

- for Ebola and Marburg hemorrhagic fevers developed with recombinant proteins. *Clin Vaccine Immunol* 13:437-443, 2006
- (44) Morikawa S, Sakiyama T, Hasegawa H, Saijo M, Maeda A, Kurane I, Maeno G, Kimura C, Yoshida T, Asahi-Ozaki Y, Sata T, Kurata T, Kojima A. An attenuated LC16m8 smallpox vaccine: analysis of full-genome sequence and induction of immune protection. *J Virol* 79:11873-11891, 2005
- (45) Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. Antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever using a novel monoclonal antibody. *J Med Virol* 77:83-88, 2005
- (46) Fukushi S, Mizutani T, Saijo M, Matsuyama S, Miyajima N, Taguchi F, Itamura S, Kurane I, Morikawa S. Vesicular stomatitis virus pseudotyped with severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein. *J Gen Virol* 86:2269-2274, 2005
- (47) Hatakeyama S, Moriya K, Saijo M, Morisawa Y, Kurane I, Koike K, Kimura S, Morikawa S. Persisting humoral anti-smallpox immunity among the current Japanese population after the discontinuation in 1976 of routine smallpox vaccinations. *Clin Diagnostic Laboratory Immunol* 12:520-524, 2005
- (48) Saijo M, Ogino T, Taguchi F, Fukushi S, Mizutani T, Notomi T, Kanda H, Minekawa H, Matsuyama S, Long HT, Hanh NTH, Kurane I, Tashiro M, Morikawa S. Recombinant nucleocapsid protein-based IgG enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of SARS. *J Virol Methods* 125:181-186, 2005
- (49) Saijo M, Niikura M, Maeda A, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Characterization of monoclonal antibodies to Marburg virus nucleoprotein (NP) that can be used for NP-capture enzyme-linked immunosorbent assay. *J Med Virol* 76:111-118, 2005
- (50) Saijo M, Morikawa S, Fukushi S, Mizutani T, Hasegawa H, Nagata N, Iwata N, Kurane I. Inhibitory effect of mizoribine and ribavirin on the replication of severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus. *Antiviral Res* 66:159-163, 2005
- (51) Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. Recombinant nucleoprotein-based serological diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infections. *J Med Virol* 75:295-299, 2005
- (52) Saijo M, Suzutani T, Morikawa S, Kurane I. Genotypic characterization of the DNA polymerase and sensitivity to antiviral compounds of foscarnet resistant HSV-1 derived from a foscarnet-sensitive herpes simplex virus type 1. *Antimicrob Agents Chemother* 49:606-611, 2005
- (53) Mizutani T, Fukushi S, Murakami M, Hirano T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Tyrosine dephosphorylation of STAT3 in SARS coronavirus-infected Vero E6 cells. *FEBS letter* 5;577(1-2):187-92, 2004
- (54) Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Importance of Akt signaling pathway for apoptosis in SARS-CoV-infected Vero E6 cells. *Virology* 327:169-74, 2004
- (55) Mizutani T, Fukushi S, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Phosphorylation of p38 MAPK and its downstream targets in SARS coronavirus-infected cells. *Biochemical Biophysical Res Commun* 319:

1228-1234, 2004

- (56) Niikura M, Maeda A, Ikegami T, Saijo M, Kurane I, Morikawa S. Modification of endothelial cell functions by hantaan virus infection: prolonged hyper-permeability induced by TNF-alpha of hantaan virus infected endothelial cell monolayers. *Arch Virol* 149: 1279-92, 2004
- (57) Saijo M, Tang Q, Shimayi B, Han L, Zhang Y, Asiguma M, Tianshu D, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. Possible horizontal transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus from a mother to her child. *Jpn J Infect Dis* 57:55-57, 2004
- (58) Ikegami T, Niikura M, Saijo M, Miranda ME, Calaor AB, Henandez M, Acosta LP, Manalo DL, Kurane I, Yoshikawa Y, Morikawa S. Antigen-capture enzyme-linked immunosorbent assay that specifically detects Reston ebola virus nucleoprotein. *Clin Diagnostic Laboratory Immunol* 10:552-557, 2003
- (59) Suzutani T, Ishioka K, De Clercq E, Ishibashi K, Kaneko H, Kira T, Hashimoto K, Ogasawara M, Ohtani K, Wakamiya N, Saijo M. Differential mutation patterns in thymidine kinase and DNA polymerase genes of herpes simplex virus type 1 clones passaged in the presence of acyclovir or penciclovir. *Antimicrob Agents Chemother* 47:1707-1713, 2003
- (60) Tang Q, Saijo M, Zhang Y, Asiguma M, Dong T, Han L, Shimayi B, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. A patient with Crimean-Congo hemorrhagic fever diagnosed with recombinant nucleoprotein-based antibody detection systems. *Clin Diagnostic Laboratory Immunol* 10:489-491, 2003
- (61) Ikegami T, Saijo M, Niikura M, Miranda ME, Calaor AB, Fernandez M, Manalo DL, Kurane I, Yoshikawa Y, Morikawa S. Immunoglobulin G enzyme-linked immunosorbent assay using truncated nucleoproteins of Reston Ebola virus. *Epidemiol Infect* 130:533-539, 2003
- (62) Tang Q, Saijo M, Lei H, Maeda A, Ikegami T, Xinjung W, Kurane I, Morikawa S. Detection of immunoglobulin G to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in sheep sera by nucleoprotein-based enzyme-linked immunosorbent and immunofluorescence assays. *J Virol Methods* 108:111-116, 2003
- (63) Ikegami T, Miranda ME, Calaor AB, Manalo DL, Miranda NJ, Niikura M, Saijo M, Une Y, Nomura Y, Kurane I, Ksiazek TG, Yoshikawa Y, Morikawa S. Histopathology of natural Ebola virus subtype Reston infection in Cynomolgus Macaques during the Philippine outbreak in 1996. *Experimental Animals* 51: 447-455, 2002
- (64) Maeda A, Hee LB, Yoshimatsu K, Saijo M, Kurane I, Arikawa J, Morikawa S. The intracellular association of the nucleocapsid protein (NP) of Hantaan virus (HTNV) with small ubiquitin-like modifier-1 (SUMO-1). *Virology* 305, 288-297, 2003
- (65) Niikura M, Ikegami T, Saijo M, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Linear B cell epitopes on the nucleoprotein of Ebola virus that distinguish Ebola subtypes. *Clin Diagnostics Laboratory Immunol* 10:83-87, 2003
- (66) Ikegami T, Saijo M, Niikura M, Miranda MEG, Calaor AB, Hernandez M, Manalo DL, Kurane I, Yoshikawa Y, Morikawa S. Development of an immunofluorescence method for detection of antibodies to Ebola virus subtype Reston by the use of recombinant nucleoprotein-expressing HeLa

- cells. *Microbiol Immunol* 46:633-638, 2002
- (67) Saijo M, Suzutani T, De Clercq E, Maeda A, Morikawa S, Kurane I. Genotypic and phenotypic characterization of the thymidine kinase of ACV-resistant HSV-1 derived from an acyclovir-sensitive herpes simplex virus type 1 strain. *Antiviral Res* 56:253-262, 2002
- (68) Murono K, Hirano Y, Zhang J, Saijo M, Fujita K. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a pediatric ward. *Pediatrics International* 44:24-27, 2002
- (69) Niikura M, Takamura S, Kim G, Kawai S, Saijo M, Morikawa S, Kurane I, Li T-C, Takeda N, Yasutomi Y. Chimeric Recombinant Hepatitis E Virus-like Particles as an Oral Vaccine Vehicle Presenting Foreign Epitopes. *Virology* 293:273-280, 2002
- (70) Saijo M, Yasuda Y, Yabe H, Kato S, Suzutani T, E de Clercq, Niikura M, Maeda A, Kurane I, Morikawa S. Bone marrow transplantation in a child with Wiskott-Aldrich syndrome latently infected with acyclovir-resistant (ACVr) herpes simplex virus type 1: emergence of foscarnet-resistant virus originating from the ACVr virus. *J Med Virol* 68:99-104, 2002
- (71) Saijo M, Tang Q, Niikura M, Maeda A, Ikegami T, Kurane I, Morikawa S. Recombinant nucleoprotein based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin G to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Clin Microbiol* 40:1587-1591, 2002
- (72) Morikawa S, Qing T, Xinqin Z, Saijo M, and Kurane I. Genetic diversity of the M RNA segment among Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus isolates in China. *Virology* 296:159-164, 2002
- (73) Saijo M, Tang Q, Niikura M, Maeda A, Ikegami T, Kurane I, Prehaud C, Morikawa S. Immunofluorescence technique using HeLa cells expressing recombinant nucleoprotein of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Clin Microbiol* 40:372-375, 2002
- (74) Saijo M, Suzutani T, Niikura M, Morikawa S, Kurane I. Importance of C-terminus of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase for maintaining thymidine kinase and acyclovir-phosphorylation activities. *J Med Virol* 66:388-393, 2002
- (75) Ikegami T, Calaor AB, Miranda ME, Niikura M, Saijo M, Kurane I, Yoshikawa Y, Morikawa S. Genome structure of Ebola virus subtype Reston: differences among Ebola subtypes. *Arch Virol* 146:2021-2027, 2001
- (76) Niikura M, Ikegami T, Saijo M, Kurane I, Miranda ME, Morikawa S. Detection of ebola viral antigen by enzyme-linked immunosorbent assay using a novel monoclonal antibody to nucleoprotein. *J Clin Microbiol* 39:3267-3271, 2001
- (77) Saijo M, Niikura M, Morikawa S, Ksiazek TG, Meyer RF, Peters CJ, Kurane I. Enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to Ebola and Marburg viruses using recombinant nucleoproteins. *J Clin Microbiol* 39:1-7, 2001
- (78) Saijo M, Niikura M, Morikawa S, Kurane I. Immunofluorescence Method for Detection of Ebola Virus Immunoglobulin G, Using HeLa Cells Which Express Recombinant Nucleoprotein. *J Clin Microbiol* 39:776-778, 2001
- (79) Nagamine M, Suzutani T, Saijo M, Hayashi K, Azuma M. Comparison of polymorphism of thymidine kinase gene and restriction fragment length polymorphism of genomic DNA in herpes

- simplex virus type 1. *J Clin Microbiol* 38:2750-2752, 2000
- (80) Suzutani T, Saijo M, Nagamine M, Ogasawara M, Azuma M. Rapid phenotypic characterization method for herpes simplex virus and Varicella-Zoster virus thymidine kinases to screen for acyclovir-resistant viral infection. *J Clin Microbiol* 38:1839-1844, 2000
- (81) Murono K, Fujita K, Saijo M, Hirano Y, Zhang J, Murai T. Emergence and spread of a new clone of M type 1 group A streptococcus coincident with the increase in invasive diseases in Japan. *Pediatric Infect Dis J* 18: 254-257, 1999
- (82) Saijo M, Suzutani T, Itoh K, Hirano Y, Murono K, Nagamine M, Mizuta K, Niikura M, Morikawa S. Nucleotide sequence of thymidine kinase gene of sequential acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1 isolates recovered from a child with Wiskott-Aldrich syndrome: evidence for reactivation of acyclovir-resistant herpes simplex virus. *J Med Virol* 58:387-393, 1999
- (83) Saijo M, Terunuma H, Mizuta K, Mpabalwani EM, Monze M, Oshitani H, Luo N, Suzuki H, Numazaki Y. Respiratory syncytial virus infection in children with acute respiratory infections in Zambia. *Epidemiol Infect* 121:397-400, 1998
- (84) Saijo M, Suzutani T, Murono K, Hirano Y, Itoh K. Recurrent aciclovir-resistant herpes simplex in a child with Wiskott-Aldrich syndrome. *Br J Dermatol* 139:311-314, 1998
- (85) Chiba A, Suzutani T, Saijo M, Koyano S, Azuma M. Analysis of nucleotide sequence variations in herpes simplex virus type 1 and 2, and varicella-zoster virus. *Acta Virol* 42:401-407, 1998
- (86) Suzutani T, Koyano S, Saijo M, Chiba A, Azuma M. Analysis of the non-sense mutants of varicella-zoster virus thymidine kinase. *Archives of Virology* 142:2059-2064, 1997
- (87) Mizuta K, Oshitani H, Saijo M, Mpabalwani EM, Kasolo FC, Luo NP, Suzuki H, Numazaki, Y. Epidemiology of influenza virus infections in children with acute respiratory infections in Zambia. *Ann Trop Paediatr* 17:115-119, 1997
- (88) Saijo M, Ishii T, Kokubo M, Murono K, Takimoto M, Fujita K. White blood cell count, C-reactive protein and erythrocyte sedimentation rate in respiratory syncytial virus infection of the lower respiratory tract. *Acta Paediatrica Jpn* 38:596-600, 1996
- (89) Mpabalwani EM, Monze M, Saijo M, Terunuma H, Luo NP. Poliomyelitis outbreak in Zambia. *Lancet* 347:1633, 1996
- (90) Saijo M, Saijo H, Yamamoto M, Takimoto M, Murono K, Fujita K. Thrombocytopenic purpura associated with primary human herpesvirus 6 infection. *Pediatric Infect Dis J* 14:405, 1995
- (91) Saijo M, Takahashi S, Kokubo M, Saino T, In-Yaku F, Ishii T, Takimoto M, Takahashi Y. The role of respiratory syncytial virus in acute bronchiolitis in small children in northern Japan. *Acta Paediatrica Jpn* 36: 371-374, 1994
- (92) Murono K, Fujita K, Yoshikawa M, Saijo M, Inyaku F, Kakehashi H, Tsukamoto T. Acquisition of nonmaternal enterobacteriaceae by infants delivered in hospitals. *J Pediatr* 122:120-125, 1993
- (93) Saijo M, Ishii T, Kokubo M, Takimoto M, Takahashi Y. Respiratory syncytial virus infection in lower respiratory tract and asthma attack in hospitalized children in North Hokkaido, Japan. *Acta Paediatrica Jpn* 35:233-237, 1993

- (94) Azuma H, Sakata H, Saijo M, Okuno A. Effect of interleukin 2 on intractable herpes virus infection and chronic eczematoid dermatitis in a patient with Wiskott-Aldrich syndrome. Eur J Pediatr 152:998-1000, 1993
- (95) Sakuma T, Saijo M, Suzutani T, Yoshida I, Saito I, Kitagawa M, Hasegawa S, Azuma M. Antimicrob Agents Chemother 35:1512-1514, 1991

・ 平成 24 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規公募課題の応募状況

「病原体及び毒素の管理システムおよび評価に関する総括的な研究(24171301)」

臓器移植患者の予後およびQOLの向上のための真菌やウイルス感染症の予防・診断・治療に関する研究 (H21-新興-一般-009)

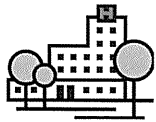
国立感染症研究所
ウイルス第一部長
西條政幸

研究チーム

No.	研究者名	所属機関	担当項目
1	西條政幸	国立感染症研究所	臓器提供者の感染症のスクリーニング法に関する研究
2	井上直樹	国立感染症研究所	感染初期過程を阻害する新規抗ヘルペスウイルス化合物の解析
3	一山智	京都大学大学院医学研究科	生体肝移植患者における深在性真菌感染症等に関する研究
4	大野秀明	国立感染症研究所	真菌の潜伏感染メカニズム解明とその検出法に関する研究
5	片野晴隆	国立感染症研究所	新規CMV感染細胞検出法の移植医療への応用に関する研究
6	加藤優一	東海大学医学部	臓器移植患者におけるウイルス感染症の精緻なモニタリングと移植患者の管理への応用
7	木内哲也	名古屋大学大学院医学系研究科	移植医療の発展に伴って多様化する感染症の解析
8	木村宏	名古屋大学大学院医学系研究科	移植後EBVリンパ増殖症に対する迅速診断法・治療効果判定法の確立
9	鎌谷達夫	福島県立医科大学医学部	新規技術を用いた細菌、真菌感染症の迅速で正確な感染診断技術の開発とその評価
10	谷口裕一	国家公務員共済組合連合会 先の門衛院	移植医療の発展に伴って多様化する感染症の解析
11	森康子	神戸大学大学院医学研究科	VZV特異的免疫能の測定と再活性化の関連性の解析
12	吉川哲史	藤田保健衛生大学医学部	移植後HHV-6感染の診断・治療法確立

研究チーム

本研究班では、臨床研究に力を入れた。



臓器移植患者における感染症対策のための臨床的研究

- ・ 病棟内における呼吸器ウイルス感染症の調査・解析
- ・ 真菌感染症の実態調査
- ・ ワクチン接種のあり方に関する研究
- ・ 移植患者における新規感染症診断法の評価
- ・ 臓器移植患者における真菌感染症全国調査

臓器移植患者における感染症対策のための基礎的研究

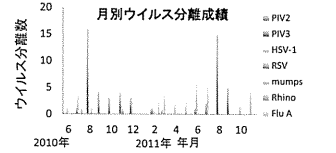
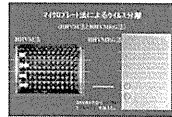
- ・ ヘルペスウイルス感染症対策
- ・ 真菌等感染症の新規診断法の開発
- ・ 臓器移植関連稀少ウイルス感染症の診断法の開発
- ・ 移植患者における呼吸器ウイルス感染症の病態に関する研究

滋賀県済生会、東海大学(造血幹細胞移植)
名古屋大学、京都大学(肝臓移植、免疫不全)
藤田衛生大学(臓器移植)

国立感染症研究所、福島医大、名古屋大学、藤田衛生大学、神戸大学

造血幹細胞移植患者におけるウイルス感染症に関する前方視的検討

エンドリー患者の咽部スワブを定期的に採取、ウイルス分離検査
培地に接種して、冷蔵しながら、国立病院機構血液病センターウイルスセンターに搬送。
目標検体数(24検体/週、1200検体/年)
・ 研究期間: 2年



- ・ 呼吸器ウイルス感染症
 - 呼吸器ウイルスによる下気道感染症の症例では、明らかに致死率が高い。
 - PIV3による気道感染症が流行を防ぐ良い方策がない(無症候性長期PIV3排出者の存在)。
- ・ HSV-1感染症
 - HSV-1が検出される患者の約半数(10/22)が死亡された。
 - 造血幹細胞移植後早期からHSV-1が継続的に口腔内に排出される患者では、アシクロビル耐性HSV-1が出現し、より予後が不良であることが明らかになった。

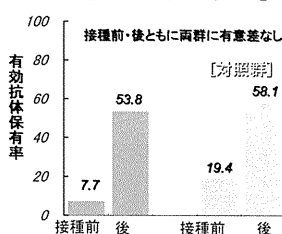
肝移植後患者におけるワクチン接種のあり方

- 1) 肝移植後HBVワクチンによる能動免疫: HBVキャリア症例とHBV既感染ドナー症例をめぐって
- 2) 肝移植後慢性期の小児における2009新型H1N1インフルエンザワクチンの有効性と安全性に関する検討

患者背景と副反応

	移植群 (43例)	対照群 (31例)
接種時年齢(歳)	6.1 (2.0-17.7)	9.3 (2.6-17.2)
男/女	8/5	18/13
移植後年数	4.1±1.8	-
タリムスチラフ濃度(ng/ml)	2.1±0.8	-
重大な副反応	0/13	0/31
拒絶反応	0/13	-
接種後インフルエンザ罹患	0/13	1/31

[HI抗体価の変化]



接種前・後とも両群に有意差なし

結語

1. B型肝炎ワクチン

- ◆ HBVワクチン有効性に関与する因子としてレシエントの若年・女性・ドナーHBe抗体高価が挙げられたが、レシエントのHBV状態が最も強い因子であった。
- ◆ 今後の課題: 特にHBVキャリア症例におけるHBV再活性化予防の効率向上策として、ワクチン有効性予測因子の検討、有効性のある患者の選別、無効が予測される患者に対する戦略の変更等が重要と考えられた。

2. インフルエンザワクチン

- ◆ 肝移植後慢性期小児における2009H1N1インフルエンザワクチンは従来の季節性インフルエンザワクチンと同様、非免疫抑制下の対照群と同等の抗体誘導効果を示した。
- ◆ 今後の課題: 移植後接種可能時期/状態、接種反応性の予測因子、接種効果の臨床的確認、アジュバントの必要性・安全性、成人を含めた年齢の影響

新規抗ヘルペス薬の開発

1) レポーター細胞 (Wang他2006; Fukui他2008)を用いて、9600化合物から新規抗CMV及び抗VZV候補化合物を同定。

2) 耐性株作出により、抗VZV化合物のひとつ35B2が、過去に報告のない作用機序でカプシド形成を阻害することを解明 (Inoue他投稿中)。

	HHEL		GPL	
	EC50(nM)	CC50(nM)	EC50(nM)	CC50(nM)
35B2	0.75 ± 0.18	162.1 ± 1.3	0.47 ± 0.06	152.5 ± 5.9
ACV	4.25 ± 0.48	nd	>25	nd

既存薬より効果大、毒性低 (選択効果>200以上)

3) 抗CMV化合物の迅速評価のためのIn vivo imaging系を構築 (Yamada他2010)

DNAを用いた細菌・真菌感染症の診断の試み

虎ノ門病院で造血幹細胞移植後の入院中の発熱患者より血液を採取し (98検体)、細菌・真菌の遺伝子検査 (陽性75検体)を行った。同時に虎ノ門病院において血液培養検査 (培養陽性33検体)を実施した。

細菌16S rRNA gene (約1500bp)

真菌リボソームRNA遺伝子には含まれたITS2領域

検体	DNA/RNA量	RNAウイルスPCR	クローニング結果	クローニング結果	クローニング結果	血液培養
TO	16.56	4762.11	<i>S. warneri</i> , <i>S. haemolyticus</i>	<i>S. haemolyticus</i>	解析不可	<i>S. haemolyticus</i>
91	4.225	303.58	<i>Serratia proteamaculans</i>	<i>Serratia proteamaculans</i>	<i>Serratia proteamaculans</i>	ESBL

進行性多巣性白質脳症 (JCウイルス)

MRI (FLAIR)

リアルタイム濃度測定装置 (LA-320C)

→検出限界10⁷/tube

1) LAMP法を用いた新興性の迅速診断および定量法の開発

2) JCウイルス感染症(進行性多巣性白質脳症)の病理学的解析

後期転写産物の発現レベルや局在パターンは様々

PML患者 (58名) の基礎疾患

- 血液疾患: 20.7% (12名)
- HIV感染症: 34.5% (20名)
- 自己免疫疾患: 6.9% (4名)
- その他: 37.9% (22名)

ELISPOT法を用いたHHV-6 特異的細胞性免疫能の測定法の確立

陽性コントロール: phytohemagglutinin (PHA) 2 μg/mL

陰性コントロール: 10% FCS含有RPMI1640 (culture medium)

本研究班で研究対象とした感染症と疾患

0か月 2か月 4か月 6か月

単純ヘルペスウイルス

腺ウイルス/BKウイルス

サイトメガロウイルス

EBVウイルス

水痘帯状疱疹ウイルス

JCウイルス

EBVウイルスリンパ増殖症

出血帯状疱疹ウイルス 帯状疱疹

出血性膀胱炎

進行性多巣性白質脳症

間質性肺炎

リンパ増殖症

移植物対宿主病

感染症スクリーニング

LCMウイルス感染症

移植後早期感染症対策

- 呼吸器ウイルス感染症
- 深部真菌感染症 (診断法・サーベイランス)
- リアルタイムPCRによるウイルス感染症のモニタリングと治療効果改善のための研究
- 薬剤耐性ヘルペスウイルス感染症対策
 - 新規抗ヘルペス薬の開発
 - 新規迅速薬剤感受性試験法の開発

移植後中後期感染症対策

- 生体肝移植患者に対するワクチン接種のあり方の検討 (HBワクチン, インフルエンザワクチン)
- 深部真菌感染症 (診断法・サーベイランス)
- 細胞性免疫再構築の評価法の開発
- 慢性ウイルス感染症対策に関する研究 (EBVによるリンパ増殖法, JCVによる進行性多巣性白質脳症)

3年間の成果のまとめ

- 臓器移植患者におけるヘルペスウイルス感染症対策
- 臓器移植関連稀少感染症診断システム開発と整備
- 造血幹細胞移植病棟における呼吸器ウイルス感染症の調査と対策
- 臓器移植患者における真菌感染症のサーベイランス (全国調査)
- 臓器移植患者の感染症対策における問題点、リスク解析
- 新規真菌感染症診断システム開発と評価
- 「臓器移植患者におけるヘルペスウイルス感染症対策マニュアル」の作成

平成 23 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 『成果概要』

研究課題：インフルエンザ脳症など重症インフルエンザの発症機序の解明と
それに基づく治療法・予防方法の確立に関する研究

課題番号： H21-新興-一般-010
 予定期間： H21 年度から H23 年度まで
 研究代表者： 森島恒雄
 所属研究機関： 岡山大学
 所属部局： 大学院医歯薬学総合研究科
 職名： 教授

年次別研究費(交付決定額)：

1 年目 57,200,000 円 2 年 62,920,000 円 3 年目 57,257,000 円 計 177,377,000 円

I. 研究の意義

- (1) インフルエンザ脳症の予後は悪く、病態解明を通じた有効な治療法の確立が喫緊の課題である。
- (2) 「新型インフルエンザ」脳症の臨床像および病態を速やかに解明し、予防・治療に役立てる。
- (3) 本症の病態の解明は、インフルエンザによる「重症肺炎」などの治療法確立にも役立つ可能性が高い。
- (4) 宿主側の発症因子の解明とそれに基づく発症前診断・早期治療の重要性が増している。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 本症の病態(サイトカイン・ケモカインによる脳障害および多臓器不全)をさらに解明を進めることで、より有効な治療法を確立する。特にフリーラジカルによる障害や血液・脳関門の破壊における MMP9/TIMP-1 の役割が明らかになり、これらの制御が予後の改善につながる。実際にこれらの研究成果は、インフルエンザ脳症ガイドライン改訂版(本研究班 2009 年 9 月作成)に反映された。
- (2) 発症因子としての宿主側因子の解明は、発症前診断およびインフルエンザ感染後の早期治療につながり、本症の予後を劇的に改善しうる。
- (3) 従来の病態解明から、脳症で見られる病態は、H5N1 高病原性鳥インフルエンザヒト重症例の病態と類似しており、本症の治療法が有用となる可能性が高い。
- (4) 治療法が確立していない(年間約 1000 例)小児急性脳炎・脳症全体(年間約 1000 例)の治療法に、重要な情報を提供できる。

III. 3 年間の研究成果

「新型インフルエンザ」脳症の臨床像を明らかにした。2009 年 9 月本研究班によるインフルエンザ脳症ガイドラインを改訂し、現在広く一般診療の中で用いられている。これにより「新型インフルエンザ」脳症の予後は有意に改善した。また、日本の「新型インフルエンザ」による 15 歳未満の小児死亡全 41 例の詳細な調査を実施し、死亡に至る病態を明らかにした。「同」脳症と肺炎におけるサイトカイン・ケモカインの動態および宿主側遺伝子発現の差異について重要な知見を得た。また、発症に関与する宿主側因子についていくつかの重要な SNP が見つかっている(詳細を検討中)。

・ 研究代表者(森島恒雄)

- (1) 「新型インフルエンザ」脳症の全国調査を実施し、結果を公表した。厚生労働省と連携して国民向けポスター作成や脳症発症への注意喚起などを実施した。

- (2) TNF α が MMP9 を活性化し脳血管閉塞を破壊する機序をマウスモデルで明らかにした。
- (3) DNA マイクロアレイによる「新型インフルエンザ」脳症・肺炎の急性期に発現する mRNA を明らかにした。
- ・ 研究分担者 - 以下同 - (岡部信彦) : 脳症の疫学調査および世界各国との違いについて明らかにした。
 - ・ (蒔田泰誠) : SNPs 解析による宿主側因子の解明を継続中。
 - ・ (河岡義裕) : ウイルスの増殖を制御に関わるウイルス側および宿主(細胞)の因子を明らかにした。
 - ・ (山口清次) : 脂肪酸 β 酸化がインフルエンザ脳症の発症機序として重要であることを示した。
 - ・ (水口雅) : インフルエンザ脳症ガイドライン改訂版の作成を中心となってまとめた。SNP 解析を実施。
 - ・ (市山高志) : 脳症において神経障害のマーカーとして Neurofilament が重要であることを示した。
 - ・ (長谷川秀樹) : (1) 「新型インフルエンザ」ウイルスのフェレット感染モデルを作った。
 - ・ (2) ヒト「新型インフルエンザ」死亡例の病理で、2 型 Pneumocyte が感染していることを示した。
 - ・ (奥村彰久) : 「新型インフルエンザ」小児死亡例 41 例の詳細な調査を実施し、重症な知見を得た。
 - ・ (伊藤嘉規) : 「新型インフルエンザ」肺炎および脳症におけるサイトカインの推移を調べた。
 - ・ (河島尚志) (2) 「新型インフルエンザ」肺炎および脳症におけるサイトカイン・ケモカインおよびフリーラジカルの病態への関与を調べた。
 - ・ (新矢恭子) : 特に H5N1 高病原性鳥インフルエンザ感染モデルとしてサルを用いて DNA マイクロアレイにより急性期宿主 mRNA の発現を検討した。
 - ・ (塚原宏一) : インフルエンザ脳症・肺炎における酸化ストレスの役割を明らかにした。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 病態解析で明らかになった酸化ストレスマーカー、COX2, MMP9, などによる血液脳関門の破壊とそれに続く脳障害のメカニズムを明らかにし、治療法の確立に役立てる。キーワードは redox の制御。
- (2) インフルエンザにおける「脳症」と「重症肺炎」の病態について解析し、両者に有効な治療法の確立を目指す。これは、来る「新型」インフルエンザに対する予防・治療の上で極めて重要と思われる。
- (3) H5N1 高病原性鳥インフルエンザヒト重症例とインフルエンザ脳症(特に新型)との類似点と異なる点について明らかにし、あらかじめ想定しうる「重症例」に対する治療法を検討する。
- (4) 最終段階にあるインフルエンザ脳症宿主側発症因子を明らかにし、発症前診断につなげる。

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) インフルエンザ脳症ガイドライン改訂版により「新型インフルエンザ」脳症の予後を改善することができた。
- (2) 「新型インフルエンザ」小児死亡例の全例調査により、その実態を明らかにし、次期のパンデミックに役立つ情報を得ることができた。
- (3) 年間約 1000 例発症する小児の急性脳炎・脳症治療法開発に本研究班の結果を役立てることができる。
- (4) 脅威となっている H5N1 高病原性鳥インフルエンザヒト感染例に対する治療法について、本研究で得られた知見は基本的な治療戦略を立てることに役立つ。
- (5) 「新型インフルエンザ」により米国でも成人を含めた重症インフルエンザ脳症の報告が多く、治療法について問い合わせが続いている。世界的に本研究班のガイドラインは貢献している。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

- ・ インフルエンザ脳症ガイドライン改訂版 2009. 9 月厚生労働省研究班 (本研究班 : 主任研究者森島恒雄)
- ・ Okumura A, (途中 10 名), Morishima T. Deaths Associated with Pandemic (H1N1) 2009 among Children, Japan, 2009–2010. *Emerg Infect Dis.* 2011 Nov;17(11):1993–2000.
- ・ Ito Y, (他 11 名), Morishima T, 他. Increased levels of cytokines and high-mobility group box 1 are associated

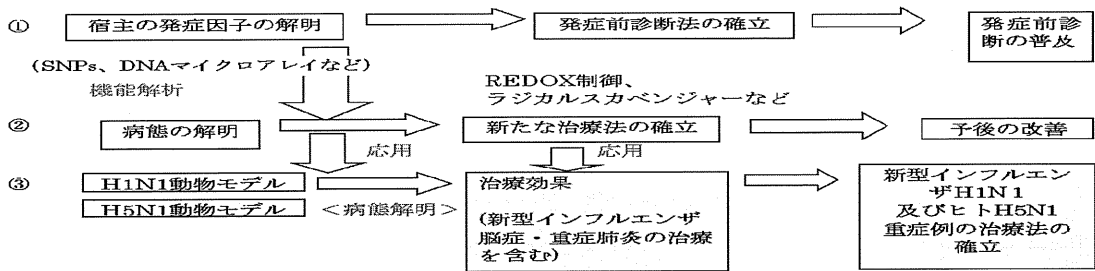
with the development of severe pneumonia, but not acute encephalopathy, in 2009 H1N1 influenza-infected children. *Cytokine*, 56:180–7, 2011.

- Shinya K, Makino A, Hatta M, Watanabe S, Kim JH, Hatta Y, Gao P, Ozawa M, Le QM, Kawaoka Y. 3. Subclinical Brain Injury Caused by H5N1 Influenza Virus Infection. *J Virol*. 2011 May;85(10):5202–7.
- Suzuki T, (途中 4 名), Hasegawa H. A novel function of the N-terminal domain of PA in assembly of influenza A virus RNA polymerase. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 Nov 4;414(4):719–26.
- Tsukahara T. Oxidative stress biomarkers in pediatric medicine: A 2011 update. *Systems Biology of Free Radicals and Anti-Oxidants* (Laher I, ed;Springer-Verlag) 2011 (in press).
- Nakajima N, Sato Y, Katano H, Hasegawa H, Kumasaka T, Hata S, Tanaka S, Amano T, Kasai T, Chong JM, Iiduka T, Nakazato I, Hino Y, Hamamatsu A, Horiguchi H, Tanaka T, Hasagawa A, Kanaya Y, Oku R, Oya T, Sata T. Histopathological and immunohistochemical findings of 20 autopsy cases with 2009 H1N1 virus infection. *Mod Pathol*. 2011 Aug 26. doi: 10.1038/modpathol.2011.125. [Epub ahead of print]
- Kawashima H, Yamanaka G, Ishii C, Kashiwagi Y, Takekuma K, Watanabe Y. Nitrite and nitrate as a new target of treatments in influenza-associated encephalopathy *J Pediatr Infect Diseases* 2010;5:171–76
- 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: 477–481.
- Tsuge M, Yasui K, Ichiyawa T, Saito Y, Nagaoka Y, Yashiro M, Yamashita N, Morishima T. Increase of tumor necrosis factor- α in the blood induces early activation of matrix metalloproteinase-9 in the brain. *Microbiol Immunol*. 54(7): 417–24, 2010.
- Ichiyama T. Acute encephalopathy/encephalitis in childhood: a relatively common and potentially devastating clinical syndrome. *Brain Dev* 2010; 32: 433–434.
- Kawashima H, Go S, Kashiwagi Y, Morishima Y, Miura T, Ushio M, Nishimata S, Takekuma K. Cytokine profiles of suction pulmonary secretions from children infected with pandemic influenza A(H1N1) 2009. *Crit Care*. 2010;14:411.
- Wada T, Morishima T, Okumura A, Tashiro M, Hosoya M, Shiomi M, Okuno Y: Differences in clinical manifestations of influenza-associated encephalopathy by age. *Microbiology and Immunology* 53(2):83–88, 2009.
- 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): 449–452delCTGA is a Common Mutation in Japanese Patients with MCADD. *Molecular Genetics and Metabolism* 96(2): 77–79, 2009
- Okumura A, Mizuguchi M, Kidokoro H, Tanaka M, Abe S, Hosoya M, Aiba H, Maegaki Y, Yamamoto H, Tanabe T, Noda E, Imataka G, Kurahashi H: Outcome of acute necrotizing encephalopathy in relation to treatment with corticosteroids and gammaglobulin. *Brain Dev* 2009; 31(3): 221–227.
- Okumura A, Abe S, Kidokoro H, Mizuguchi M. Acute necrotizing encephalopathy: a comparison between influenza and non-influenza cases. *Microbiol Immunol*. 2009; 53(5): 277–280.
- Okumura A, Kidokoro H, Tsuji T, Suzuki M, Kubota T, Kato T, Komatsu M, Shono T, Hayakawa F, Shimizu T, Morishima T: Differences of clinical manifestations according to the patterns of brain lesions in acute encephalopathy with reduced diffusion in the bilateral hemispheres. *American Journal of Neuroradiology* 30:825–830, 2009.

Ⅶ. Ⅲ(3年間の研究成果)の概要図等

(1)「新型インフルエンザ」脳症

- ①「新型」インフルエンザ脳症全国調査を実施し、全容を明らかにした。
- ②「新型」インフルエンザ病態/ガイドライン改訂を行い、全国に普及させた。
- ③「新型」インフルエンザ小児死亡例全例調査し、死亡原因を明らかにした。
- ④「新型」インフルエンザ脳症小児例の病理を明らかにした。
- ⑤発症に関与する宿主側因子の検討し、いくつかの可能性のある因子を示した。
- ⑥マイクロアレイ解析により、肺炎と脳症の宿主側反応因子の差を示した。
- ⑦病態の比較を通じてH5N1ヒト重症例の治療法の確立に向けて、検討を進めている。



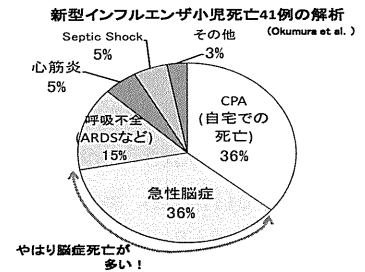
A 「新型インフルエンザ」脳症

(1) 臨床像(全国調査を研究班で実施 2009/2010)

- ・2010年3月末現在、188例が報告されていた。
- ・「新型インフルエンザ」脳症は、季節型に比べ年長児に多かった。
- ・初期神経症状として、新型では「異常行動」が多く、発症年齢分布の差が影響していると考えられた。
- ・頭部MRI所見で「脳梁異常」を呈する例があり、異常行動との関連が示唆された。
- ・死亡例が13例(7%) 後遺症例が23例(14.4%)であった。
- ・後遺症は季節性に比較してやや少なかった。
- ・死亡群と重度後遺症群では、治療経過中のAST、CKの上昇が著明で、季節性同様、新型インフルエンザ脳症の病態にサイトカインの関与が推定された。

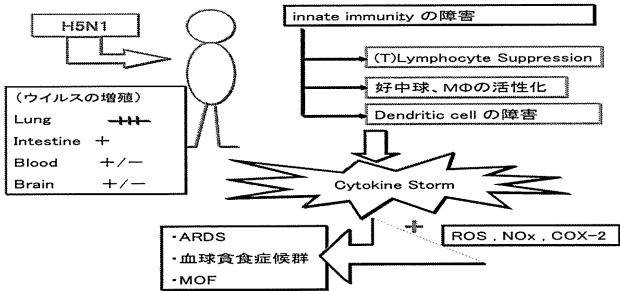
(2)「新型インフルエンザ」

小児死亡全41例の調査



B インフルエンザ脳症と H5N1 高病原性鳥インフルエンザの類似点を明らかにした

現在推測されるH5N1重症化の機序



「新型インフルエンザ」にみられた宿主遺伝子の発現

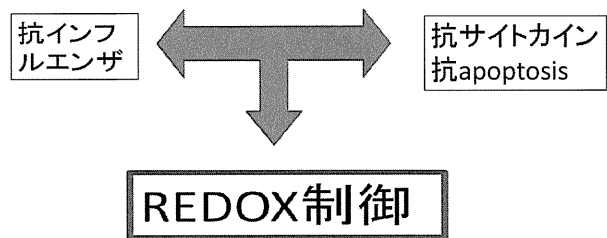
中枢神経群のみ	両方で高発現	肺炎群でのみ
α-シヌクレイン	UNTNP3	IgE
PTGS2 (COX2の発現に強く関与)	IL-1	SOD-2
	脂肪酸代謝	XCL-1

C 重症化に関与する宿主因子の解明

現在しばらく込みが進んでいる宿主側因子

- ①MAT1A: メチオニン代謝関連酵素
- ②CPT2: カルニチン代謝関連酵素
- ③MMP-9/TIMP-1: 血液脳関門基底膜障害
- ④CNTNAP-3: ニューロン・グリアinteraction関連蛋白
- ⑤COX2: プロスタグランジンEの関連酵素
- ⑥αシヌクレイン: パーキンソン病関連蛋白
- ⑦アデノシン受容体関連 (ADORA2a) 遺伝子多型の関与

D 可能性のある重症インフルエンザ治療法



●研究代表者の研究歴等

・ 過去に所属した研究機関の履歴

- ・ 名古屋大学医学部小児科 (1975-2003) ・ 東京大学医科学研究所病理研究部 (1976-1977)
- ・ NIDR, NIH 米国 (1979-1981) ・ 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学 (2003-現在)

・ 主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- ・ 鈴木栄 (名古屋大学小児科) ・ 青山友三 (東京大学医科学研究所 病理研究部)
- ・ A. L. Notkins (NIDR, NIH) ・ R. J. Whitley (アラバマ大学小児科)
- ・ 岡部信彦、佐多徹太郎 6 (国立感染症研究所)

・ 主な研究課題

- ・ インフルエンザ脳症の病態・診断・治療法の開発に関する研究
- ・ 小児の急性脳炎・脳症の病態・診断・治療に関する研究
- ・ ウイルスの母子感染に関する研究 (HCV、HBV、HSV、CMV など)
- ・ 重症ウイルス感染症の病態・診断・治療に関する研究 (EBV、HSV、CMV、インフルエンザなど)

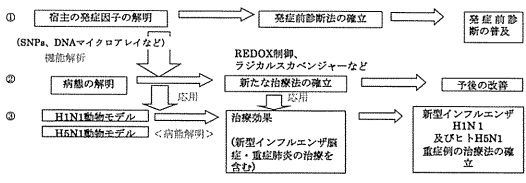
・ これまでの研究実績

- (1) Okumura A, (途中 10 名), Morishima T. Deaths Associated with Pandemic (H1N1) 2009 among Children, Japan, 2009-2010. *Emerg Infect Dis.* 2011 Nov;17(11):1993-2000.
 - (2) Tsuge M, Yasui K, Ichiyawa T, Saito Y, Nagaoka Y, Yashiro M, Yamashita N, Morishima T. Increase of tumor necrosis factor- α in the blood induces early activation of matrix metalloproteinase-9 in the brain. *Microbiol Immunol.* 2010 Jul;54(7):417-24.
 - (3) Wada T, Morishima T, Okumura A, Tashiro M, Hosoya M, Shiomi M, Okuno Y. Differences in clinical manifestations of influenza-associated encephalopathy by age. *Microbiol Immunol.* 2009 Feb;53(2):83-9.
 - (4) Nagao T, Morishima T, Kimura H, Yokota S, Yamashita N, Ichiyama T, Kurihara M, Miyazaki C, Okabe N. Prognostic factors in influenza-associated encephalopathy. *Pediatr Infect Dis J.* 2008 May;27(5):384-9.
 - (5) Ichiyama T, Morishima T, Kajimoto M, Matsushige T, Matsubara T, Furukawa S. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in influenza-associated encephalopathy. *Pediatr Infect Dis J.* 26(6):542-4, 2007.
 - (6) Kawada J, Kimura H, Kawachi Y, Nishikawa K, Taniguchi M, Nagaoka K, Kurahashi H, Kojima S, Morishima T. Analysis of gene-expression profiles by oligonucleotide microarray in children with influenza. *J. Gen. Virol.* 87(Pt6):1677-1683, 2006.
 - (7) Ichiyama T, Morishima T, Suenaga N, Kajimoto M, Matsubara T, Furukawa S. Analysis of serum soluble CD40 ligand in patients with influenza virus-associated encephalopathy. *J Neurol Sci.* 239(1):53-57, 2005.
 - (8) Kawada J, Kimura H, Ito Y, And Y, Tanaka-Kitajima N, Hayakawa M, Nuno H, Endo F, Morishima T. Evaluation of systemic inflammatory responses in neonates with herpes simplex virus infection. *J. Infect. Dis.* 190(3):494-498, 2004.
 - (9) Kawada J, Kimura H, Ito Y, Hara S, Iriyama M, Yoshikawa T, Morishima T. Systemic cytokine response in patients with influenza-associated encephalopathy. *J. Infect. Dis.* 188(5):137-140, 2003.
 - (10) Morishima T, Togashi T, Yokota S, Okuno Y, Miyazaki C, Tashiro M, Okabe N; Collaborative Study Group on Influenza-associated Encephalopathy in Japan. Encephalitis and encephalopathy associated with an influenza epidemic in Japan. *Clin. Infect. Dis.* 35(5):512-517, 2002.
- ・ 平成 24 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業への新規公募課題の応募状況
 - ・ 重症のインフルエンザによる肺炎・脳症の診断・治療に関する研究(24170101) : 主任研究者
 - ・ 重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原性因子及び診療の標準化に関する研究(24171101) 分担研究者

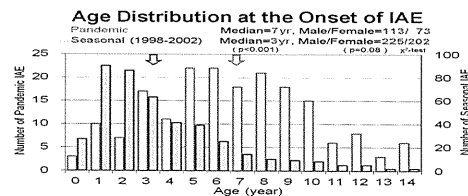
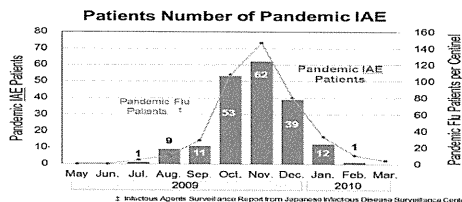
平成21—23年度研究成果概要

インフルエンザ脳症など重症インフルエンザの発症機序の解明とそれに基づく治療法・予防法の確立に関する研究

- ①「新型」インフルエンザ脳症全国調査
- ②「新型」インフルエンザ病態/ガイドライン改訂
- ③「新型」インフルエンザ小児死亡全例調査
- ④サイトカインによる血液・脳関門の破壊(MMP-9)
- ⑤先天代謝異常のインフルエンザ脳症への関与
- ⑥発症に関与する宿主側因子の検討
- ⑦病態解析から治療へ(世界への情報発信)

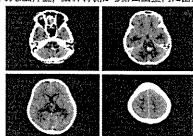


「新型」インフルエンザ脳症の全国調査



新型インフルエンザ脳症 男児死亡例の病理

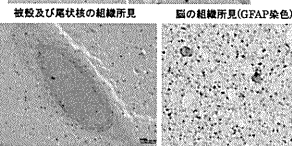
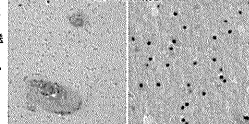
著明な脳浮腫、脳幹背側から第四脳室内に出血を認めた



臨床経過

- 第1病日:夕方から38度台の発熱がみられたが、全身状態が良好であり、自宅で様子を見ていた。
- 第2病日:午前中に某病院を受診し、インフルエンザA型(+)と診断され、ザナミビルとアセトアミノフェンを処方された。帰宅後、痙攣様運動が出現し、某病院へ搬送中にGCS3桁、不醒状態となった。ただちに、アブプロリン療法、ステロイド/バルビツル療法を施行。
- 第3病日:呼吸回数が低下を認めたため挿管後、当院ICUへ搬送された。
- 第4病日:ICUで全身管理を行うが、多臓器不全にて死亡された。

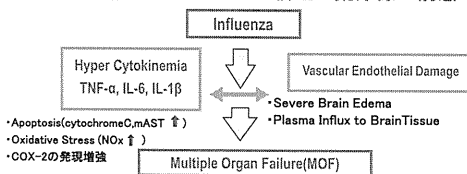
大脳の組織所見



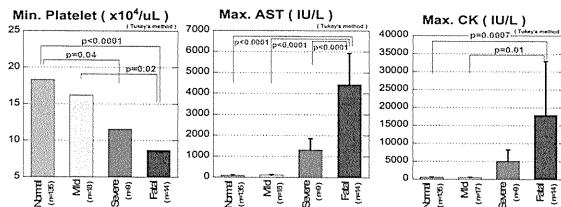
神経病理学的所見のまとめ

- 診断: インフルエンザ脳症
直接死因: 脳浮腫、脳ヘルニア、続発性脳幹出血
- (1) 脳浮腫とらう血
 - (2) 脳ヘルニアと小脳扁桃ヘルニア
 - (3) 続発性脳幹出血
 - (4) 白質やグリア細胞の腫大
 - (5) 脳炎や髄膜炎の所見(-)炎症細胞浸潤(-)
 - (6) 血管壁から血液成分が脳実質へ漏出

「新型」インフルエンザ脳症の臨床像・病態



「新型」インフルエンザ脳症の検査結果と予後



インフルエンザ脳症ガイドラインの改訂 平成21年9月

インフルエンザ脳症ガイドライン

【改訂版】

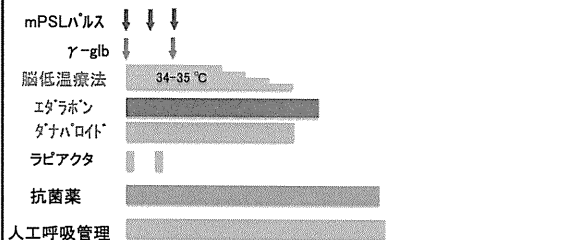
平成21年9月

厚生労働省 インフルエンザ脳症研究会

厚生労働科学研究費補助金(経団・再発感染症研究事業)「インフルエンザ脳症の発症機序の解明とそれに基づく発症前診断法の確立に関する研究」財

改訂ガイドラインによるインフルエンザ脳症治療例

岡山大学小児科のプロトコール

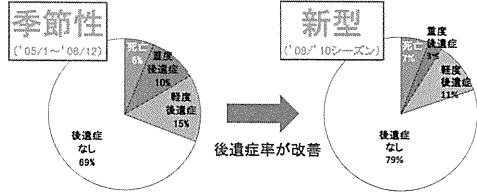


導入を検討: リコンビナントトロンボモジュリン(リコモジュリン)

「新型インフルエンザ」脳症のまとめ

- ・2010年3月末現在、188例が報告されていた。
- ・「新型インフルエンザ」脳症は、季節型に比べ年長児に多かった。
- ・初期神経症状として、新型では「異常行動」が多く、発症年齢分布の差が影響していると考えられた。
- ・頭部MRI所見で「脳梁異常」を呈する例があり、異常行動との関連が示唆された。
- ・死亡例が13例(7%)。後遺症例が23例(14.4%)であった。
- ・後遺症は季節型に比較してやや少なかった。
- ・死亡群と重症後遺症群では、治療経過中のAST、CKの上昇が著明で、季節型同様、新型インフルエンザ脳症の病態にサイトカインの関与が推定された。

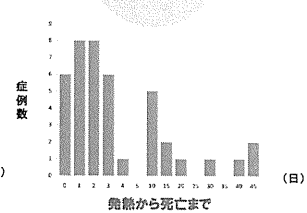
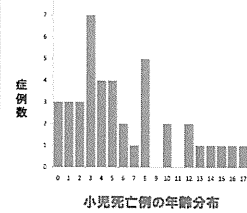
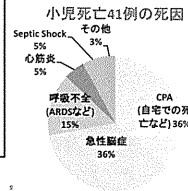
新型インフルエンザ脳症の予後



「新型インフルエンザ」による小児死亡全例の解析

- ・詳細な小児死亡例の全例調査を実施した。
- ・CPA(自宅での死亡など)と同様、インフルエンザ脳症による死亡は36%と多かった。
- ・ARDSなど呼吸不全による死亡は、米国などに比較して極めて少なかった。
- ・発熱から死亡までの日数は短く、また年齢分布は0~6歳と乳幼児多く認められた。

この網羅的調査は世界的に高い評価を受けた。
(Okumura et al. Emerg Infect Dis J 2011)



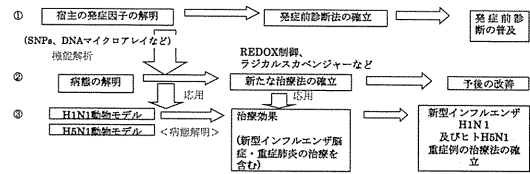
新型インフルエンザ小児死亡全例(41例)調査

基礎疾患 (n=41)		背景因子	
すべて	14 (34%)	熱性けいれんの既往	6 (15%)
染色体異常	1 (2%)	予防接種	
早産	4 (10%)	2009 H1N1 (n=37)	
喘息	7 (17%)	None	36 (97%)
喘息以外のアレルギー	2 (5%)	Once	1 (3%)
慢性肺疾患	4 (10%)	Seasonal flu (n=33)	
気管切開	1 (2%)	None	31 (94%)
先天性心疾患	1 (2%)	Once	2 (6%)
内分泌疾患	0	Flu患者との接触 (n=34)	
脳性麻痺	6 (15%)	すべて	15 (44%)
精神遅滞	10 (24%)	家族	8 (24%)
てんかん	8 (20%)		
神経筋疾患	1 (2%)		
免疫異常	0		
腎疾患	1 (2%)		
肥満	0		

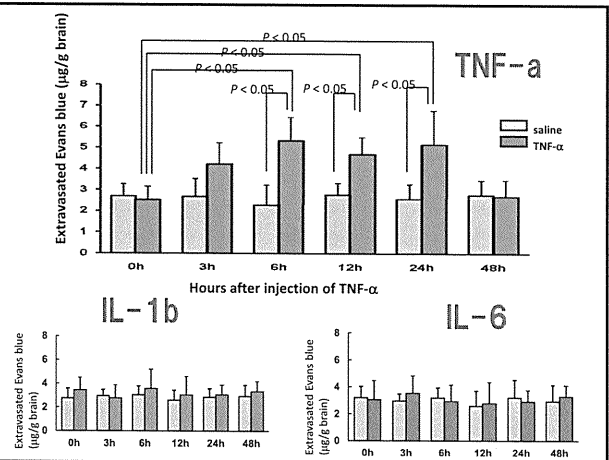
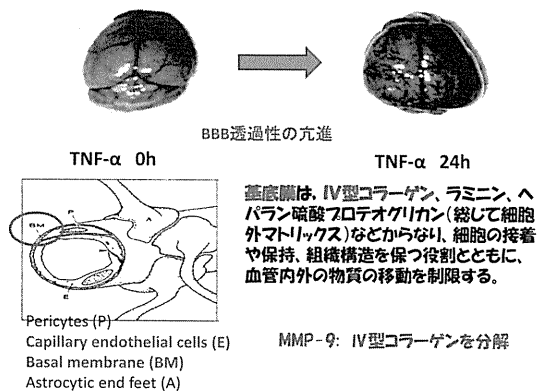
平成21-23年度研究成果概要

インフルエンザ脳症など重症インフルエンザの発症機序の解明とそれに基づく治療法・予防方法の確立に関する研究

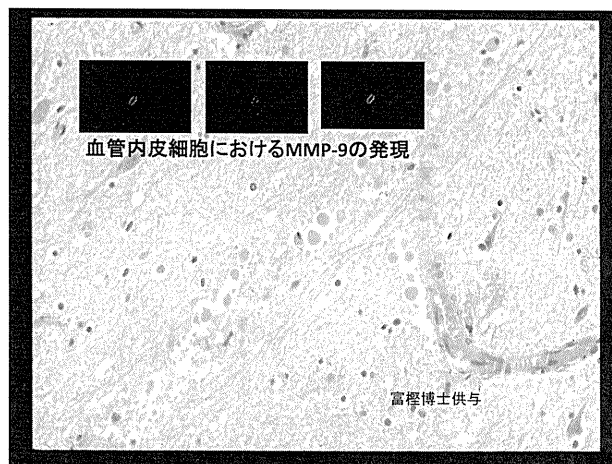
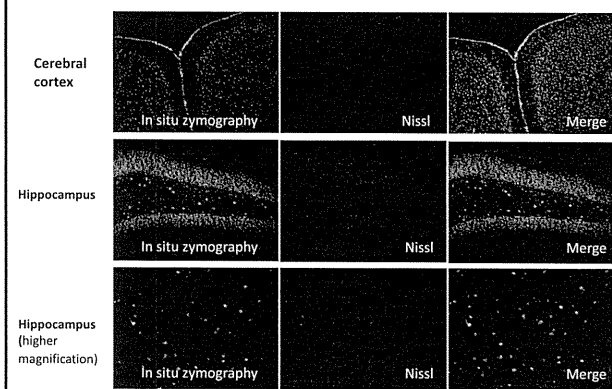
- ①「新型」インフルエンザ脳症全国調査
- ②「新型」インフルエンザ病態/ガイドライン改訂
- ③「新型」インフルエンザ小児死亡全例調査
- ④サイトカインによる血液・脳関門の破壊(MMP-9)
- ⑤先天性代謝異常のインフルエンザ脳症への関与
- ⑥発症に関与する宿主側因子の検討
- ⑦病態解析から治療へ(世界への情報発信)



サイトカイン静脈内投与後の脳血管透過性の変化



MMP-9は大脳皮質や海馬の神経細胞で活性化していた。



先天代謝異常症の関与について

2001年～

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		3	
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	4	1	16
6)VLCAD欠損症	0		2	37 (10%)
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)パルプロ酸高値			15	26

先天代謝異常症との関連—まとめ—

- インフルエンザ脳症は、そのほかの脳症に比べ以下の傾向がある
 - 年長児に多い
 - 季節的偏りがある
 - 先天代謝異常の頻度は低い

2. 新型インフルエンザ脳症に特有の代謝異常所見はみられない

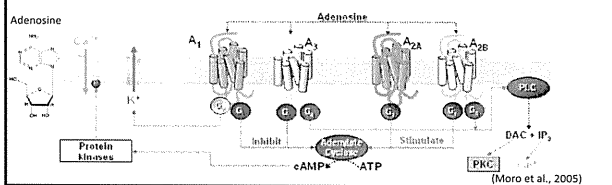
- 高熱のβ酸化へ及ぼす影響 (In vitro)

長鎖脂肪酸代謝の脆弱な細胞では、長鎖脂肪酸のβ酸化阻害
- 薬剤のβ酸化へ及ぼす影響 (in vitro)
 - アスピリン: 長鎖の脆弱な細胞では、長鎖脂肪酸のβ酸化阻害
 - パルプロ酸: 中鎖の脆弱な細胞でもβ酸化阻害のエビデンスはない
 - パルプロ酸: 中鎖の脆弱な細胞は、高熱下で中鎖の代謝阻害?
 - パルプロ酸: 長鎖の脆弱な細胞は、高熱下で長鎖の代謝阻害?

発症に関連する宿主側因子の解析

アデノシン受容体関連SNP解析(ADORA2a)

受容体	親和性 (nM)	高発現部位	中/低発現部位	効果
-A1	~70	海馬、新皮質、小脳、腎臓	脳球体、線条体、嗅球、視床、黒質	-: Ca ²⁺ 流入、 - アデニルサイクラーゼ - : K ⁺ 流出、PLC
-A2A	~150	線条体、嗅球	新皮質、海馬、視床	-: Ca ²⁺ 流入、 - アデニルサイクラーゼ
-A2B	~5100	全般		-: アデニルサイクラーゼ、PLC
-A3	6500	海馬、小脳		-: アデニルサイクラーゼ - PLC; ホスホリパーゼC



ADORA2aの解析結果

アレル頻度の比較

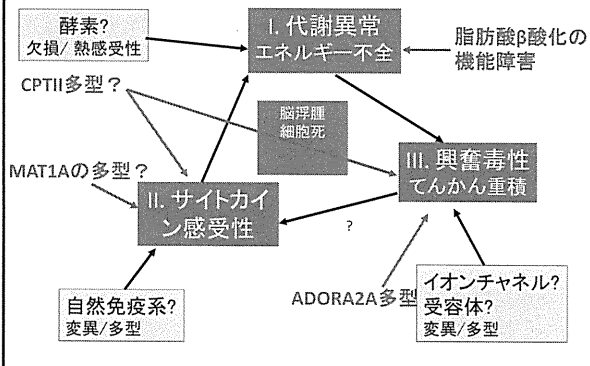
SNP	Patients	Control	Total
rs2298383	C 38, T 26	48, 72	86, 98
rs5751876	C 26, G 38	72, 48	98, 86
rs35320474	C 26, G 38	72, 48	98, 86
rs4822492	C 26, G 38	72, 48	98, 86

遺伝子型の組み合わせの比較

ADORA2a				Patient	Control	P value
Genotype	rs2298383	rs5751876	rs35320474	n	n	
1(H1/H1)	CC	TT	CC	11	9	p=0.124
2(H1/H2)	CT	TC	-T	16	30	p=0.817
3(H2/H2)	TT	CC	TT	5	21	p=0.652
Total				32	60	p=0.045

rs2298383 rs5751876 rs35320474 rs4822492				
Haplotype1	C	T	(-)	C
Haplotype2	T	C	T	G

急性脳症の病態と宿主側因子

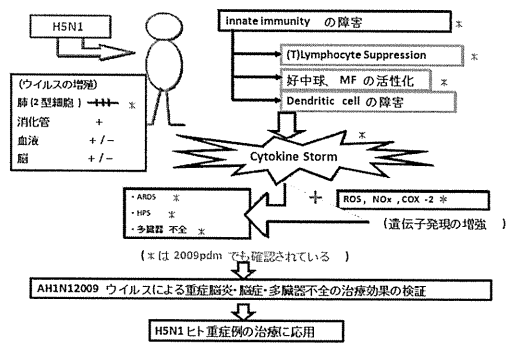


現在しぼり込みが進んでいる宿主側因子

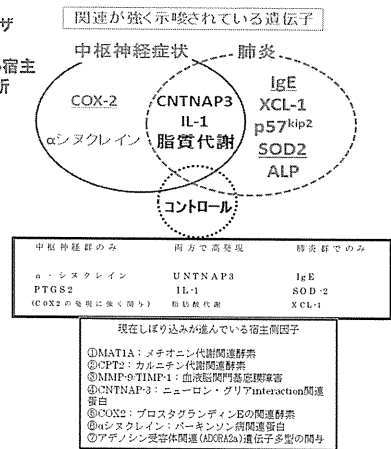
- ①MAT1A:メチオニン代謝関連酵素
- ②CPT2:カルニチン代謝関連酵素
- ③MMP-9/TIMP-1:血液脳関門基底膜障害
- ④CNTNAP-3:ニューロン・グリアinteraction関連蛋白
- ⑤COX2:プロスタグランジンEの関連酵素
- ⑥αシヌクレイン:パーキンソン病関連蛋白
- ⑦ADORA2a多型
- ⑧rs10782486

→ 複数の遺伝子多型/変異の関連について解析を進めている。

H5N1 ヒト重症化の機序解明から治療へ

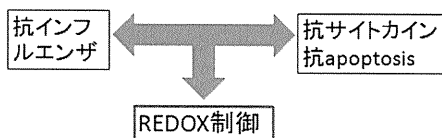


「新型」インフルエンザ マイクロアレイによる宿主 の遺伝子発現の解析



本研究から考えられる重症インフルエンザの治療戦略

- ①全身状態の管理(PALSなど)
- ②特異的治療法



この治療戦略は、H5N1鳥インフルエンザなどにも応用が可能

研究班3年間のまとめ

- ①「新型」インフルエンザ脳症全国調査を実施し、全容を明らかにした。
- ②「新型」インフルエンザ菌株/ガイドライン改訂を行い、全国に普及させた。
- ③「新型」インフルエンザ小児死亡例全調査し、死亡原因を明らかにした。
- ④「新型」インフルエンザ脳症小児例の病理解を明らかにした。
- ⑤発症に關する宿主側因子の検討し、いくつかの可能性のある因子を示した。
- ⑥マイクロアレイ解析により、肺炎と脳症の宿主側因子の差を示した。
- ⑦病態の比較を通じてH5N1と重症例の治療法の確立に向けて、検討を進めている。

行政施策への貢献

- (1) インフルエンザ脳症ガイドライン改訂版により「新型インフルエンザ」脳症の予後を改善することができた。
- (2) 「新型インフルエンザ」小児死亡例の全例調査により、我が国での脳症の重要性を再確認し、次期のパンデミックに役立つ情報を得ることができた。
- (3) 年間約1000例発症する小児の急性脳炎・脳症治療法開発に本研究班の結果を役立てることができている可能性がある。
- (4) H5N1高病原性鳥インフルエンザ ヒト重症例に対する治療法について、本研究で得られた知見は基本的な治療戦略を立てることに役立つ。
- (5) 「新型インフルエンザ」により米国でも成人を含めた重症インフルエンザ脳症の報告が多く、治療法について問い合わせが続いている。世界的に本研究班のガイドラインは貢献している。

WHOからの「インフルエンザ脳症ガイドライン」掲載の依頼
(平成24年1月)

インフルエンザ脳症ガイドライン

【改訂版】

平成21年9月

厚生労働省 インフルエンザ脳症研究班

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)
「インフルエンザ脳症の発症メカニズムの解明とそれに基づく
発症前診断方法の確立に関する研究」班

現在、厚労省と協議を進め、英訳を含め準備中。
インフルエンザ重症例の治療戦略の構築に繋がる？

平成 23 年度 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 『成果概要』

研究課題：成人感染が問題となりつつある小児感染症への対応に関する研究

課題番号：H21-新興-一般- 011

予定期間：H21 年度から H23 年度まで

研究代表者：加藤 達夫

所属研究機関：独立行政法人国立成育医療研究センター

所属部局：

職名：理事長・総長

年次別研究費(交付決定額)：

1 年目 24,700,000 円 2 年目 29,760,000 円 3 年目 26,189,000 円 計 80,649,000 円

I. 研究の意義

(1) 百日せき：成人の百日せきが乳幼児への感染源の可能性がある。現行の血清診断法では青年・成人患者を正確に診断できない。

現行の予防接種法の下では、学童期以降の者の百日せき防御が不完全。

(2) 水痘：任意接種下での現行水痘ワクチン接種では、接種率が低く毎年の流行は阻止できない。

麻疹、風しん MR (MR 混合) ワクチンとの同時接種が望まれるが、我が国での接種成績はない。

(3) MR：MR ワクチン接種時期と安全性

(4) 種々のワクチン同時接種

II. 研究の目的、期待される成果

(1) 百日せき：正確な診断による適切な治療、診断精度向上による正確な百日せき発生動向を把握。

成人に DTaP ワクチンを接種しその効果と安全性を確認。

(2) 水痘：1 期、2 期 MR ワクチン接種時に水痘ワクチンを同時接種し、有効性安全性を検討。

水痘帯状疱疹ウイルス感染防御に関与すると考えられる水痘特異的細胞性免疫能を評価。

(3) MR：MR ワクチンの適切な 2 回目接種時期を確認。定期接種漏れの成人に MR ワクチンを接種しその有効性安全性を検討。

(4) 種々のワクチン同時接種の安全性の確認。

III. 3 年間の研究成果

・ 研究代表者（加藤達夫）

(1) 百日せき：成人百日せき 19 例の臨床データを集積。

(2) 水痘：全国 643 の保育所から水痘発生に関するアンケート調査。5 年以内に 70% が集団発生。全国 71 の大規模病院における水痘院内感染発生に関するアンケート調査。院内発生は 51%。内、14 施設より院内発生時の予防対策案を得た。

(3) MR：妊娠初期に麻疹、風しん抗体価が低値であった 56 名につき産後 MR ワクチン接種。90% の者が発生予防に十分な抗体価を獲得。抗体価の持続を確認する目的で細胞性免疫応答の評価を

継続中。

・研究分担者(柴山恵吾)

(1) 百日せき：成人の百日せき患者保菌量は乳幼児の 250 分の 1 であるところから診断が困難。新規血清診断法として IgM を指標とした高感度 ELIZA 系を開発、その有用性を評価。

・研究分担者(吉川哲史)

(1) 水痘ワクチンと MR ワクチンの同時接種は、水痘単独、MR 単独接種と比し各々同等の接種後抗体価上昇を認め、安全性も確認された。水痘ワクチン接種後抗体価の上昇が不十分であっても水痘特異的細胞性免疫を獲得している例が見られた。

・研究分担者(岡田賢司)

(1) 百日せき：大学 2 年生 104 名に DTaP0.5ml、34 名に 0.2ml を接種、PT,FHA 抗体の上昇を確認した。局所の副反応が認められたが、重篤例はなく認容性が認められた。

・研究分担者(庵原俊昭)

(1) MR、水痘：38 例に MR2 期接種時、水痘ワクチンの 2 回目を同時接種した。接種後の抗体価上昇は有意であったが、接種前水痘抗体価は約半数で陰性であった。水痘ワクチンは MR1 期時に同時接種し、2 回目は 4 週後に接種するか 1 年後に接種する方式が適切と思われる。MR ワクチンは 2 期後、3 期後、4 期後ともに有意に抗体価が上昇するが平均抗体価から判断して 2 回目の接種は現行の 2 期が適当である。

(2) 同時接種：少数例ではあるが BCG や OPV を含めた同時接種の安全性を確認、必要な時期までに必要な回数ワクチンの接種が可能である方向性の確認ができた。

IV. 今後考えられる新たな課題

- (1) 百日せき：新規血清診断法の普及、医療従事者、新生児同居者へのワクチン接種
- (2) 水痘：水痘ワクチン 2 回接種法とその接種時期のさらなる検討
- (3) MR：ワクチン定期接種漏れ者の対応

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) DT2 期定期接種を DTaP に
- (2) 水痘ワクチンを定期接種に
- (3) MR ワクチン接種漏れ者への行政的対応

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

加藤達夫

- (1) 中島夏樹、勝田友博、鶴岡純一郎、中村幸嗣、立山悟志、徳竹忠臣、加藤達夫：全国の保育所における水痘発生の実態と職員の水痘および水痘ワクチンに対する意識. 小児保健研究:2011;70 巻 1 号, 14-19
- (2) 勝田友博、中村幸嗣、鶴岡純一郎、中島夏樹、齋藤昭彦、吉川哲史、浅野喜造、加藤達夫：大規模小児医療施設における院内水痘発生状況. 日本小児科学会雑誌：2011;Vol. 115, No. 3, 647-652

- (3) Nakamura Y, Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, Otsuka N, Saito R, Tsuruoka J, Katsuta T, Nakajima N, Okada K, Kato T, Arakawa Y. 2010. Marked difference in Bordetella pertussis DNA load in nasopharyngeal swabs between adults and children. Clin. Microbiol. Infect. 2011;17:365-370.
- (4) 高山直秀、崎山弘、梅本哲、加藤達夫：麻疹・風疹混合（MR）ワクチン3期および4期接種の全国累積接種率—初年度の調査結果. 日本医師会雑誌. 2010. 1. 第138巻第10号 2093-2097
- (5) 高山直秀、外川玲子、三輪操子、伊藤隆一、高橋菜穂子、細部千晴、松永貞一、森蘭子、斉加志津子、一戸貞人、加藤達夫：中学1年生への麻疹・風疹混合（MR）ワクチン追加接種の効果と安全性—2008年度の調査結果—. 小児科臨床別冊. 2010. 6. Vol. 63. No. 6, 1135-1141
- (6) TAKAYAMA N, SAKIYAMA H, KATO T, UMEMOTO S: Cumulative Vaccination Coverage of the Second Dose of Measles-Rubella Vaccine in Preschool Children: Results of the 2008 Nationwide Survey in Japan]. JMAJ, 2010. 4. Vol. 53. No. 2. 101-105
- (7) 高山直秀, 三輪操子, 細部千晴, 外川玲子, 松永貞一, 伊藤隆一, 森蘭子, 高橋菜穂子, 柴田雄介, 斉加志津子, 一戸貞人, 加藤達夫：就学前1年以内の小児における麻疹・風疹混合（MR）ワクチン追加接種の効果と安全性—2005～2007年度の調査結果—. 小児科臨床. 2009. 3 Vol. 62. No. 3. 481-488.

蒲地一成、中村幸嗣、大塚菜緒（研究分担者 柴山恵吾の研究協力者）

- (1) Nakamura Y, Kamachi K, Toyozumi-Ajisaka H, Otsuka N, Saito R, Tsuruoka J, Katsuta T, Nakajima N, Okada K, Kato T, Arakawa Y. 2010. Marked difference in Bordetella pertussis DNA load in nasopharyngeal swabs between adults and children. Clin. Microbiol. Infect. 2011;17:365-370.

庵原俊昭（研究分担者）

- (1) 庵原俊昭：成人の麻疹対策. 感染炎症免疫 41:143-145, 2011
- (2) Xin JY, Ihara T, Komase K, Nakayama T: Amino acid substitutions in matrix, fusion and hemagglutinin proteins of wild measles virus for adaptation to Vero cells. Intervirology 54:217-228, 2011
- (3) Ihara T: The strategy for prevention of measles and rubella prevalence with measles-rubella (MR) vaccine in Japan. Vaccine 27:3234-3236, 2009
- (4) Nagai M, Xin JY, Yoshida N, Miyata A, Fujino M, Ihara T, Yoshikawa T, Asano Y, Nakayama T: Modified adult measles in outbreaks in Japan, 2007-2008. J Med Virol 81:1094-1101, 2009

岡田賢司（研究分担者）

- (1) Okada K: Evaluation of ELISA kit for detection of pertussis - associated IgG antibodies. Jpn J Med Pharm Sci 65(4) : 531-536, 2011
- (2) Okada K, Komiya T, Yamamoto A, Takahashi M, Kamachi K, Nakano T, Nagai T, Okabe N, Kamiya H, Nakayama T: Safe and effective booster immunization using DTaP in teenagers Vaccine 28 : 7626-7633, 2010