

significant difference between them. The observed difference in growth kinetics in Mo-DC between the vaccine strains and the field isolates might account for the difference in the pathogenicity of MV, such as severity of the symptoms and immunosuppression, and development of SSPE.

【はじめに】

遅発性ウイルス感染症の一種である亜急性硬化性全脳炎（SSPE）は、麻疹ウイルスの変異株が中枢神経系に持続感染することによって引き起こされる。SSPE は麻疹罹患者 7～8 万人に 1 人程度の割合で¹⁾、平均約 7～9 年の潜伏期の後に発症する^{1,2)}。一方、麻疹ワクチン接種者が SSPE を発症する割合は自然感染の場合の約 1/10 程度であり、現行の弱毒生ワクチンの安全性の根拠のひとつになっている¹⁾。しかし、ワクチンに用いられるウイルス株がなぜ SSPE を引き起こしにくいかにについての明確な説明はなされていない。また、少数ながらワクチン接種後に SSPE を発症した場合には、その潜伏期は自然麻疹感染後の SSPE 発症に比べて有意に短縮されることが最近報告された³⁾。この潜伏期短縮の機序は不明であるが、麻疹ワクチン接種の安全性をより確実なものにするために、ワクチン株の性状とその弱毒化機序を明らかにしておく必要がある。

マクロファージ及び樹状細胞は気道に存在し、個体レベルでの麻疹ウイルス感染の初期段階における標的細胞であると考えられている⁴⁻⁷⁾。また、麻疹患者の末梢血液では主に単球にウイルスが感染している⁸⁾。このような細胞でのウイルス増殖は、麻疹ウイルス感染の重症化、免疫機能の低下やそれに伴う感染の遷延化、ひいては SSPE の成立に関与している可能性が考えられる。従って、樹状細胞あるいはその他の免疫担当細胞におけるウイルス感染を解析することは、麻疹の発症病理を解明するうえで意義がある。

【目 的】

本研究では、種々の麻疹ウイルス野外株とワクチン株の、ヒト単球由来樹状細胞 (Mo-DC)、マクロファージ及び単球での増殖を比較検討し、ワクチン株の弱毒化の機構及び麻疹の発症病理の一端を解明することを目的とした。

【材料と方法】

1) 麻疹ウイルス：(1)現行認可ワクチン (AIK-C、FF8) のワクチンバイアルのウイルスを、B95a 細胞で 1～2 回増殖させたものをワクチン株として用いた。野外株として、麻疹患者から B95a 細胞を用いて分離、継代したウイルス株 2 株 (Yonekawa、Ito) を用いた。用いたウイルス株を表 1 に示す。

2) 樹状細胞とリンパ球：Ficoll-Paque を用いて常法により、ヒト静脈血から末梢血単核球 (PBMC) を採取し、抗 CD3 抗体、抗 CD19 抗体及び抗 CD56 抗体で標識された磁気ビーズで T 細胞、B 細胞と NK 細胞を除去して、単球分画とした。この単球を GM-CSF (100 ng/ml) と IL-4 (100 ng/ml) 存在下で 1 週間培養し、樹状細胞 (Mo-DC) に分化させた。また、GM-CSF (100 ng/ml) 存在下で 1 週間培養し、マクロファージに分化させた (図 1)。

3) ウイルス感染実験：単球、マクロファージ、または Mo-DC に種々の麻疹ウイルス株を感染させ、経日的に培養液及び細胞を回収し、以下の方法でウイルス感染の程度を解析した。ウイルス感染の測定は以下の 3 つの指標を用いて行った。感染性ウイルスの産生は、B95a 細胞を用いた感染価 (TCID₅₀) により測定した。ウイルス蛋白合成は、麻疹ウイルス H 蛋白、F 蛋白に対するポリクローナル抗体、N 蛋白を検出する麻疹患者血清、または抗 M 蛋白モノクローナル抗体を用いた細胞抽出液のウエスタンブロット法により解析した。ウイルス感染 Mo-DC の蛍光抗体法は抗麻疹ウイルス血清及び抗 CD1a モノクローナル抗体を用いた 2 重染色により行った。ウイルスゲノムの複製は、ウイルスゲノム RNA の 3'末端リーダー配列を特異的に増幅する reverse transcription-polymerase chain

reaction (RT-PCR)により、半定量的に測定した。RT-PCR に用いたプライマーの塩基配列は 5'-ACCAAACAAAGTTGGGTAAG-3' (nt 1~20)と 5'-GGTACCTCTTGATGCGAAGG-3' (nt 470~451)である。

(倫理面への配慮)

麻疹ウイルス野外流行株は以前に患児の保護者の同意のうえで得られたものを用いており、倫理的な問題点はない。樹状細胞とリンパ球は協力研究者あるいは当研究室の研究者から同意を得て採取しており、倫理的問題点はない。なお、ウイルス感染実験は微生物学研究室においてバイオセーフティー指針に準拠して行った。

[結 果]

- 1) B95a 細胞及び PHA 処理 PBMC では、野外株、ワクチン株とも同程度に、良好なウイルス増殖がみられ、感染性ウイルスの産生・放出が認められた (図 2 A, B)。
- 2) 単球とマクロファージ (GM-MΦ) ではワクチン株と野外株共に増殖が悪く、両者に顕著な差は認められなかった (図 2 C, D)。
- 3) Mo-DC では、野外株は良好に増殖し、感染性ウイルス粒子の産生が認められた。一方、ワクチン株では、感染性ウイルス粒子の産生・放出はほとんど認められなかった (図 2 E)。しかしながら、ワクチン株による Mo-DC の細胞変性効果は感染 1 日後には顕著に認められ、野外株による細胞変性効果の誘導より早かった (図 3 A)。
- 4) Mo-DC への麻疹ウイルスの感染は、抗麻疹ウイルス抗体と樹状細胞特異的マーカーである CD1a に対する抗体による 2 重染色により確認した (図 3 B)。
- 5) Mo-DC におけるウイルスゲノムの複製は、ワクチン株と野外株の間で同程度であった (図 4)。
- 6) Mo-DC におけるウイルス蛋白の蓄積について調べた。野外株では H、F、N、M すべてが感染後経時的に増加した。一方、ワクチン株では、H、F、N の蓄積はピークの時点で比較すると野外株と遜色ないが、M 蛋白の蓄積は顕著に悪かった (図 5 A)。B95a 細胞におけるウイルス蛋白の蓄積は、ワクチン株と野外株の間で同程度であった (図 5 B)。

[考 察]

我々はこれまでに、Mo-DC における麻疹ウイルスワクチン株の感染は、ある段階までは野外株と同程度に進行するが、感染性ウイルス粒子の産生・放出は著しく阻害されていることを報告してきた。今回の研究により、ワクチン株感染 Mo-DC においては、M 蛋白の蓄積が顕著に抑制されていることが明らかになった。M 蛋白はウイルス粒子の形成・放出を司ることが知られているので、ワクチン株感染 Mo-DC における M 蛋白の蓄積の阻害が、感染性ウイルス粒子の産生・放出の阻害の一義的要因である可能性が考えられた。現在、M 蛋白の産生・分解の経時的変動について詳細に検討している。一方、単球とマクロファージは麻疹ウイルス感染の主要な標的と考えられているが、これらの細胞では、野外株とワクチン株の増殖に顕著な差は認められなかった。従って、Mo-DC における野外株とワクチン株の感染動態の差異が、両者の病原性の差異 (麻疹症状、免疫抑制、SSPE 発症) を規定している可能性が考えられる。今後、この Mo-DC における感染動態の差異が M 遺伝子/M 蛋白のみにより規定されているのか、あるいは他の麻疹ウイルス遺伝子/蛋白の関与もあるのか否かについて、より詳細に検討したい。また、in vivo での麻疹ウイルス感染における樹状細胞の役割を検討したいと考えている。

[結 論]

Mo-DC における麻疹ウイルスワクチン株の感染は、ある段階までは野外株と同程度に進行するが、

感染性ウイルス粒子の産生・放出の段階で阻害されている。これはワクチン株感染 Mo-DC での M 蛋白の蓄積が十分でないことが原因であると考えられた。単球とマクロファージでは、野外株とワクチン株ともに増殖が悪く、両者の間で明らかな差は認められなかった。Mo-DC における野外株とワクチン株の感染動態の差異が、両者の病原性の差異（麻疹症状、免疫抑制、SSPE 発症）を規定している可能性が考えられた。

〔参考文献〕

- 1) Okuno, Y., Nakao, T., Ishida, N., Konno, T., Mizutani, H., Fukuyama, Y., Sato, T., Isomura, S., Ueda, S., Kitamura, I., et al.: Incidence of subacute sclerosing panencephalitis following measles and measles vaccination in Japan. *Int. J. Epidemiol.* 18:684-689, 1989
- 2) 中村好一、二瓶健次、飯沼一字、岡英次、北本哲之：臨床調査個人票からみた亜急性硬化性全脳炎（SSPE）の疫学像。厚生省特定疾患「遅発性ウイルス感染」調査研究班、（班長 北本哲之）平成 13 年度研究報告書：59-64, 2002
- 3) 二瓶健次、越智友子：亜急性硬化性全脳炎（SSPE）の生存例の検討。厚生省特定疾患「遅発性ウイルス感染」調査研究班、（班長 北本哲之）平成 10 年度研究報告書：52-56, 1999
- 4) Grosjean, I., Caux, C., Bella, C., Berger, I., Wild, F., Banchereau, J., and Kaiserlian, D.: Measles virus infects human dendritic cells and blocks their allostimulatory properties for CD4+ T cells. *J. Exp. Med.* 186:801-812, 1997
- 5) Fugier-Vivier, I., Servet-Delprat, C., Rivailier, P., Rissoan, M. C., Liu, Y.-J., and Rabourdin-Combe, C.: Measles virus suppresses cell-mediated immunity by interfering with the survival and functions of dendritic and T cells. *J. Exp. Med.* 186:813-823, 1997
- 6) Griffin, D. E. Measles virus, In D.M. Knipe, P. M. Howley, D. E. Griffin, M. A. Martin, R. A. Lamb, B. Roizman, and S. E. Straus (ed.), *Fields virology*, 4th ed. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia. p. 1401-1441, 2001.
- 7) Mrkic, B., Odermatt, B., Klein, M. A., Billeter, M. A., Pavlovic, J., and Cattaneo, R.: Lymphatic dissemination and comparative pathology of recombinant measles viruses in genetically modified mice. *J. Virol.* 74:1364-1372, 2000.

〔研究発表〕

1. 論文発表

- 1) Ohgimoto, S., Ohgimoto, K., Itoh, M., Ihara, T., and Hotta, H.: Viral assembly and/or release of vaccine strains, but not field isolates, of measles virus is impaired in cultured human dendritic cells. (in preparation)

2. 学会発表

- 1) 扇本真治、扇本かおり、庵原俊昭、堀田博：ヒト樹状細胞における麻疹ウイルスの増殖：野外株とワクチン株の質的差異、第 51 回日本ウイルス学会学術集会（京都）、2003 年

表 1 実験に用いた麻疹ウイルス株

ワクチン株	野外流行株
AIK-C FF-8	Yonekawa Ito

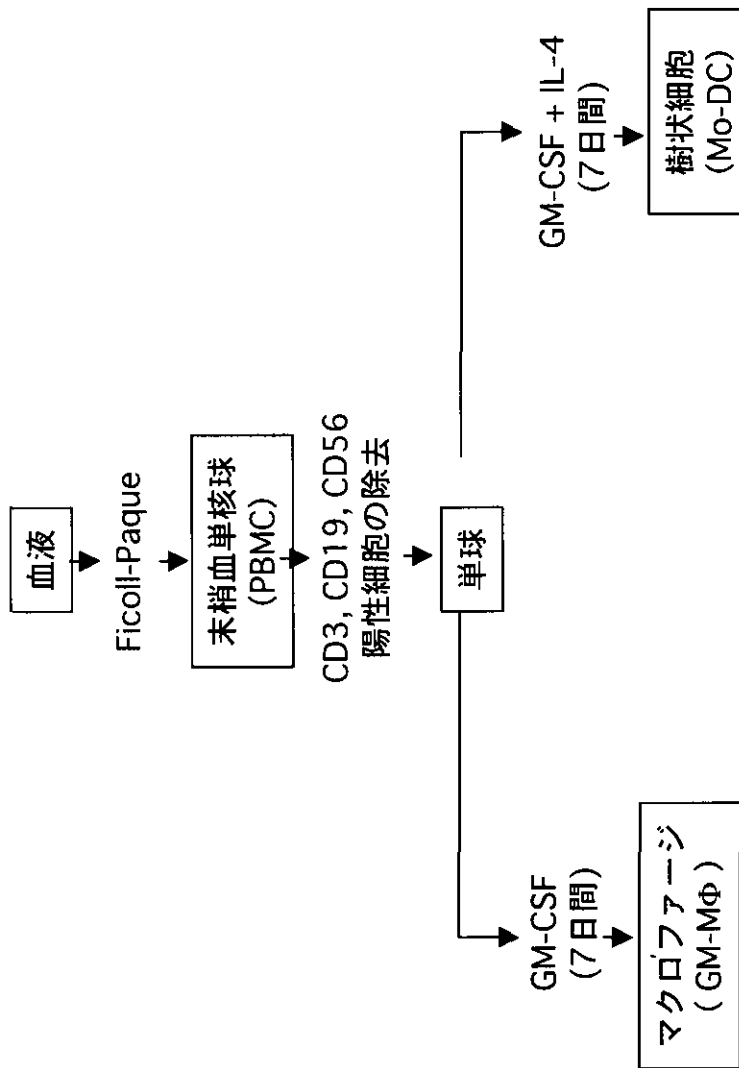


図 1 単球、マクロファージおよび樹状細胞の採取

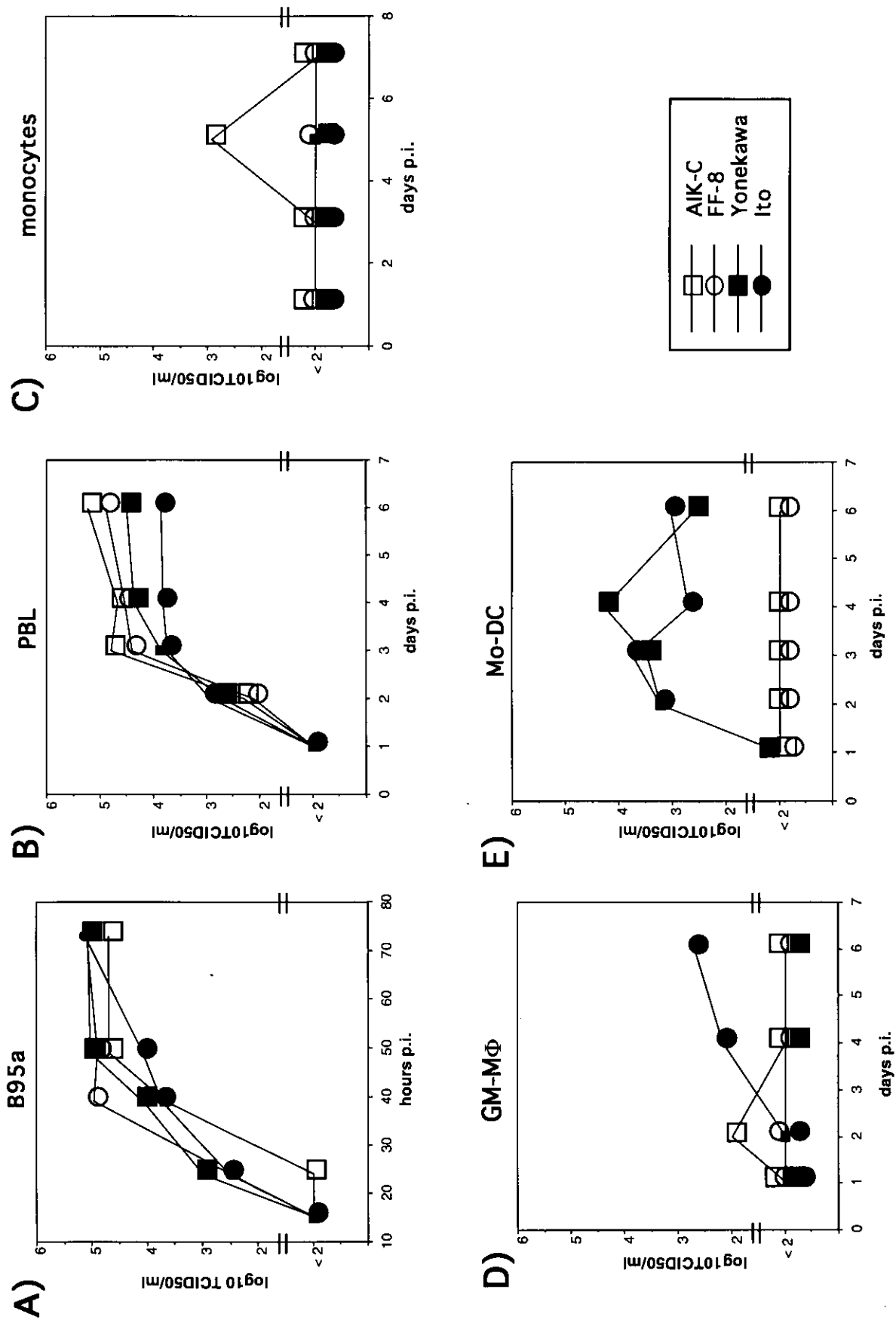


図2 麻疹ウイルスの血球細胞での増殖

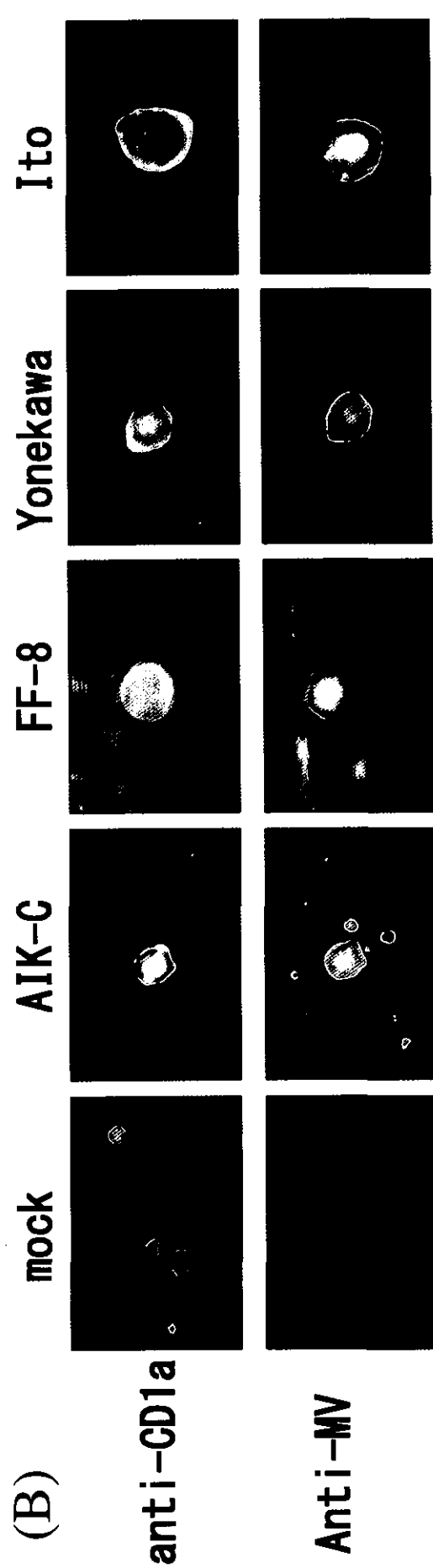
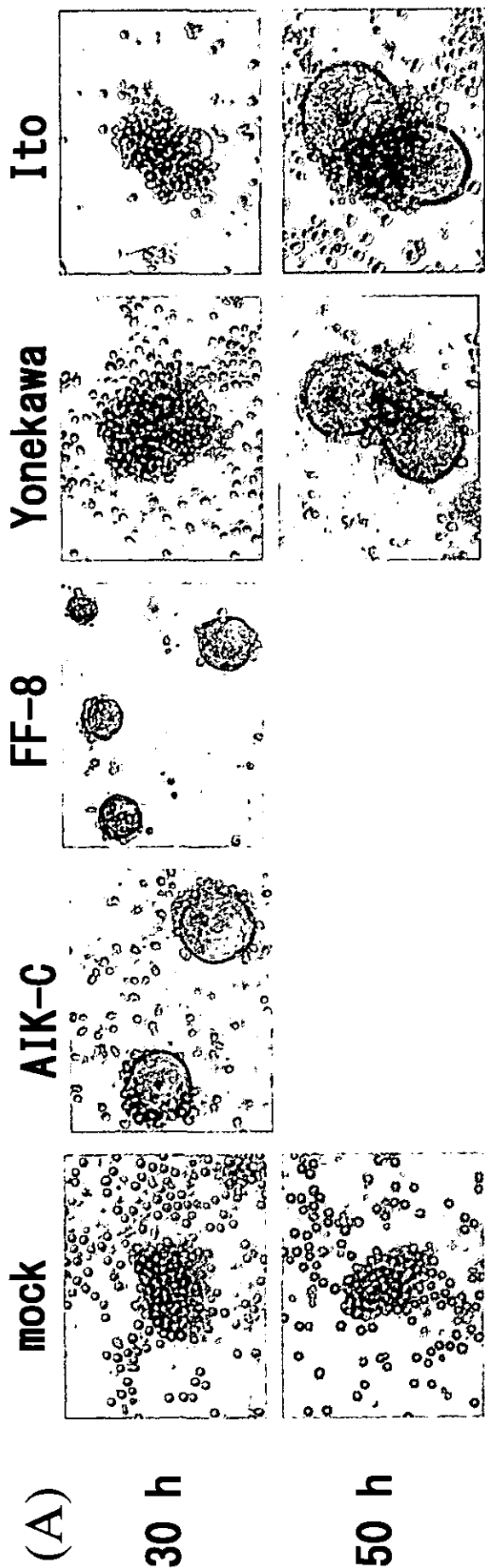


図3 麻疹ウイルスの樹状細胞への感染

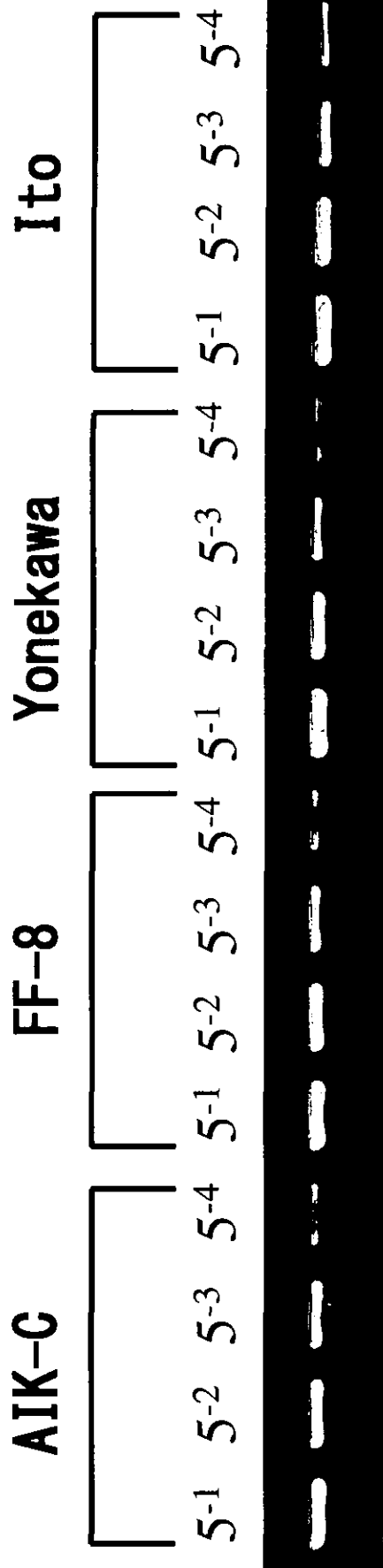


図4 麻疹ウイルス感染樹状細胞でのウイルスゲノムの複製

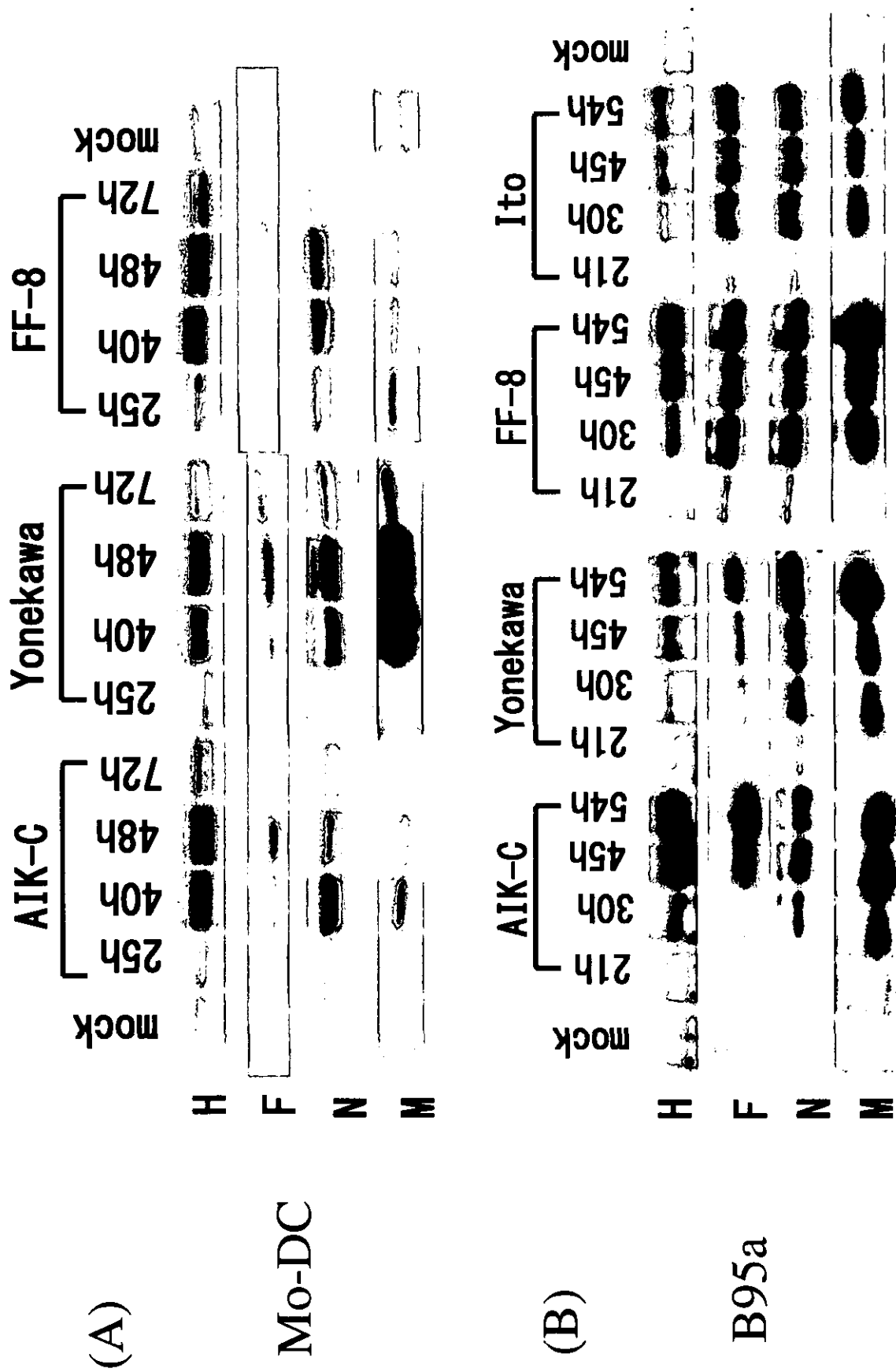


図5 Mo-DCでの麻疹ウイルス蛋白の蓄積

カニクイザル中枢神経における麻疹ウイルス持続感染

班 員：網 康至（国立感染症研究所・動物管理室）

協力研究者：須崎百合子、小長谷昌功（国立感染症研究所・動物管理室、ウイルス第3部）

小船 富美夫（東京大学医科学研究所・実験動物研究施設）

〔研究要旨〕

麻疹ウイルスの脳内侵入経路を明らかにする目的で、麻疹ウイルスを経鼻接種後、ウイルス血症の極期である感染7日後に、末梢血より単核細胞を分離し、同一個体の視床に接種したカニクイザル2頭について、脳内における麻疹ウイルスの持続感染について検討を行った。感染41週後、そのうちの1頭の脳脊髄液中に麻疹ウイルス中和抗体を検出した。感染54週後にはその抗体価の上昇が認められ、かつ、この個体では血漿中の抗麻疹ウイルス IgM 抗体が持続して検出された。これらの結果は、この個体において中枢神経内に麻疹ウイルスが持続感染していることを示唆するものと考えられる。しかしながら、臨床症状は観察されず、これらの結果と SSPE との関係についてはさらなる継続的に観察が必要であるとともに、持続感染が成立しなかった他の1頭との差異についてさらに検討する必要があると考えられた。

Persistent infection of measles virus in central nervous system of the cynomolgous monkey intracerebrally inoculated with autochthonous infected peripheral blood mononuclear cells

Yasushi AMI¹, Yuriko SUZAKI¹, Masayoshi KOHASE², and Fumio KOBUNE³

1, Division of Experimental Animal Research, 2, Department of Virology III, National Institute of Infectious Disease, 3, Laboratory Animal Research Center, Institute of Medical Science, The University of Tokyo.

ABSTRACT

One of the cynomolgous monkeys, intracerebrally inoculated with the autochthonous peripheral blood mononuclear cells containing measles virus (MV) infected cells after intranasal challenge, had virus specific neutralizing antibody in CSF at 41 weeks post inoculation. Moreover this monkey had also the virus specific IgM fluorescence assay antibody in the plasma during the observation period. These results suggested that MV persistently infected to the central nervous systems of this monkey. At 53 weeks p.i. No clinical signs were observed, but further observation was needed to clarify the relation between the persistent infection of MV and SSPE.

〔はじめに〕

SSPE 麻疹ウイルスの脳内における持続感染が SSPE 発症要因のひとつであると考えられている。病原性を有する麻疹ウイルスは、標的細胞の膜上に存在する SLAM を主としてレセプターとして利用しているが、神経細胞、あるいは希突起膠細胞には発現していない。すなわち、末梢から脳内へのウイルス伝播には、cell to cell の感染が主体であると考えられる。昨年度、中枢神経への持続感染成立を目的として、感染自己末梢血単核球を同一個体の視床に接種し、接種後2週目に中枢神経へのウイルス感染の有無を検索したが、検出されなかった。同様のサルについて長期間にわたる観察を行い、持続感染の有無について検索を行った。

〔目的〕

脳内へのウイルス伝播が感染細胞の脳内移行によるものとするれば、通常ではその機会が少なく、ウイルスの持続感染がまれにしか起らない要因であると考えられる。脳内に感染細胞を接種することにより、脳内標的細胞への感染機会を増加させた場合、持続的な感染が成立するか否かを検討することを目的とする。また、SSPE の発症要因である麻疹ウイルスの持続感染を、カニクイザルに引き起こすことにより、SSPE の動物モデルを作成することも目的である。

〔材料と方法〕

麻疹ウイルス HL-MoBr3 株 10⁵TCID₅₀ を経鼻接種し、感染7日後に末梢血より分離した単核球 10⁶ 個

を、同一個体の大脳視床に接種した3頭のうち2頭、対照として培養液を接種した2頭のうち1頭、合計3頭のカニクイザルについて臨床症状の観察を行った。また、経時的に末梢血液、脳脊髄液を採材し、抗麻疹ウイルス中和抗体価、およびIgG、IgM 蛍光抗体価を測定した。

抗体価の測定は、血漿あるいは脳脊髄液を4倍希釈から2倍段階希釈し、攻撃ウイルスおよびFA抗原作成には、麻疹ウイルス野外分離株IC-B株、B95a細胞を用いて行った。

本実験は、国立感染症研究所動物実験委員会の承認を得て行った。

[結果]

接種後7日後に脳内に接種した感染単核球数を表1に示す。

すべてのカニクイザルは、感染10日後から中和抗体が血漿中に認められた。接種43週後まで上昇し、接種51週後には軽度の減少が認められた(図1)。接種後41週において、感染細胞を視床に接種した1頭のカニクイザル(no.4565)の脳脊髄液中に中和抗体価(4倍)を認めた。感染53週後には8倍に上昇した。観察期間を通じて他の個体には血漿中には認められるが、脳脊髄液中には認められなかった(図1、2)。抗麻疹ウイルスIgG 蛍光抗体は、感染3週後を最大値とし、漸次減少し、すべての個体で同様の推移を示した(図3)。抗麻疹ウイルスIgM 蛍光抗体は、感染10日後に最大値とし、脳脊髄液中に中和抗体を認めた1頭(no.4565)が16倍を観察期間において持続的に示したのに対して、減少し、感染51週では4倍以下であった(図4)。表2に接種3週以後のこれらの抗体価の変化をまとめた。

観察期間を通じて、臨床症状は実験群、対照群ともに観察されなかった。

[考察]

ウイルスの脳内侵入機構は、ウイルス単独、あるいは血液細胞を介して、あるいは脳血管内皮細胞への感染からなどが考えられるが、麻疹ウイルスでは今のところ不明である。昨年度、我々はウイルス血症の主体となっている、感染1週後の末梢血単核細胞を脳内に接種する方法で、脳内の標的細胞である神経細胞あるいは希突起膠細胞への効率的に感染が成立する可能性について検討を行ったが、脳内接種2週後の脳からはウイルス分離されず、対照群との有意な差は認められなかった。今回、これらの方法で感染を試みたカニクイザルについてさらに長期にわたり観察を行った。

実験群の1頭(no.4565)の脳脊髄液中に麻疹ウイルス中和抗体を認めた。明らかに脳脊髄液採取時に血液が混入すると脳脊髄液中の中和抗体が認められるため、結果の判断には注意を要するが、この個体においては連続して認められ、かつ感染53週には明らかに上昇を認めたことから、脳脊髄液中の中和抗体の存在は間違いのないものと考えられる。また、どう一個体における血漿中のウイルス特異的IgMの存在からも、麻疹ウイルスの持続感染を強く示唆するものと考えられる。これらの結果は、SSPE患者に特徴的な臨床所見と同一であり、この個体において同様の感染状況にあることが示唆される。その他のSSPEに特徴的な臨床所見、例えば脳脊髄液中のoligoclonal IgGの存在、IgG indexなどについてさらに検討する必要があると考えられる。

培養液接種の対照群の1頭および実験群の1頭には持続感染を示唆する結果は認められなかった。これまでのカニクイザルへの野外株麻疹ウイルスの脳内接種あるいは経鼻接種で、脳脊髄液中に中和抗体を認めたことはなく、対照群の結果についてはこれらの結果と一致する。実験群の2頭の差異については、接種ウイルスに有意な差がないにもかかわらず、個体(no.4564)では持続感染が認められておらず、持続感染が成立するには、中枢神経に到達するウイルス量よりはむしろ宿主側の要因が重要なのかも知れない。

中枢神経内における麻疹ウイルスの持続感染は、SSPEの必要条件ではあるが、必ずSSPEを発症するとは限らないかも知れない。今後、持続感染が認められた個体の発症の有無についてさらに観察を続ける必要があるものと考えられる。

[結論]

感染自己末梢血単核球の脳内接種したカニクイザルの1頭で、感染41週後脳脊髄液中に麻疹ウイルス中和抗体を検出した。感染53週後にはその抗体価の上昇が認められ、かつその個体の血漿中には抗麻疹ウイルスIgM抗体が持続して検出された。これらの結果は、この個体において中枢神経内に麻疹ウイルスが持続感染していることを示唆するものと考えられる。

[参考文献]

- 1) Schumacher, H.P., Albrecht, P., Clark R.G., Kirschstein R., and Tauraso N.M. Intracerebral inoculation of

rhesus monkeys with a strain of measles virus isolated from a case of subacute Sclerosing panencephalitis.
Infect.Immun.4:419-424.1971

[研究発表]

なし

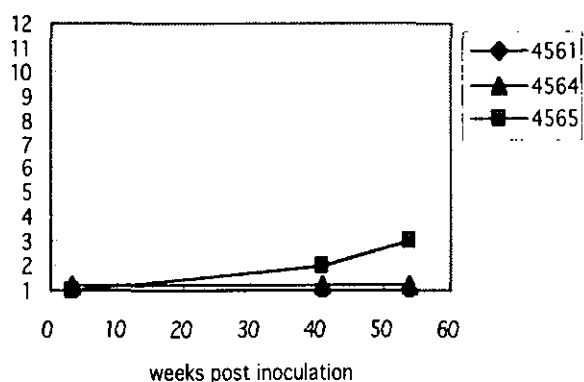


図1 脳脊髄液中の抗麻疹ウイルス中和抗体価

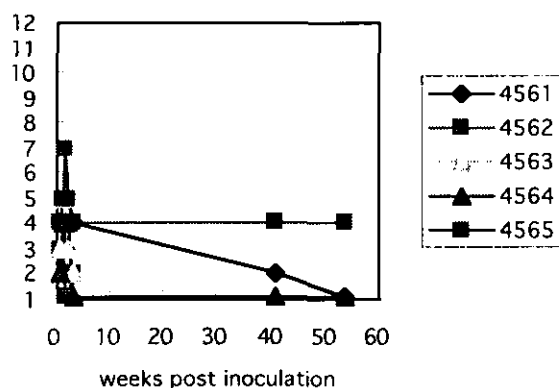


図4 血漿中の抗麻疹ウイルス IgM 抗体

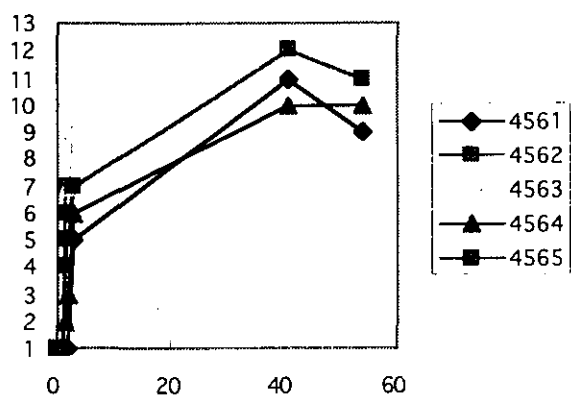


図2 血漿中の抗麻疹ウイルス中和抗体価

Anim no.	inoculum	virus load
4561	medium	20
4562	medium	640
4563	PBMC	320
4564	PBMC	2450
4565	PBMC	1280

表1 感染7日後脳内再接種した細胞(10⁶ 個)あたりに含まれる感染細胞数

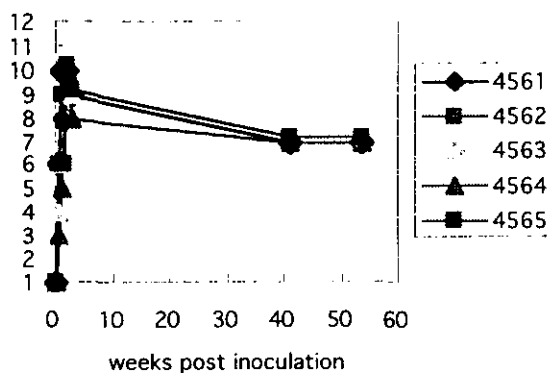


図3 血漿中の抗麻疹ウイルス IgG 抗体価

	Virus specific FA titers in plasma					
	IgG			IgM		
	3W	41W	53W	3W	41W	53W
4561	512	128	128	16	4	<4
4564	512	128	128	4	<4	<4
4565	512	128	128	16	16	16

	Neutralizing titers					
	plasma			CSF		
	3W	41W	53W	3W	41W	53W
4561	32	2048	512	<4	<4	(4)
4564	64	1024	1024	<4	<4	<4
4565	128	4056	2048	<4	4	8

表2 中和抗体価および FA 抗体価の推移まとめ

パキスタン国カラチとパプアニューギニア国東部高地におけるSSPE の多発の原因

研究協力者：高須 俊明（長岡西病院・神経内科）
研究協力者：近藤 喜代太郎（元北大・公衆衛生）
研究協力者：吉川 康弘（元東大医科研・動物施設、国立感染研・霊長類研）
研究協力者：Akhtar Ahmed（元ダウ医科大・神経科）
研究協力者：三木 健司（日大・内科神経内科部門）
研究協力者：中村 好一（自治医大・公衆衛生）
研究協力者：駒瀬 勝啓（北里研・生物製剤研・開発研究）
研究協力者：J. M. Mgone（元 Goroka Base Hospital・小児科）
研究協力者：C. S. Mgone（元パプアニューギニア医学研・分子遺伝学）
研究協力者：M. P. Alpers（元パプアニューギニア医学研）

【研究要旨】

パキスタン国カラチとパプアニューギニア国（PNG）の Eastern Highland Province (EHP)で Civil Hospital Karachi (CHK) と Goroka Base Hospital (GBH)をベースに地域調査を加えて疫学研究を行った。SSPE の診断基準は、臨床症状、髄液と血清の麻疹ウイルス中和抗体価、脳波所見を参考にして設定した。SSPE 診断数は、CHK では15年間（1982～1997）に164例、GBHでは4年間（1997～2000）に83例であった。20歳未満人口百万当たりの平均年間診断数はカラチで2.2、平均年間発生数はEHPで98であった。本値98はPNGにおける麻疹ワクチン導入以後の値であるにもかかわらず、世界各国における報告値のどれよりも高く、他国における報告の中での麻疹ワクチン導入以前の最大値9.1の10.8倍であった。症例-対照研究の結果、CHK、GBHのSSPE患者の麻疹罹患率は対照に比し有意に高かったが、麻疹ワクチン受種率は対照との間に有意の差がなかった。CHK、GBHのSSPE患者中1歳未満での麻疹罹患率は、対照に比し有意に高かった。GBHのSSPE患者の麻疹罹患の4週間前以後または麻疹罹患後に麻疹ワクチンを受種した者の比率は、対照に比し有意に高かった。CHKのSSPE患者の中の未熟児比率は、対照に比し有意に高かった。世界各国からの20歳未満人口百万当たり年間SSPE発生数報告値は0.52から98と大きな開きがあり、発生リスクに地域因子が関わる可能性があることを示唆した。この開きの一部は有効な麻疹ワクチンの普及度の地域差によると思われる。幼若な月齢での麻疹罹患の多寡が地域因子の一部をなす可能性がある。カラチとEHPにおける多発には、これら両因子が関与したと考えられた。EHPで麻疹罹患の4週間前以後または麻疹罹患後における麻疹ワクチン受種が有意なリスク因子となった可能性が考えられた。カラチでは未熟児率が有意なリスク因子となっている可能性がある。

The cause of the high incidence of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE)
in Karachi, Pakistan, and the Eastern Highlands of Papua New Guinea

Toshiaki TAKASU

Department of Neurology, Nagaokanishi Hospital, Nagaoka City, Niigata

ABSTRACT

This epidemiologic study was performed based on Civil Hospital Karachi (CHK), Pakistan, and Goroka Base Hospital (GBH), Eastern Highland Province (EHP), Papua New Guinea (PNG) and related communities. Fixed sets of diagnostic criteria consisting of clinical symptoms and signs, cerebrospinal fluid and serum measles virus neutralizing antibody titer, and EEG findings were used. We made diagnosis of SSPE in 164 patients at CHK during the 15 years 1982-1997 and 83 patients at GBH during the 4 years 1997-2000. The average annual diagnosis rate at CHK was 2.2 per million child population below 20 years of age and the average annual incidence rate in EHP was 98 per million child population below 20 years of age. The rate of 98 was the highest ever reported from the world and, although it is a value in the post-vaccine era in PNG, by 10.8 times higher than the highest reported value in the pre-vaccine era in other countries. A case-control study showed that the ratio of SSPE patients at CHK and GBH who previously had measles was significantly higher than that of controls while the ratio of SSPE patients at these hospitals who were vaccinated previously was not significantly higher than that of controls. The ratio of SSPE patients at CHK and GBH who had measles at ages below 1 year was higher than that of controls. The ratio of combined SSPE patients at GBH who were vaccinated <4 weeks before their measles or vaccinated after their measles was significantly higher than that of controls. The ratio of immature baby among SSPE patients at CHK was significantly higher than that of controls. The reported values of the annual incidence of SSPE per million child population below 20 years of age from the world range between 0.52 and 98. This fact suggests that some regional risk factor or factors may possibly be involved in developing SSPE. This wide variation may partially be explained by the difference in measles immunization coverage and vaccine potency among different countries. Measles illness at very early ages was probably be a regional risk factor of SSPE. These two might be the cause of the high incidence of SSPE in Karachi and EHP. Additionally in EHP measles vaccination <4 weeks before measles and/or measles vaccination after measles and in Karachi birth as an immature baby might be a risk..

【はじめに】

亜急性硬化性全脳炎 (subacute sclerosing panencephalitis, SSPE) は、麻疹に罹患した小児の一部に、数年後に発生する脳疾患である。パキスタン国 (以下、PAK) カラチとパプアニューギニア国 (PNG) 東部高地では他の地域に比べて発生頻度が高い^{1,2,3)}。

【目的】

PAK国、PNG国におけるSSPE多発の原因を明らかにすることを目的に、両国で行なった疫学研究のデータを分析した。

【材料と方法】

1982年から1997年までの15年間にPAK国カラチのCivil Hospital Karachi (以下CHK)で診断したSSPE、1996年から2002年までの6年間にPNG国東部高地のGoroka Base Hospital, Eastern Highland Province (EHP) (以下、GBH)で診断したSSPE、これらの病院で得た病院対照、および地域調査で得た地域対照を用いて、症例-対照研究を行なった。なおカラチでの症例-対照研究は共同研究者近藤によるものである。

CHKでのSSPE診断基準は、(1)臨床症状、臨床経過がSSPEに符合、(2)麻疹ウイルス中和抗体価が髄液で20倍以上、(3)麻疹ウイルス中和抗体価が血清で160倍以上、(4)脳波に典型的な周期性同期性放電、の4項目とし、SSPEは(1)、(2)(3)、および(4)を満たす者、SSPE確実者は(1)と(2)を満たすか、または(1)と(3)を満たす者とした。

GBHでのSSPE診断基準は、(1)臨床症状、臨床経過がSSPEに符合、(2)麻疹ウイルス

抗体 EIA 価が髄液で 2000 以上かつ麻疹ウイルス抗体 EIA 価が血清で 200, 000 以上、(4) 脳波に典型的な周期性同期性放電、(5) RT-PCR 法で麻疹ウイルス核酸塩基配列が陽性、の 5 項目とし、SSPE は (1)、(2) および (3) を満たす者、SSPE 確実は (1) を満たして EIA 価が髄液で 1000 以上かつ血清で 100, 000 以上である者、または (1) の一部が不明で EIA 価が髄液で 1000 以上かつ血清で 100, 000 以上である者とした。¹⁾

各国における SSPE 発生に関する文献調査を行なった。

【倫理面への配慮】

問診、診察、検体採取、脳波検査に当たっては、事前に患者保護者の了解を得た。

【結 果】

1. 診断数

CHK では 1982 年から 97 年の 15 年間に SSPE 164 例を診断した。GBH では 1997 年から 2002 年の 4 年間に SSPE 83 例を診断した。

2. 平均年間診断数、平均年間発生数

CHK では、1983 年 7 月から 97 年 4 月までの 13 年 9 ヶ月間の平均年間 SSPE 診断数が 11.9 であった。このうち 10.3 がカラチ出身であった。この期間のカラチの 20 歳未満人口は平均 476, 000 であった。したがって 20 歳未満人口百万当たり平均年間 SSPE 診断数は 2.5、平均年間カラチ出身 SSPE 診断数は 2.2 となった。

GBH では、1997 年と 98 年の 2 年間の平均年間 SSPE 診断数が 16 であった。この期間の 20 歳未満人口は平均 162, 741 であった。したがって 20 歳未満人口百万当たり平均年間 SSPE 診断数は 9.8 となった。上記 EHP 出身 32 例の全例が 1997 年と 1998 年に EHP で SSPE を発生していた。したがって EHP における 20 歳未満人口百万当たり平均年間 SSPE 発生数は 9.8 となった。¹⁾

3. 国別 20 歳未満人口 100 万当たり SSPE 年間発生数

図 1 に世界の国別 20 歳未満人口 100 万当たり SSPE 年間発生数の報告値を示す。国別報告値は 0.52 から 9.8 の間にあった。

4. 症例と対照における麻疹罹患率、麻疹ワクチン受種率

近藤の報告⁴⁾によれば、CHK での SSPE 患者の麻疹罹患率は、同胞、遊び友達に比べて有意に高かった。GBH での SSPE 患者の麻疹罹患率は、病院対照との間には有意差がなかったが、地域対照に比しては有意に高かった。同じく近藤の報告⁴⁾によれば、CHK での SSPE 患者の麻疹ワクチン受種率は、同胞、遊び友達との間に有意差がなかった。GBH での SSPE 患者の麻疹ワクチン受種率は、病院対照、地域対照との間に有意差がなかった。

5. 症例と対照における層別麻疹罹患年齢

リスクの所在をさらに明確化するために、麻疹罹患、ワクチン受種を細分した 2 次因子に着目し、症例-病院対照間、症例-地域対照間で比較した。麻疹罹患年齢を細分化して検討した結果、CHK での SSPE 患者の 1 歳未満で麻疹に罹患した者の比率は、同胞、遊び友達に比べて有意に高かった。GBH での SSPE 患者の 1 歳未満で麻疹に罹患した者の比率は病院対照、地域対照に比べて有意に高かった。(図 2)

6. 症例と対照における麻疹罹患と麻疹ワクチン受種の関係

麻疹ワクチン接種と麻疹罹患の間隔を細分化して検討した結果、GBH での SSPE 患者の麻疹罹患の 4 週間前以後においてワクチンを受種した者の比率、麻疹罹患後にワクチンを受種した者の比率は、病院対照に比しても地域対照に比しても有意に高かった。(図 3 上)

7. 症例と対照における未熟児比率

近藤の報告⁷⁾によれば、CHK での SSPE 患者の中で未熟児として生まれた者の比率は、同胞との

間には有意な差がなかったが、友人に比しては有意に高かった。(図3下)

【考 察】

PNG国EHPで得た20歳未満人口百万当たりSSPE年間発生数値9.8は、同国における麻疹ワクチン導入以後の値であるにもかかわらず、他国における麻疹ワクチン導入以前の最大値であるイタリア国サルディニア地方での9.1(3年間の平均)⁵⁾の10.8倍、これに次ぐ値であるニュージーランドでの6.6(10年間の平均)⁶⁾の14.9倍であった。EHPでのワクチン導入以前の値は不明であるので以下の二つの場合を想定してみた。

もしこの不明値がワクチン導入以後における本値9.8より小であったとするならば、ワクチン導入によりSSPEの発生が増加したことになる。これは日本、アメリカ合衆国、フランス、イングランドとウェールズ、オランダ、イスラエルの6カ国で観察された、ワクチン導入以後にはSSPE発生が、ワクチン導入以前の1.7分の1ないし10分の1(それぞれ1/10、1/3.3、1/4.8、1.1/7、1/9.9、1/2)に減少したという結果と反することになる。また、ワクチン株によるSSPE罹患率は野生株によるSSPE罹患率の16分の1程度とする推定(Okunoら⁷⁾)にも反する。

EHPでのワクチン導入以前の不明値が、もしワクチン導入以後の本値9.8に等しいか、またはこれより大であったとするならば、ワクチン導入によりSSPEの発生が不変であったかまたな減少したことになる。その場合、ワクチン導入以前の不明値は、上記世界における麻疹ワクチン導入以前の最大値9.1の10.8倍またはそれ以上となる。このような大きな差は、疫学研究における症例把握度の違いでは説明しにくい。したがって、この場合にはSSPEの発生になんらかの地域因子の関与を想定しなければならない。

SSPEの発生の多少を左右する原因として、第1に考えられるのは麻疹ワクチンの影響である。PAK国やPNG国での麻疹ワクチン接種が十分に有効に行なわれていないことが両国におけるSSPE発生の減少を不十分なものとしていることが考えられる。しかし麻疹ワクチンの普及によってこれまでに起ったSSPE発生の減少においては、人口当たり発生の減少度は最高10分の1までであったことからして、有効な麻疹ワクチン接種の十分な普及が実現していなかったことのみでEHPにおける高発生を説明することはむずかしい。

第2に考えられるのは麻疹罹患年齢の影響である。PAK国、PNG国の両方に共通してみられたのは、1歳未満で罹患した麻疹が高度に有意なリスク因子となっていたことである。乳幼児期に罹患した麻疹がSSPEのリスク因子であることは他の地域でも広く認められているが、その中でとくに幼若な月齢で麻疹に罹患した者の比率は各国によって異なっていて、図5に示したPAK国とPNG国における標本においても、そのことが窺われる。とくに幼若な月齢での麻疹罹患の多寡がSSPE発生の地域的リスク因子の一部をなす可能性がある。

第3に、EHPでは、麻疹罹患の4週間前以後または麻疹罹患後におけるワクチン受種が有意なリスク因子となっている可能性が考えられたが、現在、交絡因子の影響を調整中である。

第4に、CHKでは、未熟児として生まれた者の比率が有意なリスク因子となっていた。

第3、第4の因子にも地域による差がある可能性がある。他に地域差のあるリスク因子がある可能性がある。

【結 論】

カラチとEHPにおけるSSPEの多発の原因の一部は、有効な麻疹ワクチン受種が十分に普及していないためである可能性がある。他の一部は幼若な月齢での麻疹罹患であると思われる。これらに加えてカラチでは未熟児としての誕生が、EHPでは麻疹罹患の4週間前以後または麻疹罹患後におけるワクチン受種がリスクとなっている可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) Takasu T., Mgone J. M., Mgone C. S., et al.: A continuing high incidence of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) in the Eastern Highlands of Papua New Guinea. *Epidemiol Infect* 131: 887-898, 2003
- 2) Kondo K., Takasu T., Akhtar Ahmed: Neurological diseases in Karachi, Pakistan – elevated occurrence of subacute sclerosing panencephalitis. *Neuroepidemiology* 7: 66-80, 1988
- 3) Lucas K. M., Sanders B. C., Rongap A., et al.: Subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) in Papua New Guinea: a high incidence in young children. *Epidemiol Infect* 108: 547-553, 1992
- 4) 近藤喜代太郎. 亜急性硬化性全脳炎 3 疫学. スローウイルス感染とプリオン山内一也、立石潤編), 近代出版, 東京, 1995、pp31 - 45
- 5) Cianchetti C., Ferrante P., Marrosu M. G.: Subacute sclerosing panencephalitis in Italy. *Acta Neurol Scand* 73: 160-167, 1986
- 6) Baguley D. M., Glasgow G. I.: Subacute sclerosing panencephalitis and Salk vaccine. *Lancet* 1: 763-765, 1973
- 7) Okuno Y., Nakao T., Ishida N., et al.: Incidence of subacute sclerosing panencephalitis following measles and measles vaccination in Japan. *Intern J Epidemiol* 18: 684-689, 1988

【研究発表】

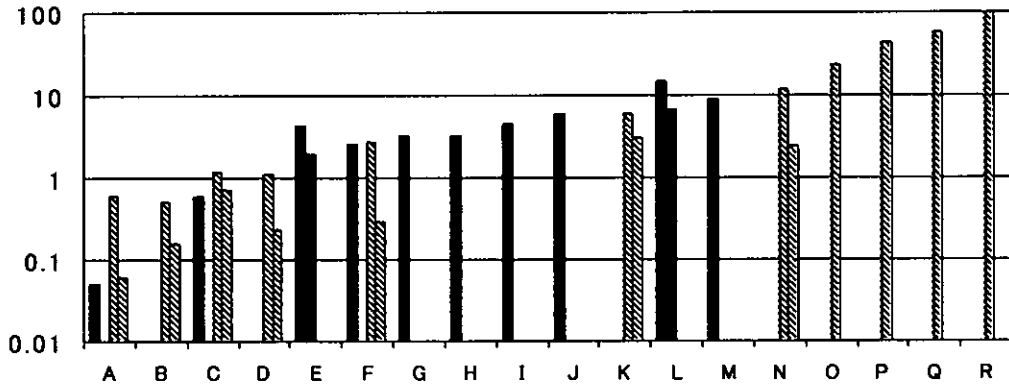
1. 論文発表

- 1) Takasu T., Mgone J. M., Mgone C. S., et al.: A continuing high incidence of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) in the Eastern Highlands of Papua New Guinea. *Epidemiol Infect* 131: 887-898, 2003

2. 学会発表

- 1) 高須俊明：パキスタン国カラチとパプアニューギニア国東部高地における SSPE の多発の原因. 第 8 回日本神経感染症学会シンポジウム 2、2003 年 10 月 11 日

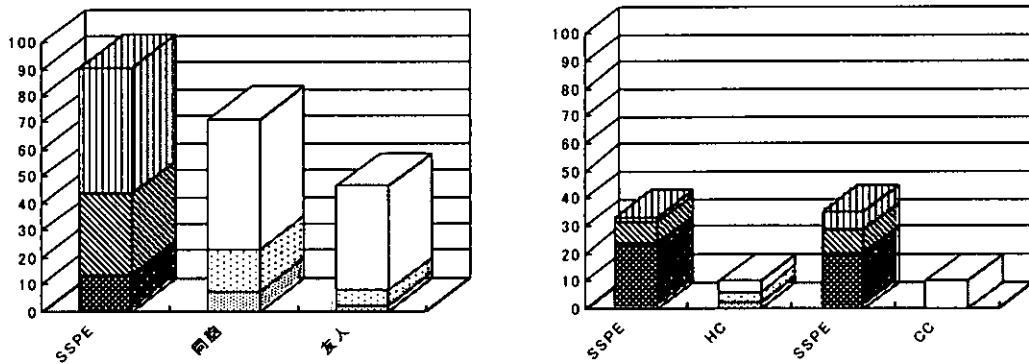
図1. 国別 20 歳未満人口百万当たり SSPE 年間発生数



縦軸の高さは20歳未満人口百万当たりSSPE年間発生数のLog₁₀値を示す。国によっては複数の報告値がある。

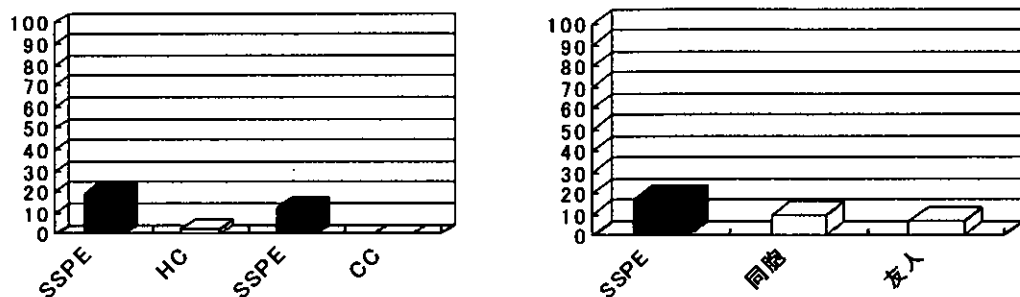
A, 日本. B, アメリカ合衆国. C, フランス. D, イングランドとウェールズ. E, オランダ. F, スコットランド. G, カナダ国トロント. H, ベルギー. I, ハンガリー. J, 南アフリカ. K, イスラエル. L, ニュージーランド. M, イタリア国サルディニア地方. N, PAK国カラチ. O, ルーマニア. P, 南インド. Q, PNG国高地4州と沿岸2州. R, PNG国EHP.

図2. 層別麻疹罹患年齢の比率



左はCHK、右はGBHでの結果、縦軸の数字は麻疹罹患年齢の比率(%)を示す。各柱の区分は下から1歳未満、1歳以上かつ2歳未満、2歳以上。HC：病院対照。CC：地域対照。

図3. GBHで麻疹罹患前4週以後または麻疹罹患後において麻疹ワクチンを受種した者の比率(%) (左)とCHKで未熟児として生まれた者の比率(%) (右)



進行性多巣性白質脳症の診断基準に基づいた全国疫学調査結果

研究協力者：岸田修二（東京都立駒込病院・神経内科）
同 上：黒田康夫（佐賀大学・医・神経内科）
同 上：余郷嘉明（東京大学・大学院医・泌尿器科）
班 員：保井孝太郎（東京都神経科学総合研究所・微生物研究部門）
班 員：長嶋和郎（北海道大学・大学院医・分子細胞病理）
班 員：水澤英洋（東京医科歯科大学・大学院医・神経内科）

〔研究要旨〕

進行性多巣性白質脳症（PML）は JC ウイルス感染により引き起こされる中枢神経脱髄性疾患である。免疫不全状態で発症する稀な疾患であり、発症すると進行性経過をとり、数ヶ月で致死的転帰をとる予後不良の感染性脳症である。免疫不全症を合併する治療法や AIDS などなどの疾患が増加してきており、今後本症が増加する懸念がある。発症メカニズムの解明、根本的治療の開発が急務と考えられる。ところで、我が国ではこの疾患に関して本格的な疫学調査がなく、研究の出発点として、統一的な診断基準を作成し、それに基づいて今回神経内科専門医を対象に 1999 年から 2003 年の 5 年間の疫学調査を実施した。その結果、Definite 例 20 例、Probable 例 18 例、Possible 例 14 例、計 52 例が報告された。男女比は男 1.5 : 女 1、発症年齢は中高齢者に多く認められた。背景基礎疾患として HIV 感染症 21 例、非 HIV 感染症 31 例（内 6 例は基礎疾患不明/なし）であった。PML の基礎疾患としての HIV 感染は漸増傾向にあった。死亡者の平均生存期間は約 5.6 ヶ月で、HIV 感染と非 HIV 感染の間に有意差は認められなかった。HIV 感染者では長期生存者は全て高活性抗レトロウイルス療法を受けた患者であり、非 HIV 感染者では Ara-C、インターフェロン α 投与患者、まれに無治療でも長期生存者が認められた。予後不良な本症に対して今後治療や患者ケア指針の作成、発症機序解明の取り組み、根本的治療法の開発が必要であることが認識された。

Epidemiological survey of progressive multifocal leukoencephalopathy based on diagnostic criteria in Japan

Shuji KISHIDA¹, Yasuo KURODA², Yoshiaki YOGO³, Kotaro YASUI⁴, Kazuo NAGASHIMA⁵ and Hidehiro MIZUSAWA⁶

1: Department of Neurology, Tokyo Metropolitan Komagome Hospital.

2: Department of Neurology, Saga University of Medicine.

3: Department of Urology, Graduate School of Medicine and Faculty of Medicine, University of Tokyo.

4: Department of microbiology, Tokyo Metropolitan Institute for Neuroscience.

5: Laboratory of Molecular & Cellular Pathology, Hokkaido University Graduate School of Medicine.

6: Department of Neurology & Neurological Science, Tokyo Medical and Dental University Graduate School of Medical and Dental Sciences.

ABSTRACT

We proposed consensus criteria for diagnosis of progressive multifocal leukoencephalopathy. The criteria specify three degrees of diagnostic certainty: possible PML, probable PML, and definite PML. Possible PML requires the presence of subacutely progressive encephalopathy resulting in akinetic mutism with adult onset, patchy and/or confluent multiple white matter lesions without mass effect and usually without contrast enhancement at cranial CT or MRI, and no known etiology of other diseases that could explain the leukoencephalopathy. Probable PML requires the detection of JC virus DNA in the cerebrospinal fluid by polymerase chain reaction, as well as the other features of possible PML. Definite PML requires the characteristic histologic features suggestive of PML and the identification of JC virus infection by autopsy or biopsy specimens.

Based on diagnostic criteria of PML which we made this time, we performed nationwide epidemiological survey of PML. Twenty definite PML, 18 probable PML and 14 possible PML were identified during 5-year period between 1999 and 2003. There were 31 male patients and 21 females. The major age group at onset was old and middle age. 40% of cases occurred in patients with AIDS, 13% collagen diseases, 25% hematological malignancies. 6 cases had no identifiable evidence of immunosuppression. There was an increase trend in number of AIDS-related PML patients coincident with AIDS epidemic in Japan. The prognosis of most PML patients was poor for both HIV and non-HIV associated patients with 5.6 months of median survival. However, there were some cases with prolonged survival who were treated with α interferon, Ara-C or highly active antiretroviral therapy in AIDS patients. There were also few patients with spontaneous remission.

〔はじめに〕

進行性多巣性白質脳症 (PML) は JC ウイルス感染により引き起こされる中枢神経脱髄性疾患である。これまで造血系悪性腫瘍や慢性肉芽腫性疾患、膠原病、免疫抑制剤投与患者、長期腎透析患者などに生じる稀な疾患であったが、近年後天性免疫不全症候群 (AIDS) の出現に伴い増加してきている。発病すると進行性経過をとり、数ヶ月で致命的転帰をとる予後不良の感染性脳症であるため、その発症メカニズムの解明、根本的治療の開発が必要とされている。本症の確診は、AIDS 流行以前には脳生検ないし剖検での特徴的病理所見と電顕ないし免疫組織学的な JC ウイルスの証明にあったが、近年他の微生物疾患と同様、polymerase chain reaction (PCR) 法は本症の診断に極めて重要で、髄液での JC ウイルス DNA の検出は約 80% の感受性と 99% の特異性をもつことが分かった。また画像は非特異的であるが、有益な情報を提供するため、今回これらをもとに診断基準を作成した。またこれまで診断基準がなかったため PML の発症頻度についての疫学調査報告はなく、作成した診断基準にそって我が国の神経内科専門医を対象に、アンケートによる PML の実態調査を施行した。

〔目的〕

これまで本症は剖検ないし生検で診断されてきたために、この疾患に関して本格的な臨床疫学調査が行われなかった。近年髄液での PCR 法の有用性と MRI などの画像所見の果たす役割が重視されておるので、これらを加味した統一した診断基準を作成し、それに基づいて本症の実態調査を行うことにした。

〔材料と方法〕

表 1 に示すように PML の診断のために possible PML, Probable PML, Definite PML の三段階の基