

女性研究者支援 研究助成 2018 – 感染症領域 –

研究成果報告書（公表用） <概要>

所 属	名古屋大学医学部附属病院 小児科 医員
氏 名	鳥居 ゆか
研 究 テーマ	川崎病における病原体検索とそのインフラマソーム応答の解析

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は 1 ページにまとめること。（図表、写真などの添付を含む）

【研究目的】川崎病と診断された患児の診断前・診断直後に採取された血清検体から DNA および RNA を抽出して次世代シーケンサーを用いて網羅的に病原体を探索し、同時にインフラマソーム応答の解析を行う。

【研究手法】川崎病症例 12 例の血清からそれぞれの抽出試薬を用いて RNA および DNA を抽出し、RNA・DNA ライブラリーを Hiseq シークエンサー (Illumina)にて解析し、病原体解析パイプライン Pathdet を用いて病原体となり得る RNA ウイルス、DNA ウイルス、細菌・真菌・寄生虫を網羅的に探索した。対照として、健常成人 5 例および非発熱小児 7 例の血清 DNA の解析を行った。

【結果】川崎病 12 例の急性期の血清検体を得た。採取日の平均病日は 2 日であった(発熱した日を病日 1 とする)。いずれの症例からも病原体となり得る RNA ウイルスの配列は検出されなかった。DNA ウイルスの解析では川崎病 12 例中 2 例、非発熱小児 7 例中 2 例でヒトヘルペス 6 型(HHV-6)を検出した。その他アネロウイルス属が川崎病 12 例中 7 例、非発熱小児 7 例中 4 例に検出された。細菌の解析では特定の細菌(属)が 100 万リード中 100 リード以上かつ、細菌ゲノムに照合されたリード数の 1 割以上をみたく細菌について比較してみたところ、川崎病症例では健常性成人や非発熱小児より *Pseudomonas* 属, *Acinetobacter* 属, *Delftia* 属等がより多く検出されていた(図 1.)。

【考察】次世代シーケンスで網羅的に病原体の検索を行ったが、川崎病症例全てに検出され、川崎病以外で検出されない、という川崎病に特異的な病原体は検出されなかった。先行研究でも、私たちと同様、川崎病だけに特異的な病原体はなかった。本研究の結果により、川崎病は特異的な一つの病原体によるものではなく、*Pseudomonas* 属や *Acinetobacter* 属など常在菌叢の血流への侵入が免疫応答を引き起こして発症している可能性が示唆された。現時点ではインフラマソームの応答の解析には至らなかったが、今後これらの細菌とインフラマソームを含む免疫応答に関連する mRNA の発現やサイトカインを同時に解析することで発症機序の解明が期待される。

図1. DNAシーケンス結果 細菌

ID	100万リードあたり細菌に照合したリード数	100万リード中100リード以上かつ細菌ゲノムに照合されたリード数の1割以上をみたく細菌※
KD1	578	<i>Delftia</i> <i>Rhodocyclaceae bacterium Paddy-1</i>
KD2	365	<i>Acinetobacter soli</i>
KD3	110	NA
KD4	313	NA
KD5	1867	<i>Delftia acidovorans</i> <i>Pseudomonas kribbensis</i>
KD6	239	NA
KD7	663	<i>Pseudomonas</i> <i>Roseomonas</i> sp. FDAARGOS_362
KD8	221	<i>Acinetobacter soli</i>
KD9	385	<i>Acinetobacter soli</i>
KD10	2047	<i>Acinetobacter soli</i> <i>Pseudomonas kribbensis</i>
KD11	195	NA
KD12	57	NA
HC1	181	NA
HC2	621	NA
HC3	45	NA
HC4	190	<i>Pseudomonas</i>
HC5	228	NA
AC1	428	NA
AC2	1110	NA
AC3	350	NA
AC4	812	<i>Staphylococcus</i>
AC5	257	NA
AC6	364	<i>Delftia acidovorans</i>
AC7	199	NA

KD:川崎病 HC:健常成人 AC:非発熱小児 NA:該当なし
※種まで同定できたものは太字で表記

女性研究者支援 研究助成 2018 – 感染症領域 –
研究成果報告書（最終） <発表実績/予定一覧>

所 属	名古屋大学医学部附属病院 小児科 医員
氏 名	鳥居 ゆか

1. 論文発表実績	
<ul style="list-style-type: none"> ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。 ・ 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無について記入する。なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。 ・ 国内外雑誌を問わない。 ・ 印刷中は in press と記入、学会のアブストラクトおよび投稿中の論文は含めない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 	
1	Kidokoro H, Shiraki A, <u>Torii Y</u> , Tanaka M, Yamamoto H, Kurahashi H, Maruyama K, Okumura A, Natsume J, Ito Y. MRI findings in children with congenital cytomegalovirus infection retrospectively diagnosed with dried umbilical cord. <i>Neuroradiology</i> . doi: 10.1007/s00234-020-02603-9. Online ahead of print. Nov 17. 2020.査読有
2	Takeuchi S, Kawada JI, Horiba K, Yamaguchi M, Okumura T, Suzuki T, <u>Torii Y</u> , Kawabe S, Wada S, Ikeyama T, Ito Y (2020). Comprehensive Detection of Candidate Pathogens in the Lower Respiratory Tract of Pediatric Patients With Unexpected Cardiopulmonary Deterioration Using Next-Generation Sequencing. <i>Pediatr Crit Care Med</i> . Nov;21(11): e1026-e1030. doi: 10.1097/PCC.0000000000002558. 2020.査読有
3	<u>Torii Y</u> , Horiba K, Hayano S, Kato T, Suzuki T, Kawada JI, Takahashi Y, Kojima S, Okuno Y, Ogi T, Ito Y. Comprehensive pathogen detection in sera of Kawasaki disease patients by high-throughput sequencing: a retrospective exploratory study. <i>BMC Pediatr</i> 20: 482. doi: 10.1186/s12887-020-02380-7. 2020.査読有
4	Kawada JI, Takeuchi S, Imai H, Okumura T, Horiba K, Suzuki T, <u>Torii Y</u> , Yasuda K, Imanaka-Yoshida K, Ito Y. Immune cell infiltration landscapes in pediatric acute myocarditis analyzed by CIBERSORT. <i>J Cardiol</i> . S0914-5087(20)30289-6. 2020. 査読有
5	Suzuki T, Kawada JI, Nishikawa E, <u>Torii Y</u> , Horiba K, Takeuchi S, Okumura T, Muramatsu H, Takahashi Y, Ito Y. Association between graft source and response to live-attenuated vaccination in pediatric hematopoietic stem cell transplantation recipients: a single-center retrospective study. <i>Bone Marrow Transplant</i> . 55(9):1872-1874. 2020. 査読有

6	<p>Kawada JI, Kamiya Y, Sawada A, Iwatsuki K, Izutsu K, <u>Torii Y</u>, Kimura H, Ito Y. Viral DNA loads in various blood components of patients with Epstein-Barr virus-positive T-cell/natural killer cell lymphoproliferative diseases. J Infect Dis. 220(8):1307-1311. 2019. 査読有</p>
7	<p>Takeuchi S, Kawada JI, Horiba K, Okuno Y, Okumura T, Suzuki T, <u>Torii Y</u>, Kawabe S, Wada S, Ikeyama T, Ito Y. Metagenomic analysis using next-generation sequencing of pathogens in bronchoalveolar lavage fluid from pediatric patients with respiratory failure. Sci Rep. 9(1):12909. 2019. 査読有</p>
8	<p><u>Torii Y</u>, Yoshida S, Yanase Y, Mitsui T, Horiba K, Okumura T, Takeuchi S, Suzuki T, Kawada JI, Kotani T, Yamashita M, Ito Y. Serological screening of immunoglobulin M and immunoglobulin G during pregnancy for predicting congenital cytomegalovirus infection. BMC Pregnancy Childbirth. 19(1):205. 2019. 査読有</p>

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 国内外を問わない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2020年11月7日	第52回小児感染症学会学術集会、 <u>鳥居ゆか</u> 、川田潤一、山口慎、奥村俊彦、鈴木高子、伊藤嘉規、次世代シーケンスによるけいれん重積型（二相性）急性脳症の血清及び髄液エクソソームマイクロRNA解析
2	2020年8月21日	第123回日本小児科学会学術集会、 <u>鳥居ゆか</u> 、堀場千尋、早野聡、加藤太一、鈴木高子、川田潤一、高橋義行、小島勢二、伊藤嘉規、川崎病症例における血清中微生物メタゲノム解析
3	2020年8月19日	第94回日本感染症学会学術集会、奥村俊彦、堀場千尋、武内俊、鈴木高子、 <u>鳥居ゆか</u> 、川田潤一、伊藤嘉規、肝移植後免疫抑制状態における血清中マイクロバイオームダイナミズムの解析
4	2019年10月26日	第51回日本小児感染症学会総会・学術集会、武内俊、川田潤一、堀場千尋、奥野友介、鈴木高子、 <u>鳥居ゆか</u> 、河邊慎司、和田翔、池山貴也、伊藤嘉規、次世代シーケンス法による小児呼吸不全患者の気管支肺胞洗浄液からの
5	2019年10月26日	第51回日本小児感染症学会総会・学術集会、堀場千尋、 <u>鳥居ゆか</u> 、原雄一郎、嶋田繭子、鈴木高子、武内俊、奥村俊彦、川田潤一、村松秀城、高橋義行、荻朋男、伊藤嘉規、小児発熱性好中球減少症における次世代シーケンス
6	2019年10月26日	第51回日本小児感染症学会総会・学術集会、 <u>鳥居ゆか</u> 、吉田茂、柳瀬陽一郎、三井崇、堀場千尋、奥村俊彦、武内俊、鈴木高子、川田潤一、小谷友美、山下守、伊藤嘉規、妊婦における抗サイトメガロウイルス抗体スクリーニングの有用性
7	2019年10月26日	第51回日本小児感染症学会総会・学術集会、奥村俊彦、堀場千尋、亀井秀弥、武内俊、鈴木高子、 <u>鳥居ゆか</u> 、川田潤一、小倉靖弘、荻朋男、伊藤嘉規則、肝移植後免疫抑制状態における血液中微生物ゲノム分布ダイナミズムの解
8	2019年4月19日	第122回日本小児科学会学術集会、武内俊、川田潤一、奥村俊彦、堀場千尋、鈴木高子、 <u>鳥居ゆか</u> 、安田和志、沼口敦、加藤太一、伊藤嘉規、次世代シーケンスを用いた急性心筋炎患者の血清検体からの網羅的病原体検出
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2020年10月	Torii Y, Yamaguchi M, Okumura T, Suzuki T, Horiba K, Kawada JI, Ito Y, MicroRNA expression profiling of cerebrospinal fluid /serum exosomes in Human herpesvirus 6 encephalitis/encephalopathy children by high-throughput sequencing, Journal of NeuroVirology (投稿中)

