

ウシロタウイルスの発生動向と遺伝学的特性

分担研究者 鈴木 亨 動物衛生研究所 ウイルス・疫学研究領域

研究要旨 培養細胞における実験感染系が確立されていないために、本ウイルスの性状や生態がほとんど理解されていないロタウイルス B、特に動物由来ロタウイルス B について、それらの遺伝学的性状を明らかにし、診断予防法の開発に役立つ有益な情報を得る。これまでにウシならびにブタロタウイルス B 複数株を用いた遺伝子解析の結果、動物由来ロタウイルス B は国内外問わず、異なる遺伝的背景を有する複数の株が世界中に存在・まん延していることが明らかとなった。

A．研究目的

ロタウイルスは幼若動物や乳幼児における重症下痢症の主要原因の一つであり、新興感染症病原体である。また、ロタウイルスは人獣共通感染症病原体でもあり、現在までに 8 種 (A-H) の存在が報告されているが、中でもロタウイルス A-C はヒト以外に、ウシ、ブタ等の動物からもウイルスが検出されることから、公衆衛生上注目されている。また最近では、ヒト由来ロタウイルスと動物由来ロタウイルスの間で遺伝子再集合が起こる事実も確認されている。

ロタウイルス B はウシ、ブタなどの動物では以前から広く浸潤しているが、ヒトではまだ中国、インドなどの東南アジア諸国での散発発生に留まっており、わが国での発生報告はない。しかし依然として、東南アジア諸国におけるロタウイルス B 症の発生事例が続いていることやわが国における動物ロタウイルス B 症の発生事例が増大していることから、本ウイルスに対する診断予防法を開発することは緊急性の高い課題である。これまでのところ、本ウイルスは培養細胞感染系での分離が極めて困難であるため、それらの性状解析すらほとんど進展しておらず、まだ多くの課題が残されている。

これまでに、2001 年から 2009 年にかけてわ

が国で検出されたブタロタウイルス B 複数株について、それらの遺伝子解析を実施した結果、異なる遺伝子背景を有する複数の株が全国に点在・伝播していることを明らかにしてきた。そこで、本年度はブタロタウイルスとほぼ同時期に、採集されたウシロタウイルス B 複数株について、それらの遺伝子解析を実施し、わが国におけるウシロタウイルス B の発生動向ならびに遺伝子性状を明らかにすることを試みた。

B．研究方法

2002 年から 2011 年にかけて山形県内で検出されたウシロタウイルス B 12 株を材料に使用した。それら複数株の VP1, VP2, VP6, VP7, NSP1, NSP2 および NSP5 の 8 つの遺伝子について、独自に設計したプライマーを用いて RT-PCR 法でもって ORF 全長を増幅し、シーケンス解析を実施した。今回解読したウシロタウイルス B 12 株の各種遺伝子情報に既知の他動物種由来ロタウイルス B の遺伝子情報を加えた上で、系統樹解析を実施し、本ウイルスの起源並びに生態を明らかにすることを試みた。

C．研究結果

ウシロタウイルス B 12 株の各遺伝子の配列

を既知のヒトやブタ、さらにウシロタウイルス B 株と比較した結果、それぞれの遺伝子において、ウシロタウイルス B 株はヒトやブタロタウイルス B 株と遺伝的に大きく異なることが明らかとなった。また、インドで検出されたウシロタウイルス B 株との比較では、今回解読した全ての遺伝子において、ORF の長さは同じであったが、配列が異なることが明らかとなった。

ロタウイルス B の VP7 遺伝子に関する系統樹解析の結果、山形県内で検出されたウシロタウイルス B 株は過去に北海道、さらに米国で検出されたウシロタウイルス B 株と同じ遺伝子型に分類されたが、インドで検出されたウシロタウイルス B 株とは異なる遺伝子型に分類された (表 1)。また、ロタウイルス B の NSP1, NSP2 および NSP5 遺伝子に関する系統樹解析では、いずれの遺伝子において、山形県内で検出されたウシロタウイルス B 株はインドで検出されたウシロタウイルス B 株とは区別される新たな遺伝子型に分類された。さらに、VP1, VP2, VP6 遺伝子に関する系統樹解析において、ウシロタウイルス B 株は系統発生的にヒトやブタロタウイルス B 株とは明確に区別された。

D . 考察

今回の研究を通じて、1990 年代に北海道で検出されたウシロタウイルス B Nemuro 株について、新たにウシロタウイルス B 12 株の複数の遺伝子に関する塩基配列が明らかとなった。遺伝子解析の結果、わが国で流行しているウシロタウイルス B 株は Nemuro 株と遺伝学的に近縁な株が全国に存在・伝播していることが示唆された。

系統樹解析の結果、わが国で検出されたウシロタウイルス B 株は米国で検出されたウシロタウイルス B 株と共通の起源に由来することが示唆されたが、インドで検出された株とは早い段階で分岐し、それぞれがこれまでに交わることなく独自に進化を遂げてきた可能性が示唆された。今後、東南アジア諸国や世界中に拡散しているウシロタウイルス B、あるいは他動物種由来のロタウイルス B 株を収集し、それらの遺伝子解析を実施することで、ウシロタウイルス B

を含めたロタウイルス B の生態ならびに起源が明らかになってくることと思われる。

最後に、ここで得られた知見は遺伝子再集合や種間伝播によって生じる新たな変異ウイルスの監視体制の強化、さらには分子基盤に基づく新たな診断予防法の開発につながるが大いに期待できる。

E . 結論

少なくともわが国で検出されたウシロタウイルス B 株は、インドで検出されたウシロタウイルス B 株と遺伝的に異なる起源に由来することが明らかとなった。

F . 研究発表 論文発表

1. Suzuki T, Hasebe A, Miyazaki A, Tsunemitsu H. Analysis of genetic divergence among strains of porcine rotavirus C, with focus on VP4 and VP7 genotypes in Japan. *Virus Res.* 197: 26-34 (2014).
2. Mawatari T, Hirano K, Ikeda H, Tsunemitsu H, Suzuki T. Surveillance of diarrhea-causing pathogens in dairy and beef cows in Yamagata Prefecture, Japan from 2002 to 2011. *Microbiol. Immunol.* 58: 530-535, (2014).
3. Suzuki T, Hasebe A, Miyazaki A, Tsunemitsu H. Phylogenetic characterization of VP6 gene (inner capsid) of porcine rotavirus C collected in Japan. *Infect. Genet. Evol.* 26: 223-227, (2014).
4. Marthaler D, Suzuki T, Rossow K, Culhane M, Collins J, Goyal S, Tsunemitsu H, Ciarlet M, Matthijnsens J. VP6 genetic diversity, reassortment, intragenic recombination and classification of rotavirus B in American and Japanese pigs. *Vet. Microbiol.* 172: 359-366, (2014).

5. Mawatari T, Hirano K, Tsunemitsu H, Suzuki T. Whole-genome analysis of bovine rotavirus species C isolates obtained in Yamagata, Japan 2003-2010. *J. Gen. Virol.* 95: 1117-1125, (2014).

学会発表

1. Suzuki T. Whole-genome characterization of animal rotavirus C. IUMS2014, Motreal, Canada, Jul 2014.
2. 鈴木 亨、馬渡隆寛、平野かおり、宮崎綾子、恒光 裕. 国内におけるウシロタウイ

ルスの遺伝的多様性. 第62回日本ウイルス学会学術集会, 横浜, 2014.11.

G . 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

表1. ウシロタウイルスB 遺伝子解析のまとめ

Gene	Cut-off value [%]	Total of Genotypes	Genotypes of bovine RVBs	Genotypes of porcine RVBs
VP7	80	20	2 (G3, G5)	16 (G4, G6-20)
VP6	81	13	1 (I3)	10 (I4-13)
NSP1 ORF1,2	77, 75	8	2 (A4, A8)	3 (A5-7)
NSP2	83	9	2 (N3, N9)	5 (N4-8)
NSP5	81	10	2 (H3, H10)	5 (H5-9)
VP1	70	3	1 (R3)	-
VP2	74	3	1 (C3)	-