

氏名	鵜飼 智子
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	乙第 778 号
学位授与年月日	令和 元年 8 月 22 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 3 項該当
学位論文名	小児におけるサフォードウイルス感染症の臨床的特徴
論文審査委員	(委員長) 教授 森 本 哲 (委員) 教授 市 橋 光 准教授 森 澤 雄 司

## 論文内容の要旨

### 1 研究目的

サフォードウイルス (Saffold virus : SAFV) は、2007 年に初めて分離・同定された、ヒトを自然宿主とする新たなカルジオウイルスである。今まで、日本を含めた世界各国で乳幼児の胃腸炎や咽頭扁桃炎、上気道炎の患者検体から検出されているが、少数ではあるものの、弛緩性麻痺、無菌性髄膜炎、脳炎、心筋炎、膵炎、突然死の患者検体からも報告されている。

SAFV の検出にはウイルス分離と RT-PCR(reverse transcription polymerase chain reaction : 逆転写ポリメラーゼ連鎖反応)があげられるが、これまで SAFV を分離培地で増殖させることは困難であったため、一般的には RT-PCR 法が用いられている。しかし、その知名度の低さもあって、SAFV を分離、同定できる国内の機関は少なく、多くの SAFV 感染症は正しく診断できていない可能性が高い。

このような背景から、小児の新興感染症である SAFV の分離、培養、同定を行い、その詳細な臨床像を明らかにすることが本研究の目的である。

### 2 研究方法

本研究の対象は、2006 年 1 月から 2013 年 12 月に新潟県の病原体定点医療機関で検体が採取され、病原体サーベイランスに提出された 5412 検体(咽頭ぬぐい液、鼻汁、便、髄液)である。5412 検体の中からウイルス分離および RT-PCR 法により SAFV が同定された症例を対象とし、その診療録を後方視的にレビューし SAFV の臨床像について検討した。

ウイルス分離培養には MDCK 細胞、Caco-2 細胞、LLC-MK2 細胞、Vero9013 細胞、RD-18S-Niigata(RD-18S-N)細胞を使用した。RD-18S-N 細胞においてのみ細胞変性効果を認め、エンテロウイルス、パレコウイルスの RT-PCR が陰性であった検体に対して SAFV の RT-PCR を施行した。さらに SAFV が分離された検体に対して、パラインフルエンザウイルス、ライノウイルス、RS ウイルス、ヒトメタニューモウイルス、ヒトコロナウイルスの RT-PCR を施行し、SAFV 以外の呼吸器ウイルスが検出されないかを確認した。遺伝子型は SAFV の VP1 領域を増幅する RT-PCR を用いて同定し、その PCR 産物をシーケンスによる系統樹解析に用いた。

本研究のすべての参加者からは、厚生労働省の感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき、主治医により患者の保護者から検体の提供に関する同意、ならびに診療情報の提供に対する同意を書面にて得た。

### 3 研究成果

対象となる検体のうち、9 症例から 9 株の SAFV が分離された。他のウイルスは分離されなかった。

臨床像は、年齢の中央値（幅）は 5 歳（2-16 歳）であり、9 例中 6 例(67%)は男児であった。診断は咽頭扁桃炎 7 例、無菌性髄膜炎 1 例、熱源不明の発熱 1 例であり、咽頭扁桃炎の 7 例の上咽頭拭い液から 7 株、無菌性髄膜炎の 1 例の髄液から 1 株、熱源不明の発熱の 1 例の糞便から 1 株 SAFV が同定された。全ての症例で 38 度以上の発熱がみられ、そのうち 8 例(89%)は 38.5 度以上の高熱であった。有熱期間の中央値(幅)は 2 日間(1-5 日)であった。食思不振、咽頭痛、頭痛がそれぞれ 6 例(67%)、4 例(44%)、3 例(33%)でみられた。他の症状は嘔気(2 例、22%)、鼻汁(2 例、22%)、倦怠感(2 例、22%)であった。遺伝子型は SAFV2 が 6 例(咽頭扁桃炎 5 例、不明熱 1 例)、SAFV3 が 3 例(咽頭扁桃炎 2 例、無菌性髄膜炎 1 例)であった。身体所見では、主に咽頭発赤(6 例、67%)、扁桃腫大(6 例、67%)、頸部リンパ節腫脹(3 例、33%)がみられた。検査を施行した 5 例では、白血球数の中央値(幅)は 11,080/ $\mu$ L (9,690-15,580/ $\mu$ L) であり、好中球の割合の中央値(幅)は 75%(71-86%)であった。C-reactive protein (CRP)の中央値(幅)は 2.94 mg/dL (0.01-5.52 mg/dL)であった。3 症例は入院を要し、他の 6 症例は外来治療であった。全例が対症療法のみで全身状態は速やかに改善し、後遺症はみられなかった。

無菌性髄膜炎の症例は特に既往のない 5 歳男児であり、発熱、頭痛、嘔吐を主訴に受診し、項部硬直に加え、髄液検査で単核球優位の細胞増多を認めたため、無菌性髄膜炎と診断し、入院し、補液のみで経過観察した。その後症状は改善し、神経学的後遺症を残さずに退院した。最高体温は 40.0℃、有熱期間は 5 日間であった。

9 株中 8 株(SAFV2:5 株、SAFV3:3 株)で系統樹解析を行った。SAFV2 の 5 株はそれぞれ 100% の相同性を示し、発症時期が一定期間に収束していることから SAFV 感染症の地域流行が示唆された。

### 4 考察

#### ・SAFV 上気道感染症の臨床像

既報の症例報告と記述研究からみられる臨床的特徴として、好発年齢は 1~6 歳の幼児期であり、流行時期は 7~11 月という報告が多い。また、症状は、2-3 日間持続する高熱と、咳嗽、咽頭痛、鼻汁であり、身体所見では咽頭発赤と扁桃腫大がみられた。本研究でも同様の特徴がみられたが、更に、今回の検討により、血液検査では好中球優位の白血球増多と CRP の上昇が特徴的であることが示された。SAFV 感染症による咽頭扁桃炎は、幼児期に 39℃以上の高熱と咽頭発赤、扁桃腫脹がみられ、血液検査では好中球優位の白血球増多と CRP の上昇を示すことから、アデノウイルスや溶連菌による咽頭扁桃炎との鑑別を要する。不要な抗菌薬の使用を防止し、自然経過を予測するために、SAFV の咽頭扁桃炎について更なる血清疫学的な研究や流行周期を検討する必要がある。

#### ・SAFV 中枢神経感染症の臨床像

中枢神経感染症の報告は過去に 15 例報告されているが、無菌性髄膜炎の詳細な臨床経過については本研究が初めての報告である。SAFV 感染症による無菌性髄膜炎の症例は、症状、身体所見、血液検査、髄液検査は、他のウイルス感染症による無菌性髄膜炎と類似していた。本症例は後遺症なく経過したが、過去には脳炎や突然死など深刻な経過をたどる症例も報告されており、SAFV による中枢神経感染症の臨床像の解明には更なる症例の蓄積が必要である。

## 5 結論

SAFV は幼児期の咽頭扁桃炎や胃腸炎、中枢神経感染症の原因微生物の一つである。SAFV の咽頭炎、上気道炎の症例では 39 度以上の高熱と咽頭発赤、扁桃腫脹、血液検査では好中球優位の白血球増多と CRP の上昇が見られ、アデノウイルスや溶連菌による咽頭炎との鑑別を要すると考えられた。SAFV による中枢神経感染症の臨床像については今後の症例の蓄積が必要である。

## 論文審査の結果の要旨

### 小児におけるサフォードウイルス感染症の臨床的特徴

申請者は、佐渡ヶ島での原因不明の流行性発熱疾患の経験から、この原因が新興感染症であるサフォードウイルス (SAFV) であることを突き止め、新潟県の病原体サーベイランスに提出された検体をスクリーニングし、9 症例に SAFV を分離同定し、その臨床像を検討した。

①塩基配列が十分でなかった 1 例を除く 8 例で系統樹解析を行い、5 株が 2 型で互いに 100% 相同性が示された。3 株は 3 型で本邦から既報の株と 99-100% 相同性を示した。

②9 例の年齢中央値は 5 歳であった。咽頭発赤を 67%、扁桃腫大を 67%、頸部リンパ節腫脹を 33% に認め、臨床診断は咽頭扁桃炎が 7 例、無菌性髄膜炎 1 例、熱源不明が 1 例であった。89% に 38.5 度以上の発熱を認め、有熱期間は中央値 2 日 (幅 : 1-5 日) であった。血液検査を行った 5 例では、白血球数は中央値 11,080 (幅 : 9,690-15,580)、好中球割合は中央値 75% (幅 : 71-86%)、CRP は中央値 2.94 mg/dL (幅 : 0.01-5.52) であった。全例が対症療法のみで改善した。

SAFV 感染症は、咽頭扁桃炎を呈することが多く、血液検査で好中球優位の白血球数の上昇および CRP 上昇を示すことから、溶連菌感染やアデノウイルス感染との鑑別を要する。

本研究は、申請者の地域での臨床経験が動機となり、新興感染症である SAFV 感染症が、臨床および検査所見から、溶連菌感染やアデノウイルス感染との鑑別を要する疾患であることを明らかにした。本論文の内容は感染症領域の英文誌である *The Pediatric Infectious Disease Journal* に受理され、副論文も十分であり、博士 (医学) の学位に授与にふさわしいと考えられた。初めに提出された論文で修正すべきところを指摘したところ、よく修正された。改訂版を委員全員が確認し、論文審査合格とした。

## 試問の結果の要旨

発表は学位論文に準じて行われた。発表は明快で、大変に分かりやすく、時間もほぼ予定どおりであった。内容の骨子は「論文審査の結果」にまとめたとおりである。

申請者と審査委員の間で次のような質疑応答がなされた。

1. 佐渡ヶ島での SAFV 感染の流行はどのようなものであったか？

⇒2013 年夏に原因不明の発熱を呈する小児患者が 40 例ほど佐渡市立両津病院の外来を受診した。症状が軽微な例や、外来を受診しなかった例を含めると、その数倍の規模であったと推定される。

2. SAFV の分離同定法はどのように開発されたのか？

⇒RD cell Niigata を変性させる病原体が見つかったが、それが何かが不明であった。この検体を、新たに報告された SAFV の RT-PCR プライマーを用いて解析したところ SAFV であることが明らかとなり、RD cell Niigata 細胞により、SAFV が分離同定できることが明らかとなった。

3. SAFV の同定において、分離培養法と RT-PCR 法のどちらがよいか？

⇒分離培養法のほうが特異性は高いが結果が出るまで 2 週間ほどかかることから、重症例においては、迅速に結果が出る RT-PCR 法のほうが良いであろう。

4. SAFV の 2 型と 3 型で臨床像は異なるか？

⇒臨床像の違いは明らかではない。2 型と 3 型の流行が周期的に変わると言われている。

5. 5 歳以上では SAFV の抗体保有率がほぼ 100%ということであるが、発症年齢によって臨床像に差はあるか？

⇒年長児では全身症状がより重症になる傾向がある。

以上からわかるように、申請者は自己の研究テーマに関して深い学識を有し、いずれの質問に対しても的確に返答している。発表および質疑応答から、申請者が研究者として十分な資質・能力を有することは明らかで、医学博士号を受けるに値すると審査員全員が判断、最終試験に合格とした。