

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09623

研究課題名(和文) インフルエンザ関連肺炎の重症化～過剰免疫を介したウイルスと細菌のクロストーク～

研究課題名(英文) Severe influenza and its related pneumonia: Crosstalk with virus and bacteria

研究代表者

関 雅文 (SEKI, MASAFUMI)

東北医科薬科大学・医学部・教授

研究者番号：80432970

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、インフルエンザウイルス感染症や関連する細菌性肺炎に代表される重症感染症において、個体側の因子＝免疫因子が過剰に反応していることで、かえって組織障害を促進し、肺炎や感染症の重症化に寄与している可能性を検討したが、特に好中球を中心とする免疫の活性化：NETsなどに焦点を当て、過剰免疫の意義を各種症例において検討できた。

また、昨今の新型コロナウイルス感染症のように重症化した感染症症例では、何らかの免疫賦活剤：特にステロイドやマクロライド系薬などの適応が必要となり、その投与量や期間に関してはいまだ多くの問題点が存在するが、免疫調整による救命例を報告することもできた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重症化が進んだインフルエンザ肺炎や新型コロナウイルス感染症などでは救命が困難となるため、早期発見からの早期治療の導入、普段からの感染制御・耐性菌や耐性ウイルス予防が重要となる。この点で、近年多くの臨床現場で原因菌同定に使用されている質量分析器(TOF-MS)の重複感染症例での問題点や迅速解析法、抗菌薬適正使用支援(AST)活動の成果としての緑膿菌の抗菌薬感受性の回復、MRSAに対するバンコマイシンのより至適な投与設計法などを報告できた。

さらに、インフルエンザのアウトブレイクに伴う抗インフルエンザ薬の予防投与の実態を検証し、介入以前と介入後での医学的、そして医療経済的な適正使用を確認できた。

研究成果の概要(英文)：Excessive immunological reaction, including neutrophil extracellular traps (NETs) were suggested to be involved in the pathogenesis of severe infectious diseases, such as influenza and its related pneumonia. We focused on these pathophysiology, especially on neutrophil reactions, and reported the successful treated cases by immunomodulative drugs, such as steroid and macrolides.

研究分野：呼吸器感染症

キーワード：インフルエンザ 肺炎 耐性菌 耐性ウイルス 抗インフルエンザ薬 マクロライド系薬 抗菌薬適正使用支援(AST) 質量分析器(TOF-MS)

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2009年のいわゆる新型インフルエンザによるパンデミックの記憶も新しいが、2011年の医療・介護関連肺炎(NHCAP)ガイドラインにおいて、特に高齢者や慢性肺疾患を有する患者におけるインフルエンザに関連する重症肺炎・肺障害発症の危険性が指摘された。また、いったん発症した重症肺炎は抗菌薬や抗ウイルス薬への反応が不良で、しばしば致死的となる。したがって、インフルエンザならびにインフルエンザウイルス感染に伴う重症肺炎の治療の確立は、超高齢社会を迎えている我が国でも急務である。

我々は、長年研究してきたインフルエンザウイルス感染に細菌感染が合併した症例において、重症肺炎の発症に、ウイルスや重複感染する細菌など微生物側の要因のみならず、宿主側の過剰な免疫反応が大きく関与する可能性を示してきた(Seki M, et al, *Eur.Resp.J.* 2004 ~ 他)。

すなわち、いわゆる「サイトカインストーム」が、重症肺炎を誘導する可能性を、ノックアウトマウスを用いた解析にて実証し (Seki M et al *J. Immunol.* 2010) その中でも、好中球の過剰な活性化は極めて大きな問題であり、重複感染時には、好中球エラスターゼ(NE)および関連する酵素(アンチトリプシン: A1AT) 発現が特異的に上昇していることを突き止めている (Kosai K, Seki M et al. *Clin Exp Immunol* 2008) 。

この中で、新たな好中球活性化機序: 「ネッツ (NETs: Neutrophil Extracellular Traps) 」が見出された。ネッツとは、感染により活性化された好中球が自らの DNA や granule protein を含む網目状の構造物を能動的に放出する現象であり、感染防御のために病原体を捕獲し、排除するためのものとされるが、過剰な好中球活性として、かえって組織障害を強める可能性も指摘されており、特に重症肺炎で NETs の放出が顕著であることを我々は報告した (Hirose T, Seki M et al. *Am J Crit Care Med* 2012,) 。

同時に、これまで見られなかった比較的弱毒の無莢膜型インフルエンザ菌感染症においてさえ、菌血症も呈するきわめて重症な敗血症症例も見られるようになり、これらの症例でも大量の菌とともに、ネッツが大量かつ遷延して存在し、組織障害的の機能した可能性を確認した (Hamaguchi S, Seki M, et al *J Inflamm Res* 2012。本症例では、インフルエンザ菌の中でも強毒とされる b 型 (Hib) の小児へのワクチン接種が進んだ結果、ワクチンでカバーされないヒト、菌種への反動、選択 (Pathogen shift, Serotype conversion) が、細菌群の中で起こった可能性が指摘されている。

さらに、我々は、肺炎球菌感染症で、浸潤影を見られないにもかかわらず、顕著な低酸素血症を呈した症例で、実はヒトメタニューモウイルスが重複感染していたことを発見した。

2. 研究の目的

本研究は、インフルエンザウイルス感染症や関連する細菌性肺炎に代表される重症肺炎および重症感染症において、個体側の因子 = 免疫因子が過剰に反応していることで、かえって組織障害を促進し、肺炎や感染症の重症化に寄与している可能性を検討しているが、

その過剰免疫（サイトカイン・ストーム）が、特定のウイルスと細菌など他の微生物との組み合わせによって惹起される可能性なども考え、微生物側の因子や組み合わせを主に症例の中から検討し、さらに原因微生物診断法の精度や治療内容に関しても、感染制御的視点からアプローチすることを目標とした。

3．研究の方法

本研究は、インフルエンザウイルスおよび肺炎球菌に代表される、ウイルスと細菌の重複感染症例、もしくは単独でも重症肺炎となった症例やアウトブレイク事例を中心に、特に原因微生物の遺伝子・蛋白レベルでの検出や分離された菌株の生化学的精査を、好中球活性やサイトカイン・バイオマーカー解析とともに施行した。

平成 29 年度は TOF-MS を用いた迅速診断と重複する原因微生物の同定・精査を行った。すなわち、まずは重症肺炎症例・菌株の収集を行い、その微生物的解析を蛋白・遺伝子レベルで進めた。

すでに、インフルエンザの重症症例については、代表者が事務局を務める日本呼吸器学会の「インフルエンザ・インターネット・サーベイ」での症例収集を進めており、当院で登録された症例については、TOF-MS を用いた重複菌の有無の確認や、分離された菌株の培養コロニーでの粘稠度など生化学的精査をさらに進めた。

同時に、グラム染色や免疫染色による菌や好中球活性化状態の確認やプロカルシトニンなど個体側の産生する炎症マーカーやサイトカインの測定を、当院細菌検査室にて行い、微生物学的特徴と比較検討した。

一方で、前述のように、一見、細気管支炎と考えられた肺炎球菌などによる細菌性肺炎・感染症でも、インフルエンザウイルス以外のウイルスが存在し、重症化している可能性もあるため(Seki M et al *Resp Med Case Rep* 2014)、PCR やイムノクロマト法(ICA)を中心としたウイルス同定も、常に併行して行った。

平成 30 年度以降は、予防的治療・感染制御活動への応用として、重症インフルエンザ関連肺炎の微生物側の重症化因子や、他の重症肺炎・感染症に関与する特定のウイルスや細菌の組み合わせを模索した。すなわち、インフルエンザの重症化に関与することで有名な黄色ブドウ球菌は、特に MRSA の病棟でのアウトブレイクが問題となっているが、PCR をベースとした遺伝子型診断法(POT 法)が開発され、特定株保菌者の隔離や予防的治療も可能であると考え、進めた (Seki M, et al. *Infection and Drug Resistance* 2015, など)。

4．研究成果

本研究では、インフルエンザウイルス感染症や関連する細菌性肺炎に代表される重症感染症において、個体側の因子 = 免疫因子が過剰に反応していることで、かえって組織障害を促進し、肺炎や感染症の重症化に寄与している可能性を検討したが、特に好中球を中心とする免疫の活性化: NETs (Neutrophil Extracellular Traps)などに焦点を当て、過剰免疫の意義を、各種症例において検討できた。

また、昨今の新型コロナウイルス感染症のように、ウイルス肺炎や重症化した感染症症例では、何らかの免疫賦活剤: 特にステロイドの適応が必要となり、その投与量や期間に関しては、いまだ多くの問題点が存在するが、免疫調整による救命例を報告することもできた。

重症化が進んだインフルエンザ肺炎や新型コロナウイルス感染症などでは救命が困難となるため、早期発見からの早期治療の導入、普段からの感染制御・耐性菌や耐性ウイルス予防が重要

となる。この点で、近年多くの臨床現場で原因菌同定に使用されている質量分析器(TOF-MS)の重複感染症例での問題点や迅速解析法、抗菌薬適正使用支援(AST)活動の成果としての緑膿菌における抗菌薬感受性の回復、MRSA に対するバンコマイシンのより至適な投与設計法などを報告できた。

さらに、インフルエンザのアウトブレイクに伴う抗インフルエンザ薬の予防投与の実態を検証し、介入以前と介入後での医学的、そして医療経済的な適正使用を確認できた。

また、新規抗インフルエンザ薬として注目されているパロキサビル(商品名ゾフルーザ)使用症例におけるアミノ酸変異と実際の耐性・感受性低下を確認し、今後のより効果的な治療、すなわち既存の抗インフルエンザ薬、ノイラミニダーゼ阻害薬などとのスイッチや併用治療の可能性を示すことができた。

他にも、免疫調整薬としてのマクロライド系薬を改めて考察し、関連する抗菌薬使用や耐性菌感染症の現況や、これまでの介入研究による成果としての過剰な抗菌薬使用や耐性菌検出率の低下を報告できたのは、大きな成果と言えよう。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Seki M, Watanabe Y, Kawabata H.	4. 巻 11
2. 論文標題 A case of chronic Lyme disease in a Japanese woman	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Infect Drug Resist.	6. 最初と最後の頁 625-628
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/IDR.S162048.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Seki M, Chang B, Ohshima K, Watanabe Y.	4. 巻 12
2. 論文標題 Two cases of acute pneumococcal purulent arthritis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ID Cases	6. 最初と最後の頁 13-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/IDR.S162048	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Oikawa N, Seki M,	4. 巻 6
2. 論文標題 Clinical differences of hospitalized adult influenza patients between A (H1N1) pdm09 and A (H3N2) season in Japan.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Infect Dis Ther	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4172/2332-0877	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kamioka Y, Suzuki H, Seki M Ouchi R, Kashiwagura S, Kosika S, Watanabe Y.	4. 巻 9
2. 論文標題 Comparison of measured trough values after deriving the initial dose setting of vancomycin with a conventional computer software and a nomogram based on the revised Japanese 2016 Therapeutic Drug Monitoring Guidelines for Antimicrobial Agents	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pharmacology & Pharmacy	6. 最初と最後の頁 41-487
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4236/pp.2018.911037	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hariu M., Watanabe Y, Oikawa N, Manaka T, Seki M,	4. 巻 11
2. 論文標題 Evaluation of blood culture broths with lysis buffer to directly identify specific pathogens by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry methods.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Infect Drug Resist.	6. 最初と最後の頁 1573-1579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/IDR.S169197.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Seki M, Watanabe Y.	4. 巻 3
2. 論文標題 The microbiological effects of antimicrobial stewardship program and Infection control in Japan	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Prevntion Infect Control.	6. 最初と最後の頁 1-2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21767/2471-9668.100034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Seki M	4. 巻 5
2. 論文標題 Role of NETs in Infectious Diseases.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Infect Dis Ther,	6. 最初と最後の頁 321-323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4172/2332-0877.1000321	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Seki M, Oikawa N, Hariu M, Watanabe Y,	4. 巻 3
2. 論文標題 Methylprednisolone for Antibiotic-Refractory Haemophilus influenzae Infection.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Infect Pulm Dis	6. 最初と最後の頁 1-3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://dx.doi.org/10.16966/2470-3176.121	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hariu M., Watanabe Y, Oikawa N, Seki M	4. 巻 10
2. 論文標題 Usefulness of matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry to identify pathogens, including polymicrobial samples, directly from blood culture broths	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Infect Drug Resist	6. 最初と最後の頁 115-120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/IDR.S132931.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyashita N, Higa F, Aoki Y, Kikuchi T, Seki M, Tateda K, Maki N, Uchino K, Ogasawara K, Kiyota H, Watanabe A.	4. 巻 23
2. 論文標題 Clinical presentation of Legionella pneumonia: Evaluation of clinical scoring systems and therapeutic efficacy.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Infect Chemother.	6. 最初と最後の頁 727-732
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jiac.2017.09.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 関 雅文
2. 発表標題 呼吸器感染症診療におけるAntimicrobial stewardship: ~感染症診療と耐性菌抑制をどう両立させるか? ~
3. 学会等名 日本感染症学会・化学療法学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Masafumi SEKI
2. 発表標題 Role of macrolide in treatment of respiratory tract infection in Japan
3. 学会等名 Asia global Macrolide Seminar (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関 雅文
2. 発表標題 肺炎診療の基本的考え方～インフルエンザシーズンにおける対応～
3. 学会等名 日本臨床内科医会学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関 雅文
2. 発表標題 スペイン風邪から100年～インフルエンザ診療ガイドライン2017の概要
3. 学会等名 日本感染症学会・化学療法学会東日本総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関 雅文
2. 発表標題 呼吸器感染症診療の最新の潮流～特別発言～
3. 学会等名 日本感染症学会・化学療法学会 東日本総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Seki M
2. 発表標題 Management of influenza and its related pneumococcal pneumonia in Japan.
3. 学会等名 国際感染症研究会（Taipei, Univeristy of Taiwan）（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Seki M
2. 発表標題 Association and Management of Influenza with Severe Pneumonia/Empyema in the Community, Hospital, and Healthcare-Associated Setting in Japan
3. 学会等名 Tropical Medicine 2017 (Edinburgh, UK) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 関 雅文
2. 発表標題 これからの肺炎マネジメント～臨床現場での肺炎診療と抗菌薬使用の今後の動向
3. 学会等名 日本感染症学会総会(東京)(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 関 雅文
2. 発表標題 感冒・インフルエンザ・肺炎診療を考える。～感冒・インフルエンザ・肺炎の治療を考える。～
3. 学会等名 日本感染症学会・化学療法学会(東京)(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 関 雅文
2. 発表標題 TDMと抗菌薬適正使用支援(AS)の実践～テイコプラニンを例に～
3. 学会等名 日本環境感染学会総会(東京)(招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----