

[課程一2]

審査の結果の要旨

氏名 塩田 智之

本研究は免疫不全症患者において問題となっている薬剤耐性単純ヘルペスウイルス1型 (HSV-1) 感染症に焦点を当て、ウイルス性チミジンリン酸化酵素欠損アシクロビル耐性 (vTK^r/ACV^r) HSV-1の再活性化機構の解明および従来法に優る新規迅速薬剤感受性試験法の開発を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ウィスコットアルドリッチ症候群 (WAS) 患児の10年に及ぶ観察とウイルス分離を通して、初感染時には分離されなかったvTK^r/ACV^r HSV-1TAR (vTK遺伝子の1061から1064番目の4-C残基にCが挿入) が最初のACV耐性株から支配的に分離されたことが示された。

2. WAS患児より初感染以降、薬剤感受性株として分離された株も含め、再活性化時に常にTARが分離されたことが示された。

3. 1. および2. からTARが感受性株のvTK活性を利用して再活性化する可能性が示された。つまり、マウスモデルでは再活性化が認められないvTK耐性株が、ヒトにおいては感受性株との共感染によって再活性化される可能性が示された。

4. 下記のコンセプトによって新規迅速薬剤感受性試験法が構築されたことが示された。検査対象のウイルス由来のvTK遺伝子をpcDNA3.1へ搭載し、293T細胞へトランスフェクションさせ、TARをサロゲートウイルスとして感染後ACV存在下で培養をすると、検査対象ウイルスの薬剤感受性に対応してTARの増殖が変化することが示された。また、ACV 40 µg/mlにおける定量的リアルタイムPCRによるウイルスDNA量と各ウイルスのEC₅₀との間には強い正の相関が確認された。一連の操作は4日以内で遂行可能であり、10日を超える従来のプラーク減少法と比べて著しく迅速であることが示された。

5. 4. において示された結果は、ACV以外のTK関連薬剤であるガンシクロビルやプリブジンにおいても同様の相関が示された。

6. 新規迅速薬剤感受性試験法は、DNAポリメラーゼ変異由来の薬剤耐性株を検出することはできないが、薬剤耐性株全体の95%以上を占めるvTK変異に比べてその占有率は極めて低いいため大きな問題とはならないことが示された。

7. 海外からの臨床分離株への新規迅速薬剤感受性試験法の応用から、ろ紙へ滴下した患者サンプルだけで本法が実施可能であることが示されると同時に、国際的な検査依頼に容易に応じることができることが示された。

以上、本論文は WAS 患児の長期間におよぶウイルス解析によって vTK⁻ / ACV^r HSV-1 の免疫不全症患者における再活性化機構を明らかにした。また、新しいコンセプトのもと迅速薬剤感受性試験法が開発された。本研究は、薬剤耐性ヘルペスウイルス感染症の病態の理解と診断法の確立に重要な貢献を成すと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。