

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：下痢症病原体の遺伝的多様性解析に基づく病原解析と医療診断薬シーズの探索
2. 研究開発代表者：大西 真（国立感染症研究所細菌第一部）
3. 研究開発の成果

下痢症は年間1.7億人が罹患し、5歳以下の乳幼児に70万人を超える死者を生む重大な感染症である。原因微生物は多様であり、微生物学的な解析が不十分な領域が残されている。本研究ではJGRIDにより構築された下痢感染症ネットワークを利用しつつ、微生物種内の遺伝的多様性と疫学情報を基盤としたゲノム疫学研究と基盤的病原機構解析を行い、流行予測、病原遺伝子特定、流行株の遺伝的特性の解明を通じて、診断法の創出を目標としている。

コレラ菌の比較ゲノム学に基づいた病原機構解明とその診断応用

典型的コレラ菌96株、非典型的な臨床・環境由来コレラ菌のドラフトゲノム配列情報を取得した。いずれも取得データの一次解析から80Xカバレッジに到達していることを確認した。インド拠点との連携で得られているインド・コルカタ株とバングラデシュ・ダッカ株との比較解析により各地域の特性を知ることが可能と考えられた。加えて、非典型コレラ菌8株を選定し、PacBioシーケンサーデータを取得した。H27年度は配列精度の確認を1株について実施し、完全ゲノム配列を確定した。

データベースに蓄積されているゲノム配列を利用してパンゲノム解析のためのパイプラインを構築したが、計算負荷が大きいため、さらなる効率的な解析手法が必要であることが示唆された。

腸管感染性ウイルスの分子疫学解析：

各海外拠点における解析標的ウイルスを決定した。各拠点との連携研究を以下に示した。インド拠点：2000年以降のロタウイルス検体をNGS解析(121例)し、インドにおけるロタウイルス流行状況を把握した。ロタウイルスリアソータント形成が先進諸国に比べて高頻度に起きていることを示唆していた。タイ拠点：ノロウイルスを中心に120株の全塩基配列決定を実施した。ヒトノロウイルスとネコノロウイルスのキメラウイルスを発見した。また、ロタについても次世代シーケンサーを用いた全ゲノムセグメント解析を実施し始めた。インドネシア拠点：アイルランガ大、博士研究員研修者を受け入れ分子系統解析のためのトレーニングを行った。ノロウイルス、サポウイルス、ロタウイルス陽性検体、原因不明のウイルス性下痢症便検体の収集、蓄積が開始された。そのほかの拠点との打ち合わせは、現在進行中である。加えて、ウイルスの流行予測プログラムの基本デザインを構築した。本プロジェクトで獲得した塩基配列データを来年度以降、データベースに入力して管理運用する予定である。

赤痢アメーバのゲノミクス解析による病原因子特定と診断応用：

赤痢アメーバ分離株の確立に関しては、株の樹立・無菌化に至らなかったが、次年度以降に株を確保するために必要な準備を達成した。インドネシアスラバヤのアイルランガ Airlangga 大学で分離株採取のための準備として、下痢症例からの赤痢アメーバの陽性率(約8%)を確認した。更に、インドコルカタの国立コレラ腸管感染症研究所 Niced に集約された検体(12検体)からも赤痢アメーバ感染検体を確認した。次年度以降分離株の確立とゲノム配列獲得の準備は整った。また、分離株の確立には細菌共生(xenic or polyxenic)株の樹立が前提となるが、糞便検体だけでなく、大腸内視鏡の洗浄液を材料とした培養の可否を検討し、有効性が確認された。更に、比較ゲノム解析に必要な本邦株として6株の臨床分離株を取得した。