

(別紙1)

## 総括研究報告書

課題番号：30-3

課題名：小児における感染症の重症化の病態解明に関する研究

主任研究者名（所属施設） 国立成育医療研究センター

（所属・職名）生体防御系内科部感染症科・診療部長 宮入 烈

（研究成果の要約）小児における重症感染症の多くは普遍的な病原体の感染を契機に、従来健康な小児が発症するものである。ほとんどの症例が軽症であるにもかかわらず、一部の症例が重篤な転帰をたどる理由は不明である。我々はその要因として、未検出の病原体の存在、病原体の集団の中に異なる病原性をもった準種の存在、宿主の過剰な免疫反応、などの可能性を考え検討している。本年度は、WUポリオーマウイルスの病態解析、次世代シーケンサーを用いた抗酸菌の迅速同定を行った。またインフルエンザの鋳型気管支炎症例については好酸球の異常活性化の所見を確認し、病態生理に関する知見を得て報告した。

### 1. 研究目的

本研究の目的は、原因不明感染症の病原体を検出し、小児感染症が重症化に至る病態を検証することである。同時に、これまでの治療法の再評価を行い、新たな治療や予防の開発に資する情報を提供する事である。

小児期の感染症の多くは自然軽快するウイルス疾患であるが、同じウイルスに罹患しながら、急性呼吸不全、脳炎・脳症、心筋炎・敗血症を発症し死亡する例もある。現時点では有効な治療はなく、生命維持装置で管理し自然軽快を望むほかない。生来健康な患者が重症化する病態に、免疫学的な機序が介在することが報告されており、大量ステロイド療法やサイトカイン除去療法など侵襲性の高い治療法が行われている。しかし、その妥当性の検証は不十分であり、国際的には是非が問われている。

### 2. 研究組織

研究者	所属施設
宮入 烈	国立成育医療研究センター
森田英明	国立成育医療研究センター
中村昇太	大阪大学微生物病研究所

### 3. 研究成果

本年度は目的を達成するために、複数の検討を行い以下の成果を得た。

#### (1) WUポリオーマウイルス感染症の検討

小児における呼吸器感染症の多くは病原体診断がつかないことが多い。小児の肝移植後患者が間質性肺炎を発症し、喀痰からリアルタイムPCR検査でWU polyomavirus (WUPyV)が検出された。回復後7か月後も同ウイルスがPCRで検出された。免疫不全症患者においてWUPyVが呼吸器感染症の原因になることが示唆された。(分担宮入報告書参照：論文受理済み)

#### (2) 次世代シーケンサーを用いて病原体の遺伝子学的な検討

本研究の目的は、次世代シーケンス技術による網羅的遺伝情報解析（メタゲノミック診断法）を小児感染症に対して適用し、従来の方法論では見逃されていた小児感染症の原因を明らかにすることである。また新たに非結核性抗酸菌症における病態解明を目指し、病原性や組織特異性、個体間の症状の違いに寄与する遺伝子学的解析に基づいた菌種同定を行う。本年度においては、非結核性抗酸菌症の

臨床検体およびその分離株に対して全ゲノムショットガン解析を実施し、その菌種同定を行った。その際、オックスフォードナノポアテクノロジー社の次世代シーケンサーMinIONを用いたリアルタイム同定システムを開発することにより、配列解読を国立成育医療研究センターにおいて実施する一方で、配列データを自動的に我々の運用する計算機クラスターへ送信することで種同定解析をシーケンス中にリアルタイムに実施することが可能となった。本年度はこのシステムを用いて NTM 症患者由来の 5 検体の解析を行った。その結果、分離株については亜種レベルでの同定に成功した。一方で、臨床検体からの直接同定については、DNA 収量が低いことから同定には至らなかったことから引き続き精度・感度の向上を目指して検討を続けていく。(中村分担研究者報告書参照)

### (3) インフルエンザ重症化に關与する宿主因子の探索

小児期の感染症の多くは自然軽快するウイルス疾患であるが、重症化して死亡する例もある。故に、ウイルス感染が重症化する詳細なメカニズムの理解に基づいた新たな治療法の開発と、現行治療の妥当性を科学的に検証することが求められている。本研究では、ウイルス感染時の宿主側の因子とウイルスに対する免疫応答の詳細を検討することで重症化に至るメカニズムを明らかにすることを目的としている。インフルエンザウイルスに罹患後、急速に呼吸状態の悪化を認める鑄型気管支炎では、急性期に末梢血中好酸球の活性化が認められること、血清中で好酸球の分化、増殖、活性化に關与するサイトカインが増加していることを明らかにした。これらの結果から、インフルエンザによる鑄型気管支炎の病態には好

酸球の活性化が關与している可能性を見出した。その結果、末梢血中好酸球の異常活性化が認められることを見出した。更に、末梢血中のサイトカイン測定を行った結果、好酸球の動員、生存延長、活性化を制御するサイトカインである IL-5 の値が、感染局期に異常高値を示すことも見出した。これらの事実は、インフルエンザ感染に際し、IL-5 の異常産生とそれに伴う好酸球の活性化異常が、重症化に關与する可能性を示唆している。(森田分担研究者報告書)

### 4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究の検体採取の際には、患者、または保護者から同意書を得た上で検討を行った。得られたサンプルにおいては、プライバシーの保護には十分配慮をし、成果を公表する場合には患者を同定できるような情報を一切含めず、匿名化による個人情報保護を行った。その方法として、患者の情報と検体番号は、患者識別対応表を作成することによって、匿名化され、その対応表は、当院の個人情報管理者によって管理され、他の人がアクセス出来ないようにした。研究終了後の検体は、今後発見される可能性のあるウイルスに対しての検索を行うために、採取されてから 10 年間、保存されるが、その後に廃棄される。