

図3: 多発性硬化症におけるNatalizumab治療

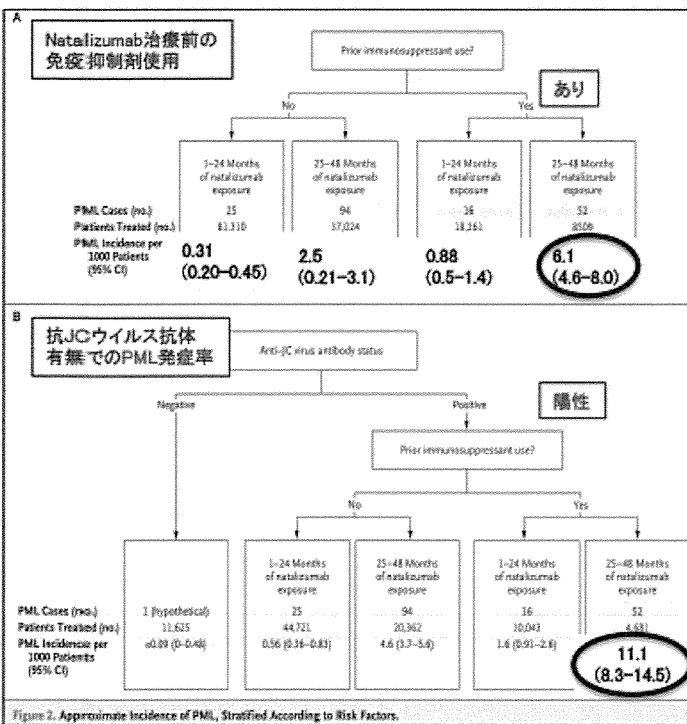


Figure 2. Approximate incidence of PML, Stratified According to Risk Factors.

Natalizumab導入前の免疫抑制剤有無によるPML発症リスクの変化 (n=187)

免疫抑制剤なし

Natalizumab治療 1-24ヶ月: 0.31/1000人
 Natalizumab治療 25-48ヶ月: 2.5/1000人
 (2011年報告は1.37)

免疫抑制剤あり

Natalizumab治療 1-24ヶ月: 0.88/1000人
Natalizumab治療 25-48ヶ月: 6.1/1000人

抗JCウイルス抗体有無でのPML発症率 (n=187)

抗JCウイルス抗体陽性

Natalizumab導入前の免疫抑制剤使用

24週以上のNatalizumab治療

PML発症リスク: 11.1/1000 pt.

N Engl J Med. 2012; 366: 1870-1880.

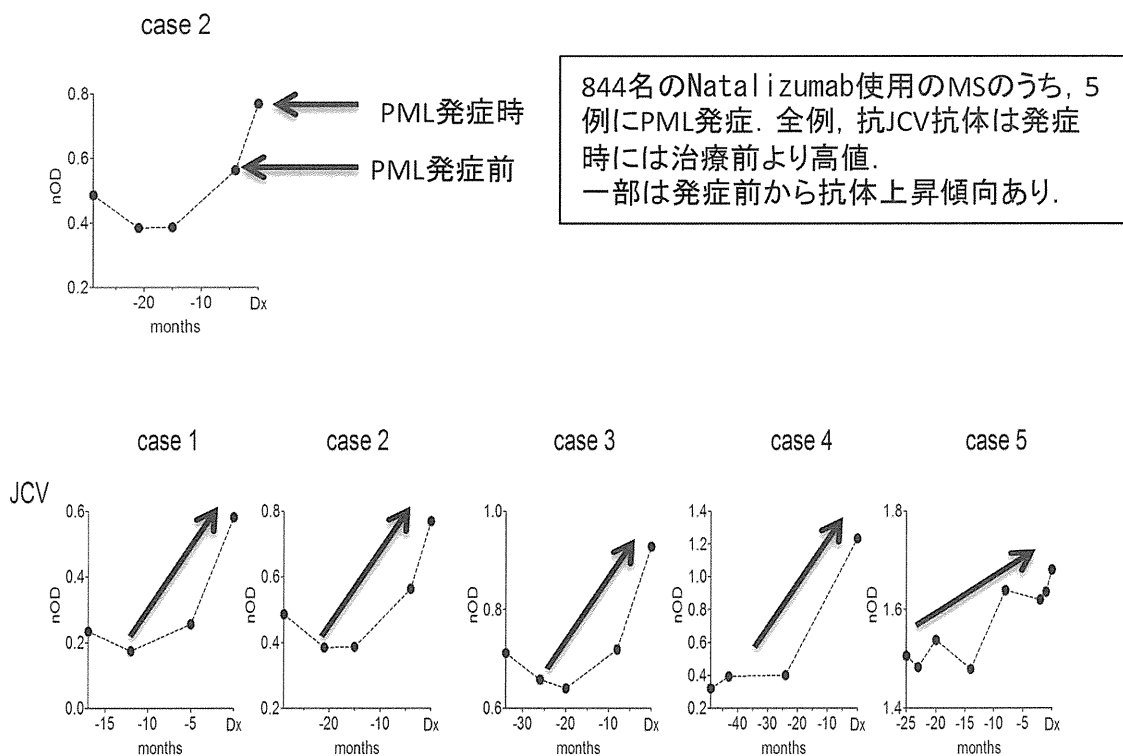
表. PML発生の報告がある生物学的製剤

Natalizumab	: Tysabri (抗 α -インテグリンモノクローン抗体, クローン病, MS)
Rituximab	: リツキサン (CD20陽性B細胞性非ホジキンリンパ腫, RA, MS, NMOなど)
Infliximab	: レミケード (RA, 乾癬, クローン病, UC, 強直性脊椎炎 ベーチェット病の難治性網膜ぶどう膜炎, サルコイドーシス)
Etanercept	: エンブレル (RA, 若年性特発性関節炎)
Basiliximab	(臓器移植の拒絶反応対策など)
Daclizumab	(心臓移植の拒絶反応対策, MSなど)
Efalitumab	(慢性尋常性乾癬など)
Alemtuzumab	(B細胞性慢性リンパ性白血病, MSなど)
Muromonab-CD3	(臓器移植の拒絶反応対策など)
Brentuximab	(CD30陽性ホジキンリンパ腫, 全身性未分化大細胞型リンパ腫)

図4. 進行性多巣性白質脳症診療ガイドライン 2013 および診断基準2013

<p style="text-align: center;">進行性多巣性白質脳症 (Progressive Multifocal Leukoencephalopathy : PML) 診療ガイドライン 2013</p> <p style="font-size: small; text-align: center;">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) プリオン病及び遷延性ウイルス感染症に関する調査研究班 研究代表者 山田 正仁</p>	<p style="text-align: center;">進行性多巣性白質脳症 (PML) の診断基準 (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) プリオン病及び遷延性ウイルス感染症に関する調査研究班, 2013)</p> <p>Definite PML : 下記基準項目の 5 を満たす。 Probable PML : 下記基準項目の 1, 2, 3 および 4 を満たす。 Possible PML : 下記基準項目の 1, 2 および 3 を満たす。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 成人発症の亜急性進行性の脳症 (1) 2. 脳 MRI で、白質に脳浮腫を伴わない大小不同、融合性の病変が散在 (2) 3. 白質脳症をきたす他疾患を臨床的に除外できる (3) 4. 脳脊髄液から PCR で JCV DNA が検出 (4) 5. 剖検または生検で脳に特徴的病理所見 (5) と JCV 感染 (6) を証明 <p>注</p> <p>(1) 免疫不全 (AIDS, 抗癌剤・免疫抑制剤投与など) の患者や生物学的製剤 (ナタリズマブ, リツキシマブ等) を使用中の患者に後発し、小児期発症もある。発熱・髄液細胞増加などの炎症反応を欠き、初発症状として片麻痺/四肢麻痺, 認知機能障害, 失語, 視力障害, 脳神経麻痺, 小脳症状など多彩な中枢神経症状を呈する。無治療の場合、数ヶ月で無動性無言状態に至る。</p> <p>(2) 病変の検出には MRI が最も有用で、脳室周囲白質・半卵円中心・皮質下白質などの白質病変が主体である。病変は T1 強調画像で低信号, T2 強調画像および FLAIR 画像で高信号を呈する。拡散強調画像では新しい病変は高信号を呈し、古い病変は信号変化が乏しくなるため、リング状の高信号病変を呈することが多くなる。造影剤増強効果は陰性を原則とするが、まれに病変辺縁に弱く認めることもある。</p> <p>(3) 白質脳症としては副腎白質ジストロフィーなどの代謝疾患やヒト免疫不全ウイルス (HIV) 脳症、サイトメガロウイルス (CMV) 脳炎などがある。しかし AIDS など PML がよくみられる病態にはしばしば HIV 脳症や CMV 脳炎などが合併する。</p> <p>(4) 病初期には陰性ことがある。経過とともに陽性率が高くなるので、PML の疑いがあれば再検査する。</p> <p>(5) 脱髓鞘、腫大核に封入体を有するグリア細胞の存在、アストログリアの反応、マクローファージ・ミクログリアの出現。</p> <p>(6) JCV DNA, mRNA, タンパク質の証明もしくは電子顕微鏡によるウイルス粒子の同定。</p> <p>PCR: polymerase chain reaction</p>
--	---

図5. MSにおけるNatalizumab-Associated PMLの発症予見因子 (血清抗JCV抗体)



Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry 2013;84:1199-1205.

図6. PML診断基準 (AAN)

臨床, 画像および髄液JCV DNAでの診断基準

Certainty of PML diagnosis	臨床	画像	髄液
Definite	+	+	+
Probable	+	-	+
	-	+	+
Possible	+	+	-/ND
	-	-	+
Not PML	-	-	-
	+	-	-
	-	+	-

Abbreviations: ND = not done or equivocal result; PML = progressive multifocal leukoencephalopathy.
^a + = Positive; - = negative.

病理所見がなくても, 臨床, 画像および髄液JCV DNAがPMLを示唆すれば Definiteとなる.

古典的な病理所見triad (demyelination, bizarre astrocytes, enlarged oligodendroglial nuclei).

病理, 免疫染色または電顕および髄液JCV DNAでの診断基準

Certainty of PML diagnosis	病理	免疫/電顕	髄液
Definite	+	+	+
	+	-/ND	+
	+	+	-/ND
Probable ^b	+	-	-/ND
Possible	-	+	-/ND
Not PML	-	-	-/ND

Abbreviations: ND = not done; PML = progressive multifocal leukoencephalopathy.
^a Classic histopathologic triad: demyelination, bizarre astrocytes, enlarged oligodendroglial nuclei.
^b The presence of clinical and radiographic focal features that support the diagnosis not resulting from the possible presence of other confounding diseases increases this category to definite PML.

古典的な病理所見triadと髄液JCV DNAがPMLを示唆すればDefiniteとなる.

HIV-PML における JCV 複製促進機構の解明と抗 JCV 薬の探索

研究分担者：奴久妻聡一	神戸市環境保健研究所感染症部
研究協力者：亀岡正典	神戸大学大学院保健学研究科
研究協力者：杉浦重樹	奈良県立医科大学組換えDNA実験施設
研究協力者：奴久妻智代子	東京ソアラクリニック
研究協力者：田崎隆史	金沢医科大学総合医学研究所生命科学領域
研究協力者：竹上 勉	金沢医科大学総合医学研究所生命科学領域

研究要旨 進行性多巣性白質脳症(PML)は JCウイルス(JCV)が髄鞘形成細胞であるオリゴデンドロサイトに感染し破壊することで発生する致死的な脱髄疾患である。近年エイズの流行に伴い患者数が増加しているが、これはエイズでJCVの増殖を促進する因子が存在するためだと考えられる。本研究では神経芽細胞腫であるIMR-32細胞を用いて、HIV-1 TatタンパクとTumor necrosis factor-alpha(TNF- α)がJCVの複製を促進することを明らかにした。さらに、これらがJCVの複製を促進するのは、TatタンパクがPurine-Rich Element Binding Protein(Pur α)の発現を低下されること、TNF- α がNF- κ Bの活性化によりJCV Large Tの発現が高めることが要因のひとつと考えられた。一方、細胞内酵素Poly(ADP-ribose)polymerase 1(PARP-1)の阻害剤である3-aminobenzamide(3-AB)のJCV増殖抑制効果をIMR-32細胞とJCV持続感染細胞であるJCI細胞を用いて検討したところ、3-ABによりJCVの複製が抑制されることでウイルス産生が低下することが明らかになった。

A. 研究目的

ヒトの中樞神経の脱髄疾患である進行性多巣性白質脳症(PML)は免疫異常の基礎疾患の上に、JCウイルス(JCV)が髄鞘形成細胞であるオリゴデンドロサイトに感染し、直接細胞を破壊することで発症する極めて稀な脱髄疾患であったが、近年エイズの流行に伴いPML患者数は増加している。エイズ関連のPML(HIV-PML)が増加しているのは、JCVの増殖を促進する因子が存在するためだと考えられることから、本研究では神経芽細胞腫であるIMR-32細胞を用いて、HIV-1 TatタンパクとTumor necrosis factor-alpha(TNF- α)がJCVの複製促進について検討した。

さらに、これらがJCVの複製促進機構を解明するために、TatタンパクによるPurine-Rich Element Binding Protein(Pur α)の発現を、TNF- α についてはNF- κ Bの活性化とJCV Large T、VP1の発現および細胞増殖への影響を調べた。

一方、PMLが致死性疾患であることから抗JCV薬を探索するために、細胞内酵素

Poly(ADP-ribose)polymerase 1(PARP-1)の阻害剤である3-aminobenzamide(3-AB)のJCV増殖抑制効果をIMR-32細胞とJCV持続感染細胞であるJCI細胞を用いて検討した。

B. 研究方法

1) JCV Large TとVP1の発現解析

IMR-32細胞にM1-IMRb DNA(IMR-32細胞で最も良く増殖するJCV)を1 μ gトランスフェクトし、TNF- α を25ng/mlで添加した群(TNF- α 群)と添加しない群(コントロール群)から48時間後に細胞からRNAを抽出し、JCV Large TとVP1の発現量をreal-time RT-PCRにより定量した。

2) JCV DNA複製の解析

Large TとVP1の発現促進の解析と同一条件でIMR-32細胞にM1-IMRb DNAをトランスフェクトし、組換えTatタンパク(HIV-1 TAT Clade-B)を10⁻⁸Mで、TNF- α を25ng/mlで添加した後、細胞から低分子DNAを抽出し、Bam HIとDpn I消化により複製したDNAのみをDNA

replication assayにより検出し、複製DNAのバンドをNIH Image Jを用いて数値化し、コントロール群と比較した。

3) JCVの増殖の解析

JCV持続感染細胞であるJCI細胞にTatタンパクを 10^{-8} M添加後長期間添加培養し、経日的にウイルス量を赤血球凝集反応で測定した。

一方、TNF- α 添加長期実験ではM1-IMRb DNAをトランスフェクトしたIMR-32細胞にTNF- α 25ng/mlを添加し継代培養21日後の細胞より凍結融解操作にてウイルスを回収した後、DNase処理とreal-time PCRを組み合わせたDNase protection assayによりウイルス粒子由来のDNAを定量した。

4) Tatタンパク、TNF- α の宿主細胞に及ぼす影響

JCV複製促進機構を解明するために、Tatタンパクを 10^{-8} Mで、TNF- α は25ng/mlでIMR-32細胞に添加し、3日後にTatタンパクはPuraの発現をreal-time RT-PCRで、TNF- α についてはNF- κ Bの活性化に伴うp65の核移行量をNF- κ B/p65 ActivELISA Kitにて定量した。

また、TatタンパクとTNF- α の細胞毒性を調べるために、同じ濃度を添加し、3日後のIMR-32細胞の増殖をCell Proliferation Kit I(MTT法)でコントロール群と比較した。

5) 3-ABのJCV増殖抑制効果の検討

20mMの3-ABのJCV増殖抑制効果を上述した。

DNA replication assayとJCI細胞に用いたJCV増殖抑制実験は赤血球凝集反応およびreal-time PCRで調べた。さらに、同一濃度でIMR-32細胞の72時間後のPARP-1活性をHT Colrimetric PARP/Apoptosis Assay 96 Tests Kitで測定し、IMR-32細胞の増殖をMTT法で調べた。

6) 統計学的解析

データの統計学的解析はStudent's t-testで行った。

(倫理面への配慮)

本研究は臨床検体や実験動物を使用してい

ないことから倫理面の問題がないと判断した。また、本実験で使用しているJCVはP2対応のウイルスであり、本研究は神戸市環境保健研究所のP2指定実験室にて安全性に留意して行われた。

C. 研究結果

1) TNF- α のJCV Large TとVP1の発現促進

JCV Large TとVP1の発現量をreal-time RT-PCRにより定量したところ、VP1の発現量はTNF- α 群がコントロール群に比べて2倍の上昇であったのに対して、Large Tの発現量は6.2倍となり有意な増加がみられた($p < 0.05$)。

2) Tatタンパク、TNF- α のJCV DNA複製の促進

IMR-32細胞にM1-IMRb DNAをトランスフェクトし、Tatタンパク、TNF- α を添加した細胞から低分子DNAを抽出しDNA replication assayを行ったところ、Tatタンパク群は72時間後でコントロール群に比べて3.5倍、48時間後のTNF- α 群では2倍多くのDNA複製量が検出され、TNF- α 群については有意差がみられた($p < 0.05$)。

3) Tatタンパク、TNF- α のJCVの増殖促進

JCV持続感染細胞であるJCI細胞を用いたTatタンパク添加長期実験で19日後からJCVの増殖促進がみられ、22日後にはコントロールに比べて有意な増殖促進を示した($p < 0.05$)。

DNase処理とreal-time PCRを組み合わせたDNase protection assayによりウイルス粒子由来のDNAを定量したところ、TNF- α 群がコントロール群に比べて1.5倍増加していたが、有意差はみられなかった。

4) Tatタンパク、TNF- α の宿主細胞に及ぼす影響

IMR-32細胞において、Tatタンパク群のPuraの発現量はコントロール群に比べて、60.6%の発現低下がみられた。また、TNF- α の添加により、p65の核移行量が2.3倍増加し有意差がみられ、NF- κ Bが活性化していた($p < 0.01$)。また、MTT法でTatタンパクは有意に細胞増殖が低下していたが($p < 0.05$)、TNF- α の細胞増殖への影響はなかった。

5) 3-ABのJCV増殖抑制効果

20mMの3-ABのJCV増殖抑制効果を調べたところ、DNA replication assayで3-AB群がコントロールであるDMSO群に比べて、72時間後では59.0%のJCVのDNA複製抑制率を示し、有意差がみられた($p < 0.05$)。また、JCI細胞を用いたJCV増殖抑制実験は赤血球凝集反応、real-time PCRで3-AB群でウイルスの増殖抑制がみられ、real-time PCRによるDNA定量では添加12、19日後にDMSO群に比べて各々81.5%、75.0%の抑制率を示し、共に有意差がみられた($p < 0.01$)。さらに、同一濃度ではIMR-32細胞のPARP-1活性は35.8%抑制していたが、細胞増殖への影響はなかった。

D. 考察

HIV-PMLにおいて、JCVのゲノムに関するいくつかの分子生物学的手法を用いた報告があるものの、JCVの増殖機構については完全に解明されたとは言えない。ウイルスの増殖機構の解明において感受性細胞は必須であるが、JCVがヒト細胞のみに感染が成立するという狭い宿主域が大きな障害となっていた。しかし、赤谷らにより神経芽細胞腫であるIMR-32細胞がJCVの感受性細胞であることが報告された。さらに、我々はIMR-32細胞に馴化したJCVを感染させ継代培養することで、持続感染細胞であるJCI細胞を樹立した。これらの報告より、JCVの増殖機構を解明する培養系が確立されたと考える。

ところで、HIV-PMLが増加しているのは、JCVの増殖を促進する因子が存在するためだと考えられるが、本研究ではIMR-32細胞を用いて、TatタンパクとTNF- α がJCVの複製を促進することを明らかにした。さらに、これらがJCVの複製を促進するのは、TatタンパクがPur α の発現を低下されること、TNF- α がNF- κ Bの活性化によりJCV Large Tの発現が高めることが要因のひとつであると考えられ(図1)、TatタンパクとTNF- α がJCVの複製を促進することがHIV-PMLの増加につながっていると思われる。

一方、HIV-PMLはHAART療法が有効であることが臨床的に明らかになっており、死亡率が低下している。しかしながら、非HIV-PMLには

現在のところ有効な治療薬がない。従来の治療薬はJCVをターゲットにしたものが大半で、治療効果が不十分な上に生体に重篤な副作用を示す欠点がある。本研究において、PARP-1の阻害剤である3-ABのJCV増殖抑制効果がみられたことにより(図1)、細胞内酵素をターゲットにした抗JCV薬探索の新しいアプローチになると考えられた。

E. 結論

本研究ではTatタンパクとTNF- α がJCVの複製を促進することを明らかにした。さらに、これらがJCVの複製を促進するのは、TatタンパクがPur α の発現を低下されること、TNF- α がNF- κ Bの活性化によりJCV Large Tの発現が高めることが要因のひとつであると考えられた。一方、PARP-1の阻害剤である3-ABのJCV増殖抑制効果がみられたことにより、細胞内酵素をターゲットにした抗JCV薬探索の新しいアプローチになると考えられた。

[参考文献]

- 1) Tada H, Rappaport J, Lashgari M, Amini S, Wong-Staal F, Khalili K. Trans-activation of the JC virus late promoter by the tat protein of type 1 human immunodeficiency virus in glial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:3479-3483, 1990.
- 2) Gordon-Shaag A, Yosef Y, El-Latif MA, Oppenheim A. The abundant nuclear enzyme PARP participates in the life cycle of Simian virus 40 and is stimulated by minor capsid protein VP3. *J Virol* 77:4273-4282, 2003.
- 3) Wollebo HS, Safak M, Del Valle L, Khalili K, White MK. Role for tumor necrosis factor-alpha in JC virus reactivation and progressive multifocal leukoencephalopathy. *J Neuroimmunol* 233:46-53, 2011.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nukuzuma S, Kameoka M, Sugiura S, Nakamichi K, Nukuzuma C, Miyoshi I, Takegami T. Exogenous human immunodeficiency virus-1 protein, Tat, enhances replication of JC virus efficiently in neuroblastoma cell lines. *J Med*

Virol 84:555-561, 2012.

2) Beppu M, Kawamoto M, Nukuzuma S, Kohara N. Mefloquine improved progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient with systemic lupus erythematosus. *Intern Med* 51:1245-1247, 2012.

3) Nukuzuma S, Kameoka M, Sugiura S, Nakamichi K, Nukuzuma C, Takegami T. Suppressive effect of PARP-1 inhibitor on JC virus replication in vitro. *J Med Virol* 85:132-137, 2013.

4) Nukuzuma S, Nakamichi K, Kameoka M, Sugiura S, Nukuzuma C, Tasaki T, Takegami T. TNF- α stimulates efficient JC virus replication in neuroblastoma cells. *J Med Virol*, in press.

2. 学会発表

1) 奴久妻聡一, 竹上 勉. HIV-1 Tat は JC ウイルスの増殖を促進する. 第 15 回日本神経ウイルス研究会, 金沢, 5.19, 2011.

2) 奴久妻聡一, 竹上 勉. 5HT_{2A} レセプター阻害剤は JC ウイルスの増殖を抑制する. 第 21 回抗ウイルス療法研究会, 金沢, 5.29, 2011.

3) 奴久妻聡一, 亀岡正典, 杉浦重樹, 中道一生, 奴久妻智代子, 竹上 勉. HIV-1 Tatによる神経細胞腫でのJCウイルスの増殖促進. 第60回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 11.13-15, 2012.

4) 奴久妻聡一, 亀岡正典, 杉浦重樹, 中道一生, 奴久妻智代子, 田崎隆史, 竹上勉. PARP-1 阻害剤の in vitro における JC ウイルス増殖抑制果. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 神戸, 11.10-12, 2013.

G. 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

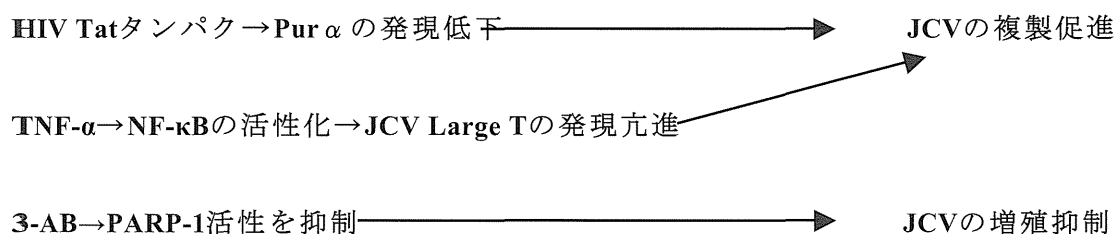


図 1. HIV-PMLにおけるJCV複製促進機構と3-ABの増殖抑制効果

[Ⅲ] PML 診療ガイドライン 2013

進行性多巣性白質脳症
(Progressive Multifocal Leukoencephalopathy : PML)
診療ガイドライン 2013

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

研究代表者 山 田 正 仁

発行にあたって

このたび、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では、『進行性多巣性白質脳症（progressive multifocal leukoencephalopathy: PML）診療ガイドライン 2013』を発行する運びとなりました。本研究班は、プリオン病、PML、亜急性硬化性全脳炎の 3 疾患を調査研究し、それらを克服することを使命としております。研究班は、疾患の原因・機序の解明や根本的な治療法の開発をめざす先端的研究と共に、本症に関する診療水準の向上を通じて社会に貢献することを求められており、その中の 1 つに最新の診療ガイドラインの作成と提供があります。本ガイドラインは PML を専門としない一般医師向けにガイドラインを提供し、本症に関する診療水準の向上をはかることを目的としております。

本ガイドラインは本研究班の PML 分科会によって執筆され、研究班全体による討議を経て発行されたものです。特に雪竹基弘先生（佐賀大学）には、執筆の中心になって原案作成や改訂作業にあたっていただきました。関係各位のご尽力に心より感謝いたします。

PML の診療ガイドラインにつきましては、2006 年に作成された診療ガイドラインが研究班ホームページ上に掲載されておりましたが、このガイドライン 2013 では内容が大きく改訂されました。近年、HIV 感染者の漸増、血液疾患、自己免疫疾患、それらに対する強力な治療薬の使用に伴い PML の発症が増加していること、新しい治療法の有効性が期待されていることなど、新しい情報を取り入れております。本症は頻度が低いためエビデンスレベルの高い治療研究に乏しいという問題がありますが、新ガイドラインでは治療の推奨グレードを、根拠となる研究のエビデンスと共に示しています。また、本研究班によるサーベイランスを通じた脳脊髄液ウイルス検査の依頼方法やメフロキン臨床試験の案内など、診療を支援する実際的な情報も掲載しております。

本ガイドラインは一般的な考え方の一例を示すものであり、実際の診療では、患者さん毎の病状や背景の違い、医師の経験、施設の特性ほかの要素が十分考慮されるべきであり、このガイドラインは個々の臨床家の診療にあたっての裁量権を規制するものではないことはいうまでもありません。

本ガイドラインは本研究班が発行する小冊子として、また研究班ホームページ（<http://prion.umin.jp/index.html>）上に公表されます。本ガイドラインを第一線で臨床に携わる諸先生方のご診療にお役立ていただければ誠に幸いに存じます。

2013 年 1 月

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
研究代表者 山田正仁（金沢大学）

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

研究代表者 山田 正仁 金沢大学医薬保健研究域医学系脳老化・神経病態学（神経内科学）

研究分担者 [プリオン分科会]

水澤 英洋 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学（神経内科学）
金子 清俊 東京医科大学神経生理学講座
八谷 如美 東京医科大学神経生理学講座
作道 章一 琉球大学医学部保健学科生体代謝学
坂口 末廣 徳島大学疾患酵素学研究センター神経変性疾患研究部門
毛利 資郎 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所
プリオン病研究センター
横山 隆 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所
プリオン病研究センター
竹内 敦子 東北大学大学院医学系研究科病態神経学講座
堂浦 克美 東北大学大学院医学系研究科神経化学分野
大橋祐美子 独立行政法人理化学研究所 脳科学総合研究センター
桑田 一夫 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科医療情報学専攻
堀内 浩幸 広島大学大学院生物圏科学研究科
西田 教行 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科感染分子解析学分野
長谷部理絵 北海道大学大学院獣医学研究科獣医衛生学教室
佐々木真理 岩手医科大学医歯薬総合研究所超高磁場 MRI 診断・病態研究部門
齊藤 延人 東京大学脳神経外科
岩崎 靖 愛知医科大学加齢医科学研究所
高尾 昌樹 東京都健康長寿医療センター研究所
坪井 義夫 福岡大学医学部神経内科学教室
桶本 優子 国立感染症研究所細胞化学部
濱口 毅 金沢大学附属病院神経内科

[SSPE 分科会]

細矢 光亮 福島県立医科大学医学部小児科学講座
市山 高志 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野
長谷川俊史 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野
楠原 浩一 産業医科大学医学部小児科学講座
堀田 博 神戸大学大学院医学研究科微生物学分野
柳 雄介 九州大学大学院医学研究院ウイルス学
野村 恵子 熊本大学医学部附属病院発達小児科
岡 明 杏林大学医学部小児科
吉永 治美 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科発達神経病態学
愛波 秀男 静岡県立こども病院地域医療連携室 兼 神経科
鈴木 保宏 大阪府立母子保健総合医療センター小児神経科
多田 有希 国立感染症研究所感染症情報センター

[PML 分科会]

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
西條 政幸 国立感染症研究所ウイルス第一部
三浦 義治 東京都立駒込病院脳神経内科
宍戸-原 由紀子 杏林大学医学部病理学教室
長嶋 和郎 北海道大学大学院医学研究科腫瘍病理学分野
雪竹 基弘 佐賀大学医学部内科（神経内科）
奴久妻聡一 神戸市環境保健研究所微生物部

PML 診療ガイドライン 2013 作成担当者一覧

作成代表者 雪竹 基弘 佐賀大学医学部内科（神経内科）
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
西條 政幸 国立感染症研究所ウイルス第一部
岸田 修二 東京都立駒込病院脳神経内科
三浦 義治 東京都立駒込病院脳神経内科
宍戸-原 由紀子 杏林大学医学部病理学教室
長嶋 和郎 北海道大学大学院医学研究科腫瘍病理学分野
奴久妻聡一 神戸市環境保健研究所微生物部
水澤 英洋 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学（神経内科学）
山田 正仁 金沢大学医薬保健研究域医学系脳老化・神経病態学（神経内科学）

目 次

発行にあたって	<i>i</i>
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	<i>ii</i>
PML 診療ガイドライン 2013 作成担当者一覧	<i>iii</i>
I. ガイドライン作成の目的・方法	1
II. 概 説	3
III. 症状・検査・診断	6
IV. 治 療	9
V. 研究班による診断・治療の支援	12
VI. 文 献	15

I. ガイドライン作成の目的・方法

1. ガイドライン作成の目的と対象

進行性多巣性白質脳症（progressive multifocal leukoencephalopathy: PML）は免疫不全を背景に発症する稀少疾患である。基礎疾患はヒト免疫不全ウイルス（human immunodeficiency virus: HIV）感染症のほか、血液系悪性腫瘍疾患、自己免疫疾患など多岐にわたるが、特にわが国では欧米と較べて基礎疾患が多様である。また近年、生物学的製剤や移植医療に伴う免疫抑制薬の使用拡大によってPML発症が増加しており、多くの領域の医療関係者にとって留意すべき疾患となっている。また、治療についても、近年、抗マラリア薬のメフロキンに抗JCウイルス（JC virus: JCV）作用あることが示され、PML治療への応用が期待されている。

こうした変化を背景に、PML診療を専門としない一般医師を対象に、診療ガイドラインを提供することを目的にガイドライン2013を作成した。また、本研究班が推進しているPMLサーベイランスの紹介、サーベイランスを通じた診断支援、メフロキンによる臨床試験等の情報も併せて掲載した。

2. ガイドライン作成の経緯と作成方法

「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」の「PML分科会」が中心となって本ガイドラインを作成した [班員名簿（iiページ）及びPML診療ガイドライン2013作成担当者（iiiページ）参照]。

3. 本ガイドラインに使用するエビデンスレベルおよび推奨グレード

PMLは非常に頻度が低い疾患でありランダム化比較試験（randomized controlled trial: RCT）は困難なため、エビデンスレベルの高い研究や推奨グレードの高い治療法は少ない。しかし、診療ガイドラインとしては、それらを示すことが必要であり、本ガイドラインでは、「IV. 治療」の項において、エビデンスレベルを Agency for Health Care Policy and Research（AHCPR）の基準で割り振り（表1）、推奨レベルを Minds 推奨グレード（表2）に従って提示した。

表1 エビデンスレベルの分類（質の高いもの順）

エビデンスレベル	内 容
I	システマティック・レビュー／RCTのメタアナリシス
II	1つ以上のランダム化比較試験による
III	非ランダム化比較試験による
IVa	分析疫学的研究（コホート研究）
IVb	分析疫学的研究（症例対照研究、横断研究）
V	記述的研究（症例報告やケース・シリーズ）
VI	患者データに基づかない、専門委員会や専門家個人の意見

表2 Minds 推奨グレード分類

推奨グレード	内 容
A	強い科学的根拠があり、行うよう強く勧められる
B	科学的根拠があり、行うよう勧められる
C1	科学的根拠はないが、行うよう勧められる
C2	科学的根拠がなく、行わないよう勧められる
D	無効性あるいは害を示す科学的根拠があり、行わないよう勧められる

4. 本ガイドライン作成上の問題点とその対応

(1) 保険診療外の検査・治療の取扱いについて

本研究事業を所管する厚生労働省健康局疾病対策課に確認の上、保険診療外の検査・治療についてもガイドラインに含め、保険診療で認められていない場合は、注釈としてそれを明示するという方針をとった。

(2) 資金源および利益相反の問題について

本ガイドライン作成の資金源は本研究班に交付された厚生労働科学研究費補助金による。本ガイドライン作成に従事した研究代表者、研究分担者は利益相反に関する審査を受けた。報告すべき利益相反事項はなかった。

Ⅱ. 概 説

1. 概 要

進行性多巣性白質脳症 (progressive multifocal leukoencephalopathy: PML) はポリオーマウイルス属二重鎖環状 DNA 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^{1, 2}。大脳白質が病変の主座であるが、小脳や脳幹といったテント下病変も来しうる。本邦での発症頻度は人口 1000 万人に約 0.9 人である。細胞性免疫が低下した人に主に発症するため、基礎疾患は欧米ではヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus: HIV) 感染症が約 85%を占めるが、本邦では HIV 感染症のほか、血液系悪性腫瘍疾患、自己免疫疾患など多岐にわたる。また近年、生物学的製剤による治療中に PML (モノクローナル抗体関連 PML) が発生している。臨床症候は多彩だが、発症すると大多数が進行性経過・致死的転帰をとる。根治に至る治療法は確立していない。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) と呼ばれる。

2. 疫 学

日本における PML の発症頻度は、本研究班の調査では人口 1000 万人に約 0.9 人である。その頻度は基礎疾患によって異なり、HIV 感染者では 1~3/1000 人³、ナタリズマブ治療時の多発性硬化症患者では 2.1/1000 人程度とされる⁴。1999~2003 年の本邦における疫学調査では definite PML 20 例、probable PML 18 例、possible PML 14 例の計 52 例の患者が確認された⁵。この調査は神経専門医を対象としており、実際の発症者数はこれより多いと考えられる (表 3)。国立感染症研究所からの最近の報告では脳脊髄液中 JCV 遺伝子検査陽性者は 2007 年 4 月~2011 年 10 月の期間で 58 例であった (図 1)⁶⁻⁹。

表 3 PML 疫学調査結果 (1999-2003 年)

PML 発症状況		基礎疾患	
Definite PML	20 例	HIV 感染症	21 例 (40%)
Probable PML	18 例	先天性免疫不全症	1 例
Possible PML	14 例	膠原病	7 例
Total	52 例	血液系悪性腫瘍	13 例
		固形がん	1 例
		肝障害	1 例
		透析 (慢性腎不全)	2 例
		なし/不明	6 例

図1 被験者と脳脊髄液 JCV 陽性者

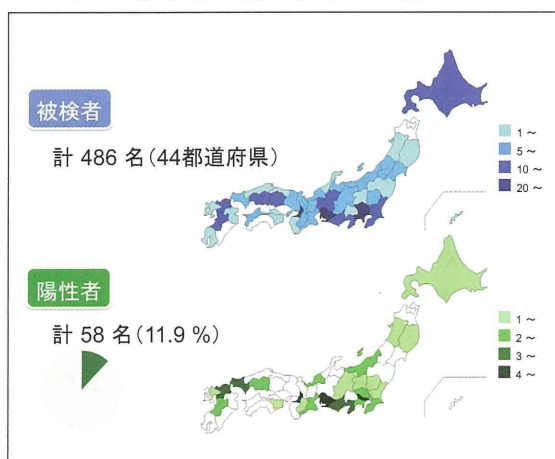
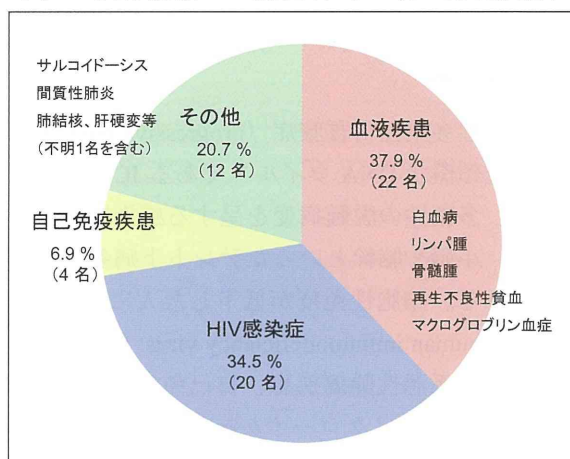


図2 脳脊髄液 JCV 陽性者 (58 名の基礎疾患)



前述の 1999～2003 年疫学調査 (表 3) では、基礎疾患として HIV 感染症 21 例 (40%) のほか、血液系悪性腫瘍 13 例、膠原病/結合織病 7 例、慢性腎不全 (透析) 2 例、先天性免疫不全症・固形癌・肝障害が各 1 例、なし/不明が 6 例であった⁵。最近の調査でも HIV 感染症と血液系悪性腫瘍疾患患者が多いという特徴は変わらず、HIV 感染症と血液系悪性腫瘍疾患患者が 72% を占めた (図 2)。欧米では PML の基礎疾患の多くを HIV 感染症が占める (約 85%) が¹⁰、本邦ではその基礎疾患は多岐にわたる。稀に基礎疾患のない PML の症例報告もある。PML 発症数は AIDS 患者の増加に伴い増加することが考えられる。しかも HAART (highly active anti-retroviral therapy) 療法が導入されても PML 発症率に変化がないことも示されており、本邦の HIV-PML は増加することが危惧される¹¹。

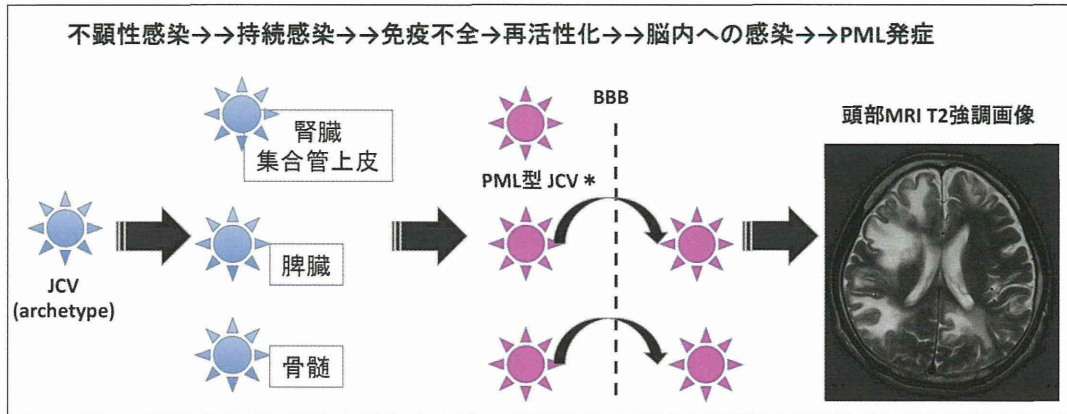
また近年、生物学的製剤の副作用としての PML 発症が知られている。これまでに PML 発症を誘導するリスクが高まると報告されている生物学的製剤は、ナタリズマブ、リツキシマブ、インフリキシマブ、エタネルセプト、バシリキシマブ、ダクリズマブ、エファリズマブ、アレムツズマブ、およびムロモナブ-CD3 などである^{12,13}。特にナタリズマブとリツキシマブは多発性硬化症患者における再発予防として使用する際の副作用として注目されている。これらの生物学的製剤による PML はモノクローナル抗体関連 PML としてその特徴が論じられている^{14,15}。モノクローナル抗体関連 PML は新しい背景/基礎疾患を有した患者群の発生を意味している。

3. 発症機序

JCV に対する抗体は日本人では健常者の 70% 以上に認められ、抗体保有率は年齢の増加に伴い高まる。JCV はヒトに広く感染しているウイルスと考えられる。感染は通常、小児期に上気道および経口感染で、リンパ球を介して腎臓・脾臓・骨髄などに広がり潜伏感染する。尿からは JCV 遺伝子 DNA が検出される (原型: archetype)。

PML 発症の機序は完全に解明はされていないが、潜伏している JCV が細胞性免疫の低下により再活性化され、血液脳関門を超え中枢神経内へ進入すると考えられている。次いでオリゴデンドロサイトに感染して JCV が増殖し、神経障害をきたす。PML 患者の中枢神経組織で認められる JCV は調節領域に再編成が認められ、PML 型 JCV (PML type) と呼ばれる。PML 型 JCV が中枢神経へ移行するのか、中枢神経内に持続感染していた archetype が PML 型 JCV に変化するか等ははまだ不明である (図 3)^{16,17}。

図3 PMLの発生機序



*：PML型 JCV が中枢神経へ移行するのか，中枢神経内に持続感染していた archetype が PML 型 JCV に変化する
かはいまだ不明.

Ⅲ. 症状・検査・診断

1. 臨床症状

進行性多巣性白質脳症 (progressive multifocal leukoencephalopathy: PML) の臨床症状は病名である「多巣性」を反映して多彩である。よく見られる初発症状は片麻痺・四肢麻痺・認知機能障害・失語・視覚異常などである。その後、初発症状の増悪とともに四肢麻痺・構音障害・嚥下障害・不随意運動・脳神経麻痺・失語などが加わり、失外套状態に至る^{18,19}。また、後述のように治療に伴う免疫再構築により中枢神経内の JC ウイルス (JC virus: JCV) 排除の免疫反応が起こり、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る [免疫再構築症候群 (immune reconstitution inflammatory syndrome: IRIS)]。本邦における PML の初発症状および経過中にみられる神経症候を表 4、表 5 に記した。

表 4 PML の初発症状

初発症状	非 HIV-PML (n=18)	HIV-PML (n=11)	n (%)
片麻痺/四肢麻痺	10	7	17 (59)
認知機能障害	5	7	12 (41)
失語症	3	4	7 (24)
視力障害	3	4	7 (24)
脳神経麻痺	3	2	5 (17)
小脳症状	5	0	5 (17)
感覚障害	3	0	3 (10)
不随意運動	1	2	3 (10)
頭痛	1	2	3 (10)
痙攣	0	1	1 (3)

表 5 PML の経過中にみられる神経症候

神経症候	非 HIV-PML (n=18)	HIV-PML (n=11)	n (%)
片麻痺/四肢麻痺	16	9	25 (86)
路症状	15 錐体	8	23 (79)
認知機能障害	15	7	22 (76)
嚥下障害	14	7	21 (72)
構音障害	13	7	20 (69)
深部反射亢進	12	7	19 (66)
失語症	11	7	18 (62)
無動・無言	14	3	17 (59)
脳神経麻痺	12	3	15 (52)
膀胱直腸障害	9	5	14 (48)
感覚障害	7	4	11 (38)
視力障害	5	6	11 (38)
小脳症状	8	2	10 (34)
不随意運動	3	3	6 (21)
痙攣	1	3	4 (14)
パーキンソニズム	2	1	3 (10)
頭痛	2	1	3 (10)

2. 検査所見 (脳脊髄液、画像など)

一般生化学検査では炎症反応などはみられない。血清の抗 JCV 抗体は健常者の 70%以上に認められるため、PML の診断には寄与しない。ただし、多発性硬化症患者におけるナタリズマブによるモノクローナル抗体関連 PML においては、血清の抗 JCV 抗体陽性が発症のリスク判断になる可能性が示されている⁴。髄液においても通常は異常所見を認めない。時に軽度の髄液細胞増多/タンパク上昇がみられる。

髄液の JCV DNA 遺伝子検査は PML の診断における強力なツールである^{20,21}。その感度は約 80%、特異度は約 99%とされている。本邦では国立感染症研究所ウイルス第一部が定量的リアルタイム PCR (polymerase chain reaction) 検査系を確立し、検査依頼に対応している。ホームページ (<http://www0.nih.go.jp/vir1/NVL/Virus1/NVL3%20HP/index11.html>) から依頼方法などの問い合わせが可能である (図 4)。

頭部 MRI では脳室周囲白質・半卵円中心・皮質下白質などの白質病変が主体である。通常は大脳白質の病変が主体だが、テント下病変も生じうるため、テント下病変の存在は本疾患の除外にはならない。灰白質病変がみられることもあるが、必ず白質病変を伴うとされる。病変は T1 強調画像で低信号、T2 強調画像および FLAIR 画像で高信号を呈する²²。拡散強調画像では、比較的新しい病変は高信号を呈し、古い病変は信号変化が乏しくなる。そのため拡散強調画像では病変の拡大に伴い、リング状の高信号病変を呈することが多くなる(図 5)。通常、浮腫/mass effect は伴わず、増強効果を呈することもきわめて少ないが、PML 治療に伴う IRIS では増強効果や mass effect を認めることが多い。病変は初期には単発あるいは多数の大小不同の斑状の白質病変であるが、経時的に進展・癒合・拡大する。病変は片側性のことも両側性のこともある。両側性の場合、左右非対称であることが多い。

図 4 髄液 JCV-DNA 遺伝子検査の流れ

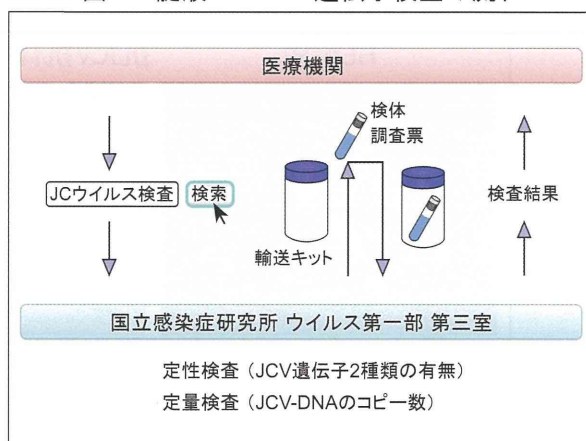
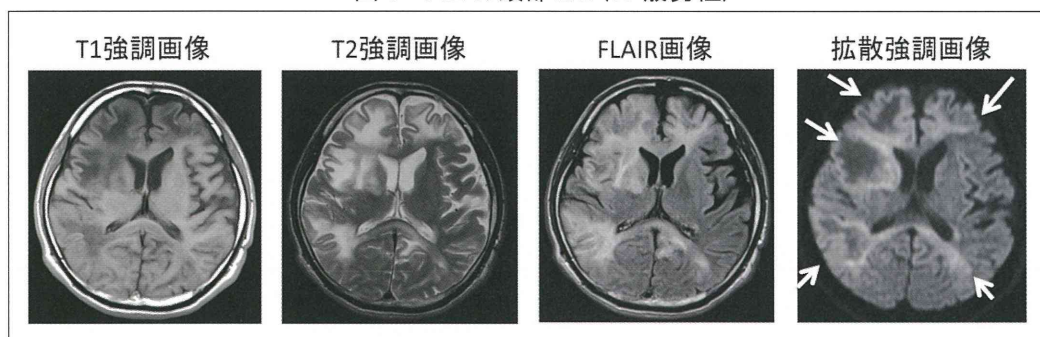


図 5 PML の頭部 MRI (38 歳男性)



3. 病理所見 (図 6)

肉眼所見では、皮髄境界から皮質下白質に大小様々な脱髄斑が多数 (多巣性)、互いに癒合している (進行性) ことが多く、進行性多巣性白質脳症の病名の由来となった。しかし近年では、基礎疾患やその治療法の多様化、臨床病期の長期化などにもとない、画像所見と同様、脱髄病巣の広がり方にも多様性が見られる。組織学的に、HE 染色で、オリゴデンドロサイトの著明に腫大した核に顆粒状ないしびまん性の好塩基性物質の存在が認められ、病理診断の指標となる。その他、反応性のアストロサイトやマクロファージ等も出現する。抗 JCV 抗体 (通常、ウイルスの外殻蛋白 Vp1 に対する抗体) を用いた免疫組織化学では、腫大した核全体に陽性所見が見られる。電子顕微鏡では、JCV は球状および線維状の形態を示し、核膜直下にクラスター形成をしていることが多い。球状および線維状のウイルスの形態は、"spaghetti and meatball"様と称されることもある¹⁹。