

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 樋口 遥, 姜 大鵬, 脇本浩史, 佐藤友人, 堀田 博, 伊藤正恵. SSPEウイルスKobe-1株F蛋白の細胞融合に関わる変異の解析. 第61回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 11.10-12, 2013.

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

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

## 麻疹ウイルスの膜融合能と神経病原性

研究分担者：柳 雄介 九州大学大学院医学研究院ウイルス学  
研究協力者：渡辺俊平 九州大学大学院医学研究院ウイルス学

**研究要旨** 亜急性硬化性全脳炎(SSPE)患者由来の麻疹ウイルス(measles virus, MV)株にしばしば認められるF蛋白質の変異(T461I および S103I/N462S/N465S)は、F蛋白質の構造を不安定化し、膜融合能を亢進させることが示された。これらの変異をもつF蛋白質を有する組換えMVは野生型MVと異なり、ヒト神経細胞株を含む受容体陰性細胞に感染して細胞融合を起こすとともに、ヒト神経細胞初代培養で効率よく伝播した。また、哺乳ハムスターに神経病原性を示した。これらの知見より、MVのF蛋白質変異による融合能亢進が、SSPEにおける神経病原性に重要な役割を果たしていると考えられる。

### A. 研究目的

SSPEは、MVが中枢神経系で持続感染することにより発症する。MVは、SLAM(CD150)、nectin 4を受容体としてそれぞれ免疫細胞、上皮細胞に感染する。しかし、SLAM(CD150)およびnectin 4を発現していない神経細胞への感染や脳内伝播の機構は明らかではない。

SSPE患者から分離されたウイルス株は、特徴的にマトリックス(M)遺伝子に変異が蓄積していることから、M蛋白質を欠失し、粒子形成能を欠くことがSSPEの発症に重要であるとこれまで考えられてきた。しかし、SSPE由来MV株には、ウイルスによる膜融合と細胞侵入に重要な役割をしているF蛋白質の細胞外領域にも多くの変異が認められる。

本研究では、神経細胞への感染や病原性におけるSSPE由来MV株のF蛋白質変異の意義を明らかにし、それをSSPEの治療法開発につなげることを目的とする。

### B. 研究方法

発現ベクターに組み込んだMVヘマグルチニン(H)遺伝子、F遺伝子を培養細胞に導入し、細胞融合を顕微鏡で観察した。複数のSSPE由来MV株に認められる変異(T461IあるいはS103I/N462S/N465S)を持つF蛋白質をコードする組換えMVを作成し、培養細胞および生後10日のハムスターに脳内接種した。組換えウイル

スはGFP(緑色蛍光色素)を発現するように作製し、蛍光顕微鏡を用いて培養細胞における細胞融合能と感染能を評価した。動物に対する病原性は、ウイルス接種後の動物の変化と生死および安楽死後の脳標本の蛍光実体顕微鏡による観察により行った。

### (倫理面への配慮)

動物実験には、遺伝子組換え実験に関する大臣確認および学内の動物委員会の許可を受けた。実験は学内の動物実験ガイドラインに従い、実験動物に対する動物愛護上の配慮を十分行った。

### C. 研究結果

H遺伝子とT461IあるいはS103I/N462S/N465S変異を持つF遺伝子をSLAM発現細胞あるいはnectin 4発現細胞にトランスフェクトすると、H遺伝子と野生型F遺伝子の組み合わせの場合に比べてより大きな巨細胞を形成した。また、H遺伝子と野生型F遺伝子では、SLAMとnectin 4をいずれも発現していない細胞では細胞融合は全く起こらなかったが、H遺伝子とT461IあるいはS103I/N462S/N465S変異を持つF遺伝子をトランスフェクトすると、巨細胞形成が観察された。また、SLAM発現細胞にH遺伝子と野生型F遺伝子をトランスフェクトして37°Cで培養すると細胞融合は起こるが、25°Cでは融合は全

く起こらなかった。一方、H遺伝子と上記の変異を持つF遺伝子をトランスフェクトした時は、37°Cだけでなく25°Cでも細胞融合が起こった。T461IあるいはS103I/N462S/N465S変異を持つF遺伝子を持つ組み換えMVは、SLAMとnectin 4をいずれも発現していないヒト神経細胞株に感染して巨細胞を形成した。また、ヒト神経細胞初代培養で効率よく他の細胞に伝播した。さらに、哺乳ハムスターに脳内接種すると脳で広範に伝播し神経病原性を示した。しかし、末梢からの接種ではウイルスは体内伝播することなく病原性も示さなかった。SLAMあるいはnectin 4を発現する細胞に野生型あるいは上記の変異F遺伝子を持つウイルスを感染させて増殖を調べると、感染1~2日目までは変異F遺伝子を持つウイルスの方がより多くのウイルスを産生したが、それ以後はウイルス産生が急速に低下し、野生型ウイルスの方がウイルス産生は多くなった。

#### D. 考察

野生型MVはSLAMあるいはnectin 4のような受容体を持つ細胞でしか膜融合や細胞侵入を起こせないが、F蛋白質に適当な変異が起ると構造が不安定化し、膜融合能が亢進すると考えられる。このようなF蛋白質は、H蛋白質がSLAMやnectin 4以外の未知のある分子と結合することによっても、構造変化が誘導され膜融合を起こすことができる。これが、SSPEにおいて、SLAMやnectin 4の発現がない中枢神経系の細胞にMVが感染し、病気を起こすメカニズムだと考えられる。しかし、このようなウイルスは、SLAMあるいはnectin 4を発現している細胞では、亢進した細胞融合能により強い細胞傷害性を示すために、末梢組織では増殖は野生株より悪いと考えられる。これが、融合能が亢進したF蛋白質を持つウイルスがSSPE患者でのみ見つかる理由であると考えられる。今後、SSPEの新たな治療法を開発するために、中枢神経系の細胞に発現しているこの未知の分子を同定するとともに、融合能が亢進したウイルスとこの分子の相互作用を阻害する薬剤の開発を目指すべきである。

#### E. 結論

SSPEの発症にF蛋白質細胞外領域の変異による膜融合能の亢進が重要な役割をしていることが予想され、SSPEの治療にとってF蛋白質による膜融合を標的にした抗ウイルス薬が有用であることが示唆された。

#### [参考文献]

- 1) Rima BK, Duprex WP. Morbilliviruses and human disease. *J Pathology* 208:199-214, 2006.
- 2) Griffin DE. Measles virus. In: Knipe DM, et al. Eds. *Fields Virology* 6<sup>th</sup> edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp1042-1069, 2013.

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Shirogane Y, Watanabe S, Yanagi Y. Cooperation: another mechanism of viral evolution. *Trends Microbiol* 21:320-324, 2013.

##### 2. 学会発表

- 1) Watanabe S, Shirogane Y, Suzuki SO, Ikegame S, Koga R, Yanagi Y. Mutant fusion proteins with enhanced fusion activity promote measles virus spread in the central nervous system. The Third Measles Virus Minisymposium, Les Pensieres-Annecy, September 9-10, 2013.
- 2) 渡辺俊平、白銀勇太、大野真治、柳 雄介. 膜融合能が亢進した麻疹ウイルスはIFN betaを強く誘導する. 第61回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 11.10-12, 2013.

#### 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

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

## リバビリン代謝物、1,2,4 triazole-3-carboxamide の 麻疹ウイルスに対する抗ウイルス作用

研究分担者：細矢光亮 福島県立医科大学・医学部・小児科学講座  
研究協力者：宮崎恭平 福島県立医科大学・医学部・小児科学講座  
研究協力者：橋本浩一 福島県立医科大学・医学部・小児科学講座

**研究要旨** 亜急性硬化性全脳炎(subacute sclerosing panencephalitis: SSPE)患者に対し、リバビリン(Rib)脳室内持続投与療法が行われている。しかし、Rib は治療安全域が狭く、安全に治療するためには髄液中 Rib 濃度モニタリングが必要である。Rib にはいくつかの代謝物が存在するがその抗ウイルス作用については諸説がある。今回、Rib 代謝物の一つである 1,2,4 triazole-3-carboxamide(T-CONH<sub>2</sub>)の抗麻疹ウイルス効果について検討した。Rib と T-CONH<sub>2</sub>の抗ウイルス効果を、Vero 細胞、麻疹ウイルス Edmonston 株(MV(Ed))を用いて、MTT 法により評価した。また、Rib と T-CONH<sub>2</sub>の相互代謝変化について、細胞培養液中の Rib と T-CONH<sub>2</sub>濃度を HPLC を用いて測定した。T-CONH<sub>2</sub>の MV(Ed)に対する EC<sub>50</sub>は 7.1 µg/mL であり、Rib 10.3 µg/mL と同程度の抗ウイルス効果を認めた。また、HPLC による測定では、T-CONH<sub>2</sub> 添加群では、一定の割合でリバビリンに変換されており、逆にリバビリン添加群では量としては少ないものの T-CONH<sub>2</sub> への代謝を確認することができた。T-CONH<sub>2</sub>にも Rib 同様に麻疹ウイルスに対する抗ウイルス効果を認めた。T-CONH<sub>2</sub> 添加群では数%がリバビリンに変換されており、T-CONH<sub>2</sub>の抗麻疹ウイルス効果は変換されてきたリバビリンによる抗ウイルス効果の関与が考えられた。SSPE の治療に T-CONH<sub>2</sub>も治療薬として有効である可能性が示唆された。

### A. 研究目的

亜急性硬化性全脳炎(Subacute sclerosing panencephalitis : SSPE)は麻疹罹患後数年間の持続感染を経て、麻疹ウイルスが変異し、SSPE ウイルスとなって発症する予後不良の遅発性ウイルス感染症である。現在まで様々な治療法が試みられてきたがいまだ根治的な治療法は確立できていない難治性疾患である。我々は SSPE に対し、皮下埋込み型ポンプを用いたリバビリン(Rib)脳室内持続投与療法を行っている[1]。

Rib は広域な抗ウイルス効果を持つ薬剤であるが、治療安全域が狭いため、Rib 脳室内持続投与療法では、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて、髄液中 Rib 濃度をモニタリングしながら Rib 投与量を決定している。Rib は生体内で複数の代謝物となって尿中、便中に排泄される[2]。リバビリン治療中の患者髄液検体中にもリバビリン代謝物の一つである 1,2,4,

triazol-3-carboxamide(T-CONH<sub>2</sub>)とみられるピークがみられた。T-CONH<sub>2</sub>の抗ウイルス効果には諸説がある[3]。

今回、患者髄液検体中で確かめられた T-CONH<sub>2</sub>の抗ウイルス効果について検討した。

### B. 研究方法

#### ①ウイルス、細胞

ウイルスは実験室内株である麻疹ウイルス Edmonston 株(MV(Ed))を用い、細胞は Vero 細胞を用いた。

#### ②抗ウイルス効果と細胞毒性評価

Rib と T-CONH<sub>2</sub>の抗ウイルス効果と細胞毒性について、MTT 法にて 50%有効濃度(EC<sub>50</sub>)と 50%細胞毒性濃度(CC<sub>50</sub>)を算出した。

#### ③Rib⇄T-CONH<sub>2</sub>相互代謝変化測定

Rib、T-CONH<sub>2</sub>いずれかを添加した Vero 細胞の培養上清中における Rib、T-CONH<sub>2</sub>の濃度を

HPLC (LaChrom ELITE, HITACHI 社) を用いて測定した。濃度による比較と経時的な濃度変化を観察した。

#### (倫理面への配慮)

本研究ではヒト、動物検体は使用しておらず、倫理面への影響はない。

### C. 研究結果

#### ①抗ウイルス効果と細胞毒性評価

Rib の MV (Ed) に対する  $EC_{50}$  は  $10.3\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $42.3\mu\text{M}$ ) で T-CONH<sub>2</sub> は  $7.1\mu\text{g}/\text{mL}$  ( $62.5\mu\text{M}$ ) であり、T-CONH<sub>2</sub> も Rib と同等の抗ウイルス効果を認めた。また、両薬剤とも Vero 細胞に対する細胞毒性は見られなかった。

#### ②Rib⇄T-CONH<sub>2</sub> 相互代謝変化測定

Vero 細胞を単層培養した培地に Rib または T-CONH<sub>2</sub> のうちいずれかを添加して 96 時間後の培地中の Rib および T-CONH<sub>2</sub> 濃度を測定すると Rib から T-CONH<sub>2</sub> へは 1~4% が、T-CONH<sub>2</sub> から Rib へは 10~30% 程度が相互に代謝変化を起こしていることを認めた (図 1)。

また、経時的な変化を観察すると添加直後は相互代謝は認められなかったが、時間経過とともに相互代謝変化量は徐々に増加していた (図 2)。

### D. 考察

Rib 代謝物である T-CONH<sub>2</sub> は Rib と同様に抗麻疹ウイルス効果を認め、Vero 細胞では毒性を認めなかった [3]。Rib の生体内での代謝経路を考えると、T-CONH<sub>2</sub> の抗ウイルス効果は代謝変化した Rib が抗ウイルス効果を示しているものと考えられた。T-CONH<sub>2</sub> は Rib の代謝物であるが、Rib の前駆物質として働く可能性が考えられた。

### E. 結論

T-CONH<sub>2</sub> の生体に対する毒性が Rib より低く、同程度の抗ウイルス効果を示すなら、SSPE に対しても新たな治療薬となりうる。

### [参考文献]

- 1) Hosoya M, et al. Pharmacokinetics and effects of ribavirin following intraventricular administration for treatment of subacute sclerosing panencephalitis. *Antimicrob Agents Chemother* 48:4631-4635, 2004.
- 2) Lin CC, et al. Absorption, metabolism, and excretion of [14C]viramidine in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 50:2368-2373, 2006.
- 3) Shigeta S. Targets of anti-influenza chemotherapy other than neuraminidase and proton pump. *Antivir Chem Chemother* 12 Suppl 1:179-88, 2001.

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Abe Y, Hashimoto K, Watanabe M, Ohara S, Sato M, Kawasaki Y, Hashimoto Y, Hosoya M. Characteristics of viruses derived from nude mice with persistent measles virus infection. *J Virol* 87:4170-4175, 2013.

#### 2. 学会発表

- 1) 宮崎恭平, 阿部優作, 橋本浩一, 佐藤晶論, 川崎幸彦, 森 修一, 錫谷達夫, 細矢光亮. リバビリン脳室内投与療法中の亜急性硬化性全脳炎患者における髄液中リバビリン代謝物濃度とその抗ウイルス効果. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 11.10-12, 2013.

### 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

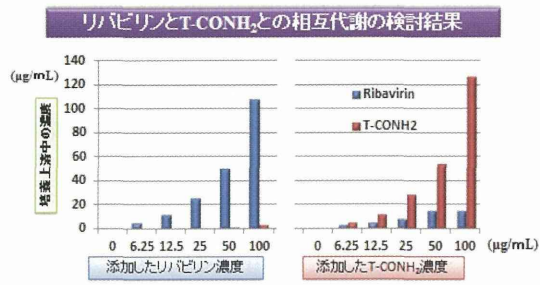


図 1. 左が培地に Rib を、右が T-CONH<sub>2</sub> を横軸に示す濃度 (0~100µg/mL) でそれぞれ添加し、96 時間後の培養した上清中の Rib(青)、T-CONH<sub>2</sub>(赤) 濃度を測定した。Rib から T-CONH<sub>2</sub> へは 1~4% 程度が、反対に T-CONH<sub>2</sub> から Rib へは 10~30% 程度が相互代謝していた。

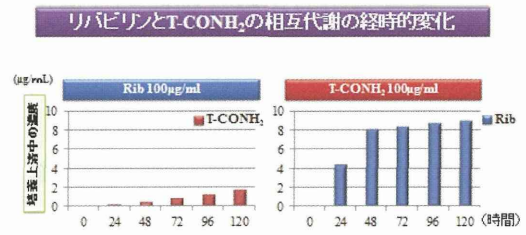


図 2. 左が培地に Rib を、右が T-CONH<sub>2</sub> をそれぞれ 100µg/mL で添加したのち、経時的に相互代謝変化していくかを観察した。時間経過と共に相互代謝量が増加していた。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

## 日本における進行性多巣性白質脳症の臨床的・疫学的特徴 (2007～2010 年度および 2011～2013 年度の動向の比較)

研究分担者：西條政幸 国立感染症研究所ウイルス第一部  
 研究協力者：中道一生 国立感染症研究所ウイルス第一部  
 研究協力者：林 昌宏 国立感染症研究所ウイルス第一部

**研究要旨** 進行性多巣性白質脳症 (PML) は JC ウイルス (JCV) に起因する致死的な脱髄疾患であり様々な種類の免疫抑制が PML の発症に関与する。また、その診断においては脳脊髄液を用いた JCV ゲノム DNA の PCR 検査が有効である。研究分担者らは、平成 19 年度より定量的リアルタイム PCR 検査による医療機関への診療支援を介して、PML の実験室サーベイランスを行っている。平成 19 年度から同 25 年 12 月現在までに合計 1,040 件 (平成 23～25 年度：536 件) の検査を実施し、99 名 (平成 23～25 年度：51 名) の PML 患者を確認した。国内の PML に関する情報を臨床に還元するため、平成 19 年度から同 22 年度までの 4 年間分の解析データをインターネット上のオンラインジャーナルにて公開した。また、平成 19 年度から同 22 年度までの 4 年間、および直近の約 3 年間 (平成 23 年 4 月から同 25 年 12 月) における調査結果を比較し、国内における PML の動向を解析した。平成 19 年度からの 4 年間では、PML は血液疾患および HIV 感染症を有する患者を中心として発生していたが、直近の約 3 年間では自己免疫疾患もしくは臓器移植歴を有する患者における PML が増加傾向にあった。また、様々な種類の基礎疾患を有する PML 患者において、女性の割合が増加していた。これらの傾向について今後も注視していく必要がある。

### 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。PML は免疫抑制に関連した多様な疾患と合併して発生することから、その動向や背景の把握は、医療行政において重要である。しかし、日本では PML を含む大規模なパブリックデータベースが整備されていない。PML の診断では特異性および侵襲性の点から、脳脊髄液 (CSF) を用いた JCV ゲノム DNA の PCR 検査が有効である。本研究は、国内の医療機関から依頼された CSF 中 JCV の PCR 検査を支援することで実験室サーベイランスを実施し、PML の動向およびその背景を明らかにすることを目的とする。本年度における研究では、前年度までと同様のサーベイランスを継続するとともに、平成 19 年度から 22 年度の 4 年間 (以降、第一期とする)、および同 23 年度から 25 年度の直近 2 年 9 ヶ月 (以降、第二期とする) における情報

を比較し、国内の PML に関する最近の動向およびその背景を解析した。

### 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 ゲノムを含むプラスミド (pJCV: JCRB より分与) を用いた。リアルタイム PCR 機器として LightCycler (Roche) を PCR 試薬として LightCycler 480 Probes Master を用いた。CSF からの DNA の抽出には QIAamp DNA Blood 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 プロンプを作製しリアルタイム PCR に使用した。

#### 2) 医療機関へ JCV 検査支援

検査の周知と効率化を図るため、JCV 検査の受付に関する Web サイトを公開している。臨床医は JC ウイルス検査をキーワードとしてインターネット検索をすることで容易にアクセスが可能である。医療機関よりメールにて依頼を

受けた後、当研究所に送付されたCSF検体から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ゲノムのコピー数を測定した。

### 3) 臨床情報の収集と分析

前年度に引き続き66項目からなる質問票を担当医に送付し、患者の年齢や性別、検体採取時期、臨床所見、基礎疾患、治療歴等の情報を収集した。得られた情報をデータベース化した後、解析に用いた。

#### (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) 検査実績

平成19年4月から同25年12月現在までに、1,040件の検査を実施した。被検者866名のうち99名のCSFにおいてJCV-DNAが検出された。また、本年度においては12月の時点までに145件の検査を実施し、被検者119名のうち15名の脳脊髄液JCV陽性の患者が確認された。第一期の4年間、および第二期の3年間での検査実施件数および被検者数、PML患者数は同程度であった。また、第一期において同一医局からの再依頼数は全体の依頼の約48%であったが、第二期においては約70%まで増加した。

### 2) PMLの動向(性別と年齢)

本サーベイランスを開始した平成19年度から22年度の4年間で第一期、および同23年度から25年度の直近2年9ヶ月を第二期として、現在の国内でのPMLの動向を解析した。第一期において確認されたPML患者48名では、約80%を男性の患者が占めた。一方、第二期でのPML患者(28名)では男性が約57%であり、女性患者の割合が増加傾向にあった( $P < 0.011$ )。また第二期のPML患者は様々な基礎疾患を有していた。被検者全体における女性の割合は第一期および第二期においてほとんど変化がみられなかった。また、男女を含むPML患者の年齢は50~60代を中心として幅広く分布しており、第一期および第二期での統計学的有意差は認められな

かった( $P < 0.317$ )。

### 3) PMLの動向(基礎疾患)

第一期では、血液疾患もしくはHIV感染症を有するPML患者の割合が約73%を占めた。しかし、第二期のPML患者における両者の割合はそれぞれ約25%および約24%であり、合計でも約49%に留まった。また、自己免疫疾患および臓器移植の割合がそれぞれ約25%および約14%であり、第一期(それぞれ約6%および0%)と比べて増加していた。第一期および第二期において、CSF-JCV陰性者を含む被検者全体における基礎疾患の割合を調べたところ、臓器移植例での依頼が若干増加(約1%から約6%)したが、その他の疾患の割合に大幅な増加は認められなかった。

### 4) 各基礎疾患における被検者に対するPML患者の割合

第一期において、血液疾患もしくはHIV感染症、自己免疫疾患、臓器移植を有する被検者のうち、PML患者の割合はそれぞれ約24%、20%、6%、0%であった。また、第二期におけるこれらの割合はそれぞれ約19%、17%、18%、33%であった。

### 5) 自己免疫疾患を有するPML患者の分析

第一期において確認された3名のPML患者は全員が女性であり、SLEを基礎疾患として有した。第二期では9名(男性3名、女性6名)でのPMLが確認され、うち5名がSLEに罹患していた。また、モノクローナル抗体製剤による治療歴もしくは多発性硬化症を有するPML患者は認められなかった。

### 6) 臓器移植歴を有するPML患者の分析

第一期では血液疾患との合併例を除いて、臓器移植歴を有するPML患者はみられなかった。一方、第二期では5名(男性2名、女性3名)のPML患者を確認した。うち3名は腎移植、残りの2名では肝もしくは肺の移植が施行されていた。また、免疫抑制剤としてミコフェノール酸モフェチルやタクロリムス、シクロスポリン等が投与されていた。

### 7) その他の基礎疾患でのPML患者の内訳

第一期と比較した場合、第二期では、腎疾患もしくは固形癌を有する患者でのPMLを確認した。また、合併例でのPMLの割合が増加傾向を示した。



## D. 考察

本サーベイランスは、PML患者数の規模が限られる反面、詳細な臨床情報をリアルタイムで収集することができるという利点を有する。また、PML患者だけでなく被検者全体の情報が集積されるため、基礎疾患や性別といった様々な角度からPML発生の背景を解析することが可能である。しかし、2010年後半よりJCVの定量的リアルタイムPCR検査を実施する民間検査会社が増加しており、全数把握を目標とした包括的なサーベイランスは困難となってきている。そのため、本調査は広範囲のランダムサンプリングとしての性質が強くなってきている。しかし、他の施設でJCV陽性になった場合、フォローアップ検査に要する費用等を考慮して、当研究室に検査が依頼されるケースが少なくない。より広範囲のPML患者を確認するためには、フォローアップの検査にも重点を置いた周知が必要であると考えられる。

本年度では、すでにデータをインターネット上に公開した第一期、および解析中の第二期を比較することで、国内のPMLに関する最新の動向を解析した。第二期では女性のPML患者の割合が増加傾向にあることが分かった。これらの患者の基礎疾患は自己免疫疾患および臓器移植歴を有していたが、血液疾患もしくはHIV感染症を有したケースもあったことから、特定のリスク因子による可能性は低いと考えられる。ただし、第二期において、第一期と異なる傾向が認められたことは、PMLを発症する可能性の範囲が広まったという点において意義があると考えられる。このような傾向が一過性であるか否かに注視しながら、今後も実験室サーベイランスを継続する必要がある。

次に、第一期と比較した場合、第二期でのPML患者の基礎疾患では、自己免疫疾患もしくは臓器移植の割合が増加していた。一方、これらの疾患を有する被検者の割合には大幅な変動が認められなかった。このことから、第二期における自己免疫疾患や臓器移植でのPMLの増加は、母集団の増加といった単純な要因によるものではないことが推察される。第一期と比較した場合、第二期は短期間で得られたデータであるため、PML患者の男女比の場合と同様に、確率論的なデータの偏りである可能性が否定

できない。今後もこれらの疾患に注視して調査を継続する必要がある。

自己免疫疾患を有するPML患者の多くはSLEを罹患していたが、他の疾患においても発生例が認められた。近年になって自己免疫疾患に関連したPMLが比較的多く認められるようになった理由は不明である。しかし、海外における自己免疫疾患患者でのPMLの増加によって、国内でもそのリスクが認識され始めた可能性がある。また、国内では2010年より多発性硬化症患者に対するナタリズマブの治験が開始され、今後は広く使用される予定であるが、現時点では本サーベイランスにおけるPMLの発生は確認されていない。今後は、同薬剤によるPMLのリスクについても対応が必要である。

第二期において確認された臓器移植歴を有するPML患者に関しては、その多くが腎移植を受けており、臓器別の移植件数と関連があることが示唆された。加えて、これらの症例におけるPMLの発症は移植から3年から8年が経過しており、長期間の免疫抑制によってJCVの増殖が活性化した可能性が推察された。また、2009年における臓器移植法の改正後の移植件数を考慮した場合、PML患者の増加は、移植患者数の増大によるものではないことが考えられた。むしろ、近年において移植患者に対する免疫抑制療法(薬剤の種類や投与量等)に変化があるか否かを検討する必要があると思われる。

## E. 結論

CSFのJCV-PCR検査によって国内のPML診療を支援し、PMLの実験室サーベイランスを遂行した。7年にわたる国内のPMLの動向およびその背景を解析し、本研究期間において女性患者、もしくは自己免疫疾患や臓器移植歴を有する患者での発生が増加傾向にあることを示した。これらの変化が単発的な事象なのか否かを今後も注視する必要がある。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Nagayama S, Gondo Y, Araya SI, Minato N,

Fujita-Nakata M, Kaito M, Nakanishi M, Tanaka K, Yamaya H, Yokoyama H, Nakamichi K, Saijo M, Okamoto K, Toyoshima Y, Kakita A, Matsui M. Progressive multifocal leukoencephalopathy developed 26 years after renal transplantation. *Clin Neurol Neurosurg* 115:1482-1484, 2013.

2) 森本 彩, 上野弘貴, 藤井裕樹, 松元朋子, 中村 毅, 中道一生, 西條政幸, 雪竹基弘, 山脇健盛, 松本昌泰. メフロキン投与後も改善をみとめなかった悪性リンパ腫関連進行性多巣性白質脳症の1例. *臨床神経学* 53: 843-847, 2013.

3) Nakamichi K, Inoue N, Shimokawa T, Kurane I, Lim CK, Saijo M. Detection of human herpesviruses in the cerebrospinal fluid from patients diagnosed with or suspected of having progressive multifocal leukoencephalopathy. *BMC Neurol* 13: 200, 2013.

4) Nakamichi K, Inoue N, Shimokawa T, Kurane I, Lim CK, Saijo M. High-resolution melting analysis for mutation scanning in the non-coding control region of JC polyomavirus from patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Arch Virol*, in press.

5) Nakamichi K, Lim CK, Saijo M. Stability of JC virus DNA in cerebrospinal fluid specimens preserved with guanidine lysis buffer for quantitative PCR testing. *Jpn J Infect Dis*, in press.

## 2. 学会発表

1) 中道一生, 田島 茂, 林 昌宏, 西條政幸. 高解像度融解曲線分析による変異型JCウイルスゲノムのスキヤニング技術の確立および進行性多巣性白質脳症の検査への応用. 第18回日本神経感染症学会学術集会, 宮崎, 10.11-12, 2013.

2) 小原啓弥, 形岡博史, 中道一生, 西條政幸, 上野 聡. 免疫抑制剤の中止により良好な転帰をたどったHIV陰性腎移植後PMLの臨床学的検

討. 第18回日本神経感染症学会学術集会, 宮崎, 10.11-12, 2013.

3) 白井慎一, 廣谷 真, 加納崇裕, 南 尚哉, 中道一生, 西條政幸, 畑中佳奈子, 志賀 哲, 矢部一郎, 佐々木秀直. 非HIV-PML2症例における18F-FDG-PETおよび11C-MET-PET所見. 第18回日本神経感染症学会学術集会, 宮崎, 10.11-12, 2013.

4) 古川迪子, 三條伸夫, 工藤俊介, 中道一生, 鈴木忠樹, 吉岡光太郎, 斉藤和幸, 石橋賢士, 石原正一郎, 石橋 哲, 大久保卓哉, 森尾友宏, 江石義信, 西條政幸, 横田隆徳, 水澤英洋. BKウイルス感染による後根神経節炎が疑われた原発性無ガンマグロブリン血症の30歳男性. 第18回日本神経感染症学会学術集会, 宮崎, 10.11-12, 2013.

5) 中道一生, 田島 茂, 林 昌宏, 西條政幸. JCウイルスゲノムの転写調節領域に生じるランダムな変異をスキヤンするための高解像度融解曲線分析法の確立. 第61回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 11.10-11, 2013.

## 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

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

## 髄液 JCV-PCR 検査依頼時の調査用紙に基づいた PML の症状、画像、検査、基礎疾患、薬剤誘発因子の検討

研究分担者：三浦義治 がん・感染症センター都立駒込病院脳神経内科

研究協力者：岸田修二 がん・感染症センター都立駒込病院脳神経内科

**研究要旨** 2010年6月から2013年6月まで国立感染症研究所へ髄液 JCV-PCR 検査依頼のあった症例を調査した結果、38例の PML 症例情報が集まった。年齢、性別ともほぼ従来の報告と同様で、臨床症状では認知機能障害、構音障害の頻度が高かった。また、画像も従来の報告同様に大脳白質両側性病変で左右非対称性を示す症例が多かったが、大脳萎縮を示す症例が目立った。また髄液異常を示した症例が比較的多かった。基礎疾患としては悪性腫瘍や膠原病・自己免疫疾患が多く、HIV-PML は 26.3%と少なかった。また誘発薬剤では昨年の報告同様にステロイド使用症例と抗腫瘍薬、エンドキサンやリツキサン使用症例が目立った。最近の日本国内での PML 発症者の特徴は、基礎疾患の主体が HIV 感染から悪性腫瘍や自己免疫疾患へと変遷してきており、それに伴って臨床症状、脳画像、髄液所見も従来の報告とは変化してきていると考えられた。

### A. 研究目的

本邦発症の進行性多巣性白質脳症患者の臨床的特徴を明らかにする。

### B. 研究方法

2010年6月から2013年6月まで国立感染症研究所へ髄液 JCV - PCR 検査依頼のあった症例（髄液中 JCV - PCR 陽性例）に関して臨床調査用紙を作成し、症状、画像、検査、基礎疾患、薬剤誘発因子を中心に検討した。

#### （倫理面への配慮）

同意承諾書を作成して診療担当医へ送付し、患者様とご家族に説明頂いて同意を得たのち、担当医が同意書へ記入して提出いただいた。患者および家族の情報は性別と年齢を記載頂き、カルテ番号や生年月日などの情報は含まず、倫理面への配慮がなされている。

### C. 研究結果

男性20例、女性18例で、平均年齢57.6歳の38例の症例情報が収集できた。臨床症状は38例中17例(44.7%)で認知機能障害、16例(42.1%)で構音障害、15例(39.5%)で片麻痺、11例(28.9%)で失語、視力障害(8例、21.1%)、小脳症状(8例)、

深部腱反射亢進(7例、18.4%)、不随意運動(6例、15.8%)、無言無動(5例、13.2%)、嚥下障害(5例)、精神症状(5例)、振戦(4例、10.5%)を認めた(図1)。脳MRI病変は大脳白質が33例(86.8%)、小脳白質が11例(28.9%)、脳幹部が9例(23.7%)であり、またその分布は両側左右非対称性が30例(78.9%)であった。さらに大脳萎縮は12例(31.6%)、ガドリニウム造影効果を示したのが4例(10.5%)であった。髄液検査では、髄液蛋白増加が18例(47.4%、図2)、細胞増加が13例(34.2%)であった。基礎疾患としては悪性腫瘍が16例、膠原病・自己免疫疾患が13例、HIV 感染10例(26.3%)であった(図3)。日和見感染症では、サイトメガロウイルス合併が6例(15.8%)、帯状疱疹ウイルス合併が4例、真菌感染症合併が3例であった。誘発薬剤では、プレドニゾロン使用16例、ビンクリスチン11例、シクロフォスファミド9例、ドキシソルピシン5例、リツキサン4例であった。

### D. 考察

最近の日本国内発症 PML の基礎疾患は HIV 感染症から悪性腫瘍や自己免疫疾患へと変遷してきており、それに伴い誘発薬剤も免疫抑制剤や抗がん剤、生物学的製剤使用症例が増えて

きている。これに伴って症状では認知機能障害、構音障害の頻度が上がり、大脳萎縮、髄液異常を示す症例が増えてきていると考えられた。

#### E. 結論

最近の日本国内での PML 発症者の特徴は、基礎疾患の主体が HIV 感染から悪性腫瘍や自己免疫疾患へと変遷してきており、それに伴って臨床症状、脳画像、髄液所見も従来の報告とは変化してきていると考えられた。

#### [参考文献]

- 1) Tavazzi E, White MK, Khalili K. Progressivemultifocal leukoencephalopathy: clinical and molecular aspects. *Rev Med Virol* 22:18-32, 2012.
- 2) Berger JR. The clinical features of PML. *Cleve Clin J Med* 78 Suppl 2:S8-12, 2011.
- 3) Kishida S. Progressive multifocal leukoencephalopathy-epidemiology, clinical pictures, diagnosis and therapy. *Brain and Nerve* 59:125-137, 2007.

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 三浦義治, 岸田修二. 進行性多巣性白質脳症に伴う dementia. *神経内科* 80:73-76, 2014.

##### 2. 学会発表

- 1) 三浦義治, 岸田修二, 西條政幸, 山田正仁, 水澤英洋. 本邦における進行性多巣性白質脳症発症者の近年の傾向について. 第 54 回日本神経学会学術大会, 東京, 5-29-6.1, 2013.

#### 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

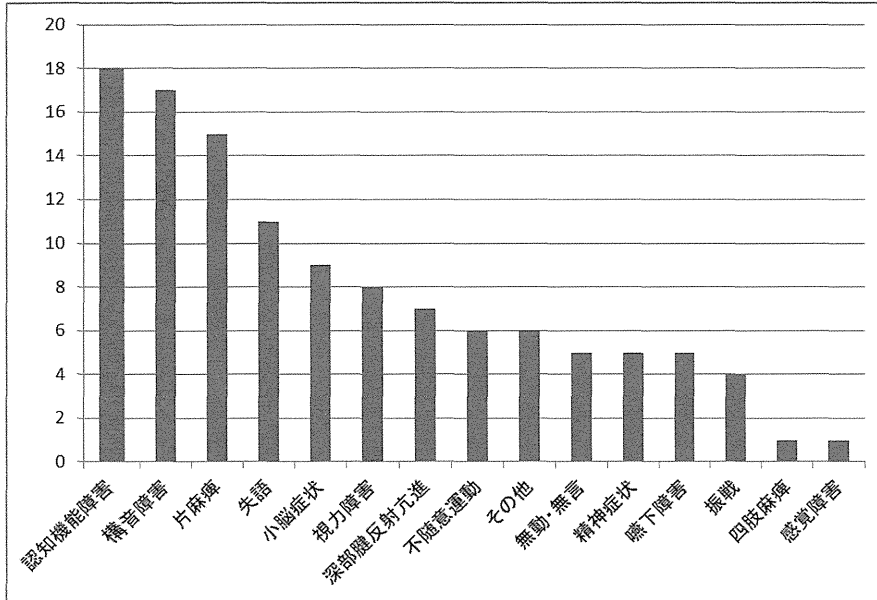


図 1 臨床症状  
認知機能障害と構音障害が高頻度であった。

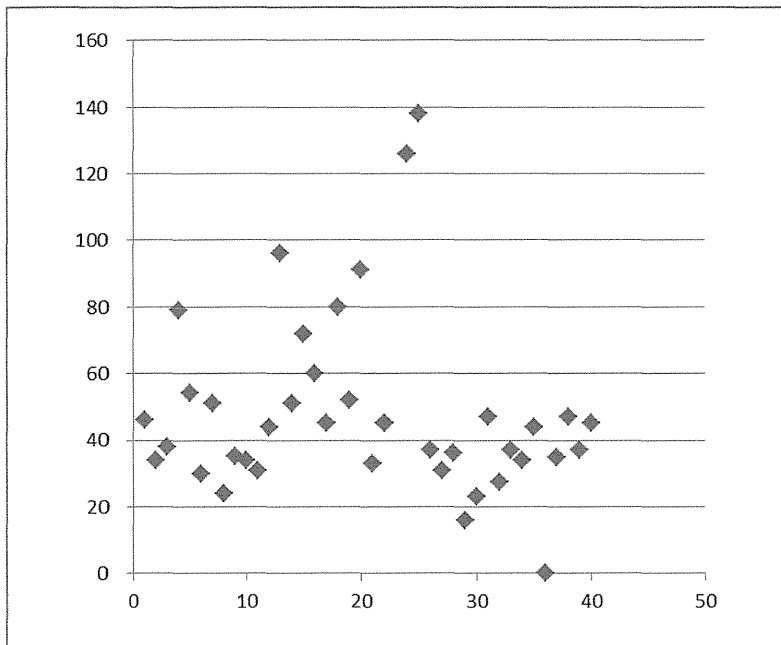


図 2 髄液蛋白  
上昇している症例が多かった。

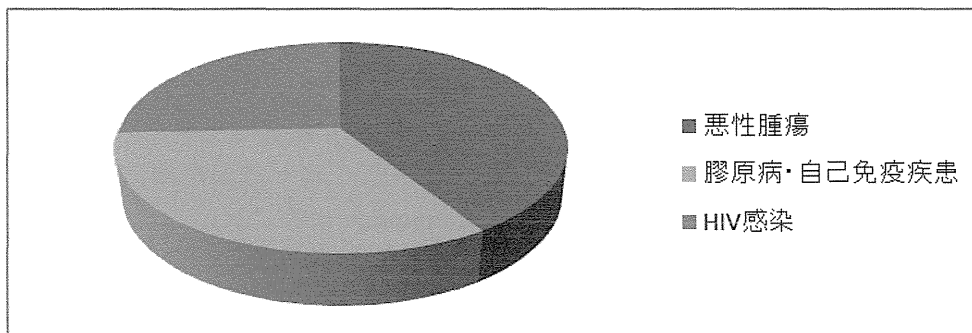


図 3 基礎疾患  
HIV 感染は少なかった。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

## HIV 非感染性、Natalizumab 非関連性の 炎症を伴う PML (PML with controlled inflammation) の 53 歳男性症例

研究分担者：水澤英洋	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学)
研究協力者：三條伸夫	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学)
研究協力者：喜納里子	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学)
研究協力者：能勢裕里江	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学)
研究協力者：石橋 哲	東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学)
研究分担者：宍戸-原由紀子	杏林大学医学部病理学教室
研究協力者：中道一生	国立感染症研究所ウイルス第一部
研究分担者：西條政幸	国立感染症研究所ウイルス第一部
研究協力者：小林大輔	東京医科歯科大学人体病理学分野
研究協力者：江石義信	東京医科歯科大学人体病理学分野
研究協力者：森尾友宏	東京医科歯科大学細胞治療センター
研究分担者：長嶋和郎	札幌東徳洲会病院病理診断科
研究協力者：前原健寿	東京医科歯科大学脳神経外科

**研究要旨** 症例は HIV 陰性の 53 歳男性で、亜急性に進行する認知症を呈し、脳生検にて PML の確定診断となった。生検脳の病理では炎症細胞の浸潤を伴っていたが、CD8 陽性 T 細胞のみならず、CD4 陽性細胞も多数認められたことより、免疫再構築症候群とは異なった病態と考えられた。ステロイドは使用せず、メフロキンを含む治療にて症状が軽快した。これまでの報告では、PML の病型として炎症を伴わない病型(classic PML)と、炎症を伴う病型(PML-IRIS, inflammatory PML 等)に分類されていたが、病理像を基に、炎症を伴うタイプを「制御された炎症を伴う病型」と「制御されていない病型」に分類することが治療方針や予後を考える上で必要であると考えられた。

### A. 研究目的

進行性多巣性白質脳症(progressive multifocal leukoencephalopathy: PML)はポリオーマウイルスである JC ウイルス(JC virus: JCV)が脳のオリゴデンドロサイトに感染し、多巣性の脱髄病変を呈する感染性中枢神経脱髄疾患である。本邦での発症頻度は人口 1000 万人に約 0.9 人で、発症すると大多数が進行性経過・致命的転帰をとることが知られており、有効な治療法確立していない。また、治療介入後に臨床症状、および画像所見の増悪をみることがあり、免疫再構築症候群(immune reconstitution inflammatory syndrome: IRIS)と呼ばれている。現在 PML は臨床病理学的に古典型 PML と炎症性 PML、あるいは PML-IRIS の 2 型に大別されている。炎症を伴う病型においては、高度の炎症所見を伴

うものから炎症所見が軽微なものまで様々なタイプが報告されており、治療反応性に関しても一定の見解が得られていない。特に、近年有効性が議論されている Mefloquine に関しては、有効であるとする報告と無効であるとする報告があり、両者における病態の違いは未だ明確ではない。また、近年の免疫療法の急速な進歩に伴い、免疫療法に伴う PML 症例が増えつつあり、その臨床像、病理像が変化しつつあり、これまでの病型とは性質が異なりつつあることが指摘されている。我々は脳生検にて PML と診断し、Mefloquine 治療に反応した症例を経験したので、生検脳の病理所見と治療効果メカニズムに関して、文献的考察を行った。

## B. 研究方法

症例は 53 歳の男性で、HIV 陰性であった。

[現病歴]2005 年 3 月に悪寒、発熱、盗汗が出現し、4 月に当院血液内科にて follicular lymphoma (FL) 臨床期分類 II B と診断され、2005 年 10 月まで R-CHOP 6 コースの治療を受けた。寛解導入後、2009 年 4 月に腹腔内に軽微な再燃を認めたが、無症状であったため、経過観察となった。以後、無症状で画像上も増悪を認めなかった。2013 年 7 月下旬より記憶力障害が出現し、亜急性に増悪し、他の認知機能障害も出現したため同年 8 月に当科を紹介受診となり、脳 MRI にて大脳白質に淡い造影効果のある拡大性病変を認めたため精査加療目的で入院となった。

[入院時神経学的所見] HDS-R6 点(場所見当識、遅延再生、3 桁の数字逆唱のみ正解)と高度認知機能障害を認め、角回症候群、観念運動失行、観念失行、構成障害、右半側空間無視等を認めた。他の神経所見には明らかな異常を認めなかった。

[検査所見] 髄液検査では細胞数 1 個/ $\mu$ l、蛋白 57mg/dl、髄液細胞診は class II、髄液のウイルス PCR では JCV を含め陰性であった(当院および感染研)。FDG-PET では、多数の腹腔内リンパ節に異常集積を認めたが、頭蓋内に異常集積を認めなかった。脳 MRI では、T2WI および FLAIR にて、左優位に左右頭頂葉皮質直下から後頭葉にかけての白質、左前頭葉白質に高信号病変を認め、T1WI では同部位は淡い低信号を呈し、DWI では病変内部は低信号、周辺部は高信号を認めていた。病変の辺縁は淡い細粒状の造影効果を認めており、軽度の浮腫を伴っていた。

[入院後経過] 複数回施行した髄液 JCV ウイルス PCR は全て陰性だったため、診断目的で当院にて脳生検を施行した。脳生検組織 HE 染色にてオリゴデンドロサイトの核の腫大と顆粒状の封入体を認め、それらは VP2/3 抗体による免疫染色にて陽性所見を認めたことから、PML と診断した。また、脳浮腫所見や炎症細胞浸潤所見を認めたことより、免疫再構築症候群(IRIS)の合併も疑ったが、病理所見(詳細は別に矢戸-原報告参照)より、炎症性 PML と診断し、ステロイドは使用しなかった。治療は

risperidone、cytarabine、donepezil、mefloquine にておこなったところ、約 1 ヶ月の経過で HDS-R12 点まで回復した。

本症例の治療歴、臨床症状、検査所見、MRI 画像所見および病理所見について検討し、文献的考察を加えた。

### (倫理面への配慮)

メフロキンの適応外使用に関しては本施設倫理委員会の承認を得てから行った。メフロキンの使用、および研究会発表に関しては、患者および家族より同意を得ており、使用データは全て連結可能匿名化した。

## C. 研究結果

MRI 画像上病変の周辺部に淡い斑状から細粒状の造影効果を認め、古典型 PML や IRIS と異なっていた。病理所見では、病変の周囲で JCV の分布に一致して強い炎症反応があり、CD8 のみならず CD4 陽性細胞浸潤を多く認め、オリゴデンドロサイトの核はドット状の封入体のみであることなどから、制御された状態にある炎症を伴った PML であると考えられた。

現在、PML の病型は炎症を伴わない古典型 PML と炎症を伴う PML に大別されているが、本症例の炎症所見は、IRIS で認められるような CD8 陽性細胞を多数認めるようなものではなく、CD4 陽性細胞も多数認めており、炎症が制御されている状態であることが推測された。これまでの報告と併せて考えると、PML の分類として、炎症を伴わない古典型 PML (classic PML: cPML)、制御されていない炎症を伴った PML (PML-IRIS)、および制御された免疫反応を伴うと考えられる PML (PML with controlled inflammation) の 3 型に分類することが病態、および治療反応性から考えると妥当であると思われる。特に、病理所見と Mefloquine の有効性を考察する上で非常に興味深い症例であると考えられた。

## D. 考察

治療反応性、臨床経過、脳 MRI 画像、病理所見より、現在 2 型に分類されている PML において、炎症を伴う病型については、炎症が制御された PML (PML with controlled inflammation)、

炎症が制御されていない PML (PML-IRIS) に分類することが必要であると考えられた。

特に、近年の免疫療法の急速な進歩に伴い、PML の病態は変化しつつあり、今後 PML with controlled inflammation とも言うべき病態を伴った PML は増加すると考えられる。これまでは炎症を伴っている場合にはステロイドの使用が推奨されてきたが、本症例のように、制御された炎症状態の場合には、むしろステロイドの使用は控えるべきであると考えられ、我々が考えている新たな病型分類は治療法の選択においても重要な役割を担うと思われる。PML with controlled inflammation とも言うべき病態では、CD4 および CD8 陽性 T 細胞の比率や機能が病態に強く影響しており、病態に即した治療戦略をたてることが重要である。

#### E. 結論

近年の免疫療法の急速な進歩に伴い PML の病態が変化しつつあり、病理所見に基づいた新たな病型分類が、臨床において、特に治療法の選択において求められている。抗 JCV 治療に対する反応性は、感染部位に浸潤する CD4 および CD8 陽性 T 細胞の働きと深く関連している可能性がある。

#### [参考文献]

- 1) 高尾昌樹. 分子標的治療薬と PML. *Brain and Nerve* 65:1363-1374, 2013.
- 2) Israel Steiner, et al. Update on progressive multifocal leukoencephalopathy. *Curr Neurol Neurosci Rep* 12:680-686, 2012.
- 3) Lilian Aly, et al. Central role of JC virus-specific CD4+ lymphocytes in progressive multi-focal leukoencephalopathy-immune reconstitution inflammatory syndrome. *Brain* 134:2687-2702, 2011.
- 4) Mike P Wattjes, et al. Punctate lesion pattern suggestive of perivascular inflammation in acute natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy: productive JC virus infection or preclinical PML-IRIS manifestation? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 84:1176-1177, 2013.
- 5) Tan IL, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient without

immunodeficiency. *Neurology* 77:297-299, 2011.

- 6) Cinque P, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in HIV-1 infection. *Lancet Infect* 9:625-36, 2009.
- 7) Delgado-Alvarado M, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy and idiopathic CD4 lymphocytopenia. *J Neuro Sci* 327:75-79, 2013.
- 8) Berger JR, et al. PML diagnostic criteria. *Neurology* 80:1430-1438, 2013.
- 9) Tan CS, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy and other disorders caused by JC virus: clinical features and pathogenesis. *Lancet Neurol* 9:425-437, 2010.
- 10) Gheuens S, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in individuals with minimal or occult immunosuppression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81:247-254, 2010.

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 三條伸夫, 日熊麻耶, 北本哲之, 佐藤克也, 新童一郎, 西田教行, 山田正仁, 水澤英洋. プリオン病の最近の進歩 遺伝性プリオン病における病型と髄液所見. *Neuroinfection* 18:35-40, 2013.
- 2) Higuma M, Sanjo N, Satoh K, Shiga Y, Sakai K, Nozaki I, Hamaguchi T, Nakamura Y, Kitamoto T, Shirabe S, Murayama S, Yamada M, Tateishi J, Mizusawa H. Relationships between clinicopathological features and cerebrospinal fluid biomarkers in Japanese patients with genetic prion diseases. *PLoS One* 8:e60003, 2013.
- 3) Sano K, Satoh K, Atarashi R, Takashima H, Iwasaki Y, Yoshida M, Sanjo N, Murai H, Mizusawa H, Schmitz M, Zerr I, Kim YS, Nishida N. Early detection of abnormal prion protein in genetic human prion diseases now possible using rear-time QUIC assay. *PLoS One* 8:e54915, 2013.
- 4) Hamaguchi T, Sakai K, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Takumi I, Sanjo N, Sadakane A,



Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. Insight into the frequent occurrence of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease in Japan. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 84:1171-1175, 2013.

5) Sakai K, Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Takumi I, Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. Graft-related disease progression in dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease: a cross-sectional study. *BMJ Open* 3:e003400, 2013.

6) Kobayashi Z, Akaza M, Numasawa Y, Ishihara S, Tomimitsu H, Nakamichi K, Saijo M, Morio T, Shimizu N, Sanjo N, Shintani S, Mizusawa H. Failure of mefloquine therapy in progressive multifocal leukoencephalopathy: report of two Japanese patients without human immunodeficiency virus infection. *J Neurol Sci* 324:190-194, 2013.

## 2. 学会発表

1) 浜口 毅, 坂井健二, 篠原もえ子, 野崎一朗, 太組一朗, 三條伸夫, 中村好一, 北本哲之, 齊藤延人, 水澤英洋, 山田正仁. わが国の硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病の特徴: 海外例との比較. 第 54 回日本神経学会学術大会, 東京, 5.29-6.1, 2013.

2) Sanjo N, Higuma M, Hizume M, Nakamura Y, Kitamoto T, Yamada M, Hamaguchi T, Moriwaka F, Aoki M, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Takeda M, Inuzuka T, Abe K, Murai H, Murayama S, Satoh K, Harada M, Saito N, Takumi I, Sakai K, Nozaki I, Noguchi-Shinohara M, Koyano S, Yokoseki A, Yoshiyama K, Takao M, Hayashi Y, Mizusawa H, Prion disease Surveillance Committee, Japan. Human prion diseases in Japan: a prospective surveillance from 1999. XXI World Congress of Neurology, Vienna, Austria, Sep 21-26, 2013.

3) 古川 迪子, 三條伸夫, 工藤俊介, 中道一生, 西條政幸, 鈴木忠樹, 吉岡光太郎, 石橋賢士, 石原正一郎, 石橋 哲, 大久保卓哉, 森尾友宏, 江石義信, 横田隆徳, 水澤英洋. BK ウイルス感染による後根神経節炎が疑われた原発性無ガンマグロブリン血症の 30 歳男性. 第 18 回日本

神経感染症学会総会学術集会, 10.11-12, 宮崎 2013.

4) 工藤俊介, 三條伸夫, 古川迪子, 吉岡耕太郎, 一條真彦, 石原正一郎, 石橋 哲, 横田隆徳, 北川昌伸, 水澤英洋. 後根神経節に CD8 陽性 T リンパ球浸潤を伴った原発性無ガンマグロブリン血症の 30 歳男性. 第 25 回日本神経免疫学会学術集会, 山口, 11.27-29, 2013.

5) Hamaguchi T, Sakai K, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Takumi I, Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Saito N, Mizusawa H, Yamada M. Comparison of dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease between Japan and Other countries. Asian Pacific Prion Symposium 2013, Sasebo, July 21-22, 2013.

6) Hizume M, Sanjo N, Nakamura Y, Kitamoto T, Yamada M, Hamaguchi T, Moriwaka F, Aoki M, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Takeda M, Inuzuka T, Abe K, Murai H, Murayama S, Satoh K, Harada M, Saito N, Takumi I, Mizusawa H. Human prion disease in Japan a prospective surveillance from 1999. Asian Pacific Prion Symposium 2013, Sasebo, July 21-22, 2013.

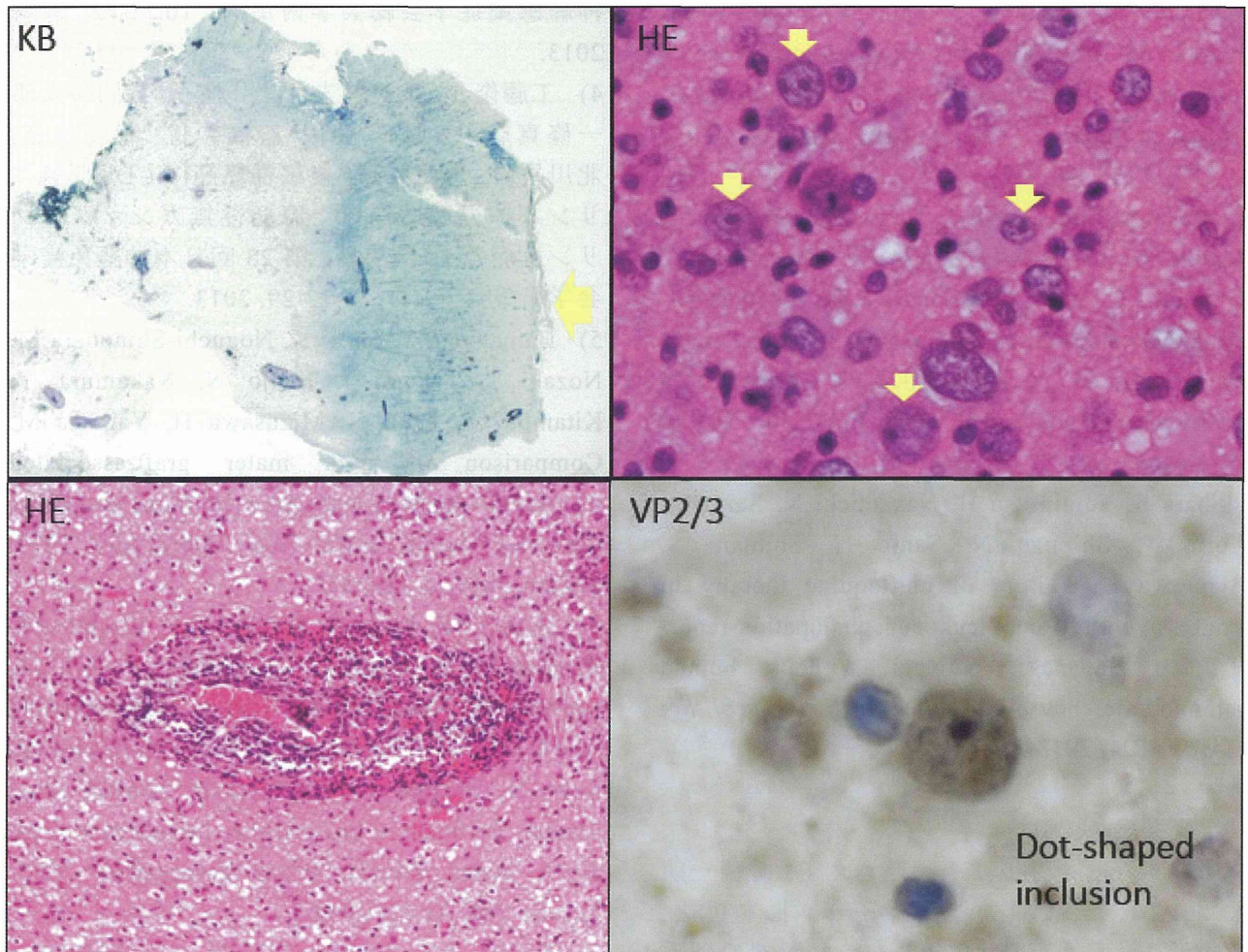
7) Fujita K, Harada M, et al. Thin-slice diffusion-weighted imaging and arterial spin labeling for the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. Asian Pacific Prion Symposium 2013, Sasebo, July 21-22, 2013.

8) 浜口 毅, 坂井健二, 篠原もえ子, 野崎一朗, 太組一朗, 三條伸夫, 中村好一, 北本哲之, 齊藤延人, 水澤英洋, 山田正仁: わが国と海外の硬膜移植後 Creutzfeldt-Jakob 病の比較. 第 18 回日本神経感染症学会総会学術集会, 宮崎, 10.11-12, 2013.

9) Mizusawa H, Nakamura Y, Takumi I, Yamada M. CJD Surveillance in Japan. European CJD Surveillance Network, Oslo, June 6-7, 2013.

## 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



左上：Kluver-Barrera 染色。左側が皮質、右側が髄質で、髄質内部に染色性が低下～消失している領域を認めた矢印)。

左下：HE 染色。血管周囲にリンパ球浸潤を認めた。

右上：HE 染色。拡大したオリゴデンドロサイトの核内にドット状の封入体を認めた。

右下：VP2/3 抗体による免疫染色。オリゴデンドロサイトの核内に JCV のカプシド蛋白である VP2/3 が陽性であった。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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

## 進行性多巣性白質脳症の病理診断：炎症所見をどう評価するのか？

研究分担者：宍戸-原 由紀子 杏林大学医学部病理学教室

**研究要旨** 進行性多巣性白質脳症 (progressive multifocal leukoencephalopathy: PML) は、免疫能が低下した宿主において、潜伏・持続感染していた JC ウイルスが再活性化することにより起きる脱髄脳症である。近年、脱髄脳症発症の背景にある免疫不全の原因は多様で、臨床経過の長期化も伴い、病理組織学的所見にも多様性が見られるようになった。病理組織学的な確定診断には、乏突起膠細胞の腫大核に認められるウイルス封入体の検出が必要である。通常の進行性多巣性白質脳症に炎症反応は伴わないが、少数の症例で高度な炎症細胞浸潤を見る場合がある。炎症反応によるウイルスの増殖抑制や排除 (clearance) がおきると、脳脊髄液 PCR による JC ウイルスの検出が困難になり、診断確定の為に脳生検が行われることがある。しかし、進行性多巣性白質脳症に見られる炎症反応には、ウイルス感染に対する正常な免疫応答 (controlled anti-viral inflammation) と、秩序を失った過激な免疫反応、すなわち免疫再構築症候群 (immune reconstitution inflammatory syndrome: IRIS) の様な場合があり、両者を鑑別する病理診断基準は未だ確立されていない。そこで今年度は、炎症反応を伴った進行性多巣性白質脳症について、歴史的背景と過去の報告に基づき、病理組織学的な診断指針の検討を行った。

### A. 研究目的

進行性多巣性白質脳症では、一般に炎症反応は伴わないが、約10%の症例で炎症反応を伴っているとの報告がある。こうした症例では、ウイルスの増殖抑制または排除 (clearance) が起こり、脳脊髄液PCRによるJCウイルス量が、しばしば検出感度を下回る。脳脊髄液PCRによるJCウイルスDNAの検出は、感度約80%、特異度99%で診断的価値が高いが、PCR陰性であった場合、しばしば脳生検が施行される。しかしながら、炎症を伴った進行性多巣性白質脳症の場合、典型的な核内ウイルス封入体が検出されない場合も少なくない。さらに、JCウイルス感染に対する正常な免疫応答 (controlled anti-viral inflammation) と、秩序を失った過激な免疫反応、すなわち免疫再構築症候群 (immune reconstitution inflammatory syndrome: IRIS) の鑑別は、臨床的にステロイドを使用した治療方針を左右するが、両者を鑑別する病理組織学的な診断基準はまだ確立されていない。そこで本研究は、炎症を伴った進行性多巣性白質脳症について文献的に考察し、病理組織学的な炎症反応の評価基準を確立することを目的に行われた。

### B. 研究方法

東京医科歯科大学から診断コンサルテーションを受けた炎症を伴った進行性白質脳症の一例と、文献的に過去に報告された症例において、病理像と臨床像を比較検討し、病理組織学的な診断基準の確立を試みた。

#### （倫理面への配慮）

患者検体に対しては、診断業務を越えた操作は加えていない。

### C. 研究結果

1975年、Richardsonらは形質細胞やリンパ球などの炎症細胞浸潤を伴った進行性多巣性白質脳症を非典型的な症例として発表し (atypical PML with an inflammatory component)、炎症を伴わない通常の症例 (classic PML) よりも予後良好であると報告した。2003年、Du Pasquierらは、MRIでGd造影効果を示す症例や、脳生検でリンパ球や形質細胞の浸潤が認められた症例、計5症例において、JCウイルス外郭タンパクVP1に対する特異的細胞障害性T細胞が末梢血中に存在することを確認した。これらの症例

は何れも予後良好で、例えばこのうちの 1 例、低悪性度 B 細胞リンパ腫の既往のある 80 歳女性は、CSF-PCR では JC ウイルス陰性、脳生検で進行性多巣性白質脳症の診断が確定したが、何ら積極的な治療を行わず 6 ヶ月で神経症状は著しく改善している。これらの症例で認められた炎症所見は、いずれも JC ウイルスに対する制御された免疫応答と考えられ (PML with controlled anti-viral inflammation)、所謂、近年話題の AIDS HAAT 療法や natalizmab 関連の進行性多巣性白質脳症における秩序を失った過激な免疫反応 (PML-IRIS) とは異なった病態と判断される。

IRIS の病態がまだ完全には理解されていないことから、両者の完全な鑑別は不可能であるが、現段階では下記のポイントが病理組織学的な炎症の評価に役立つと考えられた。

- ① JC ウイルス陽性細胞の数: PML-IRIS では、過剰な免疫応答によりウイルスが排除 (clearance) されていることが多い。この為、僅か 1~2 個の JC ウイルス陽性細胞しか検出されない場合や、免疫染色では陽性細胞を検出できず、ISH で初めて JC ウイルス DNA を検出できたなどの報告が多い。従って、陽性細胞が多く見られる場合は、PML with controlled anti-viral inflammation がより考えられる。
- ② JC ウイルス陽性細胞と、CD8 陽性 T リンパ球の分布: PML with controlled anti-viral inflammation の場合は、組織学的な両者の分布が一致している。従って、JC ウイルス抗原から逸脱した CD8 陽性 T リンパ球の浸潤はない。
- ③ CD4/CD8 ratio: 文献的に、多くの論文で CD4/CD8 リンパ球のバランスの乱れが IRIS の病態であると解釈されている。即ち、病理組織学的には CD8 陽性 T 細胞の過剰な浸潤があり、CD4 陽性 T 細胞は殆ど見られない場合が多い。しかしながら、CD4/CD8 ratio が保たれていたにも関わらず、IRIS 様の病態をきたした症例もある。免疫学的に IRIS の病態が完全には理解されていないので、CD4/CD8 ratio を過信するのは危険だが、判断の部分的な指標にはなり得る。

## D. E. 考察と結論

進行性多巣性白質脳症の約 10%程度に炎症所見を伴うことがある。炎症反応には、JC ウイルスに対する制御された免疫応答 (controlled anti-viral inflammation) と、例えば免疫再構築症候群 (IRIS) に見られる秩序を逸脱した過剰な免疫反応があるが、両者を鑑別する病理組織学的なポイントを提案した。今後、臨床像と照らし合わせながら、病理組織学的な診断基準を確立することが必要である。

## [参考文献]

- 1) 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 (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・編 進行性多巣性白質脳症 (Progressive Multifocal Leukoencephalopathy: PML) 診療ガイドライン 2013.
- 2) Richardson EP Jr., Johnson PC. Atypical progressive multifocal leukoencephalopathy with plasma-cell infiltrates. *Acta neuropathologica* Suppl 6:247-250, 1975.
- 3) Du Pasquier RA, Koralknik IJ. Inflammatory reaction in progressive multifocal leukoencephalopathy: harmful or beneficial? *J neurovirol* Suppl 1:25-31, 2003.

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

- 1) 宍戸-原 由紀子. New York Academy of Science; Progressive multifocal leukoencephalopathy に参加して. *病理と臨床* 32:209, 2014.
- 2) Shishido-Hara Y. Progressive multifocal leukoencephalopathy. In: Aminoff MJ, Daroff RB eds. *Encyclopedia of Neurological Sciences*, 2<sup>nd</sup> Edition, ELSVER, Oxford, in press.

## 2. 学会発表

- 1) Shishido-Hara Y, Uchihara T, Yazawa T, Kamma H. JC virus intranuclear inclusions associated with promyelocytic leukemia nuclear bodies. The New York Academy of Science, New