

論文の内容の要旨

論文題目 The Significance of Viral Infections in Modern-days:

Focusing on Immunocompromised Status and Drug-resistance

(今日におけるウイルス感染症の意義；免疫不全状態および薬剤耐性に焦点を当てて)

氏名 垣内 五月

人類にとって長らく感染症は最大の健康脅威であった。20 世紀においては、衛生環境や栄養状態の改善・予防接種の発展・抗生物質の発明などが人類の健康に大きく寄与し、特に先進諸国を中心に感染症の死亡は大きく減少した。しかし、21 世紀を迎えた人類は、新興・再興感染症の脅威、免疫不全状態における感染症、薬剤耐性病原体による感染症の増加などに直面し、再び感染症の重要性に注目が集まっている。本研究においては、医学の発展により生み出された医原性免疫不全状態における感染症と薬剤耐性病原体による感染症に着目し、大きく分けて3つの研究を行った。

第 I 章では、医原性免疫不全状態の代表である、造血幹細胞移植治療後急性期における呼吸器ウイルス感染症に焦点をあてた。造血幹細胞移植は白血病などの疾患に不可欠な治療手段としての地位を確立しているが、極度の免疫不全状態を惹起するため感染症が問題となる。そのうち、呼吸器ウイルス感染症については十分な研究が比較的進んでいない。その背景には、呼吸器ウイルス感染症においては、様々な病原体が同様の非特異的な症状を引き起こし、網羅的な診断が難しい。え、重症度も無症状から最重症まで多岐にわたるといえることがある。そこで今回は、2年にわたり、単一施設で268例の造血幹細胞移植を対象に、移植後100日以内に限定して症状の有無にかかわらず毎週呼吸器検体を採取した。すべての検体でウイルス分離を行って、無症候性感染まで含めた網羅的診断を試みた。これを従来の臨床診断結果と合わせ、さらに診断不明分には

高感度のマルチプレックス PCR 法を用いて偽陰性が最小限となるようにした。この結果、この患者群においては、従来の検査方法では診断できていなかったパラインフルエンザウイルス 3 型 (Parainfluenza virus 3, PIV3) 感染症がきわめて多く起こっていることが示された。また、PIV3 感染患者の入院状況・ウイルス分離状況の解析を行うと、少数の患者では全く無症候であること、また症候性感染である多くの患者で症状発現前にすでにウイルスが分離され始めていること、さらに一部の患者で症状が消失してかなり時間が経ったのちにもウイルスが分離されていることがわかった。そして分子疫学的解析の結果から、分離されたウイルスの大半は単一株の可能性が高いと考えられた。これらの結果から、PIV3 が様々な呼吸器ウイルスの中では無症候感染・無症候ウイルス排泄のために予防が難しく、毎年院内流行を起こしてしまう可能性が示唆された。この予防のためには、高感度で安価な迅速診断システムを構築し、実用に移す必要があると考えられた。また、臨床的な側面からは、統計学的手法を用いて PIV3 感染のリスク因子や、感染した場合に下気道炎に至るリスク因子を検討した。臍帯血移植・HLA ミスマッチ・術前骨髄破壊性レジメンが PIV3 感染に関連することと、移植幹細胞の生着前に PIV3 感染すると下気道炎になりやすいことが示された。すなわち、生着前の状態にある患者の PIV3 感染予防がきわめて重要であるという結論が導かれた。

第 II 章では同じく造血幹細胞移植治療後における単純ヘルペスウイルス 1 型 (Herpes Simplex Virus type 1, HSV-1) の再活性化およびアシクロビル (Acyclovir, ACV) 耐性について検討した。HSV-1 の抗体保有率は 9 割に達すると考えられ、ほとんどのヒトに潜伏感染している。HSV-1 は、造血幹細胞移植時には ACV の予防投与にもかかわらずたびたび再活性化を起こすことや、この患者群では ACV 耐性率が高いことが知られているが、前向きコホートをを用いた網羅的検討はこれまで例がないため、実態に関しては不明な部分が残されている。第 I 章で採取した検体から分離された HSV-1 全株について、ACV 感受性を検討した。ACV 耐性株については、ウイルス性チミジンキナーゼ遺伝子 (viral thymidine kinase, vTK) および DNA ポリメラーゼ遺伝子 (DNA polymerase, DNA-pol) を解析し、責任耐性変異を検討した。また、ACV 耐性 HSV-1 については、

他の抗ウイルス剤に対する感受性も検討した。この結果、HSV-1 の ACV 耐性は造血幹細胞移植患者では 3 割程度と多いことが示された。遺伝子解析では、薬剤耐性を引き起こす複数の新規遺伝子変異を見出した。また興味深いことに、従来では稀とされている、DNA-pol 変異による ACV 耐性 HSV-1 がこの患者群では半数近くを占めることが判明した。さらに、以前からの報告に合致して、この DNA-pol 変異 ACV 耐性 HSV-1 の大半はフォスカルネット交叉耐性であることも確認された。HSCT 患者における ACV 耐性 HSV-1 に対しては、フォスカルネットを代替治療手段に用いても無効な場合がありうることが示唆された。予後との関連については、統計学的分析により ACV 耐性 HSV-1 出現と予後との関連や、出現に関わるリスク因子を検討した。ACV 耐性 HSV-1 出現患者では有意に死亡率が高かったが、HSV-1 による重篤な疾患はこの中では認められず、多変量解析において ACV 耐性 HSV-1 は短期死亡に関わる直接因子でないことが示された。患者背景としては、ACV 耐性 HSV-1 出現患者では、再発悪性腫瘍患者が有意に多いことが示された。すなわち、HSCT 患者における ACV 耐性 HSV-1 の出現は、患者の免疫状態の悪さを反映し、それゆえ予後不良のマーカーとなっているものと考えられた。

第 III 章では、新生児ヘルペス脳炎における ACV 耐性 HSV-1 の意義を検討した。ACV 耐性 HSV-1 は、再活性化に必要な vTK や複製に必須である DNA-pol の変異によって耐性を獲得する。このため病原性が弱く、免疫により排除されやすいため重篤な疾患は起こしにくいと従来は考えられている。ACV 耐性 HSV の重要性が考えられているのは、高度免疫不全状態においてである。一方、新生児は免疫学的に未熟であるが、ACV 耐性 HSV による疾患の報告は極めて少数で、とくに新生児ヘルペス脳炎 (Neonatal Herpes Simplex Virus Encephalitis, NHE) においてウイルス学的に ACV 耐性 HSV によるものであることが証明された例はない。免疫健全な成人では、ヘルペス脳炎患者において、ACV 治療抵抗性なため ACV 耐性 HSV-1 によることが考えられた報告がわずかに存在するものの、ウイルス学的に証明されたものは皆無である。NHE やヘルペス脳炎において患者脳脊髄液 (Cerebrospinal Fluid, CSF) から病原 HSV-1 が分離されることはほとんどないため、ウイルス学的な証明がきわめて困難である。ここでは、臨床的に ACV 治療抵抗性で

あった NHE 患者の CSF を検体として ACV 耐性 HSV-1 によるものかどうかを検討した。まず nested PCR により HSV-1 の vTK 遺伝子を増幅し、塩基配列を解読した。そこで耐性との関連が不明な 1 アミノ酸置換変異 Q125H が治療中に新たに出現したことが判明した。この変異が耐性と関連するかどうかを調べるため、非変異および変異 vTK 発現プラスミドを作成し、哺乳動物細胞で発現させた。これらの細胞に vTK 欠損 HSV-1 を感染させ ACV 存在下で培養し、ACV および発現した vTK により vTK 欠損 HSV-1 の増殖がどの程度抑制されるかを検討した。この結果、患者において認められた vTK-Q125H 変異が ACV 耐性を引き起こすことが示された。NHE 患者において、ACV 耐性 HSV-1 の存在がウイルス学的に証明された報告はこれが初めてとなる。病原性が弱いとされる ACV 耐性 HSV-1 であるが、免疫が未熟な新生児においてはこれによる重篤な疾患も起こり得ることを念頭におかなくてはならない。現時点では耐性に関する検討は後方視的にならざるを得ないため、実際の臨床では抗ウイルス剤変更/追加に加え、抗炎症療法を併用するなどの迅速な判断が必要と考えられた。

今回の研究で、造血幹細胞移植患者における PIV3 感染症・造血幹細胞移植患者における HSV-1 の再活性化および ACV 耐性化・NHE における ACV 耐性 HSV-1 の 3 つの点について、新たな知見がそれぞれ得られた。免疫不全状態における感染症や、薬剤耐性病原体による感染症は今後さらにその重要性が増してゆくと考えられ、さらなる研究が必要とされている。