

今週の話題：

<麻疹ウイルス命名法 最新情報：2012>

* 緒言：

循環している野生型ウイルスの遺伝子特性は麻疹研究所サーベイランスと分子疫学研究の重要な要素である。分子的解析と一般的な症例調査の併用は麻疹ウイルスの伝播経路を明らかにし地域伝播の途絶を感度高く実証できる。疫学的な遺伝子型の欠如は地域的な麻疹の掃滅を検証する判断基準の一つである。標準化された方法と命名法は麻疹の塩基配列と遺伝子型を明確にするために使われる。

野生型麻疹ウイルスの遺伝的多様性を表すのに使われる命名法は1998年WHOにより初めて提唱され、必要に応じ改訂されてきた。本稿では現在の記載を更新し過去十年間にWHO研究所ネットワーク(LabNet)から出された重要な情報を追加し、麻疹ウイルスの標準的な命名法を明確にし、遺伝子型情報の報告、貯蔵および解析が可能な二つのデータベースを紹介する。さらに遺伝子型分類および同遺伝子型内の変異/層別化の仕組みについても説明する。

* 麻疹塩基配列の標準名：

1998年、2001年の報告と同様、WHOの麻疹データベースとMeaNSの基盤となっている。

RNAの塩基配列は以下のどちらかで示される：

- ・ MVi: 細胞培養液中の麻疹ウイルス分離から抽出されたRNA由来のもの
- ・ MVs: 臨床材料から抽出されたRNA由来のもの

塩基配列名に含まれる他のデータ：

- ・ 症例発生都市あるいは州/省(必須)。正式名称を用いる。アスキー文字のみ使い、必要ならば空白を入れる。
- ・ 国、ISO-3表示(必須)。
- ・ 発疹発生日、疫学週(1-53)および年で表示(必須)。不明な場合は検体採取日を、それも不明な場合は研究所の検体受取日を、また発生年のみ明らかな歴史的試料の場合は疫学週を0とする。発生年も発生月も明らかだが疫学週および日でない場合、疫学週はその月の第二週とする。
- ・ 同一の疫学週および地域から2例以上発生した場合、分離/塩基配列番号(地域は必須)。
- ・ 遺伝子型([]で表す)(選択)。最低でもヌクレオタンパクの450塩基をシークエンスする必要がある。
- ・ 封入体脳炎(MIBE)、亜急性硬化性汎脳炎(SSPE)あるいは最近のワクチン接種歴がありワクチンウイルスの検出が疑われる(VAC)症例由来のシークエンスにおける特別な表示。

最近の命名法の例：

- ・ MVi/ London. GBR/3. 12/2 [D4]
- ・ MVs/NewYork. USA/17. 11/ [G3] (SSPE)

* WHO 麻疹データベース：

「WHO/ユニセフ、地球規模での予防接種実施に関する展望と戦略 2006-2015」に伴う強化により情報を収集するため、2006年からWHO LabNetにより進められてきた。このデータベースには、遺伝子型、WHOウイルス名、症例発生地域と日付が収集される。2012年1月現在11319の遺伝子型情報が135のWHO加盟国から提出されており、ウイルスの世界分布図(地図1)、LabNetマニュアル、参考文献と研究所のプロトコールが入手可能である。アクセスはパスワードで、LabNet会員に制限されている。

* MeaNS データベース：

ロンドン(英国)のHealth protection agencyとWHOの共同プロジェクトとして2008年に開始した。HもしくはN遺伝子配列をコードする完全なタンパクあるいはヌクレオタンパクのカルボキシル末端の150アミノ酸をコードする450塩基(N-450)の塩基配列情報が寄稿者やGenbankから収集される。

利用者はMeaNSの生物情報により、同一または近似した塩基配列の検索、遺伝子型の割り当て、系統発生樹の表示と時間的かつ空間的な麻疹伝播の追跡を行える。

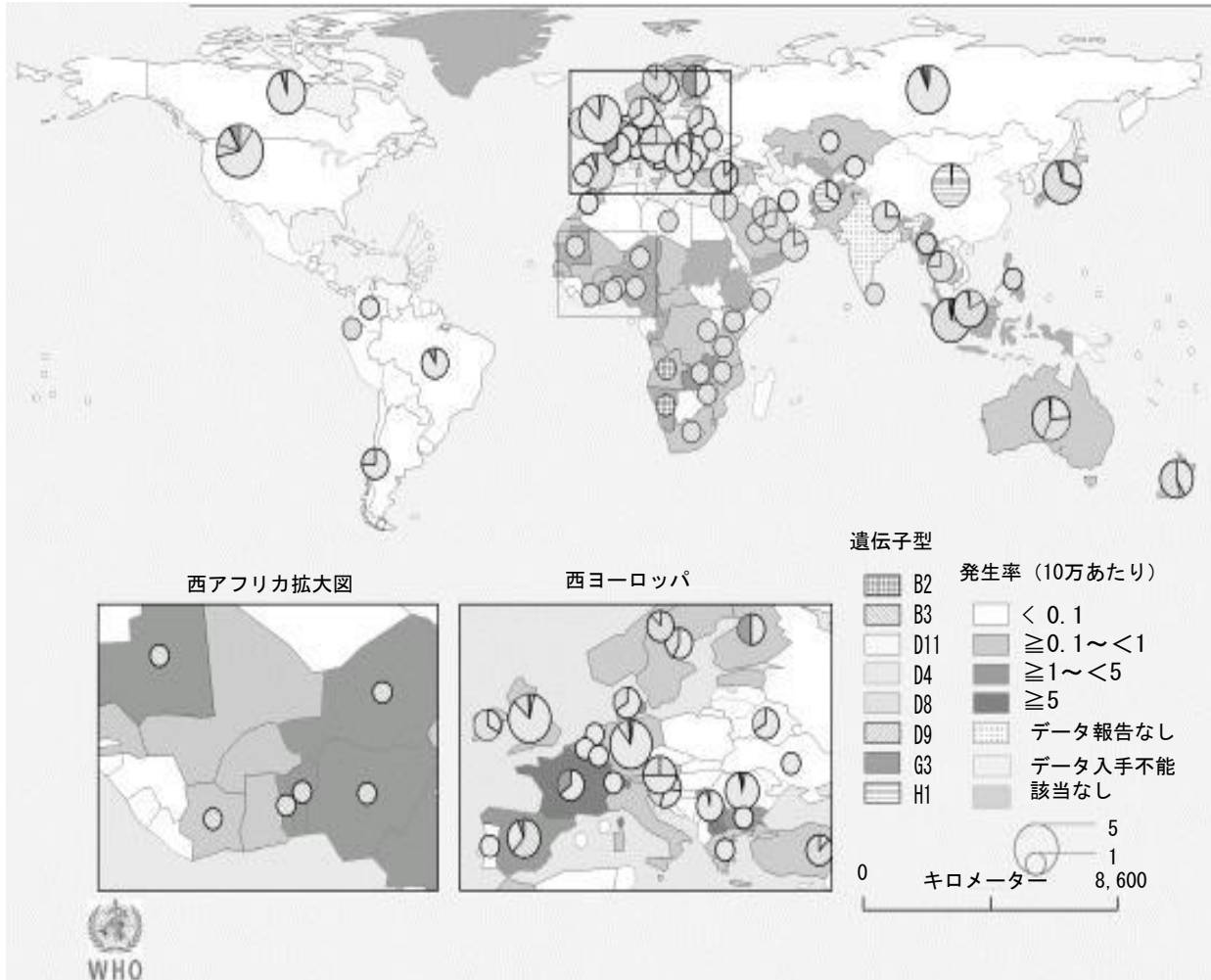
2012年1月、7727の異なる検体由来の8150の塩基配列が加わった。このうち43%はD4で、この遺伝子型による最近の世界的な大流行を反映している。MeaNSの方針と利用者のマニュアルはwebsiteから入手できる。

* 麻疹遺伝子型：

麻疹ウイルスゲノムの可変部位のほとんどは標準のN-450であり、この部位の塩基配列は遺伝子型の決定に最低限必要である。株間のヌクレオチド変異の解析により、操作上分類単位として8の麻疹ウイルスクレード(A-H)と24のサブクレードが定義された(表1)。しかしサーベイランスの改善にも関わらず6の遺伝子型(B1、C1、D1、E、FおよびG1)が今世紀において、5の遺伝子型(D2、D3、D10、G2およびH2)が2006年から検出されておらず、サーベイランスの乖離が存在するという警告とこれらのウイルスが非活動期にある可能性が提言されている。実際、最近同定された遺伝子型Aの症例はすべて近日中のワクチン接種歴のある患者由来であり、2008年の報告が最後の野生型A遺伝子型と推定される。

最新の命名法は株名へ VAC を追加するため、近年のワクチン接種者に検出されるすべてのワクチン株を必要とする。研究所はコンタミネーションの可能性を最小化するため、陽性コントロールとして野生型株または合成 RNA を用いることが推奨されている。

地図 1：麻疹遺伝子型の世界的分布、2011 年



*** 遺伝子型参考株の最新情報：**

WHO と参考株により認識された麻疹ウイルス遺伝子型の表を表 1 に示す。この表は中国の延安省での大流行で検出された新遺伝子型である D11 を含む。24 の参考株は各遺伝子型の現代の塩基配列とは大抵異なるが、いまだ遺伝子型系列の正確な表示に有用なため変更はされておらず、新規の塩基配列の遺伝子型を高精度に割り当てられる。

*** 遺伝子型多様性：**

MeaNS 内の N-450 塩基配列の進化解析により、2001 年に定められた遺伝子型構造は、より大きなデータセットを用いた系統発生系列で再現されることが示された；しかし遺伝子型内あるいは遺伝子型間の塩基配列多様性の水準は、2001 年提案の 2.5% ではないと強調された。

作成された麻疹 N-450 塩基配列の大きさと変異性は、系統的分類戦略で、新しい遺伝子型は単に多様性閾値に基づくだけでは確立できないことを示す。

*** 新しい遺伝子型の基準の確立：**

新しい遺伝子型の命名は、以下すべての基準に合致しなければならない。

- (1) 塩基配列は最低でも N-450 および H 遺伝子部位をコードする完全なタンパクから得られる。
- (2) 新しい遺伝子型は複数の症例から得られる塩基配列に基づき、最低でも 1 つのウイルス分離物は参考株として入手できる。
- (3) 遺伝子型命名は、感染源や経路の同定を容易にし、地域性伝播を特徴づけられるという点で系統学的に有用である。
- (4) 系統発生解析は、現存する遺伝子型内の多様性が捉えられるように、N-450 および H の入手可能なすべての塩基配列情報を利用して行う。
- (5) 推定上の遺伝子型の祖先ノードは、同じクレード内のほかの遺伝子型により定義される遺伝子型祖先ノード範囲に入る。推定上の遺伝子型は、現存する遺伝子型から塩基配列内に位置する祖先ノード

ドの集団を形成しない。

(6) 推定上の遺伝子型を定義するブランチは、高い自力の支持 (>90%) により裏づけられる。N-450 および H 遺伝子により作成される系統樹の相同性は広く一致される。

推定上の新しい遺伝子型を定義するすべての根拠は、LabNet による承認に先立ち WHO と共有されるべきである。

表 1: 麻疹遺伝子型参照株 (WER 参照)

* 遺伝子型内変異の説明:

ウイルスをある遺伝子型として明確にすることは、その遺伝子型が遺伝的に多様性をもつ場合や広範囲で長期間にわたり多数から検出される場合はあまり有用でない。

麻疹遺伝子型内で十分な解決策を提供する明らかな戦略は、遺伝子型の系統発生解析を行い (図 1) その遺伝子型内の系列を分類することであり、補助遺伝子型判定と呼ばれる。しかしこれは継続的な更新が必要な不必要に複雑な命名をもたらすため、かなり限られた期間に疫学的に関連をもつ群の同定と命名しか成さないだろう。すべての補助遺伝子型の表示を要求する参照塩基配列数は、研究所が日常のウイルスサーベイランスで補助遺伝子型の命名を正確に用いることの困難さを示している。

図 1: MeanNS の 852 のクレード D シーケンスの近接結合法による系統樹

* 伝播監視のための塩基配列変異株の命名:

麻疹ウイルスの補助遺伝子型判定の方法は確立されておらず、塩基配列情報と直接比較する場合、単一遺伝子型範囲内で長期間かつ広範囲の伝播経路を認識することが必要である。D4 や B3 遺伝子型の最近の大流行により、N-450 領域内の塩基配列同一性は麻疹ウイルスの拡大をたどるのに有用であることが示された。MVs/Enfield. GBR/14.07 の N-450 塩基配列は 2007 年イギリスで初めて検出され、その後 4 年間ヨーロッパの複数国で検出された。これを「塩基配列変異株」と命名することで、この株の次の侵入を監視できる。MVs/Enfield. GBR/14.07 と比較して N-450 塩基配列にわずかに変異のあるウイルス (1-2 塩基差) はヨーロッパの至るところで継続的に伝播しており、これらの典型的な塩基配列は独立した塩基配列変異株として命名されるべきである。N-450 塩基配列同一性に基つき株と変異株を結びつけることにより、現在循環しているウイルスを反映する命名法を作成できる。

変異株に基づく命名法が効率的に機能するには、MeaNS 内の典型的なウイルス塩基配列の同定により塩基配列変異株を定義する仕組みが必要である。変異株の命名により、LabNet は最近の大流行と症例から麻疹ウイルスの伝播を監視できる。新しい遺伝子型と同様に変異株名を定義する根拠は、LabNet の受理と MeanS での同定に先立ち WHO と共有されるべきである。定義された系統はすべて MeanS データベースに毎月更新される。

* 本論の主な提言の要約:

1. WHO 麻疹遺伝子型データベースと MeaNS は、世界レベルでウイルス株の追跡を即時に実施可能にするため、ウイルスサーベイランスにおいて重要な役割を担う。
2. 現在 LabNet のすべての研究所は、WHO 麻疹と MeaNS データベースに遺伝子型と塩基配列情報を適時に提出することが要求されている。この情報は世界中のデータベースにつながっているため、研究所は標準的な WHO 命名の作成基準を慎重に見直すべきである。
3. D11 を除き新しい参照塩基配列は現時点では必要とされず、現存する参考株の使用は有効な遺伝子型を割り当てる。
4. 麻疹の補助遺伝子型判定は有用ではないと思われる。代わりに、徐々に広がるという伝播様式を示す特有の塩基配列は塩基配列変異株として命名されるか、MeaNS に既存の塩基配列変異株と一致される。

* 結論:

複数の WHO 地域が麻疹掃滅に近づくにつれて、正確なウイルスサーベイランスは、掃滅の確認に必要なサーベイランスシステムで不可欠となるだろう。分子学的サーベイランスは疫学的な遺伝子型は相対的に速く変化しうることを示しており、症例と大流行の継続的な監視および適時のデータ共有が重要とされる。

野生型麻疹ウイルス株の遺伝子解析を行う方法は LabNet に定着している。LabNet の課題は、ウイルスサーベイランス活動を、特にそれが正確でない国々でも拡大し続けることだろう。LabNet 研究所は現在、分子学的な技術に対する品質管理および品質保証のプロトコルを活発に発達させている。限られた遺伝的多様性をもつ株が循環している地域では、塩基配列のウィンドウを推奨される N-450 の域を超えて麻疹ウイルスの分子学的疫学へと広げることが必要となりうる。LabNet の研究所は現在、ゲノムの追加領域をシーケンスすることの有用性を評価しており、類似のデータベースが風疹の塩基配列を追跡するために開発中である。

(伊東亜由美、野田和恵、堀裕一)