

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hasegawa H, Ichinohe T, Ainai A, Tamura S, Kurata T. Development of an inactivated mucosal vaccine for H5N1 influenza virus. *Ther Clin Risk Manag.* 2009 Feb;5(1):125-32.
2. Takahashi Y, Hasegawa H, Hara Y, Ato M, Ninomiya A, Takagi H, Odagiri T, Sata T, Tashiro M, Kobayashi K. Protective immunity afforded by H5N1 (NIBRG-14)-inactivated vaccine requires both antibodies against hemagglutinin and neuraminidase in mice. *J Infect Dis.* 2009 Jun 1;199(11):1629-37.
3. Ichinohe T, Ainai A, Tashiro M, Sata T, Hasegawa H. PolyI:polyC12U adjuvant-combined intranasal vaccine protects mice against highly pathogenic H5N1 influenza virus variants. *Vaccine* 2009 Oct 23;27(45):6276-9.
4. Ichinohe T, Ainai A, Nakamura T, Akiyama Y, Maeyama J, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Sawa H, Tamura S, Chiba J, Kurata T, Sata T, Hasegawa H. Induction of cross-protective immunity against influenza A virus H5N1 by intranasal vaccine with extracts of mushroom mycelia. *J Med Virol.* 82:128-137, 2010.
5. Ainai A, Ichinohe T, Tamura S, Kurata T, Sata T, Tashiro M and Hasegawa H. Zymosan enhances the mucosal adjuvant activity of Poly(I:C) in a nasal influenza vaccine. *J Med Virol.* 2010 Mar;82(3):476-84.
6. Tamura S, Hasegawa H, Kurata T. Estimation of the effective doses of nasal-inactivated influenza vaccine in humans from mouse-model experiments. *Jpn J Infect Dis.* 2010 Jan;63(1):8-15.
7. Nakajima N, Hata S, Sato Y, Tobiume M, Katano H, Kaneko K, Nagata N, Kataoka M, Ainai A, Hasegawa H, Tashiro M, Kuroda M, Odai T, Urasawa N, Ogino T, Hanaoka H, Watanabe M, Sata T. 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. *Jpn J Infect Dis.* 2010 Jan;63(1):67-71.
8. Takiyama A, Wang L, Tanino M, Kimura T, Kawagishi N, Kunieda Y, Katano H, Nakajima N, Hasegawa H, Takagi T, Nishihara H, Sata T, Tanaka S. Sudden Death of a Patient with Pandemic Influenza (A/H1N1pdm) Virus Infection by Acute Respiratory Distress Syndrome. *Jpn J Infect Dis.* 2010 Jan;63(1):72-4.

2. 学会発表

1. 相内章、一戸猛志、田村慎一、倉田毅、佐多徹太郎、長谷川秀樹 経鼻インフルエンザワクチンにおける Zymosan 添加によるアジュバント活性の亢進 第 13 回日本ワクチン学会学術集会 2009 年 9 月札幌

2. 長谷川秀樹、相内章、網康至、永田典代、田村愼一、谷本武史、真鍋貞夫、石川豊数、宮崎隆、小田切孝人、田代眞人、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剤形と効果検討 第 13 回日本ワクチン学会学術集会 2009 年 9 月札幌
3. 相内章、伊藤良、岸田典子、小淵正次、高下恵美、小田切孝人、千葉丈、田村愼一、倉田毅、佐多徹太郎、田代眞人、長谷川秀樹 経鼻インフルエンザワクチンの新型インフルエンザウイルスに対する交叉防御能の検討 第 57 回日本ウイルス学会学術集会 2009 年 10 月東京
4. 岸田典子、小淵正次、高下恵美、徐紅、氏家誠、永田典代、岩田奈緒子、相内章、長谷川秀樹、田代眞人、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 2009 年 10 月東京
5. 長谷川秀樹、相内章、永田典代、岩田奈緒子、網康至、小淵正次、岸田典子、小田切孝人、佐多徹太郎、田代眞人 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 2009 年 10 月東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得（出願）

なし

2. 実用新案登録

なし

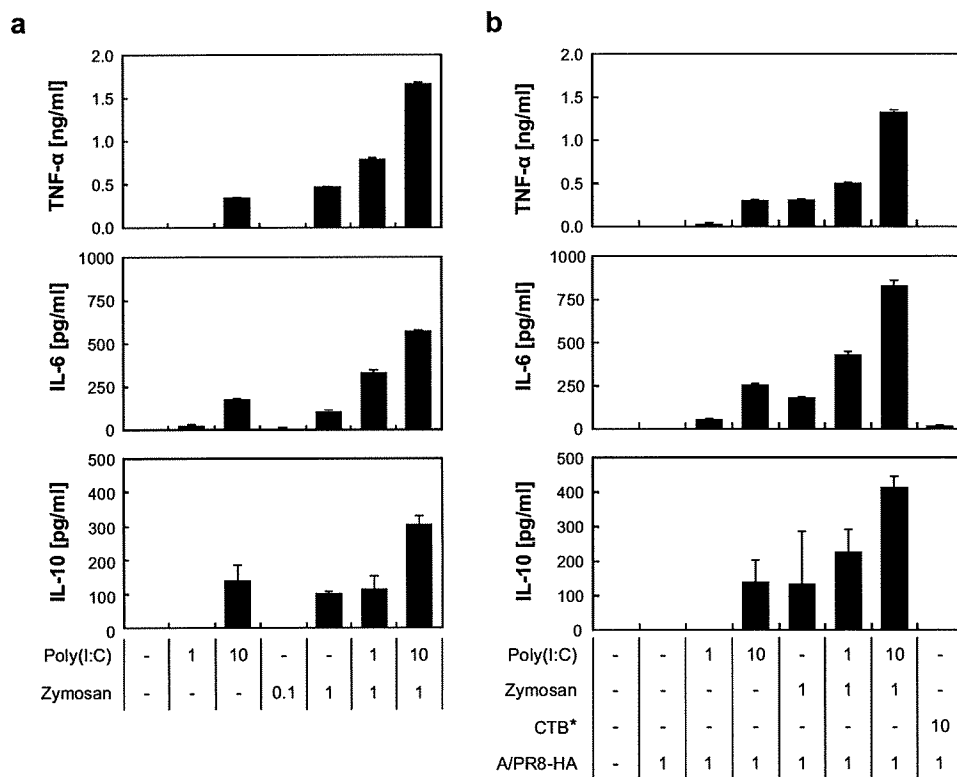


図1. 樹状細胞からの Zymosan と Poly(I:C) 添加によるサイトカインの産生

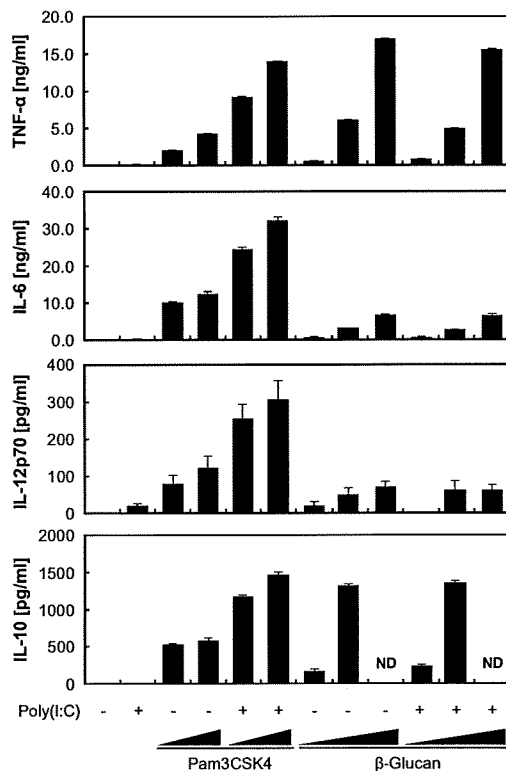


図2. Zymosan 構成成分によるサイトカイン産生に及ぼす影響

高病原性鳥インフルエンザウイルス感染による重症肺炎モデル（サル）の解析

研究分担者 新矢恭子 神戸大学・准教授

研究要旨

2009年に発生した新型インフルエンザウイルスの世界流行により、新型インフルエンザウイルスの流行初期には、インフルエンザ脳症・ウイルス性肺炎など重症インフルエンザの病態が多くみられる傾向があることが判明した。私たちは、サルを用いた感染モデルを確立し、重症のウイルス性肺炎の発生機序を解明する。

A. 研究目的

重症のウイルス性肺炎の発生機序の解明。

B. 研究方法

共同研究者とともに、サルを用いたインフルエンザウイルス肺炎の感染モデルを作成し、臨床病理学・ウイルス学・病理学・および分子生物学的解析を行う。

（倫理面への配慮）

動物の倫理申請は、サルの感染実験をおこなった共同施設で行われている。

C. 研究結果

サルにおいて重症のウイルス性肺炎モデルが確立された。観察期間中、一過性の食欲減退、白血球の減少などが見られた。肺組織からは 10(6)に至るウイルスが分離され、接種後 6 日目までウイルスが検出された。病理学的には肺水腫などを特徴とする高度の肺胞障害が観察された。観察期間中、死亡はみられず、肺炎は治癒の経過をたどった。

D. 考察

サルの感染モデルにて、ウイルス暴露→重症の肺炎の発症→治癒、の一連の病態を再現したと判断される。

E. 結論

これらの病態モデルから採取したサンプルをもちいて、更に詳細な解析を行う。

F. 研究発表

1. 論文発表
該当なし
2. 学会発表
該当なし

G. 知的所有権の取得状況

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

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）
分担研究報告書

インフルエンザ脳症における先天代謝異常の関与

インフルエンザ脳症とそれ以外の脳症の発症形態の比較

研究分担者 山口清次（島根大学医学部小児科・教授）

研究協力者 内田由里、李紅、Jamiyan P、虫本雄一、小林弘典、長谷川有紀
（島根大学医学部小児科）

研究要旨

インフルエンザ脳症と有機酸・脂肪酸代謝異常の発症形態に類似点がある。そこでインフルエンザ脳症と先天代謝異常の関連性を調べるために、2001年から2009年の9年間に経験したインフルエンザ脳症 223例とインフルエンザ以外の急性脳症 373例を対象に年齢、季節、代謝プロフィールを比較検討した。インフルエンザ脳症では冬季の流行に一致して症例数が増加するのに対し、それ以外の急性脳症では季節によるばらつきはなかった。年齢はインフルエンザ脳症の方がそれ以外の急性脳症に比べて年長の傾向がみられた。代謝プロフィールは、インフルエンザ脳症よりもそれ以外の急性脳症の方が代謝異常の疑われる所見がみられた。インフルエンザ脳症の方が有機酸・脂肪酸代謝異常のみられる確率は、それ以外の脳症に比べて低い傾向がみられた。

さらに、インフルエンザ脳症との関連があるといわれるアスピリン存在下で培養細胞とタンデムマスを用いる *in vitro* probe assay によって β 酸化代謝障害の関連を解析したところ、VLCAD 欠損症（長鎖脂肪酸代謝異常症）では、C12、C14、C16の増加がみられた。この結果から、少なくとも長鎖脂肪酸代謝の脆弱な体質の小児ではアスピリン存在下では長鎖脂肪酸の β 酸化が抑制される可能性がある。

A. 研究目的

インフルエンザ脳症は、元気だった小児が高熱とともに急性脳症を発症する。一方先天代謝異常である有機酸・脂肪酸代謝異常症も感染などを契機に元気だった小児が急性脳症で発症することが多く、見かけ上臨床的類似点がある。有機酸・脂肪酸代謝異常は血液あるいは尿を用いて質量分析法で分析して生化学診断される。インフルエンザ脳症と先

血液、尿を質量分析によって代謝スクリーニングを行った。インフルエンザ脳症とそれ以外の急性脳症の発症年齢、季節、および代謝プロフィールを検討した。さらに、インフルエンザ脳症との関連があるといわれるアスピリン存在下で培養細胞とタンデムマスを用いる *in vitro* probe assay によって β 酸化代謝障害の関連を解析した。

B. 研究方法

1. 対象は、2001年から2009年の9年間に代謝異常の検査依頼のあった検体のうち、インフルエンザ脳症 223例とインフルエンザ以外の急性脳症 373例の患者である。

2. 調査項目：インフルエンザ脳症とそれ以外の急性脳症の患者の年齢分布、患者数の季節的変動、および代謝スクリーニングの結果を調査した。

3. In vitro probe assay：正常と中鎖脂肪酸代謝異常 (MCAD 欠損症)、長鎖脂肪酸代謝異常 (VLCAD 欠損症) 患者由来の培養細胞を用いて、アスピリン存在下で培養液にパルミチン酸を負荷してβ酸化能を評価した。

C. 研究結果と考察

1. 分析依頼を受けた急性脳症患者の月別症例数：図1に示ように、インフルエンザ脳症では10月から3月にかけて冬季の流行と一致して症例数が増加するのに対し、それ以外の急性脳症では季節によるばらつきは認めなかった。インフルエンザの流行を反映し、それ以外の急性脳症では原因がさまざまに季節的偏りがなかったものと思われる。

2. 急性脳症患者の年齢別内訳：図2に示すように、インフルエンザ脳症は1歳未満の乳児期には少なく幼児期に増加する傾向が見られた。一方、それ以外の急性脳症は、乳児期に多く、インフルエンザ脳症に比べて年齢が低い傾向がみられた。インフルエンザ脳症の疫学調査でも5歳前後に脳症のピークがあったことを反映していると思われる。

3. インフルエンザ脳症と急性脳症の代謝スクリーニング：表1に示すように、GC/MSによる尿中有機酸分析、またはタンデムマスによる血中アシルカルニチン分析を行ったところ、インフルエンザ脳症 223例中 13例 (6%) に有機酸・脂肪酸代謝異常または疑

われる所見が認められた。インフルエンザ以外以外の急性脳症では 373例中 37例 (10%) に代謝異常または疑われる所見がみられた。インフルエンザ脳症で有機酸・脂肪酸代謝異常のみられる確率は、それ以外の脳症に比べて低い印象である。

その他の特徴として、遊離カルニチン低値、バルプロ酸代謝産物の高値などがみられた。カルニチン低下は脂肪酸代謝抑制にはたらく可能性があり、またバルプロ酸代謝産物の見られた症例の多かったことは、背景に抗けいれん剤を服用している患者の頻度が高いことを示す。けいれん疾患を背景に持つ患者はインフルエンザの有無にかかわらず脳症発生のリスクがあると思われる。

4. 新型インフルエンザによる急性脳症：2009年のインフルエンザ脳症の分析依頼は、季節変動は図3に示す通りであった。このうち B型は4月と6月にそれぞれ1例ずつあったのみで、2009年の症例はほとんどが A型であった。7月以降の症例 24例はすべて「A型」であり新型インフルエンザと思われる。これらの代謝スクリーニングでは、特に先天代謝異常をうかがわせる所見は見られなかった。新型インフルエンザによる脳症に特徴的な代謝異常はないように思われる。

5. In vitro probe assay による培養細胞のβ酸化能の評価：培養細胞にパルミチン酸を負荷して、in vitro probe assay を行った。図4に示すように、37°Cで培養したとき、アスピリン負荷したとき MCAD 欠損症では C10 と C12 のアシルカルニチンが増加した。VLCAD 欠損症では、C12、C14、C16が増加した。41°Cの高温下では、MCAD 欠損症では明らかな変化はなく、VLCAD 欠損症で C14 と C16 の長鎖アシルカルニチンの増加がみられた。

インフルエンザ脳症とアスピリンの関連性が示され、現在ではインフルエンザ患者に

対してアスピリンは使用されない。アスピリン存在下で培養細胞の産生するアシルカルニチンプロファイルをみた範囲では、正常者ではアスピリンの有無で変化はみられなかった。MCAD 欠損症では 37°C の環境で中鎖のアシルカルニチン上昇がみられたものの 41°C の高温環境下では有意な変化は観察されなかった。VLCAD 欠損症では、37°C でも 41°C でも長鎖脂肪酸の代謝が障害される所見が観察された。この結果から、少なくとも長鎖脂肪酸代謝の脆弱な体質の小児ではアスピリン存在下では長鎖脂肪酸の β 酸化が抑制されるといえる。さらにこの他の薬剤でも β 酸化への影響を明らかにしてゆく必要がある。

E. 結論

インフルエンザ脳症とその他の原因による急性脳症では、年齢別頻度、季節的な偏りのあることが示された。また新型インフルエンザによる急性脳症で特徴的な代謝所見はみられなかった。培養細胞レベルでは、長鎖脂肪酸代謝の脆弱な体質の小児では、長鎖脂肪酸代謝がアスピリン使用によって障害が増強される可能性を示した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Li H, Fukuda S, Shigematsu Y, Fukao T, Yamaguchi S: A novel molecular aspect of Japanese patients with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MCADD): c.449-452delCTGA is a common mutation in Japanese patients with MCADD. *Molecular Genetics and Metabolism* 96(2): 77-79, 2009 (February)
- 2) 四本由郁, 長谷川有紀, 小林弘典, 内田由里, 山口清次, 石川順一, 塩見正司: 脂肪酸代謝障害の所見を示したセレウス菌食中毒に伴う急性脳症の 5 歳例. *日本小児科学会雑誌* 113(1): 75-78, 2009 (1 月)
- 4) 竹谷 健, 吉川陽子, 内田由里, 葛西武司, 安田謙二, 金井理恵, 山口清次: 小児の発熱性疾患におけるプロカルシトニンの臨床的意義の検討. *小児科臨床* 62 (6): 1129-1135, 2009 (6 月)
- 5) 小林弘典, 虫本雄一, 山口清次: ESI-MS/MS と培養細胞を用いた *in vitro* probe acylcarnitine profiling assay による脂肪酸 β 酸化能の評価. *JSBMS Letters* 34(2): 21-26, 2009 (6 月)
- 6) Tsuburaya R, Sakamoto O, Arai N, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Shigematsu Y, Takayanagi M, Ohura T, Tsuchiya S: Molecular analysis of a presymptomatic case of carnitine palmitoyl transferase I (CPT I) deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening in Japan. *Brain & Development*, 2009 (inpress)
- 7) Korematsu S, Kosugi Y, Kumamoto T, Yamaguchi S, Izumi T: Novel mutation of early, perinatal-onset, myopathic-type very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Pediatric Neurology* 41(2): 151-153, 2009 (August)
- 8) Purevsuren J, Fukao T, Hasegawa Y, Kobayashi H, Li H, Mushimoto Y, Fukuda S, Yamaguchi S: Clinical and molecular aspects of Japanese patients with mitochondrial trifunctional protein deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism* 98(4): 372-377, 2009 (December)
- 9) Li H, Fukuda S, Hasegawa Y, Kobayashi H, Purevsuren J, Mushimoto Y, Yamaguchi S:

Effect of heat stress and bezafibrate on mitochondrial β -oxidation: Comparison between cultured cells from normal and mitochondrial fatty acid oxidation disorder children using in vitro probe acylcarnitine profiling assay. *Brain & Development*, in press, 2009

- 10) Mushimoto Y, Hasegawa Y, Kobayashi H, Li H, Purevsuren J, Nakamura I, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi S: Enzymatic evaluation of glutaric academia type 1 by an in vitro probe assay of acylcarnitine profiling using fibroblasts and electrospray ionization /tandem mass spectrometry (MS/MS). *Journal of Chromatography B* 877: 2648-2651, 2009 (July)
 - 11) 山口清次: 新生児突然死の予防: タンデムマスによる早期発見. *日本周産期・新生児医学会雑誌* 45(4): 973-976, 2009 (12月)
 - 12) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 坂本修, 大浦敏博, 山口清次: 経過中血液ろ紙分析でカットオフ値を下回った極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症の2例: 血清分析の必要性. *日本マス・スクリーニング学会誌* 19(3): 255-259, 2009 (12月)
 - 13) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 李紅, 福田誠司, 近藤陽一, 脇口宏, 藤枝幹也, 高杉尚志, 山口結, 吉良龍太郎, 原寿郎, 山口清次: 中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症日本人5症例の発症形態の検討. *日本小児科学会雑誌* 113(12): 1800-1804, 2009 (12月)
2. 学会発表
- 1) Kobayashi H, Purevsuren J, Mushimoto Y, Li H, Hasegawa Y, Yamaguchi S: Development of a diagnostic method of systemic carnitine deficiency by in vitro probe acylcarnitine assay using tandem mass spectrometry and fibroblasts. 11th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. New York, August 2009
 - 2) Yamaguchi S, Mushimoto Y, Purevsuren J, Li H, Taketani T, Kobayashi H, Hasegawa Y, Fukuda S: Comparison of clinical onset and prognosis in Japanese patients with MCAD deficiency detected by symptomatic and presymptomatic screening. 11th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. New York, August 2009
 - 3) Yamaguchi S: Expanded newborn screening program by tandem mass spectrometry in Japan. *Medical Genetics Symposium commemorating the 10th anniversary of inauguration of Medical Genetics Clinic & Laboratory*. Seoul, November 2009
 - 4) 長谷川有紀, 小林弘典, 虫本雄一, 山口清次: 尿中有機酸分析を契機に発見された小児のビタミン欠乏症について—背景と臨床的特徴—. 第112回日本小児科学会. 奈良, 2009年4月
 - 5) 小林弘典, 長谷川有紀, 虫本雄一, 山口清次, 重松陽介: タンデムマスによる新生児マス・スクリーニング発見例と発症後診断例の臨床像の検討. 第112回日本小児科学会. 奈良, 2009年4月
 - 6) 齋藤敦郎, 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: 脂肪酸代謝異常症の尿中有機酸分析所見の検討. 第112回日本小児科学会. 奈良, 2009年4月
 - 7) 山口清次: 新生児マススクリーニングの新しい動き: タンデムマスの導入. 第86回日本小児科学会山形地方会 特別講演. 山形, 2009年5月
 - 8) 山口清次: 小児救急の場で知っておくべき代謝性疾患. 第6回和歌山小児救急研

- 研究会 講演. 和歌山, 2009年6月
- 9) 山口清次: 新生児突然死の予防: タンデムマス導入による早期発見. 第45回日本周産期・新生児医学会総会・学術集会教育講演. 名古屋, 2009年7月
- 10) 和田啓介, 金井理恵, 小林弘典, 長谷川有紀, 安田謙二, 鬼形和道, 山口清次, 沖本民生, 及川馨: 激しい筋痛と低カルニチン血症から脂肪酸代謝異常の疑われたBecker型筋ジストロフィー6歳男児例. 第84回山陰小児科学会. 米子, 2009年10月
- 11) 美根潤, 小池大輔, 岸和子, 小林弘典, 山口清次: バルプロ酸投与中に高アンモニア血症を来した4ヶ月乳児例の血中カルニチンの推移. 第61回中国四国小児科学会. 岡山, 2009年10月
- 12) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 李

- 紅, プレプスレン ジャミヤン, 伊藤道徳, 大浦敏博, 芳野信, 渡邊睦房, 山口清次: リンパ球とタンデム質量分析を用いた in vitro probe assay によるグルタル酸血症2型の脂肪酸β酸化能評価. 第51回日本先天代謝異常学会. 東京, 2009年11月
- 13) 小林弘典, 虫本雄一, 長谷川有紀, Prevsuren J, 李紅, 山口清次: タンデムマス導入による新生児マススクリーニングの新時代 In vitro probe assay による脂肪酸代謝異常症の代謝能評価. 第51回日本先天代謝異常学会 シンポジウム. 東京, 2009年11月

G. 知的所有権の取得状況

特許取得、実用新案登録：該当なし

表1. インフルエンザ脳症とそれ以外の急性脳症の代謝スクリーニング結果

| 所見 | インフルエンザ脳症 (n=223) | | その他の急性脳症 (n=373) | | |
|---------------|----------------------|---|---------------------|----|-------------|
| 1)メチルマロン酸血症 | 1 | 4 | 13 (6%) | 3 | 37 (10%) |
| 2)尿素回路異常症 | 0 | | | 4 | |
| 3)βケトチオラーゼ欠損症 | 0 | | | 1 | |
| 4)高乳酸血症 | 0 | | | 1 | |
| 5)CPT2欠損症 | 1 | | | 1 | |
| 6)VLCAD欠損症 | 0 | | | 2 | |
| 7)MCAD欠損症 | 0 | | | 1 | |
| 8)全身性カルニチン欠乏症 | 1 | | | 1 | |
| 9)FDPase欠損症 | 1 | | | 1 | |
| 10)その他の疑い例 | | 9 | | 21 | |
| 11)遊離カルニチン低値 | | | 11 | | 20 |
| 12)高乳酸血症? | | | 2 | | 1 |
| 13)バルプロ酸高値 | | | 15 | | 26 |

図1. 急性脳症の年齢別内訳

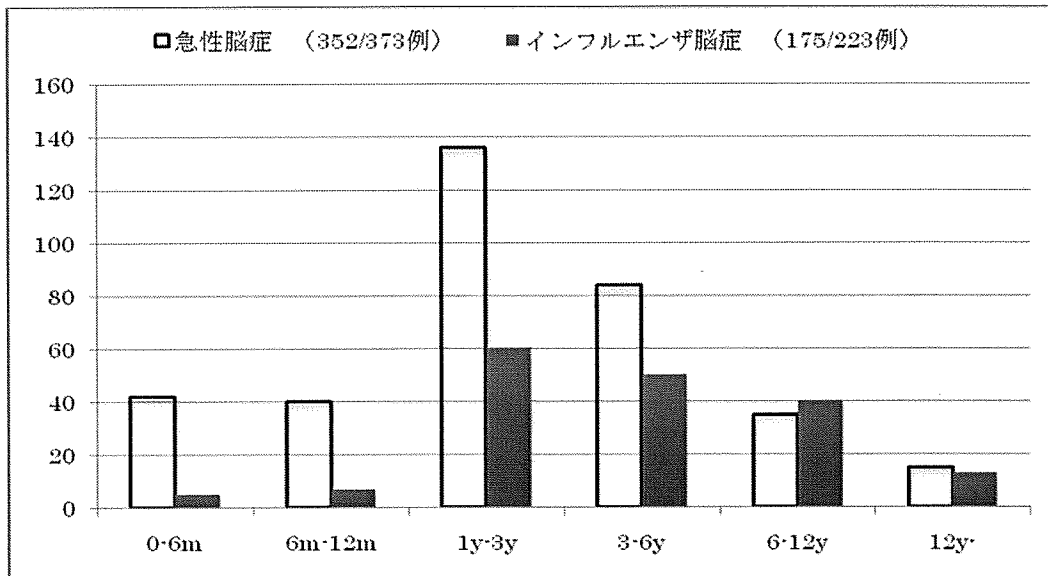


図2. 急性脳症発症の季節的変動

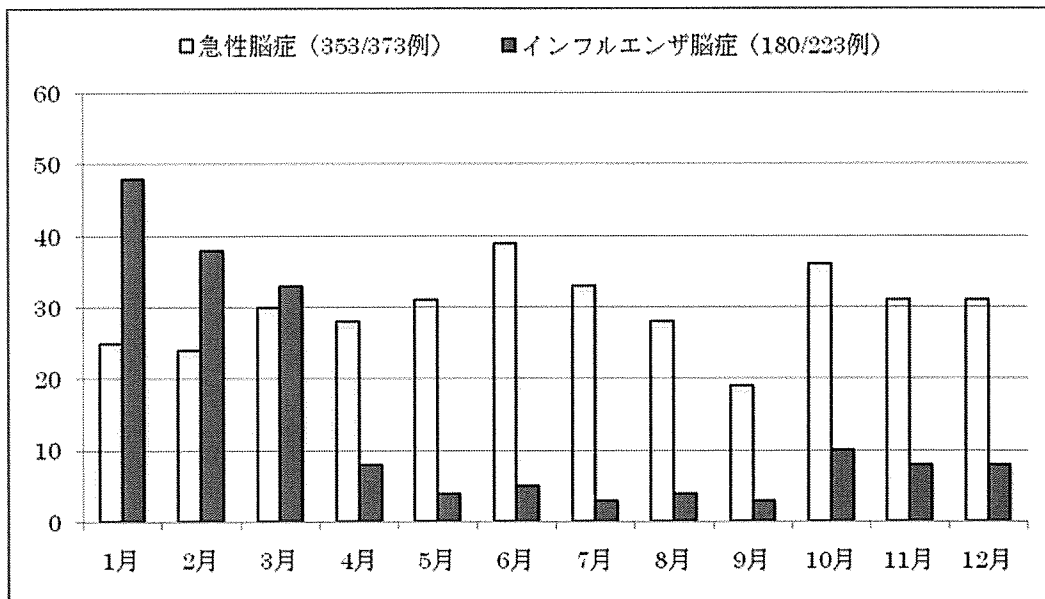


図3. 2009年のインフルエンザ脳症の代謝検査依頼数の季節変動

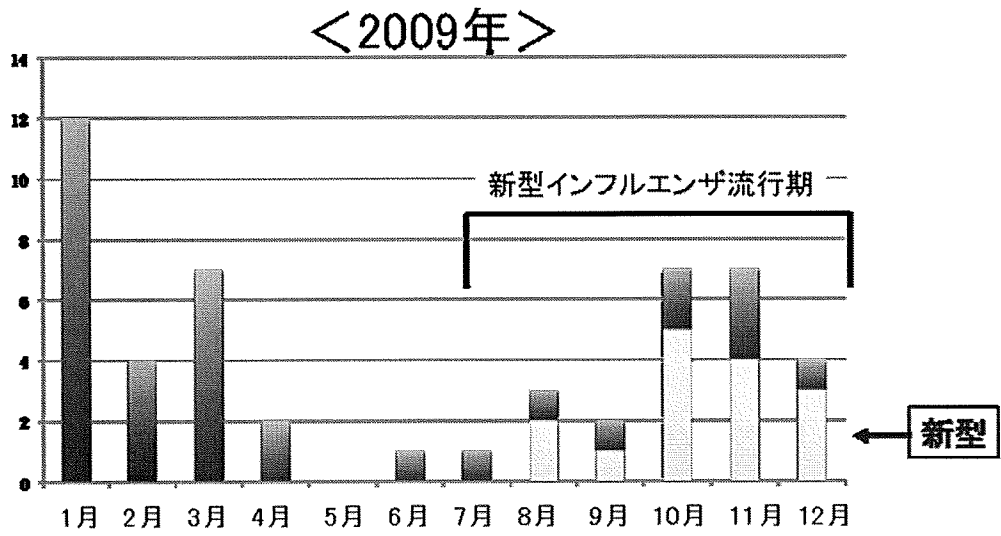
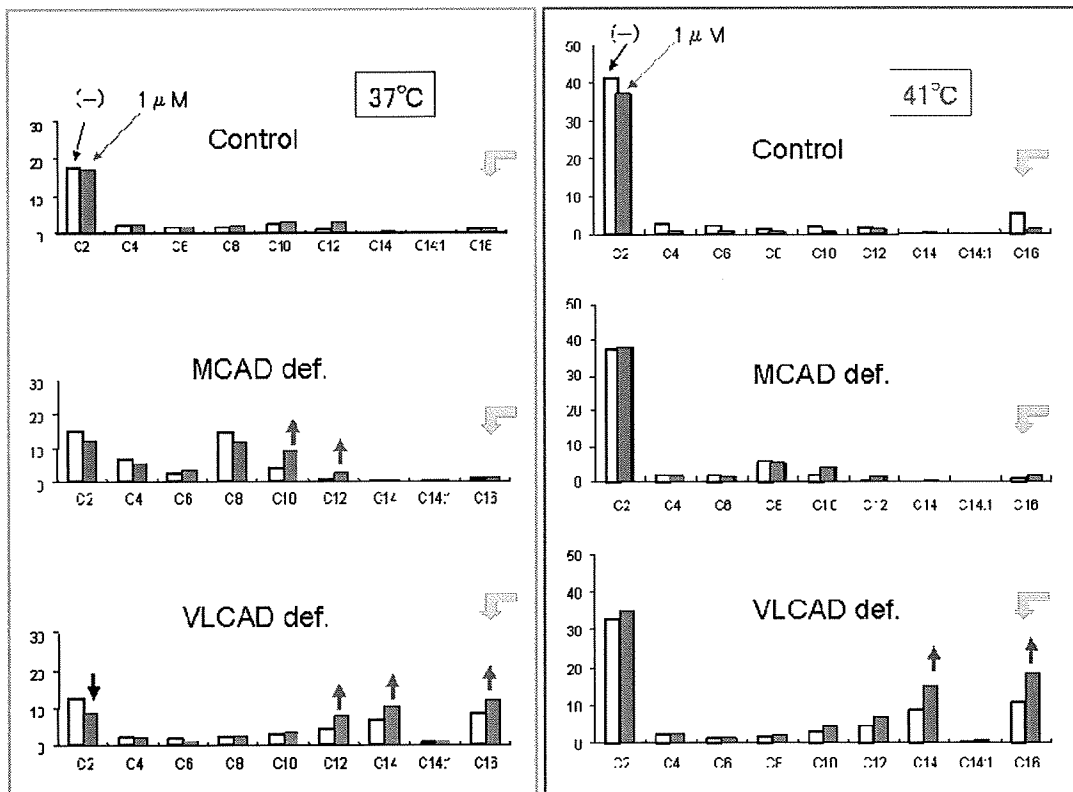


図4. アスピリン存在下の培養細胞における β 酸化能



インフルエンザ脳症の発症におけるレドックスの役割と治療への応用

研究分担者 塚原宏一（福井大学医学部小児科・講師）

研究協力者：重松陽介（福井大学医学部看護学科）、川谷正男、田村知史

（同 小児科）、岩田あや、松原康策（西神戸医療センター小児科）

長坂博範（千葉県こども病院小児科）、三須建郎（東北大学医学部神経内科）

研究要旨

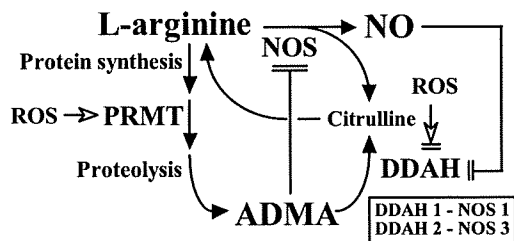
ヒトの生体制御において一酸化窒素（NO）をとりまく L-arginine / NO 合成酵素 / NO 系と PRMT / ADMA / DDAH 系の相互作用は重要である。本研究の目的は、脳炎・脳症、その他の神経疾患において NO-ADMA 系が偏倚し、そのことが病像の多様性と重篤な合併症を導くかどうか、一方、NO-ADMA 系に介入することで疾患の予防や治療が可能になるかどうか検討することである。

結果：小児、成人における血清 ADMA、NOx、8-OHdG の参考値が設定された（小児では健常者でも血清 ADMA 濃度が高いことに注意する）。それらの結果に基づいて、生体マーカーの高値基準が設定された。その高値基準を用いて川崎病の急性期で NO、ADMA 両系が活性化し、酸化ストレスが亢進していることが示された。各種神経疾患についても検討がなされたが、酸化ストレス亢進と合併症発生が関連する可能性が示唆された。ウイルス感染症では肝機能が低下することがあるが、シトリン欠損症、先天性肝内門脈-静脈シャントの検討では、肝機能低下が酸化ストレス亢進、血管内皮機能不全をもたらすことが示唆された。

結論：血清 NOx、ADMA、8-OHdG 濃度の参考値が設定された。これらの生体マーカーの計測により小児疾患の NO-ADMA 系、酸化ストレス環境が低侵襲的に経時的に評価できることが示された。

A. 研究目的

ヒトの生体制御において、一酸化窒素（NO）をとりまく L-arginine / NO 合成酵素 / NO 系と protein-arginine methyltransferase (PRMT: タンパク質中の L-arginine 残基をメチル化する酵素) / asymmetric dimethylarginine (ADMA: 内因性の NO 合成阻害因子) / dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH: ADMA を特異的に分解する酵素) 系の相互作用は重要と考えられる。



これらの系を追究することは、複雑な生体ネットワークの生物学的理解をさらに進めるだけでなく、多様な疾患群の予防・治療、身体機能維持、QOL 向上を目指した新規の効果的な管理法の開発につながると考えられる。

上記の NO-ADMA 系は、肝臓だけでなく腎臓、血管などの重要臓器において尿素サイクル・アミノ酸代謝系を介しながら、好氣的解糖、酸化的リン酸化、タンパク質合成にも関連すると想定される。

本研究の目的は、脳炎・脳症、その他の神経疾患において NO-ADMA 系が偏倚し、そのことが病像の多様性と重篤な合併症を導くかどうか、一方、NO-ADMA 系に介入することで疾患の予防や治療が可能になるかどうか検討することである。

B. 研究方法

(1) 血清 NOx、ADMA 濃度について健常者検

体を用いて参考値を設定した。NOx、ADMA はそれぞれ Nitrate/Nitrite Colorimetric Assay (Gayman Chemical、USA)、ADMA-ELISA (DLD Diagnostics、Germany) を用いて計測した。結果は平均±SD (範囲) で表し、統計は t-test を用いて $p < 0.05$ をもって有意と判定した。

(2) 血清 8-OHdG 濃度について健常者検体を用いて参考値を設定した。8-OHdG は高感度 8-OHdG check (Institute for the Control of Aging、Japan) を用いて計測した。結果は平均±SD (範囲) で表し、統計は t-test を用いて $p < 0.05$ をもって有意と判定した。

(3) 血清 NOx、ADMA、8-OHdG 濃度の高値基準を小児計測値の (平均+1.5 SD) 以上として求めた。また、脳脊髄液 (CSF) 8-OHdG、acrolein-lysine 濃度の高値基準も同様の方法で求めたが、それぞれ 8-OHdG check (Institute for the Control of Aging、Japan)、ACR Lysine-ELISA (NOF Corporation、Japan) にて計測した本研究者の過去の研究成果を用いた (それぞれ Tsukahara H, et al. Redox Rep 2000; Tsukahara H, et al. Life Sci 2002)。

(4) 血清 NOx、ADMA、8-OHdG 濃度の高値基準を用いて、4 名の川崎病患者 (① 9 か月男性、② 1 歳 6 か月男性、③ 2 歳 4 か月女性、④ 5 歳 1 か月男性) の NO-ADMA 系、酸化ストレス環境を評価した。

(5) 「早期メチルプレドニゾロンパルスが無効であった痙攣重症型 HHV-6 脳症の 1 歳女児」 (岩田あや・他、小児神経学会、米子、2009)、「可逆性脳梁膨大部病変を有する脳症 (MERS) を合併した急性巣状細菌性腎炎の 6 歳男児」 (岡崎新太郎・他、小児感染症学会、福井、2009) で報告された患者の血清、CSF 検体中の生体マーカー濃度を計測して評価した。

(6) 種々の神経疾患患者 (19 人; 男性 10 人、女性 9 人) の血清検体中の生体マーカー濃度を計測して評価した。

(7) 尿素サイクル異常に属するシトリン欠損症の患者 (乳児期に「肝内胆汁うっ滞性新生児肝炎」を起こした後、現在は軽度の高シトルリン血症を呈するのみで見かけ上健常である) を対象に検討を加えた。

(8) 肝障害を伴わない先天性肝内門脈-静脈シャントの患者を対象に検討を加えた。
<倫理面への配慮>

被験者の保護者に研究の目的と内容を詳しく説明し、同意が得られた方のみを対象にした。検体はすべて暗号で表示しなおしてから検査を開始した。データ保存につい

ても個人が特定されないように十分に配慮した。

C. 研究結果

(1) 健常者は成人 (9 名、男性/女性=6/3)、小児 (20 名、男性/女性=9/11) であった。血清 NOx (μM)、ADMA (μM)、ADMA/NOx は成人で 33.4 ± 16.2 (18.1~65.3)、 0.53 ± 0.13 (0.40~0.75)、 0.020 ± 0.012 (0.007~0.041)、小児で 38.2 ± 19.8 (18.1~65.3)、 0.69 ± 0.10 (0.40~0.75)、 0.024 ± 0.012 (0.006~0.060) であり、ADMA でのみ小児が成人よりも有意に高値であった。小児で性別比較を行ったが、男性で 38.4 ± 17.3 、 0.69 ± 0.09 、 0.021 ± 0.009 、女性で 38.0 ± 22.5 、 0.69 ± 0.12 、 0.026 ± 0.017 であり、両群間に差はなかった。

(2) 健常者は成人 (10 名、男性/女性=5/5)、小児 (17 名、男性/女性=10/7) である。血清 8-OHdG (ng/ml) は成人で 0.15 ± 0.08 (0.03~0.26)、小児で 0.19 ± 0.07 (0.09~0.34) であり、両群間に差はなかった。小児で性別比較を行ったが、男性で 0.20 ± 0.08 、女性で 0.18 ± 0.05 であり、両群間に差はなかった。

(3) 血清 NOx、ADMA、8-OHdG、CSF 8-OHdG、acrolein-lysine 濃度の高値基準は下記の通りであった。

- ・血清 NOx $\geq 67.9 \mu\text{M}$
- ・血清 ADMA $\geq 0.84 \mu\text{M}$
- ・血清 8-OHdG $\geq 0.30 \text{ ng/ml}$
- ・CSF 8-OHdG $\geq 3.4 \text{ ng/ml}$

(Tsukahara H, et al. Redox Rep 2000)

- ・CSF Acrolein-lysine (ACR) $\geq 7.0 \mu\text{M}$

(Tsukahara H, et al. Life Sci 2002)

(4) 4 名の川崎病患者であるが、① 9 か月男性の発症 4 (治療直前)、6、13 日目の血清 NOx (μM)、ADMA (μM)、8-OHdG (ng/ml)、CRP (mg/dl) は 41.2、0.67、0.19、7.7; 144.0、1.08、0.24、8.8; 70.4、1.29、0.37、0.2 (ADMA/NOx は 0.016、0.008、0.018) であった。② 1 歳 6 か月男性の発症 5 (治療直前)、7、14 日目の各値は 42.1、0.62、0.23、11.4; 89.6、1.21、0.66、5.4; 47.8、0.80、0.24、1.1 (ADMA/NOx は 0.015、0.014、0.017) であった。③ 2 歳 4 か月女性の発症 7 (治療直前)、9、17 日目の各値は 50.3、0.61、0.14、16.5; 55.7、1.03、0.28、11.2; 98.1、0.87、0.22、0.1 (ADMA/NOx は 0.012、0.018、0.009) であった。④ 5 歳 1 か月男性の発症 6 (治療直前)、8、20 日目の各値は 42.7、0.67、0.11、22.7; 64.2、0.78、0.33、19.5; 68.6、0.96、0.25、0.1 (ADMA/NOx は 0.016、

0.012、0.014)であった。経過中、全例で NOx、ADMA 濃度、3例 (75%) で 8-OHdG 濃度が高値を示した。

(5)「早期メチルプレドニゾロンパルスが無効であった痙攣重積型 HHV-6 脳症の1歳女児」は、入院前日に発熱して約3分間の全身痙攣をきたし、入院当日に再び全身痙攣をきたしてジアゼパム、チアミラール静注により約40分後に頓挫した患者である。入院当日、WBC 3,000/ μ l、CRP 0.6 mg/dl で、頭部 CT、髄液検査で異常所見はなかった。血液中に HHV-6 が 48×10^2 copies/ml で検出された。入院日よりメチルプレドニゾロンパルス療法を施行したが、入院5日目の MR 拡散強調画像で前頭葉・頭頂葉白質に高信号領域 (bright tree appearance)、EEG で全般性に高振幅徐波が見られ、その後、脳萎縮と著明な発達遅滞をきたした。入院当日の血清 NOx、ADMA、8-OHdG、CSF-ACR は 21.7 μ M、1.18 μ M (高値)、0.46 ng/ml (高値)、7.8 μ M (高値)、入院5日目の血清 NOx、ADMA、CSF-ACR は 27.7 μ M、0.77 μ M、13.7 μ M (高値) であった。

「可逆性脳梁膨大部病変を有する脳症 (MERS) を合併した急性巣状細菌性腎炎の6歳男児」は、入院前日に発熱して、入院当日に意識障害、不穏状態をきたした患者である。入院当日、WBC 22,800/ μ l、CRP 14.7 mg/dl で、髄液検査で異常所見はなかった。MR 拡散強調画像で脳梁と皮質下白質に左右対称性に高信号領域が見られ、高振幅徐波が断続的に出現していた。尿培養で腸球菌が検出され、入院5日目の造影 CT、入院11日目の DMSA シンチにより急性巣状細菌性腎炎と診断された。抗生剤を静脈内投与した。入院4日目には意識は清明になった。3か月後に撮影された MR 拡散強調画像では異常所見は認められなかった。入院当日の血清 NOx、ADMA、CSF-ACR はそれぞれ 16.1 μ M、0.56 μ M、5.6 μ M であった (高値は見られなかった)。

(6)それぞれの疾患とその患者の血清 NOx、ADMA 濃度 (ともに μ M) を示す。ADEM (13歳女性) 27.3、0.56、脳出血 (11月女性) 32.6、0.51、無菌性髄膜炎 (3歳男性; 9歳男性) 13.2、0.57; 9.5、0.68、てんかん (4歳男性; 7歳男性; 7歳男性; 13歳女性) 69.7 (高値)、0.66; 36.4、0.57; 78.4 (高値)、0.77; 25.6、0.53、点頭てんかん (6月女性) 54.6、0.76; 胃腸炎関連てんかん (1歳男性; 4歳女性) 67.9 (高値)、0.52; 141 (高値)、0.60; 熱性けいれん (1歳男性; 1歳女性; 2歳女性) 62.4、0.81; 19.0、

0.66; 22.5、0.55、良性乳児けいれん (1歳男性) 40.3、0.58、解離性障害 (9歳女性; 13歳女性) 20.0、0.59; 16.8、0.55; A型インフルエンザ (せん妄) (13歳男性) 13.2、0.45; 急性脳症 (1歳男性) 68.1 (高値)、0.48 であった。全例、脂肪酸代謝異常スクリーニング検査で異常を呈したものはなく、抗水チャンネル4 (AQP-4) 抗体を有するものもいなかった。

(7) シトリン欠損症の患者では対照と比べて (平均値のみ表示)、血中 NOx、ADMA に差はないが、血中コレステロール (213 対 169 mg/dL)、酸化型 LDL (82 対 25 U/L)、SOD (1.49 対 1.06 U/mg protein in RBC)、catalase (3.60 対 2.96 pmol/mg protein in RBC)、尿中 ACR (481 対 272 nmol/mg Cr)、8-OHdG (67 対 19 ng/mg Cr) が有意に高かった (Mol Genet Metab 2009)。

(8) 肝障害を伴わない先天性肝内門脈-静脈シャントの患者では対照と比べて (平均値のみ表示)、血中 ADMA (0.82 対 0.63 μ M)、ADMA/NOx (0.052 対 0.023)、ET-1 (3.0 対 1.9 pg/ml) が有意に高く、NOx (22 対 30 μ M) が有意に低く、血中 TBARS (5.0 対 3.9 mM)、尿中 ACR (331 対 255 nmol/mg Cr)、8-OHdG (26 対 19 ng/mg Cr) が有意に高かった。シャント率は血中 ADMA、ADMA/NOx と有意な正の相関を示した。 (Metabolism 2010)。

D. 考察

研究 (1)、(2) では、小児、成人における血清 ADMA、NOx、8-OHdG の参考値が設定された。小児では健常でも血清 ADMA 濃度が高いことに注意する必要がある。研究 (3) では、それらの結果に基づいて高値基準が設定された。研究 (4) では、その高値基準を用いて急性血管炎症候群 (または全身性炎症反応症候群: SIRS) の代表である川崎病患者の NO-ADMA 系、酸化ストレス環境が評価され、この疾患の急性期で NO、ADMA 両系が活性化し、酸化ストレスも亢進していることが明らかになった。

研究 (5)、(6) では、各種神経疾患について検討がなされた。重い合併症を残した「早期メチルプレドニゾロンパルスが無効であった痙攣重積型 HHV-6 脳症の1歳女児」でのみ病初期の ADMA 濃度が高かった。この患者では血清 8-OHdG、CSF 中 ACR 濃度も高く、酸化ストレス亢進と合併症発生が関連することが示唆された。また、これらのマーカーにより神経疾患の合併症発生が予知

できる可能性が示唆された。

ウイルス感染症では肝機能低下をきたすことがある。研究(7)、(8)では、肝機能低下により酸化ストレスが亢進すること(肝臓がレドックス制御の重要臓器であること)が示された。シトリン欠損症患者の約1/10は成人期に重篤な肝障害(脂肪肝、線維化)、精神神経障害(てんかん、意識障害、統合失調症、うつ病)を発症する。患者では乳児期以降のsilent phaseでも脂肪代謝障害、酸化ストレス亢進が存在することが示されたが、そのことが成人期の再発症の機序と関連すると考えられた。また、先天性肝内門脈-静脈シャントの患者を対象にした検討では、シャント自体がNO-ADMA系でのADMA優位、酸化ストレス亢進、血管内皮機能不全をもたらすことが示唆された。

E. 結論

血中NOx、ADMA、8-OHdG濃度の参考値が設定された。これらの生体マーカーの計測により、小児疾患のNO-ADMA系、酸化ストレス環境が低侵襲的に経時的に評価できることが例示された。

今後は脳脊髄液NOx、ADMAの高値基準を定める予定である。また、今回計測された生体マーカーはヒト以外の動物にも使用でき、動物モデルを用いたTranslational Researchに有用である。この方面の研究も開始する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) Nagasaka H, Tsukahara H, Yorifuji T, Miida T, Murayama K, Tsuruoka T, Takatani T, Kanazawa M, Kobayashi K, Okano Y, Takayanagi M. Evaluation of endogenous nitric oxide synthesis in congenital urea cycle enzyme defects. *Metabolism* 58 (3): 278-282, 2009 (Mar).

(2) Nagasaka H, Okano Y, Tsukahara H, Shigematsu Y, Momoi T, Yorifuji J, Miida T, Ohura T, Kobayashi K, Saheki T, Hirano K, Takayanagi M, Yorifuji T. Sustaining hypercitrullinemia, hypercholesterolemia and augmented oxidative stress in Japanese children with aspartate/glutamate carrier isoform 2-citrin deficiency even during the silent period. *Mol Genet Metab* 97 (1): 21-26, 2009 (May).

(3) 徳力周子, 塚原宏一, 巨田尚子, 田村知史, 小倉一将, 川谷正男, 畑 郁江, 眞弓光文. 早産児の慢性肺疾患における酸化ストレスの病態学的意義についての検討: CO-Hb と

Met-Hb を指標として. *小児科臨床* 62 (5): 925-930, 2009 (May).

(4) Nagasaka H, Takayanagi M, Tsukahara H. Children's toxicology from bench to bed - Liver Injury (3): Oxidative stress and anti-oxidant systems in liver of patients with wilson disease. *J Toxicol Sci* 34 (Special Issue 11): SP229-236, 2009.

(5) Nagasaka H, Okano Y, Aizawa M, Miida T, Yorifuji T, Tajima G, Sakura N, Takatani T, Sanayama Y, Sugamoto K, Mayumi M, Kobayashi K, Hirano K, Takayanagi M, Tsukahara H. Altered metabolisms of mediators controlling vascular function and enhanced oxidative stress in asymptomatic children with congenital portosystemic venous shunt. *Metabolism* 59 (1): 107-113, 2010 (Jan).

(6) Tsukahara H, Nagasaka H, Tokuriki S, Mayumi M. Coupling of the citrulline recycling to endothelial NO production. *Mol Genet Metab* 2010 (in press).

(7) Nagasaka H, Yorifuji T, Kobayashi K, Takikawa H, Komatsu H, Inui A, Fujisawa T, Miida T, Tsukahara H, Takatani T, Hayashi H. Favorable effect of 4-phenylacetate on liver functions attributable to enhanced bile salt export pump expression in ornithine transcarbamylase-deficient children. *Mol Genet Metab* 2010 (in press).

2. 学会発表

(1) 徳力周子, 塚原宏一, 巨田尚子, 田村知史, 川谷正男, 畑 郁江, 眞弓光文. 早産児慢性肺疾患における酸化ストレスの検討 - CO-Hb と Met-Hb を指標として. 第5回呼吸器バイオマーカー研究会, 東京, 2009年(3月).

(2) 徳力周子, 五十嵐愛子, 菊地尚子, 田村知史, 畑 郁江, 塚原宏一, 眞弓光文, 高橋仁, 西島浩二, 小辻文和, 長谷川妙子, 小出亜希子, 柳原 格, 佐々木裕子, 見理 剛. *Ureaplasma urealyticum* 感染が病因と考えられ、呼吸管理に難渋した Wilson-Mikity 症候群の1例. 第45回中部日本小児科学会, 名古屋, 2009年(8月).

(3) 塚原宏一, 徳力周子, 川谷正男, 畑 郁江, 眞弓光文, 眞山義民, 長坂博範. 一酸化窒素、酸化ストレスの生体マーカーの現況と今後の展望. 第6回 Heme Oxygenase 研究フォーラム, 京都, 2009年(8月).

(4) Nagasaka H, Okano Y, Tsukahara H. Altered metabolisms of mediators controlling vascular function and evidence of oxidative stress in asymptomatic children with congenital portosystemic venous shunt. 11th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, California,

USA, 2009年(8月)。

(5) Okano Y, Nagasaka H, Shigematsu Y, Tsukahara H, Momoi T, Yorifuji T, Ohura T, Miida T, Hirano K, Kobayashi K, Saheki T, Takayanagi M. Hypercitrullinemia, hypercholesterolemia and augmented oxidative stress in the patients with citrin deficiency during the silent period. 11th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, California, USA, 2009年(9月)。

(6) 長坂博範, 塚原宏一. 先天性代謝疾患と一酸化窒素、酸化ストレス. 第18回発達腎研究会, 神戸, 2009年(9月)。

(7) 塚原宏一, 眞弓光文, 長坂博範. 小児科領域における一酸化窒素および酸化ストレスに関連する生体マーカーの現況. 第18回発達腎研究会, 神戸, 2009年(9月)。

(8) Greil J, Verga-Faizacappa M, Tsukahara H, Behnisch W, Heimpel H, Schneider M, Janka G, Claus M, Muckenthaler MU, Kulozik AE. Activating mutation of HO-1: A novel disease entity characterized by microcytic, hemolytic anemia, a defect of bilirubin synthesis and hereditary hemophagocytic lymphohistiocytosis. 6th International Congress. Heme Oxygenases in Biology and Medicine, Florida, USA, 2009年(10月)。

(9) 岡崎新太郎, 小倉一将, 川谷正男, 大嶋勇成, 塚原宏一, 眞弓光文. 可逆性脳梁膨大部病変を有する脳炎・脳症(MERS)を合併した急性巣状細菌性腎炎の1男児例. 第41回日本小児感染症学会総会・学術集会, 福井, 2009年(11月)。

(10) 川谷正男, 奥野貴士, 塚原宏一, 大嶋勇成, 眞弓光文. 水痘感染後に脳梗塞、脳動脈瘤を認めた1例. 第41回日本小児感染症学会総会・学術集会, 福井, 2009年(11月)。

G. 知的所有権の取得状況

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

新型インフルエンザ脳症のサイトカイン解析

研究分担者 市山高志 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野・教授

研究要旨

【目的】新型インフルエンザ脳症におけるサイトカインプロファイルを検討する。

【対象と方法】対象は平成21年8月から平成22年2月までに当院へサイトカイン測定依頼があった新型インフルエンザ脳症(疑い例を含む)の患者25例。後方視的に脳症群と非脳症群に大別し、臨床経過と比較検討した。非脳症群の定義は便宜上、意識障害が1日以内に改善し、頭部MRIで異常がなく、痙攣直後を除いて脳波上徐波を認めず、後遺症がないものとし、それ以外のものを脳症群とした。方法は血清及び髄液中の interleukin (IL)-2、IL-4、IL-6、IL-10、interferon- γ (IFN- γ)、tumor necrosis factor- α (TNF- α)濃度を cytometric bead array で測定した。

【結果】脳症群は16例、非脳症群は9例で、年齢はそれぞれ中央値8.0歳(2.4-30.0歳)、7.3歳(1.9-11.9歳)、性別はそれぞれ男8例/女8例、男5例/女4例だった。脳症群のタイプは出血性ショック脳症症候群(HSES)2例、急性壊死性脳症(ANE)1例、痙攣重積型脳症(AEFCSE)1例、可逆性脳梁膨大部病変を有する脳炎脳症(MERS)4例、非ヘルペス性辺縁系脳炎(NHLE)疑い1例、その他8例で、転帰は死亡2例(いずれもHSES)、脳死状態1例(ANE)、知的障害+運動麻痺2例(AEFCSEと分類不明の脳症)、後遺症なしが10例だった。非脳症群は熱せん妄3例、熱性痙攣重積後一過性意識障害4例、非痙攣性てんかん重積状態1例、チック1例と考えられた。サイトカイン解析の結果はHSES2例、ANE1例は血清IL-6とIL-10の著明な上昇を示した。MERS3例やAEFCSE、他の軽症脳症、非脳症群では血清IL-6とIL-10は正常もしくは軽度上昇に留まった。ただし、MERS1例は臨床症状が軽いものの、IL-6とIL-10の著明な上昇を認めた。血清IFN- γ はウイルス感染を反映して軽度上昇を示したが、重症度との関連はなかった。

【結論】新型インフルエンザ脳症の死亡および重度後遺症例では高サイトカイン血症を示し、季節性インフルエンザ脳症と同様の傾向を示した。

A. 研究目的

新型インフルエンザの大流行に伴い、脳症も多く報告された。季節性インフルエンザによる急性脳症における血清・髄液サイトカイン解析を行ってきたが、新型インフルエンザ脳症の免疫病態解析はいまだ明らかで

ない。本研究の目的は新型インフルエンザ脳症の免疫病態を血清・髄液サイトカイン解析の面から行うことである。

B. 研究方法

対象は平成21年8月から平成22年2月

までに当院へサイトカイン測定依頼があった新型インフルエンザ脳症疑いの患者 25 例。後方視的に脳症群と非脳症群に大別し、臨床経過と比較検討した。非脳症群の定義は便宜上、意識障害が1日以内に改善し、頭部 MRI で異常がなく、痙攣直後を除いて脳波上徐波を認めず、後遺症がないものとし、それ以外のものを脳症群とした。

方法は血清及び髄液中の interleukin (IL)-2、IL-4、IL-6、IL-10、interferon- γ (IFN- γ)、tumor necrosis factor- α (TNF- α)濃度を cytometric bead array で測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は保存血清および髄液を用いた研究であり、個人名等の個人情報保護は確保され、公表はされないことより倫理面への影響はない。

C. 研究結果

脳症群は 16 例、非脳症群は 9 例で、年齢はそれぞれ中央値 8.0 歳 (2.4-30.0 歳)、7.3 歳 (1.9-11.9 歳)、性別はそれぞれ男 8 例/女 8 例、男 5 例/女 4 例だった (表 1)。採取検体は脳症群で血清 14 例 (25 検体)、髄液 14 例 (17 検体)、非脳症群で血清 6 例 (7 検体)、髄液 8 例 (8 検体)、採取病日は (脳症発症を 1 病日として)、脳症群で血清中央値 2 病日 (1-40 病日)、髄液 1 病日 (1-40 病日)、非脳症群で血清中央値 1 病日 (1-5 病日)、髄液 1 病日 (1-2 病日) だった。脳症群のタイプは出血性ショック脳症症候群 (HSES) 2 例、急性壊死性脳症 (ANE) 1 例、痙攣重積型脳症 (AEFCSE) 1 例、可逆性脳梁膨大部病変を有する脳炎脳症 (MERS) 4 例、非ヘルペス性辺縁系脳炎 (NHLE) 疑い 1 例、その他 8 例で、転帰は死亡 2 例 (いずれも HSES)、脳死状態 1 例 (ANE)、知的障害+運動麻痺 2 例 (AEFCSE と分類不明の脳症)、後遺症な

しが 10 例だった。非脳症群は熱せん妄 3 例、熱性痙攣重積後一過性意識障害 4 例、非痙攣性てんかん重積状態 1 例、チック 1 例と考えられた。

サイトカイン解析の結果は、血清は脳症群で IL-6 2.1-16601.1 pg/ml、IL-10 1.9-2094.1 pg/ml、IFN- γ 感度以下-150.5 pg/ml、非脳症群で IL-6 4.0-75.7 pg/ml、IL-10 3.3-75.2 pg/ml、IFN- γ 10.7-121.7 pg/ml で、髄液は脳症群で IL-6 2.4-1198.4 pg/ml、IL-10 感度以下-114.4 pg/ml、IFN- γ 感度以下-143.2 pg/ml、非脳症群で IL-6 3.3-14.7 pg/ml、IL-10 感度以下-4.2 pg/ml、IFN- γ 感度以下-25.4 pg/ml だった (図 1、2)。HSES2 例、ANE1 例は血清 IL-6 と IL-10 の著明な上昇を示した。MERS3 例や AEFCSE、他の軽症脳症、非脳症群では血清 IL-6 と IL-10 は正常もしくは軽度上昇に留まった。ただし、MERS1 例は臨床症状が軽いものの、IL-6 と IL-10 の著明な上昇を認めた。血清 IFN- γ はウイルス感染を反映して軽度上昇を示したが、重症度との関連はなかった。血清、髄液とも IL-2、IL-4、TNF- α の有意な上昇を認めなかった。

D. 考察

HSES2 例、ANE1 例は血清 IL-6 と IL-10 の著明な上昇を示し、後遺症と相関した。MERS3 例や AEFCSE、他の軽症脳症、非脳症群では血清 IL-6 と IL-10 の上昇はあっても軽度に留まった。これらは季節性インフルエンザ脳症と同様の傾向を示した。ただし、MERS1 例は臨床症状が軽いものの、IL-6 と IL-10 の著明な上昇を認めており、高サイトカイン血症を示した。MERS の病態は一様ではない可能性が示唆された。血清 IFN- γ はウイルス感染を反映して軽度上昇を示したが、重症度との関連はなかった。

E. 結論

新型インフルエンザ脳症の死亡および重度後遺症例では高サイトカイン血症を示し、季節性インフルエンザ脳症と同様の傾向を示した。ただし、インフルエンザ脳症には様々な病型があり、さらなる症例の蓄積が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kajimoto M, Ichiyama T, Ueno Y, Shiraishi M, Hasegawa M, Furukawa S. Enhancement of activated β_1 -integrin expression by prostaglandin E_2 via EP receptors in isolated human coronary arterial endothelial cells: implication for the treatment of Kawasaki disease. *Inflamm Res* 2009; 58: 224-228.
2. Matsushige T, Ichiyama T, Kajimoto M, Okuda M, Fukunaga S, Furukawa S. Serial cerebrospinal fluid neurofilament concentrations in bacterial meningitis. *J Neurol Sci* 2009; 280: 59-61.
3. Motoyama M, Ichiyama T, Matsushige T, Kajimoto M, Shiraishi M, Furukawa S. Clinical characteristics of benign convulsions with rotavirus gastroenteritis. *J Child Neurol* 2009; 24: 557-561.
4. Takayanagi M, Nishimura H, Matsuzaki Y, Ichiyama T, Umehara N, Watanabe H, Kitamura T, Ohtake M. Acute encephalopathy associated with influenza C virus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 554.
5. Mimaki M, Hatakeyama H, Ichiyama T, Isumi H, Furukawa S, Akasaka M, Kamei A, Komaki H, Nishino I, Nonaka I, Goto Y. Different effects of novel mtDNA G3242A and G3244A base changes adjacent to a common A3243G mutation in patients with mitochondrial disorders. *Mitochondrion*

2009; 9: 115-122.

6. Sunagawa S, Ichiyama T, Honda R, Fukunaga S, Maeba S, Furukawa S. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in perinatal asphyxia. *Brain Dev* 2009; 31: 588-593.
7. Tomochika K, Ichiyama T, Shimogori H, Sugahara K, Yamashita H, Furukawa S. Clinical characteristics of respiratory syncytial virus infection-associated acute otitis media. *Pediatr Int* 2009; 51: 484-487.
8. Ichiyama T, Ito Y, Kubota M, Yamazaki T, Nakamura K, Susumu F. Serum and cerebrospinal fluid levels of cytokines in human herpesvirus-6 encephalopathy. *Brain Dev* 2009; 31: 731-738.
9. Ichiyama T, Takahashi Y, Matsushige T, Kajimoto M, Fukunaga S, Furukawa S. Serum matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 levels in non-herpetic acute limbic encephalitis. *J Neurol* 2009; 256: 1846-1850.
10. Kawahara N, Hasegawa S, Hashimoto K, Matsubara T, Ichiyama T, Furukawa S. Characteristics of asthma attack with long-term management for bronchial asthma. *Pediatr Int* 2009; 51: 657-660.
11. Aydin OF, Ichiyama T, Anlar B. Serum and cerebrospinal fluid cytokine concentrations in subacute sclerosing panencephalitis. *Brain Dev* in press

2. 学会発表

1. 市山高志、松重武志、梶本まどか、友近喜代子、白石昌弘、古川 漸. 細菌性髄膜炎における髄液および血液中単核球サブセットの解析. 第112回日本小児科学会学術集会. 奈良. 2009.4.17-19
2. 市山高志、高橋幸利、松重武志、梶本ま

どか、古川 漸. 非ヘルペス性急性辺縁系
脳炎における血清 metalloproteinase-9 と
tissue inhibitor of metalloproteinase-1 の動
態. 第 51 回日本小児神経学会. 米子.
2008.5.28-30

3. 市山高志. シンポジウム. MMP-9 と
TIMP-1 からみた脳炎・脳症. 第 14 回日本
神経感染症学会. 宇都宮. 2009.10.16-17

4. 市山高志. 特別講演. 感染症に伴うけい
れん性疾患. 第 79 回日本小児科学会大分
地方会. 大分. 2009.12.6

5. 市山高志. 特別講演. 感染症に伴う小児
神経疾患トピックス. 第 85 回日本小児科学
会香川地方会. 高松. 2009.12.12

6. 市山高志. 日常診療で遭遇する発達障
害 + α . 第 67 回山口県小児科医会学術講
演会. 宇部. 2009.12.13

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし