

Molecular Characterization of Human Respiratory Syncytial Virus in the Philippines from 2012-2015

著者	RUNGNAPA MALASAO
号	86
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3673号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00123355

氏名	ルンナパ マラサオ Rungnapa Malasao
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成29年3月24日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	Molecular Characterization of Human Respiratory Syncytial Virus in the Philippines from 2012 to 2015 (フィリピンにおける Respiratory Syncytial ウイルスの遺伝子解析、2012~2015年)
論文審査委員	主査 教授 Hitoshi Oshitani 教授 Shigeo Kure 教授 Shinichi Kuriyama

論文内容要旨

Human respiratory syncytial virus (HRSV) is one of leading causes of acute lower respiratory tract infection especially in infants and young children. Molecular characterization of HRSV may provide useful information in vaccine development and disease management. However, genetic data of HRSV infection among children in developing countries is limited. This study aimed to characterize HRSV in children in the Philippines, from 2012-2015. Nasopharyngeal swabs (NPSs) were collected from hospitalized children and screened for HRSV using real-time polymerase chain reaction (PCR). Positive samples were tested by conventional PCR and sequenced for the second hypervariable region (2nd HVR) of the G gene and complete genome for representative strains. Among a total of 2,308 samples collected from June 2012 – December 2015, 647 samples were positive for HRSV (28.0%), of which 424 (65.5%) and 223 (34.5%) were identified as HRSV-A and HRSV-B, respectively. Of the 424 HRSV-A, 102 (24.1%) were genotype NA1 and 322 (76%) were ON1, while almost all of the 223 HRSV-B were genotype BA9 except for three samples identified as GB2. In 2012/2013 season, two genotypes (NA1 and ON1) of HRSV-A and two genotypes (GB2 and BA9) of HRSV-B co-circulated. The detection of the novel genotype ON1 virus with a 72-nucleotide duplication in the 2nd HVR of the G gene increased rapidly and became the predominant genotype in early 2013. Comparison of whole genomic sequences between six strains of NA1 and seven strains of ON1 showed differences in the G (amino acid positions 232, 237, and 290/314) and the L (amino acid position 598) proteins. Among HRSV-B, BA9 was the predominant genotype circulating in the Philippines. However, two sporadic cases of GB2 genotype were found, which share a common ancestor with other Asian strains. In 2014, NA1 disappeared and ON1 continued to be the predominant strain. A novel ON1 variant, which was phylogenetically distinct from other ON1 strains, was detected in 2014. These novel ON1 variants, ON1-Bi, possess three unique amino acid substitutions (K212R, K213G, and K223G) in the 2nd HVR of the G gene, which had not been found in other countries. In 2015, the proportion of ON1 viruses decreased while BA9 became the predominant strain. Most of amino acid sites of the 2nd HVR of the G gene were under purifying/negative selection with only <10% of sites under positive selection in both subgroups. These findings suggest that HRSV is an important cause of severe acute respiratory infection among children in the Philippines and revealed the dynamic evolutionary changes of the virus.

審査結果の要旨

博士論文題目 Molecular Characterization of Human Respiratory Syncytial Virus in the Philippines from 2012 to 2015

(フィリピンにおける Respiratory Syncytial ウイルスの遺伝子解析、2012～2015年)

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 微生物学分野

学籍番号 B3MD5127 氏名 Rungnapa Malasao

Human Respiratory Syncytial Virus (HRSV)は乳幼児の急性下気道感染症の主要な原因である。現時点ではRSVに対するワクチンは実用化していないが、いくつかのワクチンに対して臨床試験を実施中であり近い将来に実用化されることが期待されている。HRSVの遺伝子進化過程を明らかにすることはワクチンの開発にとっても重要である。しかし、そのようなデータは特に途上国では限られている。

本研究では、2012年から2015年の間にフィリピンで検出されたHRSVの遺伝子進化過程を明らかにする目的で行われた。フィリピンの4つの病院で2012年6月から2015年12月の間に、重症急性呼吸器感染症で入院した小児を対象とした。この間に2,308例の鼻咽頭拭い液が採取され、Real-time Polymerase Chain Reaction (PCR)でスクリーニングを行った結果、647例(28.0%)でHRSVが陽性であった。陽性検体はG遺伝子の2nd Hypervariable RegionをターゲットとしたConventional PCRを行い、そのPCR産物をシーケンスし系統樹解析をすることでSubgroupおよびGenotypeを決定した。この結果、陽性例のうち424件(65.5%)はHRSV-A、223例(34.5%)はHRSV-Bと同定された。HRSV-Aと同定されたウイルスのGenotypeは102例(24.1%)はNA1であり、322例(75.9%)はON1であった。HRSV-BのGenotypeは3例がGB2であった以外はすべてBA9であった。

HRSV-AのうちON1はG遺伝子の2nd Hypervariable Regionに72塩基の重複配列を持つものであるが、それまで多く検出されていたNA1に代わって、2013年の始めまでにはほとんどON1に置き換わっていたことがわかった。フィリピンで検出されたHRSVの全ゲノムの解析からNA1とON1の間にはG遺伝子上に3か所(232、237、290/314番目のアミノ酸)、L遺伝子上に1か所(598番目のアミノ酸)にアミノ酸置換が見られた。また散発的に見られたGB2はアジアで見られたウイルスを近縁のウイルスであることが明らかになった。

ON1に属するフィリピンのウイルスのうち、系統樹上明らかなClusterを形成するウイルスが2014年に検出された。これらのウイルス(ON1-Bi)は3つの特異的アミノ酸変異(K212R, K213G, K223G)を認めた。遺伝子選択圧を解析した結果、G遺伝子の2nd Hypervariable Regionのアミノ酸部位のほとんどはNegative Selectionを受けており10%未満の部位がPositive selectionを受けていることが明らかになった。

本研究はフィリピンにおけるHRSVの遺伝子進化過程を詳細に解析したものであり、今後のワクチン開発

などに重要な知見となるものである。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。