

201123029A

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

高病原性鳥インフルエンザの 診断・治療に関する国際連携研究

(H22-新興-一般-014)

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 河内 正 治

平成24 (2012) 年 3 月

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

高病原性鳥インフルエンザの 診断・治療に関する国際連携研究

(H22-新興-一般-014)

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 河内 正治

平成24 (2012) 年 3 月

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）
総括・分担研究報告書

高病原性鳥インフルエンザの診断・治療に関する国際連携研究

研究代表者：所属施設：国立国際医療研究センター 手術部 部長
氏 名：河内正治

研究分担者

所属施設：宮崎大学医学部生殖発達学講座 小児科学分野 教授
氏 名：布井博幸

所属施設：東邦大学医療センター大森病院 呼吸器内科 教授
氏 名：本間 栄

所属施設：国立感染症研究所感染病理部 主任研究官
氏 名：中島典子

所属施設：千葉大学大学院医学研究院 特任教授
氏 名：鈴木和男

所属施設：国立感染症研究所免疫部 室長
氏 名：大島正道

所属施設：東北大学大学院医学系研究科 教授
氏 名：川上和義

所属施設：国立国際医療研究センター研究所 国際臨床研究センター長
氏 名：山本健二

所属施設：熊本大学大学院生命科学研究部微生物学分野 教授
氏 名：赤池孝章

所属施設：熊本大学大学院生命科学研究部微生物学分野 助教
氏 名：岡本竜哉

所属施設：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 室長
氏 名：影山 努

所属施設：国立感染症研究所感染病理部 部長
氏 名：長谷川秀樹

所属施設：国立国際医療研究センター麻酔科 医師
氏 名：志賀由佳

目 次

I. 総括研究報告書

高病原性鳥インフルエンザの診断・治療に関する国際連携研究

河内正治・・・ 1

II. 分担研究報告書

1. 臨床班分科会

1) ライノウイルス感染で重症 ARDS を呈した 11 症例の解析
(ハノイ国立小児病院での経験)

布井博幸・・・ 17

2) 鳥インフルエンザウイルスがヒトに感染して起こすもの
-インフルエンザ重症化因子としての劇症型 ARDS : 診断・治療の手引き-

本間 栄・・・ 25

3) H5N1 鳥インフルエンザウイルス感染症の病理学的解析
-ハノイ国立小児病院 5 症例の解析-

中島典子・・・ 31

2. 基礎分科会

1) インフルエンザ感染誘導の劇症型肺障害機構の解析とその治療薬の開発
鈴木和男・・・ 37

2) インフルエンザウイルス感染抵抗性細胞の解析
大島正道・・・ 47

3) 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・・・ 51

4) 蛍光ナノ粒子解析に伴うケモカインレセプターの役割
-インフルエンザ劇症化の解析を目指して-

山本健二・・・ 57

5) 小児致死性 ARDS および鳥インフルエンザウイルス感染症例の血漿蛋白質中の
3-ニトロチロシンの解析

赤池孝章、岡本竜哉・・・ 59

6) 臨床検体を用いた Direct RT-LAMP 法による H5N1 亜型高病原性
鳥インフルエンザウイルス遺伝子検査系の評価

影山 努・・・ 67

III. 班会議プログラム等資料・・・ 71

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・ 79

高病原性鳥インフルエンザの診断・治療に関する国際連携研究

(H22-新興-一般-014)

研究代表者 河内正治 国立国際医療研究センター 手術部部長

研究要旨：新型インフルエンザ（AH1pdm）によるパンデミックが世界中の脅威となったが、高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)は 60-90%に達する高い死亡率が特徴であり、主な死因はウイルス性肺炎からの ARDS である (Kawachi: JID, 2009)。このインフルエンザ重症化要因である H5-ARDS の病態解明と診断／治療の研究は、パンデミックを考えると緊急を要する重大な社会的要請である。高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)は我が国でのヒト感染事例はないため、臨床例を得るためには国際医療協力が必須である。われわれは、平成 18 年度からベトナム国と連携し、鳥インフルエンザ（H5N1）感染における ARDS の共同研究を行ない、小児例では鳥インフルエンザ（H5N1）の ARDS は極めて重症化し劇症型 H5-ARDS となることを発表し（JID 2009）、H5N1 死亡例サイトカインの分析については成果を公表した（J Infect (2011) 62; 104）。さらに劇症型 ARDS (FARDS) においてはきわめて初期から MPO が病態を形成している可能性を示し（Microbiol Immunol, in press）、さらにインフルエンザウイルスの NS-1 遺伝子が MPO とともに関与している可能性を示した（Microbiol Immunol(2011)55; 874）。また、今年度臨床班は、集積した FARDS 症例を新たな観点から解析し FARDS の治療法について新たな知見を得ることができた。病理班は、当該病院で H5-ARDS 死亡例に直ちに対応できる体制を構築しており、23 年度は病理学者が研究プロトコルの再確認と FARDS 全般についての病理学的検討を行った。24 年度も引き続き症例集積を行ない、治療プロトコルを発動可能な状況にしておく（共同研究続行）。インドネシア国については、23 年度は外交ルートを通じた研究計画書を手渡すなど、新たな申し入れを行ったがなかなか共同研究についての認可が相手方から出ない。引き続きアプローチは行うが、24 年度以降は他の国を視野に入れて引き続きベトナム以外の国との共同研究を推進する。

A. 研究目的

高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)は 60-80% に達する高い死亡率が特徴であり (Kawachi,S: JID, 2009)、その死因の大部分はウイルス性肺炎からの ARDS である。このインフルエンザ重症化要因である ARDS の病態解明と診断／治療の研究は、パンデミックを考えると緊急を要する重大な社会的要請である。高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)は我が国でのヒト感染事例はないため、国際医療協力が必須であ

る。さらに、ウイルス性肺炎からの ARDS はきわめて重篤で、劇症型を呈し今後日本においても大きな問題となる可能性が高い。これら問題解明の目的で本研究班は結成され、以下の特徴を持つ。

1. 海外との連携. 1-1. ベトナム・ハノイの国立病院と連携：18 年度からの共同研究で臨床上の差異の発見 (JID, 2009)、病理標本の解析 (JJID, 2008) などの成果を上げた。さらに鳥インフルエンザ（H5N1）を含む症例

を集積／解析して現在の研究を発展継続する。今後迅速キットなどを用いたインフルエンザ H5N1 の疫学的研究も行う。1-2. ハノイ国立小児病院と劇症型 ARDS に関する先行型共同研究（ウイルス性肺炎に起因する FARDS を含む）。1-3. 治療法の開発：ベトナム国などの実際の臨床現場で有効と考えられる薬剤、呼吸管理法などの治療方法を現地医師団とともに行なう。1-4 診断法の開発／改良：23 年度はインドネシア、ベトナムにおいて迅速診断法実践の共同研究計画を立案し、ベトナムにおいて実践した。24 年度以降はこの計画を推進する。

2. 動物モデルによる治療法の検証。開発した ARDS 動物モデルを用いた治療実験。
3. 病理標本、及び培養細胞を用いた免疫組織学的病態解明。
4. 各種サイトカイン／MPO／チトクローム C／ニトロ化合物などの症例における変動の現地での定量。
5. 臨床班の試料から劇症型 ARDS 発症の特定マーカーとなる因子を抽出する。
6. 臨床班の試料からサイトカイン／MPO／ニトロ化合物などと調節にかかわる分子の特定。
7. インフルエンザ（AH1 pdm）の重症化例の臨床像／肺病理の解析。

以上の成果から、診断法の確立と新たな治療法の提案を含む「インフルエンザによる劇症型 ARDS の診断・治療の手引」書を作成する。

B. 研究方法

各分担者の報告参照、主任者が行った研究については成果の各項に記載。

C. 研究成果

倫理規定について

患者の血液・血清の使用に当たっては、主任研究者の該当部分については、国立国際医療研究センターの倫理委員会（以下「委員会」）規定に従い実施した。患者の検体が派生することが予想される場合には、1) 研究計画を含

む具体的な研究計画書、2) 主治医を含む共同研究者との合意文書、3) 患者とのインフォームドコンセントに関する実施計画概要を記載した書式を、予め「委員会」に提出し「委員会」の許可を得て実施した。患者個人情報とはコード化し、ネットワークでの個人情報交換はしないなど、プラーベート情報の漏洩がないよう万事を期した。分担研究者において実施する場合も同様の手順により行い、所属機関の倫理規定により許可を得て実施した。動物実験に関しては、動物実験計画書を所属機関の動物委員会（分担研究者においては当該機関の同等委員会）に提出し、その許可を得て動物愛護のもとに研究を実施した。

本研究では以下の目的にて主として高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)が引き起こす劇症型肺急性呼吸障害（ARDS:急性呼吸窮迫症候群）について研究を行い、最終的には 8. にてその成果を公表することが目標である。

1. 海外との連携。1-1. ベトナム・ハノイの国立病院と連携 1-2. インドネシア国との国際協力 1-3. 治療法の開発 1-4 診断法の開発／改良
2. 動物モデルによる治療法の検証。
3. 病理標本、及び培養細胞を用いた免疫組織学的病態解明。
4. サイトカイン／MPO／チトクローム C／ニトロ化合物などの変動の現地での定量。
5. 劇症型 ARDS 発症の特定マーカーとなる因子の抽出。
6. サイトカイン／MPO／ニトロ化合物などと調節にかかわる分子の特定。
7. 鳥インフルエンザ（AH1 pdm）の重症化例の臨床像／肺病理の解析。
8. 診断法の確立と新たな治療法の提案を含む「インフルエンザによる劇症型 ARDS の診断・治療の手引」書作成。

以下に主任者が主たる研究者として行った部分の研究手法と研究成果、ならびに各分担研究者の研究成果の概要をまとめた。

1. 臨床班分科会：劇症型 ARDS の病態解析に関する臨床分科会

臨床班として今年度は、(1) ベトナムにおけるインフルエンザ (H5N1) 感染症例を含む劇症型 ARDS 臨床例の解析 (prospective study) (ハノイの国立小児病院、国立熱帯感染症研究所スタッフと共に) (河内、布井、岡本、病理：佐多、中島)、(2)インフルエンザを含むウイルス感染を主体とした FARDS の解析 (河内、布井、岡本)、(3) ベトナムにおけるウイルス性肺炎、特に Rhinovirus 感染を契機とした FARDS の原因究明 (布井、河内、中島)、(4) インフルエンザを含むウイルス感染を主体とした FARDS の臨床像/肺病理の解析、(5) ベトナムなど感染地域における迅速診断キットの使用実践 (河内、布井、岡本、中島、秋山)、(6) 診断法の確立と新たな治療法の提案を含む「インフルエンザによる劇症型 ARDS の診断・治療の手引」書作成準備 (本間)、以上 6 点を行なった。

1) ベトナムにおけるインフルエンザ (H5N1) を含む劇症型 ARDS (FARDS) 臨床例の解析計画 (J-V FARDS)

(河内正治、松下竹次：国立国際医療研究センター、中島典子、佐多徹太郎：国立感染症研究所、布井博幸：宮崎大学医学部、岡本竜哉：熊本大学医学部、鈴木和男：千葉大学大学院医学研究院)

研究方法：ハノイの国立小児病院 (NHP-Hanoi: National Hospital Pediatrics) との ARDS 共同研究計画書に基づいて、23 年度は 22 年度に引き続き先行的研究を行った。内容は、

- ①インフルエンザ (H5N1) 感染を含むウイルス性肺炎を病因とする劇症型 ARDS (H5N1-FARDS) の臨床病態の解明 (河内、松下、布井、岡本、鈴木)、
- ②H5N1-FARDS を含む ARDS 症例検体の生体活性物質の測定 (鈴木、布井、岡本、河内)、

③病理学的・組織学的解析 (佐多、中島、鈴木) である。

研究成果：2012/3 までに以下の criteria で先行的に劇症型 ARDS を集積し、この中には 3 例の H5N1 症例を含んでいる。NHO-Hanoi の PICU に入室した症例のうち、①AECC1984 の診断基準を満たす ARDS 症例で、かつ②PICU 入室中に $P/Fratio \leq 100$ を呈し、③年齢が五ヶ月以上であるすべての症例を先行的に集め、同時に気管内挿管時に気管内分泌物 (または気管洗浄液) と血清を採取した。criteria に入って集積できたのは 91 例で、うちインフルエンザ感染が PCR にて証明された症例は 8 例、内訳は高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1) 3 例、2009 A H1N1-pdm 4 例、季節性インフルエンザ A(H3) 1 例であった。H5N1 は 2/3 死亡、A(H1N1)は 4/4 死亡、A(H3)は混合感染を来たし、別要因で死亡した。この重症 ARDS 症例 91 例のうち、30 例に気道洗浄液から何らかのウイルスが PCR にて同定されており、内訳は、Influenza 8、Rhinovirus 11、Adenovirus 3、RSV 3、CMV 4、measles 1 であった。中には Rhinovirus のようになりにかなり非特異的な、日本では一般には肺炎 (ARDS) の原因とは考えられない病原も含まれていたところが特徴的であった (図 1)。しかしながら、特に Rhinovirus については近年東南アジアを中心に死亡例の肺炎が報告されているところでもあり、日本においても普遍的なウイルスであるので大いに注意を喚起しておく必要がある。さらにこのウイルス感染が証明されたウイルス肺炎と思われる症例の死亡率は異常に高く 67%に達しており、ウイルス肺炎以外の症例死亡率が 32%であることを考えると、劇症型 ARDS (H5N1-ARDS) の病態生理/重症化要因/治療を追求するにあたって、ウイルス性肺炎であることに検討要因が存在すると考えられた。

今回、この点に注目し、ウイルス性肺炎について解析するとともに、特に死亡率も高く症例数も多かった Rhinovirus については別に解析を行った (布井ら)。

No	Gender	Age	FARDS	Prognosis	MCP	Days	IVIg Cpt/kg	Cause of ARDS
p1	M	4	Y	D	DOB 10v	12		Pneumonia (H5N1)
p2	F	0.18	Y	D	+	10		Pneumonia (Rhinovirus)
p4	F	0.18	Y	D	+	13		Pneumonia (Rhinovirus)
p5	F	0.18	Y	D	+	6	Y	Pneumonia (Adenovirus)
p6	F	0.25	Y	D	+	8	Y	Pneumonia (Rhinovirus)
p7	F	0.18	Y	D	+	22		Pneumonia (Rhinovirus)
p14	M	7	NY	A	-	18	Y	Pneumonia (H5N1)
p19	M	11	Y	D	-	10	Y	Pneumonia (H5N1)
p21	M	0.25	Y	D	-	22	Y	Pneumonia (Adenovirus)
p24	M	0.33	Y	A	-	41	Y	Pneumonia (RSV)
p25	F	0.15	Y	A	+	17		Pneumonia (RSV)
p26	F	0.5	Y	D	-	29		Pneumonia (RSV)
p28	M	2	Y	D	DOA-5v	19	Y	Pneumonia (A(H5)+Adenovirus)
p49	M	3	Y	D	DOA 10v	8	N	Pneumonia (H5N1)
p50	M	3	Y	D	DOB 7.5v, DOA 10v	9	N	Pneumonia (H5N1)
p51	F	8	Y	D	DOA 10v	10	N	Pneumonia (H5N1)
p52	M	0.33	Y	D	DOA 10v, A4	13	N	Pneumonia (respir)
p51	F	0.3	Y	D	DOB DOA	34	Y	Pneumonia (CMV)
p62	F	0.3	Y	D	DOA 15v	43	Y	Pneumonia (CMV)
p63	F	0.6	Y	D	DOB DOA	29	Y	Pneumonia (Adenovirus)
p68	F	0.3	Y	A	-	43	Y	Pneumonia (CMV)
p69	F	0.3	Y	A	-	25	Y	Pneumonia (Rhinovirus)
p71	F	0.2	Y	D	DOA	25	N	Pneumonia (Rhinovirus)
p74	F	0.25	Y	A	-	23	N	Pneumonia (Rhinovirus)
p80	F	0.2	Y	A	DOA/A4	31	Y	Pneumonia (Rhinovirus)
p82	M	2.25	Y	D	DOA	12	N	Pneumonia (H5N1)
p83	F	0.33	Y	A	-	28	Y	Pneumonia (Rhinovirus)
p85	M	0.4	NY	A	-	37	Y	Pneumonia (CMV)
p87	M	0.4	Y	D	-	22	Y	Pneumonia (Rhinovirus)
p88	F	2.3	Y	A	DOA	16	Y	Pneumonia (Rhinovirus)

図1 先行集積した重症 ARDS のうちウイルス肺炎と考えられた全症例 (2007/Oct. - 2012/Mar.)

一方、NHP においては 2009 年以降 H5N1 感染症例の入院は無かった。したがって新たな H5N1 ヒト感染例は今年度も得られなかった。しかし、先行的研究で取得した血清/気管分泌物の解析を続行し、高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)症例におけるサイトカインについて H5N1 感染に特異的な点を *Journal of Infection* に発表した (*J Infection* 62: 104-108, 2011, Thuy T.B. Phung ら. *Key factor cytokines and myeloperoxidase (MPO) in Vietnamese children with acute respiratory distress syndrome and induced avian influenza (H5N1) infection*)。

Cytokines	Plasma		NPA		P-value
	H5N1-negative (n = 31)	H5N1-positive (n = 3)	H5N1-negative (n = 31)	H5N1-positive (n = 3)	
Chemokines	Mean value ± SD (pg/ml)	Mean value ± SD (pg/ml)	Mean value ± SD (pg/ml)	Mean value ± SD (pg/ml)	
TNF-α	56.4 ± 237.6	81.8 ± 171.3	5.9 ± 19.1	0.0 ± 0.0	0.668
IL-1β	10.8 ± 23.5	8.0 ± 17.0	56.4 ± 161.6	16.3 ± 0.4	0.732
IL-6	48.4 ± 66.1	117.9 ± 18.1	34.2 ± 79.1	33.9 ± 23.3	0.996
MCP-1	125.3 ± 362.9	303.1 ± 524.9	134.6 ± 412.3	73.2 ± 103.5	0.837
IFN-γ	1.5 ± 8.3	ND	3.34 ± 14.6	ND	-
IL-8	122.1 ± 390.8	3.6 ± 6.3	1201.5 ± 1556.0	244.1 ± 191.7	0.398
IL-12p40	813.1 ± 786.2	2416.9 ± 1080.6	210.7 ± 175.1	252.1 ± 28.9	0.744
IL-12p70	91.5 ± 117.8	181.7 ± 100.3	15.6 ± 15.5	18.6 ± 10.7	0.794
TNF-R2	9813.8 ± 2983.7	21796.7 ± 285.6	83.8 ± 92.3	149.6 ± 68.1	0.332
sIL-6R	26728.8 ± 7945.1	28520.6 ± 903.7	52.8 ± 88.2	345.8 ± 217.3	0.0002
MPO	units/min/ml 6.6 ± 5.8	units/min/ml 24.1 ± 17.4	units/min/ml 3.0 ± 3.2	units/min/ml 2.8 ± 1.0	0.708

図2 H5N1 症例の血清および気管吸液中多種 Cytokine/Chemokine の測定結果

上述のようにウイルス性肺炎を原因疾患とする FARDS の死亡率は非常に高く、われわれの先行的症例集積研究においても 67% と、高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)感染に匹敵するほどの高い死亡率である (図 3: 生存曲線)。生存期間も viral 群 24.85 日に対し non-viral 群 42.25 日とほぼ半分に近い。今回の症例は、全く同じ基準で先行的に集積した症例のみについての研究結果であるので、その意義は大きいと考える。治療法については、従来の抗ウイルス薬、ステロイドの標準治療方法に、ベトナムで使用可能な大量ガンマグロブリン療法 (2g/kg) (以後 IVIg) を開始した。現地医師団と協議の上、全例に対して原則として IVIg を行うが、財政面の都合などにより家族から同意を得られなかった場合は使用しない、との方針とした。このため医療上の理由以外での非使用例が全体の 1/3 近くを占めた。この IVIg の投与効果について 2012 年までの全症例 (n=84, viral n=30; non-viral n=54) において検討した。全症例 (n=84) においても、IVIg 群が有意に生存期間が長かったが、ウイルス群単独 (n=30, IVIg; 19, non-IVI; 11)でも同様に生存率に対して有意差のある効果が得られたことは大きな進展である (図 4, 5)。今後さらに症例を集積して検討する必要がある。

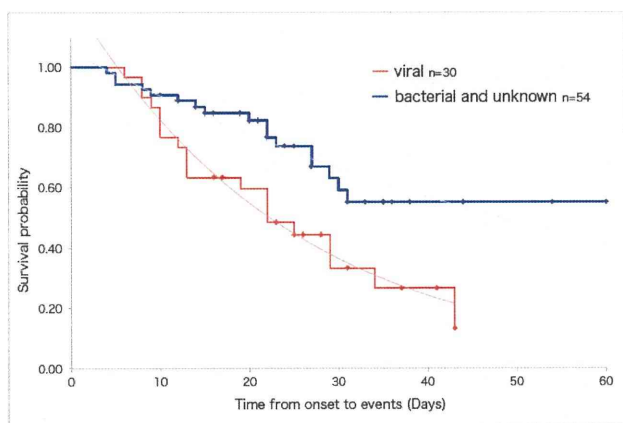


図3 先行研究にて得られた全 FARDS 症例。Viral, Non-viral 群における生存曲線 (Kaplan-Meier)

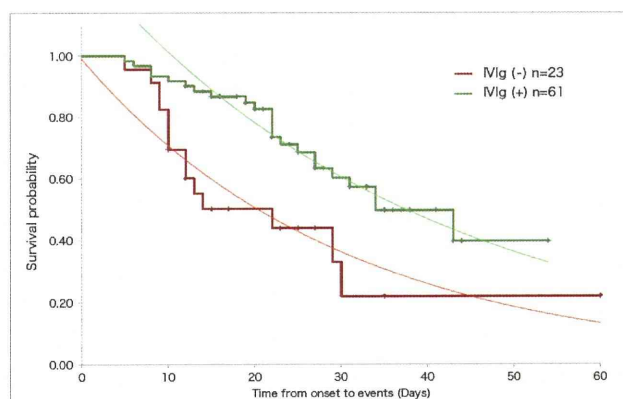


図4 先行研究にて得られた全 FARDS 症例における生存曲線 (IVIg vs. non-IVIg) (Kaplan-Meier)

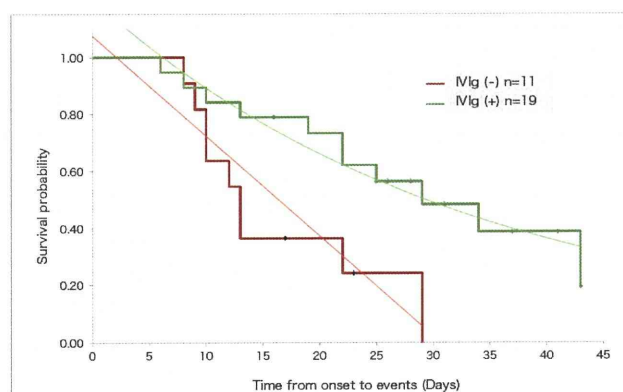


図5 先行研究にて得られた全 Viral 肺炎症例における生存曲線 (IVIg vs. non-IVIg) (Kaplan-Meier)

病理学的検索

病理標本: Rhinovirus による死亡例についても Necropsy を施行し、病理学的な検索を何例かに行った (図 6, 7, 8)。今後、より詳しい免疫学的な研究を推進して公表する予定である。

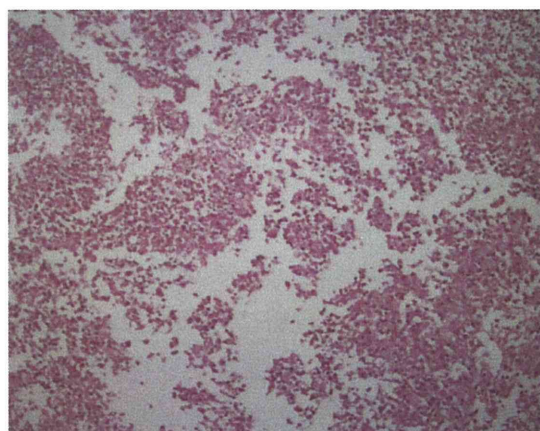


図6 Rhinovirus 症例: 肺の HE 染色像

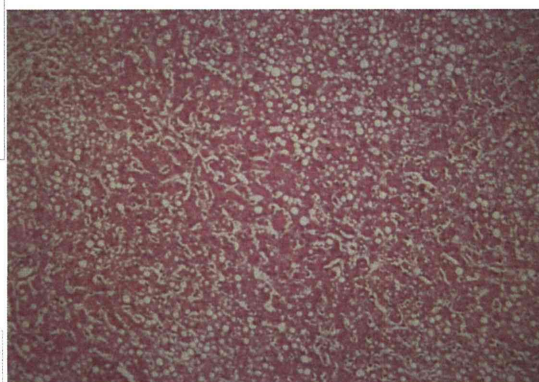


図7 Rhinovirus 症例: 肝臓の HE 染色像

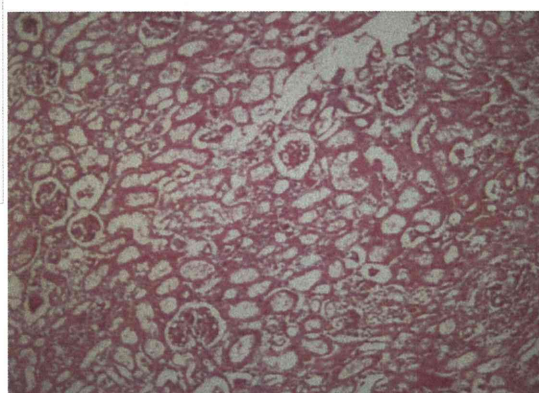


図8 Rhinovirus 症例: 腎臓の HE 染色

2) インドネシア・ベトナム国との国際協力- 迅速診断キットを使用した疫学的研究の試み

(河内正治、秋山徹：国立国際医療研究センター、布井博幸：宮崎大学医学部、岡本竜哉：熊本大学、影山努：国立感染研究所)

研究方法：ベトナム/ハノイの国立熱帯感染症病院（National Institute of Infectious Tropical Diseases: NIITD）と国立小児病院（National Hospital of Pediatrics : NHP-Hanoi）およびインドネシア感染症疾患の中心病院である Prof. DR. Sulianti Saroso Infectious Disease Hospital（Jakarta, Indonesia）と、今後の共同研究について疫学的研究を視野に入れて 22 年度に研究計画書を提案し、研究開始を提案した。

研究成果：ハノイの二病院においては、鳥インフルエンザ(H5N1)について患者検体を用いて迅速キットや LAMP 法等の正確性について調べた（図 1）。また、臨床の ILI についても実際に多種類の迅速キットを用いた測定を行った（図 2）。

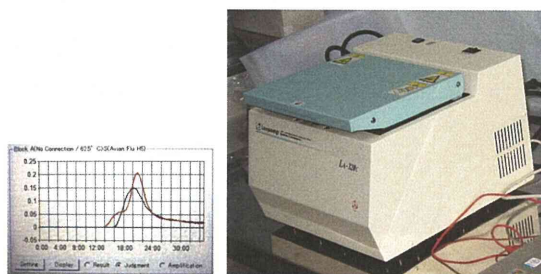


図 1. LAMP 法測定器と測定曲線（Avian Influenza A(H5N1) 陽性の症例）

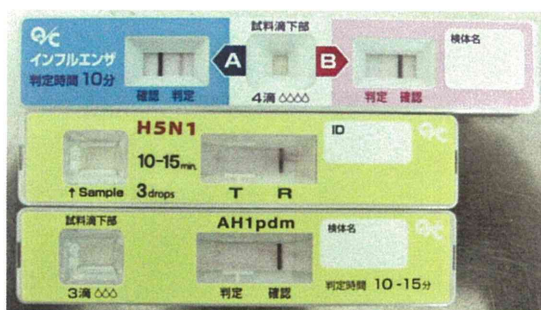


図 2. 三種の迅速キットを用いた現場での測定（この症例では季節性 A 型陽性）

パンデミック A(H1N1)迅速検査キットは秋山らと 21 年度に作成、鳥インフルエンザ(H5N1)キットは 22 年度に研究班として作成したものである。インドネシアにおいては、病院およびインドネシア政府からの研究開始許可が得られず、23 年度内には開始できなかった。インドネシアからは 23 年度内も鳥インフルエンザ (H5N1) のヒト感染例が報告されており、引き続き新たに現状にあった研究計画に刷新して、24 年度も外交ルートなどを通じた働きかけを続行する予定である。

WHO に公表されているデータによれば、インドネシアにおける鳥インフルエンザ (H5N1) 感染者数は、2008 年 24 (20) 人、2009 年 21 (19) 人、2010 年 9 (7) 人、2011 年 12 (10) 人であり、本年に入って既に 4 (4) 人が報告されている（括弧内は死亡数）がそれでも発症推定患者数に比して報告患者数が少なく、インドネシアにおいては診断法の問題が大きいのではないかと考えられた。以上の他国における状況を考えると、日本においても鳥インフルエンザ (H5N1) のような高病原性インフルエンザがパンデミック化したときの感染対策を具体的に立てておく必要がある。特に、前回のパンデミックから得られた治療上の重要な成果などを生かした最終治療方針やトリアージも含めた具体的方針の決定と、高病原性インフルエンザについての治療法を含む具体的指針の作成が必要である。

3) ライノウイルス感染で重症 ARDS を呈した 11 症例の解析

(布井博幸：宮崎大学医学部、河内正治：国立国際医療研究センター、鈴木和男：千葉大学大学院医学研究院、岡本竜哉：熊本大学)

ハノイ国立小児病院で重症 ARDS を呈した 88 症例の中で、ライノウイルス感染症 11 症

例を経験し、PCR による早期診断と早期の IVIG 療法が有効であることが明らかになった。そこで、布井らを中心にライノウイルス感染症について血中サイトカインや KL-6 測定による病態の解析を行い、IL-12p40, p70 と KL-6 高値と MP0 低値が予後不良因子であり、H5N1 インフルエンザウイルス (IL-12p40, p70 高値、KL-6 低値で MP0 高値が予後不良) との病態の違いが明らかになった。日本ではライノウイルス感染症による重症 ARDS はあまり経験しないが、ライノウイルス C 型による可能性が高い中国や東南アジアでの死亡者が多く報告されてきており、今後日本でも問題となる疾患だと思われる。ライノウイルスは近年型別の病原性が明らかになってきて、C 型感染が致死的な経過を辿ると考えられており、今後は、RT-PCR 法を用いたライノウイルスの型別診断などが必要になってくると考えられた。

4) 鳥インフルエンザウイルスがヒトに感染して起こすもの—インフルエンザ重症化因子としての劇症型 ARDS : 診断・治療の手引き—

(本間栄、菊地直、杉野圭史 : 東邦大学医療センター、布井博幸 : 宮崎大学医学部、河内正治 : 国立国際医療研究センター)

高病原性鳥インフルエンザに対するより簡便な迅速遺伝子診断法の開発、関連バイオマーカーの検索ならびに、より有効な薬剤の選択、投与方法、呼吸管理法の開発が喫緊の課題である。そこで、新たな H1N1-pdm より病原性の高い鳥インフルエンザ pdm が到来した際の有用な臨床ガイドラインとなりうる汎用性と実用性の高い診断/治療の手引き作成を目指している。

対象疾患・記載内容は、H5N1 以外に H1N1 も含め、小児から成人患者に対応した内容にする。本研究班の特徴として基礎研究のより

学術的な内容も含める。対象読者としてプライマリーケア医の診断の助けとなる手引きの章を一章設け、臨床現場での実践にも役立つ解説書を目指す。

執筆・レビューワーはガイドライン作成委員のみならず班員の中からも選出する。各項目にレビューワー1~2名程度を設ける。

5) H5N1 鳥インフルエンザウイルス感染症の病理学的解析 —ハノイ国立小児病院 5 症例の解析—

(中島典子、佐藤由子、佐多徹太郎、長谷川秀樹 : 国立感染症研究所、河内正治 : 国立国際医療研究センター、布井博幸 : 宮崎大学医学部、鈴木和男 : 千葉大学大学院医学研究院)

H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルスの鳥-ヒト感染は今なお続いている。ヒト感染の病態の解明に剖検組織の病理学的解析は必須であるが、本研究班で解析しているベトナムの 5 例以外には、香港、中国、タイから 14 例報告されているのみで非常に少ない。中島らはベトナム/ハノイ国立小児病院で 2003-2008 年に H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス感染症で死亡した 5 症例のホルマリン固定パラフィン包埋肺組織ブロックを解析してきた。5 症例とも劇症型の急性呼吸促迫症候群を呈し呼吸不全で死亡しており、肺病理像では硝子膜形成を伴う慢性肺障害が認められた。肺以外の組織では特記すべき病理組織所見はなく、1 例の肝臓の局所で、脂肪変性像が見られただけである。肺から検出されたウイルス核酸量は病日が早い例ほど多く、ウイルス核酸量の多い肺切片では免疫組織化学でウイルス NP 抗原が検出できた。インフルエンザ抗原は主に II 型肺胞上皮細胞およびマクロファージ、細気管支上皮細胞、また血管内皮細胞に検出された。肺以外の組

織でウイルス抗原やウイルス核酸は検出できなかった。パラフィン包埋肺組織から RNA を抽出し、TNF α 、IL-6、IL-8、IP-10、RANTES の mRNA をリアルタイム定量 RT-PCR で測定した結果、肺の局所でサイトカイン・ケモカインの発現が高かったことがわかった。免疫組織化学では TNF α は肺胞上皮細胞、マクロファージに検出され、IL-6 は血管内皮細胞からも検出された。

2. 基礎分科会：劇症型 ARDS モデルマウス使用の治療法開発ならびに検体標本を用いたサイトカイン、免疫機能、病理組織の解析

1) インフルエンザ感染誘導の劇症型肺障害機構の解析とその治療薬の開発

(鈴木和男、菅又龍一：千葉大学大学院医学研究院、大島正道、中島典子、佐藤由子：国立感染症研究所、河内正治：国立国際医療研究センター、布井博幸：宮崎大学医学部、Thuy T.B. Phung, San T. Luong, Liem T. Nguyen：ハノイ国立小児病院)

鈴木らは、ハノイ国立小児病院における試料を解析、およびモデル動物を用いての研究にて以下の知見を得た。(1)インフルエンザ誘導性 ARDS に対する治療薬候補：先の探索研究で、インフルエンザ誘導性の劇症肺炎に好中球の MPO 放出阻害効果のある 16 員環マクロライドスピラマイシン、ロイコマイシンを見出した。インフルエンザウイルス感染劇症型肺炎モデルマウスにこれら薬剤を投薬することで生存効果を認めた。肺組織中のウイルスの核酸量減少と、肺胞洗浄液中のケモカイン・サイトカインの産生抑制が見られた。これらの結果から、劇症肺炎時にこれらマクロライドが、インフルエンザ感染症の新規治療薬の候補となる可能性を示した。(2)劇症型イ

ンフルエンザの発症機構の解明：H5N1 インフルエンザ感染誘発 ARDS ベトナム小児患児の血中および肺胞洗浄液中に増加したサイトカイン・ケモカインおよび myeloperoxidase (MPO) 活性に焦点を当て、*in vitro* にて A/H1N1 インフルエンザウイルス(PR-8 株)感染させた A549 ヒト上皮細胞でのサイトカイン・ケモカインの産生機構を検討した。TNF α と RANTES は、A549 細胞から有意に産生され、siTNF α mRNA 処理により RANTES の発現と RANTES, IL-8 と MCP-1 の分泌が抑制された。加えて、非感染細胞に TNF α と RANTES を投与することで、RANTES, IL-8 および MCP-1 の分泌が亢進された。これらの事実から、初期の段階で TNF α によって産生誘導された RANTES が、ひきつづく IL-6, IL-8, MCP-1 および IFNs のレベルの上昇をコントロールしていることが強く示唆された。また、ウイルスの NS1 プラスミドを感染させた細胞は、H₂O₂-MPO 系の存在下で、大量の IL-8 と MCP-1 が産生された。これは、PR-8 中の NS1 が H₂O₂-MPO 系存在下で、上皮細胞でサイトカインストームを誘発することが示唆された。これらの結果は、H5N1 患者での MPO が肺の好中球増多により促進され、ひきつづく肺でのケモカイン・サイトカインの産生と類似している。インフルエンザウイルス感染によって H₂O₂-MPO 系がはたらくと、インフルエンザウイルス NS1 と連動して肺上皮細胞のサイトカインストームを誘発すると推定される。

2) インフルエンザウイルス感染抵抗性細胞の解析

(大島正道：国立感染症研究所)

大島は、細胞のウイルス抵抗性因子について培養細胞を用いて検討した。外部からのウイルス感染に対して宿主側ではインターフェ

ロン、MxA, OAS, Fas など感染防御に働く宿主遺伝子が誘導され感染に対抗する。一方インフルエンザウイルスはウイルス蛋白 NS1 を発現し宿主の抵抗因子発現を抑制し細胞を自らの複製の場に改変する。肺胞由来の細胞株 A549 はインフルエンザウイルスを排除できず死滅するが、一部に死滅を免れる細胞 (A549-3S) を大島は見いだした。その細胞をクローン化してウイルス感染の抵抗性メカニズムを解析している。ウイルスの細胞への吸着には差が見られなかったが A549-3S 細胞ではウイルス mRNA の出現過程が遅れる。A549-3S 細胞はウイルス RNA の核移行までの間にウイルス抵抗性を示す可能性が示唆される。これを次年度以降解析発展せしめて、インフルエンザウイルスへの細胞の抵抗性メカニズムを発見すれば、非常に画期的な発見となるであろう。

3) 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：東北大学医学部)

これまでに川上らは、Natural Killer (NK) T 細胞の活性化剤である α -galactosylceramide を気管内に前投与したマウスに LPS を投与することで、急性呼吸窮迫症候群 (Acute Respiratory Distress Syndrome: ARDS) に特徴的な病理所見である Diffuse Alveolar Damage (DAD) を呈するモデルマウスを作成することに成功した (Int. Immunol, 2011)。今回川上らは、このモデルを用いることで、Damage-associated Molecular Patterns (DAMPs) の一つとして注目されている High-Mobility Group Box 1 (HMGB1) および、上皮細胞間のタイトジャンクション構成分子として発見された Claudin の FARDS における役割を解析した。致死性 FARDS マウスでは、非致死性急

性肺傷害マウスに比べて、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の HMGB1 濃度が著明な高値を示し、肺胞腔内へ浸潤する炎症細胞から分泌される可能性があることがわかった。また、肺内、末梢血白血球における Claudin-2、-4、-5、-8.1 の発現パターンが両マウス間で顕著に異なることが明らかになり、致死に至る病態に関与する可能性が示唆された。今後、HMGB1 や Claudin が FARDS の分子マーカーや治療標的になり得るかについて次年度に向けてさらなる検討を進めていく。

4) 新型インフルエンザ重症化におけるケモカイン・ケモカインレセプターの役割

(山本健二：国立国際医療研究センター研究所 国際臨床研究センター)

山本らは、新型インフルエンザにおける重症化についてケモカイン・ケモカインレセプターの役割について検討した。その結果 CCR 5 レセプター及びそのライガンドの変化が顕著に多く測定された。また CCR 1 レセプター及びそのライガンドも、CCR5 に比べればその変化量は少ないが、これもやはり顕著な変化を測定された観測できた。CCR5 および CCR1 が膜タンパクであることから、何かの細胞のメンブレインに存在していると考えられる。その細胞は、何であるかについては、不明である。またインフルエンザウイルス株 PR-8 に感染させる以前から肺臓器内いたのか、あるいは、どこか他の臓器から来たのか、さらにまた、その両方が起こっているのか、については現在のところ不明であり、今後更なる研究が必要である。

5) 小児致死的 ARDS および鳥インフルエンザウイルス感染症例の血漿蛋白中の 3-ニトロチロシンの解析

(赤池孝章、岡本竜哉：熊本大学大学院)

一酸化窒素 (NO) と活性酸素種 (ROS) は、感染、炎症、がんといった多彩な疾病に関わっている。赤池らはこれまで、マウスのインフルエンザウイルス肺炎モデルを用いて、NO・ROS による生体分子の酸化・ニトロ化修飾について解析を行ない、感染肺局所にて 3-ニトロチロシン (3-NT) や 8-ニトログアニン関連化合物が生成することを、免疫染色法や HPLC-電気化学検出 (ECD) 法により証明し、病態との関連性について報告してきた。そこで本研究では、高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1) および新型インフルエンザウイルス (AH1pdm 2009) 感染症を含む小児の致死性 ARDS 症例における血漿蛋白質中の 3-NT レベルを HPLC-ECD 法を用いて解析した。2008-2009 年にベトナム・ハノイ国立小児病院にて入院加療を受けた ARDS 症例 (47 症例) と非 ARDS 症例 (25 症例) を対象とし解析したところ、ARDS 症例において有意に高い血漿蛋白質 3-NT の生成を認めた。インフルエンザウイルス感染 ARDS 例 (7 症例) は非感染 ARDS 例 (40 症例) に比べ、3-NT レベルがより増加する傾向が見られ (オッズ比 2.26)、死亡するリスクも高かった (オッズ比 5.83)。興味あることに、3-NT のレベルは死亡例に比べ生存例にてより高く、また生存率も 3-NT 高値例のほうが低値例に比べ高い傾向が見られた。3-NT 生成の時間経過を解析すると、ARDS 発症後 14 病日ごろをピークとして増加する群と増加しない群に分けられ、増加する群では増加しない群に比べ死亡率が低かった (23.0 vs 41.2%)。また、3-NT レベルは肺胞上皮修復のマーカーである KL-6 や酸素化の指標である P/F 比と正の相関を認めた。以上のことから、3-NT の生成は ARDS 後の肺の修復を反映している可能性が示唆された。ま

た、HPLC-ECD 法は、抗体に依らない定量的かつ特異的な検出法で、3-NT のバイオマーカーとしての応用において、有用なツールになり得るものと期待される。

6) 臨床検体を用いた Direct RT-LAMP 法による H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス遺伝子検査系の評価

(影山努：国立感染研究所)

世界中に広がっている H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスによるヒトへの感染に対する診断や治療方針決定および感染拡大防止や地域の感染症対策を行うためにも、患者にできるだけ近い場所、いわゆる Point of care 診断による型(A型およびB型)および亜型(H1pdm09、H3、H5 など)特異的な迅速・高感度なインフルエンザウイルス遺伝子検査系の構築が非常に重要である。現在、世界中の家禽や野鳥で流行し、時折ヒトへの感染例も見られる H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスは、赤血球凝集素 (HA) の遺伝的系統から大きく分けて 4 つの Clade (1, 2.1, 2.2, 2.3) に分類(さらに 2.1 は 2.1.1~2.1.3、2.3 は 2.3.1~2.3.4 に分類)する事ができる。影山らは栄研化学株式会社との共同研究によりこれら全ての Clade が検出できる H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルス診断キットの構築を行っているが、従来のコンベンショナル RT-LAMP 法を一部改良して、検体からの核酸精製を必要とせず、検体をバッファーに懸濁するだけで、検体採取から診断まで 40 分以内に A 型インフルエンザウイルスおよび H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスを検出できる Direct RT-LAMP 法による遺伝子診断系の開発を行い、臨床検体を用いて評価を行った。

今後本研究をさらに発展させ、H5 亜型遺

伝子検査系にも Direct RT-LAMP 法を導入し、より簡便・迅速・高感度に、かつ高い特異性を有する H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝子診断系の開発を行った。

D. 考察

高病原性鳥インフルエンザ A (H5N1) は、季節性のインフルエンザにはない病態を示し、病理解剖所見から肺にはウイルスは検出困難であったが、我々はハノイの症例についてウイルスを証明した報告を行った(JJID, 2008)。また、かなり初期段階での死亡例が多数報告されており (Human Pathol 2005, NEJM 2005/2008, CCM 2006)、その病態から ARDS の誘発が主要な重症化因子となり死因となっていることがわかってきている。このことから、インフルエンザ (H5N1) の脅威は極めて大きく、昨年 AH1 パンデミックの教訓を生かして、高病原性パンデミックを見据えた緊急の行政対応が必要である。さらに、今回われわれが指摘したように (布井ら)、H5N1 以外のウイルス性肺炎がその重篤化から最近注目されており、高病原性鳥インフルエンザ (H5N1) ときわめて類似した重篤な劇症型 ARDS を生じることが判明してきた。

わが国では、高病原性鳥インフルエンザ (H5N1) 患者や、重篤なウイルス肺炎症例の発生はきわめて稀で、病態を直接解析できないため、海外と連携してインフルエンザ (H5N1) 感染劇症型 ARDS 症例の臨床データ及び病理学的なデータを得て病態を解析すること、および、H5N1-FARDS に特徴的な、多臓器不全を伴わない肺胞の広範囲な破壊を主とした、劇症型 ARDS の動物モデルを用いた治療法の開発/検証、以上の根本的な研究が必要である。われわれの研究班では、これま

での研究成果をふまえて、これらの H5N1 に対する病態解析/治療法の開発・検証/疫学的解析を行なってきた。23 年度は、鳥インフルエンザ (H5N1) 感染症例のサイトカイン・ケモカインなどのバイオマーカーの解析は一応の成果を得たが、まだ検討すべき項目は多く、特に病理免疫学的な検討や、種々のバイオマーカーの検討がまだ不十分である。海外医療連携の強化を意図し、インドネシアの中心的感染症病院と共同研究の申し出を継続したが、なかなか実現には至っていない。確定診断も迅速に可能な遺伝子診断法の開発も影山を中心に研究中であり、今後もインドネシアに引き続き接触を試みる予定である。

21 年度までに劇症型 ARDS モデルマウスとして感染モデル、器械的損傷モデル、化学的損傷モデルの 3 種の作成を終了し、21 年度にベトナムとの共同研究計画の 20 年末までの臨床解析結果を報告 (JID 2009; 200: 510-515)、22 年度には H5N1 患者サイトカインの解析を終了し報告した (Phung *et al.*, J Infect 2011; 62: 104-108)。H5N1-FARDS ではサイトカインの動向が一般の ARDS とは異なること、また呼吸機能検査/臨床症状からは発症時から受診時までには一般の ARDS が呼吸機能の障害が酷いが、H5N1-FARDS ではその後急速に悪化して死に至ること (死亡率 48%vs.83%) が証明できたことは大きな前進である。これらの成果から、とくに鳥インフルエンザ (H5N1) の臨床病態が明確化され、一般的な ARDS との差異が明らかになってきた。さらに 23 年度は、この劇症型 ARDS がウイルス肺炎において高頻度で生じている可能性のあることや、死亡率の異常な高さを報告した。

これらの臨床上の新しい知見を踏まえて、23 年度はハノイ国立小児病院においてのさらなる Bio-Markers (ニトロ化物質、チトクロ

ムCなど)の測定を行なった。また、ウイルス性肺炎において大量ガンマグロブリン療法を試みた成果も次第に証明されつつあり、これらについて完成した3タイプの動物モデルを用いて治療実験を行い、LPSモデルとVILIモデルで抗炎症薬であるシベレスタットの有効性が検証されつつある。また、臨床的には安全性がすでにある程度確立されている抗炎症薬などが候補に挙げられ、治療効果について治療実験を行なっている。H5N1-FARDSの治療薬としては一定の治療効果も得られたが症例数の不足から有意な結果は得られていない抗炎症薬など、臨床面からは今後さらなる鳥インフルエンザ臨床症例の集積が必要と考えられる。

E. 結論

インフルエンザ(H5N1)感染による劇症型ARDS患者の病態解析とその原因を究明することは将来のパンデミック対策としても重要であり、その目的に向かって、臨床・基礎医学両面からの緊密な提携をもった研究が不可欠である。本研究班では、海外発生地域(ベトナム/インドネシア)におけるヒトH5N1症例と劇症型ARDS病態のモデル動物を使用して、インフルエンザ(H5N1)型ARDSの迅速特異診断および治療法を提案し、「手引き」等を作成してその知識を広く人口に膾炙することが最終目標であり、今後もこの目的に沿ったさらなる研究展開を予定している。また最近ウイルス性肺炎の脅威が東南アジアを中心に報告されつつあり、この点も今後は網羅して将来の日本への流行などに備えていくことが新たなる目標である。

研究協力者および研究アドバイザー

研究分担者以外に、本研究においては以下に述べる施設/研究者に研究協力者およびアドバイザーとして参加していただいた。

1) 臨床分科会

松下竹次(国立国際医療研究センター、医長)

平橋淳一(東京大学病院腎臓内科、助教)、

丸茂丈史(帝京大学医学部、講師)

重松美加(国立感染症研究所、主任研究官)

前原康宏(国立国際医療研究センター、医長)

永田典代(国立感染症研究所、主任研究官)

Nguyen Van Kinh (NHITD Hanoi)

Nguyen Hong Ha (NHITD Hanoi)

Nguyen Thanh Liem (NHP Hanoi)

Luong Thi San (NHP Hanoi)

Phung Thi Thuy (NHP Hanoi)

2) 基礎分科会

赤川清子(北里研究所、客員教授)

秋山徹(国立国際医療研究センター、感染症制御研究部室長)

荒谷康昭(横浜市立大学大学院、教授)

安田英典(城西大学、教授)

長谷川明洋(山口大学、准教授)

古屋博行(東海大学医学部、准教授)

石井恵子(東北大学大学院、准教授)

工藤大介(東北大学大学院)

3) アドバイザー

小川道雄(市立貝塚病院、総長)

藤倉敏夫(慶応義塾大学医学部)

佐多徹太郎(富山県衛生研究所、所長)

F. 健康危険情報

1. ベトナムでは2012年3月までに4例のインフルエンザ(H5N1)感染例が報告された(2例死亡)。いずれも南ベトナム(ホーチミン市周辺)で、北部での発生報告は2010年の成人例以降は無い。また、3月末

現在において、ベトナムの研究ネットワークから、ヒト-ヒト感染などの従来と異なる新たな脅威となる情報は届いていない。

2. インドネシアにおいては、本年度末においても相変わらずインフルエンザ（H5N1）ヒト感染例、および疑い例の報告は引き続いてしている。インドネシア（人、スマトラ）：疑い例2例がパダンで入院、患鳥との接触歴あり、インドネシア（人と鳥、西ジャワ）：鳥の集団発生拡大、3万羽以上に影響、41人の人感染例、等の報告がインドネシア地方紙へ報道されているが、WHOからこの件についての新たなヒト感染例発症の報告は無い（3. 参照）。
3. WHOが2012年3月6日に発表したヒトインフルエンザ（H5N1）症例数は、2003年以降596例となった（350例死亡、死亡率58.7%）。2012年に入ってすでに18例（10例死亡）が報告されており、発症報告数は昨年より多いペースである。一昨年来エジプトでの発症件数が多いが、エジプトは一時ほどではないが相変わらず死亡率は低い（2009-2012/3：163例報告、57例死亡：死亡率：35.0%）。抗ウイルス薬の早期投与と罹患年齢が比較的高いことが死亡率を下げていると考えられている。本年に入ってWHOからの発症報告はバングラディッシュ（3/0：死亡数/症例数）、カンボジア（1/1）、中国（1/1）、エジプト（5/2）、インドネシア（4/4）、ベトナム（4/4）からである。

G. 研究発表

（研究代表者分のみ、分担研究発表については各項参照）

1. 論文発表

- 1) Thuy T.B. Phung, San T. Luong, Shoji Kawachi, Hiroyuki Nunoi, Liem T. Nguyen, Toshinori Nakayama, Kazuo Suzuki. Key factor cytokines and myeloperoxidase (MPO) in Vietnamese children with acute respiratory distress syndrome and induced avian influenza (H5N1) infection. *J Infection* 62: 104-108, 2011.
- 2) Shoji Kawachi, Takeji Matsushita, T. Sato, Hiroyuki Nunoi, H. Noguchi, S. Ota, N. Kanemoto, K. Nakatani, T. Nishiguchi, A. Yuge, H. Imamura, H. Kitajima, K. Narahara, K. Suzuki, T. Miyoshi-Akiyama, T. Kirikae. Multicenter prospective evaluation of a novel rapid immunochromatographic diagnostic kit specifically detecting influenza A H1N1 2009 virus. *J Clin Virol* 51(1): 68-72, 2011.
- 3) Shotaro Hagiwara, Tatsuya Mori, Hayato Tuchiya, Someyo Sato, Misato Higa, Mika Watahiki, Miho Hoshina, Tomomi Mochizuki, Takiko Chiba, Akiyoshi Miwa, Shoji Kawachi. Multidisciplinary nutritional support for autologous hematopoietic stem cell transplantation: A cost-benefit analysis. *Nutrition*. 2011 Apr 8. [Epub ahead of print]
- 4) Mariko Baba, Yasuhiro Mehara, Atsuko Matsuya, Tomokazu Nagao, Kazuo Suzuki, Shoji Kawachi. Levels of Seventeen Different Cytokines in Bronchoalveolar Lavage Fluid Samples from Two Patients with Connective Tissue Diseases and Acute Respiratory Distress Syndrome. *IRYO* 65(8): 440-5, 2011.
- 5) Phung TTB, Sugamata R, Uno K, Aratani Y, Ozato K, Kawachi S, Nguyen LT, Nakayama

T, Suzuki K. Key role of RANTES (regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted), nonstructural protein1 and myeloperoxidase in cytokine storm induced by influenza virus PR-8(A/H1N1) infection in A549 bronchial epithelial cells. *Microbiol Immunol.* 2011; Dec; 55(12): 874-884.

- 6) Sugamata R, Dobashi H, Nagao T, Yamamoto K, Nakajima N, Sato Y, Aratani Y, Oshima M, Sata T, Kobayashi K, Kawachi S, Nakayama T, Suzuki K. The contribution of neutrophil-derived myeloperoxidase in the early phase of fulminant acute respiratory distress syndrome induced by influenza virus infection. *Microbiol Immunol.* in press.
- 7) 河内正治 : 日本臨床麻酔学会第30回大会パネルディスカッション「各国の医療事情」. ベトナムの医療事情-厚生労働省科学研究費研究班を通じてのベトナム医療との関わり-. *日臨麻会誌* 31(4): 620-628, 2011.
- 8) 河内正治 : BAL (今月の用語). *医療* 65(8) : 446, 2011.
- 9) 河内正治 : 吸入麻酔薬による ICU Sedation. *臨床麻酔* 35(10):1529-36,2011.

2. 学会発表

【国際学会】

- 1) Shoji Kawachi, Mariko Baba, Kyoko Asayama, Fumiyo Nojiri, Sae Hayashi, Yuka Shiga, Yasuhiro Maehara, Kazuo Suzuki. Levels of seventeen different cytokines in BALF from two ARDS patient with connective tissue diseases. *The Asia Pacific*

Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop, March 28-31, 2012 . Tokyo

【国内学会】

- 1) 豊永庸佑、山下陽子、朝山京子、松谷厚子、佐々木立朗、河内正治 一般腹部外科・脳神経外科緊急手術症例における周術期 AKI 発症に関する検討 第58回日本麻酔科学会学術集会 神戸市 5月 2011
- 2) 林早恵、豊永庸佑、花田真毅、大塚弘晃、石川嘉昭、河内正治 血友病、HIV感染者の肝硬変に対する自己骨髄細胞投与療法での麻酔経験 日本麻酔科学会 関東甲信越・東京支部 第51回合同学術集会 千葉市、9月、2011.
- 3) 河内正治, 布井 博幸, 鈴木和男, 中島典子, 岡本 竜哉, Nguyen Thanh Liem, Luong Thi San, Phung Thi Thuy. ウイルス性肺炎に起因する ARDS (FARDS) について-ベトナムハノイ国立小児病院 PICU における Survey : 2005-2011 より- 第17回 MPO 研究会 熊本市 10月 2011
- 4) 山下陽子、朝山京子、豊永庸佑、野尻記世、林 早恵、河内正治. 持続硬膜外注入法と単回大腿神経ブロック法による、脊髄くも膜下麻酔下人工膝関節手術術後痛の検討. 日本臨床麻酔学会第31回大会 宜野湾市 11月 2011
- 5) 青山千賀子、加藤規弘、小川佳宏、志賀由佳、河内正治. 当院での術前の抗血小板薬と術後血栓性合併症の実態報告. 日本臨床麻酔学会第31回大会 宜野湾市 11月 2011

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：特になし

ライノウイルス感染で重症 ARDS を呈した 11 症例の解析 （ハノイ国立小児病院での経験）

分担研究者 布井博幸 宮崎大学医学部生殖発達学講座 小児科学分野教授

研究協力者：

河内正治：国立国際医療センター

Thuy T.B. Phung, San T. Luong, Liem T. Nguyen：ハノイ国立小児病院、ベトナム

岡本竜哉：熊本大学

本間栄：東邦大学医療センター

鈴木和男：千葉大学

研究要旨

ハノイ国立小児病院で重症 ARDS を呈した 88 症例の中で、ライノウイルス感染症 11 症例を経験し、PCR による早期診断と早期の IVIG 療法が有効であることが明らかになった。同時に血中サイトカインや KL-6 測定による病態の解析も行い、IL-12p40, p70 と KL-6 高値と MPO 低値が予後不良因子であり、H5N1 インフルエンザウイルス（IL-12p40, p70 高値、KL-6 低値で MPO 高値が予後不良）との病態の違いが明らかになった。日本ではライノウイルス感染症による重症 ARDS はあまり経験しないが、ライノウイルス C 型による可能性も高い、中国や東南アジアでの死亡者が多く報告されてきており、今後日本でも問題となる疾患だと思われる。

A. 研究目的

はじめに：我々はこれまでハノイ国立小児病院で H5N1 インフルエンザ感染により FARDS 症状を呈する症例の臨床的な解析を後方および前方視的に行ってきた(1)。このプロジェクトでは、H5N1 インフルエンザ感染で FARDS の病態を示す 3 症例を対象として ARDS で一時的でも $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 100$ を満たす症例も同時に解析し、血中サイトカインの比較解析を報告している(2)。前回、H5N1 感染症では肺胞上皮細胞の障害が強く、血

中 KL-6 がむしろ、低値であることを報告した。

今回、88 例の $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 100$ を満たす ARDS 症例で、ライノウイルス感染症が 11 例認められた。ライノウイルスは一般にヒトの上気道感染症で最も頻度の高いウイルスで、100 を超える血清型を持つとされ、接着分子である ICAM-1 をリセプターとしている。ほとんどの血清型では普通の風邪症状を示すだけであるが、重症の気道感染症、気管支炎や喘息の悪化や肺炎を起こす