

令和元年6月20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：15K09190

研究課題名(和文)成人RSV感染症の重症化と血漿中LL-37の関連性について

研究課題名(英文)Relationship between the severity of adult RSV infection and plasma LL-37 levels

研究代表者

倉井 大輔(Kurai, Daisuke)

杏林大学・医学部・准教授

研究者番号：60530665

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)：成人下気道感染患者59人の血漿LL-37値を測定し、原因微生物と重症度との関連性を調べた。66%(39例)で原因微生物が判明した。遺伝子増幅法を用いて呼吸器ウイルスが検出された症例は19例(約32%)存在した。最も多く検出された呼吸器ウイルスはライノウイルスで、RSVは全体の約5%(3例)であった。感染種別(ウイルスvs細菌vsウイルス+細菌)のLL-37値に有意な差を認めなかった。また、重症度別のLL-37(mean±SD)値も、軽症 67.9 ± 33.6 、中等症 77.0 ± 53.9 、重症 46.9 ± 18.4 ng/mlと3群間に有意差を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

成人下気道感染患者の約2/3で原因微生物が検出された。呼吸器ウイルスは、細菌との混合感染を含め、全体の約32%で検出された。入院患者に限定してもその頻度は約30%であった。RSVは全体の約5%に検出された。血漿LL-37値は、重症度や原因微生物の種類(ウイルス、ウイルスと細菌、細菌)では有意な差は認めなかった。

RSVを含む呼吸器ウイルスは、我が国の成人でも肺炎やCOPD増悪時には、高頻度に検出され、入院の原因となっている可能性が示唆された。これらの呼吸器ウイルス感染症の治療薬はインフルエンザを除くと存在せず、治療薬・予防法の開発が必要であることが認識された。

研究成果の概要(英文)：Serum LL-37 levels were measured in 59 adult patients with lower respiratory tract infections. We examined whether plasma LL-37 levels were associated with severity and causative organisms. The organisms were detected in 66% (39 cases) of patients. In 19 of the 59 patients (32%), respiratory viruses were detected using nucleic acid amplification methods. Rhinovirus (n=8) was the most frequently detected virus and RSV was detected in 5% (3 cases) in total. No significant differences in plasma LL-37 levels were found between the etiological groups (virus alone, virus+bacteria and bacteria alone). LL-37 levels (mean±SD) did not differ significantly among the 3 groups (mild: 67.9 ± 33.6 , moderate: 77.0 ± 53.9 and severe: 46.9 ± 18.4 ng/ml).

研究分野：呼吸器ウイルス感染症

キーワード：RSウイルス 呼吸器ウイルス 肺炎

1. 研究開始当初の背景

(1) Respiratory syncytial virus(RSV)は、小児では呼吸不全を合併し重症化する呼吸器ウイルスとして認識されている。しかし、成人では風邪の原因となるが、重症化しないと考えられていた。近年、慢性心・肺疾患を有する高齢者では重症化することがわかってきたが、その重症化の機序は不明な点が多く、我が国では成人の疫学情報も乏しい。

(2) 自然免疫に作用する LL-37 (カテリシジンファミリーに属するペプチド) が成人の RSV 感染症の重症化に関連する可能するかは、明らかになっていない。

2. 研究の目的

(1) 成人下気道感染患者の原因微生物について RSV 等の呼吸器ウイルスを含め明らかにする。

(2) RSV 感染症の重症化と自然免疫に作用する LL-37 の関連性を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 対象患者と原因微生物の同定、重症度判定：杏林大学病院で下気道感染症(COPD/喘息増悪、肺炎など)が疑われる患者を対象に、症例登録を行った。急性期の喀痰や鼻咽頭ぬぐい液などの気道検体を採取し、従来の細菌培養法に加え、遺伝子検査を用いて原因微生物の同定を行った。また、臨床的な重症度の判定を行った。重症度の判定は重症、中等症、軽症の3つに区分した。重症は人工呼吸器使用/意識障害/血圧低下のいずれかを有した症例(死亡例を含む)とし、中等症は重症を除く入院症例、軽症は外来治療症例とした。

(2) LL-37 の測定と重症度・原因微生物の関連：血漿 LL-37 は ELISA (Enzyme Linked Immunosolvent Assay)法を用いて測定し、測定し、重症度と原因微生物との関連性を検討した。

4. 研究の成果

(1) 下気道感染患者の原因微生物：本検討の対象となった患者は 59 症例であった。年齢の中央値は 70 (最小 22 ~ 最大 92) 歳、男性 38 例、死亡 1 例であった。対象となった病態/基礎疾患は、肺炎 n=37, COPD 増悪 n=6, 気管支拡張症の増悪 n=5, 急性気管支炎 n=5, 喘息発作 n=3, 肺 MAC 症 n=3 であった。また、重症 n=12、中等症 n=34、軽症 n=13 であった。全体の 66% (39 例) で原因となる微生物が判明した。同定された微生物の種類別に示すと、ウイルス単独検出 n=11、ウイルスと細菌の混合感染 n=8、細菌単独検出 n=18、真菌 n=1、抗酸菌 n=1、不明 n=20 であった (図)。気道感染の原因として判断された病原体は、細菌では *H. influenzae* n=11、*Pneumococcus* n=8、*M. pneumoniae* n=2、*P. aeruginosa* n=2 の順に検出が多かった。また、気道検体から検出された呼吸器ウイルスは HRV : human rhinovirus n=8, InfV-A : influenza virus A n=6 (H1N1 n=2, H3 n=4), RSV n=3 (RSV A n=2, RSV B n=1), CoV : coronavirus n=2 (NL63 n=1, OC43 n=1) の順に多く認められた。なお、2 種類以上の複数病原体検出も 9 例で認められた。原因微生物の詳細を表 1 に示す。

図 検出病原体の種類

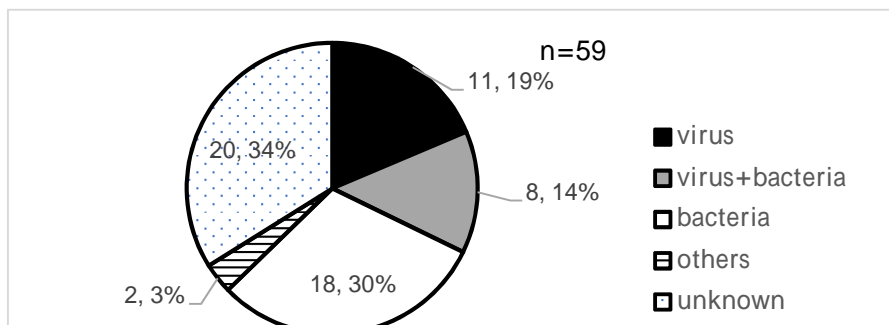


表 1 検出微生物の分布

原因微生物	n
Virus 単独 (n=11)	
HRV	4
InfV-A	3
RSV	2
CoV	2
Virus + Bacteria (n=8)	
HRV + <i>H. influenzae</i>	1
HRV + <i>H. influenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , Group B Streptococci	1
HRV + Pneumococcus	1
HRV/enterovirus + <i>P. aeruginosa</i>	1
InfV-A + Pneumococcus	1
RSV+ <i>H. influenzae</i>	1
AdV + <i>H. influenzae</i>	1
hMPV + Pneumococcus	1
Bacteria 単独 (n=18)	
<i>H. influenzae</i>	7
Pneumococcus	4
<i>M. pneumoniae</i>	2
<i>K. pneumoniae</i>	1
<i>M. Catarrhalis</i>	1
<i>P. aeruginosa</i>	1
<i>E. coli</i>	1
Pneumococcus + <i>P. aeruginosa</i>	1
Others (n=2)	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1
<i>Mycobacterium avium</i> complex	1

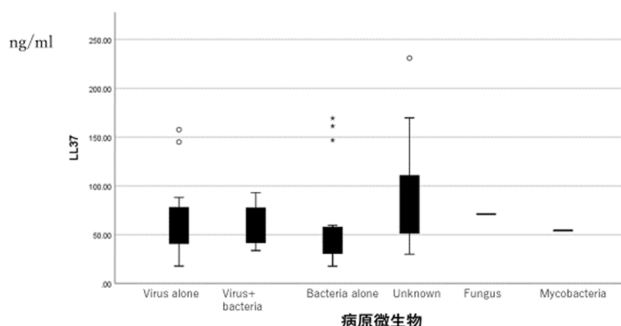
入院症例（中等症/重症）に限定すると 66%（31/47）で、原因微生物が検出された。同定された微生物を種類別に示すと、ウイルス単独検出 n=8、ウイルスと細菌の混合感染 n=6、細菌単独検出 n=15、真菌 n=1、抗酸菌 n=1 であった

RSV 検出はウイルス単独 2 例（入院 n=1、外来 n=1）、ウイルス+細菌混合感染 1 例（入院 n=1）で合計 3 例（約 5%）と少なかった。そのため、LL-37 値と RSV 感染患者の重症度の関連性を調査することは困難であった。呼吸器ウイルスが検出された症例は全体で 19 例（約 32%）存在したため、この特徴を次に調べた。

(2) 呼吸器ウイルス検出患者の特徴：呼吸器ウイルスが検出された患者は外来（軽症）の 38%（5/13）、入院症例（中等症または重症）30%（14/46）であった。呼吸器ウイルスが検出された入院患者 14 例中 11 例で呼吸不全を認めた。この 14 名のウイルスが検出された患者の病態は、肺炎 n=9、CODP 増悪 n=3、喘息発作 n=1、気管支炎 n=1 であった。

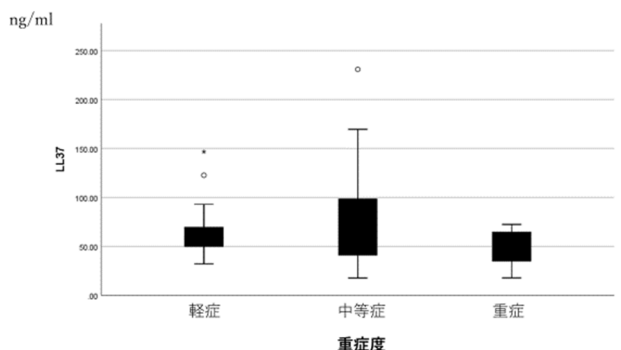
(3) 病原微生物の種類別での LL-37 値について：血漿中 LL-37 値は、図 に示すように原因微生物の種類（ウイルス、ウイルス+細菌、細菌、不明、その他）で有意な差は認めなかった。

図 病原体別血漿LL-37値



(4) 重症度と LL-37 値について：重症度別に LL-37(mean ± SD) 値を比較した。軽症 67.9 ± 33.6、中等症 77.0 ± 53.9、重症 46.9 ± 18.4ng/ml であり 3 群間に有意差を認めなかった(図)。また、呼吸不全の有無にて、LL-37 値を比較したが、これも有意な差は認めなかった。

図 重症度別血漿LL-37値



(5) 年齢別 LL-37 値及び性別での LL-37 値：年齢による LL-37 値の比較を行った。70 歳以上を高年齢者と定義し、高年齢者と非高年齢者の LL-37 値を比較したが、有意な差は認めなかった。また、LL-37 値に性差も認めなかった(data not shown)。

引用文献

なし

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 3 件)

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 Mar;136:88-92. doi: 10.1016/j.rmed.2018.02.003 査読有

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 Oct;96(42):e8204. doi: 10.1097/MD.00000000000008204. 査読有

Daisuke Kurai, Yoshiko Sasaki, Takeshi Saraya, Haruyuki Ishii, Hiroyuki Tsukagoshi, Kuniyoshi Kozawa, Akihide Ryo, Taisei Ishioka, Makoto Kuroda, Kazunori Oishi, Hajime Takizawa, Hirokazu Kimura. Pathogen profiles and molecular epidemiology of respiratory viruses in Japanese inpatients with community-acquired pneumonia *Respir Investig*. 2016;54:255-63. doi: 10.1016/j.resinv.2016.01.001. 査読有

[学会発表](計 5 件)

倉井大輔 第68回日本感染症学会東日本地方会学術集会・第66回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会 2019年予定

倉井大輔 成人・高齢者における RS ウイルス感染症の重要性

第 81 回日本呼吸器学会・日本結核病学会 日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会 九州支部 秋季学術講演会 2018 年

Kurai Daisuke, Saraya Takeshi, Ishii Haruyuki, Kimura Hirokazu, Takizawa Hajime Comparison of the patients affected with respiratory syncytial virus and influenza virus: A single center prospective observational study in Japan. The 22nd Congress of the APSR 2017年

倉井大輔、佐々木佳子、皿谷 健、石井晴之、塚越博之、木村博一、滝澤 始 成人下気道

感染と呼吸器ウイルス：HRV・HMPV・RSV 検出患者の比較 日本感染症学会総会 2016年
Daisuke Kurai, Yoshiko Sasaki, Takeshi Saraya, Haruyuki Ishii, Hiroyuki
Tsukagoshi, Kunihisa Kozawa, Akihide Ryo, Taisei Ishioka, Makoto Kuroda, Kazunori
Oishi, Hajime Takizawa, Hirokazu Kimura. Pathogen Profiles and Molecular
Epidemiology of Respiratory Viruses in Japanese Inpatients with Community-
acquired pneumonia ATS International Conference. 2016年

[図書] なし

[産業財産権] なし

[その他] なし

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：(KIMURA, 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：石井 晴之

ローマ字氏名：(ISHII, 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：皿谷 健

ローマ字氏名：(SARAYA, takeshi)

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) : 40549185