HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	免疫不全者における新型コロナウイルス感染症の持続感染および薬剤耐性化に関するリバーストランスレーショナル研究
Author(s)	市川, 貴也
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16879号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16879
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99724
Type	doctoral thesis
File Information	ICHIKAWA_Takaya_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏 名　市川　貴也

学 位 論 文 題 名

免疫不全者における新型コロナウイルス感染症の持続感染および薬剤耐性化に関する
リバーストランスレーショナル研究
(Reverse translational research on prolonged infection and antiviral resistance
of SARS-CoV-2 infection in immunocompromised individuals)

【背景と目的】
血液悪性腫瘍患者をはじめとした免疫不全者にとって、新型コロナウイルス感染症（Coronavirus Disease 2019：COVID-19）は依然として脅威な感染症である。パンデミックの初期と比べると重症化率や死亡率は低下傾向にはあるものの、最近では持続感染が免疫不全者の間で問題となっている。持続感染とは、COVID-19 を発症してから数週間経過しても感染性ウイルスが体内に残存している状態を指し、抗ウイルス薬に対して治療抵抗性を示すような症例も報告されている。そのような患者に対して、隔離をいつまで継続すべきか、どのように治療をするべきか等について、未だエビデンスは不足しており明確なコンセンサスは得られていない。そこでまず、血液悪性腫瘍患者を対象として COVID-19 罹患後の鼻咽頭スワブ検体を採取し、持続感染の実態調査を試みた（第一章）。次に、自験例などから薬剤耐性化のリスクが示唆されたことを受け、種々の免疫抑制疾患を持つ患者から抗ウイルス薬投与後の検体を収集し、次世代シーケンサーを用いて耐性変異解析を行った（第二章）。さらに、持続感染の病態メカニズムの解明と効果的な治療アプローチの検証を目的として、免疫不全マウスを用いた持続感染動物モデルの樹立を行い、持続感染患者の治療法開発に資する研究を行なった（第三章）。
【材料と方法】
第一章：2022 年 7 月～2022 年 12 月の間に市立札幌病院または札幌厚生病院で COVID-19 の診断を受けた血液悪性腫瘍患者を対象とした。研究参加の同意を得られた患者 26 名について、発症後 21 日目～28 日目時点で鼻咽頭スワブ検体を回収し、PCR 検査ならびにウイルス分離検査を実施した。また、発症から 4～6 週間経過後に採取された血清を用いて中和試験を行った。
第二章：2022 年 1 月～2024 年 5 月の間に、国内 5 施設で COVID-19 の診断を受けた免疫抑制疾患を有する患者のうち、レムデシビル（RDV）の投与を受けた等の参加条件を満たした者を対象とした。参加登録された 15 名について、RDV 投与前後に鼻咽頭スワブ検体を採取し、Illumina Miseq を用いたディープシーケンスにより RDV 耐性化に関わる領域（nsp12 遺伝子）の変異解析を行った。患者は、免疫抑制の程度に基づき、重症免疫不全（Severely）群と非重症免疫不全（Non-severely）群とに分類され、耐性ウイルス出現頻度との関連性などを調査した。また、臨床検体から同定された変異を有する組換えウイルスを作製し、それら変異ウイルスの増殖能や RDV 感受性を評価した。
第三章：免疫正常の BALB/cAJcl（BALB/c）、 T 細胞のみが欠損している BALB/cAJcl-*nu/nu*（nude）、および T 細胞と B 細胞の両者が欠損している C.B-17/Icr-*scid/scid*Jcl（SCID）を用意し、マウス馴化ウイルスである SARS-CoV-2 MA10 を感染させ、長期感染実験を行った。21 日間の体重測定を行い、感染後 4、7、14、21、56 日目には安楽殺をして肺を回収した。肺組織のウイルス感染価の測定し、さらに Nanopore システムによるウイルス全ゲノムのディープシーケンス解析を行った。肺組織をトランスクリプトーム

解析に供し、感染経過中における宿主遺伝子の発現動態を評価した。また、樹立された持続感染モデルを用いて、RDV および中和抗体薬であるチキサゲビマブ（Tix）の治療効果を検証した。

【結果】

第一章：COVID-19 発症後 21 日目以降において、65.4%（17/26）が PCR 陽性であり、19.2%（5/26）でウイルス分離が可能であった。ウイルス分離陽性者は全例が悪性リンパ腫であり、血中 CD4 陽性 T 細胞数が PCR 陰性の患者よりも有意に低かった。原疾患による偏りを排除するために、ウイルス分離陰性者からも悪性リンパ腫のみ抽出して過去の化学療法歴を比較したところ、抗 CD20 抗体薬とベンダムスチンの投与が持続感染のリスクとなることが示された。また、ベンダムスチン投与ありの患者では、投与なしの患者と比較して中和抗体産生能が有意に低下していた。

第二章：研究登録された患者から採取された鼻咽頭スワブ検体中に含まれるウイルスに対して nsp12 遺伝子の変異解析を行った結果、7 種類の変異（V792I、M794I、E796D、E796K、C799F、C799Y、T803I）が同定された。これらの変異は Severely 群でより高頻度に認められ、特に M794I および V792I の出現頻度が高かった。さらに、各変異を導入した組換えウイルスを用いた *in vitro* 解析では、すべての変異ウイルスで野生型に比べて増殖効率の低下が認められ、RDV による 50%効果濃度（EC_{50}）は、1.8 倍（T803I）から最大 3.6 倍（V792I）に上昇していた。

第三章：MA10 の長期感染実験の結果、SCID マウスでは 56 dpi まで肺組織内で感染性ウイルスが安定して保持されていた。MA10 感染 SCID マウスでは、感染経過に伴ってウイルスゲノムの多様化が進行し、トランスクリプトーム解析からは、局所的かつ持続的な自然免疫応答の活性化が認められた。この持続感染モデルを用いた治療実験において、RDV を 10 日間投与しても完全なウイルスクリアランスは達成されなかったが、Tix は MA10 に対して予防的にも治療的にも優れた効果を示した。一方、スパイク遺伝子が BA.5 株のものに置換された MA10/S-BA.5 に対しては効果を示さなかった。

【考察】

これまで得られた知見を統合すると、持続感染の成立には B 細胞および T 細胞の双方の機能不全が不可欠であり、なかでも CD4 陽性 T 細胞が中心的な役割を担っていると考えられる。また、免疫抑制が高度であるほど持続感染に発展しやすく、かつ薬剤耐性ウイルス出現のリスクも増大することから、高度免疫不全者に対してはなるべく感染早期に体内ウイルス量を迅速かつ効果的に低下させられるアプローチが重要であると考えられる。さらに、持続感染マウスを用いた治療実験では、中和抗体薬の投与により完全なウイルスクリアランスが達成されており、実臨床において中和抗体療法が持続感染者に対する有力な治療選択肢となりうることが示唆された。

【結論】

本論文では、3 つの研究を通じて免疫不全者に特有の COVID-19 の課題および病態的特性を明らかにしてきた。免疫不全者における COVID-19 の予後改善を目指すには、より合理的な治療戦略の構築に向けた基礎・臨床の双方から質の高い研究の推進が求められる。