

インフルエンザ感染時に2臓器に同時に観察されたアポトーシス

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

共同研究者 関島 俊雄 埼玉県立小児医療センター総合診療科

研究要旨

インフルエンザ脳症では病初期に血清チトクロームCが上昇し、病勢と関連すること、肝組織を中心としてミトコンドリア膨化やDNA断裂シグナルを広範に検出することなどよりアポトーシスのプロセスが関わることを示されていたが、多臓器が短時間のうちに同時に機能障害に陥ることは実際に示されたことはなかった。今回、インフルエンザBウイルス感染で死亡した急性心筋炎の患者で剖検組織を検索したところ、心筋と肝細胞に広範なDNA断裂シグナルを認めた。一方、脳細胞ではこうしたシグナルを認めなかった。

A. 研究目的

インフルエンザ脳症はわが国の乳幼児に多発し、急速な進展と重篤な予後を呈する原因不明の疾患である。近年の研究により、アポトーシスのプロセスが関わることを明らかになりつつある¹⁾²⁾。しかし、本症の性格を表す多臓器不全の急速な成立に同時にアポトーシスが関与した証左は臨床的には得られておらず、症例を対象として調査した。

B. 研究方法

症例:8才女児。主訴は来院時心肺停止。学校検診で心電図異常疑いを指摘されていた。来院4日前から咳、喘鳴、3日前から38℃台の発熱があり、来院2日前に近医で迅速キットでインフルエンザB型と診断された。オセルタミビルを服用したが、入院前日に嘔吐が1回あり救急病院で点滴を施行。当

日午前8時40分ごろ自宅で失禁、母に付き添われてトイレにいった。母が目を離れた少しの後に廊下で倒れていた。自発呼吸、心拍の有無は不明。救急隊到着時点では心肺停止、バックマスク換気、心臓マッサージを受けながら病院に到着。体温32℃、瞳孔散大、自発呼吸・心拍なし。鼻腔の迅速診断でインフルエンザB型が陽性。PALS (Pediatric Advanced Life Support)で蘇生、気管内挿管、閉胸式心臓マッサージ、fluid bolus、エピネフリン投与、DOA/DOB 10 μg/kg/min投与等で一旦自己心拍再開したが、次第にQRS波形はwideとなり、心エコー上心臓の収縮少なく、軽度の心嚢液が貯留。血圧が維持できず、来院後3時間で死亡。WBC 10.6×10³/μl、RBC 4.85×10⁶/μl、Hb 14.4 g/dl、Ht 48.6%、PLT 169×10³/μl

PT 12.9sec、APTT 50.7 sec、Fib 156 mg/dl、TP 4.9 g/dl、T-Bi 10.3 mg/dl、AST 755 IU/l、ALT 383 IU/l、CK 4531 IU/l、LDH 1958 IU/l、BUN 22 mg/dl、Cre 0.6 mg/dl、Na 142 mEq/l、K 7.1 mEq/l、Cl 104 mEq/l、Ca 7.9 mg/dl、P 13.5 mg/dl、BS 325 mg/dl、pH 6.48、PCO₂ 106.4、BE -34.4、HCO 37.7、咽頭インフルエンザ抗原 B 型陽性、髄液インフルエンザ/PCR 陰性、

ウイルス分離陰性（心嚢液、髄液）。

剖検所見：心筋は広範な細胞脱落、壊死が認められ、左室により強かった。肝、脳には明らかな炎症、壊死は認めなかった。

Apoptosis 検出方法：アポトーシス検出のため、TUNEL 法による蛍光染色を行ない、連続切片状の組織像と重ね合わせて局在についても検討した。

C. 結果（図 1、2、3）

Apoptosis：心筋、肝の両方で広範な TUNEL 陽性シグナルを心筋細胞、肝細胞にそれぞれ認めた。心筋では陽性シグナルは左室に多く認められ（図 3-A）、肝では中心静脈周囲に多く認められた（図 2-B）。一方、脳では明らかな陽性シグナルは認められなかった。

心筋の電顕では膨化し、変形したミトコンドリアが観察されたが、マトリックスの電子密度の低下は明らかではなかった。

D. 考案

インフルエンザ脳症においてはアポトーシスが病態の一端をなしており、少なくとも肝ではその証左が認められている¹⁾²⁾。これにはミトコンドリア障害が影響していると考えられ、インフルエンザ感染を契機に神

経系を中心とした臓器にアポトーシスが生じるのではないかと考えられてきた³⁾。

今回の症例は少なくとも心筋と肝細胞の 2 臓器に同時に広範なアポトーシスを認めたことより、インフルエンザ感染と多臓器のアポトーシスが同一個体に生じ、これが死因につながったことがほぼ明らかとなった。死戦期の変化を否定できないがミトコンドリアの膨化も認められた。患児の年齢が 8 歳でインフルエンザウイルスは B 型であったことより、典型的なインフルエンザ脳症とは異なるが、こうした病態が一般的にインフルエンザ脳症で生じている可能性がある。

一方、脳には変化が認められず、浮腫も顕在化しておらず、まったく侵されていないのか、変化がこれから生じるところで死亡してしまったのかは不明である。

インフルエンザウイルス感染とアポトーシスがどのようにつながるかに関しては明らかでないが⁴⁾、ウイルスの直接的な影響、サイトカインなどの影響、虚血再還流などの Redox の問題、高体温による代謝異常、先天性代謝異常症の顕在化などの可能性が考えられ、残存検体を用いた解析やインフルエンザウイルスの免疫染色等を行なう必要がある。

E. 結語

インフルエンザ B 感染中に心肺停止に至った 8 歳女兒の肝と心筋に広範なアポトーシスを認めた。インフルエンザ脳症の一部には同時に多臓器に進行するアポトーシスが生じることが示唆された。

F. 文献

- 1) 鍵本聖一、南波広行、藤巻里香、冠木智之、城宏輔、大石勉、浜野晋一郎、望月美佳、田中学、岸本宏志 インフルエンザ脳症の肝臓におけるミトコンドリア異常とアポトーシス. 日本小児科学会雑誌 106:324、2002
 - 2) 鍵本聖一. インフルエンザ脳症の肝組織におけるミトコンドリア変化とアポトーシスの検討. 厚生労働省：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 平成 12 年度～14 年度 総合研究報告書 pp83-89
 - 3) Nunoi H, Mercado MR, Mizukami T, Okajima K, Morishima T, Sakata H, Nakayama S, Mori S, Hayashi M, Mori H, Kagimoto S, Kanegasaki S, Watanabe K, Adachi N, Endo F. Apoptosis under hypercytokinemia is a possible pathogenesis in influenza-associated encephalopathy. *Pediatr Int.* 47:175-9, 2005.
 - 4). Chen W, Calvo PA, Malide D, et al. A novel influenza A virus mitochondrial protein that induces cell death. *Nat Med* 7:1306-12, 2001
- 菊池健二郎、鈴木光幸、浜野晋一郎. インフルエンザ脳症におけるシクロスポリン投与の検討. 第 17 回小児救急医学会、2003
3. 鍵本 聖一. インフルエンザ脳症と脳圧降下剤. 第 18 回小児救急医学会、2004

G. 研究発表

1. 鍵本聖一. インフルエンザ脳症の臨床像とその病態. *ICU と CCU* 27: S37-38, 2003

H. 学会発表

1. 関島 俊雄. インフルエンザウイルスによる急性心筋炎の 1 剖検例. 第 39 回日本小児循環器学会、2003
2. 鍵本聖一、関島俊雄、岡崎健一、

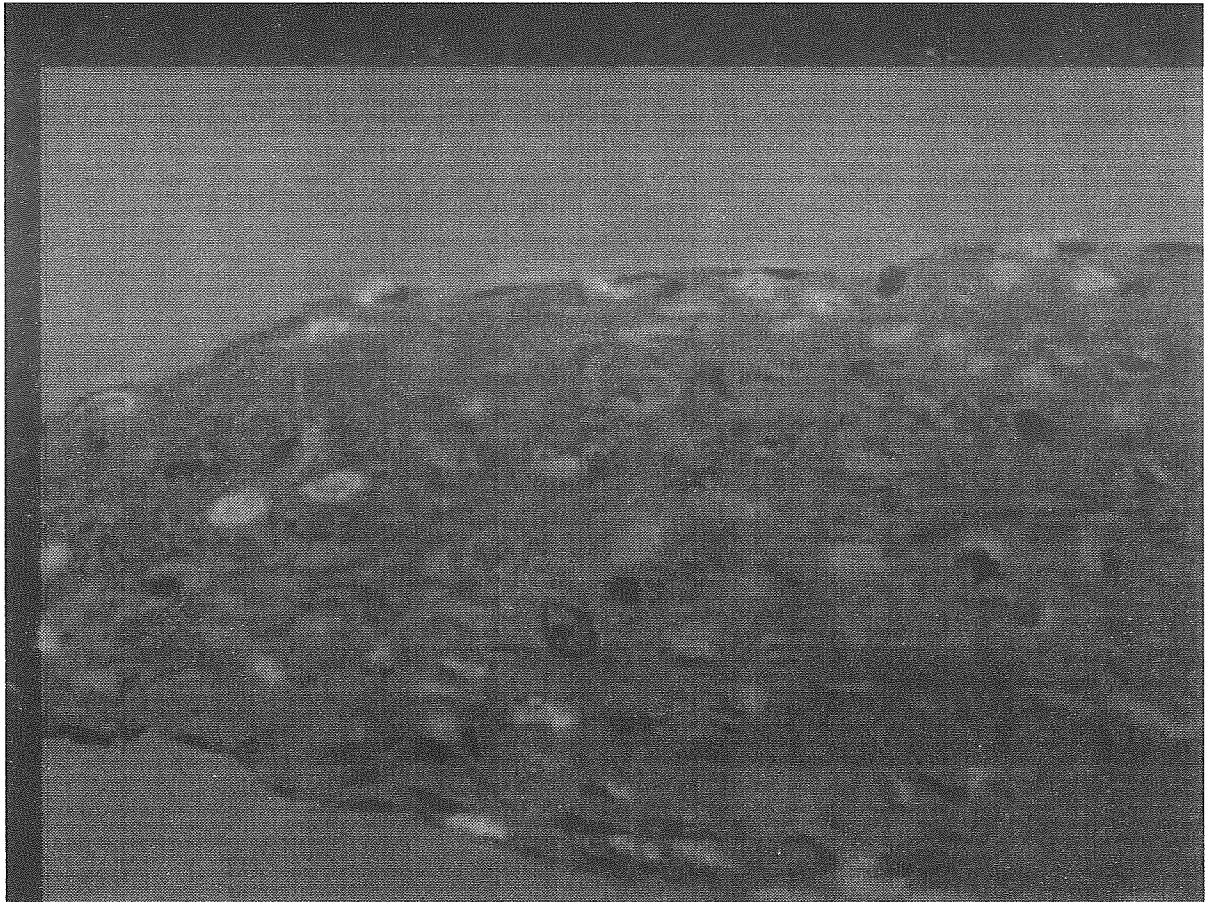


図: 1 : 心筋の HE+TUNEL 染色。心筋の核に一致して陽性シグナルを認める。

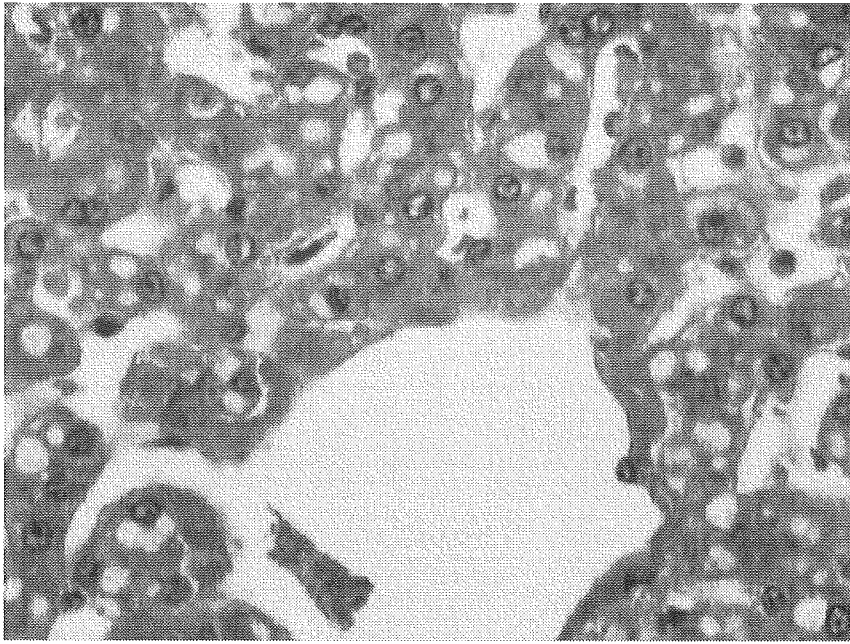


図 2 - A

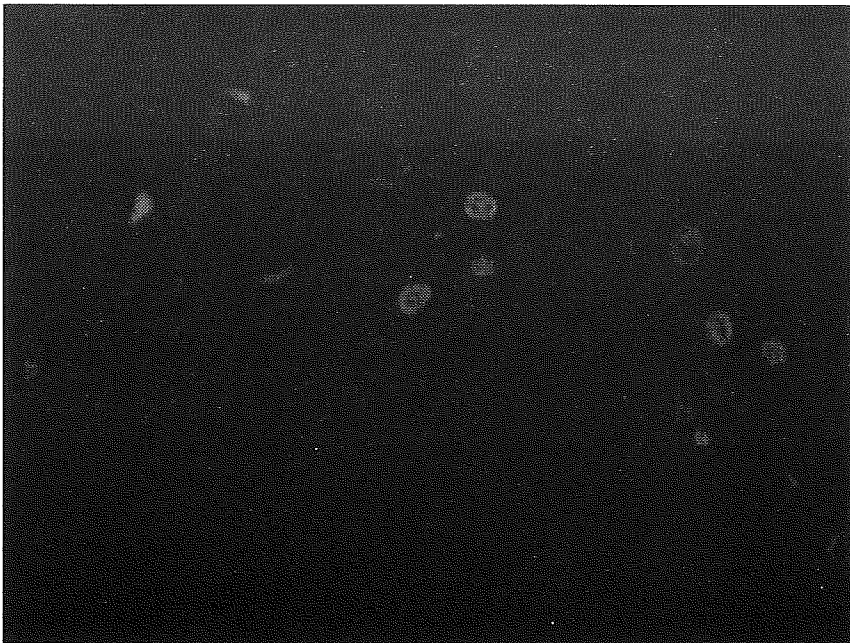


図 2 - B

図 2 : 肝の HE(A)と TUNEL(B)所見。中心
静脈周囲に多くのシグナルを認める。

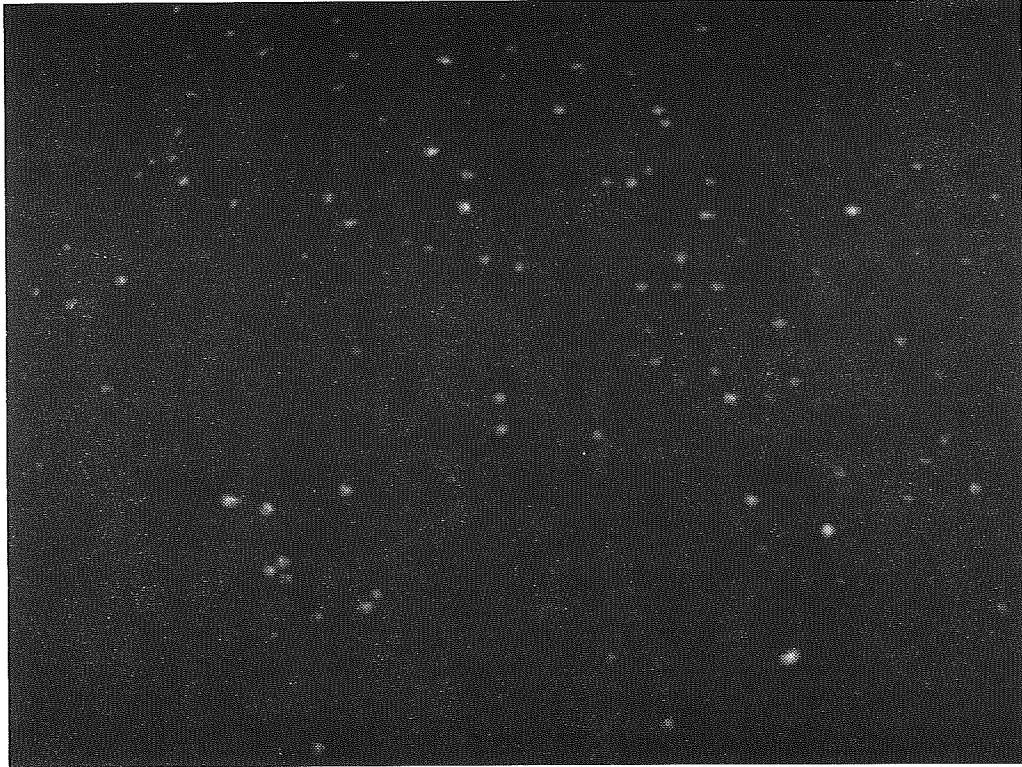


図3-A



図3-B

図3：心筋の TUNEL 法による蛍光染色。

A:左室、B:右室

テオフィリン関連痙攣に関する研究

分担研究者 水口 雅 東京大学医学部附属病院小児科 助教授

研究協力者 横路征太郎 東京都立府中病院小児科 部長

研究要旨

1 市中病院の小児救急外来における過去 12 年間の経験にもとづいて、テオフィリン関連痙攣の臨床的特徴を検討した。痙攣を主訴として受診した患者の統計解析により、テオフィリン関連痙攣は痙攣重積状態となりやすく、治療に抵抗して気管内挿管となりやすい傾向が明らかとなった。個別の患者の検討から、テオフィリン関連痙攣の重症例はしばしば痙攣重積型急性脳症の臨床像を呈することが判明した。既に添付文書に副作用として記載されているものの、急性脳症の発症・増悪の危険因子として、乳幼児に対するテオフィリン投与の適応について検討する必要がある。

A. 研究目的

わが国では、気管支喘息発作の予防・治療に、キンサンチン製剤の内服薬・静注薬が今もなお広く用いられ、小児とりわけ乳幼児に対しても、しばしば投与されている。その結果、従来より添付文書に副作用として記載されているもののテオフィリン関連痙攣の発生が後を絶たない。

テオフィリン関連痙攣の大部分は有熱時痙攣であり、インフルエンザ感染症の発熱を契機としてテオフィリン関連痙攣が生じる例も時に経験される。またテオフィリン関連痙攣は痙攣重積状態となりやすいこと、さらに痙攣後の意識障害が遷延して急性脳症の臨床像を呈しやすいたことが指摘されている。このため、インフルエンザ脳症の症例の一部は、テオフィリン関連痙攣とオーバーラップする。

本研究では 1 市中病院の小児救急外来に

における過去 12 年間の経験にもとづいて、テオフィリン関連痙攣の臨床的特徴を検討し、急性脳症の発症・増悪因子という見地からテオフィリンについて考察した。

B. 研究方法

1993～2004 年の 12 年間に東京都立府中病院の小児科救急外来を受診した患者約 112,000 人のうち、痙攣を主訴とした患者は 4,693 人（4.2%）である。このうち痙攣重積状態を呈した 327 人を本研究の対象とし、全例で病歴聴取によりテオフィリン内服の有無を確認し、可能な限り入院時のテオフィリン血中濃度を測定した。また、2003 年 11 月～2004 年 10 月の 1 年間に受診した痙攣患者 482 人に関しては、痙攣重積状態のない例を含め全例でテオフィリン内服の有無を確認し、痙攣重積状態の有無との相関を検討した。統計学的検討には κ^2 検定

を用いた。

C. 研究結果

1. テオフィリン服用者は痙攣重積状態となりやすいか？

2003年11月～2004年10月に受診した痙攣患者482人のうち、テオフィリン服用者は13人、非服用者は469人であった。テオフィリン服用者のうち痙攣重積状態をきたした者は6人(46.1%)、非服用者のうち痙攣重積状態をきたした者は41人(8.7%)であった。テオフィリン服用者は非服用者に比し、痙攣重積状態に至る率が有意に高かった($p < 0.001$)。

2. テオフィリン服用中の痙攣重積状態は治療抵抗性か？

本研究では、治療抵抗性の指標として気管内挿管の有無を採用した。1993年～2004年の約12年間に受診した痙攣重積患者327人のうち、テオフィリン服用者は27人、非服用者は300人であった。テオフィリン服用者のうち気管内挿管を受けた者は9人(33%)、非服用者のうち気管内挿管を受けた者は21人(7%)であった。テオフィリン服用者は非服用者に比し、気管内挿管に至る率が有意に高かった($p < 0.001$)。

3. テオフィリン関連痙攣で重積状態となった患者の男女別・年齢別分布

1993年～2004年にテオフィリン関連痙攣で重積状態となった患者27人を性別・年齢別に分けた(表1)。男女比は20:7と男児に多く、年齢別では0～1歳が17人と2歳未満に多かった。

4. テオフィリン関連痙攣で重積状態と

なった患者の発作時テオフィリン血中濃度

1993年～2004年にテオフィリン関連痙攣で重積状態となった患者27人のうち、25人で発作時のテオフィリン血中濃度(単位 $\mu\text{g/ml}$)を測定した(表1)。血中濃度が治療域(5以上15未満)かそれ以下(5未満)の者が18人と多く、中毒域の者は3人と少なかった。

5. 予後

1993年～2004年にテオフィリン関連痙攣で重積状態となった患者27人の中に死亡例はなかった。重度の神経学的後遺症が3例に残った。

6. 代表的症例(1歳8か月 男児)

【主訴】 痙攣重積状態

【既往歴】 突発性発疹のみ。痙攣の既往なし。

【家族歴】 父に熱性痙攣の既往あり。

【現病歴】 2004年3月1日夜、咳嗽が出現した。3月2日、近医を受診し、「喘息」の診断にてテオフィリンと $\beta 2$ 刺激薬を処方された。同日夜間より発熱した。3月3日、発熱が続き、近医を再診した。インフルエンザ抗原迅速検査の結果は陰性であった。11時ごろ患児が顔色不良となり、口から泡を吹いているところを母親に発見され、救急車で搬送され、11時33分に府中病院へ到着した。

【身体所見】 体温 38.3°C 、 SpO_2 (酸素投与下)94%、心拍213/分、呼吸数44/分。顔色は不良で、口・鼻より分泌物が多量に出た。呼吸は不規則だが、心音は整、雑音なく、腹部は平坦・軟であった。左上肢優位の全身性間代痙攣が持続中であった。眼

球は正中固定しており、瞳孔は左右同大 3.5mm で、対光反射はあった。

【外来での経過】 11 時 45 分、ジアゼパムを静注したが痙攣は続いた。12 時 4 分からフェニトイン静注を始めたところ、痙攣は止まったものの、無呼吸発作を生じた。12 時 15 分、気管内挿管が施行され、人工呼吸が開始された。以後も断続的に痙攣が生じ、その都度ペントバルビタールが静注された。異常高体温 (41.7℃) があり、全身冷却が開始された。14 時 30 分よりペントバルビタール持続静注が開始され、以後痙攣は消失した。

【入院時血液検査】 白血球 14,600、ヘモグロビン 12.7、血小板 32.1 万。播種性血管内凝固 (DIC) はなかった。BUN 13.0、Cr 0.5、Na 135、K 4.2、Cl 98、Ca 9.9、AST 39、ALT 23、LDH 254、CK 122、Glu 272、CRP 2.7。多臓器不全はなかった。血液ガス (静脈血) は pH 6.902、PCO₂ 106.9、BE -12.3 と混合性アシドーシスを呈していた。テオフィリン血中濃度は 12.6 μg/ml と治療域内であった。

【頭部 CT 検査】 入院時には異常所見は認められなかった。第 7 病日には左大脳皮質全域の腫脹と低吸収が顕著となった。第 50 病日には左大脳半球全体の萎縮が見られた。

【入院後経過】 人工呼吸管理下にペントバルビタール持続静注、グリセロール静注などの治療が行われた。痙攣は再発しなかったが、右上下肢の筋緊張亢進が続いた。ペントバルビタール減量中止、抜管の後も右不全片麻痺が持続した。

D. 考察

テオフィリン関連痙攣の多数の症例を対

象とした研究の成果として、新潟市民病院のデータが最近、発表された。同病院の研究と本研究とは、研究の目的・デザインが似ており、結果も類似している。従来より蓄積された他の研究結果ともあわせ、テオフィリン関連痙攣に関する下記の諸特徴は、統計学的にも確実なものである。

1. 3 歳以下の乳幼児に多い。
2. 発熱時に生じやすい (50~90%)。
3. 発作時のテオフィリン血中濃度は多くの症例で治療域またはそれ以下である。
4. 発作型は部分発作が多い。
5. 持続時間が長い。自然停止しにくい。
- 5' . 痙攣重積状態になりやすい。
6. 痙攣重積状態ではジアゼパムの有効率が低い。
- 6' . 気管内挿管・人工呼吸管理を受ける率が高い。
7. 重篤な神経学的後遺症を残しやすい (約 20%)。
8. 死亡率は低い (3~4%)。

本研究ではこのうち 1、3、7、8 を確認した。5'、6' についてはテオフィリン非関連症例と比較して、統計学的有意差を認めた。

またテオフィリン関連痙攣の他の特徴として、統計上のデータは不十分ながら、以下の点が指摘される。

9. 痙攣後の意識障害が遷延しやすい。つまり急性脳症になりやすい。
10. 頭部 CT・MRI では大脳皮質の限局性浮腫を呈する症例が多い (痙攣重積型脳症)。
11. 最重症例では大脳皮質全域ないし脳全体の浮腫を呈する。しかし高度の肝機能障害、DIC は稀である。
12. 脳浮腫が遅発性 (発症の 1 日~数日

後)に生じ、遷延しやすい。

13. 大脳基底核や視床に小梗塞巣を生じることがある。

本研究においても、重症例(後遺症を残した3症例:代表的症例(上記)を含む)ではこれらの特徴がよく現れていた。

E. 結論

テオフィリン関連痙攣の臨床的な問題点は、痙攣の誘発(痙攣閾値の低下)よりも、むしろ痙攣の遷延・難治化、および痙攣後の脳浮腫・意識障害の遷延にある。テオフィリンが急性脳症の誘因ないし増悪因子であることを再認識し、神経細胞の興奮性増強および脳血管の調節機能阻害の両面から研究をさらに進める必要がある。

使用にあたって従来より添付文書に副作用として明記されているが、テオフィリン関連痙攣にしばしば見られる重篤な神経学的後遺症に鑑み、改めて乳幼児の気管支喘息におけるキサンチン製剤の適応について、検討する必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 水口雅:インフルエンザ脳症の診断. 日本医事新報 2004;4161:91-92.
- 2) 水口雅:溶血性尿毒症症候群に伴う脳症. 小児内科 2004;36(7):1125-1128.
- 3) 水口雅:急性壊死性脳症. 小児内科 2004;36(7):1129-1132
- 4) 水口雅:脳炎、脳症. 岡元和文、相馬一亥、山科章、山田至康、行岡哲男(編)新臨床研修のための救急診療ガイドライン-小児から成人の救急トリアージと処置. 総合医学社, 東京, 2004, pp.87-89.

5) 水口雅:炎症性サイトカインと自己免疫疾患. 小児内科 2004;36(9):1432-1436.

6) 水口雅:発達の遅れ, 熱性けいれん, てんかん, 急性脳症, 髄膜炎・脳炎, 脳性麻痺, ミオパチー. 坂井建雄, 五十嵐隆, 丸井英二(編)からだの百科事典. 朝倉書店, 東京, 2004, pp.424-432.

7) 水口雅: HUSに見られる中枢神経合併症の診断・治療. 日本小児腎不全学会雑誌 2004;24(1):58-59.

2. 学会発表

- 1) 水口雅:テオフィリン服用中に発症したけいれん重積症の1例(指定発言). 第520回日本小児科学会東京都地方会, 東京, 2004年5月15日
- 2) 今井真理、清水純、森雅人、山形崇倫、水口雅、桃井真里子:インフルエンザ脳症痙攣重積型の臨床経過と画像所見. 第46回日本小児神経学会総会, 東京, 2004年7月16日(脳と発達 36(Suppl):S265, 2004)
- 3) 水口雅:急性壊死性脳症. 第9回日本神経感染症学会総会, 弘前, 2004年10月8日(Neuroinfection 9(2):29, 2004).

G. 知的所有権の出願・登録状況

なし。

表 1.

テオフィリン関連痙攣で痙攣重積状態となった症例の年齢別・性別分布

年齢 (歳)	0	1	2	3	4	5	計 (人)
男児 (人)	4	9	4	1	0	2	20
女児 (人)	2	2	0	0	3	0	7
計 (人)	6	11	4	1	3	2	27

表 2.

テオフィリン関連痙攣で痙攣重積状態となった症例の発作時テオフィリン血中濃度別分布

テオフィリン血中濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	5 未満	5 以上 10 未満	10 以上 15 未満	15 以上 20 未満	20 以上 25 未満	25 以上	計 (人)
人数 (人)	5	7	6	4	2	1	25

免疫グロブリン製剤の抗炎症作用に関する研究

分担研究者 市山高志 山口大学小児科・講師

研究要旨

目的：インフルエンザ脳症の特殊治療のひとつに免疫グロブリン大量療法があげられている。免疫グロブリン製剤（IVIG）の抗炎症作用を *in vitro* で検討した。

方法：1) 単球/マクロファージを用いて TNF- α 刺激による NF- κ B 活性化に対する IVIG の抑制作用を検討した。2) 単球/マクロファージの Fc γ 受容体発現に対する IVIG の影響を検討した。3) ヒト正常冠動脈血管内皮細胞（CAEC）を用いて TNF- α 刺激による interleukin-6（IL-6）産生および E-selectin 発現に対する IVIG の抑制作用を検討した。

結果：1) IVIG は TNF- α 刺激による単球/マクロファージの NF- κ B 活性化を濃度依存性に抑制した。2) IVIG は単球/マクロファージの activation receptor Fc γ RIII 発現を低下させた。3) IVIG は TNF- α 刺激による CAEC の interleukin-6（IL-6）産生および E-selectin 発現を濃度依存性に抑制した。

結論：IVIG の単球/マクロファージおよび CAEC に対する抗炎症作用を *in vitro* で明らかにした。

A. 研究目的

インフルエンザ脳症の特殊治療のひとつに免疫グロブリン大量療法があげられている。免疫グロブリン製剤（IVIG）の抗炎症作用を単球系培養細胞 U-937 およびヒト正常冠動脈欠陥内皮細胞（CAEC）を用いて *in vitro* で検討した。

B. 研究方法

1) 単球系培養細胞 U-937 を用いて TNF- α 刺激による NF- κ B 活性化に対する IVIG の抑制作用を Western blotting（WB）および ELISA で検討した。2) 単球系培養細胞 U-937 の Fc γ 受容体発現に対する IVIG の影響を flow cytometry（FC）で検討した。3) ヒ

ト正常冠動脈血管内皮細胞（CAEC）を用いて TNF- α 刺激による interleukin-6（IL-6）産生および E-selectin 発現に対する IVIG の抑制作用を ELISA および FC で検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は培養細胞を用いた *in vitro* の実験であり、倫理面への影響は皆無である。

C. 研究結果

1) IVIG は TNF- α 刺激による U-937 の NF- κ B 活性化を濃度依存性に抑制した（図1）。
2) IVIG は U-937 の activation receptor Fc γ RIII 発現を低下させたが、inhibitory receptor Fc γ RIIb 発現に対する効果はみ

られなかった (図 2)。3) IVIG は TNF- α 刺激による CAEC の interleukin-6 (IL-6) 産生および E-selectin 発現を濃度依存性に抑制した (図 3, 4)。

D. 考察

インフルエンザ脳症に対する免疫グロブリン大量療法の作用として高サイトカイン血症に対する効果が期待されているが、実際の基礎的データは乏しい。

炎症では、TNF- α 、IL-1、IL-6 などの炎症性サイトカイン、IL-8, regulated upon activation normal T-expressed and presumably secreted (RANTES) などのケモカイン、intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)、E-selectin などの接着分子が産生され病態を修飾する。NF- κ B はこれらの炎症性サイトカイン、ケモカイン、接着分子の遺伝子から mRNA への転写を調節する転写因子である。IVIG が単球/マクロファージの NF- κ B 活性化を抑制することは、単球/マクロファージからの炎症に関わるサイトカイン産生の抑制を示唆する。

単球/マクロファージには機能を有する Fc γ 受容体として細胞を活性化させる activation receptor Fc γ RIII と、細胞機能を抑制する inhibitory receptor Fc γ RIIb がある。IVIG は activation receptor Fc γ RIII 発現を低下させたことから、受容体発現の面からも単球/マクロファージの活性化を抑制する作用が示唆された。

IVIG は CAEC からの炎症性サイトカイン IL-6 の産生を抑制し、内皮細胞の活性化を示す E-selectin 発現を濃度依存性に抑制した。IVIG は単球/マクロファージだけで

なく、血管内皮細胞に対しても抗炎症作用を示すことが示唆された。

E. 結論

IVIG の単球/マクロファージおよび CAEC に対する抗炎症作用を *invitro* で明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Hasegawa S, Ichiyama T, Matsubara T, Tokuda O, Furukawa S. Caffey disease in a 6-month-old girl. *Eur J Pediatr* 2004; 163: 175-176.

2) Asaoka K, Shoji H, Nishizaka S, Ayabe M, Abe T, Ohori N, Ichiyama T, Eizuru Y. Non-herpetic acute limbic encephalitis: cerebrospinal fluid cytokines and magnetic resonance imaging findings. *Intern Med* 2004; 43: 42-48.

3) Ichiyama T, Ueno Y, Isumi H, Niimi A, Matsubara T, Furukawa S. Intravenous immunoglobulin inhibits NF- κ B activation and affects Fc γ receptor expression in monocytes/macrophages. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2004; 369: 428-433.

4) Ichiyama T, Ueno Y, Isumi H, Niimi A, Matsubara T, Furukawa S. An immunoglobulin agent (IVIG) inhibits NF- κ B activation in cultured endothelial cells of coronary arteries *in vitro*. *Inflamm Res* 2004; 53: 253-256.

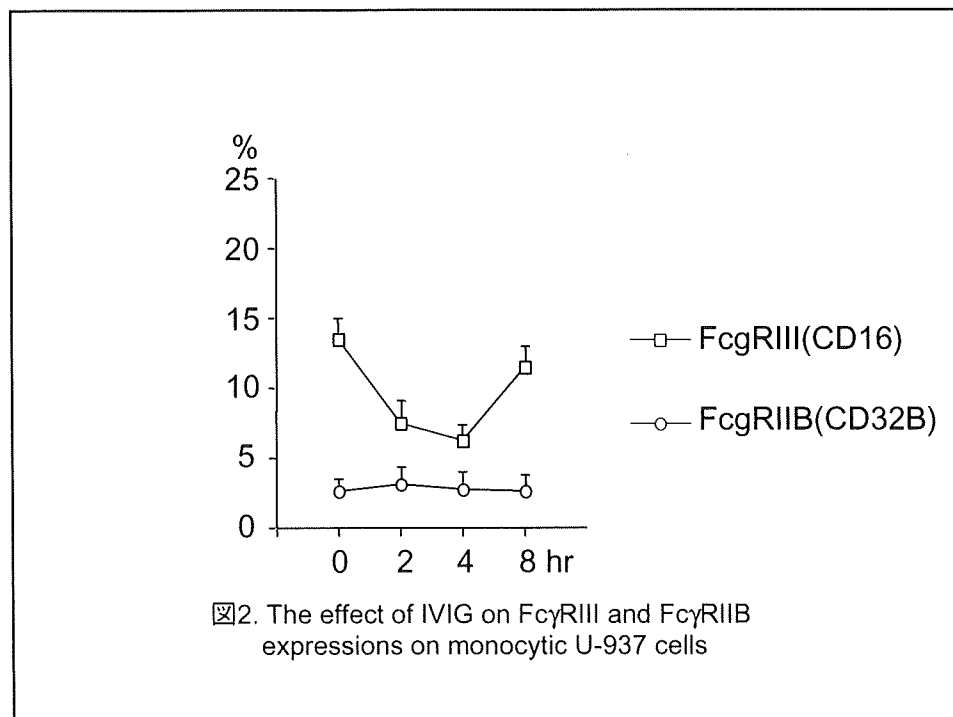
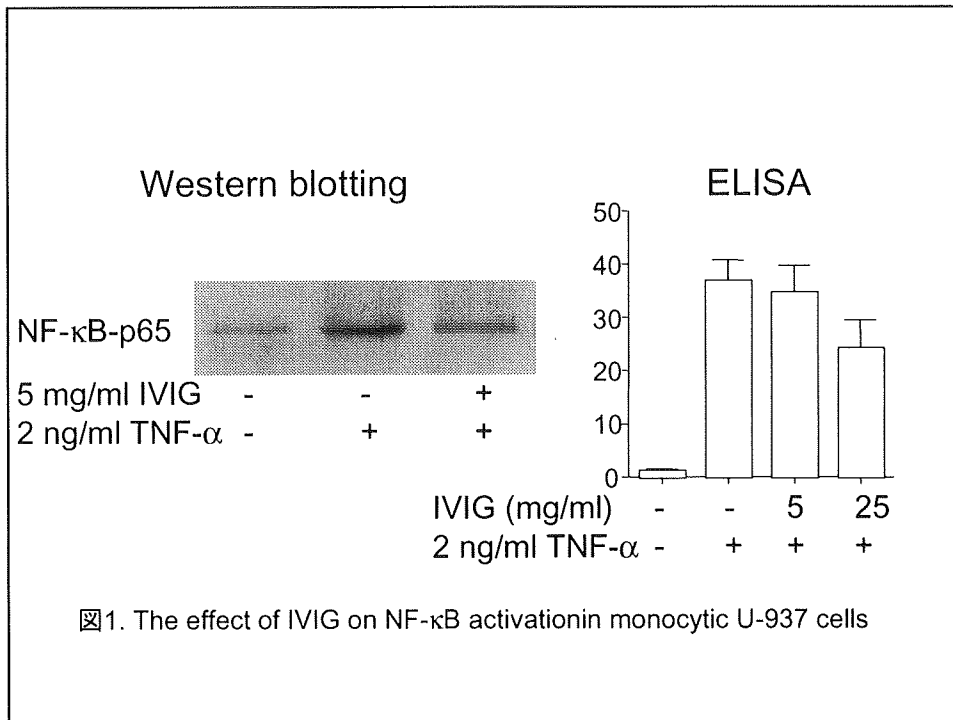
5) Ide F, Matsubara T, Kaneko M, Ichiyama T, Mukoyama T, Furukawa S. Staphylococcal enterotoxin-specific IgE

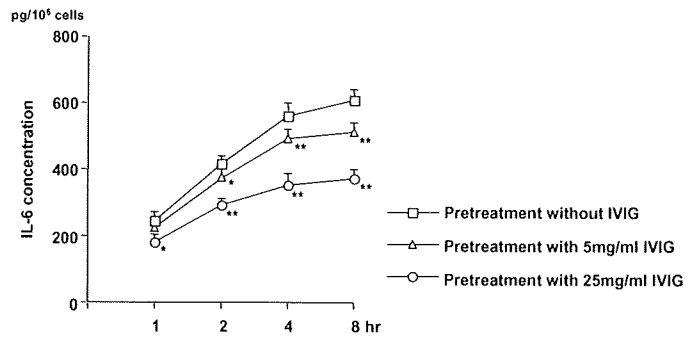
- antibodies in atopic dermatitis. *Pediatr Int* 2004; 46: 337-341.
- 6) Shoji H, Asaoka K, Ayabe M, Ichiyama T, Sakai K. Non-herpetic acute limbic encephalitis: a new subgroup of limbic encephalitis? *Intern Med* 2004; 43: 348.
- 7) Ayukawa H, Matsubara T, Kaneko M, Hasegawa M, Ichiyama T, Furukawa S. Expression of CTLA-4 (CD152) in peripheral blood T cells of children with influenza virus infection including encephalopathy in comparison with respiratory syncytial virus infection. *Clin Exp Immunol* 2004; 137: 151-155.
- 8) Ichiyama T, Morishima T, Isumi H, Matsufuji H, Matubara T, Furukawa S. Analysis of cytokine levels and NF- κ B activation in peripheral blood mononuclear cells in influenza virus-associated encephalopathy. *Cytokine* 2004; 27: 31-37.
- 9) Tada H, Takanashi J, Barkovich AJ, Oba H, Maeda M, Tsukahara H, Suzuki M, Yamamoto T, Shimono T, Ichiyama T, Taoka T, Sohma O, Yoshikawa H, Kohno Y. Clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion. *Neurology* 2004; 63: 1854-1858.
- 10) Ichiyama T, Ueno Y, Hasegawa M, Ishikawa Y, Matsubara T, Furukawa S. Intravenous immunoglobulin does not increase Fc γ RIIB expression in monocytes/macrophages during acute Kawasaki disease. *Rheumatology* 2005; 44: 314-317.
- 11) Matsufuji H, Ichiyama T, Isumi H, Furukawa S. Low-dose carbamazepine therapy for benign infantile convulsions. *Brain Dev* in press
- 12) Ichiyama T, Yoshitomi T, Nishikawa M, Saito K, Matsubara T, Furukawa S. Analysis of cytokine levels in cerebrospinal fluid in mumps meningitis: comparison with echovirus type 30 meningitis. *Cytokine* in press
- 13) Maeba S, Ichiyama T, Ueno Y, Makata H, Matsubara T, Furukawa S. Montelukast inhibits NF- κ B activation and proinflammatory molecules. *Ann Allergy Asthma Immunol* in press
2. 学会発表
- 1) 市山高志、長谷川真成、真方浩行、金子美保、松原知代、古川 漸. ワークショップ. Cysteinyl leukotriene による CD14+ 単球からの MCP-1 産生. 第 107 回日本小児科学会学術集会. 岡山. 2004.4.9-11
- 2) 市山高志、松藤博紀、伊住浩史、古川 漸. 軽症胃腸炎に伴うけいれんに対するカルバマゼピンの有用性. 第 46 回日本小児神経学会. 東京. 2004.7.15-17
- 3) 市山高志. シンポジウム. 脳炎・脳症のサイトカイン解析. 第 9 回日本神経感染症学会. 弘前. 2004.10.8-9
- 4) 市山高志、松藤博紀、伊住浩史、古川 漸. ポリオワクチン接種後に発症したポリオ様麻痺の 1 例. 第 51 回日本小児保健学会. 盛岡. 2004.10.28-30
- 5) 市山高志、長谷川真成、金子美保、松原知代、古川 漸. システイニルロイコトリエンによる単球・マクロファージでの MCP-1

- 産生. 第 54 回日本アレルギー学会総会. 横浜. 2004.11.4-6
- 6) 市山高志、金子美保、松原知代、古川 漸. 川崎病における末梢血 CD14 陽性単球/マクロファージの Fc γ 受容体発現に対する免疫グロブリン療法 (IVIg) の影響. 第 24 回日本川崎病研究会. 京都. 2004.11.12-13
- 7) 市山高志、西河美希、松藤博紀、松原知代、古川 漸. ムンプス髄膜炎とエコーウイルス 30 型髄膜炎の髄液中サイトカインの解析. 第 36 回日本小児感染症学会. 東京. 2004.11.12-13
- 8) 市山高志、長谷川真成、金子美保、松原知代、古川 漸. システイニルロイコトリエンによる単球・マクロファージでの MCP-1 産生. 第 41 回日本小児アレルギー学会. 東京. 2004.11.27-28
- 9) Ichiyama T, Hasegawa M, Ueno Y, Kaneko M, Matsubara T, Furukawa S. Intravenous immunoglobulin inhibits nuclear factor- κ B activation and affects Fc γ receptor expression in monocytes/macrophages. The 8th International Kawasaki Disease Symposium. San Diego. 2005.2.17-20
- 10) 市山高志、石川雄一、堀田紀子、鮎川浩志、松原知代、古川 漸. 末梢血単球/マクロファージの inhibitory receptor Fc γ RIIB 発現に対する免疫グロブリン療法の影響-川崎病と ITP-. 第 8 回中国地区小児免疫薬物療法研究会. 広島. 2005.3.5
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

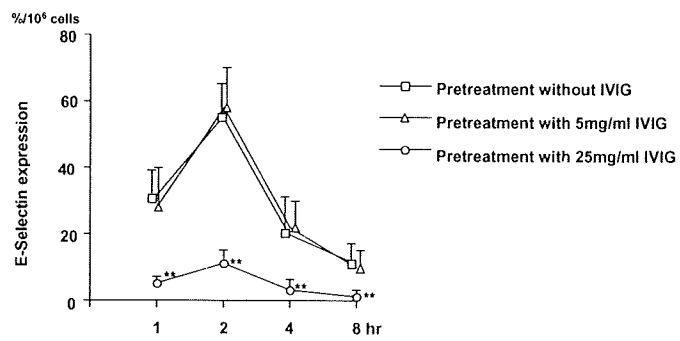
G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし





☒3. The effect of IVIG on IL-6 production of CAEC



☒4. The effect of IVIG on E-selectin expression of CAEC

インフルエンザ脳症の遺伝子多型解析

分担研究者 中村祐輔 東京大学医科学研究所 教授

研究要旨

インフルエンザ脳症の発症に関連する遺伝子を全ゲノム領域を対象とした一塩基多型（SNPs）解析にて同定する。また、同定した遺伝子の情報を用いてインフルエンザ脳症の発症リスクを事前に予測するツールを開発する。本年度は、サンプル収集を行うとともに、インフルエンザ脳症患者およびコントロールを対象として 52,608SNPs に対するタイピングを開始した。

A. 研究目的

日本においてインフルエンザの学童罹患数は、年間 50 万から 100 万人である。そのうち 100 から 300 人がインフルエンザ脳症を合併する。インフルエンザ脳症の死亡率は 30%前後と高く、生存例においても重篤な後遺症を残す症例が多いため社会的関心が高まっている。

インフルエンザ脳症の詳細な発症機序は不明であるが、日本人での報告が多いことから遺伝的背景が関与していると考えられる。本研究では、インフルエンザ脳症発症に関連する遺伝的背景を解明するため、一塩基多型（SNPs）を用いた全ゲノム領域な多型解析を行う。本研究により、インフルエンザ脳症の遺伝的背景を解明できれば、ハイリスク群を事前に特定でき、積極的にワクチン接種を行うという予防が可能となる。また、感受性遺伝子の特定は、インフルエンザ脳症の新たな治療法の開発にもつながると考えられる。

B. 研究方法

研究期間および規模

本研究は、5 年間とし、200 名から検体を採取し解析を行う。

研究対象

対象はインフルエンザ脳症を発症した 1 歳以上の小児および脳症を発症しなかった 1 歳以上のインフルエンザ患者とする。

遺伝子多型解析

インフルエンザ脳症を発症した患者およびインフルエンザに罹患したものの脳症を発症しなかった患者を対象に、全ゲノム領域に配置した 52,608SNPs を用いてゲノムワイド相関解析を施行する。

（倫理面への配慮）

1. 研究等の対象とする個人の人権擁護

本研究に同意するか否かは本人（対象が 16 歳未満の場合は、本人および代諾者）の全くの自由意志に委ねられ、同意しない場合であってもいかなる不利益も被ることはないことを保証する。本研究は、個人情報

の管理に記したように連結可能匿名化を行う。個人識別情報は、担当者 D が厳重に保管・管理し、外部へは決して提供しない。また、同意はいつでも撤回できることを保証する。同意が撤回された場合は、すみやかに検体をオートクレーブにかけ廃棄する。

II. 研究への参加者に理解を求め同意を得る方法

検体の提供を受ける際には、説明文書を用いて提供者（16歳未満の場合は、提供者および代諾者）との質疑応答を経て、本研究についてじゅうぶんに理解されたことを確認した後に同意を得る。これらの説明文書では、本研究の意義、目的、遺伝子解析などについて解説し、プライバシーの保護の方法、提供者の権利、研究に協力することの利益と不利益、本研究終了後の検体の取り扱い方針について説明する。同意をいただいた方には、同意書に自署をお願いする。同意書は、名古屋大学医学部の鍵のかかるロッカーにて厳重に保管・管理する。

III. 研究によって生じる個人への不利益ならびに危険性と科学的な貢献の予測

本研究成果により、インフルエンザ脳症の感受性遺伝子が同定されれば、ハイリスク群をスクリーニングすることが可能となる。インフルエンザの感染予防に対してはワクチンの接種という非常に有効な予防法が存在するため、ハイリスク群に対しては積極的にワクチン接種をすすめることにより、インフルエンザ脳症の罹患を予防することが可能となる。

また、感受性遺伝子の同定は、その遺伝子またはカスケードをターゲットとした新たな治療法の確立にも貢献すると確信する。

個人情報の漏洩により人権の侵害を被る

可能性があるが、本研究では、担当者 D が個人情報を名古屋大学医学部内で厳重に保管・管理し、個人情報・プライバシーの保護には万全をつくす。

インフルエンザ脳症は、ほとんど全てが10歳までの発症であり、遺伝的背景を研究することは、患者の健康に対して利益はあるものの、その後の社会的な不利益や危険性があるとは常識的に考えられない。

IV. 遺伝カウンセリング体制の整備

個人情報の管理に記したように、本研究の結果を提供者が知ることにより提供者や血縁者の生命の危機を回避できる可能性がある。この場合には、遺伝子情報を提供者や家族に報告する可能性がある。そのような遺伝情報を知るとは、生命危機を回避することを目的にしているため、患者および家族の利益となるが、そのことを正確に理解し、受け入れることを支援するために日本遺伝カウンセリング学会認定医が遺伝カウンセリングを行う体制を整備している。

V. 研究終了後の検体の取り扱い

提供者の承諾が得られた場合に限り将来の本研究以外のインフルエンザ脳症に関連した医学研究に用いることがある。ただし、その場合は連結不可能匿名化を行う。研究終了後の保管に関しては、説明文書を用いて提供者（16歳未満の場合は、提供者および代諾者）に十分説明する。

研究終了後の検体の保管を承諾されなかった場合には、すみやかに検体をオートクレーブにかけ破棄する。

C. 研究結果

本年度は、インフルエンザ脳症を発症した患者45名、インフルエンザ脳症を発症し

なかった患者21名のDNAサンプルを収集した。これらを対象に52,608SNPsを用いたタイピングを開始した。来年度に、これらのタイピング結果を元に遺伝統計学的な解析を開始する。

D. 考察

疾患感受性遺伝子の同定法には、候補遺伝子アプローチまたは、全ゲノムを対象としたアプローチが考えられるが、本研究においては、高速・大量 SNP タイピング法を用いたゲノムワイド相関解析を選択した。サンプル数が少ない場合でも、遺伝子型の疾患発症に対する寄与が大きければ十分に疾患関連遺伝子を同定できるものとする。

E. 結論

インフルエンザ脳症の関連遺伝子を同定するために、ゲノムワイド相関解析を開始した。来年度より、遺伝統計学的解析を行う。

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし