

# 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

ト部尚久より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 532 号

学位申請者 : うら べ なお ひさ  
ト 部 尚 久

学位審査論文 : Molecular epidemiological analysis of a *Pneumocystis* pneumonia outbreak among renal transplant patients

(腎移植患者における *Pneumocystis* 肺炎集団感染の分子疫学的解析)

著 者 : Naohisa Urabe, Yoshikazu Ishii, Yoji Hyodo, Kotaro Aoki, Sadako Yoshizawa, Tomoo Saga, Somay Yamagata Murayama, Ken Sakai, Sakae Homma, Kazuhiro Tateda

公 表 誌 : Clinical Microbiology and Infection

論文内容の要旨 :

背景 : *Pneumocystis pneumonia* (PCP) は、*Pneumocystis jirovecii* (*P. jirovecii*) を起因菌とした日和見感染症であり、時に重症化して致死的な経過も取り得る。現時点において *P. jirovecii* は培養検査が不可能であるため、伝播様式や感染症発症様式、病原因子などの詳細は解明されていない。近年、腎移植患者に対する集団感染が各国で報告されており、活動性 PCP 患者からの人-人感染が示唆されている。東邦大学医療センター大森病院腎センターにおいて、2011 年 11 月 18 日~12 月 7 日までの 3 週間の間に 5 名の腎移植後の患者が PCP の発症を認めた。我々はこの 5 名の患者が同一株の *P. jirovecii* による感染かどうかを、分子疫学的手法を用いて解析した。

方法 : 腎センターで集団発生した 5 名に加えて、2007 年から 2014 年の 8 年間に当院で PCP を発症した 20 名の患者から得られた気管支肺胞洗浄液残余検体から抽出した DNA を鋳型として multilocus sequence typing を実施し。得られた DNA 塩基配列情報を結合し、近隣結合方にて系統解析を実施。 *P. jirovecii* の遺伝的類似性を比較した。また、サンガー法による DNA 塩基配列決定の際に DNA 塩基が重複して判別できなかった箇所について、次世代シーケンサーを使用して重複した塩基の種類とその比率について解析した。

結果：腎センターで3週間の期間にPCPを発症した5名の患者のうち4名の患者及び、集団感染から2年後の2013年に腎センターでPCPを発症した腎移植後の患者2名の気管支肺胞洗浄液中の*P. jirovecii*に由来するDNA塩基配列は相同性が高かった。また、サンガー法にてDNA塩基が重複し塩基を決定することができなかった遺伝子は14箇所で見つめられた。次世代シーケンサーによる重複塩基の解析結果から、2種類の異なる塩基がほぼ同一の割合で含まれていた。

考察：腎センター外来通院患者で2011年9月にPCPを発症し、11月～12月にかけてのPCP集団発症患者との外来接触が確認されている一人のPCP患者が存在する。この患者は、気管支肺胞洗浄液の保存検体が存在していなかったため遺伝子解析は施行できていないが、PCPを集団発症した5名の患者と外来ブースを共有している。*P. jirovecii*の遺伝子型の相同性が高い4名の患者はこの活動性PCP患者から感染したと考えれば、潜伏期は11～12週間であり過去の報告と一致する。また、2011年から2年経過した2013年にPCPを発症した2名の患者は、2011年に集団発症した患者と遺伝子型の相同性は高かったが、これらの患者と腎センター外来受診日を共有していなかった。この2名の患者は、医療従事者など無症状キャリアーからの感染や、待合室の環境からの感染、2011年に同一株*P. jirovecii*に感染したが、発症せず保菌状態であった患者を介しての感染などが考えられたが、PCPの発症様式は、保菌株の再賦活化ではなく新規感染と考えられており、2013年の発症直前に感染した可能性が高いと考える。今回対象とした遺伝子のDNA塩基配列は、サンガー法にて2種類の異なる塩基が重複し判読できなかった箇所が認められた。次世代シーケンサーを使用した解析結果から、重複した2種類の塩基はほぼ同じ割合であった。今回の結果から、多くの遺伝子で2種類の異なる塩基がほぼ同じ比率で含まれることが明らかとなった。この結果は*P. jirovecii*がdiploid cellであるため、2組の染色体遺伝子がそれぞれ別の塩基で構成されていたことに起因する可能性が示唆された。

結論：当院で経験したPCP集団発症が同一株によるout breakである可能性が高いことを示した。さらに、2種類の異なる塩基の存在は、*P. jirovecii*がdiploid cellであることに起因すると思われた。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 532 号	氏 名	ト 部 尚 久
学位審査担当者	主 査	相 川 厚
	副 査	松 瀬 厚 人
	副 査	中 野 裕 康
	副 査	宍 戸 清 一 郎
	副 査	宮 崎 修 一

学位審査論文の審査結果の要旨 :

この学位審査論文は IF5.197 である European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases の official journal であり、臨床的な感染症を扱う医学誌としてはトップクラスの雑誌である。規定により 10 名の著者であっても学位論文として認められる。

1. 学位論文としての論文の形式について

論文の形式として、特に問題はないことが出席した 4 人の審査担当者により確認された。

2. 学位論文としての内容について

学位申請者からこの学位論文の内容につき、説明があった。説明は明確に要領よく行われた。

審査担当者から複数の質問がでたが、学位申請者は下記のように即座に、詳細に回答していた。

「Pneumocystis jirovecii (P. jirovecii) の life cycle、人から人への感染の経路と伝染、また無症候性キャリアが存在するのかわか？」の質問に対して、学位申請者は「培養ができないため、また genome も確定できていないため P. jirovecii がどこに存在するのかわか不明である。しかし健康人でも P. jirovecii が潜伏している可能性はある。COPD の患者の気管支洗浄液を検査すると約 30% の患者に P. jirovecii が検出される。HIV 患者では 40-50% に P. jirovecii のキャリアがいる。小児で P. jirovecii の抗体を測定するとほとんどのものが陽性である。」と的確に回答した。

「対象として HIV 患者や自己免疫疾患の患者が混在しており、outbreak した Pneumocystis 肺炎の腎移植患者と比較するのは条件が異なるため、問題である。Pneumocystis 肺炎がない腎移植患者を negative control として比較していないか」との質問に対して、学位申請者は「腎移植患者での Pneumocystis 肺炎が同時に発症は少ない。HIV 患者および自己免疫疾患の患者は来院した時点で全例が Pneumocystis 肺炎となっており、院内感染でないことは明白で Pneumocystis 肺炎の outbreak を起こした腎移植患者と比較できると判断した。Pneumocystis 肺炎がない腎移植患者を対象としていない。」と回答した。「この論文の従来の報告とは異なる重要な新発見は何か？」との質問に対して、学位申請者は「方法論で MLST の 1990 年代の primer を使用して測定した論文がほとんどで、SOD の primer は自分で作製したものをを用いており、従来の検査では本研究のように diploid cell の塩基の比率を解析したものはない。結果として Pneumocystis 肺炎を outbreak した 5 名の患者と、単発で Pneumocystis 肺炎になった 2 名の患者と同じ株であった事をこれにより正確に証明できた。」と回答した。

入院中の Pneumocystis 肺炎の空気感染対策、outbreak 発生時の院内感染制御と予防対策について、臨床的な質問をした。学位申請者は「入院中の Pneumocystis 肺炎の空気感染対策個室管理で十分であり、陰圧室は必要ないこと、outbreak 発生時は同席した患者全員に連絡し、ST 合剤を内服させること、外来では呼吸器症状がある患者は、隔離して他の患者と接触させないこと、予防的投与として ST 合剤が有効であること」と的確に回答した。

3. 審査員による判定

学位申請者および関係者が退席後に、4 人の審査員全員で討論した。本論文は対象とした患者で多少問題があり、Discussion においても、もっと多くの議論がなされるべきであるとの批評はあったが、方法論としては成立しており、さらに自分で作製した primer を用いて測定し、P. jirovecii の塩基配列を確定した新しい知見があり、4 人の Pneumocystis 肺炎の腎移植患者は、一人の外来で同席した Pneumocystis 肺炎患者から outbreak したものであると分子生物学的に証明したことは学位論文に値すると全員一致した見解であった。