

な感染・炎症病態において、酸化ストレスのバイオマーカーとして 3-NT が益々臨床応用されることが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Tatsuya Okamoto, Shahzada Khan, Kohta Oyama, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. A new paradigm for antimicrobial host defense mediated by a nitrated cyclic nucleotide. *J Clin Biochem Nutr.* 46: 14-19, 2010.
2. Khandaker A. Ahmed, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. Protein cysteine S-guanylation and electrophilic signal transduction by endogenous nitro-nucleotides. *Amino Acids.* in press, 2010.
3. Mohammad Hasan Zaki, Shigemoto Fujii, Tatsuya Okamoto, Sabrina Islam, Shahzada Khan, Khandaker A. Ahmed, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. Cytoprotective function of heme oxygenase-1 induced by a nitrated cyclic nucleotide formed during murine salmonellosis. *J Immunol.* 182: 3746-56, 2009.
4. Tatsuya Okamoto, Mohammad Hasan Zaki, Shigemoto Fujii, Tomohiro Sawa, Takaaki Akaike. Nitric oxide-mediated host immune response and microbial pathogenesis. *Nitric Oxide Synthase Inhibitors: From Animal Studies to Clinical Implications* (Tunctan B. Editor) in press, 2009.
5. 藤井重元、澤智裕、赤池孝章. 8-Nitro-cGMP の発見と生理機能の解明. *化学と生物.* 48: 22-27, 2010.
6. 岡本竜哉、澤智裕、藤井重元、赤池孝章. 活性酸素・NO による感染防御シグナルの新展開-Antimicrobial signaling mediated by reactive oxygen species and NO. *細胞.* 41: 51-55, 2009.
7. 赤池孝章、岡本竜哉、Mohammad Hasan Zaki、藤井重元、澤智裕. NO による細胞内感染防御の新しい展開-New paradigm of host defense against intracellular pathogens by nitric oxide. *日本ハンセン病学会雑誌.* 78: 41-47, 2009.
8. 赤池孝章. 活性酸素のシグナル伝達機能-その生理機能の再発見と酸化ストレス研究の新展開. *実験医学増刊: 病態解*

明に迫る活性酸素シグナルと酸化ストレス (谷口直之 監修) 2320-2329, 2009.

9. 澤智裕、有本博一、赤池孝章. チオール基の修飾による活性酸素のセンサー機能制御. *実験医学増刊: 病態解明に迫る活性酸素シグナルと酸化ストレス* (谷口直之 監修) 2341-2347, 2009.

2. 学会発表

1. Tatsuya OKAMOTO, Tomohiro SAWA, Shigemoto FUJII, Takaaki AKAIKE. Guanine nitration and host defense during influenza virus pneumonia. 8th Asia Pacific Congress of Medical Virology. (Hong Kong, CHINA), February 26-28, 2009.
2. Khandaker A. AHMED, Tomohiro SAWA, Takaaki AKAIKE. Nitration of 3',5'-cyclic diguanylic acid, a bacterial signaling molecule. 第82回 日本細菌学会総会. 名古屋市, 3月, 2009.
3. 澤智裕、赤池孝章. 酸化ストレスにおけるNO・活性酸素シグナル制御. 第79回日本衛生学会学術総会. 東京都, 3月, 2009.
4. 澤智裕、藤井重元、入江厚、岡本竜哉、居原秀、本橋ほづみ、山本雅之、赤池孝章. S-Guanylation proteomics: unique post-translational modification of thiols dependent on nitric oxide and reactive oxygen species. 第9回日本NO学会学術集会. 静岡市, 5月, 2009.
5. 岡本竜哉、澤智裕、藤井重元、赤池孝章. インフルエンザウイルス肺炎における8-ニトロ-cGMPの生成を介した酸化ストレス応答の分子メカニズム. 第9回日本NO学会学術集会. 静岡市, 5月, 2009.
6. 藤井重元、赤池孝章. 8-ニトログアノシン3',5'-環状1リン酸による蛋白質S-グアニル化を介する酸化ストレス適応応答の分子機構. 第9回日本NO学会学術集会. 静岡市, 5月, 2009.
7. Khandaker A. AHMED, Tomohiro SAWA, Takaaki AKAIKE. Nitration of guanosine 3',5'-cyclic monophosphate by nitric oxide and reactive oxygen species. 第9回日本NO学会学術集会. 静岡市, 5月, 2009.
8. 小山耕太、Khandaker A. AHMED、立山美笑、澤智裕、赤池孝章. 細菌シグナル分子3',5'-cyclic diguanylic acidのニトロ化. 第9回日本NO学会学術集会. 静岡市, 5月, 2009.

9. 赤池孝章. 活性酸素とNOによる親電子シグナル伝達. 第62回日本酸化ストレス学会学術集会. 福岡市, 6月, 2009.
 10. 澤智裕, Khandaker A. AHMED, J. BURGOYNE, 岡本竜哉, 藤井重元, Philip EATON, 赤池孝章. S-グアニル化を介したprotein kinase Gの新規な活性化機構. 第62回日本酸化ストレス学会学術集会. 福岡市, 6月, 2009.
 11. 藤井重元, 澤智裕, 岡本竜哉, 三浦高, 岩本典子, 熊谷嘉人, 赤池孝章. 細胞内S-グアニル化蛋白質の同定とS-グアニル化制御機構の解明. 第62回日本酸化ストレス学会学術集会. 福岡市, 6月, 2009.
 12. 岡本竜哉, 澤智裕, 藤井重元, 赤池孝章. インフルエンザウイルス肺炎における8-ニトロ-cGMPの生成を介した酸化ストレス応答の分子メカニズム. 第20回日本生体防御学会. 東京都, 7月, 2009.
 13. 藤井重元, 澤智裕, 岡本竜哉, 居原秀, 井田智章, Kit I. TONG, 本橋ほづみ, 山本雅之, 赤池孝章. 蛋白質S-グアニル化を介する酸化ストレス適応応答の分子機序. 第6回Heme Oxygenase研究フォーラム. 京都市, 8月, 2009.
 14. 岡本竜哉, 澤智裕, 藤井重元, 赤池孝章. インフルエンザウイルス肺炎における8-ニトロ-cGMPの生成を介した酸化ストレス応答の分子メカニズム. 第46回日本ウイルス学会九州支部総会. 佐賀市, 9月, 2009.
 15. 赤池孝章. NOと活性酸素による酸化ストレス適応応答. 第82回日本生化学会大会. 神戸市, 10月, 2009.
 16. 澤智裕, Khandaker A. AHMED, Joseph R. BURGOYNE, 岡本竜哉, 藤井重元, Philip EATON, 赤池孝章. ニトロ化環状ヌクレオチドによる蛋白質S-グアニル化を介したcGMP依存性プロテインキナーゼの活性化機構. 第82回日本生化学会大会. 神戸市, 10月, 2009.
 17. 藤井重元, 澤智裕, 岡本竜哉, 三浦高, 岩本典子, 熊谷嘉人, 赤池孝章. 細胞内S-グアニル化蛋白質の同定と蛋白質S-グアニル化の生理機能の解明. 第82回日本生化学会大会. 神戸市, 10月, 2009.
 18. 小野勝彦, Khandaker A. AHMED, 澤智裕, 赤池孝章. 細菌シグナル分子3',5'-cyclic diguanylic acidのニトロ化. 第82回日本生化学会大会. 神戸市, 10月, 2009.
 19. Khandaker A. AHMED, 澤智裕, 岡本竜哉, 藤井重元, 赤池孝章. Chemical basis of 8-nitroguanosine 3',5'-cyclic monophosphate formation in cells. 第82回日本生化学会大会. 神戸市, 10月, 2009.
 20. Khandaker A. AHMED, 澤智裕, 岡本竜哉, 藤井重元, Philip EATON, 赤池孝章. A unique activating mechanism of cGMP-dependent protein kinase by a nitrated derivative of cGMP. 第25回熊本医学生物科学シンポジウム. 熊本市, 11月, 2009.
 21. Kohta OYAMA, Khandaker A. AHMED, Tomohiro SAWA, Tatsuya OKAMOTO, Shigemoto FUJII, Philip EATON, Takaaki AKAIKE. A unique activating mechanism of cGMP-dependent protein kinase by a nitrated derivative of cGMP. 5th Joint Meeting of the Societies for Free Radical Research Australasia and Japan. (Sydney, AUSTRALIA), December 1-4, 2009.
- G. 知的財産権の出願・登録状況**
1. 特許取得
 - 1) 出願番号：特願 2007-252877
発明の名称：SH 基修飾剤
発明者：赤池孝章、有本博一、澤智裕
出願日：平成 19 年 9 月 28 日
 - 2) 出願番号：特願 2007-015728
発明の名称：抗 8-チオアルコキシグアノシン-3',5'-サイクリック 1 リン酸抗体
発明者：赤池孝章、澤智裕
出願日：平成 19 年 1 月 26 日
 2. 実用新案登録：なし
 3. その他：なし

表1 対象症例 (27症例・36検体) (ベトナム・ハノイ国立小児病院)

検体番号	検体コード	症例コード	年齢(歳)	性別	基礎疾患	採血日	3-NT/Tyr (μmol/mol)	生存 (A) 死亡 (D)	多臓器不全	P/F 比
1	002C	p2	0.33	F	ARDS	2008.1.17	0.24	D	+	108.4
2	004C	p13	0.25	M	ARDS	2008.1.24	0.13	A	-	97.5
3	006C	p4	0.18	F	ARDS	2008.1.29	0.16	D	+	63.0
4	007C	p11	14	F	ARDS	2008.1.17	0.80	A	+	95.1
5	009C	p14	7	M	H5N1	2008.2.12	0.46	A	-	116.0
8	15C	p14	7	M	H5N1	2008.2.26	1.72	A	-	116.0
7	14C	p15	0.2	F	ARDS	2008.2.26	0.03	A	+	88.6
11	22C	p19	11	M	H5N1	2008.3.8	0.13	D	-	48.7
12	23C	p19	11	M	H5N1	2008.3.14	0.10	D	-	48.7
10	21C	p20	0.2	F	ARDS	2008.3.7	0.04	A	+	152.5
14	30C	p23	0.2	M	ARDS	2008.7.11	0.41	A	-	137.5
17	36C	p23	0.2	M	ARDS	2008.7.28	0.46	A	-	137.5
15	31C	p21	0.25	M	ARDS	2008.7.11	2.19	D	-	72.5
16	34C	p10	0.25	M	ARDS	2007.12.18	0.71	A	+	121.0
18	39C	p29	0.15	F	ARDS	2008.8.13	0.57	D	+	56.2
19	40C	p25	0.15	F	ARDS	2008.8.18	0.45	A	+	63.6
20	42C	p24	0.33	M	ARDS	2008.9.8	2.93	A	-	35.2
21	43C	p24	0.33	M	ARDS	2008.10.7	1.59	A	-	35.2
22	45C	p27	5	M	ARDS	2008.10.16	0.27	A	+	57.1
23	49C	p27	5	M	ARDS	2008.10.29	1.54	A	+	57.1
24	50C	p27	5	M	ARDS	2008.11.3	0.14	A	+	57.1
25	51C	p28	0.25	M	ARDS	2008.11.5	0.45	A	-	73.4
26	52C	p32	0.75	F	ARDS	2008.11.6	0.10	A	+	61.1
28	54C	p32	0.75	F	ARDS	2008.11.26	0.20	A	+	61.1
27	53C	p34	0.2	M	ARDS	2008.11.11	0.20	D	+	92.3
29	55C	p30	0.17	F	ARDS	2008.12.2	0.15	A	-	30.5
31	56C	p31	11	F	septicemia	2008.12.13	0.45	A	-	123.5
32	61C	p36	0.2	F	ARDS	2009.2.24	0.04	A	-	76.2
34	64C	p35	0.2	F	ARDS	2009.2.27	0.12	A	-	43.1
36	67C	p37	0.8	M	ARDS	2009.3.6	0.07	A	-	173.0
38	70C	p37	0.8	M	ARDS	2009.3.21	2.62	A	-	173.0
39	71C	p39	0.33	M	ARDS	2009.3.21	0.06	A	-	182.0
43	73C	p39	0.33	M	ARDS	2009.4.7	0.14	A	-	182.0
41	72C	p38	2	M	ARDS	2009.4.1	0.20	D	-	53.0
44	79C	p43	0.36	M	septicemia	2009.6.4	0.17	A	-	66.0
45	80C	p42	0.25	F	pneumoniae	2009.6.5	0.32	A	-	22.0

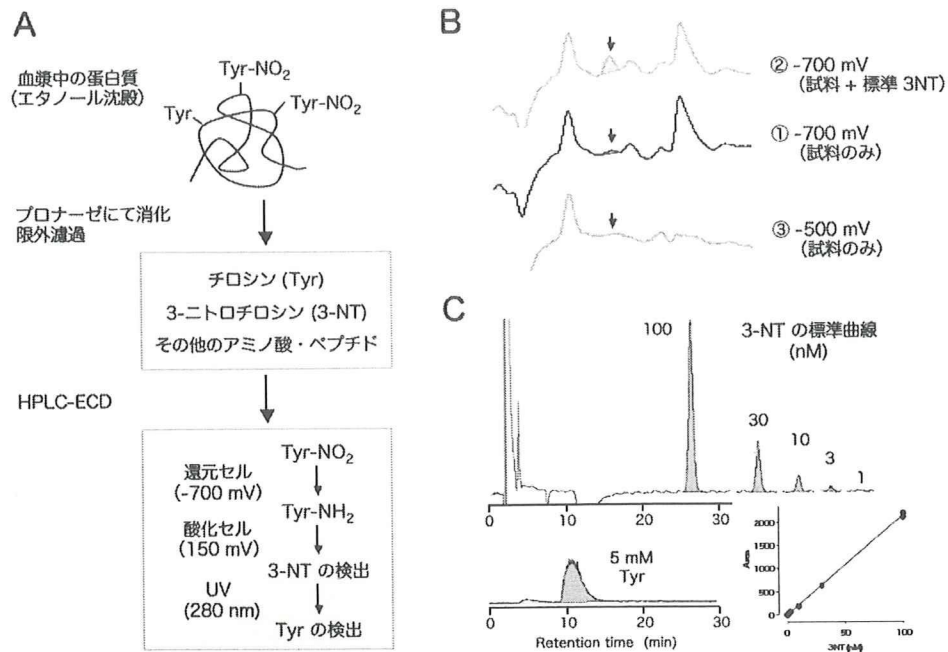


図1 HPLC-電気化学検出器 (ECD) を用いた血漿蛋白質中の3-ニトロチロシンの測定

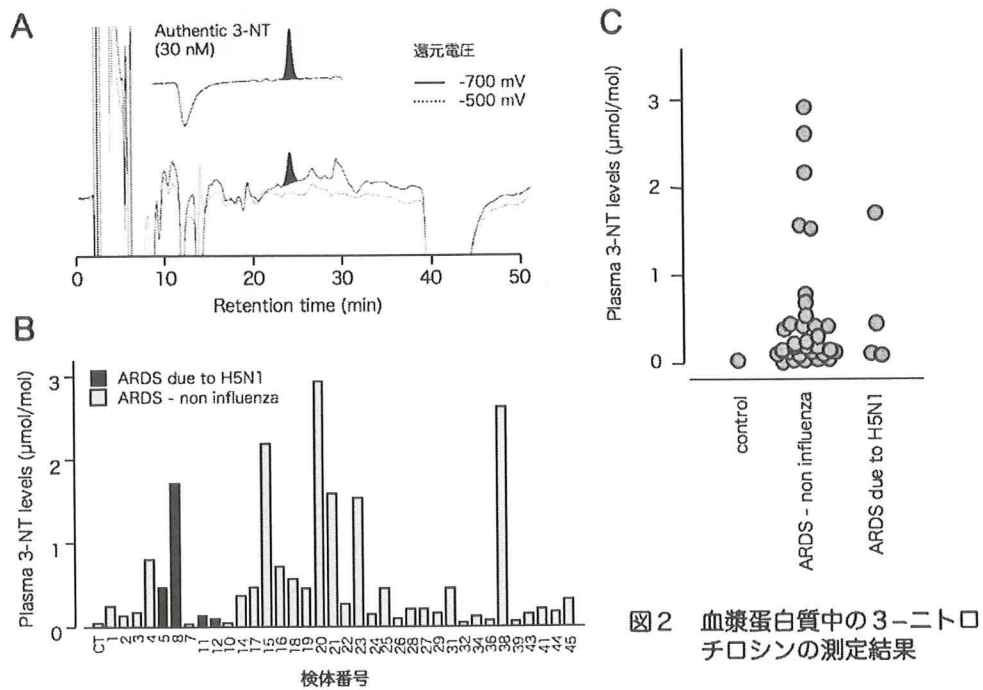


図2 血漿蛋白質中の3-ニトロチロシンの測定結果

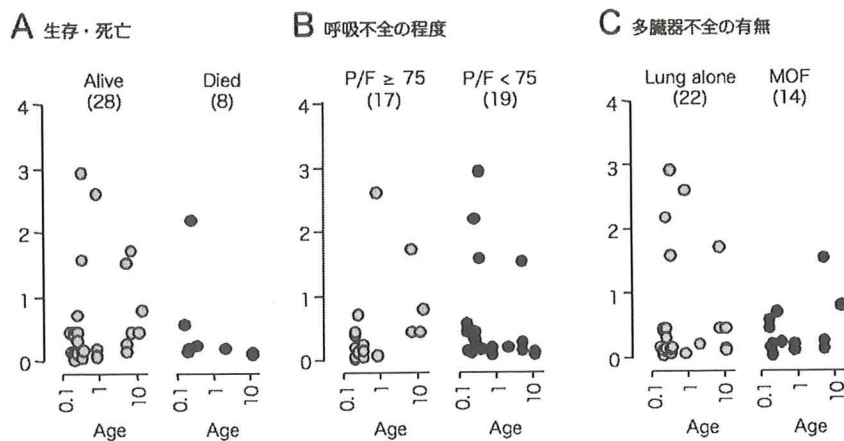


図3 血漿蛋白質中の3-ニトロチロシンのレベルと病態との関連性

厚生労働科学研究費補助金 (新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

分担研究報告書

ARDS の発症機構および病態モデルを用いた病理学的解析 —SARS-CoV 感染動物における宿主の Th1/Th2 バランスと重症化の関連—

研究分担者：永田典代 国立感染症研究所 感染病理部 第二室長

研究協力者：岩田奈織子 国立感染症研究所 感染病理部 主任研究官

長谷川秀樹 国立感染症研究所 インフルエンザウイルス研究センター 第六室長

佐多徹太郎 国立感染症研究所 感染病理部 部長

研究要旨 Th1/Th2 バランスと重症急性肺炎の発症の関連性を解明することを目的とした。重症急性呼吸器症候群コロナウイルス (SARS-CoV) マウス馴化株を用いた感染実験の結果、半年齢、4 週齢の C57BL/6 マウスはいずれも SARS の発症を示さなかった。半年齢の C57BL/6 マウスの肺におけるウイルス量、サイトカイン解析の結果、ウイルス感染後 1-2 日目には炎症性、抑制性サイトカイン等がバランスよく発現していることが明らかとなった。一方で、半年齢の BALB/c マウスでは感染 3 日目までに IL-6、KC 等が持続的な発現を示し、炎症性反応が持続、亢進しており、感染 3 時間後の IFN- γ 投与による免疫調整は SARS 発症を阻止する。これらの結果から、マウスモデルにおいては、Th1 優位な反応は SARS-CoV の排除や感染後の免疫調整作用に重要であり、Th2 側へシフトした個体における感染後の免疫応答の Th1/Th2 バランス異常が SARS 発症の引き金になると結論された。

A. 研究目的

H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスをはじめとするいくつかの呼吸器感染症における炎症亢進による病態の悪化は、宿主の Th1/Th2 バランス異常が背景にあるとされ、Th1 あるいは Th2 側、もしくはいずれの場合でもその要因となることが報告されている。われわれはすでに、Th2 優位の半年齢 BALB/c において、重症急性呼吸器症候群関連コロナウイルス(SARS-CoV)のマウス馴化株がサイトカインストームによる SARS を発症し致死的

となることを示した。さらに、BALB/c においては感染 3 時間後の IFN- γ 投与による免疫調整作用が SARS 発症を阻止することを明らかにした。今年度は、Th1 優位の C57BL/6 を用いて同様の実験を実施し、本モデルにおける Th1/Th2 バランスと重症急性肺炎発症の関連性について明らかにした。

B. 研究方法

SARS 患者からの分離株である Frankfurt 株 (Dr. Ziebuhr より分与) をマウス (BALB/c, 4

週齢, 20 μ l 接種) に 10 回の継代接種を行い、得られたウイルスを VeroE6 細胞で一回継代した。このウイルス (F-musX-VeroE6 株) を 4 週齢あるいは半年齢の C57BL/6 に 20 μ l 経鼻接種し、10 日間、経過観察を行った (一群 n=5 匹)。また、経時的に材料を採取し、組織中のウイルス、サイトカインおよび病理学的検索を行った (n=4)。病理学的解析は、常法どおり作製した 10%ホルマリン緩衝液固定後のパラフィン切片肺組織を用いた。免疫組織化学によるウイルス抗原の検出は UV 不活化粒子 (HKU39849 株) をウサギに免疫して得られた抗 SARS-CoV 血清を用いて実施した。サイトカイン量の測定は UV 照射および 0.1%SDS によるウイルス不活化処理後の材料を用いて、Mouse Cytokine twenty-plex antibody bead kit (BioSource International, Camarillo, CA)で行った。

C. 研究結果

4 週齢、半年齢の C57BL/6 はいずれも接種 3 日目までに 3%程度の体重減少を示したが、呼吸器症状はみられなかった (図)。肺内のウイルス量は 1,2 日目までは半年齢の BALB/c 感染マウスの結果と比較して同等の増殖を示したが、3 日目には有意に減少した (図)。また、非接種群と比較して、肺乳剤上清で接種 6 時間から FGF basic, IL-10, IL-1 β , IL-2, IL-6, MCP-1, MIG の有意な上昇がみられ、2 日目には IL-1 α , IL-5, IP-10, KC, MIP-1 α が有意に上昇した。これらの炎症性サイトカイン、ケモカインの上昇は多くが 2 日目をピークとし、3 日目には減少した。

D. 考察

本モデルにおいて、Th2 シフト (IL-4 高値と IFN- γ 低値) を示す半年齢 BALB/c マウスはマウス継代株を経鼻感染後、ウイルス増殖局所における炎症性サイトカインの過剰な発現 (IL-6, KC 等の高発現)、抑制性サイトカイン (IL-10) と IFN- γ の低発現を示す。その結果、ウイルス増殖と血管透過性亢進による慢性肺胞傷害と強い肺水腫が引き起こされ SARS を発症する。このモデルに感染 3 時間後の IFN- γ 投与することにより、SARS による致死を免れた。今回、C57BL/6 では SARS 発症はみられず、ウイルス感染後早期に炎症性、抑制性サイトカイン等がバランスよく発現し、ウイルス排除と炎症の調整に働いていることが示された。これらの結果を総合すると、本マウスモデルにおいては、Th1 優位な反応は SARS-CoV の排除や感染後の免疫調整作用に重要であり、Th2 側へシフトした Th1/Th2 バランス異常が SARS 発症の引き金になると推察された。

E. 結論

本マウスモデルでは、Th2 側へシフトした動物における SARS-CoV 感染後の Th1/Th2 レスポンスのバランス異常が重症肺炎の発症の引き金になると結論した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Koji Ishii, Hideki Hasegawa, Noriyo Nagata, Yasushi Ami, Shuetsu Fukushi, Fumihito Taguchi, Yasuko Tsunetsugu-Yokota. Neutralizing antibody against severe acute

respiratory syndrome (SARS)-coronavirus spike is highly effective for the protection of mice in the murine SARS model. *Microbiology and Immunology*, 53:75-82, 2009.

2. Shiori Haga, Noriyo Nagata, Tadashi Okamura, Norio Yamamoto, Tetsutaro Sata, Naoki Yamamoto, Takehiko Sasazuki, Yukihito Ishizaka. TACE antagonists blocking ACE2 shedding caused by the spike protein of SARS-CoV are candidate antiviral compounds. *Antiviral Res.* 2009. in press
2. 学会発表
 1. 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐多徹太郎. 重症急性呼吸器症候群コロナウイルス (SARS-CoV) 感染モデルを用いた SARS に対する治療法の検討. 第 97 回日本病理学会総会. 京都府, 5 月, 2009.
 2. 原崎一浩、永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐多徹太郎、山本直樹、高久洋、佐藤人美、山本陽子、平松啓一、田代真人、山本典生. 免疫抑制剤の SARS コロナウイルス増殖に与える影響についての解析. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会. 東京都, 10 月, 2009.
 3. 山本典生、永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、佐多徹太郎、松本武久、高久洋、山本陽子、佐藤人美、平松啓一、田代真人、山本直樹. Structure-based drug design (SBDD)による SARS コロナウイルス増殖抑制薬剤の同定. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009.
 4. 永田典代、岩田奈織子、長谷川秀樹、西條政幸、森川茂、佐藤由子、佐多徹太郎. SARS-CoV 感染動物における宿主の Th1/Th2 バランスと重症化の関連. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京都, 2009.
 5. 長谷川秀樹、相内章、永田典代、岩田奈織子、網康至、小淵正次、岸田典子、小田切孝人、佐多徹太郎、田代真人. 新型インフルエンザ H1N1 のフェレットにおける病原性の検討. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009.
 6. 岸田典子、小淵正次、高下恵美、徐紅、氏家誠、永田典代、岩田奈織子、相内章、長谷川秀樹、田代真人、齋藤玲子、鈴木宏、池松秀之、小田切孝人. 季節性インフルエンザワクチンにより誘導される中和抗体の新型インフルエンザウイルスに対する交差反応性および新型インフルエンザウイルスの性状. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009.
 7. 岩田奈織子、永田典代、辻隆裕、長谷川秀樹、佐藤由子、横田恭子、水谷哲也、西條

政幸、森川茂、佐多徹太郎. SARS-CoV 感染動物モデルを用いた UV 不活化 SARS-CoV の免疫効果と副反応について. 第 57 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, 2009.

8. 長谷川秀樹、相内章、網康至、永田典代、田村慎一、谷本武史、真鍋貞夫、石川豊数、宮崎隆、小田切孝人、田代真人、倉田毅、佐多徹太郎. 経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの財形と効果検討. 第 13 回日本ワクチン学会学術集会. 札幌, 9 月, 2009.

H. 知的財産権 の出願、登録状況

なし。

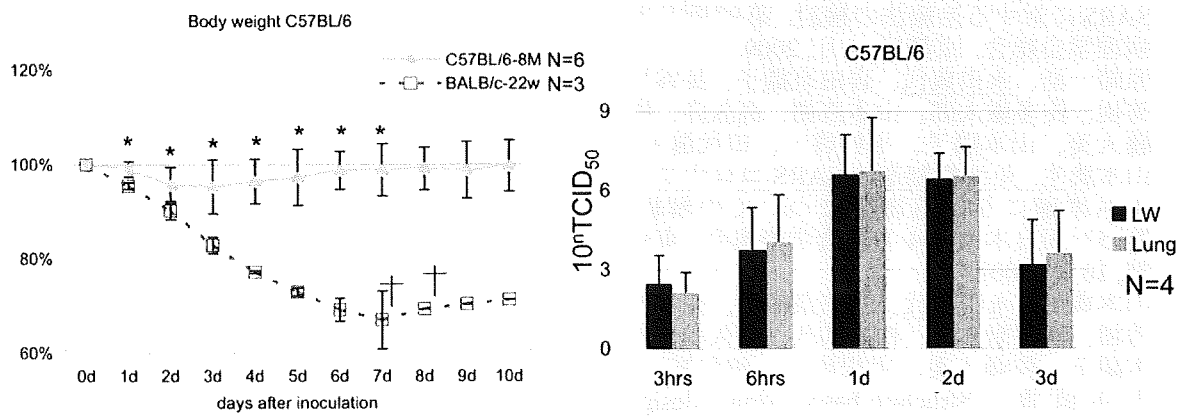


図 C57BL/6 マウスを用いた SARS-CoV マウス馴化株感染実験。左図 6 - 8 ヶ月齢の C57BL/6 マウスの体重変化を示す。点線は同様の実験を行った際の BALB/c マウスの体重変化を対象として示した。右図 6 - 8 ヶ月齢の C57BL/6 肺及び肺洗浄液中のウイルス量を示す。

鳥インフルエンザウイルス（H5N1）感染症の病態解析

研究分担者 中島典子 国立感染症研究所・感染病理部 主任研究官
研究協力者 熊坂利夫 日赤医療センター・病理部

研究要旨 鳥インフルエンザ H5N1 感染症の多くは、劇症型 ARDS を呈し、呼吸不全で死亡するが、その病態については明らかでない。ベトナムハノイ国立小児病院（NHP）との共同研究により H5N1 感染症で死亡した 5 症例の肺組織について病理学的に解析した。2009 年にパンデミックとなったインフルエンザ A/H1N1pdm ウイルス感染症は季節性インフルエンザの場合と異なり、重症肺炎を併発し、ウイルス肺炎により死亡する例がある。我々は本邦で最初のインフルエンザ A/H1N1pdm ウイルス肺炎の剖検例を解析し、鳥インフルエンザ H5N1 感染症および季節性インフルエンザ感染症と比較検討した。

A. 研究目的

鳥インフルエンザ H5N1 感染症では多くが劇症型 ARDS を呈し、呼吸不全で死亡するが、その病態については明らかでない。本研究では高病原性インフルエンザウイルス感染症の病態をヒト剖検材料から明らかにし、その予防・治療法の開発に必要な知見を得ることを目的とする。また 2009 年に出現したいわゆる新型インフルエンザは高病原性ではないが、季節性インフルエンザと異なり重症肺炎を併発することがあることがわかった。これらの違いを剖検組織の病理学的解析から明らかにし、新型インフルエンザ感染ではウイルス血症となるかについても明らかにする。

B. 研究方法

(1)H5N1 感染症剖検肺組織の病理学的解析

材料：ベトナムハノイ小児病院で 2003 年から 2008 年に H5N1 感染症で亡くなった剖検

例 5 例のホルマリン固定パラフィン包埋ブロック。うち、3 例は肺組織のみ。1 例は肺のほか心臓、肝臓、腎臓。1 例は肺のほか心臓、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、腸管。

方法：HE 染色にて組織学的病変の性状を評価し、A 型インフルエンザ NP 抗原を免疫組織化学で検出した。さらに細胞マーカー蛋白との二重蛍光免疫染色と共焦点レーザー顕微鏡による解析により抗原陽性細胞を同定した。パラフィン切片から RNA を回収し、定量 RT-PCR 法によりウイルス量を測定した。

(2)インフルエンザ A/H1N1pdm ウイルス肺炎の剖検例の病理学的解析

材料：パンデミックインフルエンザ A/H1N1pdm ウイルス肺炎で死亡した症例の剖検組織。

方法：(1)の方法に加えて、in situ hybridization 法によるウイルス核酸の検出、肺組織からのウイルス分離、ネガティブ染

色による電子顕微鏡によるウイルス像の解析、ウイルスの全塩基配列決定を行った。また血液、肺組織中のサイトカイン・ケモカインの測定をした。

(3) インフルエンザ A/H1N1pdm ウイルス感染におけるウイルス血症に関する研究

材料：臨床例として 2009 年 9 月 27 日より 11 月 19 日までに迅速検査で A 型インフルエンザウイルス抗原陽性となった患者 16 名の血清および全血、計 32 検体。剖検例として感染研感染病理部に解析依頼された 4 症例の生前時の血清 10 検体。合計 42 検体。

方法：各検体 100μl から RNeasy kit で RNA を抽出し DNase 処理後リアルタイム RT-PCR 法で A/H1N1pdm ウイルスの HA 遺伝子の検出を βactin 遺伝子を内因性コントロールとして行った。

(倫理面への配慮)

剖検例については剖検承諾書にて了解を得ている。また血液材料に関しては個々の患者にインフォームドコンセントが取れている。

C. 研究結果

(1) H5N1 感染症剖検肺組織の病理学的解析

肺の病理組織像はびまん性肺障害 (DAD) の滲出期 (exudative stage) あるいは増殖期 (proliferative stage) を呈しており、ARDS の臨床所見と矛盾しなかった。硝子膜の形成、間質の浮腫と細胞浸潤、II 型肺胞上皮の過形成および出血が認められた (図 1)。5 例のうち病日の早い 3 例で A 型インフルエンザ NP 抗原が免疫組織化学で検出された。

(図 1)

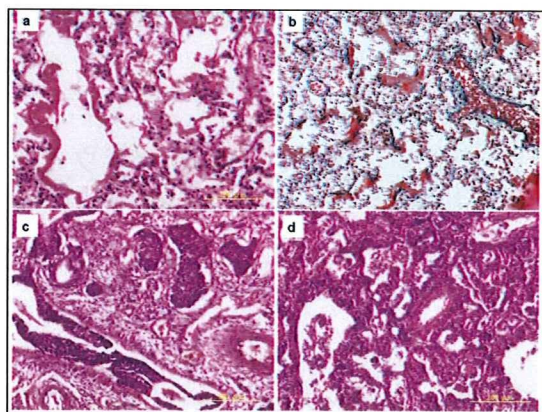


図 1. H5N1 感染肺の組織所見 a. DAD 滲出期 b.硝子膜 (赤) 形成 c. DAD 増殖期 d. DAD 増殖期

細胞マーカー抗原との蛍光二重染色法、共焦点レーザー顕微鏡による解析によって、インフルエンザ抗原陽性細胞は主に II 型肺胞上皮細胞およびマクロファージであることがわかった (図 2)。

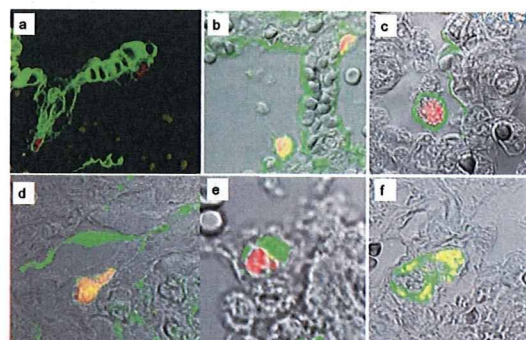


図 2. インフルエンザ NP 抗原(赤)と細胞マーカー(緑)との蛍光二重染色:すべて共局在する。a. サイトケラチン (細気管支上皮) b. EMA8 上皮細胞 c. SP-D(II 型肺胞上皮) d. CD34 (血管内皮細胞) e. KP-1(マクロファージ) f. PGM-1(マクロファージ)

2 例のパラフィン包埋肺組織からインフルエンザウイルス由来核酸を RT-PCR 法により検出した。なお、肺以外の臓器に関して

は、非特異的な病理学的変化にとどまり、インフルエンザ抗原は検出されなかった。

(ベトナムハノイ国立小児病院との共同研究)

(2)インフルエンザ A/H1N1pdm ウイルス肺炎の剖検例の病理学的解析

剖検例は 33 歳の男性。基礎疾患として拡張型心筋症、糖尿病、小児喘息、肥満 (170cm、112kg、BMI:38) があった。発症から 5 日目に呼吸不全となり入院加療するも 7 日目に永眠した。入院時咽頭スワブ迅速診断で陰性であったためタミフルは遺伝子診断がでた 6 日目から投与開始した。病理所見として、肺は水腫状で正常含気部分はわずかであった。主気管支は泡沫状分泌物で満たされ、分泌物は A 型インフルエンザ抗原迅速診断で陽性であった。肺の病理組織像は肺水腫が主たる病変で II 型肺胞上皮細胞の増生と I 型肺胞上皮細胞の喪失、また一部に硝子膜形成がみられた。肺の病理組織像は肺のセクションによって新しい病変から古い病変まで DAD の病期が異なっていた (図 3)。全般的には硝子膜形成前の初期のびまん性肺障害 (DAD) 像が多かった。図 3 に示したようにインフルエンザ NP 抗原は古い病変からはほとんど検出されなかった。その他にヘモジデリンを貪食した肺胞マクロファージ (心不全細胞) が多数見られた。免疫組織化学により A 型インフルエンザ NP 抗原は気管支上皮細胞と肺胞上皮細胞に検出された (図 3)。一方、マクロファージおよび血管内皮細胞には検出されなかった。呼吸器官以外の組織にはインフルエンザ抗原は検出されなかった。剖検凍結生組織とホルマリン固定パラフィン包埋組織切片から RNA を抽出し、定量 RT-PCR 法で解析し

たところ、ウイルス核酸も気管、気管支、肺に限局されて検出され、特に肺組織からはおよそ $10^5/\text{cell}$ コピー検出された。

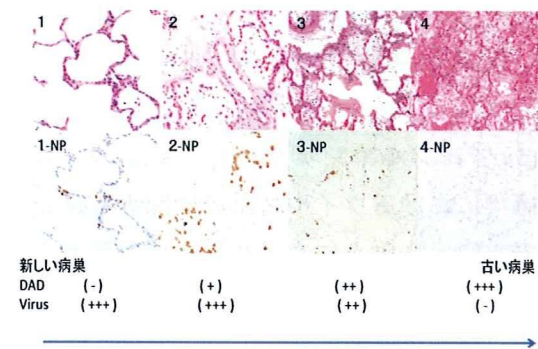


図 3. 1-4 : HE 染色、1-NP-4-NP : インフルエンザ NP 抗原の免疫組織化学(茶色)

また電顕で類円形およびひも状粒子のウイルスの形態を捕えることができた (図 4)。

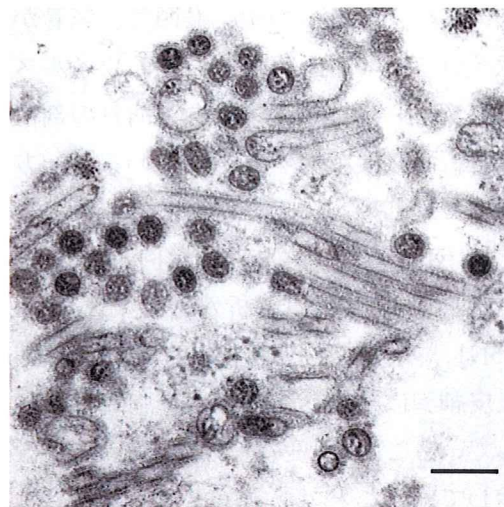


図 4.肺組織中のパンデミックインフルエンザウイルス電顕像 scale:200nm

ISH-AT 法によりウイルス mRNA とゲノム RNA を検出したところ mRNA のほうが多く検出され、ウイルスが増殖していることが確認できた。肺からは感染ウイルス粒子が分離されたが、ウイルス血症はみとめられなかった (表 1、患者番号 17)。死亡時の

組織中のサイトカイン量を Human Cytokine 25-plex(BIOSOURCE 社)で解析したところ、肺では IL-2R、IFN- γ 、IFN- α 、IL-6、IL-10、TNF- α 、MCP-1、MIG、IL-8 が上昇していた。(長野日赤病院との共同研究)

(3) インフルエンザ A/H1N1pdm ウイルス感染におけるウイルス血症に関する研究

表 1 に示すようにウイルス血症は認められなかった。(研究協力者：松下竹次、河内正治(研究代表者))

D. 考案

ベトナムにおける H5N1 感染症例は減少しているため、剖検例は大変貴重である。H5N1 感染の病態をさらに詳細に解明するためには、今後、咽頭、喉頭部、気管から区域気管支等の上気道におけるウイルス分布の解析および感染まもない病日の剖検例の解析が必要であると考えている。一方、本邦で最初のパンデミックインフルエンザ H1N1pdm ウイルス肺炎剖検例の解析では、全身の剖検組織の解析が可能であった。H5N1 感染剖検例と類似している点は肺胞上皮細胞に感染し、直接の肺胞障害をおこなっていること、程度の差はあるが DAD 像を示していることである。また異なる点は、本症例ではインフルエンザ抗原陽性のマクロファージが検出されなかったことである。今後、解析剖検症例数が増えることにより病態や発症機構が解明されるのではないかと考えている。パンデミックインフルエンザウイルスのウイルス血症の有無について明らかにすることは、献血におけるウイルスの混入などの安全性の面で必須である。今回対象とした症例では季節性インフルエ

ンザと同様ウイルス血症は認められなかった。現時点でインフルエンザウイルス感染は呼吸器官に限局されており、心筋、腸管、脳などからは検出されていない。一方、H5N1 のヒト感染症では、ウイルス血症となる可能性が示唆されており、呼吸器以外からウイルス核酸が検出されたという報告がある。

E. 結論

季節性インフルエンザではウイルスは主に上気道に感染し、細気管支上皮細胞には感染するが、肺胞上皮細胞に感染することはほとんどなく、肺炎を併発しても 2 次性の細菌性肺炎であるといわれている。一方、鳥インフルエンザ (H5N1) ウイルスは主に肺胞上皮、マクロファージに感染し、劇症型 ARDS を引き起こす致死感染症である。2009 年のパンデミックインフルエンザ (A/H1N1pdm) ウイルスは高病原性ではないが、重症肺炎をひきおこすこともあり、剖検例の解析により肺胞上皮細胞にウイルスが感染し、ウイルス性肺炎による肺胞障害を起こすことがわかった。

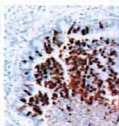
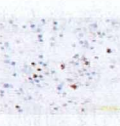

	季節性	H5N1	H1N1 _{pdm}
感染細胞	気管 気管支 細気管支	肺胞上皮細胞 マクロファージ	気管支 肺胞上皮細胞
呼吸器症状	上気道症状。ウイルス性肺炎はなく、2 次的な細菌性肺炎による ARDS の報告はある。	劇症型 ARDS	重症例でウイルス性肺炎ならびに ARDS
ウイルス抗原分布			

図 5. 季節性インフルエンザ、鳥インフルエンザ (H5N1)、パンデミックインフルエンザ (H1N1pdm) の相違

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Noriko Nakajima, Satoru Hata, Yuko Sato, Minoru Tobiume, Harutaka Katano, Keiko Kaneko, Noriyo Nagata, Michiyo Kataoka, Akira Ainai, Hideki Hasegawa, Masato Tashiro, Makoto Kuroda, Tamami Odai, Nobuyuki Urasawa, Tomoyoshi Ogino, Hiroaki Hanaoka, Masahide Watanabe, Tetsutaro Sata. The first autopsy case of pandemic influenza (A/H1N1pdm) virus infection in Japan: Detection of a high copy number of the virus in type II alveolar epithelial cells by pathological and virological examination. Jap J Infect Dis 63:67-71, 2010.

2. 学会発表

1. 中島典子、佐藤由子、下ノ原望、片野晴隆、熊坂利夫、ウエンリエム、河内正治、鈴木和男、佐多徹太郎 鳥インフルエンザウイルス(H5N1)感染症の病態の病理学的解析 第57回日本ウイルス学会学術集会. 東京都, 10月25-27日, 2009
2. Hata Sataoru, Urasawa Nobuyuki, Ogino Tomoyoshi, Hanaoka Hiroaki, Watanabe Masahide, Odai Tamami, Nakajima Noriko, Tobiume Minoru, Sato Yuko, Sata Tetsutaro. An Autopsy case of new influenza virus A/2009(H1N1, PDM) pneumonia. 第55回日本病理学会秋期特別総会, 東京都, 11月19-20日, 2009..
3. Noriko Nakajima. First autopsy case with pandemic influenza (A/H1N1pdm) virus infection in Japan. 14th Annual meeting of US-Japan cooperative medical science program Acute respiratory infections (ARI) panel. in San Francisco, California, U. S. A., January 25-26, 2010.

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

表 1

患者番号	検体番号	*病日	体温(°C)	上気道症状	消化器症状	神経症状	検体	Real time RT-PCR	
								血球	血清
1	1	2	40.2			痙攣	血清・血球	0	0
	2	5	36				血清・血球	0	0
2	3	7	36	気管支炎			血清・血球	0	0
3	4	2	38.6	肺炎			血清・血球	0	0
4	5	2	40.5	肺炎		異常行動	血清・血球	0	0
5	6	4	36	肺炎		意識障害	血清・血球	0	0
6	7	3	38.4			異常行動	血清・血球	0	0
7	8	4	40	肺炎			血清・血球	0	0
8	9	2	38.6			痙攣	血清・血球	0	0
9	10	2	39.8			意識障害	血清・血球	0	0
10	11	2	39	肺炎			血清・血球	0	0
11	12	2	39	呼吸不全			血清・血球	0	0
12	13	1	39	喘息			血清・血球	0	0
13	14	2	38	呼吸不全			血清・血球	0	0
14	15	2			嘔気		血清・血球	0	0
15	16	2	40.1	咳			血清・血球	0	0
16	17	2	39.7	肺炎			血清・血球	0	0
17	18	3	37.8	咳	下痢		血清		0
	19	5	39	肺炎	下痢		血清		0
	20	6	不明	肺炎			血清		0
	21	7#		肺炎			血清		0
18	22	6	不明	肺炎			血清		0
	23	9#	不明	肺炎			血清		0
19	24	2	不明			ライ脳症	血清		0
	25	2	不明				血清		0
	26	2	不明				血清		0
20	27	不明	不明	肺炎			血清		0
陽性コントロール								9.72x10 ⁶	
陰性コントロール								0	
*病日は発熱した日を1とする。				患者 17-20 は剖検症例			#死亡日		

ミエロペルオキシダーゼ欠損マウス好中球からのケモカイン産生

研究分担者 荒谷康昭 横浜市立大学大学院 生命ナノシステム科学研究科 教授

研究要旨 ミエロペルオキシダーゼのノックアウトマウス(MPO-KO マウス)の肺に酵母菌体膜成分であるザイモザンを投与すると、野生型マウスよりも重篤な好中球性肺炎を誘発することや、投与6時間後のMPO-KOマウスでは、MIP-2量が一過的に高値を示すことを昨年度報告した。そこで本研究では、肺中のMIP-2産生細胞を特定することを目的とし、単離好中球にザイモザンを添加しMIP-2分泌量を測定した。その結果、MPO欠損好中球は野生型好中球よりもMIP-2産生量が多いことが判明した。すなわち、MPOの欠損によってMIP-2産生が促進することが、MPO欠損マウスにおけるザイモザン誘発性肺炎の重篤化の一因である可能性が示唆された。

A. 研究目的

ARDS発症機構解明の一助として、肺炎の動物モデルを構築して、そのモデル病態の発症機構を探る。特に、好中球の機能異常との関連に注目し、ミエロペルオキシダーゼ(MPO)を欠損しているノックアウトマウス(MPO-KOマウス)の病態を解析する。MPOは好中球に存在する活性酸素の代謝酵素であり、過酸化水素と塩化物イオンから次亜塩素酸を生成する反応を触媒する。MPO-KOマウスは種々の病原微生物に易感染性を示し、重篤な肺炎を起こして早期に死亡することはすでに報告している。さらに、生菌だけでなく、死菌抽出物を肺に投与しても、MPO-KOマウスの方が野生型マウスよりも重篤な肺炎になることを発見したので、その発症機構を解明する。

B. 研究方法

野生型マウスC57BL/6マウス(日本SLC)およびMPO-KOマウスは、公立大学法人横

横浜市立大学動物実験指針に準じて飼育管理し、8-10週令のマウスを使用した。

好中球はマウス大腿骨髄よりPercoll密度勾配遠心法により単離した。これを市販ザイモザン存在下で3時間または6時間培養し、その上清に分泌したMIP-2量を市販の測定キット(R&D)を用いてELISA法で測定した。一方、単離好中球にザイモザンまたは蛍光ザイモザンを貪食させ、その貪食量を顕微鏡下あるいはフローサイトメトリーで測定した。

(倫理面への配慮)

実験動物は動物の保護及び管理に関する法律に準じて扱い、必要最小限の動物を使用した。頸椎脱臼法もしくはエーテル麻醉法で安楽死させた。

C. 研究結果

野生型およびMPO-KOマウスの大腿骨骨

髓から単離した好中球に *in vitro* でザイモザンを添加して3時間または6時間培養し、培地中に分泌した MIP-2 量を測定したところ、MPO-KO マウスは野生型マウスのおよそ3倍量の MIP-2 を産生することが判明した (図1)。

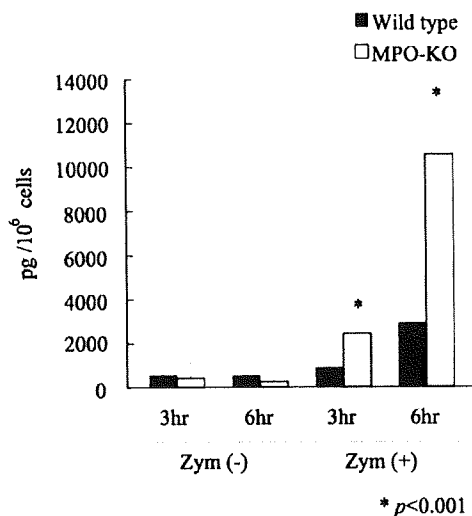


図1 単離好中球からのMIP-2産生量

さらに、両マウスの単離好中球を NF- κ B の阻害剤の存在下で培養した後に、ザイモザンを添加してさらに培養したところ、好中球からの MIP-2 産生量は大きく低下した。すなわち、MIP-2 は NF- κ B を介して生成されることが強く示唆された。

MPO 欠損好中球が MIP-2 を過剰に産生する理由を知るために、好中球のザイモザン貪食能を野生型マウスと MPO-KO マウスとで比較した。両マウスの単離好中球に蛍光ザイモザンを添加した後、顕微鏡観察およびフローサイトメトリーにより解析した結果、MPO-KO マウスの好中球は野生型のものよりも多くのザイモザンを貪食する能力

を持っていることが明らかになった。

D. 考察

ザイモザンを経鼻投与して肺炎を発症させる本肺炎モデルでは、MPO-KO マウスのほうが野生型マウスよりも重篤になる。MIP-2 の産生量が一過的に多くなることが、MPO-KO マウスの肺炎が重篤化する一因になっていると考えられたので、MIP-2 の産生細胞を知ることが、本年度の課題であった。MPO 欠損好中球がザイモザン貪食能が高いことが、MPO-KO マウスにおける MIP-2 の過剰産生の一因であり、MPO の欠損によって MIP-2 産生が促進することが MPO-KO マウスにおけるザイモザン誘発性肺炎の重篤化の一因になっている可能性があることが、本年度の研究によって明らかとなった。

E. 結論

MPO-KO マウス好中球は野生型好中球よりも、ザイモザン貪食能と MIP-2 産生能が高いことが示された。

G. 研究発表

1. 学会発表 国際会議

1. Aratani, Y., Umeki, Y., Nishikawa, N., Tozuka, S., Yoshida, M., Suzuki K: Myeloperoxidase deficiency enhances zymosan-induced acute lung inflammation by up-regulating KC and MIP-2. 7th International Peroxidase Meeting, USA, 2009. 4.
2. Aratani, Y., Kura, F., Watanabe, H., Akagawa, H., Maeda, N., Koyama, H., Suzuki, K: *In vivo* role of myeloperoxidase for the host defense against fungi. The 17th Congress of The International Society for Human and Animal Mycology, 2009. 5.

3. Nagao, T., Dobashi, H., Yamamoto, K., Nakajima, N., Sato, Y., Tomizawa, K., Aratani, Y., Jun, Z., Todaka, R., Oshima, M., Sata, T., Kobayashi, K., Kawachi, S., Nakayama, T., Suzuki, K: Role of Neutrophils and Myeloperoxidase in Lung Injury induced by Influenza A/H1N1 (PR-8) Infection in Mice. 14th International Vasculitis and ANCA Workshop, Denmark, 2009. 6.

国内会議

1. 長尾朋和、土橋英紀、山本紀一、中島典子、佐藤由子、荒谷康昭、鄒軍、戸高玲子、大島正道、佐多徹太郎、小林一夫、河内正治、中山俊憲、鈴木和男: インフルエンザ感染誘導による劇症型 ARDS モデルマウスの作製とその発症機構の解析。第 74 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会 2009 年 6 月 (京都)
2. 長尾朋和、土橋英紀、山本紀一、中島典子、佐藤由子、富澤一夫、荒谷康昭、鄒軍、戸高玲子、大島正道、佐多徹太郎、小林和夫、河内正治、中山俊憲、鈴木和男: インフルエンザウイルス PR-8(H1N1) 感染による肺傷害機構の解析。第 20 回日本生体防御学会学術総会 2009 年 7 月 (東京)
3. 吉田后那、山本桂、鈴木和男、荒谷康昭: ミエロペルオキシダーゼ欠損好中球のケモカイン産生能の解析。第 15 回 MPO 研究会 2009 年 11 月 (栃木)
4. 荒谷康昭: The Structure and Function of Myeloperoxidase. 第 15 回 MPO 研究会 2009 年 11 月 (栃木)
5. Tomizawa, K., Nagao, T., Sugamata, R., Aratani, Y., Kobayashi, K., Kawachi, S., Nakayama, T., Suzuki, K: Role of neutrophils and myeloperoxidase in lung injury induced by influenza A/H1N1 (PR-8) Infection in Mice. 第 39 回日本免疫学会学術集会 2009 年 12 月 (大阪)
6. 荒谷康昭、吉田后那: 好中球機能異常による炎症性腸疾患の解析。第 17 回食細胞機能異常症研究会 2009 年 12 月 (東京)
7. 山本 桂、吉田后那、鈴木和男、荒谷康昭: ミエロペルオキシダーゼ欠損マウス好中球のケモカイン産生能の促進。2010 年度日本農芸化学会大会 2010 年 3 月 (東京, 発表予定)
8. 松本典子、吉田后那、荒谷康昭: ミエロペルオキシダーゼ欠損マウス好中球のザイモザン貪食能の促進。2010 年度日本農芸化学会大会 2010 年 3 月 28 日 (東京, 発表予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業
インフルエンザ（H5N1）の死因となる劇症型 ARDS 病態の解析と治療法の開発に関する
研究班（H19-新興-一般-005）

2009（H21）年度 第1回 班会議 プログラム

日程：2009年7月31日(金)－2009年8月1日(土)

会場：フェニックス・シーガイア・リゾート

コンベンションサミット2F ジブラルタル

【第1日目】

13:30- 受付開始

14:00-14:10 開会にあたって

研究代表者 河内正治（国立国際医療センター）

臨床分科会長 布井博幸（宮崎大学）

14:10-14:30

0-1 **Overview** 河内正治(国立国際医療センター)

14:30-16:35 第一部 基礎研究班（1） 座長：赤池孝章

1-1 **ARDS** 病態モデルを用いた病理学的解析

—SARS-CoV 感染動物における宿主の Th1/Th2 バランスと重症化の関連—

永田典代(国立感染症研究所)

1-2 **FARDS** マウスモデルを用いた発症病態の解析と治療薬の開発

川上和義¹⁾、青柳哲史²⁾、山本夏男²⁾、賀来満夫²⁾

東北大学大学院医学系研究科保健学専攻感染分子病態解析学分野、²⁾ 東北大学大学院医学系研究科感染制御・検査診断学分野)

1-3 インフルエンザウイルス肺炎・ARDS における酸化ストレスバイオマーカー

岡本竜哉、赤池孝章（熊本大学大学院医学薬学研究部微生物学分野）

1-4 ミエロペルオキシダーゼ欠損好中球および肺胞マクロファージからの

KC と **MIP-2** 産生量の測定

荒谷康昭（横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科）、

鈴木和男（千葉大学大学院医学研究院免疫発生学）

1-5 炎症の誘導における **CD69** 分子の関与と免疫炎症細胞浸潤のイメージング解析

中山俊憲（千葉大学大学院医学研究院）、長谷川明洋（山口大学大学院医学系研究科）

16:35-16:55 休憩

16:55-17:45 基礎研究班（2） 座長： 荒谷康昭

2-1 iRNA 治療のための肺胞マクロファージハウスキーピングケモカインレセプターとそのリガンドの解析

山本健二（国立国際医療センター研究所）

2-2 インフルエンザウイルス感染初期に誘導される宿主側抵抗因子(VSG)の解析に向けて
大島正道、戸高玲子（国立感染症研究所）

17:45-18:00 第1日目 総括 基礎分科会長 鈴木和男

18:30-21:30 夕食兼基礎班および臨床班分科会研究打ち合わせ

【第2日目】

9:00-10:00 基礎研究班（3） 座長： 川上和義

3-1 インフルエンザウイルス PR-8(H1N1) 感染誘導による劇症型 ARDS の発症機構の解析

鈴木和男^{1,2}、長尾朋和^{1,2}、山本紀一²、中島典子³、佐藤由子³、荒谷康昭⁴、
戸高玲子²、大島正道²、佐多徹太郎³、小林和夫²、河内正治⁵、中山俊憲⁶

（千葉大院医⁶免疫発生学・¹炎症制御学、国立感染研²免疫部、³感染病理部、
⁴横浜市大・国際総合、⁵国立国際医療センター麻酔科）

3-1-2 「追加発言」

抗ウイルスサイトカインIFNsの発現調節IRFsとFARDS（劇症型ARDS）

- Dr. Keiko Ozato (NICHD, NIH, USA)の発表（第74会JSICR学会）もふまえて -

鈴木和男（千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学・炎症制御学）

3-2 Ventilator-induced lung injury (VILI)モデルマウス

¹前原康宏、^{1,3} 鄒 軍、² 戸高玲子、^{1,3} 富澤一夫、¹ 河内正治、^{1,3} 志賀由佳、² 大島正道、
³ 長尾朋和、³ 鈴木和男

（1 国立国際医療センター、2 国立感染症研究所免疫部、3 千葉大学大学院医学研究院炎症制御学）

10:00-10:10 休憩

10:10-11:40 第二部 臨床研究班 座長：鈴木和男

- 4-1 血中 **cytochrome c** 測定による **FARDS/ARDS** 症例の病態解析
布井博幸（宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学分野）
- 4-2 インフルエンザウイルス感染に続発した肺炎症例の臨床的検討
本間 栄、菊池 直（東邦大学大森医療センター呼吸器内科）
- 4-3 鳥インフルエンザウイルス（**H5N1**）感染症の病態解析
ベトナム・ハノイ小児病院剖検例の病理学的検索
中島典子¹、佐藤由子¹、熊坂利夫²、佐多徹太郎¹、Liem Nguyen Thanh³、河内正治⁴、
鈴木和男⁵（¹国立感染症研究所・感染病理部、²日赤医療センター・病理部、³National
Hospital of Pediatrics、⁴国立国際医療センター・手術部、⁵千葉大学大学院医学研究院・
免疫発生学炎症制御学）
- 4-4 成人 **ARDS** 症例の超急性期 **BALF** 中サイトカインの検討と
NHP-ハノイにおけるインフルエンザ（**H5N1**）症例の検討
河内正治^{1,2}、布井博幸⁴、鈴木和男^{2,3}、San Luong Thi⁵、Liem Nguyen Thanh⁵
（¹国立国際医療センター、²国立感染症研究所、³千葉大学大学院医学研究院、
⁴宮崎大学医学部、⁵National Hospital of Pediatrics, Hanoi, Vietnam）

11:40-12:00 第2日目総括 臨床分科会長 布井博幸
今後の方針及び閉会の辞 研究代表者 河内正治