

(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、次世代シーケンサーを用いた重症尿路感染症例の検討で培養未検出の細菌を同定した。ヒトパレコウイルスの重症例の検査値推移をまとめ、ウイルスのVP領域シーケンスを行い、準種の検出に向けての準備を整えた。また重症呼吸不全症例の経過をまとめ、インフルエンザの鑄型気管支炎症例についてはインフルエンザに対する過剰反応が関与している可能性を示唆する所見を得て、当該患者における免疫応答を検討する系の準備を整えた。

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

渡邊太郎	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、重症感染症における臨床像と検査値の経時的推移を検討し、各疾患の免疫学的応答を精査するための系を検討した。また、一部の症例で病原体のシーケンス解析を開始した。具体的な成果として下記が挙げられる。

(1) 次世代シーケンサーを用いて、感染症が疑われる原因不明疾患について病原体診断が行われた。早期乳児の膿腎症の患者尿検体を次世代シーケンサーにて検討したところ、培養検査で検出できなかった好気・嫌気性菌を検出した。検出された菌種は *Prevotella melaninogenica*, *Streptococcus constellates*, *Gardnerella vaginalis* など尿路感染症には非典型的で、母体の膣内の環境を反映するものであった。（中村分担報告書参照）。その他に原因不明であった重症感染

症 20 例の臨床検体を用いて検討した結果、乳児の肺炎症例から *ureaplasma* が検出された。

(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を行い、病原性、組織特異性、個体間の症状の違いに寄与する準種 (quasispecies) の存在を明らかにする事を目的に検体の収集と予備検討を行った。パレコウイルス準種の検証：重症感染症の要因となる因子を探索することを目的として、主に髄膜炎と診断された同一患者に由来する複数検体 (呼吸器、消化器、血清と髄液) から次世代シーケンサーにより準種の検出を試みることを計画した。ウイルス粒子表面のカプシドタンパクである VP 領域を標的とし、プライマーを設計して増幅条件の検討を行った。作製した 7 ペアのプライマーから最も増幅効率の高いものを選択し、臨床検体からの PCR 産物の配列を調べたところパレコウイルスの VP 領域であることが確認できた。全 VP 領域 3 kb を増幅、解読することが可能であることが確認されたため、重症化した 4 名の患者からの呼吸器、消化器、血清、髄液検体を次世代シーケンサーによる解析を行い感染部位により性質の異なる準種の有無を検討する。本年度は、同検討の基礎情報となる臨床情報と経過をまとめ、またサンガー法による全 VP 領域のシーケンスを行った。(分担報告書宮入参照。)

(3) インフルエンザ感染症による脳炎・鑄型気管支炎・心筋炎を発症した既往のある患者と対照群について免疫学的 (リンパ球刺激検査、抗体産生能、抗体の結合強度) を検証することを目的に検討を開始した。

本年度はインフルエンザの鑄型気管支炎症例について詳細な確認を行ったところ、当該年度にワクチン接種をしていなかったことが明らかになった。更に全症例にアレルギー性素因があり、多くの患者は過去のインフルエンザワクチン接種において過剰な副反応 (高熱の持続、高度の局所反応) があつた事からワ

クチン接種を忌避していたことが判明し、インフルエンザに対する過剰反応も疑われた。

上記の検討を実施するために、集中治療室における重症呼吸不全症例についてまとめ (渡邊分担報告書参照)、また宿主の免疫学的応答の検討を行うための準備を行った (森田分担研究報告書)

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う。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う。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する。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。