

氏名	おん りんたろう 温 麟太郎		
学位の種類	博士（医学）		
報告番号	甲第1857号		
学位授与の日付	令和3年3月16日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（課程博士）		
学位論文題目	Prevalence of viral infection in acute exacerbation of interstitial lung diseases in Japan （日本での間質性肺炎急性増悪におけるウイルス感染の有病率）		
論文審査委員	（主査） 福岡大学	教授	廣松 賢治
	（副査） 福岡大学	教授	有馬 久富
	福岡大学	教授	高田 徹

内容の要旨

【目的】

間質性肺炎は、肺の間質における慢性炎症と線維化に基づく疾患である。これらは、原因不明の特発性間質性肺炎と、自己免疫疾患、薬物、および粉塵吸入に関連する続発性間質性肺炎に大きく分けることができる。間質性肺炎は、さまざまな疾患の進行を示す。一般的に、病気は徐々に進行するが、一部の患者は急性増悪と呼ばれる急速な悪化を経験する。間質性肺炎急性増悪は、新しい浸潤性の影が両方の肺に現れ、急速に呼吸不全に進行する状態である。通常、間質性肺炎急性増悪は予後が悪く、死亡率が50%に達し、6～12か月以内の高い死亡率と関連している。間質性急性増悪は、発熱、咳、痰などの感染症の指標を伴うことがよくあるが、正確な病因は不明である。ウイルス感染は一因となる可能性があるが、間質性肺炎急性増悪のウイルス感染の関与を検討している研究はごくわずかである。最近の研究では、特発性肺線維症の急性増悪患者の9%で気管支肺胞洗浄液中にいくつかの呼吸器ウイルスが存在することが報告されている。しかし、日本では、ウイルス感染の臨床的特徴、関与するウイルス、およびこれらの感染の頻度は明らかにされていない。伝統的に、呼吸器ウイルス感染の場合の病原体診断は、培養細胞を使用したウイルスの分離/同定によって行われる。ただし、この方法は限られた施設でしか実施できず、ウイルスや細胞を扱える技術者が必要である。近年、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）やリアルタイム RT-PCR などの遺伝子検査が行われるようになってきている。BioFire FilmArray 呼吸器パネル（FA-RP）アッセイとLuminex xTAG 呼吸器ウイルスパネル v2RU0（xTAG-RVP）キットは、単一の検体でそれぞれ22と19の呼吸器病原体を同時に検出する

ためのマルチプレックスリアルタイム PCR システムである。本研究は、これらのシステムを使用して、日本の間質性肺炎急性増悪患者におけるウイルス感染の役割を明らかにすることを目的とした。

【対象と方法】

2017年5月から2019年2月の間に間質性肺炎急性増悪で入院した患者から鼻咽頭スワブ標本を採取した。急性増悪の定義は2016年のInternational Working Groupで提唱された診断基準を参考にした。すなわち、1) 1ヵ月以内の急速な呼吸困難感の悪化あるいは発症、2) UIPパターンを背景とした新規の両肺浸潤影やスリガラス影の出現、3) 心不全や体液過剰では説明のつかない悪化、これらの条件を満たした場合に間質性肺炎急性増悪と診断した。全ての鼻咽頭拭い液は入院から3日以内に採取され、ウイルス輸送培地に懸濁され、検査までに-80℃で保管された。200mlのウイルス輸送培地を用いて、10μlの核酸を抽出し、xTAG-RVPキットとFA-RPアッセイによって呼吸器ウイルスを検出した。xTAG-RVPキットによって検出可能なウイルスはadenovirus、coronavirus (229E、HKU1、OC43、NL63)、humanmetapneumovirus、human rhinovirus/enterovirus、influenzaA virus (H1/2009、H1、H3)、influenza B virus、parainfluenzavirus (PIV) types 1-4、respiratory syncytial virus (RSV)、human bocavirusである。これらのウイルスに加えて、FA-RPアッセイでは、*Bordetella pertussis*、*Chlamydomphila pneumoniae*、*Mycoplasma pneumoniae*などの細菌も検出できる。

これらの結果に基づき、ウイルス陽性群と陰性群間の各種検査結果や臨床経過を比較した。

【結果】

2017年5月から2019年2月の間に間質性肺炎急性増悪で入院した29人の患者が研究に登録され、鼻咽頭拭い液が各患者から採取された。患者の年齢中央値は71歳(49-86歳)だった。8人の患者は女性で、21人は男性であり、女性と男性の比率は1:2.6だった。1月と11月にそれぞれ5人、12月に4人、10月と2月にそれぞれ3人、5月と9月にそれぞれ2人、3月、4月、6月、8月に1人の患者が急性増悪を起こしており、10月から2月にかけての冬の季節に20人の患者(68.9%)が発症していた。29人の患者のうち、2人が挿管され(両方が死亡)、8人が非侵襲的陽圧換気で治療され(6人が死亡)、残りはリザーバーマスクまたは鼻カニューレを介して酸素投与が行われた(2人が死亡)。全ての症例で喀痰培養、血液培養、尿中肺炎球菌抗原、レジオネラ抗原が測定され、明かな細菌感染所見は認めなかった。29人中3人で呼吸器ウイルス感染の合併を認めた。病原体はそれぞれ、xTAG-RVPキットによって、1. respiratory syncytial virus、2. respiratory syncytial virusとinfluenzaA virusの重複、3. human rhinovirus/enterovirusとinfluenzaA virusの重複が検出された。2の症例ではFA-RPアッセイでもrespiratory syncytial virusが検出され、この症例は死亡した。

ウイルス陽性群と陰性群の比較では、年齢、性別、喫煙状況、呼吸機能検査、検査データ、予後について、グループ間に有意差はなかった。ウイルス陽性群では抗生物質の使用期間が長く、また、入院時の PaO₂ / FI O₂ 比が悪い傾向があり、入院期間も長くなる傾向があった。

【結論】

日本では間質性肺炎急性増悪におけるウイルス感染の有病率は低いことが示唆された。また、ウイルス陽性群と陰性群の比較で、検査データや臨床経過に大きな違いは認めなかった。

この研究には症例数が少ないこと、単施設研究であること、ウイルスの分離は試みていないこと、鼻咽頭拭い液を検体として使用したことなど、いくつかの限界があるが、間質性肺炎急性増悪において、世界的に共通して可能な方法でウイルス検出を試みた日本初の前向き研究である。

審査の結果の要旨

本論文は、間質性肺炎急性増悪における呼吸器病原体ウイルス感染の関与を2種類のマルチプレックス・リアルタイム RT-PCR スクリーニング・システムを用いて解析・検討した報告である。今回の間質性肺炎急性増悪 29 症例の検討では、3 例（10%）での何らかの呼吸器系ウイルスの検出にとどまり、間質性肺炎急性増悪における呼吸器ウイルス感染の頻度は低いと考えられた。間質性肺炎急性増悪症例におけるウイルス PCR スクリーニング陽性群と陰性群の比較では、ウイルス陽性群が入院期間が長い傾向を認めたが、検査データや呼吸機能等に有意差のある違いは認めなかった。ウイルス・スクリーニング陽性の3例中、1例は死亡例であり、この死亡例では2種類のマルチプレックススクリーニングの双方でRSウイルスが検出されており、RSウイルスが間質性肺炎急性増悪、重篤化に関与している可能性が示唆された。

1. 斬新さ

特発性間質性肺炎だけでなく、膠原病関連の間質性肺炎も含めた急性増悪における呼吸器病原体ウイルス感染の関与の検討を、2種類のマルチプレックス RT-PCR スクリーニングを用いて解析した本邦における初めての報告であり、斬新な内容と言える。

2. 重要性

間質性肺炎急性増悪において呼吸器病原体ウイルスによる感染がどの程度の頻度で認められるのか、急性増悪病態に関与しているか、予後に影響を与えるのか、などに関し

では不明な点が多い。喘息や COPD の急性増悪時のウイルス感染の有無の検討では 30-40% の報告があることと比べると、今回の間質性肺炎急性増悪における呼吸器病原体ウイルス感染の頻度は低いことが示唆された。一方で RS ウイルスが間質性肺炎急性増悪・重篤化に関与している可能性が示され、今後の新しい治療の方向性を考えていくうえで重要な finding と考えられる。本研究は、その症例数が少ないこと、単施設研究であること、肺胞洗浄液ではなく、鼻咽頭ぬぐい液を用いたウイルススクリーニングであること、全身性のウイルス感染の検出や血清抗体価の検出はされていない、などの limitation は存在するが、間質性肺炎急性増悪における呼吸器病原体ウイルス感染の頻度、意義を日本においては初めて検討したという意味で非常に重要性の高い研究である。

3. 研究方法の正確性

本研究は単一施設で行われた研究である。2017 年 5 月～2019 年 2 月までに福岡大学病院呼吸器内科で間質性肺炎急性増悪と診断された 29 例を対象としており、それぞれについて背景因子も含めて正確に収集され、正確な統計手法を用いて解析が実施され、研究方法の正確性は確保されている。

4. 表現の明確さ

目的、方法、結果は正確かつ明瞭に表現されている。考察については今回の報告における位置づけを示すとともに、実施した検討の不十分な点を明確に示している。

5. 主な質疑応答

Q：急性増悪を示していない間質性肺炎患者におけるウイルス感染の関与は検討したのか？

A：今回の実験では安定期の患者のウイルス感染は調べていませんので今後の課題かと考えます。

Q：間質性肺炎急性増悪を起こす病態、メカニズムは？

A：不明な点も多いですが、ウイルス感染により IL-6 などの炎症性サイトカインが増加しサイトカイン・ストームを起こすことにより血管透過性の亢進が起こり、びまん性に肺胞障害を起こしているものと考えられています。急性呼吸窮迫症候群 acute respiratory distress syndrome, ARDS と類似した病態と考えますが、ARDS では何らかの生体に対する侵襲が契機になるのに対し、間質性肺炎急性増悪では明確な原因がないにも関わらず発症することがあります。

Q：特発性間質性肺炎自体の発症には何らかのウイルス感染関与はないのか？例えば全身的なウイルス感染症の関与はどうか？

A：特発性間質性肺炎の発症機構は未だ不明な点が多く、特発性間質性肺炎の発症機構や急性増悪に Epstein Barr ウイルス、サイトメガロウイルス感染などのウイルス感染症の関与を示唆する様々な研究も海外のグループから出ておりますが、現時点ではウイルス感染症の果たす役割は不明であり、今後の課題でもあります。従って、今後、血清や肺胞洗浄液(BAL fluid)などを用いた全身性、肺実質におけるウイルス感染の有無を検討していくことも極めて重要と考えております。

Q：複数回急性増悪を起こした方はいましたか？

A：数名いました。

Q：呼吸器ウイルススクリーニング陽性群では炎症反応が高値だったなどの差はありましたか？

A：CRPなどの炎症反応が高値の傾向はありましたが有意差はありませんでした。

Q：ウイルスは鼻咽頭に常在することはないのか？

A：例えばRS ウイルスなどは呼吸器症状が全くない方では、PCR 陽性になることはまずないとされています。インフルエンザなど他のウイルスでも同様と思われます。

Q：陰性群では急性増悪の原因は推定されますか？

A：不明な方がほとんどですが、ステロイド減量中の方が数名いましたのでその影響はあったかもしれません。

Q：ステロイドパルス後にステロイドは漸減するのか？

A：長期間かけて漸減していきませんが、膠原病など原因がある場合は少量で維持することがあります。漸減中にも急性増悪を起こすことがあるので注意が必要です。

Q：ウイルス感染の3例とそれ以外で急性増悪の進展のスピードに違いはありましたか？印象でいいので教えてください。

A：間質性肺炎急性増悪例の定義上は1か月以内とされていますが、今回検討した間質性肺炎急性増悪例29症例は概ね1-2週間以内の発症例がほとんどでした。ウイルススクリーニング陽性群と陰性群で明らかな差は認めてませんが、ウイルス陽性群の方が炎症所見の程度が強いように思われました。

Q：気管支肺胞洗浄を行った方が4例いたとのことでしたが、気管支肺胞洗浄液を用いた解析は行いましたか？

A：今回は行っておらず、全て咽頭ぬぐい液で解析しています。

Q：過去の報告ではCMVやEBウイルスなどヘルペス属ウイルス感染の報告もあるがその辺りは検討していますか？

A：今回は調べておりませんので今後の課題かと思えます。

Q：ウイルス感染が判明した症例では抗菌薬の使用は短くできるのか？

A：間質性肺炎急性増悪は初めから重症の呼吸不全の方が多く、エンピリックに広域の抗菌薬を開始することが多いです。二次的な細菌感染を予防する目的である程度の期間は抗菌薬を継続すべきと考えていますが、できるだけ抗菌薬は早期に終了する方針で診療しています。

以上、内容の斬新さ、重要性、研究方法の正確性、表現の明確さ、および質疑応答の結果を踏まえ、審査員全員での討議の結果、本論文は学位論文に値すると評価された。