

201028034A

平成 22 年度 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)

新型インフルエンザ H1N1 の病態把握と  
重症化の要因の解明に関する研究

総括・分担研究報告書

平成 23 年 4 月

研究代表者 小林 信之

## 目 次

### I. 総括研究報告

- 新型インフルエンザ H1N1 の病態把握と重症化の要因の解明に関する研究……………1  
小林 信之

### II. 分担研究報告

1. 新型インフルエンザH1N1病態及び重症化の要因の解明……………8  
工藤 宏一郎
2. 新型インフルエンザH1N1重症肺炎の治療研究……………14  
小林 信之  
泉 信有
3. 2010-2011年本邦におけるインフルエンザ流行と薬剤耐性……………17  
齋藤 玲子
4. 新型インフルエンザ流行時における抗インフルエンザウイルス薬の臨床効果に関する研究  
……………22  
河合 直樹
5. インフルエンザ心筋炎の全国臨床調査研究……………28  
浮村 聡

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表……………33

### IV. 研究成果の刊行物……………35

## 新型インフルエンザ H1N1 の病態把握と重症化の要因の解明に関する研究

研究代表者 小林 信之 国立国際医療研究センター呼吸器内科医長

### 研究要旨

新型インフルエンザ（H1N1pdm）は、基礎疾患を有する者を中心に重症例・死亡例が認められ、その適切な予防・治療法の確立が求められる。本研究の目的は、新型インフルエンザ重症例の病態把握、重症化要因の解明とともに、ウイルス遺伝子解析および薬剤耐性、抗ウイルス薬の有効性のモニタリングによる最新情報に基づいた新型インフルエンザの予防・治療・管理方法を確立することである。

新型インフルエンザの重症化要因に関しては、メキシコ国立呼吸器疾患センターにて H1N1pdm 感染が確認された 442 例（挿管を要した重症肺炎は 71 例）を対象として解析を行い、7つの因子（肺浸潤影、意識障害、異常呼吸音、挿管、チアノーゼ、呼吸困難、酸素飽和度）が重症化に関与する因子として検出された。剖検肺を検討した結果、重症肺病変の典型的な病理像は局所的な Diffuse Alveolar Damage、気管支炎/細気管支炎であり、他の所見として肺水腫、細菌性肺炎、真菌感染、肺水腫、微小血栓、器質化肺炎がみられた（工藤）。気管支喘息は新型インフルエンザ重症化因子の 1つと考えられる。国立国際医療研究センターに入院した新型インフルエンザ小児例の 60%に喘息症状の合併を認めたが、その半数以上は初発の喘息発作であり、これらの患児は何らかのアレルギー歴を有していた（小林、泉）。新型インフルエンザ心筋炎は全国から 16 例（平均 44 歳）が報告された。そのうちの 10 例は劇症型心筋炎であり、体外補助循環により 8 例が救命されたが 2 例は死亡した。心筋炎は、頻度は低いが重篤な合併症の 1つであり、早期診断・早期治療が必要と考えられた（浮村）。

毎年、抗インフルエンザ薬の臨床的有効性、薬剤耐性に関するモニタリングを実施している。2009/2010 年シーズンの H1N1pdm ではオセルタミビル投与後、解熱は速やかにみられたが、小児ではウイルス残存率が高かった。H275Y 変異は、オセルタミビル投与後の検体では 2.2%に認められた。2010/2011 年シーズンに全国多施設から入力されリアルタイム解析された A 型（主に H1N1pdm）に対する解熱時間は、オセルタミビル、ザナミビル、ラニナミビル、ペラミビルのいずれも 30 時間前後以下で有効性が高いことが確認された（河合）。2010-2011 年に日本各地から分離・収集された 787 件のインフルエンザでは A 型が 97.2%を占めていたが、関東以北は A/H3N2 が優勢、関西は新型 H1N1pdm が優勢で、九州はほぼ同数であり、地域によりサブタイプの差がみられた。初診時株の調査では新型インフルエンザに NA 遺伝子 H275Y 変異のオセルタミビル耐性株はみられなかった。ウイルス HA 遺伝子の解析からは、H1N1pdm は昨年流行した Clade 2 のウイルスであることが判明した（齋藤）。

### 研究分担者

工藤宏一郎 国立国際医療研究センター  
国際疾病センター長  
泉 信有 国立国際医療研究センター  
国際疾病センター特別疾病制圧班医長  
齋藤玲子 新潟大学大学院医歯学総合研究科  
国際感染症学講座公衆衛生分野  
河合直樹 日本臨床内科医会  
インフルエンザ研究班長  
浮村 聡 大阪医科大学内科学総合診療科  
教授

### A. 研究目的

新型インフルエンザ（H1N1pdm）は、大多数においては軽症ですむのに対し、基礎疾患を有する者を中心に重症例・死亡例が認められ、重症ウイルス性肺炎の本態は一部の病理学的検討によりびまん性肺胞障害であることが報告されている。本研究は、メキシコにおける重症肺炎の臨床および病理検討、わが国における呼吸器合併症、重症肺炎に対するエンドトキシン吸着療法、心筋炎の臨床疫学調査などの宿主側の原因追究と、ウイルス側の病原性観察（ウイルス変異や薬剤耐性化）

という基礎と臨床を結んだ研究であり、これらの研究を基盤として新型インフルエンザの重症化要因の究明とともに、薬剤耐性や有効性などの最新情報に基づいた新型インフルエンザの予防・治療・管理方法の確立を目的とする。

1) 新型インフルエンザ（パンデミック H1N1 2009）の発生国であるメキシコにおいて、新型インフルエンザ感染による重症肺炎の臨床及び病理検討を基盤として、新型インフルエンザの重症化の要因を究明する。今後のインフルエンザにおける重症肺炎の有効な治療方法の確立、治療マニュアルの作成へと結び付ける。

2) 新型インフルエンザ重症例の多くは重度のウイルス性肺炎を合併しており、重症化リスクファクターとして気管支喘息などの基礎疾患の存在が報告されている。重症化に関与する基礎疾患の中から気管支喘息を取り上げ、その合併の実態を解析するとともに、重症ウイルス性肺炎に対する新規治療法の有効性につき検討する。

3) 新型インフルエンザによる心筋炎は、致死的にもなりうる重要な合併症である。新型インフルエンザ心筋炎の症状、病態、合併率、重症度、致死率を明らかにし、早期診断の為の検査法について検討する。新型インフルエンザ心筋炎の治療法として IABP や PCPS などの補助循環、ノイラミニダーゼ阻害薬の有用性について検討する。

4) 2009/2010 年のパンデミック時における抗インフルエンザ薬治療後のウイルス残存率および投与前後のウイルス変異等を検討する。また 2010/2011 年のインフルエンザ流行期において、型・亜型別にオセルタミビル、ザナミビルと新たに使用が始まったラニナミビル、ペラミビルを加えた抗インフルエンザ薬の有効性を検討する。

5) 2009-2010 年には、新型インフルエンザのニューヨーク系の Clade 2 のウイルスが日本各地で流行したこと、NA 阻害剤に対して感受性株であったことを見いだした。2010-2011 年シーズンの本邦に於けるインフルエンザ流行状況、流行株の特徴と薬剤耐性の頻度について調査を行う。

## B. 研究方法

1) 新型インフルエンザ H1N1 病態及び重症化要因の解明（工藤）

わが国では症例数の少ない新型インフルエンザの重症・重篤・死亡例について、発生国であり初期には重篤・死亡例を多く経験したメキシコの高度医療研究機関である国立呼吸器疾患センターとの共同研究を実現した。新型インフルエンザ重症肺炎についての臨床疫学データを照らし合わせることにより、インフルエンザ肺炎の重症化因子について検討するとともに、重症・死亡例についての病理、病態学的な検討を行った。（倫理面への配慮）研究プロトコールは、国立国際医療研究センター及びメキシコ国立呼吸器疾患センターの倫理委員会の承認を得た。

2) 新型インフルエンザ H1N1 重症肺炎の治療研究（小林、泉）

2009/2010 シーズンに国立国際医療研究センターに新型インフルエンザで入院した小児患者 50 例において、その臨床像と気管支喘息の既往率、合併率をレトロスペクティブに検討した。新型インフルエンザ重症肺炎例に対する血中エンドトキシン吸着カラム（Polymyxin カラム-Direct hemoperfusion: PMX-DHP）を用いた血液浄化療法の効果に関する臨床研究を実施する。（倫理面への配慮）研究プロトコールは、国立国際医療研究センターの倫理委員会の承認を得た。

3) インフルエンザ心筋炎の全国臨床調査研究（浮村）

2009-2010 シーズンについての新型インフルエンザ心筋炎の後ろ向きの全国臨床観察研究を行った。2010-2011 シーズンについては引き続きインフルエンザ心筋炎の前向きの全国観察臨床研究を日本循環器学会が主導で行うこととし、そのプロトコールを作成しホームページに掲載、学会会員にニュースレターを用いて研究参加を呼び掛け、報告症例の解析を行う。（倫理面への配慮）後ろ向き研究では個人情報については特定できないように配慮した。前向き研究では各施設での倫理委員会の承認を得る。

4) 新型インフルエンザ流行時における抗インフルエンザウイルス薬の臨床効果に関する研究（河合）

2009/2010 年のパンデミック出現時のオセルタ

ミビル、ザナミビルの投与前および投与開始5 ± 1 病日に採取した鼻腔検体についてウイルス培養を行い、投与後のウイルス残存の有無を検討するとともに投与前後の H275Y 変異の有無、ならびにオセルタミビル投与例では薬剤感受性 (IC50) を検討した。2010/2011 年シーズンについては、ラニナミビル、ペラミビルを含めたノイラミニダーゼ阻害薬 4 剤の臨床的効果を主として解熱時間によりリアルタイムに解析し、速報データをまとめた。(倫理面への配慮) 被験者に対しては本研究の目的等を十分に説明し、文書または口頭で同意が得られた患者のみを対象とした。

#### 5) 2010-2011 年本邦におけるインフルエンザ流行と薬剤耐性 (齋藤)

2010 年 12 月—2011 年 3 月に、日本各地の 7 県 13 医療機関に受診した患者から鼻腔ぬぐい・鼻腔吸引液または鼻腔・咽頭ぬぐい液を採取し、新潟大学に輸送後、リアルタイム PCR を用いてインフルエンザの型・亜型を決定した。A 型インフルエンザ HA 遺伝子のシーケンスを行い、遺伝子バンク上に登録された株とあわせて遺伝子相同性を遺伝子解析ソフト MEGA で解析した。また、採取したウイルスについて、M2 阻害剤(アマンタジン)と NA 阻害剤 (オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、ラニナミビル) に対する耐性の頻度調査を行った。(倫理面への配慮) 検体採取と患者情報聴取にあたり、各医療機関にて患者に十分な説明を行い、新潟大学医学部倫理委員会にて承認を受けている。

### C. 研究結果

#### 1) 新型インフルエンザ H1N1 病態及び重症化要因の解明 (工藤)

2009 年 4 月—2011 年 1 月までにメキシコ国立呼吸器疾患センター (INER) にて H1N1pdm 感染を RT-PCR で確認された 442 例 (入院 241/442, 54.5%) を臨床疫学研究 (重症化因子の検討) の解析対象とした。そのうち、挿管を要した重症肺炎は 71 例であった。主成分分析により症状を要約 (社会経済因子、基礎疾患、年齢、性別で調整) した第一主成分において、因子負荷量の大きい症状を重症化因子とすると、7つの因子 (肺浸潤影、意識障害、異常呼吸音、挿管、チアノーゼ、呼吸

困難、酸素飽和度) が検出された。胸部 X 線画像では両側下肺野から上肺野に向けて広範囲に渡るコンソリデーションを呈していた。死亡例 6 例について剖検により肺病理を検討した結果、典型的な病理像は局所的 DAD (びまん性肺胞障害)、気管支炎/細気管支炎であり、その他の所見として、肺水腫、細菌性肺炎、真菌感染 (アスペルギルス)、肺水腫、微小血栓、BOOP 様肺炎がみられた。

#### 2) 新型インフルエンザ H1N1 重症肺炎の治療研究 (小林、泉)

国立国際医療研究センターに入院した AH1pdm 入院小児例 50 例のうち、喘息症状を呈したものが 30 例であり、うち 17 例 (34%) は喘息の既往がなく、気管支喘息の初発例であると考えられた。初発例 17 例のうち 12 例は何らかのアレルギー歴 (既往・家族歴) を有し、残り 5 例中 4 例では高 IgE 血症 (900-2000 U/L) が認められた。何らかのアレルギー素因をもつ者が、新型インフルエンザへの罹患により気管支喘息を発症するメカニズムの存在が示唆された。AH1pdm 重症ウイルス性肺炎に対する新規治療法に関する臨床試験プロトコール作成を完了し、当施設における倫理委員会承認を得た。

#### 3) インフルエンザ心筋炎の全国臨床調査研究 (浮村)

新型インフルエンザによる心筋炎は 16 例で、男性 10 例、女性 6 例平均年齢は 44 歳であった。成人の心筋炎 13 例中、基礎疾患を有する例が 7 例でそのうち 6 例が呼吸器疾患であった。心症状は多くの症例でインフルエンザ様症状 (発熱、咳、咽頭痛など) の発症後 3 日以内に出現した。13 例で心機能低下は急速に進行し、ショックに至ったものを 12 例認めた。心室細動が 4 例、完全房室ブロックが 3 例 (1 例は完全房室ブロックと心室細動を併発) など致命的不整脈を 6 例で認めた。血液検査では CPK、トロポニンなどの心筋逸脱酵素の上昇を認め、心臓超音波検査では心筋収縮力の低下を認めた。心筋生検を 9 例で剖検を 1 例で行い、7 例で組織学的に心筋細胞壊死、心筋細胞変性、炎症性細胞浸潤、間質浮腫、線維化などの所見を認めた。治療に関しては全例で抗インフルエンザ薬 (オセルタミビル) が早期に投与された。

16 例中 10 例が IABP や PCPS などの体外補助循環を必要とし、そのうち 8 例が救命、2 例が死亡した。小児 2 例ではステロイド投与およびγグロブリンの大量投与が行われ、2 例とも救命された。通常量のγグロブリンは成人の 3 例で使用され、γグロブリン使用例では死亡例は認めなかった。

#### 4) 新型インフルエンザ流行時における抗インフルエンザウイルス薬の臨床効果に関する研究 (河合)

2009/2010 年シーズンの H1N1pdm ではオセルタミビル投与後比較的速やかに解熱した。しかしオセルタミビル投与後のウイルス残存率は 23.9% であり、とくに 15 歳以下に多かったが、一方、ザナミビルの残存率も 22.2% とほぼ同程度であった。オセルタミビル投与後の H275Y 変異出現率は 2.2% (2/92)、15 歳以下の小児に限ると 6.7% (2/30) であった。2010/2011 年シーズン (2011 年 3 月 28 日時点) の解熱時間 (速報データ) は迅速診断 A 型ではオセルタミビル 30.5 時間、ザナミビル 26.4 時間、ペラミビル 18.4 時間、ラニナミビル 25.8 時間といずれのノイラミニダーゼ阻害薬も解熱時間が 30 時間前後以下と有効性が高く、PCR で H1N1pdm が確定した症例でもほぼ同様の結果がみられた。これに比し B 型ではオセルタミビル、ラニナミビルの有効性は若干低い可能性が示唆された。今後さらに引き続き A 亜型別や B 型例について詳細に検討する予定である。

#### 5) 2010-2011 年本邦におけるインフルエンザ流行と薬剤耐性 (齋藤)

2010-2011 年シーズンに日本各地から採取した咽頭ぬぐい液のうち、インフルエンザウイルス培養陽性は全体で 787 件であり、A/H1N1pdm は 41.9%、A/H3N2 は 55.3%、B 型は 22 件 2.8% であった (3 月 25 日の時点)。地域ごとの流行型には違いがあり、北海道、新潟、群馬では A/H3N2 が主流であり、京都、神戸、大阪などの関西地域は新型が主流であった。薬剤耐性については、A/H1N1pdm では、オセルタミビル耐性に相当する NA 遺伝子 275 位の変異 His→Tyr を持つ株は初診時株にはなかった。A/H3N2 は全てアマンタジン耐性であり、M2 蛋白 31 位に Ser→Asn の変異を持っていた。IC50 法による表現型の検査は検査の進行上一部の株

(H1N1pdm は 3 株、H3N2 は 18 株) のみ終了したが、H1N1pdm はオセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、ラニナミビルに対して 3 株とも全て感受性株であった。今後は、初診時の株の薬剤感受性検査をさらに進め、再診時に採取された株の検査も行う予定である。今シーズンに採取されたインフルエンザの HA 遺伝子解析を行ったところ、H1N1pdm は全て前年の 2009 年に日本で流行した Clade 2 のウイルスに属することが判明した。とくに時期的または地域的な集積は見られなかった。

#### D. 考察

##### 1) 新型インフルエンザ H1N1 の病態把握と重症化要因の解明

###### ① 重症肺炎の病理学的検討と重症化因子

わが国の新型インフルエンザ感染者は、累積入院患者数、死亡数とも他国と比して少なかった。新型インフルエンザでは、感染・発症者が若年層に偏り成人・年長者に比較的少ないのは何故なのか、重症例について国別に年齢の差異があるのは何故なのであろうか。死亡例は肺病変によることが多く、その病理像の特徴はウイルス感染による DAD (Diffuse Alveolar Damage) と細気管支炎であり、壊死性気管支炎、肺泡出血等の共通した病理所見のほか、基礎疾患の合併や細菌性感染も死因に寄与していることが報告されている。メキシコ国立呼吸器疾患センターの症例の病理検討からも、同様の所見を得ることが出来た。重症化の機序とその要因に関しては、生体側の反応、ウイルスの感染部位の差異が想定されているが、現時点では明確な解答はない。本研究期間の確定症例 442 例の内、重症化を表す因子は、肺浸潤影、意識障害、異常呼吸音、挿管、チアノーゼ、呼吸困難、酸素飽和度の 7 因子が検出され、それらを肺炎の重症度別に分けると、それぞれの因子は有意に異なることが明らかとなった。

###### ② 重症肺炎に対する新規治療法の開発

エンドトキシンに対して中和作用を有するポリミキシン B (PMX) を充填した PMX カラムを用いた血液浄化療法 (PMX-DHP 療法) は、敗血症性ショックにおける循環動態の改善や肺酸化能改善などの有用性が報告されており、その作用機序としてエンドトキシンのみならず炎症性メディ

エーターの抑制、活性化好中球を中心とした炎症細胞の吸着除去などが推定されている。また PMX-DHP 療法の肺病変に対する治療効果として、敗血症に起因する Acute Lung Injury: ALI/ Acute Respiratory Distress Syndrome: ARDS、さらには特発性肺線維症の急性増悪（病態は DAD）に対する有効性を示した報告が集積されつつある。われわれは鳥インフルエンザによる重症肺炎に対して PMX-DHP 療法を施行し、救命し得た症例を経験した。新型インフルエンザ重症肺炎の基本病態は ALI/ARDS、病理は DAD であり、重症肺炎が発生した場合には、速やかに同療法を導入し検討する予定である。

### ③ 重症化要因としての喘息の合併

小児における AH1pdm 入院症例（50 例）の 60% に喘息症状の合併を認め、喘息は新型インフルエンザ重症化因子の 1 つと考えられる。喘息症状を認めた患児の半数以上は喘息の既往がなく、今回の新型インフルエンザ感染が気管支喘息発症に関与している可能性が示された。その喘息発症リスクとして、患者における何らかのアレルギー歴の存在が考えられた。今後の追跡調査で、AH1pdm 罹患時にみられた喘息症状が遷延し、気管支喘息を発症したのかどうかの検討が必要となる。

### ④ 新型インフルエンザ心筋炎

季節性インフルエンザの心筋炎については、発生頻度は高くはないが重篤な合併症の 1 つとされている。本研究では 16 例の新型インフルエンザ心筋炎の検討を行い、そのうち 15 例の検討について英文誌に掲載されたが、これは現在のところ最大の報告症例数である。欧米からの心筋炎合併についての報告を含めてまとめると、新型インフルエンザでは季節性に比して心筋炎合併が高頻度である可能性が示唆される。心筋炎の発症機序に関しては、インフルエンザウイルスの心臓親和性が必ずしも高くないことから、新型インフルエンザ感染によって惹起されたサイトカインストームが心筋炎発症に重要な役割を果たしている可能性があるが、その点に関しては今後の検討が必要である。今回の新型インフルエンザ心筋炎の臨床像であるが、インフルエンザ様症状発症後 3 日以内に発症し急激に悪化している症例が多く臨床的に注意が必要である。診断においては心電図、心臓超音波検査、心筋逸脱酵素、とくに高感

度トロポニンの測定が有用である。これまでの劇症型心筋炎の観察研究の報告によれば、体外補助循環を要した患者 52 例で救命できたのは 30 例で生存率 57.7%であった。今回の研究では IABP や PCPS などの体外補助循環を要した重症患者 10 例中、8 例で救命できた。全例でノイラミニダーゼ阻害薬が投与されたことが、体外補助循環が必要な劇症型心筋炎症例の良好な生存率に寄与した可能性が考えられる。一方でノイラミニダーゼ阻害薬とプラセボを対照とした介入試験による有効性の検討は倫理上困難であり、抗インフルエンザ薬の心筋炎の有用性については動物実験等で検証する必要がある。また心筋炎の急性期に急速な循環動態の悪化を認める場合は補助循環の使用を躊躇すべきでなく、循環器専門病院への速やかな紹介が必要と考える。

## 2) ウイルス遺伝子解析および薬剤耐性、薬物治療効果のモニタリング

### ① 抗インフルエンザウイルス薬の臨床効果

われわれの 2008/2009 年シーズンの H275Y 変異によるオセルタミビル耐性 A ソ連型例の検討ではオセルタミビル投与後も特に小児で発熱が著明に遷延し、ウイルス残存率も小児では 46.2%と成人（10.5%）よりも有意に高かった。2009/2010 年シーズンの H1N1pdm では薬剤投与後の解熱時間がオセルタミビル、ザナミビルともに短く、ノイラミニダーゼ阻害薬の有効性が高いこと、オセルタミビル投与後もとくに小児でウイルス残存率が高いことを見いだした。これは新たに出現した H1N1pdm ウイルスに対して小児ではまだ免疫が十分に備わっておらずウイルスの排除機能が乏しいためと思われる。なお今回の H1N1pdm でも H275Y 変異例による  $IC_{50}$  の上昇は約 200 倍とオセルタミビル耐性ソ連型とほぼ同程度であった。オセルタミビル投与後の H275Y 変異の出現率（2.2%、小児では 6.7%）は Kiso らが報告した小児の H3N2 におけるオセルタミビル投与後のウイルス変異出現率（18%）よりは低かったが、オセルタミビル使用中の急速な H275Y 変異は最近海外からも重症肺炎例や免疫不全例で報告されている。今のところ、H1N1pdm の耐性化率は低く、耐性化による症状の重症化もみられていないが、今後の推移を注視する必要がある。また抗インフルエンザ薬の

ノイラミニダーゼ阻害薬として、従来のオセルタミビルやザナミビルに、さらに今シーズン新薬のラニナミビル、ペラミビルが加わったが、いずれの薬剤も2010/2011年シーズンは解熱時間が30時間前後と短く、有効性が高いことが確認された。このことから今のところ新たな耐性ウイルスが出現している可能性は低いと考えられた。今後遺伝子解析を含めた詳細な検討を予定している。

## ② ウイルス遺伝子解析と薬剤耐性

2009年のパンデミックの第一波が過ぎ、初めての次の冬を迎え、新型インフルエンザH1N1pdmによる大流行の再来や重症者の増加が懸念されたが、2010-2011年の流行規模は例年並みのようであった。流行した型の内訳は、われわれの調査ではA型が優位でありB型は少なかったが、全国的にはシーズン後半にB型がかなりの割合で流行した地域もある。特徴的なのは、関東以北と、関西、九州では亜型に違いがあったことである。北海道、新潟、群馬ではA/H3N2が優位であるのに対し、関西は流行の始めから新型インフルエンザが優位であり、1、2月になってA/H3N2が混じってきた。長崎は12月にはA/H3N2の流行で始まったが、1月を境に新型も流行し、最終的に割合は半々であった。薬剤耐性については、初診時に採取された新型インフルエンザからNA遺伝子H275Y変異株はみつからなかった。今回検査が終了したのは、初診時の株のみで、薬剤を投与後の再診時の株は現在検査中である。今季より日本ではこれまでのオセルタミビル、ザナミビルの2剤に加えて、ペラミビル、ラニナビルが保健適応となり4剤がインフルエンザについて使用可能となった。初期の数のウイルスについては、薬剤感受性検査を行ったところ、新型インフルエンザもA/H3N2も、4剤に対して感受性であったため、治療効果は良好であることが予想される。今後、ウイルスの感受性検査をさらに進めると共に、主に小児患者において薬剤による臨床経過の違いについて解析する予定である。

ウイルスHA遺伝子の解析からは、新型インフルエンザはClade 2に属し、昨年と比して少し変異はあるが、大幅に変わっているわけではない。新型インフルエンザのワクチン株はClade 1のA/California/07/2009であるが、今年採取されたClade 2のウイルスも抗原的にはカバーすると報

告されている。A/H3N2の日本のワクチン株として選ばれたのはA/Perth16系統の中のA/Victoria/210/2011であるが、今回の調査ではこの冬日本で流行したのも同じくA/Perth16系統であることが判明し、ワクチン株と一致していると考えられた。

## E. 結論

- 1) 新型インフルエンザの重症化をきたす要因の検討及び重症化の病態検討は、すべてのインフルエンザの重症肺炎についての有効的な治療法の検討に有用である。
- 2) 新型インフルエンザの重症化要因の1つとして喘息発作が重要であり、その感染が気管支喘息発症の原因となることが示唆された。
- 3) 新型インフルエンザ重症肺炎に対する新規治療法として血中エンドトキシン吸着カラムを用いた血液浄化療法(PMX-DHP療法)が有用である可能性がある。
- 4) 新型インフルエンザ心筋炎は全国から16例の患者が報告された。劇症型心筋炎のうち10例では体外補助循環を要し、8例で救命、2例は死亡した。心筋炎は、頻度は低いが重篤な合併症であり、早期診断、早期治療に努める必要がある。
- 5) 新型インフルエンザ感染では、とくに小児ではウイルス排泄が遷延し、ウイルス残存例では変異が起きる可能性が示唆された。2010/2011年シーズンは今のところ、いずれの抗インフルエンザ薬も有効性が高いと考えられた。
- 6) 2010-2011年シーズンのインフルエンザの流行とウイルス学的な特徴について報告した。現在まだ解析が終了しておらず、今後、ウイルス薬剤感受性や臨床的な特徴をさらに解析する予定である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- ① Suzuki Y, Saito R, Sato I, Zaraket H, Nishikawa M, Tamura T, Dapat C, Caperig-Dapat I, Baranovich T, Suzuki T, Suzuki H. Identification of oseltamivir resistance



among pandemic and seasonal influenza A (H1N1) viruses by an His275Tyr genotyping assay using the cycling probe method. J Clin Microbiol. 2011Jan;49(1):125-30.

- ② Kawai N, et al. Comparison of the clinical symptoms and the effectiveness of neuraminidase inhibitors for patients with pandemic influenza H1N1 2009 or seasonal H1N1 influenza in the 2007-2008 and 2008-2009 seasons. J Infect Chemother. 2010 Dec 1.
- ③ Ukimura A, Izumi T, Matsumori A. A national survey on myocarditis associated with the 2009 influenza A (H1N1) pandemic in Japan. Circ J. 74(10):2193-2110, 2010.
- ④ 河合直樹, 前田哲也, 松浦伸郎, 山内知, 田中治, 岩城紀男, 池松秀之, 西村美香, 柏木征三郎. 新型インフルエンザ H1N1 の症状と治療. インフルエンザ 11:253-258, 2010.
- ⑤ 河合直樹, ほか. インフルエンザ診療マニュアル (2010-2011年版). 柏木征三郎ほか監修. 一般社団法人日本臨床内科医会・インフルエンザ研究班. 2010年10月25日発行.
- ⑥ 河合直樹, ほか. 新型インフルエンザ AH1N1 の治療-成人. 臨床と研究 87:1683-1686, 2010.
- ⑦ 浮村 聡, 神崎裕美子, 出口寛文. インフルエンザ A(H1N1) 心筋炎. 総合臨床. 59(8):1776-1781, 2010.
- ⑧ 浮村 聡, 神崎裕美子. 心疾患とインフルエンザ. ハートナーシング. 23(10):92-94, 2010.

## 2. 学会発表

- ① Ukimura A. Myocarditis Associated with Influenza A(H1N1)pdm in Japan: Featured research Session, The 75<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society, Mar. 18-20, 2011, Yokohama.
- ② 河合直樹, ほか. インフルエンザ A(H1N1) ウイルス感染症の臨床的検討-新型、ソ連型 (オセルタミビル非耐性、耐性) の比較. 第84回日本感染症学会学術講演会. 京都, 2010年4月.
- ③ 河合直樹. 新型インフルエンザの流行状況とワクチン、ノイラミニダーゼ阻害薬の有用性について. 第24回日本臨床内科医学会. シンポジウム「日臨内インフルエンザ研究 2009-10 の成

果」. 金沢. 2010.

- ④ 河合直樹. ITを活用したインフルエンザ調査研究-岐阜県リアルタイムサーベイランスと日本臨床内科医会インフルエンザ研究-. シンポジウム「2009年H1N1対策~インフルエンザ対策 2009年4月からの総括」. 第26回日本環境感染学会総会シンポジウム. 横浜, 2011年2月.
- ⑤ 泉 信有, ほか. 新型インフルエンザの重症化機構 (基礎疾患との関係) シンポジウム8 新型インフルエンザと喘息について多面的に考える. 第60回日本アレルギー学会 秋季学術大会. 2010年11月.

## 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

## 新型インフルエンザH1N1 病態及び重症化要因の解明

研究分担者 工藤 宏一郎 国立国際医療研究センター 国際疾病センター長  
研究協力者 高崎 仁 国立国際医療研究センター 国際疾病センター/呼吸器内科  
間辺 利江 国立国際医療研究センター 国際疾病センター  
Anjarath Lorena Higuera Iglesias National Institute of Respiratory Diseases  
María Eugenia Vázquez Manríquez National Institute of Respiratory Diseases

### 研究要旨

2009年メキシコで発生した新型インフルエンザ（Pandemic H1N1 2009）について、これまでの諸外国から、ウイルス感染を受けた大多数においては、一過性・軽症で済むのに対し、感染者のうち基礎疾患を有する者を中心として重症例が認められ、わが国においても同様の傾向が認められた。本研究では、発生国メキシコにおける重症肺炎の臨床および病理検討を基盤として、新型インフルエンザの重症化要因を究明し、今後のわが国における新型インフルエンザの臨床対応、重症肺炎に対する有効な治療方法の確立に結ぶことを目的とする。

### A. 研究目的

メキシコで発生した新型インフルエンザ（パンデミック H1N1 2009）は全世界に感染が拡大し、地球レベルで甚大な人的被害を出すこととなった。わが国の H1N1 新型インフルエンザの国内第一波では大部分の症例は比較的軽症で、抗インフルエンザ薬の効果も高いなど、H21 年度の研究（厚労科研特別研究・H21-特別-指定-002 主任・工藤宏一郎）で報告した。一方、重症・重篤例については世界の国々と比較するとわが国は低率であるものの、高齢者や基礎疾患のある者を中心に、死亡例も報告されている。前述の研究班で、今後数年間は H1N1pdm が主流株として流行し、第一派で罹患しなかった人々が感染を起こすことも報告したことから、今後、重症・重篤・死亡例と合併症との関係やその病態解明、予防や有効な治療法の確立は必須である。本研究では、発生国メキシコにおける新型インフルエンザ感染による重症肺炎の臨床及び病理検討を基盤として、新型インフルエンザの重症化の要因を究明する。それにより、今後のインフルエンザにおける重症肺炎の有効な治療方法の確立、治療マニュアルの作成へと結び付けることを目的とする。

### B. 研究方法

わが国では症例数の少ない重症・重篤・死亡

例について、発生国であり初期には重篤・死亡例を多く経験したメキシコの高度医療研究機関である国立呼吸器疾患センターとの共同研究を実現し、数多くの重症・重篤例等の病理学的検討を行うと共に、重症例についての臨床疫学データを照らし合わせることによりインフルエンザ重症肺炎の要因を検討した。更に、病理検討を行い、重症・死亡例についての病理、病態を検討した。

○臨床疫学研究（重症化因子の検討）についての研究デザイン

- ・ 後ろ向き研究
- ・ 研究サブジェクト  
メキシコ国立呼吸器疾患センターにて H1N1pdm 感染を RT-PCR で確認された 442 例（入院 241/442, 54.5%）
- ・ 研究期間：2009 年 4 月 1 日～2011 年 1 月 31 日
- ・ 肺炎の重症度の定義  
重症肺炎：  
胸部 X 線にて肺炎像＋挿管  
軽症～中等度肺炎：  
胸部 X 線にて肺炎像  
上気道感染：  
胸部 X 線にて肺炎像なし
- ・ 社会経済レベル分類：日給による  
レベル 0：\$5 以下

- レベル 1 : \$6 - \$10
- レベル 2 : \$11 - \$15
- レベル 3 : \$16 - \$25
- レベル 4 : \$26 - \$40
- レベル 5 : \$40 より上

● 基礎疾患

- 肥満
- 糖尿病
- 高血圧
- 慢性心疾患
- 喘息
- COPD
- 他の呼吸器疾患
- 免疫不全
- ステロイド療法
- 喫煙
- アルコール依存症
- 薬物依存症

(倫理面への配慮)

研究プロトコールは、それぞれ国立国際医療研究センター及びメキシコ国立呼吸器疾患病院の倫理委員会の承認を得た。入院患者においては書面にて、外来患者からは電話調査によって、インフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

I. 重症化因子検討の為の臨床疫学研究

1) 研究対象者の背景 (n=422)

• 年齢分布:

中央値 36 歳 (範囲, 4 か月 - 85 歳)

<18 歳 75 (17%)

18-50 歳 292 (66.1%)

• 死亡例数: 24 例

• 性別: 男性 249 (56.3%), 女性 193 (43.7%)

社会経済レベル	0	42 ( 9.5 )
	1	61 ( 13.8 )
	2	296 ( 67.0 )
	3	30 ( 6.8 )
	4	8 ( 1.8 )
	5	5 ( 1.1 )
基礎疾患等		
糖尿病	有	25 ( 5.7 )
喫煙	有	135 ( 30.5 )
高血圧	有	38 ( 8.6 )
肥満	有	54 ( 12.2 )

自己免疫疾患	有	1 ( 0.2 )
慢性心不全	有	3 ( 0.7 )
気道病変	有	1 ( 0.2 )
喘息	有	42 ( 9.5 )
COPD	有	3 ( 0.7 )
脳血管障害	有	2 ( 0.5 )
免疫抑制	有	6 ( 1.4 )
ステロイド	有	5 ( 1.1 )
化学療法	有	26 ( 5.9 )
アルコール依存	有	49 ( 11.1 )
薬物依存	有	7 ( 1.6 )
ワクチン接種歴	有	11 ( 2.5 )

2) 重症化に寄与する有意症状因子 (重症化症状因子)

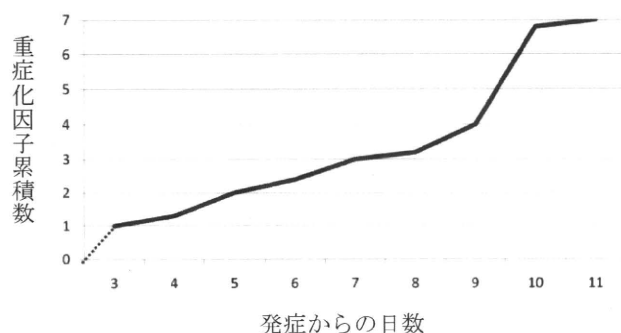
主成分分析により症状を要約 (社会経済因子、基礎疾患、年齢、性別で調整) した第一主成分において、因子負荷量の大きい (約 0.7) の 7 症状を重症化因子とすると下記 7 つの症状であった。

- ① 肺浸潤影
- ② 意識障害
- ③ 異常呼吸音
- ④ 挿管
- ⑤ チアノーゼ
- ⑥ 呼吸困難
- ⑦ 酸素飽和度

症状	係数	因子負荷量
意識障害	0.3269	0.7794
異常呼吸音	0.2991	0.7131
咯血	0.0830	0.1979
咯痰	0.0260	0.0621
肺浸潤影	0.3425	0.8167
気胸	0.0146	0.0349
胸膜炎	0.0291	0.0693
挿管の有無	0.2834	0.6758
酸素飽和度	-0.2521	-0.6057
発熱	-0.0022	-0.0052
嘔気	0.0235	0.0559
嘔吐	0.0351	0.0837
下痢	0.0410	0.0977
筋痛	-0.0379	-0.0903
脱力	0.1807	0.4308
咳	0.0215	0.0512

痰の増加	0.1514	0.3610
膿性痰	0.1136	0.2710
鼻汁	-0.0518	-0.1236
関節痛	-0.0320	-0.0763
悪寒	0.0160	0.0381
鼻充血	-0.1535	-0.3659
咽頭痛	-0.1424	-0.3395
腹痛	0.0197	0.0470
胸痛	0.1416	0.3376
呼吸困難	0.2790	0.6654
チアノーゼ	0.2887	0.6884

### 3) 重症化因子と発症からの日数の関係



### 4) メキシコ国立呼吸器疾患センター 患者 442 例の呼吸器重症度別にみた重症化因子との関係

Factor #	上気道感染のみ n=180 (%)	肺炎(軽～中等症) n=191 (%)	重症肺炎(死亡を含む) n=71 (%)	P 値
1 肺浸潤影有	0 (0)	191 (100)	71 (100)	***
2 意識障害有	5 (2.7)	26 (13.6)	71 (100)	***
3 異常呼吸音有	14 (7.7)	165 (86.4)	51 (71.8)	**
4 挿管有	0 (0)	0 (0)	71 (100)	***
5 チアノーゼ有	0 (0)	3 (1.6)	70 (98.6)	***
6 呼吸困難有	30 (16.7)	113 (59.1)	70 (98.6)	***
7 酸素飽度% median (range)	94 (83-98)	88 (58-98)	85 (33-98)	***

\* <0.05、\*\* <0.01、\*\*\* <0.001

## II. 肺病理の検討

メキシコ国立呼吸器疾患センターにおける死亡例6例(表1)について、胸部X線画像(図

1)、肺病理(図2)を検討したところ、結果概要は下記の通りである。

### 1) 胸部X線画像(死亡の近時期)

総じて全6症例において、両側下肺野から上肺野に向けて広範囲に渡る consolidation 像を呈している。

全肺野に渡ると言っても良い程の肺炎像を示している。

### 2) 6例に認められた典型的な病理像を下記に示す。

- ① 気管支炎/細気管支炎
- ② 局所的 DAD (びまん性肺胞障害)
- ③ 他
  - 肺水腫
  - 細菌性肺炎、真菌感染(アスペルギルス)
  - 肺出血
  - 微小血栓
  - BOOP 様肺炎など

## D. 考察

わが国の新型インフルエンザ感染者は、累積入院患者数 17,646 人、死亡 198 例<sup>1)</sup>(2010 年 3 月末現在)で、幸いにして他国と比して圧倒的に死亡例数は少なかった。

新型インフルエンザであるにも関わらず、感染・発症者が若年層に偏り成人・年長者に比較的少ないのは何故なのか、重症例について国別に年齢の差異があるのはなぜなのか。

インフルエンザは、本質的には気道系(鼻腔・咽頭・気管支等の上気道と気管支/細気管支の下気道)と肺実質へのウイルス感染症である。高熱・関節痛・脳症等の全身症状は、ウイルスが全身にまわるのではなく、呼吸器系臓器への感染によって誘発産生されるサイトカイン等の炎症性物質によるものとされている。新型インフルエンザの大多数の患者は、上気道系への感染症であり、一過性(軽症)・無症性に経過する。なお軽症といっても、発熱、咳嗽、咽頭痛、鼻汁・鼻閉などの臨床症状を呈し、罹患・発病者にとって苦痛なもので、一過性とは1~2週間で治癒し、入院治療を必要としない程度のものである。

重症例について、メキシコの重症例の報告<sup>2)</sup>によると、病態は重症肺炎あるいはARDSで、病理像の特徴はウイルス感染によるDAD(Diffuse

Alveolar Damage) と細気管支炎であることが示されている。ブラジル、アメリカからの病理の報告で、それぞれの国の死亡例 21 例、100 例の剖検肺の所見の研究であるが、いずれもインフルエンザウイルス感染による DAD や壊死性気管支炎、肺泡出血等の共通した病理所見である<sup>3, 4)</sup>。また、基礎疾患の合併や細菌性感染(肺炎)も死因に寄与していることも報告されている<sup>5)</sup>。我々のメキシコ国立呼吸器疾患センターの症例の病理検討からも、同様の所見を得ることが出来た。

基礎疾患を有さずとも、急激に重症肺炎に至る例が存在することも示されており、重症化因子は同定出来ないとする考えも強い。なぜ重症化する例と軽症の上気道感染症として終息する例(圧倒的に多い)に別れるのか、生体側の反応、ウイルスの感染部位の差異が想定されているが、現時点では明確な解答はない。INER は新型インフルエンザ発生初期の段階(2009 年 3 月)から本症例の患者の診療にあたっており、2010 年 3 月末までに 1850 例の疑い例を扱った。本研究期間の確定症例 442 例の内、重症化を表す因子は、肺浸潤影、意識障害、異常呼吸音、挿管、チアノーゼ、呼吸困難、酸素飽和度の 7 因子を割り出し、それらを肺炎の重症度別に分けると、それぞれの因子は有意に異なることが分かった。

#### E. 結論

新型インフルエンザの重症化を表す要因の検討及び重症化の病態検討は、すべてのインフルエンザの重症肺炎についての有効的な治療法の検討に有用である。今後の更なる研究の継続が必要と思われる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

これまでの検討の詳細を学会発表予定

#### G. 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

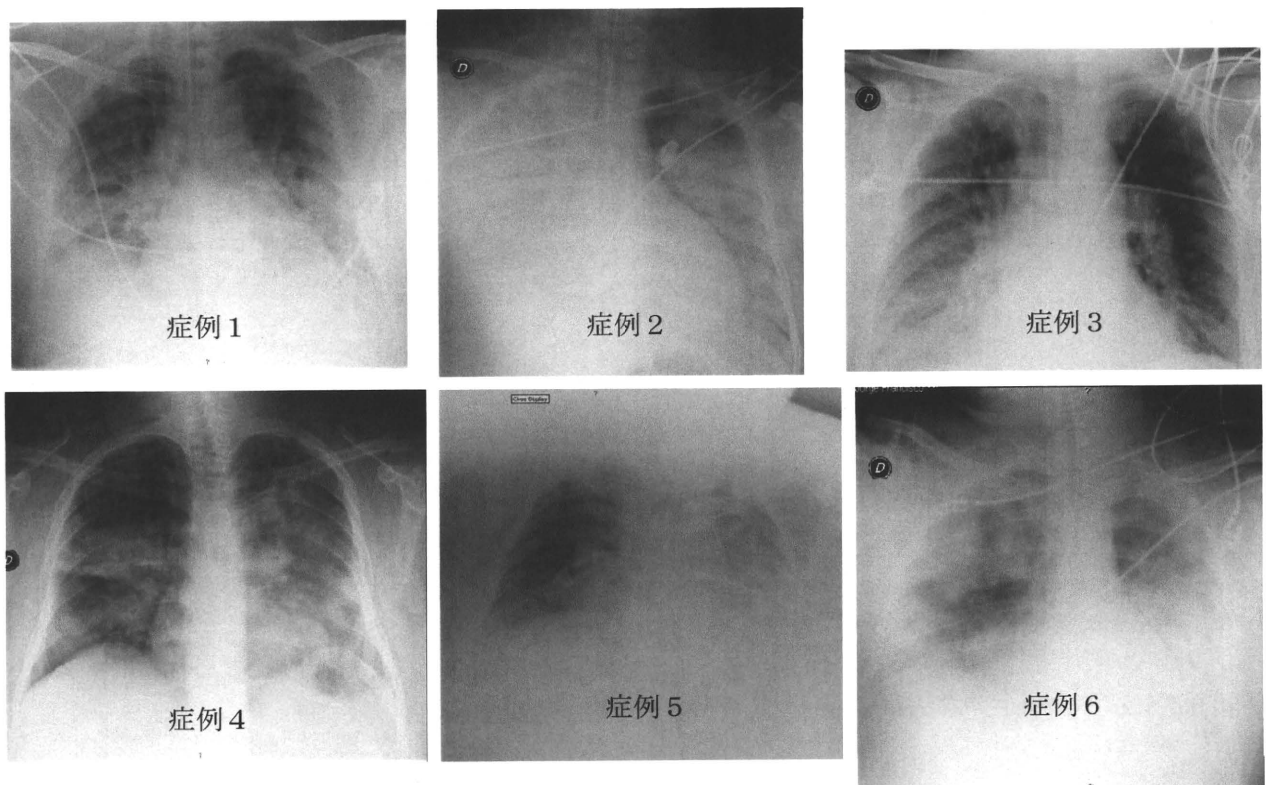
#### 参考文献

- 1) 厚生労働省. 日本におけるインフルエンザ A (H1N1) の死亡者の年齢別内訳/死亡例まとめ. [online] Available at <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou04/rireki/index.html>
- 2) Perez-Padilla R, de la Rosa-Zamboni D, Ponce de Leon S, Hernandez M, Quiñones-Falconi F, Bautista E, Ramirez-Venegas A, Rojas-Serrano J, Ormsby CE, Corrales A, Higuera A, Mondragon E, Cordova-Villalobos JA. Pneumonia and Respiratory Failure from Swine-Origin Influenza A(H1N1) in Mexico. *N Engl J Med* 2009; 361:680-9.
- 3) Mauad T, Hajjar LA, Callegari GD, Silva LFF, et al. Lung Pathology in Fatal Novel Human Influenza A(H1N1) Infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181:72-79.
- 4) Shien W-J, Blau DM, Denison AM, Deleon-Carnes M, et al. 2009 Pandemic Influenza A(H1N1) Pathology and Pathogenesis of 100 Fatal Cases in the United States. *AJP* 2010; 177(1):166-75.
- 5) Writing Committee of the WHO Consultation on Clinical Aspects of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza. Clinical Aspects of Pandemic 2009 Influenza A(H1N1) Virus Infection. *N. Eng. J. Med* 2009; 362:1708-19.

表 1 : メキシコ国立呼吸器疾患センター 病理症例

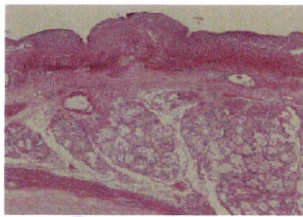
年齢	性	基礎疾患	予防接種歴	発症→受診まで (日)	発症→治療開始 (日)	入院→死亡 (日)	発症→死亡 (日)	オセルタミビル 150mg	ステロイド (mPSL)	細菌感染合併	気管内挿管・人工呼吸器管理	その他	
1	38	男	アルコール依存	あり	15	15	1	16	(+)	(-)	不詳	(+)	
2	43	女	糖尿病 高度の肥満	なし	9	10	20	29	(+)	60mg	P. aeruginosa	(+)	持続 腹膜透 析
3	47	男	アルコール依存 コカイン中毒 有機溶剤中毒	あり	15	15	2	17	(+)	(-)	不詳	(+)	
4	43	男	アルコール依存 マリファナ	なし	4	10	9	13	(+)	1g X 3 days 60mg	(-)	(+)	
5	81	男	COPD 糖尿病 慢性心不全	なし	8	0	2	10	(-)	(-)	S. pyogenes	(+)	
6	37	男	肥満	なし	4	4	5	9	倍量 (300mg)	80 mg	(-)	(+)	

図 1 : 胸部 X 線画像 (死亡の近時期)



総じて全 6 症例において、両側下肺野から上肺野に向けて広範囲に渡る consolidation 像を呈している。全肺野に渡ると言って良い程の肺炎像を示している。

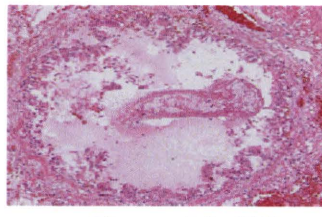
図 2 : 6 例に認められた典型的な病理像



**Bronchitis**

気管支炎

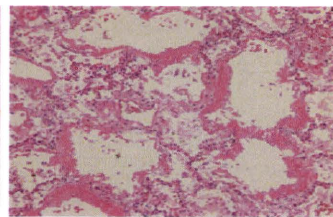
壊死性気管肺炎と呼ばれる程、激しい気管支粘膜、気管支下組織の激しい炎症像を呈す



**Bronchiolitis**

細気管支炎

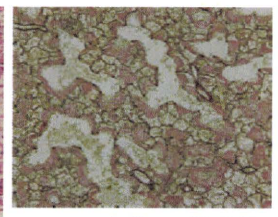
細気管支の横断面  
気管支粘膜、内腔の強度の炎症像を示す



**DAD**

びまん性肺胞障害

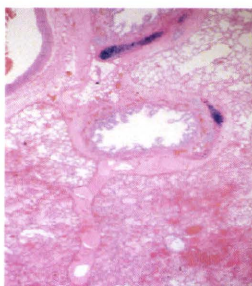
肺胞管・囊内壁に硝子膜の形成されている



**organizing DAD**

器質化 DAD

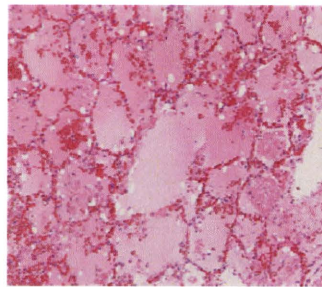
硝子膜の繊維化が進行している



**Interstitial edema**

間質性浮腫

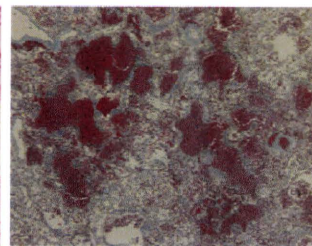
小葉隔壁の著明な浮腫を来している。



**Alveolar edema**

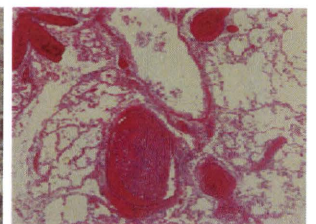
肺胞浮腫

肺胞内の著明な浮腫



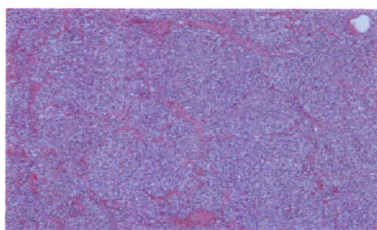
**Alveolar bleeding**

肺胞性出血



**microthrombi**

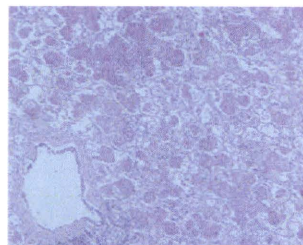
微小血栓



**bacterial pneumonia**

細菌性肺炎

肺胞内を埋める多核白血球の侵潤像



**BOOP-like pneumonia**

BOOP (COP) 様肺炎

肺胞内に肉芽腫様病変の形成

### 新型インフルエンザH1N1重症肺炎の治療研究

研究分担者 小林 信之 国立国際医療研究センター 呼吸器内科医長  
研究分担者 泉 信有 国立国際医療研究センター 国際疾病センター特別疾病制圧班医長  
研究協力者 工藤 宏一郎 国立国際医療研究センター 国際疾病センター長  
高崎 仁 国立国際医療研究センター 国際疾病センター/呼吸器科  
間辺 利江 国立国際医療研究センター 国際疾病センター  
松下 竹次 国立国際医療研究センター 小児科医長  
瓜生 英子 国立国際医療研究センター 小児科

#### 研究要旨

2009年に発生した新型インフルエンザ（パンデミック（H1N1）2009：AH1pdm）は全世界で大流行し、多数の重症者・死亡者を出した。重症例ではそのほとんどが重度のウイルス性肺炎を合併しており、重症化リスクファクターとして気管支喘息などの基礎疾患の存在が報告されている。本研究では、1) 重症化に関与する基礎疾患の中から気管支喘息を取り上げ、喘息とAH1pdmの合併の実態を解析するとともに、2) AH1pdm感染に伴う重症ウイルス性肺炎に対する新規治療法の有効性につき検討した。1)については2009/2010シーズンに国立国際医療研究センターにAH1pdmで入院した小児50例につき後方視的に解析。入院例の34%に喘息症状の初発があり、インフルエンザウイルス感染が喘息発症のリスクである可能性が示唆された。2)については、ポリミキシンB固層化カラムを用いた血液浄化療法の有効性に関する臨床試験を予定しており、同試験の倫理承認を得た。

#### A. 研究目的

2009年に発生した新型インフルエンザ（パンデミック（H1N1）2009：AH1pdm）は全世界で大流行し、多数の重症者・死亡者を出した。重症例ではそのほとんどが重度のウイルス性肺炎を合併しており、その病勢が治療後に大きく影響していると考えられ、治療方法の開発が急務である。一方、AH1pdmの重症化リスクファクターとして、高齢者、乳幼児、妊産婦などに加え、慢性心疾患、糖尿病、慢性呼吸器疾患などの基礎疾患の存在が報告されている。AH1pdm感染におけるこれらリスクファクターの関与の解析は、AH1pdm感染症重症化メカニズムの解明に繋がると考えられる。

##### 1) AH1pdm感染症と気管支喘息

重症化リスクファクターの中から慢性呼吸器疾患、特に気管支喘息に注目し、AH1pdm感染との合併の実態を解析する。

##### 2) AH1pdm重症ウイルス性肺炎に対する新規治療法の開発

重症ウイルス性肺炎に対する血液浄化療法の有用性を検討する。

#### B. 研究方法

##### 1) AH1pdm感染症と気管支喘息

2009/2010シーズンに当センターにAH1pdmで入院した小児患者50例において、その臨床病像と、気管支喘息の既往率、合併率をレトロスペクティブに検討した。

##### 2) AH1pdm重症ウイルス性肺炎に対する新規治療法の開発

AH1pdm重症肺炎例に対する血中エンドトキシン吸着カラム（Polymyxinカラム-Direct hemoperfusion療法：PMX-DHP療法）を用いた血液浄化療法の効果に関する臨床研究を実施する。

以下の(1)～(4)項の全てを満たしたものを研究対象とする。

(1) インフルエンザウイルス感染の確診例  
確診基準：患者から得られた検体（気道分泌物、血液など）のいずれかが、PCR法または迅速診断キット法にて陽性のもの

(2) 肺炎がある症例

A) X線フィルム上で異常陰影を認める  
(経過中に新たに出現したものでも可)

B) 呼吸状態の条件：PaO<sub>2</sub>/FIO<sub>2</sub>比 80-300



- (3) 発病第1病日～第5病日の症例
- (4) 患者もしくは代諾者から同意が得られた症例

以上の4項を満たす患者に対し、速やかにPMX-DHP療法を併用してその臨床効果を検討する。観察の期間は30日間とし、その期間における各種メディエーター、血清マーカー、動脈血中酸素分圧の改善の程度、重症度スコア(APACHEスコア、SOFAスコア)など、急性呼吸不全に関わる様々な客観的データを収集する。

(倫理面への配慮)

研究の目的、方法、研究参加により受けると予想される利益、同意しない場合でも不利益のないこと、同意後いつでも研究参加の意志を撤回できること、個人情報保護、および人権保護に関する必要事項について書面と口頭で説明した後、患者もしくは代諾者から署名入りの同意書を得る。

### C. 研究結果

#### 1) AH1pdm感染症と気管支喘息

国立国際医療研究センターに入院したAH1pdm入院小児例は50例(男児27例、女児23例)であった。年齢は平均6.3歳(0.1～14.5歳)、発症から受診までの日数は、中央値で2日(1～9日)、入院期間は、中央値で6日(2～17日)であった。喘息症状を呈したものが30例であり、うち17例は喘息の既往がなく、気管支喘息の初発例であると考えられた(図1)。初発例17例のうち12例は何らかのアレルギー歴(既往・家族歴)を有し、残り5例中4例では高IgE血症

(900-2000 U/L)が認められた(図2)。何らかのアレルギー素因をもつ者が、新型インフルエンザへの罹患により気管支喘息を発症するメカニズムの存在が示唆された。

#### 2) AH1pdm重症ウイルス性肺炎に対する新規治療法の開発

臨床試験プロトコール作成を完了し、当施設における倫理委員会承認を得た。

### D. 考察

小児におけるAH1pdm入院症例(50例)の60%に気管支喘息の合併を認めた。そのうち喘息の既往があったものは14例(28.0%)であり、本

邦の喘息有病率(5-7%)を明らかに上回っていた。喘息既往がある患者は、インフルエンザに罹患しやすい可能性が示唆された。また喘息既往のない36例のうち17例(全体の34%)に喘息症状を認めた。インフルエンザ感染というcommonな気道ウイルス感染症が、慢性気道疾患である気管支喘息発症に関与している可能性が示唆された。その喘息発症リスクとして、患者における何らかのアレルギー歴の存在が考えられた。今後の追跡調査で、AH1pdm罹患時にみられた喘息症状が、慢性気道疾患として患者に定着しているかどうか、すなわち本当に気管支喘息を発症したのかどうかの検討が必要となる。

AH1pdm重症例に発生する重症肺炎の臨床病態は、急性の全身性炎症反応(Systemic Inflammatory Response Syndrome: SIRS)と、これに関連した急性肺損傷(Acute Lung Injury: ALI)または急性呼吸窮迫症候群(Acute Respiratory Distress Syndrome: ARDS)であり、致死率が極めて高い。このALI/ARDSという急性肺障害病態の肺病理組織像は、diffuse alveolar damage (DAD)と呼ばれるびまん性肺胞傷害であり、臨床的には急速な呼吸不全を呈する難治性の肺病変で致死率が極めて高く、未だ有効な治療法は確立されていない。AH1pdm重症肺炎のほとんど(70%強)は原発性ウイルス性肺炎であると報告されており、その病理組織像はやはりDADである。すなわちDAD病態に対する新規治療の開発が待たれる。

ポリミキシンB(以下PMX)はエンドトキシンに対して中和作用を有することが知られているが、PMXをポリスチレン系不溶担体に化学的に固定した線維をカラム内に充填したPMXカラムは、本邦にて開発された医療器具で、エンドトキシンショックを伴う敗血症に対し1994年より保険適応となっている。これを用いたPMX-DHP療法は、敗血症の患者の血液を血液透析と同様の方法にて体外循環させ、PMXカラムを通過させることで血液中よりエンドトキシンを除去する治療法である。このPMX-DHP療法は、これまで敗血症性ショックにおける循環動態の改善(収縮期血圧上昇、尿量増加)や肺酸素化能改善などの有用性が報告されており、その作用機序としてエンドトキシンのみならず炎症性メディエーターの抑制、活性化好中球を中心とした

炎症細胞の吸着除去などが推定されている。また PMX-DHP 療法の肺病変に対する治療効果として、敗血症に起因する ALI/ARDS、さらには特発性肺線維症 (Idiopathic pulmonary fibrosis: IPF) の急性増悪に対する有効性を示した報告が集積されつつある。IPF の急性増悪の肺組織所見も ALI/ARDS と同様に DAD で、両者の病態の類似性が指摘されており、これら DAD 病変に対する PMX-DHP 療法の有効性が示唆される。AH1pdm 重症肺炎例が発生した場合には、速やかに同療法が導入される予定である。

E. 結論

AH1pdm が気管支喘息と強く関連しており、喘息発症要因となっている可能性がある。AH1pdm 重症肺炎に対する新規治療法として血中エンドトキシン吸着カラムを用いた血液浄化療法 (PMX-DHP 療法) が有用である可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

泉 信有 ほか. 新型インフルエンザの重症化機構 (基礎疾患との関係) シンポジウム 新型インフルエンザと喘息について多面的に考える. 第 60 回日本アレルギー学会 秋季学術大会. 東京、2010 年 11 月.

G. 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

図 1: 小児 AH1pdm 入院例における喘息症状の有無と喘息の既往

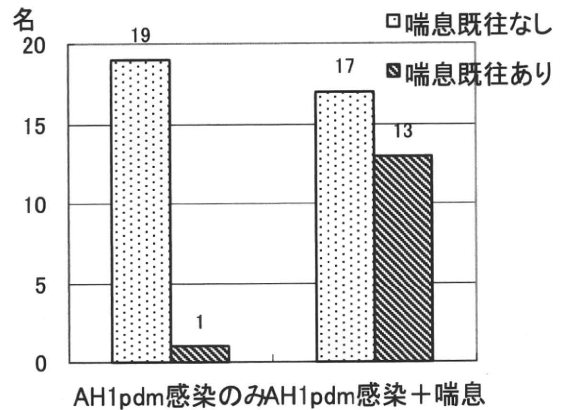
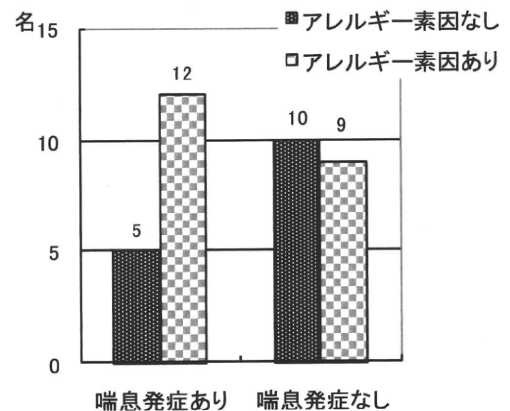


図 2: 喘息既往のない患児における喘息発症の有無とアレルギー素因の関係



## 2010-2011 年本邦におけるインフルエンザ流行と薬剤耐性

研究分担者 齋藤 玲子 新潟大学大学院医歯学総合研究科国際感染医学講座公衆衛生分野  
研究協力者 鈴木 康司 新潟大学大学院医歯学総合研究科国際感染医学講座公衆衛生分野  
クライド・ダバット (同上)  
イゾルデ・ダバット (同上)  
近藤 大貴 (同上)  
鈴木 宏 新潟青陵大学  
日本サーベイランスグループ\*

### 研究要旨

我々は、日本各地の臨床医と協力し、本邦に於ける 2010-2011 年のインフルエンザ流行状況、流行株の特徴と薬剤耐性の頻度について調査を行った。2010-2011 年は、北海道、新潟、群馬、京都、大阪、兵庫、長崎の 7 県で調査を行い 1188 件の検体から 787 件のインフルエンザを分離した。A 型が 97.2% をしめ、調査地全体では新型インフルエンザ H1N1pdm と A/H3N2 がほぼ同数であったが、関東以北は A/H3N2 が優勢、関西は新型が優勢で、九州はほぼ同数と地域によりサブタイプの差があった。初診時株の調査では新型インフルエンザに NA 遺伝子 H275Y 変異のオセルタミビル耐性株はみられなかった。少数の株ではあるが NA 阻害剤感受性検査 (IC<sub>50</sub>) では、オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、ラニナミビルに対する耐性株はみられなかった。ウイルス HA 遺伝子の解析からは、H1N1pdm は昨年流行した Clade 2 のウイルスであることが判明した。H3N2 は、ワクチン株と同じ系統に属する株が主流であったが、一部変異株もみられており、今後もモニタリングが必要である。

### A. 研究目的

我々は 2005 年より全国各地の臨床医と協力し、本邦に於けるインフルエンザの流行状況、流行株の遺伝子疫学的特徴、薬剤耐性頻度と遺伝子解析、耐性株による薬剤治療への影響を検討してきた。これまで、我々の調査で 2008-09 年シーズンにはオセルタミビル耐性株に対してオセルタミビル治療をした際には治療効果が減弱することが我々の調査で判明した。2009-2010 年には日本各地で新型インフルエンザのニューヨーク系の Clade 2 のウイルスが流行したことが判明した。新型インフルエンザは NA 阻害剤に対して感受性株であったことも見いだした。

今回、我々は 2010-2011 年シーズンの本邦に於けるインフルエンザ流行状況、流行株の特徴と薬剤耐性の頻度について調査を行ったため、報告する。

### B. 研究方法

2010 年 12 月—2011 年 3 月に、北海道、新潟、群馬、京都、大阪、兵庫、長崎の 7 県の 13 医療

機関（内科・小児科）へ、インフルエンザ様疾患で受診した患者に対し、迅速診断キットを用いてインフルエンザのスクリーニングを行った。十分な説明を行った後、初診時の患者の鼻腔ぬぐい・鼻腔吸引液または鼻腔・咽頭ぬぐい液を採取し、性、年齢、受診日などについて記録をした。

新潟大学に輸送後、MDCK 細胞を用いてウイルス培養を行い、培養陽性の検体から、リアルタイム PCR を用いてインフルエンザの型・亜型を決定した。さらに、型・亜型、採取地ごとにランダムに選択したうえで、A 型インフルエンザ HA 遺伝子のシーケンスを行い、遺伝子バンク上に登録された株とあわせて遺伝子相同性を遺伝子解析ソフト MEGA で解析した (Neighbor-joining 法)。

また、採取したウイルスについて、M2 阻害剤 (アマンタジン) と NA 阻害剤 (オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、ラニナミビル) に対する耐性の頻度調査を行った。アマンタジン耐性に対しては、サイクリングプローブ法により M2 蛋白 Ser31Asn の遺伝子変異を検出した。NA 阻害剤耐性に関しては、オセルタミビル、ザナミビル、ペ

ラミビル、ラニナミビルに対してそれぞれ MUNANA を用いた蛍光法による感受性検査 (IC50 値測定) と、H1N1pdm 亜型についてはオセルタミビル耐性のマーカーである NA 遺伝子 His275Tyr (His274Tyr) 変異をサイクリングプローブ法にて検出した。(倫理面への配慮)

本調査においては、検体採取と患者情報聴取に当たって、各医療機関にて患者および家族に十分な説明を行い、新潟大学医学部倫理委員会にて承認を受けている。

### C. 研究結果

2010-2011 年シーズンに日本各地の 7 県 13 医療機関 (内科・小児科) から合計 1188 件の咽頭ぬぐい液を採取した (3 月 25 日時点) (表 1)。全体の約 95% の 1131 件のウイルス培養とリアルタイム PCR による型別検査が終了し、インフルエンザウイルス培養陽性は全体で 787 件であり、A/H1N1pdm は 330 件 (41.9%)、A/H3N2 は 435 件 (55.3%)、B 型は 22 件 (2.8%) であった。

地域ごとの流行型には違いがあり、北海道、新潟、群馬では A/H3N2 が主流であり (それぞれ 80.4%、79.2%、88.2%)、京都、神戸、大阪などの関西地域は新型が主流であった (89.1%、65.9%、50.0%) (表 1)。経時的には北海道、新潟、群馬では 12 月は H3N2 が多く、1 月は H1N1pdm が増えてくる傾向があったが、流行の主流が H3N2 であることに変わりはない。長崎は新型と H3N2 の頻度は同程度であったが、12 月は H3N2 が多かったものの、1 月には H1N1pdm が増え、2 月にはまた H3N2 が主流になった。

薬剤耐性については、A/H1N1pdm では、オセルタミビル耐性に相当する NA 遺伝子 275 位の変異 His→Tyr を持つ株は初診時株にはなかった。A/H3N2 は全てアマンタジン耐性であり、M2 蛋白 31 位に Ser→Asn の変異を持っていた。IC50 法による表現型の検査は検査の進行上一部の株のみ終了した。H1N1pdm は 3 株、H3N2 は 18 株について、それぞれオセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、ラニナミビルに対する IC50 値を測定した (図 1)。H1N1pdm はオセルタミビルに対して、 $2.66 \pm 0.47\text{nM}$ 、ザナミビルに対して  $1.28 \pm 0.38\text{nM}$ 、ペラミビルに対して  $0.13\text{nM} \pm 0.03\text{nM}$ 、ラニナミビルは  $0.40 \pm 0.02\text{nM}$  と 3 株とも全て感受性株であった。H3N2 はオセルタミビルに対して、

$1.12 \pm 0.45\text{nM}$ 、ザナミビルに対して  $1.02 \pm 0.38\text{nM}$ 、ペラミビルに対して  $0.17\text{nM} \pm 0.05\text{nM}$ 、ラニナミビルは  $0.79 \pm 0.23\text{nM}$  と 18 株とも全て感受性株であった。今後は、初診時の株の薬剤感受性検査をさらに進め、再診時に採取された株の検査も行う予定である。

今シーズンに採取されたインフルエンザの HA 遺伝子解析を行ったところ、H1N1pdm は全て前年の 2009 年に日本で流行した Clade 2 のウイルスに属することが判明した (図 2-A)。特に時期的または地域的な集積は見られなかった。A/H3N2 については、2010-2011 年の株は遺伝子的に Perth16 系統と A/Victoria/208 の二系統の株に大別される。ほとんどの地域でワクチン株である Perth16 系統 (2 本のワクチン株: A/Victoria/210/2009) に類似した株が採取された (図 2-B)。この Perth16 系統のウイルスは北海道、群馬、長崎、新潟で、それぞれの地域毎に類似した遺伝子型が集積する傾向があった。学校・保育園などの集団発生とそれによる二次感染も疑われる地域があるが疫学情報がはっきりしないため、今後詳細な情報が必要であると考えられる。北海道では、12 月と 1 月にもう一つの系統の A/Victoria/208 系の株が採取されたが疫学的な関連は見いだせなかった。京都で 1 月に流行した株は A/Victoria/208 系統から派生した独立のクレードを形成していた。B 型の遺伝子解析についてはまだ終了してないが、リアルタイム PCR による系統の決定を行ったところ HA 遺伝子はビクトリア系統で、NA 遺伝子は山形系統のリアソータント・ウイルスが検出された。

### D. 考察

2009 年のパンデミックの第一波が過ぎ、初めての次の冬を迎え、新型インフルエンザ H1N1pdm による大流行の再来や重症者の増加が懸念されたが、幸いにも 2010-2011 年の流行規模は例年並みに終わり、感染症動向調査に於ける定点患者の最高値は 32 人であった。流行した型の内訳を見た場合、我々の調査では A 型が優位であり、B 型は少なかった。なお、検体調査終了後に B 型が増加した地域もあり、全国的にはシーズン後半に B 型がかなりの割合で流行した地域もある。特徴的なのは、関東以北と、関西、九州では亜型に違いがあったことである。北海道、新潟、群馬では A/H3N2