




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 539 号	氏 名	森 大 輔
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	小林 隆 心 	
	副査氏名	山岡 吉 生 	
	副査氏名	石田 正 之 	
論文題目 Human bocavirus in patients with encephalitis, Sri Lanka, 2009-2010 (2009～2010 年のスリランカにおける脳炎患者からのヒトボカウイルスの検出)			
論文掲載雑誌名 EMERGING INFECTIOUS DISEASES			
論文要旨 <p>先進国では脳炎の主たる原因は、感染症であり、致死率は 6.5%～12%である。一方、発展途上国ではその多くが原因不明であり、世界的にみても脳炎発症の原因の 60%～85%は不明である。申請者らは先の研究で、ボカウイルス (HBoV) がバングラデシュの小児に重篤な脳炎を引き起こすことを示し、本研究では 2009 年から 2010 年にかけてスリランカで原因不明脳炎と診断された 233 症例 (12 歳以上 : 110 症例、12 歳未満 : 123 症例) について、その原因を精査した。患者の血液データ (血液培養、CRP、ヘモグロビン値) および髄液所見 (白血球数、細菌培養) を得て、脳脊髄液 (CSF) を用いて脳炎や下痢症を引き起こす細菌、ウイルスなどの病原体を標的とした PCR を行い、得られた増幅産物からダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定後、分子疫学的解析を行った。HBoV 陽性例については、抗 HBoV 抗体価を測定した。さらに、自己免疫性脳炎である抗 NMDAR 脳炎を検査するため、CSF より抗 NMDAR 抗体を測定した。</p> <p>CSF より DENV type2 を 1 症例 (0.5%)、Human echovirus を 2 症例 (type2, type9) (1%)、HAdV type 41 を 7 症例 (4%) および HBoV を 5 症例 (成人 : type1, 2 症例、青年 : type2, 1 症例、小児 : type1, 1 症例、type3, 1 症例) (3%) 検出した。HBoV 感染者の CSF 中の抗 HBoV 抗体 (IgG および IgM) は全ての type について陰性であった。その他、抗 NMDAR 抗体は 81 症例中 2 症例の成人患者が陽性であった。</p> <p>バングラデシュでは小児にみられた HBoV が、スリランカでは成人からも検出され、このウイルスが小児だけでなく成人の脳炎にも関与することが示唆された。また、本研究で小児に新たに type3 が検出された。また、脳炎を発症する HAdV の血清型は、B、C および D 型とされるが、今回スリランカで検出された HAdV41 の血清型は F であり、スリランカにおける脳炎は独自の疫学動態を示すことが示唆された。</p> <p>本研究において、脳炎発症に重要な病原ウイルスとして近年明らかとなった HBoV が、アジアの発展途上国であるスリランカでも、原因不明脳炎の原因の一端であることが明らかになった点は公衆衛生学的に高く評価される。発展途上国のみならず世界中の脳炎に対する対策の一助となる研究と言える。</p> <p>このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判断した。</p>			

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

審査区分 (課)・論	第539号	氏名	森 大 輔
審査委員会委員	主査氏名	小林 隆志 (印)	
	副査氏名	山岡 吉生 (印)	
	副査氏名	太田 正之 (印)	
<p>学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 研究の役割分担について、どこまでを申請者が実際にやったのか？ 2. 調査したサンプルについて患者記録はあるのか？例えば、ボカウイルスに感染していた人は、呼吸器感染を併発していたか？ 3. スリランカには、脳炎が多いように思われるが、先進国と比べて実際には多いと言えるのか？ 4. バングラデシュの次にスリランカで研究することにした理由は何か？ 5. 今回の研究で脳炎の診断は臨床症状だけか？髄液所見やCTなどの画像診断は行ったか？ 6. 血液データや髄液所見はスリランカで取得したものか？ 7. ボカウイルスは熱帯で特に多いのか？ 8. ボカウイルスはヒト以外の哺乳類にも感染するのか（人獣共通感染症なのか）？ 9. コッホの4原則に照らして、今回調査した脳炎はボカウイルスとの因果関係が明らかであると言えるのか？ 10. ボカウイルスによるウイルス性脳炎の動物モデルはあるのか？ 11. HBoV1の分子系統樹について、スリランカ株とバングラデシュ株間のブートストラップは何%か？ 12. ボカウイルス脳炎の検査は、髄液ではなく血液でも可能か？ 13. 今回の研究では、ヒトボカウイルス検出率を7.9%と訂正したが、抗NMDAR脳炎を加えると10%はどのような計算になるのか？ 14. バングラデシュの研究ではヒトボカウイルス陽性例での血清中の抗体を測定しているが、今回施行していないのはなぜか？ 15. 今回のスリランカの例では、単純ヘルペスウイルスや水痘帯状疱疹ウイルスによる脳炎がみられなかった理由は何が考えられるのか？ 16. 感染者の脳脊髄液にIgMやIgGが検出されなかった理由は何か？ 17. どのような要因でボカウイルス感染が脳炎発症につながると考えられるのか？ 18. HBoV1の分子系統樹から、ウイルスの進化などはわかるのか？ <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 森 大輔

論 文 題 目

Human bocavirus in patients with encephalitis, Sri Lanka, 2009–2010

(2009～2010 年のスリランカにおける脳炎患者からのボカウイルスの検出)

要 旨

【緒言】

脳炎の主たる原因は、先進国では感染症が主たるものであり致死率は 6.5% - 12% であるが、発展途上国ではその多くが不明の場合が多い。また、世界的にみても脳炎発症の原因の 60% - 85% は不明である。我々はこれまでに、ボカウイルス (Human bocavirus ; HBoV) がバングラデシュの小児に重篤な脳炎を引き起こすことを報告してきた。今回我々は、同様のアジアの発展途上国であるスリランカにおいても原因不明脳炎の情報を明らかにするため、三次医療機関に脳炎にて入院した小児および成人における HBoV の関与や他の病原体の検出を試みた。

【研究対象及び方法】

2009 年から 2010 年にかけて、スリランカの市中病院にて脳炎と診断された 233 症例 (12 歳以上 : 110 症例、12 歳以下 : 123 症例) 中、191 症例の患者から採取された脳脊髄液 (CSF) を検体とした。CSF より白血球数の測定や細菌培養、動脈血検体より血液培養及び静脈血検体より CRP やヘモグロビン測定などの臨床検査を行い、患者の臨床情報や病態に関する情報の収集を行った。病原体の検出は CSF を用い、一般的に脳炎や下痢症等を引き起こす細菌、ウイルスなどの病原体を標的とした PCR 反応を行い、得られた増幅産物からダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定後、分子疫学的解析

を行った。その他 CSF より、抗 N-methyl-D-aspartate 受容体 (NMDAR) 脳炎として知られる抗 NMDA-receptor 抗体測定、及び HBoV 陽性症例については抗 HBoV 抗体測定を行った。

【結果】

CSF より Dengue virus type 2 を 1 症例 (0.5%)、Human echovirus を 2 症例 (type 9, type 25) (1%)、Human adenovirus (HAdV) type 41 を 7 症例 (4%) 及び Human bocavirus (HBoV) を 5 症例 (3%) 検出した。HBoV は VP1/2 及び NP1 領域を検出するプライマーにて各々遺伝子増幅反応を行い、それぞれの領域において検出され、BLAST 検索の結果 HBoV であることを確認した。また、VP1/2 領域における BLAST 検索の結果より genotype 別では、成人患者から type 1 が 2 例、青年患者から type 2 が 1 例、小児患者から type 1 及び 3 が 1 例ずつ検出された。VP1/2 領域の系統樹解析より、我々が以前に報告したバングラデシュ株間との相同性について、HBoV1 は 97% - 98%、HBoV2 は 90% - 91%であった。また、その他の株との相同性について、HBoV1 は 98% - 99%、HBoV2 は 90% - 96%、HBoV3 は 96% - 97%であった。一方、抗 HBoV 抗体測定は、HBoV1 - 4 の IgG 及び IgM を測定した結果、すべて陰性であった。その他、抗 NMDA-receptor 抗体測定は、81 症例の CSF より測定した結果、2 症例 (2%) の成人患者より検出された。

【考察】

これまで我々は、バングラデシュの小児に流行する新規の脳炎ウイルスである HBoV 感染症を報告したが、スリランカでは成人からも HBoV が検出され、小児だけではなく成人でも HBoV 感染症が関与する可能性が考えられた。また小児では type 1 及び 2 に加え、type 3 も検出された。我々の知る限り、HBoV は疾患の原因としてまだ広く認識されていない。一方、HAdV は血清型 B、C 及び D により脳炎が引き起こされるが、我々が検出した HAdV41 は血清型 F であり、胃腸炎の主な原因である。そのため、HAdV41 脳炎の症例の多くはスリランカでは独自の疫学動態を示すことが考えられた。

【まとめ】

スリランカにおいても脳炎発症の原因である HBoV が検出された。しかし、感染中の HBoV 抗体の存在や脳炎回復後の CSF からの HBoV DNA の有無については、因果関係を証明することができなかった。今後、定量的 PCR 測定および血清学的検査を用いて、HBoV 感染症や脳炎の病態に関する役割をより明らかにする必要があると思われる。