

	わたなべ かなこ
氏 名	渡 邊 香奈子
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第206号
学位授与の日付	平成19年9月20日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名	Isolation and Characterization of Novel Human Parechovirus from Clinical Samples (臨床検体から分離、同定された新型ヒトパレコウイルスの研究)
論文審査委員	主査 教授 山 本 達 男 副査 教授 藤 井 雅 寛 副査 教授 鈴 木 宏

博士論文の要旨

ヒトパレコウイルス (HPeV) はピコルナウイルス科パレコウイルス属に分類される RNA をゲノムとするウイルスである。また、これまでに 5 種類の亜型が分離・同定されている。HPeV は多彩な病原性を示し、主に小児の呼吸器系疾患や感染性胃腸炎などを引き起こし、咽頭ぬぐい液や糞便からウイルスが分離される。また、麻疹や無菌性髄膜炎などの中枢神経系疾患患者からも稀に HPeV が分離される。2000 年 1 月に Reye 症候群の患者髄液からウイルスを分離し、分離ウイルスの全塩基配列の決定及び交差中和試験を行い、このウイルスが新型の HPeV (HPeV-6) であることを明らかにした。更に、1991 年から 2005 年の新潟県における HPeV-6 を含めた HPeV の分離状況及び関連疾患についても調査を行った。

患者は、2000 年 1 月 18 日に 39.6℃の発熱があり、クループ症候群と診断された、1 歳女児であった。22 日に呼吸が停止し、蘇生後、救急病院へ搬送されたが、23 日に死亡し、解剖後、Reye 症候群と確定診断された。23 日に採取された患者髄液は Vero (9013) 細胞にのみ細胞変性効果 (CPE) を示し、ウイルスが分離され、このウイルスを NII561-2000 と命名した。電子顕微鏡下での NII561-2000 ウイルスの形態は直径約 30nm で、表面構造は比較的滑らかであった。NII561-2000 ウイルスは、DNA 合成阻害剤による増殖阻害は認められず、酸処理 (pH3.0 及び pH5.5) には抵抗性であった。また、56℃、30 分の熱処理で不活化されたが、1M MgCl₂ の存在下では不活化されなかった。このことから、NII561-2000 ウイルスはピコルナウイルス科に属する RNA ウイルスと推定された。次に、分離したウイルス RNA をプローブとして NII561-2000 ウイルス cDNA の部分断片を取得し、それを基にして 5' RACE と 3' RACE を行い、ウイルスの全塩基配列を決定した。NII561-2000 ウイルスは全長 7,347 塩基 (polyA は除外) で、709 塩基の 5'-UTR (非翻訳領域) と 89 塩基の 3'-UTR を持ち、2,182 アミノ酸からなる 1 つの大きなオープンリーディングフレーム (ORF) をコードしていた。NII561-2000 ウイルスと HPeV-1 ~5 の ORF 領域の塩基 (アミノ酸) 配列の相同性は 79.5% (90.7%)、77.1% (87.3%)、76.7% (85.9%)、77.1% (88.2%)、77.0% (86.9%) と高い割合で一致していた。この

ことから、NII561-2000 ウイルスが HPeV であることが示された。次に、NII561-2000 ウイルス及び既知の HPeV-1～3 と抗 NII561-2000 血清及び抗 HPeV-1～3 血清を用いて交差中和試験を行った。それぞれ自身に対する血清では中和反応がおきたが、異種血清では中和反応がおきず、NII561-2000 ウイルスが HPeV-1～3 とは異なる血清型であることが示された。更に、塩基配列の相同性解析及び系統樹解析から、HPeV-4 及び HPeV-5 と異なる亜型であることを確認し、NII561-2000 ウイルスが新型の HPeV (HPeV-6) であることが明らかになった。

1991 年から 2005 年に新潟県感染症サーベイランスで集められた 13,656 の臨床検体からウイルス分離を行い、8,195 株のウイルスを分離した。そのうち中和試験法と RT-PCR 法によって 41 株の HPeV を同定した。塩基配列の相同性解析及び系統樹解析から、その内訳は HPeV-1 が 14 株、HPeV-3 が 16 株、HPeV-4 が 1 株、HPeV-6 が 10 株であった。HPeV-6 は 2000 年と 2001 年にのみ分離されたことから、2000 年と 2001 年に県内で小流行を起こしていたと考えられた。一方、HPeV-1 と HPeV-3 は 1998 年以降、2002 年と 2003 年を除いて継続的に分離され、これら 2 種類が主な流行型であると判明した。また、HPeV-4 は 2003 年に 1 株が分離されたが、HPeV-2 と HPeV-5 は 1 株も分離されなかった。更に、系統樹解析からは HPeV-3 と HPeV-6 は分離株間の遺伝子の違いが小さいのに対し、HPeV-1 は分離株間の遺伝子の違いが大きいことがわかった。臨床診断に注目すると、HPeV-1 は主に感染性胃腸炎、HPeV-3 は主に呼吸系疾患から分離された。また、HPeV-3 と HPeV-6 は感染性胃腸炎からも分離されたが、中枢神経系疾患からも分離され、疾患により分離される HPeV の型が異なることが示唆された。

(論文審査の要旨)

2000 年に Reye 症候群の患者髄液からウイルスを分離した。分離ウイルスの全塩基配列を決定したところ、ヒトパレコウイルス (HPeV) であることが示されたが、既知の HPeV (HPeV-1～HPeV-5) とは異なることが示された。HPeV-1～HPeV-3 に対する抗血清に反応しないことなども踏まえて、分離ウイルスは国際ウイルス命名委員会で HPeV-6 と命名された。過去 15 年間に新潟県では合計 41 株の HPeV が分離され、そのうち 10 株が HPeV-6 であった。HPeV-6 は 2000 年と 2001 年にのみ分離され、小流行をおこしていた。HPeV-1 は主に感染性胃腸炎、HPeV-3 は呼吸系疾患から分離された。HPeV-3 と HPeV-6 は感染性胃腸炎からも分離されたが、中枢神経疾患からも分離され、疾患により分離される HPeV の型が異なることが示唆された。

以上、Reye 症候群の患者髄液から新型 HPeV (HPeV-6) を分離した点および新潟県における HPeV の流行と多彩な病原性を明らかにした点に学位論文としての価値を認めた。

結果

IPMT 症例は全例悪性(非浸潤癌 2 例、微小浸潤癌 1 例、浸潤癌 3 例)であり、壁在結節の組織型は乳頭腺腫、乳頭腺癌、管状腺癌、線維化組織等より成っていたが、その中で乳頭腺癌が多くを占めていた。IPMT 症例において、壁在結節は造影早期相(81 ± 12 HU)の方が造影後期相(68 ± 9 HU)より有意に強く染まった($P < 0.05$)。浸潤性膵管癌症例では、造影早期相(74 ± 19 HU)より造影後期相(92 ± 12 HU)の方が有意に強く染まった($P < 0.05$)。造影早期相における腫瘍濃度－膵実質濃度は IPMT が -20 ± 6 HU で浸潤性膵管癌は -51 ± 19 HU であり、IPMT の壁在結節および浸潤性膵管癌はいずれも膵実質より低濃度を示すものの、濃度差は IPMT の方が有意に小さかった($P < 0.05$)。造影後期相における IPMT の腫瘍濃度－膵実質濃度は -14 ± 10 HU であり、壁在結節は全て膵実質より低濃度を示した。一方、浸潤性膵管癌の腫瘍濃度－膵実質濃度は 8 ± 11 HU であり、両者の間に有意差を認めた($P < 0.05$)。

考察

壁在結節が 3～5 mm 以上の IPMT は悪性の場合が多い。悪性 IPMT の予後は浸潤癌か非浸潤癌かにより異なるが、5 年生存率で前者は 44～65%、後者は 83～100% という報告がある。一方、通常型の浸潤性膵管癌の 5 年生存率は 10～25% と報告されている。したがって、IPMT か浸潤性膵管癌かの術前診断は重要である。CT や MRI 等診断機器の発達した現在でも、拡張膵管内の大部分を壁在結節が占拠した IPMT と腫瘍の浸潤により末梢側分枝膵管が拡張した浸潤性膵管癌は、形態だけでは鑑別に苦慮する場合がある。今回の研究結果から、IPMT の壁在結節は dynamic CT で早期濃染パターンを示すことが示された。また、IPMT の壁在結節の病理学的マッピングでは、fibrovascular stalk に支えられた乳頭状腫瘍が構成の多くを占めていた。それに対して浸潤性膵管癌は、造影後期相での遅延濃染を特徴とする線維化が強い腫瘍として知られており、我々の症例でも過去の報告と同様の造影パターンを呈した。両腫瘍の組織構築の差が、造影早期相で強く染まる IPMT の壁在結節と造影後期相で強く染まる浸潤性膵管癌の dynamic CT における造影パターンの差になったものと考えられる。

まとめ

大きな壁在結節を有する悪性 IPMT と浸潤性膵管癌との鑑別に、dynamic CT が有用であることが示された。

(論文審査の要旨)

拡張膝管内に 3・5 mm以上の壁在結節が存在する膝管内乳頭粘液性腫瘍(IPMT)は、悪性の可能性が高い。IPMTの拡張膝管内に広範囲に壁在結節が存在する場合、浸潤性膝管癌との鑑別が画像診断上困難である。申請者は両者の鑑別を行うために、dynamic CTを用いて両疾患の特徴を検討した。

1999年から2004年までに切除された膝腫瘍のうち、dynamic CTの評価が可能で、かつIPMTでは壁在結節が10 mm以上の条件を満たした6例、浸潤性膝管癌では腫瘍径が10 mm以上の条件を満たした9例を対象とした。IPMT症例は全例悪性であり、壁在結節の組織型は乳頭腺癌が多かった。壁在結節は造影早期相(81 ± 12 HU)が造影後期相(68 ± 9 HU)より有意に強く造影された。浸潤性膝管癌は、造影早期相(74 ± 19 HU)より造影後期相(92 ± 12 HU)が有意に強く造影された。造影早期相では、IPMTの壁在結節および浸潤性膝管癌はいずれも膝実質より低濃度を示したが、濃度差はIPMTの方が有意に小さかった。造影後期相では、IPMTの壁在結節は全て膝実質より低濃度を示し、一方、浸潤性膝管癌では膝実質との濃度差が小さかった。

以上、本研究は悪性IPMTと浸潤性膝管癌のdynamic CTによる特徴を明らかにし、この両者の鑑別にdynamic CTが有用であることを示した点に学位論文としての価値を認める。