

201420049A

**厚生労働科学研究費補助金
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業**

**日本脳炎ならびに予防接種後を含む
急性脳炎・脳症の実態・病因解明に関する研究**

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

**研究代表者 多屋 馨子
平成 27 (2015) 年 3 月**

目 次

I. 総括研究報告

- 日本脳炎ならびに予防接種後を含む急性脳炎・脳症の実態・病因解明に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 2
多屋馨子

II. 分担研究報告

1. 急性脳炎・脳症ならびに予防接種後に報告された脳炎・脳症・急性散在性脳脊髄炎の発生動向と病原体診断のための検体の確保・搬送に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12
多屋馨子、奥野英雄、佐藤 弘、新井 智、森野紗衣子、砂川富正
2. 病原体およびワクチン関連急性脳炎・脳症の病因診断における手法ならびにデータベースの利便性・有用性に関する検討・・・・・・・・ 20
倉根一郎、森野紗衣子、多屋馨子
3. ウイルスゲノムの検出と病態への関与・・・・・・・・ 24
森島恒雄、八代将登
4. 日本脳炎ならびに予防接種後を含む急性脳炎・脳症と鑑別を要する疾患の実態・病因解明に関する研究・・・・・・・・・・・・・・・・ 30
亀井 聡
5. 日本脳炎の実験室診断と急性脳炎・・・・・・・・ 34
高崎智彦、田島 茂、中山絵里、モイ メンリン、小滝 徹
6. 不明脳炎症例におけるウイルスの網羅的検索・・・・・・・・ 38
片野晴隆、福本 瞳、高橋健太、峰宗太郎、佐藤由子、長谷川秀樹、黒田 誠、関塚剛史、高崎智彦
7. 不明脳炎症例における網羅配列解読・病原体データベースの作成・・・・・・・・ 45
黒田 誠、関塚剛史、高崎智彦、片野晴隆

III. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・・・・・・・ 57

I . 総括研究報告書

日本脳炎ならびに予防接種後を含む 急性脳炎・脳症の実態・病因解明に関する研究

研究代表者 多屋馨子 国立感染症研究所 感染症疫学センター 室長

研究要旨 原因不明と考えられていた急性脳炎患者から日本脳炎ウイルス（JEV）ゲノムが次世代シーケンサーを用いた解析（以下、NGS 検査）で検出され、日本脳炎ウイルス特異的 IgM 抗体の上昇も認められたことから、春先に感染したと考えられる日本脳炎症例を見出した。研究班の目的の一つである原因不明急性脳炎の中に紛れ込んでいる日本脳炎を見つけるという目的が達成されたことは意義が大きく、医療機関・行政機関・研究機関の連携強化の重要性が明らかとなった。また、原因不明の急性脳炎症例では、日本脳炎を鑑別診断に上げて、ウイルス学的な検査を実施する必要があることが明らかとなった。

網羅的にウイルス遺伝子を検出する目的で、multiplex PCR 法を用いて病原体遺伝子の検出を行ったところ、原因不明として届けられていた急性脳炎（脳症を含む）患者から、好発年齢以外でのヒトヘルペスウイルス 6（HHV6）の検出や、パレコウイルス 3 型、EBV、ノロウイルスゲノムが検出され、その他複数の症例の原因究明に繋げることができたことは意義が大きい。multiplex PCR 法を用いた網羅的なウイルス遺伝子の検出により病原体が検出できなかった場合は、NGS 検査を用いた検討を行っているが、前述した JEV 以外に、ラインフルエンザウイルス 4b、ヒトボカウイルス、*E. coli*、*Staphylococcus haemolyticus* 等のゲノムが検出された。原因病原体を見出すことが困難であった症例も多くあり、急性期検体の凍結保管の重要性が認識された。本研究班では病因解明のために 5 点セット（血液、髄液、咽頭ぬぐい液、便、尿）を求めているが、原因究明のためには、適切な時期での検体の採取・保管・搬送が重要であり、検体採取から検査に至るまでの体制整備とともに、ガイドラインの作成が必要と考えられた。

一方、高感度検出法により病原体を検出した場合の解釈には注意を要することも重要なポイントである。病因診断には、その病原体特有の病態を把握しておくことと、臨床現場の所見を参考にすることが非常に重要であることが明らかとなり、そういう観点からも、臨床・基礎・疫学で構成するこの研究班の特性を活かすことができると考えられた。

感染症発生動向調査に基づいて報告された急性脳炎（脳症を含む）についての解析では、原因不明で届けられた症例が多く、今後の課題と考えられた。季節的にはインフルエンザの流行に合わせて報告数のピークが認められ、診断時の年齢中央値は 5 歳（0～98 歳）であった。人口 100 万人当たりの患者報告数は都道府県毎に差が大きく、全数届出疾患であることが周知されていない可能性が考えられた。

予防接種後副反応（有害事象を含む）として届けられた脳炎・脳症は接種から平均 9.4 日、急性散在性脳脊髄炎（ADEM）は接種から平均 18.6 日で発症していたが、今後は分母情報とともに検討することが重要であり、そのためには年齢別の被接種者数の情報が必要であることが明らかとなった。また、他の要因による紛れ込みを鑑別するための検討（病原体診断）が必要と考えられた。

急性脳炎・脳症と鑑別を要する疾患として重要な疾患の一つに細菌性髄膜炎が挙げられるが、本邦の細菌性髄膜炎の発生率は年間 100 万人当り 12.4 と推計され、予後は抗菌薬の進歩にも関わらず満足できる成績ではないとされている。研究結果から細菌性髄膜炎成人例における MEPM6 g/日の適応拡大が承認され、2014 年末に細菌性髄膜炎の診療ガイドライン 2014 が作成された。

急性脳炎（脳症を含む）が感染症発生動向調査に基づく全数報告疾患であること、予防接種後 28 日以内に発症した脳炎・脳症・ADEM はワクチンによっては予防接種法に基づく報告義務がある疾患であることを周知するとともに、一例でも多くの原因究明に繋げるための体制整備が必要である。しかし、原因検索は合理的かつ系統的に実施される必要があり、病原体の検出頻度から有効な検査アルゴリズムを提案することで、原因検索に活用することが可能と考えられた。大規模な副反応（有害事象）報告システムは稀な事象の検出に有用であることから、その視覚化の有効性が論じられており、今後わが国でも予防接種後副反応報告の解析に応用していく必要がある。

病原体診断は重要であるが、網羅的検査法はコストを要することから、前述した検査のアルゴリズムに基づいて原因不明急性脳炎（脳症）に起因するウイルスに相当する核酸診断法、もしくは IgM 抗体診断などの開発も並行して推進すべきである。原因となる病原体が判明し、臨床症状、検査所見、その他の疫学情報が得られることで、患者の治療に貢献できることに加えて、公衆衛生学的な意義も大きい。引き続き検討を進めていきたい。

研究分担者

倉根一郎

国立感染症研究所 副所長

森島恒雄

岡山大学大学院小児医科学 特命教授

亀井 聡

日本大学医学部内科学系神経内科学 主任教授

高崎智彦

国立感染症研究所ウイルス第一部 室長

片野晴隆

国立感染症研究所感染病理部 室長

黒田 誠

国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター センター長

から、すべての医師に最寄りの保健所への届出が義務づけられている。

しかし、急性脳炎・脳症として届けられた患者の多くは原因不明となっていることから、この中に日本脳炎が紛れ込んでいる可能性があること、更に原因不明の急性脳炎・脳症、予防接種後副反応として届けられた脳炎・脳症・急性散在性脳脊髄炎（以下、ADEM）の原因究明の重要性が指摘されて、本研究班が発足した。

原因不明として届けられた急性脳炎・脳症の患者の中に、日本脳炎患者が紛れ込んでいないかについて検討するとともに、一人でも多くの急性脳炎・脳症、予防接種後に発症した脳炎・脳症・ADEM の原因究明を行うことを目的とする。

A. 研究目的

急性脳炎症状を示す日本脳炎、ウエストナイル脳炎、西部ウマ脳炎、ダニ媒介脳炎、東部ウマ脳炎、ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱は感染症法に基づく 4 類感染症全数把握疾患であり、これら以外の急性脳炎・脳症は 5 類感染症全数把握疾患であること

B. 研究方法

研究分担者の森島、研究協力者の八代、研究分担者の亀井を中心として臨床のネットワークを構築し、急性脳炎・脳症が感染症発生動向調査に基づく 5 類感染症全数把握疾患であることを医療関係者に周知するとと

もに、研究班内での連携を強化して、一人でも多くの急性脳炎・脳症の原因究明につとめる。

研究代表者の多屋と研究分担者の倉根は、厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会の委員として、予防接種後副反応として届けられた脳炎・脳症・ADEM について解析するとともに、研究協力者の森野とともに国内外の情報を収集して、原因不明のままになっている急性脳炎・脳症の原因検索に資する方法について検討する。

国立感染症研究所（以下、感染研）では、感染症発生動向調査に基づき報告された急性脳炎・脳症の症例と、予防接種後副反応報告として届けられた脳炎・脳症・ADEM の症例について厚生労働省（以下、厚労省）と協力して解析する任務を担っている。

研究協力者の奥野と、研究協力者の砂川、研究代表者の多屋は、5 類感染症全数把握疾患として感染症発生動向調査に基づいて報告された急性脳炎（脳症を含む）の中から、原因不明として届けられた急性脳炎・脳症について保健所に問い合わせを行うなど連携を密にし、研究班で実施している病原体検索について情報提供を行うとともに、届けられた急性脳炎（脳症）症例について集計し、解析を行う。

研究協力者の佐藤、奥野と、研究代表者の多屋は予防接種後副反応として届けられた脳炎・脳症・ADEM 症例について医薬品医療機器総合機構（以下、PMDA）、厚労省健康局結核感染症課、同 医薬食品局安全対策課との連携を密にして、報告された症例について集計し、解析を行う。

研究代表者の多屋は、保健所・地衛研・医療機関の担当者から病原体検索依頼があった場合には、症状・所見について詳しく情報収集し、研究班での検討が可能と考えられた症例については、検討に必要な臨床検体の種類、保管方法を説明し、医師・患者への説明文書、検査に係る同意書、症例登録フォームなどを送付して、一人でも多くの急性脳炎・

脳症、予防接種後の脳炎・脳症・ADEM 症例の原因究明に資するための調整を行う。

研究協力者の新井は、保健所・地衛研・医療機関との連携を密にして、原因不明として届けられた急性脳炎・脳症の患者、予防接種後副反応として届けられた脳炎・脳症・ADEM 患者の原因究明に必要な臨床検体が適切な方法で感染研に届けられるよう調整する。

研究分担者の高崎と研究協力者の田島、中山、メンリン、小滝は、研究分担者の片野、黒田との連携を密にして、日本脳炎ウイルス特異的 IgM 抗体の測定、日本脳炎ウイルス遺伝子の検出等の方法で、日本脳炎の紛れ込みがないかについて検討し、わが国の日本脳炎の disease burden について検討する。

研究分担者の片野と研究協力者の福本、高橋、峰、佐藤、長谷川は、研究分担者の高崎、黒田との連携を密にして、原因不明として研究班に届けられた急性脳炎・脳症・ADEM 症例の症状・所見について検討し、届けられた臨床検体から RNA, DNA を抽出し、Multiplex PCR 法等の方法を用いて網羅的なウイルス遺伝子の検索を行う。

研究分担者の黒田と研究協力者の関塚は、研究分担者の片野、高崎との連携を密にして、Multiplex PCR 法等の方法を用いて網羅的なウイルス遺伝子検索を行ったにも関わらず、原因究明に至らなかった症例について次世代シーケンサー（以下、NGS 検査）を用いて、病原体遺伝子の検索を行う。NGS 検査では、ウイルスのみならず細菌についても検索が可能である。

研究代表者、研究分担者、研究協力者は、全国から紹介された原因不明の急性脳炎・脳症症例の担当医・担当保健所・担当地方衛生研究所（以下、地衛研）との連携を密にして、脳炎ネットワークを構築することで、一人でも多くの原因究明につとめ、予防接種後に発症した脳炎・脳症・ADEM 症例についても、その他の疾患（病原体による）の紛れ込みについて検討する。

(倫理面への配慮)

本研究では、取り扱う情報の中に個人が特定されるような情報が含まれたとしても、機密保護を徹底し、それを研究の結果として含むようなことはしない。従って研究成果の公表にあたって個人的情報が含まれることはない。万が一、個人的情報が本研究の中に含まれる場合には、それに関する機密保護に万全を期する。

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委員会」で審査され承認されている(受付番号 445:平成 25 年 9 月 25 日承認)。

C. 研究結果

研究協力者の奥野、佐藤、新井、砂川と研究代表者の多屋は、感染症発生動向調査に基づいて報告された急性脳炎(脳症を含む)について検討し、原因究明の依頼があった全国の医療機関・保健所・地衛研との連絡を行った。診断時の年齢中央値は 5 歳(0~98 歳)、男女比は 56:44 であった。人口 100 万人当たりの患者報告数は都道府県毎に差が大きかった。季節的にはインフルエンザの流行に合わせて報告数のピークが認められた。原因不明が最多であったが、0~4 歳ではインフルエンザウイルス(Flu)、ヘルペス科ウイルス(HHV-6)、ロタウイルスが多く、15~59 歳では Flu、ヘルペス科ウイルス(HSV)、麻疹ウイルスが多く、60 歳以上ではヘルペス科ウイルス(HSV)が多かった。

本研究班に病原体検索依頼があった 44 症例で、5 点セット(血液、髄液、咽頭ぬぐい液、便、尿)のうち 3 種類以上搬送されたのは 24 症例(54.5%)、5 種類すべて(5 点セット)搬送されたのは 18 症例(40.9%)であった。

予防接種法に基づく予防接種後副反応報告(有害事象を含む)として報告された脳炎・脳症(13 例)は接種から平均 9.4 日、ADEM(19 例)は接種から平均 18.6 日の発症であった。1 歳と 3 歳に多く、1 歳は MR、3 歳は日本脳炎ワクチン接種後の報告が多かった。20 代以降はすべてインフルエンザワクチン接種後の報告であった。

研究分担者の倉根と研究協力者の森野、多屋は、予防接種後副反応として報告される急性脳炎・脳症・ADEMを取り上げて、海外論文から情報収集し、検討した。

感染症が関与していると考えられる急性脳炎・脳症については、病原体の検出頻度から有効な検査アルゴリズムを提案することで、原因検索に活用することを提案した。

ワクチンの関与が考えられた症例については、因果関係の検証を行うためのデータベースの利便性・有用性を検討することを目的として、海外文献を基に検討した結果、大規模な副反応(有害事象)報告システムは稀な事象の検出に有用であり、その視覚化の有効性が論じられていた。今後のわが国での応用について言及した。

研究分担者の森島と研究協力者の八代は、急性脳炎・脳症は病因別に重症度や予後などの所見が異なっていることから、病因を検索することの重要性を報告した。一方、病因検索に最も確実なのはゲノムの検出であるが、検出されたゲノムが病態へ関与したかどうかの判定には注意を要する点を強調した。

例えば、HBV キャリアでは、血液以外の体液(唾液、涙液、汗、尿)でも HBV が検出されており、HSV は脳炎を引き起こすが年齢によって病態が異なること、インフルエンザは脳症を引き起こすが、中枢神経内ではウイルスの増殖は認めないこと、HHV6 で発症する中枢神経障害は宿主の状態により病態が異なること、健常時でも血液は血液脳関門を通じて脳内(髄液)へ漏出しているが、炎症時にはこの漏出はさらに激しくなることから、高感度検出法により病原体を検出した場合の解釈には注意を要することを報告した。病因診断には、その病原体特有の病態を把握しておくことと、臨床現場の所見を参考にすることが重要となることが述べられた。

研究分担者の亀井は、急性脳炎の鑑別診断と

して重要な疾患の一つである細菌性髄膜炎を取り上げ、成人の細菌性髄膜炎患者を対象としてメロペネム (MEPM) の髄液移行性を検討した。これまでにこのような報告はなされていないことから、日本人の成人における細菌性髄膜炎患者を対象とした髄液中の MEPM 濃度を検討した。検討した全ての患者において、MEPM 投与 3 時間後の髄液中の MEPM 濃度は起炎菌に対する最小発育阻止濃度を上回っており、成人の細菌性髄膜炎患者を対象として、初めて、MEPM の髄液移行性を確認し、2014 年にガイドラインのとりまとめを行った。

研究分担者の高崎と、研究協力者の田島、中山、メンリン、小滝は、本研究班を通じて依頼された原因不明急性脳炎・脳症症例の日本脳炎特異的 IgM 抗体の測定を実施しているが、この内 1 症例から日本脳炎ウイルス特異的 IgM 抗体の上昇を確認した。この症例は本研究班で NGS 検査により日本脳炎ウイルス遺伝子断片が検出されたことがきっかけであったが、わが国で急性脳炎患者を診察した場合、日本脳炎を疑われるまでにかなりの日数が必要とされる現状から、発症早期の検体が得られないことが多い。そういう場合であっても髄液中の抗日本脳炎 IgM 抗体検出は非常に重要であることが明らかとなった。

研究分担者の片野と、研究協力者の福本、高橋、峰、佐藤、長谷川は、原因不明の急性脳炎・脳症の症例につき、その原因を究明すべく、ウイルスの網羅的検索を行った。本研究班で収集された不明脳炎症例は合計 45 症例であり、そのほぼ全例につき、multivirus real-time PCR を施行した結果、5 例は原因と考えられる病原体が検出され、その内訳はコクサッキーウイルス B3、HHV-6、パレコウイルス 3、EB ウイルス、ノロウイルスであった。HHV-6 陽性例では医療機関で実施された血清抗体検査から 5 歳近くでの初感染であったことが証明され、症例報告

として英文誌に掲載された。ノロウイルス検出例では便からの簡易検査でもウイルス感染が証明された。

研究班に病原体検索依頼があった症例の臨床検体について検討した結果、様々な病原体遺伝子が検出された一方で、RNA の内因性コントロールが検出されない症例が約 30%あり、そのうち一部は DNA の内因性コントロールも検出されなかった。

研究分担者の黒田と、研究協力者の関塚は、急性脳炎・脳症の原因究明を目的とした NGS による網羅的病原体検索を担当した。2014 年度は 30 症例の原因不明脳炎・脳症患者について、網羅的病原体検索が必要と判断され検査を行った (研究班に依頼があった 35 症例のうち 5 症例は NGS 検査前に当該病原体が確定した)。それぞれの患者髄液から、日本脳炎ウイルス、Human herpes virus-4, 8, Human parainfluenza virus 4b, Human bocavirus, Norovirus, 大腸菌等、様々な病原体配列を検出し、症例個々において多様な感染症による脳炎・脳症へと進展している可能性が示唆された。髄液からは検出されないが、咽頭拭い液から Human adenovirus C, Human herpes virus-5, 6B, 7, Enterovirus B, Human parainfluenza virus 3 を検出し、呼吸器感染症の憎悪も関連している可能性が示唆された。血液関連検体 (血清、血漿、全血) から、主に Torque teno virus (TTV) (亜種含む) を検出する症例が多かった。本年度の症例では 30 症例中 19 症例しか便検体を収集できず、不完全ではあるが脳炎・脳症の前駆症状と思われる腸管症状の起炎菌 (ESBL 産生大腸菌) の特定と菌分離に成功した症例もあった。尿検体からは有意な病原体は検出されなかった。

D. 考察

感染症発生動向調査に基づく急性脳炎 (脳症を含む) の届出数には、都道府県毎の差が

大きく、全数届出疾患であることが周知されていない可能性が考えられた。

また、原因不明脳炎の中から日本脳炎が見つかったことから、少なくとも関東以西の夏期の急性脳炎症例では、日本脳炎の検査を実施する必要があることの啓発活動も必要である。

研究班で得られた結果はわが国の急性脳炎・脳症症例における微生物学的なエビデンスを提供するばかりでなく、臨床検体の取り扱い、輸送法や必要な検査項目について、参考となる情報を提供するものと期待される。適切な検体の採取・保管・搬送が重要であり、検体採取から検査に至るまでの体制整備とともに、検体採取・保管・搬送のガイドラインの作成が必要と考えられた。

予防接種後の副反応報告として届けられた脳炎・脳症・ADEM について検討したが、今後は適切な検体保管の重要性を医療機関に情報提供するとともに、分母情報とともに検討することが必要であると考えられた。そのためには年齢別の被接種者数の情報が重要である。また、先行感染症を含めた他の要因による紛れ込みを鑑別するための検討(病原体検索)が必要と考えられた。

急性脳炎(脳症)が全数報告疾患であること、予防接種後 28 日以内に発症した脳炎・脳症・ADEM はワクチンによっては予防接種法に基づく報告義務がある疾患であることを周知するとともに、一例でも多くの原因究明に繋げるための体制整備が必要である。そのためには、感染症サーベイランスと予防接種後副反応サーベイランスの制度の充実と活用が望まれる。一方で、高感度検出法により病原体を検出した場合の解釈には注意を要する。病因診断には、その病原体特有の病態を把握しておくことと、臨床症状や検査結果等の所見を参考にすることが重要である。

個別 PCR (対象配列が短く限定的) で検出できない症例においても、NGS は病原体ゲノム DNA の欠片でも検出でき、感度もおよそ 10 倍程度高いことが報告されているため、

感染症の疑いが濃厚な症例においては非常に有効な検査手法である。ただし、研究段階の高度な核酸検査法であって確定検査診断ではないため、抗体検査法による IgM 陽転を検討するなど相補的な検査法をもって検証すべきだと思われる。また NGS 検査で TTV 検出例が多かったことは、不顕性感染しているウイルスが全身性炎症にともなって再活性化している可能性が示唆された。

Enterovirus 等を起因病原体として疑う場合、便検体の検索が重要である。急性脳炎・脳症の原因究明には便検体の冷凍保管も必要であることを医療機関や保健所等に情報提供していく必要がある。

以上のことから、原因不明急性脳炎・脳症の原因究明には、臨床・基礎・疫学の各方面からの総合的な判断と研究が重要であることが明らかとなった。

E. 結論

原因不明と考えられていた急性脳炎患者から NGS 検査、JEV 特異的 IgM 抗体検査により 1 名の日本脳炎症例が見つかった。その他、multiplex PCR 法、NGS 検査により、好発年齢以外での HHV-6 の検出や、パレコウイルス 3 型、EBV、ノロウイルスパラインフルエンザウイルス 4b、ヒトボカウイルス、*E. coli*、*Staphylococcus haemolyticus* 等のゲノムが検出された。

一方、高感度検出法により病原体を検出した場合の解釈には注意を要することも重要なポイントであることが報告された。病因診断には、その病原体特有の病態を把握しておくことと、臨床現場の所見を参考にすることが非常に重要であることが明らかとなり、そういう観点からも、臨床・基礎・疫学で構成するこの研究班の特性を活かすことが重要と考えられた。

また、原因究明のためには、適切な検体の採取・保管・搬送が重要であり、検体採取から検査に至るまでの体制整備とともに、検体採

取・保管・搬送のガイドラインの作成が必要と考えられた。

感染症発生動向調査に基づいて報告された急性脳炎（脳症を含む）についての解析では、全数届出疾患であることが周知されていない可能性が考えられた。

予防接種後副反応（有害事象を含む）として届けられた脳炎・脳症・ADEM の検討では、分母情報とともに検討することが重要であり、そのためには年齢別の被接種者数の情報が必要であることが明らかとなった。また、他の要因による紛れ込みを鑑別するための検討（病原体診断）が必要と考えられた。

鑑別を要する疾患としての細菌性髄膜炎については、2014 年末に細菌性髄膜炎の診療ガイドライン 2014 が作成された。

急性脳炎（脳症を含む）が感染症発生動向調査に基づく全数報告疾患であること、予防接種後 28 日以内に発症した脳炎・脳症・ADEM はワクチンによっては予防接種法に基づく報告義務がある疾患であることを周知するとともに、一例でも多くの原因究明に繋げるための体制整備が必要である。

病原体診断は重要であるが、網羅的検査法はコストを要することから、検査のアルゴリズムを作成して、それに基づいて原因不明急性脳炎（脳症）に起因するウイルスに相当する核酸診断法、もしくは IgM 抗体診断などの開発も並行して推進すべきである。原因となる病原体が判明し、臨床症状、検査所見、その他の疫学情報が得られることで、患者の治療や予後に貢献できることが期待され、公衆衛生学的な意義も大きいと考えられる。

F. 健康危険情報

原因不明と考えられていた急性脳炎患者から日本脳炎ウイルス（JEV）ゲノムが NGS 検査で検出され、日本脳炎ウイルス特異的 IgM 抗体の上昇も認められたことから、春先に感染したと考えられる日本脳炎症例を見出した。研究班の目的の一つである原因不明急性脳炎の中に紛れ込んでいる日本脳炎を

見つけるという目的が達成されたことは意義が大きい。原因不明の急性脳炎症例では、日本脳炎を鑑別診断に上げて、ウイルス学的な検査を実施する必要があることを伝えていく必要がある。

そのためには、急性脳炎（脳症を含む）は診断後 7 日以内に全数の届出が義務づけられていること、予防接種後 28 日以内に発症した脳炎・脳症・ADEM 症例は法律に基づいた報告義務が医師にもあることを周知していく必要があると考えられた。

G. 研究発表

研究分担者の研究発表は分担研究報告書に記載

1. 論文発表（著書を含む）

1) Yamamoto S, Takahashi S, Tanaka R, Okayama A, Araki A, Katano H, Tanaka-Taya K, Azuma H : Human herpesvirus-6 infection-associated acute encephalopathy without skin rash. Brain Dev. 2015. in press.

2. 学会発表

1) 奥野英雄、佐藤弘、新井智、木下一美、砂川富正、大石和徳、多屋馨子：わが国の急性脳炎（脳症を含む）の発生動向と今後の検討課題 第 55 回日本臨床ウイルス学会（札幌、6 月）

2) 奥野英雄、佐藤弘、新井智、砂川富正、大石和徳、多屋馨子：国内で使用可能なワクチンが存在する疾患に合併した急性脳炎（脳症を含む）の発生動向 第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会（東京、10 月）

3) 山本志保、田中亮介、岡山亜貴恵、荒木章子、高橋悟、片野晴隆、多屋馨子、東寛：突発性発疹を呈さなかったヒトヘルペスウイルス-6 (HHV-6) 脳症の 1 例 第 25 回日本小児神経学会北海道地方会（札幌、2015 年 3 月）

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

Ⅱ. 分担研究報告書

急性脳炎・脳症ならびに予防接種後に報告された 脳炎・脳症・急性散在性脳脊髄炎の発生動向と 病原体診断のための検体の確保・搬送に関する研究

研究分担者	多屋馨子	国立感染症研究所	感染症疫学センター	室長
研究協力者	奥野英雄	国立感染症研究所	感染症疫学センター	研究員
研究協力者	新井 智	国立感染症研究所	感染症疫学センター	主任研究官
研究協力者	佐藤 弘	国立感染症研究所	感染症疫学センター	研究員
研究協力者	森野紗衣子	国立感染症研究所	感染症疫学センター	研究員
研究協力者	砂川富正	国立感染症研究所	感染症疫学センター	室長

研究要旨 2007～2014 年に感染症発生動向調査に基づいて報告された急性脳炎（脳症を含む）は 2,639 例であったが、2009 年はインフルエンザ A(H1N1)pdm09 によるパンデミックの影響により最多であった。診断時の年齢中央値は 5 歳（0～98 歳）、男女比は 56 : 44 であった。人口 100 万人当たりの患者報告数は都道府県毎に差が大きく、全数届出疾患であることが周知されていない可能性が考えられた。季節的にはインフルエンザの流行時に報告数のピークが認められた。原因不明が多かったが、0～4 歳ではインフルエンザウイルス (Flu) に次いでヘルペス科ウイルス、ロタウイルスが多く、15～59 歳では Flu に次いでヘルペス科ウイルス、麻疹ウイルスが多かった。60 歳以上ではヘルペス科ウイルスが最も多かった。

2015 年 1 月 15 日までに本研究班で病原体検索をおこなったのは 44 症例で、5 点セット（血液、髄液、咽頭ぬぐい液、便、尿）のうち 3 種類以上搬送されたのは 24 症例（54.5%）、5 種類すべて（5 点セット）搬送されたのは 18 症例（40.9%）であった。RNA の内因性コントロールが検出されない症例が 13 症例（29.5%）あり、そのうち 5 症例については DNA の内因性コントロールも検出されなかった。原因究明のためには、適切な検体の採取・保管・搬送が重要であり、検体採取から検査に至るまでの体制整備とともに、検体採取・保管・搬送のガイドラインの作成が必要と考えられた。

2013 年 4 月～2014 年 9 月までに、予防接種法に基づく予防接種後副反応報告（有害事象を含む）として脳炎・脳症 14 例、急性散在性脳脊髄炎（以下、ADEM）20 例が報告（2015 年 1 月現在）された。接種から発症までの期間は、脳炎・脳症（13 例）は平均 9.4 日、ADEM（19 例）は平均 18.6 日であった。1 歳と 3 歳に多く、1 歳は MR、3 歳は日本脳炎ワクチン接種後の報告が多かった。20 代以降はすべてインフルエンザワクチン接種後の報告であった。標準的な接種年齢との関連が考えられ、今後は分母情報とともに検討することが重要であり、そのためには年齢別の被接種者数の情報が必要である。また、先行感染症等の他の要因による紛れ込みを鑑別するための検討（病原体検索）が必要と考えられた。

急性脳炎（脳症）が全数報告疾患であること、予防接種後 28 日以内に発症した脳炎・脳症・ADEM はワクチンによっては予防接種法に基づく報告義務がある疾患であることを周知するとともに、一例でも多くの原因究明に繋げるための体制整備が必要である。

A. 研究目的

急性脳炎（脳症を含む）は感染症発生動向調査に基づく五類感染症全数把握疾患に指定され、診断したすべての医師に診断から7日以内の届出が義務づけられている。2007年～2014年の感染症発生動向調査から、急性脳炎（脳症を含む）の報告状況を整理し、現状分析を行った。

また、精度の高い病原体検索のためには、検体の質の担保が欠かせない。当研究班では、血液（血清や血漿、全血など）、髄液、咽頭ぬぐい液、便、尿の5種類（5点セット）の検体採取を臨床医に依頼している。

一方、2013年4月の予防接種法改正にもない、予防接種後の一定期間に法令で定められた症状・疾患を診断した医師には予防接種法に基づく報告が義務付けられたが、これらの報告症例のうち、脳炎・脳症および急性散在性脳脊髄炎（ADEM）の症例について検討を行った。

B. 研究方法

感染症発生動向調査に基づいて2007～2014年の8年間に報告された急性脳炎（脳症を含む）を診断週、報告都道府県、報告患者年齢別に解析し、原因病原体の集計を行った。

また、2013年10月14日から2015年1月15日までに研究班で病原体検索をおこなった症例のうち、採取された検体数と検体の質について検討をおこなった。

本研究班で実施している病原体の検索方法は、日本脳炎の鑑別のために日本脳炎ウイルス特異的IgM抗体の測定（研究分担者：高崎）、マルチプレックスReal-time PCRを用いた網羅的ウイルス遺伝子検出（研究分担者：片野）、いずれの病原体も検出されなかった場合に、次世代シーケンスにより網羅的検出（研究分担者：黒田）を実施した。

マルチプレックスReal-time PCRの検索は、内因性RNAおよびDNAコントロールが検出で

きた場合に検出方法が成立したと仮定した。

日本脳炎ウイルス感染については、マルチプレックスReal-time PCRおよび次世代シーケンスによる判定に加え、血清学的診断も実施した（研究分担者：高崎、片野、黒田）。

予防接種後副反応については、2013年4月から2014年9月までに報告された症例のうち、脳炎・脳症およびADEMの症状を含む症例について検討を行った。

C. 研究結果

急性脳炎（脳症を含む）：2007～2014年の8年間に感染症発生動向調査に報告された症例数は2,639例であり、診断時の年齢中央値は5歳（0～98歳）、男女比は56：44であった。年間患者報告数は、2007年～2008年は年間200例前後であったが、2009年には、インフルエンザA(H1N1)pdm09によるパンデミックの影響により、526例と急増した。2010年には242例と減少したが、そこから徐々に増加し、2012年および2013年は、年間に350例を越える届出があり、2014年には459例と2009年に次いで報告が多かった（表1）。

人口100万人当たりの患者報告数は、都道府県ごとの差が大きかった。都道府県別にみると、宮崎県、茨城県、栃木県、千葉県、新潟県からの報告が多く、徳島県、奈良県、宮城県、熊本県、岐阜県からの報告は少なかった（図1）。

病原体別診断週別の患者報告数の推移をみると、毎年インフルエンザの流行に合わせて、急性脳炎（脳症を含む）の報告数もピークが認められた（図2）。

2014年の届出のうち、年齢別に原因病原体を比較すると、原因不明がいずれの年齢群でも最も多いが、原因病原体が報告された症例を見ると、0～4歳ではインフルエンザウイルス（Flu）に次いでヘルペス科ウイルス（HHV6が最多）、ロタウイルスが多く、その他、アデノウイルス、RSウイルス、パレコウイルス、エンテロウイルスの報告が多かつ

た(図3)。15~59歳では、Fluに次いでヘルペス科ウイルスが多く、2007~2008年に発生した10~20代を中心とする麻疹流行の影響で、麻疹ウイルスも多く報告された。60歳以上ではヘルペス科ウイルスが最も多かった。

原因不明として届出された症例は、60歳以上では35%であったが、0~59歳では48~58%と高い割合であった。

採取検体の評価：2015年1月15日までに本研究班で病原体検索をおこなったのは44症例であった。そのうち、研究班で求めている5点セット(血液、髄液、咽頭ぬぐい液、便、尿)のうち、1種類のみを検体が搬送されたのは10症例(20.9%)で、3種類以上搬送されたのは24症例(54.5%)、5種類すべて(5点セット)搬送されたのは18症例(40.9%)であった(図4)。

不明病原体検索のためのマルチプレックスReal-time PCRの実施にあたって、RNAの内因性コントロールが検出されない症例が13症例(29.5%)あり、そのうち5症例についてはDNAの内因性コントロールも検出されなかった。

予防接種後副反応報告(有害事象報告)：2013年4月~2014年9月までの1年半の間に、予防接種法に基づく予防接種後副反応報告(有害事象を含む)として医療機関から脳炎・脳症14例、ADEM20例が報告された(2015年1月現在)。

年齢別の報告状況をみると、1歳(8例：脳炎・脳症5例、ADEM3例)と3歳(9例：脳炎・脳症3例、ADEM6例)が多く(図5)、接種ワクチン(同時接種例も含む)は1歳ではMRワクチン(75%：6/8)、3歳では日本脳炎ワクチン(89%：8/9)の割合が多かった。また、20代以降の6例はすべてインフルエンザワクチン接種後の報告であった。

次に発生月別にみると、概ね月に1~2例の頻度であったが、2013年11月(6例：脳

炎・脳症2例、ADEM4例)と12月(5例：脳炎・脳症2例、ADEM3例)に多く報告された(図5)。接種ワクチンは11月(67%：4/6)、12月(60%：3/5)ともにインフルエンザワクチンの報告が多かった。

また、接種から発症までの期間は(複数の接種日が記載されていた2例を除く32例について検討)、脳炎・脳症(13例)は平均9.4日、ADEM(19例)は平均18.6日であった。

D. 考察

感染症発生動向調査に基づく五類感染症全数把握疾患としての急性脳炎(脳症を含む)の報告は徐々に増加しており、2014年は2009年に次いで多い報告数であった。これは全数報告疾患として広く認知されてきた結果と考えられた。しかし、都道府県別の人口100万人当たりの報告頻度をみると、いまだに報告数の差は大きい。急性脳炎(脳症を含む)が全数報告疾患であることの周知を徹底するとともに、一例でも多くの原因病原体が判明することが望まれる。

しかし、2015年1月15日までに本研究班で病原体検索をおこなった44症例のうち、5点セットが搬送されたのは18症例(40.9%)にとどまった。また、44症例のうち、抽出核酸量が非常に少量であったり、内因性コントロールが検出できない症例も見られ、採取後の保管状況の影響が考えられた。特に、13症例(29.5%)についてはRNAの内因性コントロールが検出されず、RNAを用いた検索には適していなかった。特に急性脳炎(脳症を含む)の様に重篤な症例については、急性期の医療現場は混乱していることも多く、また必要な検査も多いことから、適切な検体を適切に保管しておくことが困難なことが予想される。しかし、決して急性脳炎(脳症を含む)は軽症疾患ではなく、適切な治療法の選択に加えて、公衆衛生学的な観点からも原因病原体の究明は重要である。特に検体中に含まれる病原体RNA/DNAの量が少ない場合は、検体の凍結融解や常温あるいは冷蔵での長期放

置などが大きく影響する場合が多い。病原体 RNA/DNA 検出を対象とした場合の検体の適切な採取・保管・搬送方法について、臨床医に広く周知する必要があることから、検体採取・保管・搬送に関するガイドラインの作成が必要と考える。

予防接種後副反応として報告された急性脳炎・ADEM 症例では、1 歳の MR ワクチン、3 歳の日本脳炎ワクチン、20 代以降のインフルエンザワクチン接種後の報告が多い傾向がみられたが、これはそれぞれのワクチンの（標準的な）接種年齢との関連が考えられ、今後は分母情報を含めた検討が必要と考えられた。また、2013 年 11～12 月にインフルエンザワクチン接種後の報告が多い傾向がみられたが、接種者数、季節的な接種状況との関連が考えられ、これについても分母情報を含めた検討が必要と考えられた。しかし、いずれの症例においても予防接種後に生じた脳炎・脳症、ADEM が先行感染症等の他の要因によるものか、予防接種によるものかの十分な検討（病原体あるいは遺伝子検出等）が必要と考えられた。

E. 結論

感染症発生動向調査に基づく急性脳炎（脳症を含む）の報告数は年々増加傾向にあるが、原因不明として届け出られている報告が多い。急性脳炎（脳症を含む）が法律に基づく全数把握疾患であることの周知に努めるとともに、一例でも多くの症例で原因病原体が判明するように引き続き検討をおこなう必要がある。

一方、予防接種法に基づく予防接種後副反応として 2013 年 4 月から 2014 年 9 月までに報告された 34 例の急性脳炎・脳症および ADEM 症例について検討した結果、ワクチンの標準的な接種年齢や季節的な接種状況との関連が考えられた。今後は分母情報とともに検討することが重要であり、そのためには正確な被接種者数の情報が必要である。また、報告された症例については十分な原因究明

を行い、他の要因による紛れ込みの鑑別等を行う必要がある。

しかし、原因を究明するためには、適切な臨床検体の採取・保管・搬送と、搬送後の検査診断体制の充実が必要である。病原体検索のためには、採取される検体の質が極めて重要であることから、今後は採取すべき検体の種類とその適切な保管方法を医療関係者により一層周知することが必要と考えられた。

医療機関への情報提供を徹底して、一人でも多くの急性脳炎・脳症の原因究明に繋がれるよう、引き続き検討を続ける必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表（著書を含む）

1) Yamamoto S, Takahashi S, Tanaka R, Okayama A, Araki A, Katano H, Tanaka-Taya K, Azuma H : Human herpesvirus-6 infection-associated acute encephalopathy without skin rash. Brain Dev. 2015. in press.

2. 学会発表

1) 奥野英雄、佐藤弘、新井智、木下一美、砂川富正、大石和徳、多屋馨子：わが国の急性脳炎（脳症を含む）の発生動向と今後の検討課題 第 55 回日本臨床ウイルス学会（札幌、6 月）

2) 奥野英雄、佐藤弘、新井智、砂川富正、大石和徳、多屋馨子：国内で使用可能なワクチンが存在する疾患に合併した急性脳炎（脳症を含む）の発生動向 第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会（東京、10 月）

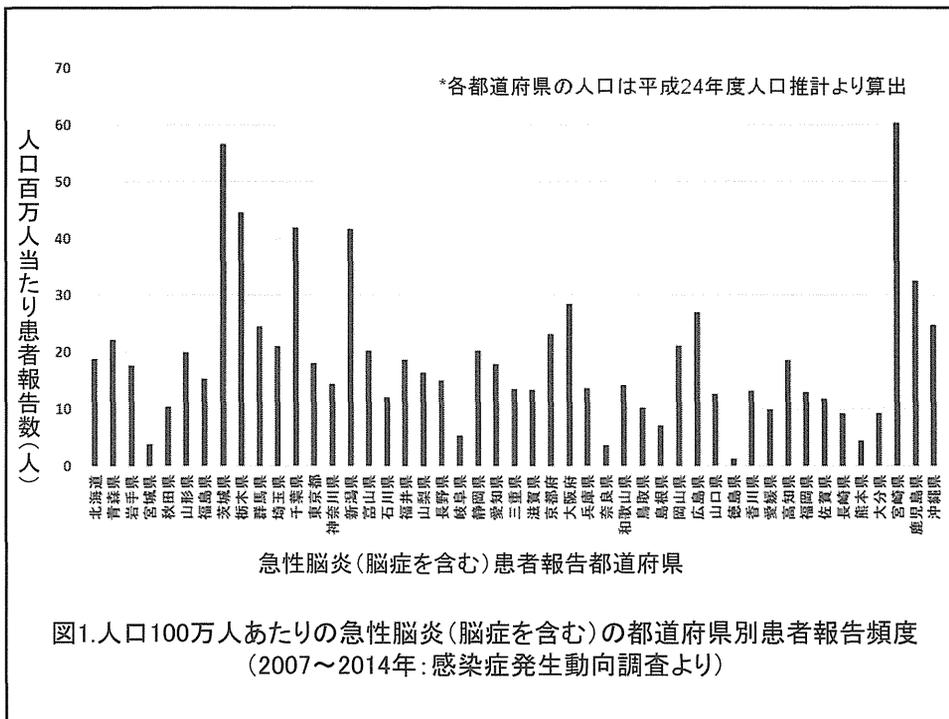
3) 山本志保、田中亮介、岡山亜貴恵、荒木章子、高橋悟、片野晴隆、多屋馨子、東寛：突発性発疹を呈さなかったヒトヘルペスウイルス-6 (HHV-6) 脳症の 1 例 第 25 回日本小児神経学会北海道地方会（札幌、2015 年 3 月）

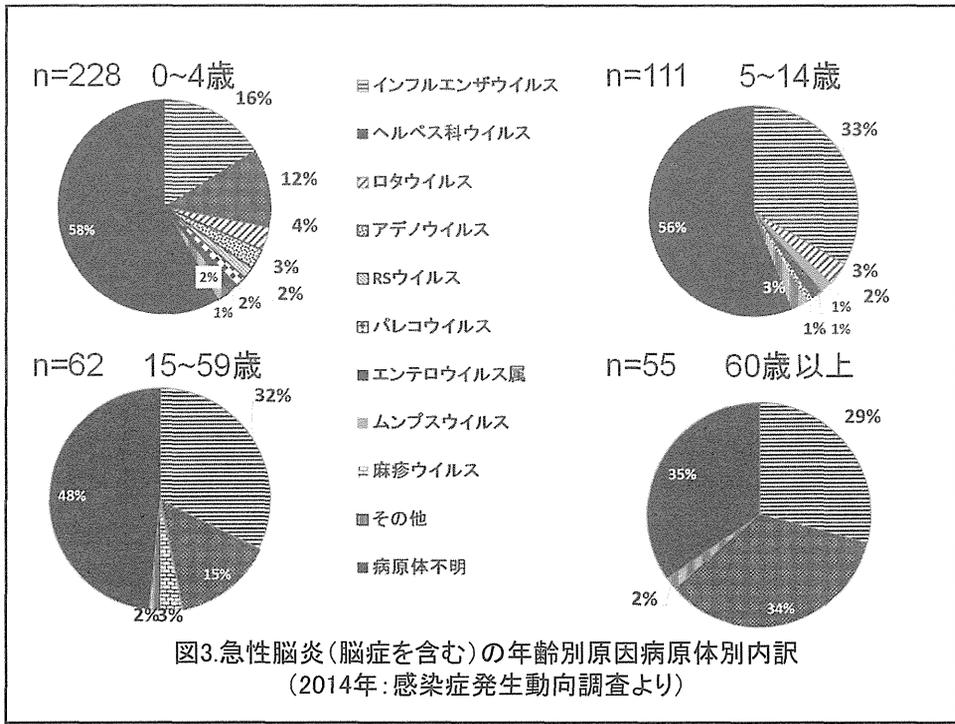
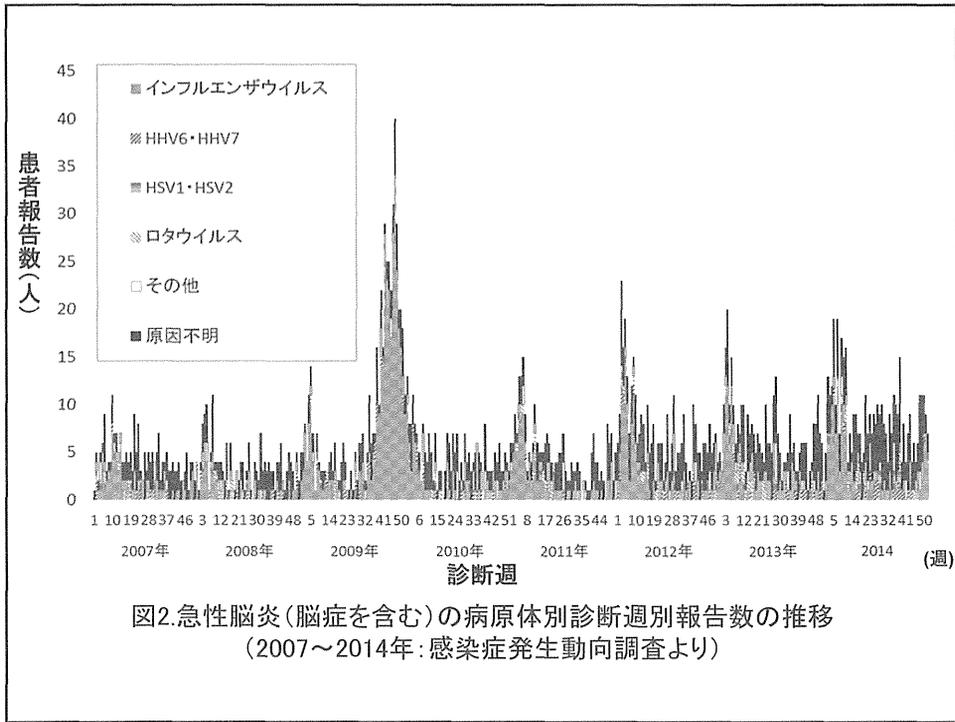
G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

総数(例)	2,639
2007年	228
2008年	192
2009年	526
2010年	242
2011年	258
2012年	371
2013年	363
2014年	459
男女比	56:44
年齢中央値(歳)	5 (0~98)

表1.急性脳炎(脳症を含む)の届出のまとめ
(2007~2014年:感染症発生動向調査より)





合計 44症例 (人)	便	咽頭ぬぐい液	血液検体 (血清、血漿、全血)	髄液	尿	その他 (生検材料 など)
症例数 (人)	22	22	35	43	21	2
検体搬 送割合 (%)	50.0	50.0	79.5	97.7	47.7	4.5

検体1種類のみ送付: 10症例(20.9%)
 検体3種類以上送付: 24症例(54.5%)
 検体5種類すべて送付: 18症例(40.9%)
 内因性コントロール RNA陰性: 13症例(29.5%)

図4. 送付された検体の種類と送付割合 (多屋脳炎班: 2015年1月15日現在)

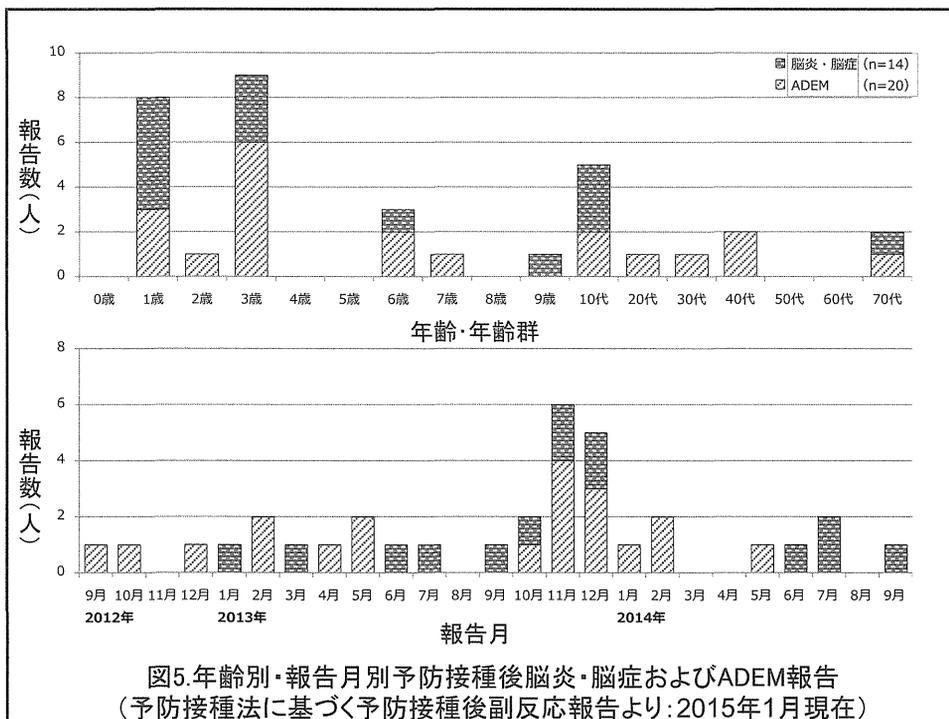


図5. 年齢別・報告月別予防接種後脳炎・脳症およびADEM報告 (予防接種法に基づく予防接種後副反応報告より: 2015年1月現在)