

厚生科学研究費補助金（厚生省科学特別研究事業）  
分担研究報告書

インフルエンザウイルスによる急性壊死性脳症の剖検に関する研究

研究協力者 豊田 哲也 久留米大学医学部ウイルス学講座教授

研究要旨 インフルエンザ感染に関連すると考えられ、臨床的に急性壊死性脳症を呈した症例を報告した。発熱、感冒様症状から意識障害までの経過が 2 日以内と急性の経過をとった。脳幹・小脳へのインフルエンザウイルスの感染は証明できなかったが、脳の変化は急性の浮腫、出血などで炎症細胞浸潤は軽度であった。

A. 研究目的

インフルエンザウイルス感染に関連する小児の脳炎・脳症の病態と原因の解明を行うことを目的とする。

B. 研究方法

図 1 の方法で九州地域の症例を集め、以下の 3 点について解析を行う。

1. インフルエンザウイルス感染に関連し死亡した症例の剖検。
2. 患者体内（主に末梢血リンパ球、髄液）からの RT-PCR によるウイルスゲノムの検出。
3. インフルエンザウイルス感染者の遺伝子の比較（まずは HLA 型を決定する）。

（倫理面への配慮）

HLA の測定に関しては各臨床医から、患児の保護者（親）に対して説明を行い、文書による同意を得てから採血した。さらに、HLA 型測定用のサンプルと患者個人の認識ができないように全て、記号により識別を行った。

（久留米大学医学部倫理委員会研究番号 9932）

C. 研究結果

1 歳、女児。午前 9 時頃、40℃の発熱、咳

嗽出現し、同日急患センター受診。翌日、昼過ぎに近医受診。体幹に点状出血を軽度認めるも活発。19 時、顔色不良、体のふるえを認め、42℃の発熱のため、急患センター再受診。そのまま、帰宅。21 時 55 分頃から、嘔吐出現。翌日、午前 6 時 15 分頃、チアノーゼ出現。6 時 20 分、心停止に気づき、A 病院へ担送され、蘇生術を施行するも反応なく、午前 7 時 41 分死亡。

発症当日の採血では異常所見なし。死亡時採採取の咽頭ぬぐい液では、迅速 A 型インフルエンザ診断キットにて陽性。剖検時採取した咽頭ぬぐい液・鼻腔洗浄液の RT-PCR にて、H1 型の HA 遺伝子を検出した。

頭部 CT および剖検の肉眼所見（図 2）、脳病理所見、免疫組織化学所見（図 3）は各図の説明を参照。臨床診断は、急性壊死性脳症 acute necrotizing encephalopathy であった。肺は、肺胞壁の肥厚、炎症細胞浸潤からなる間質性肺炎の像を呈した。

また、久留米大学医学部ウイルス学講座のホームページにインフルエンザ脳炎研究会の案内をおき、本研究班（平成 12 年度厚生科学研究・インフルエンザの臨床経過中に発生する脳炎・脳症の疫学及び病態に関する研究

厚生科学研究費補助金（厚生省科学特別研究事業）  
分担研究報告書

班)の資料を公開している。

<http://www.med.kurume-u.ac.jp/med/virol/index.html>

#### D. 考察

インフルエンザウイルス感染で、肺からウイルスが全身拡散していく過程でいくつかの障壁が存在する。第一の関門は、気管上皮からリンパ/血液に至るもので比較的弱い障壁と考えられる。第二の障壁は網内系にあり、これを突破して全身に伝播することはほとんどないと考えられている。そして最後は、血液脳関門を介して中枢神経内に至る障壁である。本症例では、脳の病変部においてインフルエンザウイルスが増殖したという確証は得られてはいない。したがって、ウイルスの増殖以外の要因が病因と考えられ、サイトカイン、凝固因子、アナフィラトキシンなどの関与が推定できる。そして、インフルエンザウイルス感染に対するこのような液性因子の反応の個人差が、今後、臨床例で系統的に検討されれば、ハイリスク集団の特定が可能になるかもしれない。

本症例は、急速な脳浮腫に与るところが多く、血液脳関門の破綻を来すためであると考えられる。血管内皮、基底膜の上記液性因子に対する反応性の差異などが、比較的まれな本症の発症機転である可能性がある。いずれにしても、最終的な血液脳関門の破綻による脳浮腫に至るまでには、多段階の過程があり、そのどれか、あるいはいくつかを効率的に阻止できれば、本症の発症・進展をくい止めることが出来るかもしれない。

#### E. 結論

インフルエンザウイルス感染によると考えられる急性壊死性脳症の1例を報告し、宿主因子について考察を行った。

この研究は福岡大学医学部第5内科・高橋三津雄・山田達夫、福岡大学医学部病理学第2・坂田則行、健和会大手町病院・池口弘一・森裕美との共同研究である。

#### F. 健康危険情報

インフルエンザウイルス脳炎・脳症発症とHLAとの関連については現在検討中である。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Mitsuo Takahashi, Tatsuo Yamada, Yoshio Nakashita, Hiroaki Saikusa, Masaori Deguchi, Hiroshi Kida, Masato Tashiro and Tetsuya Toyoda. Influenza virus-induced encephalopathy: Clinicopathologic study of an autopsied case. *Pediatr. Int.* 42: 204-214, 2000.

2. Katsuro Tsuji, Koji Toyomasu, Yoshihiro Imamura, Hisao Maeda, and Tetsuya Toyoda. No association of Borna disease virus with psychiatric disorders among patients in Northern Kyushu, Japan. *J. Med. Virol.* 61:336-340, 2000.

Takahito Kashiwagi, Nobuyuki Hamada, Jun Iwashashi, Koyu Hara, Tatsuo Ueda, Hidetaro Noguchi, and Tetsuya Toyoda. Emergence of new influenza A viruses which carry an

厚生科学研究費補助金 (厚生省科学特別研究事業)  
分担研究報告書

escape mutation of the HLA-B27-restricted CTL epitope of NP in Japan. *Microbiol. Immunol.*, 44: 867-870, 2000.

3. Tetsuya Toyoda, Yoshihiro Imamura, Hiroshi Takaku, Takahito Kashiwagi, Koyu Hara, Jun Iwahashi, Yasushi Ohtsu, Naoki Tsumura, Hirohisa Kato, Nobuyuki Hamada. Inhibition of influenza virus replication in cultured cells by RNA-cleaving DNA enzyme. *FEBS Lett.*, 481: 113-116, 2000.

4. M. Hatta, Y. Asano, K. Masunaga, T. Ito, K. Okazaki, T. Toyoda, Y. Kawaoka, A. Ishihama, and H. Kida. Epitope mapping of the influenza A virus RNA polymerase PA using monoclonal antibodies. *Arch. Virol.* 145: 895-903, 2000.

5. M. Hatta, Y. Asano, K. Masunaga, T. Ito, K. Okazaki, T. Toyoda, Y. Kawaoka, A. Ishihama, and H. Kida. Mapping of functional domains on the influenza A virus RNA polymerase PB2 molecule using monoclonal antibodies. *Arch. Virol.* 145: 1947-1961, 2000.

6. T. Toyoda, K. Masunaga, Y. Ohtsu, K. Hara, N. Hamada, T. Kashiwagi, and J. Iwahashi. Antibody-scanning and epitope-tagging methods: Molecular mapping of proteins using antibodies. *Curr. Protein Peptide Sci.* 1: 303-308, 2000.

7. T. Toyoda, S. Kaminaka and T. Kitagawa. Application of ultraviolet resonance Raman spectroscopy on the analysis of bovine enterovirus structure. *Proceedings of The*

XVIIth International Conference on Raman Spectroscopy. Wiley (Shu -Lin Zhang & Bang-fen Zhu eds.) 920-921, 2000.

8. Y. Ohtsu, H. Kato and T. Toyoda. Molecular dissection of influenza virus RNA polymerase: Fine mapping of the influenza virus RNA polymerase subunit binding sites. In 'Options for the control of influenza IV, ICS 1219 (Albert D.M.E. Osterhaus, *et al.* eds.), Elsevier, Amsterdam, in press, 2000.

9. K. Hara, H. Kido and T. Toyoda. Protease activity of influenza virus RNA polymerase PA subunit. In 'Options for the control of influenza IV, ICS 1219 (Albert D.M.E. Osterhaus, *et al.* eds.), Elsevier, Amsterdam, in press, 2000.

10. M. Takahashi, T. Yamada and T. Toyoda. Detection of viral antigens in the encephalopathy brain by influenza A virus. In 'Options for the control of influenza IV, ICS 1219 (Albert D.M.E. Osterhaus, *et al.* eds.), Elsevier, Amsterdam, in press, 2000.

11. Koyu Hara, Mayumi Shiota, Hiroshi Kido, Yasushi Ohtsu, Takahito Kashiwagi, Jun Iwahashi, Nobuyuki Hamada, Kazutoshi Mizoue, Naoki Tsumura, Hirohisa Kato, Tetsuya Toyoda. Influenza virus RNA polymerase PA subunit is a novel serine protease with Ser624 in the active site. *Genes to Cells*, 6: 87-98, 2001.

12. Jun Iwahashi, Katsuro Tsuji, Tetsuya

厚生科学研究費補助金（厚生省科学特別研究事業）  
分担研究報告書

Ishibashi, Junboku Kajiwara, Yoshihiro Imamura, Ryoichi Mori, Koyu Hara, Takahito Kashiwagi, Yasushi Ohtsu, Nobuyuki Hamada, Hisao Maeda, Michiko Toyoda, Tetsuya Toyoda. Isolation of Amantadine-Resistant Influenza A Viruses (H3N2) from Patients Following Administration of Amantadine in Japan. *J. Clinic. Microbiol.* in press, 2001.

14. 豊田哲也 インフルエンザウイルス脳炎・脳症の重症化因子を探る. *日本医事新報*, 3978 : 27-29, 2000

15. 豊田哲也、原 好勇 感染分子機構から見た治療薬開発の方向性、治療学、34号(1号)、44-49, 2000

16. 原 好勇、豊田哲也 抗インフルエンザウイルス薬. *治療学*, 34 : 981-986, 2000

17. 高橋三津雄, 山田達夫, 喜田 宏, 中下誠郎, 七種啓行, 出口雅経, 豊田哲也 インフルエンザ脳症の剖検例. *治療学*, 34 : 105-108, 2000

18. 豊田哲也 再び注目されるインフルエンザウイルス、感染防止、10(7)、1-8(2000)

19. 高橋三津雄, 山田達夫, 中下誠郎, 池口弘一, 豊田哲也 インフルエンザ脳症の病理学は何を教えるか. *小児科診療*, 63 : 2074-2078, 2000

2. 学会発表

1. 大津 寧, 原 好勇, 豊田哲也 インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼの分子解剖 : PA プロテアーゼの解析 サブユニット

結合部位のファインマッピング 第 15 回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム (2000年4月22日~24日, 三島)

2. 原 好勇, 塩田真由美, 木戸 博, 豊田哲也 インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ・PA サブユニットはセリンプロテアーゼ活性を持つ 第 73 回日本生化学会大会 (2000年10月11日~14日, 横浜)

3. 原 好勇, 木戸 博, 豊田哲也 インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ・PA サブユニットのキモトリプシン様プロテアーゼ活性について 第 48 回日本ウイルス学会学術集会 (2000年10月12日~14日, 三重)

4. 大津 寧, 豊田哲也 インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼのサブユニット間結合部位 第 48 回日本ウイルス学会学術集会 (2000年10月12日~14日, 三重)

5. 豊田哲也, インフルエンザウイルス脳炎研究会 インフルエンザウイルス脳炎・脳症の研究 3 第 48 回日本ウイルス学会学術集会 (2000年10月12日~14日, 三重)

6. 高橋三津雄, 池口弘一, 山田達夫, 坂田則行, 豊田哲也 インフルエンザ脳症 (急性壊死性脳症) が疑われる剖検例 第 48 回日本ウイルス学会学術集会 (2000年10月12日~14日, 三重)

7. 原 好勇, 木戸 博, 渡辺 健, 永田恭介, 豊田哲也 インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ・PA サブユニットとマトリックスタンパク M1 との相互作用の解析、第 23 回日本分子生物学会年会 (2000年12月13日~16日, 神戸)

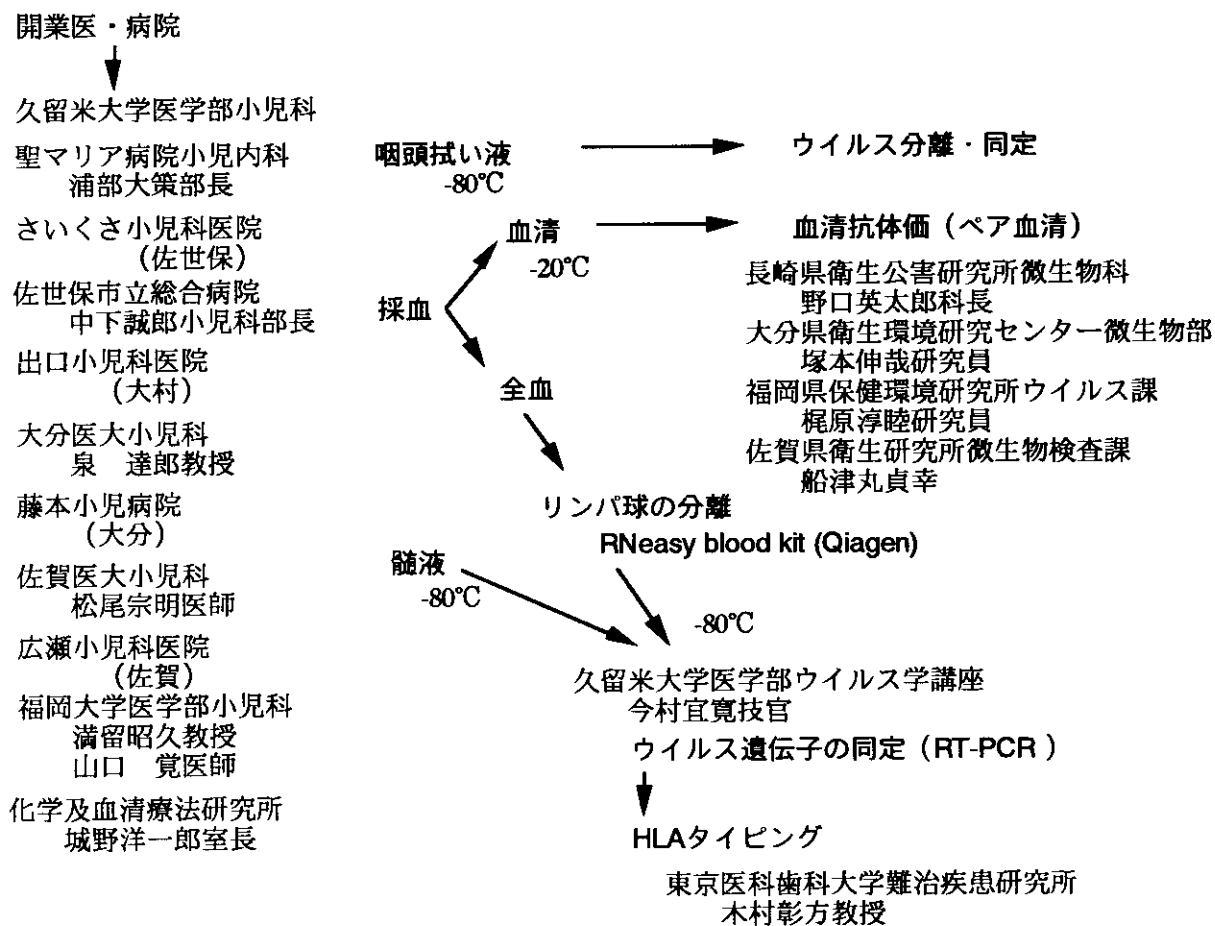


図 1.インフルエンザウイルス脳炎研究会の組織図 (久留米方式)

<http://www.med.kurume-u.ac.jp/med/virol/index.html>

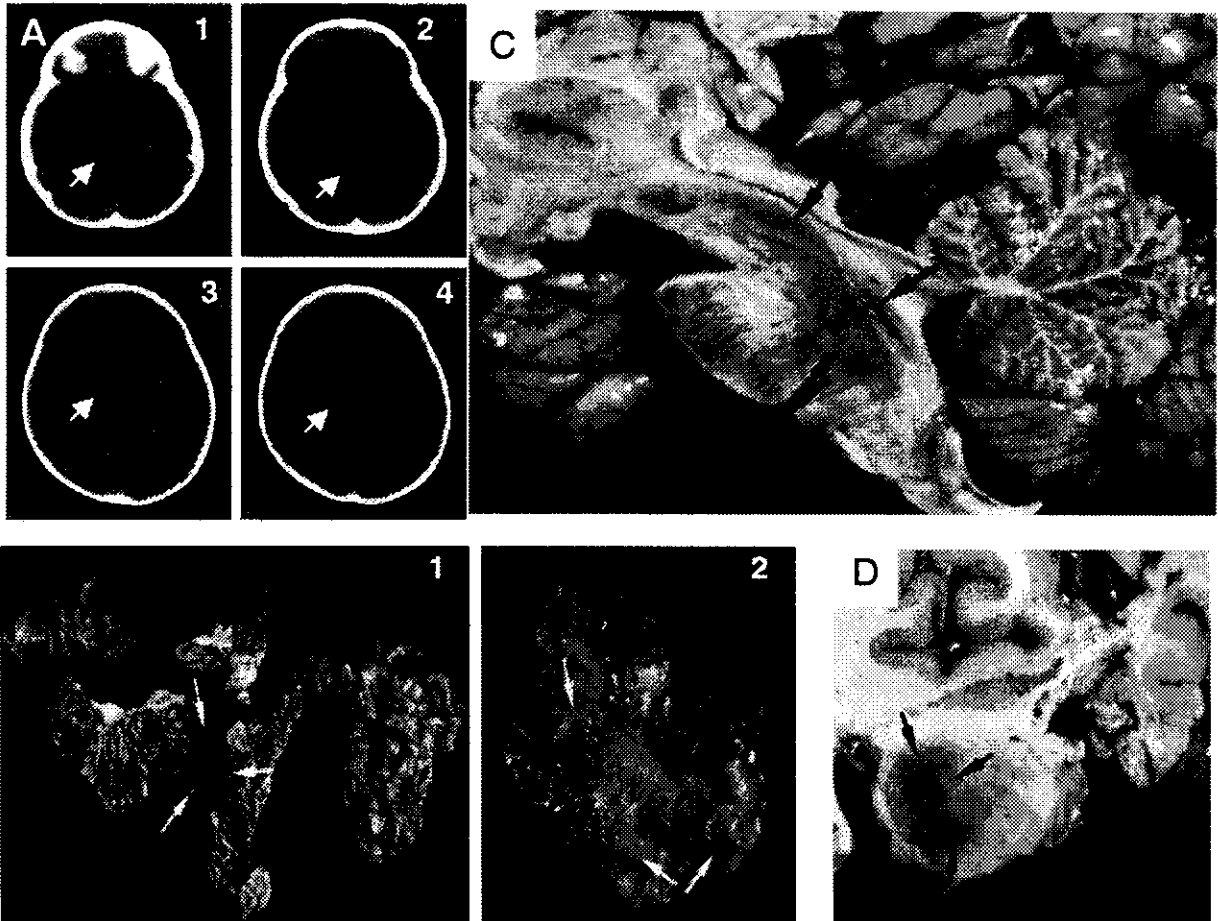


図 3. CT 及び剖検の肉眼的所見 CT 所見は、橋 (A-1) および中脳(A-2)背側部、視床下部 (A-3)、視床 (A-4) に左右対称性の低信号域を認めた。剖検所見では、同部は茶褐色の色調変化を呈し、壊死軟化病変が疑われた。大脳深部白質に微小出血を散在性に認めた (C および D)。腸管ではリンパ球形成 (B-1)、腸間膜リンパ節腫大を認めた (B-2)。

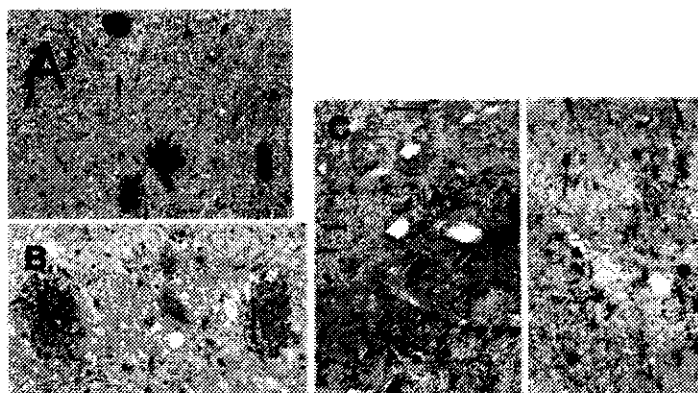


図 4.剖検の顕微鏡的所見とインフルエンザウイルス抗原の検出

病理所見では、CT で低吸収域を呈した脳幹背側部を中心に広範なうっ血と、点状出血巣を認めた (A)。血管周囲腔に lymphocytic cuffing を認めた (B)。抗 PR8(H1N1)抗体による免疫組織化学では、主に神経細胞の細胞質が延髄 (C)、中脳 (D) において陽性像を呈した。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

| 著者氏名                              | 論文タイトル名  | 書籍全体の編集者名       | 書籍名  | 出版社名                  | 出版地        | 出版年  | ページ   |
|-----------------------------------|--|-----------------|--|-----------------------|------------|------|-------|
| Toyoda T, Kaminaka S, Kitagawa T. | Application of ultraviolet resonance Raman spectroscopy on the analysis of bovine enterovirus structure. | Zhang SL, Zhu B | Proceedings of The XVIIth International Conference on Raman Spectroscopy | John Wiley & Sons Ltd | Chichester | 2000 | 920-1 |

雑誌

| 発表者氏名   | 論文タイトル名   | 発表誌名               | 巻名        | ページ     | 出版年  |
|---|---|--------------------|-----------|---------|------|
| Tsuji K, Toyomasu K, Imamura Y, Maeda H, Toyoda T   | No association of Borna disease virus with psychiatric disorders among patients in Northern Kyushu, Japan.                | J Med Virol        | 61        | 336-40  | 2000 |
| Toyoda T, Masunaga K, Ohtsu Y, Hara K, Hamada N, Kashiwagi T, Iwahashi J.                             | Antibody-scanning and epitope-tagging methods; Molecular mapping of proteins using antibodies.                            | Curr Prot Pept Sci | 1         | 303-8   | 2000 |
| Takahashi M, Yamada T, Nakashita Y, Saikusa H, Deguchi M, Kida H, Tashiro M, Toyoda T.                | Influenza virus-induced encephalopathy: Clinicopathologic study of an autopsied case.                                     | Pediatr Int        | 42        | 204-14  | 2000 |
| Kashiwagi T, Hamada N, Iwahashi J, Hara K, Ueda T, Noguchi T, Toyoda T.                               | Emergence of new influenza A viruses which carry an escape mutation of the HLA-B27-restricted CTL epitope of NP in Japan. | Microbiol Immunol  | 44        | 867-70  | 2000 |
| Toyoda T, Imamura Y, Takaku H, Kashiwagi T, Hara K, Iwahashi J, Ohtsu Y, Tsumura N, Kato H, Hamada N. | Inhibition of influenza virus replication in cultured cells by RNA-cleaving DNA enzyme.                                   | FEBS Lett          | 481       | 113-6   | 2000 |
| Hatta M, Asano Y, Masunaga K, Ito T, Okazaki K, Toyoda T, Kawaoka Y, Ishihama A, Kida H.              | Epitope mapping of the influenza A virus RNA polymerase PA using monoclonal antibodies.                                   | Arch Virol         | 145       | 895-903 | 2000 |
| Hatta M, Asano Y, Masunaga K, Ito T, Okazaki K, Toyoda T, Kawaoka Y, Ishihama A, Kida H.              | Mapping of functional domains on the influenza A virus RNA polymerase PB2 molecule using monoclonal antibodies.           | Arch Virol         | 145       | 1947-61 | 2000 |
| 豊田哲也, 原 好勇  | インフルエンザウイルスの分子生物学4 感染分子機構からみた治療薬開発の方向性.   | 治療学                | 34        | 44-9    | 2000 |
| 高橋三津雄, 山田達夫, 喜田宏, 中下誠郎, 七種啓行, 出口雅経, 豊田哲也  | インフルエンザ脳症の剖検例.  | 治療学                | 34        | 105-8   | 2000 |
| 豊田哲也  | インフルエンザウイルス脳炎・脳症の重症化因子を探る.  | 日本医事新報             | 3978      | 27-9    | 2000 |
| 原 好勇, 豊田哲也  | 抗インフルエンザウイルス薬.  | 治療学                | 34        | 981-6   | 2000 |
| 高橋三津雄, 山田達夫, 中下誠郎, 池口弘一, 豊田哲也   | インフルエンザ脳症の病理学は何を教えるか.   | 小児科診療              | 63        | 2074-8  | 2000 |
| 豊田哲也  | 再び注目されるインフルエンザウイルス.   | 感染防止               | 10<br>(7) | 1-8     | 2000 |

インフルエンザ脳炎脳症における Cytochrome C 測定の意義

研究協力者 布井 博幸 熊本大学 助教授

**研究要旨** インフルエンザウイルス感染症で、高熱、熱性痙攣患者と脳炎脳症を伴った 55 症例について初発時および一部においてその経過中の血清を採取した。血管内皮マーカー、サイトカインマーカー、血中 Cytochrome C について脳炎脳症患者とそうでない患者の相関について検討した。結果、血清 Cytochrome C 値は脳炎脳症の初期からその重症度と有意な相関を示した ( $<0.001$ )。他のマーカーについてはインフルエンザ脳炎脳症の症例とそうでない患者との間で有意の相関を得られなかった。このことから、インフルエンザ脳炎脳症では血清 Cytochrome C が早期に検出されること、また apoptosis が誘導されていることを指示していると考えられた。

A. 研究目的

インフルエンザ脳炎脳症の発症機序について、我々は血管内皮マーカーやサイトカインマーカーに加え、apoptosis を誘導する Cytochrome C などを血清で測定することにより検討を加えた。

B. 研究方法

インフルエンザウイルス感染症で、高熱、熱性痙攣患者と脳炎脳症を伴った 55 症例について初発時および一部においてその経過中の血清を採取した。MRI または CT で画像的に脳炎脳症と診断された患者 (Table 1) とそうでないインフルエンザによる高熱および痙攣重責で入院された患者での以下のマーカーの相関について検討した (Table 2)。

インフルエンザウイルス感染症については迅速診断キット (Directigen Flu A; Becton Dickinson, USA または FLU OIA; BIOSTAR, Australia)、血清抗体価の上昇、または咽頭拭い液でのウイルス分離培養により診断した。

血管内皮マーカー、サイトカインマーカーについては以下のキットを用いて測定した。e-selectin; sE-selectin ELISA ver2 (Bender med System), sTM; TM test (Teijin; Teijin Diagnostics), TNF- $\alpha$ ; Human TNF- $\alpha$  Cytoscreen Immunoassay Kit (Bioscience

International), sFas; sFas ELISA Kit (Medical and Biological), sFas-L; sFas Ligand ELISA Kit (MBL), and IL-6 and IL-8; Biotrak IL6 and IL-8 human ELISA system (Amersham Pharmacia). Cytochrome C については我々の開発した ELISA 系を用いた。

C. 研究結果

Table 1: 脳炎脳症患者のプロフィール

| 患者 | 年齢   | 性別 | 臨床分類   | 転帰    | Cytochrome C |             |
|----|------|----|--------|-------|--------------|-------------|
|    |      |    |        |       | 初発           | 経過          |
| 1  | 2y   | F  | HSE    | 死亡    | 42           |             |
| 2  | 3y   | M  | ANE    | 死亡    | 28           |             |
| 3  | 1y   | F  | DOA    | 死亡    | 75           |             |
| 4  | 1y3m | M  | DOA    | 死亡    | 58           |             |
| 5  | 1y8m | F  | Status | 死亡    | 50           | 68, 62, 80  |
| 6  | 3y2m | M  | HSE    | 死亡    | 35           | 98, 66      |
| 7  | 3y2m | F  | Status | 死亡    | 31           | 30          |
| 8  | 7y   | M  | Status | 神経後遺症 | 11           |             |
| 9  | 9y   | M  | Status | 神経後遺症 | 5.8          |             |
| 10 | 1m   | M  | Status | 神経後遺症 | 2.4          | 14, 9, 3    |
| 11 | 5y   | M  | Status | 神経後遺症 | 0            |             |
| 12 | 2y   | M  | ANE    | 寛解    | 32           | 0, 0, 0, 0, |
| 13 | 4y   | M  | ANE    | 寛解    | 1.2          |             |

HSE: Hemorrhagic shock and Encephalopathy



厚生科学研究費補助金（厚生省科学特別研究事業）  
分担研究報告書

DOA : Dead on Arrival

Status: Status Epilepticus

ANE: Acute Narcotizing Encephalopathy

CNS: Central nervous system

Table 2 脳炎脳症患者における  
種々のマーカーの統計的解析

| マーカー       | 正常値             | 脳症<br>有無 | 患者<br>数 | 平均    | 標準<br>偏差 | P<br>value |
|------------|-----------------|----------|---------|-------|----------|------------|
| e-selectin | 20-60<br>ng/ml  | 有        | 13      | 160.1 | 196      | 0.15       |
|            |                 | 無        | 42      | 76.6  | 43.7     |            |
| sTM        | 11-20<br>ng/ml  | 有        | 11      | 18.7  | 18       | 0.23       |
|            |                 | 無        | 27      | 12.0  | 12.3     |            |
| IL-6       | 0-149<br>pg/ml  | 有        | 8       | 62.8  | 108.2    | 0.81       |
|            |                 | 無        | 17      | 49.8  | 156.7    |            |
| IL-8       | 2-16.7<br>pg/ml | 有        | 9       | 260.9 | 342.8    | 0.07       |
|            |                 | 無        | 16      | 17.3  | 16.1     |            |
| s Fas      | 1-3.9<br>ng/ml  | 有        | 8       | 1.5   | 0.5      | 0.82       |
|            |                 | 無        | 29      | 1.4   | 0.8      |            |
| sFas L     | <0.1<br>ng/ml   | 有        | 8       | 0.7   | 1        | 0.23       |
|            |                 | 無        | 29      | 0.2   | 0.2      |            |
| TNF-a      | 0<br>pg./ml     | 有        | 7       | 12.2  | 14.5     | 0.09       |
|            |                 | 無        | 27      | 1.1   | 4        |            |
| Cyto-c     | <0.05<br>ng/ml  | 有        | 13      | 28.6  | 23.8     | <0.001     |
|            |                 | 無        | 42      | 0.3   | 0.7      |            |

血清 Cytochrome C 値は脳炎脳症の初期からその重症度と有意な相関を示した ( $p < 0.001$ ).

e-selectin, sTM, TNF-aは病状に沿って上昇する症例もあったが、インフルエンザ脳炎脳症の症例とそうでない患者との間で有意の相関 ( $p < 0.05$ ) を得られなかった (Table 2).

今回観察した ANE 脳症剖検例の脳、脳幹においては、病変の内外に不規則な形ではある

が、層状の構造が認められた。

病変の外部では、脳表から病変の境界に近づくにしたがい、はじめは動脈のうっ血が、つぎに動脈周囲腔への血漿漏出が見られた。病変の内部では動脈より毛細管のうっ血が目立ち、動静脈・毛細管周囲への出血を伴った。病変の辺縁から中心に向かって組織レベルでは髄鞘の淡明化から軸索の喪失・組織の粗鬆化へと進行した。細胞レベルではオリゴデンドロサイトの腫脹から神経細胞・グリア細胞・血管内皮細胞の壊死へと進んだ。

#### D. 考察

インフルエンザ脳炎脳症では他のサイトカインマーカーや血管内比マーカーより、血清 Cytochrome C 値の有意な上昇が認められた。また、Cytochrome C 値の分子量が小さいので早期に検出されること、また Cytochrome C が apoptosis により細胞内に放出される事が知られていることから、インフルエンザ脳炎脳症では何らかの原因により、apoptosis が誘導されているのではないかと考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Ishibashi F, Nunoi H, Endo F, Matsuda I, Kanegasaki S, Statistical and mutational analysis of chronic granulomatous disease in Japan with special reference to gp91-phox and p22-phox deficiency. Human Genetics. 106, 473-481, 2000
- 2) 吉本寿美, 柳邊安秀, 水上智之, 石

厚生科学研究費補助金 (厚生省科学特別研究事業)  
分担研究報告書

橋史成, 足立尚登, 高木一孝, 布井博幸: Dyskeratosis congenita 患者の遺伝子解析 臨床血液 41: 524-529, 2000

3) 水上智之, 石橋史成, 布井博幸. 慢性肉芽腫症の病因・病態と治療, 小児内科 32, 2032-2035, 2000

4) 布井博幸, 山崎剛: 好中球アクチン機能異常症 (好中球細胞骨格異常症) 日本臨床 領域別症候群シリーズ 32: 146-149, 2000

2. 学会発表

1) 布井博幸他, インフルエンザ脳炎脳症の種々のマーカーについて: 第 32 回日本小児感染症学会 平成 12 年 11 月 26 日 (東京)

2) 布井博幸, Maria Regina Mercado, インフルエンザ脳炎脳症とアポトーシスについて: 第 16 回インフルエンザ研究者交流の会 平成 13 年 1 月 27 日 (沖縄)



# インフルエンザ脳炎・脳症の特殊治療 (試案)

インフルエンザ脳炎・脳症治療研究会  
代表 名古屋大学医学部保健学科 森島恒雄  
治療検討部門責任者 横浜市立大学医学部小児科 横田俊平

インフルエンザ脳炎・脳症治療研究会会員

研究会員

|       |                        |
|-------|------------------------|
| 森島恒雄  | 名古屋大学医学部保健学科           |
| 横田俊平  | 横浜市立大学医学部小児科           |
| 富樫武弘  | 市立札幌病院小児科              |
| 水口 雅  | 自治医科大学小児科              |
| 田代真人  | 国立感染症研究所感染症ウイルス製剤部     |
| 岡部信彦  | 国立感染症研究所感染症情報センター      |
| 奥野良信  | 大阪府立公衆衛生研究所ウイルス部       |
| 宮崎千明  | 福岡市立あゆみ学園              |
| 市山高志  | 山口大学医学部小児科             |
| 岩崎琢也  | 国立感染症研究所感染病理部          |
| 河島尚志  | 東京医科大学小児科              |
| 木村 宏  | 名古屋大学医学部小児科            |
| 栗原まな  | 神奈川県総合リハビリテーションセンター小児科 |
| 黒木春郎  | 千葉大学医学部小児科             |
| 塩見正司  | 大阪市立総合医療センター           |
| 豊田哲也  | 久留米大学医学部ウイルス学          |
| 布井博幸  | 熊本大学医学部小児科             |
| 細矢光亮  | 福島県立医科大学小児科            |
| 渡邊あゆみ | 名古屋大学医学部保健学科           |
| 大槻則行  | 小田原市立病院小児科             |

## 目次

|                           |                            |
|---------------------------|----------------------------|
| 「インフルエンザ脳炎・脳症治療研究会」会員一覧   |                            |
| 序 インフルエンザ脳炎・脳症の特殊治療法（試案）  |                            |
| インフルエンザ脳炎・脳症の病態の段階と治療法の選択 |                            |
| I.                        | 抗ウイルス薬：アマンタジン・・・・・・・・横田 俊平 |
| II.                       | ガンマグロブリン大量療法・・・・・・・・黒木 春郎  |
| III.                      | メチルプレドニゾロン・パルス療法・・・・河島 尚志  |
| IV.                       | アンチトロンビン大量療法・・・・・・・・布井 博幸  |
| V.                        | 脳低体温療法・・・・・・・・大槻 則行        |
| VI.                       | 血漿交換療法・・・・・・・・横田 俊平        |
| VII.                      | リハビリテーション・・・・・・・・栗原 まな     |

## 序：インフルエンザ脳炎・脳症の特殊治療法(試案)

### 【はじめに】

インフルエンザ流行期に急性脳炎・脳症を併発する例があり、1998/99 シーズンには約 200 例、1999/2000 シーズンには約 130 例が報告されました。多くは 5 歳以下の乳幼児で、そのおよそ 1/3 は死の転帰をとり、重大な後遺症を残す例もまれではないことが判明しました。

本症は、急な発熱をみてから当日～翌日に突然のけいれんに始まり、引き続き意識障害を主訴に救急外来へ搬送される例がほとんどで、来院時には意識障害が継続しています。頭部 CT スキャンや MRI などの画像診断が実施された例では脳浮腫を呈しており、Reye 症候群、急性壊死性脳症、出血性ショック脳症などこれまで報告されているインフルエンザ関連中枢神経疾患を示唆する例は多くなく、特異な疾患カテゴリーを形成しています。血液検査所見は発症直後にはほぼ正常に近く、意識障害の持続に伴い AST/LDH の急速な上昇、血小板数の低下、血清クレアチニンや FDP-E の上昇などを認め、DIC と著しい細胞・臓器障害とが急速に進行します。さらに腎不全、肝不全など多臓器障害に至り死の転帰をとるものと思われれます。ただし血中アンモニア上昇と血糖低下を認めることはなく、髄液検査でも細胞増多、蛋白上昇、糖減少などの所見もなく、「脳炎」と呼べるものは少数例に過ぎません。髄液検査にてもウイルスが分離される例はむしろ例外的で、インフルエンザ・ウイルスの中枢神経に対する直接の侵襲は否定的です。「インフルエンザ脳炎・脳症」の病因、病態の解明、治療法の確立は緊急の課題です。

一方、本症に対する有効かつ標準的な治療法はいまだ確立されておらず、模索状態というのが現状です。その予後の重大さと病状の進行の速さを考えると、治療に逡巡があってはなりません。今回、試案としてお示ししますいくつかの治療方法は、その有効性を厳密な検討により確認されたものではなく、また具体的な適応基準すら確定的なものではありません。諸施設においてたまたま経験されたり、現在考えられている病態について他の疾患から類推されて有効性が推定される治療法です。この試案は具体的な方法を中心に記載することにより、緊急時のベットサイドにおいて有用性を発揮できることを目指しています。

この試案は治療法が模索状態にある現状に対して、わずかでも効果の可能性が推察される方法を取り上げたものです。したがってインフルエンザ脳炎・脳症に罹患した患児に対し、ここに掲げた治療方法が施行されなければならない理由はなく、実際の治療はあくまでも主治医の自由な選択に任されていることは言うまでもありません。なお、もしここに取り上げた治療を御使用になられる場合には、研究会に登録戴き、ここに記載した方法に沿って治療を実施し、また結果を御報告戴ければ、より速やかに治療法の評価・確立に生かすことができます。この試案を第一歩として、より有効性の高い治療が生み出され、近い将来「治療指針」が作成されることが本研究会の願いです。

## 【病態の段階と治療法の選択】

\*インフルエンザ脳炎・脳症に対する治療法には、以下に挙げるような一般的な治療および対症的な治療が、適宜患児の状態に応じて先行して行われる。状態によっては呼吸管理を必要とし、即座にICU管理へ移行する例も少なくない。

- 1) 脳浮腫に対する治療
- 2) 抗けいれん対策
- 3) 感染症対策
- 4) 抗凝固・抗血栓療法
- 5) 血小板・赤血球の補充療法

\*インフルエンザ脳炎・脳症は、感染から脳炎・脳症を発症し播種性血管内凝固症候群(DIC)、多臓器不全に至るが、その経緯を次の4段階に分けて考えることができる。

【A】インフルエンザ脳炎・脳症の病態の推移

Phase I : インフルエンザ・ウイルスの感染、増殖

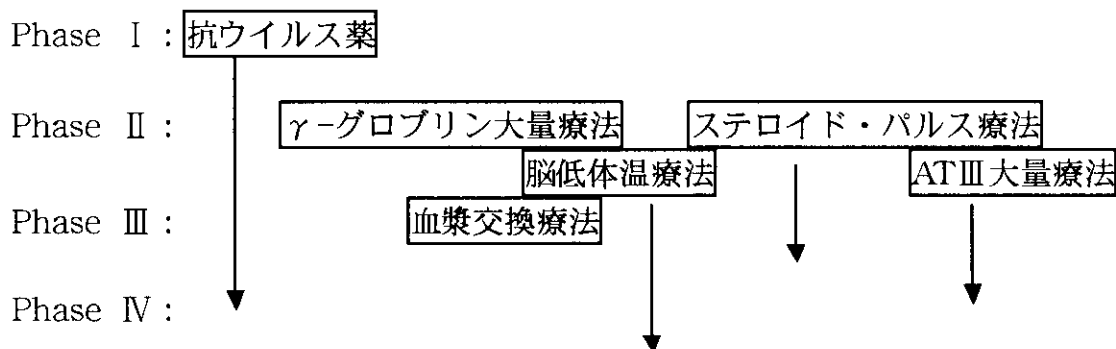
Phase II : 脳炎・脳症の発症

Phase III : 全身症状の悪化、細胞死・組織障害の進行

Phase IV : DIC、多臓器不全

【B】それぞれの段階で用いられる可能性のある治療法

\*経過が急速に進むため治療法の選択は困難であるが、一応の目安を示す。



## 【治療法に関する一般的な注意点】

- \*ステロイドパルス療法を含むステロイド薬の使用は、抗サイトカイン療法、あるいは対活性化マクロファージ療法として有効であると思われる。ただしステロイド薬は凝固能を亢進させる可能性があることに注意を要する。
- \*AST/LDH/CK 上昇や尿中 $\beta 2$ -ミクログロブリンの著増は、全身性炎症反応症候群(SIRS)、ウイルス関連血球貪食症候群(VAHS)などの病態から類推すると、腫瘍壊死因子(TNF $\alpha$ )やインターフェロン $\gamma$ (IFN $\gamma$ )が著増した高サイトカイン血症による病態が推察される。このような状態に対する治療法が、インフルエンザ脳炎・脳症に対しても有効である可能性がある。
- \*不幸にして後遺症を残してしまった患児に対しては、早期よりリハビリテーションによる機能回復訓練を実施する。

## I. 抗ウイルス療法（アマンタジン）

### 【概略】

アマンタジンは、かつて1960年代に抗インフルエンザ効果が報告され、臨床的にも治療効果が実証されていたが、1980年代に至って再評価され、本邦でも1999年冬季よりA型インフルエンザの予防・治療に使用されるようになった。B型インフルエンザには無効である。作用機序は、感染細胞内でのウイルスの脱殻を阻害し、ウイルス増殖を抑制する。厚生省インフルエンザ脳炎・脳症研究班2000年度実施の全国調査では本症の約60%の患児に投与され、有効であったとする主治医の報告が多い。

### 【使用方法】

成人では1日100 mgを2回に分服する。本邦における小児に対する検討は乏しいが、下表のような投与量が推奨されている。

| 年齢    | アマンタジン量*                     |
|-------|------------------------------|
| 0～12歳 | 4～5 mg/kg/日 分2、最大 100 mg/日まで |
| 13歳以降 | 100 mg/日 分2                  |

\*腎機能正常者に対する投与量

（意識障害時には、経鼻胃チューブや注腸による投与が可能です。）

### 【期待される治療効果】

\*アマンタジンは、成人では発病後48時間以内に投与するとインフルエンザ症状を軽症化する効果があり、また発熱に関しては非投薬群に比べて1～2日間の短縮効果がある。投薬期間は3～5日間が標準である。

\*小児ではA型インフルエンザが疑われ、アマンタジンを用いることを決断した場合には、早期に用いることが肝要である。なおアマンタジンに対する耐性ウイルスの発生が憂慮され、また、副作用もあるため使用対象はハイリスク群とすることが望ましく、健康小児への投与は避けるべきであるという意見がある。

\*インフルエンザ脳炎・脳症に対しては、抗ウイルス剤以外の治療法との併用も可能である。具体的には前述の如く保険適用がなされているアマンタジンの投与を実施していく。（具体的効果については次ページ参照）

### 【副作用】

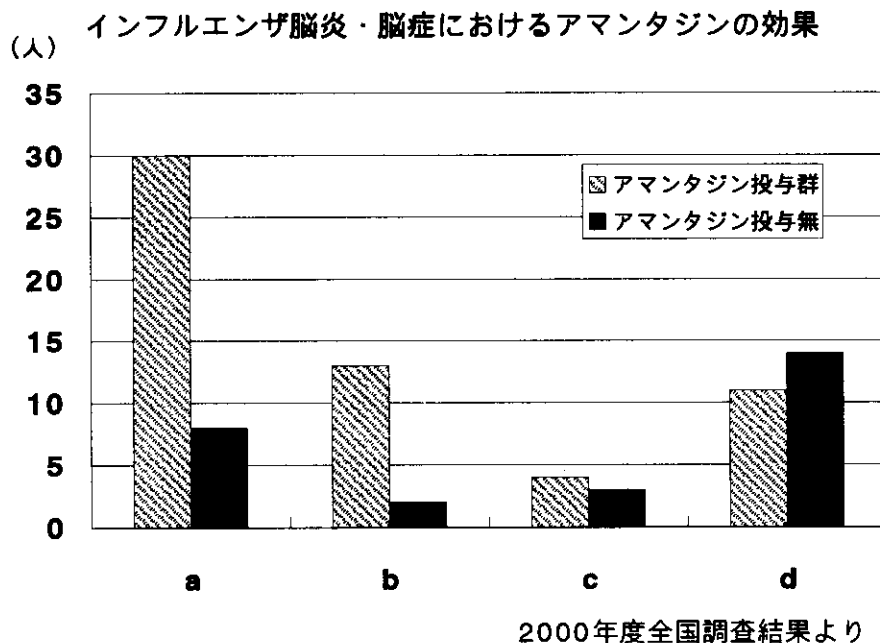
副作用は消化器症状と中枢神経症状が認められる。食欲低下、嘔気、不眠、集中力低下、易疲労感などが経験される。重大な副作用として抑鬱状態、振戦、歩行障害などが報告されているが、短期間の投薬では副作用は少ない。

（横浜市立大学小児科：横田俊平）



### 【アマンタジンの効果】

インフルエンザ脳炎・脳症に対するアマンタジンの効果は不明である。しかし他の治療法とともに、抗ウイルス療法を併用することは理に叶ったことである。1999/2000年インフルエンザ流行シーズンにおいて88例のインフルエンザ脳炎・脳症が集計されたが、本剤の治療効果を解析した結果が下表である（厚生省インフルエンザ脳炎・脳症研究班2000年度報告より）。



(a):後遺症なく治癒、(b):軽度後遺症あり、(c):重度後遺症あり、(d):死亡

表中の(a)および(b)におけるアマンタジン使用例は(c),(d)に比較して多い。このデータは、アマンタジン投与について症例選択のバイアスがなかったと仮定すると、アマンタジン投与により軽症化が図られたと分析できる。

(補足:もしノイラミニダーゼ阻害剤を本症の治療に用いられる場合もご報告いただければ幸いです。)

## II. ガンマグロブリン大量療法

### 【概略】

ガンマグロブリン静注は、川崎病、特発性血小板減少症、低ガンマグロブリン血症への補充療法などに行われる治療法であるが、ここでは、インフルエンザ脳症への治療法の一つとして報告された方法に関して紹介する。作用機序のひとつとして、インフルエンザ脳炎・脳症の病態とされる高サイトカイン血症に対する効果が推察される。

### 【適応】

インフルエンザ脳炎・脳症の発症初期に適応があると思われる。

### 【具体的な方法】

インフルエンザ脳炎・脳症に対する治療法としては  
1g/kg/15hr・点滴持続静注を行う。

#### 1) 投与方法

- \*  $\gamma$ -グロブリン溶液の輸注は、副作用を避けるため、輸液ポンプまたはインフュージョンポンプを用いて、注入速度を一定に保つことが重要である。
- \* 輸注開始当初の 15分間は0.5 ml/min (0.01-0.02 ml/kg/min) の速度で持続静注し、担当医は患児のベッドサイドでアナフィラキシーの有無を観察する。開始後15分後に血圧測定を行うことが望ましい。
- \* その後は 1.0 ml/min の速度で静注を継続する。

#### 2) 他の推奨されている投与方法

- \* 投与速度に関しては各能書では以下のようになっています。  
▽帝人(ベニロン-I®)：投与開始15-30分間は0.01-0.02 ml/kg/min  
異常所見がなければその後0.03-0.06ml/kg/minまで上げて良い。
- ▽吉富製薬(ヴェノグロブリン-II®)：投与開始後1時間は1ml/kg/hr. 以下の速度で行い、不快感がなければその後投与速度を徐々に2ml/kg/hrまで上げて良い。
- \* なお、川崎病に対する $\gamma$ -グロブリン大量療法に関する論文では、2g/kgを約10時間以上(range 8-12hr.)と報告されています。

### 【利点】

- \* 小児科医にとって慣れた治療法であり、患児への侵襲も少ない。
- \* インフルエンザ脳炎・脳症に対する治療法として報告されている血漿交換療法、脳低温療法などの治療法に比べて侵襲が少ない。

### 【欠点】

- \* 血液製剤であるため、未知の感染因子の混入が否定できない。
- \* ヒトの $\gamma$ -グロブリンであるが、抗原感作が起こる可能性がある。
- \* アナフィラキシー・ショック、アレルギー反応の症状を起こしうる。  
(発熱、発疹、咳嗽、顔面蒼白、血圧の低下、ショックなど)
- \* 川崎病などで実施する $\gamma$ -グロブリン 400 mg/kg の点滴持続静注と比して、  
血圧の変動、嘔吐を来しやすいという印象もある。
- \* 保険適応外の治療法である。

### 【実施上の注意点】

- \* 生物製剤である $\gamma$ -グロブリンの利点・欠点について、患児とその家族への  
情報提供は必須である。
- \* 点滴静注時には、担当医はベッドサイドにいて観察を続け、血圧の測定、そ  
の他ショックの際の緊急の対応を準備しておくことが重要である。

### 【参考文献】

- \* 坂田 宏、岡本年男、中村英記. 大量ヒト免疫グロブリン、デキサメサゾン  
およびアマンタジン投与により後遺症なく回復したインフルエンザ脳症の2例.  
小児感染免疫 12: 85-88, 2000
- \* JW Newburger, et al. A Single Intravenous Infusion of Gamma Globulin  
as Compared with Four Infusions in the Therapy of Acute Kawasaki  
Syndrome. N Engl J Med vol.324: No.23 June 6, 1633-1639,  
1991

(千葉大学小児科：黒木春郎)

### Ⅲ. メチルプレドニゾン・パルス療法

#### 【概略】

インフルエンザ脳炎・脳症に対する確立した治療は未だない。しかし経過中に高サイトカイン血症が認められること<sup>1)</sup>、死亡例の骨髄に稀ならず血球貪食像が認められること<sup>2)</sup>、などから、治療法としてメチルプレドニゾンパルス療法の有効性が推察される。

#### 【適応】

インフルエンザ脳炎・脳症の診断がなされた時点で、早期に開始すべき治療法と思われる。具体的には、意識障害の遷延化(>6時間)、頻脈など全身性炎症反応症候群(SIRS)の条件を満たすことが判明した場合、あるいは42℃以上に体温の上昇をみた場合には疫学的に死亡率の上昇が判明しており、このような場合が適応が考えられる。

#### 【具体的な方法】

- \* methylprednisolone(ソルメドロール®) 30 mg/kg(max. 1 g) 1時間以上(一般に2～3時間) かけて持続点滴静注し、効果が認められれば連続3日間継続する。
- \* パルス療法中は、ヘパリン100～150単位/kg/dayを同時に併用する必要があり、活性化部分トロンボプラスチン(APTT)を1.5～2倍に延長した状態で用いる<sup>3)</sup>。
- \* 他の方法として早期超大量療法 (mPSL 30 mg/kgを15分間行い、その後45分休薬し、再び5.4mg/kg/hrを23時間行う)も有用な可能性がある<sup>4)</sup>。
- \* 後療法として経口・静注用ステロイドの使用はパルス療法の反応をみた上で行うが、一般に使用していない。
- \* ステロイド薬の髄注に関しては20～40mg 髄注にて後遺症なく治癒した4例の報告があり<sup>5)</sup>。

#### 【期待される効果】

- \* 脳浮腫の改善
- \* 高サイトカイン血症の改善
- \* 病態としての血球貪食症候群状態の改善

#### 【利点】

- \* 迅速性：静脈ラインが確保できれば即座に実施が可能である。
- \* 簡便性：血漿交換療法や脳低体温療法に比較して、簡便に実施できる。
- \* 再実施：繰り返し行うことができる。
- \* 併用性：他の治療法であるAT III療法、抗ウイルス薬治療、血漿交換療法、脳低体温療法などと併用して実施が可能である。
- \* 脳炎・脳症の早期でも進行期でも実施が可能である。