

表2. インフルエンザ脳症届出症例の疫学的特徴
2004年第28週 - 2010年第13週

Type	Reported case	Male (%)	Median age (range)	Fatal case (%)
A [§]	169	93 (55.0)	4 (0-79)	22 (13.0)
B [†]	50	21 (42.0)	4 (0-83)	7 (14.0)
Apdm [‡]	322	196 (60.9)	7 (0-72)	12 (3.7)
unknown	28	16 (57.1)	6 (1-52)	4 (14.3)
Total	569	326 (57.3)	6 (0-83)	45 (7.9)

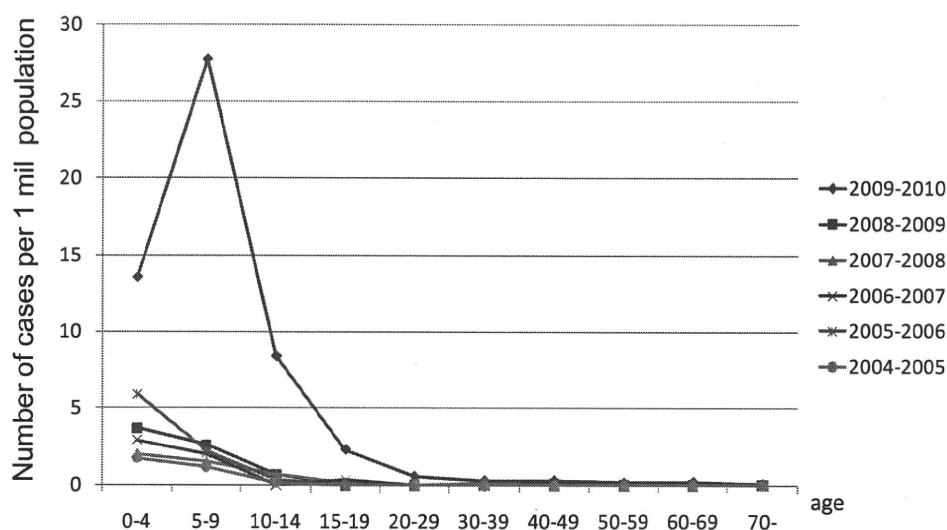
* : Statistically significant

§ : Reported as influenza A from 28w in 2004 to 27w in 2009

† : Reported as influenza B from 28w in 2004 to 13w in 2010

‡ : Reported as influenza A(H1N1)pdm or influenza A from 28w in 2009 to 13w in 2010

図2. 人口100万人あたり、年齢群別インフルエンザA脳症発症割合
2004年第28週 - 2010年第13週



H1N1 新型インフルエンザおよび H5N1 鳥インフルエンザの ウイルス学的解析

研究分担者 河岡義裕 東京大学医科学研究所・教授

研究要旨

H1, H2, H5, H6 の HA の共通エピトープを認識する亜型間交差中和抗体 C179 は、H5N1 ウイルスに対して、高い予防および治療効果を示した。一方、パンデミックウイルスに対しては、予防効果を示し、肺でのウイルス感染価は、C179 抗体を投与したマウスで有意に減少していた。また、腹腔内投与および鼻腔内投与とも、同等の予防および治療効果を示した。これらの結果から、抗体療法は、インフルエンザに対する治療法の選択肢の一つとして考えられる。

A. 研究目的

H5N1 亜型の高病原性鳥インフルエンザウイルスはアジアを中心に世界中で蔓延し、養鶏産業に大きな被害を与えているが、その拡がりとともに、ヒトの感染・死亡例は依然増え続けている。また、2009 年、豚由来の H1N1 ウイルスによるパンデミックが発生し、公衆衛生上大きな問題となっている。現在、インフルエンザに対する治療には抗ウイルス薬であるタミフルやリレンザが用いられているが、耐性ウイルスの出現が問題となっており、新たな抗ウイルス薬および、より効果的な治療法が模索されている。そこで私たちは、亜型間交差中和抗体 C179 を用い、様々なクレードの H5N1 ウイルスおよび 2009 年パンデミックウイルスに対する防御効果を、2 つの異なる投与方法を用いて検討した。

B. 研究方法

H1, H2, H5 および H6HA の共通エピトープを認識する亜型間交差中和抗体 C179 を、BALB/c マウスに、ウイルス攻撃の 24 時間前、1 時間前、24 時間後、48 時間後、72 時間後に、腹腔内または鼻腔内に 1 回投与し、致死量の H5N1 ウイルスまたはパンデミック H1N1 ウイルス [A/Vietnam/UT3040/04 (H5N1, clade1; VN3040), A/Vietnam/UT31312III/07 (H5N1, clade2.3.4; VN31312III), A/swine/Indonesia/UT2071/05 (H5N1, clade2.1.1; SwIDN2071), A/Indonesia/UT3006/05 (H5N1, clade2.1.3; IDN3006), A/chicken/Miyazaki/K11/07 (H5N1, clade2.2; CkMiyazaki), A/California/04/09 (H1N1, SOIV; CA04), mouse-adapted A/California/04/09 (H1N1; MA-CA04), and AWSN/33 (H1N1; WSN)] で攻撃し、攻撃後

2 週間体重変化および生死を観察した。また、ウイルス感染 3 日および 6 日後にマウスを安楽殺し、臓器を採材し、ウイルス感染価を測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験は、東京大学医科学研究所実験動物委員会の承認のもと、東京大学動物実験規則に従って実施した。

C. 研究結果

抗体 C179 を腹腔内投与し、WSN 株および様々なクレードの H5N1 ウイルス株を用いて攻撃したところ、WSN 株攻撃に対して、24 時間前または 1 時間前に C179 抗体を投与したマウスは全て生残し、高い予防効果が認められた。また、H5N1 ウイルスによる攻撃に対しても、全てではないが、C179 抗体を投与したマウスはほとんど生残し、高い予防効果が認められた。一方、治療効果では、WSN 株攻撃に対して、24 時間後に C179 抗体を投与したマウスは全て生残したものの、48 時間後、72 時間後に抗体を投与したマウスは死亡した。H5N1 ウイルス攻撃に対しては、clade 2.1.3 のウイルスである IDN3006 に対しては、あまり治療効果が得られなかったが、その他の clade の株に対しては、WSN 株に対する効果と同程度、またはそれ以上の治療効果が認められた。

次に、C179 抗体のパンデミックウイルス (CA04 株) に対する効果を調べた。CA04 株はマウスを殺さないで、攻撃後 2 週間体重変化を調べた。コントロールの抗体 (抗 H3 抗体) を腹腔内投与したマウスは、大きな体重減少を示したのに対し、C179 抗体を CA04 株攻撃前 24 時間または 1 時間前に腹腔内投与したマウスは、ほとんど体重が減

り少なかった。また、治療効果について同様に調べたところ、コントロール抗体を投与したマウスが感染 8 日目まで体重が減少し続けたのに対し、C179 抗体を CA04 株攻撃の 24 時間後に腹腔内投与したマウスでは早い回復が認められた。一方、48 時間後または 72 時間後に投与したマウスは、あまり回復が認められなかった。次に、肺でのウイルス感染価を調べたところ、CA04 株による攻撃後 3 日目には、24 時間前に C179 抗体を投与したマウス以外は有意な差は認められなかったが、感染後 6 日目には、C179 抗体を投与したほとんどのマウスで有意なウイルス量の減少が認められた。これらの結果から、C179 はパンデミックウイルスに対しても効果があることが示唆された。

抗体の投与ルートが防御効果にどのような影響を与えるかを検討するため、鼻腔内投与で、さらに抗体の投与量を減らして検討を行った。また、生死で防御効果を判断するため、攻撃株として H5N1 ウイルスと、マウスに馴化させたパンデミックウイルス (MA-CA04 株) を用いた。その結果、WSN 株で攻撃したマウスは、ウイルス感染後 72 時間後に C179 を投与したマウス以外は全て生残し、腹腔内投与よりも高い予防および治療効果が認められた。H5N1 ウイルスに対しても、腹腔内投与で高い効果が得られた SwIDN2071 株およびあまり高い効果が得られなかった IDN3006 株ともに、抗体の投与量を減らしたにもかかわらず、腹腔内投与の時と同程度の効果が得られた。パンデミックウイルスの MA-CA04 株に対しては、コントロール抗体を投与したマウスおよび抗体を投与しなかったマウスは全て死亡したのに対し、C179 抗体を 24 時間および 1 時間前に投与したマウスは全て生残し、高い予防効果が確認できた。しかし、MA-CA04 株攻撃後に C179 抗体を投与した

マウスのほとんどは死亡し、治療効果は認められなかった。

D. 考察

亜型間交差中和抗体 C179 は、近年問題となっている H5N1 ウイルス、パンデミックウイルスともに防御効果を示した。また、腹腔内投与だけでなく、鼻腔内投与でも同等の効果が認められたことから、抗体療法はインフルエンザに対する治療法の選択肢の一つとして有用であると考えられた。

E. 結論

新たな抗ウイルス薬および治療法として、抗体療法の可能性を示した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sakabe S, Iwatsuki-Horimoto K, Horimoto T, Nidom CA, Le MQ, Takano R, Kubota-Koketsu R, Okuno Y, Ozawa M, Kawaoka Y. A cross-reactive neutralizing

monoclonal antibody protects mice from H5N1 and pandemic (H1N1)2009 virus infection. *Antiviral Research* 88:249-255, 2010.

2. 学会発表

坂部沙織、岩附研子、堀本泰介、高野量、瀬藤律子、奥野良信、河岡義裕「亜型間交差中和抗体 C179 の H5N1 高病原性鳥インフルエンザおよび 2009 年 H1N1 パンデミックウイルスに対する防御効果」第 58 回日本ウイルス学会学術集会、東京、2010 年 11 月

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

新型インフルエンザ小児死亡例の実態調査

研究分担者 奥村彰久 順天堂大学医学部小児科・准教授

研究要旨

厚労省のホームページに公開されたインフルエンザウイルス A/H1N1pdm（新型インフルエンザ）による満 20 歳未満の死亡例 41 例に対し、実態調査を行った。死因については調査チームのコンセンサスによって判断し、予期せぬ心肺停止、急性脳症、呼吸不全、心筋炎、ゼブシス、偶発に分類した。死亡例の男女比は 25 : 16 で、平均年齢は 59 か月であった。基礎疾患は呼吸器系 9 例、神経系 11 例に認めた。死因は、予期せぬ心肺停止 15 例、急性脳症 15 例、呼吸不全 6 例、心筋炎 2 例、ゼブシス 2 例、偶発 1 例であった。予期せぬ心肺停止の症例は年齢が低い傾向があり、1 例を除き基礎疾患を有していなかった。急性脳症の症例では 5 例に基礎疾患があり、画像では著明な脳浮腫が特徴的であった。呼吸不全の症例は 1 例を除いて基礎疾患を有していた。死因として急性脳症が多く呼吸不全が少ないことが、日本の新型インフルエンザ小児死亡例の大きな特徴であると思われた。

A. 研究目的

インフルエンザウイルス A/H1N1pdm（新型インフルエンザ）は、2009 年春に北米から流行が拡大し、同年 5 月に日本でもその感染が確認された。その後、新型インフルエンザは日本全体に急速に広まり、小児にも多くの患者が発生した。新型インフルエンザは海外では重症肺炎などの呼吸器合併症で多数の死亡例が報告され、社会的にも多くの注目を集めた。新型インフルエンザによる小児死亡例の実態調査は、今後の新型インフルエンザに対する対策を考える上で重要な資料となる。厚生労働省研究班の森島班と近藤班は合同で調査チームを結成

し、死亡例の実態を調査した。

B. 研究方法

2010 年 3 月末までに、厚生労働省のホームページに公開された新型インフルエンザによる死亡例のうち、満 20 歳未満のものは 41 例であった。これらの症例に対し、調査チームの 1 名以上が主治医を訪問し、調査票を用いて面接およびデータの収集を行った。死因については臨床経過や検査所見などに基づいて総合的に考察し、調査チームのコンセンサスによって決定した。今回は死因を、予期せぬ心肺停止、急性脳症、呼吸不全、心筋炎、ゼブシス、偶発に分類し

た。倫理面を配慮して、症例のデータは匿名化して収集した。

C. 研究結果

死亡例の男女比は25:16であった。死亡時の平均年齢は59か月で、5歳未満は20例であった(図1)。1つ以上の基礎疾患を14例に認め、そのうち神経系疾患が11例に、呼吸器系疾患が9例に認めた。迅速診断によるインフルエンザの診断は、39例で発熱から2日以内に行われていた(図2)。34例でインフルエンザの診断当日または翌日に生命危急事態が起きていた(図2)。発熱から死亡までの期間は中央値2日で、28例が発熱から3日以内に死亡していた(図3)。34例で周囲に新型インフルエンザに罹患している人の存在が確認された。

死亡例の推定死因は、予期せぬ心肺停止15例、急性脳症15例、呼吸不全6例、心筋炎2例、ゼプシス2例、偶発1例であった。

予期せぬ心肺停止の15例は年齢の中央値が43か月で、11例が5歳未満であった。1例を除き基礎疾患を有していなかった。検査された全ての症例で肺炎や脳浮腫を認めず、直接の死因は特定できなかった。

急性脳症の15例は年齢の中央値が62か月であり、7例が5歳未満であった。5例に基礎疾患を認め、そのうち3例は神経系疾患を有していた。全症例で意識障害またはけいれんに引き続き急速な全身状態の悪化を認めた。画像では著しい脳浮腫が特徴的であった。胸部写真で軽い肺炎の合併を認める症例もあったが、死亡への直接的な関与はなかったと判断した。

呼吸不全の6例は年齢の中央値が78か月であった。5例で基礎疾患を有しており、4例が寝たきりであった。全例で胸部写真上肺炎像を呈しており、急速に低酸素血症に陥る経過を辿った。2例は新型インフルエ

ンザに罹患する前に細菌性肺炎で入院していたが、新型インフルエンザに罹患後に急速に呼吸不全に陥り死亡した。

心筋炎の2例はどちらも12歳以上であり、突然の心停止で搬送されていた。搬送時からCK値が9000IU/l以上であった。ゼプシスの2例は発症時からショック状態で、急速に多臓器不全に陥っていた。

偶発の1例は、頭蓋内出血で死亡した症例で、咽頭拭い液のPCR法で新型インフルエンザが検出されたが死亡への関与は無かったと判断した。

臨床経過や検査結果などから小児救急体制の不備が関与していたと推定された症例は無く、昨年の新型インフルエンザ小児重症例の救命救急体制は機能していたと考えられた。

D. 考察

諸外国からの報告では、小児・成人を問わず新型インフルエンザに伴う死亡原因としては、重症肺炎を始めとする呼吸不全が圧倒的に多いことで一致している。それに対し、日本では呼吸不全による死亡はむしろ少数であり、予期せぬ心停止や急性脳症が死因としては多数を占めていた。このように、新型インフルエンザによる死因の内訳が大きく諸外国と異なっていることが、日本の特殊性であると思われる。

死亡原因として最多であった予期せぬ心肺停止は、死亡例の中では年齢が低く、基礎疾患を持つ児が稀であったことが特徴である。直接の死亡原因は現時点では不明であり、今後は病理解剖などによる死因の究明が必要であると思われる。

急性脳症は、予期せぬ心肺停止と並んで死亡原因として最多であった。新型インフルエンザに伴う神経合併症としての急性脳炎の報告は諸外国にも散見される。しかし、死亡例の報告は極めて限られている。急性

脳症の小児死亡例が多いことは、日本の特徴であるとともに今後の対策、特により有効な治療法の究明が望まれる

呼吸不全による死亡の少なさは、日本の新型インフルエンザ小児死亡例のもう一つの重要な特徴である。また、死亡例はほとんど何らかの基礎疾患を有していた児であり、新型インフルエンザ感染前に健常であった小児の呼吸不全による死亡は極めて少ない。この原因は現時点でははっきりしないが、迅速キットによる早期診断・抗ウイルス薬の早期からの使用・小児科学会を始めとした医療者間の情報交換などが複合的に奏功した可能性があると思われる。

E. 結論

日本における新型インフルエンザ小児死亡例の死因は、予期せぬ心肺停止と急性脳症が多く、呼吸不全による死亡は少数であった。急性脳症に対する治療法の究明が、今後のインフルエンザ対策に重要であると思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Okumura A, Abe S, Hara S, Aoyagi Y, Shimizu T, Watanabe K. Transiently reduced water diffusion in the corpus callosum in infants with benign partial epilepsy in infancy. *Brain Dev* 2010; 32(7): 564–566.

Okumura A, Hayakawa M, Oshiro M, Hayakawa F, Shimizu T, Watanabe K. Nutritional state, maturational delay on electroencephalogram, and developmental outcome in extremely low birth weight infants. *Brain Dev* 2010; 32(8): 613–618.

Okumura A, Yamamoto T, Kidokoro H, Kato T, Kubota T, Shoji H, Sato H, Shimojima K, Shimizu T. Altered gene expression in umbilical cord mononuclear cells in preterm infants with periventricular leukomalacia. *Early Hum Dev* 2010; 86(10): 665–667.

Okumura A, Komatsu M, Abe S, Kitamura T, Matsui K, Ikeno M, Shimizu T. Amplitude-integrated electroencephalography in patients with acute encephalopathy with refractory, repetitive partial seizures. *Brain Dev* 2011; 33(1): 77–82.

Okumura A, Morita M, Ikeno M, Abe S, Shimizu T. Acute encephalopathy in a child with secondary carnitine deficiency due to pivalate-conjugated antibiotics. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30(1): 92.

Sekigawa M, Okumura A, Nijima S, Hayashi M, Tanaka K, Shimizu T. Autoimmune focal encephalitis shows marked hypermetabolism on positron emission tomography. *J Pediatr* 2010; 156(1): 158–60.

Kato T, Hayakawa F, Tsuji T, Natsume J, Okumura A. Early diffusion-weighted images in infants with subcortical leukomalacia. *Pediatr Neurol* 2010; 42(5): 375–379.

Komatsu M, Okumura A, Matsui K, Kitamura T, Sato T, Shimizu T, Watanabe K. Clustered subclinical seizures in a patient with acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Brain Dev* 2010; 32(6): 472–476.

- Tanuma N, Miyata R, Kumada S, Kubota M, Takanashi JI, Okumura A, Hamano SI, Hayashi M. The axonal damage marker tau protein in the cerebrospinal fluid is increased in patients with acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Brain Dev* 2010; 32(6): 435–439.
- Tadokoro R, Okumura A, Nakazawa T, Hara S, Yamakawa Y, Kamata A, Kinoshita K, Obinata K, Shimizu T. Acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion associated with hemophagocytic syndrome. *Brain Dev* 2010; 32(6): 477–481.
- Nakajima-Kawakami Y, Okumura A, Yamashita S, Mori M, Ishikawa A, Sameshima K, Shimizu T. A neonate with focal cerebritis caused by *Campylobacter* fetus. *J Pediatr Infect Dis.* 2010; 5(3): 289–292.
- Maruyama K, Okumura A, Negoro T, Watanabe K. Congenital infiltrating lipomatosis of the face with ipsilateral hemimegalencephaly, band heterotopia, and hypertrophy of brainstem and cerebellum. *Neuropediatrics* 2010; 41(3): 147-150.
- Sakai R, Okumura A, Marui E, Shimizu T. Does the pediatricians' work setting or years of experience influence febrile seizure education? *Neuropediatrics* 2010; 41(3): 144-146.
- Kobayashi K, Ouchida M, Okumura A, Maegaki Y, Nishiyama I, Matsui H, Ohtsuka Y, Ohmori I. Genetic seizure susceptibility underlying acute encephalopathies in childhood. *Epilepsy Res* 2010; 91(2-3): 143-152.
- Obinata K, Okumura A, Nakazawa T, Kamata A, Niizuma T, Kinoshita K, Shimizu T. Norovirus encephalopathy in a previously healthy child. *Pediatr Infect Dis J* 2010; 29(11): 1057-1059.
- Kato T, Okumura A, Hayakawa F, Tsuji T, Hayashi S, Kubota T, Fukasawa T, Suzuki M, Maruyama K, Oshiro M, Hattori T, Kidokoro H, Natsume J, Hayakawa M, Watanabe K. Prolonged EEG depression in term and near-term infants with hypoxic ischemic encephalopathy and later development of West syndrome. *Epilepsia* 2010; 51(12): 2392-2396.
- Kubota T, Suzuki T, Kitase Y, Kidokoro H, Miyajima Y, Ogawa A, Natsume J, Okumura A. Chronological diffusion-weighted imaging changes and mutism in the course of rotavirus-associated acute cerebellitis/cerebellopathy concurrent with encephalitis/encephalopathy. *Brain Dev.* 2011; 33(1): 21-27.
- Abe S, Okumura A, Hamano S, Tanaka M, Shiihara T, Aizaki K, Tsuru T, Toribe Y, Arai H, Shimizu T. Early infantile manifestations of incontinentia pigmenti mimicking acute encephalopathy. *Brain Dev.* 2011; 33(1): 28-34.

2. 学会発表

奥村彰久. 新生児発作と脳波モニタリング.
第 66 回東海てんかん集談会、静岡、
2010.2.6.

奥村彰久. 新生児脳梗塞と新生児発作. 第
572 回日本小児科学会東京都地方会講話会、
東京、2010.2.13

奥村彰久. aEEG を使って新生児の脳を見
よう！第 12 回新生児呼吸療法・モニタリン
グフォーラム、大町、2010.2.18.

奥村彰久. 新生児の脳を見るために aEEG
を上手に使おう. 第 12 回新生児呼吸療法・
モニタリングフォーラム、大町、2010.2.18.

奥村彰久. 新生児脳波:判読のエッセンス.
第 10 回 NeuKids 常総セミナー、大洗、
2010.2.27.

奥村彰久. 新生児発作と脳波モニタリング.
第 19 回近畿新生児研究会、大阪、2010.3.6.

奥村彰久. 小児の急性脳症—最近の話題—.
2009 年度日本神経学会北海道地区生涯教
育講演会、札幌、2010.3.7.

奥村彰久. 急性脳炎・脳症の臨床症状と治
療法. 第 27 回神経研都民講座、国分寺、
2010.4.13.

奥村彰久、谷本愛子、安部信平、池野充、
斎藤雅子、清水俊明. 早産児核黄疸の 1 例.
第 113 回日本小児神経学会総会、盛岡、
2010.4.23.

奥村彰久、清水俊明、辻健史、久保田哲夫、
山下進太郎、新島新一、平岩朋子. 新型イ
ンフルエンザ関連脳症の臨床像. 第 52 回日
本小児神経学会総会、福岡、2010.5.21.

Akihisa Okumura, Tetsuo Kubota, Hiroyuki
Kidokoro, Takeshi Tsuji, Fumio Hayakawa,
Koichi Maruyama, Motomasa Suzuki,
Kazuya Itomi, Toshiaki Shimizu. Clinical
Features of Acute Encephalopathy in
Children with Underlying Disorders. 第 52
回日本小児神経学会総会、福岡、2010.5.21.

奥村彰久. シンポジウム：急性脳症におけ
る脳波. 第 52 回日本小児神経学会総会、福
岡、2010.5.22

奥村彰久、安部信平、池野充、斎藤雅子、
清水俊明. 幼児期に epileptic spasms を認
める多小脳回の 1 例. 第 4 回日本てんかん
学会関東甲信越地方会、東京、2010.6.12.

奥村彰久. 新生児の脳波と脳波モニタリン
グ. 第 433 回福岡臨床と脳波懇話会、福岡、
2010.7.9.

Akihisa Okumura, Toshiyuki Yamamoto,
Hiroyuki Kidokoro, Toru Kato, Tetsuo
Kubota, Hiromichi Shoji, Hiroaki Sato,
Keiko Shimojima, Toshiaki Shimizu. Altered
Gene Expression in Umbilical Cord
Mononuclear Cells in Preterm Infants with
Periventricular Leukomalacia. 第 46 回日本
周産期・新生児医学会学術集会、神戸、
2010.7.12.

奥村彰久. 小児のけいれん —熱性けいれ
んからてんかんまで—. 亀田メディカルセ
ンター小児科学術講演会、鴨川、2010.7.23.

奥村彰久. 小児の急性脳炎・脳症—Bright
tree appearance を示す急性脳症の最近の
知見から—. 第 17 回ヘルペス感染症フォー
ラム、札幌、2010.8.20.

奥村彰久、植松貢、今高城治、田中学、岡西徹、久保田哲夫、須藤章、遠山潤、辻恵、大守伊織、内木美佐子、平岩文子、佐藤仁志、斎藤伸治. Dravet 症候群における急性脳症. 第 44 回日本てんかん学会総会、岡山、2010.10.14.

奥村彰久. 小児良性部分てんかんの病態と治療 良性乳児部分てんかん. 第 44 回日本てんかん学会総会、岡山、2010.10.15.

奥村彰久. 教育講演：新生児発作の Evidence に基づく診断と治療を目指して. 第 55 回日本未熟児新生児学会、神戸、2010.11.5.

奥村彰久. 新生児における脳波・脳波モニタリング. 第 57 回九州新生児研究会、長門、2010.11.20.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

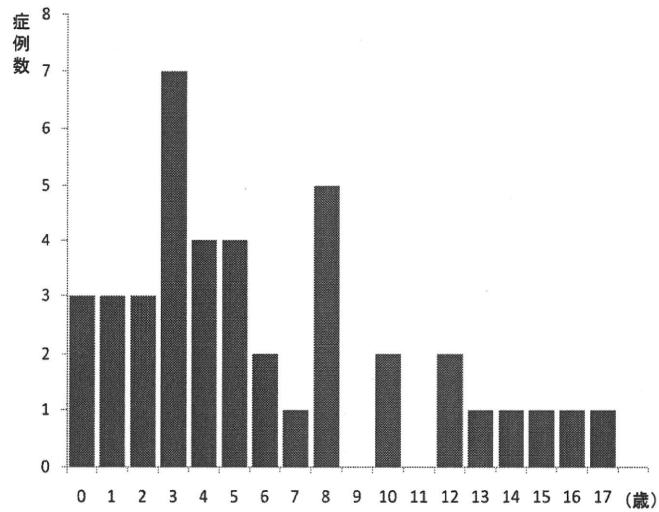
なし

2. 実用新案登録

なし

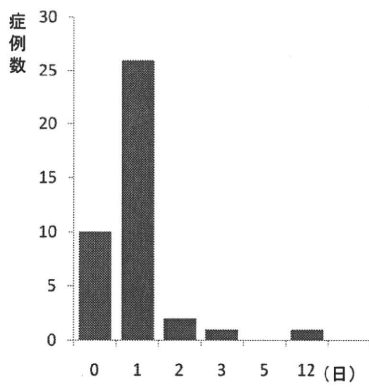
3. その他

なし

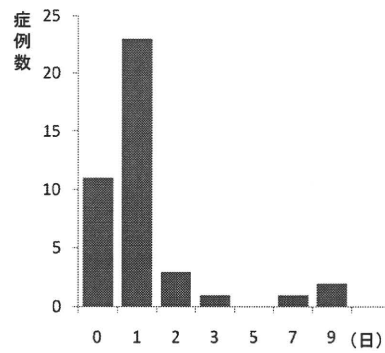


新型インフルエンザ小児死亡例の年齢分布

図1

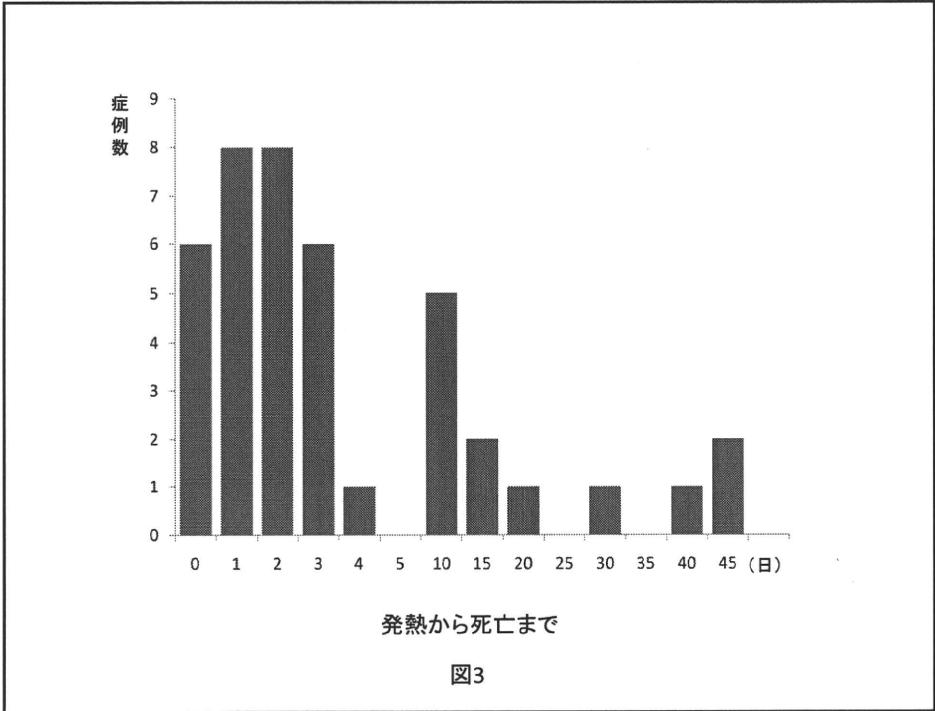


発熱からインフルエンザの診断まで



インフルエンザの診断から急変まで

図2



分担研究報告書

新型インフルエンザ（pdm influenza H1N1 2009）脳症に関する実態調査

分担研究者 河島尚志 東京医科大学小児科 講師

研究要旨

2009年6月以降に世界的にウイルス学的性状を異にする新型インフルエンザ（pandemic influenza A(H1N1) 2009）が流行した。新型インフルエンザ脳症の臨床的特徴を明らかにするため、インフルエンザ脳症を診察する機会があると考えられる845施設にアンケート調査を行い、207例の脳症患者に関して情報が収集できた。対象期間は、2009年8月～2010年1月の6カ月間である。特に、発熱から神経症状発現までの時間からみた病型と予後との関連を検討した。結果、①男児に多い。②各年齢層で重症例がいる。③既往で熱性けいれんを起こしている脳症が多い。④死亡例は、発熱より24時間頃で神経症状を発現する例がほとんどである（16例中15例）。⑤2相性痙攣を呈する例のうち、後遺症を認める群では、発熱から神経症状発現が早い。⑥幻視などの視覚異常を呈する例は予後良好例に限定される。⑦異常行動を伴うのは、予後良好群に多い。⑧MRI画像での異常所見のうち、後遺症なしの群で、脳梁膨大部病変が半数を占める。⑨脳波で、高振幅徐波は予後不良の指標とはいえない。といったことが知れた。

発熱から24時間頃にサイトカイン産生やウイルス増殖がピークをむかえるタイミングであり、その時点で大半の死亡例が神経症状を発現する可能性がある。MERS群では、画像と臨床経過を合わせることで予後の推測に役立つと考えられる。一方、2相性痙攣群では予後により神経症状の発現時期が異なるため、脳波・SPECT等の追加検査を合わせて評価していく必要がある。

A. 研究目的

本研究班の仕事として、継続してインフルエンザ脳症の病態にサイトカイン、フリーラジカルなどが関与することなど病態解明を試みてきた。さらに予後改良のための治療法として、各種の特殊治療を試み、一定の効果をあげてきた。しかしながら、未だに死亡例や後遺症を残す例はなくなり、さらなる病態解明と治療法の開発が望まれている。こういったなか、2009年6月以降に世界的にウイルス学的性状を異にする新型インフルエンザ（pandemic influenza A(H1N1) 2009）が流行した。当初は呼吸器感染者がほと

んどであったが、流行が拡大するなかで、新型インフルエンザ感染に伴う脳症を認めるようになった。pdm 2009はウイルス学的性状が異なることや、感染集団が異なることから、中枢神経感染（脳炎・脳症）に関して、季節型の脳症と病像がことなる可能性があり、至急その実態を明らかにする必要がある。

B. 研究方法

全国調査により新型インフルエンザ脳症の臨床的特徴、インフルエンザ脳症を診察する機会があると考えられる845施設にアンケート調査

を行い、207例の脳症患者に関して情報が収集できた。また、死亡症例は施設を訪問し、画像を含めて。情報を収集した。対象期間は、2009年8月～2010年1月の6カ月間である。特に、発熱から神経症状発現までの時間からみた病型と予後との関連を検討した。予後との関連対象児は、予後・後遺症の詳細が判明した188例を対象とした。神経学的後遺症を残さなかった群を予後良好群、後遺症を残した例ならびに死亡例を予後不良群とし検討を行った。

C.研究結果

1) 男女比と年齢像

男女比は明らかに6:4と男児に多かった。年齢分布は5～9歳を中心に各年齢層に分布していた。

2) 予後

予後は死亡が16例(8.5%)で、後遺症があったのは、有23例(12.2%)であり、そのうちの重度後遺症が5例(2.7%)で、後遺症なしが149例(79.3%)であった。死亡症例も各年齢層にいた。脳症の型が判明した中では興奮毒性型に分類される2相性痙攣のタイプでは死亡例はいないが、半数は予後不良であった。

3) 既往歴・家族歴

後遺症なしの例では、熱性けいれんが多く、また家族歴でも、9例で熱性けいれんの既往があった。また、喘息既往も2割弱いた。予防接種歴としては、新型を単発で接種している症例はかなり少なく、死亡例1例

と後遺症なし群2例のみだった。接種率も12.8%と1割程度だった。

既往歴の検討

後遺症	例数	周産期異常	基礎疾患	熱性けいれん	てんかん	発達遅延	喘息	家族歴
死亡	16	2	2	2	1	2	3	1
重症	5	1	1	1	1	1	0	0
中等症 軽症	18	0	3	1	1	2	2	1
なし	149	5	33	40 (27%)	1	5	28 (19%)	14

4) 画像

後遺症なしの群で、MRI所見で異常所見を呈した例は、29例と3割弱であった。うち、半数の15例で脳梁膨大部病変、いわゆるMERSを呈していた。他の群で、脳梁膨大部病変を呈する例は、少なかった。また、脳幹病変が確認されたのは死亡例5例のみCT所見で呈していた。

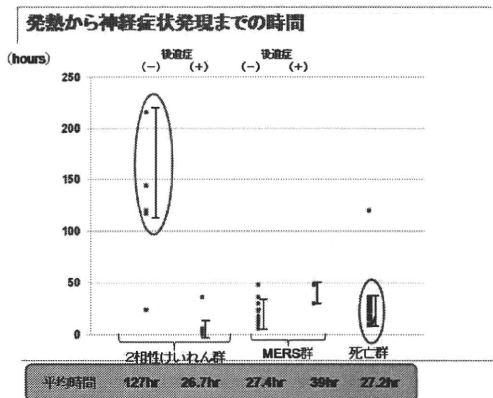
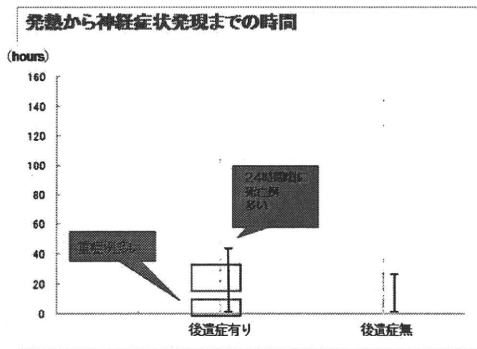
画像での比較検討

予後	例数	MRI異常所見	CT異常所見 (初回のみで比較)
死亡	16	3/3(100%) ・ 脳幹の出血壊死 ・ DWIにて基底核にFD、T2で白質、皮質の変化	12/12 脳幹の浮腫ないし 軽性浮腫: 5例
後遺症 重症	5	3/5(60%) ・ 大脳皮質・脳幹部の局所的浮腫 ・ 脳梁不明瞭で脳腫が強い状態 ・ 両側波蓋球主幹T2にて高信号 下帯はT1強調像で後部の高信号 ・ 両側前頭葉、右内側頭葉に異常信号	2/5 脳浮腫
中等症 軽症	16	6/15(40%) ・ 脳梁膨大部病変 2例 ・ 頭頂葉側頭蓋縁位に高信号 3例	2/12 軽度の脳浮腫
後遺症 なし	149	29/116(25%) 脳梁膨大部病変 14例 ・ posterior reversible encephalopathy syndrome(PRES) 1例 ・ diffuse swelling of the cerebrum	45/129 脳浮腫が中心の所見として ある。 AVM・クモ膜のう膜が 1例ずつ

5) 時間軸からの検討

発熱から神経症状発現までの時間は、後遺症あり群では24時間頃に死亡例が集中していた。一方、後遺症なし群では30時間以内にほぼ全

例が神経症状を認めていた。次に2相性けいれん群・脳梁膨大部病変(以下、MERS)群・死亡群を比較した。2相性けいれん群の後遺症あり・なし群では、後遺症なし群の方が発現までの時間が長く、統計学的有意差も認めた。2相性けいれん群の後遺症あり群では大半が6時間以内に症状が発現しており、後遺症なし群では100時間以上を経過している例が多かった。MERS群では、後遺症の有無にかかわらず50時間以内に発現していた。



6) 異常言動・異常行動に関する検討

異常言動・行動の分類を横田ら発表した分類(1. 側頭葉局在症候群、2. 視覚異常、3. 情動障害、4. 大声で歌を歌う等の特徴のある、大脳基底核～辺縁

系の障害、5. 辺縁系の異常群)で解析した。視覚に伴う幻視は、1例死亡例を除き、ほぼ後遺症なし例であった。重症群で、異常行動を呈した例は、1例のみでした。大脳辺縁群は、死亡例～後遺症なし例まで全群に分布しており、予後指標とは、なりえないと思われた。逆に、視覚に伴う異常言動は予後良好と考えられた。

異常言動・行動の検討

後遺症	例数	異常言動・行動の有無	Oral tendency	Visual Abnormal	Emotional	Musical	Limbic system
死亡	16	5	0	1	2	0	2
重症	5	1	0	0	0	0	1
中等症・軽症	18	7	1	0	0	0	4
なし	149	82	1	23	20	4	23

7) 脳波

脳波では、後遺症なし群で、HSV所見を呈するものが、6割以上を占めていた。後遺症なし例では、平坦脳波、低電位のは1例も認めなかった。

脳波所見の比較検討

後遺症	例数	高振幅徐波	平坦脳波	低電位
死亡	16 (記載あり9)	1	4	2
重症	5 (記載あり4)	1	3	0
中等症・軽症	16 (記載あり14)	5	0	1
なし	149 (記載あり141)	92 (65%) 59 (42%・HSVのみ記載)	0	0

D. 考察

発熱から24時間頃にサイトカイン産生やウイルス増殖がピークをむ

かえるタイミングであり、その時点で大半の死亡例が神経症状を発現する可能性がある。MERS 群では、画像と臨床経過を合わせることで予後の推測に役立つと考えられる。一方 2 相性けいれん群では予後により神経症状の発現時期が異なるため、脳波・SPECT 等の追加検査を合わせて評価していく必要がある。

E. 結論

- 男児に多い。
- 各年齢層で重症例がいる。
- 既往で熱性けいれんを起こしている脳症が多い。
- 死亡症例は、発熱より 24 時間頃で神経症状を発現する例がほとんどであった(16 例中 15 例)。
- 2 相性痙攣を呈する例のうち、後遺症を認める群では、発熱から神経症状発現が早い例が多い。
- 幻視などの視覚異常を呈する例は予後良好例に限定される。
- 異常行動を伴うのは、予後良好群に多かった。
- MRI 画像での異常所見のうち、後遺症なしの群で、脳梁膨大部病変が半数を占めていた。
- 脳波で、高振幅徐波は予後不良の指標とはいえない。

F. 研究発表

(1) 論文発表

① 著書

1. 河島尚志, 柏木保代, 山中岳, 呉宗憲. インフルエンザと高サイトカイン血症 小児内科 42:1509-13, 2010

2. 河島尚志. 乳幼児突然死ウイルス感染を中心として 日本小児科医会会報 38:93-96, 2009
3. 河島尚志. 「重症ウイルス感染症」—新型インフルエンザ (pandemic influenza A(H1N1)2009 を含むその実態と対応 都耳鼻会報 133: 6-12, 2010
4. 河島尚志, 柏木保代, 山中岳. インフルエンザ感染症と母乳栄養小児内科 42:1707-9, 2010

② 学術論文

1. Okawashima H, Go S, et al. Extreme Efficiency of Airway Pressure Release Ventilation (APRV) in a Patient Suffering from Acute Lung Injury with Pandemic Influenza A (H1N1) 2009 and High Cytokines. Indian J Pediatr. 2010 Oct 27.
2. Okawashima H, Go S, et al. Cytokine profiles of suction pulmonary secretions from children infected with pandemic influenza A(H1N1) 2009. Crit Care. 2010;14:411.
3. Okawashima H, Suzuki K, et al Anti-glutamate receptor antibodies in pediatric enteroviral encephalitis. Int J Neurosci. 2010;120:99-103.
4. Okawashima H, Yamanka et al Nitrite and nitrate as a new target of treatments in influenza-associated encephalopathy J Ped

- iatr Infect Diseases 2010; 5:171-76
5. Yamanaka G, O Kawashima H, et al Increased level of serum interleukin-1 receptor antagonist subsequent to resolution of clinical symptoms in patients with West syndrome. J Neurol Sci.2010;298:106-9.
 6. Morishima Y, O Kawashima H, et al A case of acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion on respiratory syncytial virus infection J Tokyo Med Univ 2010;68:231-234,
 7. Takano T, Tajiri H, Kashiwagi Y, Kimura S, O Kawashima H Cytokine and chemokine response in children with the 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2010 Sep 6. [Epub ahead of print]
 8. Mori M, O Kawashima H, et al Surveillance Committee for Severe RSV Infection. Nationwide survey of severe respiratory syncytial virus infection in children who do not meet indications for palivizumab in Japan. J Infect Chemother. 2010 Sep 25.

(2) 学会発表

1. 高野智子、柏木保代、木村貞美、清水真理子、野間治義、植田仁、楠本義雄、O河島尚志、田尻仁。新型インフルエンザ入院患者における血清サイトカインと臨床的特徴の検討 第 113 回日本小児科学会学術集会

(4.23-25.2010) 岩手

2. O河島尚志。重症 RS ウイルス感染症の特徴ーインフルエンザとの比較 第 24 回日本小児救急医学会ランチョンセミナー(5.29.2010) 京都

3. 呉宗憲、O河島尚志。奈良昇之助、牛尾方信、五百井寛明、武隈孝治、星加明德。2009 年 9 月から 12 月までのインフルエンザ肺炎入院 29 症例の検討 第 24 回日本小児救急医学会(5.29.2010) 京都

4. 高野智子、木村貞美、清水真理子、野間治義、植田仁、楠本義雄、柏木保代、O河島尚志、田尻仁。新型インフルエンザウイルス肺炎における血清サイトカインの検討 第 24 回日本小児救急医学会(5.29.2010) 京都

5. 千代反田雅子、呉宗憲、O河島尚志、柏木保代、牛尾方信、五百井寛明、熊田篤、西亦繁雄、武隈孝治。サイトカイン動態から見た新型インフルエンザ (pandemic H1N12009)肺炎の検討

6. 牛尾方信、奈良昇之助、呉宗憲、五百井寛明、熊田篤、柏木保代、O河島尚志。武隈孝治、星加明德 2009、当院におけるインフルエンザ 2009/2010 シーズン入院症例のリスクファクターと呼吸機能の検討第 42 回日本小児感染症学会総会 (11,27-28,2010) 仙台

G.知的財産権の出願・登録状況
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

A/H1N1pdm 感染に伴ったインフルエンザ脳症の病理学的解析に関する研究

研究分担者：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）

研究協力者：佐多徹太郎、中島典子（国立感染症研究所感染病理部）

都築豊徳（名古屋第二赤十字病院）

研究要旨：インフルエンザ脳症はインフルエンザウイルス感染に伴い発症する脳症であり発症メカニズムはいまだ不明である。2009年メキシコを発端としたパンデミック H1N1 インフルエンザウイルスの世界的流行により本邦でも多数の感染者が発生し脳症例も報告された。本研究では、インフルエンザウイルス H1N1pdm 感染に伴った脳症例の病理学的解析を行った。

A. 研究目的

インフルエンザウイルス A/H1N1pdm の感染に伴って発症したインフルエンザ脳症について国内での死亡例の病理学的解析を行う事を目的とした。2009年～2010年にかけて国内で流行したインフルエンザウイルス A/H1N1pdm 感染による死者数は約 200 名である。そのうち約 10%にあたる 21 例の貴重な病理解剖検体が得られた。本研究においてそれらのうち特に脳症を発症していた 3 例についてその病態病理を理解する目的で病理学的解析を行った。

B. 研究方法

材料と方法：

インフルエンザウイルス A/H1N1pdm 感染が確認され死亡した患者の剖検材料について作製した組織標本を病理学的、免疫組織化学的に検討した。

病理学および免疫組織学的検索

剖検で得られた検体をいずれも 10%ホルマリン緩衝液による固定後、常法どおりパラフィン包埋切片を作製した。脱パラフィン後、一部はヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を実施した。また、ウイルス抗原を検出するために、抗インフルエンザ NPモノクローナル抗体をもちいた。脱パラフィンした切片を 0.025% トリプシンで 37°C 30 分間処理し、Labeled StreptAvidin-Biotin (LSAB) 法（ダコ LSAB キット、DakoCytomation）による免疫組織化学染色を行った。

電子顕微鏡学的検索

剖検で得られた組織のうち一部を電子顕微鏡学的検索を行った。電子顕微鏡用の肺材料は、約 1mm 角に細切し 2.5% グルタルアルデヒド 1% パラホルムアルデヒド混合リン酸緩衝液で 4°C 一晚浸漬固定後、0.01M リン酸緩衝液で洗浄、2% 四酸化オスミウムで再固定した。洗浄、脱水処理後、常法どおりエポキシ樹脂包埋超薄切片を

作製し、酢酸ウランー鉛染色を施した。

C. 研究結果

研究対象とした症例は2009年8月～2010年3月までの間にインフルエンザA/H1N1pdm感染が確認されて死亡した約200例のうち病理解剖が行われた21例を検索し臨床的にインフルエンザ脳症と診断された3例について解析を行った。脳症を発症した3症例の年齢は16歳（男性）、30歳（男性）、30歳（女性）といままで報告されているインフルエンザ脳症と比較して高い年齢であった。基礎疾患として気管支喘息（16歳男性、30歳女性）、慢性心不全、アルコール性肝障害、肥満（30歳男性）があった。16歳男性の症例はA型インフルエンザの診断後数時間後に腹痛、嘔吐、下痢、振戦が出現し救急車で搬送されるが搬送時に意識レベルがJCS-300であった。インフルエンザ脳症の疑いにて免疫グロブリン静脈内投与療法、ステロイドパルス療法が行われたが呼吸困難、血圧低下が出現し第4病日に死亡した。30歳女性の症例は発熱から二日後に40℃代に熱発、インフルエンザA陽性の診断される。手足のしびれ、呂律困難、歩行困難、不穏状態が出現し救急搬送となった。タミフル投与、ステロイドパルス療法、ヴェノグロブリン投与、低体温療法が行われたが効果無く死亡した。IL-6、IL-10が高値であった。30歳男性の症例の臨床経過は不明である。

「組織所見」

インフルエンザウイルスの感染部位を調べる目的で肺の組織を用いインフルエンザウイルス抗原をインフルエンザウイルスNP抗原のモノクローナル抗体を用いて免疫組織染色を行ったところ3症例とも気管支上皮にウイルス抗原が認められた（図1）。いずれの症例

においても剖検検体においては肺胞上皮へのインフルエンザウイルス感染は確認できなかった。

3例中2例において剖検時脳組織を用いた検索が可能であったがいずれの脳組織においてもウイルス抗原は見られなかった。

詳細な検索が可能であった16歳男性の症例について脳組織の組織学的検索を行った。脳は浮腫状で脳幹部から第四脳室にかけて出血が認められた。組織学的に血管周囲への血漿タンパク成分の漏出や血管周囲への出血が認められた（図2）。インフルエンザウイルスのNP抗原に対するモノクローナル抗体を用いた免疫組織染色ではいずれの脳組織でも陰性であり脳の細胞へのインフルエンザウイルス感染は認められなかった。脳組織を用いたGFAP染色ではアストログリアの突起の腫大と断裂像が認められた（図2）。

D. 考察

インフルエンザ脳症の発症にはインフルエンザウイルスの呼吸器への感染に関連した高サイトカイン血症の関連が示唆されている。今回我々は新型インフルエンザA/H1N1pdm感染に伴ったインフルエンザ脳症での死亡例の剖検検体を用い病理学的、免疫組織化学的に解析を行った。症例は新型インフルエンザによる死亡例の剖検21症例の内脳症と診断された3症例を対象とした。今回の対象症例の年齢は通常インフルエンザ脳症で後発年齢とされている年齢層より高かった。全例において上気道へのインフルエンザウイルスの感染は確認されたが、肺胞上皮への感染および脳組織への感染は認められなかった。脳の所見としては血管周囲の血漿成分の漏出、マイクログリアの胞体の腫大、アストログリアの突起崩壊等が認められウイルスの直接の感染を伴わない脳組織の障害

が確認された。

E. 結論

新型インフルエンザウイルス H1N1pdm09 感染関連インフルエンザ脳症例の剖検例について病理学的、免疫組織化学染色を用いて解析を行った。インフルエンザウイルス感染が中枢神経では見られず、上気道の上皮にのみに認められた。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ichinohe T, Ainai A, Ami Y, Nagata N, Iwata N, Kawaguchi A, Suzaki Y, Odagiri T, Tashiro M, Takahashi H, Strayer D, Carter W, Chiba J, Tamura S, Sata T, Kurata T, and Hasegawa H. Intranasal administration of adjuvant-combined vaccine protects monkeys from challenge with the highly pathogenic influenza A H5N1 virus **J Med Virol** 2010 Oct;82(10):1754-61.
 2. Kuroda M, Katano H, Nakajima N, Tobiume M, Ainai A, Sekizuka T, Hasegawa H, Tashiro M, Sasaki Y, Arakawa Y, Hata S, Watanabe M, Sata T. Characterization of quasispecies of pandemic 2009 influenza A virus (A/H1N1/2009) by de novo sequencing using a next-generation DNA sequencer. **PLoS One**. 2010 Apr 23;5(4):e10256.
 3. Yamazaki T, Nagashima M, Ninomiya D, Arai Y, Teshima Y, Fujimoto A, Ainai A, Hasegawa H, Chiba J. Passive Immune-Prophylaxis against Influenza Virus Infection by the Expression of Neutralizing Anti-Hemagglutinin Monoclonal Antibodies from Plasmids. **Jpn J Infect Dis**. 2011 Jan;64(1):40-9.
4. Ainai A, Tashiro M, Hasegawa H. Cross-protective immunity against influenza virus infections induced by intranasal vaccination together with a TLR3-mucosal adjuvant. **Hum Vaccin**. 2011 Jan 1;7. [Epub ahead of print]
- ##### 2. 学会発表
1. 長谷川秀樹、永田典代、岩田奈緒子、辻隆裕、佐多徹太郎 新型インフルエンザウイルス A/(H1N1)pdm のフェレットにおける病原性の検討 第 99 回日本病理学会総会 2010 年 4 月東京
 2. 中島典子、羽田悟、飛梅実、片野晴隆、永田典代、長谷川秀樹、岩田奈緒子、辻隆裕、渡辺正秀、佐多徹太郎 本邦初の新型インフルエンザウイルス (A/H1N1pdm) 肺炎の剖検例 第 99 回日本病理学会総会 2010 年 4 月東京
 3. 瀧山晃弘、王磊、谷野美智枝、木村太一、西原広史、川岸直樹、國枝保幸、片野晴隆、長谷川秀樹、高木知敬、佐多徹太郎、田中伸哉 新型インフルエンザ (A/H1N1pdm) 肺炎によるびまん性肺障害により急死した 1 剖検例 第 99 回日本病理学会総会 2010 年 4 月東京
 4. 岩田奈緒子、永田典代、辻隆裕、長谷川秀樹、佐藤由子、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 第 99 回日本病理学会総会 2010 年 4 月東京
 5. 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によるブースター効果と高病原性 H5N1 ウイルスの感染防御の検討 第 58 回日本ウイルス学会学術集会 2010 年 11 月徳島