

福井県における流行性角結膜炎患者由来 アデノウイルスの遺伝子解析（第2報）

高橋美帆・佐藤かおり・酒井妙子・五十嵐映子・東方美保

Molecular Epidemiology of Human Adenoviruses Associated with Epidemic Keratoconjunctivitis
in Fukui Prefecture (2nd Report)

Miho TAKAHASHI, Kaori SATO, Taeko SAKAI, Eiko IGARASHI, Miho TOHO

1. はじめに

ヒトアデノウイルス（以下「HAdV」）は正20面体構造をとる2本鎖DNAウイルスであり、呼吸器疾患や眼疾患、消化器疾患等多彩な臨床症状を引き起こす¹⁾。

HAdVはA～Gまでの7種に分類され、さらに80種以上の型に分類されており、51型までは中和反応により規定された血清型として、52型以降は全塩基配列により規定された遺伝子型として報告されている。そのため、中和反応のみで型同定をすることは困難であり、中和反応の抗原性を規定しているとされるヘキソン領域の遺伝子配列決定による型別が必要となっている。また、近年ヘキソン領域だけでなくファイバー領域やペントンベース領域も中和抗原性に関与することや、種内の異なる型間での組換え型が報告されていることから、ペントン、ヘキソンおよびファイバーの3領域の部分配列による型別が推奨されている²⁾。

本報では、2018～2019年に福井県において流行性角結膜炎（以下「EKC」）の患者由来検体から検出されたHAdVの遺伝子型の推移と、組換え型が多く報告されているD種HAdVについての3領域解析による遺伝子型別結果を報告するとともに、第1報³⁾で報告済みの2013～2017年の調査結果も含めてまとめなおした。

2. 方法

2.1 検査材料

2017年1月～2019年4月に県内の2医療機関においてEKC患者から採取された結膜拭い液27検体を新たに検査対象とした。また、第1報で報告済みの検体（2013年1月～2017年12月採取）104検体の調査結果も加え、あわせて解析した。

年別の検体数は2013年4検体、2014年26検体、2015年36検体、2016年25検体、2017年13検体、2018年19検体、2019年8検体であった。

2.2 検査方法

2.2.1 HAdVの検索

検査方法は第1報³⁾のとおりで、ヘキソンC4領域の一部をPCR法により増幅し、目的とする増幅産物を精製後、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。遺伝子型別はMEGA ver.6.0を用いたNJ法による系統樹解析により行った。

2.2.2 D種HAdVについての組換え型検索

A549細胞を用いたウイルス分離により、2018～2019年

採取の27検体から分離されたD種HAdV24株を対象とし、第1報³⁾のとおりペントン、ヘキソンおよびファイバー領域の一部をPCR法により増幅し、目的とする増幅産物を精製後、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。

ペントン領域 約273bp、ヘキソン領域 約532bp およびファイバー領域 約450bp における型別はMEGA ver.6.0を用いたNJ法による系統樹解析により行った。

3. 結果および考察

3.1 HAdVの検索

供試検体131検体全例がHAdV陽性で、そのうちB種は19検体、C種は1検体、D種は102検体、E種は9検体であり、D種は全体の78%を占めていた（図1）。また型別の内訳は1型1件（0.8%）、3型19件（14.5%）、4型9件（6.9%）、8型2件（1.5%）、37型27件（20.6%）、53型4件（3.1%）、54型47件（35.9%）、56型4件（3.1%）、64型18件（13.7%）であり、54型、37型、64型、3型の割合が多かった（図2）。

年別にみると、第1報で報告済みのとおり、2013年は8型、2014年は4型、2015年は54型、2016年は64型、2017年は54型の検出率が高かった³⁾のに対し、2018年は37型および54型、2019年は54型の検出率が高かった。8型は2014年以降に検出されていないのに対し、54型は2014年以降に検出されるようになり、2015年に検出率が急増していた。54型は2015年に全国的に急増し、以降8型に替わりEKCの主要病原体となっているが²⁾、福井県においても同様の傾向を示した（図1）。2016年以降も全国的に54型の検出率が高く⁴⁾、福井県では2016年のみ64型の検出率が高かったが、それ以降は全国と同じく54型の検出率が高かった。

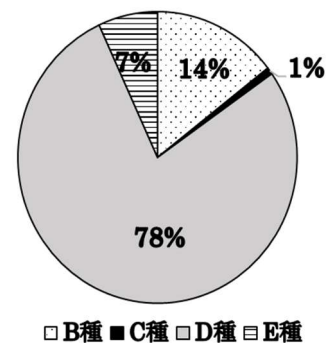


図1 HAdVの検出状況

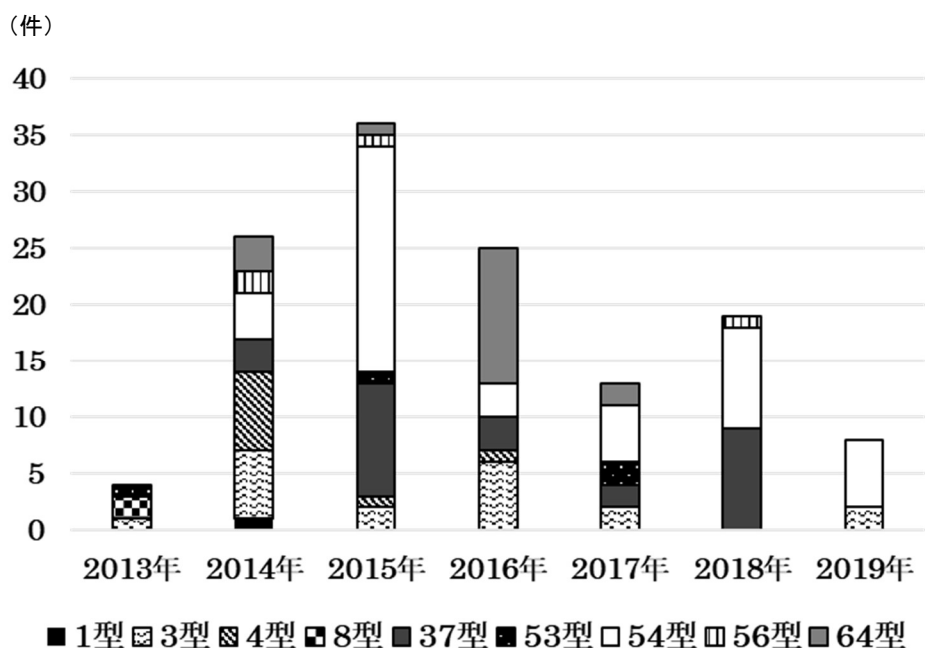


図2 年別検出状況

3. 2 D種 HAdV についての組換え型検索

D種のHAdV24株および第1報³⁾で報告済みの76株についてペントン、ヘキソンおよびファイバーの3領域における系統樹解析を実施したところ図3~5のとおりであった。

ペントン、ヘキソンおよびファイバーが何型に近いかによって遺伝子型(POHOF)と表記すると、24株の内訳は37型(P37H37F37)が9株、54型(P54H54F8)が14株、56型(P9H15F9)が1株であった。また報告済みの76株と合わせると内訳は8型(P8H8F8)が2株、37型(P37H37F37)が27株、53型(P37H22F8)が4株、54型(P54H54F8)が45株、56型(P9H15F9)が4株、64型(P22H19F37)が18株であった。すなわち、ヘキソンC4領域のみを用いた型別により53型、54型、56型および64型と型別されていた株が、実際に組換え型であることが確認され、これは2018、2019年度の株においても同様であった。

また、3領域における型別の結果はヘキソンC4領域を用いた型別の結果と同様であった。

4. まとめ

2013年~2019年の7年間にEKC患者の検体から検出されたHAdVは、9種類の遺伝子型に型別された。検出されたHAdVはD種が全体の約78%を占め、特に54型の占める割合が高かった。

D種HAdVについて3領域における型別を行ったとこ

ろ、組換え型と報告されていた53型、54型、56型および64型を実際に確認することができた。

その一方、今回解析対象とした分離株は全て既報告の型であったが、今後新規遺伝子型や新型組換え型HAdVの出現は十分に考えられる。そのため、単一領域による塩基配列の決定だけでは型別できない可能性が高く、HAdVの流行状況を正確に把握するためには、今後も複数領域での遺伝子解析を用いた型別を実施する必要があると考えられる。

謝辞

検体の採取および搬入にご協力いただきました健康福祉センターおよび医療機関の皆様に深謝いたします。

参考文献

- 1) 田代真人 他：ウイルス感染症の検査・診断スタンダード，羊土社，東京(2011)
- 2) 藤本嗣人 他：アデノウイルス感染症 2008~2017年6月，IASR，**38**,133-147 (2017)
- 3) 佐藤かおり 他：福井県における流行性角結膜炎患者由来アデノウイルスの遺伝子解析，福井県衛生環境研究センター年報，**17**，52-56(2018)
- 4) IASR 病原微生物検出情報：
<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/arc/gv/2019/datta201929j.pdf>

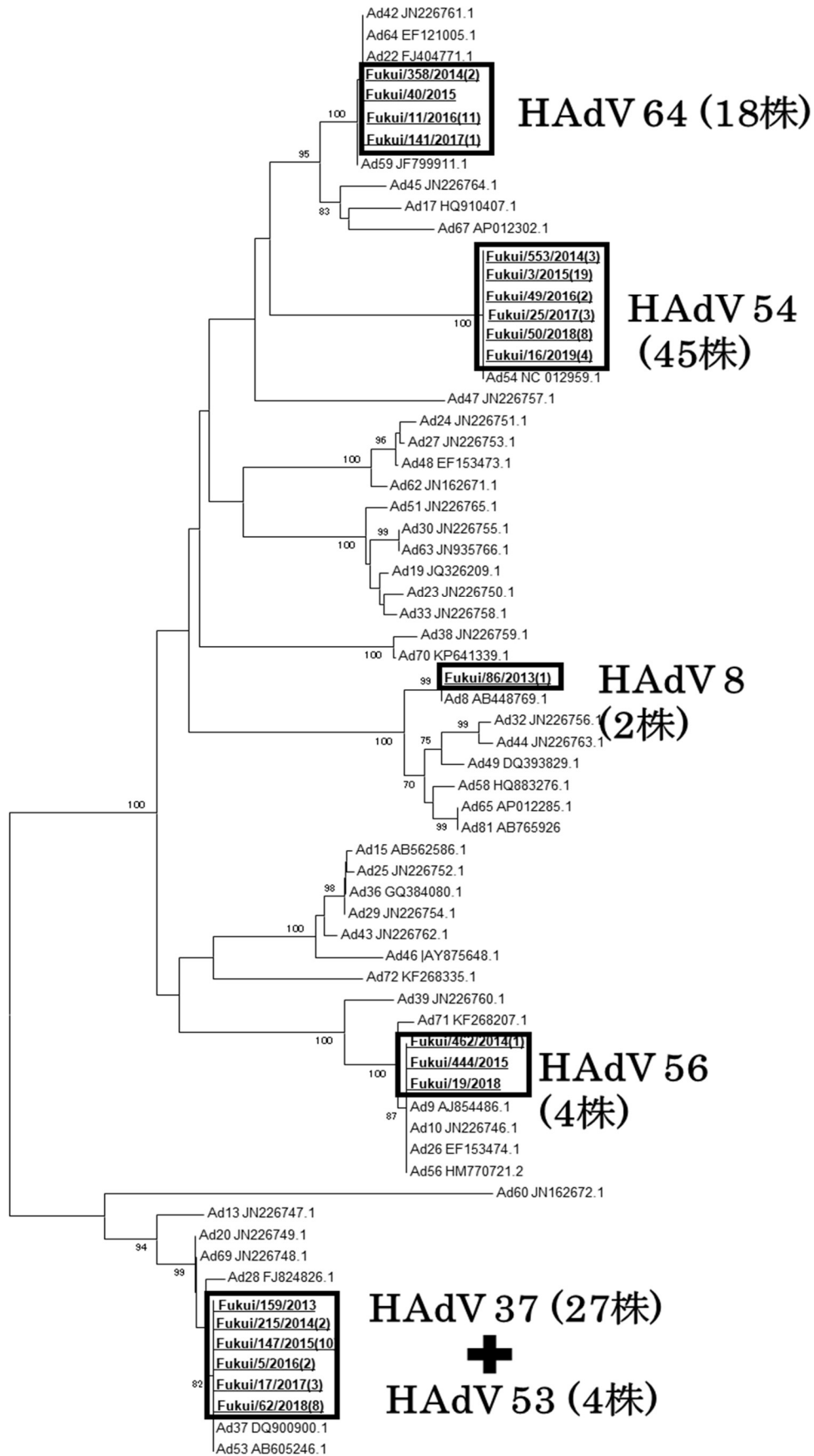


図3 ペントン領域 (273bp) における系統樹 (NJ法)

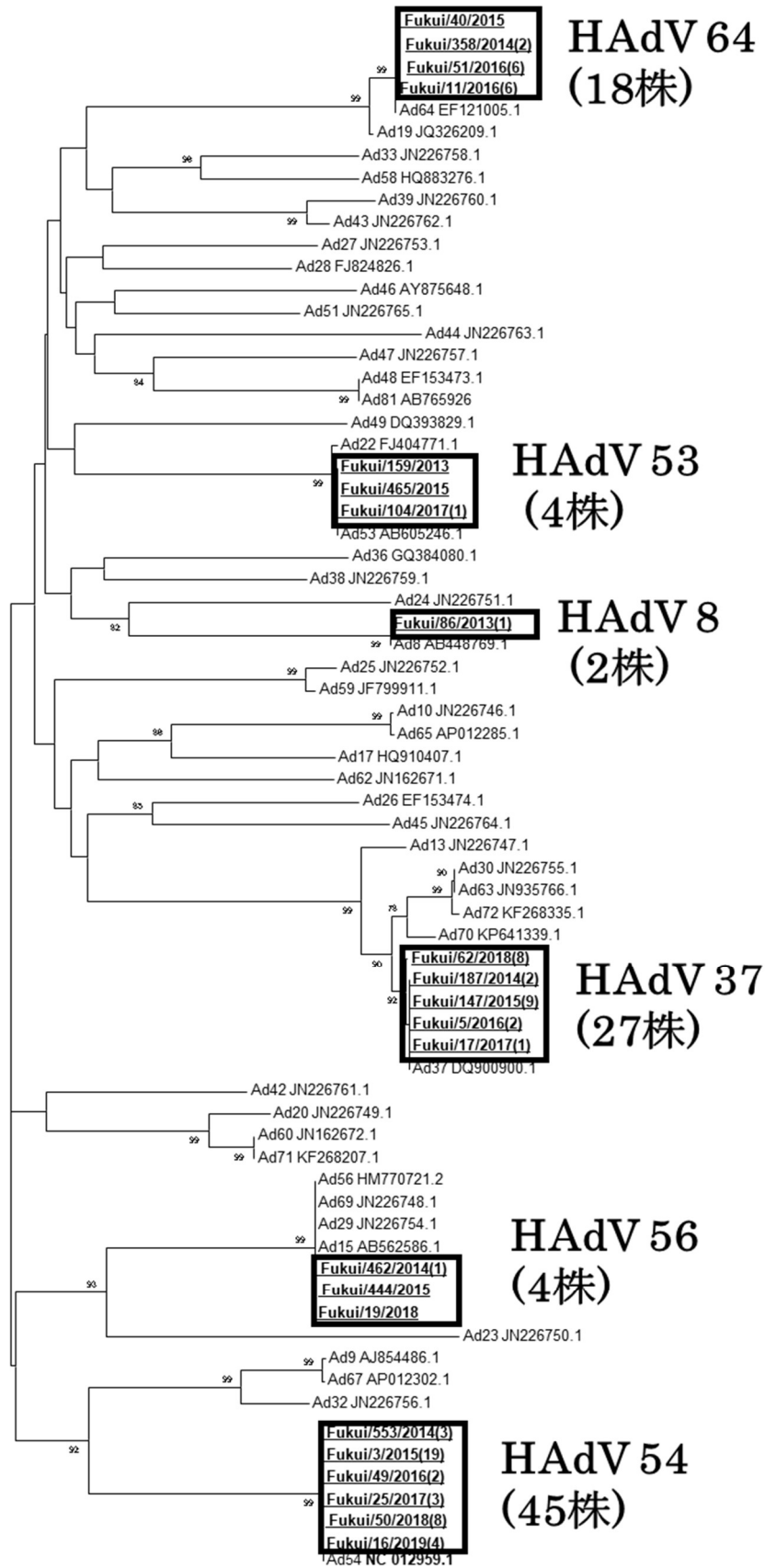


図4 ヘキソン領域 (532bp) における系統樹 (NJ 法)

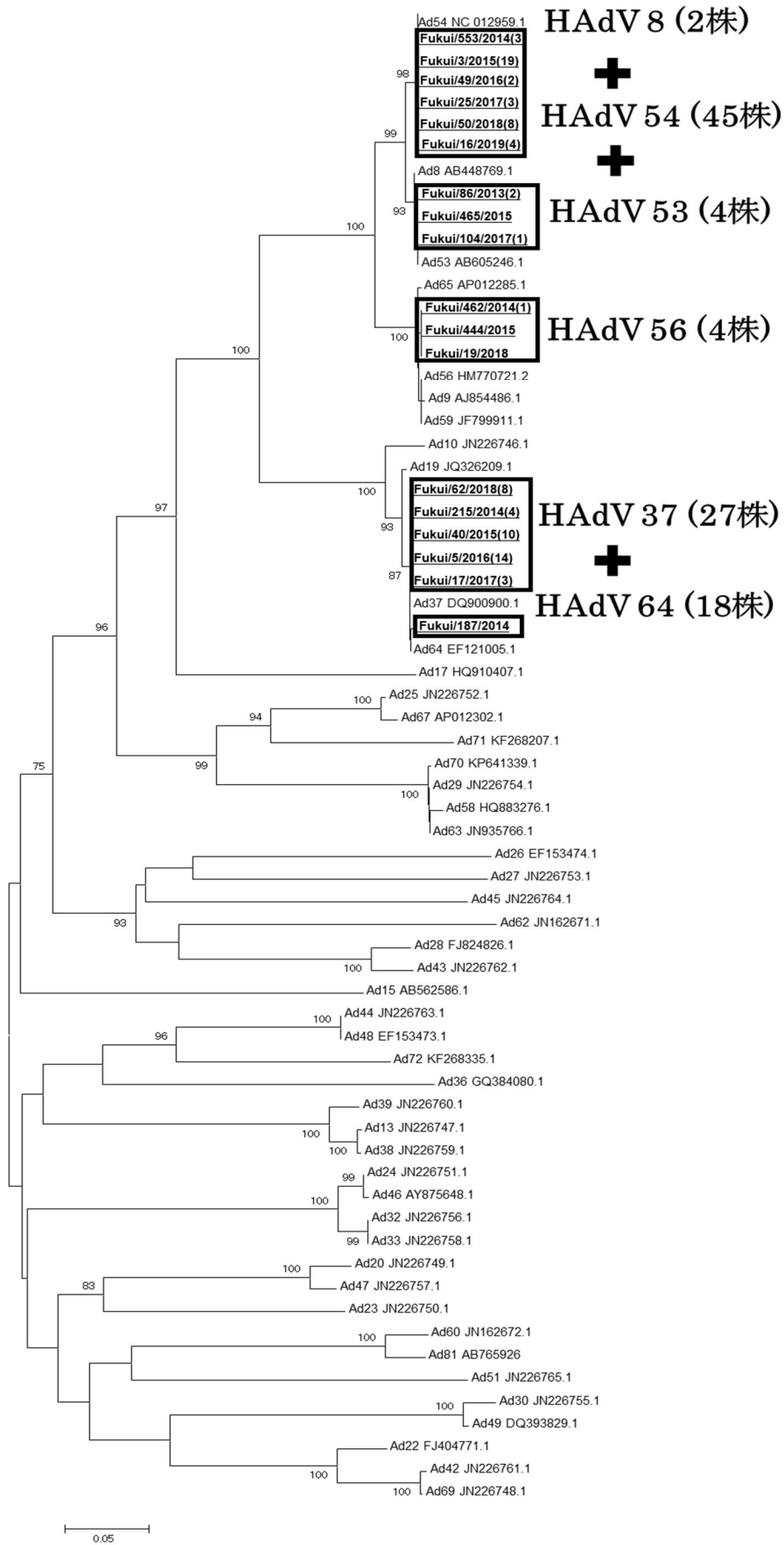


図5 ファイバー領域 (450bp) における系統樹 (NJ法)