

審査の結果の要旨

氏名 垣内 五月

本研究においては、人類にとって最大の健康脅威の一つであるウイルス感染症に着目した。中でも、今日重要性が増大していると考えられる、免疫不全状態におけるウイルス感染症と、薬剤耐性ウイルスによるウイルス感染症に着目した。大きく分けて3つの研究を行い、以下の結果を得ている。

1. 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ついて。2年にわたり、単一施設での268例の造血幹細胞移植を対象に前向きコホート研究を行った。移植後100日以内の期間、症状の有無にかかわらず毎週呼吸器検体を採取し、ウイルス分離により無症候性感染まで含めた網羅的検出を試みた。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) 感染症が多く起こっていることを示した。PIV3感染患者の入院状況・ウイルス分離状況の解析により、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を示した。さらに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。よって、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、水平感染を起こしやすい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、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。

2. 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。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。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推察された。

3. 新生児ヘルペス脳炎における ACV 耐性 HSV-1 の意義について。新生児における 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。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。臨床的に ACV 治療抵抗性であった NHE 患者一名の 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 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、当該新規変異が ACV 耐性の原因であることが示された。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。

以上、本論文では、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ることができ、学位の授与に値するものと考えられる。