

18. 静岡県において継続して流行するアデノウイルス 2 型の分子疫学的調査

○小林 正明 (小林小児科)

【研究目的】

アデノウイルス 2 型の保存株について分子疫学調査を実施して組換え株の流行状況や臨床症状の違いを明らかにする。

【研究の必要性】

アデノウイルス 2 型は日本および世界で継続して流行して、最も高頻度に検出されるが、その理由は不明である。近年に 2 型が細胞に接着するペントン蛋白がアデノウイルス 1 型と組変わっている株が検出されているが、流行株内での頻度や抗原性の違いなどの疫学情報は得られていない。

【研究計画】

2019 年に検出されたアデノウイルスを型別してヘキソン領域の塩基配列によりアデノウイルス 2 型となる株（血清学的に 2 型）を検出する。2 型と同定された株についてペントン領域の塩基配列および塩基配列から推定されるアミノ酸配列を決定して分子疫学調査を行う。

【実施内容・結果】

2019 年 1 月から 2020 年 1 月までの 1 年間に咽頭炎患者 30 名から検出されたアデノウイルスがヘキソン領域の塩基配列から 2 型と同定された。

うち 1 名はアデノウイルス 2 型と 3 型の重複感染であった。この 1 名はヘキソン領域の配列を得ることが出来たが重複のため配列の質が悪く（サンガーシーケンスの波形が解読困難）、ファイバー領域のマルチプレックス PCR を実施し、3 型との重複感染であることが明らかになった。

上記のファイバーマルチプレックス PCR により、30 件中 1 件のみ（No29、検体番号 687）が陰性であった。他の 29 件はヘキソン領域だけでなく、ファイバー領域でも 2 型と判定された。なお陰性の 1 件は、リアルタイム PCR による定量でウイルス量が非常に少なく、ファイバーマルチプレックス PCR の検出限界以下であった。

重複感染でない 29 名からの 29 株の 2 型（ヘキソン領域の配列による）についてペントン領域の部分配列（RGD ループ領域）を国立感染症研究所の咽頭結膜熱・流行性角結膜炎マニュアル第三版の方法により決定した。その結果、予想外に、ペントン領域において 2 型と判定される株は 1 株もなかった。22 件がアデノウイルス 1 型と類似の配列であり、これらの配列は流行性角結膜炎患者から検出して論文報告した株と同じクラスターに分類された（図 1 の HAdV-2 variant）。これらが検出された 22 名のうち 1 名（表 1、No12、検体番号 614）では眼症状が見られ、この患者（6 歳男児）では気管支炎も観察された。

昨年に初めて日本で検出されたアデノウイルス 89 型が 4 名の患者から検出され、89 型が日本で継続して流行していることが示された（図 1 の HAdV-89）。89 型検出患者のうち 1 名（住後 8 月男児）では気管支炎が、1 名（5 歳男児）では眼症状が見られた。

89 型に近縁であるが、ペントン領域のアミノ配列が異なる枝となる 89 類似株が 2019 年 6 月および 2020 年 1 月に各 1 名から検出された。いずれの患者も咽頭炎に加えて滲出性扁桃炎が見られた。

30 名の詳細は表 1 に示した。

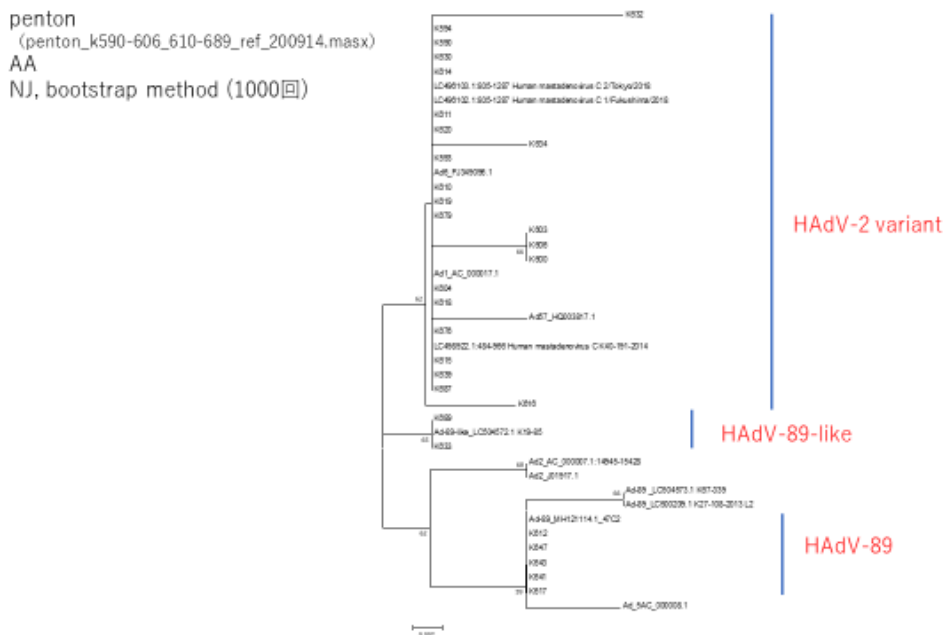


図 1. アデノウイルス 2 型とヘキソン領域の塩基およびアミノ酸配列から決定されたアデノウイルスのペントン領域の系統樹解析

表 1. アデノウイルス 2 型とヘキソン領域から判定された 30 名の詳細

| No | 検体番号 | ID | ファイバー PCR(2 種) | | ヘキソン | ペントン | 性別 | 年齢 | 検体採取日 | 最高体温 |
|----|------|-------|----------------|---|-------------|-----------------|----|------|------------|------|
| 1 | 590 | 22437 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | f | 1.00 | 2019/1/11 | 40.6 |
| 2 | 593 | 17691 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | f | 6.42 | 2019/1/19 | 39.0 |
| 3 | 594 | 22042 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 1.33 | 2019/1/19 | 39.7 |
| 4 | 600 | 21671 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 1.42 | 2019/1/26 | 39.3 |
| 5 | 603 | 21751 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | f | 1.25 | 2019/2/3 | 39.4 |
| 6 | 604 | 22047 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | f | 1.33 | 2019/2/4 | 41.0 |
| 7 | 606 | 18692 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | f | 5.25 | 2019/2/5 | 39.2 |
| 8 | 608 | 22298 | 2 | 3 | 混合のため配列決定不可 | - | m | 1.08 | 2019/2/12 | 38.8 |
| 9 | 610 | 22052 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 1.25 | 2019/2/15 | 40.1 |
| 10 | 611 | 22270 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | f | 1.25 | 2019/2/16 | 40.4 |
| 11 | 612 | 21995 | 2 | - | 2型 | 89型 | f | 1.83 | 2019/2/25 | 41.8 |
| 12 | 614 | 22431 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 0.67 | 2019/3/4 | 39.9 |
| 13 | 615 | 16101 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 8.50 | 2019/3/5 | 38.9 |
| 14 | 616 | 22681 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 0.75 | 2019/3/6 | 39.9 |
| 15 | 617 | 21623 | 2 | - | 2型 | 89型 | m | 1.83 | 2019/3/8 | 39.0 |
| 16 | 618 | 22469 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 1.42 | 2019/4/13 | 39.7 |
| 17 | 619 | 23020 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | f | 2.33 | 2019/4/23 | 39.3 |
| 18 | 620 | 22344 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 1.08 | 2019/4/24 | 39.9 |
| 19 | 630 | 19959 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | f | 4.00 | 2019/1/21 | 39.0 |
| 20 | 632 | 21367 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 2.08 | 2019/6/19 | 39.0 |
| 21 | 633 | 19406 | 2 | - | 2型 | 89型類似 | f | 4.75 | 2019/6/28 | 39.1 |
| 22 | 634 | 22653 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | f | 1.08 | 2019/6/29 | 40.8 |
| 23 | 639 | 22382 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 1.17 | 2019/8/15 | 40.2 |
| 24 | 641 | 22665 | 2 | - | 2型(89型様) | 89型 | m | 0.67 | 2019/8/21 | 41.5 |
| 25 | 643 | 20046 | 2 | - | 2型 | 89型 | m | 4.58 | 2019/8/28 | 39.5 |
| 26 | 647 | 19056 | 2 | - | 2型(89型様) | 89型 | m | 5.33 | 2019/9/10 | 40.1 |
| 27 | 676 | 23138 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 2.00 | 2019/12/14 | 40.0 |
| 28 | 679 | 23226 | 2 | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 1.92 | 2019/12/18 | 39.3 |
| 29 | 687 | 22098 | - | - | 2型 | 1型類似(LC496103様) | m | 2.42 | 2020/1/16 | 40.2 |
| 30 | 689 | 21175 | 2 | - | 2型 | 89型類似 | m | 3.08 | 2020/1/25 | 38.9 |

【考察と今後の課題】

今回の検討で、2019 年 1 月からの 1 年間に静岡県内の当小児科を受診してアデノウイルス 2 型とヘキソン領域から決定された株はペントン領域からは 2 型ではなかったことが示された。2 型変異株（1 型類似株）、89 型、89 型類似株の順に多く、臨床的に眼症状の有無や気管支炎の有無で患者間の臨床症状に差が見られたもののペントンの型と臨床症状の関連は明確には出来なかった。ペントン領域はアデノウイルスの特性を決定する重要な領域である。血清学的に 2 型と同定される検出株についての、ペントン領域の系統樹解析で 2 型とされる株がなかったことは驚きであり、さらなる解析が必要と思われた。ペントン領域における多様性が、アデノウイルス 2 型が継続して流行するメカニズムの一端を担っている可能性がある。2 型とこれまでに同定されてきた株は、ペントン領域の塩基配列を決定することで、89 型に分類される株を含むことが示された。89 型類似株や、1 型類似株について、どのような臨床的・ウイルス学的特性を持つかは今後の課題である。

【参考文献】

Takahashi K, Gonzalez G, Kobayashi M, Hanaoka N, Carr MJ, Konagaya M, Nojiri N, Ogi M, Fujimoto T. Pediatric Infections by Human mastadenovirus C Types 2, 89, and a Recombinant Type Detected in Japan between 2011 and 2018. *Viruses*. 2019 Dec 6;11(12):1131.

Kaneko H, Hanaoka N, Konagaya M, Tsukahara-Kawamura T, Kobayashi M, Nakagawa H, Hatano H, Ikuta K, Fujimoto T. Conjunctivitis Due to the Human Adenovirus Type 2 Variant Identified during Epidemic Keratoconjunctivitis Surveillance in Japan. *Jpn J Infect Dis*. 2019 Sep 19;72(5):353-355.

【経費使途明細】

| 使 途 | 金 額 |
|--|-----------|
| 北海道大学 Gabriel 教授招待講演タイトル Novel Sequences of HADV-C (国立感染症研究所にて 2019/10/7) | 円 円 |
| Gabriel 教授宿泊費 新大久保シティホテル (2019/10/7-10/8) | 9,000 円 |
| Gabriel 教授交通費 Jetstar (羽田⇄千歳) 往復航空券(10/7-10/8) | 16,110 円 |
| カラハバ イ NJ600 0.2mL 8-strip tubeCaps 120strips(PCR 用) | 20,570 円 |
| 理科研 DSCY216 Cycleave PCR ウイルス検出Primer Kit x 2 | 250,800 円 |
| Premix プレートタイプ遺伝子解析(理科研に依頼) | 23,232 円 |
| Premix プレートタイプ遺伝子解析(理科研に依頼) | 34,122 円 |
| 合 計 | 353,834 円 |
| 大同生命厚生事業団助成金 | 300,000 円 |