった。2012-2013

シーズン、2014-2015 シーズンでは A 型が優勢株であり、2013-2014 シーズンでは A 型と B 型が同程度検出された。シーケンス解析できた A 型の検体は 356 件で NA1 が 242 件、ON1 が 114 件であった。一方 B 型は 87 件がシーケンス解析でき、BA9 が 60 件、BA10 が 27 件であった。本研究では、2012-2013 シーズンの優勢株は NA1 だった。72 塩基挿入がある特徴的な ON1 は神奈川県と新潟県で 2012 年 11 月に最初に検出された。2013-2014 シーズンには ON1 の検出は、沖縄県では主流株となったが、その他の地域ではまだ劣勢株であった。2014-2015 シーズンは、我々の調査で全国的に優勢株が ON1 へと移行し、同時に 2014 年 12 月に感染症発生動向調査でこれまでで最大の RS ウイルス患者数が報告された。本研究中、入院症例は 66 症例、非入院症例は 383 症例であった。単変量解析の結果、6 か月未満の乳児、早産児・低出生体重児、基礎疾患を有している、遺伝子型が ON1 であることが入院率を有意に上昇させていた。これらすべての因子において補正し多変量解析をしたところ、ON1 は NA1 よりも 6.92 倍 (補正あり : 95%信頼区間 ; 3.45~13.90)入院率が有意に高かった。

【考察】 本研究では 3 シーズンで全 17 都道府県において RS ウイルスの分子疫学調査を施行した。シーズンが移り変わるにしたがって、RS ウイルスの優勢サブグループが A 型から B 型、また A 型へと変化することを認めた。これは申請者らの先行研究や他国からの報告とも一致する現象であった。申請者らは本邦で始めて 2014-2015 シーズンに A 型の優勢株が NA1 から ON1 へ移行したことを認めた。近隣のアジア諸国では 2012-2013 シーズンから ON1 が優勢株として流行していることが報告されており、本邦は 2 シーズン遅れての流行であった。ON1 が優勢株として流行するのと同時期に国立感染症研究所からの RS ウイルス感染症の報告が最多(3 万件)となったことから、両者間には関係があると考えられた。本研究中、沖縄県では ON1 の流行が本土よりも 1 シーズン先駆けて確認できた。沖縄県の気候条件が新遺伝子型の流行に影響しているか検討することも今後の課題に入れていきたい。また、申請者らは RS ウイルスの遺伝子型が ON1 であることが、NA1 と比較して 6.92 倍入院リスクが高くなることを発見した。他国からの報告では遺伝子型による臨床的な違いは見つかっていないが、本研究の結果は遺伝子型が臨床症状に影響する可能性があることを示唆している。

【結語】 RS ウイルスの分子疫学調査は流行株の特徴や流行パターンを明らかにし、大規模流行の原因を検討するのに有益であった。今後は、RS ウイルスの、より長い領域を遺伝子解析し、病原性や伝播力に RS ウイルスの遺伝子変異がどのように関連するのか検討していくことを新たな課題として、RS ウイルスの分子疫学調査を今後も継続していきたい。

審査結果の要旨

RS ウイルスは小児の急性下気道炎の主原因である。最近、G 遺伝子の第 2 超可変領域に 72 塩基挿入を有する新遺伝子型の ON1 が報告された。本研究ではこれまでにない全国的な RS ウイルス(RSV)の分子疫学調査を行い遺伝子型と流行の大きさについて調査し、同時に ON1 と他の遺伝子型の入院リスクを比較した。2012 年 9 月~2015 年 8 月の 3 シーズンに 17 都道府県 18 医療機関で調査し、急性呼吸器症状を呈し迅速診断キットで RSV 陽性となった 5 才以下の児より同意後に検体を採取した。リアルタイム

ム PCR で A・B 型を検出し、遺伝子シーケンスにより G 遺伝子型を分類した。結果として、744 検体中、A 型 RSV が 400 件、B 型 RSV が 172 件検出された。A・B 型の優勢度は各地で異なるものの、全国的にはシーズン毎に交互に流行していた。遺伝子型分類では A 型 NA1 が 242 件、ON1 は 114 件、B 型 BA9 が 60 件、BA10 が 27 件検出された。A 型でそれまで優勢だった NA1 遺伝子型が 2014 年 12 月に ON1 へと移り変わり、同時に本邦では過去最大規模の RSV 流行が観測され、両者には関連性があると思われた。RSV の遺伝子型による入院リスクをロジスティック重回帰分析で解析した結果、ON1 は NA1 と比較して 6.92 倍有意に入院リスクが高く ($P<0.001$)、他の遺伝子型よりも重症化しやすい可能性があると考えられた。

以上より、学位論文としての価値があると判断した。