

表2B. 検査成績

血清Myoglobin (Mb)	1500	ng/ml	心エコー・心電図: 正常
尿 Mb	6260	ng/ml	Ccr 118.4 ml/min
PT	98	%	u-β2-MG 50600 μg/L
APTT	59.9	%	u-NAG 10.8 U/g Crn
Fibrinogen	225	mg/dl	FENa 0.01 %
ATⅢ	100	%	インフルエンザウイルス抗体 (HI)
FDP-DD	500	ng/ml	
Haptoglobin	160	mg/dl	1/17 1/31
CPK isozyme			A型 (H0N1) <10 <10
BB	0	%	A型 (H3N2) <10 x640
MB	1	%	B型 <10 <10
MM	99	%	

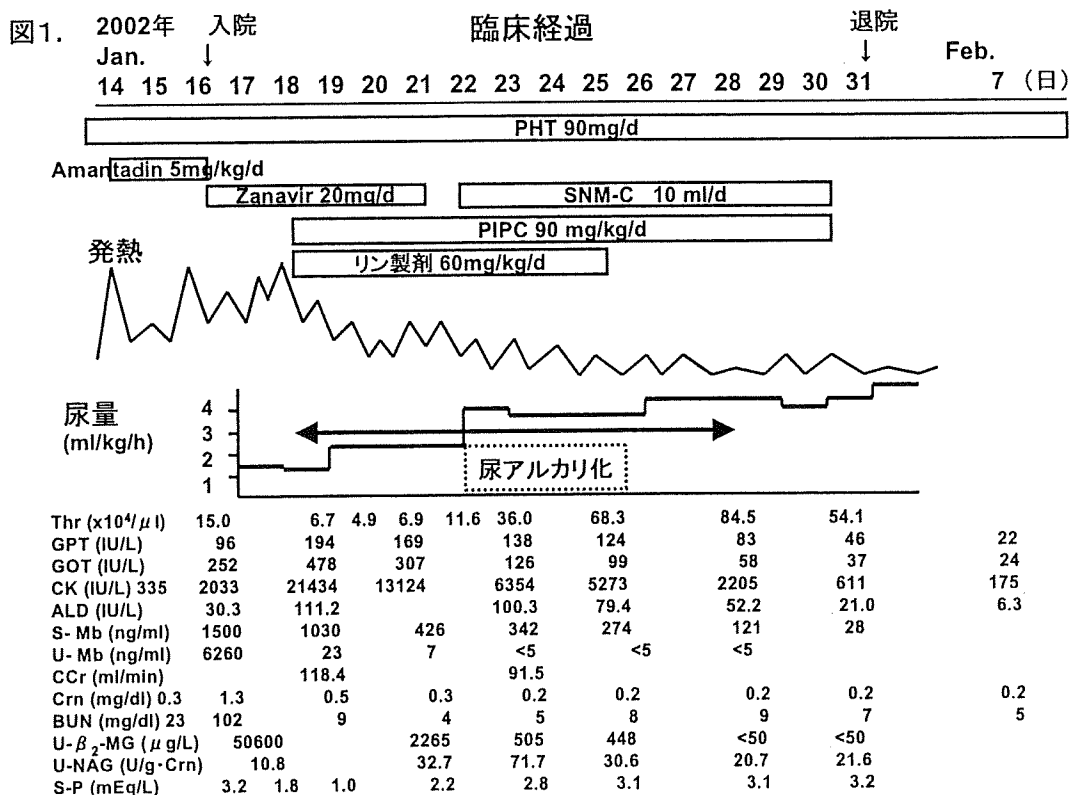


表3. インフルエンザにより横紋筋融解症を呈した小児報告例

報告者、年	年齢	性	ウイルス 型	CPK最高値 (IU/L)	Myoglobin 最高値(ng/ml)	治療
1 DiBona, 1977	3	F	A	>200,000	尿(+)	保存的
2 中村, 1984	12	M	B	856	血清 280	保存的
3 Kelly, 1989	13	F	B	179,760	(-)	血液透析
4 Christenson, 1990	8	F	A	50,260	血清>1,250, 尿(-)	保存的
5 徳田, 1992	11	F	A	3,782	血清 500 尿 <5	腹膜透析
6 Palatte, 1993	6	M	B	303,200	(-)	保存的
7 鹿野, 1994	4	M	A	144	血清 43, 尿(+)	保存的
8 Goebel, 1997	14	F	A	1,150,000	血清 38,900 尿 2,360	血液透析
9 MacRae, 1997	13	F	A	421,000	尿>1,250	保存的
10 浅木森, 1998	15	M	A	1,032,000	尿 2,984,000	血液透析
11 Watanabe, 1998	5	M	A	8,460	血清 688 尿 2,350	血液透析
12 若杉, 2000	10	F	B-1	113,000	血清>3000 尿>3000	保存的
13 白石, 2000	10	F	A (H3N2)	46,320	尿(+), 血清(+)	保存的
14 自験例, 2002	3	F	A (H3N2)	21,434	血清 1500 尿 6260	保存的

表4. インフルエンザ筋炎と横紋筋融解症

	筋炎	横紋筋融解症
年齢	小児、高齢者	全年齢
発症機序	直接侵襲	直接侵襲、Toxin
ウイルス	B型>A型	A型>B型
発症時期	回復期	極期、回復期
症状	筋痛	筋力低下、筋痛 乏尿、呼吸障害
罹患筋	両側腓腹筋 両側大腿筋	下肢、上肢 呼吸筋
検査所見	CK: 正常~20,672 IU/L AST, LDH, ALD上昇あり	CK: 数千~10万 IU/L以上 AST, LDH, ALD, BUN, Crn上昇あり
尿所見	正常	Myoglobin尿あり、尿潜血陽性
予後	良好	死亡や慢性腎不全例あり

表5. 横紋筋融解症の腎合併症

組織学的所見:

糸球体病変(一)

尿細管:急性尿細管壊死の像

基底膜は肥厚・萎縮

間質の一部に線維化、細胞浸潤

治療:

輸液と尿のアルカリ化

腎不全例では血液透析

予後:

16%が死亡

7%が透析の適応となる慢性腎不全に進展

インフルエンザ脳症における末梢血のサイトカイン発現に関する研究

研究協力者 木村 宏 名古屋大学医学部小児科学

研究要旨 インフルエンザ脳症患者において systemic に炎症性サイトカインが産生されているか否かを検討するために、末梢血中のサイトカイン遺伝子 mRNA を測定した。脳症患者では、神経合併症のないインフルエンザに比べ、有意に高い IL6 mRNA の発現を認めた。また、TNF α の mRNA は脳症および熱性痙攣群において発現が多い傾向が認められた。以上より、インフルエンザ脳症の患者末梢血では炎症性サイトカインの高発現がみられ、systemic に免疫が亢進していると考えられた。

A. 研究目的

インフルエンザ脳症の発症機序については未だ不明な点が多い。脳症患者の髄液や脳組織からはインフルエンザウイルスは検出されず、ウイルスの直接侵襲により脳症が起こっているとは考えがたい。一方、インフルエンザ脳症の患者において高サイトカイン血症が認められるとの報告が多く、脳症発症のメカニズムとして、炎症反応の亢進が示唆されている。今回、インフルエンザ脳症、インフルエンザにともなう熱性痙攣、神経合併症を伴わなかったインフルエンザの 3 群において、末梢血中のサイトカイン mRNA の発現量を測定し、インフルエンザ脳症において systemic に炎症性サイトカインが産生されているか否かを検討した。

B. 対象と方法

対象はインフルエンザ脳症 6 例、熱性痙攣 7 例、神経合併症のないインフルエンザ 12 例。症例の平均年齢はそれぞれ、3.2、3.3、5.0 歳であった。全例、急性期（発症から 2 日以内）に同意を得て、血液を採取、血球分画と血漿分画に分け-70 度に保存した。

末梢血白血球分画より RNA を抽出し、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-8、IL-10、IL-12p35、IL-12p40、IL-15、IFN γ 、TNF α 、IL-6 の mRNA を測定した。サイトカイン mRNA 発現量は Applied Biosystems 社の Cytokine Gene Expression Plate 1 を用いて Real-time PCR 法により行った。

血漿中のサイトカイン値は R&D systems 社のキットを用い、ELISA 法により測定した。血漿中のサイトカインの測定は IL-6、IL-10、TNF α 、sTNF-R1 に対して行った。

また、一部の症例（脳症 6 例、熱性痙攣 8 例、神経合併症のない 15 例）では、急性期の咽頭拭い液を採取し、real-time PCR 法にて咽頭中のインフルエンザ RNA コピー数も測定した。各群間でウイルス量の比較をするとともに、末梢血中のサイトカイン mRNA 発現量、血漿中のサイトカイン値との相関も検討した。

C. 研究結果

インフルエンザ患者の末梢血白血球には、IL-1 β 、IL-8、IL-10、IL-12p35、IFN γ 、TNF α 、IL-6 の発現を認めた。IL-1 α 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-12p40、IL-15 の発現は認められなかった。

発現が認められた mRNA について、脳症、熱性痙攣、神経合併症のないインフルエンザの各群間で比較を試みたところ、末梢血中の IL-6 mRNA はインフルエンザ脳症の群において、有意に多くの発現量を認め（図 1）、血漿中の IL-6 値も高い傾向にあった（図 2）。また、TNF α の mRNA も脳症、熱性痙攣の群において発現が多い傾向を認めた（図 1）。

ついで、咽頭中のインフルエンザウイルス量を測定したところ、各疾患群間で差を認めなかった（図 3）。また、ウイルス量と、サイトカイン mRNA 発現量、および血漿中のサイトカイン値に相関は認めなかった。

D. 考察

インフルエンザ脳症では、中枢神経系内でのウイルス抗原が認められない、髄液からウイルス RNA 検出されないなどから、インフルエンザウイルスの中枢神経系への直接侵襲により脳症が発症するという考えは否定的である。脳症発症のメカニズムとして、高サイトカイン血症・血管内皮細胞障害に引き続いた多臓器不全が示唆されている。しかし、なぜインフルエンザに感染した一部の患者が発症するのか、乳幼児を中心とした低年齢層の集中は何故か、我が国からの報告が多く欧米では報告が少ないのは何故かなど、未だ不明な点が多い。

近年、インフルエンザ脳症および熱性痙攣を合併した患者髄液中に、Human herpesvirus 6 (HHV-6)、Human herpesvirus 7 (HHV-7)のゲノムが認められるという報告がなされた。これらのウイルスの重感染もしくは再活性化により脳症が生じているという仮説である。我々はインフルエンザ脳症および熱性痙攣合併例あわせて 20 例より髄液中からのウイルス DNA 検出を試み、定性の PCR 法、Real-time PCR 法いずれの

方法を用いても、HHV-6, HHV-7 DNA ともに検出されなかった(表1)。これらのことはインフルエンザ脳症において、HHV-6, HHV-7 の関与の可能性が低いことを示していた。

今回の研究で、インフルエンザ脳症患者の末梢血中において、炎症性サイトカインである IL-6 および TNF α の高発現がみられた。これらのことは、脳症では systemic に活性化 T 細胞やマクロファージなどの免疫担当細胞が活性化していることを示している。また、熱性痙攣群でも末梢血中の TNF α の発現が亢進していることより、インフルエンザ脳症と熱性痙攣の間には連続した発症病理が存在する可能性が示唆された。一方、咽頭のウイルス量は疾患ごとで差はなく、ウイルス量とサイトカインの発現に有意な関係は認めなかったことより、インフルエンザ脳症の発症には、ウイルスの増殖よりもむしろウイルスに対する生体の過剰な免疫反応が関与している可能性が示唆された。

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

E. 結論

インフルエンザ脳症の患者末梢血では炎症性サイトカインの高発現が認められ、systemic に免疫が亢進していると考えられた。インフルエンザ脳症の発症には、ウイルスの増殖よりもむしろウイルスに対する生体の過剰な免疫反応が関与している可能性が示唆された。

F. 健康危惧情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kawada J, Kimura H, Ito Y, Hara S, Kawashima H, Okuno T, Morishima T. Absence of Associations between Influenza-Associated Encephalopathy and Human Herpesvirus 6 or Human Herpesvirus 7. *Pediatr Infect Dis J*, 22:115-119, 2003

Kawada J, Kimura H, Ito Y, Hara S, Iriyama M, Yoshikawa T, and Morishima T. Systemic Cytokine Responses in Patients with Influenza-Associated Encephalopathy (submitted).

2. 学会発表

川田 潤一 原 紳也 伊藤 嘉規 木村 宏
森島 恒雄. インフルエンザ脳症における末梢血のサ

図1 インフルエンザ患者末梢血中のサイトカイン mRNA 発現

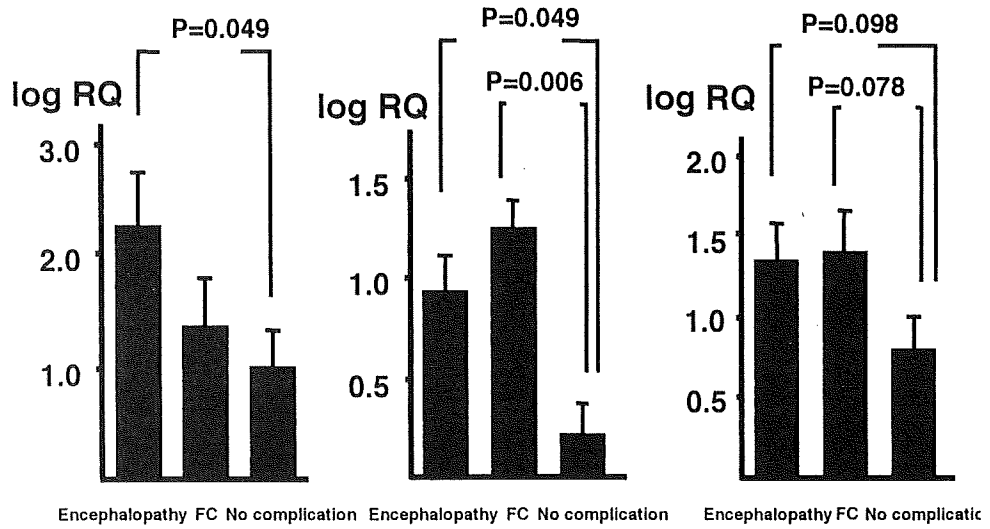


図2 インフルエンザ患者血漿中のサイトカイン濃度

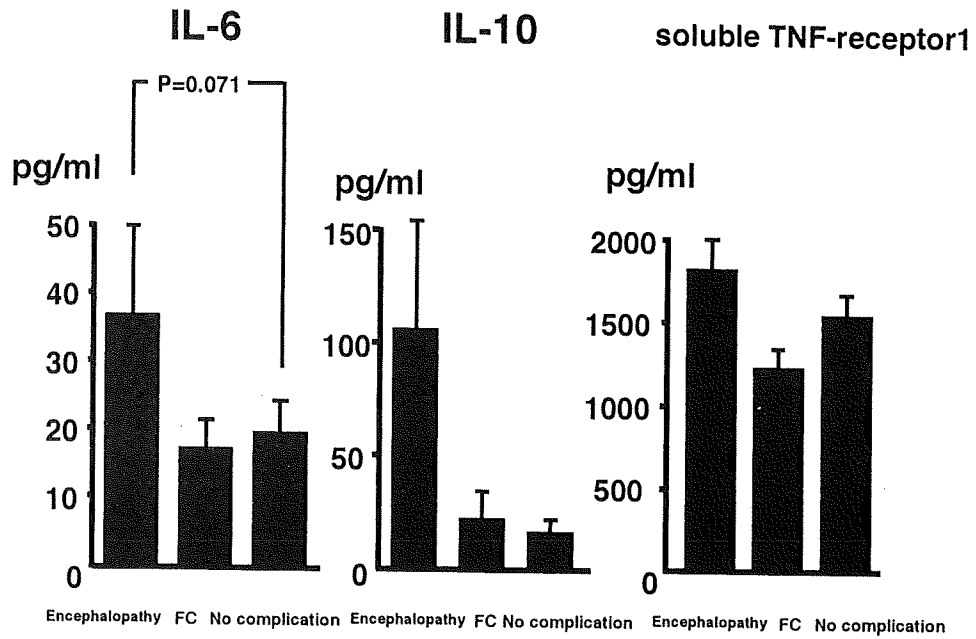


図3 インフルエンザ患者咽頭中のウイルス RNA 量

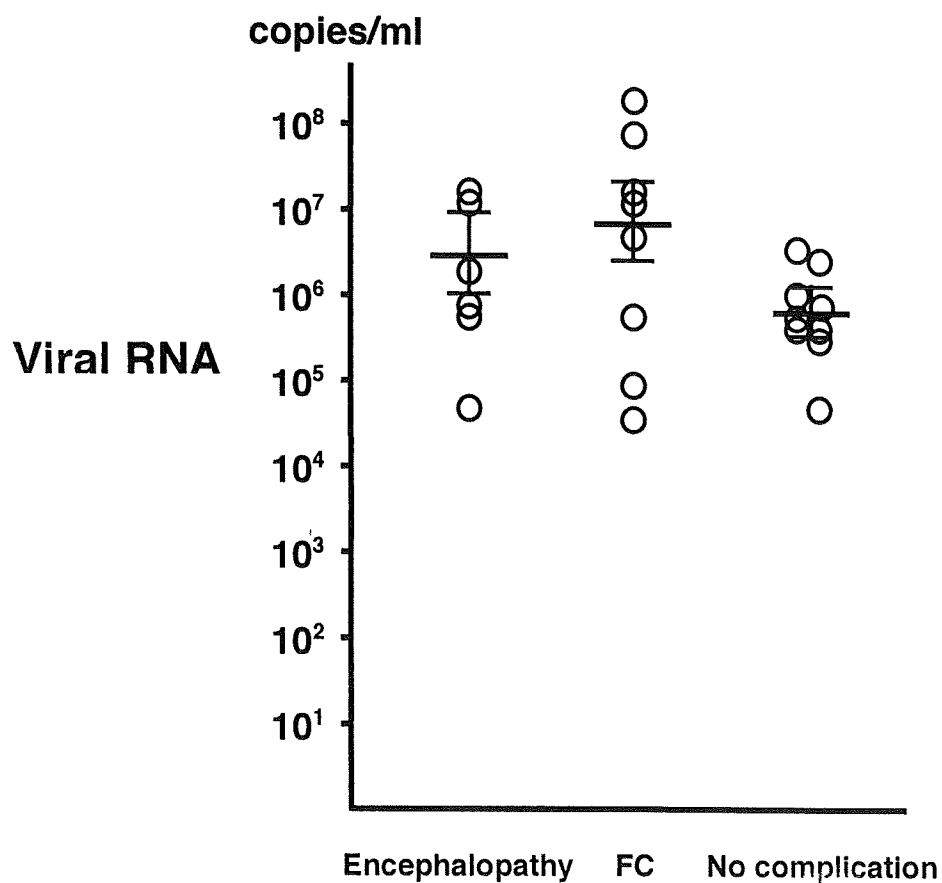


表1 インフルエンザ脳症、熱性痙攣患者の髄液、血清中の HHV-6、HHV-7 DNA の検出

	髄液				血清	
	HHV-6		HHV-7		HHV-6	HHV-7
	nested	real time	nested	real time	real time	real time
Flu 脳症	0/14	0/14	0/14	0/14	1/11	0/11
Flu FC	0/6	0/6	0/6	0/6	1/3	0/3
対照	n.d.	1/40	n.d.	1/40	4/176	2/176

nested: nested PCR 法、real time: real time PCR 法、flu: influenza、FC: febrile convulsion、n.d.: not done

インフルエンザウイルス脳炎・脳症発症に関与する患者遺伝子の研究

分担研究者 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 インフルエンザウイルス脳炎・脳症の発症に関与すると考えられる宿主因子を同定することを目的として、脳炎・脳症患者、重症合併症患者と呼吸器感染症のみの患者の HLA B ローカスの解析と末梢血リンパ球の包括的遺伝子発現の解析を行った。その結果、HLA B ローカスと脳炎・脳症発症とは関連はなかった。また、脳炎・脳症発症に関連する遺伝子として、9つの遺伝子が同定された。

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・脳症は同一の遺伝子を有するウイルスが流行する中で、ごくまれに重篤になる患者が発生するという特殊な病態である。そして、小児の脳炎・脳症ではインフルエンザウイルスが脳において増殖していない症例がほとんどであり、「ウイルスの存在しないウイルス感染症」という新しい病態であることが考えられる。そして、その原因の一つとしてサイトカインの過剰分泌による血管内皮の障害による脳浮腫の発生が提案されている。

我々は、1997-1998 年季に脳炎・脳症を発症した患児から分離したインフルエンザ A 型 H3N2 ウイルスの NP に存在する HLA B47 のエピトープの変異を見いだしたので、まず、患者の HLA 型と脳炎・脳症、呼吸器感染との関連を調べた。そして、臨床的ライ症候群、脳炎・脳症と診断された 4 症例は全て HLA B60 を有していたので、果たして脳炎・脳症と HLA B60 との関連が存在するか否かを明らかにする目的で、脳炎・脳症患者と呼吸器感染者との間で HLA B ローカスの比較を行った。

また、インフルエンザウイルス感染時における宿主患者（患児）の反応について遺伝子レベルで詳細に解析を行うことが必要である。そこで、脳炎・脳症患者、呼吸器感染者について、インフルエンザウイルス感染に伴う遺伝子発現を包括的に解析し、脳炎・脳症の発症に関与する遺伝子とその発現状態を明らかにすることを目的として研究を行った。

B.研究方法

HLA の測定

長崎県、福岡県、佐賀県、大分県において流行したインフルエンザウイルス感染症の症例中、脳炎・脳症発症者、呼吸器感染者の血液を採取し、buffer EL(Qiagen)を用いて末梢血リンパ球を精製した。リンパ球からはプロテナーゼ K とフェノールを用いる方法で高分子 DNA (ゲノム DNA) を抽出した。HLA は MicroSSP Genetic HLA Class I, Class II DNA typing tray (One Lambda)を用いて PCR-SSP 法により決定

した。

遺伝子発現の研究

脳炎・脳症発症者 2 例と呼吸器感染の患者 3 例ずつの受診時と健康時（約 1 月後、脳炎・脳症患児についてはリハビリテーションを受けている時）の末梢血リンパ球を採取した。脳炎・脳症の症例からはさらに髄液を採取した。リンパ球は buffer EL(Qiagen)にて精製後、直ちにドライアイスにて凍結し、マイナス 80℃ に保存し、Clontech 社にてマイクロアレー解析(Altas Glass Array Human3.8I + 3.8II(7532 遺伝子))を行った。呼吸器感染の患者の一部はクラボーにて Genome Systems 社のマイクロアレー UniGEMV Ver2.0 を用いて行った (9296 遺伝子)。

(倫理面への配慮)

HLA の測定、遺伝子発現の解析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、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・2109)

C.研究結果

HLA B ローカスのタイピング

1997-98 年季 15 例、1998-99 年季 36 例、1999-2000 年季 26 例、合計 77 例のインフルエンザ感染者について、HLA B ローカスの解析を行った。その結果、HLA B60 は 9 例 (11.7%) が保有しており、そのうち、脳炎・脳症をはじめとする重症患者は 4 例 (44.4%) であった (表 1)。

表 1. HLA B60 保有率

	1997-1998年	1998-1999年	1999-2000年	合計
症例数	15	36	26	77 (100%)
HLA B60	7	0	2	9 (11.7%)
脳炎・脳症 重症例	4	0	0	4 (44.4%)
呼吸器感染	3	0	2	5 (55.6%)

次に、脳炎・脳症をはじめとする重症患者はこの3冬季で15例であったが、そのうち、HLA B60は4例(26.7%)であった(表2)。

表 2. 脳炎・脳症患者と HLA B60

	1997-1998年	1998-1999年	1999-2000年	合計
脳炎・脳症重症者	4	6	5	15
HLA B60	4	0	0	4 (26.7%)
B60 以外	0	6	5	11 (73.3%)

脳炎・脳症に特異的に発現する遺伝子
症例

脳炎・脳症 1 2歳、女

インフルエンザウイルス A(H3N2)型
痙攣重積、意識障害にて発症
発症2病日目に採血

脳炎・脳症 2 2ヶ月、男

インフルエンザウイルス A(H1N1)型
先天性グリコシル化異常症 Ib 型
呼吸障害、意識障害にて発症
発症1病日目に採血

呼吸器感染 1 27歳、男

インフルエンザウイルス A(H1N1)型

呼吸器感染 2 12歳、男

インフルエンザウイルス B 型

呼吸器感染 3 1歳8ヶ月、男

インフルエンザウイルス A(H3N2)型

いずれも発症1病日目に採血

感染急性期と約1ヶ月後(健康時、脳炎・脳症の患児についてはリハビリテーションを受けているとき)の末梢血リンパ球の遺伝子発現状態を比較した(表3)。

表 3. インフルエンザウイルス感染と遺伝子発現

case	age, sex, virus	発現上昇した遺伝子	発現下降した遺伝子
呼吸器感染 (発症第1病日)	27才、男、A(H1N1)	121	148
	12才、男、B型	10	31
	1才8ヶ月、男、A型(H3N2)	110	47
脳炎・脳症(発症第2病日)	2才、女、A(H3N2)	452	157
脳炎・脳症(発症第1病日)	2ヶ月、男、A型(H1N1)	102	73

表 4. インフルエンザウイルス脳炎・脳症患者で共通して発現量が変化した遺伝子

	脳炎・脳症	呼吸器感染
感染急性期において発現量が上昇していた遺伝子	6	3
感染急性期において発現量が低下していた遺伝子	3	1

脳炎・脳症患者で共通して発現が上昇した遺伝子

RNA binding motif protein 5 (RBM5): tumor suppressor gene, apoptosisに關連?

IFN (a, b, w) receptor

Ephrin-B2: calcium influx in endothelial cell angiogenesis, apoptosis?

Transcription factor EC (TFEC): macrophage restricted transcriptional repressor

Calsenilin/ DREAM/ KCHIP3: calcium regulated transcriptional repressor, apoptosisに關連?

MEGF6 protein: EGF-like motif protein

脳炎・脳症患者で共通して発現が低下した遺伝子

Non-metastatic cells protein 23 (Nm23/ Awd): suppressor of metastasis

Neuropeptide Y/ peptide YY receptor of the Y1 type: vasoconstriction

Hippocalcin-like protein (HPCAL4): neuron specific calcium binding protein

D. 考察

1、インフルエンザウイルス脳炎・脳症の発症と HLA B60 との関連はなかった。B ローカス以外の HLA ローカスとの関連については、現在解析中である。

2、インフルエンザウイルス感染による呼吸器感染者3例の末梢血リンパ球の遺伝子のうち、共通して発現量が3倍以上上昇、あるいは低下した遺伝子はなかつ

た。ところが、脳炎・脳症患者では、6つの遺伝子の発現が共通して上昇し、3つの遺伝子の発現が共通して低下していた(表4)。したがって、これら9つの遺伝子は、インフルエンザウイルスによる脳炎・脳症に関連していると考えられる。

E. 結論

インフルエンザウイルス脳炎・脳症の発症とHLAとの関連は不明であるが、インフルエンザウイルス脳炎・脳症の発症に関与する遺伝子の候補を9つ同定することができた。

F. 健康危険情報

なし

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.
3. Takahito Kashiwagi, Nobuyuki Hamada, Jun Iwahashi, Koyu Hara, Tatsuo Ueda, Hidetaro Noguchi, and Tetsuya Toyoda. 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: 867-870, 2000.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Jun Iwahashi, Katsuro Tsuji, Tetsuya 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
 20. Yasushi Ohtsu, Yoshikazu Honda and Tetsuya Toyoda. Fine mapping of the subunit binding sites of influenza virus RNA polymerase. In 'Options for the control of influenza IV. (A.D.M.E Osterhaus, A.W. Hampson and N. Cox eds.) pp 463-469, Excerpta Medica ICS 1219, Amsterdam, 2001.
 21. Koyu Hara, Mayumi Shiota, Hiroshi Kido, Yasushi Ohtsu and Tetsuya Toyoda. Protease activity of influenza virus RNA polymerase PA subunit. In 'Options for the control of influenza IV. (A.D.M.E Osterhaus, A.W. Hampson and N. Cox eds.) pp 479-485, Excerpta Medica ICS 1219, Amsterdam, 2001.
 22. Mitsuo Takahashi, Tatsuo Yamada and Tetsuya Toyoda. Detection of viral antigens in the encephalopathy brain by influenza A virus. In 'Options for the control of influenza IV. (A.D.M.E Osterhaus, A.W. Hampson and N. Cox eds.) pp 615-622, Excerpta Medica ICS 1219, Amsterdam, 2001.
 23. 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.
 24. Jun Iwahashi, Katsuro Tsuji, Tetsuya 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.* 39 : 1652-1653, 2001.
 25. Koyu Hara, Takahito Kashiwagi, Yasushi Ohtsu, Kenji Masunaga, Yuko Akasu-Tsuji, Naoki Tsumura, Hirohisa Kato, Jun Iwahashi, Nobuyuki Hamada, Michiko Toyoda, Tetsuya Toyoda. Molecular evolution of Human echovirus 9 isolated from patients with aseptic meningitis in Northern Kyushu during the summer of 1997. *Microbiol. Immunol.* 45: 717-720, 2001.
 26. 豊田哲也、インフルエンザ脳炎・脳症における HLA 抗原、*日本医事新報*、4028 号、99-100 (2001)
 27. 辻 克郎、岩橋 潤、今村宜寛、吉本静志、梶原淳陸、石橋哲也、森 良一、山田達夫、豊田哲也、A 型インフルエンザウイルスに対する塩酸アマンタジンの使用の問題点、*ウイルス*、51 巻、2 号、123-134(2001)
 28. Nobuyuki Hamada, Jun Iwahashi, Kentaro Suzuki, Hidenao Ogi, Takahito Kashiwagi, Koyu Hara, Michiko Toyoda, Tatsuo Yamada, Tetsuya Toyoda. Molecular cloning and characterization of the mouse reticulon 3 cDNA. *Cell and Molecular Biology*, 48: 163-172, 2002.
 29. Yasushi Ohtsu, Yoshikazu Honda, Yasutaka Sakata, Hirohisa Kato, and Tetsuya Toyoda. Fine mapping of the subunit binding sites of influenza virus RNA polymerase. *Microbiol. Immunol.* 46: 167-175, 2002.
 30. Takahito Kashiwagi, Koyu Hara, Michinori Kohara, Kyoko Kohara, Jun Iwahashi, Nobuyuki Hamada, Haruhito Yoshino and Tetsuya Toyoda. Kinetic analysis of C-terminally truncated RNA dependent RNA polymerase of hepatitis C virus. *Biochem Biophys. Res. Commun.* 290: 1188-1194, 2002.
 31. Jun Iwahashi, Ichiro Kawasaki, Yuji Kohara, Keiko Gengyo-Ando, Shohei Mitani, Yasumi Ohshima, Nobuyuki Hamada, Koyu Hara, Takahito Kashiwagi, and Tetsuya Toyoda. *Caenorhabditis elegans* reticulon interacts with RME-1 during embryogenesis. *Biochem*

- Biophys. Res. Commun. 293: 698-704, 2002.
32. Takahito Kashiwagi, Koyu Hara, Michinori Kohara, Jun Iwahashi, Nobuyuki Hamada, Haruhito Honda-Yoshino and Tetsuya Toyoda. Promoter/ origin structure of hepatitis C virus complementary strand of the genome. J. Biol. Chem. 277: 28700-28705, 2002.
 33. Fusae Imuta, Michiko Toyoda and Tetsuya Toyoda. New application method of zanamivir with straw. *Pediatr. Int.* 2003 in press.
 34. Tetsuya Toyoda, Koyu Hara, Takahito Kashiwagi, Jun Iwahashi, Haruhito Honda, and Nobuyuki Hamada. Molecular dissection of the transcription and replication machinery of influenza virus. In 'Recent Advance in. Influenza Research'. (Yukiyasu Hayase ed.) pp. 1-13, Research Signpost, India, 2002.
 35. Fusae Imuta, Michiko Toyoda and Tetsuya Toyoda, New application method of zanamivir with straw. *Pediatrics Int.* 2003, in press.
 36. 豊田哲也、インフルエンザウイルス感染に対する予防的抗生剤投与の廃止について—抗菌薬濫用防止の観点から考える、インフルエンザ、3巻、1号、25-28 (2002)
 37. 豊田哲也、原 好勇、インフルエンザの構造と遺伝子、臨床検査、46巻2号、133-138(2002)
 38. 豊田哲也、抗インフルエンザウイルス薬の新たな開発ターゲット、日本臨床、2003、印刷中
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)
 8. K. Hara, H. Kido and T. Toyoda. Influenza virus RNA polymerase PA subunit is a novel serine protease with Ser624 in the active site. Gordon Research Conferences, New Hampshire, USA. June 24-29, 2001.
 9. インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼのもつプロテアーゼ活性について、原 好勇, 塩田麻由美, 木戸 博, 渡辺 健, 永田恭介, 豊田哲也、平成13年度日本生化学会九州支部例会 (2001年4月28日~29日, 長崎)
 10. プロテアーゼ活性を有する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M1との相互作用、原 好勇, 塩田麻由美, 木戸 博, 渡辺 健, 永田恭介, 豊田哲也、第74回日本生化学会大会 (2001年10月25日~27日, 京都)
 11. C型肝炎ウイルス(HCV)におけるRNA依存性RNAポリメラーゼ(RdRp)の生化学的解析、柏木孝仁, 小原道法, 小原恭子, 豊田哲也、第74回日本生化学会大会 (2001年10月25日~27日, 京都)
 12. プロテアーゼ活性を有する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M1と相互作用する、原 好勇, 木戸 博, 渡辺 健, 永田恭介, 豊田哲也、第49回日本ウイルス学会学術集会 (2001年11月18日~20日, 大阪)
 13. C型肝炎ウイルス RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ(NS5b)の初期反応に関する研究、柏木孝仁, 小原道法, 小原恭子, 豊田哲也、第49回日本ウイルス学会学術集会 (2001年11月18日~20日, 大阪)
 14. インフルエンザウイルス脳炎・脳症の研究4、豊田哲也、インフルエンザ脳炎研究会、第49回日本ウイルス学会学術集会 (2001年11月18日~20日, 大阪)

15. インフルエンザウイルス・マトリックスタンパク質 M1 による RNA ポリメラーゼ・PA サブユニットのプロテアーゼ活性の阻害、原 好勇、塩田麻由美、木戸 博、渡辺 健、永田恭介、豊田哲也、第 24 回日本分子生物学会年会（2001 年 12 月 9 日～12 日、横浜）
16. C 型肝炎ウイルス RNA ポリメラーゼ(RdRp)の鑄型活性比較、柏木孝仁、小原道法、小原恭子、豊田哲也、第 24 回日本分子生物学会年会（2001 年 12 月 9 日～12 日、横浜）
17. T. Toyoda. Acute encephalopathy due to influenza virus infection. 6th Annual Meeting of Japan-United States cooperative medical science program on acute respiratory infection, February 14-15, 2002 at New Orleans, USA.
18. T. Kashiwagi, M. Kohara and T. Toyoda. Promoter/origin of hepatitis C virus. 10th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses -Molecular Virology and Pathogenesis, July 7-11, 2002 at San Diego, USA.
19. Koyu Hara, Hiroshi Kida and Tetsuya Toyoda. Inhibition of protease activity of influenza virus RNA polymerase PA subunit by matrix protein. XIIth International Congress of Virology, July 27-August 1, 2002 at Paris, France.
20. Takahito Kashiwagi, Michinori Kohara and Tetsuya Toyoda. Promoter/origin of hepatitis C virus. XIIIth International Congress of Virology, July 27-August 1, 2002 at Paris, France.
21. 岩橋 潤、辻 克郎、豊田哲也、アマンタジン耐性インフルエンザウイルス発生モニターリング、12 回抗ウイルス化学療法研究会（東京）
22. 豊田哲也、七種啓行、津村直幹、升永憲治、大津 寧、インフルエンザウイルス脳炎・脳症の研究 5. 宿主遺伝子発現の包括的解析、第 50 回日本ウイルス学会学術集会総会（札幌）
23. 原 好勇、今村宜寛、豊田哲也、インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼ・PA サブユニットのもつプロテアーゼ活性の機能解析、第 50 回日本ウイルス学会学術集会総会（札幌）
24. 柏木孝仁、小原道法、豊田哲也、C 型肝炎ウイルス RNA 依存性 RNA ポリメラーゼのプロモーター/オリジンの配列と構造の解析、第 50 回日本ウイルス学会学術集会総会（札幌）
25. 豊田哲也、インフルエンザウイルス脳炎・脳症の研究、第 39 回日本ウイルス学会九州支部総会（大分）
26. 柏木孝仁、小原道法、豊田哲也、C 型肝炎ウイルスのゲノム相補鎖に存在するプロモーター/オリジンの解析、第 25 回日本分子生物学会年会（横浜）

H. 知的財産の出願・登録状況

無し

研究協力者

木村彰方（東京医科歯科大学難治疾患研究所成人疾患研究部門分子病態分野）

高橋三津雄（福岡大学薬学部）

山田達夫（福岡大学医学部第 5 内科）

松石豊次郎、津村直幹、升永憲治、大津 寧、吉田一郎、加藤裕久（久留米大学医学部小児科学講座）

満留昭久、山口 覚（福岡大学医学部小児科学講座）

坂田則行（福岡大学医学部病理学講座）

松尾宗明、宮崎澄雄（佐賀医科大学医学部小児科学講座）

泉 達郎、浜田優美（大分医科大学医学部小児科学講座）

森内浩幸、松坂哲應（長崎大学医学部小児科学講座）

布井博幸（宮崎医科大学小児科学講座）

濱田哲夫（産業医科大学病理学講座）

野口英太郎、上田竜生（長崎県衛生公害研究所）

梶原淳睦（福岡県保健環境研究所）

森 良一（日本環境衛生センター）

船津丸貞幸（佐賀県衛生研究所）

塚本伸哉（大分県衛生環境研究センター）

城野洋一郎（化学及血清療法研究所）

七種啓行（さいくさ小児科）

出口雅経（出口小児科）

中下誠郎（佐世保総合病院）

松尾厚子（長崎市民病院）

神戸正彦（かんべ小児科）

浦部大策（聖マリア病院）

日高靖文（唐津赤十字病院）

藤本 保（藤本小児病院）

福田 肇（大村市立病院）

池口弘一、森 裕美（大手町病院）

野口哲彦（野口内科こども医院）

山下恭輔（平戸市民病院）

松尾光弘（五島中央病院）

田中茂樹、末長宜弘（長崎中央病院）

立花一憲（対馬いづはら病院）

岡 尚記（佐世保共済病院）

楊井正紀（やない小児科医院）

辻 克郎（辻クリニック）

吉岡明彦（広島県廿日市保健所）

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年	920-1
Y. Ohtsu, Y. Honda and T. Toyoda.	Fine mapping of the subunit binding sites of influenza virus RNA polymerase.	A.D.M.E Osterhaus, A.W. Hampson and N. Cox	Options for the control of influenza IV.	Elsevier	Amsterdam	2001年	463-469
K. Hara, M. Shiota, H. Kido, Y. Ohtsu and T. Toyoda.	Protease activity of influenza virus RNA polymerase PA subunit.	A.D.M.E Osterhaus, A.W. Hampson and N. Cox	Options for the control of influenza IV.	Elsevier	Amsterdam	2001年	479-485
M. Takahashi, T. Yamada and T. Toyoda.	Detection of viral antigens in the encephalopathy brain by influenza A virus.	A.D.M.E Osterhaus, A.W. Hampson and N. Cox	Options for the control of influenza IV.	Elsevier	Amsterdam	2001年	615-622
Tetsuya Toyoda, Koyu Hara, Takahito Kashiwagi, Jun Iwahashi, Haruhito Honda, and Nobuyuki Hamada	Molecular dissection of the transcription and replication machinery of influenza virus.	Yukiyasu Hayase	Recent Advance in. Influenza Research	Research Signpost	India	2002年	1-13

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年
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年
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年
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年
Toyoda T, Imamura Y, Takaku H, Kashiwagi T, Hara K,	Inhibition of influenza virus replication in cultured cells by RNA-cleaving DNA	FEBS Lett	481	113-6	2000年

Iwahashi J, Ohtsu Y, Tsumura N, Kato H, Hamada N.	enzyme.				
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年
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年
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年
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年
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年
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年
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年
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年
K. Hara, M. Shiota, H. Kido, Y. Ohtsu, T. Kashiwagi, J. Iwahashi, N. Hamada, K. Mizoue, N. Tsumura, H. Kato, T. 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年
J. Iwahashi, K. Tsuji, T. Ishibashi, J. Kajiwara, Y. Imamura, R. Mori, K. Hara, T. Kashiwagi, Y. Ohtsu, N. Hamada, H. Maeda, M. Toyoda, T. Toyoda.	Isolation of Amantadine-Resistant Influenza A Viruses (H3N2) from Patients Following Administration of Amantadine in Japan.	J. Clinic. Microbiol.	39	1652-1653	2001年
K. Hara, T. Kashiwagi, Y. Ohtsu, K. Masunaga, Y. Akasu-Tsujii, N. Tsumura, H. Kato, J. Iwahashi, N. Hamada, M. Toyoda, T. Toyoda	Molecular evolution of Human echovirus 9 isolated from patients with aseptic meningitis in Northern Kyushu during the summer of 1997.	Microbiol. Immunol.	45	717-720	2001年
豊田哲也	インフルエンザ脳炎・脳症におけるHLA抗原	日本医事新報	4028	99-100	2001年
辻 克郎, 岩橋 潤, 今村宜寛, 吉本静志, 梶原淳睦, 石橋哲也, 森 良一, 山田達夫, 豊田哲也	A型インフルエンザウイルスに対する塩酸アマンタジンの使用の問題点	ウイルス	51	123-134	2001年
Yasushi Ohtsu, Yoshikazu Honda, Yasutaka Sakata, Hirohisa Kato, and Tetsuya Toyoda	Fine mapping of the subunit binding sites of influenza virus RNA polymerase.	Microbiol. Immunol.	46	167-175	2002年
Takahito Kashiwagi, Koyu Hara, Michinori Kohara, Kyoko Kohara, Jun Iwahashi, Nobuyuki Hamada, Haruhito Yoshino and Tetsuya Toyoda	Kinetic analysis of C-terminally truncated RNA dependent RNA polymerase of hepatitis C virus.	Biochem Biophys. Res. Commun.	290	1188-1194	2002年
Takahito Kashiwagi, Koyu Hara, Michinori Kohara, Jun Iwahashi, Nobuyuki Hamada, Haruhito Honda-Yoshino and Tetsuya Toyoda	Promoter/ origin structure of hepatitis C virus complementary strand of the genome.	J. Biol. Chem.	277	28700-28705	2002年
Fusae Imuta, Michiko Toyoda and Tetsuya Toyoda	New application method of zanamivir with straw.	Pediatr. Int.		印刷中	2003年

インフルエンザ脳症に対するシクロスポリン投与の検討

研究協力者 鍵本 聖一 埼玉県立小児医療センター総合診療科副部長

研究要旨 予後が不良であるインフルエンザ脳症（IE）の集中治療の一環として、抗アポトーシス効果を期待して従来の標準的な治療に加えてシクロスポリン（CsA）を6例に投与し、効果、副作用について検討した。

A. 研究目的：

インフルエンザ脳症（IE）は脳病変にとどまらず、肝、腎、筋肉その他に広範な病変を生じる全身疾患であり、有効な治療法が開発されていない。近年、IEでは初期から血清 CyC が上昇していることが報告され 1)、肝組織でのミトコンドリア(mt)の変化とこれによるアポトーシスの関与が指摘されている 2)。一方、シクロスポリン（CsA）は実験的に mt 内膜に結合して pore を開け、Ca イオンの流入により一時的に膜電位を低下させて、内外膜間腔に存在する CyC が細胞質に流出することにより生じる Apaf-1、Caspase 3、Caspase9、AIF 等のアポトーシス惹起酵素の活性化を抑制し、抗アポトーシス効果を発揮することが知られている 3)。われわれは、免疫抑制剤として投与経験の蓄積されている CsA を IE の治療に導入しその効果と副作用について検討し、有用性を検証した。

B. 研究方法：

【症例】われわれが1997-2003のインフルエンザ流行期の集中管理を行ったものIE（疑いを含む）は13例（表1）あり、年齢は10ヶ月～13歳、男女内訳は5：8。インフルエンザAウイルスによるもの7例、Bによるもの4例であった。IEの診断は文献4)により後日確認した。このうち6例の治療にCsAを導入した。導入は当初特殊治療の手引き5)に従いGOT著増例に用い、その後、脳症の診断後早期より使用し、計6人に投与した。年齢は1歳2ヶ月から10歳、男女比は2：4、内訳はA型5例、B型1例であり、投与量は1～2mg/kg/d、その他の併用薬についてはステロイドを含め、制限しなかった。その後の臨床経過、副作用についてカルテの記載により検討した。

C. 研究結果（表2、3）：

13例全体で見ると、死亡例6例については解熱剤使用がジクロフェナック、メフェナム酸がそれぞれ1例ずつ使用されていたが、いずれも使用中止の勧告が行なわれる以前の使用であり、CsAは使用されなかった。死亡例では生存例より体温が高い傾向にあった。呼吸管理では抗けいれん剤使用に伴う人工換気を2例に行い、いずれも生存したのに対し、呼

吸、循環の問題で人工換気を余儀なくされたものでは7例中6例が死亡した。循環管理でもDOA、DOBを使用した9例中6例が死亡し、Epinephrineを使用した7例中6例が死亡した。オセルタミビル5例、ザナミビル1例、アマンタジン1例、mPLSパルス3例であった。1例にCHDF、1例で血漿交換が併用された。予後は死亡2例、重度後遺症2例、ほぼ正常2例であった。死亡例はけいれん重積から来院時広範脳浮腫を認めた例と、不整脈、血圧低下からなくなった心筋炎併発例であり、正常回復を認めたのはCT上小さな梗塞巣にとどまった10才女児とワクチン接種を受けていたB型インフルエンザウイルス感染の2才女児であった。

CsA使用群（CsA(+)）ではB型1例、A型5例であり、使用したCsAは1mg/kg/dが4例、2mg/kg/d2例であり、血中濃度は90ng/ml～>700ng/mlであった。全例でDexamethasoneを併用し、2例にγグロブリン、1例にCHDFを使用した。死亡例や重症の後遺症に陥った症例を見ると、症例3では初診時のCTで広範な脳浮腫を示すlow densityが認められ、翌日には脳波は平坦となり、意識の回復がないまま入院後65日で死亡、CsAは初期から投与したが、奏効しなかった。症例7はけいれん重積で挿管後搬送されたが、自発呼吸はあり、対光反射は保たれていた。初診時GOTは1693IU/lと上昇、CsAを開始したが、その後血圧低下、ECG上ST-T変化、VTなど多彩な不整脈を呈し、CK上昇もあり心筋炎となり、NO、ミリスロール、リドカイン等の治療に反応せず死亡した。症例6は直後よりCsA、腎機能低下に対しCHDFを使用した。当初明らかな異常がなかったCTが翌日には全般性のlow densityに陥り、GOT、mGOT、CKの上昇とCaは5mg/dlと低下、血糖値も26mg/dlとなり、その後検査所見は改善したが、脳は広範な萎縮に陥り、経口摂取はできるものの、全介助の状態である。症例11は2002-2003シーズンの症例であるが、それまでの経験に基き、GOTがあがっていない初期からCsAを開始したが、翌日には脳は広範な低吸収域を呈した。また、経過中、腎性の高レニン性高血圧を生じ、降圧剤でコントロールしたがCsA

の影響とも考えられたので 7 日の投与で中止、その後、検査所見は改善したが、四肢の痙性まひを残し、経口摂取はできるものの全介助となった。GOT は 300 IU/l を超えなかった。

一方、軽度ないしほぼ正常に生存した例を検討すると、症例 5 では B 型インフルエンザによる急性脳症で GOT 初診時 13884、ピークで 14909 と上昇しており、血小板 7.8 万と低下していたが、呼吸不全には陥らず、挿管、人工換気を要しなかった。CyC は 46 ng/ml と高値であった。CsA は直ちに開始し、検査所見は徐々に改善したが、意識障害はやく 2 ヶ月にわたって遷延した。症例 10 では傾眠、共同偏視に対し、GOT は 48IU/l であったが使用、限局性の脳萎縮を来したが、ほぼ正常に回復、退院した。

副作用としては 2 例 (症例 10、11) に血圧の上昇が認められたが、他に明らかなものは認められなかった。

D. 考察 :

IE に対する治療は多層的なレベルからのアプローチを遅滞なく行なう必要があると考えられ、抗アポトーシス治療はその一翼を担う可能性がある。布井らは、IE で血清 CyC の著名な上昇を報告しており 1)、よい指標として使用できる可能性がある。実際、良好な予後を示した症例 4 は、高値であった CsA 治療開始前の CyC が速やかに低下していた。このほかにも血清 Ca は mitochondrial permeability transition (MPT) による流入を反映して低下するが治療に反応すれば上昇すると考えられ、6 mg/dl を下回るような極端な低値を示した 3 例 (症例 3,6,7) の予後は不良であった。Ca に関して低下時に積極的に補充することが有効かどうかは検証の必要がある。cyclosporin A(CsA) は cyclophilin D に結合してこの凝集によって形成される MPT を阻害することにより、アポトーシスを抑制することが実験的に知られている。すでに免疫抑制剤としての投与経験は蓄積されており、また、高サイトカイン血症である血球貪食症候群で有効とされている 6) ため、IE の初期に CsA が有効である可能性がある。

今回の有効例はいずれも基礎疾患がなく、極端な低血糖、高血糖を起こしておらず、挿管による呼吸管理を行っていない。また、CsA 開始直後より改善がみられる。また Ca 値の低下が他の症例では著しいが、これらでは軽微であることが判明した。しか

し、症例 4 では初期より血小板減少、CyC の上昇など死亡、ないし重篤な後遺症が予想される症例であったが、意識障害が遷延したものの、ほぼ障害なく生存し、CyA の有用性が示唆された。

一方、手引きにあるように GOT が上昇してから、すなわち IE がある程度進行してからの導入では効果が得られない可能性を考え、2002-2003 シーズンでは脳症が判明した時点で GOT の値が低いうちに導入した 2 例を経験した。しかし、そうしたうちの症例 10 では GOT の上昇がなく改善し、CsA の効果であったかどうか不明であり、症例 11 ではやはり後の GOT の上昇は軽微であったにもかかわらず、重度の後遺症をきたした。重症化してからの使用は効果が薄く、軽症のうちに使用することはためられるということになると、今後の課題としては適応の決定とともに、投与方法、量、至適血中濃度、投与期間、開始時期などについて多施設投与試験等の臨床的な検証が必要と考えられた。

E. 結論

CsA は抗アポトーシス療法として IE 治療奏効したと考えられる症例が存在する。しかし、単独では限界があり、種々の支持療法に付加し、早期に導入することが必要と考えられる。投与方法、量、至適血中濃度、投与期間、開始時期等については未解決である。

表1. 集中治療を行なったインフルエンザ脳症の内訳

症例	年齢	性別	type	病型	基礎疾患	投薬	発症-脳症	初診時意識	最高体温 ℃	血小板 x10 ⁴ /mm ³	GOT 初Peak IU/l	mGOT IU/l	Ca mg/dl	Glu 低/高 mg/dl	CyC ng/ml	転帰
1	8y	F	-	ANE		Diclofenac	1日	III-300	41.5	12.4	521/21063	260	8.9	152/960		痊愈
2	13y	F	-	血圧低下		Mephenam	12時間	III-300	42	6.5	458/					痊愈
3*	6y	M	A	StEpi	低出生体重		0日	III-200	40	16.2	1174/6168	1760	<5.0	153/660	24	痊愈
4	2y	M	B	RS	FC	Acetaminio.		III-100~200	39	11.6	6860/	3730	8.8	192	56	軽度後遺症
5*	2y	F	B	急性脳症		Acetaminio.	2日	GCS(E2V2M4)	38.4	7.8	13884/14909	228	7.9	70/153	46	ほぼ正常
6*	1y2m	M	AH3	StEpi	気管支喘息	Acetaminio.	2日	III-200	39.5	4.1	407/11300	752	5.0	26/576		重度後遺症
7*	2y	F	A	StEpi, 心筋炎	VSD(IV)	Acetaminio.	1日	鎮静下挿管、呼吸(+)	38.9	8.2	1693/26360		6.2	58/216		痊愈
8	9y	M	A	ADEM			6日	I-III~II-20	39	21	44/		8.6	137/		てんかん
9	8y	F	B	DOA(心筋炎)	Vlq, 喘息, 毒麻疹	Acetaminio.	3日	心肺停止		16.9	755/1337	7	7.9	325		痊愈
10*	10y	F	A	限局性脳萎縮	FC		1日	傾眠、右共同偏視	40	23.6	48/54		8.1	148/154		ほぼ正常
11*	2y	F	A	StEpi			4日	III-200	40	27.5	92/		9.1	101		重度後遺症
12	10m	F	A	StEpi, 血圧低下			1日	意識清明	41	16.9	48/		7.8	302		痊愈
13	8y	M	B	StEpi	FC, 喘息, 卵アレルギ-	Acetaminio.	2時間	III-200, GTC 頓発	39	33.0	32/		7.9	128		正常

*シクロスポリン投与例、ANE:急性壊死性脳症、StEpi:けいれん重積、RS:Reye症候群、ADEM:急性散在性脳脊髄症、FC:熱性けいれん、GTC:全身強直間代性けいれん、CyC:チトクロームC

表2. シクロスポリン投与を行なわなかった症例の治療

症例	年齢	type	病型	人工換気	抗ウイルス	ステロイド	γGlob	体外循環	edaravon	その他	転帰
1	8y	-	ANE	○		DEX					死亡
2	13y	-	血圧低下	○							死亡
4	2y	B	RS			DEX		PEX2回		ProstaglandinE2	軽度
8	9y	A	ADEM	○	OTV	mPLS pulse	○				てんかん
9	8y	B	DOA(心筋炎)	○		mPLS pulse					死亡
12	10m	A	StEpi, 血圧低下	○	OTV	DEX					死亡
13	8y	B	StEpi	○	OTV	DEX			○		正常

ANE:急性壊死性脳症、StEpi:けいれん重積、RS:Reye症候群、ADEM:急性散在性脳脊髄症、OTV:オセルタミビル

GTC:全身循環間代性けいれん、DEX:デキサメサゾン、PEX:血漿交換

表3. シクロスポリン投与を行なった症例の治療

症例	年齢	type	病型	人工換気	抗ウイルス	ステロイド	γglob	体外循環	edaravon	その他	CsA量 mg/kg/d	血中濃度 ng/ml	転帰
3*	6y	A	StEpi	○	AMT, OTV	DEX,mPLS pulse	○				1	>700	死亡
5*	2y	B	急性脳症		OTV	DEX			○		1	90	ほぼ正常
6*	1y2m	AH3	StEpi	○	OTV	DEX		CHDF			2	250	重度
7*	2y	A	StEpi, 心筋炎	○	ZNV, OTV	DEX	○			NO, ミリスロロー ル、リドカイン	2	210	死亡
10*	10y	A	限局性脳萎縮		OTV	DEX			○		1	221	ほぼ正常
11*	2y	A	StEpi			DEX			○		1	145.8	重度

ANE:急性壊死性脳症、StEpi:けいれん重積、RS:Reye症候群、ADEM:急性散在性脳脊髄症、AMT:アマンタジン、OTV:オセルタミビル、ZNV:ザナミビル、DEX:デキサメサゾン、

CHDF:血液持続ろ過透析、NO:一酸化窒素

インフルエンザ脳炎・脳症の治療法確立にむけた特殊治療に関するアンケート調査

分担研究者 横田俊平 横浜市立大学医学部小児科学講座 教授

研究要旨 インフルエンザ脳炎・脳症は病態メカニズムが解明されておらず、治療法も確立されていない。しかし最近の多数の報告を勘案すると、中枢神経系におけるサイトカインによる組織障害が本疾患の本態と考えられている。インフルエンザ脳炎・脳症治療研究会が発足し、推察される病態から有効性があると考えられる特殊治療案を全国の小児救急対応が可能な病院約 3500 ヶ所に配布した。今回 2001/2002 シーズンのインフルエンザ脳炎・脳症患者を対象に実施された治療に関するアンケート調査を行い検討した。

抗ウイルス療法はほとんどの症例で行われており、ガンマグロブリン大量療法、メチルプレドニゾン・パルス療法も比較的高頻度に施行されていた。しかし脳低体温療法、血漿交換療法は少数に限られていた。治療効果に関して検討してみると重症例ほど様々な治療が施行される傾向にあり、予後も不良という傾向にあった。しかし治療案が全国に配布された後は、本症の死亡率は約 30%から約 15%へと明らかに低下しており、全体としては有用な治療案であることが推察された。

A. 研究目的

毎年冬季のインフルエンザ流行期に乳幼児を中心に、発熱から数時間～数日という短期間に痙攣や意識障害などの神経症状を呈し、高頻度に死亡したり神経学的な後遺症を残すインフルエンザ脳炎・脳症が発生しているが、病態メカニズムは完全には解明されていない。治療に関しても有効かつ標準的な治療も確立されておらず、模索状態であるのが現状である。

しかし最近の知見では、脳内の高サイトカイン状態、それに引き続き発生する高サイトカイン血症及び血管内皮の機能的、器質的障害が本疾患の本態と考えられてきている。インフルエンザ脳炎・脳症治療研究会を発足させ、現在考えられている病態を基礎に、他の疾患から類推されて有効性が推定される特殊治療案を作成した。（表 1）それを全国の小児救急対応が可能な約 3500 施設に配布し、シーズン終了後特殊治療に関するアンケート調査を行ない、全国で行われている治療の実態を検討することを目的とした。

B. 研究方法

インフルエンザ脳炎・脳症治療研究会を平成 12 年 11 月に発足させ、特殊治療案を作成し、全国約 3500 施設に配布した。その後 2001/2002 シーズンに発症したインフルエンザ脳炎・脳症患者について、初診時の意識障害の程度、施行した特殊治療、主要な検査データの変化、転帰について全国アンケート調査を行った。

C. 研究成果

全国の施設から 125 例のインフルエンザ脳炎・脳症患者の特殊治療に関する調査結果が得られた。各治療別に施行数を図 1 に示す。抗ウイルス療法（アマン

タジン、オセルタミビル、ザナミビルのいずれか）はほとんどの症例で施行されていた。またガンマグロブリン大量療法、メチルプレドニゾン・パルス療法も比較的多くの症例で施行されていた。一方アンチトロンビン大量療法、脳低体温療法、血漿交換療法は施行例が少なく、シクロスポリン療法は施行した症例はなかった。図 2 に初診時の意識障害の程度と転帰を示す。意識障害程度の強い群で予後が悪い傾向にあることがわかる。しかし Japan Coma Scale(JCS)100～300 の症例でも 26 人は軽快しており注目すべき所見であった。図 3 に初診時の意識障害別に各特殊治療が行われた割合を示す。抗ウイルス療法、ガンマグロブリン大量療法、メチルプレドニゾン・パルス療法は初診時の意識障害の程度にかかわらず施行されている傾向があるが、脳低体温療法、血漿交換療法は意識障害の強い群でのみ施行されていた。図 4 に転帰別に各特殊治療が施行された割合を示す。意識障害の程度により各特殊治療が行われた割合と同じような傾向が見られ、重症症例のみに施行されていた脳低体温療法、血漿交換療法施行症例は予後不良であった。図 5 に特殊治療前後での A S T の変化率を示した。やはり同様に重症例に施行される傾向の強い治療法は治療後にデータの悪化を見た。

D. 考察

インフルエンザ脳炎・脳症の特殊治療案を全国の施設に配布後は比較的統一された治療が施行されている傾向にあった。各治療法別に検討してみると抗ウイルス療法はほとんどの症例で行われており、脳炎・脳症自体への効果は不明だがインフルエンザ感染に対しての治療としては理にかなっている。ガンマグロブリン大量療法、メチルプレドニゾン・パルス療法も比較