

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

高病原性鳥インフルエンザの疫学臨床研究に関する研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 工藤 宏一郎

平成20（2008）年 4 月

目 次

I. 総括研究報告	
高病原性鳥インフルエンザの疫学臨床研究に関する研究	1
工藤 宏一郎	
II. 分担研究報告	
1. 遠隔診断システム(e-medicine)の有効利用－継続、維持及び発展 に関する研究	5
工藤 宏一郎	
2. H5N1感染症例の臨床的特徴に関する研究	7
新保 卓郎	
3. 高病原性鳥インフルエンザの病理・免疫組織化学的研究に関する研究	10
佐多 徹太郎	
4. 高病原性鳥インフルエンザに関わる医療従事者の臨床プログラム開発に関する研究 ...	12
加藤 康幸	
5. 院内感染対策に関する研究	15
川名 明彦	
6. 高病原性鳥インフルエンザによる発症機序に関する研究	
－NCI-H292, Calu-3細胞を用いた検討－	17
慶長 直人	
7. H5N1感染患者の臨床疫学研究及び臨床的特徴の検討に関する研究	21
工藤 宏一郎、新保 卓郎	
8. ヒト高病原性トリインフルエンザ肺炎の治療ガイドラインの策定に関する研究	24
工藤 宏一郎	
9. 動物モデルにおける鳥インフルエンザの治療方法の検討に関する研究	26
切替 照雄	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	29
IV. 研究成果の刊行物・別刷	30

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

総合研究報告書

高病原性鳥インフルエンザの疫学臨床研究に関する総合的研究

主任研究者 工藤 宏一郎 国立国際医療センター 国際疾病センター長

研究要旨 ここ数年の間に、SARS（重症急性呼吸器症候群）、鳥インフルエンザ（H5N1）という2つの新興感染症が出現した。いずれも重症感染症であり、人類に脅威を与えているが、特に後者は今後新型インフルエンザへと変異し、世界的大流行を起こすことが懸念されている。しかしながら本疾患はアジアから発生しているにも関わらず、日本国内ではヒトの感染例は報告されていない。今後出現するであろう未知の感染症を含め、近い将来に危惧される新興インフルエンザ等の新興感染症発生に対し、十分な情報収集体制と準備体制、対応出来る人材の育成をすることは、日本の感染症危機管理上、緊急のニーズといえる。本研究は、このような事態に備えることを目的として、ベトナム国及びアジア諸国の現地スタッフと協力した臨床疫学研究を基本としており、新興感染症の予防、治療、感染の封じ込めにつなげるものである。

具体的には、

- 1) 相互交換型の共同診療を可能とする、遠隔診断システム（e-medicine）を構築し、それを維持・発展・有効利用することで、アジア諸国及び世界の国々とネットワークを結び、必要な情報を迅速に効果的に収集・発信する。
- 2) ベトナムで発生したヒト鳥インフルエンザ症例を使用したヒト鳥インフルエンザ重症化例抑制における oseltamivir の疫学臨床研究を実施する。
- 3) 高病原性鳥インフルエンザがヒトに感染した場合の病理・病態を解明する。
- 4) 鳥インフルエンザの臨床に関わる専門家を養成する。
- 5) 高病原性鳥インフルエンザを封じ込めるための感染対策マニュアルを作成し、ホームページ上で公開する。
- 6) 肺病変からみた重症化機構の研究
- 7) ヒト鳥インフルエンザの症例に対して、可能な限りの臨床疫学的調査を実施し、今後の発生防止の一助とする。
- 8) ヒト鳥インフルエンザ肺炎の治療ガイドラインの策定
- 9) ヒト型、鳥型インフルエンザウイルスレセプターの発現様式の差異を *in vitro* の系を用いて解明する。

分担研究者：	新保 卓郎 国立国際医療センター研究所 医療情報解析研究部 部長 佐多 徹太郎 国立感染症研究所 感染病理部 部長 岡 輝明 公立学校共済組合関東中央病院 病理科 部長 加藤 康幸 国立国際医療センター 国際疾病センター 川名 明彦 国立国際医療センター 国際疾病センター 医長 慶長 直人 国立国際医療センター研究所 呼吸器疾患研究部 部長 切替 照雄 国立国際医療センター研究所 感染症制御研究部 部長
--------	--

A. 研究目的

新興インフルエンザ等の新興感染症発生の事態に備えることを目的として、ベトナムおよびアジア諸国の医療スタッフと協力した疫学臨床研究を中心に、新興呼吸器感染症に関する研究、海外で発生した新興感染症に対応できる専門家の人材養成に関する研究を実施し、ヒト H5N1 の疫学と臨床像を把握する。そのことによって、予防・治療・感染の封じ込め等の具体的方法を探究することにつながり、共同研究相手国（ベトナム）への貢献、及び将来の新型インフルエンザ流行に備える。

B. 研究方法

1. 遠隔診断支援システム（e-medicine）の有効利用—継続、維持及び発展（工藤主任研究者）
相互交換型の e-medicine を構築し、情報の共有化、迅速化、コミュニケーション強化を図ることで、高病原性鳥インフルエンザの疫学臨床研究の成果向上を促した。

2. 鳥インフルエンザの重症化におけるoseltamivirの疫学臨床研究 (新保分担研究者)
国立感染症熱帯病研究所病院 (ハノイ市) に入院した H5N1 感染患者の診療録を調査。臨床的特徴を記述し、予後と関連のある所見を oseltamivir の使用も含めて検討した。
3. 高病原性鳥インフルエンザの病理・病態解明 (佐多分担研究者、岡分担研究者)
国立小児病院 (ハノイ市) との共同研究としてインフルエンザ剖検例の肺組織を入手し、病理像を検討した。
4. 専門家養成プログラムの開発 (加藤分担研究者)
特定および第一感染症指定医療機関の診療状況を調査した。日本人専門医の海外研修プログラムを構築、実施した。国内研修 (輸入感染症講習会) を作成・実施した。
5. 病院感染対策に関する研究 (川名分担研究者)
WHO のパンデミックフェーズ分類 1~6 に対して、各段階での感染対策の方法をマニュアル化し、インターネットを用いて公開した。マニュアルに従った演習を実施し、問題点を検証した。
6. 肺病変からみた重症化機構の研究 (慶長分担研究者)
ST6GAL1 の各組織での発現、ヒト気道上皮細胞の気相液相培養系における発現、NCI-H292 の発現の検討。
7. ベトナムにおける鳥インフルエンザ症例の臨床疫学調査 (工藤主任研究者)
バクマイ病院に入院した 3 例の H5N1 症例の臨床経過を調査し、H5N1 の治療法について、日越で考察した。
8. ヒト高病原性トリインフルエンザ肺炎の治療ガイドラインの策定 (工藤主任研究者)
国内外のインフルエンザおよび高病原性トリインフルエンザの治療法に関する研究の情報を精査し、有用と思われる治療法を検出し、ガイドラインを作成、インターネットを使って公開する。
9. 動物モデルにおける鳥インフルエンザの治療方法の検討 (切替分担研究者)
培養細胞を用いた *in vitro* 実験とマウスを用いた *in vivo* 実験を行う。この *in vivo* と *in vitro* の感

染実験系を中心として薬剤スクリーニングを行う。

C. 研究結果

1. 遠隔診断支援システム (e-medicine)

e-medicine を開発し、日本国内では国立国際医療センター、公立学校共済関東中央病院に設置、ベトナムではバクマイ病院 (ハノイ市) に設置して、日越を結ぶネットワークを確立した。同様の TV 医学会議システムを設置されている国立小児病院 (ハノイ市)、国立感染症熱帯病研究所病院 (ハノイ市) ホーチミン医科薬科大学、熱帯病病院 (ホーチミン市) とともにインターネットネットワークに迎え入れ、日越を結ぶ医学カンファランスを実施した。また、コンサルテーション、共同診療、プロジェクト会議などに頻回に実施した。加えて、国立感染症熱帯病研究所病院に 2007 年に入院した 3 例及びバクマイ病院に入院した 2008 年の新規 3 例の入院時には、e-medicine を利用し、患者の臨床的状況や X 線画像がリアルタイムで提示され、ベトナムの医師チームと共に共同で診療検討を行うことが出来、e-medicine の目的が共同診療、プロジェクトの推進に有益であると確認出来た。

2. 鳥インフルエンザの重症化におけるoseltamivirの疫学臨床研究

国立感染症熱帯病研究所病院(NIITD)の 2004 年 1 月から 2005 年 7 月までに入院した H5N1 感染患者 29 例について、診療録を調査し、臨床的特徴を記述、予後と関連のある所見を Oseltamivir の使用も含めて検討した。調査した 29 例の患者のうち死亡は 7 例 (24.1%)。Oseltamivir は 25 例が使用していた。使用例での死亡は 5/25 例(20.0%)であり、未使用での死亡は 2/4(50.0%)例であった。患者の重症度を調整する為、白血球数を用いて exact logistic regression を行った。Oseltamivir 使用例の死亡オッズ比は 0.15(95%信頼区間 0.00-2.57)であり、なお信頼区間は広がった。個々の症例の重症度が調整できないため、白血球数と報告された国を調整した Exact logistic regression を行ったところ、Oseltamivir 使用例の死亡オッズ比は (95%信頼区間 0.12-1.28)であった。この方法では広がった。Fixed effect model による通常のメタ分

析では、Oseltamivir 使用例の死亡オッズ比は 0.98(95%信頼区間 0.002-0.787, P=0.0213)と有意に死亡の抑制効果が認められた。

3. 高病原性鳥インフルエンザの病理・病態解明

国立小児病院（ハノイ市）の協力を得て、2003 年前後の H5N1 症例肺組織を入手し、病理像を検討する機会を得た。肺病理標本 3 例はいずれも DAD を示し、うち発症 6 日目で死亡した症例では A 型インフルエンザウイルス NP 抗原がおもに肺胞上皮細胞に検出できた。ほか 2 例（16 日ないし 17 日後の死亡例）ではウイルス抗原は陰性であった。細胞マーカーとの二重染色を共焦点顕微鏡で観察したところ、1 型及び 2 型肺胞上皮細胞、細気管支上皮細胞、単球/マクロファージ、および血管内皮細胞が感染していることが判明した。これらの成績は世界ではじめて得られたものである。

4. 専門家養成プログラムの開発

1) 特定及び第一種感染症指定病院医療機関の診療状況調査

平成 18 年度、アンケート調査（第一種感染症指定医療機関 13 施設から回答）によって、感染症診療に従事する専門医の不足があること、職員の定期的な研修が半数の施設で行われていないこと、情報の収集が主にインターネットで行われている、などのことが明らかになった。

2) 国内医師研修プログラムの開発

輸入感染症講習会を開催（平成 18 年 10 月、平成 19 年 10 月）した。高病原性鳥インフルエンザについて、e-medicine を使用してベトナムから実際の症例報告をベトナム人医師のが実施し、他に腸チフス、マラリア、デング熱、狂犬病の各論に加え、首都圏の感染症指定医療機関医師による事例検討を行った。第 2 回からは、厚生労働省健康局結核感染症課の後援を頂いた。

3) 海外研修プログラムの開発

平成 18 年度に開発したプログラムを厚生労働省一類感染症等予防・診断・治療研修（ベトナム・ホーチミン市熱帯病院；平成 20 年 3 月）に実施した。高病原性鳥インフルエンザについては、実際に使用された隔離病室の見学、個人防護具の着脱実習、検査・治療に関するベトナム人専門家によ

る講義、フィールド実習を行った。参加者は、第一種感染症指定医療機関医師 7 名、研修資料は、国立国際医療センター国際疾病センターホームページに掲載した。

5. 院内感染対策に関する研究

高病原性鳥インフルエンザを封じ込めるための感染対策の指針として、WHO がガイドラインを発表しているが、本研究では WHO の提唱するフェーズを 3 つのグループに分類し、各段階での感染対策の方法をマニュアルとしてまとめた。このマニュアルをインターネットを用いて公開した。現在、パブリックコメントを取り入れて改訂作業中である。また、本マニュアルに従った訓練も実施し、マニュアルの問題点の検証作業が進行中である。このことで、国立国際医療センターにおいて、インフルエンザの流行早期検出体制を確立した。

6. 肺病変からみた重症化機構の研究

主に NCI-H292 細胞と Calu-3 細胞を用いて、レクチン染色およびレクチン定量系を構築した。また、NCI-H292 細胞と Calu-3 細胞の *ST6GAL1* の転写開始点の相違、サイトカイン等の刺激での発現パターンなどを解析した。

7. H5N1 感染患者の臨床疫学研究及び臨床的特徴の検討

バクマイ病院（ハノイ市）に 2007 年度に入院した 3 例について、診療録及び実際に診療にあたった医師達からの聞き取り調査を実施し、臨床的特徴及び治療方法を比較し、検討した。

発症患者はいずれも 20~30 歳の若年者で、トリとの接触が濃厚であると思われる。発症から治療期間は、救命できた Case1 は 3 日で比較的短期であり、死亡した Case2, 3 は 7~12 日と長期であった。Case1 は重症であったが他の Case に比べると重症性は少し弱い。Case2, 3 は重篤で ARDS で集中的な治療を開始するも、治療に反応する間もなく死亡という経過であった。このことから、臨床的観点から早期診断・早期治療が重要であること、また重症肺炎に対しても何らかの集中的治療を要することが強く示唆される。

8. ヒト高病原性トリインフルエンザ肺炎の治療ガイドラインの策定
ヒト H5N1 に対する現時点での保存的療法であるが、WHO の推奨法が最良と思われる。
9. 動物モデルにおける鳥インフルエンザの治療方法の検討
培養細胞を用いた *in vitro* 実験とマウスを用いた *in vivo* 実験を立ち上げた。既存薬物の抗インフルエンザ作用をスクリーニングする基礎を築いた。手始めに、喘息、COPD 等で頻用され、有用性が確立している吸入ステロイド（気道系での局所療法）単独での抗ウイルス作用は認められなかった。国際ウイルス感染における生体側（マウス）の易感染性を生ずることもなかった。

D. 考察

当初かかげた目的である、今後の H5N1 の治療に向けての治療の開発を目指す基礎となる臨床疫学研究がなされたと思われる。今後、この疾患における臨床的に有用な予防、肺炎の治療の完成が望まれる。

E. 結論

ヒト H5N1 に対する、基礎的な臨床疫学研究がなされた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Liem NT, Nakajima N, Phat LP, Sato Y, Thach HN, Hung PV, San LT, Katano H, Kumazaki T, Oka T, Kawachi S, Matsushita T, Sata T, Kudo K, Suzuki K.: H5N1-infected cells in lung with diffuse alveolar damage in exudative phase from a fatal case in Vietnam. *Jpn J Infect Dis* 61: 157-160, 2008.
- 2) 川名明彦. ヒトの鳥インフルエンザ感染症の臨床的諸問題. 臨床とウイルス

2. 学会発表

- 1) 水野康孝, 加藤康幸, 岩瀬啓祐, 神村麻穂子, 工藤宏一郎. 国立国際医療センターにおける臨床医を対象とした熱帯医学・旅行医学研修の概要. 第56回日本感染症学界東日本地方会学術集会. 東京. 2007

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

遠隔診断システム（e-medicine）の有効利用－継続、維持及び発展

分担研究者 工藤 宏一郎 国立国際医療センター 国際疾病センター長

研究要旨 相互交換型の共同診療を可能とする遠隔診断支援システム（e-medicine）を構築し、ベトナム国内、及びアジア諸国の研究協力先に設置。日越の医学カンファレンス、コンサルテーション、ケーススタディー、専門家会議、プロジェクト会議などに有効利用し、迅速な情報の交換・共有化、コミュニケーション強化を図ることで研究に寄与することを確認する。加えて、e-medicine の有効利用により、高病原性鳥インフルエンザの臨床研究への成果に結びつける。

A. 研究目的

相互交換型の共同診療を可能とする遠隔診断システム（e-medicine）を構築し、医学カンファレンス、コンサルテーション、ケーススタディー、専門家会議などに活用し、日越の研究者同士の情報の共有化、迅速化、コミュニケーション強化を図ることで、高病原性鳥インフルエンザの疫学臨床研究の成果向上に寄与することを確認する。

B. 研究方法

現在、種々のテレビ会議システムが市場にあるが、医療用として構築されているのは、病理データの交換可能なテレパソロジー用の医学会議システムが主であり、遠隔医療などに使用されている。我々はこれを一步拡大化させ、病理画像を交換する為の顕微鏡は勿論、X線、CT画像などを取り込む為のデジタイザー、患者のベッドサイドの患者の情報を直接送る為のベッドサイドモニターなどの医療機器をTV会議システムへ接続、データの送受信を可能とさせた。またこれは、患者カルテやPC上プレゼンテーションなどをリアルタイムで見ながら会議を進めることが出来る新たなシステム（e-medicine）である。本相互交換型の共同診療研究を可能とする遠隔診断システム（e-medicine/e-メディスン）は、インターネットを利用して設置した場所同士をネットワーク化することで、外国にいる医師達と同時にリアルタイムで患者の状態を診る、病理標本やX線像、CT像を見るなどし、共同で診療を可能にさせた。

（倫理面への配慮）

インターネットによる情報の流出、個人情報の流出に最新の注意を払いシステム設計をする。

C. 研究結果

医学会議・共同診療用相互交換型テレビ会議システム『e-medicine』を開発した。平成17年度は、本システムの構築と共に、国立国際医療センター（IMCJ/東京）、バクマイ病院（BMH/ベトナム・ハノイ市）、に設置して、セキュリティシステムを加えたネットワークを確立し、インターネットで両医療機関を結んだ。加えて、操作が簡便で場所のとらない簡易型の『コンパクト e-medicine』を開発、国内で、公立学校共済組合関東中央病院病理部に設置し、日越間の病理研究を強化した。また、本システムがインターネットを利用していることから、同様のTV医学会議システムを設置済の、ベトナム・ホーチミン医科薬科大学（ホーチミン）、国立小児病院（ハノイ）、国立感染症・熱帯病病院（ハノイ）を本e-medicineネットワークに取り込みアジア感染症ネットワークの輪を広げた。

<主な実施カンファレンス>

● 主な定例カンファレンス

- 『Medical Conference between IMCJ – BMH』
- 平成17年12月－鳥インフルエンザの現状と対応
 - 平成18年2月－抗HIV療法のモニタリングと薬剤耐性
 - 平成18年3月－結核症 東京－ハノイ

➤ 平成18年5月－Procedure and Application of BAL(Broncho Alvedar Lavage) in Respiratory Diseases

➤ 平成18年10月－Off-pump CABG (off-pump coronary artery by pass graft) – Basic Technique and its application

● 主な随時カンファランス

➤ 平成18年1月－鳥インフルエンザ (IMCJ－バクマイ病院にオーストラリア・シドニー大学を結んだ3点カンファランス)

➤ 平成18年12月－病理コンサルテーションIMCJ－BMHキックオフミーティング (IMCJ－BMH－関東中央病院を結んだ3点カンファランス)

➤ 平成18年7月 首都圏感染症指定医療機関研究会 Dr. Ha, Vice Director (National Institute of Infectious and Tropical Disease/ベトナム・ハノイ)特別講演

➤ 平成19年7月、9月 小児の脳炎とH5N1疑い例 (IMCJ・国立小児病院ハノイ)

➤ 平成20年2月 バクマイ病院 H5N1患者入院症例検討会 (IMCJ－バクマイ病院)

この他、日常的に研究の打ち合わせ会議、専門家会議、症例検討、コンサルテーションなどに使用している。

本システムの活用により、ベトナムで実際にヒト鳥インフルエンザが発生した際の情報を、リアルタイムで日本側と共有することが可能になっている。事実、バクマイ病院 (ハノイ市) に2008年度の入院した3例のH5N1症例の臨床経過の実態をこのシステムで把握した。日本側からは、本研究テーマの中の分担研究で成果をあげた肺病理像、ウイルス解析の結果を相手バクマイ病院側に送信し、情報の共有化を図り、日越両者間で治療方針の検討を行い、プロジェクト全体を本システムで推進することが確認出来た。

D. 考察

e-medicine 設置当初は、使用する側の医療従事者達に本システムの利便性と有効性を理解してもらうまでに時間を要したが、頻回に使用するうちに、e-medicine を利用することへの習慣が出来、また便利さの認識の高ま

りと共に、気軽な気持ちで e-medicine を使用することが出来るようになった。これは、本研究全体のインフラとして、非常に重要な役割を担っているといえる。今後出現するであろう未知の感染症を含め、新興感染症に対する十分な情報収集体制と、準備体制、情報の相互交換及びコミュニケーション強化に役立つシステムであると言える。感染症分野のみならず、広く医学・その他の分野に役立つことはむろんのことである。本システムを使ったネットワークをアジア諸地域に拡大し、今後、より広く、より密度の濃い情報を収集すべく、ベトナム、日本に踏みとどまらず、インドネシア、タイ、カンボジア、中国などに本ネットワークを広げ、アジア感染症ネットワークなるものを構築していくことが課題といえる。

E. 結論

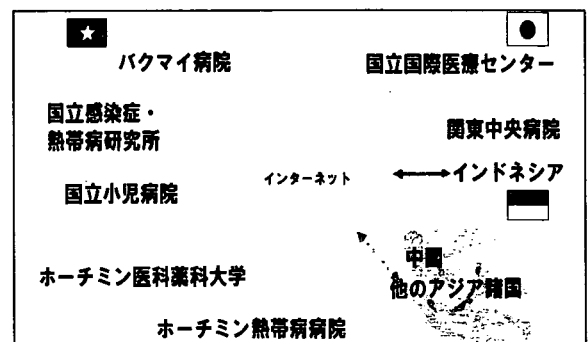
e-medicine を有効的に使うことで、情報の共有化とネットワークの強化に貢献出来た。

F. 研究発表

1. 論文発表
特になし。
2. 学会発表
特になし。

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

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



厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

H5N1 感染症例の臨床的特徴に関する検討

分担研究者 新保卓郎 国立国際医療センター研究所 医療情報解析研究部 部長

研究要旨 後ろ向きの症例集積研究により、ベトナムハノイで発生した鳥インフルエンザウイルス(H5N1)感染患者の臨床的特徴を検討した。そして予後と関連のある所見、特に oseltamivir について検討した。調査された 38 例のうち、oseltamivir は 33 例が使用していた。使用例での死亡は 6/33 例(18.2%)であり、未使用例での死亡は 2/5 例(40.0%)であった ($p=0.28$)。重症度を調整するため、白血球数を用いて多重ロジスティック回帰を行った。Oseltamivir 使用例の死亡に関するオッズ比は 0.11(95%信頼区間 0.01-1.73)であり、なお信頼区間は広がった。また観察研究であり、交絡因子の影響の可能性も残った。

A. 研究目的

人での鳥インフルエンザウイルス(H5N1)感染症の報告はなお少ない。本研究では、ベトナムハノイで発生した鳥インフルエンザウイルス(H5N1)感染患者の臨床的特徴を検討した。そして予後と関連のある所見、特に oseltamivir の使用と生存との関連について検討した。

B. 研究方法

後ろ向きの症例集積研究である。ベトナムハノイ市国立熱帯医学研究所に 2004 年から 2005 年にかけて入院した H5N1 感染患者の診療録を調査し、患者属性、接触歴、病歴、症状、徴候、検査、胸部 X 線、治療内容、予後などを記録した。その上で臨床的特徴を記述し、予後と関連のある所見を oseltamivir の使用も含めて検討した。対象患者はすべて RT-PCR により H5N1 ウイルス感染が確認された症例である。

生存との関連を検討するため、症状や、接触歴、胸部 X 線所見から典型的な症例のみを選択した。一部の患者を除外した。

また従来医学文献に報告されている症例もプールし、メタ分析などの手法を用いて oseltamivir と死亡との関連を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、ベトナム国立熱帯医学研究所と国立国際医療センター倫理委員会の承認を得て実施された。

C. 研究結果

2004 年 1 月から 2005 年 7 月までに入院した、29 例の患者(平均年齢 35.1 歳)の診療録が調査された (Table 1)。このうち死亡は 7 例(24.1%)であった。死亡と関連のあった要因は、白血球減少、血小板減少、アルブミン低値、GOT 高値などであった (Table 2)。一方、年齢には関連を認めなかった。

Oseltamivir は 25 例が使用していた。使用例での死亡は 5/25 例(20.0%)であり、未使用例での死亡は 2/4 例(50.0%)であった ($p=0.24$)。患者の重症度は不均一であり、これを調整するため白血球数を用いて exact logistic regression を行った。Oseltamivir 使用例の死亡オッズ比は 0.15(95%信頼区間 0.00-2.57)であり、なお信頼区間は広がった。

従来の報告の中で、本研究の症例とプールして解析できる報告は Table 3 の通りであった。Fixed effect model による通常のメタ分析では、Oseltamivir 使用例の死亡オッズ比は 0.39(95%信頼区間 0.12-1.28)であった (Figure 1)。この方法では、個々の症例の重症度が調整できないため、白血球数と報告された国を調整した exact logistic regression

を行ったところ、Oseltamivir 使用例の死亡オッズ比は 0.098(95%信頼区間 0.002-0.787, p=0.0213)と有意に死亡の抑制効果が認められた(Table 4)。

D. 考察

本研究の症例は、既報と比較して死亡率が低かった。他の研究と比べて白血球数が高く、このため軽症例が多く含まれていた可能性がある(Table 3)。死亡は白血球数の他、臓器障害を示唆する所見と関連があった。

Oseltamivir 使用例では死亡例が少なかったが、オッズ比の信頼区間は広がった。また白血球数により重症度は調整したが、観察研究でありなお交絡因子の影響の可能性は残った。

また、既報の症例をプールし、重症度や報告された国を調整すると有意な差が観察された。oseltamivir の効果はなお不十分であるとしても、無使用の場合に比べると、死亡の抑制効果を示している可能性がある。

E. 結論

29 例の検討では、Oseltamivir 使用例では死亡例が少なかったが、オッズ比の信頼区間は広がった。また観察研究であり交絡因子の影響の可能性は残った。しかし既存の報告症例をプールすると、有意に Oseltamivir 使用例では死亡例が少なかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

特になし。

2. 学会発表

特になし。

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

Table 1. Patient characteristics (n=29)

Age	35.1±14.4
Male:Female patients	15:14 (52/48%)
Ill contact	
Poultry	19 (65.5%)
Sick poultry	12 (41.4%)
H5N1 infected family	6 (20.7%)
Sick poultry or person	15 (51.7%)
Admission after onset (days)	6 (3.5-8)
Hospital stay (days)	14 (8.5-17)
Oseltamivir	25 (86.2%)
Days starting oseltamivir after onset	7 (5-11)
Methylprednisolone	15 (51.7%)
Dead	7 (24.1%)

Table2. Laboratory findings and initial chest X-ray lesion of the patients

	Alive	Dead
WBC (x103/ μ l)	9.6 ± 4.9	4.4 ± 3.1 *
Neutrophil (x103/ μ l)	7.5 ± 4.2	3.1 ± 2.6 *
Hemoglobin (g/l)	122 ± 22	117 ± 24
Platelet (x103/ μ l)	244 ± 116	115 ± 106 *
Albumin (g/l)	33.6 ± 3.0	20.5± 9.6 *
GOT (U/l)	64.3 ± 58.4	391.6± 477.1 *
Total bilirubin (μ mol/l)	12.2 ± 6.9	48.1± 80.4
Urea nitrogen (mmol/l)	4.8 ± 1.8	9.6 ± 5.7 *
Initial chest X-ray lesion		* p<0.05
No or slight lesion	7	1
Moderate lesion	10	3
Severe lesion	5	3

Table 3

既報との比較

Authors	PY	Age(mean±SD)	WBC(x10 ³ / μ l)	Admission after		Outcome	
				Onset	Alive	Deceased	
Present study		35.1 ± 14.4	7.20 (3.90-11.30)	6 (3.5-8)	22	7	
Yuen	1998	17.6 ± 20.4	5.60 (2.47-10.70)	3 (2-4)	5	5	
Hien	2004	13.7 ± 6.4	2.10 (1.90-2.80)	6 (5-7)	2	8	
Chotpitayasunondh	2005	22.0 ± 21.4	4.43 (2.75-5.64)	-	4	8	
Oner	2006	10.1 ± 4.0	3.80 (1.80-5.75)	6 (4-7)	4	4	
Kandun	2006	15.4 ± 14.9	3.59 (2.61-6.30)	7 (5-7)	4	4	
Bucky	2007	16.0 ± 9.9	4.20 (3.06-4.70)	6 (5-7)	0	6	

Figure 1 **Meta-analysis**

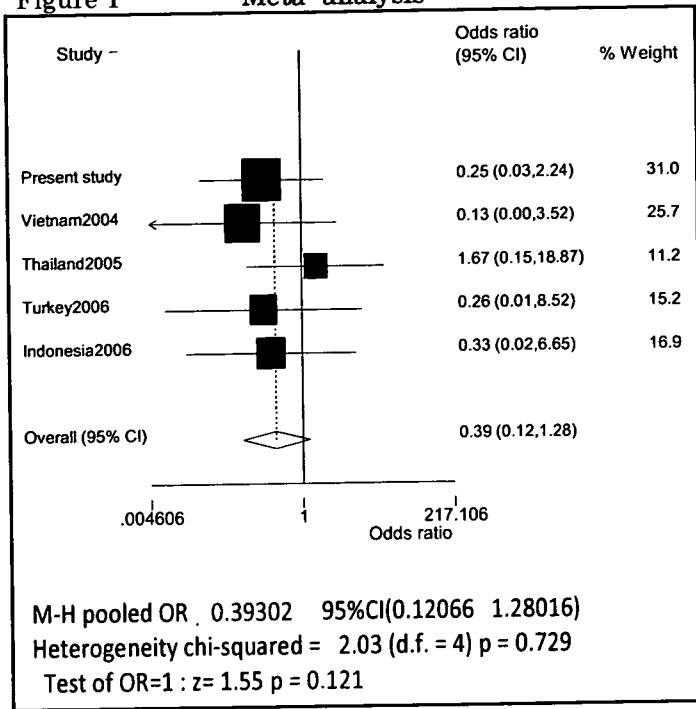


Table 4

Pooled analysis of individual patient data						
Exact logistic regression						
Number of obs =		67	Model score =	5.911535	Pr >= score =	0.0526
death	Odds Ratio	Suff.	2*Pr(Suff.)	[95% Conf. Interval]		
Oseltamivir	0.309	17	0.0526	0.0870	1.0114	
Report	1.14	106	0.3738	0.8604	1.5309	
Number of obs =		67	Model score =	32.05015	Pr >= score =	0.0000
death	Odds Ratio	Suff.	2*Pr(Suff.)	[95% Conf. Interval]		
Oseltamivir	0.098	17	0.0213	0.0021	0.7870	
wbc6500	0.013	1	0.0000	0.0002	0.1165	
Report	1.019	106	0.9808	0.7087	1.4609	

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

高病原性鳥インフルエンザの病理・免疫組織化学的研究

分担研究者 佐多徹太郎 国立感染症研究所 感染病理部 部長

研究要旨 高病原性鳥インフルエンザがヒトに感染した場合の病理・病態はいまだ不明である。本年度はベトナムの H5N1 感染剖検症例を共同研究の一環として入手し、さらに検索し最終結果を得た。組織学的には浸出期に相当する DAD 所見がみられ、A 型インフルエンザウイルス抗原(NP 抗原)は、1 型および 2 型肺胞上皮細胞、肺胞内マクロファージ、一部の細気管支上皮細胞、そして血管内皮細胞に認められた。鳥インフルエンザウイルスのヒト感染肺組織におけるウイルスと病変の関係が明らかとなった。肺全体あるいは感染宿主全体についてはいまだ情報は少ない。

A. 研究目的

高病原性鳥インフルエンザがヒトに感染した場合の病理・病態はいまだ不明である。とくに重症化し死亡した症例の病理像について検討し、病態を明らかにし、診断・治療への示唆を与えることを目的とする。

B. 研究方法

ベトナム小児病院との共同研究として 2003 年前後のインフルエンザ剖検例のホルマリン固定パラフィン包埋肺組織を入手し、病理像を検討する機会を得た。各パラフィンブロックから切片を作製し、HE 染色ほかの通常標本作製した。また、インフルエンザウイルス抗原を組織切片上で検出するための免疫組織化学法は、モノクローナル抗体を反応させた後、LSAB キット (Dako) を用い、ジアミノベンチジンで発色した。ほか、種々の細胞マーカー抗体を用いて免疫染色、および二重染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。さらに、各症例の肺パラフィンブロックから 10 μ m の切片 5 枚を作製し、脱パラフィンの後、Isogen を用いて RNA を抽出し、H5N1 の realtime RT-PCR を行い、ウイルスゲノムの検索を行った。

(倫理面への配慮)

ベトナム保健省の了承のもと、共同研究契約にもとづいて臨床歴とともにホルマリン固定パラフィン包埋組織を入手した。

C. 研究結果

1)症例：12 才女児例で、発症から剖検まで 6 日であった。胸部 X 線像では広範な陰影増加を認めた。BAL 材料の PCR 法で H5N1 型の A 型インフルエンザウイルスゲノムが陽性であった。

2)病理所見：肺胞領域に硝子膜形成がみられ diffuse alveolar damage (DAD)の組織所見を示し、滲出性病変であった。細気管支には組織学的に著変を認めなかった。

3)免疫組織化学所見：感染細胞のマーカーとウイルス抗原の二重染色で A 型インフルエンザウイルス抗原はおもに肺胞領域の上皮細胞の核と細胞質に検出された。核内のみ存在する感染細胞もみられた。細気管支上皮細胞の一部に陽性となった。また、Cytokeratin AE1/AE3、EMA、surfactant apoprotein D、surfactant apoprotein A、CD68、および CD34 抗原との二重染色で、ウイルスは 1 型および 2 型肺胞上皮細胞と一部の細気管支上皮細胞、肺胞内マクロファージ、血管内皮細胞で増殖していることが明らかとなった。 α 2.6 シアル酸は感染細胞に陽性であったが、 α 2.3 シアル酸は陰性であった。

4)Realtime RT-PCR：パラフィンブロックから検索を行った。その結果、12 才女児の肺組織から 18-183 コピーの H5N1 インフルエンザウイルスゲノムが検出された。陰性対照には陰性であった。

D. 考察

今回の検索例では末梢肺組織のみであるが、実際のヒト組織において、肺内での鳥インフルエンザウイルス H5N1 の感染部位と細胞を明らかにできた。これまで剖検例が報告されているものの、DAD 病変と 2 型肺胞上皮細胞のウイルス感染、肺胞内マクロファージの存在であり、これらの所見から鳥インフルエンザの肺病態が考察されてきた。しかし今回の検索でより理解が深まった。すなわち、BAL ないし気管分泌液からウイルスが検出されたことから、ウイルスは経気道で感染し、気道系でもっとも感染に弱い細気管支末端から肺胞領域にかけて、おそらく 1 型肺胞上皮細胞に感染する。ウイルスの増殖により呼吸上皮細胞が感染し脱落し、血清成分の漏出が起こり、硝子膜形成がおこる。そして増殖してきた 2 型肺胞上皮にもさらに感染が広がっていく。そして肺胞内が器質化するころには、ウイルス抗原は消失し、サイトカインの働きも加わって重篤な器質化肺炎から呼吸不全に進行していくのではないかと考えることができる。

人の肺組織では、インフルエンザウイルスの細胞レセプターとしてシアル酸が知られており、ヒトインフルエンザウイルスでは $\alpha 2.6$ シアル酸が、鳥インフルエンザウイルスでは $\alpha 2.3$ シアル酸がレセプターとして機能することが知られている。これらは *ex vivo* のデータであり、実際の感染例では明らかではなかった。今回の症例では、 $\alpha 2.6$ シアル酸は感染細胞に陽性であったが、 $\alpha 2.3$ シアル酸は陰性であったことから、他のことも考慮する必要が示唆された。

最近中国から鳥インフルエンザの 2 剖検例が *Lancet*(2007 Sep 29;370(9593):1137-45)に発表された。詳細な剖検例でのウイルス検索でははじめてである。ウイルス抗原は 2 型肺胞上皮細胞、気管上皮細胞、リンパ節の T 細胞、脳の神経細胞、胎盤の Hofbauer ないし *cytotrophblast* にも検出され、妊婦の胎児では肺、血液単核球、肝臓のマクロファージに陽性だったという。いままでの報告と異なり、肺以外の臓器組織にもウイルス感染が広がっており、しかも胎盤を介して胎児にも感染することが報告された。

鳥インフルエンザのヒト感染例のウイルス学およびウイルス感染病理学的データはいまだ乏しい。しかしながら、中国からの 2 例の報告のみではいまだ不明な

点が残っており、治療を考える上で、今後のさらなる検討が期待される。

E. 結論

高病原性鳥インフルエンザウイルス感染ヒト肺組織を病理学および免疫組織化学的に検討し、末梢肺組織でのウイルスの増殖を明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

Liem NT, Nakajima N, Phat LP, Sato Y, Thach HN, Hung PV, San LT, Katano H, Kumasaka T, Oka T, Kawachi S, Matsushita T, Sata T, Kudo K, Suzuki K.: H5N1-infected cells in lung with diffuse alveolar damage in exudative phase from a fatal case in Vietnam. *Jpn J Infect Dis* 61: 157-160, 2008.

2. 学会発表

特になし。

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

高病原性鳥インフルエンザに関わる医療従事者の臨床プログラム開発

分担研究者 加藤康幸 国立国際医療センター 国際疾病センター

研究要旨 高病原性鳥インフルエンザの診療に関わる可能性が高い感染症指定医療機関の医師は、十分な研修機会が与えられていないと考えられた。主に熱帯地方で発生している高病原性鳥インフルエンザの診療において、他の熱帯感染症との鑑別診断が重要と考えられた。高病原性鳥インフルエンザと熱帯感染症に関する医師向けの国内および海外短期研修プログラムを作成した。本年度は、開発した研修プログラムを用いて、厚生労働省一類感染症等予防・診断・治療研修をベトナムにおいて実施した。

A. 研究目的

高病原性鳥インフルエンザのヒト症例を経験した日本人医師は、きわめて限られている。インドネシアに次いでヒト症例の多いベトナムの拠点病院での診療経験を生かした日本人医師向けの短期研修プログラムを作成し、感染症指定医療機関の診療能力の向上に寄与することを目的とする。

B. 研究方法

高病原性鳥インフルエンザの患者が発生した場合、診療する可能性が高い、特定および第一種感染症指定医療機関の診療状況を調査した。分担研究者が渡越し、国立感染症熱帯病研究所（ハノイ市）とホーチミン市熱帯病院の担当者と協議し、海外研修プログラムを作成した。さらに、国内研修プログラムも作成した。

（倫理面への配慮）

研修資料作成にあたっては、患者の個人情報に注意した。

C. 研究結果

1) 特定および第一種感染症指定医療機関の診療状況調査：平成 18 年度のアンケート調査(回答 13 施設)によって、感染症診療に従事する専門医の不足があること、職員の定期的な研修が半数の施設で行われていないこと、情報の収集が主にインターネットで行われていることなどが明らかとなった。

2) 国内医師研修プログラムの作成：昨年度に引き続き、輸入感染症講習会を開催した(国立国際医療センター、厚生労働省健康局結核感染症課後援；平成 19 年 10 月 25 日)。高病原性鳥インフルエンザについて、日本人専門家による講義とベトナムから e-medicine を利用した最近の症例報告を取り入れた。腸チフス、マラリア、デング熱、狂犬病の各論に加え、首都圏の感染症指定医療機関医師による事例検討を行った。昨年度からの大きな変更点は、昨年度参加者のアンケート結果を考慮し、期間を 2 日から 1 日にしたことである。首都圏に限らず、沖縄県からも 25 名の医師が参加した。参加者の専門分野は、呼吸器内科(6 名)、一般内科(5 名)、小児科(5 名)、感染症内科(4 名)などであった。

3) 海外研修プログラムの作成(研修スケジュール別紙)：平成 18 年度に開発したプログラムを厚生労働省一類感染症等予防・診断・治療研修(ベトナム・ホーチミン市熱帯病院；平成 20 年 3 月 9 日から 15 日)として実施した。高病原性鳥インフルエンザについては、実際に使用された隔離病室の見学、個人防護具の着脱実習、検査・治療に関するベトナム人専門家による講義、フィールド実習を行った。午前と夕方(毎日計 4 時間)を病棟で過ごし、デング出血熱、重症マラリアなど一類感染症の鑑別診断として重要な熱帯感染症を経験できた。第一種感染症指定医療機関(指定予定を含む)の医師 7 名(防衛医科大学校、横浜市立市民病院、大阪市立総合医療センター、奈良県立医科大学、高知医療センター、福岡市立

こども病院・感染症センター)が参加した。研修資料は、国立国際医療センター国際疾病センターホームページに掲載した。その一部は、近日公開予定である。

第2回輸入感染症講習会 プログラム

9:30-9:35	挨拶	工藤宏一郎(IMCJ DCC)
9:35-9:45	講習会の概要説明	加藤康幸(IMCJ DCC)
9:45-10:30	腸チフス	加藤康幸(IMCJ DCC)
10:30-11:15	マラリア	狩野繁之(IMCJ 研究所)
11:15-11:30	休憩	
11:30-12:15	デング熱	水野泰孝 (在ベトナム日本国大使館)
12:25-13:40	マラリア検査実習/昼食	
13:50-14:30	H5N1 インフルエンザ	川名明彦(IMCJ DCC)
14:30-15:00	最近の H5N1 症例 (e-medicine)	Nguyen Quoc Thai (NIITD, Hanoi)
15:00-15:20	休憩	
15:20-16:40	ケーススタディ	古宮伸洋 (東京都立墨東病院) 倉井華子 (横浜市立市民病院) 田沼順子 (IMCJ ACC)
16:40-17:00	休憩	
17:00-17:45	旅行者下痢症	角田隆文(財団法人東京都保健 医療公社荏原病院)
17:45-18:30	狂犬病曝露後発症予防	高山直秀 (東京都立駒込病院)
	終了式・レセプション	

D. 考察

重症急性呼吸器症候群(SARS)が、香港、台湾、シンガポール、カナダなどの日本と同水準の医療機関で診療されたのに比べ、高病原性鳥インフルエンザの患者は、東南アジアなどの一般に医療事情の悪い場所で診療されている。このため、その診療内容は SARS の時ほど明らかにされていない。分担研究者が所属する国立国際医療センターの海外拠点があるベトナムの病院では、日本と似たような水準で医療が行われているが、高病原性鳥インフルエンザ症例の 40 例を越える豊富な経験がある。このような海外拠点を持たない感染症指定医療機関にとって、ベトナムでの経験を生かした研修プログラム作成は有意義と考えられた。

感染症指定医療機関の医療従事者は、予防、診断、

治療など、疾患に対する十分な知識を持って診療にあたる必要があり、自身も勉強したいという意欲を持っているが、都道府県、学会、大学による研修の機会はきわめて少ない。「国は感染症指定医療機関の医師などの感染症に関する知識の向上のため、感染症に関する講習会を行うとともに、感染症に関する研修のため、海外にこれらの者を派遣するといった取組を行っていく必要がある」と国の感染症予防指針にも書かれている通り、国が教育の機会を提供する必要があると考える。本研究で開発した国内および海外研修プログラムは、感染症予防指針の趣旨に合うだけでなく、これら医療従事者が持つ研修機会の潜在的需要を掘り起こすものと考えることができる。近年、大学に臨床感染症学または感染制御学講座が作られ、臨床感染症を専門にしたいと考える医師も増加してきている。感染症学会では、専門医教育について議論を始めているが、本研究で開発した研修プログラムが、感染症指定医療機関に勤務する医師だけでなく、感染症に関心を持つすべての医師に利用されることが、日本における感染症対策に資することになるであろう。このような研修に対する国の支援を今後も期待したい。

感染症指定医療機関は急性期病院で多忙な医師が多く、期間を国内研修では 2 日以内、海外研修では 7 日以内とせざるを得なかった。高病原性鳥インフルエンザが現在、東南アジアなど熱帯地域で発生していることから、マラリアなど熱帯感染症との鑑別診断に重点を置いた研修プログラムとした。このため、国内で実際に患者が発生した場合の、検体の搬送や感染防御といった話題に十分時間を割くことができなかった。当初は IT を利用した研修プログラムなどを構想していたが、著作権の問題などで進めることができなかった。

E. 結論

高病原性鳥インフルエンザに関する医師向けの国内および海外研修プログラムを作成した。

F. 研究発表

1. 論文発表

特になし。

2. 学会発表

水野泰孝, 加藤康幸, 岩瀬敬祐, 神村麻穂子, 工藤宏一郎. 国立国際医療センターにおける臨床医を対象とした熱帯医学・旅行医学研修の概要. 第56回日本感染症学会東日本地方会学術集会. 東京. 2007.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

院内感染対策に関する研究

分担研究者 川名明彦 国立国際医療センター 国際疾病センター 特別疾病制圧班医長

研究要旨 高病原性鳥インフルエンザ A/H5N1 は、現時点では効率よいヒトへの感染性を有さないが、ヒトに感染した場合 60%以上が死亡する危険な感染症である。本感染症を封じ込めるための感染対策の指針として WHO がガイドラインを発表しているが、実際の診療の現場で使用するためにはより具体的な記述が必要である。今回の研究では、本疾患についてより具体的・実践的な感染対策マニュアルを作成した。

A. 研究目的

高病原性鳥インフルエンザ A/H5N1 ならびに新型インフルエンザを視野に入れた実践的な病院内の感染対策マニュアルを作成すること。

B. 研究方法

WHO は、動物の間に新型ウイルスが出現し、徐々にヒトへの適応が進行し、最終的にヒトの世界で感染が拡大して世界的大流行をきたすまでの経過を 6 つの段階に分けている（パンデミックフェーズ分類 1～6）。しかしこの分類は、ウイルス学的・疫学的知見に基づくものであり、実際の診療には必ずしも適切とは言えない。そこで本研究では、フェーズ 1～2 を「季節性インフルエンザ感染対策強化の時期」、フェーズ 3～5 を「鳥インフルエンザ封じ込めの時期」ならびにフェーズ 6 を「大流行の時期」の 3 つのグループに分けることを提案し、各段階における感染対策の方法をマニュアルとしてまとめた。さらにこのマニュアルについてインターネットを用いて公開し、広くパブリックコメントを求め改善する方法を採った。次いでマニュアルに従った演習を実施し、問題点を検証した。

（倫理面への配慮）

研究そのものに倫理的には特に問題はないと考えられるが、その内容に関しては患者への倫理的配慮を十分行った。

C. 研究結果

すでにマニュアル案が完成し、パブリックコメントを取り入れて改訂作業中である。また、現在もインターネット上で公開中である。本マニュアルに従った高病原性鳥インフルエンザ A/H5N1 感染対策訓練も実施し、マニュアルの問題点の検証作業が進行中である。今後はさらに内容の充実を図ってゆくことを予定している。

http://www.dcc.go.jp/dis_center/pdf/influ_manual.pdf

D. 考察

現在世界各国は WHO の指針に従い、パンデミックインフルエンザ各フェーズにおける感染対策マニュアル・ガイドラインの開発を急いでいる。すでに米国 CDC、カナダ、イギリスなどからはかなり具体的な高病原性鳥インフルエンザ A/H5N1 および新型インフルエンザ感染対策ガイドラインが発表されている。わが国においては、厚生労働省新型インフルエンザ専門家会議が中心となり同様のガイドライン作成を急いでいるがまだ具体化していないのが現状である。本研究で作成した感染対策マニュアルは、より実践的で現場に実情に即したものとしてわが国の対策の普及・実践に貢献できると考えている。

E. 結論

今回われわれは、高病原性鳥インフルエンザ A/H5N1 ならびに新型インフルエンザを視野に入れた実践的な病院内の感染対策マニュアルを作成した。このマニ

アルに沿って演習を繰り返すことを通じより完成度の高いものに改定してゆく。本マニュアルは実践的で現場に実情に即したものとしてわが国の対策の普及・実践に貢献できると考えている。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 川名明彦. ヒトの鳥インフルエンザ 感染症の臨床的諸問題. 臨床とウイルス (日本臨床ウイルス学会) 35 巻 5 号 p439-446 2007 年

2) 川名明彦. 新型インフルエンザ対策 医療機関の立場から. 臨床検査 (医学書院) 52 巻 1 号 p64-68 2008 年

2. 学会発表

特になし。

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

高病原性鳥インフルエンザによる発症機序に関する研究
－NCI-H292, Calu-3 細胞を用いた検討－

分担研究者 慶長直人 国立国際医療センター研究所 呼吸器疾患研究部 部長

研究要旨 高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒトにおける感染病態に関連して、我々はヒト型・鳥型インフルエンザウイルスのレセプターである $\alpha 2-6$ 結合型シアル酸 (SA2-6Gal: Sialic acid $\alpha 2-6$ Gal)・ $\alpha 2-3$ 結合型シアル酸 (SA2-3Gal: Sialic acid $\alpha 2-3$ Gal)のヒトの気道上皮細胞における発現様式の解析を進めてきた。これまでにヒト気道上皮細胞株 NCI-H292, Calu-3 における SA2-6Gal と SA2-3Gal の発現をレクチン染色・レクチン定量系を用いて検討した。本年度は、さらに上記細胞株でのシアル酸転移酵素遺伝子の mRNA 発現の検討を加え、NCI-H292 細胞と Calu-3 細胞の *ST6GAL1* の転写開始点の相違、サイトカイン等の刺激での発現パターンなど解析した。

A. 研究目的

インフルエンザウイルスはオルソミクソウイルス科に属する RNA ウイルスである。A 型インフルエンザウイルスはヒトにおいて病原性が高く、これまでも 1918 年のスペイン型・1968 年の香港型・1977 年のソ連型インフルエンザのように、度々大流行を引き起こしてきた。今後再び抗原性の異なるヒト新型インフルエンザが出現すると、重症且つ世界的な大流行を引き起こすことが懸念されている。

現在ヒトにおける新型インフルエンザの脅威として、高病原性鳥インフルエンザウイルスが注目されている。1997 年香港で直接ヒトへ感染・死亡するという事例に始まり、2003 年のオランダ、2003-4 年以降は東南アジアを初めとする諸地域で、高病原性鳥インフルエンザのヒトへの感染及び死亡例が増加し、新型インフルエンザの出現の現実的な可能性が、今までになく高まっている。

A 型インフルエンザウイルスでは、ウイルス粒子の表面に 2 種類の糖蛋白質が存在し、ヘマグルチニン (HA: hemagglutinin) 及びノイラミニダーゼ (NA: neuraminidase) がそれぞれ 3 量体、4 量体でスパイクを形成している。抗原性の相違から、HA は 15 の亜型 (H1-15)、NA は 9 の亜型 (N1-N9) に分類されている。

ヒトで主に流行しているのは A 香港型の H3N2 および A ソ連型の H1N1 であるが、現在問題になっている高病原性鳥インフルエンザウイルスは H5N1 である。

インフルエンザウイルスは侵入時、細胞表面の糖蛋白や糖脂質の糖鎖の末端に存在するシアル酸を宿主側受容体としている^{1),2)}。トリのインフルエンザウイルスの HA が認識するレセプターは、シアル酸と隣接するガラクトースとの結合様式が $\alpha 2-3$ 結合のシアル酸であるのに対し、ヒトのインフルエンザウイルスは $\alpha 2-6$ 結合のシアル酸をレセプターとして認識して吸着することが知られている。

ヒトの気道上皮細胞には主に $\alpha 2-6$ 結合型シアル酸 (SA2-6Gal: Sialic acid $\alpha 2-6$ Gal)、トリの腸管上皮には、 $\alpha 2-3$ 結合型シアル酸 (SA2-3Gal: Sialic acid $\alpha 2-3$ Gal) が発現しており、このレセプター分布の違いが宿主特異性を決定する重要な因子のひとつと考えられる。1997 年香港での H5N1 型高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染例をはじめ、それ以降アジア諸国で見られた感染例では、どのような機序でトリのウイルスがヒトに感染をきたしたのか注目されている。ヒト気道上皮細胞では主に SA2-6Gal が発現しているが、最近、気道上皮細胞の分化に伴う SA2-3Gal の発現の検討^{3),8)}や、気道組織の中で SA2-3Gal を発現してい

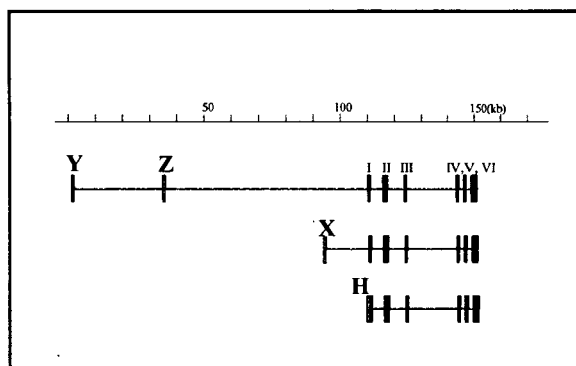
る細胞の局在の検討⁹⁾⁻¹²⁾などが行われ、少ないながらも発現している SA2-3Gal レセプターを介してトリのインフルエンザウイルスが感染しうるとの報告が散見される。

トリのウイルスのヒトへの易感染性の違いは、このような SA2-6Gal 及び SA2-3Gal の発現量の個人差に起因している可能性が考えられる。ヒト気道上皮細胞株でのヒトおよびトリのインフルエンザウイルスレセプター、 $\alpha 2-6$ 結合型シアル酸・ $\alpha 2-3$ 結合型シアル酸の発現様式を明らかにすることにより、高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒト感染の発症機序を解明することを目的として、我々は、ヒト気道上皮細胞株 NCI-H292, Calu-3 の SA2-6Gal 及び SA2-3Gal の細胞表面の分布をレクチン染色、レクチン定量系を用いて明らかにしてきた。今年度はさらに、シアル酸転移酵素遺伝子の mRNA 発現もあわせて解析し、特に炎症の場における発現制御機構を明らかにすることを試みた。

B. 研究方法

① *ST6GAL1* の各組織での発現検討

ヒトの多くの組織において、糖鎖末端にシアル酸を 2-6 結合で付加する反応を担う酵素は、*ST6GAL1* である。*ST6GAL1* の transcripts は図 1 に示すように、5' exon の異なる YZ, X, H の 3 つが知られている。気道において、他の組織と違う transcript が発現しているかどうかを調べるために、Human total RNA Master Panel II (CLONTECH) を用いて、RT/PCR を行った。



(図 1) *ST6GAL1* 遺伝子のエクソン構成

② ヒト気道上皮細胞の気相液相培養系における発現検討

同意のもとで得られた手術肺の一部から気道上皮細胞

の培養を行い、さらに気相液相培養を行った。再分化に伴う *ST6GAL1* の transcripts の種類の変化の有無を RT/PCR で検討した。

③ NCI-H292 と Calu-3 細胞における発現検討

2 種類の細胞株を用いて、発現している transcripts の種類を検討した。

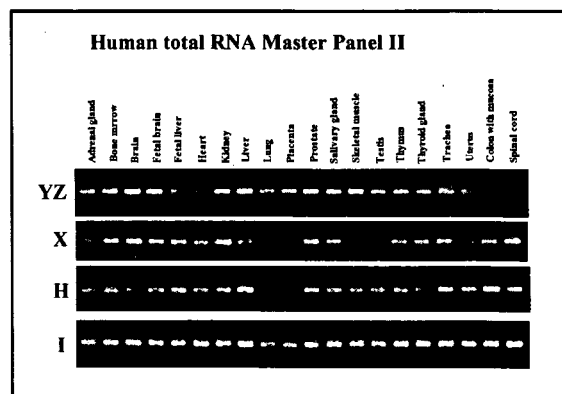
④ 各種サイトカインなど刺激を加えた NCI-H292 細胞における発現検討

平成 17 年度に報告したように、LPS・サイトカインなどの刺激により、発現に差異が生じるのかを比較検討するために、NCI-H292 を用い、種々の刺激条件で培養を行った。NCI-H292 を 6 穴プレート (5×10^5 cells/well) で培養し、90% confluent で IFN- γ (0.1 ng/ml, 10 ng/ml), IFN- β ・IFN- δ (100 U/ml, 1000 U/ml), TNF- α (0.1 ng/ml, 50 ng/ml), 好中球エラスターゼ (10^{-8} M, 10^{-7} M), Lipopolysaccharide (LPS) (1 μ g/ml, 20 μ g/ml), Interleukin-13 (IL-13) (1 ng/ml, 200 ng/ml), Poly I:C (10 μ g/ml, 100 μ g/ml) などの刺激を加え、24, 48 時間後に細胞を回収、RT/PCR による検討を行った。

C. 研究結果

① *ST6GAL1* の各組織での発現検討

図 2 に結果を示すように、各組織で *ST6GAL1* の mRNA はいずれの 5' exon を有するものも幅広く発現しており、肺・気管支で特に他の組織と違う傾向は認められなかった。



(図 2) ヒト各種組織における *ST6GAL1* の transcripts