

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 17 日現在

機関番号：17301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670504

研究課題名(和文)TTウイルス～常在ウイルス叢としての宿主防御における役割は？

研究課題名(英文)TT virus-What roles does it play in the host defense system as normal viral flora?

研究代表者

森内 昌子 (MORIUCHI, Masako)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・助教

研究者番号：60322301

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：五島コホートの登録は予定の2割に留まった。網羅的病原ウイルス検索の予備研究は進み、PCR手技は整った。ベトナムのTTV陽性児は追跡調査中。タイHIVコホートでは、以下の結果を得た。

1) HIV感染者が非感染者よりTTV 遺伝子群G1, G4, G5感染率が有意に高かった。2) HIV感染者におけるCD4細胞数又は血漿HIVコピー数とTTV感染とは、どの遺伝子群も関連しなかった。3) TTV血漿コピー数と無治療感染者のHIVコピー数との間には有意に相関し、CD4細胞数との間には有意に逆相関した。4) TTVコピー数又はTTV遺伝子群G4の感染はHIV感染者の生存に寄与した。

研究成果の概要(英文)：Enrollment in the Goto Cohort reached only one fifth of total live births. Pilot studies for comprehensive investigation of viral pathogens are in progress, and PCR techniques are ready. Follow-up studies on TTV-infected Vietnamese children are in progress. Effects of TTV coinfection on the prognosis of HIV-infected individuals in Thai HIV Cohort were demonstrated as below:

1) HIV+ individuals were coinfecting with TTV genogroup G1, G4 or G5 more frequently than discordant partners. 2) There was no correlation between CD4+ cell counts or plasma HIV RNA copy numbers and TTV coinfection (any genogroup) in HIV+ individuals. 3) There was significant correlation between plasma TTV DNA copy numbers and HIV copy numbers, and significant inverse correlation between plasma TTV DNA copy numbers and CD4+ counts in antiretroviral therapy-naive HIV+ individuals. 4) There was significant correlation between TTV copy numbers and survival rates and between TTV G4 coinfection and survival in HIV+ individuals.

研究分野：ウイルス学

キーワード：ウイルスの干渉作用 TTウイルス HIV-1

1. 研究開始当初の背景

国内外の研究成果)

- TT ウイルス (以下、TTV) は成人の 90%以上が持続感染している普遍的なウイルスで、ウイルス血症を呈し唾液、母乳、精液など様々な体液中に常時排泄されている (ウイルスの normal flora?)。
- 感染経路は経気道、経口、性行為、垂直感染と多岐に及び、明らかな病原性は認められない。
- 遺伝子配列の解析から、20 種以上の genotype が少なくとも 5 つの genogroup に大別される。

私達の研究成果)

- 新生児から成人までの年齢層を横断的に調査し、TTV の 5 つの genogroup の疫学像 (年齢別の感染率) が各々異なること、唾液を用いて感染調査できることを示した《国内データ》¹⁾
- 臍帯血における陽性率 (おそらく先天性感染を示す) が約 4-5%あることを示した《国内データおよびベトナム出生コホートデータ》²⁾
- HIV-1 感染者がある特定の genogroup の TTV に共感染していると、予後が改善することを発見した《タイ HIV-1/AIDS コホートデータ》³⁾

2. 研究の目的

TTV は幾つもの genogroup に分かれるバラエティーに富んだウイルスの総称で、殆どの成人に持続感染しているけれど明らかな病原性が認められない normal flora 的なウイルスである。本研究では、国内外の三つのコホートの特徴を活かして、TTV の臨床的意義～特に他のウイルス感染を予防する効果があるかどうかを明らかにする。

- 五島 & ベトナム Nha Trang 出生コホート:

- 1) 先天性感染の実態の解明
唾液 (五島コホート) および臍帯血中 (五島コホートおよびベトナムコホート) の TTV を検出し、先天性 TTV 感染児を同定する。感染児と非感染児とで成長や発達に違いがないかどうか、1 歳半健診・3 歳半健診 (五島コホート) または 2 歳児・5 歳児の追跡調査 (ベトナムコホート) で比較する。

- 2) 小児急性呼吸器・消化管感染症の頻度や重症化に及ぼす影響

五島、ベトナムそれぞれのコホートで、小児患者が入院する唯一の基幹病院において、(1) 先天性 TTV 感染児が非感染児と比べて入院回数や重症度に違いがあるかどうか、(2) 呼吸器感染児の鼻咽頭スワブにおける TTV 検出率と同時に検出される種々の呼吸器ウイルスの検出率を比較する。

- タイ Lampang HIV コホート:

- 1) HIV-1 感染者の TTV 共感染が及ぼす影響
或る genogroup の TTV に感染した人が非感染者よりも有意に生存率が高いため、この genogroup 感染者の検体で、さらに genotype-specific PCR sets を用いて genotype 別の生存率の違いを検討する。

- 2) HIV-1 未感染者の TTV 感染が HIV-1 感染への感受性・抵抗性に及ぼす影響

配偶者からの感染のリスクがある exposed seronegative (ESN) の集団の中で、各々の TTV genogroup (さらには genotype) の感染の有無が HIV 感染のリスク因子になるかどうかを検討する。

3. 研究の方法

【平成 26 年度】

五島出生コホート《研究協力者: 森内浩幸 (長崎大・小児科)、篠原一之 (同・神経生理)》
「3 大学 (千葉・金沢・長崎) 革新予防医学共同大学院」構想の下、長崎県五島市に設置される出生コホート (年間出生数 300 名弱) で、木目細かな発達評価 (含、自閉・多動傾向のスクリーニング 確定検査) を行う。

- 1) 臍帯血および唾液中の TTV 検出の比較、および陽性児の追跡調査

- 私達の過去の調査で、日本人臍帯血中の TTV DNA 陽性率は 4-5%であったが、これが真の胎内感染なのか分娩開始後の microtransfusion (母体血中のウイルス) を捉えているだけなのかを解明する為、生後一週間以内に唾液を採取し TTV DNA の検出を行う。

- TTV DNA 陽性児 (年間推定 12-15 人) と陰性児 (推定 250-280 人) とで発育や発達、または罹病歴の差違を解析する。

- 2) 急性呼吸器・消化管感染入院児の網羅的病原ウイルス検索の一環としての TTV 検出

- 五島中央病院 (地域唯一の小児入院施設) 入院例について、multiplex PCR による網羅的病原体解析および TTV-PCR を行う。TTV 検出例については、real-time PCR による定量と特異的プライマーセットを用いた genogroup 同定も行う。

ベトナム Nha Trang 出生コホート《研究協力者: レイミント吉田 (長崎大・熱帯医学研究所)》

本研究グループはベトナム国立衛生疫学研究所および現地の保健行政担当者との共同で、Khanh Hoa 省の 33 communes において、約 7 万 6 千世帯、約 35 万人の住民ベースの臨床疫学調査研究を実施し、それを基盤に様々な感染症の発症に関わる因子の同定を行ってきた。また 2009 年 5 月～2010 年 5 月分娩の約二千組の母子を出生コホートとして登録し、詳細な疫学データを得ている。

- 1) 臍帯血 TTV DNA 陽性児の追跡調査
 - ・出生コホート約二千人のうち 1487 名の児は 2 歳時 (2011 年 5 月～2012 年 5 月) に、身体測定、発達評価、採血を行い、ハイリスク児はより詳細に検討した。さらに 5 歳時 (2014 年 5 月～2015 年 5 月) に同様の追跡調査を行う。
 - ・臍帯血 TTV DNA 陽性の感染児 80 名超とそれ以外の児とで発育や発達、または罹病歴 (特に各種感染症の罹患歴) の差違を解析する。
- 2) 急性呼吸器・消化管感染入院児の網羅的病原ウイルス検索の一環としての TTV 検出
 - ・Khanh Hoa 総合病院 (地域唯一の小児入院施設) 入院例について、五島コホートと同様の解析を行う。

タイ Lampang HIV-1/AIDS コホート《研究協力者: 有吉紅也 (長崎大・熱帯医学研究所)》

- 1) HIV-1 感染者の予後を改善する TTV genotypes の同定

HIV-1 感染者において TTV の 5 つの genogroup 別に「感染者」「非感染者」の比較を行うと、或る genogroup に関しては感染者が非感染者よりも有意に生存率が高いことがわかった。この genogroup 感染者の検体で、さらに genotype 特異的 PCR セットを用いて genotype 別の生存率の違いを検討する。
- 2) discordant couples における ESN 者の追跡調査

配偶者からの感染のリスクがある ESN の中で、追跡期間中に HIV-1 に感染した群と未感染のままの群との違いを探るため、各 TTV genogroup (さらには genotype) の感染の影響を検討する。コホート登録の時点の検体を TTV genogroup 特異的 PCR セットで調べ、その後 HIV 感染が起こったかどうかを採取保存された検体で調べ、各 genogroup 感染者 vs 非感染者で HIV-1 感染率を比較検討する。

【平成 27 年度】

平成 26 年度に得られた結果をもとにして、それぞれのコホートでの研究を継続し、データをまとめる。五島コホートに関しては本申請課題終了後も追跡調査を行う。ベトナムコホートはちょうど終了の予定である。タイ HIV-1/AIDS コホートは既にデータと検体収集が終了しており、基本的にはベンチ研究のみで終了することになる。

さらに、これらのコホート研究から得られたデータを総合的に評価し、TTV が他のウイルス感染に及ぼす影響について、得られた結果を取りまとめ、成果の発表を行う。

4. 研究成果

五島出生コホートにおける登録状況が思わしくなく、年間出生 200-300 のうち 2 割程

度に留まっている。五島中央病院における網羅的病原ウイルス検索のためのパイロット研究は進んでおり、multiplex PCR と real-time PCR の手技は整っている。倫理委員会申請準備段階である。

ベトナムコホートにおける TTV 陽性児の追跡調査は実施計画中である。

タイ HIV-1/AIDS コホートにおける TTV 感染が HIV-1 感染者に及ぼす影響については解析が進み、以下の結果が得られた。

- 1) TTV Genogroup G1, G4, G5 に関しては HIV-1 感染者の方が非感染者よりも統計学的に有意に感染率が高かった (Fisher's exact 0.000)。
- 2) HIV-1 感染者における CD4 細胞数と TTV 感染との関連は、いずれの genogroup においても認められなかった (Two-sample Wilson rank-sum tests)。
- 3) HIV-1 感染者における血漿 HIV-1 RNA コピー数と TTV 感染との関連は、いずれの genogroup においても認められなかった (同上)。
- 4) TTV 血漿 DNA コピー数と抗レトロウイルス療法未施行の感染者における HIV-1 血漿 RNA コピー数との間には有意な相関があった (regression model)。
- 5) 一方、HIV-1 CD4 細胞数との間には有意な逆相関があった (同上)。
- 6) HIV-1 感染者において TTV 血漿 DNA コピー数は生存率に相関していた (Two-sample Wilson rank-sum tests)。
- 7) TTV genogroup G4 の感染は HIV-1 感染者における生存率に相関し (Fisher's exact 0.028) Kaplan-Meyer 曲線においても抗レトロウイルス療法未施行 HIV-1 感染者における死亡率の減少に寄与していた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. 森内昌子、森内浩幸：特集：近未来の感染症診療 サイトメガロウイルスワクチンの必要性と開発の状況．外来小児科 18(2)202-208. 2015. 査読なし
2. 森内昌子、森内浩幸：〔ウイルス感染症〕先天性サイトメガロウイルス感染症．小児内科 47(4) 568-572. 2015. 査読あり

〔学会発表〕(計 3 件)

1. 森内昌子：サイトメガロウイルス-未熟児への母乳哺育におけるジレンマ-(教育講演)．第 60 回日本新生児成育医学会・学術集会．H27.10.25. いわて県民情報交流センター「アイーナ」(岩手県盛岡市盛岡駅西通 1-7-1)
2. 森内昌子：ラクトフェリン摂取による乳幼児のロタウイルス・ノロウイルス胃腸炎の予防効果 第 62 回日本小児保健協会学術集会．

H27.6.20 .長崎ブリックホール 3F 国際会議場(長崎市茂里町)

3.森内昌子：先天性サイトメガロウイルス感染症 65 例に対する valganciclovir 治療の有効性と安全性の検討(多施設研究中間報告) . 第 29 回ヘルペスウイルス研究会 . H27.6.4. 長崎につしょうかん(長崎市西坂)

〔図書〕(計 1 件)

1.森内昌子、森内浩幸：移行，併診，継続のプランとアクション 継続：小児科医(感染症専門)の視点 フォローが必要な感染症 . 中山書店 . 移行期医療 子どもから成人への架け橋を支える <総合小児医療カンパニア > . 2015.6、247 ページ (175-185)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

森内 昌子 (MORIUCHI , Masako)
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・
助教
研究者番号：60322301

(2)研究協力者

森内 浩幸 (MORIUCHI , Hiroyuki)
長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・
教授
研究者番号：90315234