

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・脳症の病態解析・診断・治療に関する研究」

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 森島恒雄

平成 27 年 5 月

目 次

(平成26年度 総括研究報告)

重症インフルエンザによる肺炎・脳症の病態解析・診断・治療に関する研究

森島 恒雄

(平成26年度 分担研究報告)

- 1 川崎市における急性脳炎・脳症の届出状況 2009年～2014年
網部 信彦
- 2 09/10シーズン以降のインフルエンザ脳症の実態
奥村 彰久
- 3 感染症発生動向調査に基づいた2014/2015シーズンのインフルエンザの発生動向と海外論文の検討
多屋 馨子
- 4 H5N1 およびパンデミックウイルスのウイルス学的解析
河岡 義裕
- 5 重症インフルエンザ病態解明へのアプローチ 剖検例からわかること
長谷川 秀樹
- 6 重症例の治療効果および予後に関する検討
池松 秀之
- 7 インフルエンザ肺炎モデルにおける抗HMGB1抗体の治療効果
森島 恒雄
- 8 メタボローム解析を用いたウイルス性脳症の新規バイオマーカー候補の探索
伊藤 嘉規

9 小児重症ウイルス感染症における多因子解析

宮入 烈

10 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 -

塚原 宏一

11 喘息モデルマウスを用いた A(H1N1)pdm09 感染による気管支喘息発作重症化の
病態解析

長谷川 俊史

12 インフルエンザウイルス(H1N1)及び二次性細菌性肺炎のエピジェネティクス解析

松川 昭博

13 インフルエンザ脳症の遺伝子多型解析

蕙田 泰誠

14 病態及び解析結果からみた重症インフルエンザ肺炎・脳症治療ガイドライン作成の
ための根拠収集

河島 尚志

15 インフルエンザ成人重症例の病態と診療体制整備

竹田 晋浩

16 新型インフルエンザ等に対する診療体制整備 WHO はじめ国外との連携体制

清水 直樹

17 ウイルス性疾患による重症呼吸不全に対する膜型人工肺を用いた体外循環補助療
法 (extracorporeal membrane oxygenation; ECMO) の可能性

中川 聡

(研究成果の刊行に関する一覧)

**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）
平成 26 年度総括研究報告**

重症インフルエンザによる肺炎・脳症の病態解析・診断・治療に関する研究

研究代表者 森島恒雄（岡山大学大学院 特命教授）

研究要旨

平成 26 年度は 2009 年パンデミックにおける小児の重症肺炎の解析が進んだ。具体的には、喘息マウスモデルにインフルエンザウイルス AH1pdm を感染させ、季節性インフルエンザと比較して、局所の炎症性サイトカイン/ケモカインの増加や肺炎の重症化が確認された。また、病理学的には ARDS を発症している場合、全身の SIRS の病態が肺障害に関与する可能性も示唆され、必ずしもウイルスの増殖だけが重症肺炎を引き起こすわけではないことが示された。一方、インフルエンザ脳症については、毎年小児を中心とした発症が報告されている。2015 年第 8 週までに 93 人が報告されており、9 歳以下の小児が約 6 割を占めている。本症の中で、近年サイトカインストームを伴わない痙攣重積型脳症（二相性脳症）が増加しているが、ガイドライン治療に抵抗する症例でホスフェニトインが有効かつ安全であることが示された点は、大きな進歩である。この他、小児重症ウイルス感染症における多因子解析よりインフルエンザ呼吸器関連の重症化予測因子として、結成総蛋白低値と LDH 高値が重要であるとの結果が得られている。

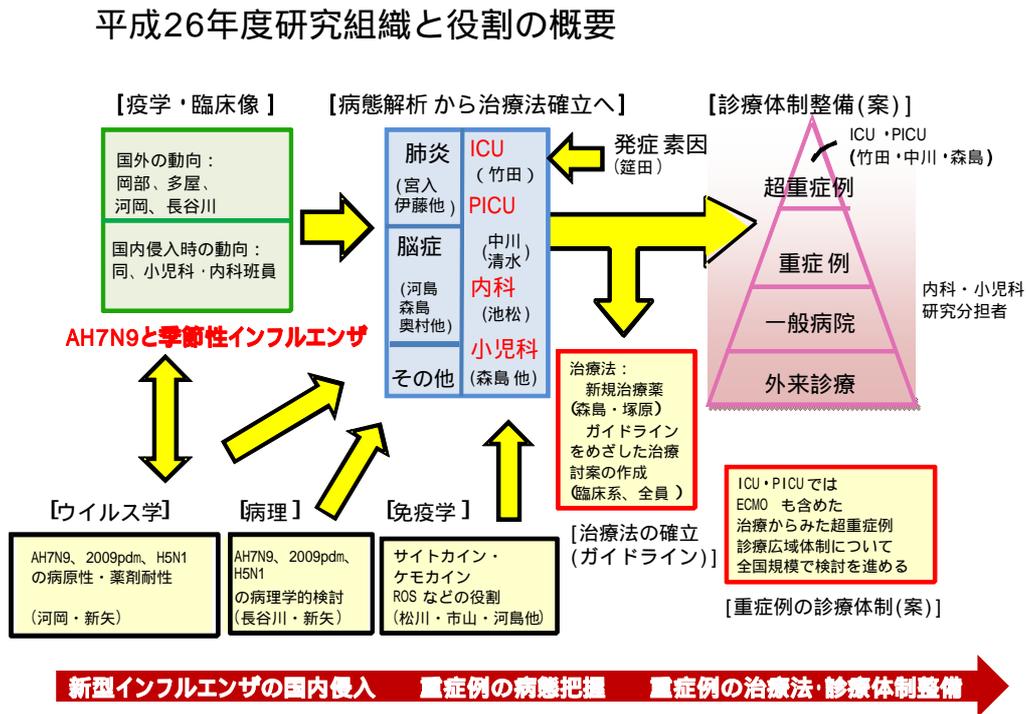
「新型インフルエンザ」特に AH7N9 の広がりが危惧される中、診療体制の整備のため WHO および諸外国での連携が進んだ。具体的には、WHO/SARI コースに研究分担者を派遣し、重症肺炎診療における国内の体制整備に役立てることができた。また、小児・成人とも ECMO などによる重症例の診療体制整備のための研究も進んだ。

エピジェネティクス解析からインフルエンザウイルス感染により産生される type-Interferon によって、誘導される SETDB2 はインフルエンザウイルス感染後の二次性細菌性肺炎のターゲットと考えられた。

新規治療薬の開発においては、すでに重症インフルエンザ肺炎などにおいて病態悪化に関与することが本研究班で明らかにされている HMGB1 に対するモノクローナル抗体がマウスの致死性インフルエンザ肺炎に対して単独で致死率を著明に改善することを示すことができた。マウスとヒトにおいて、HMGB1 はほぼ組成が一致しており、この抗体による重症例の治療は、今後大きく前進するものと期待される。

A. 研究目的

図 1. 平成 26 年度研究組織体制・役割について図に示した。



目的

新型インフルエンザに備えて、肺炎・脳症・多臓器不全など重症例の海外動向・臨床像・病態などを解析し、重症化に備えた「診療ガイドライン」を作成する。これは「既存の治療薬」で進める。同時に病態解析に基づく重症インフルエンザに対する新規治療薬を開発する。各分野研究者の共同研究を通じて、高病原性インフルエンザに速やかに対応する「既存の治療薬」を用いた治療法を検討する。また関連学会と連携し、「診療ガイドライン」の作成・改訂を進める。従来抗インフルエンザ薬が無効の場合を想定し、抗炎症・抗酸化作用を有する重症インフルエンザ治療薬を開発する。

期待される成果

1. AH7N9、AH5N1 などを含む高病原性インフルエンザの臨床像・病態を明らかにし速やかに有効な治療法を確立し、「診療ガイドライン」作成による一般診療への普及を目指す。これは「新型インフルエンザ」による国民の健康被害(重症化阻止)を最小限にすることができる。
2. 関連学会など協力組織を作り「新型インフルエンザ」に対する連携を強化することで、インフルエンザ以外の重症感染症の国内侵入が起きていた時にも応用が可能となる診療基盤を作ることができる。
3. 「新型インフルエンザ」において、抗インフルエンザ治療薬の効果が低いと推定される時、重症化を防ぎうる新規

治療薬(抗炎症・抗酸化・抗サイトカインなどの効果を示すチオレドキシン・抗HMGB1抗体などの臨床応用を検討中)によりインフルエンザ重症化による致死率を低下させることができる。また、既存の抗インフルエンザウイルス薬との併用で相乗効果も期待できる。

4. 上記の抗炎症・抗酸化・抗サイトカ

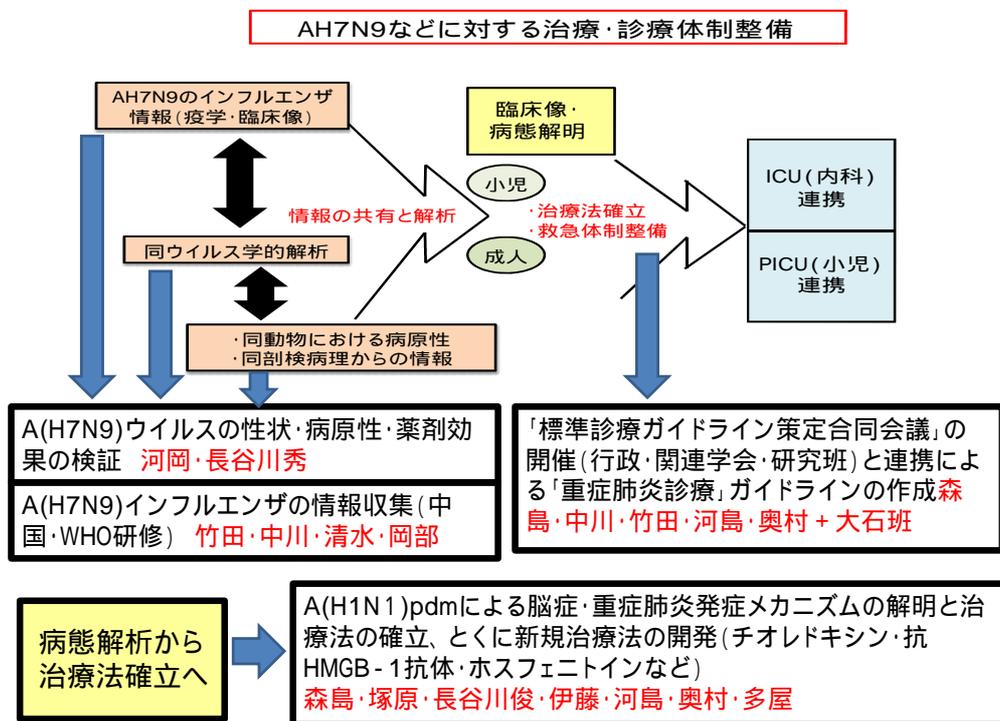
インの治療薬の開発は、従来使われているステロイド(脳症のガイドラインでも使用中)に代わるものとして、現在有効な抗ウイルス薬がなく、サイトカインストームが重症化に関与すると考えられる重症ウイルス感染症(MERS や SFTS など)の治療にも効果を上げることが期待できる。

B. 研究方法

本研究組織の特徴として、疫学・基礎ウイルス学・病理学・免疫学・小児および成人感染症学・小児神経学・小児尾および成人集中治療学の専門家が集まり、包

括的な研究を進めることにある。主な役割について図2に示した。したがって、研究方法については各分担研究者の報告を参考にしていきたい。

図2 .



C . 結果

1. インフルエンザ重症肺炎の病態解析：平成26年度は2009年パンデミックにおける小児の重症肺炎の解析が進んだ。具体的には、喘息マウスモデルにインフルエンザウイルスAH1pdmを感染させ、季節性インフルエンザに比較して、局所の炎症性サイトカイン/ケモカインの増加や肺

炎の重症化が確認された。また、病理学的にはARDSを発症している場合、全身のSIDSの病態が肺障害に関与する可能性も示唆され、必ずしもウイルスの増殖だけが重症肺炎を引き起こすわけではないことが示された。

2. インフルエンザ脳症：インフルエンザ脳症については、毎年小

児を中心とした発症が報告されている。2015年第8週までに93人が報告されており、9歳以下の小児が約6割を占めている。本症の中で、近年サイトカインストームを伴わない痙れん重積型脳症（二相性脳症）が増加しているが、ガイドライン治療に抵抗する症例でホスフェニトインが有効かつ安全であることが示された点は、大きな進歩である。この他、小児重症ウイルス感染症における多因子解析よりインフルエンザ呼吸器関連の重症化予測因子として、結成総蛋白低値とLDH高値が重要であるとの結果が得られている。一方、興味深いことにAH7N9の肺炎の重症化については、喫煙が重症化阻止であるとの臨床的な報告がされているが、それを支持するような研究結果が得られている。

3. 重症インフルエンザの診療体制整備：

「新型インフルエンザ」特にAH7N9の広がりが危惧される中、診療体制の整備のためWHOおよび諸外国での連携が進んだ。具体的には、WHO/SARIコースに研究分担者を派遣し、重症肺炎診療における国内の体制整備に役立てることができた。また、小児・成人ともECMOなどによる重症例の診療体制整備のための研究も進んだ。その中で、特記すべきことは厚生労働省担当部局・同関連研究班(森島班・大石班)・関連学会が参加する組織を作ることができ、この中で成人の肺炎に対する診療ガイドラインが作成されたことである。この組織を継続・進展させることで「新型インフルエンザ」など重症インフルエンザの対策を速やかに立てることができる。詳細は、以下の図3に示す。

図3.

「新型インフルエンザ」診療のための組織化

ポイント

- ・事前からの病態解明
 - ・「既存薬」によるガイドライン策定(想定)
 - ・新規治療薬の開発
 - ・速やかなる連携組織の構築
- 「新型インフルエンザ等に対する標準診療ガイドライン策定のための合同会議」

厚生労働省 + 対応研究班、関連学会

(日本感染症学会、日本小児科学会、
日本呼吸器学会、日本集中治療学会、その他)



ガイドラインの作成・改訂とその他

4. インフルエンザにおける免疫応答：
エピジェネティクス解析からインフル
ンザウイルス感染により産生される

type- Interferon)によって、誘導され
るSETDB2はインフルエンザウイルス感染
後の二次性細胞菌性肺炎のターゲットと

考えられた。

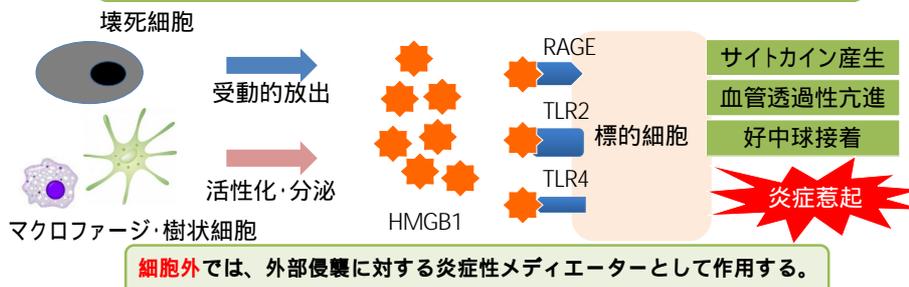
5. 新規治療薬の開発：

新規治療薬の開発においては、すでに重症インフルエンザ肺炎などにおいて病態悪化に関与することが本研究班で明らかにされているHMGB1(図4)に対するモノクローナル抗体がマウスの致死性インフル

エンザ肺炎に対して単独で致死率を著明に改善することを示すことができた。マウスとヒトにおいて、HMGB1はほぼ組成が一致しており、この抗体による重症例の治療は、今後大きく前進するものと期待される。結果の概略を図5に示した。

High-Mobility Group Box - 1 (HMGB1)とは

細胞内では、DNAに結合してDNAの安定化や遺伝子発現の調整を担っている。

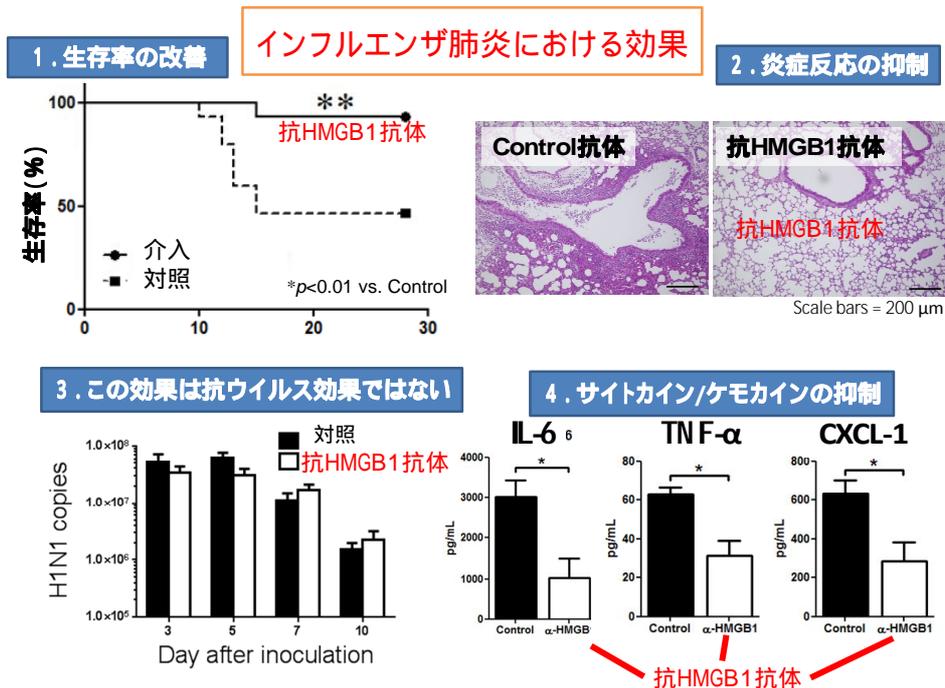


重症インフルエンザにHMGB1が関与

- 重症インフルエンザ肺炎への関与
Ito Y et al. Cytokine 2011
- インフルエンザ脳症への関与
Momonaka H et al. Brain Dev. 2014

抗HMGB1抗体
の
治療への応用

図5.



D. 考察

AH1pdm における気管支喘息児の肺炎の悪化は、ウイルス学的特徴によるものであった。一方、従来の研究班の研究結果から DNA マイクロアレイ解析では宿主の遺伝子発現において、肺炎患児において酸化ストレスマーカーの高発現や IgE 関連遺伝子群の高発現が確認されており、こうした宿主側の反応との結果肺炎の重篤化が引き起こされたと考えられる。これらは、治療法を考えるうえで重要な知見と考えられた。

また、インフルエンザ脳症については、毎年 100～200 例の発症が推定される結果となっている。その中で、サイトカインストームが主体となる病態は、早期の治療の効果もあり重症例が減っているが、サイトカインストームが起きない痙攣重積型（二相性脳症）の比率が増加している。この型は、ガイドライン治療に反応しない例が多く、治療に難渋しているが、今回ホスフェニトインの有効性・安全性が確認された。これは、本症の治療上大きな進歩と考えられる。

インフルエンザ重症例の診療体制の整備に向けて、WHO が中国で主催したワークショップに清水分担研究者を派遣することができた。海外での AH7N9 などを想定した重症例の治療方法を参考にすることで、重要な事項である。また、「新型インフルエンザ等に対する標準診療ガイドライン策定のための合同会議」を厚生労働省担当部局・同関連研究班・関連学会の代表者の参加で、開催することができた。その結果、成人のインフルエンザ肺炎に対する診療ガイドラインを作成することができた。今後、さらに成人のインフルエンザ脳症のガイドラインの策定や現存のガイドラインの改訂などにつながることを期待される。

新規治療薬の開発については、抗 HMGB1

抗体が有用であることが明らかになった。HMGB1 は、種々の病態の悪化に繋がることが示されている。抗インフルエンザ薬の効果が高いと予測される AH7N9 や AH1pdm 薬剤耐性株などに対する有効な治療薬になる可能性が高く、現在ヒトへの臨床応用を準備中である。

E. 結論

上記のように、多くの面で優れた研究成果を得ることができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Tsuge M, Oka T, Yamashita N, Saito Y, Fujii Y, Nagaoka Y, Yashiro M, Tsukahara H, Morishima T. Gene expression analysis in children with complex seizures due to influenza A(H1N1)pdm09 or rotavirus gastroenteritis. *J NeuroVirol* 20 (1): 73-84, 2014.
- Yamayoshi S, Yamada S, Fukuyama S, Murakami S, Zhao D, Uraki R, Watanabe T, Tomita Y, Macken C, Neumann G, Kawaoka Y. Virulence-affecting amino acid changes in the PA protein of H7N9 influenza A viruses. *J Virol* 88:3127-3134, 2014.
- Neumann G, Macken CA, Kawaoka Y. Identification of amino acid changes that may have been critical for the genesis of A(H7N9) influenza viruses. *J Virol* 88:4877-4896, 2014.
- Sakai-Tagawa Y, Ozawa M, Yamada S, Uchida Y, Saito T, Takahashi K, Sugaya N, Tashiro M, Kawaoka Y. Detection sensitivity of influenza rapid diagnostic tests. *Microbiol Immunol* 58:600-606, 2014.
- Tsukahara H. Oxidative stress biomarkers: Current status and future

perspective.

In "Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders", ed. Tsukahara H, Kaneko K. Springer, Berlin, Germany, 2014; 87-113.

• Yashiro M, Tsukahara H, Morishima T. Thioredoxin therapy: Challenges in translational research.

In "Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders", ed. Tsukahara H, Kaneko K. Springer, Berlin, Germany, 2014; 233-252.

• Tsukahara H, Yashiro M, Nagaoka Y, Morishima T.

Infectious and inflammatory disorders.

In "Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders", ed. Tsukahara H, Kaneko K. Springer, Berlin, Germany, 2014; 371-386.

• Nagasaka H, Tsukahara H, Miida T. Oxidative stress in inherited metabolic diseases.

In "Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders", ed. Tsukahara H, Kaneko K. Springer, Berlin, Germany, 2014; 387-404.

• 清水直樹

新生児重症呼吸不全に対する ECMO 救急・集中治療、Vol.26, No.11, 2014, pp1484-91

• 清水直樹

ECMO : 小児、新生児を中心に INTENSIVIST、Vol.7, No.1, 2015, pp93-100

• Nosaka N, Yashiro M, Yamada M, et al.

Anti-High Mobility Group Box-1 Antibody Treatment Provides Protection against Influenza A Virus (H1N1)-Induced Pneumonia in Mice. Crit Care Med (投稿中)

• Tsuge N, Oka T, Yamashita N, et al. Gene

expression analysis in children with complex seizures due to influenza A(H1N1)pdm09 or rotavirus gastroenteritis. J Neurovirol.2014;20(1):73-84.

• Xu Y, Ito T, Fushimi S, Takahashi S, Itakura J, Kimura R, Sato M, Mino M, Yoshimura A, Matsukawa A. Spred-2 deficiency exacerbates

lipopolysaccharide-induced acute lung inflammation in mice. PLoS One. 2014 Oct 2;9(9):e108914

• Momonaka H, Hasegawa S, et al. High mobility group box 1 in patients with 2009 pandemic H1N1 influenza-associated encephalopathy. Brain Dev. 2014; 36: 484-8.

• Hasegawa S, Matsushige T, et al. Serum and cerebrospinal fluid levels of visinin-like protein-1 in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. Brain Dev. 2014;36: 608-12.

• Kajimoto M, Hasegawa S, et al. An 11-year-old girl with recurrent bacterial meningitis due to liquorrhea caused by bone malformation of the skull base. Brain Dev. 2014, 36: 637-40.

• Takahashi K, Hasegawa S, et al. Serum tau protein level serves as a predictive factor for neurological prognosis in neonatal asphyxia. Brain Dev. 2014, 36: 670-5.

• Inamura N, Miyashita N, Hasegawa S, et al. Management of refractory Mycoplasma pneumoniae pneumonia: Utility of measuring serum lactate dehydrogenase level. J Infect Chemother. 2014; 20: 270-3.

• Okada S, Hasegawa S, et al. A novel de novo mutation of β -cardiac myosin heavy chain gene found in a twelve-year-old boy with hypertrophic cardiomyopathy. J Genet.

2014; 93: 557-60.

• Inoue H, Hasegawa S, et al. Traumatic head injury mimicking AESD. *Pediatr Int.* 2014, 56: e58-61.

• Hasegawa S, Wakiguchi H, et al. Cytokine profile of bronchoalveolar lavage fluid from a mouse model of bronchial asthma during seasonal H1N1 infection. *Cytokine.* 2014, 69: 206-210.

• Kittaka S, Hasegawa S, et al. Serum levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in human herpesvirus-6–infected infants with or without febrile seizures. *J Infect Chemother.* 2014; 20: 716-21.

• Maeba S, Hasegawa S, et al. Successful treatment of corticosteroid with antiviral therapy for a neonatal liver failure with disseminated herpes simplex virus infection. *Am J Perinatol Rep.* 2014, in press.

• Okada S, Hasegawa S, et al. Acute pericardial effusion representing the TNF- α -mediated severe inflammation but not the coronary artery outcome of Kawasaki disease. *Scand J Rheumatol.* 2014; 29:1-6.

• Hasegawa S, Matsushige T, et al. A nationwide survey of opsoclonus-myooclonus syndrome in Japanese children. *Brain Dev.* 2014, in press.

• Wakiguchi H, Hasegawa S, et al. The relationship between T cell HLA-DR expression and intravenous immunoglobulin treatment response in Kawasaki disease. *Pediatr Res.* 2014, in press.

• Kimura H, Hasegawa S, et al. Molecular evolution of the VP1, VP2, and VP3 genes

in human rhinovirus species C. *Sci Rep* 2015, in press.

• Wakiguchi H, Hasegawa S, et al. Long-lasting non-IgE-mediated gastrointestinal cow's milk allergy in infants with Down syndrome. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015, in press.

• 岡部信彦: パンデミックインフルエンザ H1N1 2009 の総括 小児内科 45(11):1965-1970, 2013.

• Takashita E, Fujisaki S, Kishida N, Xu H, Imai M, Tashiro M, Odagiri T; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Characterization of neuraminidase inhibitor-resistant influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated in four seasons during pandemic and post-pandemic periods in Japan. *Influenza Other Respir Viruses.* 2013;7(6):1390-9.

• Mitamura K, Shimizu H, Yamazaki M, Ichikawa M, Nagai K, Katada J, Wada A, Kawakami C, Sugaya N. Clinical evaluation of highly sensitive silver amplification immunochromatography systems for rapid diagnosis of influenza. *J Virol Methods.* 2013;194(1-2):123-8.

• Mitamura K, Kawakami C, Shimizu H, Abe T, Konomi Y, Yasumi Y, Yamazaki M, Ichikawa M, Sugaya N. Evaluation of a new immunochromatographic assay for rapid identification of influenza A, B and A(H1N1)2009 viruses. *J Infect Chemother.* 2013; 19(4):633-8.

• Morichi S, Yamanaka G, Ishida Y, Oana S, Kashiwagi Y, Kawashima H. Brain-derived neurotrophic factor and interleukin-6 levels in the serum and cerebrospinal fluid of children with viral infection-induced encephalopathy. *Neurochem Res* 39(11):2143-2149, 2014

- ・ Kashiwagi Y, Kawashima H, Suzuki S, Nishimata S, Takekuma K, Hoshika A. Marked elevation of excitatory amino acids in cerebrospinal fluid obtained from patients with rotavirus-associated encephalopathy. *J Clin Lab Anal*, 2014 Aug 17. doi: 10.1002/jcla.21774,2014
- ・ Ishida Y, Kawashima H, Morichi S, Yamanaka G, Okumura A, Nakagawa S, Morishima T. Brain magnetic resonance imaging in acute phase of pandemic influenza A (H1N1) 2009-associated encephalopathy in children. *Neuropediatrics* 46(1):20-5. 2015
- ・ 吳宗憲, 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カインプロファイル. *小児感染免疫* 26 (1) 21-29,2014
- ・ 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
- ・ 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
- ・ 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) : 3643,2014
- ・ Kawai, N. et al., Increased symptom severity but unchanged neuraminidase inhibitor effectiveness for A(H1N1)pdm09 in the 2010-2011 season: comparison with the previous season and with seasonal A(H3N2) and B. *Influenza Other Respi Viruses*, 2013 ; 7(3):448-55.
- ・ 河合直樹, 廣津伸夫, 池松秀之. インフルエンザ診療マニュアル 2014-2015 年シーズン版 .*日本臨床内科医会誌* 29 巻 2 号臨時付録 1-49 , 2014
- ・ Niizuma T, Okumura A, Kinoshita K, Shimizu T. Acute encephalopathy associated with human metapneumovirus infection. *Jpn J Infect Dis* 2014; 67(3): 213-215.
- ・ Takanashi J, Taneichi H, Misaki T, Yahata Y, Okumura A, Ishida Y, Miyawaki T, Okabe N, Sata T, Mizuguchi M. Clinical and radiologic features of encephalopathy during 2011 E coli O111 outbreak in Japan. *Neurology* 2014; 82(7): 564-572.
- ・ Kato T, Tsuji T, Hayakawa F, Kubota T, Kidokoro H, Natsume J, Watanabe K, Okumura A. A new electroencephalogram classification with reduced recording time in asphyxiated term infants. *Brain Dev* 2014; 36: 372-379.
- ・ Tsuji T, Okumura A, Kidokoro H, Hayakawa F, Kubota T, Maruyama K, Kato T, Oshiro M, Hayakawa M, Watanabe K. Differences between periventricular hemorrhagic infarction and periventricular leukomalacia. *Brain Dev* 2014; 36(7):555-562.
- ・ Ando N, Okumura A, Kobayashi S, Negishi Y, Hattori A, Okanishi T, Abe S, Ikeno M, Igarashi A, Saitoh S, Shimizu T. Fulminant encephalopathy with marked brain edema and bilateral thalamic lesions. *Neuropediatrics* 2014; 45(4): 256-260.
- ・ Natsume J, Maeda N, Itomi K, Kidokoro H, Ishihara N, Takada H, Okumura A, Kubota T, Miura K, Aso K, Morikawa T, Kato K, Negoro T, Watanabe K. PET in Infancy Predicts Long-Term Outcome during Adolescence in Cryptogenic West Syndrome. *Am J Neuroradiol* 2014;

35(8):1580-1585.

- Tanuma N, Miyata R, Nakajima K, Okumura A, Kubota M, Hamano S, Hayashi M. Changes in Cerebrospinal Fluid Biomarkers in Human Herpesvirus-6-Associated Acute Encephalopathy/Febrile Seizures. *Mediators Inflamm* 2014; 2014: 564091.
- Igarashi A, Okumura A, Komatsu M, Tomita O, Abe S, Ikeno M, Saito M, Nakazawa T, Shimizu T. Amplitude-integrated EEG revealed nonconvulsive status epilepticus in children with non-accidental head injury. *Eur J Paediatr Neurol* 2014; 18(6): 806-810.
- Kurahashi N, Tsuji T, Kato T, Ogaya S, Umemura A, Yamada K, Kurahashi H, Maruyama K, Takeuchi T, Kubota T, Saitoh S, Natsume J, Okumura A. Thalamic lesions in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Pediatr Neurol* 2014; 51(5): 701-705.
- Nakazawa M, Akasaka M, Hasegawa T, Suzuki T, Shima T, Takanashi JI, Yamamoto A, Ishidou Y, Kikuchi K, Nijima S, Shimizu T, Okumura A. Efficacy and safety of fosphenytoin for acute encephalopathy in children. *Brain Dev* 2014 in press.
- Hasegawa S, Wakiguchi H, Okada S, Gui Kang Y, Fujii N, Hasegawa M, Hasegawa H, Aina A, Atsuta R, Shirabe K, Toda S, Wakabayashi-Takahara M, Morishima T, Ichiyama T. Cytokine profile of bronchoalveolar lavage fluid from a mouse model of bronchial asthma during seasonal H1N1 infection. *Cytokine*. 2014 Oct;69(2):206-10. Epub 2014 Jul 6.
- Watanabe T, Zhong G, Russell CA,

Nakajima N, Hatta M, Hanson A, McBride R, Burke DF, Takahashi K, Fukuyama S, Tomita Y, Maher EA, Watanabe S, Imai M, Neumann G, Hasegawa H, Paulson JC, Smith DJ, Kawaoka Y. Circulating avian influenza viruses closely related to the 1918 virus have pandemic potential. *Cell Host Microbe*. 2014 Jun 11;15(6):692-705.

- Sakai K, Ami Y, Tahara M, Kubota T, Anraku M, Abe M, Nakajima N, Sekizuka T, Shirato K, Suzaki Y, Aina A, Nakatsu Y, Kanou K, Nakamura K, Suzuki T, Komase K, Nobusawa E, Maenaka K, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M. The host protease TMPRSS2 plays a major role in in vivo replication of emerging H7N9 and seasonal influenza viruses. *J Virol*. 2014 May;88(10):5608-16. Epub 2014 Mar 5.
- 中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹 ウイルス性肺炎 病理と臨床 32(10): 1146-1153, 2014.10
- Kato T, Nishida T, Ito Y, Murase M, Murata M, Naoe T. Correlations of programmed death 1 expression and serum IL-6 level with exhaustion of cytomegalovirus-specific T cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cell Immunol*, 288(1-2):53-59, 2014.
- 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. *J Infect Chemother*, 20(1):15-9, 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.

・ 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.

・ 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 . 国際会議学会発表

省略(各分担研究者の報告参照)

G . 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1、特許取得

インフルエンザ治療剤として特許出願中

2、実用新案登録

特になし

3、その他

特になし

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）
平成26年度分担研究報告書

川崎市における急性脳炎・脳症の届出状況 2009年～2014年

研究分担者 岡部信彦 川崎市健康安全研究所 所長
研究協力者 三崎貴子 清水英明 川崎市健康安全研究所

研究要旨

本研究は、川崎市において感染症法により届けられた急性脳炎・脳症の発生状況を把握し、検出された病原体情報と合わせて検討することを目的として実施した。調査対象に関する情報および検査結果の収集は2014年1月から12月であるが、昨年度の調査結果に加えて検討を行った。

2007年から2014までの8年間に、川崎市において感染症法による急性脳炎として届出のあった例および定点医療機関その他から急性脳炎・脳症として検体が搬入された計48例を対象とし、発症年月別、性別、年齢別、病原体別の検査結果を解析した。

対象48例中、35例（72.9%）は5類感染症法としての届出があり、うち60.0%は川崎市健康安全研究所で検査を実施されていた。とくに2014年は、全例に病原体検索を実施されていた。対象の男女比は1.3:1.0で、小児が37例（5歳未満20例）と成人（11例）の3.4倍であった。検査実施数は年々増加しているものの25例（50.0%）は病原体不明で、うち17例は病原体検索を試みたが原因を特定することができなかった。発生時期は様々であるが、インフルエンザによるものは1～2月が多く、他の病原体によるものは7月と9月に多かった。病原体検索が未実施の例も含めると、推定原因としてはインフルエンザウイルスが7例と最も多かったが、このうち3例は検体の搬入がなく、医療機関における病原体診断の実施の有無も不明であった。インフルエンザの7例中2例は死亡し、4例は転帰が不明であった。髄液を採取した34例（70.8%）のうち、PCR検査もしくは培養で陽性となったのは剖検1例を含む6例（17.6%）のみであった。特殊な例として、コクサッキーウイルスA2型による脳炎の突然死1例（剖検例）とパルボウイルスB19型による基礎疾患（遺伝性球状赤血球症）のある脳炎発症例1例を認めた。川崎市における急性脳炎・脳症の届出数の対人口比は全国を上回って増加しており、これをもとに全国の届出数を推計すると、2014年は1653件と実際の届出数の3.6倍に上り、把握されていない多くの脳炎・脳症の症例が存在することが示唆される。

全体像の把握とともに、原因不明の病原体についてはさらに原因を特定するための検査を行い、病原体検索を含めた情報を収集することが重要である。また、届出疾患であることの周知徹底とともに積極的に経過を調査して病原体診断を実施し、病原体情報と疫学情報を結びつけることで原因究明そして治療や予防に役立てることが重要である。

A . 研究目的

我が国の感染症発生動向調査事業は昭和56年(1981年)7月から18疾病を対象に開始され、昭和62年(1987年)1月からはコンピュータを用いたオンラインシステムにおいて27疾病を対象に拡大した。平成10年(1998年)9月に「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」が成立(平成11年(1999年)4月から施行開始)し、感染症発生動向調査は同法第三章(第12条~第16条)による施策として位置づけられた。その後複数回の一部改正を経て、平成25年(2013年)10月14日からは、一類から五類の全数および定点把握疾患の他に、厚生労働省令で定める疑似症を含めて対象疾患は全109疾患に拡大している。

我が国における急性脳炎は、2003年の感染症法一部改正(2003年11月5日施行)によって基幹定点からの報告による定点把握疾患から5類感染症全数把握疾患に変更され、診断したすべての医師は、法第12条第1項の規定により診断から7日以内に管轄の保健所に届け出ることが義務づけられている。急性脳炎の届出対象疾患には、炎症所見が明らかでなくとも、同様の症状を呈する脳症も含まれ(熱性痙攣、代謝疾患、脳血管障害、脳腫瘍、外傷など、明らかに感染性とは異なるものは除外する)届出の時点で病原体不明なものについては、可能な限り病原体診断を行い、明らかになった場合には追加で報告することが求められている。しかしながら、必ずしも病原体サーベイランスの情報が十分に反映されているとは言えず、発生状況が正確に把握されていないことも多い。

川崎市における急性脳炎・脳症の発生状

況を把握し、検出された病原体の情報と合わせて解析し、とくに原因がインフルエンザウイルスによると考えられる症例について疫学的な詳細を明らかにする。

B . 研究方法

2007年から2014年までの8年間に、川崎市において感染症法による急性脳炎として届出のあった者については国の感染症サーベイランスシステム(NESID)より情報を収集し、定点医療機関その他から急性脳炎・脳症として検体が搬入された者については健康安全研究所の検査担当者より病原体サーベイランス及び検査に関する情報を収集し、重複する症例を除いた計48例を対象として、発症年月別、性別、年齢別、病原体別の検査結果を解析した。また、川崎市内の急性脳炎届出数を全国の届出数と比較検討した。

(倫理面への配慮)

国が実施している感染症発生動向調査事業により収集した情報を利用した調査であり、個人に係る情報は年齢、性別、居住区のみであるため、個人が特定されることはない。

研究計画の内容等は企業又は団体と直接の関係はなく、開示すべき利益相反はない。

C . 研究結果

対象48例中、35例(72.9%)は5類感染症法としてNESIDに届出があり、うち21例(60.0%)は健康安全研究所に検体が搬入され病原体検索が試みられていた(図1)。検体を収集し検査を実施したもののNESID上に届出のなかったもの、すなわち定点等からの依頼により検査を実施したものが13

例(27.1%)あった。

年齢別、性別の内訳は、男27例、女21例(男女比1.3:1.0)で、年齢中央値は7歳(0カ月~83歳)であった(図2)。発症は小児が37例(男23例、女14例)と、成人11例(男4例、女7例)の3.4倍であり、主に5歳未満が20例(男9例、女11例)と多かった。

検査実施数は年々増加しているものの、25例(50.0%)は病原体が不明であった。うち17例(68.0%)は病原体検索を試みたにもかかわらず、原因を特定することができなかった(表1)。

発生時期は様々であるが、インフルエンザによるものは1~2月が多く、他の病原体によるものは7月と9月に多かった。コクサッキーB3ウイルスを原因とする1例が、12月に発生していた。病原体検索が未実施の例も含めると、推定原因としてはインフルエンザウイルスが7例と最も多かったが、このうち3例は検体の搬入がなく、医療機関における病原体診断の実施の有無も不明であった(表2)。インフルエンザの7例中2例は死亡し、4例は転帰が不明であった。

検体として髄液を採取されたのは34例(70.8%)で、このうちPCR検査もしくは培養で陽性となったのは6例(17.6%)のみであった(表3)。

特殊な例として、コクサッキーウイルスA2型による脳炎の突然死1例とパルボウイルスB19型による基礎疾患のある脳炎発症例1例を認めた。コクサッキーウイルスA2型による突然死例では、剖検時に髄液、血液、咽頭拭い液、鼻腔拭い液、便、尿を採取し、PCR検査を実施され、尿を除くすべての検体でコクサッキーウイルスA2型が陽性であった。本症例は、剖検を実施した医師から届出がなされたという稀な事例であった。パルボウイルスB19型による脳炎例は、基礎疾患に遺伝性球状赤血球症を持

ち、採取された髄液、血清、咽頭拭い液すべての検体で、PCR検査の結果パルボウイルスB19型が陽性であった。

川崎市における急性脳炎・脳症の届出数は、2010年以降年々増加しており、対人口比も同様に増加が見られる(図3)。川崎市の届出数の対人口比をもとに全国の届出数を推計すると、2014年は1653件と実際の459件の3.6倍となった。

D. 考察

急性脳炎・脳症は、診断したすべての医師に届出が義務づけられている。しかしながら、国の発生動向調査として把握できていたのは全体の72.9%に留まり、検査は実施されたものの届出のなかった症例が27.1%に上り、5類感染症全数把握疾患としての把握が十分になされていないことが示された。NESIDに届出のあった症例のうち、健康安全研究所に検体が搬入され病原体検索が試みられていたのは60.0%であったが、とくに2013年から2014年にかけては届出とともに積極的に病原体検出が試みられており、市内における届出の周知が徹底してきたと考えられる。

急性脳炎は、種々の病原体により引き起こされた脳組織の炎症を主な病態とする疾患群の総称である。また、急性脳症は、各種のウイルス感染症を契機として急激に発症し、意識障害など急性脳炎と類似の臨床症状を呈するが、脳組織における炎症や病原体が確認できないことがあり、診断に苦慮する場合も少なくない。いずれも小児期に多いとされており、今回の調査においても小児例が成人例の3.4倍であり、5歳未満児が全体の41.7%を占めていた。全年齢層における男女差は1.3:1.0とやや男性が多かったが、小児では1.6:1.0と男児の割合が多く、急性脳炎・脳症が男児に多いとの報告と一致していた。

発生時期は、インフルエンザの流行する1～2月の冬季と、アデノウイルスやエンテロウイルス感染症の流行する7～9月の夏季に多く、一般的な感染症の流行時期に一致していたが、ヒトヘルペスウイルス6型（HHV-6）や単純ヘルペスウイルスなどヘルペスウイルス科のウイルスによるものは、いずれの時期にも発生がみられた。コクサッキーウイルスを原因とする1例が12月に発生しており、かつて夏と秋に見られたエンテロウイルス属による感染症の流行が、近年は冬まで継続することと関連している可能性も示唆された。

病原体検索を試みたにもかかわらず、原因を特定できなかった症例が25例（50.0%）にも上り、病原体の検出が困難であることが推察される。しかしながら、インフルエンザに関しては7例中3例で検体が搬入されておらず、迅速診断キット等を用いた簡易検査のみで診断されている可能性が高いことが示された。インフルエンザによる脳症は重症例が多く、全体像を把握するためにも病原体検索は非常に重要であり、合併症による重症化との鑑別は必須であると考えられる。さらに原因不明の病原体については、原因を特定するための検査を実施し、今後の治療や予防に結びつけることが重要である。また、4例は転帰が不明であったため、予後の把握のためにも、経過に関する情報を収集するシステムも必要と考えられた。

中枢神経症状を呈する場合、検体として髄液を採取されることが多いが、髄液から病原体が検出されたのは、髄液を採取した34例中わずか6例（17.6%）であった。急性脳炎や脳症の場合、必ずしも髄液中に病原体が存在するとは限らず、便検体など他の複数の部位からの検体の採取が重要であることが示された。

急性の転帰を辿り、剖検により脳症と判明した1例については、剖検を実施した医師からの届出という稀な事例であり、原因究明のためには届出のシステムも含めた検討が必要と考えられる。基礎疾患を有する重症例の把握のためには、収集すべき情報の内容についても検討が必要である。

川崎市においては、急性脳炎・脳症の届出数は2010年以降年々増加しており、とくに2013年以降は飛躍的に増加している。さらに、2013年11月に厚生労働省健康局結核感染症課より事務連絡「日本脳炎及び予防接種後を含む急性脳炎・脳症等の実態把握について」が発出され、原因不明の急性脳炎・脳症の病因解明のための積極的な病原体検索の実施が市内の各保健所及び健康安全研究所に周知され、届出と病原体検索の双方を積極的にすすめているところである。川崎市の人口は全国のほぼ1.1%で、2007年より変化がみられないが、脳炎・脳症の届出数の対人口比は全国を上回って増加している。川崎市の届出数の対人口比をもとに全国の届出数を推計すると、2014年は1653件と実際の届出数の3倍以上となり、把握されていない多くの脳炎・脳症の症例が存在することが示唆される。全体像を把握し、今後の治療や予防に役立てるためには、さらに正確な発生数の把握と病原体検索の実施が必須と考えられる。

E．結論

現時点において、感染症発生動向調査の届出のみでは正確な発生数や転帰の把握、原因の究明は未だ難しく、病原体検索を含めた情報をより積極的に収集する必要がある。突然死の場合など剖検時の病原体検索が原因解明の唯一の手段となることもあるため、届出疾患であることの周知徹底とともに積極的に経過を調査・報告するシステムを構築し、さらに病原体を追求するため

の手段を検討し、医療機関と行政機関の協力によって病原体情報と疫学情報を結びつけることで全体像を把握し、治療や予防に役立てることが重要と考える。

(謝辞)

発生動向調査にご協力いただきました各医療機関および市内の各区役所保健福祉センターの皆様に深謝いたします。

F . 研究発表

1 . 論文発表

- 1 . 岡部信彦: パンデミックインフルエンザ H1N1 2009 の総括 小児内科 45(11):1965-1970, 2013 .
- 2 . Takashita E, Fujisaki S, Kishida N, Xu H, Imai M, Tashiro M, Odagiri T; Influenza Virus Surveillance Group of Japan. Characterization of neuraminidase inhibitor-resistant influenza A(H1N1)pdm09 viruses isolated in four seasons during pandemic and post-pandemic periods in Japan. Influenza Other Respir Viruses. 2013;7(6):1390-9 .
- 3 . Mitamura K, Shimizu H, Yamazaki M, Ichikawa M, Nagai K, Katada J, Wada A, Kawakami C, Sugaya N. Clinical evaluation of highly sensitive silver amplification immunochromatography systems for rapid diagnosis of influenza. J Virol Methods . 2013;194(1-2):123-8 .
- 4 . Mitamura K, Kawakami C, Shimizu H, Abe T, Konomi Y, Yasumi Y, Yamazaki M, Ichikawa M, Sugaya N. Evaluation of a new immunochromatographic assay for

rapid identification of influenza A, B and A(H1N1)2009 viruses. J Infect Chemother. 2013; 19(4):633-8 .

2 . 学会発表

- 1 . 三崎貴子、岡部信彦 川崎市における急性脳炎・脳症の届出状況 第56回日本小児神経学会総会.2014年5月.浜松市
- 2 . Takako Misaki, Takahiro Oshima, Aya Maruyama, and Nobuhiko Okabe. Acute Encephalitis and Encephalopathy surveillance in Kawasaki city. The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology. 2015/5/14-17. Taipei (予定)

G . 知的所有権の取得状況

なし

	NESID	NESID/ 病原体検出	病原体検出	計
男	6	12	9	27
女	8	9	4	21
計	14	21	13	48

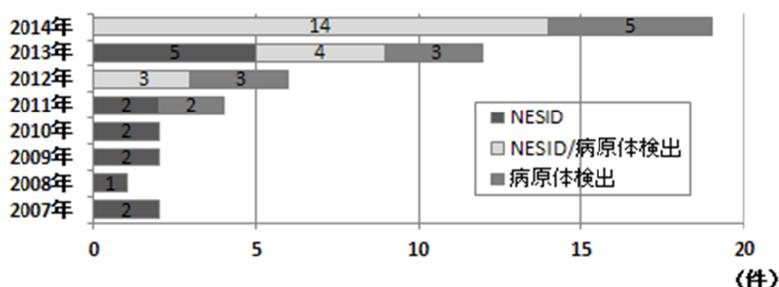


図1 2007年～2014年 急性脳炎・脳症届出方法別の発生数

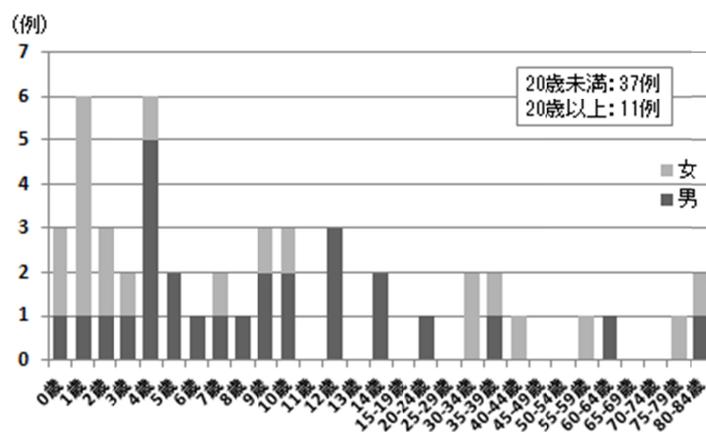


図2 2007年～2014年 急性脳炎・脳症 年齢別性別発生状況 (n=48)
年齢中央値7歳(0カ月～83歳)

表1 2007年～2014年 急性脳炎・脳症月別推定原因の内訳 (n=48)

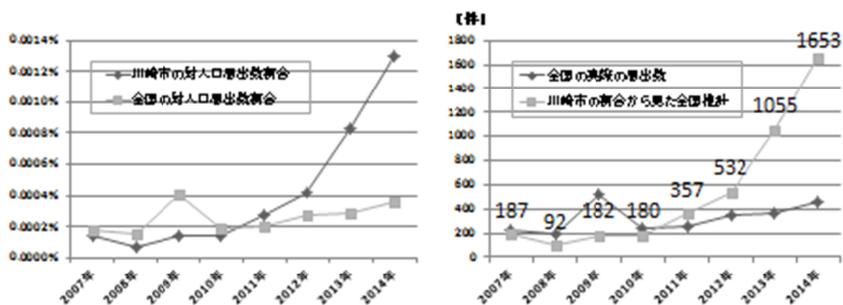
	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	総計
インフルエンザウイルスA型(AH1pdm)	1												1
インフルエンザウイルスB型(山形系統)	2												2
単独ヘルペスウイルス		1					1						2
ヘルペスウイルス6型				1			1		2				4
ヘルペスウイルス7型					1						1	1	3
EBウイルス				1									1
サイトメガロウイルス		3		1					1				5
アデノウイルス56型									1				1
コクサッキーウイルスA2型						1							1
コクサッキーウイルスB3型												1	1
パルボウイルスB19型							1						1
A群ロタウイルス			1										1
陰性	3	1	1	1	1	2	2	2	2		2		17
不明(検査未実施)	1	1	1				1	1		2		1	8
総計	7	6	3	4	2	3	6	3	6	2	3	3	48

表2 2007年～2014年 急性脳炎・脳症 インフルエンザ推定例(n=7)

年	月	年齢	性別	原因	転帰	備考
2009	1	4	男	A型インフルエンザ	死亡	病原体診断なし 発病当日に死亡
2009	7	7	男	インフルエンザ (AH1pdm)	不明	病原体診断なし
2011	2	4	男	A型インフルエンザ	不明	病原体診断なし
2013	2	75	女	インフルエンザ	死亡	迅速診断キットでA型陽性 咽頭拭い液のPCR検査陰性 肺炎、肺膿瘍を合併(血液、痰、尿より ブドウ球菌検出) 糖尿病(未治療)
2014	1	5	男	A型(AH1pdm)	回復	咽頭拭い液PCR検査陽性
2014	1	6	男	B型(山形系統)	不明	唾液(陰性)、咽頭拭い液PCR検査陽性
2014	1	80	男	B型(山形系統)	不明	鼻汁PCR検査陽性

表3 2007年～2014年 急性脳炎・脳症 年別検体採取部位(n=48)

検体採取部位	2007年	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年	2014年	総計
髄液、咽頭拭い液、血液、糞便、尿、鼻腔拭い液							1		1
髄液、咽頭拭い液、血清、糞便					1	1		4	6
髄液、咽頭拭い液、血清、鼻汁								1	1
髄液、咽頭拭い液、血清								4	4
髄液、咽頭拭い液、便					1	5	2		8
髄液、咽頭拭い液				1				3	4
髄液、血清							1	3	4
髄液							5	1	6
咽頭拭い液、血清、直腸拭い液					1				1
咽頭拭い液、血清							1		1
咽頭拭い液							1	1	2
血清								1	1
鼻汁								1	1
不明	2	1	2	1	1		1		8
総計	2	1	2	2	4	6	12	19	48



	2007年	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年	2014年
川崎市急性脳炎・脳症届出数	2	1	2	2	4	6	12	19
全国急性脳炎・脳症届出数	228	192	528	242	258	349	358	459
川崎市人口	1389443	1390270	1409558	1425512	1430773	1439184	1448198	1481043
全国人口	129030000	129084000	129032000	129057000	127759000	127515000	127298000	127131900

図3 2007年～2014年 急性脳炎・脳症届出数と全国推計

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）
分担研究報告書

09/10 シーズン以降のインフルエンザ脳症の実態

研究分担者 奥村彰久 愛知医科大学医学部小児科・教授

研究要旨

FluA 2009pdm の流行に伴ってインフルエンザ脳症に再び注目が集まるようになったが、09/10 シーズン以降のインフルエンザ脳症の実態の報告は少ない。我々は東海小児神経研究会のデータベースから過去 5 シーズンのインフルエンザ脳症の実態を検討した。症例数は 35 で、男女比は 20:15、発症時年齢は中央値 51 か月であった。原因となったウイルスは、A 型 25 例、B 型 9 例、型不明 1 例であった。脳症のサブタイプは急性壊死性脳症 1 例、二相性脳症 5 例、膨大部病変を伴う脳症 11 例、出血性ショック脳症症候群 2 例、辺縁系脳炎 1 例、その他 15 例であった。転帰は、後障害なし 22 例、後障害あり 9 例、死亡 4 例であった。5 シーズン間の臨床像の相違は少なく、過去 5 シーズンのインフルエンザ脳症の臨床像は従来のもので概ね同様であった。ウイルスの型では A 型に伴う症例で後障害が多い傾向であった。死亡例は 4 例で、急速な神経症状および全身状態の悪化が特徴であった。

A . 研究目的

2009 年にいわゆる新型インフルエンザ (FluA 2009pdm) が大流行し、我々の調査で日本の小児の死因として急性脳症が多いことが明らかになった。インフルエンザ脳症は流行したインフルエンザウイルスの株によって臨床像が変化することが経験的に知られている。したがって、FluA 2009pdm の出現によってインフルエンザ脳症の臨床像が影響を受けた可能性がある。我々は、東海小児神経研究会に集積したデータを用いて 09/10 シーズン以降のインフルエンザ脳症の実態を調査した。

B . 研究方法

本研究は、東海小児神経研究会のデータベースに登録されている患者情報から、以下の条件に合致する情報の提供を受けて研究を行った。

- 1) 09/10 シーズンから 2013-14 シーズンまでの 5 シーズンに発生した急性脳症
- 2) 迅速抗原診断などでインフルエンザ感染を確認

東海小児神経研究会は、愛知県 4 大学小児科およびその関連病院が参加している急性脳炎・脳症の研究組織であり、毎年調査票を用いて急性脳炎・脳症の症例の登録を行っている。症例の妥当性については、毎

年研究会を行って討論を行って検証している。

(倫理面への配慮)

今回の研究では東海小児神経研究会のデータベースから既存のデータの提供を受けて研究を行った。入手したデータは個人情報に符号化されており、対応表は入手しないため個人情報は厳重に保護されている。この研究については愛知医科大学医学部倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

5 シーズンでインフルエンザ脳症と診断した症例は 35 例であった。男女比は 20 : 15 で、発症時年齢は中央値 51 か月 (範囲 10 ~ 171 か月) であった。基礎疾患を認められたのは 8 例 (先天異常 2、ネフローゼ症候群 2、知的障害 1、脊髄性筋萎縮症 1、脳腫瘍術後 1、食物アレルギー 1) であった。

脳症の原因となったウイルスは、A 型 25 例 (H1N1 9 例、H3N2 1 例、不明 15 例)、B 型 9 例、型不明 1 例であった。脳症のサブタイプは急性壊死性脳症 (ANE) 1 例、二相性脳症 (AESD) 5 例、膨大部病変を伴う脳症 (MERS) 11 例、出血性ショック脳症症候群 (HSES) 2 例、辺縁系脳炎 1 例、その他 15 例であった。転帰は、後障害なし 22 例、後障害あり 9 例、死亡 4 例であった。

表 1 にシーズンごとのインフルエンザ脳症の臨床的特徴を示す。シーズンごとの症例数は 4 ~ 9 例であり、シーズンによる差は少なかった。発症年齢にもシーズンによる相違は明らかでなかった。急性脳症のサブタイプは様々であり、特定の傾向を認めなかった。また、転帰にもシーズンごとの差は少なかった。これらのことから、過去 5 シーズンにおいては、インフルエンザ脳症の臨床像においてシーズンによる差は顕著でないと思われた。

表 2 にウイルスの型による急性脳症の相違を示す。A 型と B 型とでは発症年齢には明らかな差を認めなかった。しかし、急性脳症のサブタイプでは、A 型では予後が不良である ANE・AESD・HSE が認められたが、B 型ではこれらのサブタイプは皆無であった。転帰も A 型では 25 例中 10 例が予後不良であったが、B 型では予後不良であったのは 9 例中 2 例のみであった。

表 3 に調査期間中の死亡例のまとめを示す。死亡例は 4 例であり、男女比は 1 : 3 であった。原因ウイルスは A 型 3 例、B 型 1 例であった。脳症の発症は第 2 病日が多かった。けいれんを 2 例で認めたが、異常言動を認めた症例はなかった。3 例は脳症の発症から半日以内に昏睡に陥っており、3 日以内に 3 例が死亡したことから、急激に神経症状および全身状態の悪化が進んだことが窺われた。入院時の検査値では一部に逸脱酵素の上昇などを認めるがその程度は重篤ではなく、入院時にその後の急速な増悪を予想することは困難であると思われた。

D. 考察

インフルエンザの流行株による急性脳症の相違については現在まで十分な知見が累積していない。一般には A 型が流行したシーズンには急性脳症の症例数が多く、予後不良例も多いことが知られているが、その客観的な裏付けとなるデータは不十分である。

今回の研究では、愛知県を中心とする東海地方においては、過去 5 シーズンにおいては急性脳症の臨床像にはシーズンによる相違は明らかでなかった。この理由の一つは、09/10 シーズンの Fl uA 2009pdm の大流行以降は、インフルエンザ流行株に著しい変化がなかったことが挙げられる。また、Fl uA 2009pdm 流行時に発生した急性脳症も、他の型の流行に伴ったものと比べて重症で

あったという知見はない。したがって、過去 5 シーズンのインフルエンザ脳症の臨床像は、従来の報告と概ね一致していると思われる。

従来からインフルエンザ A 型に伴う脳症は B 型に伴う脳症に比べて重症度が高いとされている。我々のデータでも、A 型に伴う脳症では後障害や死亡と関連するサブタイプである ANE・AESD・HSES を認めたのに対し、B 型に伴う脳症ではこのようなサブタイプは認めなかった。ただし、我々の検討では症例数が少ないため、このような結果の再現性についてより多くの症例に基づく解析が必要である。

過去 5 シーズンにおけるインフルエンザ脳症の死亡例は 4 例であった。以前の報告と同様にこれらの症例は発症後に急激な神経症状や全身症状の増悪を認めたのが特徴的であった。一方、入院時の検査所見は異常を認めても高度なものではなく、その時点で重篤な予後を予測するのは困難であった。我々の Fl uA 2009pdm に伴う死亡例の調査でも、急性脳症の死亡例は極めて進行が速く治療の困難さが明らかであった。今後はこのような症例の予測と効果的な治療法の検討が必要であると思われる。

E . 結論

09/10 シーズン以降の 5 シーズンで 35 例のインフルエンザ脳症が発生した。年齢の中央値は 65 か月で、基礎疾患を持つ児が 23%であった。15 例は非特異的な脳症でサブタイプの分類が困難であった。サブタイプの中では MERS が 11 例で最多であった。死亡は 4 例で、後障害を 9 例に認めた。死亡例は、サブタイプ分類が困難な例が多かった。急激に意識障害と多臓器不全が進行していた。

F . 研究発表

1 . 論文発表

Niizuma T, Okumura A, Kinoshita K, Shimizu T. Acute encephalopathy associated with human metapneumovirus infection. *Jpn J Infect Dis* 2014; 67(3): 213-215.

Takanashi J, Taneichi H, Misaki T, Yahata Y, Okumura A, Ishida Y, Miyawaki T, Okabe N, Sata T, Mizuguchi M. Clinical and radiologic features of encephalopathy during 2011 E coli O111 outbreak in Japan. *Neurology* 2014; 82(7): 564-572.

Kato T, Tsuji T, Hayakawa F, Kubota T, Kidokoro H, Natsume J, Watanabe K, Okumura A. A new electroencephalogram classification with reduced recording time in asphyxiated term infants. *Brain Dev* 2014; 36: 372-379.

Tsuji T, Okumura A, Kidokoro H, Hayakawa F, Kubota T, Maruyama K, Kato T, Oshiro M, Hayakawa M, Watanabe K. Differences between periventricular hemorrhagic infarction and periventricular leukomalacia. *Brain Dev* 2014; 36(7):555-562.

Ando N, Okumura A, Kobayashi S, Negishi Y, Hattori A, Okanishi T, Abe S, Ikeno M, Igarashi A, Saitoh S, Shimizu T. Fulminant encephalopathy with marked brain edema and bilateral thalamic lesions. *Neuropediatrics* 2014; 45(4): 256-260.

Natsume J, Maeda N, Itomi K, Kidokoro H, Ishihara N, Takada H, Okumura A, Kubota

T, Miura K, Aso K, Morikawa T, Kato K, Negoro T, Watanabe K. PET in Infancy Predicts Long-Term Outcome during Adolescence in Cryptogenic West Syndrome. Am J Neuroradiol 2014; 35(8):1580-1585.

Tanuma N, Miyata R, Nakajima K, Okumura A, Kubota M, Hamano S, Hayashi M. Changes in Cerebrospinal Fluid Biomarkers in Human Herpesvirus-6-Associated Acute Encephalopathy/Febrile Seizures. Mediators Inflamm 2014; 2014: 564091.

Igarashi A, Okumura A, Komatsu M, Tomita O, Abe S, Ikeno M, Saito M, Nakazawa T, Shimizu T. Amplitude-integrated EEG revealed nonconvulsive status epilepticus in children with non-accidental head injury. Eur J Paediatr Neurol 2014; 18(6): 806-810.

Kurahashi N, Tsuji T, Kato T, Ogaya S, Umemura A, Yamada K, Kurahashi H, Maruyama K, Takeuchi T, Kubota T, Saitoh S, Natsume J, Okumura A. Thalamic lesions in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. Pediatr Neurol 2014; 51(5): 701-705.

Nakazawa M, Akasaka M, Hasegawa T, Suzuki T, Shima T, Takanashi JI, Yamamoto A, Ishidou Y, Kikuchi K, Nijima S, Shimizu T, Okumura A. Efficacy and safety of fosphenytoin for acute encephalopathy in children. Brain Dev 2014 in press.

2 . 学会発表

五十嵐鮎子, 奥村彰久, 安部信平, 池野充, 山城雄一郎, 清水俊明 . 抗アクアポリン 4

抗体陽性であった急性散在性脳脊髄炎の一例 . 第 116 回日本小児科学会学術集会、名古屋、2014.4.13 .

城所博之, 奥村彰久, 辻健史, 久保田哲夫, 安藤直樹, 伊藤祐史, 小川千香子, 山本啓之, 石原尚子, 加藤徹, 早川文雄, 齋藤伸治, 夏目淳 . 新生児単純ヘルペス脳炎における脳病変の局在 . 第 56 回小児神経学会総会、浜松、2014.5.29.

大野敦子, 鈴木基正, 糸見和也, 辻健史, 久保田哲夫, 奥村彰久, 安藤直樹, 齋藤伸治, 夏目淳 . 病初期に後頭部皮質優位に病変を呈し、その後 Bright Tree Appearance を示した 3 症例 . 第 56 回小児神経学会総会、浜松、2014.5.29.

中澤美賀, 奥村彰久, 赤坂真奈美, 長谷川毅, 鈴木智典, 嶋泰樹, 高梨潤一, 山本敦子, 石堂雄毅, 菊池健二郎, 新島新一, 清水俊明 . 急性脳炎・脳症の発作に対するホスフェニトインの有効性 . 第 56 回小児神経学会総会、浜松、2014.5.29.

星野愛, 齋藤真木子, 久保田雅也, 高梨潤一, 豊島光雄, 宮本晶恵, 奥村彰久, 水口雅 . 急性壊死性脳症における遺伝的素因 HLA タイピング及びサイトカイン遺伝子多型解析 (第 2 報) . 第 56 回小児神経学会総会、浜松、2014.5.29.

中原絵理, 佐久間啓, 林雅晴, 鈴木智典, 清水俊明, 奥村彰久 . 疫学的解析から推定される基底核脳炎の多様性 (第一報) . 第 56 回小児神経学会総会、浜松、2014.5.29.

堀いくみ, 根岸豊, 服部文子, 安藤直樹, 早川文雄, 辻健史, 久保田哲夫, 奥村彰久, 夏目淳, 齋藤伸治 . 重症・劇症型脳症の臨

床的検討 .第 56 回小児神経学会総会、浜松、
2014.5.30.

石渡久子, 神山潤, 中島啓介, 奥村彰久 .
可逆性脳梁膨大部病変を伴う軽症脳炎・脳
症(MERS)に小脳炎を合併し、小脳症状が遷
延した 1 例 . 第 56 回小児神経学会総会、浜
松、2014.5.30.

奥村彰久 .小児の脳炎・脳症 : 最近の話題 .
第 311 回日本小児科学会北陸地方会・第 9
回日本小児科学会福井地方会、福井、
2014.6.8.

Akihisa Okumura, Atsushi Ishii, Mutsuki
Shioda, Hiroyuki Kidokoro, Masako
Sakauchi, Shino Shimada, Toshiaki
Shimizu, Makiko Osawa, Shinichi Hirose ,
Toshiyuki Yamamoto. A Recurrent KCNT1
Mutation in Two Sporadic Cases with

Migrating Partial Seizures. The joint
congress of the 16th annual meeting of
Infantile Seizure Society and the 16th
annual congress of the Turkish Child
Neurology Association, Cappadocia,
Turkey, 2014.6.24.

G . 知的所有権の取得状況

1 . 特許取得
なし

2 . 実用新案登録
なし

3 . その他
なし

表1. シーズンごとのインフルエンザ脳症の特徴

	09/10	10/11	11/12	12/13	13/14
例数	9	6	8	8	4
男女比	5:04	2:04	6:02	5:03	2:02
年齢(月)*	69 (13-145)	77 (16-102)	58 (29-102)	38 (28-87)	106 (10-171)
ウイルス	A/H1N1 7例 A不明2例	A/H1N1 2例 A不明2例 B 2例	A/H3N2 1例 A不明5例 B 1例 不明 1例	A不明4例 B 4例	A不明2例 B 2例
サブタイプ	ANE 1例 AESD 3例 MERS 3例 HSES 1例 その他 1例	MERS 1例 その他 5例	AESD 1例 MERS 4例 HSES 1例 その他 2例	AESD 1例 MERS 2例 辺縁系脳炎 1例 その他 4例	MERS 1例 その他 3例
転帰**	あり 4例 なし 5例	死亡 1例 あり 3例 なし 2例	死亡 2例 あり 2例 なし 4例	死亡 1例 なし 7例	なし 4例

* 中央値(範囲)を示す

** あり:後障害あり、なし:後障害なし

表2. ウイルスによるインフルエンザ脳症の相違

	A型(25例)	B型(9例)
年齢(月)*	51(10-145)	87(30-171)
サブタイプ	ANE 1例、AESD 5例、MERS 9例、 HSES 2例、辺縁系脳炎 1例、 その他 7例	MERS 2例、その他 7例
転帰	死亡 3例、後障害あり 7例、 後障害なし 15例	死亡 1例、後障害あり 1例、 後障害なし 7例

* 中央値(範囲)を示す

表3. 死亡例のまとめ

	症例 1	症例 2	症例 3	症例 4
年齢・性	4歳 女	6歳 男	2歳 女	2歳 女
基礎疾患	ネフローゼ	食物アレルギー	なし	なし
ウイルス	Flu B	Flu A	Flu A	Flu A
脳症発症	第2病日	第2病日	第2病日	第3病日
けいれん	なし	単発	群発	なし
異常言動	なし	なし	なし	なし
昏睡まで	24時間	<数時間	2時間	約半日
死亡まで	3日	2日	2週間	1日
サブタイプ	その他	HSES	その他	その他
WBC (/ μ l)	19800	13800	18500	10700
AST (IU/l)	126	56	85	49
ALT (IU/l)	118	26	28	25
LDH (IU/l)	632	369	519	397
CK (IU/l)	132	74	167	473
BUN (mg/dl)	44	15.6	17	18
Na (mEq/l)	136	132	132	131
Glu (mg/dl)	49	221	256	131
PT	INR 1.65	43.5 %	INR 1.22	INR 1.10

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）
分担研究報告書

感染症発生動向調査に基づいた 2014/2015 シーズンの
インフルエンザの発生動向と海外論文の検討

研究分担者 多屋馨子 国立感染症研究所感染症疫学センター・室長
研究協力者 安井良則 大阪府済生会中津病院臨床教育部・部長
研究協力者 砂川富正 国立感染症研究所感染症疫学センター・室長
研究協力者 奥野英雄 国立感染症研究所感染症疫学センター・研究員

研究要旨

感染症発生動向調査による 2014/2015 シーズン（2015 年第 8 週まで）の日本国内におけるインフルエンザおよびインフルエンザ脳症の発生動向およびインフルエンザによる入院サーベイランスの結果について示す。また、海外情報として、米国の季節性インフルエンザワクチンならびに抗ウイルス薬の考え方について翻訳した。

2014/2015 シーズンのインフルエンザの定点当たり報告数は 2015 年第 4 週に 39.42 と今シーズンの最高値となったが、推計受診患者数は第 2 週の約 206 万人が最多であった。2015 年第 8 週までに 3,767 検体のインフルエンザウイルスの検出が報告されており、その 95%以上が A/H3 亜型であり流行の中心であると考えられる。インフルエンザ脳症は 2015 年第 8 週までに 93 人が報告されており、9 歳以下の小児が約 6 割を占めた。全国約 500 箇所の基幹定点病院からのインフルエンザによる 2015 年第 8 週までの累積入院報告数は 10,828 人であった。60 歳以上の入院割合は 61.7%と昨シーズンよりも大幅に増加しており、高年齢者の推計受診患者数の割合の増加を反映しているものと思われる。

A . 研究目的

1999 年 4 月より全国約 5,000 箇所のインフルエンザ定点医療機関（小児科定点約 3,000、内科定点約 2,000）から都道府県、政令市を通じてインフルエンザの発生状況が週毎に報告されている。国立感染症研究所感染症疫学センターではデータ集計を行い、シーズン毎のインフルエンザの発生動向の解析を行ってきた。また、

2012 年 9 月からは、インフルエンザに起因した入院症例数について、全国約 500 箇所の基幹定点から報告（入院サーベイランス）が始まっている。更に、2003 年 11 月 5 日から急性脳炎（脳症を含む）が定点把握疾患から全数把握疾患に変更されたが、インフルエンザ脳症はこの中に含まれて報告されている。

2009/2010 シーズン、2010/2011 シーズンの 2

シーズンは、2009年に発生した新型インフルエンザ《インフルエンザA(H1N1)pdm2009、以下A/H1N1pdmという。》が日本国内ではインフルエンザの流行の中心となった。次いで2011/2012シーズン、2012/2013シーズンの2シーズンはインフルエンザA/H3N2亜型(以下、A/H3N2という。)が流行の中心となり、2013/2014シーズンは再びA/H1N1pdmが流行の中心となったが、B型インフルエンザの流行もシーズン後半から長く続いた。

本稿では、2014/2015シーズンのインフルエンザの流行状況とインフルエンザの入院サーベイランス、インフルエンザ脳症(急性脳炎(脳症を含む)の報告例のうち、インフルエンザを原因として届けられたもの)の発生動向について、主に2015年第8週までの集計と解析結果の報告と考察を行う。

また、米国の2014/15シーズンのインフルエンザワクチン、抗ウイルス薬の考え方について文献による検討を行った。

B . 研究方法

全国約5,000箇所のインフルエンザ定点医療機関(小児科定点約3,000、内科定点約2,000)より都道府県、政令市を通じて週毎のインフルエンザの発生状況が報告されており、感染症疫学センターでデータを集計している。そのデータを活用して、2014/2015シーズン(2015年第6週まで)のインフルエンザの発生動向の分析を行った。また、全国の地方衛生研究所及び検疫所から届けられる病原体検出結果からインフルエンザウイルス分離・検出報告について集計・解析を行った。インフルエンザに関連する入院例については、2014/2015シーズン(2015年第8週まで)に全国の基幹定点から報告されたデータを集計し解析を行った。インフルエンザ脳症に関しては、急性脳炎(脳症を含む)の報告例のうち、インフルエンザを原因として届けられたもののみを抽出して集計・解析を行った。

米国の状況については、Prevention and Control of Seasonal Influenza with Vaccines: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) – United States, 2014-15 Influenza Season .MMWR. Antiviral Drugs . Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP): Information for Health Care Professionals. Vaccine Effectiveness - How Well Does the Flu Vaccine Work? Questions & Answers を翻訳した。

C . 研究結果

1)2014/2015シーズンのインフルエンザの発生動向(暫定値)について:

インフルエンザの定点当たり報告数は、2014年第43週以降継続的に増加し、前シーズン(2013/2014シーズン)より3週間早い2014年第48週に全国的な流行開始の指標である1.00を上回って1.90となった。その後定点当たり報告数は急増して第52週には26.63(患者報告数130,971)と高い値となり、2015年第1週は一旦減少がみられたもののその後再び増加して2015年第4週に39.42(患者報告数195,025)と最高値となった。インフルエンザの定点当たり報告数はその後大きく減少し、2015年第8週現在8.26(患者報告数40,817)となった(図1)。

定点当たり報告数が最も多かった2015年第4週の都道府県別の定点当たり報告数は宮崎県(86.05)、鹿児島県(78.59)、山口県(75.12)、熊本県(71.68)、大分県(71.57)、佐賀県(70.03)、沖縄県(65.16)、福井県(63.13)の順となっており、九州地方に高い地域が集中していた。一方、12月中は関東地方や近畿地方からの報告が多かった。

2014年第36週~2015年第8週までの累積の推計受診患者数は1,344万人(95%信頼区間:1,315~1,733万人)であり、性別では男性666万人(95%信頼区間:651万人~681万人)、女性

678 万人（95%信頼区間：663 万人～693 万人）年齢群別では5～9 歳約 238 万人、10～14 歳約 196 万人、30 代約 152 万人、40 代約 140 万人、0～4 歳約 136 万人、20 代約 132 万人、70 歳以上約 107 万人の順であった（[図2](#)）。14 歳以下の割合は41.7%であり、2013/2014 シーズン（51.3%）よりも少なかった。週別の推計受診患者数をみると、第4 週が最高値を示した定点当たり報告数とは異なり、2015 年第2 週の約 206 万人が最多であり、次いで第3 週（約 201 万人）第4 週（約 192 万人）の順であった。

2014 年第36 週～2015 年第8 週までに国内では3,767 検体のインフルエンザウイルスの検出が報告されており、A/H3N2 が3,598 件（95.5%）、B 型142 件（3.8%）、A/H1N1pdm 27 件（0.7%）の順となっており（[図3](#)）これまでのところ患者由来検体から検出されたウイルスの大半が A/H3N2 である。なお、検出されている B 型インフルエンザウイルスの大半が山形系統である。

2)インフルエンザの入院サーベイランスの解析結果について（暫定値）:

全国約 500 箇所の基幹定点からのインフルエンザによる入院例の報告数は、2015 年第3 週が1,812 人と2014/2015 シーズンでは最も多く、2014 年第36 週以降2015 年第8 週までの累積報告数は10,828 人となった。累積報告数の年齢群別内訳は、80 歳以上 4,061 人（37.5%）、0～4 歳1,929 人（17.6%）、70 歳代1,753 人（16.2%）、60 代863 人（8.0%）、5～9 歳851 人（7.9%）の順となっており、70 歳以上の高齢者の割合が53.7%と半数以上を占め、60 歳以上は61.7%を占めていた（[図4](#)）。

入院時の状況についてはICU 入室334 人、人工呼吸器装着268 人、頭部の検査（CT 検査、脳波、MRI 検査）1,124 人（一部重複あり）となっているが、これらのいずれにも該当しない例が9,375 人（84.5%）と大半であった。

3)感染症発生動向調査による2014/2015シーズンのインフルエンザ脳症の報告について（暫定

値）:

インフルエンザ脳症は、感染症法に基づく五類感染症の全数届出疾患である急性脳炎（脳症を含む）に含まれるものとして、診断したすべての医師に診断から7日以内に届け出ることが義務づけられている。（急性脳炎の届出基準：<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-05-03.html>）。

2014 年第36 週～2014 年第8 週に感染症発生動向調査に急性脳炎（脳症を含む）として報告があり、その原因がインフルエンザによるものとされたのは93 人（年齢0～90 歳、年齢中央値8 歳）であった。インフルエンザ脳症は、2014 年第43 週に2 例の報告があり、その後、インフルエンザ定点からの患者報告数の増加に伴い、2014 年第48 週から継続的に報告され、2015 年第2 週には15 人と、週あたりの報告数は最多となった（[図5](#)）。暫定値ながら、インフルエンザ定点あたり報告数は2015 年第4 週にピークを迎えているため、インフルエンザ脳症の報告数も今後は減少していくものと予想される。

性別の内訳は、男性61 人（65.6%）、女性32 人（34.4%）であり、男性が多かった。年齢別では小児は4 歳児、5 歳児がともに8 人（8.6%）で最多であり、0～4 歳で27 人（29.0%）、5～9 歳で28 人（30.1%）と10 歳未満の症例が半数以上を占めた。また、60 歳以上の症例は16 人（17.2%）であった（[図6](#)）。インフルエンザウイルスの型別ではA 型75 人（80.6%）、うちAH1pdm09 が1 人、AH3N2 が5 人、亜型不明が69 人）、B 型1 人（1.1%）、型別不明17 人（18.3%）となっており、A 型が多数を占め、B 型はほとんど見られなかった（[図7](#)）。

4)米国CDCのインフルエンザに関する文献検索

2014/15 シーズンのACIP の勧告についてワクチンと抗ウイルス薬について翻訳し、米国での考え方について検討した。

D . 考察

本報告書は2015 年第8 週時点までの情報をま

とめたものであり、2014/15 シーズンのインフルエンザの流行状況についてはあくまでも暫定的である。

2014/2015 シーズンのインフルエンザの流行は、例年よりもその立ち上がりが高く、特に人口の多い関東地方や近畿地方では12月中にかなり大きな流行となった。インフルエンザ定点あたり報告数のピークは2015年第4週であり、これはA型インフルエンザが流行の中心である場合には例年と同様であるが、一方で推計受診患者数が最も多かったのは2015年第2週であり、両者は一致しなかった。これは今シーズンの流行は成人層での患者発生割合が高く、また学校が冬休み中であっても成人層においては患者の増加がみられたこと、またインフルエンザ定点は小児科定点の割合が高く、小児科からの報告数の影響を強く受けること等が反映されたものであり、実際には小児科、内科の定点数の影響を排除して解析されている推計受診患者数の推移の方がより流行のピークの時期を反映しているものと推測される。

2014/2015 シーズンはこれまでのところA/H3N2 亜型が患者由来検体から検出されたウイルスの95%以上と大半を占めており、昨シーズン(2013/2014 シーズン)に最も多く検出されていたA/H1N1pdmは1%に満たない。また、B型インフルエンザウイルスも現時点では3.8%と昨シーズンよりも大幅にその割合を減少させている。今シーズンのインフルエンザの流行の中心はA/H3N2 亜型であると考えて差し支えないと思われるが、今後B型インフルエンザの検出割合がある程度増加すると予想される。

入院サーベイランスをみると、2014/2015シーズンの60歳以上の入院割合が61.7%と40%台の前半であった昨シーズンを大幅に上回っているのは、高齢者の推計受診者数の割合の増加を反映しているものと思われる。また、推計受診患者数の中に占める60歳以上の割合に比して、入院患者数に占める同年齢群の割合が大幅に高くなる傾

向については、変わりはない。今後インフルエンザの流行において高齢者の患者発生割合が高い傾向にあるシーズンでは、流行の規模と比較して重症者の割合が増加し、入院患者数も増加するものと推察される。

2014/2015シーズンのインフルエンザ脳症の報告数は、暫定値ながら2015年第8週までに93人であった。インフルエンザ定点の報告数はピークを過ぎているが、遅れ報告も含めると、今後も報告数は増加することが予想される。インフルエンザ脳症の型別内訳をみると、2014/2015シーズンでの流行を反映してA型が多くを占めていた。

米国では生後6か月以上の全ての人に対してワクチン接種を推奨しているが、2013/2014シーズンと2014/2015シーズンのワクチン株が同じであったことから、2013/2014シーズンにワクチンを受けたことがある小児では1回接種で良いとされていた。また2~8歳の小児について、直ちに接種が可能ならば生ワクチンの優先的な使用勧告が述べられていた。これらが日本と異なる。抗ウイルス薬についてはオセルタミビルとザナミビル以外に2014年12月19日にペラミビルが成人に対して承認された。ワクチンの有効性に関して、Q&A形式で一般の人にわかりやすい情報提供を行っていた。

E . 結論

- ・2014/2015 シーズンのインフルエンザの流行は、2015年第4週にインフルエンザの定点当たり報告数が39.42となり、今シーズンの最高値となった

- ・一方、推計受診患者数が最多となったのは2015年第2週(約206万人)であり、流行のピークは第4週よりも前であったと推察される

- ・2014/2015 シーズンは2015年第8週までに国内では3,767検体のインフルエンザウイルスの検出が報告されており、その95%以上がA/H3N2 亜型で占められており流行の中心と考えられる
- ・全国約500箇所の基幹定点となっている病院

からのインフルエンザによる入院例の報告は、2015年第8週までの累積で10,828人(暫定値)であった

- ・60歳以上の入院割合は61.7%であり、昨シーズンの報告割合よりも大幅に増加している
- ・インフルエンザ脳症の報告数は2015年第8週までに93人(暫定値)で、9歳以下の小児が55人(59.1%)と半数以上を占めていた。
- ・米国では生後6か月以上の全ての人にインフルエンザワクチンの接種が推奨されており、生ワクチンの使用、小児の接種回数については日本と異なっていた。また、ワクチンの有効性についてわかりやすい情報をCDCのHPに掲載していた。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

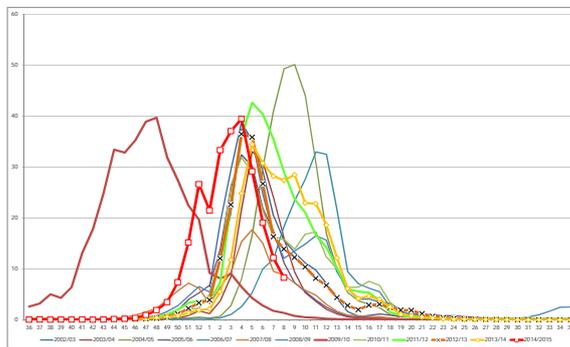


図1. 2002/2003 シーズン～2014/2015 シーズンインフルエンザ定点当たり報告数週別推移(2014/2015 シーズンは2015年第8週まで; 暫定値)

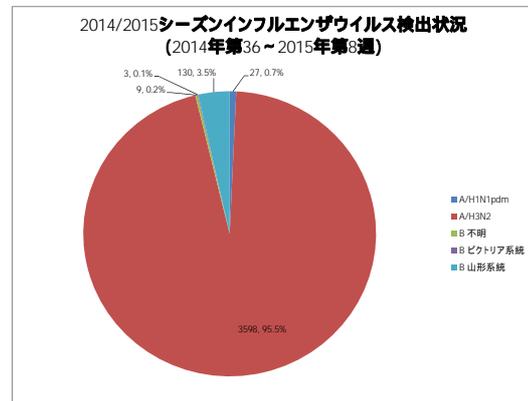


図3. 2014/2015 シーズンインフルエンザウイルス検出状況(2014年第36週～2015年第8週; 総検出数-3,767)(暫定値)

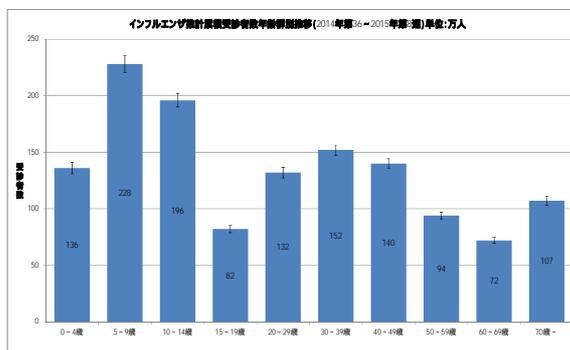


図2. 年齢群別インフルエンザ累計推計受診患者数(暫定値)(2014年第36週～2015年第8週: 各年齢群の95%信頼区間をグラフに示す)

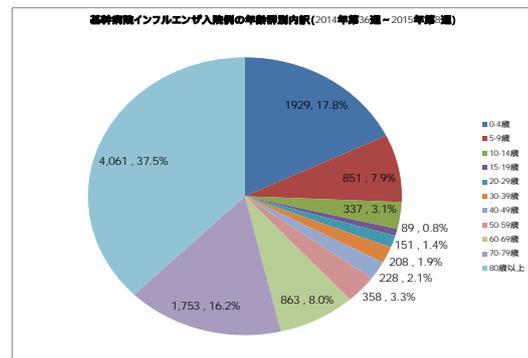


図4. インフルエンザ入院患者の累積報告数の年齢群別割合(基幹定点からの報告)(2014年第36～2015年第8週、累積報告数10,828)(暫定値)

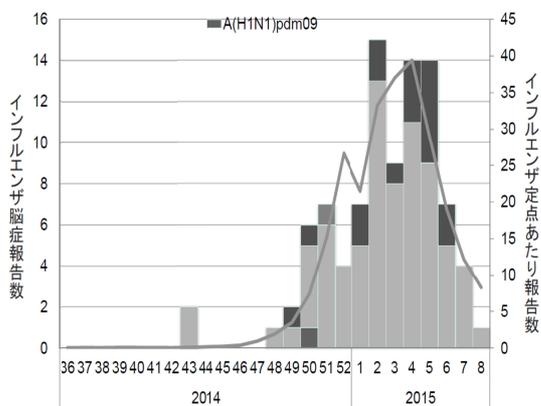


図5 .2014/2015 シーズンのインフルエンザ脳症報告数およびインフルエンザ定点あたり報告数週別推移(暫定値)
(2014年第36週～2015年第8週)

図6 .インフルエンザ脳症年齢別報告割合(暫定値)(2014年第36週～2015年第8週)

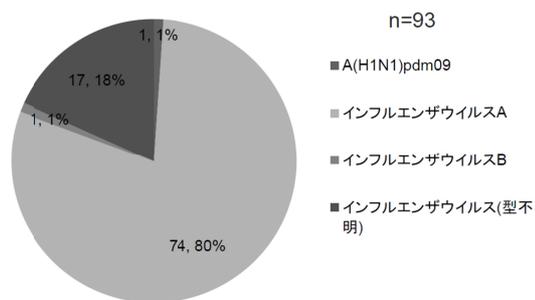
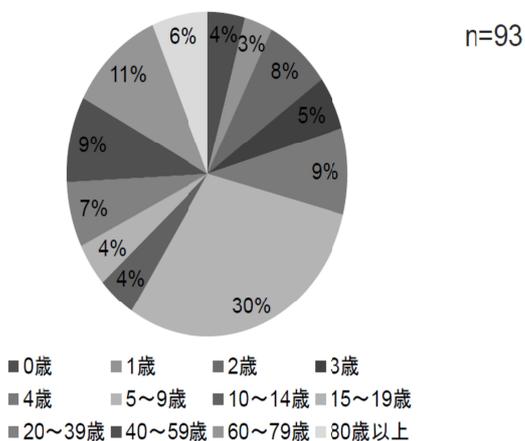


図7 インフルエンザ脳症ウイルス型別(暫定値)(2014年第36週～2015年第8週)



H5N1 およびパンデミックウイルスのウイルス学的解析

研究分担者 河岡義裕 東京大学医科学研究所・教授

研究要旨

平成 25 年春、中国で H7N9 鳥インフルエンザウイルスがヒトに感染した。H7N9 ウイルス感染例の疫学的な特徴は、高齢者男性の発症が多く、喫煙歴や慢性呼吸器疾患の合併が見られることである。そこで、喫煙マウスモデルを用いて喫煙と H7N9 ウイルス感染との関連を検討した。その結果、タバコ煙暴露群は、コントロールの空気暴露群と比較して H7N9 ウイルス感染に対して抵抗性を示した。タバコ煙暴露により、H7N9 ウイルスによる気管支の炎症の抑制効果が認められたことから、H7N9 ウイルス感染によるケモカインの発現誘導をタバコ煙暴露が阻害する可能性が示唆された。

A . 研究目的

鳥インフルエンザウイルス A(H7N9)は、平成 25 年 3 月末に中国で初めてヒト感染例が報告されて以来、確定診断された数だけでも 622 人も感染例が報告されている（平成 27 年 3 月 1 日現在）。このうち、147 人が平成 27 年に入ってからわずか 2 カ月の間に感染・発症しており、パンデミックに発展する危険性が危惧されている。致死率は季節性インフルエンザと比較して非常に高く、警戒が必要である。昨年度、当研究グループはヒトから分離された H7N9 インフルエンザウイルスの病原性を明らかにした (Watanabe et al. Nature, 26: 551-555, 2013)。ヒト分離株はサルの肺でも良く増えたことから、ヒトでの病原性が高いことを反映していると考えられる。さらに、フェ

レットを用いた実験によって、H7N9 ウイルスは限定的ながら呼吸器飛沫を介して感染することが分かった。H7N9 ウイルス感染例の疫学的な特徴は、高齢者男性での発症が多く、喫煙歴や慢性呼吸器疾患の合併が見られる。そこで本年度は、喫煙マウスモデルを用いて喫煙と H7N9 ウイルス感染との関連を検討した。

B . 研究方法

喫煙曝露システム（INH06-CIG01A，M・I・P・S 社製）を用いて 180 日間のタバコ煙暴露を C57BL/6 マウスにおこない、喫煙マウスモデルを作製した。タバコ煙暴露群のコントロールとして空気暴露群も同時に作製した。ヒトから分離した A/Anhui/1/2013

(H7N9)株(10^3 PFU)を経鼻感染し、14日間の体重モニタリングと、感染2日目と5日目に肺を採取しウイルス力価の測定、病理解析、マイクロアレイ解析をおこなった。

(倫理面への配慮)

動物実験は、東京大学医科学研究所実験動物委員会の承認のもと、東京大学動物実験規則に従って実施した。

C . 研究結果

感染前のタバコ煙暴露群の肺には炎症細胞の浸潤がみられたが、慢性閉塞性肺疾患(COPD)に特徴的な肺胞壁の破壊は顕著ではなかった。喫煙マウスモデルの作成中のタバコ煙暴露群は、空気暴露群と比較してやや体重増加も抑制されていた。しかし、H7N9 ウイルス感染後は、タバコ煙暴露群に比較して空気暴露群の方が体重減少は大きく、生残率も低かった。一方で、肺のウイルス力価はこの2群間に明らかな差は認められなかった。国立感染症研究所感染病理部による組織学的な解析の結果、2群ともに気管支上皮と肺胞にウイルス感染細胞が分布していた。しかし、ヘマトキシリン・エオシン染色で、炎症細胞の分布を比較すると、空気暴露群のほうが、気管支周囲の炎症細胞の浸潤が強かった。この組織学的な相違についてさらに検討するために、肺の遺伝子発現解析をおこなった。感染2日目と5日目の肺から抽出したRNAのマイクロアレイ解析の結果、空気暴露群では、ウイルス感染によって多くの遺伝子発現の変動がみられた。タバコ煙暴露群では、少数の遺伝子だけが発現変動していた。さらに、細胞浸潤に関連するケモカイン CCL24 と CXCL3 は、空気暴露群では発現上昇してい

たが、タバコ煙暴露群では、ほとんど変化していなかった。

D . 考察

喫煙マウスは、我々の予想に反して、H7N9 ウイルスの攻撃に対して抵抗性を示した。H7N9 ウイルス感染による気管支の炎症に対して、タバコ煙暴露による抑制効果が示唆された。タバコ煙暴露は、H7N9 ウイルス感染によるケモカインの発現誘導を阻害する可能性が示唆された。今後は、これらのケモカインの H7N9 感染による肺の炎症における役割を解析し、喫煙によるインフルエンザ病原性の抑制効果のメカニズムを解明する予定である。

E . 結論

タバコ煙暴露群は、コントロールの空気暴露群と比較して H7N9 ウイルス感染に対して抵抗性を示した。タバコ煙暴露が H7N9 ウイルス感染によるケモカインの発現誘導を阻害している可能性がある。

F . 研究発表

1 . 論文発表

Yamayoshi S, Yamada S, Fukuyama S, Murakami S, Zhao D, Uraki R, Watanabe T, Tomita Y, Macken C, Neumann G, Kawaoka Y. Virulence-affecting amino acid changes in the PA protein of H7N9 influenza A viruses. **J Virol** 88:3127-3134, 2014.

Neumann G, Macken CA, Kawaoka Y. Identification of amino acid changes that may have been critical for the genesis of

A(H7N9) influenza viruses. **J Virol**
88:4877-4896, 2014.

Sakai-Tagawa Y, Ozawa M, Yamada S,
Uchida Y, Saito T, Takahashi K, Sugaya N,
Tashiro M, Kawaoka Y. Detection
sensitivity of influenza rapid diagnostic
tests. **Microbiol Immunol** 58:600-606,
2014.

2 . 学会発表
該当なし

G . 知的所有権の取得状況
該当なし

重症インフルエンザ病態解明へのアプローチ 剖検例からわかること

研究分担者 長谷川 秀樹 国立感染症研究所感染病理部 部長
研究協力者 中島 典子 国立感染症研究所感染病理部 室長

研究要旨

2013-2014 年のインフルエンザシーズンには A/H1N1pdm09 ウイルスが流行したが、臨床的に ARDS を併発し、びまん性肺胞傷害(DAD)の肺病理像を呈した剖検例のウイルス検索依頼がみられた。すでにパンデミック終息後であり、多くのヒトが抗体を有しているため重症化する症例は少ないと考えられ、またウイルス側もすでに季節性インフルエンザウイルスとして扱われており、ヒト型レセプターと親和性の強いヘマグルチニン配列を有し、肺胞上皮細胞に感染しウイルス性肺炎を起こすことはないと考えられたのでパンデミック初期の例と ARDS の発症機構が異なることが考えられた。そこでパンデミック時とパンデミック終息後の A/H1N1pdm09 - ARDS の剖検例を病理学的に解析し、再評価した。その結果、パンデミック終息後の ARDS はウイルス性肺炎によるものではなく、全身性の敗血症 (Sepsis) や DIC が誘因となった ARDS であると推測された。以上のことからインフルエンザの重症化因子としてウイルス性肺炎による ARDS 以外に、全身性の炎症反応が要因である ARDS も合わせて考えるべきだと思われた。

A. 研究目的

インフルエンザの重症化因子としては、1) 脳症 2) 心筋炎、心筋症、心機能障害 3) 肺炎 (ウイルス性肺炎、細菌性肺炎) がある。鳥インフルエンザウイルスヒト感染死亡例では重症のウイルス性肺炎から ARDS を併発し、呼吸不全で死亡する症例が多い。2009 年のパンデミックインフルエンザにおいてもメキシコで発生した例のほとんどがウイルス性肺炎であった。本邦初の剖検例 (2009 年 8 月) でも A/H1N1pdm09 ウイルスは肺胞上皮細胞に感染し、ウイルス性肺炎に

よる ARDS を併発していた。パンデミック終息後の 2013-2014 年冬季に A/H1N1pdm09 が流行したが、インフルエンザで ARDS を呈した症例について肺組織中のウイルス検索の依頼が何件もあった。パンデミック時と終息後で A/H1N1pdm09 感染に併発した ARDS の発症機構について病理学的解析結果を比較検討したので報告する。

B. 研究方法

1. 材料: 国立感染症研究所・感染病理部に病理学的検索を依頼されたインフルエン

ザウイルス感染症死亡例のホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 病理標本。

2. 方法

ヘマトキシリンエオジン (HE) 染色標本による組織所見。

免疫組織化学および in situ hybridization 法によるウイルス抗原・ウイルス核酸の体内および組織内分布の解析。

細胞マーカー蛋白抗体との二重染色による感染細胞同定。

FFPE 組織切片中のインフルエンザウイルスおよびサイトカイン・ケモカイン mRNA の定量。

(倫理面への配慮) 検討材料は剖検組織であり、剖検時に使用の承諾が得られている。

C. 研究結果

1. インフルエンザ例

2013 年 1 月から 2014 年 12 月まで計 5 例のインフルエンザ死亡例の病理学的検索が依頼された。肺炎が 4 例、心筋炎が 1 例であった。インフルエンザ疑い例は 4 例あったが、インフルエンザウイルスゲノムは検出されなかったため、確定診断に至らなかった。

2. 症例

(症例 1 ; インフルエンザ疑い例) 母 (39 歳) 妊娠 34 週 2 日 (病日 1) に発熱有り、2 日後 (病日 3、34 週 4 日) に胎動が減弱したので救急外来受診。迅速検査で B 型インフルエンザ抗原陽性であったためイナビル処方され帰宅。病日 5 (34 週 6 日) に頻回の子宮収縮にて入院管理開始。陣痛発来出生前に徐脈を認めたため用手的誘導、人工破膜にて児を搬出した。児は出生後まもなく死亡したため、インフルエンザウイルス母子感染の疑いで児の血液、髄液、咽頭ぬぐい液を検索した。児の咽頭ぬぐい液、髄液、血清、肺組織・肝組織より核酸を抽出し、マルチウイルスリアルタイム PCR

法でウイルスゲノムを検出するもすべてのウイルスゲノムは検出限界以下であった。病理解剖の結果から肺の低形成がみとめられ、死亡原因の 1 つであると考えられた。インフルエンザウイルスの子宮内感染ならびに産道感染はみられないことが確認された。妊娠中であってもウイルス血症はみとめられなかった。また母と児の血液中のサイトカイン値をマルチプレックス法で網羅的に検索したところ、母体は病日 3、5、6 においてサイトカイン/ケモカインの異常高値はみられなかったが、児の血清で IL-6、interleukin-2R (IL-2R)、IL-12、human growth factor (HGF)、MCP-1、MIG が母の 2 倍以上の量であった。母体のインフルエンザ罹患が早産の原因として関与した可能性は考えられた。

(症例 2 : A/H1N1pdm09 陽性例、ウイルス性肺炎による ARDS の疑い)

59 歳男性で既往歴は特になし。健康診断 (平成 15-19 年) は異常なし。2/21 は普通に外出。2/22 は朝から咽頭痛あり、市販のルルなどを内服した。2/23 午前頃の死亡と推定される。72 時間後法医解剖。気管支から A/H1N1pdm09 が遺伝子検査で陽性のためインフルエンザと診断された。インフルエンザウイルス性肺炎の疑いで肺組織中のウイルスゲノムの検索を依頼された。肺組織はびまん性肺胞傷害像 (DAD) を呈していた。死後 72 時間経過していたため、ウイルスゲノム検出、免疫組織化学などによる解析はできなかった。病理像において死後変化を考慮しても ARDS を併発して呼吸不全で亡くなった可能性は高いが、ARDS の要因に関しては臨床検査情報がなく、不明である。

3. A/H1N1pdm09 感染に重症 ARDS を併発した 2 例の病理学的解析による比較検討

パンデミック初期の 2009 年 8 月の症例 (33 歳男性) と WHO が 2010 年 8 月に 'the

post-pandemic period' 宣言をした後の 2011 年 1 月の症例 (50 歳男性) を比較検討した。共通点は、患者は BMI 34,36 の超肥満で、A/H1N1pdm09 感染後、重症 ARDS を併発し 1 週間で死亡していることである。臨床的な相違として着目すべき点は、パンデミック期の症例は第 6 病日に呼吸器管理となった際、DIC や多臓器障害はみられなかったが、パンデミック終息後の ARDS 症例では、第 3 病日にすでに呼吸器管理となり、DIC や MODS もみられており、全身性炎症反応 (SIRS) が疑われた。この症例では ECMO とともに PMX も施行されているこの 2 剖検肺組織で、肺の組織像 (炎症像)、ウイルス抗原の分布・肺切片中のウイルスのコピー数を解析し、さらに肺組織から回収される A/H1N1pdm09 ゲノムの HA 領域の配列を調べ比較した。パンデミック初期の症例では肺の場所により異なる進行度のびまん性肺胞傷害の像を呈し、肺切片ごとにウイルス抗原量も異なった。肺の DAD の進行より先にウイルス抗原量の増加が認められたことから、肺組織の病理変化はウイルス感染によるものであると推測された。ウイルスは主に肺胞上皮細胞で感染増殖し、肺から鳥型レセプターに親和性の高い配列を有する A/H1N1pdm09 が検出された。鳥インフルエンザウイルス感染例と類似した病理所見であった。すなわちインフルエンザウイルス感染によるウイルス性肺炎による ARDS と考えられた。一方パンデミック終息後の A/H1N1pdm09 感染に併発した ARDS 症例では、肺全体にびまん性肺胞障害の滲出期像がみられ、肺局所で差がみられなかった。ウイルス抗原陽性細胞は少なく、ウイルスゲノム量は初期の症例 1 の 1/1000 であった。肺からヒト型レセプターに親和性の高い配列を有する A/H1N1pdm09 が検出された。臨床経過も併せて考えると、ウイルス性肺炎ではなく、敗血症 (Sepsis)、DIC が引き起こ

した全身性の炎症反応が要因の ARDS ではないかと考えられた。

D. 考察

インフルエンザの重症化因子として、脳症、臨床的心筋炎 (病理所見がない場合が多い)、肺炎の併発がある。インフルエンザに併発する重症肺炎は臨床的には、鑄型気管支炎、細気管支炎、気管支肺炎、肺炎、ARDS と診断されていることが多い。肺炎の原因については、細菌が検出されない場合はインフルエンザウイルス性肺炎を疑われるが、剖検肺組織を解析すると二次性の細菌性肺炎の病理像であったり、ウイルス抗原は気管支・細気管支上皮細胞に検出されても肺胞上皮細胞には検出されないことが多い。また ARDS を併発した場合もウイルス性肺炎を疑われるが、敗血症など全身性の炎症反応から惹起された ARDS の場合がある。インフルエンザウイルスは経気道的に呼吸器官に感染し、インフルエンザは呼吸器感染症である。しかしながら脳症や心機能障害なども併発する。季節性インフルエンザウイルスはヒト型レセプターが豊富な上気道の上皮細胞に感染し、宿主応答を引き起こすわけだが、宿主によっては非常に強い免疫応答を引き起こすために脳症や心筋症、全身性炎症症候群 (SIRS) のような重篤な症状を呈することがあるのではないかと考えられた。

E. 結論

インフルエンザの重症化因子として肺炎があるが、鳥インフルエンザウイルスヒト感染例ではほとんどの症例で ARDS を併発している。2009 年のパンデミックインフルエンザでも ARDS を併発する重症肺炎が見られた。2013-14 年インフルエンザシーズンは A/H1N1pdm09 が流行し、ARDS を呈し死亡した例もあったが、A/H1N1pdm09 はすでに

ヒトに馴化しており、容易にウイルス性肺炎を起こすことはない。A/H1N1pdm09-ARDSはウイルスが上気道に感染し、サイトカインストームなどの全身性炎症反応起こした結果、間接的要因により惹起されたのではないかと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hasegawa S, Wakiguchi H, Okada S, Gui Kang Y, Fujii N, Hasegawa M, Hasegawa H, Ainai A, Atsuta R, Shirabe K, Toda S, Wakabayashi-Takahara M, Morishima T, Ichiyama T. Cytokine profile of bronchoalveolar lavage fluid from a mouse model of bronchial asthma during seasonal H1N1 infection. *Cytokine*. 2014 Oct;69(2):206-10. Epub 2014 Jul 6.
- 2) Watanabe T, Zhong G, Russell CA, Nakajima N, Hatta M, Hanson A, McBride R, Burke DF, Takahashi K, Fukuyama S, Tomita Y, Maher EA, Watanabe S, Imai M, Neumann G, Hasegawa H, Paulson JC, Smith DJ, Kawaoka Y. Circulating avian influenza viruses closely related to the 1918 virus have pandemic potential. *Cell Host Microbe*. 2014 Jun 11;15(6):692-705.
- 3) Sakai K, Ami Y, Tahara M, Kubota T, Anraku M, Abe M, Nakajima N, Sekizuka T, Shirato K, Suzaki Y, Ainai A, Nakatsu Y, Kanou K, Nakamura K, Suzuki T, Komase K, Nobusawa E, Maenaka K, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M. The host protease TMPRSS2 plays a major role in in vivo replication of emerging H7N9 and seasonal influenza

viruses. *J Virol*. 2014 May;88(10):5608-16. Epub 2014 Mar 5.

- 4) 中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹 ウイルス性肺炎 病理と臨床 32(10): 1146-1153, 2014.10

2. 学会発表

- 1) 鈴木 忠樹、川口 晶、相内 章、佐藤 由子、永田 典代、田代 真人、長谷川 秀樹 喘息発作によるインフルエンザ重症化動物モデルの作製 第 103 回日本病理学会総会 広島 2014 年 4 月
- 2) 中島 典子、渡辺 登喜子、佐藤 由子、高橋 健太、鈴木 忠樹、田代 真人、河岡 義裕、長谷川 秀樹 ヒトから分離された H7N9 亜型鳥インフルエンザウイルス感染動物モデルの病理学的解析 第 103 回日本病理学会総会 広島 2014 年 4 月
- 3) 酒井宏治、網康至、田原舞乃、久保田耐、安楽正輝、中島典子、高下恵美、関塚剛史、駒瀬勝啓、信澤枝里、小田切孝人、前仲勝実、黒田誠、長谷川秀樹、河岡義裕、田代真人、竹田誠 II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 は、HA 開裂部位に mono basic なアミノ酸配列をもつ A 型インフルエンザウイルスに対する肺内必須活性化酵素である 第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月
- 4) 渡辺登喜子、Gongxun Zhong、Colin Russell、中島典子、八田正人、Anthony Hanson、高橋健太、渡辺真治、今井正樹、長谷川秀樹、河岡義裕 スペイン風邪ウイルスに類似の鳥インフルエンザウイルスのパンデミックポテンシャル 第 62 回日本ウイルス学会学術集会 横浜 2014 年 11 月

G . 知的所有権の取得状況

1 . 特許取得

なし

2 . 実用新案登録

なし

3 . その他

なし

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）
分担研究報告書

重症例の治療効果および予後に関する検討

研究分担者 池松 秀之 九州大学大学院医学研究院臨床検査医学・学術研究員
研究協力者 日本臨床内科医会 インフルエンザ研究班

研究要旨

2013-14 年流行期に流行のサーベイランスとして全国の診療所を中心とした日本臨床内科医会インフルエンザ研究班によりインフルエンザ症例および肺炎症例を集積し、流行状況、肺炎の実態とリスクファクターについて過去の成績を含めて検討を行なった。

各流行期における型・亜型の内訳は、2011-12 年流行期 A (H3N2) 型 72.9%、B 型 27.0%、2012-13 年流行期 A (H1N1)pdm09 型 0.8%、A (H3N2) 型 80.1%、B 型 19.2%、2013-14 年流行期 A (H1N1)pdm09 型 35.3%、A (H3N2) 型 19.1%、B 型 45.6% であり、それぞれ異なっていた。肺炎および入院の報告は、2011-12 年、2012-13 年、2013-14 年流行期でそれぞれ 0.9%、0.3%、0.3% であった。肺炎および入院患者は 6 歳の 1 例以外 7 例は全て 70 歳以上であった。肺炎あるいは入院の報告例 8 例中 7 例のウイルス型は A 型で、亜型が判別出来た 5 例は全て H3N2 型であった。福岡県におけるインフルエンザ入院サーベイランスの結果でも、ICU 入室や人工呼吸器の利用は 70 才以上に集中していた。

季節性インフルエンザの流行において、抗インフルエンザ薬による治療が開始されても、重症例が高齢者に少なからず、みられることが確認された。高齢者において肺炎や重症例が多いメカニズムは不明であるが、高齢者人口が今後も増加することを考えると新型インフルエンザが高齢者にも多数の感染を起こす場合、重症例が非常に多くなる可能性があり、その対策が必要と思われる。

A. 研究目的

2009年4月に出現したブタ由来と考えられる新型インフルエンザウイルスH1N1pdm09は世界中に流行が拡大し、日本でも2009-2010年流行期はH1N1pdm09が流行の主体となった。新型インフルエンザの出現から1年経過した2010-2011年流行期は、H1N1pdm09と共にH3N2とB型の流行がみられ、従来の季節性インフルエンザの流行パターンに類似した流行となった。2011-2012年流行期は、H3N2とB型の流行がみられH1N1pdm09はほとんどみられなくなった。

新型インフルエンザと呼ばれたH1N1pdm09の流行による被害は少なかったが、次に新型が出現した際への備えを怠ると、今回の経験とは異なった大きな被害が出ることも危惧される。その際に重要なポイントの一つは「重症肺炎」であることは確実と思われる。現在の毎年のインフルエンザ流行においても肺炎の合併は稀ではなく、重症肺炎による死亡もめずらしくない。しかしながらその疫学や病態についてのデータは少ない。

本研究では日本臨床内科医会インフルエンザ研究班が実施しているインフルエンザ研究における肺炎例の情報を集め、肺炎及び重症肺炎の発

生やリスクファクター、有効な治療、予後などについて検討を行う。また、九州地区における協力病院でのデータを参照し、重症化や肺炎について検討することを目的とする。

B. 研究方法

日本臨床内科医会インフルエンザ研究班の研究は、日本臨床内科医会に所属する全国の医療機関の中で研究への参加を希望した医療機関による研究である。その研究対象はインフルエンザを疑って迅速診断が実施された外来患者である。研究への協力について同意が得られた患者について、迅速診断の結果が陽性、陰性に関わらず原則としてウイルスの分離とPCR法によるインフルエンザウイルス検出が実施されている。検体としては鼻腔拭い液、咽頭拭い液、鼻腔吸引液、鼻汁・鼻かみ液を用い、ウイルス分離は標準的な方法でMDCK細胞を用いて実施している。PCRには、H1N1pdm09および季節性インフルエンザのAH1N1、AH3N2、B、それぞれのインフルエンザウイルスに特異的なプライマーを用いている。入院や肺炎に関する情報は、主として患者本人及び家族よりの聞き取りによって行われている。

(倫理面への配慮)

被験者に対しては本研究の目的等を十分に説明し、文書または口頭で同意が得られた患者のみを対象とした。登録基本データはID、イニシャル、性別、生年月日とし、個人名や住所などの個人の特定につながる情報は記載しなかった。また、臨床検体については別にID番号を設定し、第三者が個人の特定をできないように配慮を行った。

C. 研究結果

2011-12年流行期に登録されたインフルエンザ患者はA型が340例、B型が126例であった。A型は全例H3N2型でA(H1N1)pdm09はみられなかった。2012-13年流行期はA(H3N2)が340例、B型が126例で、A(H1N1)pdm09は5例であった。2013-14年流行期はA(H1N1)pdm09型218例、A(H3N2)型118例、B型282例であった。患者の年齢分布は(図1)、2011-12年流行期は20歳未満が多く、2012-13年流行期はA(H3N2)が30歳以上に比較的多数みられ、特に70歳以上の患者が多かった。2013-14年流行期はA(H1N1)pdm09で30歳以上の患者が多く、B型は20歳未満が多かった。この3つの流行期において流行するインフルエンザの型・亜型の割合やそれぞれの患者の年齢分布は毎年変化していた。

2011-12年流行期の肺炎あるいは入院の報告は4例で全員H3N2型であった。肺炎は2例で全体における割合は0.4%であった。患者の年齢は6才と71才であり男性1名女性1名であった。入院の報告は2例で74才の男性と82才の女性であった。2012-13年流行期の肺炎あるいは入院の報告は肺炎が2例で、70才と85才の男性で、全員A型であった。2013-14年流行期は肺炎の報告が2例あり、80歳以上の女性でA型とB型それぞれ1例であった。肺炎および入院の全体での割合は、2011-12年、2012-13年、2013-14年流行期でそれぞれ0.9%、0.3%、0.3%であったが、70歳以上の年齢層での発生率は高かった。

福岡県におけるインフルエンザ入院サーベイランスでは、ICU入室や人工呼吸器の利用は1才から9才と70才以上に集中していた。

D. 考察

重症肺炎はインフルエンザにおける重要な合併症であり、その対策はインフルエンザ対策、特に新型インフルエンザ対策において重要な課題

であるということはいうまでもない。ノイラミニダーゼ阻害薬を用いた発症から48時間以内の治療により、肺炎の発症頻度は大幅に低下したと考えられる。しかし、日本臨床内科医会インフルエンザ研究班の調査で、肺炎や入院の報告は少数ながら毎年みられている。肺炎および入院の全体での割合は、2011-12年、2012-13年、2013-14年流行期でそれぞれ0.9%、0.3%、0.3%と高くはなかったが、年齢をみると6歳の小児例を除く全員が70才以上であり、肺炎は高齢者において発生頻度が決して低くないことが確認された。

何故高齢者においてインフルエンザの発症頻度が低いのに肺炎や重症例が多いのかについて、そのメカニズムは不明である。3年間の調査結果では、糖尿病や高血圧は基礎疾患としてみられなかったが、慢性呼吸器疾患、とくに気管支喘息が4名において基礎疾患であったことは興味深い。慢性呼吸器疾患が重要な因子となっているかについてはさらに検討する価値があると思われる。

福岡県におけるインフルエンザ入院サーベイランスの結果でもICU入室や人工呼吸器の利用が70才以上に集中していることをみると、高齢者におけるインフルエンザ予防と肺炎の発症を予防するための治療が重要であると思われる。

高齢者人口は今後も増加すると考えられる。新型インフルエンザ発生時に、高齢者に多数の患者が発生すると、そこから多数の肺炎発症者が出る可能性があり、その頻度は5%を越える可能性が高いと考えられる。その対策としての病床の確保とICU入室が必要な重症例への受け入れ態勢については事前に十分な検討が行われていることが必要と思われた。

E. 結論

(1) インフルエンザ罹患時の肺炎や入院はノイラミニダーゼ阻害薬を用いた早期治療が普及した現在でもその頻度は低いが発生しており、特に70才以上ではその頻度が高い。

(2) ICU入室や人工呼吸器が使用された重症例は70才以上で特に多く、重症化のメカニズムについては年齢という因子を考慮した研究が必要である。

(3) 重症例や肺炎例の発生はインフルエンザ自体の流行に関連しておりインフルエンザの流行対策が重症インフルエンザ対策上で最も重要な点であると思われる。

F. 健康危険情報
なし

2. 学会発表

池松秀之. 第 82 回日本感染症学会西日本地方
会学術集会(岡山)、2014.10.23-24

G. 研究発表

1. 論文発表

Kawai, N. et al., Increased symptom severity but unchanged neuraminidase inhibitor effectiveness for A(H1N1)pdm09 in the 2010-2011 season: comparison with the previous season and with seasonal A(H3N2) and B. Influenza Other Respi Viruses, 2013; 7(3):448-55.

河合直樹、廣津伸夫、池松秀之. インフルエンザ診療マニュアル 2014-2015 年シーズン版. 日本臨床内科医会誌 29 巻 2 号臨時付録 1-49, 2014

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図 1. 各年代における各型の患者数

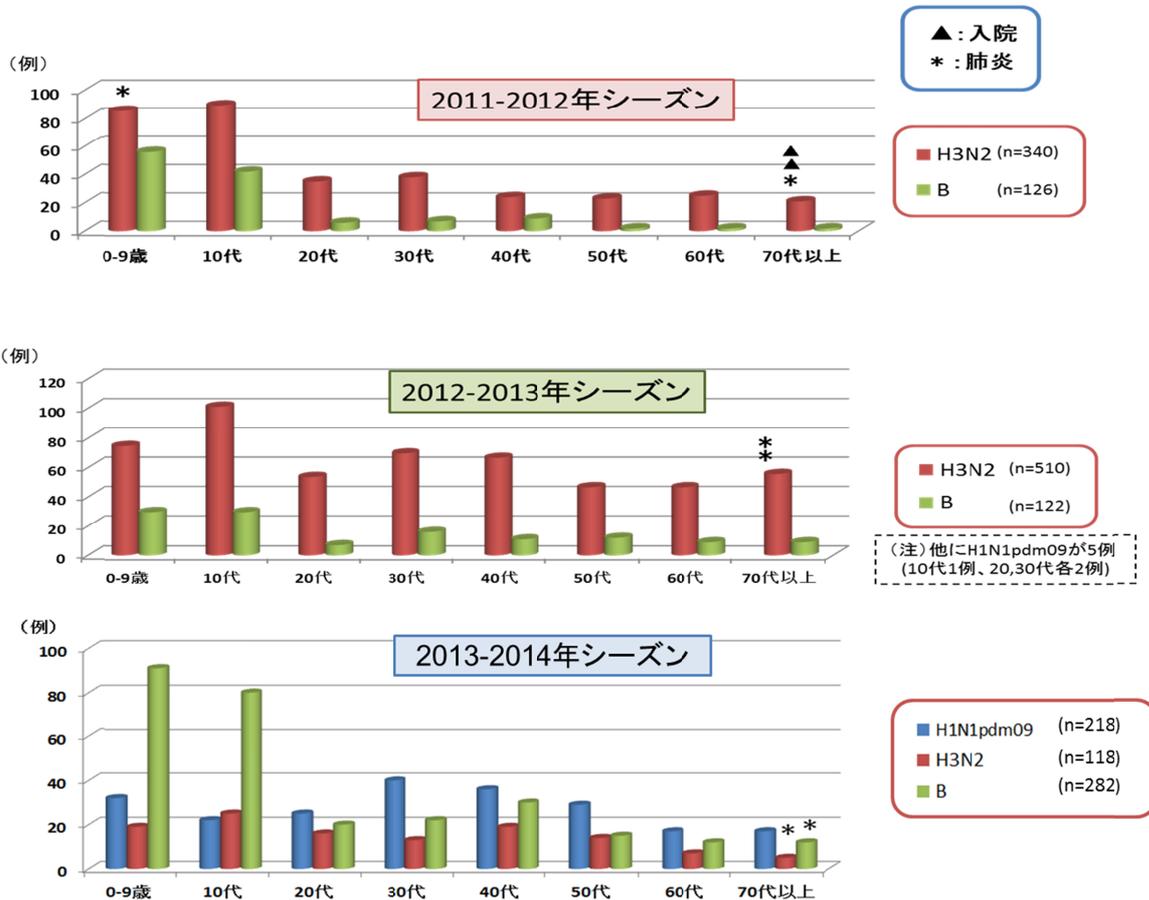


表1 各流行期における肺炎合併例および入院例

流行期	年齢	性	型・亜型	体重 (kg)	合併症	転帰	発症から治療開始まで 治療薬	CRP	WBC	昨年罹患	ワクチン		基礎疾患
											昨年	今年	
2011-12年	6	F	A/H3	23	肺炎	外来治癒	L 27hr			なし	なし	なし	なし
	71	M	A/H3	50	肺炎	外来治癒	P 1hr	5.3	4800	なし	1回	1回	心疾患、脳卒中
	74	M	A/H3		喘息発作	入院治癒	P 43hr	6.8	8200	なし	1回	1回	気管支喘息、脳卒中、糖尿病
	82	F	A/H3	67		入院治癒	P 2.5hr	1.6	7000	なし	1回	2回	気管支喘息
2012-13年	85	M	A/H3	40	肺炎	外来治癒	P 24hr	13.2	12100	なし	なし	なし	気管支喘息 COPD
	70	M	A	81	肺炎	外来治癒	O 22hr			なし	1回	なし	なし
2013-14年	85	F	A	43	肺炎	入院治癒	P 17hr			なし	なし	なし	気管支喘息
	84	F	B	32	肺炎	外来治癒	O 28hr	23	6700	なし	1回	1回	なし

L : laninamivir P : peramivir O : Oseltamivir

表2 福岡県におけるインフルエンザ入院サーベイランス2012-2013年

単位:人

年齢		1歳未満	1-4歳	5-9歳	10-14歳	15-19歳	20-29歳	30-39歳	40-49歳	50-59歳	60-69歳	70-79歳	80歳以上	計
ICU入室	2012年	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	1	2	8
	2013年	0	3	0	1	0	0	0	0	0	0	3	5	12
	2014年	0	6	4	0	0	0	1	0	2	0	2	3	18
人工呼吸器の利用	2012年	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3
	2013年	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	3
	2014年	0	1	0	0	0	0	1	0	1	2	1	2	8
インフルエンザ入院全体数	2012年	21	83	43	16	9	4	5	6	11	21	52	79	350
	2013年	19	52	14	8	1	1	4	4	11	12	20	40	186
	2014年	28	92	56	17	4	2	10	6	7	13	25	69	329

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）
分担研究報告書

インフルエンザ肺炎モデルにおける抗 HMGB1 抗体の治療効果

主任研究者 森島恒雄（岡山大学大学院特命教授）

研究協力者 野坂宜之 八代将登 藤井洋輔 山田睦子 塚原宏一
（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

【背景】今後発生しうるインフルエンザウイルスパンデミックへの対策は緊急の課題である。既存の抗ウイルス薬の効果が低い耐性株や新型ウイルスの出現が危；惧されており、新たな治療選択肢の可能性を探る必要がある。インフルエンザ感染における炎症惹起物質のひとつとして核内 DNA 結合タンパク質である HMGB-1 (High-Mobility Group Box-1) が注目されている。【目的】インフルエンザ肺炎に対する抗 HMGB-1 抗体の治療効果を検証すること。【方法】C57/BL6 マウスにインフルエンザウイルス A/Puerto Rico/8/34 株 (1.0×10^2 PFU) を経鼻接種し、1、24、48 時間後に抗 HMGB-1 単クローン抗体 (2mg/kg/回) を尾静脈投与した。【結果】対照動物(抗 *Keyhole Limpet Hemocyanin* 抗体投与群)と比較し抗 HMGB-1 抗体投与群では肺におけるウイルス増殖に差を認めない一方で、生存率の有意な改善を認めた ($p=0.004$)。また、感染後 3 日、7 日、10 日の時点で気管支肺胞洗浄液中の好中球数や酸化ストレスマーカー、各種炎症性サイトカインが抗 HMGB-1 抗体投与群で有意に抑制された。【考察】抗 HMGB-1 抗体が、インフルエンザ肺炎に対し有望な追加治療選択肢になる可能性が示唆された。

A. 研究目的

2009 シーズンの新型インフルエンザで多く認めた急性呼吸窮迫症候群は致死的な合併症であった。今後起こりうるパンデミックにむけ、重症合併症に対する対策は喫緊の課題である。既存の抗ウイルス薬の効果が低い耐性株や新型ウイルスの出現が危惧されており、新たな治療選択肢の可能性を探る必要がある。

HMGB-1(High-mobility group box-1)

は炎症性サイトカイン様因子として振る舞う 25kDa の核内 DNA 結合タンパク質である。近年、HMGB-1 が様々な危急病態に関与し、さらに抗 HMGB-1 抗体が敗血症や頭部外傷などの病態改善に有効であることが示され、注目を集めている。

2009 A(H1N1)インフルエンザウイルスによる重症肺炎を呈した小児患者において、血清中 HMGB-1 の増加を認めその病態形成への関与が示された¹⁾。しかし、

インフルエンザ重症肺炎における抗 HMGB-1 抗体の治療薬としての可能性を検討した報告は存在しない。

そこで我々は抗 HMGB-1 抗体によるインフルエンザ肺炎の治療効果をマウスモデルを使用して検討した。

B. 研究方法

C57/BL6マウスにインフルエンザウイルスA/Puerto Rico/8/34株 (1.0×10^2 PFU) を25 μ l 経鼻接種した。感染後1時間後、24時間後、48時間後に抗HMGB-1抗体を2mg/kg (0.1ml) 投与した。対照抗体には抗*Keyhole Limpet Hemocyanin*抗体を用い、2mg/kg(0.1ml)投与した。抗体はいずれも岡山大学大学院薬理学講座(西堀正洋教授、劉克約博士)より供与された。なお、抗HMGB-1抗体はHMGB-1タンパク質にのみ存在するC末端配列(DEEEDDDDE)を認識し、HMGB1活性を中和する単クローナル抗体である。

最初に、対照動物との生存率の相違を確認した。さらに、感染後3・5・7・10日にマウスを解剖し、血清・気管支肺胞洗浄液(右肺)・肺組織(左肺)を採取した。肺組織はHE染色およびGr1染色にて炎症細胞・好中球浸潤の評価を行った。採取した肺組織の一部からRNeasy Plus Miniを用いて総RNAを抽出し、RETROscriptを用いてcDNAに逆転写し、さらにリアルタイムPCR法にて増幅しインフルエンザウイルス量を測定した。気管支肺胞洗浄液中の細胞数は日本光電社製セルタックにて測定した後、検鏡下(ディフ・クイック染色)に細胞分画を確認して好中球数を算出した。採取した血清を用いて酸化ストレスマーカーであるdROMsをFRAS4機器を用いて測定した。

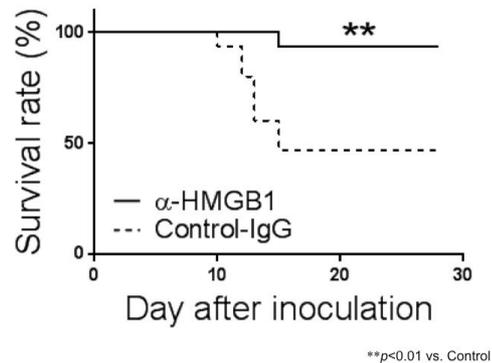
また、MILLIPLEX Kit (MILLIPORE社)を用いて気管支肺胞洗浄液中の tumor

necrosis factor alpha(TNF- α)、interleukin 6(IL-6)、chemokine (C-X-C motif) ligand 1(CXCL-1)を測定した。また、RAGE ELISA kit (R&D社)を用いて気管支肺胞洗浄液中の receptor for advanced glycation end products (RAGE)を測定した。さらにRAGEとNF- κ B(p65)、GAPDHのmRNAの発現量をリアルタイムPCR法で増幅し測定した。

C. 研究結果

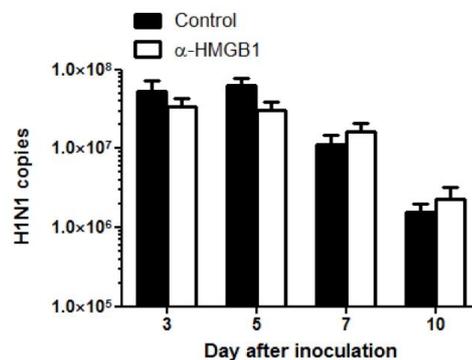
生存曲線

抗HMGB1抗体投与群で93.3%のマウスが生存した一方で、対照群では53.3%のマウスが死亡した。



ウイルス量

肺組織中のインフルエンザウイルス量は対照群と抗HMGB1抗体投与群で有意差は認めなかった。

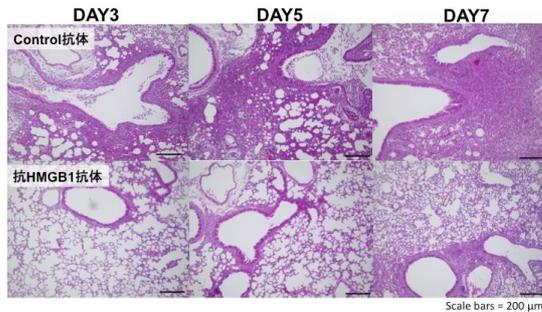


肺組織病理

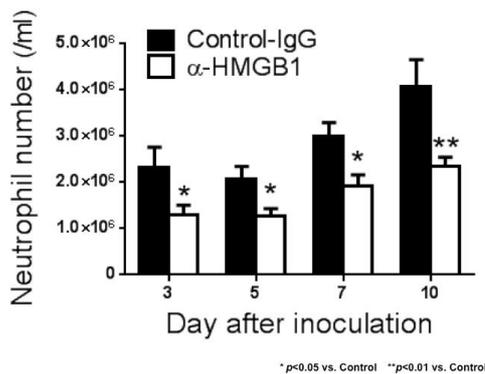
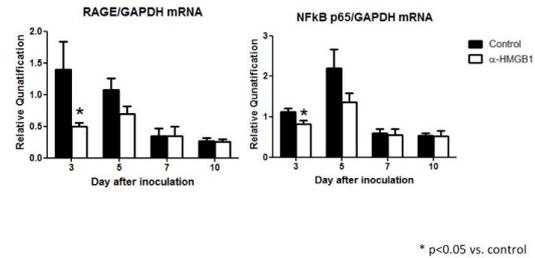
対照群と比較し、抗HMGB1抗体投与群の

肺組織炎症像の軽減を認めた。

また、気管支肺胞洗浄液中の好中球数についても、抗 HMGB1 抗体投与群で有意に抑制されていた。

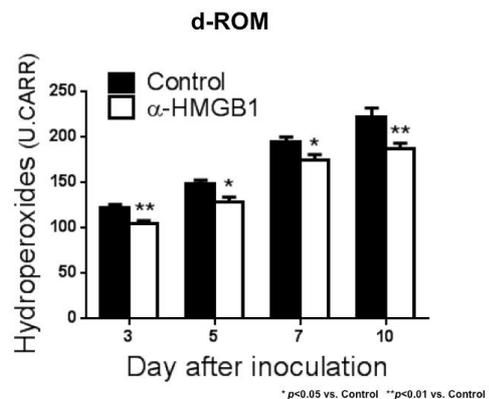


の肺組織中における発現が抗 HMGB1 抗体投与群で感染後 3 日目、5 日目で抑制されていた。同様に NF- κ B(p65)の発現も抑制されていた。



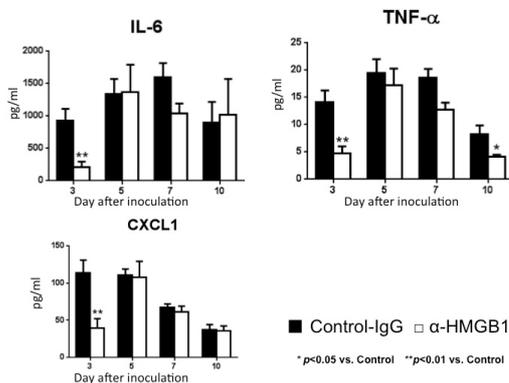
酸化ストレス

血清中の酸化ストレスマーカー（dROM）は抗 HMGB1 抗体投与群において感染後 3 日から 10 日目にかけて有意に抑制されていた。



サイトカイン

気管支肺胞洗浄液中のサイトカイン/ケモカイン（IL-6, TNF- α , CXCL-1）は感染後 3 日目に抗 HMGB1 抗体投与群において有意に抑制されていた。TNF- α については抗 HMGB1 抗体投与群で感染 10 日目にも有意に抑制されていた。



D. 考察

本研究ではマウスインフルエンザ肺炎モデルを使用し、抗 HMGB1 抗体の治療効果を検証した。50%致死率のモデルを作成した後に 2mg/kg の抗 HMGB1 抗体を感染後から 1 日 1 回 3 日間投与した。その結果、ほぼ完全な生存を得るに至った。

RAGE の発現

HMGB1 の代表的なレセプターである RAGE

抗 HMGB1 抗体の投与により、代表的レセプターである RAGE の発現抑制が起こり、そ

の結果インフルエンザ感染における key cytokine の抑制、酸化ストレスの軽減につながり、肺炎症像の改善が得られたものと考えた。一方で今回の実験では抗 HMGB1 抗体の抗ウイルス効果は確認されなかった。したがって、抗炎症・抗酸化作用の抗インフルエンザ治療における重要性が確認できた。

また、この結果は今後発生しうる鳥インフルエンザや SARS コロナウイルス、MERS コロナウイルスにおける急性呼吸窮迫症候群 (ARDS) の脅威に対しても新たな治療法として期待できる可能性がある。

E. 結論

抗 HMGB1 モノクローナル抗体の静脈投与によりマウスインフルエンザ肺炎モデルの生存率の改善と肺組織病変の改善を得た。抗 HMGB1 モノクローナル抗体は新たな重症インフルエンザ感染に対する治療薬として期待できる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Nosaka N, Yashiro M, Yamada M, et al. Anti-High Mobility Group Box-1 Antibody Treatment Provides Protection against Influenza A Virus

(H1N1)-Induced Pneumonia in Mice. Crit Care Med (投稿中)

- Tsuge N, Oka T, Yamashita N, et al. Gene expression analysis in children with complex seizures due to influenza A(H1N1)pdm09 or rotavirus gastroenteritis. J Neurovirol. 2014;20(1):73-84.

2. 学会発表

- 津下充 鶴丸靖子 野坂宜之 藤井洋輔 齋藤有希恵 八代将登 山下信子 塚原宏一 森島恒雄 痙攣重積を示したインフルエンザA(H1N1)pdm09及びロタウイルス胃腸炎の宿主遺伝子発現の解析 第46階日本小児感染症学会 東京 2014年(10月)

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

インフルエンザ治療剤として特許出願中

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

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）

分担研究報告書

メタボローム解析を用いたウイルス性脳症の 新規バイオマーカー候補の探索

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 小児期に発症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、ヒトヘルペス6型(HHV-6)脳症9例と熱性けいれん20例、神経学的合併症のない対照例7名において、急性期血清検体中の代謝物プロファイリングをメタボローム解析にて検討した。検出された物質の中で、HHV-6脳症群では、熱性けいれん群と比較して、11種類の代謝物質の平均値に有意な上昇が認められた。これらの中で、トリプトファン-キヌレニン代謝経路の代謝産物であるキヌレニン・キノリン酸は、対照群と比較しても有意な上昇を示し神経毒性が報告されている物質であることから、病態に関与するバイオマーカー候補と考えられた。昨年インフルエンザ脳症を対照に同様の検討を行った結果と比較して、キヌレニン・キノリン酸は2つの脳症に共通の血清中バイオマーカー候補であった。

A. 研究目的

B. 研究方法

1. 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)。
2. 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。
3. 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。
4. 主成分分析、階層クラスター分析、代謝経路の描出を行った。
5. 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。
6. 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。

C. 研究結果

1. 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)。階層クラスターリングを行い、HeatMap 表示させた結果を得た。

3. 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。
4. 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)。
5. 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、この代謝経路における解析結果を図 2 に示す。

D. 考察

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。

E. 結論

HHV-6 脳症の患者血清を用いた代謝物プロファイリングを行い、脳症群で有意な変動を示した代謝物は、新しいバイオマーカー候補と考えられた。今後、より詳細な解析を行い、その意義を確認する予定である。

F . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) Kato T, Nishida T, Ito Y, Murase M, Murata M, Naoe T. Correlations of programmed death 1 expression and serum IL-6 level with exhaustion of cytomegalovirus-specific T cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cell Immunol*, 288(1-2):53-59, 2014.
 - 2) 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. *J Infect Chemothe*, 20(1):15-9, 2014.
 - 3) 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.
 - 4) 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.
 - 5) 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、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.
 - 2) 伊藤嘉規、河野好彦、鳥居ゆか、安藤将太郎、神谷泰子、鈴木道雄、川田潤一、木村宏、国際標準物質を用いた Epstein-Barr ウイルス・サイトメガロウイルス定量 PCR 系の標準化、第 88 回日本感染症学会学術講演会、福岡、2014.6.18-20.
 - 3) Yoshinori Ito, Yoshihiko Kawano, Yuka Torii, Hajime Sato, Kazunori Sasaki, Tamaki Fujimori, Metabolome analysis reveals involvement of the tryptophan-kynurenine pathway in human herpesvirus 6 encephalopathy, IHW 2014, Kobe, 2014.7.19-23.
 - 4) Michio Suzuki, Tadashi Takeda, Hikaru Nakagawa, Seiko Iwata, Mohammed NA Siddiquey, Fumi Goshima, Yoshinori Ito, Takayuki Murata, Tatsuya Tsurumi, Hiroshi Kimura, Inhibitor B11B021 suppresses cell growth of EBV-associated T and natural killer cell lymphoma, IHW 2014, Kobe, 2014.7.19-23.
 - 5) Jun-ichi Kawada, Michio Suzuki, Yuka Torii, Yoshihiko Kawano, Tomomi Kotani, Fumitaka Kikkawa, Hiroshi Kimura, Yoshinori Ito, IHW 2014, Kobe, 2014.7.19-23.
 - 6) 鈴木道雄、河野好彦、鳥居ゆか、鈴木高子、安藤将太郎、神谷泰子、川田潤一、木村宏、伊藤嘉規、小児期生体肝移植例に対する移植後ワクチン接種の検討、第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会、東京、2014.10.18-19.
 - 7) 河野好彦、川田潤一、鈴木高子、安藤将太郎、神谷泰子、鈴木道雄、鳥居ゆか、伊藤嘉規、先天性サイトメガロウイルス感染症におけるバイオマーカーとしての血漿中ウイルス由来・ヒト由来 miRNA の解析、第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会、東京、2014.10.18-19
 - 8) 川田潤一、鈴木高子、安藤将太郎、神谷泰子、鈴木道雄、鳥居ゆか、木村宏、伊藤嘉規、バルガンシクロビルで治療した先天性サイトメガロウイルス感染症でのウイルス量の検討、第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会、東京、2014.10.18-19.
 - 9) 鳥居ゆか、川田潤一、村田貴之、吉山裕規、鈴木道雄、木村宏、伊藤嘉規、EB ウイルスの単球細胞における Inflammasome 活性化の解析、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014.11.10-12.
 - 10) 鈴木道雄、岩田誠子、Mohammed NA Siddiquey, 佐藤好隆、伊藤嘉規、五島典、村田貴之、木村宏、EBV 関連 T/NK リンパ腫・リンパ増殖性疾患に対するヒト化抗 CCR4 抗体の効果の解析、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014.11.10-12.

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

(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

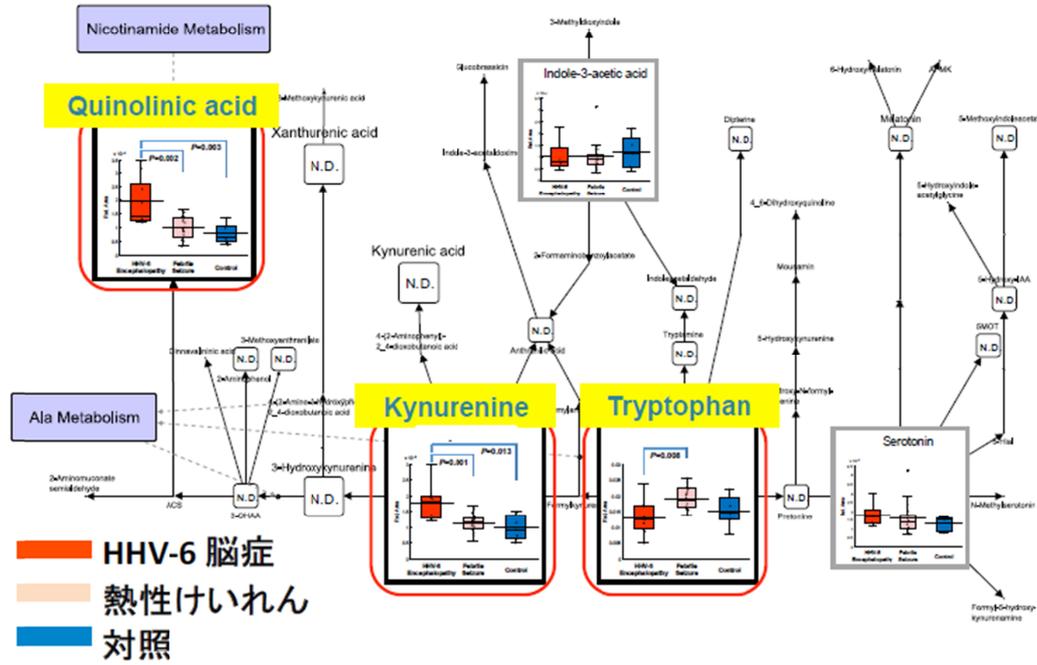
インフルエンザ脳症 > 対照
Kynurenine
 Succinic acid
 Undecanoic acid

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
 Pipecolic 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) キヌレニン代謝経路の代謝物の動態



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）
分担研究報告（平成 26 年度）

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) 2009 年から 2014 年における集中治療室管理を要した重症例を対象とした多因子解析より主要関連因子を抽出しベイズ式ネットワークで各因子の主従関係を明らかにした。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。本検討ではインフルエンザウイルスに対する検討を行った。

B . 研究方法

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 入室の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。

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、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

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、心拍数 147/min、呼吸数 40/min、SpO₂ 92% (RA)、AST29、ALT13、LDH260、TP6.7g/dL、BUN10mg/dL、CRTNN0.33mg/dL、Na137 mEq/L、K 4.1 mEq/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。Mechanical ventilation=8.14+0.017xLDH-2.222xTP。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。

2009-2014 年の間に当院 ICU に入院した患者は 70 例で全体の 17.2%の相当した。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。同モデルを用いた予測も可能であり、その的中率について検討中である。

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。ウイルスの亜型やウイルス量などより多くの因子を解析に含め、今後は治療介入との相関を検討することが必要である。

E . 結論

インフルエンザ呼吸器関連の重症化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。

F . 研究発表

1. 学会発表

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

2. 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

3. 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カルガイド，南山堂，2014;758-764

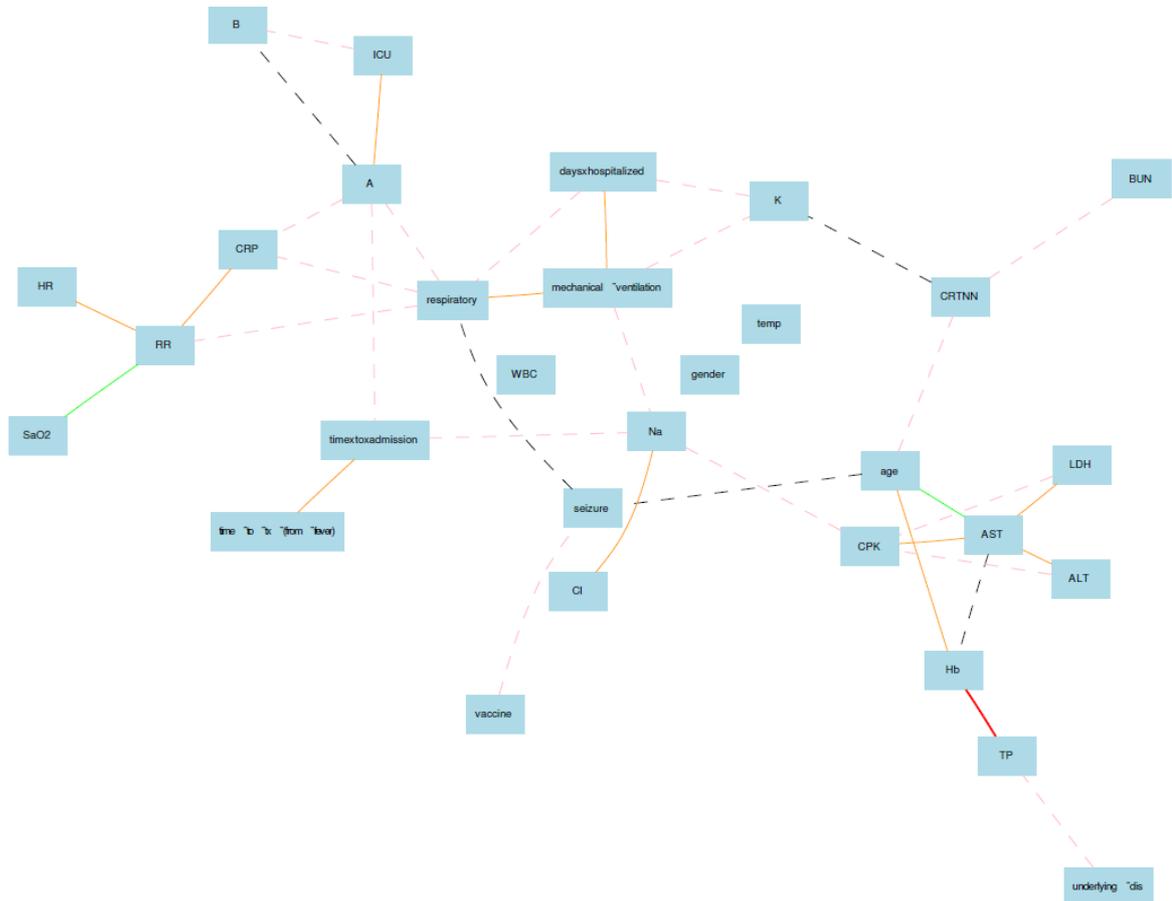
4. その他

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，森岡一郎，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キンググループ，日本小児科学会，2014;5-8

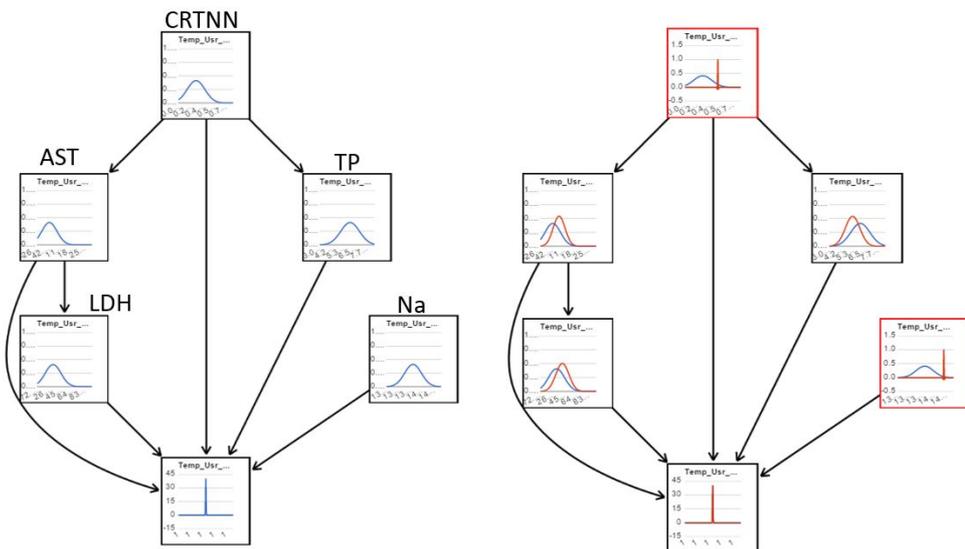
G . 知的所有権の取得状況

なし

集中治療室管理を要したインフルエンザ症例の多因子解析結果（上 相関関連図：実践は強い相関関係、破線は比較的弱い相関関係を示し、暖色は正の相関、寒色は逆の相関を示す）



集中管理を要したインフルエンザ症例データを用いたベ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。



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, 藤井洋輔, 八代将登, 野坂直之, 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 型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)は腎臓特異的ストレスマーカーである。今回、インフルエンザ脳症の小児患者を対象にして新規開発された尿中 L-FABP 迅速キットの有用性を検討した。2 例のインフルエンザ脳症患者(2 歳女性、1 歳男性)を対象に、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。この 2 例では入院時 L-FABP(迅速)は(-)、L-FABP(ELISA)は<3.0 ng/mL であったが、その後は初期予測どおりに急性腎障害を呈さないことが示された。今後は、急性脳症にこだわらず多くの最重症例(その後に急性腎障害を呈するような症例)での検討が必要であると考えられた。

A. 研究目的

生体マーカー計測の長所は非～低侵襲、生体応答的な病態解析、患者容態の継続評価、動物実験との双方向性、迅速診断による緊急対応などである。

L 型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)は 2011 年に保険収載された腎臓特異的ストレスマーカーである。今回、インフルエンザ脳症の小児患者を対象にして新規開発された尿中 L-FABP 迅速キットの有用性を検討した。

B. 研究方法

尿中 L-FABP の迅速キットは 50 μ L を 15 分で解析できる小型スライドである(シミック社、東京)。陽性所見の程度を目視により 1+ ~ 3+ で表した(標準ラインと比べて薄ければ 1+、同程度であれば 2+、濃ければ 3+)。尿中 L-FABP は ELISA(シミック社)でも計測した。

酸化ストレスマーカーである尿中 8-OHdG の迅速検査(ICR-001、テクノメデイカ社、横浜)、尿中 NAG、血清 Cr も計測した。尿中 L-FABP、8-OHdG、NAG、血清 Cr の基準値がそれぞれ(-)、<10 ng/mL(<10 ng/mg Cr)、<30 ng/mg Cr、<10 U/L、<1.2 mg/dL であることが今までの研究結果より示されている。

また、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

急性腎障害(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

2 例のインフルエンザ脳症患者を対象に、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。

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、メチルプレドニゾロン、グロブリン、エダラボンなどの薬物療法が施行された。

患者の入院当日の L-FABP(迅速)は(-)、L-FABP(ELISA)は<3.0 ng/mL であった。尿 Cr は 25.5 mg/dL、NAG 1.2 U/L、B2M 112 μ g/L 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、メチルプレドニゾロン、グロブリンエダラボンなどの薬物療法が施行された。

患者の入院当日のL-FABP(迅速)は(-)、L-FABP(ELISA)は<3.0 ng/mLであった。また、尿NAG 3.1 U/L、B2M 934 μg/L、8-OHdG 72.3 ng/mg Cr(高値)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

今までの研究結果により以下のことが明らかにされている。(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。

今回の研究では、インフルエンザ脳症を呈した2例(2歳女性、1歳男性)では入院時L-FABP(迅速)は(-)、L-FABP(ELISA)は<3.0 ng/mLであったが、その後は初期予測どおりに急性腎障害を呈さないことが示された。

E. 結論

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、当初の予測どおり急性腎障害を呈さなかった。今回は2例のみの検討であり、今後は、急性脳症にこだわらず多くの最重症例(その後に急性腎障害を呈するような症例)での検討が必要であると考えられた。

F. 研究発表

<論文発表>

(1) **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.

(2) 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.

(3) **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.

(4) 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.**

一酸化窒素(NO)と腎疾患(教育講演).

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

喘息モデルマウスを用いた A(H1N1)pdm09 感染による 気管支喘息発作重症化の病態解析

研究分担者 長谷川俊史 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野・准教授
研究協力者 大賀正一 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野・教授
松重武志 山口大学医学部附属病院・講師
脇口宏之 山口大学医学部附属病院・診療助教
岡田清吾 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野・助教
市山高志 鼓ヶ浦こども医療福祉センター・副院長

研究要旨

【背景】研究分担者らはこれまでに 2009 年に流行した新型インフルエンザ (A(H1N1)pdm09) 感染は喘息マウスにおいて非喘息マウスに比し、呼吸器症状を重篤化させている可能性を報告してきた。

【方法】本研究では A(H1N1)pdm09 と季節性インフルエンザ感染における喘息マウスの気管支肺胞洗浄液 (BAL) 中初期免疫応答 (感染後 3 日) について検討する。

【結果】 季節性感染では喘息マウスにおいて BAL 中活性化 NK 細胞数が非喘息マウスに比して有意に低値であった。 A(H1N1)pdm09 感染では喘息マウスにおいて BAL 中活性化 CD8⁺T 細胞数が非喘息マウスに比して有意に低値であった。 A(H1N1)pdm09 感染では喘息マウスにおいて非喘息マウスに比し、BAL 中 IL-6, TNF- α および IFN- γ 濃度が有意に高値で、さらにウイルス力価も高値であった。

【結論】これまでの研究結果とあわせ A(H1N1)pdm09 感染喘息マウスでは季節性に比して、NK 細胞, CD8⁺T 細胞の細胞性免疫の活性化誘導が弱く、感染後早期から気管支喘息重症化の病態に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

研究分担者らはこれまでに 2009 年に世界的に大流行した新型インフルエンザ (A(H1N1)pdm09) 感染は季節性と異なって喘息マウスにおいて非喘息マウスに比し、肺で強いサイトカイン産生およびウイルス増殖を示し、呼吸器症状を重篤化させている可能性を報告してきた。本研究ではさらなる病態解明のため A(H1N1)pdm09 と季節性インフルエンザ感染における喘息マウスの気管支肺胞洗浄液 (BAL) 中初期免疫応答

(感染後 3 日) について検討する。

B. 研究方法

Balb/c マウスを用いて卵白アルブミン (OVA) により喘息モデルマウスを作製し、A(H1N1)pdm09 および季節性インフルエンザウイルス (A/H1N1/Puerto Rico 株) を経鼻感染させ (1×10^5 pfu/20 μ L/マウス), 感染後 3 日に 炎症細胞浸潤 (CD4 陽性 T 細胞, CD8 陽性 T 細胞および NK 細胞), BAL 中サイトカイン濃度 (cytometric bead array 法)

およびウイルス力価（ブランクアッセイ法）について検討した。

（倫理面への配慮）

本研究では培養細胞およびマウスを使用する。マウスの感染実験に関しては敷地内に動物実験施設があり，研究を行っていく上で同施設内の倫理的かつ技術的な講習を受講し，研究計画審査を受け，承認を得たあと本研究を遂行した。

C . 研究結果

季節性感染では喘息マウスにおいて BAL 中活性化 NK 細胞数が非喘息マウスに比して有意に低値であった（図 1）。

A(H1N1)pdm09 感染では喘息マウスにおいて BAL 中活性化 CD8 陽性 T 細胞数が非喘息マウスに比して有意に高値であった（図 2）。

A(H1N1)pdm09 感染では喘息マウスにおいて非喘息マウスに比し，BAL 中 IL-6（図 3），TNF- α および IFN- γ （図 4）濃度が有意に高値で，さらにウイルス力価（図 5）も有意に高値であった。

D . 考察

これまでの研究分担者らの研究結果とあわせ A(H1N1)pdm09 感染喘息マウスでは季節性に比して，NK 細胞，CD8 陽性 T 細胞の細胞性免疫の活性化誘導が弱く，感染後早期から気管支喘息 重症化の病態に関与している可能性が示唆された。IFN- γ については感染後 3 日と 7 日の結果に乖離があり，また産生細胞など不明な点もあるため今後更なる病態解析および予防法の確立が必要である。

E . 結論

これまでの研究結果とあわせ，A(H1N1)pdm09 感染喘息マウスでは季節性に比して，感染後早期から強いサイトカイン

産生およびウイルス増殖がおり，気管支喘息重症化の病態に関与している可能性が示唆された。

F . 研究発表

1 . 論文発表

1. Momonaka H, Hasegawa S, et al. High mobility group box 1 in patients with 2009 pandemic H1N1 influenza-associated encephalopathy. *Brain Dev.* 2014; 36: 484-8.
2. Hasegawa S, Matsushige T, et al. Serum and cerebrospinal fluid levels of visinin-like protein-1 in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Brain Dev.* 2014,36: 608-12.
3. Kajimoto M, Hasegawa S, et al. An 11-year-old girl with recurrent bacterial meningitis due to liquorrhea caused by bone malformation of the skull base. *Brain Dev.* 2014, 36: 637-40.
4. Takahashi K, Hasegawa S, et al. Serum tau protein level serves as a predictive factor for neurological prognosis in neonatal asphyxia. *Brain Dev.* 2014, 36: 670-5.
5. Inamura N, Miyashita N, Hasegawa S, et al. Management of refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia: Utility of measuring serum lactate dehydrogenase level. *J Infect Chemother.* 2014; 20: 270-3.
6. Okada S, Hasegawa S, et al. A novel de novo mutation of β -cardiac myosin heavy chain gene found in a twelve-year-old boy with hypertrophic cardiomyopathy. *J Genet.* 2014; 93: 557-60.

7. Inoue H, Hasegawa S, et al. Traumatic head injury mimicking AESD. *Pediatr Int.* 2014, 56: e58-61.
 8. Hasegawa S, Wakiguchi H, et al. Cytokine profile of bronchoalveolar lavage fluid from a mouse model of bronchial asthma during seasonal H1N1 infection. *Cytokine.* 2014, 69; 206-210.
 9. Kittaka S, Hasegawa S, et al. Serum levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in human herpesvirus-6-infected infants with or without febrile seizures. *J Infect Chemother.* 2014; 20: 716-21.
 10. Maeba S, Hasegawa S, et al. Successful treatment of corticosteroid with antiviral therapy for a neonatal liver failure with disseminated herpes simplex virus infection. *Am J Perinatol Rep.* 2014, in press.
 11. Okada S, Hasegawa S, et al. Acute pericardial effusion representing the TNF- α -mediated severe inflammation but not the coronary artery outcome of Kawasaki disease. *Scand J Rheumatol.* 2014; 29:1-6.
 12. Hasegawa S, Matsushige T, et al. A nationwide survey of opsoclonus-myoclonus syndrome in Japanese children. *Brain Dev.* 2014, in press.
 13. Wakiguchi H, Hasegawa S, et al. The relationship between T cell HLA-DR expression and intravenous immunoglobulin treatment response in Kawasaki disease. *Pediatr Res.* 2014, in press.
 14. Kimura H, Hasegawa S, et al. Molecular evolution of the VP1, VP2, and VP3 genes in human rhinovirus species C. *Sci Rep* 2015, in press.
 15. Wakiguchi H, Hasegawa S, et al. Long-lasting non-IgE-mediated gastrointestinal cow's milk allergy in infants with Down syndrome. *Pediatr Allergy Immunol.* 2015, in press.
2. 学会発表
1. Hasegawa S. Serum and CSF levels of MAP2 in subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) patients. European Paediatric Neurology Society Research Meeting, 2014.9.12 ~13, Bucharest, Romania
 2. 脇口宏之, 長谷川俊史, 他. 喘息モデルマウスを用いたインフルエンザ感染による気管支喘息発作重症化の病態解析. 第117回日本小児科学会学術総会 2014.4.11-13. 名古屋
 3. 長谷川俊史, 脇口宏之, 他. モデルマウスを用いたインフルエンザ感染による喘息発作重症化の病態解析 新型と季節性の比較. 第26回日本アレルギー学会春季臨床大会 2014.5.9~11, 京都.
 4. 脇口宏之, 長谷川俊史, 他. 間質性肺炎とマクロファージ活性化症候群を合併した若年性皮膚筋炎患児のサイトカインプロファイル. 第24回日本小児リウマチ学会総会・学術集会 2014.10.3~5, 仙台
 5. 脇口宏之, 長谷川俊史, 他. 全身性エリテマトーデスとシェーグレン症候群を合併したクラインフェルター症候群の1例. 第24回日本小児リウマチ学会総会・学術集会 2014.10.3~5, 仙台
 6. 兼安秀信, 長谷川俊史, 他. MAP療法前

に4種3剤の生ワクチンを同時接種した多関節型若年性特発性関節炎の1歳児。第24回日本小児リウマチ学会総会・学術集会 2014.10.3~5, 仙台。

7. 長谷川俊史, 脇口宏之, 他. 喘息モデルマウスを用いたインフルエンザ感染に対する細胞性免疫応答の検討 第46回日本小児感染症学会総会・学術総会 2014.10.18-19, 東京.
8. 長谷川俊史, 脇口宏之, 他. 喘息モデルマウスを用いたインフルエンザ感染に対する初期免疫応答の検討. 第51回日本小児アレルギー学会 2014.11.8-9, 四日市, 三重

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1 BAL中活性化NK細胞 (感染後3日)

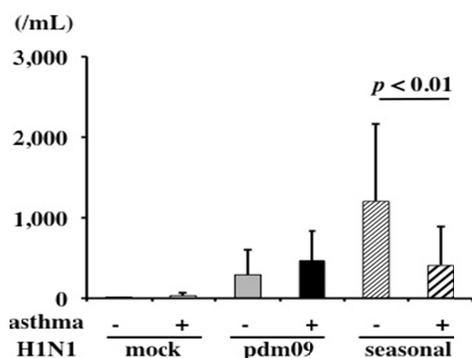


図2 BAL中活性化CD8陽性T細胞 (感染後3日)

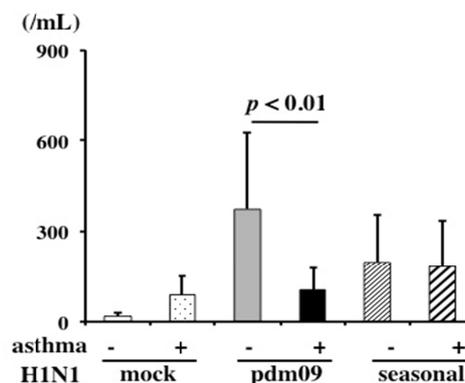


図3 BAL中IL-6濃度 (感染後3日)

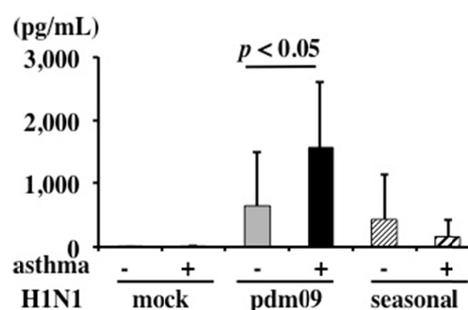


図4 BAL中IFN-濃度 (感染後3日)

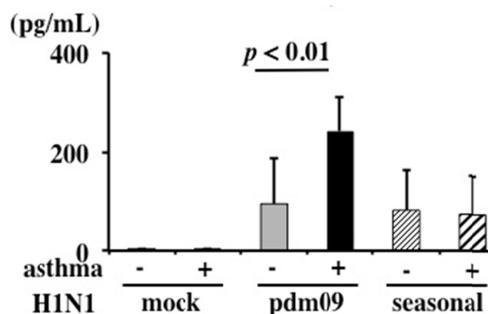
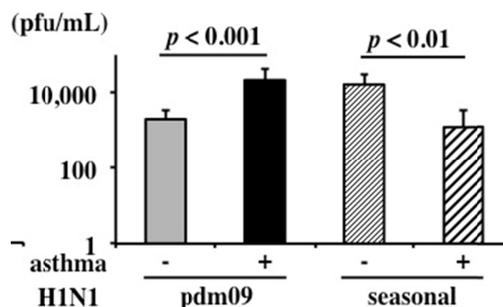


図5 BAL中ウイルス力価 (感染後3日)



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）
分担研究報告書

インフルエンザウイルス(H1N1)及び二次性細菌性肺炎のエピジェネティクス解析

研究分担者 松川昭博 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科免疫病理学・教授

研究要旨

インフルエンザウイルス感染により産生される type-I Interferon によって誘導される SETDB2 は、インフルエンザウイルス感染後の二次性細菌性肺炎のターゲットと考えられる。

A . 研究目的

インフルエンザウイルス感染症は、毎年継続して感染流行を起こし、社会活動にも大きな影響を与えている。さらに数年から数十年ごとに新型のヒトインフルエンザの出現とその新型ウイルスのパンデミックが起こっており、2009 年にも新型インフルエンザ(H1N1)が発生し、世界中で猛威を振ったのは我々の記憶に新しい。インフルエンザウイルス感染単独による死亡率は低い、インフルエンザウイルス感染症は細菌性肺炎などの二次感染の危険性を高め、二次感染を併発すると死亡率は飛躍的に上昇する。インフルエンザウイルス感染症による死亡原因に関する疫学調査では 1918 年のスペイン風邪では死者の 80%以上、2009 年の新型インフルエンザでも死者の 50%以上が二次性細菌性肺炎で死亡していることが報告されている。そこで二次性細菌性肺炎の感受性を規定する因子を明らかにする事を目的とした。

B . 研究方法

野生型および Spred-2 欠損マウスに A/PR8/34(H1N1)を経鼻的に感染させ、その

5 日後に肺炎球菌を経気管的に投与し、感染後の生体反応を比較検討した。

（倫理面への配慮）

動物実験は、岡山大学動物実験指針に基づき、3R の原則に従って実施した。

C . 研究結果

マイクロアレイシステムを用いた解析にて、type-I IFN (IFN-I) またはインフルエンザウイルスの刺激を受けた気道上皮細胞やマクロファージでは、H3K9 のメチル化(転写抑制)を誘導する酵素の一つである SET domain, bifurcated 2 (SETDB2)の有意な上昇を認めた。この SETDB2 はヒストン修飾に関わる酵素の中ではH1N1 感染により唯一有意な発現上昇を認める酵素であった。H1N1 感染で死亡した患者の剖検肺の検討でも、気道上皮細胞やマクロファージに SETDB2 の発現が認められた。また、SETDB2 の上昇は type-I Interferon (IFN-I)依存性で、IFN-I のレセプター欠損 (IFN- α R KO) マウスは、二次性細菌性肺炎の原因菌として最も頻度の高い肺炎球菌を用いて作成した二次性細菌

菌性肺炎モデルでは、野生型 (WT) マウスと比較して有意な生存率の改善を認めた。

D . 考察

H1N1 感染での SETDB2 の発現上昇は二次性細菌性肺炎に対する感受性のマーカーとなりうる。

E . 結論

インフルエンザウイルス感染により産生される type-I Interferon によって誘導される SETDB2 は、インフルエンザウイルス感染後の二次性細菌性肺炎のターゲットと考えられた。

F . 研究発表

1 . 論文発表

- Xu Y, Ito T, Fushimi S, Takahashi S, Itakura J, Kimura R, Sato M, Mino M, Yoshimura A, Matsukawa A. Spred-2 deficiency exacerbates lipopolysaccharide-induced acute lung inflammation in mice. PLoS One. 2014 Oct 2;9(9):e108914

2 . 学会発表

- 伊藤利洋、板倉淳哉、河原明奈、小田晋輔、伏見聡一郎、松川昭博：インフルエンザ(H1N1)感染症ならびに二次性細菌性肺炎のエピジェネティクス解析 第 103 回日本病理学会総会 2014.4.24-26. 広島
- 板倉淳哉、小田晋輔、河原明奈、佐藤美和、美野愛、伏見聡一郎、伊藤利洋、松川昭博：Spred2 欠損マウスにおける敗血症抵抗性のメカニズム 第 103 回日本病理学会総会 2014.4.24-26. 広島
- 水田亮、伊藤利洋、板倉淳哉、伏見聡

一郎、松川昭博：間質性肺炎モデルにおける Spred-2 の役割 第 103 回日本病理学会総会 2014.4.24-26. 広島

G . 知的所有権の取得状況

1 . 特許取得

該当なし

2 . 実用新案登録

該当なし

3 . その他

該当なし

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。本年度は、日本人小児インフルエンザ脳症患者 72 例 (ケース群) 及び日本人一般集団 934 例 (コントロール群) の全ゲノム関連解析 (GWAS) で既に得られている SNP の遺伝子型の情報に基づいて、「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 (5.0×10^{-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

本年度は、日本人小児インフルエンザ脳症患者 72 例 (ケース群) 及び日本人一般集団 934 例 (コントロール群) の GWAS で既に得られている約 50 万箇所の 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。

(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、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

インプテーションにより、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 (5.0×10^{-8}) をクリアした。しかしながら、21 箇所全ての SNP において、インプ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。

D . 考察

ジェノタイプ・インプテーションとは、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が、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。

E . 結論

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

題目

「病態及び解析結果からみた重症インフルエンザ肺炎・脳症治療ガイドライン作成のための根拠収集」

研究分担者 河島 尚志 [東京医科大学小児科主任教授]

協力研究者 山中 岳 [東京医科大学小児科講師]

森地 振一郎 [東京医科大学小児科助教]

研究要旨

回復期のSPECTとMRIの併用により急性脳症の長期予後予測が可能であるが、急性期のSPECT所見から急性脳症と複雑型熱性けいれんなどと鑑別することは困難であった。てんかんで見出される電位依存性イオンチャンネルに関連した遺伝子変異が、急性脳症の予後不良因子の一つとして考えられ、抗けいれん薬や鎮静薬剤の使用法に慎重な検討が必要である。インフルエンザ脳症の一部の患者ではHMGB1が関与した病態を伴っている。

A. 研究目的

インフルエンザ脳症は初期には死亡率が 30% に達する予後不良な疾患であったが、近年の死亡率は 7-8% まで減少している。しかし、後遺症が残る患児も多数経験されるいまだ予後不良の疾患である。このため、現状で得られている知見よりさらに病態解析・診断・治療を blush up する必要がある。診断上では熱性けいれん複合型との鑑別が常に臨床上問題となる。今回、脳血流シンチの診断的有用性および、てんかん性脳症の代表である Dravet 症候群に対して、感染性脳症の特異治療である脳低温療法を施行し、その病態の差を検討した。さらに、病態や後遺症との関連を知るため、インフルエンザ脳症における High-mobility group box 1 (HMGB1) を検討した。

B. 研究方法

急性脳症と熱性けいれん重積との鑑別 :
^{99m}Tc-SPECT 等の有用性の検討

2005 年 1 月～2010 年 12 月の 6 年間に急性脳症の疑いにて当院に入院した 127 例を対象に脳症が確定群、非確定群、否定群に分類し検討を行った。JCS10 以上の意識障害が 12 時間以上遷延し、脳波・頭部 MRI・SPECT にて異常所見を認めた症例を脳症確定群とし、脳症非確定群は、意識障害 (JCS10 以上) は遷延しなかったが、脳波にて高振幅徐波などの急性脳症を支持する所見を認めたか、画像所見にて異常所見を認めた例とした。前述のいずれも認めなかった例を、脳症否定群とした。各種血液検査並びに SPECT の結果と予後を総合し統計処理した。

てんかん性脳症と感染性の急性脳症の類似点の検討

急性脳症を発症した Dravet 症候群に対して mild BHT を含む集中治療を行い、自験例と髄液サイトカインの変動を感染性

急性脳症と比較検討した。

症例は 13 か月の男児。生後 3 か月から無熱性けいれんを認め、10 か月までに有熱時のけいれん重積を繰り返し、遺伝子検査で *SCN1A* 遺伝子異常が確認された。生後 13 か月時に 80 分持続するけいれん重積が出現したため、急性脳症の合併を考慮しガンマグロブリン療法とステロイドパルス療法を施行した。第 2 病日より 35 を目標とした BHT 開始した。経過中のサイトカインプロファイリングを感染性急性脳症と比較した。

High-mobility group box 1 (HMGB1) の検討

感染の初期免疫応答として、PAMPs と DAMPs がサイトカイン誘導の第 1 段階のシグナルを伝えると考えられ、特に DAMPs の代表として、炎症関連タンパク質 High-mobility group box 1 (HMGB1) がある。インフルエンザ脳症において関与を知るため、血清中ならびに髄液で ELISA にて測定した。

C. 研究結果

脳症疑いにて入院した患児の約 1 割が脳症確定群、約 2 割は脳症非確定群であった。脳症非確定群の短期予後については良好であった。SPECT のみ異常所見が確認された例は、脳波異常を認めない例が多かった。重度後遺症を伴った例は全例が脳症確定群のけいれん重積型脳症であり、髄液中 IL-6、AST、ALT、CPK が高い傾向を認めた。脳症非確定群は、脳症確定群、否定群との比較において、クレアチニンを除く入院時検査所見、性別、発症年齢など臨床像に差異はみられなかった

急性期の SPECT による複雑型熱性けいれ

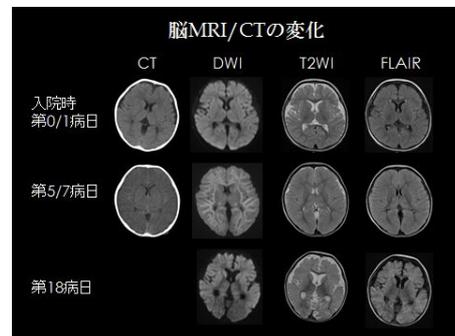
んなどの良性疾患と鑑別することは困難であった。回復期 SPECT は MRI と併用することで急性脳症の長期予後予測に有用であった(表)。

Case	F/M	Age (months)	Preceding infection	PH	FH	Duration of convulsions (min)	EEG (Interictal)	MRI (Interictal)	SPECT (Interictal)
1	M	107	FluA	ELBW	-	-	HSV	NP (0)	F, ILP (2)
2	F	6	HHV-6	-	-	40 >	lt.HSV	NP (5)	lt.F-T (8)
3	M	8	HHV-6	-	FS	15, 5	NP (5)	NP (14)	rt.F-P (7)
4	M	10	HHV-6	-	FS	20, 2	NP (6)	NP (5)	F, rLP (8)
5	M	14	RS	RA	-	60?	HSV	NP (2)	lt.lobe patchy (2)
6	M	13	ND	-	Epilepsy	60	SW, Asym	NP (4)	lt.F-P, rt.P-T (2)
7	F	48	ND	FS	-	40	HSV (7)	HIA (7)	F-P (8)
8	M	109	ND	-	-	-	NP (2)	NP (4)	F-P (8)
9	F	11	FluA	-	-	10	HSV	NP (0)	NP (13)
10	F	11	FluA	-	-	15, 1	NP (0)	NP (6)	NP (5)
11	F	22	FluB	-	-	3	O.HSV	NP (12)	NP (1)
12	M	78	FluB	-	Epilepsy	-	SW	NP (2)	NP (3)
13	M	108	FluB	FS, AD/HD	depression	1	NP (1)	NP (11)	NP (5)
14	M	47	ND	RA	-	-	HSV	A. cyst	NP (3)
15	M	13	FluB	-	FS	5, 3, 3	HSV	NP (13)	-
16	M	23	FluB	-	-	30	SW	NP (3)	-
17	M	13	HHV-6	-	FS	30	HSV	NP (11)	-
18	M	59	RS	ELBW	-	60	D.SW	NP (1)	-
19	F	4	Nara	-	-	3	NP	NP (0)	-
20	F	17	ND	-	Epilepsy	30	Asym	NP (21)	-
21	F	53	ND	-	FS	40	lt.HSV	NP (11)	-

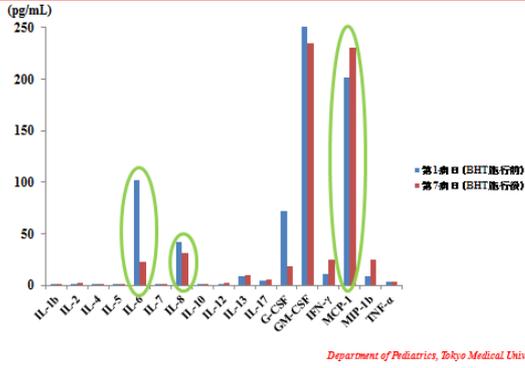
ND: not detected; NP: not particular; ELBW: extremely low body weight; EB: bronchial asthma; FS: febrile seizure; HSI: high-spike slow waves; SW: slow waves; Asym: asymmetric; HIA: high-intensity area; A. cyst: amoebic cyst; F: frontal; T: temporal; Q: occipital

Dravet 症候群では、第 1 病日までの頭部 MRI では拡散強調像を含め、特記すべき異常を認めなかったが、第 5 病日に拡散強調像で大脳皮質化白質に広範な拡散能の低下を認め、bright tree appearance が認められ、両側視床にも高信号が認められた。第 18 病日では全体的に脳実質の萎縮が認められた(図参照)。

サイトカインプロファイリングは BHT 前後の髄液において、Dravet 脳症、感染性急性脳症例ともに BHT を開始してから炎症性サイトカインの IL-6 の速やかな低下が、ケモカインの代表である IL-8 は緩徐に低下した。ケモカインである MCP-1 が感染性急性脳症では上昇していたが、Dravet 脳症例では上昇していなかった(図参照)。



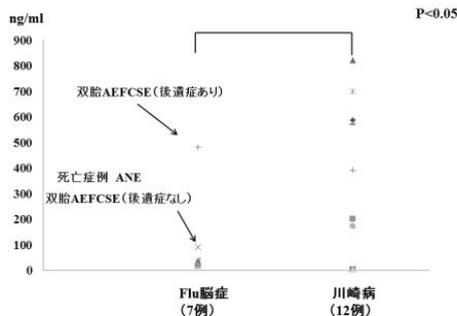
脳低温療法前後の髄液サイトカインプロファイリング



Department of Pediatrics, Tokyo Medical Univ.

HMGB1は血清中ではインフルエンザ脳症患児は一部の予後不良例で上昇でのみ著増していた。髄液中も一部の予後不良患者でのみ上昇していたが、化膿性髄膜炎よりは低値であった。これらよりインフルエンザ脳症の一部の患者ではHMGB1が関与したpathwayによる病態を伴っていると考えられる(図参照)。

Serum HMGB1(ELISA)



Department of Pediatrics, Tokyo Medical Univ.

D. 考案

回復期のSPECTとMRIの併用により急性脳症の長期予後予測が可能であったが、急性期のSPECTでは急性脳症と複雑型熱性けいれんなどと鑑別することは困難であった。熱性けいれん(複合型)においても急性期にSPECTの異常が認められるとの報告があり、急性期の脳血流評価の難しさを示唆していた。

また、ヒトてんかんで見出される遺伝子

異常のうち、電位依存性イオンチャンネルに関連した遺伝子変異は Dravet 症候群、熱性けいれんプラスなど多岐に報告されている。このため、感染罹患時の急性脳症の予後因子として、急性脳症に関連した電位依存性イオンチャンネル遺伝子変異が推測される。電位依存性ナトリウムチャンネルサブユニット1型蛋白をコードする *SCN1A* 遺伝子では、重篤度の大きく異なる複数種のでんかんで既に200を超える数の疾患変異が報告されており頻度が高く、薬剤による中毒が起こりやすいとされる。*SCN1A* 遺伝子異常をもつ急性脳症に対し抗けいれん薬や鎮静薬剤の使用法に慎重な検討が必要である。

インフルエンザ脳症の一部の予後不良の患者ではHMGB1が関与した病態を伴っていることも知れた。

E. 研究発表

論文発表

- Morichi S, Yamanaka G, Ishida Y, Oana S, Kashiwagi Y, Kawashima H. Brain-derived neurotrophic factor and interleukin-6 levels in the serum and cerebrospinal fluid of children with viral infection-induced encephalopathy. *Neurochem Res* 39(11):2143-2149, 2014
- Kashiwagi Y, Kawashima H, Suzuki S, Nishimata S, Takekuma K, Hoshika A. Marked elevation of excitatory amino acids in cerebrospinal fluid obtained from patients with rotavirus-associated encephalopathy. *J Clin Lab Anal*, 2014 Aug 17. doi: 10.1002/jcla.21774, 2014
- Ishida Y, Kawashima H, Morichi S, Yamanaka G, Okumura A, Nakagawa S, Morishima T. Brain magnetic resonance

imaging in acute phase of pandemic influenza A (H1N1) 2009-associated encephalopathy in children. *Neuropediatrics* 46(1):20-5. 2015

4. 吳宗憲, 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カインプロファイル. *小児感染免疫* 26(1) 21-29, 2014

5. 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

6. 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

7. 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): 3643, 2014

学会発表

1. 河島尚志. ウイ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

2. 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

3. 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

4. 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

5. 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

6. 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

7. 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

8. 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

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。全国の救命救急センターに対し、重症呼吸不全に対する ECMO 治療に関するアンケート調査を行い、データを解析する。
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。
シミュレーション・トレーニング。
症例登録の解析。
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）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%）

【Q01】重症呼吸不全に対し ECMO 治療が行えますか

はい 98%、いいえ 2%

【Q02】ECMO 機材は何台ありますか

1 台 11%、2 台 36%、3 台 24%、それ以上 29%

【Q03】同時に何人に対し ECMO 治療が行えますか

1 人 11%、2 人 38%、3 人 38%、それ以上 13%

【Q04】呼吸不全に対する ECMO の年間症例数をお答え下さい

（循環不全・呼吸不全の合併症例も含め）
なし 20%、1 例 16%、2 例 24%、3 例 9%、4 例 11%、5 例 4%、6～9 例 9%、10 例以上 7%

【Q05】小児への対応は可能ですか

（複数選択可）

成人の体格 62%、6 歳程度 31%、1 歳 24%、新生児 13%、できない 29%

【Q06】ECMO 専用の記録用紙はありますか

ある 38%、ない 62%

【Q07】今後の新型インフルエンザ症例の ECMO 依頼を受け入れられますか
可能 78%、不可能 4%、今はわからない 18%

現場の医師は、アンケート調査から判明したように、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。

(2) 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。

(3) シミュレーション・ラボ

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
8 施設、24 名の参加。インストラクター：8 施設、33 名 (医師 21 名、看護師 7 名、臨床工学技士 5 名)。

(4) 日常診療における ECMO 症例登録
28 施設、171 症例

1) ECMO 離脱

死亡	57 (33%)
生存	113 (66%)
未登録	1 (データ漏れ)

2) 生存退院

死亡	85 (50%)
生存	76 (44%)
未登録	10 (これらは入院中など)

最大の問題点は ECMO センターが本邦には存在しないため、海外施設と比較し各病院での患者症例数が少ないために、医療関係者の経験値が低いことにある。このため、

2009 年の新型インフルエンザに対する成績よりは改善しているものの、依然として治療におけるレベルが低くなっていることが疑われる。

(5) 海外の有名施設からの情報収集ならびに研修

ガイズ&セント・トーマス病院 ECMO センター

ロンドンを対象とした ECMO センターで、最も多くの患者を治療している。2010 年に新たに ECMO センターに指定され、急速な発展と治療成績の向上が行われた。日本も参考にすべき点が多々あるが、各施設で始めることは困難で、行政の指導の下に行われるべきであると思われる。

D. 考察

現場の医師は、アンケート調査から判明したように、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。

自衛隊航空機での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。

ECMO センターが本邦には存在しないため、海外施設と比較し各病院での患者症例数が少ないために、医療関係者の経験値が低いことにある。このため、2009 年の新型インフルエンザに対する成績よりは改善しているものの、依然として治療におけるレベルが低くなっていることが疑われる。

今後、治療成績の向上を行うためには、このような状況を改善させる必要がある。そのためには適切な機材を使用すること、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。学会を通じた ECMO 治療の啓蒙、臨床現場でのシミュレーションラボなどを行い、全ての病院の底上げを行う必要があると思われる。

E. 結論

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。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。

F . 研究発表

論文発表

市場晋吾、清水直樹、竹田晋浩. 重症呼吸不全に対する Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO). 日本集中治療医学会雑誌 2014; 21: 313-322

青景聡之、竹田晋浩. 重症インフルエンザ治療と extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). 日本集中治療医学会雑誌 2014; 21: 478-480

竹田晋浩、青景聡之. 進化した呼吸管理 ECMO. 日本呼吸器内科学会雑誌 2014; 3: 777-782.

青景聡之、竹田晋浩. 重症呼吸不全に対する ECMO 治療について。医療機関における新型インフルエンザ等対策 ミニマム・エッセンシャルズ。監修：岡部信彦、編集：田辺正樹、

大曲貴夫。南山堂。71-76,2014,10,1.

青景聡之、竹田晋浩。ECMO。実践シミュレーション教育。監修：志賀隆、編集：武田聡、万代康弘、池山貴也。メディカル・サイエンス・インターナショナル。256-263,2014,7,7.

青景聡之、竹田晋浩。ARDS Berlin その後。ECMO ができる施設、すべきでない施設。INTENSIVIST 2015; 7: 101-4

G . 知的所有権の取得状況

- 1 . 特許取得
なし。
- 2 . 実用新案登録
なし。
- 3 . その他
なし。

新型インフルエンザ等に対する診療体制整備

WHO はじめ国外との連携体制

研究分担者 清水直樹

東京都立小児総合医療センター 救命・集中治療科 部長

研究要旨

WHO/SARI コースは感染症・集中治療の広汎な内容を包括したコースであり、集中治療基盤強化など国内パンデミック対策指針への応用も可能である。小児呼吸不全死亡は3割程度の減数に留っており、インフルエンザ以外にもRSVや百日咳等の感染による preventable death が潜在している可能性があった。わが国小児呼吸ECMO実施率も単施設症例ポリウムも少なく、診療品質を担保できない。搬送時期を失わない症例集約とECMO診療拠点化を実現するために、小児重症呼吸不全の転送基準策定と情報共有、ECMO搬送体制の整備が喫緊の課題である。

A．研究目的

新型インフルエンザ等により惹起された小児重症呼吸不全に対する体外式膜型人工肺 extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) 等を含めた診療体制整備につき、World Health Organization (WHO) はじめ国外との連携体制を含めて検討することを目的とし、以下2項目の研究を実施した。

- 1) WHO が提供する SARI コース (regional training for clinical management of avian influenza A (H7N9) and other causes of severe acute respiratory infection) に参加し、アジア各国における展開と展望等につき報告する。
- 2) 小児重症呼吸不全に対するECMO診療の提供体制ならびに小児呼吸ECMOのcandidate 潜在と転帰にかかる研究を行う。

B．研究方法

1) WHO/SARI コースの展開について

2014年5月に中国で開催されたWHO/SARI コースに参加し、H7N9等にかかる疫学情報を得るとともに、新型インフルエンザ等のパンデミックに備えた診療体制の地域整備にかかる教育体制について検討した。

さらに、同年9月にベトナムで開催された同コースにファカルティとして参加し、国内事情を加味したWHO/SARI コースの適正化と、国家全土への普及過程につき検討した。

2) 小児重症呼吸不全とECMO診療体制

わが国の小児死亡原因における呼吸不全の位置づけと、新型インフルエンザをはじめとした各種呼吸器感染症による小児死亡の疫学について検討した。

さらに、わが国の小児重症呼吸不全患者に対するECMO診療提供状況を国際比較し、

国内における ECMO 診療提供体制にかかる各種の問題点について検討した。

小児重症呼吸不全に対する ECMO 等を含めた診療体制整備につき、転送基準案の策定を提言し、さらなる調査計画につき検討した。

(倫理面への配慮)

人権擁護上の配慮をし、調査は匿名化し、個人情報保護について十分に徹底した。

C . 研究結果

1) WHO/SARI コースの展開について

2014 年 5 月 16 日から 18 日にわたって、中国江蘇省南京市で開催された WHO/SARI コースに参加した。わが国からは医師 3 名が参加した。専門は感染症・呼吸器内科の医師 2 名に加え、当方は集中治療と小児科の専門性を背景に、WHO temporary adviser として参加することとなった。

海外からの参加者は図 1 のとおり開催国である中国はじめとして、広く ASEAN 各国にわたり、モンゴル、ネパールに及んだ。ファカルティーとしては、米国・カナダ・英国・ネパール・シンガポール・日本からの協力が得られていた。

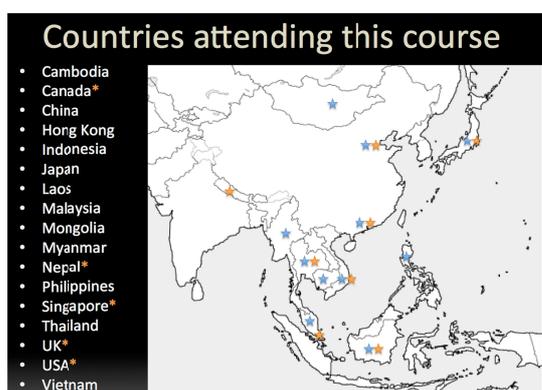


図 1 WHO/SARI コース参加者



コース内容は、感染症にかかる内容と、集中治療にかかる内容とに広く及んでおり、参加者も双方の専門性を有する者に加えて、病院管理者も集っていた。

- Epidemiology update
- Research update
- Pre-test (post-test after the course)
- Introduction of critical care management of SARI
- Infection prevention and control
- Pathophysiology of severe sepsis and ARDS
- Diagnosis of SARI
- Differential diagnosis and specimen collection
- Antimicrobial therapy & true test interpretation
- Oxygen therapy
- Delivery of target resuscitation
- Monitor-recorded response
- Adjunctive therapies
- Lung protective ventilation
- Sedation and delirium
- Prevention (of complication in ICU)
- Liberation from invasive ventilation
- Quality in critical care
- Ethics and culture

また、研修様式としては、座学に加えて、「roleplay」というインタラクティブな症例ベースの小グループディスカッションに多くの時間を割いていたのが特徴である。

疫学情報としては、H7N9 の中国における経験が語られ、他のインフルエンザタプとの相違も示された。ECMO 診療については、コース中に多くが触られることはなく、中国国内における H7N9 に対する ECMO 診療の経験も限定的であった（図 2）。



図 2 中国での H7N9 流行域（WHO 資料）

総じて、コース構築については、多職種多国籍が特徴であった。感染症専門医のみならず集中治療・小児集中治療専門医も集い、看護師他、検査部門・病院管理者等も含まれていた。内容的には部分的に高度であった可能性もあったが、異なった観点での情報交換が可能であった。

コースの意義としては、重篤新興感染症の発生端緒としての集中治療部門における、感染制御・診断・治療にかかる医療品質の基盤を整備する目的が明確であった。内容的には、呼吸循環管理を中心とした集中治療の基本骨格をおさえてあり、優れたコース内容であった。また、有事の際の、感染症専門家・病院管理者との連携の重要性を再認識することが可能であった

わが国への還元可能性と課題としては、

- ・ インストラクター参画を続け、新型インフルエンザをはじめとする新興感染症についての、ASEAN 諸国ならびに中国との情報交換・人材交流を保つ
- ・ 国内パンデミックに備えるための、集中治療基盤整備を考察する一助となる

などが考えられた。

2014 年 9 月 22 日から 26 日にわたって、ベトナム・ハノイ市において、同コースの adaptation / implementation が実施され、ファカルティとして再参加する機会を得た。

ベトナム・ハノイ市にある National Hospital for Tropical Diseases (NHTD) が中心となり、ベトナム全土にわたる National, Provincial, District の各層にわたる感染症・救命救急・集中治療・小児集中治療に従事する医師を集めていた。ベトナムでは、感染症の専門家が集中治療を兼務することが多い様子であった。また、小児集中治療は、ハノイ小児病院ならびにホーチミン市の小児病院に集約化されており、優れた小児集中治療医が存在していた。

22-24 日の 2 日間で、WHO/SARI コースのベトナム医療事情への adaptation を検討し、それを基に 26-27 日の implementation が実施された。さらに、参加はできなかったが、29-30 日にかけてホーチミン市近郊の AnGiang において district レベルへの implementation が実施された。

国家レベルでのトップダウンでの啓発が一気に実施されており、非常に組織だった普及体制であったことが印象的であった。

これらのコースを通じての提案は下記のとおりである。

- ・ 本コースへのファカルティとしての参画を続け、人材交流維持と情報最新化を図る
- ・ WHO/WPRO に対して、ECMO を含めた集中治療学的側面を含めた医科学的貢献をする
- ・ 国内 ECMO センターの拠点化・集約化の動きのなか、紹介元施設の基本的な集中治療基盤を強化すると共に、紹介先施設での ECMO 管理の内容も包括した、パンデミック対策指針の策定に应用することが可能（WHO 許可があれば翻訳可能）

2) 小児重症呼吸不全と ECMO 診療体制

【需要】

平成 24 年厚生労働省人口動態統計月報年計（概数）の概況によると、主な死因別死亡数の割合として肺炎は第 3 位である。わが国 3 大死因のひとつである脳血管疾患の死亡率は低下傾向であるが、肺炎による死亡は悪性新生物・心疾患に匹敵する増加傾向にある（図 1 a・1 b）。

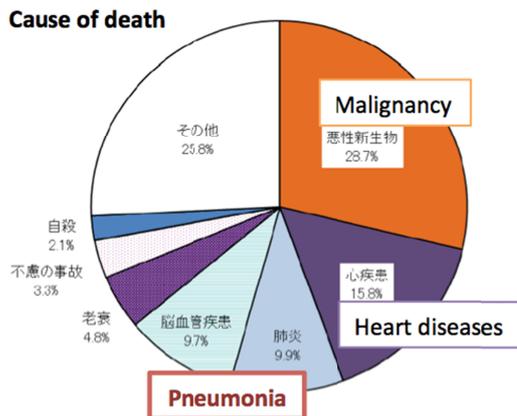


図 1 a 主な死因別死亡数の割合

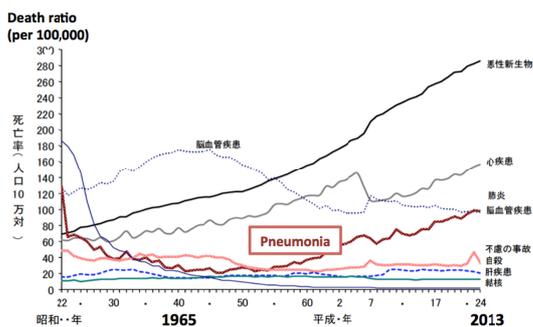


図 1 b 主な死因別死亡率の年次推移

小児重症呼吸不全の原因のひとつである肺炎は、死因の筆頭ではないものの、常に死因の上位に位置している。その一方で、悪性新生物や慢性心疾患、その他を含んだ小児慢性特定疾患等に対する手厚い国家の健康政策補助の恩恵を殆ど享受していない疾患領域となっている（図 2）。

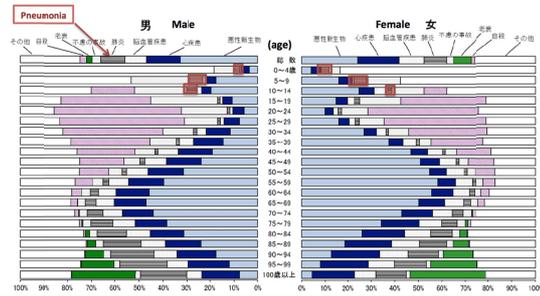


図 2 年齢階級別にみた主な死因構成

平成 15 年から 25 年にかけて過去 10 年におよぶ年齢別死因の推移を図 3 に示した。平成 15 年もしくはその近傍の年度における疾患群（不慮の事故、乳児突然死症候群：SIDS、循環不全、呼吸不全）の死亡数を 100% とし、その後の経年的推移を示したものである。図 3 a において、不慮の事故として 2011 年データのみ突出しているのは東日本大震災の影響である。これを除いたデータを図 3 b に示した。小児死因として重視される不慮の事故を筆頭に、SIDS も循環不全も、最近 10 年間で死亡数は低下傾向にあり、何れもほぼ半減していた。一方、呼吸不全による死亡数にあつては 3 割程度の減数に留まっており、不慮の事故の減数と比較しても統計的に有意に低下傾向が鈍であった（ $p < 0.001$ ）。

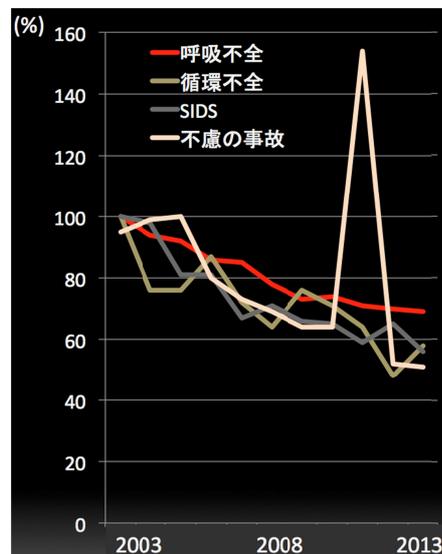


図 3 a 小児死因の経年推移

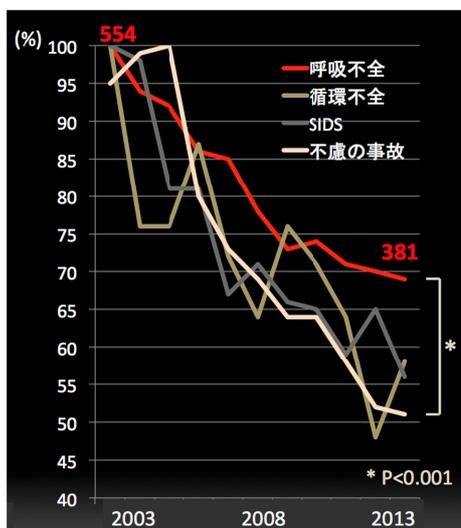


図 3 b 小児死因の経年推移
(不慮の事故 2011 年データを除く)

2008 年から 2009 年に発生した H1N1 新型インフルエンザ・パンデミックについて、日本小児科学会が実施した調査によると、死亡症例 41 例が報告されている。そのうち、急性呼吸窮迫症候群 acute respiratory distress syndrome (ARDS) などの呼吸不全による死亡は 6 例(15%)と報告されている。一方、同時期に行われた日本集中治療医学会新生児小児集中治療委員会調査によると、ARDS 22 例が小児で報告され、死亡数はわずか 1 例(<5%)であった(人工呼吸 2010)。この格差は、小児重症呼吸不全患者が救命救急・集中治療の治療環境に至ることなく、小児医療の枠内に留まって転帰を悪化させている可能性を示唆するものであった。

新型ならびに季節性インフルエンザ感染以外にも、RSV 感染や百日咳感染は、小児重症呼吸不全をきたしうる感染症である。

国立感染症研究所からの報告によれば、2008 年から 2012 年の 5 年間で、年間平均 31.4 人(28-36 人)の子ども達が RSV 感染により死亡していることが示され、報道にもなった。RSV 感染は、小児医療領域において典型的な self-limited disease であり、高い確率で救命しうる疾患群である。年間平均約 30 名の死亡のうち、preventable

death がどの程度なのかは不明であるが、後に述べる小児重症呼吸不全に対する ECMO 等を含めた診療体制の整備により救命できた症例が多く含まれている可能性がある。

百日咳感染は、2000 年代以降、成人患者の発生率が増加傾向にある。ワクチン効果が減弱した成人百日咳感染者が、ワクチン接種前の乳児の感染源となることが指摘されている (Pediatr Infect Dis J 2014)。さらには、乳児の百日咳感染は重篤化する傾向にあり集中治療を要することが多いとされている。米国において小児集中治療室に入室した百日咳患者の 83%が 3 ヶ月未満とされ (PCCM 2013)、1 ヶ月以下の死亡率は約 30%と報告されている (MMWR 2008)。わが国における、百日咳感染により重篤化した小児重症呼吸不全患者の疫学データは得られておらず、いまだに減少しない呼吸不全死亡の中に潜在している可能性がある。

【供給】

こうした需要のなか、小児重症呼吸不全に対する ECMO 等を含めたわが国の診療体制の整備状況は、極めて貧弱である。2012 年に実施された国内の小児 ECMO 疫学調査によると、国内において小児重症呼吸不全に ECMO が用いられたのは、全体の 19%に留まっているが、2011 年の extracorporeal life support organization (ELSO) からの報告では、72%にもおよぶことが示されている (図 4)。

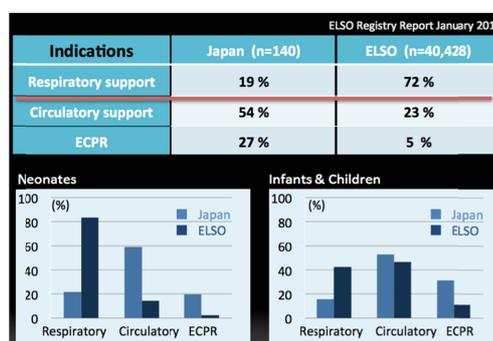


図 4 わが国における呼吸 ECMO 使用状況
(本間 JSICM 2012, Shimizu EURO-ELSO 2012)

わが国では、こうした小児に対する ECMO 診療が、年間経験症例数 1 例程度の施設で実施されていることが殆どであり、十分な症例数を確保できていないことが示された（中川 JSRCM 2011）。国際 ECMO ネットワーク（ECMO Net）の Position Paper によれば、年間 ECMO 症例数 10 例未満施設に比較して、年間 20 例以上の施設では治療成績が良いことが示されており、ECMO 症例の集約化が必要であるとされている。わが国の状況はこれに遥かに遠く、それによる転帰悪化が如何ほどかは不明である。

当施設において、集中治療室に勤務する医師・看護師・臨床工学技士に対して実施したアンケート調査によると、年間症例数 15-20 例を越えた頃から ECMO 診療に不安を感じなくなり、技能維持に必要な年間症例数を 10-20 例以上とする職員が全体の 88%（15-20 以上が 59%）に及んでいた（図 5）。

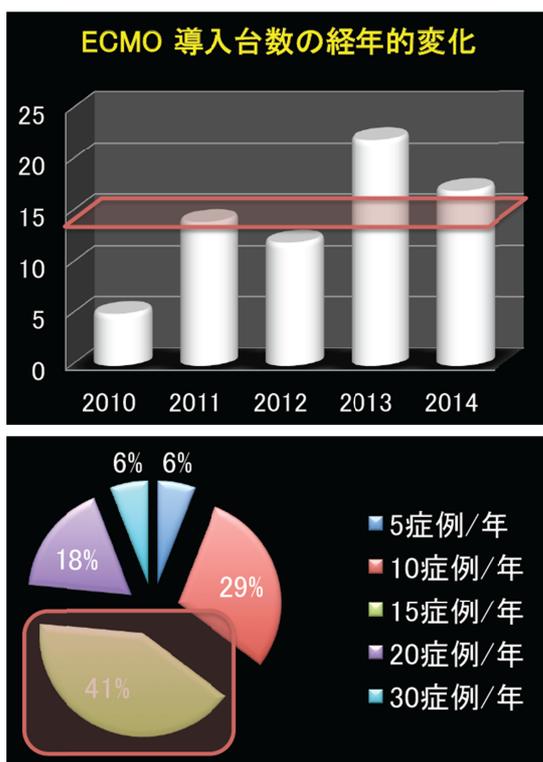


図 5 ECMO 診療品質を維持するのに必要な年間 ECMO 症例数（アンケート調査）（居石 JSICM 2015）

新生児・乳児に対する呼吸 ECMO に用いられるカテーテルは、国内には 1 種類の製品しか存在していない（2015 年 3 月 1 日現在）。VV-ECMO 用のダブルルーメンカテーテルで、12Fr と 15Fr の製品がある。2010 年から 2014 年の期間における国内 distributor からの納品数は、12Fr. A 大学 64 本、当院 19 本、B 病院 19 本であり、その他施設は年間 1 桁、また 15Fr. A 大学 20 本、当院 15 本、C 病院 5 本であった。A 大学における使用は VV-ECMO に対する使用でないこともあり、国内で新生児・乳児に VV-ECMO を実施し得る施設は極めて少なく、実施されてもその年間症例数が限定的であることが示された。

小児重症呼吸不全に対する ECMO 等を含めた診療体制が、特定施設において整ったとしても、その施設への患者搬送が実施できなければ意味がない。当院開設後の実績の中で、搬送が極めて困難だった症例や、搬送できずに死亡に至った症例は、数多く記録されている（図 6）。

	診断	搬送距離	チーム派遣	経過	転帰
1	ARDS, H1N1 (症例 1)	50 km	○	搬送困難	生存
2	ARDS, H1N1 (症例 2)	30 km	○	搬送困難	生存
3	Acute myocarditis	30 km	×	前医搬送、搬送直後に ECPR	生存
4	ARDS, pneumonia	60 km	○	前医での ECMO 導入を補助	生存
5	ARDS, RS virus	30 km	○	前医での ECMO 管理を補助	死亡
6	PPHN	20 km	○	搬送不能	死亡
7	ARDS, AML	40 km	○	搬送不能	死亡
8	ARDS, ALL	40 km	○	搬送不能	死亡
9	ARDS, pneumonia	50 km	×	搬送不能・直近施設に搬送依頼	死亡

図 6 搬送困難症例・不搬送死亡症例（小谷 JSICM 地方会 2014）

こうした症例の救命のために、海外においては ECMO 搬送が実施されている。わが国における先端的な ECMO 搬送体制の整備については、2014 年度から厚生労働科学研究：新型インフルエンザ等を起因とする急性呼吸窮迫症候群に対する体外式膜型人工肺療法の治療成績向上の為のシステム構築（竹田班）において研究を実施した。

当院においては約 20 件におよぶ院内 ECMO 搬送を実施して安全性を検証し、日本医科大学救命救急センター・集中治療部門と共に施設間 ECMO 搬送シミュレーションを実施した。2014 年 11 月には、わが国初の小児・乳児 ECMO 搬送を、あいち小児保健医療総合センターと東京都立小児総合医療センター間の陸路 339km において、搬送時間 5 時間 40 分にわたって実施し、有害事象なく成功に至った。症例は約 1 ヶ月の ECMO 治療の後に離脱成功、救命されて名古屋までバックトランスファーされた。

D . 考察

1) WHO/SARI コースの展開について

アジア 2 カ国における、WHO/SARI コース (5 月中国・9 月ベトナム) に参加してきた。

コース内容としては、疫学・感染症・集中治療・病院管理など幅広く充実していた。コンテンツについても各分野エキスパートによるレビューを経ており、信頼できるものであった。

ベトナム以降もフィリピン開催などへの協力要請を得ており、今後もファカルティとしての参画を続け、新型インフルエンザをはじめとする新興感染症についての、ASEAN 諸国ならびに中国等との情報交換・人材交流を保つことは重要であると考えられた。さらに、国内パンデミックに備えるための、集中治療基盤整備を考察する一助とも十分なりうるコンテンツであり、翻訳や一部改訂なども十分に視野にはいる内容であった。

一方、ECMO 治療についての言及は乏しく、今後はわが国からも WHO に対し、ECMO 等の集中治療学的側面を含めた医科学的貢献をすることが肝要であると考えられた。

さらに、ECMO センターの国内拠点集約化の動きのなか、紹介元施設における基本的な集中治療基盤を強化すると共に、紹介先

施設における ECMO 管理の内容も包括して、パンデミック対策指針の策定に応用することも可能であると考えられた (WHO 許可があれば翻訳可能)。

2) 小児重症呼吸不全と ECMO 診療体制

厚生労働省人口動態統計月報年計 (概数) のからの分析によれば、小児重症呼吸不全の原因のひとつである肺炎は、死因の筆頭ではないものの、常に死因の上位に位置していた。また、過去 10 年の年齢別死因推移を見ると、小児死因として重視される不慮の事故を筆頭に、SIDS も循環不全も、最近死亡数は低下傾向にあり、何れもほぼ半減していた。一方、呼吸不全による死亡数にあっては 3 割程度の減数に留まっており、不慮の事故の減数と比較しても統計的有意に低下傾向が鈍であった ($p < 0.001$)。

悪性新生物や慢性心疾患、その他の小児慢性特定疾患等に対しては、旧来より国家の手厚い健康政策補助の恩恵が与えられてきたが、小児重症呼吸不全はこうした恩恵を殆ど享受してこなかったばかりか、その死亡数の減少においても他の疾患群と比較して、有意な格差が認められた。

2008-2009 年の H1N1 新型インフルエンザのパンデミックにあっては、小児重症呼吸不全患者が救命救急・集中治療の治療環境に至ることなく、小児医療の枠内に留まって転帰を悪化させている可能性を示唆するデータが示された。また、こうした新型ならびに季節性インフルエンザ感染以外にも、RSV 感染や百日咳感染は小児重症呼吸不全をきたしうる重要な呼吸器感染症である。

RSV 感染により失っている小児死亡年間平均約 30 名のうち、preventable death がどの程度なのか、ECMO を含めた診療体制の整備で救命できた症例がどの程度存在しているのか、より詳細な調査が必要である。

2000 年代以降増加傾向にある百日咳感染

も、乳児においては重篤化する傾向にあり集中治療を要することが多いとされている。わが国における、百日咳感染により重篤化した小児重症呼吸不全患者の疫学データは得られておらず、いまだに減少しない呼吸不全死亡の中に潜在している可能性があるため、併せて詳細な調査が必要である。

小児重症呼吸不全に対する ECMO 診療の提供体制にあっては、わが国での呼吸 ECMO 実施率が海外との比較において極めて低いこと、単施設における症例ボリュームが明らかに少なく、ECMO の診療品質を担保し得ないこと、適切な搬送時期を失したため搬送困難・搬送不能となり、死亡を含めた転帰悪化を来した症例が存在すること、

ECMO 搬送体制がまだ発展途上であること、等々、様々な問題が露呈した。

今後に向けては、小児重症呼吸不全をもたらし新型・季節性インフルエンザ感染をはじめとして、RSV 感染症・百日咳感染症の病状と転帰をふくめた疫学調査を全国的に実施する必要があり、計画を開始した。

さらに、小児重症呼吸不全に対する ECMO 等を含めた診療提供体制につき、小児呼吸 ECMO 治療の適正化・標準化とその普及、VV-ECMO カテーテルはじめ医療資機材等の国内整備・国産開発の推進、小児重症呼吸不全の転送基準策定と情報共有、ECMO 診療の拠点化と ECMO 搬送体制の整備が必須であり、喫緊の課題であると考えられた。

E . 結論

WHO/SARI コースは、感染症・集中治療の広汎な内容を包括した充実したコースであった。コースを通じ新興感染症についての、ASEAN 諸国ならびに中国等との情報交換・人材交流を保つことは重要である。今後はわが国からも WHO に対し ECMO 等集中治療を含めた医学的貢献をすることが肝要である。さらに、ECMO センターの国内拠点集約化の

動きのなか、紹介元施設における基本的な集中治療基盤強化など、国内パンデミック対策指針の策定に応用することも可能であると考えられた。

小児呼吸不全での死亡は 3 割程度の減数に留まり、救命救急・集中治療環境に至ることなく転帰が悪化している可能性が示唆された。新型・季節性インフルエンザ以外にも、RSV や百日咳等の感染による preventable death が潜在している可能性があるため詳細調査が必要である。わが国の小児 ECMO 診療提供体制にあっては、呼吸 ECMO 実施率も単施設症例ボリュームも少なく ECMO 診療品質を担保し得ない状況にある。また、適切な搬送時期を失して搬送困難・不能となり死亡を含めた転帰悪化を来した症例が存在し、小児重症呼吸不全の転送基準策定と情報共有、ECMO 診療の拠点化と ECMO 搬送体制の整備が喫緊の課題である。

F . 研究発表

1 . 論文発表

1) 清水直樹

新生児重症呼吸不全に対する ECMO 救急・集中治療、Vol.26, No.11, 2014, pp1484-91

2) 清水直樹

ECMO : 小児、新生児を中心に INTENSIVIST、Vol.7, No.1, 2015, pp93-100

2 . 学会発表

1) 居石崇志、清水直樹、森島恒雄、他
小児呼吸 ECMO: 診療品質向上にむけた試み、日本集中治療医学会、東京、2015

2) 清水直樹、齊藤修、竹田晋浩、他
小児重症呼吸不全症例の施設間搬送 : ECMO 搬送について、日本救急医学会、京都、2014

3) 小谷匡史、齊藤修、清水直樹、他
2014/2014 年シーズン中に当院 PICU へ入室したインフルエンザ H1N1 による重症呼吸不全の 2 例、日本集中治療医学会関東甲信

越地方会、東京、2014

4) 長井勇樹、齊藤修、清水直樹、他
小児重症呼吸不全に対する ECMO 搬送システム構築の試み、日本呼吸療法医学会、秋田、2014

5) 居石崇志、齊藤修、清水直樹、他
体外式膜型人工肺(ECMO)を要したインフルエンザ A(H1N1)pdm09 による鑄型気管支炎の1例、日本小児科学会東京地方会、東京、2014

6) Naoki Shimizu, et al.
Paediatric severe respiratory failure and ECMO systems, 日本集中治療医学会、京都、2014

G . 知的所有権の取得状況

1 . 特許取得

なし

2 . 実用新案登録

なし

3 . その他

特記事項なし

ウイルス性疾患による重症呼吸不全に対する膜型人工肺を用いた体外循環補助療法（extracorporeal membrane oxygenation; ECMO）の可能性

研究分担者 中川 聡 国立成育医療研究センター病院 集中治療科医長

研究要旨

膜型人工肺を用いた体外循環補助療法（extracorporeal membrane oxygenation; ECMO）は、重症の呼吸不全に対して用いられる治療法である。この治療法が、近年の新興感染症に対して、どのように用いられているかを調査した。ECMO は、H7N9 インフルエンザ、Middle East Respiratory Syndrome で用いられているが、その報告は少なく、全体像は把握できなかった。また、去年は、米国でエンテロウイルス D68（EV-D68）が流行し、小児の ECMO 患者が報告されている。国内の小児医療専門施設での呼吸補助としての ECMO の実情と、その呼吸不全の原因としてのウイルス同定の状況を調べたところ、12 年余りの期間に 18 例の小児呼吸 ECMO 症例があり（新生児症例の除く）、その中でウイルスが同定されていた患者は 6 人（麻疹 2、respiratory syncytial virus 2、インフルエンザ 1、ヒト・メタニューモウイルス 1）だった。ウイルス感染症による重症呼吸不全に対して ECMO は適応となりうるが、症例集積などを行いつつ、その成果を判断する必要がある。

A. 研究目的

膜型人工肺を用いた体外循環補助療法（extracorporeal membrane oxygenation; ECMO）は、従来は科学的根拠のない治療法との位置づけで、積極的な使用は限られた施設のみで行われてきた。しかし、2009 年の H1N1 インフルエンザの世界的な流行の際に、世界各地から ECMO の有用性に関する報告が相次ぎ、この治療法を見直すきっかけとなった。本研究では、H1N1 インフルエンザ流行以降のウイルス性疾患による重症呼吸不全に対する ECMO の使用の全世界的状況とその可能性に関して検討した。また、国内の小児医療専門施設としての国立成育医療研究センター病院での小児

患者に対する呼吸補助としての ECMO の現状と、ECMO を必要とした病態におけるウイルス感染症の関与を検討した。

B. 研究方法

Medline による文献検索、並びに、海外専門家との交信による情報収集を行った。対象とする疾患としては、今回は、H7N9 インフルエンザ、Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS CoV)、エンテロウイルス D68 (EV-D68) について情報収集を行った。また、国立成育医療研究センターでのウイルス性疾患による重症呼吸不全に対する ECMO の使用状況を調査した。

C. 研究結果

1. H7N9 インフルエンザ

2013 年の前半より、中国では、H7N9 インフルエンザの流行が見られた。Hu ら(1) は、上海では第一波の流行の際に、3 人の ECMO 患者が発生したことを報告している。当初、上海では、H7N9 インフルエンザ患者を隔離管理する目的で、Shanghai Public Health Clinical Center に患者を集約したとされている (Dr. Li X, Shanghai Chest Hospital; personal communication)。この施設は、上海市郊外にあり、市内から患者を移送する際には、比較的長距離の患者搬送を余儀なくされた。Hu らの報告では、3 人の ECMO 患者のうち 2 人死亡、1 人が ECMO 管理中と報告されていた(この患者も最終的には死亡したとの情報を得た、Dr. Li; personal communication)。

H7N9 インフルエンザの流行では、上記の上海以外でも、中国全土で ECMO が使用されたと考えられるが、これまでに、まとまった ECMO 症例の報告がない。上記の Dr. Li から情報を得たところ、浙江省では、第一波の際に 14 人の患者が ECMO 管理を受け、そのうち 6 人が生存したとの報告を得た。

その後、H7N9 インフルエンザは、2013 年の末から 2014 年にかけて第二波の流行があった。この第二波では、広東省などの中国南部にも流行が広がった。上海市では、第二波の流行の際には、重症患者を一か所に集約させることはしなかった。また、ECMO は、広く使用されたであろう状況であるものの、どのくらいの数の患者に使用されたかの情報が得られていない。

上記のように、H7N9 インフルエンザの

流行で、中国では、ECMO という治療法が応用可能であるという認識にはなったものの、それまでに ECMO の経験の蓄積のない施設で行われた可能性が高いという指摘が、Dr. Li からあった。

2. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS CoV)

MERS CoV は、サウジアラビアなどの中東国を中心に流行している。2014 年 11 月 3 日の時点で、WHO は 897 人の患者が発生し、そのうち 325 人が死亡したと発表している。この疾患では、respiratory syndrome と名付けられている通り、呼吸不全が主たる症状であり、最重症患者では、ECMO 治療の対象となる。Birmingham ら(2) は、MERS の患者が、中東からイギリスに転送され、ECMO 治療になっていることを報告している。また、Guery ら(3) は、中東を訪問したフランス人が、フランス帰国後に MERS を発症、フランス国内の病院に入院し ECMO 治療を必要としたことを報告した。さらに、院内感染で、別の入院患者も MERS に感染し、その患者も ECMO を必要としたことを報告した。

このように ECMO 治療が整備されているイギリスやフランスからは、MERS に対して ECMO が応用しうる状況が報告されている。一方で、MERS の流行地域での中東諸国で、どの程度 ECMO が用いられているかの報告は、調べる限りで見つからない。

3. エンテロウイルス D68 (EV-D68)

2014 年の夏のシーズンは、米国で EV-D68 の流行が見られた。米国疾病予防

管理センターは、2014年の11月6日の段階で、その年の8月から、1116人でEV-D68感染が同定されたと報告している。Midgleyら(4)は、米国ミズーリ州とイリノイ州で、EV-D68の流行により、小児患者が集中治療を必要とした状況を報告した。カンザス州では、19人が集中治療を必要とした。また、シカゴ市(イリノイ州)では、10人が集中治療を必要とし、そのうち、1人は、ECMO管理となった。Dr. Hikinoによると(personal communication)、2014年の8月以降は、シカゴの小児集中治療施設では、多くのEV-D68による小児の呼吸不全患者を経験したとのことであった。EV-D68による小児の呼吸不全患者の流行は、2014年以前は報告されていない。

4. 国立成育医療研究センターでのウイルス感染症による呼吸ECMOの状況

国立成育医療研究センターでは、2002年から2014年までの期間に、合計で108症例のECMO治療を行った。このうち、26人が呼吸不全のためにECMO管理を必要とした。このうち、新生児の呼吸不全が8例、小児の呼吸不全が18例だった。小児の呼吸不全のうち、原因ウイルスが同定できた症例は6症例で、その内訳は、麻疹2例、respiratory syncytial virus 2例、インフルエンザ1例、ヒト・メタニューモウイルス1例だった。

D. 考察

流行性のウイルス性呼吸器感染症としては、これまでは、インフルエンザのみが注目されてきた。しかし、現在のグローバル化のなかで、海外での新興感染症が日本で

も流行する可能性は、高いといわざるを得ない。その中で、海外で、呼吸補助としてECMO治療を必要とした最近のウイルス感染症の状況を調査した。この中で、中国のH7N9インフルエンザ、中東地域を中心に発生しているMERS、また、2014年の夏に米国で流行したEV-D68は、今後、我が国にも伝播しうる感染症として認識するのが良いと判断された。また、これ以外の感染症に対しても、重症呼吸不全に対してECMO治療が応用される可能性は高く、日頃から、それぞれの地域における対応システムを整えておくことが重要であると考えられた。

また、国内の小児専門医療施設における呼吸補助としてのECMO症例数は、年間に数例程度であることがわかった。原因となるウイルスが同定された症例はそれほど多くはない。

ウイルス感染症による重症呼吸不全に対しては、ECMOは選択しうる治療法である。しかし、その効果に関しては、症例を蓄積して判断をする必要がある。また、非パンデミック時は、呼吸不全でECMOを必要とする患者数はあまり多くない。パンデミック時に、重症呼吸不全患者にECMO管理を適切に供給するためには、それぞれの地域内での体制整備を行う必要がある。

E. 結論

ウイルス性疾患による重症呼吸不全に対してのECMO管理としては、近年、H7N9インフルエンザ、MERS CoV、EV-D68などのウイルス感染症に対して使用されていることが分かった。これらのウイルス性疾患以外にも、重症の呼吸不全に対しては、

ECMO は使用される可能性が高い。

文献

- 1 . Hu Y, et al. Association between adverse clinical outcome in human disease caused by novel influenza H7N9 virus and sustained viral shedding and emergence of antiviral resistance.
- 2 . Bermingham A, et al. Severe respiratory illness caused by a novel coronavirus, in a patient transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012. Euro Surveill 2012 October 4; 17:20290.
- 3 . Guery B, et al. Clinical features and viral diagnosis of two cases of infection with Middle East Respiratory Syndrome coronavirus: a report of nosocomial transmission. Lancet 2013; 381:2265-71.
- 4 . Medgley CM, et al. Severe respiratory illness associated with enterovirus D68, Missouri and Illinois, 2014. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2014; 63:798-9.

F. 研究発表

論文発表

1. Nakagawa S, Shime N. Respiratory rate criteria for pediatric systemic inflammatory response syndrome. Pediatr Crit Care Med 2014; 15:182.
2. 日本集中治療医学会小児集中治療委員会(志馬伸朗、中川 聡、ほか) . 日本での小児重症敗血症に診療に関する合意

見 . 日集中医誌 2014;21:67-88.

3. 中川 聡 . World Sepsis Day. INTENSIVIST 2014; 6:352-54.
4. 中川 聡 . 小児の DIC . 重症集中ケア 2014; 13(3):63-65.

学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

平成26年度研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Tsukahara H.	Oxidative stress biomarkers: Current status and future perspective	Tsukahara H, Kaneko K	“Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders”	Springer	USA	2014	87-113
Yashiro, et al.	Thioredoxin therapy: Challenges in translational research	Tsukahara H, Kaneko K	“Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders”	Springer	USA	2014	233-252
Tsukahara, et al.	Infectious and inflammatory disorders	Tsukahara H, Kaneko K	“Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders”	Springer	USA	2014	371-386
Nagasaka, et al.	Oxidative stress in inherited metabolic diseases	Tsukahara H, Kaneko K	“Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice - Pediatric Disorders”	Springer	USA	2014	387-404
河合直樹 廣津伸夫 池松秀之	インフルエンザ診療マニュアル2014-2015年シーズン版	柏木 征三郎 岩城 紀男	インフルエンザ診療マニュアル(2014 - 2015年版)	一般社団法人日本臨床内科医会	東京	2014	1-49

青景聡之、 竹田晋浩	重症呼吸不全に対する ECMO 治療について	岡部信彦、田 辺正樹、大曲 貴夫	医療機関における新型インフルエンザ等対策 ミニマム・エッ センシャルズ	南山堂	東京	2014	71-76
青景聡之、 竹田晋浩	ECMO	武田聡、万代 康弘、池山貴 也	実践シミュレーション教育	メディカル・サイエ ンス・インターナショナル	東京	2014	256-63
松川昭博	炎症の分子機構	一瀬白帝，鈴 木宏治	図説分子病態学 5版	中外医学社	東京	2014	91-98

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ishida Y, Kawashima H, Morichi S, Yamana G, Okumura A, Nakagawa S, Morishima T	Brain magnetic resonance imaging in acute phase of pandemic influenza A (H1N1) 2009-associated encephalopathy in children.	Neuropediatrics	46(1)	20-5.	2015
Tsuge N, Oka T, Yamashita N, et al.	Gene expression analysis in children with complex seizures due to influenza A(H1N1)pdm09 or rotavirus gastroenteritis.	J Neurovirol	20	73-84	2014

Yamayoshi S, Yamada S, Fukuyama S, Murakami S, Zhao D, Uraki R, Watanabe T, Tomita Y, Macken C, Neumann G, Kawaoka Y	Virulence-affecting amino acid changes in the PA protein of H7N9 influenza A viruses.	Journal of Virology	88	3127-3134	2014
Neumann G, Macken CA, Kawaoka Y.	Identification of amino acid changes that may have been critical for the genesis of A(H7N9) influenza viruses.	Journal of Virology	88	4877-4896	2014
Sakai-Tagawa Y, Ozawa M, Yamada S, Uchida Y, Saito T, Takahashi K, Sugaya N, Tashiro M, Kawaoka Y.	Detection sensitivity of influenza rapid diagnostic tests.	Microbiology and Immunology	58	600-606	2014
Kato T, Nishida T, Ito Y, Murase M, Murata M, Naoe T.	Correlations of programmed death 1 expression and serum IL-6 level with exhaustion of cytomegalovirus-specific T cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.	Cell Immunol	288	53-59	2014
Hara S, Kawada J, Kawano Y, Yamashita T, Minagawa H, Okumura N, Ito Y.	Infantile Human Parechovirus-3 Infection in Comparison with Other Infectious Diseases.	J Infect Chemother	20	15-19	2014
Yamashita Y, Ito Y, Iwasomura 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	922-992	2014
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
Kanazawa T, Hiramasu 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	5057-5084	2014

Momonaka H, et al.	High mobility group box 1 in patients with 2009 pandemic H1N1 influenza-associated encephalopathy.	Brain Dev.	36	484-8	2014
Hasegawa S, Wakiguchi H, Okada S, Gui Kang Y, Fujii N, Hasegawa M, Hasegawa H, Ainai A, Atsuta R, Shirabe K, Toda S, Wakabayashi-Takahara M, Morishima T, Ichiyama T.	Cytokine profile of bronchoalveolar lavage fluid from a mouse model of bronchial asthma during seasonal H1N1 infection.	Cytokine	69(2)	206-10	2014
Watanabe T, Zhong G, Russell CA, Nakajima N, Hatta M, Hanson A, McBride R, Burke DF, Takahashi K, Fukuyama S, Tomita Y, Maher EA, Watanabe S, Imai M, Neumann G, Hasegawa H, Paulson JC, Smith DJ, Kawaoka Y.	Circulating avian influenza viruses closely related to the 1918 virus have pandemic potential.	Cell Host Microbe	15(6)	692-705	2014

Sakai K, Ami Y, Tahara M, Kubota T, Anraku M, Abe M, Nakajima N, Sekizuka T, Shirato K, Suzaki Y, Ainai A, Nakatsu Y, Kanou K, Nakamura K, Suzuki T, Komase K, Nobusawa E, Maenaka K, Kuroda M, Hasegawa H, Kawaoka Y, Tashiro M, Takeda M.	The host protease TM PRSS2 plays a major role in in vivo replication of emerging H7N9 and seasonal influenza viruses.	J Virol	88(10)	5608-16	2014
Morichi S, Yamanaka G, Ishida Y, Oana S, Kashiwagi Y, Kawashima H.	Brain-derived neurotrophic factor and interleukin-6 levels in the serum and cerebrospinal fluid of children with viral infection-induced encephalopathy	Neurochem Res	39(11)	2143-2149	2014
Kashiwagi Y, Kawashima H, Suzuki S, Nishimata S, Takekuma K, Hoshika A.	Marked elevation of excitatory amino acids in cerebrospinal fluid obtained from patients with rotavirus-associated encephalopathy	J Clin Lab Anal	2014 Aug 17.	10.1002/jcla.21774	2014
清水直樹	ECMO：小児、新生児を中心に	INTENSIVIST	Vol.7 No.1	93-100	2015
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カインプロファイル	小児感染免疫	26巻1号	21-29	2014
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巻2号	241-246	2014
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巻9号	1419-1420	2014

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巻3号	36-43	2014
清水直樹	新生児重症呼吸不全に対するECMO	救急・集中治療	Vol. 26 No.11	1484-91	2014
市場晋吾、清水直樹、竹田晋浩	重症呼吸不全に対する Extracorporeal Membrane Oxygenation (ECMO)	日本集中治療医学会雑誌	21	313-322	2014
青景聡之、竹田晋浩	重症インフルエンザ治療と extracorporeal membrane oxygenation (ECMO)	日本集中治療医学会雑誌	21	478-480	2014
竹田晋浩、青景聡之	進化した呼吸管理 ECMO	日本呼吸器内科学会雑誌	3	777-782	2014
青景聡之、竹田晋浩	ARDS Berlin その後。ECMO ができる施設、するべきでない施設	INTENSIVIST	7	101-4	2014
中島典子、佐藤由子、片野晴隆、長谷川秀樹	ウイルス性肺炎	病理と臨床	32(10)	1146-53	2014
松川昭博、伊藤利洋	Ras-Raf-ERK経路からみたA型インフルエンザ(H1N1)感染	NEUROINFECION	19	40-42	2014