

厚生労働科学研究費補助金（特別研究事業）

インフルエンザ（H5N1）の死因となる急性肺障害  
（ARDS）の病態解析とモデル動物の作製に関する研究

（H18-特別-指定-018）

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 鈴木 和 男

平成19（2007）年3月

厚生労働科学研究費補助金（特別研究事業）

総括研究報告

インフルエンザ（H5N1）の死因となる急性肺障害（ARDS）の病態解析と  
モデル動物の作製に関する研究

主任研究者：所属施設：国立感染症研究所 室長

氏名：鈴木和男

分担研究者

所属施設：国立国際医療センター 部長

氏名：河内正治

所属施設：国立国際医療センター 医長

氏名：前原康宏

所属施設：宮崎大学 教授

氏名：布井博幸

所属施設：東邦大学 教授

氏名：本間 栄

所属施設：国立国際医療センター 医長

氏名：松下竹次

所属施設：国立国際医療センター 医師

氏名：尾崎由佳

所属施設：国立国際医療センター 医師

氏名：松谷厚子

所属施設：国立国際医療センター 医師

氏名：笹間麻弥子

所属施設：国立国際医療センター 医師

氏名：鈴木洋平

所属施設：国立感染症研究所 主任研究官

氏名：大川原明子

所属施設：千葉大学 教授

氏名：中山俊憲

所属施設：国立国際医療センター研究所

氏名：山本健二 国際臨床研究センター長

所属施設：国立感染症研究所 室長

氏名：大島正道

所属施設：国立感染症研究所 主任研究官

氏名：永田典代

所属施設：横浜市立大学 準教授

氏名：荒谷康昭

所属施設：東北大学 教授

氏名：川上和義

## 目 次

I. 総括研究報告	
インフルエンザ (H5N1) の死因となる急性肺障害 (ARDS) の病態解析とモデル動物の作製に関する研究	
鈴木和男	1
II. 分担研究報告	
1. 臨床班分科会	
1) ARDS 患者 BALF 液および血漿中のサイトカイン濃度測定とヴェトナムにおけるインフルエンザ (H5N1) を含む ARDS 臨床例の解析計画について	
河内正治	9
2) 日本およびヴェトナムにおける H5N1 を含むインフルエンザ脳症について	
布井博幸	13
3) ALI/ARDS の基礎疾患による差異の検討	
本間 栄	17
2. ベトナムにおける急性肺障害 (ARDS) 調査分科会	
1) ハノイ国立小児病院におけるインフルエンザウイルスの関与が考えられる重症肺炎について	
松下竹次	23
3. 基礎分科会	
1) ARDS 病態モデルとしての VILI マウス作製	
前原康宏	27
2) ARDS における Th1/Th2 バランスの異常	
中山俊憲	29
3) インフルエンザウイルス感染に対する宿主側抵抗因子とその発現誘導の解析	
大島正道	35
4) マウス肺炎球菌肺炎モデルでの肺炎発症病態における自然免疫リンパ球	
川上和義	37
5) ARDS 病態解析のための動物モデルを用いた病理学的基礎検討	
永田典代	41
6) 真菌感染による肺炎誘発機構の解析	
荒谷康昭	45
7) インフルエンザマウスモデルを用いた治療法の予備的検討	
大川原明子	49
8) 半導体ナノ粒子を用いた ARDS の解析にむけて	
山本健二	55
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	59
IV. 研究成果の刊行物・別刷 (主要のみ)	63

## インフルエンザ（H5N1）の死因となる急性肺障害（ARDS）の病態解析と モデル動物の作製に関する研究（H18-特別-指定-018）

主任研究者：鈴木和男 国立感染症研究所 室長

### 研究要旨：

インフルエンザ（H5N1）は、重症の肺急性呼吸障害（ARDS:急性呼吸窮迫症候群）を短時間で誘発し、その病態解析や治療法が確立していないため、新型への移行がおこれば、免疫異常に続くサイトカインストーム爆発による ARDS による死亡者が増大すると推定される。本研究では、インフルエンザ（H5N1）型 ARDS の病態調査と解析を行うと共に、劇症型 ARDS モデル動物作製とサイトカインストーム・免疫機能についての解析法を確立することを目的に、1）インフルエンザ（H5N1）型 ARDS のベトナムでの調査と病態解析、2）ARDS の病態解析、3）急速型 ARDS モデル動物作製、4）サイトカインストーム解析、サイトカイン産生免疫細胞の解析法の確立をめざし、病態解析、ベトナム調査、モデルマウスの作製とサイトカイン・免疫機能解析について計画通り成果が得られた。また、インフルエンザ脳症の病態解析も加えた。

### A. 研究目的

ベトナムをはじめ、東南アジアが発端となって世界の脅威になっているインフルエンザ（H5N1）は、WHO パンデミックフェーズ4以上の新型インフルエンザへの移行の可能性が大きい。インフルエンザ（H5N1）は、これまでのインフルエンザにはない病態を示し、タイをはじめとするインフルエンザ（H5N1）陽性肺炎患者で死亡した病理解剖所見から肺にはウイルスは検出できず、極度の ARDS によって呼吸不全になったことが報告されている(Human Pathol, 2005)。また、ベトナムのケースでは、かなり初期段階の病態での死亡例がある(NEJM, 2005)。その病態から、スペイン風邪(1919年)と類似し、ARDS の誘発が主要な病因となり死因していることがわかってきている。インフルエンザ（H5N1）は病初期から急速に ARDS が進行し、他のインフルエンザの胸部 X 線像とは大幅に異なり、爆発的なサイトカインスト

ームに続く好中球・マクロファージ浸潤を類推させていることから、もし、新型のインフルエンザとして流行した場合、その脅威は極めて大きく、緊急の行政対応が必至である。しかし、わが国では、インフルエンザ（H5N1）患者の発生はなく、病態を直接解析できる状況にないため、インフルエンザ（H5N1）に最も近い病態の ARDS 患者の初期における BAL 中および血清中のサイトカインストームとその産生機構にかかわる因子を特定する必要がある。また、インフルエンザ（H5N1）は、ごく初期の 48 時間までは、抗インフルエンザウイルス薬は有効であるが、それ以後の病態、特に、インフルエンザ（H5N1）のサイトカインストームおよび ARDS の誘導後は治療薬として全く機能しない。ARDS 対策は、国内でも ICU などの高度施設が完備した病院に限っており、まして、BAL などの採取は、呼吸器内科医でも容易では無い状況にある。タミフルの有効性が期待

できない ARDS の病態をいかに食い止め、死亡率低減を図ることが行政対応の面からも必須である。感染初期に有効なタミフルやワクチン以外にも治療メニューを提示し、サイトカインストーム、インフルエンザ (H5N1) 型 ARDS の進行と死亡を抑制し、インフルエンザ (H5N1) による死亡率を低減することが必要である。そこで、本研究では、1) インフルエンザ (H5N1) 型 ARDS のベトナムでの調査と病態解析、2) 急速型 ARDS モデル動物作製、3) サイトカインストーム解析、サイトカイン産生細胞の解析法の確立を目的とした。本特別研究の成果に基づいて、19年度以後の研究プロジェクトの推進に役立てる

## B. 研究方法

### 各分担者の項参照

#### 倫理規定について

患者の血液・血清の使用に当たっては、主任研究者の該当部分については、国立感染症研究所の倫理委員会 (以下「委員会」) 規定に従い実施した。具体的には、患者の検体が派生することが予想される場合には、1) 研究計画を含む具体的な研究計画書、2) 主治医を含む共同研究者との合意文書、患者とのインフォームドコンセントに関する実施計画概要を記載した書式を予め「委員会」に提出し、「委員会」の許可を得て実施することとし、個人情報とはコード化し、ネットワークでの個人情報交換はしないなど、プライバシー情報の漏洩がないよう万事を期した。また、分担研究者において実施する場合も同様の手順により行い、所属機関の倫理規定により許可を得て実施した。さらに、動物実験に関しては、動物実験計画書を所属機関の動物委員会 (分担研究者においては当該機関の同等委員会) の許可を得て、動物愛護のもとに研究を実施した。

## C. 研究結果

インフルエンザ (H5N1) は、重症の肺急性呼吸障害 (ARDS:急性呼吸窮迫症候群) を短時間で誘発し、その病態解析や治療法が確立していないため、新型への移行がおこれば、免疫異常に続くサイトカインストーム爆発による ARDS による死亡者が増大すると推定される。本研究では、インフルエンザ (H5N1) 型 ARDS の病態調査と解析を行うと

共に、劇症型 ARDS モデル動物作製とサイトカインストーム・免疫機能についての解析法を確立する。具体的には、1) インフルエンザ (H5N1) 型 ARDS のベトナムでの調査と病態解析、2) ARDS の病態解析、3) 急速型 ARDS モデル動物作製、4) サイトカインストーム解析、サイトカイン産生免疫細胞の解析法を確立をめざし、以下のような成果が得られた。

### 1. 臨床班分科会：急性肺障害 (ARDS) の病態解析に関する臨床分科会

#### 1) 急性肺障害 (ARDS) の病態解析

(河内正治 国立国際医療センター手術部)

インフルエンザ (H5N1) は、重症の肺急性呼吸障害 (ARDS:急性呼吸窮迫症候群) を短時間で誘発し、急速に進展して呼吸不全から死にいたると考えられる。その病態解析や治療法が確立していないため、ARDS の病態解析とその治療法の開発が必須である。河内は、①ARDS 患者 BALF 液および血漿中のサイトカイン濃度測定、②ベトナムにおけるインフルエンザ (H5N1) を含む ARDS 臨床例の解析計画の作成に関する研究を行った。

臨床班としては、(1)ARDS 患者 BALF 液および血漿中のサイトカイン濃度測定の試み (河内)、(2)ベトナムにおけるインフルエンザ (H5N1) を含む ARDS 臨床例の解析計画の作成 (ベトナムハノイの国立小児病院、国立熱帯感染症研究所スタッフと共に) (河内、布井、松下)、(3)日本の臨床現場における ARDS の現状調査 (本間)、(4)日本、およびベトナムにおける H5N1 を含むインフルエンザ脳症について調査 (布井)、以上 4 点を行った。

#### 2) 日本、およびベトナムにおける H5N1 を含むインフルエンザ脳症について

(布井博幸：宮崎大学医学部生殖発達学)

H1/H3 インフルエンザ感染症では時に全身臓器不全が起こり、一部がインフルエンザ脳症を呈し、極めて予後の悪い経過をたどっている。我々はこの全身臓器不全の病因が高サイトカイン血症を基礎とした臓器アポトーシスではないかと、血中 Cytochrome c を測定し、提案して来た。一方 H5N1 インフルエンザは、重症の肺急性呼吸障害 (ARDS:急性呼吸窮迫症候群) を短時間で誘発し、急速に進展して呼吸不全から死にいたると考えられる。まだヒト化してはいないものの、パンデ

ミックな流行が非常に懸念されている。H1/H3 インフルエンザ感染症と比較するとH5 インフルエンザによる病態解析や治療法が確立していないため、今回のプロジェクトでは日本およびベトナムにおけるH5N1を含むインフルエンザ重症感染症についての病態解明を行い、治療法を展開したいと考えている。

3) ALI/ARDS の基礎疾患による差異の検討  
(本間 栄、廣田直：東邦大学医療センター大森病院呼吸器内科)

ALI/ARDS は種々の病態で発症し、その原因は直接損傷と間接損傷の2群に大別される。これら2群は病態生理、治療に対する反応にも違いがあることが報告されており、その発症機序を理解する上で重要である。ところが臨床現場において、これらは明確に区別されておらず、病態に応じた治療はこれからの課題である。今回、上記の視点から当施設のALI/ARDS症例について、その臨床像を検討した。その結果、両群間で死亡率、ICU在室日数、PaO<sub>2</sub>/FIO<sub>2</sub>比変化率などに差異を認めなかった。直接損傷群で予後が悪いという今までの報告を支持しない結果となった。直接損傷群ではステロイド投与が多く行われており、ステロイド投与の是非について更なる検討が必要と考えられた。

## 2. ベトナムにおける急性肺障害 (ARDS) 調査分科会

・ハノイ国立小児病院におけるインフルエンザウイルスの関与が考えられる重症肺炎

(松下竹次、尾崎 由佳、松谷 厚子、笠間麻弥子、鈴木 洋平：国立国際医療センター)

ハノイ国立小児病院で供覧されたH5N1陰性の重症肺炎(インフルエンザ簡易キット陽性と考えられる)の男児例について考察した。本例は比較的速やかに改善しており、抗生剤の投与はされているものの、抗ウイルス剤(オセタミビル)の効果も考えられた。鳥インフルエンザの臨床像は次第に明らかにされつつあるが、不明な点も多い。ウイルスの関与が考えられるがH5N1陰性である重症肺炎をも含めた症例についての臨床像を十分に把握することが、鳥インフルエンザや新型インフルエンザの対策に重要となると考えられた。

## 3. 基礎分科会：急性肺障害 (ARDS) モデルマウスおよびサイトカインストームおよび免疫機能解析

1) ARDS 病態モデルとしての VILI マウス作製

(前原康宏、河内正治：国立国際医療センター麻酔科、鈴木和男：国立感染症研究所)

インフルエンザ(H5N1)の死因となる重症ARDSの動物モデルとして、人工呼吸誘発性肺傷害(VILI)モデルマウスを作製を試みた。マウス(BALB/c、C57BL/N)を麻酔下に気管切開、動脈カニューレ挿入し、モニター下に高換気量・高気道内圧で人工呼吸を継続した。高気道内圧で人工呼吸を継続したマウスでは、約1時間後に致死性となった。採血、肺胞洗浄(BALF)液採取を行ったところ、サイトカインの測定が可能であった。本研究で、臨床像からはVILIの発症が疑われるマウスが作製された。

2) ARDS における Th1/Th2 バランスの異常  
(中山俊憲：千葉大学大学院医学研究院)

ナイーブCD4T細胞は、外来抗原の刺激により末梢リンパ組織でそれぞれ異なったリンホカインを産生するTh1またはTh2タイプのメモリーT細胞に分化する。Th1細胞とTh2細胞は互いにバランスをとりながら生体防御機構における中心的な役割を担っており、感染症やアレルギーの病態とTh1とTh2のバランスには密接な関係があると考えられている。CD69分子はc-type lectin familyに属するII型の膜分子で、リンパ球の活性化の指標として広く用いられているが、機能の詳細は不明である。これまでにCD69ノックアウトマウスを作製するなどして、アレルギー性喘息の発症におけるCD69分子の重要性を明らかにした。今後、ARDSの発症にともなう肺への炎症細胞の浸潤について検討し、Th1/Th2バランスの解析を行う。また急性免疫炎症細胞浸潤を抑制して気道の炎症を抑える手法の開発を行う。

3) インフルエンザウイルス感染に対する宿主側抵抗因子とその発現誘導の解析

(大島正道：国立感染症研究所)

外部からのウイルス感染に対して細胞側ではインターフェロン、MxA, OAS, Fasなど感染防御に働く宿主遺伝子が誘導され感染に対抗する。一方インフルエンザウイルスはウイルス蛋白NS1を発現し宿主の抵抗因子発現を抑制し細胞を自らの複製の場に改変しようとする。気管支系の細胞株NCI-H292はこの戦いに勝ちインフルエンザウイルスを排除で

きるが肺胞系の細胞株 A549 は排除できず死滅する。ジーンチップによる解析の結果インフルエンザウイルス感受性の A549 細胞ではウイルス感染誘導遺伝子(VSG)の発現はインフルエンザウイルス抵抗性の NCI-H292細胞に比べて抑制されている。細胞のウイルス抵抗性因子の誘導発現の相違が一時防御における結果の相違をもたらしていることが示唆される。

#### 4) マウス肺炎球菌肺炎モデルでの肺炎発症病態における自然免疫リンパ球 (川上和義：東北大学医学部)

急性肺障害 (ARDS) は、感染症などに伴って起こり、急激な呼吸障害を来し重篤化する。本研究では、マウス肺炎球菌肺炎モデルを用いて、肺炎の発症病態における自然免疫リンパ球、Th1 サイトカインについて解析を行った。肺炎球菌感染後肺内で経時的な iNKT 細胞及び  $V\gamma 4+\gamma \delta T$  細胞の集積がみられ、iNKT 細胞の集積には MCP-1 の存在が必須であった。iNKT 細胞、 $V\gamma 4+\gamma \delta T$  細胞を欠損したマウスでは、肺内での TNF- $\alpha$ 、MIP-2 産生が低下し、好中球性炎症の減弱がみられ、感染が著明に悪化した。iNKT 細胞の機能には IFN- $\gamma$  が重要な役割を担い、一方  $V\gamma 4+\gamma \delta T$  細胞は異なる機序で働くことが推察された。本モデルでの TNF- $\alpha$  産生には、CD11b 強陽性 Gr-1 陽性細胞、すなわち好中球が関与する可能性が考えられた。以上から、自然免疫リンパ球が肺炎の病態に深く関与することが明らかになり、ARDS の発症においてもその機能解析が重要になると考えられた。

#### 5) ARDS 病態解析のための動物モデルを用いた病理学的基礎検討

(永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐藤由子、原嶋綾子、佐多徹太郎：国立感染症研究所・感染病理部：福士秀悦、西條政幸、森川茂：同所、ウイルス第一部)

インフルエンザ (H5N1) 感染による急性肺障害 (ARDS) 発症機序を解明するための基礎検討として、これまでわれわれが開発した呼吸器ウイルス感染動物モデルを用いた急性肺炎の病理学的解析についてまとめた。ラットで継代し馴化した重症急性呼吸器症候群コロナウイルス (SARS-CoV) は、老齢動物に対し SARS 様病変をひきおこす。病理学的には、気管と肺胞の上皮に感染したウイルスが増殖した結果、肺胞上皮傷害、マクロファ

ージの活性化と好中球遊走が肺胞構造に破綻を来し、肺胞壁の透過性が亢進する。これによって、肺水腫と硝子膜形成がおり、典型的なびまん性肺胞傷害の組織像を形成する。本モデルにおける肺障害組織像はつよい肺水腫によって特徴づけられ、H5N1 によるそれとは病態が異なる可能性がある。

#### 6) 真菌感染による肺炎誘発機構の解析 (荒谷康昭：横浜市立大学)

ミエロペルオキシダーゼ (MPO) 欠損マウスは、クリプトコッカス (*Cryptococcus neoformans*) を鼻腔内投与によって、肺における易感染性を示して重篤な肺炎を起こした。感染時のこのマウスの肺の Th1/Th2 サイトカインバランスは攪乱しており、このことがこのマウスが重篤な肺炎を発症する一因であることが示唆された。

#### 7) インフルエンザマウスモデルを用いた治療効果

(大川原 明子、山本紀一、鈴木和男：国立感染症研究所)

マウス型に馴化したヒトインフルエンザ PR-8 株 (H1N1) を鼻腔感染することによって発症するマウスモデル系を確立した。感染 7 日目から死亡する個体を認め、15 日目に全例の死亡を確認した。一方、グロブリン製剤、CD69 に対する抗体、また好中球活性化の阻害剤を投与することにより、炎症関連サイトカイン産生の抑制、生存の改善が認められた。これらの知見から、感染直後の好中球活性化が病態の進行に関与する可能性が考えられた。

#### D. 考察

インフルエンザ (H5N1) は、これまでのインフルエンザにはない病態を示し、病理解剖所見から肺にはウイルスは検出できず、極度の ARDS によって呼吸不全になったことが報告されている (Human Pathol, 2005)。また、ベトナムのケースでは、かなり初期段階の病態での死亡例がある (NEJM, 2005)。その病態から、スペイン風邪 (1919 年) と類似し、ARDS の誘発が主要な病因となり死因していることがわかってきている。インフルエンザ (H5N1) は病初期から急速に ARDS が進行し、他のインフルエンザの胸部 X 線像とは大幅に異なり、爆発的なサイトカインストームに続く好中球・マクロファージ浸潤を類推

させていることから、その脅威は極めて大きく、緊急の行政対応が必至である。

しかし、わが国では、インフルエンザ（H5N1）患者の病態を直接解析できる状況にないため、インフルエンザ（H5N1）に最も近い病態の ARDS 患者の初期における BAL 中および血清中のサイトカインストームとその産生機構にかかわる因子を特定する必要がある。

また、インフルエンザ（H5N1）のサイトカインストームに関連した ARDS の病態をいかに食い止め、死亡率低減を図ることが行政対応の面からも必須である。

本研究での成果は、1) インフルエンザ（H5N1）型 ARDS のベトナムでの調査と病態解析、2) 急速型 ARDS モデル動物作製、3) サイトカインストーム解析、サイトカイン産生細胞の解析法の確立を目的とし、成果が得られた。

本研究の成果により、19年度以後の研究では、特別研究の準備の条件に基づいて、1) ひきつづき、インフルエンザ（H5N1）型 ARDS の病態解析し公表する。2) 作製した ARDS モデル動物と ARDS 患者の初期病態に連動するサイトカインの変動を少量の検体（15 $\mu$ L）を用いて多数のサイトカインを多重測定装置により定量し、その産生機構を明らかにする。3) モデル動物と ARDS 患者のサイトカインから特定マーカとなる因子を抽出する。4) ARDS における好中球浸潤にかかわるサイトカインと、その調節にかかわる分子の特定もモデルマウスおよび ARDS 患者の BAL および血清から解析する。それにより、インフルエンザ（H5N1）感染による急速型 ARDS 患者病態のモデルとなる動物を使用してサイトカインストームと産生細胞の機能調節分子を明らかにし、インフルエンザ（H5N1）型 ARDS の迅速特異診断および治療法を提案できるようにすることが重要である。

## E. 結論

インフルエンザ（H5N1）は、重症の肺急性呼吸障害（ARDS:急性呼吸窮迫症候群）を短時間で誘発し、その病態解析や治療法が確立していないため、新型への移行がおこれば、免疫異常に続くサイトカインストーム爆発による ARDS による死亡者が増大すると推定される。本研究では、インフルエンザ（H5N1）型 ARDS の病態調査と解析を行うと

共に、劇症型 ARDS モデル動物作製とサイトカインストーム・免疫機能についての解析法を確立する。具体的には、1) インフルエンザ（H5N1）型 ARDS のベトナムでの調査と病態解析、2) ARDS の病態解析、3) 急速型 ARDS モデル動物作製、4) サイトカインストーム解析、サイトカイン産生免疫細胞の解析法の確立をめざし、以下の項目について成果が得られた（詳細は、分担者の項参照）

### 1. 臨床班分科会：

- 1) 急性肺障害（ARDS）の病態解析
- 2) インフルエンザ脳症の病態解析
- 3) ALI/ARDS の基礎疾患による差異の検討

### 2. ベトナムにおける急性肺障害（ARDS）調査分科会

ハノイ国立小児病院におけるインフルエンザウイルスの関与が考えられる重症肺炎

### 3. 急性肺障害（ARDS）モデルマウスおよび基礎分科会

- 1) ARDS 病態モデルとしての VILI マウス作製
- 2) ARDS における Th1/Th2 バランスの異常
- 3) インフルエンザウイルス感染に対する宿主側抵抗因子とその発現誘導の解析
- 4) マウス肺炎球菌肺炎モデルでの肺炎発症病態における自然免疫リンパ球
- 5) ARDS 病態解析のための動物モデルを用いた病理学的基礎検討
- 6) インフルエンザマウスモデルを用いた治療効果
- 7) 真菌感染による肺炎誘発機構の解析

尚、本プロジェクトは、分担者研究に加え、以下の協力研究者の協力を得た。

### 協力研究者、アドバイザー

#### 1) 臨床分科会

小林茂人(順天堂大学附属順天堂越谷病院)  
斉藤玲子(新潟大学大学院)  
野津朋子(東京女子医科大学病院)  
佐藤正規(国立国際医療センター)  
豊田恵美子(国立国際医療センター)

#### 2) 基礎分科会

高田正雄(英国 Imperial Collage)  
赤川清子(北里研究所)



平橋淳一 (東京大学病院腎臓内科)  
星野昭芳(国立国際医療センター研究所)  
鳥羽健 (新潟大学大学院医歯学研究院)

### 3) アドバイザー

小川道雄(熊本労災病院、院長)  
藤倉敏夫 (慶応義塾大学病院)

## F. 健康危険情報

- 2006年11月に韓国で、2007年1月、2月に日本宮崎県にてトリ間のH5N1インフルエンザの大流行が生じた。
- 2007年3月10日にラオスでH5N1のヒト感染症例が発生し、二人死亡。ベトナム国立熱帯感染症研究所がサポートしている。

## G. 研究発表：主任研究者分のみ

(分担者については分担者の項を参照)

### 1. 論文発表

- Akiko Ishida-Okawara, Noriko Nagai-Miura, Toshiaki Oharaseki, Kei Takahashi, Akinori Okumura, Hitoshi Tachikawa, Shin-ichiro Kashiwamura, Haruki Okamura, Naohito Ohno, Hidechika Okada, Peter. A. Ward, Kazuo Suzuki. Neutrophil activation and induced by *C. albicans* water-soluble mannoprotein- $\beta$ -glucan complex (CAWS). *Exp. Mol. Pathol.* in press.
- Tomokazu Nagao, Mimiko Matsumura, Ayako Mabuchi, Akiko Ishida-Okawara, Osamu Koshio, Haruyuki Minamitani, and Kazuo Suzuki. Up-regulation of adhesion molecule expression in glomerular endothelial cells by anti-myeloperoxidase antibody. *Nephrol. Dialysis Transplant.* 22: 77-87, 2007.
- Shinohara Hiroyasu Nagai-Miura Noriko Ishibashi Ken-ichi, Adachi Yoshiyuki Akiko Ishida-Okawara, Toshiaki Oharaseki, Kei Takahashi, Shiro Naoe, Kazuo Suzuki, and Naohito Ohno. Beta-mannosyl linkages negatively regulate anaphylaxis and vasculitis in mice, induced by CAWS, fungal PAMPs composed of mannoprotein-beta-glucan complex secreted by *Candida albicans*. *Biol. Pharm. Bull.* 29: 1854-1861, 2006.
- Shouichi Fujimoto, Shigehiro Uezono, Shuichi Hisanaga, Keiichi Fukudome, Shigeto Kobayashi, Kazuo Suzuki, Hiroshi Hashimoto, Hiroyuki Nakao, Hiroyuki Nunoi. Incidence of ANCA-associated primary renal

vasculitis in Miyazaki Prefecture: The first population-based, retrospective epidemiological survey in Japan. *Clinical Journal of American Society of Nephrology.* 1: 1016-1022, 2006.

- Yasuaki Aratani, Fumiaki Kura, Haruo Watanabe, Hisayoshi Akagawa, Yukie Takano, Akiko Ishida-Okawara, Kazuo Suzuki, Nobuyo Maeda, and Hideki Koyama. Contribution of the myeloperoxidase-dependent oxidative system to host defense against *Cryptococcus neoformans*. *J. Med. Microbiol.* 55: 1291-1299, 2006.
  - A. S. Persad, Y. Kameoka, S. Kanda, Y. Niho, K. Suzuki. Arginine to Cysteine Mutation (R499C) Found in a Japanese Patient with Complete Myeloperoxidase Deficiency. *Gene Expression* 13: 67-71, 2006.
  - N. Nagai-Miura, T. Harada, H. Shinohara, K. Kurihara, Y. Adachi, A. Ishida-Okawara, T. Oharaseki, K. Takahashi, S. Naoe, K. Suzuki and N. Ohno. Lethal and severe coronary arteritis in DBA/2 mice induced by fungal pathogen, CAWS, *Candida albicans* water-soluble fraction. *Atherosclerosis* 186: 310-320, 2006.
- ### 2. 学会発表
- 国際会議
- Nozu T, Matsumura M, Nagao T, Kobayashi M, Okawara A, Hasegawa A, Nakayama T, Nagai A, Suzuki K Function of the primary pulmonary endothelial cells associated with activated neutrophils. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol., Kyoto, June 18-23, 2006
  - Kobayashi M, Matsumura M, Nagano T, Hoshino A, Okawara A, Aratani Y, Minamitani H, Suzuki K
  - Glomerular endothelial cell activation in vasculitis Induced by anti-myeloperoxidase antibody and activated neutrophils. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol., Kyoto, June 18-23, 2006
  - Tachikawa H, Okawara O, Suzuki K. Contribution of the systemic, splenic, and renal Th2 responses to the developing glomerulonephritis in NCA-associated crescent-forming glomerulonephritis mice. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol., Kyoto, June 18-23, 2006
  - Tomizawa K, Suzuki R, Tanokura M, Suzuki K. Analysis of MPO-ANCA Binding Site of MPO Molecule Surface Regions. June 18-23, 2006
  - Hoshino A, Nagao T, Tokunaka K, Okawara A, Ihara T, Uno K, Muso E, Miura N, Ohno N,

Yasuhara M, Yamamoto K, Suzuki K  
Myeloperoxidase (MPO) on Activation  
Neutrophils and anti-MPO Antibody involve  
the Initiation of Glomerulonephritis and  
Vasculitis induced by *Candida albicans*  
Glycoprotein. 20th Int. Cong. Biochem. and  
Mol. Biol., Kyoto, June 18-23, 2006

- Aratani Y, Kura F, Watanabe H, Akagawa H, Takano Y, Okawara A, Suzuki K, Maeda N, and Koyama H. In vivo role of myeloperoxidase for the host defense against fungal infection. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol., Kyoto, June 18-23, 2006

#### 国内会議

- 永井厚志、近藤光子、野津朋子、鈴木和男  
間質性肺炎における ANCA 陽性例の  
Prevalence と病態 第 103 回日本内科学会総  
会・年次講演会(横浜)4 月 14-16 日
- 太刀川仁、Mahmoud Ramadan、小玉 誠、大  
川原明子、三間 渉、伊藤正洋、柏村 健、広  
野 暁、鈴木和男、相澤義房 冠動脈疾患患  
者における MPO-ANCA の挙動 第 103 回日本  
内科学会総会・年次講演会(横浜)4 月 14-16  
日
- 荒谷康昭、倉文明、渡辺治雄、高野幸枝、大  
川原明子、鈴木和男、小山秀機 クリプトコッカ  
ス感染防御におけるミエロペルオキシダーゼの  
関与 第 27 回関東医真菌懇話会(東京)5 月  
27 日
- 鈴木和男 活性化好中球と MPO-ANCA による  
糸球体内皮細胞傷害 第 49 回日本腎臓学  
会学術総会 シンポジウム「ANCA 関連血管  
炎の病理と臨床」(東京)6 月 14-16 日、
- 小林美登里、松村実美子、長尾朋和、荒谷康  
昭、星野昭芳、大川原明子、山本健二、南谷  
晴之、鈴木和男 血管炎発症に関わる  
MPO-ANCA は直接糸球体内皮細胞へ作用す  
る 第 17 回日本生体防御学会学術集会(札  
幌)7 月 27-29 日
- 荒谷康昭、倉文明、渡辺治雄、赤川久義、高  
野幸枝、大川原明子、鈴木和男、小山秀機 ク  
リプトコッカス感染防御における  
MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Cl<sup>-</sup>系の関与 第 12 回 MPO 研究  
会(大阪)9 月 22-23 日
- 原田敏江、三浦典子、安達禎之、Keiko Ozato、  
鈴木和男、大野尚仁 CAWS 血管炎における  
IRF-8 の役割 第 12 回 MPO 研究会(大阪)9  
月 22-23 日
- 大川原明子、三浦 典子、大原関利章、高橋  
啓、岡田秀親、大野尚仁、鈴木和男 CAWS  
培養条件の違いによる好中球活性化への影響  
第 12 回 MPO 研究会(大阪)9 月 22-23 日
- 三浦典子、安達禎之、大原関利章、高橋啓、  
大川原明子、鈴木和男、大野尚仁 各種マウ  
ス系統を用いた CAWS 血管炎発症に関わる遺  
伝的素因の解析 第 12 回 MPO 研究会(大阪)  
9 月 22-23 日
- 駒井元彦、高野雄介、三浦典子、安達禎之、

鈴木和男、大野尚仁 CBA/J, CBA/N マウス  
における CAWS 血管炎の検討 第 12 回 MPO  
研究会(大阪)9 月 22-23 日

- Suzuki K, Nauseef W ミエロペルオキシダーゼ  
(MPO)の生体防御における役割 第 12 回 MP  
O 研究会(大阪)9 月 22-23 日
- 高橋啓、大原関利章、山田仁美、三浦典子、  
大野尚仁、村山研、野津朋子、松村実美子、  
大川原明子、鈴木和男、新井孝夫、荒谷康昭  
CAWS 誘発血管炎モデルにおける合成免疫グ  
ロブリン(SyIG)の血管炎抑制作用 第 12 回 MP  
O 研究会(大阪)9 月 22-23 日
- 星野昭芳、猪原登志子、宇野賀津子、武曾恵  
理、山本健二、鈴木和男 抗 MPO 抗体誘導マ  
ウス全身血管炎モデルにおける活性化好中球  
からのサイトカイン産生 第 12 回 MPO 研究会  
(大阪)9 月 22-23 日
- 富澤一夫、大川原明子、雑賀寛、田之倉優、  
鈴木和男 急性進行性糸球体腎炎モデル  
SCG/Kj マウスの MPO-ANCA 病因エピトープ  
は治療により減少する 第 12 回 MPO 研究会  
(大阪)9 月 22-23 日
- 星野昭芳、山本健二、鈴木和男 抗 MPO 自己  
抗体誘導マウス全身血管炎モデルにおける抗  
体の挙動を蛍光ナノ粒子標識 QD 抗 MPO 抗  
体でイメージングする 第 15 回 バイオイメージ  
ング学会(盛岡)10 月 31-11 月 2 日
- Ishida-Okawara A., Nagi-Miura N., Oharaseki  
T., Takahashi K., Okada H., Ohno N., and  
Suzuki K. Neutrophil Activation by CAWS in  
Different Cultured Condition (CAWS 調整時  
の異なった菌の培養条件による好中球活性化  
の相違)第 36 回日本免疫学会総会・学術集会  
(大阪)12 月 11-13 日
- Hoshino, A., Okawara, A., Yamamoto, K., and  
Suzuki K. 星野昭芳、大川原明子、山本健二、  
鈴木和男 Activated neutrophils produce  
IL-17 and IL-23 by MPO-ANCA in *Candida*  
*albicans*-derived manno-protein-induced  
murine systemic (カンジダ由来マンノプロテイン  
誘導のマウス全身性血管炎における  
MPO-ANCA によって活性化された好中球が  
IL-17 と IL-23 を産生)第 36 回日本免疫学会  
総会・学術集会(大阪)12 月 11-13 日
- 三浦典子、安達禎之、大原関利章、高橋啓、  
大川原明子、鈴木和男 CAWS 血管炎の発症  
と重篤かに関わる遺伝的素因の各種マウス系  
統を用いた解析 第 36 回日本免疫学会総会・  
学術集会(大阪)12 月 11-13 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

ARDS 患者 BALF 液および血漿中のサイトカイン濃度測定とヴェトナムにおけるインフルエンザ（H5N1）を含む ARDS 臨床例の解析計画について

分担研究者 河内正治 国立国際医療センター 手術部長

研究要旨：

インフルエンザ（H5N1）は、重症の肺急性呼吸障害（ARDS:急性呼吸窮迫症候群）を短時間で誘発し、急速に進展して呼吸不全から死にいたると考えられる。その病態解析や治療法が確立していないため、ARDS の病態解析とその治療法の開発が必須である。この特別研究臨床班では、①ARDS 患者 BALF 液および血漿中のサイトカイン濃度測定の試み（河内）、②ヴェトナムにおけるインフルエンザ（H5N1）を含む ARDS 臨床例の解析計画の作成（ヴェトナムハノイの国立小児病院、国立熱帯感染症研究所スタッフと共に）（河内、布井、松下）、③ALI/ARDS の基礎疾患による差異の検討（本間）、④日本、およびヴェトナムにおける H5N1 を含むインフルエンザ脳症について調査（布井）、以上 4 点を行なった。

A. 研究目的

インフルエンザ（H5N1）は、重症の肺急性呼吸障害（ARDS:急性呼吸窮迫症候群）を短時間で誘発し、急速に進展して呼吸不全から死にいたると考えられる。その病態解析や治療法が確立していないため、ARDS の病態とその治療法の開発が必須である。そのためにはインフルエンザ（H5N1）型 ARDS の病態調査と解析と共に、急速性 ARDS モデル動物作製とサイトカINSTORM 多重測定法・細胞機能解析法を確立することが必要である。

本特別研究の臨床班で河内は、①ARDS 患者 BALF 液および血漿中のサイトカイン濃度測定、②ヴェトナムにおけるインフルエンザ（H5N1）を含む ARDS 臨床例の解析計画の作成、を目的とした。

B. 研究方法

①ARDS 患者 BALF 液および血漿中のサイトカイン濃度測定：国立国際医療センター ICU 入室中の患者で、当該患者の治療上肺胞気管洗浄液（BALF）の解析を必要とすると担当医師が判断し、BALF を採取した検体について、そのサイトカイン測定部分について Bio-Plex を用いて測定した。

②ヴェトナムにおけるインフルエンザ（H5N1）を含む ARDS 臨床例の解析計画の作成：ハノイの国立小児病院（NHP: National Hospital Pediatrics）、および国立熱帯感染症研究所（NIITD: National Institute of Infectious Tropical Diseases）において、ARDS 研究班を立ち上げて共同研究することが可能かどうか、ARDS 患者数や疾患の重症度を含めてそれぞれの病院

長を含む担当医師団と協議し、Study Protocol の Outline を作製した。

### C. 研究結果

① ARDS 患者 BALF 液および血漿中のサイトカイン濃度測定：4 名の ARDS 症例と 2 名の重症肺疾患患者において血漿 12 検体 BALF 11 検体、合計 23 検体の 17 種類サイトカイン同時測定を行った。結果、2 例の呼吸障害患者に比較して ARDS 患者 4 例では、超急性期 BALF 中のサイトカインのうち GCSF, MCP-1(MCAF), MIP-1b が非常に高値を示した。血漿サイトカイン値に着いてはそれほど顕著な差は認めなかった (図 1、図 2)。

② ヴェトナムにおけるインフルエンザ (H5N1) を含む ARDS 臨床例の解析計画の作成：NIITD では年間約 40 例の moderate~severe~fulminant ARDS 症例が、また NHP では約 30 例の症例があるので、本研究の症例数は 3 年間で NIITD 60 例、NHP 45 例ぐらいが適当であるという結論になった。

### D. 考案

ARDS 患者においては、超急性期の BALF は比較的採取が困難で、特に多種の cytokine の測定報告は無い。今回の測定症例 4 例は、いずれも BALF 採取時期は発症後 24 時間以内で気管内挿管後 3 時間以内であり、超急性期 ARDS の性状を反映していると考えられる。好中球等の肺胞内への遊走は ARDS においてはしばしば認められるとされ、GCSF, MCP-1(MCAF), MIP-1b が高値を示していることはこのことを裏付ける意味を持ちうる。したがってこれらの cytokines の高値は ARDS に特徴的なものである可能

性はあるが、症例数がまだ少なく引き続き検討を要する。

ヴェトナムとの共同プロジェクトになりうる ARDS 研究のプロトコルについては、ヴェトナム側は研究協力に対して非常に熱心で、大筋のプロトコルは作製できた。ただし研究の中核となるさまざまな bio-marker (cytokine を含む) の測定に関してはヴェトナムでは測定不可能のものも多々あり、器材搬入の上で現地での測定、あるいは検体の日本 (NIITD) への輸送方法などを今後確立する必要がある。クリアすべき点はあるが、このヴェトナムとの共同研究が進めばきわめて重症の ARDS である H5N1 から重症・中等症の ARDS まで、治療戦略の基礎となる病態解明も可能になると考えられる。

### E. 結論

ARDS 症例の初期 BALF 中の cytokines は特徴的な値を示しており、より解明が進めば病態解明の鍵となりうる。ヴェトナムとの共同研究は、まだクリアすべき現地での測定方法の検討などは残っているが、ほぼ研究 protocol の概略は合意に達しており、研究開始は可能であると考えられる。

### F. 健康危険情報

- 2006 年 11 月に韓国で、2007 年 1 月、2 月に日本宮崎県にてトリ間の H5N1 インフルエンザの大流行が生じた。
- 2007 年 3 月 10 日にラオスで H5N1 のヒト感染症例が発生し、二人死亡。ヴェトナム国立熱帯感染症研究所がサポートしている。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

未。

### 2. 学会発表

1) Shoji KAWACHI: ARDS/FARDS and Avian Flu. Clinical feature and FARDS model mouse. NIID seminar (Tokyo, JAPAN), November 16, 2006.

2) Shoji KAWACHI, Yasuhiro MAEHARA, Kazuo SUZUKI: Clinical aspects of ARDS/FARDS and therapeutic strategy for FARDS. 3<sup>rd</sup> International symposium on transmission models for infectious diseases (Kyoto, JAPAN), January 9, 2007.

3) Shoji KAWACHI, Yasuhiro MAEHARA, Kazuo SUZUKI: Clinical aspects of Avian Flu in Vietnam and therapeutic strategy for FARDS. Seminar in the Seoul University. (Seoul, KOREA), January 19, 2007.

4) 河内正治. ARDS の臨床と FARDS. 第12回 MPO 研究会, 大阪市, 9月, 2006.

5) 河内正治. インフルエンザ (H5N1) のアジアでの発生動向とベトナムの臨床. 千葉県医師会講演会, 千葉市, 12月, 2006.

6) 馬場万里子, 河内正治, 前原康宏, 尾崎由佳, 松谷厚子, 山下裕之, 鈴木和男. 感染を契機に急性呼吸促迫症候群を発症したと考えられる膠原病患者2症例の肺胞洗浄液中のサイトカイン. 第43回日本集中治療医学会, 大阪市, 3月, 2007.

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

図1 BALF中のcytokine値 (mean, n=4, 2)

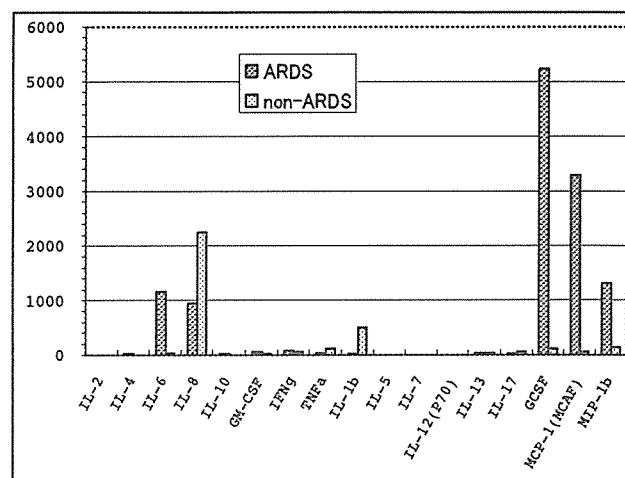
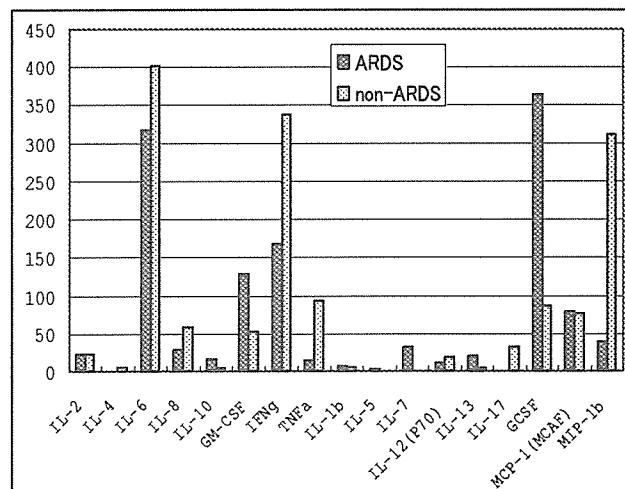


図2 血漿中のcytokine値 (mean, n=5, 2)



## 日本およびベトナムにおける H5N1 を含むインフルエンザ脳症について

分担研究者 布井博幸 宮崎大学医学部生殖発達学講座 小児科学分野

### 研究要旨：

H1/H3 インフルエンザ感染症では時に全身臓器不全が起こり、一部がインフルエンザ脳症を呈し、極めて予後の悪い経過をたどっている。我々はこの全身臓器不全の病因が高サイトカイン血症を基礎とした臓器アポトーシスではないかと、血中 Cytochrome c を測定し、提案して来た。一方 H5N1 インフルエンザは、重症の肺急性呼吸障害（ARDS:急性呼吸窮迫症候群）を短時間で誘発し、急速に進展して呼吸不全から死にいたると考えられる。まだヒト化してはいないものの、パンデミックな流行が非常に懸念されている。H1/H3 インフルエンザ感染症と比較すると H5 インフルエンザによる病態解析や治療法が確立していないため、今回のプロジェクトでは日本およびベトナムにおける H5N1 を含むインフルエンザ重症感染症についての病態解明を行い、治療法を展開したいと考えている。

### A. 研究目的

日本では H1/H3 インフルエンザによる重症感染症として、インフルエンザ脳症が知られている。この疾患は東アジア特に日本に多く報告されていること、高サイトカイン血症を伴うことが多く、しばしば全身臓器機能不全を伴うこととして知られている。この病因として血中 Cytochrome c が上昇していることを明らかにし、高サイトカイン血症による臓器アポトーシスがインフルエンザ全身臓器不全の病態ではないかと提案している (1)。その原因として、特に初期免疫に関わる TLR3 の遺伝子変異が一部の感度に存在することを明らかにした (2)。またインフルエンザ脳症の治療にステロイドパルス療法が有効であるとの報告がなされ、現在その検証を行っている。

H5 インフルエンザによる報告を見ると、

重症の肺急性呼吸障害（ARDS:急性呼吸窮迫症候群）を短時間で誘発し、急速に進展して呼吸不全から死にいたると考えられる。その病態解析や治療法が確立していないため、ARDS の病態とその治療法の開発が必須である。非常に急速な経過を辿ることからもインフルエンザ脳症と類似しているが、神経症状についてははっきりした記載が無く、呼吸器および多臓器不全（神経症状を含む）による病状の経過を血中サイトカインや Cytochrome c を H1,H3 インフルエンザと比較しながら、ARDS の病態調査とサイトカインストーム多重測定法・細胞機能解析法を確立することが必要である。

本特別研究の臨床班で布井は、ベトナムにおけるインフルエンザ（H1/H3/H5）を含む臨床例の解析計画の作成とその病態解析を目的とした。

## B. 研究方法

- ① ヴェトナムにおけるインフルエンザ (H5N1) を含む ARDS 臨床例の解析計画の作成：ハノイの国立小児病院 (NHP: National Hospital Pediatrics)、および国立熱帯感染症研究所 (NIITD: National Institute of Infectious Tropical Diseases) において、ARDS および脳症研究班を立ち上げて共同研究することが可能かどうか、ARDS 患者数や疾患の重症度を含めてそれぞれの病院長を含む担当医師団と協議し、血中サイトカインおよび Cytochrome c 測定に関する Study Protocol の Outline を作製した。
- ② ヴェトナムにおける衛生統計を元に、NIITD や NHP を共同してインフルエンザ感染症の動向と脳症症例や H5 インフルエンザ症例の防疫に努める。

## C. 研究結果

ヴェトナムにおけるインフルエンザ (H5N1) を含む ARDS 臨床例の解析計画の作成および衛生統計：NIITD では年間約 40 例の moderate~severe~fulminant ARDS 症例が、また NHP では約 30 例の症例があるので、本研究の症例数は 3 年間で NIITD 60 例、NHP 45 例ぐらいが適当であるという結論になった。

## D. 考案

ヴェトナムでは 2003 年 12 月から 2005 年 2 月までに 93 例の H5 インフルエンザによる重症例が報告され、42 例の死亡が報告されている。その中でもハノイで 73 例が報告され 27 例の死亡と最も死亡率が低く医療レベルの高さを物語っている。ベトナム

全土とハノイの人口が各々 8500 万と 260 万人といわれているので、100 万人当たりヴェトナム全土で 1 症例、ハノイ周辺で 28 症例 (年当たりで 10 名) の発生となる。今回のハノイの NIITD および NHP との会議で年間 NIITD 40 症例、NHP30 症例ぐらいの ARDS 患者が発生しているようである。この数字からすると H5 インフルエンザ感染 10 例 / 70 ARDS 症例と考えられる。WHO の H5 インフルエンザ調査がどのくらい正確に行われているか、また家禽と周辺の H5 インフルエンザ感染症の詳しい事情もよくわからないが、少なくとも ARDS 症例の約 1/7 が H5 インフルエンザによるものと考えられる。

インフルエンザ脳症について考えると、日本においては年度毎約 100~200 例の患者が発生すると予測されている。実際人口 110 万の宮崎県で年間 1~2 名の発生状況である。ハノイでも同様に発生すると考えると年間 3~6 名の脳症が発生する可能性がある。NHP での会合で昨年インフルエンザによる神経症状で死亡された症例が 3 名くらいはあるとのことであったので、インフルエンザ脳症がハノイでも発生している可能性がある。

以上の様な統計情報を踏まえて、インフルエンザと診断され急激に死亡された症例に関して、ARDS 患者と同様にサイトカインと Cytochrome c を測定することで H1/H3 インフルエンザ脳症と H5 による ARDS 症状を示す症例を鑑別することができるかもしれない。これらの疾患ではまだ多種の cytokine の測定報告は無い。今回河内らによるとコントロールとして行った日本での ARDS 症例と重症肺疾患患者において 17 種類サイトカイン同時測定を行った結果、急

性期 BALF 中のサイトカインのうち GCSF, MCP-1(MCAF), MIP-1b が非常に高値を示した。血漿サイトカイン値についてはそれほど顕著な差は認めなかった(学会発表1)。好中球等の肺胞内への遊走は ARDS においてはしばしば認められるとされ、GCSF, MCP-1(MCAF), MIP-1b が高値を示していることはこのことを裏付ける意味を持ちうる。したがってこれらの cytokines の高値は ARDS に特徴的なものである可能性はあるが、症例数がまだ少なく引き続き検討を要する。反対にインフルエンザ脳症では IL-6, TNF-a を初め多くのサイトカインが高値を占めることがわかっており、この違いが今度のベトナムとの共同プロジェクトで明らかになれば、病態の解析がさらに進むのではないかと考えられる。しかし、ベトナムでも測定不可能のものも多々あり、器材搬入の上で現地での測定、あるいは検体の日本(NIID)への輸送方法などを今後確立する必要がある。クリアすべき点はあるが、このベトナムとの共同研究が進めばきわめて H1/H3/H5 インフルエンザによる重症例治療戦略の基礎となる病態解明も可能になると考えられる。

#### E. 結論

H1/H3 インフルエンザによるインフルエンザ脳症と H5 インフルエンザによる ARDS 症例の間のサイトカインの特徴的な値の違いがあれば、を示しており、病態解明の鍵となりうる。ベトナムとの共同研究は、まだクリアすべき現地での測定方法の検討などは残っているが、ほぼ研究 protocol の概略は合意に達しており、研究開始は可能であると考えられる。

#### F. 健康危険情報

1. 2006年11月に韓国で、2007年1月、2月に日本宮崎県にてトリ間の H5N1 インフルエンザの大流行が生じた。
2. 2007年3月10日にラオスで H5N1 のヒト感染症例が発生し、二人死亡。ベトナム国立熱帯感染症研究所がサポートしている。

#### G. 文献と研究発表

1. Nunoi H, et al., Apoptosis under hypercytokinemia is a possible pathogenesis in influenza-associated encephalopathy. *Pediatr Int.* 47(2):175-9. 2005
2. Hidaka F, et al., A missense mutation of the Toll-Like receptor 3 gene in a patient with influenza-associated encephalopathy, *Clinical Immunology* 119:188-194, 2006

2. 学会発表  
なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



## ALI/ARDS の基礎疾患による差異の検討

分担研究者 本間 栄 東邦大学医療センター大森病院呼吸器内科  
協力研究者 廣田直 東邦大学医療センター大森病院呼吸器内科

### 研究要旨：

ALI/ARDS は種々の病態で発症し、その原因は直接損傷と間接損傷の 2 群に大別される<sup>1)2)</sup>。これら 2 群は病態生理、治療に対する反応にも違いがあることが報告されており<sup>3)</sup>、その発症機序を理解する上で重要である。ところが臨床現場において、これらは明確に区別されておらず、病態に応じた治療はこれからの課題である。今回、上記の視点から当施設の ALI/ARDS 症例について、その臨床像を検討した。その結果、両群間で死亡率、ICU 在室日数、PaO<sub>2</sub>/FIO<sub>2</sub> 比変化率などに差異を認めなかった。直接損傷群で予後が悪いという今までの報告を支持しない結果となった。直接損傷群ではステロイド投与が多く行われており、ステロイド投与の是非について更なる検討が必要と考えられた。

### A. 研究目的

ALI/ARDS は多くの疾患を含む症候群であり、さまざまな基礎疾患を単一にまとめたが故に各病態に応じた治療の実情にそぐわないという批判もある。ALI/ARDS について有効性が証明された治療法は今のところ低用量換気を主体とした肺保護換気のみであり、シベレスタット、ステロイド、などは生存率の改善をエンドポイントとした無作為比較臨床試験では無効とされている。さらに、これらを併用した際の効果は検討されておらず、今後の課題である。肺の直接損傷を基礎とした ALI/ARDS に対し、その治療効果、臨床的特徴を明らかにすることを目的とし検討した。

### B. 研究方法

対象は平成 18 年 4 月から平成 19 年 2 月

までに東邦大学医療センター大森病院救命救急センターに入室し、気管挿管、人工呼吸器管理され、ALI/ARDS と診断された計 38 症例（表 1：男性 28 症例、女性 10 症例、年齢 25 歳～90 歳、平均年齢 66.5 歳）。全例、2005 年の日本呼吸器学会「ALI/ARDS 診療のためのガイドライン」に準拠し人工呼吸器管理を行い、診断確定後よりシベレスタットの投与を行っている。

呼吸不全の原因として細菌性肺炎、間質性肺炎など直接的な肺障害を基礎疾患に持つものを A 群（19 症例）、敗血症、外科手術後など間接的に発症したものを B 群（19 症例）とし、その各々について治療効果（予後；14 日、30 日後死亡率、PaO<sub>2</sub>/FIO<sub>2</sub> 比の変化、ICU 在室日数）、併用療法などについて後ろ向きに比較検討を行った。また、両群の内訳として基礎疾患を、肺炎を基礎と

したものについてはその起因菌についても検討した。すべての症例においてALI/ARDSの診断後、日本呼吸器学会ARDS診療ガイドラインに基づく低用量換気を用いた人工呼吸器管理とし、シベレスタット4.8mg/kgの投与を開始している。また、ステロイド療法はmethylprednisolone1000mgを最低3日間投与されている症例とした。

### C. 研究結果

A群の内訳は細菌性肺炎が14例と最も多く、次いで間質性肺炎急性増悪、膠原病肺が2例ずつ、サイトメガロウイルス肺炎が1例であった。B群の内訳は消化器術後9例、脳血管障害4例、敗血症2例、心臓血管外科術後2例、急性膵炎1例、心肺停止蘇生後1例であった。A群の症例においてはステロイド投与が12例とB群の5例と比較して有意に多い傾向があった。両群間で生存率(A群 vs. B群(:以下同様)= $68.4 \pm 82.2\%$  vs.  $73.7 \pm 56.4\%$ ,  $p=0.22$ )、 $PaO_2/FiO_2$ 比の変化( $70.9 \pm 13.2$  vs.  $79.8 \pm 34.8$ ,  $P=0.32$ )、ICU在室日数( $16.3 \pm 8.9$ 日 vs.  $19.3 \pm 5.5$ 日)など、治療成績のいずれにも差異は認められなかった。

直接損傷群のうち、細菌性肺炎では半数の症例でステロイドが投与されており、間質性肺炎では全例でステロイド投与が行われていた。また、細菌性肺炎と比較して間質性肺炎ではICU在室日数が有意に長かった。 $(14.0$ 日 vs.  $30.3$ 日,  $p=0.035)$

細菌性肺炎をより詳細に比較したところ、ステロイド投与群( $n=7$ )では非投与群( $n=7$ )に比べ、投与前のP/F比で $98.4 \pm 57.5$  vs.  $203.0 \pm 85.8$  ( $p=0.01$ )と、より重症例が多いことがわかった。また、ステロイ

ド投与群は4例が生存、非投与群では6例が生存していた。

### D. 考案

ALI/ARDSに対する高容量ステロイド療法の効果は既に様々な報告で否定されてきた<sup>4)5)6)</sup>。しかしこれらは感染症のコントロールが十分なされていたか否か不明で、問題点も指摘されている。また、基礎疾患による区別もされていない。

現状ではALI/ARDSに対するステロイド投与の是非、方法は明確に規定されていない。しかし、ニューモシスチス肺炎、粟粒結核などの様に<sup>7)</sup>その起因菌に感受性のある抗生剤を使用し、感染のコントロールが十分行われている場合には使用の余地はあるとされ、またそのようなレポートも散見される<sup>7)</sup>。

今回直接損傷群でステロイド投与が多く行われていたが、2群間で予後、呼吸不全の改善度合いに差異は見られなかった。しかし、直接損傷の予後は間接損傷のそれに比べ不良とされており<sup>8)</sup>差異がみられなかったという今回の結果は間接的にステロイドの効果を支持しているといえる。その理由として、抗生剤使用による感染症のコントロールがついていたこと、膠原病肺などステロイドの効果が期待できるものが含まれていたためと考えられた。

重症肺炎に対してのステロイド使用は賛否両論あるが、当院でも積極的に使用しており、以前の知見では、肺炎に対するステロイド投与の有効性を支持する論文が散見される<sup>9)</sup>。

現在、ALI/ARDSと診断されるような重度の呼吸不全の患者に対し、気管支鏡などの侵襲的な検査が行われることは少ない。当

院においても原因不明なままエンピリックに広域スペクトルの抗生剤投与が長期に及び、継続されているケースが多い。これは、耐性菌の出現、副作用などの悪影響があり推奨されない。しかし、さらなる診断精度の向上と、より簡易な診断方法の確立が得られれば、適切な抗菌薬の使用に加え、ALI/ARDS に対するステロイド治療の有用性が見直されると期待される。

## E. 結論

基礎に肺疾患を有し、ALI/ARDS を発症した直接損傷に対し、ステロイド投与は呼吸不全、予後を改善する可能性があると考えられた。今後、より詳細な、患者背景による分析を加えた検討が必要と思われる。

## F. 文献

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Homma S, Sakamoto S, Kawabata M, Kishi K, Tsuboi E, Hebisawa A, Motoi N, Yoshimura K: Comparative clinicopathology of obliterative bronchiolitis and diffuse panbronchiolitis. *Respiration* 73:481-487, 2006
- 2) 杉野圭史、本間 栄、高谷久史、宮本 篤、坂本 晋、川畑雅照、岸 一馬、坪井 永保、元井紀子、吉村邦彦：インフルエンザウイルス感染を契機に発症した致死的侵襲性肺アスペルギルス症の1例. *日呼吸会誌* 44: 207-214, 2006
- 3) 杉野圭史、川畑雅照、本間 栄、河野匡、元井紀子、吉村邦彦：細気管支肺胞上皮癌様の肺内進展を呈した悪性胸膜中皮腫の1例. *肺癌* 46: 215-220, 2006
- 4) Kishi K, Homma S, Kurosaki A, Motoi N, Nakata K, Yoshimura K: High-Resolution Computed Tomography findings of lung cancer associated with idiopathic pulmonary fibrosis. *J Comput Assist Tomogr* 30: 95-99, 2006.
- 5) Kishi K, Homma S, Kurosaki A, Kohno T,

- Motoi N, Yoshimura K: Clinical features and high-resolution CT findings of pulmonary cryptococcosis in non-AIDS patients. *Resp Med* 100: 807-812, 2006.
- 6) 宮本 篤、坪井永保、高谷久史、杉野圭史、坂本 晋、川畑雅照、岸 一馬、成井浩司、本間 栄、中谷龍王、中田紘一郎、吉村邦彦：経皮的病巣穿刺にて *Haemophilus Parainfluenzae* および *Streptococcus intermedius* が分離された肺膿瘍の1例. *日呼吸会誌* 44: 561-565, 2006
  - 7) 岸 一馬、本間 栄、高谷久史、宮本 篤、坂本 晋、黒崎敦子、元井紀子、吉村邦彦：進行期大細胞神経内分泌癌の臨床的検討. *日呼吸会誌* 44: 556-560, 2006
  - 8) Homma S: Pulmonary fibrosis in an individual occupationally exposed to inhaled indium-tin oxide. *Helix Review Series* 3 (1): 17-20, 2006.
  - 9) 坪井永保、宮本 篤、高谷久史、坂本 晋、川畑雅照、岸 一馬、本間 栄、吉村邦彦、井上隆三、生亀愛弥子、遠藤和彦、加藤光恵、野村秀樹：運動療法を含む呼吸リハビリテーションを行った COPD 症例の BODE index に関する検討. *臨床呼吸生理* 38: 27-30, 2006
  - 10) 太田宏樹、杉野圭史、山崎陽子、菊地直、榎本崇宏、山部啓太郎、佐野 剛、磯部和順、濱中伸介、高井雄二郎、清水邦彦、木村一博、長谷川千花子、石川由紀雄、渋谷和俊、本間 栄：乳癌の術前化学療法中に発症したフルオロウラシル誘起性間質性肺炎の1例. *臨床呼吸生理* 38: 67-71, 2006
  - 11) 本間 栄 N-アセチルシステイン 治療学 40: 77-78, 2006
  - 12) 本間 栄 成人の百日咳 総合臨床 55: 2886-2888, 2006
  - 13) 畑中一仁、本間 栄、植草利公：びまん性汎細気管支炎、線毛不動症候群の病理と病態. *病理と臨床* 24: 949-956, 2006
  - 14) Homma S (分担) : Vasculitis: Overview. In: *Encyclopedia of Respiratory Medicine*. (Eds) Laurent GL, Shapiro SD p418-422. Elsevier Ltd., UK, 2006
  - 15) 岸 一馬、本間 栄 (分担) : ランゲルハンス細胞肉芽腫症. サルコイドーシスとその他の肉芽腫性疾患. (日本サルコイドーシス肉芽腫性疾患学会編) p265-269. 克誠堂, 東京, 2006
- #### 2. 学会発表
1. ○高谷久史、川畑雅照、坪井永保、宮本 篤、坂本 晋、岸 一馬、本間 栄、吉村邦彦：難治性気道炎症に対する azithromycin の

- 有用性に関する検討. 第 4 回 DPB・難治性気道疾患研究会, 東京, 2006.2
2. ○後町杏子、杉野圭史、太田宏樹、宮下美奈穂、磯部和順、木村一博、本間 栄、藤本吉紀、倉石安康、長谷川千花子、渋谷和俊、大久保泰之、布施川久恵：巨脾と類白血病反応を合併した粟粒結核の 1 例. 第 8 回日本内科学会関東部会, 東京, 2006.3.11
3. ○岸 一馬、高谷久史、宮本 篤、坂本 晋、川畑雅照、坪井 永保、本間 栄、河野 匡、元井紀子、藤井丈士、吉村邦彦：眼窩 に続いて肺に病変を生じた炎症性偽腫瘍の 1 例. 第 145 回日本肺癌学会関東部会, 栃木, 2006.3.11
4. ○工藤慶太、本間 栄、坂本 晋、高谷久史、宮本 篤、川畑雅照、岸 一馬、坪井 永保、吉村邦彦：移動する浸潤影を呈し TBLB にて著明な好酸球の浸潤を認めたウエステルマン肺吸虫の一例. 第 169 回日本呼吸器学会関東地方会, 東京, 2006.5
5. ○菊池 直、清水邦彦、関谷潔史、石田文昭、高井雄二郎、木村一博、笹本修一、石川由紀雄、渋谷和俊、本間 栄：結核性胸膜炎の治療開始後新たに胸膜腫瘍が出現した一例. 第 169 回日本呼吸器学会関東地方会, 東京, 2006.5
6. ○土方美奈子、松下育美、本間 栄、田口善夫、吾妻安良太、工藤翔二、慶長直人：びまん性汎細気管支炎の疾患感受性遺伝子の研究. 第 46 回日本呼吸器学会総会, 東京, 2006.6
7. ○高谷久史、成井浩司、宮本 篤、坂本 晋、川畑雅照、岸 一馬、坪井永保、鎌田美苗、川名ふさ江、本間 栄、吉村邦彦：早朝高血圧を呈する閉塞性睡眠時無呼吸症候群における CPAP 治療の短期効果. 第 46 回日本呼吸器学会総会, 東京, 2006.6
8. ○宮本 篤、本間 栄、高谷久史、坂本 晋、川畑雅照、岸 一馬、坪井永保、藤井丈士、黒崎敦子、河野 匡、吉村邦彦：特発性間質性肺炎と膠原病合併間質性肺炎に合併した肺癌の臨床病理学的検討. 第 46 回日本呼吸器学会総会, 東京, 2006.6
9. ○杉野圭史、坪井永保、高谷久史、宮本 篤、坂本 晋、川畑雅照、岸 一馬、成井浩司、本間 栄、吉村邦彦：長期 NPPV 療法の有用性に関する臨床的検討. 第 46 回日本呼吸器学会総会, 東京, 2006.6
10. ○坂本 晋、吉村邦彦、本間 栄、坪井 永保、岸 一馬、川畑雅照、高谷久史、宮本 篤、藤井丈士：Gefitinib による急性肺障害に関する臨床病理学的検討. 第 46 回日本呼吸器学会総会, 東京, 2006.6
11. ○工藤慶太、川畑雅照、高谷久史、宮本 篤、坂本 晋、岸 一馬、坪井 永保、本間 栄、吉村邦彦：市中肺炎における AIDS 関連ニューモシスチス肺炎の臨床的検討. 第 46 回日本呼吸器学会総会, 東京, 2006.6
12. ○成井浩司、葛西隆敏、土肥智貴、高谷久史、宮本 篤、坂本 晋、川畑雅照、岸 一馬、坪井永保、本間 栄、吉村邦彦：閉塞性無呼吸を合併する非肥満心不全患者における CPAP の効果. 第 46 回日本呼吸器学会総会, 東京, 2006.6
13. ○本間 栄、宮本 篤、高谷久史、坂本 晋、川畑雅照、岸 一馬、坪井永保、藤井丈士、吉村邦彦：MPO-ANCA 陽性肺病変の臨床病理学的検討. 第 46 回日本呼吸器学会総会, 東京, 2006.6
14. ○太田宏樹、杉野圭史、宮下美奈穂、石田文昭、瀧口貴子、佐野 剛、磯部和順、濱中伸介、高井雄二郎、清水邦彦、木村一博、長谷川千花子、石川由紀雄、渋谷和俊、本間 栄：乳癌の術前化学療法中に発症したフルオロウラシル誘起性間質性肺炎の 1 例. 第 96 回臨床呼吸生理研究会, 東京, 2006.6
15. ○坪井永保、高谷久史、宮本 篤、坂本 晋、川畑雅照、岸 一馬、本間 栄、吾妻安良太、工藤翔二、中田紘一郎、吉村邦彦：特発性間質性肺炎患者に対するトレッドミル定速歩行試験の妥当性に関する検討. 第 96 回臨床呼吸生理研究会, 東京, 2006.6
16. ○杉野圭史、石田文昭、後町杏子、佐野 剛、磯部和順、濱中伸介、高井雄二郎、清水邦彦、木村一博、本間 栄：感染を契機に急性増悪をきたした COPD 患者の臨床的検討. 第 16 回日本呼吸器管理学会学術集会, 札幌, 2006.7
17. ○高井雄二郎、山城義広、佐藤大輔、瀧口貴子、杉野圭史、磯部和順、濱中伸介、清水邦彦、木村一博、本間 栄：閉塞型睡眠時無呼吸低呼吸症候群患者における CPAP 圧とセファロメトリー分析の関連性についての検討. 第 16 回日本呼吸器管理学会学術集会, 札幌, 2006.7
18. ○磯部和順、清水邦彦、石田文昭、杉野圭史、濱中伸介、高井雄二郎、木村一博、本間 栄：肺癌診断時に胃転移を認め、化学療法後に脾転移で再発した小細胞肺癌の一例. 第 146 回日本肺癌学会関東部会, 新潟, 2006.7
19. ○平松里佳子、宮本 篤、高谷久史、坂本 晋、川畑雅照、岸 一馬、坪井 永保、河野 匡、藤井丈士、黒崎敦子、吉村邦彦、大谷義夫、吉澤靖之、本間 栄鳥関連抗原が原因と考えられた慢性過敏性肺臓炎の 1