

令和元年6月13日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09579

研究課題名(和文) 気道ウイルス感染が喘息発作に及ぼす影響に関する前向きコホート研究

研究課題名(英文) The molecular epidemiology of respiratory viruses associated with asthma attacks
A single-center observational study in Japan

研究代表者

皿谷 健 (TAKESHI, SARAYA)

杏林大学・医学部・准教授

研究者番号：40549185

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：気管支喘息発作における気道ウイルス感染の関与を調査した。観察期間中に106人の喘息発作患者(入院49症例、外来57症例)から得られた鼻咽頭ぬぐい液または喀痰を調査した。入院症例、外来症例のそれぞれ75.3%、19.3%でウイルス陽性を示し、前者で有意に高かった。検出されたウイルスはライノウイルス(HRV)、ヒトメタニューモウイルス(hMPV)、インフルエンザウイルス、RSウイルス(RSV)が多かった。HRVとRSVは秋に最も多く、インフルエンザは冬から春に多く検出された。さらにhMPVは春から夏に多く検出された。本邦のウイルス感染の喘息発作の影響を通年性に調査した初めての報告となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、通年性の気管支喘息発作に寄与する呼吸器ウイルスの全体像が明らかとなった。また原因となる呼吸器ウイルスには季節性が存在すること、従来より指摘されていたマイコプラズマニューモニエやクラミドフィラニューモニエなどの細菌感染の関与は認めなかった。気管支喘息発作に最も影響を与えるウイルスは感冒の主たるウイルスであるライノウイルスであり、分子遺伝学的には多様性を示していることが判明した。

研究成果の概要(英文)：A total of 106 asthma attack patients enrolled in this study in both inpatient (n=49) and outpatient (n=57) settings. Among these, patients with virus alone (n=39), virus and bacterial (n=5), and bacterial alone (n=5) were identified. The frequency of virus-positive patients was significantly higher in inpatients (75.3%, n=33) than in outpatients (19.3%, n=11). Major VRIs included human rhinovirus (HRV) (n=24), human metapneumovirus (hMPV) (n=9), influenza virus (Inf-V) (n=8), and respiratory syncytial virus (RSV) (n=3) infections with seasonal variations. HRV-A and HRV-C were the most commonly detected viruses, with wide genetic divergence on phylogenetic analysis. Asthmatic exacerbations in adults are highly associated with VRIs such as HRV-A or HRV-C, hMPV, RSV, and Inf-V infections with seasonal variations and genetic divergence, but similar frequencies of VRIs occurred in asthma attack patients throughout the seasons.

研究分野：呼吸器感染症

キーワード：気道ウイルス 気管支喘息発作 季節性 マイコプラズマ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者らはマイコプラズマ(MP)気道感染などの潜行する気道感染がマクロファージの TLR2 発現を亢進させ、気道過敏性を増大させることをマウスモデルを用いて示した(申請者 *Results In Immunol* 2012)。ついで 44 症例の喘息患者について発作時の気道感染を調べたところ、9 症例(20.5%)にライノ、RS などウイルスが検出同定され、かつ、ウイルス陽性群の発作の重症度は陰性群を比べると高かった(申請者、*Front Microbiol.* 2014)。本邦では気管支喘息の増悪における呼吸器ウイルスの研究がほとんどなく、通年性の原因ウイルスの研究は皆無であり、気管支喘息の重症度、気管支喘息発作時の呼吸器ウイルス感染の有無、炎症のパラメーターについて多角的に検討することが必要である。

2. 研究の目的

本研究では中等・重症の喘息患者 200 例について発作時の気道感染の頻度と持続性を調べ、感染病原体を同定し、呼気 NO や凝集液中のサイトカイン、動脈血炭酸ガス分圧などのパラメーターの動向を探り、また、治療への反応性を明らかにする。呼吸器ウイルスまたは細菌による気道感染が喘息発作に与える影響を多面的かつ、プロスペクティブに解明する。

3. 研究の方法

本研究は、杏林大学に本部を置く 3 施設共同前向きコホート研究である。実験計画書、手順書に準じて、ATS/ERS の中等・重症の喘息患者に対し 6 ヶ月間で 200 例にベースライン検査を実施し、登録票に基本情報を記入し試験本部に送付する。試験本部は登録患者の適格性を判定し、試験に組み入れる。被験者は、1 ヶ月に 1 度各施設を受診し、鼻咽頭または喀痰ウイルス検査、呼気 NO、EBC (呼気凝集液) などを受けるが、発作時には臨時に受診し、手順書に準じて検査と治療を受ける。試験本部は、喘息発作時の(1)喘息発作の持続日数(2)気道炎症のパラメーターの変動(3)ステロイド治療反応性をウイルス陽性群と陰性群に分けて有意差解析し、気道ウイルス感染が喘息発作の病態に及ぼす影響を明らかにする。またウイルス陽性例の genotype の同定、発作時の定量も行う。

4. 研究成果

気管支喘息発作の入院症例(n=49)と外来症例(n=57)の比較 (Table 1) 文献 5 より引用

Table 1

Comparison of the clinical characteristics of inpatient and outpatient asthma attack patients.

| Clinical characteristics | Inpatients (n=49) | Outpatients (n=57) | P |
|---|----------------------|--------------------|-------|
| Number of virus-positive cases | 67.3% (n=33) | 19.3% (n=11) | <.001 |
| Age | 51 (36–66.5) | 60 (45–76) | .074 |
| Sex (M/F) | 18/31 | 21/36 | 1.0 |
| Smoker | 10.2% (5/49) | 12.3% (7/57) | .089 |
| SpO ₂ | 90 (87–92) | 97 (95–98) | <.001 |
| SpO ₂ ≤88% | 40.8% (20/48) | 3.5% (2/50) | <.001 |
| Body temperature, °C | 37.0 (36.6–37.9) | 36.7 (36.4–37.1) | .054 |
| Wheezes | 96% (n=47) | 45.6% (n=26) | <.001 |
| Severe or serious asthma attack on Japanese guideline | 49% (n=24) | 5.3% (n=3) | <.001 |
| Severe attack on ATS/ERS statement | 85.7% (n=42) | 40.4% (n=23) | <.001 |
| WBC, ×10 ³ /μL | 10,400 (6500–14,250) | 7600 (6400–12,100) | .249 |
| CRP, mg/dL | 1.3 (0.5–2.5) | 0.7 (0.1–1.2) | .198 |
| IgE, IU/mL | 284 (122.5–850) | 193 (40.3–1087) | .881 |

All data are presented as median (IQR = interquartile range). ATS = American Thoracic Society, CRP = C-reactive protein, ERS = European thoracic society, IgE = immunoglobulin E, WBC = white blood cell count.

研究観察期間に 106 名の喘息発作患者を enroll した。入院は 49 症例、外来治療は 57 症例であり、鼻咽頭のぬぐい液が 68 症例、喀痰から 38 症例のサンプルを得た。ウイルス陽性率は入院症例が 67.3%，外来症例が 19.3%であり、有意に入院症例で高かった。入院症例では外来症例よりも有意に低酸素血症、喘鳴が多く、重症度が高かった (Table1)

入院症例におけるウイルス陽性症例と陰性症例の比較 文献 5 より引用

| Clinical characteristics | Virus positive | Virus negative | P |
|---|----------------------|----------------------|------|
| Number of inpatients | 33 | 17 | |
| Age | 56 (35–74) | 50 (36–63) | .667 |
| Sex (M/F) | 12/21 | 6/11 | 1.0 |
| Duration of illness, y | 25 (20–45) | 10 (5.2–22.5) | .08 |
| Smoker | 7.7% (2/26) | 37.5% (3/8) | .051 |
| SpO ₂ (%) | 89 (87–92) | 90 (88–93) | .417 |
| SpO ₂ ≤88% | 48.4% (15/31) | 29.4% (5/17) | .236 |
| Wheezing | 93.8% (30/32) | 100% (17/17) | .537 |
| Severe or serious asthma attack (Japanese guidelines) | 37.5% (12/32) | 70.6% (12/17) | .076 |
| Severe attack on ATS/ERS statement | 81.3% (26/32) | 94.1% (16/17) | .397 |
| PaCO ₂ ≥45Torr | 39.1% (9/23) | 7.7% (1/13) | .06 |
| PaCO ₂ | 39.9 (34.4–48.1) | 39.7 (36.2–42.4) | .681 |
| Duration of respiratory failure, d | 5 (2.3–8.0) | 3 (0.8–6.8) | .241 |
| Duration of wheezes, d | 7 (4.0–10.0) | 6.0 (1.5–10.5) | .299 |
| Duration of steroid treatment, d | 11 (8.0–13.0) | 9 (6.0–13.5) | .289 |
| Duration of hospital stays, d | 10 (7.0–16.0) | 8.0 (4.5–13.0) | .243 |
| WBC, ×10 ⁹ /mL | 10,500 (7125–13,425) | 10,100 (5500–17,500) | .622 |
| Eosinophil (%) | 1.3 (0–4.7) | 5.7 (0.9–15.2) | .093 |
| IgE, IU/mL | 342 (139–861) | 1555.5 (98–801) | .439 |
| CRP, mg/dL | 1.5 (0.7–2.4) | 1.1 (0.2–3.0) | .322 |

All data are presented as median (IQR=interquartile range). ATS=American Thoracic Society, CRP=C-reactive protein, ERS=European thoracic society, WBC=white blood cell count.

ウイルス陽性症例と陰性症例では喫煙者や PaCO₂ ≥45Torr 以上 が前者で多い傾向にあったが、有意差は認めなかった。興味深いことに呼吸不全の日数、喘鳴の持続時間、治療期間、入院日数では両者は同等であった。

検出された病原体 (Table3) 文献 5 より引用

| | Number | Inpatient/Outpatient |
|---|--------|----------------------|
| Virus (n = 44) | 44 | 33/11 |
| HRV-A | 12 | 11/1 |
| HRV-B | 1 | 1/0 |
| HRV-C | 11 | 9/2 |
| hMPV | 9 | 6/3 |
| RSVA | 2 | 1/1 |
| RSVB | 1 | 1/0 |
| Inf-V | 8 | 4/4 |
| Bacteria alone (n = 5) | | 2/3 |
| MSSA | 2 | 0/2 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 | 1/0 |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 1 | 1/0 |
| <i>Moraxella catarrhalis</i> | 1 | 0/1 |
| Virus and bacteria (n = 5) | | 4/1 |
| MRSA and hMPV | 1 | 0/1 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> and HRV-A | 1 | 1/0 |
| <i>H. influenzae</i> and MSSA and HRV-C | 1 | 1/0 |
| <i>P. aeruginosa</i> and Inf-V | 1 | 1/0 |
| MSSA and flu | 1 | 1/0 |

hMPV=human metapneumovirus, HRV=human rhinovirus, Inf-V=influenza virus, MSSA = methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, RSV=respiratory syncytial virus.

検出された病原体はウイルス単独が 44 症例、細菌感染単独が 5 症例、ウイルスと細菌の混合感染が 5 症例であり (Table3)、主たる呼吸器ウイルスは human rhinovirus (HRV)(n=24), human metapneumovirus (hMPV)(n=9), influenza virus(inf-V)(n=8), respiratory syncytial virus (RSV)(n=3)であった。HRV では HRV-A と HRV-C が最も多かった。*Mycoplasma pneumoniae* 及び *chlamydia pneumoniae* は一例も検出されなかった。

観察期間 (3 年間) における原因ウイルスの季節性変化 (Fig.1)

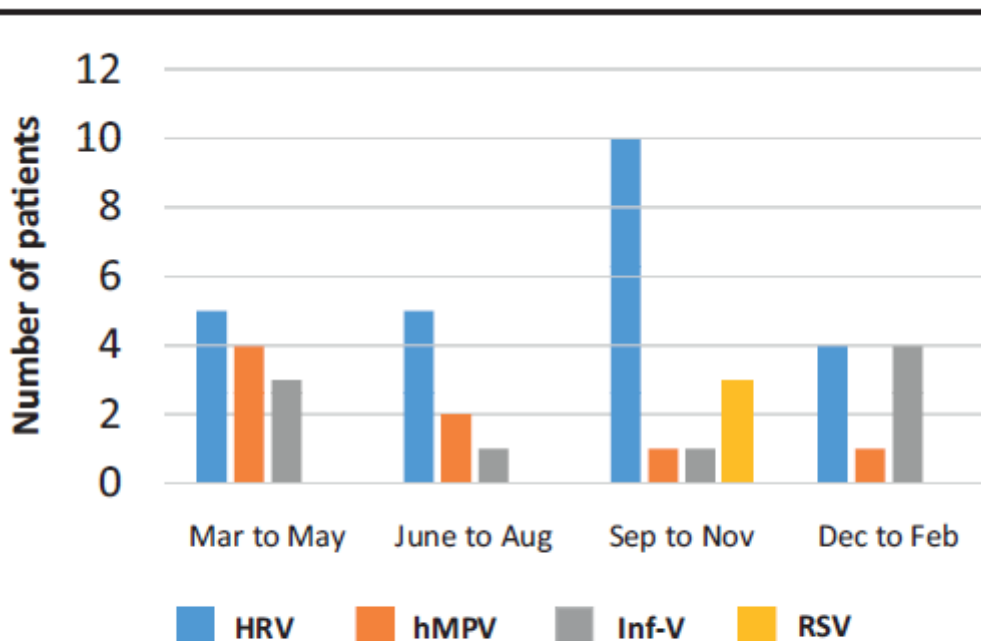


Figure 1. Seasonal variations of respiratory viruses associated with asthma attack patients. hMPV=human metapneumovirus, HRV=human rhinovirus, Inf-V=influenza virus, RSV=respiratory syncytial virus.

文献 5 より引用

興味深いことに、検出されたウイルスの季節性変化を調べると、HRV と RSV は秋に最も多く、インフルエンザは冬から春に多く検出された。さらに hMPV は春から夏に多く検出された。本邦におけるウイルス感染の喘息発作の影響を通年性に調査した初めての報告になると考えられる。最も検出された HRV の分子遺伝子学的な相同性を見るために genotyping を行ったが、1つの type に集中することなく多様性があることが示された(文献 5)

呼気 NO は発作時に高い傾向にあったが、呼気凝集液中の VEGF, IL-8 は副鼻腔炎を合併した 3 症例を除き、全て陰性であり検出キットの感度以下であった。そのためウイルス感染前後の呼気凝集液中のサイトカインの増減の比較検討は施行できなかった。

本研究から、本邦における気道ウイルス感染の全体像が初めてのエビデンスと示され、さらに季節性の喘息発作の気道ウイルスの変遷も明らかとなった。原因ウイルスは HRV が多かったが、分子遺伝子学的には多様性に富んでおり 1つの型に集中することはなかった。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

1. [Saraya T](#), [Kimura H](#), [Kurai D](#), Tamura M, Ogawa Y, Mikura S, Sada M, Oda M, Watanabe T, Ohkuma K, Inoue M, Honda K, Watanabe M, Yokoyama T, Fujiwara M, [Ishii H](#), [Takizawa H](#).
Clinical significance of respiratory virus detection in patients with acute exacerbation of interstitial lung diseases
Respir Med 2018;136:88-92 (査読有)

2. Kurai D, Sasaki Y, Saraya T et al.
Pathogen profiles and molecular epidemiology of respiratory viruses in Japanese inpatients with community-acquired pneumonia
Respir Investig. 2016 Jul;54:255-63 (査読有)
3. 皿谷 健 (分担執筆) 呼吸器感染症 最新医学社 診断と治療の ABC
第3章 呼吸器ウイルス 141-147, 2017年 (査読無)
4. 皿谷 健 (分担執筆) 感染制御と予防衛生 一般社団法人 感染予防協会
ヒトメタニューモウイルス感染症 p19-22 メディカルビュー社、2017年
(査読無)
5. Saraya T, Kimura H, Kurai D, Ishii H, Takizawa H. The molecular epidemiology of respiratory viruses associated with asthma attacks: A single-center observational study in Japan. Medicine (Baltimore). 2017;96(42):e8204. (査読有)

〔学会発表〕(計 4件)

1. Takeshi Saraya, Joint Congress of the 7th Meeting of the Asian Organization for Mycoplasmaology (7th AOM),
The 45th Meeting of the Japanese Society of Mycoplasmaology (45th JSM)
The molecular epidemiology of respiratory pathogens associated with asthma attacks: a single-center observational study in Japan
May 18-20, 2018, Tokyo, JAPAN
2. 皿谷 健, 気管支喘息発作におけるウイルス感染の前視的研究
第57回呼吸器学会総会 ミニシンポジウム、東京
2017年4月22日
3. 皿谷 健, 成人気管支喘息発作・COPD 増悪における呼吸器ウイルス感染の頻度、臨床像の前向き観察研究
第89回感染症学会総会、京都
2015年4月16日

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)
取得状況(計 0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：木村 博一

ローマ字氏名：KUMURA HIROKAZU

所属研究機関名：群馬パース大学

部局名：保健科学部

職名：教授

研究者番号(8桁): 20391807

研究分担者氏名：倉井 大輔

ローマ字氏名：KURAI DAISUKE

所属研究機関名：杏林大学

部局名：医学部

職名：准教授

研究者番号(8桁)：60530665

研究分担者氏名：石井 晴之

ローマ字氏名：ISHI HARUYUKI

所属研究機関名：杏林大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号(8桁)：30406970

研究分担者氏名：滝澤 始

ローマ字氏名：TAKIZAWA HAJIME

所属研究機関名：杏林大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号(8桁)：80171578

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。