

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：革新的なデング流行対策と治療法開発に資するデングウイルス準種と血管透過性因子の網羅的解析
2. 研究開発代表者：長谷部 太（国立大学法人 長崎大学 国際連携研究戦略本部）
3. 相手国研究代表者：Le Thi Quynh Mai (Vice Director, National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam), Maria Luisa G. Daroy (Scientist, Research and Biotechnology, St. Luke's Medical Center, Philippines)

4. 研究開発の成果

1) ベトナムとフィリピンにおいて流行するデングウイルスの血清型、遺伝子型、及び、ウイルス遺伝子の特性の解析し、デング流行状況の把握：

平成 25 年頃にベトナム北部の Hai Phong とベトナム中部の Ha Tinh 省にこれまでベトナムで報告されていないデングウイルス 3 型 (DENV-3) Genotype-III ウイルス株の侵入が確認された。Hai Phong の 1 症例ではデング症状を発症する前に神経症状を発症、脳炎患者として入院し、脳脊髄液 (CSF) から DENV-3 Genotype-III ウイルス株を分離し報告した (Minh Huong Phu Ly et. al. J. Clin Virol 2015 Sep;70:93-96)。CSF から分離されたウイルス株とこの患者と同じ地域で発症した軽症デング患者の血清から分離した DENV-3 Genotype-III ウイルス株の遺伝子解析・生物学的解析を進めている。

フィリピンでは平成 27 年度から研究予算が支給されるようになり、374 人のデング患者から臨床検体を採取することが出来、ウイルス分離・遺伝子解析が進行中である。

2) デング患者体内のデングウイルス準種、及び、血管透過性因子の同定、重症デングのメカニズムの解明

これまで、多くのデング熱 (DF) 患者やデング出血熱 (DHF grade I 又は II) 患者から臨床検体を採取し、ウイルス遺伝子の解析や血管透過性因子に関する解析を行ってきたが、重症デング (DS) 患者から検体を採取することが非常に困難であった。ベトナム南部のホーチミンにある Children Hospital No.1 では毎年多くの SD 患者を収容し治療を行っており、平成 27 年度の初めからこの病院と SD 患者に関する共同研究について協議を行い、8 月に病院側の倫理委員会の承認を得て 8 月下旬から年度末までに SD 患者 61 人 (デングショック症候群：DSS の患者 24 名を含む) からの臨床データ、及び、検体採取 (血液、腹水、胸水) することが出来た。次世代シーケンサー Ion Proton を用いた患者体内のデングウイルス遺伝子の解析、及び、患者血液細胞のトランスクリプトーム解析を開始している。平成 26 年度に DENV-1、及び、DENV-2 の分離株の非構造蛋白 NS4B において蚊 (C6/36) と哺乳類細胞 (Vero) の宿主選択性に関与すると考えられるアミノ酸置換が確認された。限界希釈法を用いて同一患者血清から 3 種類の異なる Phenotype のウイルス準種の単離に成功した。また、これらと同じアミノ酸置換を NS4B に導入した感染性プラスミドクローンも作成し、生物学的性状の比較解析を行っている。

フィリピンでは 9 症例に 2 つの異なる血清型のデングウイルスに混合感染していることが確認され、ウイルス分離・遺伝子解析、病態との関連について検討を行っている。

3) 中和抗体価の測定と流行予測への可能性

ハノイ疾病予防センターの協力を得てハノイ市内の住人 (健常者) 100 名からデング流行期前と流行後に採血を行い、In-house の ELISA を用いて IgM 抗体、及び、IgG 抗体価の測定を行った。ハノイ周辺での 1 回のデング流行期における抗体陽転率、初感染率、二次感染率等に関する予備データを得ることが出来た。全ての血清検体は長崎大学熱帯医学研究所ウイルス部門に輸送し、BHK FcγR 培養細胞を用いて中和抗体価の測定を行っている。