

るが、一般に麻疹ウイルス野生株の脳内接種でマウスにウイルス増殖を認めないのは、免疫応答によりウイルスが排除されてしまうためと考えられる。

E. 結論

麻疹ウイルス野生株は、ニューロンとマイクログリアに感染できると考えられる。マイクログリアへの感染は SLAM を介した感染であるが、ニューロンへの感染に関わる受容体の本体は不明である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hashiguchi T, Ose T, Kubota M, Maita N, Kamishikiryo J, Maenaka K, Yanagi Y. Structure of the measles virus hemagglutinin bound to its cellular receptor SLAM. *Nat Struct. Mol. Biol*

10.1038/nsmb, 1969

- 2) Shirogane Y, Takeda M, Tahara M, Ikegame S, Nakamura T, Yanagi Y. Epithelial- mesenchymal transition abolishes the susceptibility of polarized epithelial cell lines to measles virus. *J Biol Chem* 285 : 20882- 20890, 2010

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

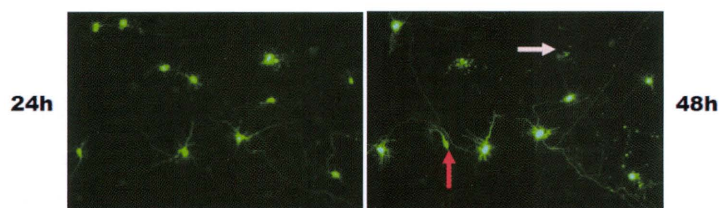


図1 マウスニューロン初代培養の麻疹ウイルス感染

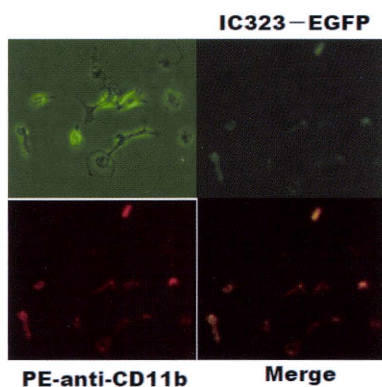


図2 ヒト SLAM ノックインマウス由来マイクログリア初代培養への麻疹ウイルス感染

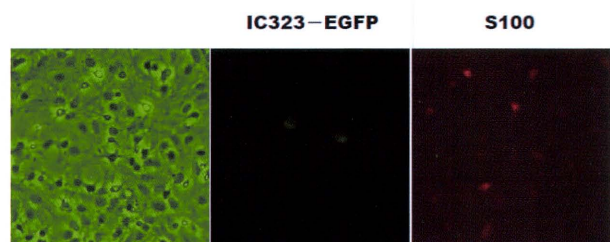


図3 アストロサイト初代培養への麻疹ウイルス感染

ヒト神経系培養細胞におけるナタリズマブの JC ウイルス (JCV) 増殖性への影響

分担研究者：澤 洋文 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター分子病態・診断部門

研究協力者：鈴木 忠樹 国立感染症研究所・感染病理

研究協力者：大場 靖子 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター分子病態・診断部門

研究要旨

VLA-4 は主に白血球等の細胞表面に発現している接着分子であり血管内皮細胞表面に発現している VCAM-1 と結合し、白血球と内皮細胞の接着を制御している。抗 VLA-4 抗体であるナタリズマブは、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、クローン病等の慢性炎症性疾患の治療に使用されている。最近、ナタリズマブ投与が PML の発症に関与するという報告が散見している。本研究では JCV 許容神経系細胞であるヒト神経系培養細胞 IMR-32 細胞を用いてナタリズマブの JCV 増殖性への影響を検討した。その結果、ナタリズマブの細胞培養液中の濃度を細胞接着抑制効果が十分に認められる濃度まで増加させても、JCV の感染に対しての効果は認められなかった。

A. 研究目的

JC ウイルス (JCV) は human polyomavirus に属し、致死性中枢神経系脱髄疾患である進行性多巣性白質脳症 (Progressive multifocal leukoencephalopathy, PML) の原因ウイルスである。近年免疫抑制療法の普及や acquired immune deficiency syndrome (AIDS) の流行に伴って PML が益々問題になって来ているが、未だ有効な治療法は確立していない。

VLA-4 は主に白血球等の細胞表面に発現している接着分子であり血管内皮細胞表面に発現している VCAM-1 と結合し、白血球と内皮細胞の接着を制御している。抗 VLA-4 抗体であるナタリズマブは、VLA-4 と VCAM-1 の結合を阻害し白血球の浸潤を防ぐ作用を有し、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、クローン病等の慢性炎症性疾患の治療に使用されている。最近ナタリズマブ投与が PML の発症に関与するという報告が散見している^{1,2)}。本研究では JCV 許容神経系細胞であるヒト神経系培

養細胞 IMR-32 細胞を用いてナタリズマブの JCV 増殖性への影響を検討した。

B. 研究方法

JCV 許容細胞であるヒト神経系培養細胞 IMR-32 細胞における VLA-4 の発現をフローサイトメトリーにて検索した。また、VCAM-1 をコーティングしたディッシュを用いて、IMR-32 細胞の VCAM-1 に対する接着性を確認し、種々の濃度での Natalizumab による IMR-32 細胞の接着阻害効果を検討した。

得られた結果に基づいて、Natalizumab 存在下で IMR-32 細胞に JCV を感染させ、Natalizumab の JCV 感染に与える影響について、ウイルス蛋白の発現の差を immunoblotting にて検索し、増殖したウイルスの力価を赤血球凝集活性にて比較した。

(倫理面への配慮)

本実験で用いられた JCV は P2 で扱うべきウイルスであり、本研究は当施設の P2 指定

実験室にて安全性に留意して行なわれた。また、本研究の内容は、北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター病原性微生物等安全管理委員会において[実験番号 011 (10)]、また、北海道大学遺伝子組換え実験等安全委員会において承認を得ている [承認番号 20 (22)]。

C. 研究結果

1. IMR-32 細胞の細胞表面での VLA-4 の発現を確認し、VCAM-1 を coating した dish に対する IMR-32 細胞の接着性とその特異性を抗 VCAM-1 抗体と抗 VLA-4 抗体である Natalizumab を用いて確認した。
2. IMR-32 細胞において細胞の接着阻害効果を惹起し得る 0.2 microgram/ml の濃度での Natalizumab の処理による JCV の感染に対する影響は認めなかった。

D. 考察

本実験系において、IMR-32 細胞に接着阻害効果を有する濃度、すなわち IMR-32 細胞に生理的影響を及ぼす濃度において、Natalizumab は IMR-32 細胞での JCV の感染に直接の影響は及ぼさなかった。こ過去の論文では、Natalizumab は中枢神経系の perivascular space の CD4+ T-cell、dendritic cell を減少させ local immunosurveillance を低下させること等が報告されており、JCV に対する Natalizumab の直接の影響よりも、生体内での免疫応答等に対する Natalizumab の影響が PML の発症に関与していることが示唆された。

E. 結論

本研究では JCV 許容細胞であるヒト神経系培養細胞 IMR-32 細胞を用いた *in vitro* の実験系で、細胞培養液中の Natalizumab の濃度を細胞接着効果が十分に認められる濃度まで増加させても、IMR-32 細胞での JCV 感染に対しての影響は認められなかった。

[参考文献]

- 1) Weissert R. Progressive multifocal leukoencephalopathy. J Neuroimmunol. 2010.10.9, [Epub ahead of print]
- 2) Carson KR, Focosi D, Major EO, Petrini M, Richey EA, West DP, Bennett CL. Monoclonal antibody-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with rituximab, natalizumab, and efalizumab : a Review from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) Project. Lancet Oncol 10(8) : 816-24, 2009.8

F. 健康危険情報

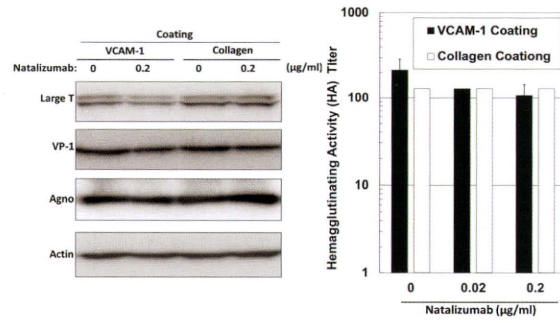
特に無し

G. 研究発表(2010/4/1~2011/3/31 発表)

1. 論文発表
 - 1) Suzuki T, Yamanouchi S, Sunden Y, Orba Y, Kimura T, Sawa H. Natalizumab has no direct biological effect on JC virus infectivity in permissive human neural cell lines. J Med Virol 82(7) : 1229-1235, 2010
2. 学会発表
 - 1) Dang X, Wuthrich C, Gordon J, Sawa H, Koralnik I : A novel deletion in JC virus agnoprotein causes productive infection of cortical pyramidal neurons. 10th International Symposium on NeuroVirology, Milan, Italy, 2010.10. 12-26 (poster)
 - 2) Kobayashi S, Suzuki T, Igarashi M, Ohtake N, Nakagawa K, Niikura K, Kimura T, Kasamatsu H, Sawa H : Cys80 of JC virus capsid protein, VP1 is essential for intrapentamer disulfide

- bond and pentamer formation. 10th International Symposium on NeuroVirology, Milan, Italy, 2010.10.12-26 (poster)
- 3) Orba Y, Suzuki T, Kimura T, Sawa H : Large T antigen promotes JC virus replication in G2 arrest by inducing G2 checkpoint signaling. 10th International Symposium on NeuroVirology, Milan, Italy, 2010.10.12-26 (poster)
- 4) Suzuki T, Orba Y, Makino Y, Okada Y, Sunden Y, Kimura T, Hasegawa H, Sata T, Hall WW, Sawa H : Disruption of intracellular vesicular trafficking by agnoprotein is essential for viroporin activity and JC virus replication. 10th International Symposium on NeuroVirology, Milan Italy, 2010.10.12-26 (oral)
- 5) 小林進太郎, 鈴木忠樹, 大竹範子, 永川桂大, 新倉謙一, 木村享史, 澤 洋文. ポリオーマウイルスの粒子形成機構の解析. 第 150 回日本獣医学会学術集会, 帯広, 2010.9.16-18 (口頭)
- 6) 鈴木忠樹, 山内聡子, 寸田祐嗣, 大場靖子, 木村享史, 佐田徹太郎, 澤 洋文. In vitro における natalizumab の JC virus 感染への影響の検討. 第 58 回日本ウイルス学会総会, あわぎんホール, 徳島, 2010.11.7-9 (ポスター)
- 7) 小林進太郎, 鈴木忠樹, 大竹範子, 永川桂大, 新倉謙一, 木村享史, 澤 洋文. JC ウイルスの粒子形成機構の解析. 第 33 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2010.12.7-10 (ポスター)
- 8) 鈴木忠樹, 大場靖子, 牧野吉倫, 岡田由紀, 寸田祐嗣, 木村享史, 長谷川秀樹, 佐田徹太郎, William W. Hall, 澤 洋文. ウィルスタンパク質「Viroporin」の機能制御にかかわる宿主因子とウイルス因子の相互作用. 第 33 回日本分子生物学会年会, 神戸, 2010.12.7-10 (口頭およびポスター発表)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
- 1) JC ウイルスの VP-1 に対する siRNA、およびそれを含有してなる医薬組成物(特願 2006-513677 号) 発明者:長嶋和郎、澤洋文、大場靖子。出願年月日 平成 17 年 4 月 26 日、特許査定 平成 23 年 1 月 18 日
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

IMR-32細胞におけるJCV感染に対する Natalizumabの効果



IMR-32細胞において細胞の接着阻害効果を惹起し得る0.2 microgram/mlの濃度でのNatalizumabの処理によりJCVタンパク質の発現および赤血球凝集能に対する影響は認めなかった。

進行性多巣性白質脳症(PML)の診断のための脳脊髄液のJCウイルス検査の実施と 国内におけるPMLの臨床的・疫学的解析(2010年4月~12月)

研究分担者：西條 政幸 国立感染症研究所ウイルス第一部・部長
研究協力者：中道 一生 国立感染症研究所ウイルス第一部・主任研究官

研究要旨

進行性多巣性白質脳症(PML)はJCウイルス(JCV)による致死的な脱髄疾患であり、その診断においては脳脊髄液(CSF)からのPCR検査によるJCVゲノムDNA(JCV-DNA)の検出が有効である。国立感染症研究所ウイルス第一部では、迅速性および定量性、信頼性において優れた定量的リアルタイムPCR検査系を確立し、国内の医療機関におけるJCV検査を支援している。平成22年4月から同年12月までの9ヶ月間に36都道府県の医療機関からのべ138件のCSF検査を実施した。検査対象患者(109名)の約12%(13名)の患者のCSFからJCV-DNAが検出された。また、診断支援を介して医療機関から提供された調査票に基づいてデータベースを構築し、各基礎疾患や年齢層、地域等におけるPMLの発生状況を明らかにした。さらに、近年PMLの治療薬候補として注目されているメフロキシンが投与された患者におけるフォローアップ検査において、CSF中のJCV-DNAのコピー数が顕著に減少する例があることを明らかにした。JCV-DNA量が抗JCV薬の評価における有用なマーカーとなることが示唆された。以上の結果から、本研究は国内のPMLサーベイランスおよび医療機関における診断や治療において大きな貢献を果たした。

A. 研究目的

進行性多巣性白質脳症(Progressive multifocal leukoencephalopathy:PML)は、免疫不全患者等の脳においてJCウイルス(JCV)が増殖することで引き起こされる致死的な脱髄疾患である。PMLの診断には特異性および侵襲性の点から、脳脊髄液(CSF)からのPCR検査によるJCVゲノムDNA(JCV-DNA)の検出が有効である。また、最近ではCSFからのリアルタイムPCRを用いたJCV-DNA検査が導入され、迅速性および特異性、信頼性の上で優れた検査法であることが確かめられている。本研究では、リアルタイムPCRを基盤としたCSFからのJCV-DNA増幅検査体制を整備し、各医療機

関でのPMLの検査において支援し、さらに国内のPMLに関するデータベースを構築することを目的とした。平成22年4月から同年12月までの検査実績およびデータの解析結果を報告する。

B. 研究方法

1)材料および検査系

PCRにおける陽性対照DNAとしてJCV-DNAを含むプラスミド(pJCV、JCRBより分与)を用いた。リアルタイムPCR機器としてLightCycler(Roche Diagnostics)を、PCR試薬としてLightCycler 480 Probes Master (Roche Diagnostics)を用いた。CSFからのDNA抽出にはQIAamp DNA Blood

2010 年度活動狀況

Mini Kit (QIAGEN)を用いた。また、JCVのT遺伝子とVP1遺伝子を標的とした特異的プライマーおよびTaqManプローブを作製しリアルタイムPCRに使用した。

2) JCVの検査体制および医療機関への支援

検査依頼の効率化を図るため、JCV検査の受付に関するWebサイトを公開し、臨床医が検索サイトにおいてキーワード「JCウイルス検査」を入力するだけで容易にアクセスできるシステムを構築した。また、検査依頼を受けた際には速やかに輸送キットを医療機関に配送し、検体および匿名化された患者情報の提供を受けた。CSFからDNAを抽出し、リアルタイムPCRによる定性検査を実施した。JCV陽性のCSFについては定量検査を実施し、JCV-DNAのコピー数を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会の承認のもとに実施された。

C. 研究結果

1) JCV検査の受付状況

平成22年4月から同年12月までの9ヶ月間に、36都道府県から138件の検査依頼を受けた。依頼経路としてはWebサイトからの新規依頼が56件(40.6%)、過去に依頼を受けた医療機関からの再依頼が77件(55.8%)、本研究班員等からの紹介が5件(3.6%)であった。

2) JCV検査の結果

上記の期間において、CSFの計138検体について定性検査を実施し、15検体(10.9%)からJCV-DNAが検出された。また、JCV陽性のCSFについて定量検査を実施した結果、検体中のウイルスDNAは、1 mLあたり $10E2$ コピーから $10E8$ コピーの範囲に分布し、うち5検体が $10E6$ 以上の高いコピー数を示した。加えて、メフロキンが投与されたJCV陽性者においてフォローアップ検査(1~2ヶ月の間隔

で複数回)を実施したところ、CSF中JCV-DNA量の減少が認められた。

3) JCV陽性者の基礎疾患と年齢

上記期間における被検者は109名で、うち13名(約11.9%)の患者のCSFからJCV-DNAが検出された。JCV陽性者の年齢層としては、0~20歳代が0名、30~40歳代が3名(23.1%)、50~60歳代が7名(53.8%)、70~80歳代が3名(23.1%)であった。JCV陽性者の基礎疾患としては、血液疾患が4名(30.8%)、HIV感染症が5名(38.5%)、その他の疾患が3名(23.1%)、不明が1名(7.7%)であった。

4) 血液疾患を有するJCV陽性者の解析

血液疾患を有する被検者(20名)におけるJCV陽性者の割合は20.0%(4名)であった。内訳は悪性リンパ腫が3名、多発性骨髄腫が1名であった。また、悪性リンパ腫を基礎疾患とする陽性者3名は造血幹細胞移植歴を有していなかったが、多発性骨髄腫患者(1名)では化学療法に加えて自家末梢血幹細胞の移植が施行されていた。

5) 血液疾患以外の基礎疾患を有するJCV陽性者の解析

HIV感染症を基礎疾患とする被検者(20名)におけるJCV陽性者の割合は25.0%(5名)であった。また、JCV陽性者における上記以外の基礎疾患としては、サルコイドーシスが2名、慢性肝炎が1名であった。

D. 考察

本研究はCSFを用いたJCV検査によって医療機関におけるPMLの診断を支援し、国内のPML発生状況を解析することを目的としている。検査を開始した平成19年から依頼数は年々増加している。また、平成22年度までの累計では過去に依頼を受けた医局からの再依頼が新規の依頼数を上回っている。これらの結果は当研究室の検査体制が全国の医療機関において認知され、PMLの診断や治療において活用されていることを示している。

検査支援を介した情報収集の特長は、国内における PML に関する情報をリアルタイムで把握できる点にある。本年度の調査結果では、JCV 陽性者の基礎疾患としては血液疾患および HIV 感染症が多くを占めており、前年度までの結果と同様の傾向を示した。とりわけ血液疾患患者における PML は予後が不良であるため、今後も注視していく必要があると考える。

また、本年度では PML の治療薬候補の評価において CSF 中の JCV 量が有用なマーカーとなることが示唆された。平成 21 年に JCV の増殖に対するメフロキンの抑制効果が発表されたことを契機として、国内でも臨床研究が始動している。本年度では共同研究として投与患者 4 名のフォローアップ検査を担当し、全ての患者において CSF の JCV 量が減少することが明らかにされた。さらに、JCV 量の減少は症状や画像の変化よりも先行して生じることが示された。これらの結果は JCV の定量検査がメフロキンの効果判定において重要な役割を担うことを示唆している。また、国内におけるメフロキンをを用いた治療の円滑な導入は、本研究において PML 患者を早期に発見するためシステムを構築し、着実にルーティーンを積み重ねた成果であると考えられる。

E. 結 論

リアルタイム PCR を基盤とした JCV ゲノム DNA の検査に基づいて PML の診断支援を実施し、国内の PML に関するデータを解析した。また、本研究において確立した定量検査は PML の診断だけでなく治療法の検討においても有用であることを示した。

[参考文献]

該当なし

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表(2010/4/1~2011/3/31 発表)

1. 論文発表

- 1) Nakamichi K, Kitani H, Takayama-Ito M, Morimoto K, Kurane I, Saijo M. Celastrol suppresses morphological and transcriptional responses in microglial cells upon stimulation with double-stranded RNA. *Int. J. Neurosci* 120 : 252-257, 2010
- 2) Nakamichi K, Takayama-Ito M, Nukuzuma S, Kurane I, Saijo M. Long-term infection of adult mice with murine polyomavirus following stereotaxic inoculation into the brain. *Microbiol. Immunol* 54 : 475-482, 2010

2. 学会発表

- 1) 中道一生, 伊藤睦代, 倉根一郎, 西條政幸. 定量的リアルタイム PCR による脳脊髄液中 JC ウイルスゲノムの検出に基づく進行性多巣性白質脳症の診断支援. 第 84 回日本感染症学会総会学術集会, 京都, 2010.4
- 2) 中道一生, 伊藤(高山)睦代, 倉根一郎, 西條政幸. 脳脊髄液中の JC ポリオーマウイルスの検査支援を介した日本国内における進行性多巣性白質脳症(PML)の発生状況の解析. 第 15 回日本神経感染症学会, 福島, 2010.10
- 3) 岸田修二, 水澤英洋, 中道一生, 西條政幸. 予後調査からみた PML. 第 15 回日本神経感染症学会, 福島, 2010.10
- 4) 中道一生, 伊藤(高山)睦代, 倉根一郎, 西條政幸. 進行性多巣性白質脳症が疑われた血液疾患患者の脳脊髄液における JC ポリオーマウイルスゲノム DNA の検出. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 徳島, 2010.11
- 5) 中道一生, 井上直樹, 伊藤(高山)睦代, 倉根一郎, 西條政幸. 進行性多巣性白質脳

症が疑われた患者の脳脊髄液におけるヘルペスウイルスの出現頻度の解析. 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 徳島, 2010.11

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
なし

予後調査からみた PML ならびに治療薬としてのメフロキンの投与方法と観察項目の作成

研究分担者：岸田 修二 東京都立駒込病院脳神経内科
研究協力者：水澤 英洋 東京医科歯科大学神経内科
研究協力者：西條 政幸 国立感染症研究所ウイルス第一部

研究要旨

わが国での PML の疫学調査の一端として、PML 罹患者の予後を明らかにした。さらに PML の治療薬として抗マラリア薬メフロキンが有効かどうかを多数例で検証するためのプロトコルを作成を行った。方法：髄液中に JCV 陽性と判明したラボラトリー確実な PML 患者 20 例を対象に、転帰、発症から診断までの期間、診断時の全身状態、診断から死亡までの期間、JCV 初回陽性率、病勢の停止例の解析を行った。結果：疾患の内訳は HIV 感染症 7 例、非 HIV 感染症 13 例。死亡の転帰は HIV 感染症で 3 例(43%)、非 HIV 感染症で 12 例(92%)であった。発症から診断までの期間は 3 ヶ月、診断時の Karnofsky performance score は 40、診断から死亡までの期間は全体で 3 ヶ月、初診時の髄液 JCV 陽性率は 90%、特異性は 100%であった。JCV 陽性から陰性化した症例は 6 例あり、非 HIV 感染で 3 例、HIV 感染で 3 例みられた。陰性化症例は延命あるいは進行停止がみられた。停止/長期生存例も Karnofsky performance score が 40 と高度な機能障害を残した。長期生存は HIV 感染は PML 診断後の HAART 使用が、非 HIV 感染は軽度な免疫不全が関与したが、メフロキンに関しては症例数が少なく評価出来なかった。髄液中 JCV 負荷量の推移の観察で陽性から陰性化は延命の予測因子である。HIV 感染症に関連した PML は HAART により延命するものの機能的予後は不良、非 HIV 感染症関連 PML は極めて死亡率が高い。診断に至るまでに時間がかかり、かつ高度に進行していることと、特に非 HIV 感染では有効な治療手段がないことが原因と考えられる。免疫を早期に回復し、JCV 特異治療薬の併用が最も重要な手段である。昨年抗マラリア薬メフロキンが PML の特異治療薬として有望であることを報告したので、今後多数例で検証するための治療プロトコルを作成した。観察項目や評価法はほかの治療薬にも応用出来ると思う。

A. 研究目的

①欧米では PML の基礎疾患として最近多発硬化症治療薬 Natalizumab や B 細胞性悪性リンパ腫治療薬 Rituximab などに関連した薬剤関連が報告されてきているが、HIV 感染がほとんどである。HIV 感染関連 PML の生命予後は延長したが未だに診断後の死亡率は高いままであるとの報告がある¹⁾。わが国で

は 2003 年に行った疫学調査²⁾からその後の報告はないし、予後に関与する因子についての研究は不十分なままである。今回わが国でのこれらに関する実態を調査した。

②昨年数例で抗マラリア薬メフロキンが PML の治療薬として有望であると報告したが、今回それを検証するための投与プロトコルを作成した。

B. 研究方法

①国立感染症研究所ウイルス第一部に JCV 検査依頼のあった献体の中で、JCV 陽性と判明し、依頼した主治医が予後調査に同意した 22 例を対象とした。そのうち 2 例に関しては予後調査の回答が得られなかったため、20 名について、基礎疾患、年齢、転帰、発症から診断までの期間、診断時の Karnofsky performance score、診断から死亡までの期間、JCV 初回陽性率・特異性、病勢の停止例の解析を行った。

①抗マラリア薬メフロキンの投与法は Biogen Idec 社のメフロキン投与法³⁾に準じ、また評価項目は Marra らがエイズに合併した PML に対して cidofovir の効果をみた際に使用した評価項目⁴⁾を参考に、神経学的評価、髄液中の JCV 負荷量、MRI 評価、HIV 感染症では CD4(+)T リンパ球数、HIV 負荷量などを組み込んだプロトコルを作成した。

(倫理面への配慮)

追跡調査に関しては患者の主治医の同意を得た上、主治医からアンケートで答えた報告書を基にした調査であるので個人は特定できない。また抗マラリア薬メフロキンの使用に当たっては、適応外薬品であるので、患者ならびにその家族の同意を得た上、更に倫理委員会での承認を得ることを条件とした。

C. 研究結果

1. 疫学調査：①PML の基礎疾患の内訳は HIV 感染症 7 例 (35%)、非 HIV 感染症 13 例 (65%、血液系悪性腫瘍 4、血液系移植関連 5、固形癌 1、肝炎・肝硬変 2、SLE 1) であった。②死亡の転帰は HIV 関連で 3 例 (43%)、非 HIV 関連で 12 例 (92%) であった (表 1)。死亡原因は HIV 関連では PML 死亡が 1 例で、ほかは肝不全、腎不全と HIV の治療関連であった。非 HIV 関連では PML 死亡ならびにその関連が 8 例と大半を占め、原病悪化が 2 例、

消化管出血 1 例、不明 1 例であった。③発症から診断までの期間は 3 ヶ月 (中央値、1~12 ヶ月)、死亡例は中央値 3.5 ヶ月 (1~12 ヶ月)、生存/停止例では中央値 2 ヶ月 (1~4 ヶ月) であった (表 1)。④診断時の Karnofsky performance score は中央値 40 (20~90) と進行していた。⑤死亡例の診断から死亡までの期間は、全体で中央値 2 ヶ月 (0~18 ヶ月)、HIV 関連で 3 ヶ月 (2~8 ヶ月)、非 HIV 関連で 2 ヶ月 (0~18 ヶ月) であった (表 1)。⑥初回検査髄液での JCV 陽性率は 18/20 (90%)、組織での確認例は 4/4 (100%) であった。⑦非 HIV 関連では 3/13 例に進行停止をみたが、2 例は原病の悪化で死亡、1 例は免疫障害の明らかでない慢性肝炎のみ長期生存している。⑧HIV 関連では 4/7 例で進行が停止し、長期生存している。自験例を見ても HAART が共通した治療法であった。(表 2, 3)。⑨進行停止ないし延命例では髄液中 JCV 負荷量の減少例であった (表 3)。⑩治療薬としてのメフロキンの有効性はサンプルサイズが小さいし、また HIV 関連では HAART との併用があり、評価が困難である。⑪進行が停止した例も Karnofsky performance score は中央値 40 (30~60) と高度な機能障害を残していた。

2. メフロキン投与プロトコルは付録 1~4 に示す通りである。

D. 考察

①PML の基礎疾患として、入院患者を対象にした 1998 年~2005 年の間に米国で登録された 9675 例の PML の解析では、HIV 感染が 82%、血液系悪性腫瘍が 8%、固形癌が 3%、リウマチ系疾患が 0.44% と報告⁵⁾がある。近年 natalizumab、rituximab、efalizumab、alemtuzumab、mycophenolatemofetil などの新しい生物学的製剤に関連した PML の報告例が増加し、注目されているが、しかし米国では PML の基礎疾患として非 HIV/AIDS 以外は極めて稀である⁶⁾。わが国での疫学調

査では欧米と異なり、前回同様未だに HIV/AIDS 関連 PML は基礎疾患として 40% 以下である²⁾。その代わり血液系悪性腫瘍、血液系移植関連 PML の頻度が高い点に特徴がある。我が国では HIV/AIDS 感染患者が漸増傾向にあるといえどもまだ諸外国に比べ少ないし、HIV 感染に HAART が開始された後、日和見感染の合併頻度が少なくなったことや、元々血液系悪性疾患、幹細胞移植患者に発症率が高い傾向にあり、rituximab や purine 拮抗薬など新たな生物製剤の使用が増えてきたことにもよるかもしれない。

今回主目的とした PML 罹患者の転帰については、HIV 感染関連 PML と HIV 以外の基礎疾患を有する PML とでは生命予後が大きく隔たっていることが改めて認識された。前者では 43% の死亡率であるのに比べ、後者は 92% ときわめて不良である。現在のところ基礎にある疾患の違いが予後を決める因子の一つである。PML が免疫不全を背景に発症することを考えると、HIV ウイルス量を効果的に抑制する HAART 療法は免疫を早期に改善し、さらに中枢神経内の HIV 負荷量を抑制することで JCV の増殖を抑制していることが HIV 関連 PML の延命に関与しているものと思われる。すなわち HIV 関連 PML では PML 診断後の HAART 使用が延命因子である。一方 HIV 感染以外の基礎疾患による PML では、特に血液疾患の悪性腫瘍、それに関係した移植関連の PML が対象患者に多いというバイアスを考慮すべきであるが、これまでの報告通り診断 3 ヶ月以内に高い死亡率を示した⁷⁾。非 HIV 関連 PML で一般的に生命予後が不良であるのは、基礎疾患に対する強力な化学療法や免疫抑制療法のために、中止後も免疫の回復がおそいのであろうし、SLE など基礎疾患そのものも免疫異常を来しやすいためと考えられる^{5,6)}。

現在 HIV 関連では延命するものの、機能的予後は悪く、ほとんど看護を必要としたまま

の延命であるし¹⁾、非 HIV 関連では生命予後さえ短期である。今回の調査から言えることは発症後確定診断までも期間が長く、その間にほとんど重度に進行していることに起因しているように思われる。早期診断と AIDS 関連では HAART の早期開始、非 HIV 関連では誘因薬剤の早期中止によって免疫を早く回復させることと、それに JCV 特異的治療が開始される必要がある。免疫の回復には JCV 特異免疫を有するリンパ球による養子免疫も有用かもしれない⁸⁾。JCV の増殖抑制効果をもつ薬剤は現在 *in vitro* ではシタラビンとメフロキンのみである。シタラビンに関しては血液関連悪性腫瘍を背景にした PML 患者に有用であったが、血液系副作用に問題があった⁹⁾。その後 HIV 関連 PML で無作為化比較試験では全く有用性が証明されなかった。セロトニン 5 HTA2 受容体拮抗薬、ミルタザピンが PML 治療に効果があったと報告されたが、HIV 関連 PML での HAART 以外には現在のところ多数例で有効性を証明できた薬剤はない。

メフロキンに関して Biogen Idec 社が PML に対するその有効性を検証するための study を HIV 関連 PML に対して開始した³⁾のを受け、昨年度 HIV 関連 PML 2 例と非 HIV 関連 3 例に試用した。その結果は昨年度報告したように、特に重大な副作用を伴わず治療薬として有用性が高いと判断した¹⁰⁾。そこで多数の患者での有用性を検証する目的で、Biogen Idec 社のプロトコルに準じた投与計画と、客観的に薬剤効果を検証できる Marra らの評価方法⁴⁾を改変したプロトコルを作成した。Biogen Idec 社は HIV 関連 PML を対象にしたメフロキン study を途中で中止したが、我々のほかにも非 HIV 関連 PML でメフロキンが有効であったことが報告^{11,12)}されている。HIV 関連 PML は HAART で免疫を改善するだけで良好な結果を得ることが出来るため、メフロキンの併用効果判定を髄液中の JCV

負荷量や延命で求める方法では不十分である。しかしながら、ほかに治療の手立てのない非 HIV 関連 PML で試すことは極めて有意義である。ところでメフロキンは中枢神経移行がよいと言われているが、現在の投与計画で果たして効果が得られるのかどうかは不明である。更にメフロキンは JCV に対しては適応外薬剤であることから容易に使用できないなどの問題が残されている。これらに関しては我々のプロトコルでの試用結果から今後解決できると思われる。我々の作成したプロトコルでの薬剤評価方法は客観的にとらえることが出来るため、今後 PML の薬剤評価の基本となるものと思う。

E. 結果

わが国での進行性多巣性白質脳症は依然として HIV 関連は約 35%、非 HIV 関連が約 65%を占めている。特に後者では血液関連が 45%で移植に関連したものが約 56%を占め諸外国に比べ特異である。HIV 関連 PML の死亡率は諸外国と同様減少したが、非 HIV 感染関連 PML は依然として高い死亡率を有する。しかしいずれも機能的予後は不良である。免疫の早期回復が第一であるが、そのほか JCV に直接効果のある薬剤の開発が必要である。抗マラリア剤メフロキンは有用と思われる症例がみられたので、多数例でのメフロキンの有効性を確認するために治療プロトコルを作成した。

[参考文献]

- 1) Engsig FN, Hansen AB, Omland LH, et al. Incidence, clinical presentation, and outcome of progressive multifocal leukoencephalopathy in HIV-infected patients during the highly active antiretroviral therapy era: a nationwide cohort study. *J Infect Dis* 199 : 77-83, 2009
- 2) 岸田修二. PML の疫学と臨床. *Brain Nerve* 59 : 125-137, 2007
- 3) Study to explore the effect of mefloquine in subjects with progressive multifocal leukoencephalopathy (PML). *Clinical Trials*. gov Web site. <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00746941?term=mefloquine+and+pml&rank=1>.
- 4) Marra CM, Rajcic N, Barker DE, et al. A pilot study of cidofovir for progressive multifocal leukoencephalopathy in AIDS. *AIDS* 16 : 1791-1797, 2002
- 5) Molloy ES, Calabrese LH. Progressive multifocal leukoencephalopathy: a national estimate of frequency in systemic lupus erythematosus and other rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 60 : 3761-3765, 2009
- 6) Amend KL, Turnbull B, Foskett N, et al. Incidence of progressive multifocal leukoencephalopathy in patients without HIV. *Neurology* 75 : 1326-1332, 2010
- 7) Pelosini M, Focosi D, Rita F, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy: report of three cases in HIV-negative hematological patients and review of literature. *Ann Hematol* 87 : 405-412, 2008
- 8) Balduzzi A, Lucchini G, Hirsch HH, et al. Polyomavirus JC-targeted T-cell therapy for progressive multiple leukoencephalopathy in a hematopoietic cell transplantation recipient. *Bone Marrow Transplant* 2010.10.4
- 9) Aksamit AJ. Treatment of non-AIDS progressive multifocal leukoencephalopathy with cytosine arabinoside. *J Neurovirol* 7 : 386-390, 2001

- 10) 岸田修二, 田中こずえ, 味澤 篤, ほか.
PML の治療としてメフロキンの使用経験
5 例. 平成 21 年度厚生労働科学研究費補
助金 (難治性疾患克服研究事業) プリオン
病及び遅発性ウイルス感染症に関する調
査研究班 分担研究報告書. 125-132,
2010
- 11) Gofton TE, Al-Khotani A, O'Farrell B, et
al. Mefloquine in the treatment of
progressive multifocal
leukoencephalopathy. J Neurol
Neurosurg Psychiatry 2010.6.20
- 12) Kishida S, Tanaka K. Mefloquine
Treatment in a Patient Suffering from
Progressive Multifocal
Leukoencephalopathy after Umbilical
Cord Blood Transplant. Inter Med 49 :
2509-2513, 2010

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kishida S, Tanaka K. Mefloquine
Treatment in a Patient Suffering from
Progressive Multifocal
Leukoencephalopathy after Umbilical
Cord Blood Transplant. Inter Med 49 :
2509-2513, 2010

2. 学会発表

- 1) 岸田修二, 水澤英洋, 中道一生, 西條政幸.
予後調査からみた PML. 第 15 回日本神
経感染症学会学術集会. 福島, 2010.10

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

基礎疾患	死亡率	発症～診断 期間 月 (中央値)	診断時 Karnofsky performance score (中央値)	診断～死亡 期間 月 (中央値)	生存/停止例 Karnofsky performance score (中央値)
AIDS 7例	43%	3	40	3	40
非AIDS 13例	92%	3	40	2	40

表 1. Probable PML の疫学調査結果

基礎疾患	初回髄液JCV 負荷量 copies/ml	追跡髄液JCV 負荷量 copies/ml	主治療	併用薬	転帰
臍帯血移植	911250	0	メフロキン		KS30で停止、診断18ヶ月後骨肉腫再燃死亡
骨髄移植	2130	0	免疫抑制剤 中止		KS40で停止、診断10ヶ月後GVHDで死亡
慢性C型肝炎	1740	71100→0	強ミノ		KS40で18ヶ月生存
AIDS	354	0	HAART	メフロキン	KS40で10ヶ月生存
AIDS	2325	0	HAART	メフロキン	KS40で10ヶ月生存
AIDS	0	71025→0	HAART		KS40で45ヶ月生存
AIDS	153	0	HAART		KS60で42ヶ月生存

表 2. PML の進行停止例の解析 2010 年 12 月現在

HIV 関連 PML 駒込病院症例 (2010.12.31)

HAART 導入後の現在生存例 (9/10 例、90%)

症例	年齢	性	発症年	HAART	その他	発症後転帰 (KS)
1	33	男	1998	+ (中断)	cidofovir	24ヶ月生存 (KS20) 後合併症で死亡
2	24	女	2001	+		116ヶ月生存 (KS90)
3	42	男	2006	+		51ヶ月生存 (KS40)
4	41	男	2007	+		46ヶ月生存 (KS50)
5	36	男	2007	+		46ヶ月生存 (KS60)
6	37	男	2008	+		38ヶ月生存 (KS60)
7	36	男	2009	+	mefloquine	17ヶ月生存 (KS60)
8	45	男	2009	+	mefloquine	17ヶ月生存 (KS90)
9	40	男	2009	+	mefloquine	13ヶ月生存 (KS40)
10	54	男	2009	+	mefloquine	13ヶ月生存 (KS50)

表 3. 自経例の HIV 関連 PML の解析

亜急性硬化性全脳炎サーベイランスの方法に関する検討 公的データベースに関する予備調査

研究分担者：岡 明 杏林大学医学部小児科

研究要旨

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)は、先進国の中で唯一の麻疹流行国である我が国では依然として大きな問題であるが、その患者数も含め実態は明らかではない。小児慢性特定疾患事業および診断群分類包括評価(DPC)での、SSPEの診断名に基づくデータから、各々114名および78名の患者についてのデータを取得することができた。しかし、登録されている率が十分でない可能性がある、登録されている医療的情報が不足している、二次調査については困難であるなどの問題が明らかとなった。今後はこうしたデータベースを他のデータを組み合わせることでサーベイランスを実施していくことが必要であると考えられた。

A. 研究目的

麻疹は依然として発生が継続し我が国は先進国で唯一とあってよい流行国の一つとなっている。こうした現状から、今後もSSPEが発生することが想定され、発生状況を把握するとともに、治療法の開発および対策行政上に必要な情報を継続的に収集する必要がある。

本研究班では、平成18年に全国の患者についてサーベイランス調査を行ったが、個人情報意識の高まりの中で、調査にあたり協力を得ることが困難なケースも少なくなかった。

今後のサーベイランス調査には、SSPEの公的なデータベースを利用した調査が必要である。そこで、現在、本疾患に関連する公的なデータベースの状況を調べるとともに、今後のサーベイランスへの適用について検討した。

B. 研究方法

(1) SSPEに対する公的医療補助体制：現在、SSPEに対する公的な医療費の補助につ

いては、特定疾患治療事業に加えて、18歳未満については小児慢性特定疾患の制度がある。このうち、小児慢性特定疾患でのSSPEの現状について検討をした上で、サーベイランスへの適用の可能性を調査する。国立成育医療研究センター政策科学研究部加藤忠明部長に協力をいただいた。

(2) DPC(Diagnosis Procedure Combination：診断群分類包括評価)データは、入院患者の医療について新たに導入されてきたシステムである。このデータのサーベイランスへの適用の可能性について検討する。東京大学医学部医療経営政策学康永秀生先生に協力をいただいた。

(倫理面への配慮)

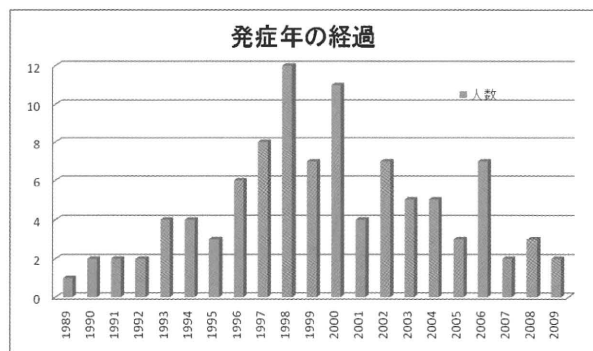
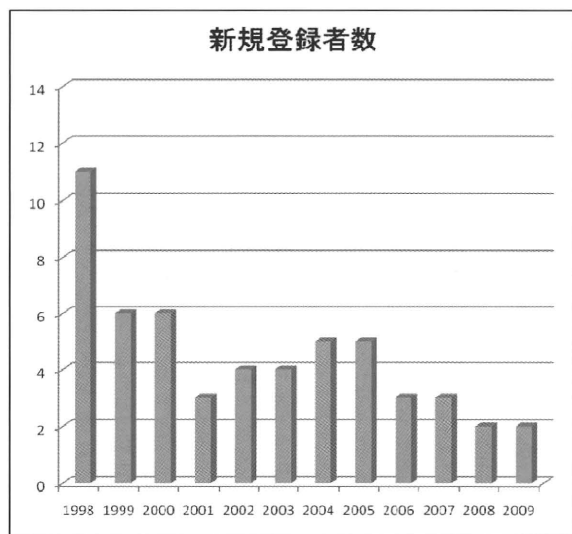
今後、本調査を施行する際には、所属施設の倫理委員会と相談の上で必要な承認を得る。

C. 研究結果

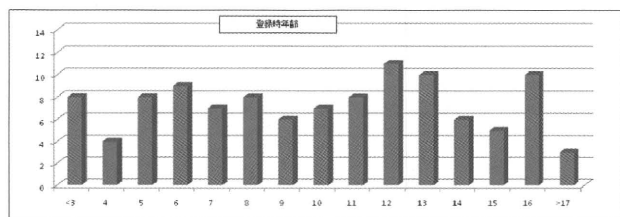
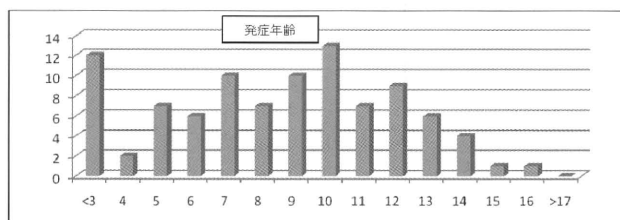
(1) 小児慢性特定疾患事業でのSSPEに関する

るデータ

- ① 対象および調査可能な割合：18歳未満の患者に限られている。小児期には、各地域ごとに年齢幅のある乳幼児医療費補助があり、該当すれば医療費の自己負担がない。その場合にそうした特定疾患などに登録をしない場合も多いと考えられ、把握されない例もあることが想定される。また、医療意見書は、各地方機関レベルでとどまっています、中央のデータベースに入力されていない場合もあり、そうした未報告数に把握が難しい。このため、そうした地域については、別途の調査を加えることで補完する方法を組み合わせる必要がある。
- ② 把握されている患者数：平成10年より本制度開始後に114名についてデータが登録されている。男子75名、女子34名、未記入5名で、その内49名については施設名も記入されていた。新規登録状況の経年的な経過を見ると、年間2名程度の新規登録者数となっている。



- ③ 発症時期：発症時期の記載から、発症年による経過を見ると、最近の3年間には約2名程度であるが、平成10年、平成12年、平成14年、平成18年にやや多い傾向が見られ、今後、麻疹流行の時期との関連などを検討する必要がある。
- ④ 発症年齢と登録時年齢の比較：必ずしも新規登録の際に入力をされていないために。比較は容易ではないが、発症年齢と登録時年齢の分布で見ると、公的な乳幼児医療補助の適応が終了する時期以降の10代に登録される数が多い傾向があった。このことは、特に12歳未満などの乳幼児医療補助の対象となっている患者については、数年後にならないと小児慢性特定疾患での把握は難しいと考えられた。また、未登録の間に死亡などの転帰をとった場合にも把握が難しいことが示唆され、今後のサバイランス上の問題と考えられた。



(2) DPCでのSSPEに関するデータ

- ① 対象および調査可能な割合：SSPEの病名が主病名として登録されている場合以外でも、5つの副次的な病名の中に含まれていれば抽出可能である。なお、小児領域では、主要な施設はほぼDPCを採用していることが日本小児科学会の調査でも分かっており、少なくとも発症してあまり時間のたっていない患者については、ほぼDPC医療機関で診療を受けていることが予想される。

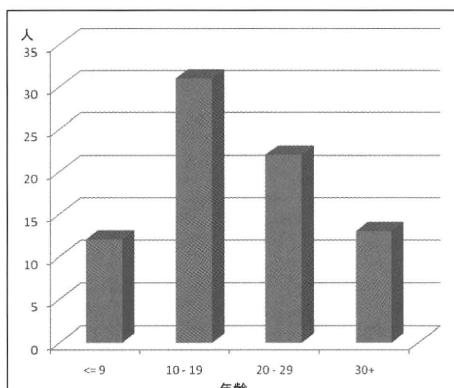
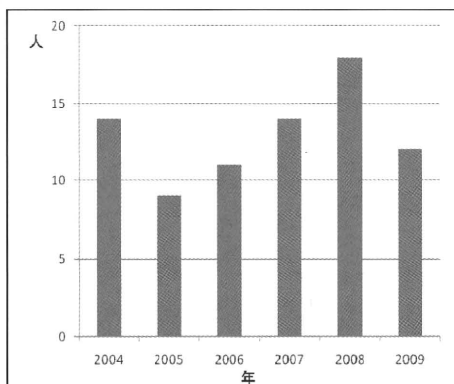
DPC では把握できない場合として下記の場合が挙げられる。

- ・ DPC では、入院患者のみを対象としており、退院の際に登録されるために、入院継続中の患者についての把握はできない。
- ・ 現在の調査は、年間 6 カ月間であり、今回のデータも過去の各年の 6 カ月分のデータである。
- ・ 現在、研究目的で使用できる DPC データは、その旨を別途契約した約 80% 医療機関の分のみである。

なお調査期間については、今後通年となる予定であり改善が期待される。

② 把握されている患者数:2004 年から 2009 年の間 DPC データ上で SSPE の病名がついていたのは 78 名であった。

年齢分布を見てみると年齢 20 歳未満が多く、発症して比較的経過の短い患者が主であった。



D. 考 察

小児慢性特定疾患は、公的な乳幼児医療補助で医療費がカバーされる場合には、必ずしも申請されていない可能性がある。実際に今回の検討でも、発症年齢よりも遅く 10 代になり登録されている場合が多いなど、そうした実情を反映しているものと思われ、サーベイランス上の問題であると考えられた。

発症年の記載では、ある程度の増減があり、麻疹流行と発症時期との関連が今後検討されるべきであると考えられた。

また、小児慢性特定疾患での医療意見書の記載は簡便なものであり、特定疾患事業の個人調査票の様な臨床的な研究を行う上で適したものではない。診療医療機関名が入力されているのは約半数以下であり、追跡調査を行うことは実際上困難と考えられた。

DPC によるデータについては、契約をした医療機関(約 8 割)分のデータのみ使用可能であるが、20 歳未満の患者が中心であり、比較的発症して間もない患者についての、医療行為などの解析にも適していると考えられた。

E. 結 論

小児慢性特定疾患事業および DPC のそれぞれに登録されている SSPE に関するデータを検討した。サーベイランスとしては、一つのデータベースのみでの把握は困難であり、今後、組み合わせた手法による全体像の把握が

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし