







学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 525 号	氏 名	八 尋 隆 明
審 査 委 員 会 委 員		主査氏名	岸田 哲子 
		副査氏名	小林 隆志 
		副査氏名	末延 聡一 
<p>論文題目 Novel genotype 3 human bufavirus from children with severe diarrhea in Bhutan (ブータンにおける重症小児下痢症患者から検出した新しい遺伝子型 Human Bufavirus 3)</p> <p>論文掲載雑誌名 EMERGING INFECTIOUS DISEASES</p> <p>論文要旨 小児下痢症患者に検出されるブファウィルス (Bufavirus: BuV) は 2012 年にアフリカで初めて同定された一本鎖 DNA ウィルスで, NS1, VP1, VP2 の 3 種のウィルスタンパクがコードされ, これまで二つの遺伝子型 BuV1 と BuV2 が同定されている. 小児下痢症患者における BuV の検出率は地域によって大きく異なっていることから, 申請者らは本ウィルスが限定した地域のみ分布している可能性に着目して, アジア地域における BuV の存在とその遺伝子型を検索することを目的として, ブータンにおける BuV 感染の存在を検討した. ブータンの二つの病院で 5 歳以下の下痢症患者の便 393 検体を収集し, 便からウィルスゲノム DNA を抽出後, BuV の NS1 領域を nested PCR 法で増幅した. 全ゲノム領域をダイレクトシーケンシング法によって塩基配列決定後, 分子疫学的解析を行った. 現地において 3 例の BuV (BTN・BuV) が確認された. これらはすべて重症下痢症患者から検出されており, その検出率は 0.73%であった. 塩基配列に基づく分子疫学的解析の結果, 今回同定された BTN・BuV が BuV1 と BuV2 と比べて遺伝子型が大きく異なっている可能性が示唆され, 申請者らは BTN・BuV を新たな遺伝子型 BuV3 として提唱している. ブータンのような衛生環境, 交通便利性の悪い地域における BuV の新しい遺伝子型の発見は, このウィルスが遙か以前からヒトへの病原因子として存在した可能性を示唆している. 今回同定された BuV3 は小児重症下痢症患者から検出されており, 感染症が生命予後を左右する多くの発展途上国において重要な病原ウィルスとなりうると考えられる. 今後, さらなる BuV の研究が必要と思われる. 本研究は, 多くの発展途上国において小児の生命予後を左右する重要な病原ウィルスとなりうるブファウィルスのアジア地域における存在を検索してその新しい遺伝子型を検出した, 公衆衛生学的にみても価値ある研究である. このため, 審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した.</p>			

最終試験

の結果の要旨

学力の確認

審査区分 謎・論	第525号	氏名	八尋隆明
審査委員会委員		主査氏名	岸田哲子  印
		副査氏名	小林隆志 
		副査氏名	末延聡  印
<p>学位申請者は本論文の公开发表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 今回の検討で、Bufaウイルス3 (Bufa3) が検出されなかった乳幼児下痢症患児の便から、Bufa3以外のBufaウイルスや、他の、乳幼児下痢症で一般的なロタウイルスやアデノウイルスは検出されなかったのか。 2. Bufa3は、何によって媒介されるのか。感染経路は判っているか？ 3. Bufa3の、活性化を示す部位はどこか。また、ウイルスに対するワクチンを作成するとすると、どの部位をターゲットにすべきか。 4. 今回の調査地としてブータンを選んだ理由を説明せよ 5. Bufavirusは動物に感染する人獣共通感染症であるのか 6. Bufavirusの感染経路を説明せよ 6 7. プライマーウォーキング法による全ゲノム解析と次世代シーケンサーによる全ゲノム解析の原理的違いを説明せよ。 7 8. NS1の機能を説明せよ。 8 9. コッホの4原則を説明せよ。 9 10. 今後の研究でさらに詰めなければいけない点を説明せよ。また、さらなるフィールドワークを行うとするとどの地域に拡大するか。 10 11. PuV1, PuV2およびPuV3の系統樹解析によると、最初にPuV2が存在し、ここからPuV2およびPuV3が分化したと考えてよいのか。 <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 八 尋 隆 明

論 文 題 目

Novel genotype 3 human bufavirus from children with severe diarrhea in Bhutan

(ブータンにおける重症小児下痢症患者から検出した新しい遺伝子型 Human Bufavirus 3)

要 旨

【緒言】

ブファウイルス (Bufavirus : BuV) は 2012 年にアフリカのブルキナファソで初めて同定された一本鎖の DNA ウイルスで NS1,VP1,VP2 の 3 種のウイルス蛋白がコードされ、これまでに 2 つの遺伝子型 BuV1 と BuV2 が同定されている。過去の検討により小児下痢症患者中での BuV の検出率はブルキナファソでは 4%、チュニジアは 1.6%、チリは 0%であった。これは本ウイルス感染が限定した地域のみ分布している可能性を示唆している。我々は、アジア地域における BuV の存在とその遺伝子型を検索することを目的とし、ブータンにおける BuV 感染の存在を検討した。

【研究対象及び方法】

2010 年から 2012 年にかけて、ブータンにおける 2 つの病院で 5 歳以下の下痢症患者における便を合計 393 検体収集した。便からウイルスゲノム DNA を抽出し、BuV の NS1 領域を nested PCR 法にて増幅し、全ゲノム領域をダイレクトシーケンス法によって塩基配列の決定後、分子疫学的解析を行った。

【結果】

3 例の BuV (BTN-BuV) が確認された。これらは全て重症下痢症患者からの検体であり、その検出率は 0.73 %であった。BuV1、BuV2 と BTN-BuV において系統樹解析を行うと、これらは明らかに新しいクラスターとして確認された。BTN-BuV は、98%-99%の相同性を示したが、BuV1、BuV2 と BTN-BuV の NS1、VP1、VP2 タンパクにおける遺伝子配列 (アミノ酸配列) を比較すると 95-96 % (94- 96 %)、80-83 % (71- 78 %)、76- 80 % (65-73 %)の相同性であった。BTN-BuV は全ての株で、BuV1、BuV2 と同様の機能的モチーフが保存されていた。また、BuV1、BuV2 と BTN-BuV における進化距離を算出すると、明らかに BTN-BuV とは有意に異なっており、3'-UTR に存在する *Three tandem repeats* の繰り返し回数においても BuV1 と BTN-BuV では明らかにその回数が異なっていた。これは、BTN-BuV が他の株と比べて遺伝子型が大きく異なっている可能性があることを示唆する、我々は BTN-BuV を新たな遺伝子型 BuV3 であると提唱したい。

【考察】

ブータンにおける小児重症下痢症の原因である可能性をもつ BuV3 のほぼ全長ゲノムを遺伝子解析することによって新たな遺伝子型の存在を明らかにした。ブータンのような衛生環境、交通利便性の悪い地域における BuV の新規遺伝子型の存在は、このウイルスがはるか以前からヒトへの病原因子として存在する可能性を示唆している。

【結語】

我々は、ブータンにおいて新たな遺伝子型 BuV3 の存在を明らかにした。BuV3 は、重症下痢症患者から検出されており、感染症が生命予後を左右する多くの発展途上国において重要な病原ウイルスとなりうるであろう。今後、更なる BuV の研究を進めていく必要があると思われる。