

# Le Xuan Luat 論文（テーシス）内容の要旨

主 論 文（テーシス）

## Pathologic potential of variant viruses and retrospective study of clinical diagnosis on flavivirus encephalitis in Vietnam.

フラビウイルス脳炎におけるウイルス変異株と病原性の関連およびベトナムでの臨床鑑別診断についての後方視的研究

### Le Xuan Luat

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻  
(主任指導教員：森田 公一 教授)

#### 【緒 言】

蚊媒介性フラビウイルスはヒトに感染して脳炎、関節炎、出血熱など多彩な病型を呈するが、とくに中枢神経系に親和性を示す日本脳炎ウイルス(JEV) やダニ媒介性脳炎ウイルス(TBEV)感染での病原性発現機序はいまだ十分解明されていない。また、これらのウイルスが流行している開発途上国においては、併存している他の中枢神経親和ウイルス感染との臨床症状の差異について十分な検討はなされていない。本テーシス研究においては、TBEV から得られた各種変異ウイルスを用いて、その病原性発現機序を分子レベルで明らかにすること、およびベトナムにおける日本脳炎の臨床症例を後方視的に調査してフラビウイルス脳炎の流行時期に現地で同時に流行するEcho30ウイルス(E30)との臨床症状の差異を比較解析し、開発途上国の限られたインフラ条件で臨床鑑別診断に利用可能な指標を探索することを目的とした。

#### 【対象と方法】

(変異株と病原性)

TBEV の Oshima 5-10 株から BHK 細胞を用いた限界希釈法により変異株のクローニングを行った。中枢神経への病原性は C57BL/6j (B6)マウスに  $10^4$  PFU 量のウイルスを皮下接種して臨床症状、脳、脾臓でのウイルス感染価等を測定することで評価した。また、変異ウイルスと親株の完全長の遺伝子 RNA の配列を決定し、病原性と塩基配列、予想されるアミノ酸変異とを比較解析した。

(臨床診断についての後方視的研究)

2001年から2002年の期間、ベトナム国において、JEVまたはE30による髄膜炎/脳炎と確定診断された症例について比較解析した。JEV群60例とE30群43例の患者カルテを収集し、臨床データを比較し、統計学的解析を行った。また分離されたウイルスについてはその塩基配列を決定し近隣諸国で分離された株のデータとともに、neighbor-joining法を用いて樹状解析を行った。

## 【結 果】

- (1) Oshima 5-10株から8株の変異株を単離した。このうち3株は親株と比較して小さいプラークを形成し、1株は親株より大きいプラーク形成能を示した。
- (2) 小プラーク形成変異株はすべてマウスでの神経病原性が減弱していたが、他の株はすべて親株と同等であった。
- (3) 病原性が減弱した変異株では塩基番号1342番の塩基がAからGに置換することでE蛋白の122番目のグルタミン酸(Glu)からグリシン(Gly)に置換していた。
- (4) JEVとE30感染症状の比較では、発熱、頭痛、嘔吐は、両群で最も一般的な症状であるが、三徴候全ての陽性率は、E30群で74%、JEV群で27%であった。
- (5) 頭痛と嘔吐の二徴候の陽性率は、E30群の19%、JEV群は0%であった。
- (6) 一方、病的反射等の神経学的徴候はJEV群で優位に認められ、痙攣を認めた症例はJEV群で73%、E30群で5%であった。
- (7) 意識変容を認めた症例は、JEV群で97%に対し、E30群で12%であった。
- (8) 検査所見では、脳脊髄液(CSF)中の糖レベルがJEV群で低く、白血球はE30群で有意に高い値をしめした。
- (9) 分離したE30ウイルス遺伝子の樹状解析では、ベトナムのE30株はすべてアジア型ではあるが、独自の進化をしていることが明らかになった。

## 【結論と考察】

TBEV株(Oshima 5-10)には多くの変異体ウイルス(ウイルス準種)が含まれていた。変異株ウイルスのE蛋白上に見られたGlu<sub>122</sub>→Gly変異はマウス個体でのウイルス増殖効率の低下により病原性の減弱に働いた可能性が高いと思われる。この部位は細胞表面糖鎖との結合部位と考えられており、上記の変異が細胞への結合性を減弱させることでウイルスの病原性を低下させた可能性がある。また、TBEVの病原発現には免疫応答の関与が予想されるため、さらなる病原機序解明のため変異株感染によるマウスの免疫系反応の差異、特にT細胞反応性の差異等を検索する必要があると考えられる。

ベトナムなどアジアの開発途上国の限られたインフラ環境で、JEの鑑別診断を改善するために、三徴候(発熱、頭痛、嘔吐)、および神経症状の有無(痙攣、意識変容)、そして、CSF中の白血球増加がE30症例とJE症例を鑑別する上で、重要な指標となりうると思われる。