

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：82603

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2021

課題番号：18H06384・19K21465

研究課題名（和文）呼吸器症状患者・胃腸炎症状患者におけるオルソレオウイルスの検出系構築と疫学研究

研究課題名（英文）Epidemiological study of Orthoreovirus infection in patients with respiratory and gastroenteritis symptoms

研究代表者

江川 和孝（Egawa, Kazutaka）

国立感染症研究所・ウイルス第三部・研究員

研究者番号：10827257

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトのオルソレオウイルス感染症は、哺乳類オルソレオウイルス（MRV）やプテロパインオルソレオウイルス（PRV）により引き起こされるが、その疫学的知見は少ない。オルソレオウイルス遺伝子を検出するmultiplex real-time PCR法を確立し、疫学研究を行なった。結果、MRVは、感染者は少ないが、国内に常在している可能性があった。一方、PRVは、国内には侵淫していないと考えられた。また、RSウイルス（RSV）について疫学的解析を実施した。結果、大阪市内で検出されたRSVの遺伝子型は、国内で流行しているRSVの遺伝子型と同様であった。RSV-Bの抗原性は多様化している可能性があった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

オルソレオウイルス感染症患者の報告数は少ないものの、海外ではオルソレオウイルスに対する抗体保有率が調べられ、比較的高い抗体陽性率であることが知られている。オルソレオウイルス感染症患者は、診断されずに見落とされている可能性がある。本研究でオルソレオウイルス感染症の診断にも応用可能なmultiplex real-time PCR法が構築された意義は大きい。また、国内におけるオルソレオウイルス感染症の疫学的知見は、感染リスクを考慮する上で役立つと考える。

研究成果の概要（英文）：Orthoreovirus infection in humans is caused by Mammalian orthoreovirus (MRV) and Pteropine orthoreovirus (PRV). Epidemiological studies of Orthoreovirus infection are not sufficient. We established a multiplex real-time PCR to detect MRV and PRV genes and conducted an epidemiological study of Orthoreovirus infection in Osaka City, Japan. A few patients infected with MRV were found, indicating that MRV may be endemic in Japan. On the other hand, no patient infected with PRV was found, suggesting that PRV is not invasive in Japan. We conducted a molecular epidemiological analysis of Respiratory syncytial virus (RSV). The genotypes of RSV detected in Osaka City were similar to those of RSV prevalent in Japan. The antigenicity of RSV-B might be diversified.

研究分野：疫学研究

キーワード：オルソレオウイルス RSウイルス 疫学

## 1. 研究開始当初の背景

- (1) 哺乳類オルソレオウイルス (MRV) やプテロパインオルソレオウイルス (PRV) はヒトでオルソレオウイルス感染症 (感染性胃腸炎や呼吸器感染症) を引き起こすことが知られているが、その特徴はほとんど明らかにされていない。オルソレオウイルス感染症患者の報告数は少なく、日本ではほとんど調べられていない。海外では、オルソレオウイルスに対する抗体保有率が調べられ、比較的高い抗体陽性率であることが知られている。世界的にオルソレオウイルス感染症患者は診断されずに見落とされている可能性がある。
- (2) RS ウイルス (RSV) 感染症は、乳幼児の代表的な呼吸器感染症である。RSV は、一本鎖マイナス鎖 RNA を持ち、複数の遺伝子型に分類される。大阪市内でも RSV 感染症患者は発生しているが、流行している RSV の遺伝子型やそのアミノ酸変異の特徴は不明である。

## 2. 研究の目的

### (1) オルソレオウイルスに関する研究

オルソレオウイルス遺伝子の検出系を確立するとともに、日本における呼吸器症状患者、および胃腸炎症状患者のオルソレオウイルス感染実態の解明を目指す。

### (2) RSV に関する研究

大阪市内で流行している RSV の遺伝子型を明らかにする。さらに、抗原部位である G タンパク質および F タンパク質のアミノ酸変異の特徴を見出す。

## 3. 研究の方法

### (1) オルソレオウイルスに関する研究

Real-time PCR 法を構築し、2014 年 1 月-2018 年 12 月に大阪市内で採取され、原因病原体が特定されていない発熱・呼吸器症状患者、無菌性髄膜炎患者および胃腸炎患者からの検体 (合計 873 検体) を対象にオルソレオウイルス遺伝子を探索した。さらに、オルソレオウイルス遺伝子陽性検体を用いて、オルソレオウイルスの分離を行った。

### (2) RSV に関する研究

2014 年 1 月-2018 年 12 月に大阪市内で採取され、real-time PCR 法により RSV 遺伝子が検出された呼吸器由来 123 検体を対象に、G タンパク質と F タンパク質のコード領域全長塩基配列を決定した。分子系統樹解析、ならば

に G タンパク質と F タンパク質のアミノ酸変異解析を行なった。

#### 4. 研究成果

##### (1) オルソレオウイルスに関する研究

MRV および PRV の遺伝子を検出する multiplex real-time PCR 法を確立した。2014 年、2015 年、2017 年に 1 検体ずつ合計 3 検体 (0.3%) から MRV 遺伝子が検出された。この 3 検体は、胃腸炎を示す患者の糞便検体であった。Vero 細胞を用いてウイルス分離を試みたところ、全ての検体で Vero 細胞の細胞変性効果が認められ、MRV の増殖が確認された。分離した MRV3 株について、S3 遺伝子の一部塩基配列を決定し、NCBI BLAST 検索を行なった結果、中国に生息するミンクから分離された MRV と非常に近縁で、その塩基配列の同一性は約 98%であった。MRV は、感染者は少ないが、日本国内に常在している可能性があった。分離した MRV 株の全ゲノム解析や性状解析を実施し、日本国内に存在している MRV の詳細を明らかにする必要があると考えられた。

一方、PRV 遺伝子は、本研究で用いた患者検体から検出されなかった。PRV は、日本国内には侵淫していないと考えられた。

##### (2) RSV に関する研究

RSV-A 30 株、RSV-B 17 株の G タンパク質、および F タンパク質のコード領域全長塩基配列を決定した。G タンパク質の C 末端側にある第二可変部位を基に分子系統樹解析を行ったところ、RSV-A の遺伝子型は、ON1 型が 27 株 (90.0%)、NA1 型が 3 株 (10.0%) で、RSV-B の遺伝子型は、BA9 型が 15 株 (88.2%)、BA10 型が 2 株 (11.8%) であった。2014 年から 2018 年に大阪市内で検出された RSV の遺伝子型は、国内で流行している RSV の遺伝子型と同様であることが明らかとなった。大阪市内で検出された RSV-A ON1 型 (27 株)、RSV-B BA9 型 (15 株) を対象に、G 蛋白質の糖鎖修飾部位および F 蛋白質の抗原部位のアミノ酸変異を解析した。結果、G 蛋白質の O-結合型糖鎖修飾部位および F 蛋白質の抗原部位のアミノ酸変異は、RSV-A ON1 型の株に比べ RSV-B BA9 型の株に多く認められた。RSV-B の抗原性は多様化している可能性があった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yamamoto Seiji P., Motooka Daisuke, Egawa Kazutaka, Kaida Atsushi, Hirai Yuki, Kubo Hideyuki, Motomura Kazushi, Nakamura Shota, Iritani Nobuhiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Novel human reovirus isolated from children and its long-term circulation with reassortments	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-58003-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kurata Takako, Kanbayashi Daiki, Egawa Kazutaka, Kinoshita Masaru, Yoshida Hideki, Miyazono Masaya, Motomura Kazushi	4. 巻 38
2. 論文標題 A measles outbreak from an index case with immunologically confirmed secondary vaccine failure	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Vaccine	6. 最初と最後の頁 1467 ~ 1475
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.vaccine.2019.11.075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okada Kazuma, Morita Ryo, Egawa Kazutaka, Hirai Yuki, Kaida Atsushi, Shirano Michinori, Kubo Hideyuki, Goto Tetsushi, Yamamoto Seiji P.	4. 巻 25
2. 論文標題 Dengue Virus Type 1 Infection in Traveler Returning from Tanzania to Japan, 2019	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Emerging Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 1782 ~ 1784
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3201/eid2509.190814	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 江川和孝、改田厚、山元誠司、平井有紀、岡田和真、久保英幸、廣井聡
2. 発表標題 2014年から2018年に大阪市内で検出されたrespiratory syncytial virusの分子疫学的解析と、G蛋白質およびF蛋白質のアミノ酸変異解析
3. 学会等名 第24回日本ワクチン学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山元 誠司、元岡 大祐、江川 和孝、改田 厚、平井 有紀、久保 英幸、本村 和嗣、中村 昇太、入谷 展弘
2. 発表標題 ヒトから分離された mammalian orthoreovirus 2型の遺伝子解析
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------