

厚生労働科学研究委託費（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

病原体ゲノム情報の取得とデータベース運用

担当責任者 黒田 誠（国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター・センター長）
研究協力者 山下明史（国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター第三室・主任研究官）

研究要旨

近年特に大きな問題となっているデングウイルスの感染伝播状況を把握するため、National Center for Biotechnology Information (NCBI) database から計 7,933 株分のデングウイルス・ゲノム配列を取得し、serotype, genotype 毎に分類して Google Maps にて分布地図を作成した。世界各国で分離されるデングウイルスの genotype には特徴的な地理的要因が背景にあり、それはデングウイルスの蚊を媒介とする感染伝播ライフサイクルに起因するものと推測された。また、検疫所にて報告される輸入感染症例もマップ上で理解できる web サイトを構築し、海外渡航前に感染リスク因子を予め把握し、渡航中における注意喚起にも役立つ web サイトになるものと期待している。今後、アジア各国と日本を有機的に結び付けるシステムを確立するため、他の病原体ゲノム情報のマップ化を推進していく予定である。

A. 研究目的

多くの新興・再興感染症が発生し、インフルエンザ、デング熱、薬剤耐性菌感染症、下痢性感染症は特に近年我が国にとって近年大きな問題となっている感染症である。これら感染症に対して適切な感染症対策の立案と新たな治療薬、ワクチン、診断薬等の創薬開発が求められている。これら感染症はアジアにおいての発生が問題となることから、アジアにおいて分布するこれら各種病原体のゲノム情報は有効な情報源となり、ゲノム情報を基盤とした発生分布と疫学への情報提供は効果的な対策となりうる。

本研究においては、近年特に大きな問題となるインフルエンザウイルス、デングウイルス、薬剤耐性菌、下痢原性細菌およびノロウイルスに関して、アジア各国と日本を有機的に結び付けるシステムを確立し、アジアにおいて流行している病原体株を主とするゲノムデータベースを構築し、さらにデータベースが継続的に維持されるため基盤を確立することを目的とする。

B. 研究方法

1) デングウイルスの公開配列情報の取得

デングウイルス・ゲノム配列を National Center for Biotechnology Information (NCBI) database

から計 7,933 株分を取得し、表記されている serotype, genotype 毎に分類した。公開データベースの取得と genotype 分類の基本的な解析手法は

Yamashita A, Sasaki T, Kurosu T, Yasunaga Y, Ikuta K. Origin and distribution of divergent dengue virus: novel database construction and phylogenetic analysis. Future Virology. 2013, 8(11): 1061-83. (査読有)

<http://www.futuremedicine.com/doi/abs/10.2217/fvl.13.99>

にて報告している。

2) Google Maps によるデングウイルスの頻度と分布地図の図示化。

Google Maps の地図情報（フリーライセンス）を元にしてデングウイルスの serotype と genotype を分離国ごとにパイチャートとして表示した。配列データベースは MySQL で管理し、地図上への描画は JavaScript D3.js にて開発した。

（倫理面への配慮）

特記事項無し。公開配列情報を用いたデングウイルス・データベースの構築であり、個人情報に結びつく配列解析は一切行っていない。

C. 研究結果

NCBI 配列データベースに配列登録されている 7,933 株のデングウイルスを serotype ごとに Google Map 上にパイチャートで閲覧可能にし、分離国における各 serotype の頻度（実態数ではなく、配列登録数である）と分布状況が俯瞰的に理解できるようにした（図 1）。デング熱発生国の実情がこのマップ図示化により把握しやすくなった。Serotype 1 (2,855 株), 2 (2,615 株), 3 (1,706 株), 4 (757 株) ごとに genotyping が施されているため、判明している genotype ごとの分類を行った。

Serotype 1 では、Genotype I が東南アジアで優位であり、一方、Genotype V がアメリカ大陸で優位であることが容易に把握できるようになった（図 2）。特にポリネシア諸国における genotype IV が優位であることは特筆すべきことに見える。

Serotype 2 では、Genotype Cosmopolitan が東南アジアで優位であり、一方、Genotype AsianAmerican がアメリカ大陸で優位であることが俯瞰的に理解できた。東南アジア諸国の中でも異なる genotype が優位になっており、serotype 1 とはまた違う genotype 分布であることが判明した（図 3）。

Serotype 3 では、Genotype I, II が東南アジアで優位であり、一方、Genotype III がアメリカ大陸で優位であることが理解できた（図 4）。

Serotype 4 では、東南アジア、ポリネシア諸国、アメリカ大陸と明瞭に分布が別れることが判明した（図 5）。

これらマップ図をマウス操作で自在に拡大縮小し、近隣国における検出 genotype の登録状況の閲覧を容易にした。シンガポールでは複数の genotype が検出される一方、ベトナム、カンボジアでは特有の genotype I が優位であり、インドでは Genotype V が主になっていた（図 6）。

日本のデング熱症例は輸入症例が主体であり、検疫所から報告のあったデング熱輸入感染症例（<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr/511-surveillance/iasr/tables/1493-iasr-ta>）を Google map へ図示化した。

D . 考察 E . 結論

デングウイルスは、主にヤブカとりわけネッタイシマカ (*Aedes aegypti*) によって媒介され、ウイルスは主にヒトを宿主とするが、ヒト以外の

サル目にも伝染し感染を媒介することが知られている。公開配列データベースの serotype そして genotype として分類してさらにマップ図示化することにより明解な地域依存的な genotype 分布が示唆された。1943 年から 2012 年までの分離株情報が登録されており、年代推移を時系列として分布を表示することも可能にしているため、genotype の変遷も理解することができる。ウイルス情報をゲノム配列として取得し、serotype, genotype として詳細に分類することで、デングウイルスの感染伝播のライフサイクルの理解にも役立つだろう。今後、感染症対策に立案にも役立つような疫学調査システムになるよう発展させたい。

また、検疫所にて報告される輸入感染症例もマップで一目瞭然に理解できるため、海外渡航前に感染リスク因子を予め把握して渡航中における注意喚起を促すことにも役立つことと期待している。

F . 健康危険情報
特になし

G . 研究発表
1 . 論文発表
なし

2 . 学会発表
NIID International Seminar on Infectious Diseases. 22nd - 23rd January, 2015. Venue; Sunshine City Conference Room No.14. The fifth floor, World Import Mart Building, 3-1-1 Higashi-Ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo, JAPAN. " Pathogen Genomics for Public Health " Makoto KURODA.

H . 知的財産権の出願・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

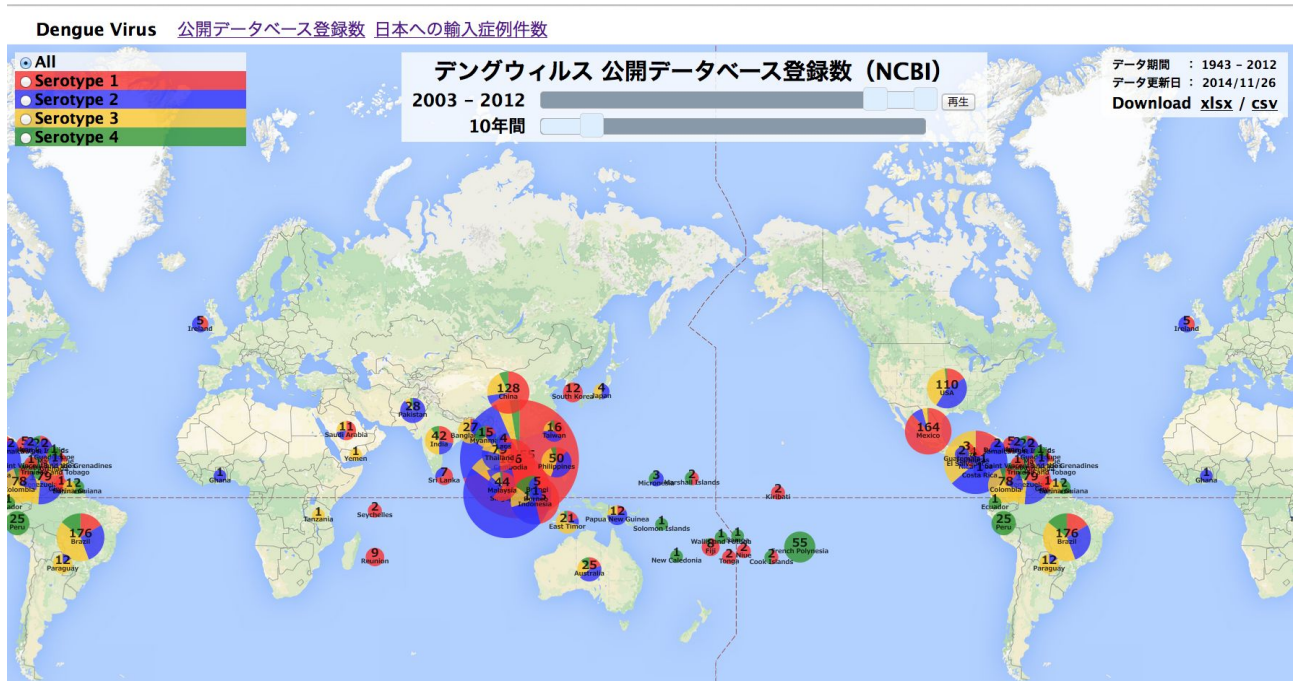


図1 デングウイルス公開データベースと Google Map 上での図示化 (血清型別)。NCBI 配列データベースに配列登録されている 7,933 株のデングウイルスを serotype ごとにパイチャートで閲覧可能にした。Serotype 1 (2,855 株), 2 (2,615 株), 3 (1,706 株), 4 (757 株)。

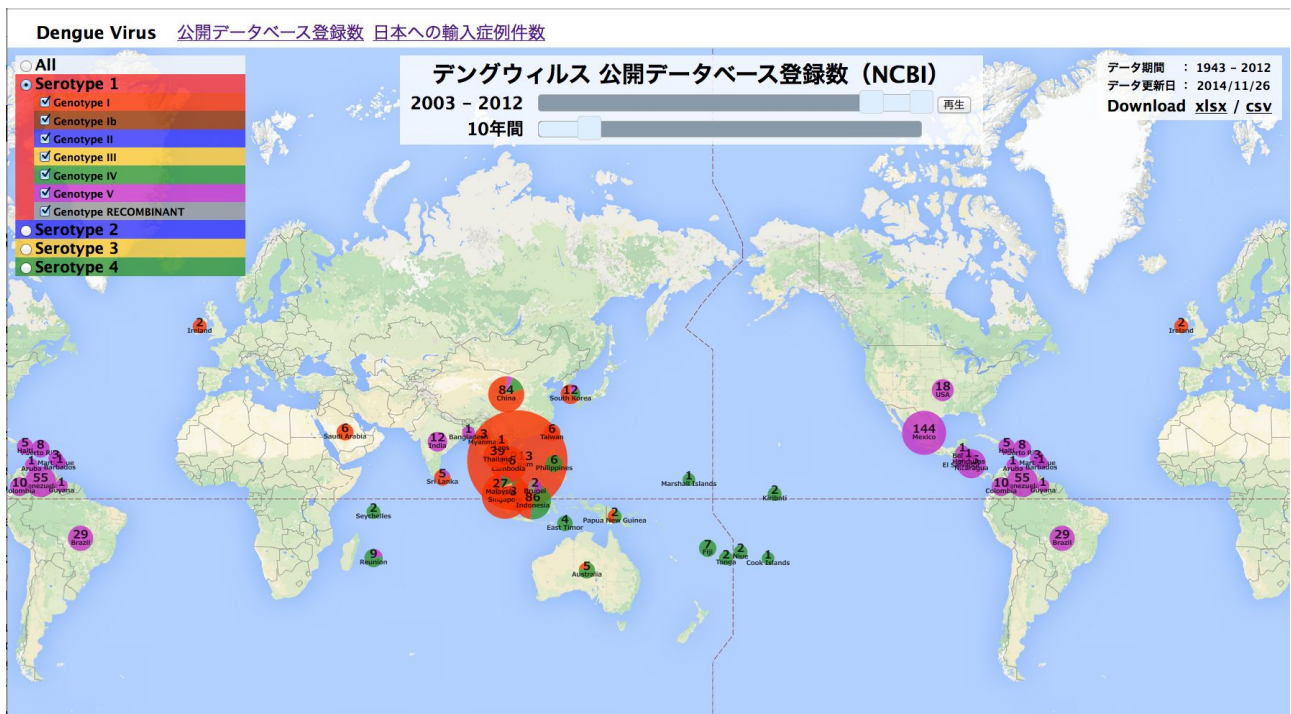


図2 デングウイルス serotype 1 (2,855 株) の公開データベースから genotype を判定し Google Map 上で図示化。Genotype I が東南アジアで優位であり、一方、Genotype V がアメリカ大陸で優位であることが俯瞰的に理解できる。



図3 デングウイルス serotype 2 (2,615 株) の公開データベースから genotype を判定し Google Map 上で図示化。Genotype Cosmopolitan が東南アジアで優位であり、一方、Genotype AsianAmerican がアメリカ大陸で優位であることが俯瞰的に理解できる。

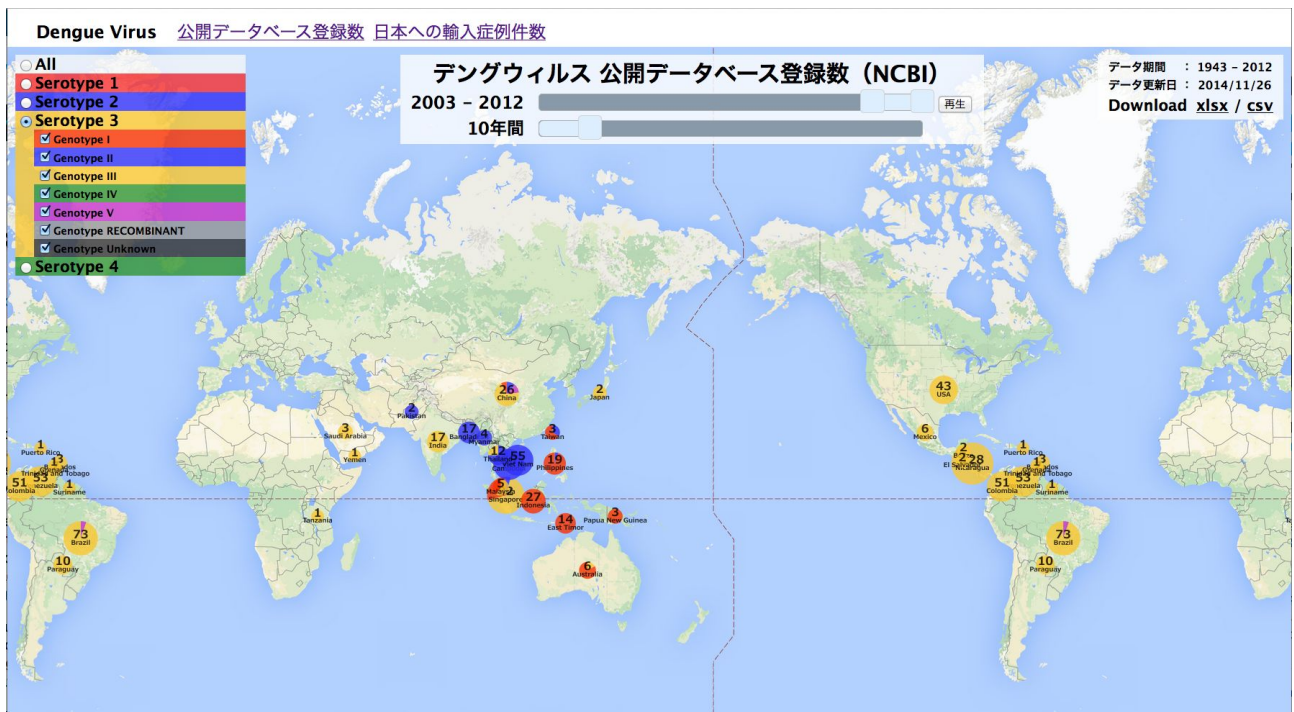


図4 デングウイルス serotype 3 (1,706 株) の公開データベースから genotype を判定し Google Map 上で図示化。複数の Genotype が東南アジアで検出され、一方、Genotype III がアメリカ大陸で優位であることが俯瞰的に理解できる。

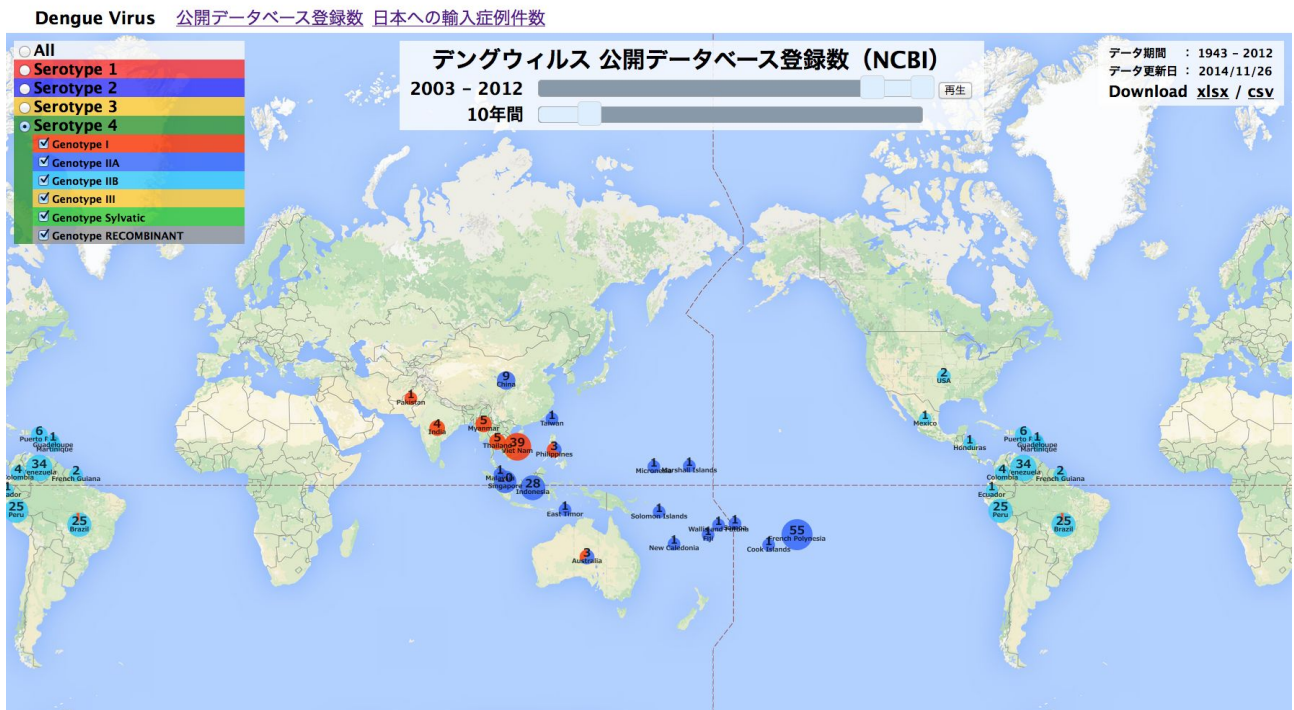


図5 デングウイルス serotype 4 (757 株)の公開データベースから genotype を判定し Google Map 上で図示化。Genotype I, IIA が東南アジアで優位であり、一方、Genotype IIB がアメリカ大陸で優位であることが俯瞰的に理解できる。

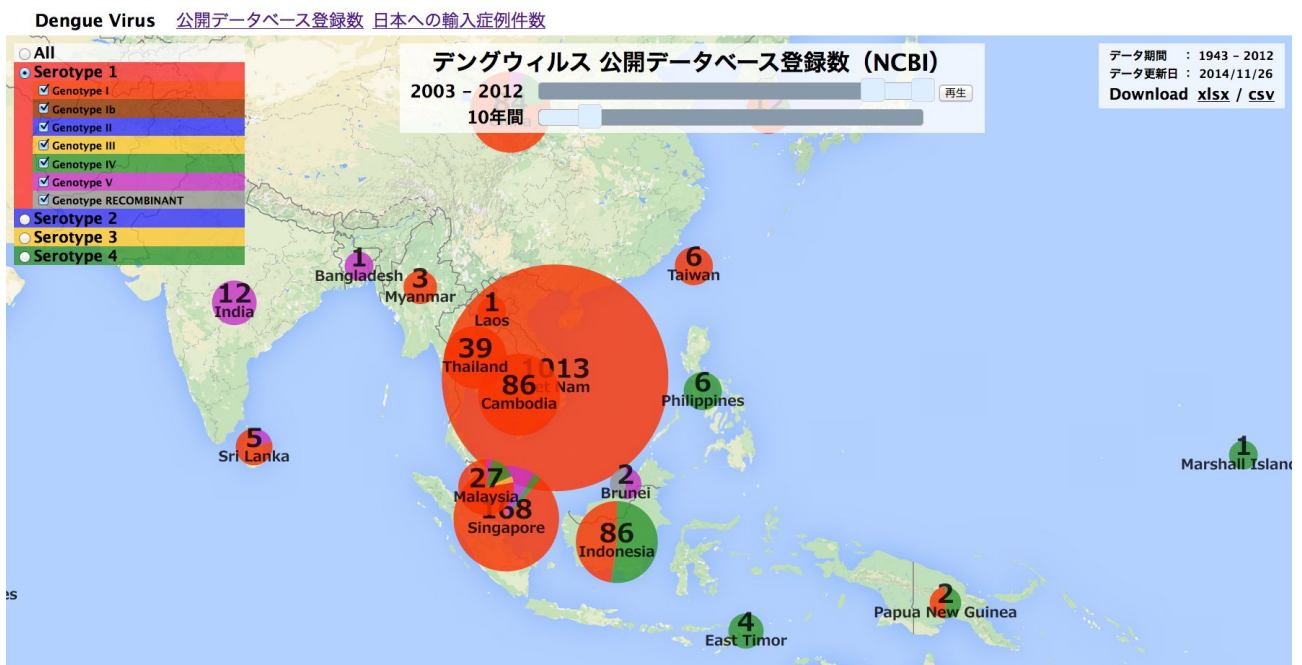


図6 デングウイルス serotype 1 の公開データベースから genotype を判定し Google Map 上で図示化。マウス操作で自在に拡大縮小し、近隣国における検出 genotype の登録状況の閲覧を容易にした。シンガポールでは複数の genotype が検出される一方、ベトナム、カンボジアでは特有の genotype I が優位であり、インドでは Genotype V が主になっている。

(参考資料) デングウイルス配列データベースに登録されている以下のような serotype と genotype、そして配列アクセッション番号と URL もエクセルファイルとして一覧をダウンロード可能にした。

SeroType	Accession	GI	Country	Year	C	prM	Env	NS1	NS2A	NS2B	NS3	NS4A	NS4B	NS5	Summary	Url
1	AF425610	23451570	Angola	1988			V								V	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF425610
1	AF426111	32364767	Angola	NoDate					V	V					V	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF426111
1	AF514889	27368029	Argentina	2000	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF514889
1	AF514885	28927655	Argentina	2000	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF514885
1	AF425609	23451568	Aruba	1985			V								V	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF425609
1	JN379473	375304160	Aruba	2004			V								V	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JN379473
1	AF425611	23451572	Australia	1983			IV								IV	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF425611
1	AF425612	23451574	Australia	1983			IV								IV	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF425612
1	AF426112	32364769	Australia	1983					IV	IV					IV	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF426112
1	JN415495	396085286	Australia	2003			IV								IV	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JN415495
1	JN415514	396085324	Australia	2003			IV								IV	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JN415514
1	JN415531	396085358	Australia	2008			I								I	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF426112
1	JN415532	396085360	Australia	2009			IV								IV	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JN415532
1	HQ871946	364506297	Australia	2010			IV								IV	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/HQ871946
1	JN379475	375304164	Bahamas	1977			V								V	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JN379475

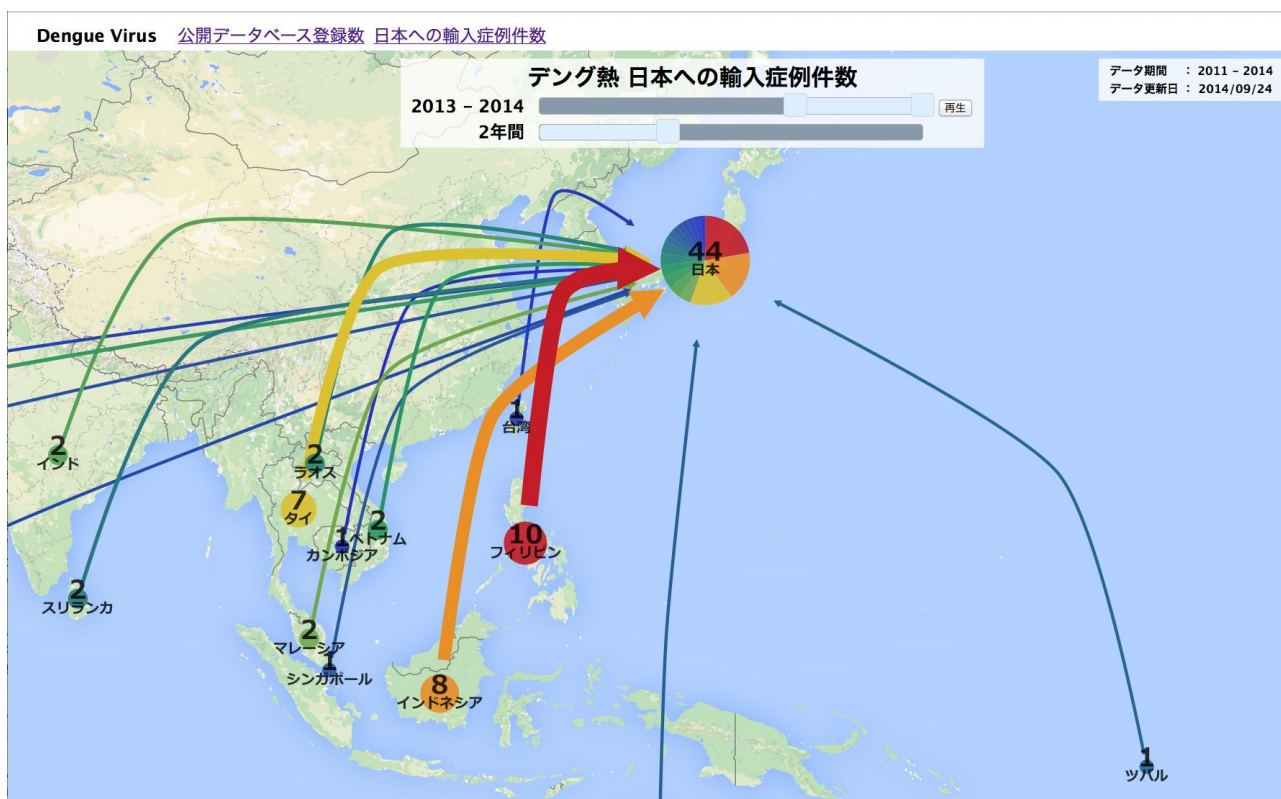


図7 検疫所から報告のあったデング熱輸入感染症例の Google maps への図示化。

(<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr/511-surveillance/iasr/tables/1493-iasr-ta>)

東南アジアからの輸入症例が最も多く、渡航前の注意喚起にも役立てたい。