

201318023A

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

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：新規診断・治療に関する提案と検証

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 木戸 博

平成 26 (2014) 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

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：新規診断・治療に関する提案と検証

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 木戸 博

平成26（2014）年 3月

## 目 次

### I. 総括研究報告

- 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：新規診断・治療に関する提案と検証 ----- 5  
木戸 博

### II. 分担研究報告

1. 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：重症化発症機序と早期診断マーカー、Flu Alarminの検索 ----- 27  
木戸 博
2. インフルエンザの重症化とサイトカイン、特にインターフェロン産生の機序解明に関する研究 ----- 41  
林 日出喜
3. 感染重症化とプロテアーゼ：高病原性鳥インフルエンザウイルスのHA解列酵素MSPLの作用と、インフルエンザ心筋炎におけるMMP-9の関与についての研究 ----- 53  
高橋悦久
4. 急性脳症とミトコンドリア病の急性期病態の類似性について ----- 59  
久保田雅也
5. ICU入室患者における末梢血アデノシン三リン酸(ATP)と転帰との関係に関する研究 ----- 67  
西村匡司
6. 新型インフルエンザ肺炎・脳症の診断・治療法開発研究 ----- 75  
佐々木信一
7. 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：検体収集とインフルエンザ重症化バイオマーカーの検索 ----- 79  
西村秀一

8. 脳症発症と $\beta$ 酸化障害の関連性に関する研究	85
山口清次	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	97
---------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷（主なもの）	105
-----------------------	-----

# I. 総括研究報告書

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）研究報告書

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：

新規診断・治療に関する提案と検証

研究代表者 木戸 博 徳島大学疾患酵素学研究センター・特任教授

研究要旨

インフルエンザ重症化（肺炎、脳症）発症機序の解明、早期に重症化診断するためのバイオマーカー、Flu Alarmin の検索、重症化治療薬の検索、の3課題について昨年に続いて解析が行われ、それぞれの課題で大きな進展があった。中でもインフルエンザの重症化機序については、これまで提唱してきた「インフルエンザ—サイトカイン—プロテアーゼ（Trypsin, MMP-9）」サイクルに共役する「体内代謝障害—サイトカイン」サイクルが新たに証明され、治療標的酵素が発見されると共に治療薬が明らかになってきた。

1)重症化機序：インフルエンザウイルスの体内増殖は、「インフルエンザ—サイトカイン—プロテアーゼ」サイクルによるが、このサイクルのサイトカインを介して共役している「体内代謝障害—サイトカイン」サイクルが、インフルエンザ増殖と重症化に伴う代謝破綻を制御していることを明らかにした。体内代謝障害の中でも、生命活動に直結しているエネルギー代謝（糖代謝と脂質代謝）が重要で、中でも Pyruvate Dehydrogenase と Pyruvate Dehydrogenase Kinase 4 (PDK4) がサイトカインと密接に関係している事を発見した。PDK4 がサイトカインストームの治療薬の創薬ターゲット分子として注目される。さらに「インフルエンザ—サイトカイン—プロテアーゼ」サイクルの中で、感染で増加する Trypsinogen と共に、Enterokinase (EK: EK-v1, EK-v2) も増加して、速やかに活性型 Trypsin に変換していることが証明された。以上から、サイクルのプロテアーゼ群は、Trypsin, MMP-9, EK であることが判明した。一方、高病原性鳥インフルエンザウイルスは、季節性インフルエンザとは全く異なる宿主の Trypsin 型プロテアーゼで増殖が制御されているが、高病原性鳥インフルエンザ H5N1 ウイルスの Hemagglutinin (HA) 分解シグナル、RKKR, KKKR 配列を認識する酵素として TMPRSS13/MSPL と Furin を見出している。本研究では、TMPRSS13/MSPL の KO マウスでは、KKKR 配列を持つ H5N1 ウイルスの増殖が強く抑制され、RKKR 配列 H5N1 ウイルスの増殖は軽度阻害に留まることを明らかにし、TMPRSS13/MSPL と Furin が H5N1 ウイルス感染に係わることを証明した。

2) インフルエンザ感染重症化に伴う Flu Alarmin として乳酸/ATP 比が検討され、ICU 入室した感染症重症化患者の予後予測因子、さらに重症患者の変化を簡便に経時的、客観的に捉えるスコアとしての有用性が確認された。インフルエンザ脳症を代表とする急性脳症では、乳酸/ATP 比が熱性痙攣重責症例に比較して有意に増加して、鑑別

診断に有用であることを明らかにした。また感染性疾患による急性脳症では、PDK4が増加してPDH活性が急速に低下して乳酸が増加してATPレベルが低下するが、その程度はミトコンドリア病のPyruvate Dehydrogenase Complex (PDC) 欠損症に匹敵して、両者間の有意差は見られなかった。従って、熱不安定性 Carnitine Palmitoyltransferase II (CPT II) 遺伝子多型を持つインフルエンザ脳症の場合、後天性のCPT IIとPDCが重なった状態として、重篤なエネルギー危機状態であることが判明した。Flu Alarminとして、インフルエンザウイルス感染センサーのRIG-1が候補になることを見出した。

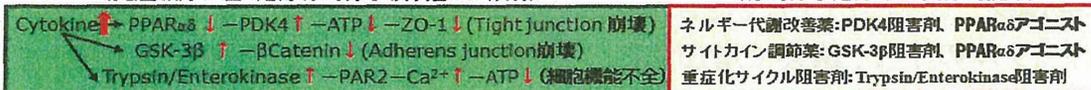
3)重症化治療薬の検索では、PDK4が重症化の創薬ターゲット分子であることを発見したことから、スクリーニングが開始され、既存薬のなかから副作用の強いDichloroacetateに代わって副作用の報告の無いDiisopropylamine dichloroacetateが検証され、極めて強い治療効果を動物実験で証明した。PDK4阻害剤であるが、サイトカインストームの治療薬、ウイルス増殖の抑制作用を示した。熱不安定性CPT II遺伝子多型を持つインフルエンザ脳症の治療薬としてPPAR $\delta$ を介してCPT IIの転写を促進するBezafibrateを提唱していたが、患者の繊維芽細胞を用いた詳細な解析から、高熱下に低下した $\beta$ 酸化を回復させることを明らかにした。また、感染と共に増加するサイトカインの中で、IL-1 $\beta$ とTNF $\alpha$ が $\beta$ 酸化を低下させ、IFN $\gamma$ とIL-6は影響が少ないことが判明した。さらに、血管内皮細胞の透過性亢進を抑制するターゲット分子として、GSK-3 $\beta$ が候補に挙がり阻害剤の検索を開始した。

## インフルエンザ感染による血管内皮細胞障害/多臓器不全の早期診断と治療薬

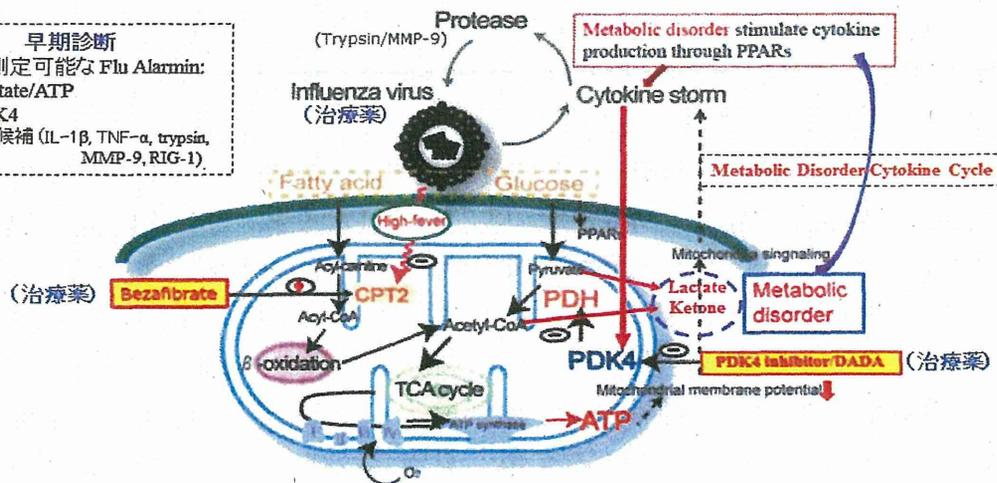
サイトカインが誘導する多臓器不全の発症機序と治療標的分子/治療薬の提案

(発症機序に基づく治療標的分子絞り込みに成功)

(標的分子治療薬の具体的提案)



**早期診断**  
 血液で測定可能な Flu Alarmin:  
 1) Lactate/ATP  
 2) PDK4  
 その他の候補 (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , trypsin, MMP-9, RIG-1)



## 研究分担者

- ・木戸博：徳島大学疾患酵素学研究センター・生体防御・感染症病態代謝研究部門・特任教授
- ・林日出喜：長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染防因子解析学分野・準教授
- ・高橋悦久：徳島大学疾患酵素学研究センター・生体防御・感染症病態代謝研究部門・特任助教
- ・西村匡司：徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部救急集中治療医学分野・教授
- ・久保田雅也：国立成育医療研究センター神経内科・医長
- ・佐々木信一：順天堂大学医学部附属浦安病院呼吸器内科・準教授
- ・山口清次：島根大学医学部小児科学・教授
- ・西村秀一：国立病院機構仙台医療センター・臨床研究部ウイルス疾患研究室長

## A. 研究目的

重症のインフルエンザによる肺炎・脳症・心筋炎の主要な病因は、血管内皮細胞障害による透過性亢進である。これまでのインフルエンザ感染の治療は、感染による臨床症状が出てから4日以内に抗インフルエンザ薬を5日間投与することだけで、感染後4日を過ぎた患者には対症療法だけであった。そのため感染後4日を過ぎた頃から始まる感染重症化への対策、サイトカインストームへの対策は、これまで有効な治療法の提案がされていなかった。国際的な研究開発状況においても、インフルエンザの増殖を抑制する抗インフルエンザ薬の開発に企業は凌ぎを削っているが、重症化への対策、サイトカインストームへの対策に

関しては、その発症機序の解析が不十分なことからほとんど実施されていないと言っても過言ではない。このような現状から、本研究では重症化に発展する可能性をいち早く捉えて対処できるバイオマーカー、Flu Alarmin の検索を実施すると同時に、重症化の発症機序の解明に根差した有効な治療法の開発、サイトカインストームの治療法の開発、血管内皮細胞の透過性亢進の抑制剤の開発、これらの研究目的の解決を目指した研究を推進する。なお研究推進の基盤となるこれまでの成果に、重症化の機序とウイルス増殖機序を世界に先駆けて解明した「インフルエンザサイトカイン-プロテアーゼ」サイクル説 (*J Infect Dis* 202:991, 2010, *Cardiovasc Res* 89:596, 2011) を発表しており、これを基盤の重症化機序とその治療法、Flu Alarmin 検索を進める。具体的には下記の3課題に絞った研究を進める。

- 1) インフルエンザ重症化(肺炎、脳症)発症機序の解明
- 2) 早期に重症化診断するためのバイオマーカー、Flu Alarmin の検索
- 3) 重症化治療薬の検索

## B. 研究方法

1. 【重症化モデル動物実験】によるインフルエンザサイトカイン-プロテアーゼサイクルの検証、重症化の発症機序の解析、Flu Alarmin 検索、治療薬の検証。マウスの重症化モデル動物実験では、重症化しやすい離乳直後の3週齢マウス (C57BL/6CrSlc または、BALB/c) 雌を用いて実験した。インフルエンザウイルス株では感染重症化しやすい InfluenzaA/PR/8/34 (H1N1) 株を用いた。
2. 【培養細胞実験系】による「インフルエ

ンザーサイトカイン—プロテアーゼ」サイクルの検証を実施した。サイクル中のプロテアーゼについては、トリプシノーゲンの活性化酵素として知られているエンテロキナーゼ cDNA をクローニングして、293T 細胞に強制発現させてその役割を調査した。Flu Alarmin 検索として感染標的ヒト培養細胞として、インフルエンザ感染において易感染性の A549 細胞、感染しにくい H292 細胞の 2 種類を使用して、インフルエンザウイルス感染によって起きる感染関連遺伝子約 100 種類の発現パターンの変化を調査した。さらに気管支上皮初代培養細胞、十二指腸上皮細胞の初代培養を実施して、「インフルエンザ—サイトカイン—プロテアーゼ」サイクルを検証した。

3. 【MSPL/TMPRSS13 ノックアウトマウスでの感染実験】による、高病原性鳥インフルエンザウイルス感染におけ MSPL/TMPRSS13 プロテアーゼ遺伝子の意義の解明を実施した。高病原性鳥インフルエンザウイルスは、採取時の RKKKR モチーフを持つ Influenza A/Crow/Kyoto/53/2004 (H5N1) と KKKR モチーフを持つ遺伝子改変ウイルスの 2 種類を使用して感染実験を実施し、ウイルス増殖能の評価と、重症化の程度を組織化学的に解析した。

4. 【インフルエンザ脳症患者臨床検体】からの Flu Alarmin 解析。国立成育医療研究センターに入院した急性脳症患者 10 名を対象に、Flu Alarmin 解析を行った。急性脳症例と熱性けいれん重積例の鑑別診断、ミトコンドリア病との鑑別診断を実施した。特に、乳酸/ATP 比の Flu Alarmin としての有用性の検証を実施した。

5. 【ICU 入室患者の臨床検体】からの Flu Alarmin 解析。2009 年 11 月～2010 年 10 月までに集中治療部に入室した重症患者から

血液を経時的に採取し、血液ガス測定装置で pH, PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>, ヘモグロビン値とともに乳酸値を測定し、中でも感染症の患者群で乳酸/ATP 比の Flu Alarmin としての有用性の検証を実施した。

6. 【呼吸器内科の臨床検体】を用いた Flu Alarmin の検索。順天堂大学医学部附属浦安病院の呼吸器内科で取り扱う患者検体、国立病院機構仙台医療センター・臨床研究部ウイルス疾患研究室に全国から依頼されるウイルス感染者検体の中から、インフォームドコンセントの得られた検体について Flu Alarmin の検索を実施した。

7. 【in vitro probe assay】インフルエンザ脳症の発症機序を視野に、患者の Fibroblast を使用した脂肪酸代謝障害の治療薬、Bezafibrate の治療効果の検討を実施した。

培養皮膚線維芽細胞を特殊なメディウム（最小限のブドウ糖遊離脂肪酸を含まずかつ過剰量のカルニチン）で培養し、β酸化を亢進させた状態で、パルミチン酸などの脂肪酸を添加してメディウム中に分泌されるアシルカルニチンを測定し、β酸化能、および障害部位を評価した。これを In vitro probe (IVP) assay という。アシルカルニチンはタンデムマスによって測定した。インフルエンザ脳症のリスク因子、あるいは緩和因子を探索するために、IVP assay の系に以下のような温度環境の変化、サイトカイン環境の変化、薬剤添加等による β酸化能の変化を評価した。

（倫理面への配慮）

各実施機関毎に、倫理委員会の承認、その他倫理面での配慮の上で実施した。

## C. 結果

1. 【重症化モデル動物実験】によるインフルエンザ感染重症化の機序の解析と治療法

の検索。

マウスのインフルエンザ感染モデル実験により以下の結果を得た。①インフルエンザ感染による致死性重症化は、「サイトカイン-代謝不全」サイクルと「インフルエンザ-サイトカイン-プロテアーゼ (Trypsin)」のサイクルが、サイトカインを共通の因子として連動して引き起こされる病態であると証明された。即ち、インフルエンザ感染で引き起こされるサイトカインストームにより代謝不全が引き起こされ、血管内皮細胞障害と多臓器不全に進展する機序が明らかになった。②体内代謝の中でも糖代謝と脂質代謝が合流してエネルギー産生系に伝達される Acetyl-CoA の産生の係わる酵素として特に Pyruvate Dehydrogenase (PDH) 活性が重要であることが明らかとなった。そこでエネルギー代謝破綻を示すバイオマーカーとして乳酸/ATP 比が検討され、その Flu Alarmin としての有用性が明らかになった。他の Flu Alarmin バイオマーカーとして、血中 Trypsin、MMP-9、サイトカイン群の検討を引き続き検討している。③重症化の治療薬と予防薬の提案：重症化に先立つ PDH の活性低下、これを導く PDH Kinase (PDK) 4 の選択的増加が糖代謝破綻と脂質代謝破綻を導くことを見出し、安全な PDK4 阻害剤を既存薬 (Diisopropylamine dichloroacetate, DADA) に新たに見出すことに成功した。これにより、糖代謝と脂質代謝が補正されることで、サイトカイン産生量が低下して、インフルエンザ-サイトカイン-プロテアーゼサイクルの回転が抑制され、生存率の改善に極めて効果的であると判明した。現在、DADA よりもさらに効果的な PDK4 阻害剤の検索を開始している。一方、インフルエンザ脳症の患者で見られる熱不安定性 Carnitine

Palmitoyltransferase II (CPT II) の治療薬として、Bezafibrate を長鎖脂肪酸代謝酵素の転写促進因子として見出しており、その有効性をミトコンドリア機能、エネルギー代謝の改善を指標に確認した。

2. 【培養細胞実験系】による「インフルエンザ-サイトカイン-プロテアーゼ」サイクルの検証。

①インフルエンザウイルス (IAV) 感染感受性 A549 細胞と抵抗性 H292 細胞にウイルスを感染させ、各種遺伝子の定量を継時的に行い、3 倍以上の変化がみられた遺伝子を以下 3 つのグループに分けることができた。  
i) 両細胞で同程度発現の上昇がみられた分子: ADAR1, GBP1, GBP2, IFIT1, IFIT2, IFIT3, IFIT5, IFNL3, IRF1, IL6, IRF7, IRF9, ISG15, MDA5, MX1, MYD88, OAS1, OAS2, PKR, RIG-I, TLR3, TNFA。

ii) IAV 感染感受性 A549 細胞で、より顕著な発現の上昇がみられた分子: CCL5, IFNB1, IFNL1, IFNL2, IL17F, STAT1。

iii) IAV 感染抵抗性 H292 細胞で、より顕著な発現の上昇がみられた分子: AIM2, CXCL10, IFITM1, IFITM2, IFITM3, MX2, PYHIN1, STING。

②トリプシノーゲンの活性化因子として昨年に続いてエンテロキナーゼ EK 遺伝子 (EK-v1) に加え、新たに EK-v2 もクローニングした。EK-v1 が EK-v2 に比べ、トリプシノーゲンをより効率的に活性化した。なお EK はトリプシノーゲンを活性化したが、TMPRSS2, 4 と HAT はトリプシノーゲンを活性化できなかった。このように、EK によるウイルスの HA のプロセッシングを促進する新たな経路を確認した。

③IAV 感染の際に、ウイルス RNA を RIG-I が検知し、IFN $\alpha$ / $\beta$  誘導、さらに ISGs (IFN 誘導遺伝子群) の発現を上昇させ、ウイルスの

排除を行うと考えられているが、このことが 293T 細胞で確認することができた。

④インフルエンザウイルスの初感染部位のヒト呼吸器上皮細胞の初代培養と、ヒト十二指腸上皮細胞の初代培養を試み成功した。これらの細胞を用いたインフルエンザ-サイトカイン-プロテアーゼサイクルの検証を今後実施する。

### 3. 【MSPL/TMPRSS13 ノックアウトマウスでの感染実験】

昨年までの研究により、HA の切断部位に RKKKR モチーフを持つ WT 高病原性鳥インフルエンザウイルス Influenza A/Crow/Kyoto/53/2004 (H5N1) ウイルスの増殖は、野生型マウスにおいて著名であったが、ノックアウトマウスでの感染増殖は有意に低下しており、RKKKR モチーフウイルスの増殖に TMPRSS13/MSPL が関与していることが確認されていた。一方、KKKR モチーフを持つ遺伝子改変 (Mut) 高病原性鳥インフルエンザウイルスの場合、ウイルスの増殖は野生型マウスにおいても著しく低く、ノックアウトマウスではウイルスの増殖が検出できなかったことから、Mut ウイルスの増殖には TMPRSS13/MSPL が主として関与していると推定された。上記の事実を肺の病理組織像から確認することができた。

### 4. 【インフルエンザ脳症患者の病態解析と診断バイオマーカー】の検索。

インフルエンザ感染によるサイトカイン誘導で PDK4 が激しく誘導され、ミトコンドリアの PDH 活性が低下して糖代謝破綻によるエネルギー危機の生じることが本年度の動物実験で明らかになっている。ヒトのインフルエンザ脳症の病態でもこの病態が再現されており、PDH 活性が低下して糖代謝破

綻によるエネルギー危機の生じていることを示唆する血中 ATP、乳酸、乳酸/ATP 比のデータが出ていることが確認された。血中 ATP、乳酸、乳酸/ATP 比のレベルは、PDHC (pyruvate dehydrogenase complex) 欠損症患者の感染急性期病態とほぼ一致することが、本年度の両疾患群の示す類似の値から強く推定された。インフルエンザ脳症患者は、これまでの解析から熱不安定性 Carnitine Palmitoyltransferase II (CPT II) の遺伝子多型を持つことが多く、長鎖脂肪酸からの ATP 産生経路に障害があり、ATP 産生が低値である。このような患者がインフルエンザに感染して高熱状態になると、長鎖脂肪酸からの ATP 産生経路が益々低下するとともに、サイトカインストームによる PDK4 の誘導で PDH 活性が低下して糖代謝破綻が生じ、急速なエネルギー危機になる病態が明らかになった。しかし、PDHC 欠損症患者では脂質代謝の障害が無いため、低下したエネルギー産生を脂肪酸で補うことができる点でインフルエンザ脳症患者と異なる。実際に PDHC 欠損症 26 才男性の場合、連日のピーナツ摂取により神経症状が軽快・安定した。エネルギー危機ではインフルエンザ脳症と PDHC 欠損症では共通するが、PDHC 欠損症児がインフルエンザ感染に引き続き意識障害等を起こしたとき MRS 上乳酸の上昇とともにグルタミン-グルタミン酸 (Glx) の上昇を認め、病変は小脳歯状核が中心であり典型的な急性脳症 (AESD) とは異なっていたが、病態には共通するものがある。

血中 ATP、乳酸、乳酸/ATP 比について急性脳症と熱性けいれん重積で比較検討した。その結果、乳酸/ATP 比は急性脳症急性期では高値、回復期で正常化するが、熱性けいれん重積と比較すると有意差を持って高値

であり発症初期の病態の違いを反映していた。以上により、インフルエンザ脳症患者の病態が明らかになると共に、熱性けいれん重積との差が明らかになってきた。

#### 5. 【ICU入室患者の臨床検体】からのFlu Alarmin 解析。

これまで臨床で使用されてきた APACH II 等の重症度スコアは必ずしも患者予後を反映しない。そこで、重症患者の重症度の変化を簡便に経時的、客観的にとらえることが可能となれば、重症患者の治療効果を早期に把握することができ、予後改善にも役立つ可能性がある。本研究では ATP、乳酸 / ATP 比 (A-LES, ATP-lactate energy risk score) を測定し、重症患者の予後および APACH II スコアとの関連を検討した。

重症患者では ATP、A-LES がいずれも正常範囲を逸脱していた。特に感染症患者では予後との相関が高く、重症患者の予後予測因子として重要な役割を果たす可能性が示唆された。

末梢血 ATP は赤血球内に存在すると考えられるため、ヘモグロビン値で ATP 値を補正することで標準化する方法をとった。ヘモグロビン 10g/dL あたりで補正した結果、入室時の ATP (ヘモグロビン補正後) および A-LES は生存患者、死亡患者で差を認めなかった (それぞれ  $0.43 \pm 0.13$  vs.  $0.40 \pm 0.28$ ,  $9.6 \pm 8.6$  vs.  $16.8 \pm 17.2$ )。ICU 入室患者で予後が悪い代表疾患として敗血症があり、多臓器不全を来す疾患である。基礎疾患として感染症を有する患者で生存患者 (17 人) と死亡患者 (4 人) を比較した結果、ATP は生存患者と死亡患者で差を認めなかったが、A-LES は死亡患者で有意に高値であった。感染症患者での予後判定予測を APACH II スコア、ATP、A-LES で比較すると曲線下の面

積は APACH II 0.801、ATP (ヘモグロビン補正) 0.279、A-LES 0.941 で、A-LES が有意に良かった。

#### 6. 【呼吸器内科の臨床検体】を用いた Flu Alarmin の検索。

インフルエンザ脳症、重症肺炎症例をいち早く診断するバイオマーカーの解明と確立を目的とし、呼吸器内科で取り扱ったインフルエンザ患者血清および気管支肺胞洗浄液検体から、ATP をはじめとした各種バイオマーカーの検索を実施した。多くの症例で IL-6、MMP-9 や TNF- $\alpha$  といったサイトカインの高値が認められた。血中の乳酸を ATP の値で割った乳酸 / ATP 比 (A-LES, ATP-lactate energy risk score) の値は概ね 20 以下 (正常値: median A-LES, 2.7 (2.1 to 3.3)) を示し比較的高い値を示したが、B 型インフルエンザ 2 例ではさらに高値を示した。検討した症例内訳は、A 型インフルエンザ: 7 例、B 型インフルエンザ: 3 例、細菌性肺炎: 2 例、急性肺障害: 4 例であった。多くの症例で IL-6、MMP-9 や TNF- $\alpha$  といったサイトカインの高値が認められた。なお、A-LES 値が高値を示した B 型インフルエンザ症例 2 例では、A-LES 値: 91.7、40.4 の高値を示した。今後症例を増やして、さらなる検討を続けて行く。

#### 7. 【in vitro probe assay】

インフルエンザの重症化が  $\beta$  酸化障害を介して発展してゆくという仮説のもとに、 $\beta$  酸化に影響する因子について検討した。主に患者の培養皮膚線維芽細胞を用い、タンデムマスによる脂肪酸代謝中間体解析を in vitro probe assay (IVP assay) で調査して、以下の結論が得られた。①PPAR アゴニストで高脂血症薬のベザフィブラート

(BEZ) は、 $\beta$ 酸化異常を改善する効果が期待された。②培養環境が、高温下 (41°C) では長鎖脂肪酸の代謝が障害され、低温下 (33°C) では $\beta$ 酸化が改善した。変異タンパクの立体構造の安定化などがこの理由として考え得られる。さらに、③サイトカインの $\beta$ 酸化におよぼす影響について調べた。インフルエンザで増加するといわれるサイトカイン(IL1、IL6、 $\text{INF}\gamma$ および $\text{TNF}\alpha$ )の存在下で $\beta$ 酸化能の変化を評価した。結論として、 $\text{INF}\gamma$ とIL6による $\beta$ 酸化への影響は少なく、IL1 $\beta$ と $\text{TNF}\alpha$ は、 $\beta$ 酸化障害を悪化させる可能性が高い。すなわちサイトカインの種類によって $\beta$ 酸化に影響を及ぼしインフルエンザの病態を悪化させる可能性が示唆された。今後、インフルエンザに関連したこの他の諸因子についても $\beta$ 酸化への影響をみる価値がある。

#### D. 考察

1. 【重症化モデル動物実験】によるインフルエンザ感染重症化の機序の解析と治療法の検索。

インフルエンザ感染重症化機序で新たな発見がなされた。即ち感染重症化の重要な引き金の因子としてエネルギー代謝不全があり、この代謝不全はサイトカインレベルと密にリンクして、「サイトカイン代謝不全」サイクルを形成している。さらにこのサイトカインを介して、ウイルス増殖を制御する「インフルエンザサイトカインプロテアーゼサイクル」に大きな影響を与えていることが明らかとなった。従来、インフルエンザの治療として抗ウイルス剤が使用されていたが、感染から4-5日目までが有効治療期間で5日を過ぎた感染者、特に重症化の始まった感染者には無効とされ、

有効な治療薬がこれまで無かった。本プロジェクトにおいて、「サイトカイン代謝不全」サイクルの中核となっているPDK4阻害剤としてDADAが見いだされ、DADAは糖代謝と脂質代謝を修復すると共にサイトカインストームの治療効果を示し、ウイルス増殖を抑制した。DADAはこれまで、副作用の報告の無い肝臓保護剤として約50年間使用されてきた薬剤であるが、新たに見出したPDK4阻害活性は、 $\text{IC}_{50} = 50.9 \mu\text{M}$ と比較的弱いことから、今後より強力なPDK4阻害剤をスクリーニングすることが強く望まれる。なお、感染重症化のカスケードを構成する「インフルエンザサイトカインプロテアーゼ」サイクルにカップルした「サイトカイン代謝不全」サイクルは、インフルエンザ以外の各種感染症の治療、さらには「サイトカイン代謝不全」サイクルが関与する様々な疾患、例えば癌の悪液質、心不全、糖尿病治療への応用も可能と推定される。

2. 【培養細胞実験系】による「インフルエンザサイトカインプロテアーゼ」サイクルの検証。

重症化の早期診断マーカー、SOSシグナルとしてのFlu Alarminの候補遺伝子として、インフルエンザウイルス感染感受性A549細胞で、顕著な発現の上昇がみられた分子：CCL5、IFNB1、IFNL1、IFNL2、IL17F、STAT1を第一と考え、今後、A型のみならずB型も含めた感染患者の血液細胞、あるいは気管支肺胞洗浄(BAL)細胞でモニターして、重症化診断に応用できるFlu Alarminとして同定する予定である。一方、インフルエンザウイルス感染抵抗性H292細胞で、顕著な発現の上昇がみられた分子：AIM2、CXCL10、IFITM1、IFITM2、IFITM3、MX2、PYHIN1、STINGは、むしろウイルス排除に関わる防御分子

と考えられた。実際に、293T 細胞を使ったインフルエンザウイルス感染系で IFITM3 による IAV 感染増殖抑制が確認された。他の分子に関しても培養細胞系で細かく検討した後、実験動物レベルで、検討して治療への応用が期待できるかを検討したい。なお、これらの細胞系を使用して、EK がインフルエンザウイルス感染の成立、重症化に関わる新たなトリプシン様タンパク質分解酵素の一つと考えられた。今後、ヒト呼吸器上皮細胞と、ヒト十二指腸上皮細胞の初代培養でも検討を進める。

### 3. 【MSPL/TMPRSS13 ノックアウトマウスでの感染実験】

高病原性鳥インフルエンザ感染において MSPL は、ウイルス増殖に必須な HA の解列に際して、解列シグナルの RKKR、KKKR タイプの両方に大きく関与していることが示唆された。したがって MSPL の阻害剤を探索することが高病原性鳥インフルエンザウイルスの増殖阻害と、ウイルス感染の重症化の治療に有用であると考えられた。

### 4. 【インフルエンザ脳症患者の病態解析と診断バイオマーカー】の検索。

乳酸/ATP 比はインフルエンザ脳症の急性期では高値 ( $6.00 \pm 5.95$ ) (正常値: median A-LES,  $2.7(2.1 \text{ to } 3.3)$ ) を示し、回復期で正常化するパターンが確認された。このようなエネルギー危機は、インフルエンザ脳症患者の多くが持つ熱不安定性 CPT II の遺伝子多型から長鎖脂肪酸からの ATP 産生経路に障害があり、高熱状態で ATP 産生が低くなってしまうのに加えて、サイトカインストームによる PDK4 の誘導で PDH 活性が低下して糖代謝破綻が生じ、急速なエネルギー危機になる病態が明らかになった。そのため、長鎖脂肪酸代謝障害を持たない熱性けいれん重積患者の A-LES 値、(1.48

$\pm 0.69$ ) と比較すると有意差を持って高値で鑑別診断の一助になる。インフルエンザ脳症とインフルエンザに感染したミトコンドリア病の PDHC 欠損症患者では、PDH の低下が共通して起きて、乳酸/ATP 比において有意差は付かない事例が多い。インフルエンザに感染した PDHC 欠損症患者の場合、MRS 上乳酸の上昇とともにグルタミン-グルタミン酸 (Glx) の上昇を認め、病変は小脳歯状核が中心であり典型的な急性脳症 (AESD) とは異なっていたが、病態には共通するものがあつた。

### 5. 【ICU 入室患者の臨床検体】からの Flu Alarmin 解析。

ATP、A-LES とともに ICU に入室した対象患者全員では生存患者と死亡患者で有意差を認めなかったが、感染症患者を対象とすると A-LES の予後判定予測値は最も良好で APACH II を超えていた。敗血症は集中治療室で管理する患者群の中では多臓器不全の認められる予後不良の疾患である。敗血症は細菌感染が原因で臓器不全が起きる病態で、抹消組織での酸素利用障害が病態生理の一つとして考えられ、多臓器不全に ATP 産生不全が関与している可能性は高い。全ての患者に当てはまるわけではないが、A-LES は簡便に測定できるとともに、経時的変化を追うことができる点で優れていた。

### 6. 【呼吸器内科の臨床検体】を用いた Flu Alarmin の検索。

インフルエンザ症例や肺炎、急性肺障害例では、かなりの症例で各種サイトカインの高値が認められ、いわゆるサイトカインストームの状態が示唆された。現時点で死亡例は経験しておらず、それを反映してか A-LES は概ね 20 以下であったが、B 型インフルエンザ症例で高値になる傾向が認められた。この傾向がインフルエンザウイルス

タイプによる特性なのか、重症度の問題なのかは、現在症例を蓄積し検討中である。

ARDS に陥る症例はインフルエンザに限らず存在するため、そのメカニズム解明とインフルエンザ症例との比較検討のために、今後はインフルエンザ以外の ARDS 症例（細菌性肺炎、敗血症、重症外傷等）においても検討を加える予定である。

## 7. 【in vitro probe assay】

$\beta$ 酸化異常症のように代謝の脆弱な体質の個体では、インフルエンザ脳症のように感染などを契機に急性経過を取ることが少なくない。今回の検討の結果、高脂血症薬の BEZ は  $\beta$ 酸化異常症を改善する可能性のあることを示した。その機序として、BEZ は PPAR アゴニストとして働き、PPAR は  $\beta$ 酸化酵素の上流の配列に結合して酵素の転写を促進し、このために酵素タンパクの量を増加させ残存活性を上昇させることが考えられる。BEZ の作用機序については in vivo も含めて、さらに検討が必要であろう。

環境温度による影響をみた研究では、長鎖脂肪酸の代謝の脆弱な個体（または  $\beta$ 酸化異常症）では、高温下では長鎖脂肪酸代謝が悪化する可能性がある。一方中鎖～短鎖の  $\beta$ 酸化は高温下では促進される。一方低温下では、長鎖  $\beta$ 酸化の異常も緩和されることが推測された。この機序として、変異タンパクでも低温下では立体構造が比較的保たれて安定化するために、酵素活性が保存されたことが考えられる。

インフルエンザで上昇するサイトカインのうち、IF $\gamma$  と IL6 の  $\beta$ 酸化への影響は少なく、IL1 $\beta$  と TNF $\alpha$  では、 $\beta$ 酸化異常症を悪化させる可能性が高いことが分かった。今後さらにこの他のサイトカインの影響についても検討する価値がある。

## E. 結論

①インフルエンザ感染重症化機序として、「インフルエンザ—サイトカイン—プロテ

アーゼ」サイクルにカップルした「サイトカイン—代謝不全」サイクルが見いだされた。このネットワーク機構の中で、代謝不全を誘導するターゲット分子として PDK4 が明らかになり、PDK4 阻害剤として新たに DADA が見いだされた。DADA は、PDK4 活性の阻害効果から糖代謝、脂質代謝不全を正常化し、サイトカインストームへの治療効果を示した。サイトカインストームの治療効果はさらに、「インフルエンザ—サイトカイン—プロテアーゼ」サイクルの回転を抑制して、著明なウイルス増殖阻害効果を示した。

②【培養細胞実験系】による「インフルエンザ—サイトカイン—プロテアーゼ」サイクルの検証では、早期診断マーカー、SOS シグナルとしての Flu Alarmin の候補分子がある程度絞り込むことができた。また、感染重症化に関わる可能性のある新たなトリプシン様タンパク質分解酵素として EK の存在が示唆された。

③【MSPL/TMPRSS13 ノックアウトマウスでの感染実験】ノックアウトマウスの実験から、KKKR 配列 H5N1 ウイルスの増殖には主に TMPRSS13/MSPL が、RKKKR 配列 H5N1 ウイルスの増殖には TMPRSS13/MSPL と Furin が関わっていると推定され、肺のウイルス増殖をモニターした組織化学的解析からも確認された。

④【インフルエンザ脳症患者の病態解析と診断バイオマーカー】の検索。乳酸/ATP 比は急性脳症急性期では高値、回復期で正常化するパターンが確認された。また急性脳症との鑑別が問題となる熱性けいれん重積と比較すると有意差を持って高値であり発症初期の病態の違いを反映していた。乳酸/ATP 比が急性脳症急性期と PDHC 欠損症等のミトコンドリア病の患者での値と有意差が

なかったことはミトコンドリアを場とする共通の energy failure が起こっている可能性を示唆する。

⑤【ICU 入室患者の臨床検体】からの Flu Alarmin 解析。ICU に入室した感染症患者を対象とすると A-LES の予後判定予測値は最も良好で APACH II を超えていた。

⑥【呼吸器内科の臨床検体】を用いた Flu Alarmin の検索。インフルエンザ症例、肺炎、急性肺障害例で、各種サイトカインの高値と 20 以下の A-LES 値を提示し、B 型インフルエンザ症例ではさらに高値になる傾向が認められた。

⑦β酸化異常症を伴うインフルエンザ感染症において、BEZ は改善効果が期待された。またサイトカインの中でも、IF $\gamma$  と IL6 のβ酸化への影響は少なく、IL1 $\beta$  と TNF $\alpha$  は、β酸化系を悪化させる可能性があることが明らかになった。

## F. 健康被害情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- (1) Shinahara W, Takahashi E, Sawabuchi T, Arai M, Hirotsu N, Kido H. Immunomodulator clarithromycin enhances mucosal and systemic immune responses and reduces re-infection rate in pediatric patients with influenza treated with antiviral neuraminidase inhibitors: A retrospective analysis., *PLoS ONE*, 2013; 8(7), e70060.
- (2) Shoji M, Takahashi E, Hatakeyama D, Iwai Y, Morita Y, Shirayama R, Echigo N, Kido H, Nakamura S, Mashino T, Okutani T, Kuzuhara T. Anti-Influenza Activity of C60 Fullerene Derivatives, *PLoS ONE*, 2013; 8(6): e66337.
- (3) Chida J, Ono R, Yamane K, Hiyoshi M, Nishimura M, Onodera M, Nakataki E, Matushita M, Kido H. Blood Lactate/ATP Ratio, as an Alarm Index and Real-Time Biomarker in Critical Illness., *PLoS ONE*, 2013; 8(4), e60561.
- (4) Kimoto T, Mizuno D, Takei T, Kunimi T, Ono S, Sakai S, Kido H. Intranasal influenza vaccination using a new synthetic mucosal adjuvant SF-10 -Induction of potent local and systemic immunity with balanced Th1 and Th2 responses. *Influenza and Other Resp. Viruses*, 2013; 7(6): 1218-1226. doi:10.1111/irv.12124.
- (5) Chida J, Kido H. Extraction and quantification of adenosine triphosphate in mammalian tissues and cells. *Methods Mol Biol*, 2014; 1098(1): 21-32.
- (6) Yamane K, Indalao IL, Yamamoto Y, Hanawa M, Kido H. Diisopropylamine dichloroacetate, a novel pyruvate dehydrogenase kinase 4 inhibitor, as a potential therapeutic agent for multiorgan failure in severe influenza. *PLoS ONE*, 2014 in press.
- (7) 木戸博、高橋悦久、山根一彦、重症インフルエンザ感染の肺炎・脳症の最新知見と治療提案 日本臨床内科医会会誌 2013; 27(5): 578-583.
- (8) 木戸博 インフルエンザ脳症はここまでわかってきた！ プライマリケアのためのインフルエンザ診療 医薬ジャー

- ナル社 2013: p30-35.
- (9) 木戸博 インフルエンザにおけるマクロライドの有効性の機序 2 : インフルエンザにおける粘膜免疫増強作用と再感染抑制機序 呼吸器内科 2013; 24(4): 384-391.
- (10) 木本貴士、水野大、堺聡子、木戸博 肺サーファクタント由来人工合成粘膜アジュバント SF-10 の感染防御効果と液性・細胞性免疫誘導効果の検討 日本肺サーファクタント・界面医学会誌 2013; 44: 59-61.
- (11) 木戸博 アジュバント、予防接種 Q & A 小児内科 2013; 45: 60-64.
- (12) 木戸博、高橋悦久、堺聡子 ウイルス性気道感染症における粘膜免疫の重要性 感染と抗菌薬 2013; 16(4): 361-367.
- (13) 木戸博、高橋悦久、山根一彦 インフルエンザの生体防御 感染症内科 2013; 1(6): 544-551.
- (14) Haga N, Kubota M, Miwa Z. Epidemiology of hereditary sensory and autonomic neuropathy type IV and V in Japan. *Am J Med Genet Part A* 2013;161A:871-874.
- (15) Shinohara, M, Saitoh, M, Nishizawa, D, Ikeda, K, Hirose, S, Takanashi, JI, Takita J, Kikuchi K, Kubota M et al. ADORA2A polymorphism predisposes children to encephalopathy with febrile status epilepticus. *Neurology*. 2013 (in press)
- (16) Kato M, Yamagata T, Kubota M, et al. Clinical spectrum of early onset epileptic encephalopathies caused by KCNQ2 mutation. *Epilepsia*. 2013 Apr 26. doi: 10.1111/epi.12200. [Epub ahead of print]
- (17) Miyake N, Koshimizu E, Okamoto N, Mizuno S, Ogata T, Nagai T, Kosho T, Ohashi H, Kato M, Sasaki G, Mabe H, Watanabe Y, Yoshino M, Matsuishi T, Takanashi J-i, Shotelersuk V, Tekin M, Ochi N, Kubota M, et al. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet* 2013;Part A 161A:2234-2243.
- (18) Nakamura K, Kodera H, Akita T, Shiina M, Kato M, Hoshino H, Terashima H, Kubota M et al. De Novo Mutations in *GNAO1*, Encoding a Gao Subunit of Heterotrimeric G Proteins, Cause Epileptic Encephalopathy. *The Am J Hum Genet* 2013; 93, 1-10
- (19) Shiihara T, Miyake T, Izumi S, Sugihara S, Watanabe M, Takanashi J, Kubota M, Kato M. Serum and CSF biomarkers in acute pediatric neurological disorders. *Brain Dev* 2013 in press.
- (20) Shigematsu S, Hayashi H, Yasui K, Matsuyama T. SAM domain-containing N-terminal region of SAMHD1 plays a crucial role in its stabilization and restriction of HIV-1 infection. *Acta Med Nagasaki*, 2014, in press.
- (21) Kakoki K, Shinohara A, Izumida M, Koizumi Y, Honda E, Kato G, Igawa T, Sakai H, Hayashi H, Matsuyama T, Morita T, Koshimoto C, Kubo Y. Susceptibility of muridae cell lines to ecotropic murine leukemia virus and the cationic amino acid transporter 1 viral receptor sequences: implications

- for evolution of the viral receptor. *Virus Genes*. Epub 2014 Jan 28.
- (22) Chua KJ, Kubo Y, Ma Y, Yasui K, Matsuyama T, and Hayashi H. A short variant BTBD2 as a novel negative regulator of IRF- associated signalling. *Int J Integrative Biol*. 2013; 14: 31-38.
- (23) Kamiyama H, Kakoki K, Shigematsu S, Izumida M, Yashima Y, Tanaka Y, Hayashi H, Matsuyama T, Sato H, Yamamoto N, Sano T, Shidoji Y, Kubo Y. CXCR4-Tropic, but not CCR5-tropic, human immunodeficiency virus infection is inhibited by the lipid raft-associated factors, acyclic retinoid analogs, and cholera toxin B subunit. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2013; 29(2):279-288.
- (24) Kubo Y, Hayashi H, Matsuyama T, Sato H, Yamamoto N. Retrovirus entry by endocytosis and cathepsin proteases. *Adv Virol*. 2012:640894.
- (25) Kohno T, Kubo Y, Yasui K, Haraguchi M, Shigematsu S, Chua KJ, Matsuyama T, Hayashi H. Serum starvation activates NF- $\kappa$ B through G protein  $\beta$ 2 subunit-mediated signal. *DNA Cell Biol* 2012; 31(11):1636-1644.
- (26) Ihara K, Yoshino M, Hoshina T, Harada N, Kojima-Ishii K, Makimura M, Hasegawa Y, Watanabe Y, Yamaguchi S, Hara T. Coagulopathy in patients with late-onset ornithine transcarbamylase deficiency in remission state: A previously unrecognized complication. *Pediatrics* 2013; 131(1): e327-330.
- (27) Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamada K, Takahashi T, Takayanagi M, Fukao T, Fukuda S, Yamaguchi S. Intracellular in vitro probe acylcarnitine assay for identifying deficiencies of carnitine transporter and carnitine palmitoyltransferase-1. *Anal Bioanal Chem* 2013; 405(4): 1345-1351.
- (28) Yamaguchi S, Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Furui M, Taketani T, Fukuda S, Fukao T, Shigematsu Y: Expanded newborn mass screening with MS/MS and medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in Japan. *日本マススクリーニング学会誌* 2013; 23(3): 270-276.
- (29) 山口清次 MS解析による代謝障害の診断. *分子消化器病* 2013; 10(1): 72-78.
- (30) 山口清次 新生児スクリーニングの新时代; タンデムマス法の導入. *日本周産期・新生児医学会雑誌* 2013; 48(4): 827-829.
- (31) 山田健治, 長谷川有紀, 吉川陽子, 高橋知男, 小林弘典, 虫本雄一, Jamiyan Purevsuren, 山口清次 成人後に診断された有機酸・脂肪酸代謝異常症の臨床的検討. *臨床神経学* 2013; 53(3): 191-195.
- (32) 山口清次 タンデムマスを用いた新生児マススクリーニングによる先天代謝異常症の早期診断. *小児科臨床* 2013; 66(2): 193-198.
- (33) 山口清次 小児科領域におけるタンデムマスと GC/MS の臨床応用: 最近の進歩. *臨床病理* 2013; 61(9): 817-824.
- (34) 山口清次(編): *タンデムマス・ガイドブック、診断と治療社、東京、2013*
- (35) Nagashima O, Ohashi R, Yoshioka Y, Inagaki A, Tajima M, Koinuma Y, Iwakami S, Iwase A, Sasaki S, Tominaga S, Takahashi K. High prevalence of gene abnormalities in young patients with lung cancer. *J*

- Thorac Dis* 2013;5:27-30.
- (36) Mori T, Tajima K, Hiramama M, Sato T, Kido K, Iwakami S, Sasaki S, Iwase A, Shiomi K, Maeda M, Hino O, Takahashi K. The n-erc index is a novel monitoring and prognostic marker for advanced malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Dis* 2013;5:145-148.
- (37) 門屋講太郎, 吉岡 泰子, 難波由喜子, 桂 蓉子, 高 遼, 小池 建吾, 吉岡 正剛, 佐々木信一, 富永 滋, 高橋 和久. 肺膿瘍・膿胸 7 例における歯周病細菌 PCR 検査の臨床的意義の検討. *日本呼吸器学会雑誌* 2013; 2: 79-84.
- (38) 南條友央太, 佐々木信一, 松野 圭, 石森絢子, 牧野文彦, 吉岡正剛, 吉岡泰子, 富永 滋, 山口哲生. *Nocardia wallacei* が検出され、ST 合剤投与で軽快した気管支拡張症の 1 例. *Therapeutic Research* 2013; 34: 759-760.
- (39) 磯部 全, 佐々木 信一, 富永 滋, 前野敏孝, 倉林 正彦. 喘鳴を伴わずに発症した好酸球性細気管支炎の 1 例. *日本呼吸器学会誌* 2013; 2: 607-611.
- (40) 磯部 全, 佐々木信一, 神戸将彦, 相澤智弘, 原 健一郎, 前野敏孝. 咯血を主訴とし、びまん性肺胞出血との鑑別を要した気管支管支骨軟骨形成症の 1 例. *気管支学* 2014; 36: 73-77.
- (41) Takashita E, Ejima M, Miura M, Ohnishi A, Nishimura H, Odagiri T, Tashiro M. A community cluster of influenza A(H1N1)odm09 virus exhibiting cross-resistance to oseltamivir and peramivir in Japan, November to December 2013. *Euro Surveill.* 2014; 19: pii=20666.
- (42) Nguyen, Abe S, Sun G, Matsuoka A, Nishimura H, Ishihara M, Matsui. Rapid screening for influenza using a multivariable logistic regression model to save labor at a clinic in Iwaki, Fukushima, Japan. *Am J Infection Control*, 2014, in press.
- (43) Nishimura H, Sakata S, Kaga A: A New methodology for studying dynamics of aerosol particles in sneeze and cough using a digital high-vision, high-speed video system and vector analyses. *PLoS ONE* 2013; 8: e80244. doi:10.1371/journal.pone.0080244
- (44) Yamaya M, Nishimura H, Nadine LK, Ota C, Kubo H, Nagatomi R: Ambroxol inhibits rhinovirus infection in primary cultures of human tracheal epithelial cells. *Arch. Pharm. Res. Arch Pharm Res.* [Epub ahead of print] 2013
- (45) Yamaya M, Nishimura H, Lusamba Nadine L, Kubo H, Nagatomi R: Tulobuterol inhibits rhinovirus infection in primary cultures of human tracheal epithelial cells. *Physiological Reports* 2013. 1: e00041.
- (46) Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, Ikeda T, Matsuzaki Y, Hongo S, Itagaki T, Katsushima N, Ohmi A, Nishimura H, and Ahiko T: Molecular epidemiology of Coxsackievirus A16 strains isolated from children in Yamagata, Japan between 1988 and 2011. *Microbiol. Immunol.* 2013; 57: 400-405.
- (47) 山口育男、青山知枝、山本優、木下恵子、伊藤由美、西村秀一: イムノクロマト法インフルエンザウイルス抗原検出キット BD ベリターシステム Flu における機器判定の感度とその目視判定に対する優越性の検討. *日本臨床微生物学雑誌* 2013; 23: 39-44.

## 2. 学会発表

- (1) Indalao IL, Takahashi E, Kido H. Studies on the differences in host cellular responses by different influenza virus strains and subtypes. 第54回日本生化学会中国・四国支部例会。平成25年5月31日—6月1日(徳島大学)
- (2) 高橋悦久、片岡宏介、Indalao IL、木戸博 インフルエンザ感染時のタミフル服用により低下した気道粘膜IgAはクラリスロマイシンと併用することによって改善される。第54回日本生化学会中国・四国支部例会。平成25年5月31日—6月1日(徳島大学)
- (3) 木戸博 肺サーファクタントの新たな医学応用の可能性—粘膜アジュバントへの応用とワクチン開発— 第12回肺サーファクタント分子病態研究会 平成 25 年6月22日(札幌医科大学)
- (4) 木戸博。粘膜アジュバントとしてのクラリスロマイシンの臨床評価の検討。第20回マクロライド新作用研究会 平成25年7月19日(家の光会館コンベンションホール)
- (5) Indalao IL, Kido H. Activation of trypsin and interferon regulation factor contributes to different disease severity during infection of influenza A virus with different pathogenicity. 第18回日本病態プロテアーゼ学会学術集会 平成25年8月16—17日
- (6) 山根一彦、山本善一、埴雅明、木戸博。インフルエンザ感染による重症化と多臓器不全の代謝改善を基盤とした新たな治療ターゲットと標的とその治療法の開発: diisopropylamine dichloroacetate (DADA)による energy crisis の回避 第 86 回日本生化学会大会。平成 25 年 9 月 11—13 日(パシフィコ横浜)
- (7) 高橋悦久、片岡宏介、Indalao IL、堀聡子、木戸博。インフルエンザ感染時においてタミフルとクラリスロマイシンの併用で気道粘膜での抗インフルエンザ特異 IgA 抗体の増強が認められた。第 86 回日本生化学会大会。平成 25 年 9 月 11—13 日(パシフィコ横浜)
- (8) Kido H. Critical illness and energy metabolism—Blood lactate/ATP ratio as a real-time alarm index. The 7<sup>th</sup> Asian Conference on Emergency Medicine. 平成 25 年 10 月 25 日(東京国際フォーラム)
- (9) 木戸博 新規リアルタイム重症度診断バイオマーカー、血液の乳酸/ATP 比 第60回日本臨床検査医学会学術集会。平成 25 年 10 月 31—11 月 3 日(神戸国際会議場)
- (10) Hayashi H. Identification of poly(I:C)-induced pancreatitis-related genes in IRF2-deficient mice, 3rd International conference on “Current advances in Microbiology and Immunology” June 21-22, 2012 (ULAANBAATAR, MONGOLIA)
- (11) インターフェロン $\gamma$ 誘導遺伝子GILTによるHIV粒子産物抑制機構の解明、久保嘉直、神山陽香、泉田真生、田中勇悦、安井潔、佐藤祐徳、山本直樹、松山俊文、林日出喜、第61回日本ウイルス学会学術総会、平成25年11月10~12日(神戸)
- (12) ATL細胞株の細胞死をTRAIL-依存性に促進させる生物活性物質のスクリーニング、林日出喜、長谷川寛雄、河野友子、中尾一彦、松山俊文、第71回日本癌学会学術総会、平成24年9月19~21日(札幌)
- (13) 血清枯渇はG Protein  $\beta 2$ を介したNF- $\kappa$ B経路を活性化する、安井 潔、河野友子、久保嘉直、原口恵、重松小百合、蔡君柔、松山俊文、林日出喜、第35回日本分子生物学会、平成24年12月13日(マリンメッセ福岡)
- (14) Yamaguchi S: GC-MS for diagnosis of Organic Acidurias. International Conference on Inborn Errors of