

(様式4)

学位論文の内容の要旨

細 貝 真 弓 印

(学位論文のタイトル)

Genotypic Analysis of Human Cytomegalovirus Resistance to Ganciclovir Using Aqueous Humor of Immunocompetent Patients with Cytomegalovirus Anterior Uveitis

(免疫正常者に発症するサイトメガロウイルス前部ぶどう膜炎の前房水を用いたガンシクロビル耐性遺伝子変異の検索)

(学位論文の要旨)

サイトメガロウイルス (CMV) は、多くの成人に不顕性に潜伏感染し、免疫不全状態などで再活性化して日和見感染症をきたす。ガンシクロビル (GCV) やプロドラッグであるバルガンシクロビルを中心とした抗CMV療法は、CMV感染症の予後を改善させた一方で、数～38%にGCV耐性CMVの検出が報告されている。GCVはCMVのUL97 (リン酸化酵素) でリン酸化され、UL54 (DNA合成酵素) を阻害してCMVの増殖を抑制するため、これらの遺伝子異常はGCV耐性に関与する。従来は、患者検体からCMVを分離してGCV感受性を測定していたが、近年は、UL97とUL54領域のDNAシーケンス法でGCV耐性に関与する遺伝子変異が解析されている。免疫不全者の血液や尿を用いたデータが多くを占めるが、CMV網膜炎で硝子体液や前房水などの眼内液からGCV耐性CMVが検出されたという報告もわずかにある。

近年、眼科領域では、「免疫正常者」の前部ぶどう膜炎にCMVが関わることが明らかとなり注目されている。虹彩毛様体炎、眼圧上昇、角膜内皮細胞密度の減少を含む臨床症状に加え、PCRで前房水からCMVを検出することで診断する。病態は不明で、標準的治療法は確立されていないが、前房水中CMVコピー数と臨床所見の重症度が相関することから、GCV療法の有用性が報告されている。慢性・再発性であるため長期間のGCV療法が必要だが、本疾患におけるGCV耐性については不明である。そこで今回、GCV療法前とGCV療法中に採取した前房水を用いて、CMV UL97とUL54の遺伝子型解析を試み、GCV耐性に関与する変異の有無と臨床経過を検討した。

10例の臨床経過を後ろ向きに検討し、臨床所見と前房水中CMVコピー数の増減より、GCV療法への反応性を判定した。診断後すぐに全例でGCV点眼 (9例: 0.5%GCV点眼、1例: 0.15%GCVゲル [Virgan®]) が開始され、0.5%GCV点眼による維持療法を受けた。そのうち2例はバルガンシ

クロビル内服を、1例はGCV硝子体内注射を併用していた。診断時とGCV療法中に採取された前房水は合計27検体で、診断時の平均CMVコピー数は、 2.62×10^6 コピー/mL ($4.72 \times 10^2 \sim 2.09 \times 10^7$ コピー/mL) だった。8例はGCV療法に対する反応が良好で、特にこのうち3例は、0.5%GCV点眼の継続によって、それぞれ点眼開始2、3、11ヶ月後に前房水からCMVが検出されなくなった。一方、2例はGCV点眼を開始後も前房水中CMVコピー数が低下せず、1例は進行性に角膜内皮細胞密度が低下し、1例は眼圧が下降せず緑内障手術（線維柱帯切除術）を要した。

GCV療法開始後に前房水からCMVが検出されなかった3例の4検体を除く23検体を用いて、CMV UL97とUL54の遺伝子解析を試みた。UL97は18検体（78.2%）、UL54は19検体（82.6%）がPCRで増幅され、これらのPCR産物すべてからABI 3130xl Genetic Analyzerで塩基配列データ得ることができた。文献的にGCV耐性に関わるとされる変異はなかったが、全ての検体のUL97とUL54に、GCV感受性に関与しない変異（多型）、もしくは未報告の変異が検出された。

UL97の解析では、全例の全検体に D605E変異が検出された。D605E変異は、多型と解釈する考えに加え、M460VまたはA594Pと共にGCV耐性に関与することや、免疫正常者で頻度が高く、東アジアのCMVマーカーである可能性も指摘されている。

UL54の解析では、全検体に2つ以上の変異（多型）があり、V355A (n=19, 100%)、A688V (n=19, 100%)、T1122A (n=17, 89.5%) が高頻度でみられた。GCV点眼療法への反応が不良であった2例の検体からT691S変異が検出された。T691S変異も多型と考えられているが、他の変異と共にGCV耐性へ関与する可能性が示唆されている。T691Sが検出された2例はGCVの全身投与や硝子体内注射の併用によって臨床所見が改善した可能性は否めないが、T691S変異がGCV感受性に影響を与えた可能性も考えられる。

既報のGCV耐性に関わる変異データは、多くが免疫不全者の血液や尿から分離されたCMVを用いて得られたものである。CMV前部ぶどう膜炎は免疫正常者に発症することから、CMV網膜炎などの日和見感染症とは異なる特殊な病態であると推測されていることや、CMV網膜炎の検討で、血液から検出されたCMV株と異なるGCV耐性CMV株が前房水や硝子体液から検出されたという報告もあり、前房水を用いた免疫正常者におけるCMV前部ぶどう膜炎の検討では、既報のデータを参照とした結果の解釈に注意を要すると考える。CMV前部ぶどう膜炎では、前房水からのCMV分離や、血液からCMV抗原・ゲノムが検出されたという報告はないため、本研究のような前房水を用いた遺伝子解析によるデータの蓄積が求められる。

今回、免疫正常者におけるCMV前部ぶどう膜炎の微量な前房水を用いて、GCV耐性変異CMV株の有無を検索することができた。この手法は、難治症例の補助診断や病態解明の一助となりうると考える。