

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

遊佐貴司より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 566 号

学位申請者 : 遊 佐 貴 司

学位審査論文 : New possible biomarkers for diagnosis of infections and diagnostic distinction between bacterial and viral infections in children

(小児における細菌感染とウイルス感染の鑑別診断のための新規バイオマーカーの検討)

著 者 : Takashi Yusa, Kazuhiro Tateda, Akira Ohara, Shuichi Miyazaki

公 表 誌 : Journal of Infection and Chemotherapy DOI:10.1016/j.jiac.2016.11.002

論文内容の要旨 :

【背景】

感染症患者の診断には迅速に結果が得られる白血球数やCRP値が利用されている。患者の症状とこれら血液検査所見を基に初期治療が行われるが、血液検査所見の感度及び特異度が70-80%であるため、誤った治療方法を選択してしまうことが少なくない。また、適切な治療を実施するためには、細菌感染症とウイルス感染症の鑑別が重要である。最近、細菌性重症敗血症や敗血症性ショック患者になる可能性を予測する目的で、感度や特異度が高いプレセプチンやプロカルシトニンなどが予測バイオマーカーとして報告されているが、一般外来に受診する軽度の感染症患者では細菌感染症とウイルス感染症の鑑別診断に応用できない。また、誤った治療法の選択は不必要な抗菌薬の使用による病原体の耐性化や感染症の重症化の原因となるため、より適切な検査方法の開発が必要である。本研究では血液中に多数存在し、かつ免疫応答に極めて重要な役割を担う好中球の病原体成分のレセプターとして作用するTLR2、TLR4の発現量、及び好中球を含む免疫細胞の産生した血中各種サイトカイン量を測定し、各測定値から細菌感染症とウイルス感染症の鑑別の可能性を検討した。

【方法】

対象は東邦大学医療センター大森病院小児科外来を受診し入院加療を必要としなかった小児患者118例。基本的に診断カルテを基に細菌感染症37例、ウイルス感染症34例、非感染性かつ非炎症性疾患患者をコントロールとして47例に分類した。さら

に感染症患者は発熱した日からの経過日数で1日後、3日後、5日後に分けた。対象患者から血液を2mL採取し、血漿成分と細胞層に遠心分離した。細胞層から Human CD66abce MicroBead キットを用いて好中球を精製し、phycoerythrin 標識した抗ヒト TLR2 抗体、抗ヒト TLR4 抗体を反応させフローサイトメトリーにて TLR2、TLR4 の平均蛍光強度 (MFI) を測定した。Q-Plex Cytokine assay kit を用いて血漿中の IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-17、TNF- α 濃度を測定した。

【結果】

細菌感染症群の TLR2 及び TLR4 発現量は感染後 5 日目まで有意に増加していた (Fig. 1)。ウイルス感染症群では徐々に増加していく傾向にあった。細菌感染症群の 3 日目の TLR2 発現量はウイルス感染症群よりも有意に高い値であった。

IL-1 α は細菌感染症群でコントロール群よりも 5 日目まで有意に高い値であった (Fig. 2)。ウイルス感染症群の IL-1 α 、IL-1 β 及び IL-2 は 1 日目でコントロール群よりも有意に高く、IL-1 β はさらに 3 日目においても有意に高い値であった。IL-4、IL-8、IL-10、IL-12 及び TNF- α は細菌、ウイルスの両感染症群でコントロール群よりも 5 日目まで有意に高い値であった。IL-17 はウイルス感染症群の 5 日目を除いて同様に有意に高い値であった。IL-6 はコントロール群と比べて細菌感染症群で 5 日目まで、ウイルス感染症群で 1 日目のみ有意に高い値であった。IL-5 は 1 日目のみコントロール群よりも有意に高い値であった。

ウイルス感染症群の IL-2、IL-8 及び IL-10 は感染後 1 日目において細菌感染症群よりも有意に高い値であった (Fig. 2)。

IL-8 のウイルス感染症群で 1 日目が 3 日目、5 日目よりも有意に高い値であった (Fig. 2)。IL-17 のウイルス感染症群で 5 日目が 1 日目、3 日目よりも有意に低い値であった。

【考察】

一般外来を受診し、入院加療を必要としない軽度の感染症患者の好中球の TLR2 及び TLR4 発現量は病原体の存在下で増加することを示した。この成績から TLR2 及び TLR4 発現量は細菌及びウイルス感染症のバイオマーカーとして利用可能であることが示唆された。同様に軽度感染症患者血中のサイトカイン量も増加することを確認した。加えて、細菌感染症とウイルス感染症の両患者群の IL-4、IL-8、IL-10、IL-12 及び TNF- α はコントロール群に比べ 1、3、5 日目いずれの経過日数においても有意に高い値であったことから、感染症のバイオマーカーとして利用可能であることが示唆された。さらに、IL-2、IL-8 及び IL-10 は発熱後 1 日目で細菌感染症群よりもウイルス感染症群で有意に高い値であったことから、感染後早期であれば細菌感染症とウイルス感染症の鑑別にこれらサイトカインが利用可能であることが示唆された。本研究で得られた細菌感染症とウイルス感染症の鑑別バイオマーカーを臨床で実用化するためには、さらなる症例数の増加や ROC 分析を加える必要があると考える。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 566 号	氏 名	遊 佐 貴 司
学位審査担当者	主 査	澁 谷 和 俊
	副 査	近 藤 元 就
	副 査	中 野 裕 康
	副 査	武 城 英 明
	副 査	島 田 英 昭

学位審査論文の審査結果の要旨 :

平成 29 年 1 月 23 日 (月) 17:00-18:00 医学部第 2 セミナー室にて、5 名の審査者の出席の下で学位審査が行われた。

研究概要：従前、ほとんど検討されなかった小児軽症感染症患者の感染初期における細菌感染とウイルス感染の鑑別に有用なマーカーについて探索的研究を行った。＜方法＞東邦大学医療センター大森病院小児科外来を受診し入院加療を必要としなかった小児患者 118 例から細菌感染症 37 例、ウイルス感染症 34 例、非感染性かつ非炎症性疾患患者を対象として 47 例を抽出した。研究対象者から血液を 2mL 採取して細胞層と血漿成分に遠心分離し、前者を用いてフローサイトメトリーにて好中球のトール様受容体 (TLR) 2 および TLR4 の平均蛍光強度 (MFI) を測定した。また、後者を用いて IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-17、TNF- α 濃度を測定した。＜結果＞発熱 3 日目の細菌感染症群の TLR2 は、ウイルス感染症群よりも有意に高値であった。また、ウイルス感染症群の IL-2、IL-8 及び IL-10 は、感染後 1 日目において細菌感染症群よりも有意に高い値であった。＜考察・結語＞IL-2、IL-8 及び IL-10 は発熱後 1 日目で細菌感染症群よりもウイルス感染症群で有意に高い値であったことから、感染後早期であれば細菌感染症とウイルス感染症の鑑別にこれらサイトカインが利用可能であることが示唆された。しかし、本研究で得られた細菌感染症とウイルス感染症との鑑別に有用性が示唆されるバイオマーカーを臨床で実用化するためには、更なる症例の検討や ROC 分析を加える必要がある。

質疑応答：審査者からの主な質問は次の通り：①TLR2 と TLR4 を対象とした先行研究の有無や本研究での探索対象とした理由、②TLR2 と TLR4 の発現増加因子、③ROC 解析を施行しない理由、④病原体の同定方法、⑤測定限度に近い対照群の IL の値に関する信頼性、⑥検体採取から分析作業と診断までの具体的な手続きなど。全ての質問に対して申請者は、研究計画の限界も考慮した明確な回答を行った。

審議：本研究は、初期の小児軽症感染症患者における細菌感染とウイルス感染の鑑別に関する IL-2、IL-8 及び IL-10 の有用性を指摘した価値ある研究であり、学位授与に相当することを出席者全員一致で認定した。