

Neuropediatrics 46(1):20-5. 2015

9. 呉宗憲, 河島尚志, 柏木保代, 武隈孝治  
インフルエンザ脳症における鼻汁中サイト  
トカインプロファイル. 小児感染免疫 26  
(1) 21-29, 2014

10. 千田裕美, 村岡 正裕, 山宮麻里, 井上  
なつみ, 木場由希子, 篠崎絵里, 前田文恵,  
水野和徳, 井上巳香, 前馬秀昭, 酒詰忍, 太田  
和秀, 谷内江昭宏, 河島尚志. 二相性けいれ  
んとMRIでの拡散能低下を呈したRSウイル  
ス脳症の1例. 小児感染免疫 26 (2)  
241-246, 2014

11. 河島尚志, 山中岳, 森地振一郎. インフル  
エンザ脳症の最近の話題 減少傾向にある,  
というのは本当か. 小児内科  
46(9):419-420, 2014

12. 河島尚志. ウイルス性脳炎・脳症の最近  
の知見 インフルエンザ, RS, ロタなど.  
東京小児科医会報 32 (3) : 36-43 , 2014

#### 学会発表

1. Kawashima H. The present situation  
of influenza-associated encephalopathy.  
PAS (Pediatric Academic Societies Annual  
Meeting)2013 meeting in Washington, DC  
(2013, 5. 3-5)

2. Yamanaka G, Kawashima H, Morishita N,  
Oana S, Ishida Y, Morichi S, Miyajima T,  
Hoshika A. Clinical analysis of Japanese  
patients with acute encephalopathy  
including suspected cases for 5  
years. 27th International Pediatric  
Association Congress of Pediatrics  
(2013. 8) Melbourne

3. Morichi S, Kawashima H, Yamanaka G,  
Kashiwagi Y, Takekuma K, Hoshika A.  
Expressions of brain-derived  
neurotrophic factor (BDNF) in

cerebrospinal fluid and plasma of  
children with meningitis and  
encephalitis/encephalopathy 27nd  
International Congress of Pediatrics  
2013 (2013. 8. 24-29) Melbourne,  
Australia

4. 河島 尚志. インフルエンザ脳症の現状  
第 116 回日本小児科学会学術集会 {2013.  
4. 19-21) 東京

5. 河島尚志 ロタウイルス感染症一重症化  
の病態 杉並区小児科医会セミナー  
(2013. 5. 22)

6. 河島尚志. ウイルス性脳炎・脳症の最近  
の知見 第 94 回東京小児科医会学術集会  
(2013. 10. 20)

7. 河島尚志. インフルエンザを含む重症ウ  
イルス感染症の病態 仙台医師会講演会  
(2013. 8. 25)

8. 河島尚志 インフルエンザ脳症を 中心と  
した急性脳症の現況 日本小児神経学会関  
東地方会 (2013. 3. 9)

9. 山中岳, 河島 尚志, 森下那月美, 藤野  
美佳, 森地振一郎, 石田悠, 小穴信吾, 柏  
木保代, 宮島祐, 星加明德. 2005-2010 年当  
院における脳症疑いにて入院した 127 例の  
臨床的検討- 第 2 報- 第 115 回日本小児科  
学会総会 (2013. 4. 20) 広島

10. 山中岳, 森地振一郎, 石田悠, 小穴信吾,  
森島靖行, 鈴木一徳, 河島尚志, 宮島祐,  
星加 明德 重度の後遺症を伴ったけいれん  
重積型脳症の長期予後 第 56 回日本小児神  
経学会総会 (2013, 5. 30) 大分総会  
(2013, 5. 30)

11. 河島尚志. ウィルス性疾患の重症化にお  
ける免疫病態. 第 18 回小児免疫リウマチ研  
究会 2014

12. 山中岳, 石田悠, 春日晃子, 森下那月美,  
竹下美佳, 森地振一郎, 小穴信吾, 柏木保

代, 宮島祐, 河島尚志. 99mTc-ECD SPECTにて集積像低下を伴った有熱時けいれんの検討 第 117 回日本小児科学会学術集会 2014

13. 山中岳, 竹下美佳, 小穴信吾, 石田悠, 森地振一郎, 宮島祐, 齋藤真木子, 水口雅, 廣瀬伸一, 河島尚志. 重度後遺症を伴ったけいれん重積型急性脳症 5 例の脳症関連遺伝子の解析 第 56 回日本小児神経学会学術集会 2014

14. 齋藤真木子, 石井敦士, 井原由紀子, 星野愛, 寺嶋宙, 久保田雅也, 山中岳, 河島尚志, 菊池健二郎, 雨宮馨, 亀井淳, 廣瀬伸一, 水口雅けいれん重積型急性脳症におけるナトリウムチャンネル SCN1A および SCN2A 変異解析 第 56 回日本小児神経学会学術集会 2014

15. Morichi S, Yamanaka G, Ishida Y, Oana S, Kawashima H. Expressions of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in cerebrospinal fluid and plasma of children with acute meningitis and encephalopathy. 7th IGAKUKEN International Symposium on “Fever,

Inflammation, and Epilepsy” 2014

16. 森地振一郎, 志村優, 長尾竜兵, 佐藤智, 西亦繁雄, 柏木保代, 河島尚志, 村山圭予防接種を契機に肝不全が悪化したミトコンドリア DNA 枯渇症候群の 1 例 第 20 回日本 SIDS・乳幼児突然死予防学会 2014

17. 森地振一郎, 山中岳, 小穴信吾, 石田悠, 柏木保代, 河島尚志 RS ウイルス脳症における後遺症の検討 第 4 回小児呼吸器ウイルス感染症研究会 2014

18. 森地振一郎, 森下那月美, 竹下美佳, 石田悠, 小穴信吾, 山中岳, 柏木保代, 河島尚志 急性脳症を含む中枢神経感染症の髄液サイトカインプロファイリングの検討—Th17 系サイトカインとケモカインの変動を中心に— 第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会 第 26 回日本神経免疫学会学術集会合同学術集会 2014

#### G. 知的所有権の取得状況

なし

表 1

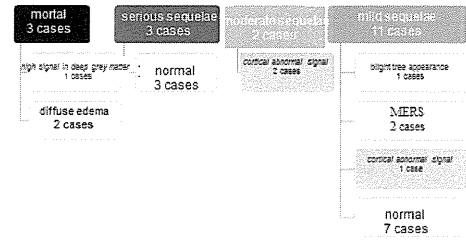
深昏睡(GCS<8)患者のプロフィール

検査項目	軽症群 (n=14)	重症群 (n=14)	統計的有意性
性別 (平均±標準偏差)	5.7 ± 4.36	7.1 ± 2.50	NS
性別(男:女)	5:5	15:5	NS
Plt × 10 <sup>4</sup> (/mL)	24.1 ± 8.98	24.5 ± 7.43	NS
AST (IU/L)	116.5 ± 157.6	37.8 ± 13.1	P < 0.05
CK (IU/L)	167.7 ± 108.8	103.2 ± 64.3	NS
glucose (mg/dL)	197 ± 66.2	142 ± 41.6	P < 0.05
PT-INR	1.37 ± 0.29	1.23 ± 0.18	NS

Department of Pediatrics, Tokyo Medical Univ.

図 1

MRI (<48hours) findings and outcome in pandemic flu (H1N1) 2009 associated encephalopathy



Department of Pediatrics, Tokyo Medical Univ.

図 2

急性脳症タイプ毎の髄液BDNFの比較 (Morichi S et al. Neurochem Res 2012)

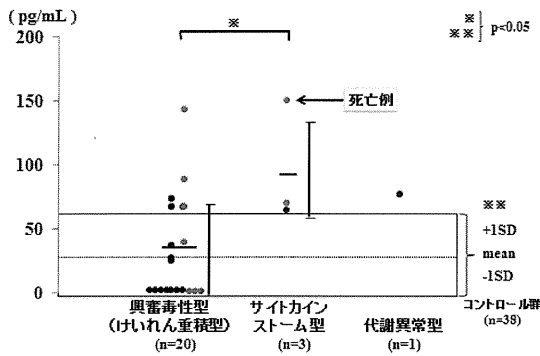
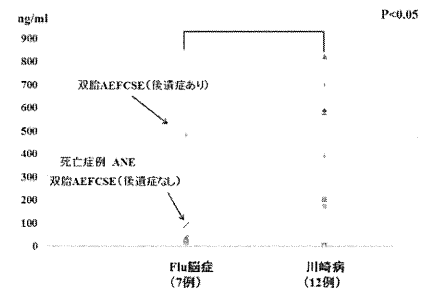


図 3

Serum HMGB1 (ELISA)



Department of Pediatrics, Tokyo Medical Univ.

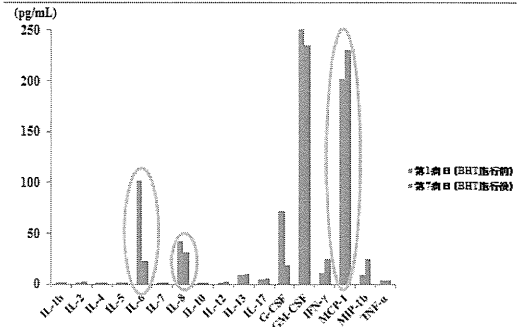
表 2

検定項目	確定群	非確定群	否定群	有意性
CSF IL-6 (pg/ml)	124.9 ± 60.4	192.6 ± 145.7	20.7 ± 6.6	**
AST (U/L)	372.7 ± 319.5	49.4 ± 6.9	39.4 ± 2.5	**
ALT (U/L)	74.6 ± 56.5	18.7 ± 3.9	12.8 ± 1.2	**
CPK (U/L)	743.5 ± 374.2	166.2 ± 31.5	210.7 ± 51.3	**
Cr (mg/dl)	0.56 ± 0.05	0.39 ± 0.04	0.31 ± 0.01	*

\* 確定群VS非確定群 \*\* 確定群VS否定群

図 4

脳低温療法前後の髄液サイトカインプロファイリング



Department of Pediatrics, Tokyo Medical Univ.

## 小児重症ウイルス感染症における多因子解析

研究分担者 氏名 宮入 烈

所属・役職 国立成育医療研究センター 生体防御系内科部 感染症科

**研究要旨** インフルエンザを含む小児のウイルス感染症について、病原体ごとに患者背景・症状・身体所見・検査所見・重症度を含む多因子解析を行った。1) 2009 年パンデミックインフルエンザ (H1N1) 感染症症例 204 例のデータを基に多重回帰ロジスティック解析を行った結果、重症化予測因子として血清総蛋白低値と LDH 高値が挙げられた。重症化の予測式を作成し、2013-2014 年のデータを解析した結果予測的中率は 83%であった。2) RS ウイルス感染症で人工呼吸器管理をされた患者については、気管吸引物細菌培養の半定量解析で菌量の多さが、酸素化、発熱、炎症反応と相関していることが示された。3) ヒトパレコウイルス感染症 29 例を対象とした多因子解析により、ウイルス量と病態と重症度の相関が認められた。多因子解析は新たな感染症の重症化メカニズムを客観的に評価する有効な手段であると考えられた。

### A. 研究目的

重症小児ウイルス感染症の重症化にかかわる多因子の解析を行い、重症化予測因子の解析および治療介入方法の検討を行う。

### B. 研究方法

① 対象：2009 年パンデミック発生時に国立成育医療研究センターにインフルエンザ感染症を理由に入院した小児症例  
後方視的に電子カルテから以下の検討項目抽出

- 年齢、性別、基礎疾患の有無、発熱から抗インフルエンザ薬投与までの時間、入院時バイタルサイン、入院時検査所見（末梢血、生化学）、胸部 XP 所見
- ICU 入室有無あるいは人工呼吸器管理の有無に寄与する因子の検討を多重回帰ロジスティック解析で行う

(SPSS22.1)

- 予測式を用いて、2013-2014 年症例の検討を行い、的中率を検討した。
- ② 対象：2009 年-2014 年の間に当院集中治療室で加療されたインフルエンザ、RSV 感染症、ヒトパレコウイルス感染症症例について後方視的に電子カルテより以下の情報を抽出した。
  - 年齢、性別、基礎疾患の有無、(発熱から抗インフルエンザ薬投与までの時間：インフルエンザのみ)、入院時バイタルサイン、入院時検査所見（末梢血、生化学）
  - 各因子間の相関係数を pearson/spearman 解析で算出し、相関を線で表し図式化した。
  - 主要関連因子を抽出しベイズ式ネットワーク解析で各因子の主従関係を明ら

かにした。

(倫理面への配慮)

同研究は後方視的な検討であり、直接の患者介入は行わない。抽出した情報は匿名化し個人情報保護を行う。

### C. 研究結果

- ① 2009年パンデミックインフルエンザ(H1N1)204症例のうちICU入室例は27例、人工呼吸器使用例は9例あった。中央値72か月(6歳)、発熱から抗インフルエンザ薬治療までの時間の中央値は15時間、基礎疾患を50%に有した。体温38.5°C、心拍数147/min、呼吸数40/min、SpO<sub>2</sub>92%(RA)、AST29, ALT13, LDH260, TP6.7g/dL, BUN10mg/dL, CRTNNO.33mg/dL, Na137mEq/L, K4.1mEq/L, Cl103mEq/L, CPK104, WBC9730/uL, CRP1.9mg/dL, Hb12.8g/dL。人工呼吸器管理の有無により2群に分け、単変量解析を行ったところ、血清総蛋白、AST、ALT、LDH、Na、CRTNN値に有意差を認めた。上記項目をロジスティック回帰分析で解析しLDH(p=0.069)、TP(p=0.01)を用いた予測式を立てた。 $\text{Mechanical ventilation} = 8.14 + 0.017 \times \text{LDH} - 2.222 \times \text{TP}$ 。同患者群における予測式的的中率は86.8%であった。同予測式を用いて2013-2014年の54症例の初期検査所見より人工呼吸器管理の必要の有無を検討したところ的中率は83.3%であった。
- ② 2009-2014年の間に当院ICUに入院した患者は70例で全入院症例の17.2%に相当した。多因子の相関関係を図式化したところ、各因子の間接的な関係から病態に関する示唆が得られた。そのうち、関連が高い複数の因子につき、ベイズ式ネットワーク解析を行った結果、因子間の主従関係が示され、新たな予測モデルが構築された。(図1)
- ③ RSV感染症で入院し人工呼吸器管理を

うけた小児46症例について検討した結果、気管吸引物の分離細菌の半定量培養結果と重症度(酸素飽和度、発熱、炎症反応など)と相関することが示された(図2)。最重症例において二次性の細菌感染症の合併が認められた。

④ 2011年1月から2013年10月までの期間に29症例のヒトパレコウイルス感染症患者を診断した。ヒトパレコウイルスを対象に多因子解析を行った。(図3)血清中のウイルス量が発熱期間・心拍数や人工呼吸の必要性など全身状態と関連したのに対して、髄液中のウイルス量はMRI所見・髄液糖・合併症の有無など中枢神経所見と関連する傾向が認められた。

### D. 考察

本解析により重症ウイルス感染症の病態を客観的に評価することが可能であることが示唆された。

インフルエンザ症例の解析においては、重症化の予測因子として入院時の血清総蛋白値、LDH値が有用である可能性が示された。血清アルブミン値が2009年パンデミックインフルエンザ感染症の重症化予測因子であることが報告されており、(Wi YM et al. Int J Clin Pract. 2014;68:222-9.)他に呼吸器感染症の重症化と血清総蛋白値の関連を示した先行研究は散見されるが病態や治療介入に関する意義は明確でない。本検討でも、治療介入に関わる明確な示唆は得られていない。

RSウイルス感染症は一般的に自然軽快するが、約3%の小児が入院に至り、そのうち2-5%が重症化し人工呼吸器管理を要すると報告されている。重症化のメカニズムは明らかにされていないが、細菌感染症の合併が一部の症例で関連すると報告されている。本研究でも人工呼吸を要する患者にお

いては、呼吸障害の重症度の指標と細菌感染症の関与が確認された。臨床的には肺炎に対して抗菌薬投与が行われ軽快が認められており、現場における臨床判断が支持される結果となった。今後は経時的な解析により、抗菌薬が必要となる指標の抽出が必要である。

ヒトパレコウイルスはエンテロウイルス属に属し、主に夏から秋に流行し小児の感冒や胃腸炎をきたすことが知られている。一方で新生児では敗血症様の病態や脳炎・脳症をきたすことが近年報告されている。重症化に至るメカニズムは不明であるが、今回ウイルス量と重症度の相関が確認されたことから、抗ウイルス薬による治療が症状の軽減につながる可能性が示唆された。

## E. 結論

多因子解析によりインフルエンザ、RSV、ヒトパレコウイルス感染症に対する呼吸器関連の重症化予測因子を抽出することが可能と考えられた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Shoji K, Komuro H, Miyata I, Miyairi I, Saitoh A: Dermatologic manifestations of human parechovirus type 3 infection in neonates and infants. The Pediatric Infectious Disease Journal 2013;32:233-236

### 2. 学会発表

Komuro H, Shoji K, Kobayashi Y, Miyata I, Funaki T, Miyairi I, Takayama J, Saitoh A: Dermatologic manifestations of human parechovirus type 3 infection in

neonates and infants. Pediatric Academic Societies Annual Meeting (PAS) 2012, Boston Massachusetts, 2012. 4. 28

Miyairi I, Miyata I: Viral Load Correlates With Infant Human Parechovirus Disease Severity. Pediatric Academic Societies (PAS) 2014, Vancouver, 2014. 5. 3

Miyairi I, Funaki T, Shoji K: Prediction and Validation of Severe Respiratory Distress due to Influenza in Children. Accepted for Oral presentation. ASPR 2015. Osaka.

新庄正宜, 菅谷憲夫, 関口進一郎, 岩田敏, 高橋孝雄, 佐藤清二, 上牧務, 佐藤公則, 常松健一郎, 馬場哲聡, 藤野元子, 古市宗弘, 豊間博, 宮入烈, 明貝路子, 山口禎夫, 吉田菜穂子, 慶應小児インフルエンザ研究グループ: 迅速診断を用いた小児インフルエンザワクチンの効果 - test-negative case-control study -. 第46回日本小児感染症学会総会学術集会, 東京, 2014. 10. 19

### 3. 総説

宮入烈: インフルエンザ診療 - 日本と米国, 中国 -. インフルエンザ 2014; 15 (3) :7-12

### 4. 著書

小村誠, 宮入烈: 8 小児科疾患 59 インフルエンザ (小児). 薬と検査 2014 薬物治療&服薬指導プラクティ

5. その他

森島恒雄, 細矢光亮, 岡部信彦, 庵原  
俊昭, 植田育也, 岡田賢司, 多屋馨子,  
森岡一朗, 宮入烈: 2013/2014 シー  
ズンのインフルエンザ治療指針. 日  
本小児科学会インフルエンザ対策ワー

G. 知的所有権の取得状況

なし

図1 集中管理を要したインフルエンザ症例データを用いたバイズ式ネットワーク図。入院時の腎機能・肝機能から重症化を予測する一助になることが示された。

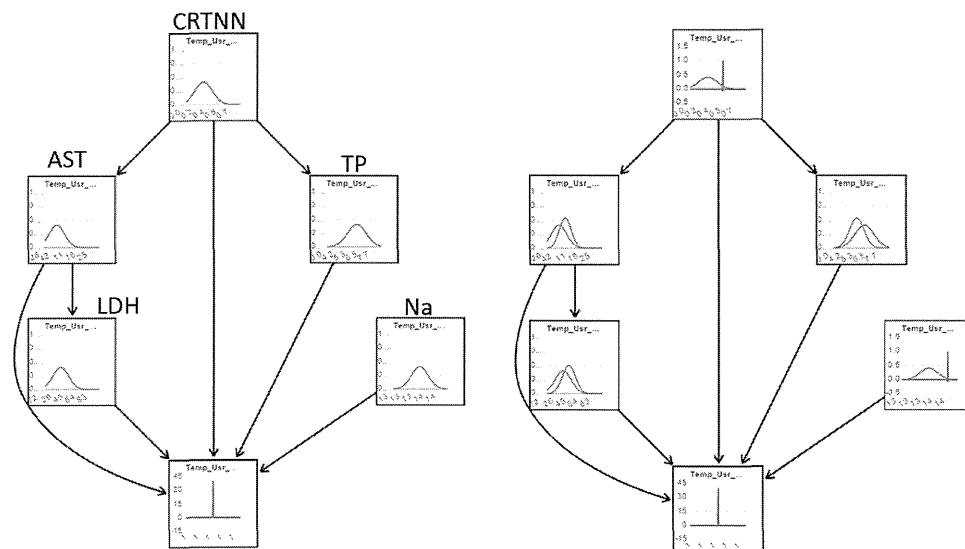


図2 RSウイルス感染症の多因子解析（人工呼吸器管理例）

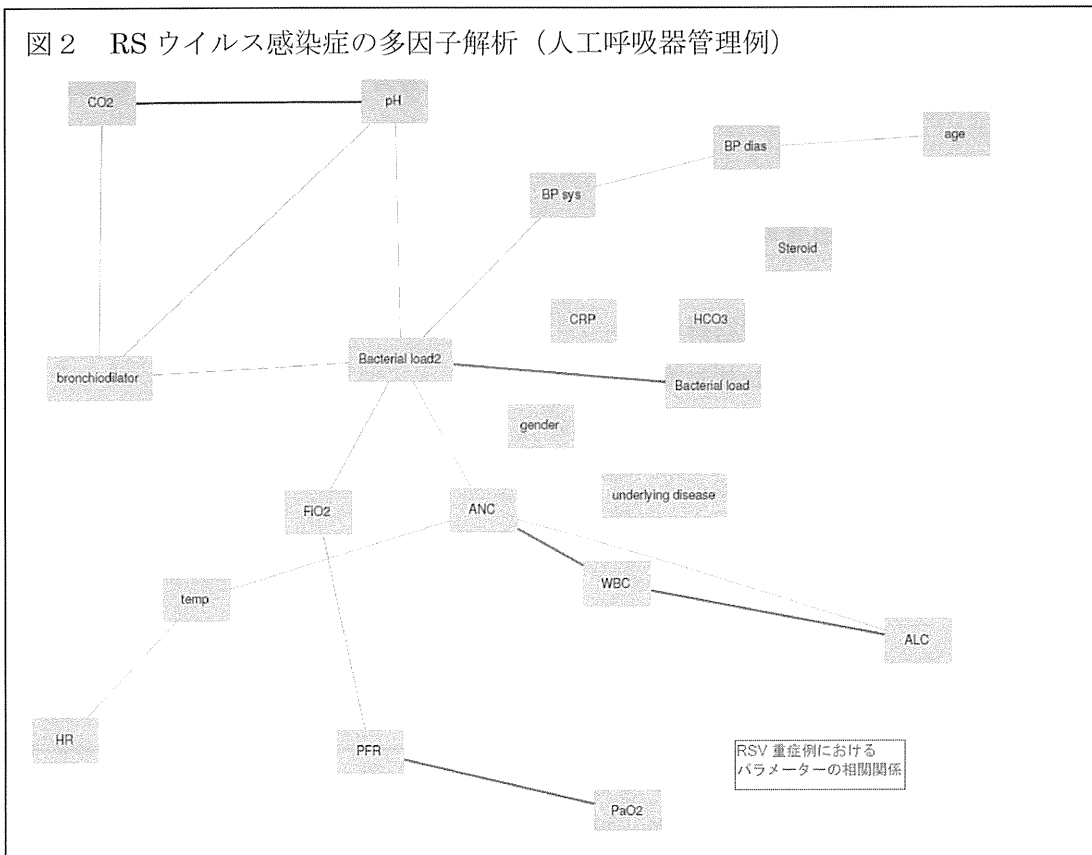
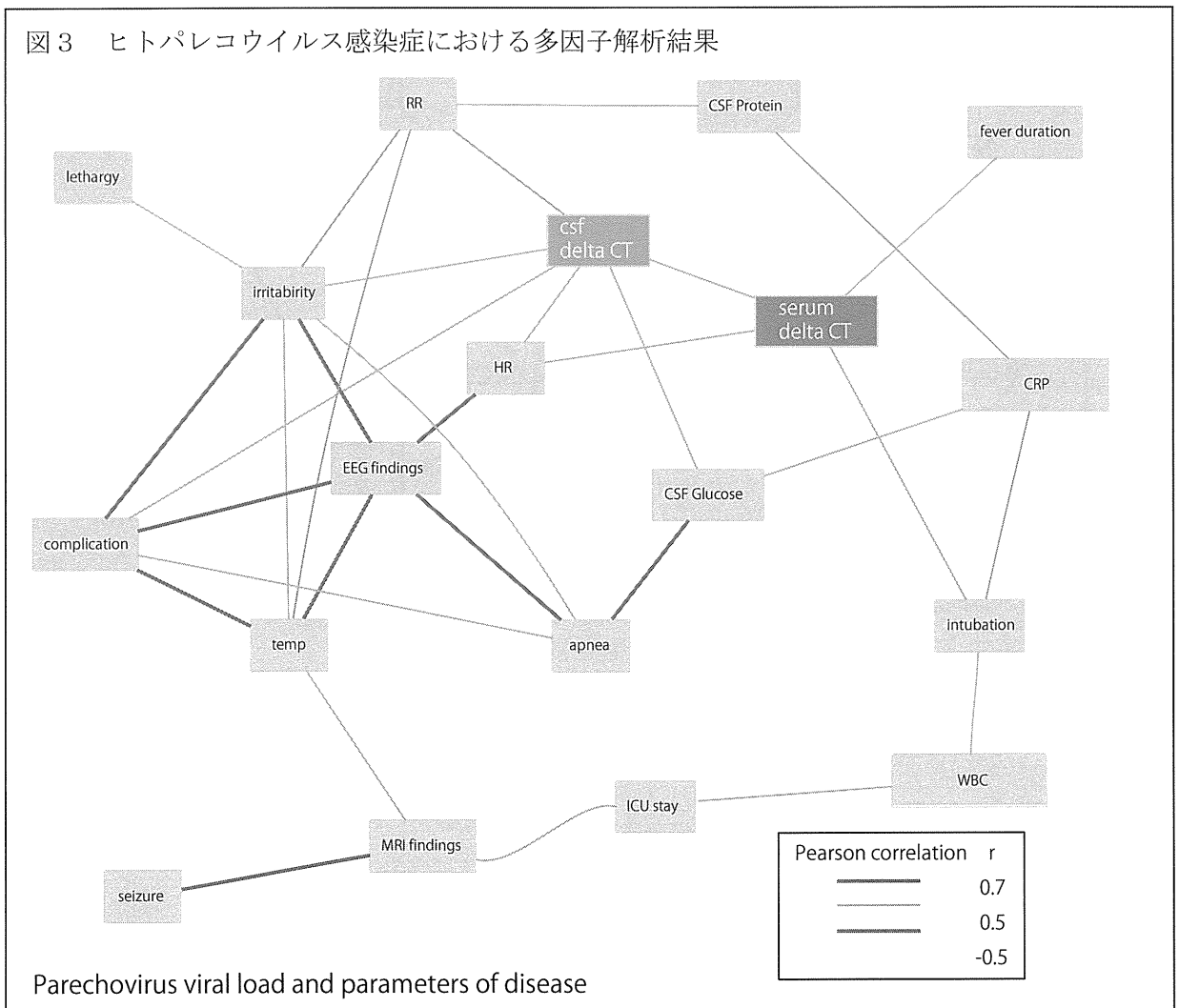


図3 ヒトパレコウイルス感染症における多因子解析結果





## メタボローム解析を用いたウイルス性脳症患者血清中の バイオマーカー候補の検討

分担研究者 伊藤 嘉規 名古屋大学医学部小児科学・講師

**研究要旨** 小児期に発生頻度の高いウイルス性脳症における新規バイオマーカーを探索する目的で、インフルエンザ脳症およびヒトヘルペスウイルス6型(HHV-6)の代謝物プロファイルングをメタボローム解析にて検討した。血清中に検出された物質の中で、インフルエンザ脳症では5種類、HHV-6脳症では11種類の代謝物質の平均値に対照群と比較して有意な変化が認められ、新規バイオマーカー候補と考えられた。これらの中で、tryptophan-kynurenine代謝経路の中間産物であるキヌレニンと下流代謝物であるquinolinic acidは、2種の脳症に共通で神経毒性が報告されている物質であり、脳症へ進展する病態に關与する可能性が示唆された。

### A. 研究目的

インフルエンザ脳症では、感染に伴って惹起されるサイトカインなどの炎症性物質が病態に關与するとの報告があるが、なぜ脳症が起こるのか、どのようにして病態が進展するのかは十分に明らかにされていない。ヒトヘルペス6型(HHV-6)脳症は、日本の小児科領域において、インフルエンザ脳症に次いで発症数の多い急性脳炎/脳症である。インフルエンザ脳症と同様の病態が想定されるが、不明な部分が多い。そのため、病態に關連する新規のバイオマーカーの探索は臨床上の意義が大きい。インフルエンザ脳症とHHV-6脳症は共に、日本からの報告例が多い点特徴的であり、共通の病態やバイオマーカーが存在する可能性も考えられる。近年、代謝プロファイルを解析する手法としてのメタボローム解析が注目されていることから、私共は、臨床検体として使用しやすい血清検体を用いて、インフルエンザ脳症・HHV-6脳症のメタボローム解析を試みた。

### B. 研究方法

1. インフルエンザ脳症と診断した患者 12名と神経合併症のないインフルエンザ患者（コントロール群）22名の急性期および回復期血清を採取し、比較検討した（計68検体）。
2. HHV-6脳症と診断した患者 9名、熱性けいれん例 20名、および神経学的合併症のない急性発熱性疾患患者 7名（対照群）の急性期血清を採取し、比較検討した（計

36検体）。

3. CE-TOFMS装置（キャピラリー電気泳動時間飛行型質量分析、Agilent Technologies）を用いてカチオンモード、アニオンモードによる測定を行った。
4. 検出されたピークは自動積分ソフトウェアを用いて、ピーク情報を得た後、代謝物質データベースに登録された物質との照合・検索を行った。
5. 主成分分析、階層クラスタ分析、代謝経路の描出を行った。
6. 定量系のあるものでは定量値を算出し同様に比較を行った。
7. 解析結果を群間で比較し、バイオマーカー候補の検討を行った。
8. インフルエンザ脳症については、quinolinic acidに関してさらに検討するため、インフルエンザ脳症 18例、熱性けいれん例 12例、神経合併症のない対照群 25例で、血清中のquinolinic acid濃度を測定し、比較検討した。

### C. 研究結果

1. インフルエンザ脳症では、血清 68検体について、CE-TOFMSによるメタボローム解析を行い、174ピークに候補物質が付与された。HHV-6脳症では、血清 36検体について、CE-TOFMSによるメタボローム解析を行い、159ピークに候補物質が付与された。
2. 検出されたピークを用いて主成分分析を行った(Data not shown)。階層クラスタ

リングを行い、HeatMap 表示させた結果を得た。

- 候補化合物について、解糖系/糖新生、ペントースリン酸経路、クエン酸回路、尿素回路、プリン代謝経路、ピリミジン代謝経路、ニコチン酸・ニコチンアミド代謝経路および各種アミノ酸代謝経路に描画した。
- インフルエンザ脳症では 49 の物質で定量が可能であった。これらのうち、脳症群(急性期)では、コントロール群(急性期)と比較して、3 種類の代謝物質の平均値に有意な上昇がみられ、他方、2 種類で有意な低下が認められた(図 1)。上記の物質のなかで、kynurenine は、tryptophan-kynurenine 代謝経路の中間代謝物質で、神経毒性が報告されており、この代謝経路における解析結果を図 2 に示す。kynurenine の下流の代謝物である quinolinic acid について、症例数を増やして検討した結果、脳症群の血清で有意な上昇を認めた。
- HHV-6 脳症では、56 の物質で定量が可能であった。これらのうち、HHV-6 脳症群では、熱性けいれん群と比較して、4 種類の代謝物質の平均値に有意な上昇がみられ、他方、7 種類で有意な低下が認められた(図 1)。上記の物質のなかで、キヌレニンおよびキノリン酸は、トリプトファン-キヌレニン代謝経路の代謝物質で、神経毒性が報告されており、インフルエンザ脳症での解析と同様の結果が得られた。

#### D. 考察

メタボローム解析の結果を検討したところ、tryptophan-kynurenine 経路の代謝物である kynurenine と quinolinic acid が、インフルエンザ脳症・HHV-6 脳症の病態に共通して関係するバイオマーカー候補と考えられた。これらの代謝物は、中枢神経感染症、HIV 関連脳症、筋萎縮性側索萎縮症等で血清/髄液中の濃度上昇が報告されている。また、実験的に複数の作用機序による神経毒性も示されている。今後は、臨床的な応用の可能性についてさらに検討を加えていくことが重要と考えられる。

#### E. 結論

メタボローム解析の結果を検討したところ、トリプトファン-キヌレニン代謝経路の代謝物であるキヌレニン・キノリン酸が、病態に関係するバイオマーカー候補と考えられた。これらの代謝物は、私共が行ったイン

フルエンザ脳症を対象にした解析でもバイオマーカー候補として抽出されている。実験的に複数の作用機序による神経毒性も示されている。今後は、臨床的な応用の可能性についてさらに検討を加えていくことが重要と考えられる

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Hiraiwa-Sofue A, Ito Y, Mori H, Ichiyama T, Okumura A. Pertussis-associated encephalitis/encephalopathy with marked demyelination in an unimmunized child. *J Neurol Sci*, 320:145-148, 2012.
- Ito Y, Kimura H, Maeda Y, Hashimoto C, Ishida F, Izutsu K, Fukushima N, Isobe Y, Takizawa J, Hasegawa Y, Kobayashi H, Okamura S, Kobayashi H, Yamaguchi M, Suzumiya J, Hyo R, Nakamura S, Kawa K, Oshimi K, Suzuki R. Pretreatment EBV-DNA copy number is predictive of response and toxicities to SMILE chemotherapy for extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *Clin Cancer Res* 18(15):4183-4190, 2012.
- Hiraiwa-Sofue A, Ito Y, Ohta R, Kimura H, Okumura A. Human Herpesvirus 6-Associated Encephalopathy in a Child with Dravet Syndrome. *Neuropediatrics*, 44:155-158, 2013.
- Kawano Y, Iwata S, Kawada J, Gotoh K, Suzuki M, Torii Y, Kojima S, Kimura H, Ito Y. Plasma Viral MicroRNA Profiles Reveal Potential Biomarkers for Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection. *J Infect Dis*. 208(5):771-779. 2013
- Hara S, Kawada J, Kawano Y, Yamashita T, Minagawa H, Okumura N, Ito Y. Hyperferritinemia in Neonatal and Infantile Human Parechovirus-3 Infection in Comparison with Other Infectious Diseases. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 20(1):15-19, 2014.
- Yamashita Y, Ito Y, Isomura H, Takemura N, Okamoto A, Motomura K, Tsujiuchi T, Natsume A, Wakabayashi T, Toyokuni S, Tsurumi T. Lack of presence of the human cytomegalovirus in human

glioblastoma. *Modern Pathol*, 27(7):922-9, 2014.

- 7) Kawano Y, Kawada J, Ito Y. Epstein-Barr Virus MicroRNAs in Plasma as Potential Biomarkers for Chronic Infections. *J Infect Dis* 209:1298-1300, 2014.
- 8) Kanazawa T, Hiramatsu Y, Iwata S, Siddiquey M, Sato Y, Suzuki M, Ito Y, Goshima F, Murata T, Kimura H. Anti-CCR4 Monoclonal Antibody Mogamulizumab for the Treatment of EBV-Associated T- and NK-Cell Lymphoproliferative Diseases. *Clin Cancer Res*, 20(19): 5075-84, 2014.

## 2. 学会発表

- 1) 伊藤嘉規、鳥居ゆか、森内浩幸、木村宏、先天性・周産期感染症 (TORCH) に関する全国アンケート調査、第 115 回日本小児科学会学術集会、福岡、2012. 4. 21-22
- 2) 河野好彦、木村宏、後藤研誠、鈴木道雄、鳥居ゆか、伊藤嘉規、患者血漿中 EB ウイルス由来 mRNA 定量を応用した EB ウイルス関連疾患バイオマーカーの探索、第 86 回日本感染症学会総会、長崎、2012. 4. 25-26
- 3) 伊藤嘉規、小児科病棟での迅速診断とその応用-入院児のウイルス感染症早期診断と院内感染対策-、分野別シンポジウム 9、第 116 回日本小児科学会学術集会、広島、2013. 4. 19-21、日本小児科学会雑誌 117(2):S48, 2013
- 4) 鳥居ゆか、河野好彦、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、伊藤嘉規、メタボローム解析を用いたインフルエンザ脳症の新規バイオマーカーの探索、第 116 回日本小児科学会学術集会、広島、2013. 4. 19-21、日本小児科学会雑誌 117(2):158, 2013
- 5) 鳥居ゆか、河野好彦、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、伊藤嘉規、メタボローム解析によるインフルエンザ脳症患者血清中の代謝物プロファイリング、第 87 回日本感染症学会学術講演会、横浜、2013. 6. 5-6、感染症学雑誌 87(臨時増刊号):330, 2013
- 6) Yuka Torii, Yoshihiko Kawano, Hajime Sato, Tamaki Fujimori, Kazunori Sasaki, Jun-ichi Kawada, Yoshiaki Ohashi, Yoshinori Ito, Quantitative metabolome profiling reveals novel potential biomarkers in influenza-associated encephalopathy, IDWeek 2013, San Francisco, USA,

October 2-6, 2013

- 7) Yoshihiko Kawano, Yuka Torii, Hajime Sato, Tamaki Fujimori, Kazunori Sasaki, Jun-ichi Kawada, Yoshiaki Ohashi, Yoshinori Ito, Quantitative metabolome profiling reveals novel potential biomarkers in human herpesvirus 6 encephalopathy, IDWeek 2013, San Francisco, USA, October 2-6, 2013
- 8) 鳥居ゆか、河野好彦、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、伊藤嘉規、メタボローム解析を用いたインフルエンザ脳症・HHV-6 脳症における新規バイオマーカーの探索、第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会、札幌、2013. 10. 26
- 9) 伊藤嘉規、単純ヘルペスウイルスによる母子感染、第 117 回日本小児科学会学術集会、名古屋、2014. 4. 11-13.

## G. 知的財産権の取得状況

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
特になし

# (図1) バイオマーカー候補

同定された化合物 定量された物質

インフルエンザ脳症	174種	49種
HHV-6脳症	159種	56種

脳症で有意に上昇/低下していた代謝物質

**インフルエンザ脳症 > 対照**

Kynurenine  
Succinic acid  
Undecanoic acid

**インフルエンザ脳症 < 対照**

Cystine  
Decanoic acid

**HHV-6脳症 > 熱性けいれん**

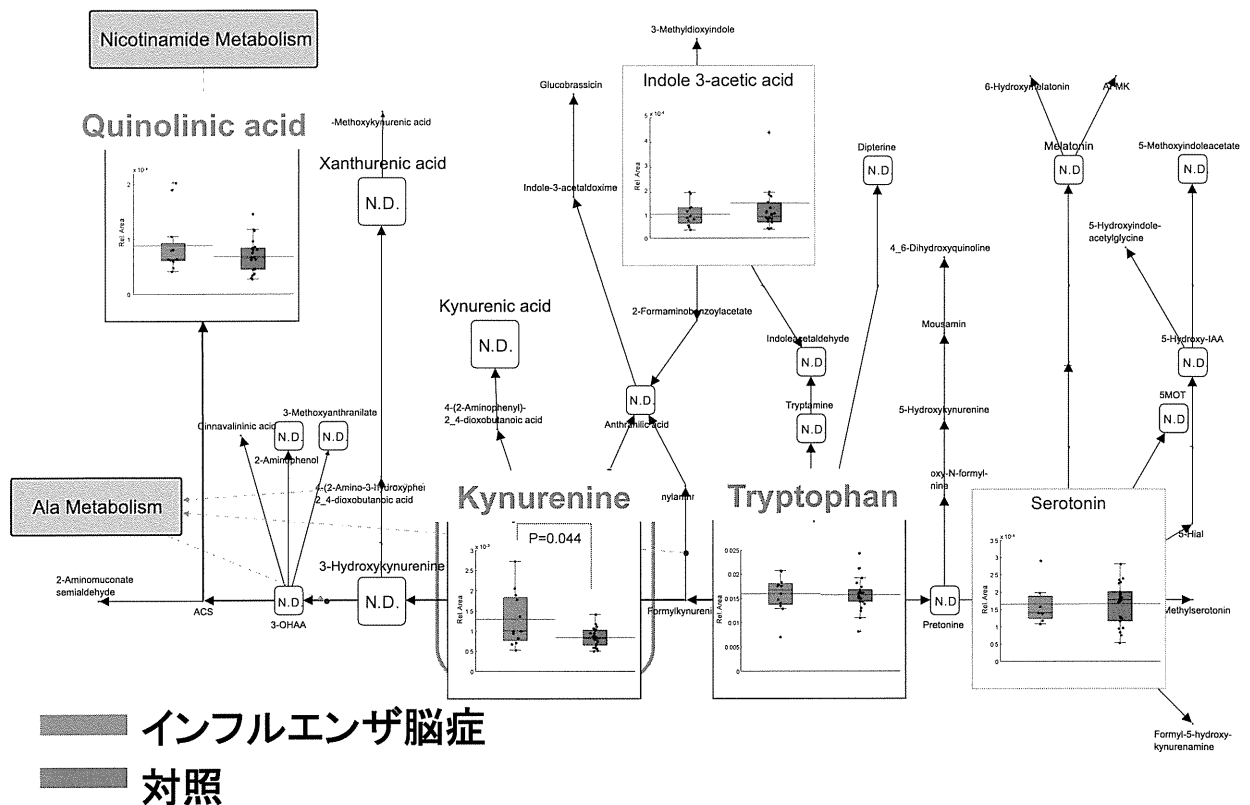
Kynurenine  
Quinolinic acid  
3-Aminobutyric acid  
Pipelicolic acid

**HHV-6脳症 < 熱性けいれん**

Tryptophan  
cis-Aconitic acid      Isocitric acid  
Butyric acid              Hexanoic acid  
Aspartic acid              Taurine

## (図2) Kynurenine代謝経路の代謝物の動態



## インフルエンザ脳症の遺伝子多型解析

研究分担者 蒔田泰誠

理化学研究所 統合生命医科学研究センター・グループディレクター

### 研究要旨

インフルエンザ脳症の発症に関連する遺伝子を、全ゲノム領域を対象とした一塩基多型（SNP）解析にて同定し、インフルエンザ脳症の発症リスクを事前に予測するツールを開発することを目的としている。候補遺伝子解析として、インフルエンザ脳症や熱中症の発症リスクと関連することが報告されている carnitine palmitoyltransferase 2 (CPT2) 上の SNP について関連解析を実施したが、日本人小児インフルエンザ脳症患者 85 例（ケース群）と日本人一般集団 934 例（コントロール群）の遺伝子型頻度には有意な差は見られなかった。また、ケース群 72 例とコントロール群 934 例の全ゲノム関連解析（GWAS）で既に得られている SNP の遺伝子型情報に基づいて、「ジェノタイプ・インピュテーション（遺伝子型予測）」の手法を用いて関連遺伝子領域を探索した。インピュテーションにより、解析対象の SNP を約 250 万箇所を増やすことができ、新たに得られた SNP（imputed SNP）の情報を用いた関連解析において、21 箇所の SNP が GWAS 有意水準（ $5.0 \times 10^{-8}$ ）をクリアした。しかしながら、21 箇所全ての SNP において、インピュテーションで予測された遺伝子型と実際の遺伝子型との間に不一致が認められた。すなわち、GWAS 及び imputed SNP による GWAS では、インフルエンザ脳症の発症に関連する SNP を検出することはできなかった。

### A. 研究目的

日本においてインフルエンザの学童罹患数は、年間 50 万から 100 万人である。そのうち 100 から 300 人がインフルエンザ脳症を合併する。インフルエンザ脳症の死亡率は 30%前後と高く、生存例においても重篤な後遺症を残す症例が多いため社会的関心が高まっている。

インフルエンザ脳症の詳細な発症機序は不明であるが、日本人での報告が多いことから遺伝的因子が関与していると考えられる。本研究では、インフルエンザ脳症の発症リスクに関連する遺伝子を同定するため、一塩基多型（SNP）を用いて、全ゲノム領域を対象とした関連解析（genome-wide association study: GWAS）を行う。インフ

ルエンザ脳症の発症における遺伝的背景を解明することができれば、ハイリスク群を事前に特定することができ、ワクチン接種等の積極的な予防が可能となる。また、感受性遺伝子の同定は、インフルエンザ脳症の新たな治療法の開発にもつながることが期待される。

### B. 研究方法

#### 研究対象

インフルエンザ脳症を発症した 1 歳以上の日本人小児 85 症例。

#### SNP 解析

国際 HapMap データベースの情報に基づいて抽出した約 50 万 SNP について、日本人

小児インフルエンザ脳症患者（ケース群）及び日本人一般集団（コントロール群）をジェノタイピングし、ケース-コントロール関連解析を行う。

（倫理面への配慮）

#### I. 研究等の対象とする個人の人権擁護

本研究に同意するか否かは本人（対象が16歳未満の場合は、本人及び代諾者）の自由意志に委ねられ、同意しない場合であってもいかなる不利益も被ることはないことを保証する。本研究は連結可能匿名化を行う。個人識別情報は、担当者が厳重に保管・管理し、外部へは決して提供しない。また、同意はいつでも撤回できることを保証する。同意が撤回された場合は、すみやかに DNA 検体をオートクレーブにかけ廃棄する。

#### II. 研究への参加者に理解を求め同意を得る方法

検体の提供を受ける際には、説明文書を用いて提供者（16歳未満の場合は、提供者及び代諾者）との質疑応答を経て、本研究について十分に理解されたことを確認した後に同意を得る。説明文書では、本研究の意義、目的、遺伝子解析などについて解説し、プライバシーの保護の方法、提供者の権利、研究に協力することの利益と不利益、本研究終了後の検体の取り扱い方針について説明する。同意をいただいた方には、同意書に自署をお願いする。同意書は、鍵のかかるロッカーにて厳重に保管・管理する。

#### III. 研究によって生じる個人への不利益ならびに危険性と科学的な貢献の予測

本研究の成果により、インフルエンザ脳症の感受性遺伝子が同定されれば、ハイリスク群をスクリーニングすることが可能となる。インフルエンザの感染予防に対してはワクチンの接種という非常に有効な予防

法が存在するため、ハイリスク群に対しては積極的にワクチン接種をすすめることにより、インフルエンザ脳症の罹患を予防することが可能となる。

また、感受性遺伝子の同定は、その遺伝子またはカスケードをターゲットとした新たな治療法の確立にも貢献すると確信する。

個人識別情報の漏洩により人権の侵害を被る可能性があるが、本研究では、担当者が個人識別情報を厳重に保管・管理し、個人情報・プライバシーの保護には万全をつくす。

インフルエンザ脳症は、ほとんどが10歳までの発症であり、遺伝的背景を研究することは、患者の健康に対して利益はあるものの、その後の社会的な不利益や危険性があるとは考えられない。

#### IV. 遺伝カウンセリング体制の整備

個人識別情報の管理に記したように、本研究の結果を提供者が知ることにより、提供者や血縁者の生命の危機を回避できる可能性がある。この場合には、遺伝子情報を提供者や家族に報告する可能性がある。そのような遺伝情報を知ることは、生命危機を回避することを目的にしているため、患者及び家族の利益となるが、そのことを正確に理解し、受け入れることを支援するために日本遺伝カウンセリング学会認定医が遺伝カウンセリングを行う体制を整備している。

#### V. 研究終了後の DNA 検体の取り扱い

提供者の承諾が得られた場合に限り、将来の本研究以外のインフルエンザ脳症に関連した医学研究に用いることがある。ただし、その場合は連結不可能匿名化を行う。研究終了後の DNA 検体の保管に関しては、説明文書を用いて提供者（16歳未満の場合は、提供者及び代諾者）に十分説明する。

研究終了後の DNA 検体の保管を承諾されなかった場合には、すみやかに検体をオートクレーブにかけ破棄する。

### C. 研究結果

日本人においてインフルエンザ脳症や熱中症の発症リスクと関連することが報告されている carnitine palmitoyltransferase 2 (CPT2) (Chen et al. FEBS Lett 579:2040-4 (2005)) について、アミノ酸置換を伴う SNP についてのケースコントロール関連解析を行った。また、国際 HapMap データベースの情報に基づいて CPT2 周辺領域の 17 箇所の TagSNP を抽出し、関連解析を行った。CPT2 上の 3 箇所の SNP (F352C、I368V、M647V) において、インフルエンザ脳症の発症リスクとの関連が報告されている Type 9 (F/C、I/V、M/M) の遺伝子型頻度には、ケース群 85 例 (7.1%) とコントロール群 934 例 (10.9%) との間で有意な差は見られなかった。また、TagSNP 解析においても、インフルエンザ脳症の発症リスクに関連する SNP は見られなかった。

ケース群 72 例及びコントロール群 934 例の GWAS で既に得られている SNP の遺伝子型の情報を基にして、「ジェノタイプ・インピュテーション (遺伝子型予測)」の手法を用いて関連遺伝子領域を探索した。ジェノタイプ・インピュテーションとは、実際のゲノム解析で得られた約 50 万箇所の SNP の遺伝子型情報と、公共データベース 1000 Genomes に登録されている全ゲノム上の数百万箇所の SNP 情報を基に、専用の遺伝子型予測ソフト MaCH-Admix を用いて、実際に解析した SNP の近傍にある SNP の症例毎の遺伝子型を遺伝統計学的に推定する方法である。インピュテーションにより、解析対象の SNP を約 250 万箇所に増やすことができ、新たに得られた SNP (imputed SNP) の情報を用いた関連解析において、21 箇所の

SNP が GWAS 有意水準 ( $5.0 \times 10^{-8}$ ) をクリアした。しかしながら、21 箇所全ての SNP において、インピュテーションで予測された遺伝子型と実際の遺伝子型との間に不一致が認められた。すなわち、GWAS 及び imputed SNP による GWAS では、インフルエンザ脳症の発症リスクに関連する SNP を検出することはできなかった。

### D. 考察

本研究では、症例数が少ない場合でも、遺伝子型の疾患発症に対する寄与が大きければ疾患関連遺伝子を同定することができるものと考え、高速・大量 SNP ジェノタイピングによる GWAS を実施したが、P 値が GWAS 有意水準を満たす SNP は同定されなかった。

### E. 結論

候補遺伝子解析、GWAS 及び imputed SNP による GWAS では、インフルエンザ脳症の発症に関連する SNP を検出することはできなかった。

### F. 研究発表

なし

### G. 知的所有権の取得状況

なし

## 生体マーカーを用いた重症インフルエンザの病態解析と治療開発 - 尿中バイオマーカーの迅速検査についての検討 -

研究分担者 塚原宏一

研究協力者: 山田睦子, 吉川知伸, 斎藤有希恵, 藤井洋輔, 八代将登

津下 充, 野坂宜之, 鷲尾洋介, 吉本順子, 森島恒雄

(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科小児医科学)

### 研究要旨

L-type fatty acid binding protein(L-FABP)は 2011 年に保険収載された腎臓特異的酸化ストレスマーカーであり、急性腎障害発症予測、慢性腎障害予後予測のマーカーとして知られている。今回、我々は新規開発された尿中 L-FABP 迅速計測スライド(シミック社、50  $\mu$ L を 15 分で解析できる小型スライド)の基礎的および臨床的有用性を検討した。

今回の検討で得られた成果を以下に列挙する。(1)L-FABP(迅速計測)は 20 ng/mL(または 100 ng/mg Cr)前後で陽性を呈する(この値は急性腎障害発症予測のカットオフ値である)。(2)L-FABP(迅速計測)の半定量値と ELISA 値は有意に正相関する。(3)容態の安定した慢性腎疾患の児において、L-FABP(ELISA)は 20 ng/mL を超えない。(4)急性脳症を呈した患者で入院時に L-FABP(迅速計測)が陰性の症例は急性腎障害を呈さない。

結語: L-FABP 迅速計測スライドは緊急を要する医療現場で(不便な環境でも)応用可能と期待された。

### A. 研究目的

生体マーカー計測の長所は非~低侵襲性、生体応答的な病態解析、患者容態の迅速評価、緊急対応などである。L-type fatty acid binding protein(L-FABP)は 2011 年に保険収載された腎臓特異的酸化ストレスマーカーであり、急性腎障害(AKI)発症予測、慢性腎障害(CKD)予後予測のマーカーとして知られている。

今回、我々は新規開発された尿中 L-FABP 迅速計測スライド(シミック社、50  $\mu$ L を 15 分で解析できる小型スライド; Immunochromatography を原理にしている)の基礎的および臨床的有用性を検討した。

### B. 研究方法

#### <研究 1>

対象は 22 例、生後 5 日~21 歳、男/女は 15/7 であった。容態の不安定な(入院での集中治療が必要な)患者は 5 例、容態の比較的安定な患者は 11 例、病的意義の乏しい患者(対照)は 5 例であった。

スポット尿中の L-FABP を迅速計測スライド(陽性を 1+~3+に分けた)、ELISA(シミック社)にて計測して両者の相関を調べた。全身性酸化

ストレスマーカーとして知られる尿中 8-OHdG の迅速計測(ICR-001、テクノメディカ社)、NAG、B2M、血清 Cr の計測も同時に行った。基準値は L-FABP で <10 ng/mL (<10 ng/mg Cr)、8-OHdG で <25 ng/mg Cr とした。

#### <研究 2>

対象は 24 例、生後 10 月~18 歳、男/女は 13/11 の容態安定(外来フォロー中)の CKD 児であった。CKD は Stage 1~Stage 2(eGFR が  $60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$  以上)であった。

スポット尿中の L-FABP を ELISA(シミック社)にて計測した。<研究 1>の結果より L-FABP(ELISA)での 20 ng/mL(あるいは 100 ng/mg Cr)が L-FABP(迅速)(1+)に相当することが示されたが(後述)、<研究 2>では基礎に CKD のあることが L-FABP(迅速)の結果に影響するのかが検討した。

#### <研究 3>

インフルエンザ脳症患者を対象にして、入院当日の L-FABP(迅速)および L-FABP(ELISA)とその後の血清 Cr 変化との関連を検討した。

Matsui ら(Circ J 2012)によれば、L-FABP が



100 ng/mg Cr 以上ならばその後の AKI 発症のハイリスク群となる。この値は L-FABP (迅速) の (1+) 以上に相当する。今回、Matsui らの結果を AKI 発症の予測基準として採用した。

#### (倫理面への配慮)

検体はすべて暗号で表示しなおしてから検査を開始した。データ保存についても個人が特定されないように十分に配慮した。

### C. 研究結果

#### <研究 1>

L-FABP (迅速) は (-) ~ (3+) (1+ が 6 例、2+ が 3 例、3+ が 1 例; 陽性を示したのは不安定な患者で 5 例 (5/5=100%)、比較的安定な患者で 5 例 (5/11=45%)、対照で 0 例 (0/11=0%)、L-FABP (ELISA) は  $<3.0 \sim 1,271$  ng/ml ( $<0.9 \sim 1,686$  ng/mg Cr) であった。尿中 8-OHdG は  $5.7 \sim 643$  ng/mg Cr、NAG は  $1.4 \sim 30.2$  U/L、B2M は  $84 \sim 107,000$   $\mu$ g/L、血清 Cr は  $0.16 \sim 2.30$  mg/dL であった。

基準値を超えた患者は L-FABP (迅速) で 10 例 (10/22=45%)、L-FABP (ELISA) は 11 例 (11/22=50%)、8-OHdG は 10 例 (10/22=45%)、NAG は 8 例 (8/22=36%)、B2M は 10 例 (10/20=50%)、血清 Cr は 3 (3/22=14%) であった。

L-FABP (迅速) は L-FABP (ELISA) と有意に正相関した ( $r = 0.74$ ,  $p < 0.001$ )。L-FABP (迅速) は大体 ELISA での計測値 20 ng/mL (あるいは 100 ng/mg Cr) で (1+)、100 ng/mL で (2+) を示した。なお、L-FABP (ELISA) は尿中 8-OHdG、NAG、B2M、血清 Cr と有意相関を示さなかった。

#### <研究 2>

L-FABP (ELISA) は、再発のネフローゼ患者 2 名 (ともに Stage 1) で 141、246 ng/mL と高値を呈した (寛解時はともに  $<10$  ng/mL であった)。重症心疾患 (Stage 2) で 45 ng/mL、シスチン尿症 (Stage 1) で 17 ng/mL であった。それら以外の 20 例は  $<10$  ng/mL であった。

#### <研究 3>

1 例目は 2 歳の女性である。インフルエンザ A の患者で、発熱、意識障害、不随運動を呈した。オセルタミビル、マンニトール、メチルプレドニゾン、 $\gamma$ グロブリン、エダラボンが使用された。

入院当日の L-FABP (迅速) は (-)、L-FABP (ELISA) は  $<3.0$  ng/mL であった。患者の血清 Cr は入院当日が  $0.23$  mg/dL、翌日が  $0.22$  mg/dL、その後も Cr は上昇せず、初期予測どおり AKI を発症しなかった。

2 例目は 1 歳の男性である。インフルエンザ A の患者で、発熱、痙攣重積、呼吸不全を呈した。ペラミビル、マンニトール、メチルプレドニゾン、

$\gamma$ グロブリン エダラボンが使用された。

入院当日の L-FABP (迅速) は (-)、L-FABP (ELISA) は  $<3.0$  ng/mL であった。患者の血清 Cr は入院当日が  $0.24$  mg/dL、翌日が  $0.15$  mg/dL、その後も Cr は上昇せず、初期予測どおり AKI を発症しなかった。

### D. 考察

2012 年 3 月、腎疾患に関する国際的ガイドライン策定を目指して設立された Kidney Disease: Improving Global Outcome により Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury が発表された。AKI については 5 つの生体マーカーが推奨された。Neutrophil gelatinase-associated lipocalin、Cystatin C、Interleukin 18、Kidney injury molecule-1、および L-FABP である。

L-FABP は脂肪酸負荷、内因性・外因性有害物負荷、酸化障害、虚血障害などによって腎近位尿細管細胞で誘導され、有害物や不要物をペロキシゾームに担送する蛋白質である。L-FABP 誘導はペロキシゾーム増殖剤応答性受容体 (PPAR) 刺激でも起こる。そのリガンドであるフィブラート、チアゾリジンによっても L-FABP 発現は増強する。L-FABP 誘導はこれらの薬剤の多方面作用 (とくに抗酸化作用) の一翼を担うと推察される。

我々は、早期診断性に長けた L-FABP の尿中排泄を計測することで小児患者の AKI を早期予測できるかどうか基礎的および臨床的検討を進めている。さらに、最近開発された迅速キットを併用することで、診療の現場で重症度評価、患者層別化を行うことができるか検討している。

CKD では尿中 8-OHdG は顕著に増加することが少なかった。尿中 8-OHdG が全身レベルの酸化環境を反映して平均化されるのか、健常細胞が少なくなった腎臓では 8-OHdG 産生も少なくなるのか明らかでないが、生体応答的機序により腎臓特異的に発現する L-FABP にて腎機能を評価することの重要性が示唆された。

今回の検討で得られた成果を以下に列挙する。(1) L-FABP (迅速計測) は 20 ng/mL (または 100 ng/mg Cr) 前後で陽性を呈する (この値は急性腎障害発症予測のカットオフ値である)。(2) L-FABP (迅速計測) の半定量値と ELISA 値は有意に正相関する。(3) 容態の安定した慢性腎疾患の児において L-FABP (ELISA) は 20 ng/mL を超えない。(4) 急性脳症を呈した患者で入院時に L-FABP (迅速計測) が陰性の症例は急性腎障害を呈さない。

### E. 結論

L-FABP 迅速計測スライドは緊急を要する医療現場で (不便な環境でも) 応用可能と期待された。今後は、急性脳症にこだわらず多くの最重症例での検討が必要であると考えられた (本研

究は菅谷 健教授(聖マリアンナ医科大学・腎臓  
高血圧内科)の協力のもとに行われた)。

## F. 研究発表

### <論文発表>

- (1) Yashiro M, Tsukahara H, Matsukawa A, Yamada M, Fujii Y, Nagaoka Y, Tsuge M, Yamashita N, Ito T, Yamada M, Masutani H, Yodoi J, Morishima T. Redox-active protein thioredoxin-1 administration ameliorates influenza A virus (H1N1)-induced acute lung injury in mice. *Crit Care Med* 41(1):166-176, 2013.
- (2) Nakatsukasa Y, Tsukahara H, Tabuchi K, Tabuchi M, Magami T, Yamada M, Fujii Y, Yashiro M, Tsuge M, Morishima T. Thioredoxin-1 and oxidative stress status in pregnant women at early third trimester of pregnancy: Relation to maternal and neonatal characteristics. *J Clin Biochem Nutr* 52(1):27-31, 2013.
- (3) Nagasaka H, Okano Y, Kimura A, Mizuochi T, Sanayama Y, Takatani T, Nakagawa S, Hasegawa E, Hirano K, Mochizuki H, Ohura T, Ishige-Wada M, Usui H, Yorifuji T, Tsukahara H, Hirayama S, Ohtake A, Yamato S, Miida T. Oxysterol changes along with cholesterol and vitamin D changes in adult phenylketonuric patients diagnosed by newborn mass-screening. *Clin Chim Acta* 416: 54-59, 2013.
- (4) Nagasaka H, Yorifuji T, Egawa H, Inui A, Fujisawa T, Komatsu H, Tsukahara H, Uemoto S, Inomata Y. Characteristics of NO cycle coupling with urea cycle in non-hyperammonemic carriers of ornithine transcarbamylase deficiency. *Mol Genet Metab* 109 (3): 251-254, 2013.
- (5) Tsukahara H, Fujii Y, Matsubara K, Yamada M, Nagaoka Y, Saito Y, Yashiro M, Tsuge M, Goto S, Kitamura T, Hata A, Ichiyama T, Morishima T. Prognostic value of brain injury biomarkers in acute encephalitis/encephalopathy. *Pediatr Int* 55 (4): 461-464, 2013.
- (6) Yamashita N, Tsukahara H, Tsuge M, Nagaoka Y, Yashiro M, Saito Y, Fujii Y, Oka T, Morishima T. Pathogenic mechanisms of influenza A(H1N1)pdm09 infection elucidated on gene expression profiling. *Pediatr Int* 55 (5): 572-577, 2013.
- (7) Tsukahara H. Oxidative stress biomarkers: Current status and future perspective(分担). In "Oxidative Stress in Applied Basic Research and

Clinical Practice - Pediatric Disorders", ed. Tsukahara H, Kaneko K.

Springer, Berlin, Germany, 2014; 87-113.

(8) Yashiro M, Tsukahara H, Morishima T. Thioredoxin therapy: Challenges in translational research(分担).

In "Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders", ed. Tsukahara H, Kaneko K.

Springer, Berlin, Germany, 2014; 233-252.

(9) Tsukahara H, Yashiro M, Nagaoka Y, Morishima T. Infectious and inflammatory disorders(分担).

In "Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders", ed. Tsukahara H, Kaneko K.

Springer, Berlin, Germany, 2014; 371-386.

(10) Nagasaka H, Tsukahara H, Miida T. Oxidative stress in inherited metabolic diseases(分担).

In "Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders", ed. Tsukahara H, Kaneko K.

Springer, Berlin, Germany, 2014; 387-404.

### <学会発表>

(1) 塚原宏一.

The Kidney in Multi-Organ Systemic Disease in Japanese Children - 新生児 AKI の特徴・評価・管理. 第 56 回日本腎臓学会学術集会, 東京, 2013 年(5 月).

(2) 塚原宏一.

小児 CKD とバイオマーカー: 最近の進歩 - CKD とバイオマーカー. 第 48 回日本小児腎臓病学会学術集会, 徳島, 2013 年(6 月).

(3) 塚原宏一.

酸化ストレスと新生児疾患. 第 58 回日本未熟児新生児学会・学術集会, 金沢, 2013 年(12 月).

(4) 塚原宏一.

一酸化窒素(NO)と腎疾患. 第 49 回日本小児腎臓病学会学術集会, 秋田, 2014 年(6 月).

## G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

## インフルエンザ成人重症例の病態と診療体制整備

研究分担者

竹田晋浩

日本医科大学付属病院外科系集中治療科・特任教授

### 研究要旨

インフルエンザによる重症呼吸不全症例は適切な管理ができる病院での治療が必要で、重症例には体外式膜型人工肺（ECMO）による治療が必要である。しかし本邦では ECMO 治療の成績は海外と比べ半分以下の生存率であった。原因は世界標準の機材が整備されていない、医療従事者の ECMO 治療に対する経験が少ない、などが挙げられた。また海外の優秀な施設への訪問から、本邦の現状との違いが浮き彫りにされた。これらの結果から本邦の現状では次のパンデミック時に H5N1 のような重症型インフルエンザが発症した場合、ECMO による治療はその効果を発揮できないであろうと推察される。そのためには適切な機材を使用し、適切な管理を提供できる専門スタッフの養成と体制作りが不可欠である。

### A. 研究目的

インフルエンザによる重症呼吸不全症例は適切な管理ができる病院での治療が必要である。特に従来の人工呼吸管理では対応できないほどの重症例には体外式膜型人工肺（ECMO）による治療が必要である。しかし本邦では ECMO 治療の実態が把握されていない。よってパンデミック時の適切な診療体制を構築するために現状の把握と世界の進んだ治療施設の体制を把握する。

### B. 研究方法

2009H1N1 による重症呼吸不全症例への ECMO 治療の実態を調査。日本呼吸療法医学会と日本集中治療医学会からの症例登録

に参加した施設からのデータを解析する。海外の優秀な施設を訪問し、責任者と会談を持ち、日本の現状との差を確認する。

（倫理面への配慮）

疫学調査であり、個人を特定する情報は無い。また海外施設への訪問も特に患者個人に関係するものではない。

### C. 研究結果

（1）2010 年度の ECMO を使用した重症インフルエンザ肺炎患者の調査  
生存率は 36%（14 例中 5 例）であった。  
しかもすべての症例で抗インフルエンザ薬

が使われていた。すべての症例で ECMO 治療に関する adverse events を起こした。そのために、1 回路の使用日数は僅か 4.0 日であった。各施設の呼吸不全に対する ECMO 治療の経験は非常に少なく、5 施設は今回が初めての経験、6 施設は年間 1 または 2 例であった。

#### Adverse events

Directly related to the ECMO circuit 11 例 (78.6%)

Oxygenator failure

7 例(50.0%)

Blood clots

4 例(28.6%)

Cannula-related problems

3 例(21.4%)

Pump head complications

1 例(7.1%)

Not directly related to the ECMO circuit

12 例(85.7%)

Massive bleeding

8 例(57.1%)

Hemolysis

2 例(14.3%)

DIC

10 例(71.4%)

Venous thrombus 2 例

(14.3%)

そのために、1 回路の使用日数は僅か 4.0 日であった。

各施設の呼吸不全に対する ECMO 治療の経験は非常に少なく、5 施設は今回が初めての経験、6 施設は年間 1 または 2 例であった。

(2) 重症の急性呼吸不全に対する ECMO 療法に関するアンケート調査

1) 日本呼吸療法医学会 (96 人)、日本集

中治療医学会 (227 人) 評議員に対するアンケート調査。回答施設 184 施設

2) 全国救命救急センターに対するアンケート調査。265 施設 回答 45 施設 (17%)

心肺蘇生に対する V-A の経験はあるが、呼吸不全に対する ECMO の V-V の経験は少ない。現場の医師は、呼吸不全に対する ECMO 治療について、経験が無くても治療が行えると考えており、世界標準の治療レベルを理解していないことが判明した。

(3) ECMO 患者空輸搬送のための自衛隊航空機動衛生隊合同訓練

約 2 時間の機上訓練を行った。気管挿管され人工呼吸および、ECMO が装着された患者シミュレーターを ECMO プロジェクト搬送コンソールにのせ、さらにコンソールをストレッチャーにのせた状態で機動衛生ユニット内にて訓練を行った。患者頭部は飛行機進行側とした。ECMO はクリアプライムのみであった。参加者を 4 つの班に分け、ユニット内訓練は各班約 15 分ずつ 2 回行った。訓練内容は脱血不良、回路内血栓や空気のシナリオを行った。内部には通常 3 人の衛生機動隊員がおり、3 人ずつ参加者が入ることとなったが、ドクターカー内部での訓練よりも広く、必要時の膜交換や回路交換は行えることができるスペースがあると考えられた。

(4) シミュレーション・ラボ

東北大学クリニカル・スキルラボにて開催、57 名参加

第 41 回日本集中治療医学会学術集会にて開催、48 名参加

千葉大学医学部附属病院クリニカルスキルズセンターにて開催、24 名参加

藤田保健衛生大学にて開催、30 名参加