

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 武内 俊

論 文 題 目


Identification of potential pathogenic viruses in patients with acute myocarditis using next-generation sequencing

(次世代シーケンスを用いた急性心筋炎患者における病原ウイルスの同定)

論文審査担当者


名古屋大学教授

主 査 委員

木 村 宏 

名古屋大学教授

委員

萩 明 男 

名古屋大学教授

委員

八木 哲也 

名古屋大学教授

指導教授

高橋 義行 

論文審査の結果の要旨

別紙1-2

今回、血清からの急性心筋炎の原因ウイルスの検出における、次世代シーケンシング (next-generation sequencing, NGS) の有用性について検討した。NGS を用いた解析により、急性心筋炎患者 17 例中 7 例 (41%) の血清からウイルス由来リードを検出した。そのうち 4 例について、ポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction, PCR) または抗原検査結果との一致を確認し、NGS による検出結果は有意と考えられた。また、RNA シーケンシングでヒトペギウイルス (human pegivirus; HPgV) 由来リードが多量に検出され、リードマッピングにより有意と判断された。検出したウイルスと疾患との関連についてはさらなる検討を要するが、急性心筋炎の原因ウイルスの検出において、NGS による網羅的な病原微生物検索が有用である可能性を示した。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. NGS による臨床検体からの微生物の検出において、検出した微生物由来リードを有意と判断する上での基準は現時点で確立されていない。過去に心筋炎の原因として報告されているウイルスは、PCR や *in situ hybridization* 及び免疫組織染色で心筋組織内にその存在が確認されたものである。これは、動物を用いた心筋炎モデルで、ウイルスによる心筋の直接的な傷害及び免疫反応に伴う二次的な傷害の発生が証明されたことに基づく。急性心筋炎患者において、理論的にはウイルス核酸は感染した心筋組織から放出され、血清試料中で検出可能とされる。今回、患者血清から NGS によりウイルス由来リードが検出され、心筋炎との関連が示唆されたが、検出結果と疾患の関連性については、今後さらなる検討を要する。
2. シーケンシングデータを取得した際に、トリミング及びヒト配列のサブトラクション後のリード数が限られている。この理由として、心筋炎における血中からの PCR によるウイルスゲノムの検出率は僅か 3%との報告もあり、NGS で検出するには血清中のウイルス核酸量が不十分である可能性がある。また、血清中の宿主ゲノムの存在により、シーケンシングリードの大半がヒト由来となり、ウイルス由来核酸の検出が不十分となった可能性がある。NGS を感染症診断に臨床応用していく上で、効率的な微生物ゲノムの検出法の確立が、今後の重要な課題である。
3. HPgV は 1995 年に慢性肝炎患者の血清から発見され、持続的なウイルス血症を起こすとされるが、現時点ではヒトへの病原性は不明である。一方で、健常成人の血清の数%から PCR で検出されるという報告もある。これまでに HPgV と急性心筋炎の関連性を示唆した報告はなく、今後の知見の集積が必要である。

本研究は、NGS による網羅的な病原体検索法が、今後急性心筋炎の病因解明に繋がる可能性を示した。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	武内 俊
試験担当者	主査	木村 宏	副査:	萩 明男
	副査:	八木 哲也	指導教授	高橋 義行
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none">1. 検出結果と心筋炎の関連性を有意と判断する基準について2. 次世代シーケンスによる微生物検出における効率性について3. ヒトペギウイルスと心筋炎の関連性について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、小児科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				