



Immunological and PCR analyses for Borna Disease Virus in psychiatric patients and blood donors

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 福田, 耕嗣 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1168

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 315号	学位授与年月日	平成12年 3月27日
氏 名	福 田 耕 嗣		
論文題目	Immunological and PCR analyses for Borna Disease Virus in psychiatric patients and blood donors (精神神経疾患患者及び献血者におけるボルナ病ウイルスに対する免疫応答と PCR 解析)		

博士(医学) 福田 耕 嗣

論文題目

Immunological and PCR analyses for Borna Disease Virus in psychiatric patients and blood donors

(精神神経疾患患者及び献血者におけるボルナ病ウイルスに対する免疫応答とPCR解析)

論文の内容の要旨

〔目的〕

ボルナ病ウイルス(BDV)は神経向性のRNAウイルスである。気分障害や精神分裂病などの精神疾患に罹患している患者では、健常人に比しBDVの感染率が高いと言われてきた。このことから、精神疾患とBDV感染の関連性に大きな関心が寄せられているが、その一方で、精神疾患へのBDV感染の関与を否定する報告も見られる。このような相違の多くは、研究に用いたBDVの検出方法やその感度の違いによると考えられる。そこで、本研究は抗BDV抗体とBDV RNA保有の有無を調べるとともに、これまでに検討されたことのない、BDVに対する末梢血T細胞増殖反応を併せて評価し、精神疾患とBDV感染の関連性について検討した。

〔対象〕

対象は気分障害者49例、精神分裂病者48例、献血者(コントロール)49例である。

〔方法〕

BDV特異的抗原蛋白(p40、p24)を精製し、この精製蛋白を以下の検討に供した。

T細胞増殖反応：末梢血単核球細胞(PBMC)を精製抗原とともに培養した後、トリチウム・サイミジンの取り込み(CPM)を測定した。抗原とともに培養したPBMCのCPMを、抗原を加えず培養したPBMCのCPMで除したものを刺激指数(SI)とし、SIが4以上を陽性と判定した。

抗BDV抗体：ウェスタンブロット法を用いて血清を精製抗原と反応させ、反応が陽性であったものについて抗体価を求めた。また反応した抗体のBDV特異性を阻害試験により確認した。

p24 RNAの検出：Nested RT-PCR法によりPBMC中のBDVを増幅し、サザンブロット法でp24遺伝子を検出した。少なくとも2回以上検出され、かつ、RNA依存性が確認されたものを陽性とした。

〔結果〕

T細胞増殖反応：p40とp24の双方に対しT細胞増殖反応を示したものは、気分障害で6%、精神分裂病では4%、献血者では2%であった。p40のみに対してT細胞増殖反応を示したものは気分障害者で8%、精神分裂病者で6%、献血者で12%であり、また、p24のみに対してT細胞増殖反応を示したものは気分障害者で20%、精神分裂病者で10%、献血者で12%であった。いずれの場合にも気分障害者、精神分裂病者、献血者の3群間に有意差は認められなかった。

抗BDV抗体：p40とp24の双方に対する抗体保有者は、気分障害者、精神分裂病者、献血者のいずれでも認められなかった。抗p40抗体保有者は気分障害者の2%に認められたが、精神分裂病者と献血者には認められなかった。抗p24抗体保有者は気分障害者の2%、精神分裂病者の8%に認められたが、献血者には認められなかった。いずれの場合の抗体保有率も、気分障害者、精神分裂病者、献血者の3群間で

有意差はなかった。抗BDV抗体が陽性であった気分障害の2例(抗p40抗体陽性が1例、抗p24抗体陽性が1例)と精神分裂病の1例(抗p24抗体陽性)では、T細胞増殖反応も陽性であった。

P24 RNAの検出：p24RNAは気分障害の3%に認められたが、これらではp40とp24のいずれに対するT細胞増殖反応も抗体も陰性であった。p24RNAは精神分裂病者と献血者には認められなかった。

〔考察〕

われわれが用いたいずれの検査法においても、気分障害者、精神分裂病者、献血者の3群間で有意差がなかった。この結果は、BDV RNAの陽性率から気分障害者や精神分裂病者におけるBDV感染の特異性を否定した、先のわれわれの報告と矛盾しない。しかし、抗BDV抗体とT細胞増殖反応の双方が陽性であった気分障害2例と精神分裂病1例ではBDV感染の既往が強く示唆され、したがって、精神疾患の病因としてのBDV感染既往の関与については必ずしも否定できない。今後は死後脳を対象としたBDVの検索が必要と思われる。

論文審査の結果の要旨

ボルナ病ウイルス(BDV)は、18世紀後半にドイツで発生したウマに散発性の進行性脳炎をもたらすボルナ病の原因RNAウイルスである。BDVは鳥類から哺乳類まで、幅広い宿主域を示し、ヒトにも感染することが指摘されている。特に、精神分裂病や気分障害などの精神疾患患者において抗BDV抗体が高率に検出されることが報告されており、精神疾患とBDV感染の関連性に大きな関心が寄せられている。しかしながら、この関連性を否定する報告もあり、BDV感染の精神疾患への関与は未だ明らかでない。申請者らは、気分障害と精神分裂病の患者において、抗BDV抗体を厳密な方法で検出し、更に、BDV RNAの検出、および、BDVに対する末梢血T細胞増殖性反応を併せて評価することにより、BDV感染と精神疾患の関連性を詳細に検討した。

気分障害者49例、精神分裂病者48例、献血者49例を対象とした。組換えBDV特異的蛋白抗原(p40、p24)をGST融合蛋白として作製、精製し、以下の研究に供した。(1)抗体の検出：ウエスタンブロット法により、被検血清のp40、p24に対する抗体の検出および抗体価の測定を行った。また、陽性血清に関しては、阻害試験を行い、抗体の特異性を確認した。(2)T細胞増殖性反応：末梢血単核細胞をp40またはp24と共に6日間培養、³H-TdRの取り込みを測定した。刺激指数(SI)が4以上を陽性と判定した。また、(3)BDV由来p24 RNAの検出を末梢血単核球を対象として、nested RT-PCR法によって行った。陽性バンドの検出はサザンブロット法により行った。得られた主な結果は以下の通りである。

(1)抗p40、p24抗体：阻害試験を採用した厳密な検討の結果、抗p40抗体陽性者は気分障害者の2%に認められたが、精神分裂病者と献血者には認められなかった。抗p24抗体陽性者は気分障害者の2%、精神分裂病者の8%に認められたが、献血者には認められなかった。また、p40とp24の両者に対する抗体陽性者はいずれの群でも認められなかった。(2)T細胞増殖性反応：p40に対しては気分障害者で8%、精神分裂病者で6%、献血者で12%が陽性反応を示した。P24に陽性のものは、気分障害者で20%、精神分裂病者で10%、献血者で12%であった。また、p40とp24の両者に対して陽性のものは、気分障害者で6%、精神分裂病者で4%、献血者で2%であった。何れの場合にも3群間で有意差は認めなかった。(3)p24 RNAは気分障害者の3%に認められたが、精神分裂病者と献血者には認められなかった。

以上、行ったいずれの検査法においても、気分障害者、精神分裂病者、献血者の3群間で有意差がなかったことにより、申請者はBDV感染の気分障害、精神分裂病への関与は一般に否定的であることを示唆した。しかしながら、気分障害2例と精神分裂病1例では、抗BDV抗体とT細胞増殖性反応の両者が陽性であり、特定の患者においては、病因としてBDV感染が関与する可能性は否定できなかった。

審査委員会では、抗体の検出を阻害試験を用いて厳格に行った点、これまで検討されることがないT細胞増殖性反応を採用し、抗体の検出、ウイルスRNAの検出と併せて、精神神経疾患とBDV感染の関連を詳細に検討した点を高く評価した。

以上の研究に対し、審査委員会では以下の質疑を行った。

- 1) 気分障害の定義は
- 2) SDS-PAGEでp24が5本のバンドに分離する理由は
- 3) ウエスタンブロット法による抗p40および抗p24抗体の検出で非特異的反応が認められる理由は
- 4) ウエスタンブロット法における阻害試験の条件は
- 5) 阻害試験に使った抗原は抗体を作ったものと同じか
- 6) ウエスタンブロット法で検出できない抗BDV抗体の存在する可能性について
- 7) BDV由来p24 RNAの検出に末梢単核球を用いたことの妥当性は
- 8) RT-PCRの方法について
- 9) nested RT-PCRによるp24 RNAの検出における再現性について
- 10) サザンブロット法で用いたプローブおよびその標識について
- 11) T細胞増殖性反応において反応するT細胞亜集団はどれか
- 12) T細胞増殖性反応で刺激指数4以上を陽性とした根拠は
- 13) BDV抗原に対するT細胞増殖性反応は何を意味するのか
- 14) T細胞増殖性反応の再現性について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 小 出 幸 夫

副査 筒 井 祥 博 副査 佐 藤 康 二