

(資料6)

新型インフルエンザ肺炎・脳症の診断・治療法開発研究

研究分担者 佐々木 信一 (順天堂大学医学部附属浦安病院 呼吸器内科 准教授)

研究協力者 南條 友央太 (順天堂大学医学部附属浦安病院 呼吸器内科 助教)

研究要旨

概要：インフルエンザ(IFV)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、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の ATP をはじめとした各種バイオマーカー検査体制を整え、インフルエンザ患者を中心に計 23 症例において各種 marker を測定した。

結果：

(1) インフルエンザの中等症・重症例および各種呼吸器疾患症例(細菌性肺炎、間質性肺炎急性増悪、ARDS、薬剤性肺障害、膠原病関連肺障害等)で IL-6、MMP-9 や TNF- α といったサイトカインの高値が認められた。

(2) 血中の乳酸を ATP の値で割った ATP-lactate energy risk score (A-LES) の値は、正常者の既報値 (<2.00) より高値を示した。特に B 型インフルエンザ症例 2 例で著明な高値を示した。

(3) A-LES 値と各種サイトカインの比較検討では、CRP と IL-6 で弱い相関が認められた。

(4) 重症度別での検討では、重症度が高いほど、ATP 低値、A-LES 値高値の傾向が認められた。

結論：インフルエンザにおける A-LES 値は、他の呼吸器疾患と同等かそれ以上に上昇傾向が認められ、バイオマーカーとしての有用性が示唆された。

A. 研究目的

2009 年に勃発した新型インフルエンザ (A/H1N1pdm09) では小児における脳症 (図 1、2) ならびに ARDS に陥る重症肺炎が認められ問題となった。本プロジェクトの主任研究者の木戸らによりインフルエンザ(IFV) 脳症、重症肺炎の病態には、血管内皮と臓器に誘発される IFV サイトカイン プロテアーゼサイクルが深く関わっていることが解明されてきている。しかしながら、重症化する症例をいち早く診断するバイオマーカーは現在のところ不明で、診断の遅れ

が問題となっている。本年度の研究目的は、これら重症化のバイオマーカー (Flu alarmin) の測定系を確立し、早期診断に向けた戦略を構築することにある。Flu alarmin の候補として、患者末梢血の ATP-lactate energy risk score (ALES)、各種サイトカイン等を測定し、その実用性の検証を行った。

B. 研究方法

患者の鼻腔もしくは咽頭ぬぐい棒検体からインフルエンザ迅速キットで検査し、インフ

ルエンザと診断された症例を対象に、同意を得られた患者より血液もしくは肺胞洗浄液を採取し検査を施行した。ATP の測定は、和光純薬工業株式会社の ATP 測定キット (AMERIC-ATP Kit) を用いて、患者検体 (血液・気管支肺胞洗浄液) から測定。同時に採取した検体から各種検査 (アルブミン、グルコース、乳酸、LDH、尿酸、ケトン体、トリプシン、CRP、IL-6、IL-33、MMP-9、TNF-等) を測定した。具体的には、ATP は当院で患者検体から ATP 抽出溶液を作成し凍結保存後、SRL 社に委託してルミノメーターで測定。同時に採取した血清から、他の項目も SRL 社に委託し測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は、順天堂大学医学部附属浦安病倫理委員会の承認を得た上で、対象者には研究内容を説明し、同意を得た上で実施した。

C. 研究結果

当院の倫理委員会に諮り、本研究(浦倫 24 - 43号:「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」)は承認された。これを元に、計 23 例のインフルエンザ患者等から同意を得、患者血液検体から各種 marker を測定した。検討対象は A 型インフルエンザ:5 例、B 型インフルエンザ:3 例、対称として各種呼吸器疾患:細菌性肺炎:4 例、間質性肺炎急性増悪:5 例、PCP:1 例、CVD-IP:2 例、過敏性肺炎:1 例、薬剤性肺炎:1 例、放射線肺炎:1 例で検討した(表 1)。

多くの症例で IL-6、MMP-9 や TNF- といったサイトカインの高値が認められた(図 1)。

血中の乳酸を ATP の値で割った

ATP-lactate energy risk score (A-LES) の値は、正常者の既報値 (<2.00) より高値を示した。特に B 型インフルエンザ症例 2 例で著明な高値を示した(値:91.7、40.4)(図 1, 3)。

A-LES 値と各種サイトカインの比較検討では、CRP と IL-6 で弱い相関が認められた(図 2)。重症度別での検討では、重症度が高いほど、ATP 低値、A-LES 値高値の傾向が認められた(図 4)。

D. 考察

Chida らは、ICU 入室した症例に対して、血中 ATP と乳酸値を測定し、その比である Lactate/ATP Ratio (A-LES 値) が real time の予後因子として有用であることを報告した。(Chida J, et al. Blood lactate/ATP ratio, as an alarm index and real-time biomarker in critical illness. PLoS One 2013; 8: e60561.) 本研究におけるインフルエンザ患者の A-LES 値は、他の呼吸器疾患と同等かそれ以上に上昇傾向が認められ、バイオマーカーとしての有用性が示唆された。今回の検討では、症例数が少なく、正常コントロールが取られていないという limitation がある。今後、検討症例を増やすと共に、健常者のコントロールも確認し、詳細に解析予定である。

E. 結論

血中 ATP 値、ならびに乳酸値との比である A-LES 値は、インフルエンザのバイオマーカーとして、その有用性が示唆された。

F. 健康危険情報
なし。

G. 研究発表

(ア) 論文発表

1. K. Tajima, K. Miura, T. Ishiwata, F. Takahashi, M. Yoshioka, K. Minakata, A. Murakami, S. Sasaki, S. Iwakami, T. Annoura, M. Hashimoto, T. Nara, K. Takahashi. Sex hormones alter Th1 responses and enhance granuloma formation in the lung. *Respiration* 2011; 81: 491-8.
2. K. Muraki, R. Koyama, Y. Honma, S. Yagishita, T. Shukuya, R. Ohashi, F. Takahashi, K. Kido, S. Iwakami, S. Sasaki, A. Iwase, K. Takahashi. Hydration with magnesium and mannitol without furosemide prevents the nephrotoxicity induced by cisplatin and pemetrexed in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Journal of thoracic disease* 2012; 4: 562-8.
3. T. Mori, K. Tajima, M. Hirama, T. Sato, K. Kido, S. Iwakami, S. Sasaki, A. Iwase, K. Shiomi, M. Maeda, O. Hino, K. Takahashi. The N-ERC index is a novel monitoring and prognostic marker for advanced malignant pleural mesothelioma. *Journal of thoracic disease* 2013; 5: 145-8.
4. O. Nagashima, R. Ohashi, Y. Yoshioka, A. Inagaki, M. Tajima, Y. Koinuma, S. Iwakami, A. Iwase, S. Sasaki, S. Tominaga, K. Takahashi. High prevalence of gene abnormalities in young patients with lung cancer. *Journal of thoracic disease* 2013; 5: 27-30.
5. N. Nagano, Y. Nagano, M. Toyama, T. Nakazawa, S. Sasaki, K. Shibayama, Y. Arakawa. Successful detection of blaNDM-1-harboring but modified Hodge test-negative *E. coli* by modified SMA-Disk method, and first characterization of XDR-klebsiella pneumonia harboring blaNDM-1 and/or blaOXA-181 from a foreigner visited to Japan. *Jpn J Infect Dis* 2015; Manuscript under review.
6. S. Sasaki, Y. Yoshioka, R. Ko, Y. Katsura, Y. Namba, T. Shukuya, K. Kido, S. Iwakami, S. Tominaga, K. Takahashi. Diagnostic significance of cerebrospinal fluid EGFR mutation analysis for non-small cell lung cancer patients harboring an active EGFR mutation with leptomeningeal metastasis following gefitinib therapy failure. *Respir Investig* 2015; Manuscript under review.
7. 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.
8. 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: 759-60.
9. 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: 607-11.
10. 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: 73-7.
11. 井上貴昭, 中澤武司, 麻生恭代, 成田久美, 秋田美佳, 中村美子, 石井幸, 佐々木信一, 田中裕. 多職種 ICT ラウンドがもたらす効果について. *日臨救医会誌* 2014; 17: 25-31.

(イ) 学会発表

1. 高 遼, 佐々木 信一, 松野 圭, 石森 絢子, 南條 友央太, 牧野 文彦, 吉岡 正剛, 吉岡 泰子, 富永 滋, 高橋 和久: Fexofenadine は EGFR TKI 投与に伴う interstitial lung disease 発症を抑制する. 第 53 回日本呼吸器学会総会, 東京, 2013.04.19
2. 石森 絢子, 佐々木 信一, 松野 圭, 南條 友央太, 牧野 文彦, 吉岡 正剛, 吉岡 泰子, 中沢 武司, 富永 滋: 幼少期に発症した気管支拡張症の経過観察中に、喀痰培養で *Aspergillus lentulus* を検出した一例. 第 87 回日本感染症学会学術集会, 2013.06.05
3. 笹野仁史, 吉岡泰子, 松野 圭, 石森絢子, 南條友央太, 牧野文彦, 吉岡正剛, 佐々木信一, 富永 滋: 早期の PMX-DHP を含む集学的治療を行った amyopathic dermatomyositis 合併急速進行性間質性肺炎の 1 例. 第 205 回日本呼吸器学会関東地方会, 2013.07.13
4. 井上 貴昭, 中沢 武司, 麻生 恭代, 成田 久美, 秋田 美佳, 石井 幸, 田中 裕, 南條 友央太, 大日方 薫, 佐々木 信一, 堀 賢: ICU が抱える感染症の諸問題 救命センターに発端をなす 2 剤耐性 *Acinetobacter Baumannii* アウトブレイクとその制御過程. 第 61 回感染症学会東日本地方会, 2013.10.10
5. Yasuko Yoshioka, Shinichi Sasaki, Kei Matsuno, Ayako Ishimori, Yuta Nanjo, Humihiko Makino, Keiko Muraki, Shigeru Tominaga, Kazuhisa Takahashi: Two Cases Of Rapidly Progressive Interstitial Pneumonia Associated With Clinically Amyopathic Dermatomyositis Successfully Treated With Early Intensive Therapy. 18th Congress of Asian Pacific Society of Respiratory, Yokohama, 2013.11.12
6. 南條友央太, 佐々木信一, 中澤武司, 木下綾子, 関口康宣, 成田久美, 岩崎沙奈美, 飯田美奈子, 月山智美, 古田あずさ, 金森由和, 玉野知佐, 伊藤友美, 鈴木俊介, 唐島孝彰, 米山桂一, 富永 滋: 当院における ART 導入した HIV 感染症 21 症例の検討. 第 27 回日本エイズ学会総会, 熊本, 2013.11.20
7. 木下綾子, 佐々木信一, 中沢武司, 南條友央太, 高森建二, 須賀 康: 順天堂大学浦安病院における過去 10 年間の新規 HIV 感染者にともなった皮膚症状の検討. 第 27 回日本エイズ学会総会, 熊本, 2013.11.20
8. 村木 慶子, 松野 圭, 小池 建吾, 推名健太郎, 朝尾 哲彦, 本間 裕一郎, 宿谷 威仁, 柴山 里奈, 小山 良, 嶋田 奈緒子, 木戸 健治, 佐々木 信一, 富永 滋, 高橋 和久: 順天堂大学におけるクリゾチニブの使用経験. 第 54 回日本肺癌学会総会, 東京, 2013.11.22
9. 長野則之, 長野由紀子, 外山雅美, 佐々木信一, 中澤武司, 堀 賢, 柴山恵吾, 荒川宜親: NDM-1 メタロ-β-ラクタマーゼ, OXA-181 カルバペネマーゼ等同時産生の広範囲抗菌薬耐性 *Klebsiella pneumoniae* の出現. 第 25 回日本臨床微生物学会総会, 名古屋, 2014.02.01
10. 中村美子, 中澤武司, 秋田美佳, 成田久美, 井上貴昭, 大日方薫, 佐々木信一: 選択培地を用いた *Acinetobacter* の環境リザーバーに関する環境調査. 第 29 回日本環境感染学会総会, 品川, 2014.02.15
11. 松岡遊貴, 吉岡泰子, 松野圭, 推名健太郎, 鈴木洋平, 南條友央太, 村木慶子, 佐々木信一, 二川俊郎, 富永 滋: リンパ管シンチと胸腔鏡により漏出部位を確認した乳糜胸の 1 例. 第 208 回日本呼吸器学会関東

地方会，東京，2014.02.22

12. 中澤武司，南條友央太，井上貴昭，佐々木信一，西田香南，大出恭代，三澤 成毅，横山栄二，菊池 俊：肝膿瘍より分離された *Desulfovibrio desulfuricans* の1例．第44回日本嫌気性菌感染症学会総会・学術講演会，那覇，2014.02.22

13. 吉岡泰子，松野 圭，推名健太郎，鈴木洋平，南條友央太，村木慶子，佐々木信一，富永 滋：Bepriidil が原因と考えられた薬剤性間質性肺炎の3例．第54回日本呼吸器学会総会，大阪，2014.04.25

14. 鈴木洋平，南條友央太，推名健太郎，松野 圭，村木慶子，吉岡泰子，佐々木信一，富永 滋：若年女性で緑膿菌と *M.kansasii* 共感染により肺膿瘍を形成した一例．第209回日本呼吸器学会関東地方会，幕張，2014.05.24

15. 佐々木信一，南條友央太：インフルエンザウイルス感染症におけるバイオマーカーの検討．第63回日本感染症学会東日本地方会学術集会，東京，2014.10.31

16. 南條友央太，佐々木信一：脊椎への直接浸潤をきたした菌球型肺アスペルギルス症の一例．第63回日本感染症学会東日本地方会学術集会，東京，2014.10.31

17. 推名健太郎，佐々木信一，宿谷威仁，松野 圭，堤 建男，栗山祥子，南條友央太，村木慶子，吉岡泰子，長岡鉄太郎，富永 滋，高橋和久：EML4-ALK 陽性非腺癌非小細胞肺癌に対するクリゾチニブ投与の4症例の検討．第55回日本肺癌学会総会，京都，2014.11.14

18. 推名健太郎，高橋史行，SFariz Nurwidya，小林 功，宿谷威仁，村上明子，朝尾哲彦，金丸良太，柳下薫寛，加藤元康，村木慶子，大橋里奈，小山 良，高橋元美，嶋田奈緒子，吉岡泰子，佐々木信一，富永

滋，高橋和久：非小細胞肺癌のEGFR-TKI 耐性獲得におけるZEB1の発現検討．第55回日本肺癌学会総会，京都，2014.11.16

19. 村木慶子，吉岡泰子，鎌崎恵理子，推名健太郎，松野 圭，栗山祥子，南條友央太，佐々木信一，富永 滋：EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌におけるEGFR-TKI 耐性獲得後の2次変異検索の有用性．第55回日本肺癌学会総会，京都，2014.11.16

20. 岸井 絢，吉岡泰子，推名健太郎，荒野直子，関本康人，栗山祥子，南條友央太，村木慶子，佐々木信一，富永 滋：癌性髄膜炎に対し、VP shunt とWBRT、erlotinib 投与を施行し長期生存を得たEGFR 陽性肺線癌の一例 第212回日本呼吸器学会関東地方会，横浜，2014.11.22

21. 佐々木信一，南條友央太，中澤武司，木下綾子，成田久美，岩崎沙奈美，飯田美奈子，月山智美，古田あずさ，金森由和，玉野知佐，伊藤友美，鈴木俊介，唐島孝彰，米山桂一：声帯部カポジ肉腫の生検時にキシロカインショックを生じ、治療に難渋した全身性カポジ肉腫合併AIDSの一例．第28回日本エイズ学会学術集会・総会，大阪，2014.12.03

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

(ア)特許取得

なし

(イ)実用新案登録

なし

(ウ)その他

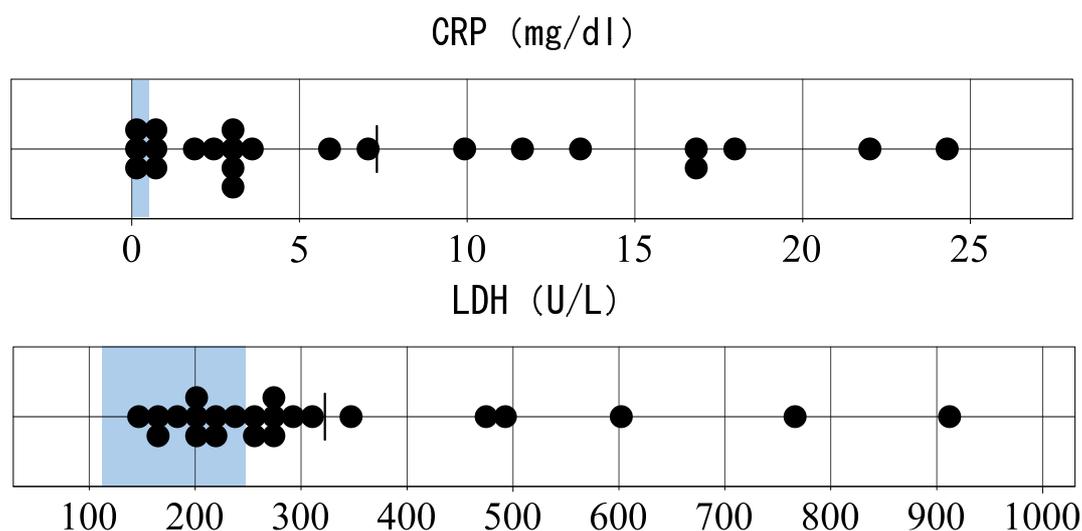
なし

表 1. 患者背景

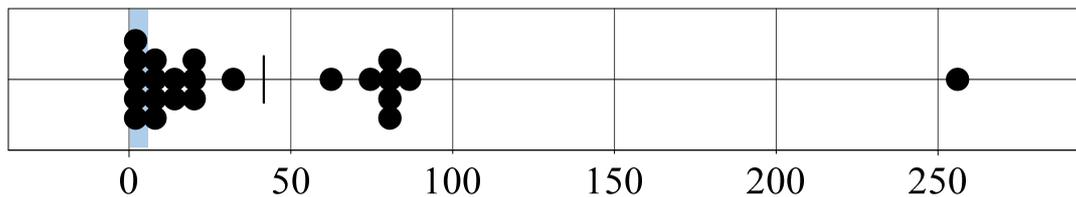
| No | Gender | Age | duration from onset | Diag | 外来・入院 | *severity | temp | Comobities | Outcome |
|----|--------|-----|---------------------|----------------------|-------|-----------|------|------------|---------|
| 1 | F | 31 | 3 | A型インフルエンザ | 入院 | M | 39.7 | BA | alive |
| 2 | F | 28 | 1 | A型インフルエンザ | 外来 | M | 38.2 | - | alive |
| 3 | M | 35 | 4 | A型インフルエンザ | 外来 | M | 39.4 | - | alive |
| 4 | M | 31 | 3 | A型インフルエンザ | 外来 | M | 38.7 | - | alive |
| 5 | F | 19 | 2 | A型インフルエンザ | 外来 | M | 38.7 | - | alive |
| 6 | M | 80 | 2 | B型インフルエンザ | 入院 | I | 39.1 | LK | alive |
| 7 | M | 74 | 9 | B型インフルエンザ | 入院 | I | 38.3 | COPD | alive |
| 8 | F | 23 | 1 | B型インフルエンザ | 外来 | M | 38.5 | - | alive |
| 9 | M | 64 | 7 | 肺炎球菌性肺炎 | 外来 | M | ? | - | alive |
| 10 | M | 66 | 9 | 肺炎球菌性肺炎 | 外来 | M | 36.7 | - | alive |
| 11 | F | 65 | 12 | 重症肺炎球菌性肺炎 | 入院 | S | 37.3 | - | alive |
| 12 | M | 80 | 1 | インフルエンザ桿菌肺炎、COPD急性増悪 | 外来 | S | 37.9 | COPD | alive |
| 13 | M | 70 | 12 | IPF急性増悪 | 外来 | M | 36.9 | RA | alive |
| 14 | M | 83 | 5 | IPF急性増悪 | 入院 | S | 37.1 | IP | alive |
| 15 | M | 80 | 20 | IPF急性増悪 | 入院 | VS | 36.7 | IPF | dead |
| 16 | M | 70 | 7 | fNSIP急性増悪 | 入院 | I | 36.4 | fNSIP | alive |
| 17 | M | 69 | 2 | CPFE急性増悪(術後) | 入院 | VS | ? | CPFE | dead |
| 18 | F | 67 | 5 | PCP、ARDS | 入院 | VS | 36.6 | fNSIP | dead |
| 19 | M | 74 | | CVD-IP | 外来 | M | 36.5 | IP | alive |
| 20 | F | 67 | 19 | MPO-ANCA陽性間質性肺炎 | 外来 | I | 37 | IP | alive |
| 21 | M | 70 | | 過敏性肺炎 | 外来 | M | 36.8 | - | alive |
| 22 | M | 69 | 10 | 薬剤性好酸球性肺炎 | 入院 | I | 38.3 | - | alive |
| 23 | M | 80 | | 放射性肺炎 | 外来 | I | ? | LK | alive |

*Severity: M; mild, I; intermediate, S; severe, VS; very severe

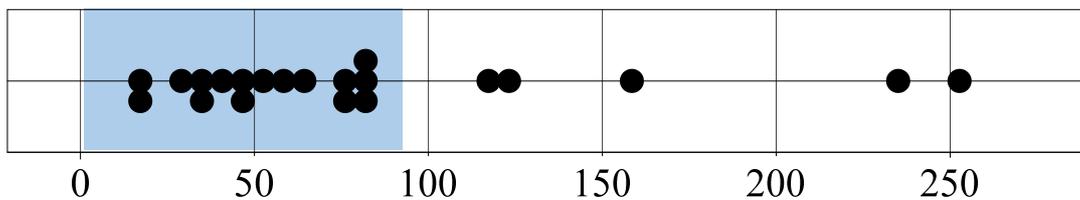
図 1. 各種 marker 一覧



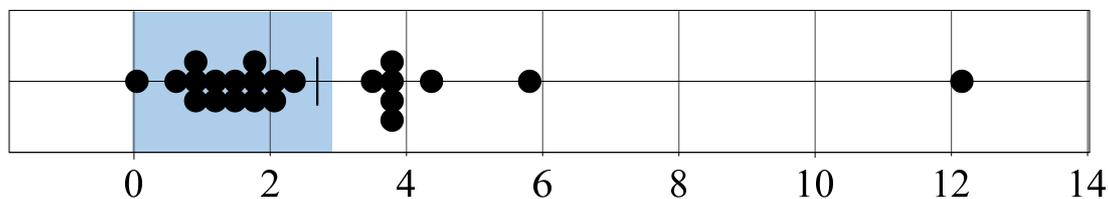
IL-6 (pg/ml)



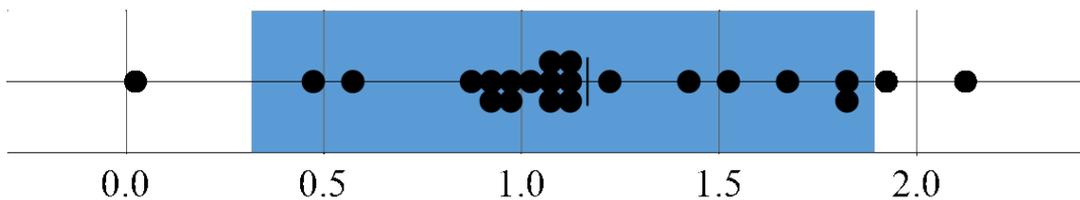
MMP-9 (ng/ml)



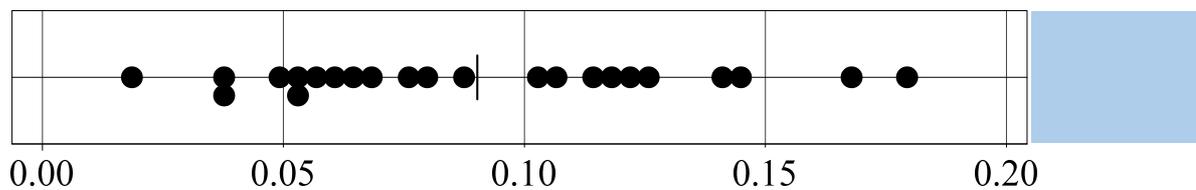
TNF- α (pg/ml)



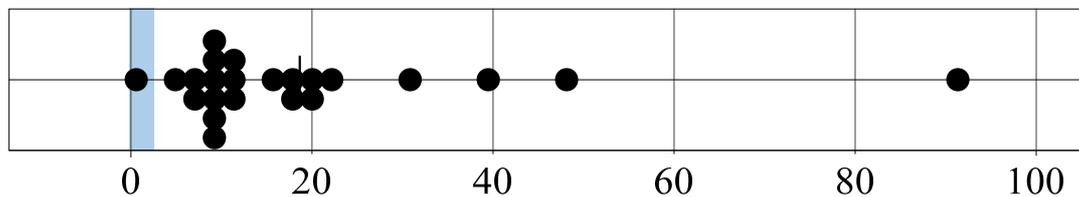
乳酸 (mmol/L)



ATP (mmol/L)

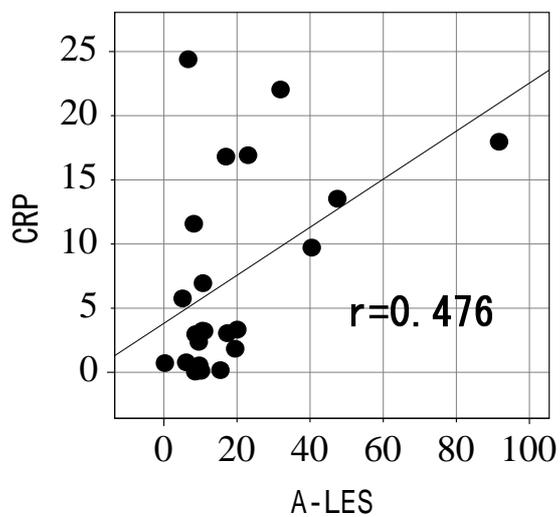


A-LES

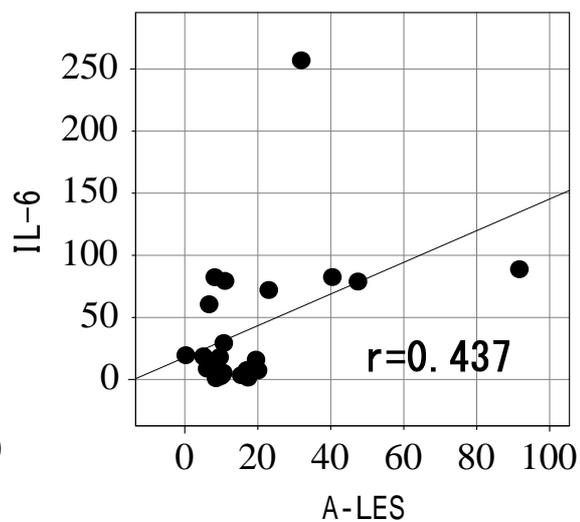


*A-LES = 血中ATP値 / 血中乳酸値

図 2. 各種 marker と A-LES の相関

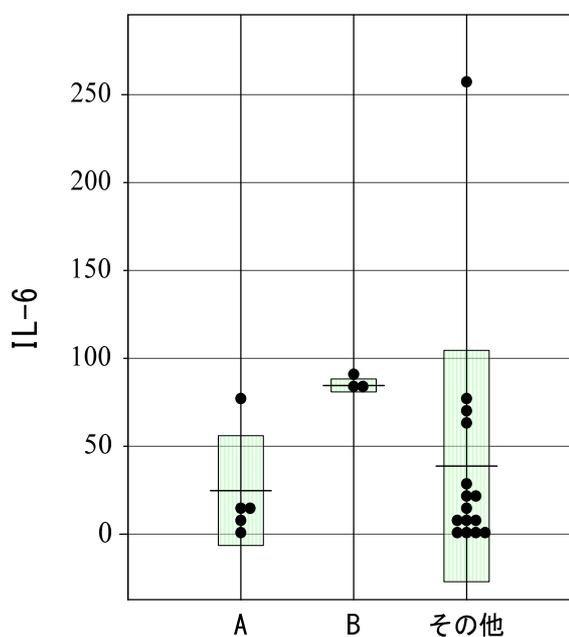
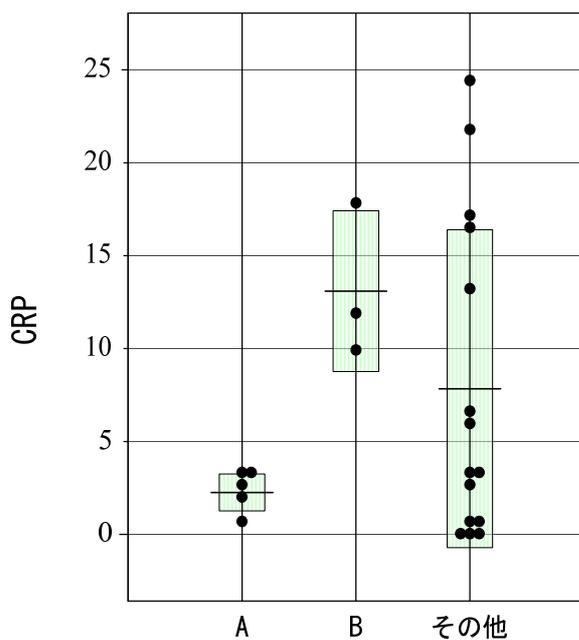


CRP (mg/dl) vs A-LES



IL-6 (pg/ml) vs A-LES

図 3. A 型、B 型、その他呼吸器疾患における各マーカーの値



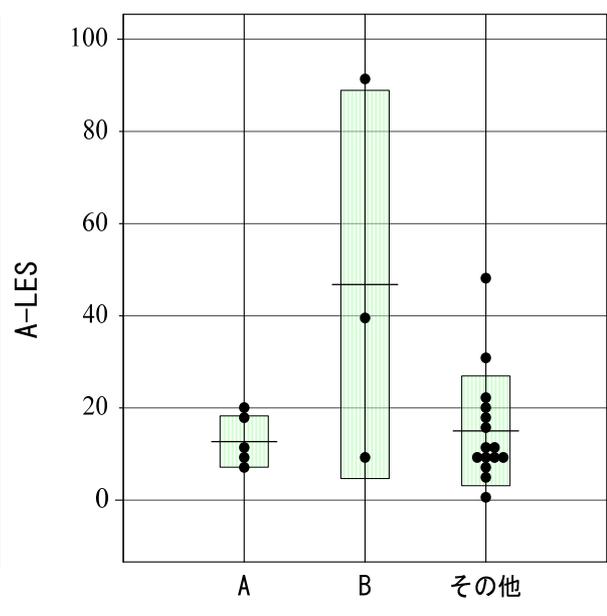
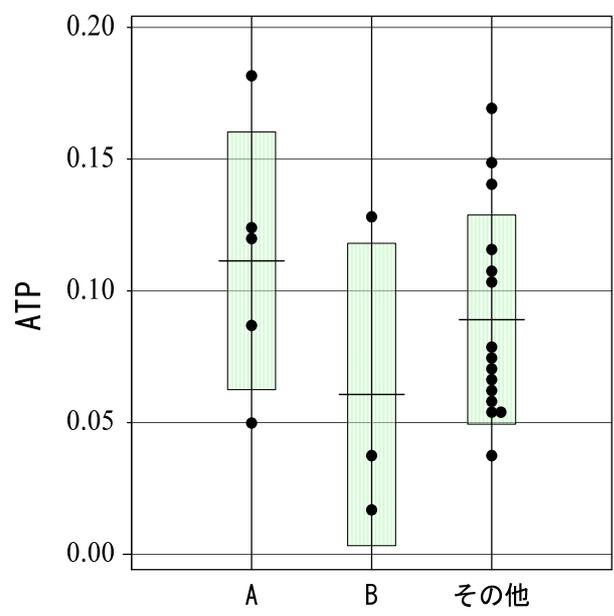
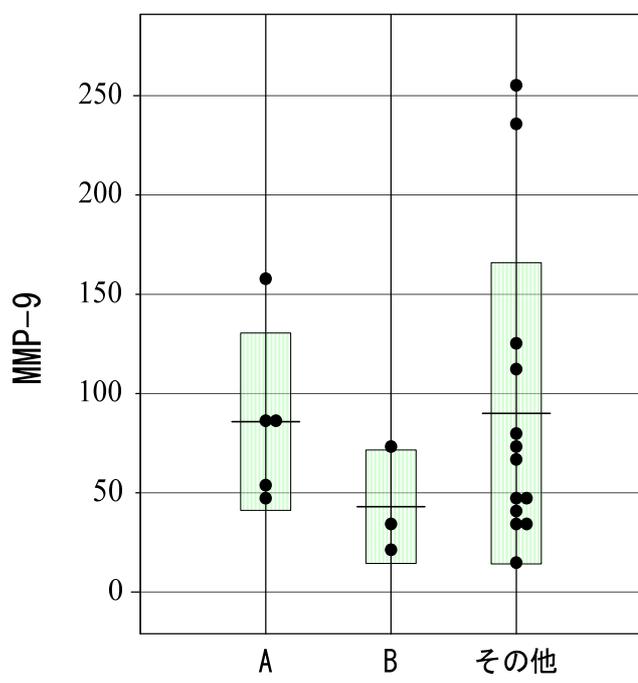
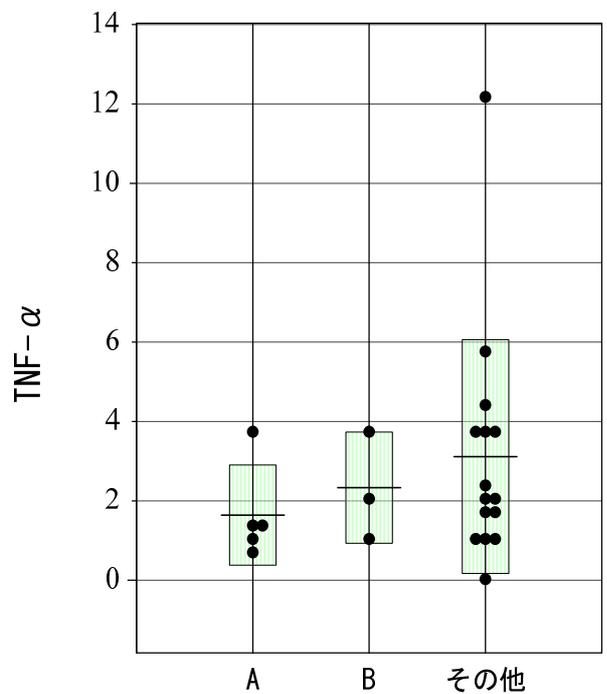


図4. 重症度別各マーカー値

