

2012 25014B

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22年度～平成24年度 総合研究報告書

研究代表者 河内 正 治

平成25 (2013) 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22年度～平成24年度 総合研究報告書

研究代表者 河内 正 治

平成25 (2013) 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）  
総合研究報告書

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：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 総長特任補佐  
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：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：国立国際医療研究センター ICU/CCU/HCU 管理室医長  
氏名：岡本竜哉

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. 総合研究報告書

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) 国立ハノイ小児病院での重症 ARDS を示した rhinovirus 感染症例の解析

布井博幸・・21

2) びまん性肺胞傷害における予後因子解析ならびに血中レドックスバランス・サイトカインの動向

本間 栄・・27

3) H5N1 鳥インフルエンザウイルスならびに A(H1N1)pdm09 インフルエンザウイルス感染症の病理学的解析

中島典子・・31

#### 2. 基礎分科会

1) 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・・37

2) FARDS マウスモデルを用いた病態の解析と治療薬の開発

川上和義・・41

3) 蛍光ナノ粒子解析に伴うケモカインレセプターの役割

ーインフルエンザ劇症化の解析と治療法を目指してー

山本健二・・51

4) 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と新規酸化ストレスバイオマーカーの探索

赤池孝章・・55

5) H5N1 亜型高病原性鳥インフルエンザウイルスの遺伝子検査系開発と評価

影山 努・・65

III. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・73

IV. 研究成果の刊行物・別刷・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・91

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）

総合研究報告書

## 高病原性鳥インフルエンザの診断と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 手術部部长

**研究要旨：** 2009年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、重症化の原因はウイルス性肺炎からのARDSである(Kawachi: JID, 2009)。この高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)を含むウイルス感染が引き起こす重症化因子としての劇症型ARDS (F-ARDS)の病態解明と診断/治療の研究は、インフルエンザパンデミックのみならず、他のウイルス感染症においても流行期があるため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)。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(Sugamata; MIM, 2012)、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(Thuy; MIM, 2011)。また、24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が、24年度は現在まで得られた高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)病理症例の集大成となる研究成果を報告した(Nakajima; Modern Pathol, 2012)。22年度国際連携地域として新たにインドネシア国を選定した。インドネシア国は鳥インフルエンザ(H5N1)感染などの実態に不明瞭な点が多く、臨床/疫学的/基礎の研究協力を得ることは大きな意味を持つと考えられた。現地にて臨床医や研究者と意見交換/情報収集を行ない、さらにインドネシアの感染症疾患の中心病院であるProf. DR. Sulianti Saroso Infectious Disease Hospital (Jakarta, Indonesia)にて、今後の共同研究について研究計画書を手渡した。23-24年度は外交ルートを通じた研究計画書を手渡すなどの申し入れを行ったが、共同研究についての認可は相手方から出なかった。24年度はタイ王国に共同研究を提示した。高病原性鳥インフルエンザの研究班としての一つの集成となる「重症新型インフルエンザ診断と治療の手引き」については、実践使用に用いることが可能なものを本報告書の別冊として作成した。

## 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。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)、サイトカインの動向の違い (JI, 2010; MIN, 2012)などの成果を上げた。さらに鳥インフルエンザ(H5N1)症例を集積/解析して現在の研究を発展継続するべきである。今後迅速キットなどを用いたインフルエンザ H5N1 の疫学的研究も必要である。1-2. インドネシア国との国際協力: 22年度に新たにインドネシア国を選定、インドネシア国との臨床/疫学的/基礎研究協力は大きな意味を持つが、なかなか共同研究の壁は厚い。1-3. 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)。1-4. 治療法の開発: 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。1-5. 診断法の開発/改良: 22-24年度にインドネシア、タイ、ベトナムにおいて共同研究

計画を立案した。

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/チトクローム C/ニトロ化合物などの現地での定量。
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。
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. 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. 以上の成果から、診断法の確立と治療法の提案を含む「重症新型インフルエンザの診断と治療の手引」書を作成。

## 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。患者個人情報にはコード化し、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 A(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.にてその成果公表が目標である。

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. インドネシア国などとの国際協力 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) インドネシア国などとの国際協力(河内、布井、岡本)、(3)日本、およびベトナムにおける H5N1 を含むインフルエンザ脳症について調査(布

井)、(4) インフルエンザ (AH1 pdm) の重症化例の臨床像/肺病理の解析、(5)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)、(6) 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)、(7) 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、(8) 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)、(9) 診断法の確立と新たな治療法の提案を含む「重症新型インフルエンザの診断・治療の手引」書作成 (河内、布井、本間)、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 ARDS 臨床例の解析計画 (J-V FARDS)

(河内正治、岡本達哉、松下竹次：国立国際医療センター、中島典子、佐多：国立感染症研究所、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)

**研究方法：**ハノイ国立小児病院 (NHP-Hanoi: National Hospital Pediatrics)、および国立熱帯感染症研究所 (NIITD: National Institute of Infectious Tropical Diseases) との ARDS 共同研究計画書に基づいて、22-24 年度に先行的研究を行った。①インフルエンザ (H5N1) 感染を病因とする重症 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：**2012/12 までに以下の criteria で先行的に劇症型 ARDS を集積した。NHP の PICU に入室した症例のうち、①AECC 1984 の診断基準を満たす ARDS 症例で、かつ②

PICU 入室中に P/Fratio $\leq$ 100、③年齢が一ヶ月以上であるすべての症例を、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。集積できたのは 94 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（高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1) 3、2009 A H1N1-pdm 4、A(H3) 1）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。94 例のうち、31 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 9、Adenovirus 5、RSV 5、CMV 14、measles 1 であった。中には Rhinovirus のよう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。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、C 型が非常に重症化しやすいことが指摘されている。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する必要がある。これらウイルス感染が証明されたウイルス肺炎と思われる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、ウイルス陽性例について解析した。

No.	Virus in sputum/bronchial or tracheal secretion										Bacteria	Blood	
	Influenza A(H5N1)	Influenza A(H1N1)	Influenza A(H3)	Rhinovirus	Adenovirus	CMV	RSV	Measles	EBV	Herpes simplex virus			
p1	○												
p2				○									
p3						○							
p4													
p5													
p6				○									
p7													
p8													
p9													
p10													
p11													
p12													
p13													
p14													
p15													
p16													
p17													
p18													
p19													
p20													
p21													
p22													
p23													
p24													
p25													
p26													
p27													
p28													
p29													
p30													
p31													
p32													
p33													
p34													
p35													
p36													
p37													
p38													
p39													
p40													
p41													
p42													
p43													
p44													
p45													
p46													
p47													
p48													
p49													
p50													
p51													
p52													
p53													
p54													
p55													
p56													
p57													
p58													
p59													
p60													
p61													
p62													
p63													
p64													
p65													
p66													
p67													
p68													
p69													
p70													
p71													
p72													
p73													
p74													
p75													
p76													
p77													
p78													
p79													
p80													
p81													
p82													
p83													
p84													
p85													
p86													
p87													
p88													
p89													
p90													
p91													
p92													
p93													
p94													
p95													
p96													
p97													
p98													
p99													
p100													

図1 先行集積した重症 ARDS のうちウイルス肺炎と考慮された症例の PCR 結果(n=31、2007/10. - 2012/12)

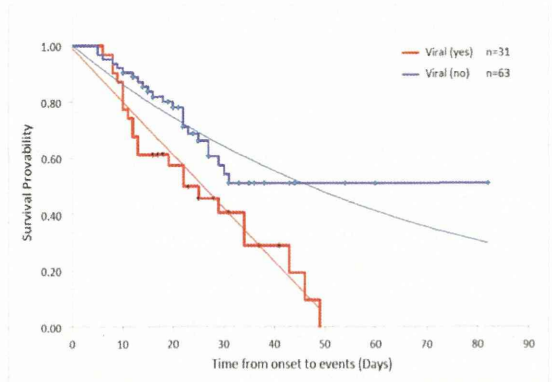


図2 先行研究にて得られた全 FARDS 症例。Viral、Non-viral 群における生存曲線（Kaplan-Meier）  
ウイルス性肺炎を原因疾患とする FARDS の死亡率は非常に高く、われわれの研究においても 67%と、鳥インフルエンザ A(H5N1)感染に匹敵するほどの高い死亡率である（図2：生存曲線）。生存期間も viral 群 24.85 日に対し non-viral 群 42.25 日とほぼ半分に近い。全く同じ基準で先行的に集積した症例のみについての研究結果であるので、その意義は大きい。ウイルス陽性群と非陽性群では背景因子や検査データなどに差はなく、唯一生存期間に有意差が認められた事実は大きい。

	Viral (yes) n=31		Viral (no) n=63		P value
	Men	Women	Men	Women	
Gender	11	20	24	39	
Age (year)	1.61±2.62		1.30±3.00		
Weight (kg)	7.30±5.85		7.58±7.77		
P/F $\leq$ 100 on admission	27	4	48	14	
Prognosis	22 (67%)	9	23 (36%)	40	p = 0.0012*
MODS	19	12	38	25	
IVIG (2g/kg)	18	13	47	16	
BT onset	37.63±1.02		37.64±1.00		0.9515
Days onset	21.97±12.41		24.56±13.64		0.3362

図3 全 FARDS 症例における患者背景因子の検討（Viral vs. non-Viral）

	Viral (yes) n=31	Viral (no) n=63	P value
pH	7.31±0.11	7.27±0.19	0.5435
PaO2	53.04±15.34	62.08±22.01	0.1285
PaCO2	52.89±17.41	53.29±21.00	0.5653
FiO2	0.90±0.20	0.87±0.23	0.4875
P/Fi	63.75±29.85	78.78±38.99	0.0802
P/Fi lowest	43.61±21.97	51.05±17.85	0.0176*
AS1	571.24±1920.24	422.92±1303.63	0.1438
ALT	267.84±843.88	192.06±588.34	0.5131
LDH	1280.93±954.72	1382.10±1292.82	0.8551
WBC	12003±7760	14059±7777	0.2784
RBC	3800±1003	3822±1018	0.6628
PLT	298.16±126.13	332.39±175.91	0.3743
CRP	5.91±9.26	7.90±18.78	0.2422
PT	76.62±26.07	82.11±31.31	0.6238

図4 全 FARDS 症例における吸関係因子、血液検査値の検討（Viral vs. non-Viral）



一方、NHP においては 2009 年以降 H5N1 感染症例の入院は無い。2007 年 10 月以降 2008 年 10 月までの NHP における ARDS の結果は *Journal of Infectious Diseases* に発表した (Kawachi S, et al. *JID* 2009; 200: 510-515)。さらに、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発表した (Thuy T.B. Phung, et al. *J Infection* 62: 104-108, 2011)。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) を高病原性鳥インフルエンザ A(H5N1)感染症患者に行なったが有意差を得ることはできなかった。今後さらに症例を集積して検討する必要がある。

NHP に受診した全 H5N1 症例は、2003 年以降 13 例で、平均年齢  $6.5 \pm 3.8$  歳、男:女 = 9:3 であった。ほぼ半数の 6 例に鳥との直接接触歴が確認された。死亡は 9 例、生存 3 例 (死亡率 70%) で、死亡までの期間 7-16 日であった (図 5, 6)。

治療法については、従来のタミフル、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) を現地医師団と協議の上開始したが、その後症例が得られなかったために有意差のある効果が得られなかった (図 7)。しかし、タミフルの標準治療方法に加えて大量ガンマグロブリンによる抗炎症療法は有望な治療法選択肢の一つと思われる (図 7)。

No.	Gender	Age	H5N1	Contact	Prognosis	IVIg (g/kg)	Tamiflu	Steroids	Days
1	F	12	Y	U	D	N	N	Y	7
2	M	5	Y	U	D	N	N	N	16
3	M	4	Y	U	A	N	N	N	20
4	M	10	Y	U	D	N	N	Y	11
5	F	5	Y	Y	D	N	N	Y	7
6	M	4	Y	Y	D	N	N	N	15
7	F	1	Y	Y	D	N	N	Y	6
8	M	1.3	Y	N	D	N	Y	Y	9
9	M	11	Y	N	D	N	Y	Y	11
p1	M	4	Y	Y	D	N	Y	Y	12
10	F	9	Y	N	A	Y	Y	Y	26
p14	M	7	Y	Y	A	Y	Y	Y	18
p19	M	11	Y	Y	D	Y	Y	Y	10
Number of patients	M:F=9:4	6.5±3.8	13	6	D:A=10:3	3	7	10	12.9±5.9

図 5 ハノイ国立小児病院 PICU に入院した全 H5N1 症例 (n=13)

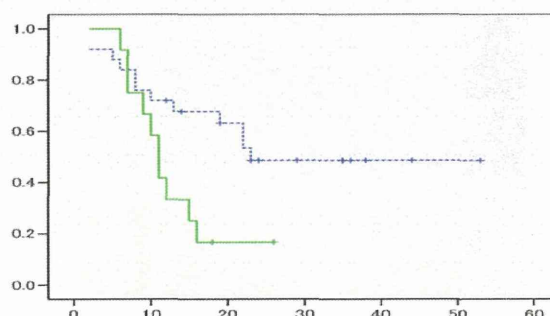


図 6 H5N1-FARDS 症例と ARDS 症例の生存曲線 (Kaplan-Meier 法)

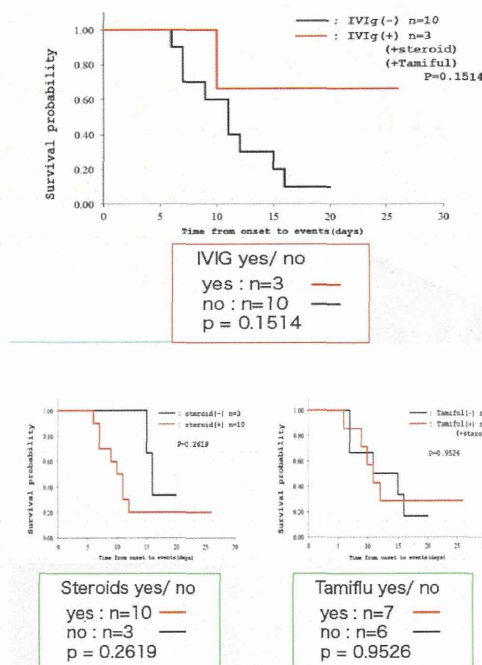


図 7 H5N1-FARDS 症例に対する治療療法によるその生存曲線の差異。

上段 : IVIg+Tamiflu+steroids

下段 : 左 steroids, 右 Tamiflu+steroids

## 病理学的検索

病理標本: 症例 No.4 は発表した(JIID, 2008,)。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。現地 NHP 病理部作成の H5N1 標本写真を下に示した (図 8, 9, 10)。24 年度には H5N1 症例での詳細な病理学的解析を公表した (Nakajima; Modern Pathol, 2012)。

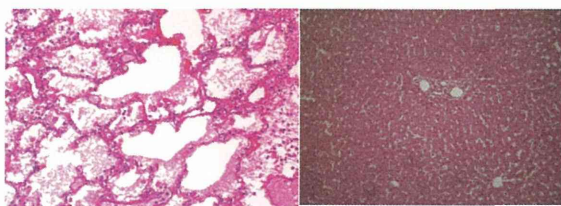


図 8 症例 No. p1: 肺/肝臓の HE 染色

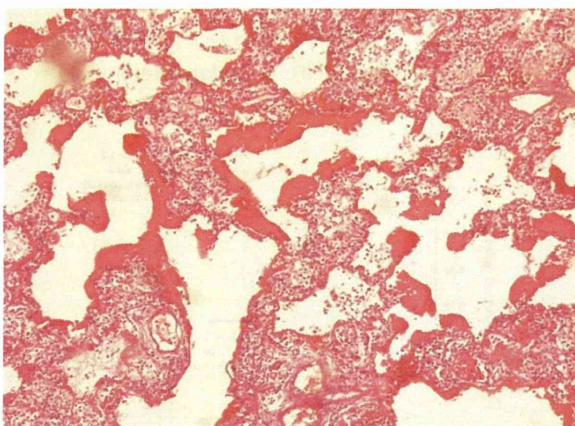


図 9 症例 No. p19: 肺の HE 染色

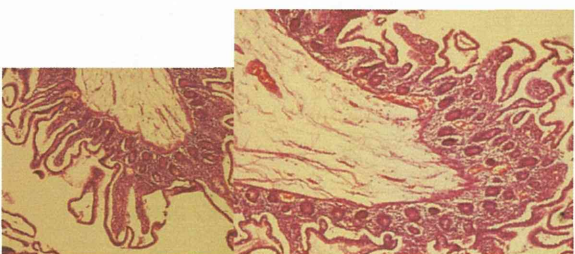


図 10 症例 No. p19: 空腸の HE 染色

以下の写真は NHP-Hanoi の病理部門が作成した Rhinovirus による 3 例の死亡例 Necropsy 標本写真である (図 11)。

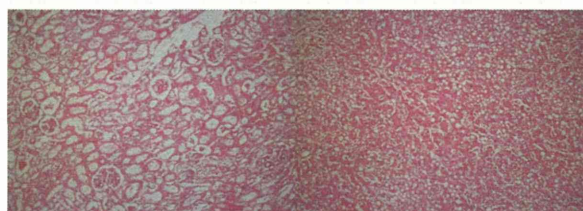
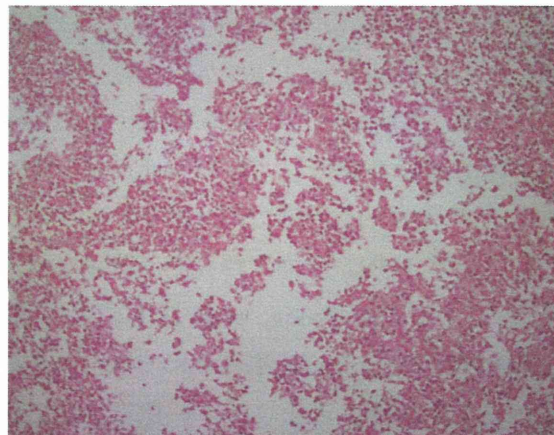


図 11 Rhinovirus 症例の Necropsy 標本写真 (現地 NHP 病理部門作成)  
上: 肺の HE 染色像  
下左: 腎臓の HE 染色像  
下右: 肝臓の HE 染色像

## 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 22 年度に研究計画書を提案し、研究開始を提案した (図 1)。



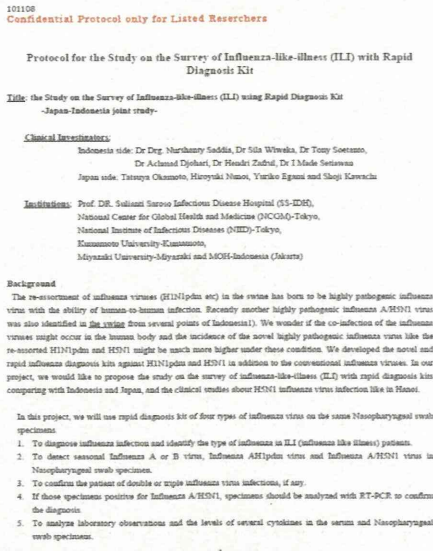


図1 インドネシア政府に提出した研究計画書

研究成果：ハノイの二病院にお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2)。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3)。

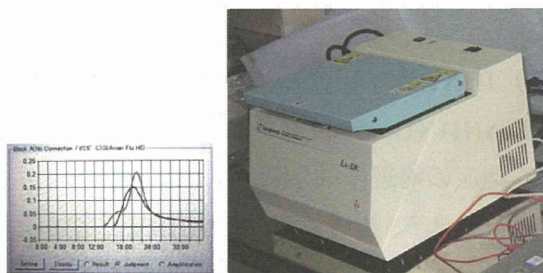


図2. LAMP 法測定器と測定曲線 (鳥インフルエンザA(H5N1) 陽性の症例)

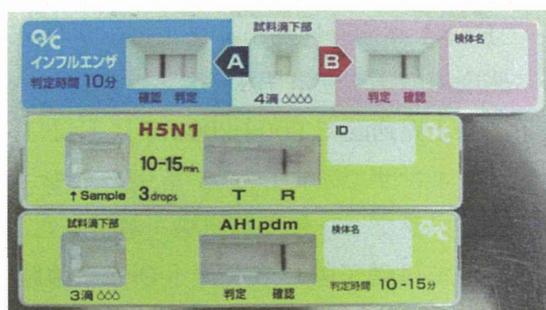


図3. 三種の迅速キットを用いた現場での測定 (この症例では季節性 A 型陽性)

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。インドネシアからは 23/24 年度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、23-24 年度も外交ルートなどを通じた働きかけを続行したが、研究開始の許可は得られなかった。

WHO 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、2003-2009 年 162 (134) 人、以後 2010 年 9 (7)、2011 年 12 (10)、2012 年 9 (9) 人である (括弧内は死亡数)。それでも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かと考えられた。以上、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) のような重症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成果などを生かした治療やトリアージも含めた具体的方針の決定と、重症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) ARDS/FARDS 症例における血中 KL-6 と cytochrome c を用いた病態解析

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

ハノイ国立小児病院でのこれまでの調査研究から、H5N1 インフルエンザ感染では約 1 週間の高熱期をへて、急速に重症 ARDS を呈することが明らかになった。今回、肺血中 KL-6 について、ハノイの ARDS/FARDS

患者において解析を行った。その結果、血中 KL-6 は肺の重症度示す指標とはなっていたが、必ずしも生死を分ける指標とはなっていないかった。一方、血中 cytochrome c は重症 FARDS 患者でも高値ではない症例が多く、インフルエンザ脳症のような全身の臓器不全というより、FARDS の病態は肺局所での激しい炎症による呼吸不全が主体の病態と考えられた。この事から、FARDS 症例では心肺補助療法 (PCPS-ECMO) が重要な治療法になると考えられた。

#### 4) ハノイ小児病院での重症呼吸急迫症候群を起こす背景の検討

(布井博幸：宮崎大学医学部、河内正治、岡本竜哉：国立国際医療研究センター、Thuy T. B. Phung, Le T. M. Huong, San T. Luong, Liem T. Nguyen：ハノイ国立小児病院、ベトナム、中島典子：国立感染症研究所、小原収：かずさ DNA 研究所)

ハノイ小児病院で得られた鳥インフルエンザを中心に、P/F 比が 100 を下る重症 ARDS88 症例のうち、Rhinovirus 感染を 11 症例経験した。Rhinovirus C 型は中国や東南アジアでの死亡者が多く報告されている新型の Rhinovirus で、ハノイでもその流行が心配されたが、遺伝子解析の結果、保存された気道吸引物から 5 例で Rhinovirus A 型が確認された。重症化する背景として、免疫不全があると考えられたため、一部の症例で BTK などの遺伝子を解析したが、同様の重症 ARDS 症状を示した患者はみられなかった。重症 ARDS の背景として、環境因子 (孤児院などでの集団生活や栄養状態など) が強いと思われた。

#### 5) びまん性肺胞傷害における予後因子解析ならびに血中レドックスバランス・サイトカインの動向

(本間栄、菊地直、杉野圭史：東邦大学医療センター)

本間らは、びまん性肺胞傷害 (DAD) における予後予測因子として各種メディエーター測定の有用性を検討した。

過去 8 年間に IPF と診断した 113 例中 AE を発症した 31 例を対象に、臨床的特徴、予後不良因子を検討した。さらに最近経験した IPF-AE の 4 例 (内術後 AE 2 例) について、PMX-DHP 前後の血中レドックスバランス (総グルタチオン(tGSH)、還元型グルタチオン(GSH)、酸化型グルタチオン(GSSG)、GSH/GSSG 比)、炎症性サイトカイン (IL-6, IL-8, TIMP-1, MCP-1, HMGB-1)ならびに好中球エラスターゼ (NE)の経時的変化を検討した。

#### 6) H5N1 鳥インフルエンザウイルスならびに A(H1N1)pdm09 インフルエンザウイルス感染症の病理学的解析

(中島典子、佐藤由子、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、佐多徹太郎：富山県衛生研究所)

H5N1 高病原性鳥インフルエンザウイルス感染症の病態を解明すべく、ベトナムハノイ国立小児病院で 2003-2008 年に H5N1 インフルエンザで死亡した 5 症例のホルマリン固定パラフィン包埋肺組織を解析した。肺病理像では硝子膜形成を伴うび慢性肺胞障害を認めた。肺から検出された H5N1-RNA 量は病日が早い例ほど多く、H5N1-RNA 量の多い肺切片では in situ hybridization 法

および免疫組織化学でウイルス核酸ならびにウイルス抗原が検出できた。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。肺切片中の TNF  $\alpha$ 、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、肺の局所のサイトカイン・ケモカインの発現は H5N1-RNA 量に相関することがわかった。2009H1N1 パンデミックインフルエンザで死亡した剖検例の中で、H5N1 インフルエンザと同様のび慢性肺胞障害 (DAD) を呈し、ウイルス抗原が肺胞上皮細胞に検出される例が数例あった。発症 8 日目に死亡し、肺胞領域から多量のウイルスゲノムが回収された例において肺で増殖しているウイルスの塩基配列を解析した結果、鳥型レセプターに親和性の高いクローンが major であることがわかった。

#### 7) 重症新型インフルエンザ診断・治療の手引き -鳥インフルエンザウイルスがヒトに感染する-

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



高病原性鳥インフルエンザに対するこの研究班のこれまでの研究結果のまとめと、これまで無かった重症の新型パンデミックが到来した際に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／治療の手引きを作成した。

執筆者は研究班の班員で、最新の治療からインフルエンザウイルス自体の解説まで幅広く対応した。ただし、専門的な部分は難易度も高く分量も多いため、記載内容のインフルエンザの一般論、高病原性鳥インフルエンザのヒトへの感染症例、診断・治療マニュアルの部分を総合報告書の別冊として作成した。専門的な部分を含む全体は 150-200 ページあまりの成書として出版される。各章の章立ては、以下の通り。

B. はじめに：鳥とヒトとは異なること。

0. インフルエンザとは何か：インフルエンザ全体の解説（歴史から予防法まで）。
1. 症例(H5N1)：ヒト A(H5N1)感染症について実際の症例を提示して概説。
2. インフルエンザによる F-ARDS 診断／治療マニュアル：流行時に直ちに使用可能なマニュアル、4、5 章のまとめ。
3. 病理：H5N1 を中心に、H1N1 も含めた flu-ARDS 全体。
4. 診断と検査。
5. 治療。
6. インフルエンザワクチン：総説。
7. インフルエンザ重症化因子。
8. 感染シミュレーション。
9. FARDS の動物（マウス）モデル。

B. から 第 2 章までを総合報告書の別冊としてまとめた。



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サイトカイン、免疫機能、病理組織解析

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、長尾朋和：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して以下の知見を得た。

1) H5N1 インフルエンザ感染の重症 ARDS にかかわる因子の解析：H5N1-ARDS にかかわる因子を解析し、IL-12p40、TNF レセプター2(TNFR2) および好中球ライソゾーム酵素 Myeloperoxidase (MPO)の活性上昇が認められ発表した (Phung TB; J Infect, 2011)。

2) マウスモデルを使用した治療法開発実験：H1N1(PR-8)感染によって誘導した劇症型肺炎モデルマウスの初期の肺腔には、ケモカイン KC, MIP-2, MCP-1 の上昇が認められ、MPO 欠損マウスでは PR-8 の増殖抑制と病態の軽減が認められた (Phung TB; MIM, 2011)。この結果から、新構造マクロライドライブラリーの 1056 種類から好中球の MPO 放出阻害効果を示す複数の物質を見出した。数種類を PR-8 感染誘導の劇症肺炎モデルマウスに投与し、肺組織でのウイルスの核酸量および延命効果が認められた。以上から、高病原性 H5N1 トリインフルエンザによって感染誘導される劇症型肺炎の誘導因子が挙げられ、劇症型肺炎モデルに対する新構造マクロライドの治療薬の候補

として、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、ロイコマイシンを選択した。

2) インフルエンザウイルス感染に対する宿主側抵抗性因子とその誘導発現系による解析

(大島正道:国立感染症研究所)

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。大島は、肺由来の細胞株 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ことが示唆される。このメカニズムを解析している。

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  $\alpha$ -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。本研究では、このモデルを用いることで、シベスタットナトリウム、ガンマグロブリン製剤の高用量投与、新規マクロライド薬、I型インターフェロン、リコンビナント・トロンボモジュリン (rTM) についてその治療効果を検証し、I型インターフェロンの低容量投与、rTM 投与において有効性を明らかにした。rTM の作用機序については、肺内での regulatory T (Treg) 細胞及び抗炎症性サイトカインである IL-10、TGF- $\beta$  の産生を増加させることで治療効果を発揮する可能性を示した。LPS 投与モデルに加えて、非致死量のインフルエンザウイルス A/H1N1 を経気道感染させることで惹起される急性肺障害の後に、肺の線維化を発症するモデルを作製することにも成功した。これは、臨床の場でもみられるインフルエンザウイルス感染による ARDS 後に発症し、その後の QOL にも大きな影響を及ぼす肺線維化の病態解析に有用と考えられ、今後さらなる検討が望まれる。

#### 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と治療法を目指して–

(山本健二：国立国際医療研究センター研究所)

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 CCR5 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 CCR1 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、何かの細胞の膜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：熊本大学大学院医学薬学研究部、岡本竜哉：国立国際医療研究センター)

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、感染肺局所にて 3-ニトロチロシン (3-NT)、8-ニトロ-cGMP が生成することや病態との関連性について報告してきた。2008-2009 年にベトナムハノイ国立小児病院に入院加療した ARDS 症例 (47 症例) と非 ARDS 症例 (25 症例) を解析したところ、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 が増加する傾向が見られ (オッズ比 2.26)、死亡リスクも高かった (オッズ比 5.83)。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、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 24 年度の研究では、新規因子としてチオール化合物に硫黄原

子が付加したポリスルフィド (R-S-S<sub>(n)</sub>H) に注目し、質量分析法を用いたポリスルフィドの高感度定量システムを確立した。マウスモデルでは、肺炎の進展に伴って肺ホモジネートおよび血漿中の各種ポリスルフィドの減少が観察された。以上より、3-NT やポリスルフィドは、重症肺炎・ARDS 病態における酸化ストレスのバイオマーカーとしての有用性が示唆され、臨床応用が期待される。

#### 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)

現在、多くの国々ではコンベンショナル RT-PCR 法やリアルタイム RT-PCR 法などの遺伝子検査により H5 亜型の同定が行われている。しかし遺伝子検査は、検体からの核酸精製を必要とし、反応に必要な操作も非常に煩雑なため偽判定のリスクが少なからずある。病院やクリニックなどの多くの医療施設では、遺伝子検査が行えるクリーンな環境を持っておらず、実験室診断に熟練した作業員もいないため、施設内で遺伝子診断を行う事は非常に困難であった。このような施設においては、簡便かつ迅速に H5 亜型を同定できる遺伝子検査系の導入が待たれている。Direct RT-LAMP 法は、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、簡便で短時間に RT-LAMP 反応を行う事ができる遺伝子診断系である。本研究では 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の同定法について、臨床検体を用いて評価検討を行っている。現在はこの方

法をベースにして、H5 亜型だけでなく季節性インフルエンザウイルスの型・亜型(A 型、B 型、H1pdm 亜型、H3 亜型)も一度に同時に簡便かつ迅速に同定できるマルチプレックス型のマイクロ流路チップを用いたコンタミネーションフリーな遺伝子検出キットの構築を進めている。本方法はインフルエンザ診断のみならず、他の呼吸器感染症ウイルスの同定なども可能であるため、病原体サーベイランスにも活用など、特に臨床現場においてはあらゆる感染症予防や治療・診断などの感染症対策に大きく貢献できると期待される。

#### D. 考案

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報告した(JJID, 2008)。また、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た (JID, 2009)。このことから、インフルエンザ (H5N1) の脅威は極めて大きく、AH1 パンデミックの教訓を生かした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、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。ウイルス感染が認められた症例では死亡率が非常に高く重篤な病態を示し、今後の重要な研究テーマとなる可能性が大きい。

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、H5N1 に対する病態解析/治療法の開発・検証/疫学的解析を行ってきた。22-23 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。また 24 年度はタイ王国において共同研究の提示を行なった。確定診断も迅速に可能な遺伝子診断法の開発は影山を中心に研究中であり、今後も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 TB, *J Infect* 2011; 62: 104-108)。さらに劇症型 ARDS (FARDS) では初期から MPO が病態を形成している可能性を示し (Sugamata; MIM, 2012)、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 (Phung TB; MIM, 2011)。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が、24 年度は現在まで得られた高病原性鳥インフルエンザ (H5N1) 病理症例の集大成となる研究成果を報告した (Nakajima; *Modern Pathol*, 2012)。これには、感染ウイルス量とサイトカイン産生量が比例関係にある、というきわめて重要な新たな知見を報告した。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、またそのサイトカインがウイルス感染量に比例していること、H5N1-FARDS では呼吸機能の障害が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。

これらの臨床上の新しい知見を踏まえて、24 年度はハノイ国立小児病院において、背景因子となる原因疾患や遺伝疾患の探求も開始した。これらの成果は短時間で得られるものではなく、今後の更なる研究が必要である。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菌薬、あるいは rTM 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/抗凝固薬など、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) などのウイルス感染による劇症型 ARDS 患者の病態解析とその原因究明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、これまでの知識を集成して、24 年度にインフルエンザ (H5N1) 型 ARDS の迅速特異診断および治療法を提案し、「手引き」を作成してその知識を広く人口に膾炙した。本研究を含め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、今後はこの点も網羅して将来の日本への流行に備えていくことが新たなる目標となる。

## 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(東京大学先端科学技術研究センター、特任講師)

永田典代(国立感染症研究所、主任研究官)

佐藤由子(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研究所  
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)

高田正雄(英国 Imperial Collage、教授)

加藤有介(徳島文理大学 准教授)

### 3) アドバイザー

小川道雄(市立貝塚病院、総長)

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 12 月までに 4 例の A(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 年の成人例以降無い。また、2013 年 3 月末現在において、ベトナムの研究ネットワークから、従来と異なる新たな脅威となる感染情報は届いていない。
2. インドネシアにおいては、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 2013 年 2 月 15 日に発表したヒトインフルエンザ (H5N1) 症例数は、2003 年以降 620 例となった (367 例死亡、死亡率 59.2%)。2013 年に入って 10 例 (7 例死亡) が報告されており、発症報告数は例年同様である。2013 年の特徴としては、最近報告の無かったメコン川流域からの感染が 7 例 (6 例死亡) カンボジア側から出現したことで、2004-2006 年のベトナムでの流行もメコンデルタから生じたことを考えると今年度はベトナムにおいて警戒する必要があるように思われる。2013 年に入って WHO からの発症報告はカンボジア (7/6 : 死亡数/症例数)、中国 (2/0)、エジプト (1/1) 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) Yuka Osaki, Yasuhiro Maehara, Masaki Sato, Akiyoshi Hoshino, Kenji Yamamoto, Tomokazu Nagao, Kazuo Suzuki, Shoji Kawachi. Analysis of cytokine/chemokine levels in bronchoalveolar lavage fluids from patients with acute respiratory distress syndrome: Increase in IL-6, G-CSF, MCP-1, MIP-1 $\beta$ . Jap J Intens Care Med 17: 179-184, 2010.
- 2) Hidenori Yasuda, Nobuaki Yoshizawa, Masaaki Matsumoto, Shoji Kawachi, Kazuo Suzuki. Transmission of Pandemic H1N1 Influenza in Japan in 2009:

Simulated Measures and Post-Analysis. Proceedings of Applied Mathematics International Conference 2010 (AMIC2010) & The 6th EASIAM Conference 110-116, 2010.

- 3) 志賀由佳、前原康宏、松谷厚子、佐藤正規、朝山京子、平尾亜衣、青山千賀子、花田真毅、山下陽子、伊藤倫子、佐々木立朗、河内正治: 誌上抄読会 HIV 感染症と麻酔. 臨床麻酔 34(4):717-723, 2010.
- 4) 家研也、吉澤篤人、平野聡、泉信有、放生雅章、杉山温人、小林信行、工藤宏一郎、前原康宏、河内正治、宮越浩一: 気管支喘息合併全身麻酔症例の周術期発作に関する検討. アレルギー 59(7): 831-838, 2010.
- 5) 河内正治: 新型インフルエンザ (今月の用語). 医療 64(10): 653-654, 2010.
- 6) 朝山京子、松谷厚子、佐々木立朗、伊藤倫子、前原康宏、河内正治: 自発呼吸下に全身麻酔をおこなった外傷性気管損傷の 1 例. 麻酔と蘇生 46 (4) : 73-75, 2010.
- 7) 河内正治、丸谷晶美: 人工呼吸中の栄養管理. 日本呼吸ケア・リハビリテーション学会誌 20(2): 120-124, 2010.
- 8) 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.

- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 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]
- 13) Hiroyuki Furuya, Shoji Kawachi, Mika Shigematsu, Kazuo Suzuki, Tetsu Watanabe. Clinical factors associated with severity in hospitalized children infected with avian influenza (H5N1). *Environ Health Prev Med*, 16(1):64-8, 2011.
- 14) 藤岡俊一郎, 保坂茂, 尾澤直美, 南恵理, 柴田真希, 原久男, 梶尾裕, 岸本美也子, 野田光彦, 河内正治: 第25回重症心疾患を合併した慢性腎不全の2例 国立国際医療研究センター病院 生活習慣病症例検討会から *医療* 65(11): 579-584, 2011.
- 15) 河内正治: 吸入麻酔薬による ICU Sedation. *臨床麻酔* 35(10):1529-36,2011.
- 16) 河内正治: BAL (今月の用語). *医療* 65 (8) : 446, 2011.
- 17) 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.
- 18) 河内正治: 感染症とインドネシア (編集余滴). *医療* 65(3): 178, 2011.
- 19) Noriko Nakajima, Ngo Van Tin, Yuko Sato, Hoang Ngoc Thach, Harutaka Katano, Pho Hong Diep, Toshio Kumasaka, Nguyen Trung Thuy, Hideki Hasegawa, Luong Thi San, Shoji Kawachi, Nguyen Thanh Liem, Kazuo Suzuki, Tetsutaro Sata Pathological study of archival lung tissues from 5 fatal cases of avian H5N1 influenza in Vietnam *Modern Pathology*. Nov 23. doi: 10.1038/modpathol.2012.193. [Epub ahead of print]
- 20) 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