

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 寺本 忍

学 位 論 文 題 名

小児呼吸器感染症領域における新興ウイルス感染症
～KI, WU ポリオーマウイルスを中心として～

【背景と目的】

ポリオーマウイルス(PyV)はエンベロープを持たない二本鎖 DNA ウイルスで、2007 年、呼吸器感染症に罹患した小児の鼻咽頭ぬぐい液から KI ポリオーマウイルス(KIPyV)と WU ポリオーマウイルス(WUPyV)が発見された。KIPyV と WUPyV は呼吸器系の検体から発見されたウイルスではあるが、実際に呼吸器感染症の原因病原体となっているかは不明である。本研究ではこれを明らかにすることが第一の目的である。さらに、正常肺組織と肺腺癌組織中の KIPyV と WUPyV の有無を検索することで両ウイルスが肺組織に潜伏感染している可能性及び肺腺癌の病態に関連している可能性について検討することが第二の目的である。

【材料と方法】

1. 材料：(1) 2005 年 6 月～2007 年 5 月の期間に道内 4 施設の小児科で採取した 0 ヶ月～7 歳(平均 19 ヶ月)の呼吸器感染症患者 219 名（男 115 名，女 104 名）の鼻咽頭拭い液 232 検体を用いた。(2) 鼻咽頭拭い液から WUPyV が検出された 1 名の患者の急性期及び回復期血清と各年齢層(0～41 歳)のヒト血清 273 検体を用意した。(3) コントロール群として 1～7 歳の健常小児 20 名の鼻咽頭拭い液 20 検体と，1 ヶ月～10 歳の気道感染症以外の疾患（急性胃腸炎他）27 名の鼻咽頭拭い液 27 検体の合計 47 検体を用意した。(4) 富山大学附属病院で採取した 30 名分（男 20 名，女 10 名，45-77 歳，平均 61.7 歳）の肺腺癌組織とその近傍の正常肺組織から抽出した DNA を用意した（高野康雄博士より分与を受けた）。
2. KIPyV 及び WUPyV の検出：呼吸器感染症患者の鼻咽頭拭い液及び正常肺組織，腫瘍組織から抽出された DNA を鋳型に Real-time PCR 法を用いて KIPyV 及び WUPyV の検出を行なった。
3. 既知の呼吸器感染ウイルスの検出：呼吸器感染症患者の鼻咽頭拭い液から抽出した DNA あるいは合成した cDNA を鋳型として，ヒトメタニューモウイルス(hMPV)，コロナウイルス(HCoV)，ヒトボカウイルス(HBoV)，RS ウイルス(hRSV)，ライノウイルス(HRV)，エンテロウイルス(HEV)，アデノウイルス(AdV)，A 型及び B 型インフルエンザウイルス(InfVA, B)，パラインフルエンザウイルス 1-3 型(PIV1-3)を(RT-)PCR 法にて検出した。
4. 塩基配列の決定：呼吸器感染症患者の鼻咽頭拭い液から抽出された DNA を鋳型に PCR 法(KIPyV は nested PCR 法)を用いて検出された KIPyV 及び WUPyV の塩基配列の決定を行ない，既知の塩基配列との相同性を検討した。
5. 蛍光抗体間接法による IgG 抗体価測定：バキュロウイルス系を用いて KIPyV 及び WUPyV の VP1 蛋白を発現させた Sf9 細胞を用意した。

【結果】

1. 小児呼吸器感染症患者の鼻咽頭拭い液における KIPyV 及び WUPyV の検出：呼吸器感染症患者群では，KIPyV は 232 検体中 7 検体（3.0%）から，WUPyV は 232 検体中 38 検体（16.4%）から検出された。1 検体からは KIPyV と WUPyV が同時に検

出された。コントロール群からは KIPyV 及び WUPyV は検出されなかった。塩基配列の解析が可能であった KIPyV 7 検体については既知の KIPyV 株の塩基配列と完全に一致した。塩基配列の解析が可能であった WUPyV 13 検体のうち 10 検体の塩基配列は既知の WUPyV 株と完全に一致し、残りの 3 検体については 1bp の置換を認めた。

KIPyV 陽性患者の年齢は 3 ヶ月～2 歳 11 ヶ月で、WUPyV 陽性患者の年齢は 1 ヶ月～4 歳 11 ヶ月であった。KIPyV 陽性患者 7 名全員(100%)と WUPyV 陽性患者 38 名中 34 名(89.5%)は入院治療を受けており、入院期間は 3～11 日間(平均 5.6 日間)であった。KIPyV 単独陽性者 3 名全員、WUPyV 単独陽性者 20 名中 17 名が入院治療を必要とした。

KIPyV 及び WUPyV 陽性患者のうち、単独陽性者その他のウイルスとの重複感染を認めた者との間に臨床像の有意差はみられなかった。KIPyV 及び WUPyV 単独陽性患者と、他の呼吸器感染症ウイルス 5 種類 (RSV, hMPV, HRV, HBoV, PIV1) の単独陽性者との間に臨床像の有意差はみられなかった。

2. 血清中の WUPyV と抗 WUPyV VP1 蛋白抗体の検出：鼻咽頭拭い液から WUPyV と RSV が同時検出された気管支炎患者 1 名の急性期血清から WUPyV が検出されたが、回復期の血清からは WUPyV は検出されなかった。急性期の血清中の抗 WUPyV VP1 蛋白に対する IgG 抗体価は<1:10 であったが、回復期には 1:40 と上昇していた。各年齢層のヒト血清からは抗 WUPyV VP1 蛋白 IgG 抗体を測定したが、全て測定感度以下(<1:10)であった。

3. 正常肺組織と肺腺癌組織からの KIPyV 及び WUPyV の検出：正常肺組織 30 検体中 1 検体(3.3%)から KIPyV が検出された。WUPyV はどの検体からも検出されなかった。肺腺癌組織 30 検体からは KIPyV 及び WUPyV は検出されなかった。

【考察】

1. KIPyV 及び WUPyV と呼吸器感染症に関する考察：本研究では KIPyV 及び WUPyV が小児呼吸器疾患患者から検出されることが判明したが、知り得る限り、本邦初の報告である。KIPyV の検出頻度は 3.0%で、既知のデータと一致する。WUPyV の検出頻度は 16.4%と既知のデータよりも検出頻度が高いが、本研究では real-time PCR 法を用いたためと考えられる。両ウイルスの塩基配列は既知の塩基配列と良く一致しており、両ウイルスの塩基配列は世界的に良く保たれていることを示している。

本研究では、コントロール群 47 検体より、他の呼吸器感染症ウイルス 12 種類を含め、KIPyV 及び WUPyV は一切検出されなかった。従って、KIPyV 及び WUPyV が呼吸感染症の原因病原体になっている可能性や臨床経過に何らかの影響を与えている可能性があると言える。今後、コントロール群の数を増やして検討を加える必要がある。

2. 血清中から WUPyV が検出された意義：KIPyV 及び WUPyV が鼻咽頭拭い液から検出された場合、これが bystander か実際に感染を起こしているかが問題となる。WUPyV が鼻咽頭拭い液から検出された患者の急性期血清中から WUPyV が検出され、回復期に抗体価の上昇を伴ったことから、WUPyV については実際にヒトに感染することが示された。

3. 肺への潜伏感染と肺腺癌との関連に関する考察：KIPyV が正常肺組織 30 検体中 1 件より検出された。但し、KIPyV のコピー数は少ないので活動的な病変を起こしているとは考えにくく、潜伏感染の可能性はある。

【結論】

KIPyV 及び WUPyV が呼吸感染症の原因病原体になっている可能性あるいは臨床経過に何らかの影響を与えている可能性がある。WUPyV は bystander ではなく、実際にヒトに感染を起こしていることを示している。KIPyV が肺組織に潜伏感染している可能性が示唆された。KIPyV 及び WUPyV と肺腺癌との関連は見出せなかった。