

広島市で流行したヒトパレコウイルス 1 型及び 3 型 の構造蛋白質 VP1 全領域のアミノ酸解析

山本 美和子 則常 浩太 兼重 泰弘 藤井 慶樹
松室 信宏

はじめに

ヒトパレコウイルス (HPeV) は 1999 年に新たにパレコウイルス属として分類されたウイルスである。エンテロウイルス属エコーウイルス 22 型が HPeV1 に、エコーウイルス 23 型が HPeV2 に改名された。その後、遺伝子学的に異なる HPeV が見つかかり現在では 17 型まで存在する¹⁾。低年齢層に患者が多く、主に発熱、上気道炎、胃腸炎などの症状を呈する。HPeV のなかでも特に HPeV3 は脳炎等の重症となることがあり注視されている。国立感染症研究所感染症疫学センターの病原微生物検出情報 (IASR) によると、HPeV は多い年では数百件の報告がある。HPeV1 の報告数は年によるばらつきがほとんどなく、年間数十件~百件の報告があるの

に対し、HPeV3 は年によるばらつきが大きく、2~3 年おきに流行が起きており、そのことを特徴づけるように、少ない年は 10 件未満であるが、流行年には数百件の報告がある。しかし、何故 HPeV3 だけが 2~3 年おきに流行するのかいまだ説明されていない。

HPeV は構造蛋白である VP0 の N 末端と VP1 の C 末端に対する抗血清が中和活性を持っていることが知られている。VP1 の C 末端は RGD モチーフ構造を含んでいるが、RGD モチーフ構造が確認されているのは HPeV1, 2, 4, 5, 6 のみであり、HPeV3 は確認されていない¹⁾。RGD モチーフ構造は、吸着の際、HPeV 粒子と感染細胞面のインテグリンとの接着に必須とされ、HPeV1 では実験的に RGD モ

		10	17	19	21	38	45	67	68	78	82	84	85	92	123	124	129	137	138	140	141	175	176	192	199	216	217	218	220	221	222	223	224	225	226	227	229	230	232	
2003	1030840F	T	E	A	E	D	N	K	V	Y	T	T	D	N	E	K	V	A	D	V	N	N	N	T	L	S	T	G	A	L	R	G	D	L	A	N	S	D	P	
2004	1040436F	N	N	.	.	.	E	N	A	S	S	.	.	.	T	S
	1040543T	R	N	E	N	.	.	S
	1040585T	S	E	N	.	.	S	.	.	.	T
2005	1050450F
	1050488F
2006	1060601T	.	G	I	E	N	.	T	S	.	R	.	T	.	T	S	
	1060602T	.	G	I	E	N	.	T	S	.	R	.	T	.	T	S	
	1060612T	S	.	.	S	S	.	.	.	S
	1060686F	N
2007	1070430F	E	N	.	.	S	.	.	.	T	.	S	
	1070607F	N	E	
	1070648F	N	E	S	
	1070765F	N
	1070792F	N	E	N	.	T	S	.	.	.	T	M	.	.
2008	1080047F	.	.	.	E	N	.	G	.	.	E	N	.	T	S	.	.	.	T	.	T	M	.	.	
	1080691F	I	
	1080736F	N	L
	1080754F	N
2009	1090609F	N	E	N	.	K	
	1090793F	N	N	.	.	.	S	.	S	.	T	
2010	1100210F	.	.	V	.	.	S	.	I	N	A	T	S	D	.	.	T	.	S	L	
	1100487F	N	E	N	.	.	S	S	.	I	
	1100503F	S	.	.	S	S	.	S	.	S	
2011	1110473T
	1110487F	N	I	N	S	
	1110490F	F	.	.	N	E	N	.	.	S	.	.	.	T	.	.	G	.	M	.	D	
	1110514F	F	.	.	N	E	N	.	.	S	.	.	.	T	.	.	K	.	M	.	G	
	1110532F
	1110550T	F	N	E	N	.	.	S	.	.	.	T	M	.	G	.	.	
2012	1120361T
	1120417F	A	.	.	.	R	.	T	N	R	
	1120435F	I
2013	1130275F	A	
	1130291F	.	D	N	E	N	.	T	S	S	N	
	1130314F	I	T	N
2014	1130350F	.	.	D	.	.	.	F	.	.	.	N	S	.	.	.	E	N	.	.	S	.	A	.	T	.	S		
	1140262F	N	E	N	.	.	S	.	.	.	T	S	.	.	.	
	1140265T	T	N	D	R	
	1140315T	.	D	N	.	.	R	.	E	N	.	T	S	S	N		
2015	1140323T	E	N	.	.	S	.	.	.	T	S	.	L	.	.	
	1150237F	N	E	N	.	.	S	.	.	.	T	S	.	.		
	1150300F	.	.	D	.	.	.	F	.	.	.	N	S	E	N	.	.	S	.	.	.	T	.	S	I	.	
1150342F	N	E	N	.	.	S	.	.	.	T	S	.	.	C		

図 1 HPeV1 の VP1 全領域アミノ酸配列の解析結果 (2003 年~2015 年) (太枠 : RGD モチーフ構造)

		19	25	44	67	78	88	116	138	141	174	199	219	221	222	223	224
2004	1040484T	M	S	N	K	V	Q	I	N	T	H	I	R	A	A	L	Y
	1040504T	G	.	V	.	.
2005	1050590F	V	.	.
2006	1060179T	Y	.	G	.	V	.	.
	1060230T	G	.	V	.	.
	1060295T	G	.	V	.	.
	1060320N	V	.	.
	1060339F	V	.	.
	1060374F	G	.	V	.	.
	1060385F	V	.	.
	1060402F	G	.	V	.
	1060403N	G	.	V	.
	1060430N	G	.	V	.
	1060450N	I	.	.
	1060459T	G	.	V	.
	1060460F	G	.	V	.
	1060461N	V	.	.
	1060483T	G	.	V	.
	1060504N	G	.	V	.
	1060541F	G	.	V	.
	1060542T	V	.	.
1060545L	G	.	V	.	
1060546T	V	.	.	
2008	1080413F	V	G	.	V	.	.
	1080416L	V	G	.	V	.	.
	1080444N	V	G	.	V	.	.
	1080447N	V	G	.	V	.	.
	1080448N	V	H	G	.	V	.	.
	1080452N	V	.	.
	1080457F	V	.	.
	1080464T	.	T	G	.	V	.	.
	1080470T	V	G	.	V	.	.
	1080476N	V	G	.	V	.	.
	1080487T	V	G	.	V	.	.
	1080490T	V	G	.	V	.	.
	1080501N	V	G	.	V	.	.
	1080502F	V	G	.	V	.	.
	1080520T	V	G	.	V	.	.
	1080524N	V	G	.	V	.	.
	1080529N	V	G	.	V	.	.
	1080542T	V	G	.	V	.	.
	1080549F	V	G	.	V	.	.
	1080556T	V	G	.	V	.	.
	1080558N	V	V	G	.	V	.	.
	1080567F	V	G	.	V	.	.
	1080568L	V	G	.	V	.	.
	1080569N	V	V	G	.	V	.	.
	1080571T	V	G	.	V	.	.
	1080583L	V	G	.	V	.	.
	1080586F	V	G	.	V	.	.
	1080589T	V	.	.
1080604N	V	G	.	V	.	.	
1080616F	V	G	.	V	.	.	
1080617N	V	G	.	V	.	.	
1080618N	V	G	.	V	.	.	
1080626F	V	G	.	V	.	.	
1080627N	G	.	V	.	.	
1080630F	V	G	.	V	.	.	
1080643F	V	G	.	V	.	.	
1080664N	V	G	.	V	.	.	
1080692F	V	G	.	V	.	.	
2011	1110228F	S	V	.	.
	1110244F	.	.	.	R	G	.	.	.	H
	1110248L	.	.	.	R	G	T	.	.	H
	1110347F	.	.	.	R	G	T	.	.	H
	1110350L	.	.	.	R	G	I	.	.	H
	1110364N	.	.	.	R	G	I	.	.	H
	1110373T	.	.	.	R	G	T	.	.	H
	1110379F	.	.	.	R	G	T	.	.	H
	1110408F	V	.	.
	1110412F	V	.	.
	1110424F	.	.	.	R	G	I	.	.	H
1110462F	.	.	.	R	G	T	.	.	H	
1110482F	.	.	.	R	G	T	.	.	H	
2013	1130320F	.	.	.	R	G	.	V	.	H
2014	1140199T	.	.	.	R	.	.	V	G	.	.	.	H
	1140201F	G	.	V	.	.
	1140220F	.	.	Y	R	G	V	.	.	H
	1140226F	.	.	Y	R	.	.	D	G	V	.	.	H
	1140228F	.	.	H	R	G	.	.	.	H
	1140253F	.	.	.	R	G	.	.	F	H
1140259F	.	.	Y	R	G	V	.	.	H	
1140286F	.	.	.	R	H	
2016	1160125N	.	.	.	R	G	.	.	.	R
	1160160F	.	.	.	R	G	.	.	.	R
	1160199	.	.	.	R	G	.	.	.	R
	1160205T	.	.	.	R	G	.	.	.	R
	1160213F	.	.	.	R	G	.	.	.	R
	1160220T	.	.	.	R	G	.	.	.	R
	1160227T	G	.	.	.	R
	1160231F	.	.	.	R	M	G	.	.	.	R
	1160234F	.	.	.	R	G	.	.	.	R
	1160235F	.	.	.	R	M	G	.	.	.	R
	1160258F	.	.	.	R	G	.	.	.	R
	1160266F	.	.	.	R	G	.	.	.	R
	1160303F	.	.	.	R	G	.	.	.	R
	1160306F	.	.	.	R	G	.	.	.	R
1160313F	.	.	.	R	G	.	.	.	R	
1160314F	.	.	.	R	G	.	.	.	R	
1160320F	.	.	.	R	G	.	.	.	R	

図2 HPeV3のVP1全領域アミノ酸配列の解析結果(2004年~2016年)(太枠:主な変異箇所)

チーフ構造に対する抗血清が中和活性を持つことが報告されている²⁾。今回, HPeV1とHPeV3のVP1

全領域におけるアミノ酸変異について解析したので報告する。

方 法

1 材料

2003年から2016年までに分離された HPeV1 45株及び HPeV3 100株を試験に供した。

2 VP1 全領域アミノ酸解析

HEF細胞又はVero細胞により分離された HPeV1及び HPeV3を QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN製)により RNA抽出し, High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit(ライフテクノロジー製)及びオリゴ dT プライマー(ライフテクノロジー製)を使用し cDNAを合成した。VP1領域を増幅するプライマー(Cap-parEcho-F(5'-TCH ACW Tgg ATg MgR AAR AC-3')/Cap-par-Echo-R(5'-TCY ARY TCA CAY TCY TCY TC-3'))³⁾で PCRを行い, 増幅産物を電気泳動した。特異バンドを切り出し, QIAquick Gel Extraction Kit(QIAGEN製)でゲル精製した後, BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit(ライフテクノロジー製)でサイクルシーケンシングを行い, その反応液を BigDye X Terminator 精製キット(ライフテクノロジー製)で精製した。Applied Biosystems 3500 ジェネティックアナライザで塩基配列を決定し, GENETYXでアミノ酸に変換し, MEGAによりアミノ酸変異の確認を行った。

結 果 と 考 察

HPeV1は, 2003年に分離された 1030840Fを参照株とし 45株解析した。HPeV3は 2004年に分離された 1040484Tを参照株とし, 100株を解析した。参照株を元に変異が起こったアミノ酸のみを図1及び図2に示した。

HPeV1は VP1の234個のアミノ酸のうち, 36(約15%)個のアミノ酸が変異を起こしていた。137, 141, 192, 227番目のアミノ酸の変異が多かったが, 分離年による特徴等はみられなかった。また, RGDモチーフ構造の変異がみられたのは2株のみであり, 細胞吸着に関与すると考えられる RGDモ

チーフ構造に変化は起こっていないことが確認できた。HPeV1のVP1蛋白質は, 不規則にアミノ酸変異を繰り返していることが示唆された。

HPeV3は VP1の226個のアミノ酸のうち19(約8.4%)個のアミノ酸が変異を起こしていた。2008年流行株は, 2006年流行株から M19Vの変異を獲得した株が流行した。2011年から2014年に分離された株は, 主に V19M, K67R, V222A, Y224Hに変異を獲得した株が流行したが, 2008年流行株から221Aが T, I又はVに変異をしたものが12株, N44Y, A221Vに変異した株が3株, N44Hに変異した株が1株, L223Fに変異した株が1株あり, 解析数が少ないため断定はできないが, 少なくともVP1蛋白質の同一のアミノ酸が変異したことによる流行ではないと推測される。2016年流行株は2011年から2014年に分離された主流行株から H224Rの変異を獲得した株が流行したと考えられた。2008年流行株に近縁で, V19Mの変異を獲得した株が, 2011年に3株, 2014年に1株, 2016年に1株分離された。HPeV3に RGDモチーフ構造は含まれていないが, VP1のC末端側に変異が多くみられた。HPeV3は HPeV1と違い, 不規則に変異をしているのではなく, 流行年ごとに1箇所又は2箇所程度のアミノ酸変異を獲得している。このことから, HPeV3は構造蛋白質であるVP1に1箇所でもアミノ酸変異を獲得した株が出現し, その株が主要株となつて, 大きな流行を起こしてきた可能性があることが推測された。今後はVP0領域のN末端も解析し, さらに詳細なデータを蓄積していきたいと考えている。

文 献

- 1) 相澤悠太 他: ヒトパレコウイルス, ウイルス, 65(1), 17~26(2015)
- 2) 伊藤 雅 他: ヒトパレコウイルス感染症, モダンメディア, 53(12), 329~336(2007)
- 3) Ngan T. et al: Novel Human Parechovirus, Sri Lanka, Emerging Infectious Disease, 16(1), 130~132(2010)