

図2. SSPEに対するリハビリ治療開始累計数

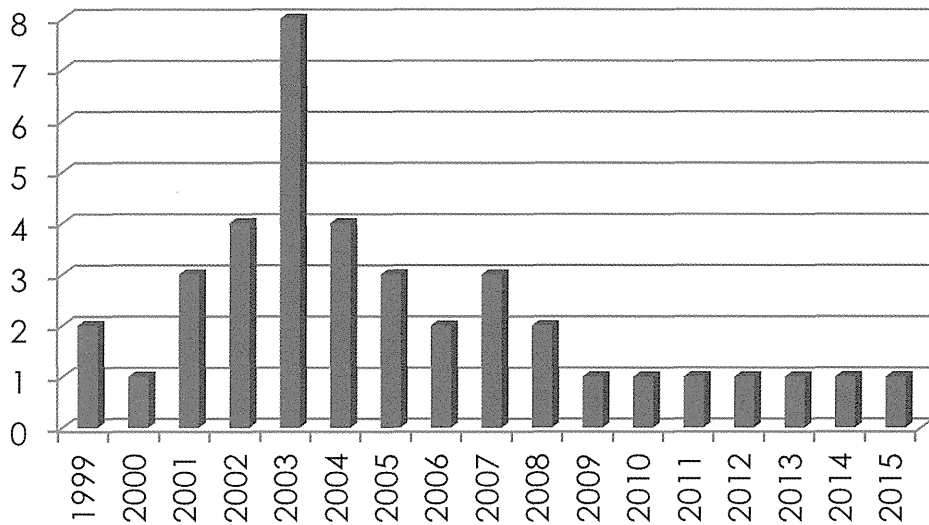


図3. 麻疹罹患年齢と調査時臨床症状スコア

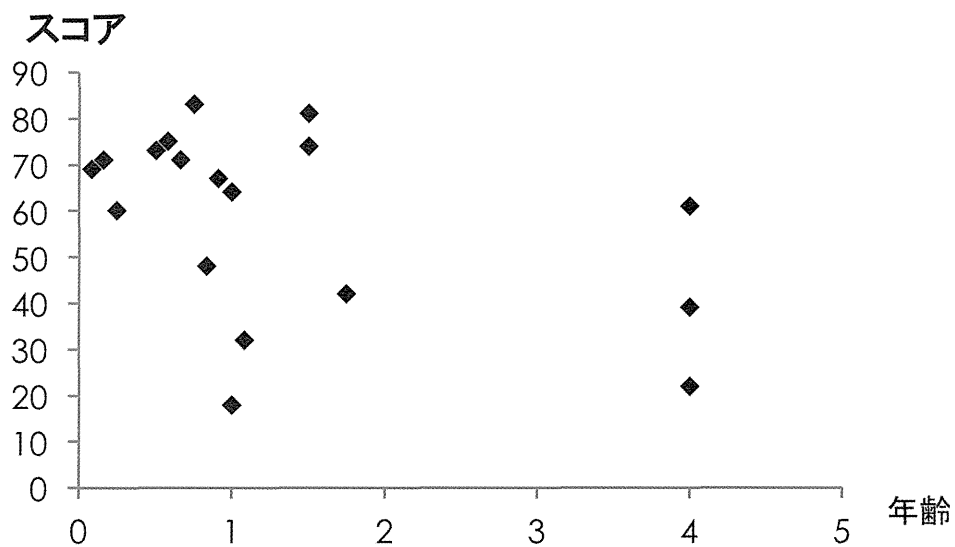


図4. 発症年齢と調査時臨床症状スコア

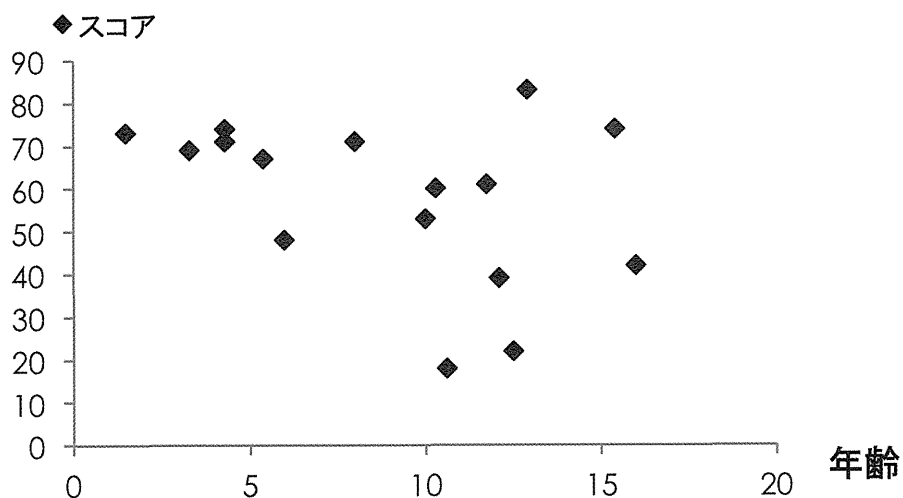


図5. 診断時罹病期間と調査時臨床症状スコア

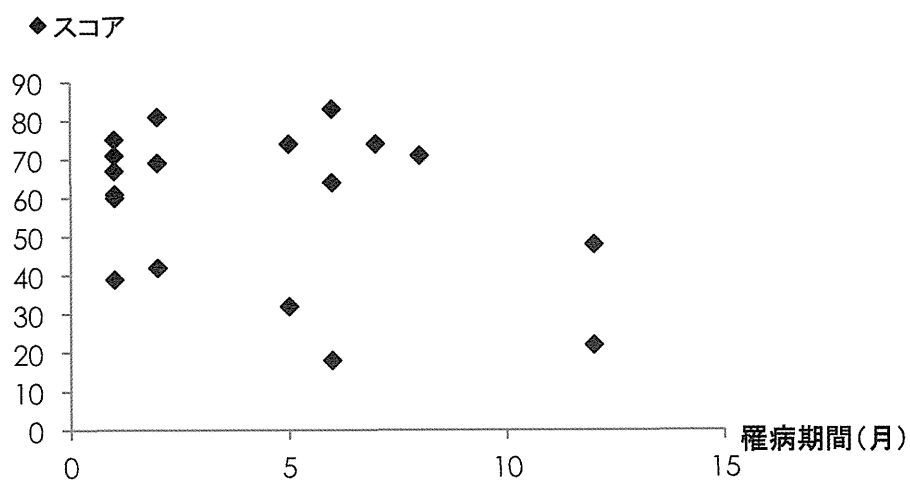


図6. 診断時と調査時の臨床症状スコア

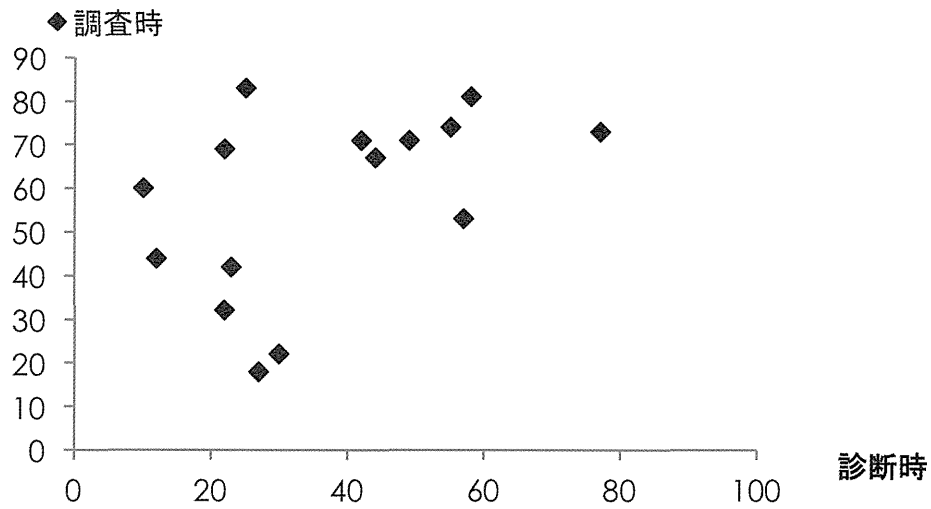
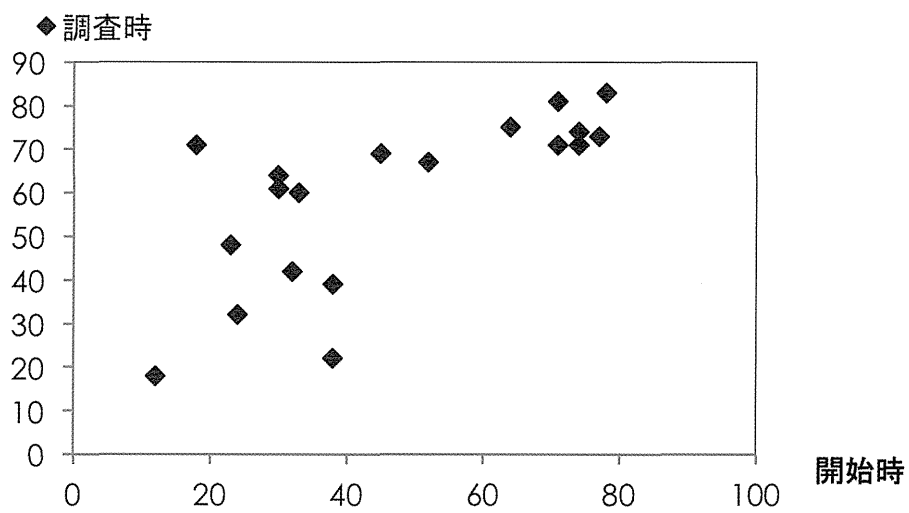


図7. リバビリン開始時と調査時のスコア



厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）  
 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

## 亜急性硬化性全脳炎（SSPE）の発生状況

### －沖縄における麻疹罹患患者からの SSPE 発症に関する調査－

研究分担者：砂川富正 国立感染症研究所感染症疫学センター  
 研究協力者：高橋琢理 国立感染症研究所感染症疫学センター  
 研究協力者：小林祐介 国立感染症研究所感染症疫学センター

**研究要旨** SSPE(Subacute Sclerosing Panencephalitis：亜急性硬化性全脳炎)は小児期(2歳以下)に麻疹に罹患し、数年の潜伏期間を経て、性格変化等が現れ、その後症状が進行し、昏睡状態となる予後不良の遅発性ウイルス感染症である。これまでの報告では、我が国の麻疹患者における SSPE 発症率(10万人あたり 0.5-1.8人)は、海外(0万人あたり 4-22人)より低い傾向にある。また、我が国は 2015年に麻疹排除認定を受けたが、その維持とともに、遅発性の SSPE の動向や疫学変化の監視が重要である。沖縄県は島嶼県で人の移動が少なく、麻疹が度々流行した地域である。本研究では同県での麻疹患者受診者数における SSPE 発症率算出を目的とした。〔方法〕沖縄県で 1990年から 2004年までに発症した SSPE 患者情報を、先行研究及び特定疾患研究事業の個人票入力データ、小児慢性特定疾患データより集計した。麻疹患者受診者数は医療施設調査による小児医療機関数および感染症発生動向調査による小児定点医療機関からの麻疹患者報告数から推計した。〔結果〕期間内に発症した SSPE 患者は 15名、男女比 11:4、発症年齢中央値 8歳、SSPE 患者の麻疹罹患年齢中央値 0歳 10ヶ月、潜伏期間中央値は 6年 6ヶ月であった。沖縄県での麻疹患者受診者数における SSPE 発症率は 10万人あたり 16.3人(暫定値)と推計された。〔結論〕沖縄県では、SSPE は過去の国内報告よりも多く発生しており、海外の頻度と同等程度であった。SSPE の診療や療養支援、国内の麻疹排除状態の継続、根絶へ向けて、本疾患の実態を正確に把握するための情報収集が今後も重要である。また、新規 SSPE 発症者の把握を含めた、全国規模の情報把握のための方法についても検討を深める必要がある。

#### A. 研究目的

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)は麻疹罹患後 2-10年の経過の後に性格変化により気づかれ発症し、徐々に進行性に経過し、認知機能の低下や昏睡状態となる、予後不良遅発性ウイルス性神経疾患である。SSPE は(難病)特定疾患に指定されており、発症メカニズム等、解明されていない点が多く、疫学的調査等に基づいた、科学的根拠を集積・分析することにより、それらの解明が求められる。国内においても長期的な麻しん患者の減少に伴い、SSPE 患者の新規発症の減少も見られてきたが、世界保健機関(WHO)からの麻疹排除認定(2015年3月)を受け、今後の SSPE の動向や疫学的な変化を継続的に分析していく必要がある。海外では、麻疹患者の減少により、麻疹罹患から発症までの期

間の延長を認めたという報告もある<sup>1)</sup>など、近年まで麻疹の流行国であった我が国における SSPE の疫学は今後急激な変化を辿る可能性がある。SSPE は麻疹が根絶されれば発生しなくなる疾患であり、その発生のないことを確認することこそが、麻疹ウイルス感染による患者発生がなくなったことの確認とも言えるが、SSPE は感染症法の対象疾患にはなっておらず、国内の発症率は昨年度の研究班報告では麻疹患者 10万人に 0.5-1.8人程度とされている。わが国における SSPE の発生数は最近 10年間では年間 0～数例と言われるが、届出制度がないため実態は不明であり、データベース等で把握出来たものも 16%程度と限られている<sup>2)</sup>。本分担研究グループにおいては、平成 24(2012)年度より 3年度に渡り、特定疾患治療研究事業における医

療受給者証所持者数、および臨床調査個人票の情報から SSPE の発生数、発生状況を把握することを試みた。しかし、症例のすべてが当該事業の対象者ではなく、発生数全体の把握はできないことが分かり、特に SSPE の麻疹罹患における発症率に関する重要な疫学情報を分析するために、全数の情報を得ることのできる地域を絞っての研究の実施が必要と考えられた。沖縄県では 1977 年以降 2004 年までに 22 例の SSPE 患者を認めている<sup>3)</sup>。本研究は、感染症発生動向調査より得られた、過去の沖縄の麻疹定点患者報告数、医療施設調査データから、受診患者数を推計し、特定疾患治療研究事業データベース、小児慢性特定疾患治療研究事業データベースより得られる患者情報および、先行研究論文より得られる SSPE 患者情報より、麻疹患者受診数からの SSPE 発症率を算出し、麻疹罹患後から、SSPE 発症までの期間を検討することにより、SSPE の発生状況を把握することを目的とした。

## B. 研究方法

①沖縄県麻疹患者受診者数推計について：2008 年以降、感染症発生動向調査による麻疹患者については全数報告となっているが、それ以前については小児定点医療機関からの報告であるため、麻疹患者受診者数を推計する必要がある。感染症発生動向調査による小児定点医療機関からの麻疹患者数報告および医療機関情報を収集し、医療施設調査データより、小児科標榜医療機関数の情報を収集した。上記データを元に、麻疹患者受診者数推計を行った。

②沖縄県 SSPE 患者情報収集について：1990 年から 2004 年までに SSPE を発症した患者を対象とした。情報は特定疾患治療研究事業個人票データベース、小児慢性疾患治療研究事業データベースより収集した。また先行研究論文データ(性別、SSPE 発症年、発症年齢、麻疹罹患年、麻疹罹患年齢)を利用した。

①、②より、調査対象患者が麻疹を罹患した、1986 年から 2004 年まで 1 の麻疹患者あたりの SSPE 発症数を算出した。

### (倫理面への配慮)

本研究では、SSPE 症例に関するデータを取

り扱うが、個人を特定できるデータの取り扱いはしない。万一個人的データが本研究の中に含まれる場合があっても、それに関する機密保護に万全を期するものである。

## C. 研究結果

①沖縄県麻疹患者受診者数推計：沖縄県内において、1986 年から 2004 年までの 19 年間に約 85000 人(暫定値のため信頼区間等は算出してない)の麻疹患者受診者数が存在したと推測された。

②沖縄県 SSPE 患者情報：沖縄県内において 1990 年から 2004 年までに SSPE を発症した患者は 15 例確認されており、男女比は 11 : 4、麻疹罹患年齢は 0 歳 10 か月、麻疹罹患から SSPE 発症までの潜伏期間は 6 年 6 か月(いずれも中央値、麻疹罹患歴が不明である 1 症例を除く)であった。(表 1)

①、②の結果より麻疹罹患患者からの SSPE の発症率は麻疹患者受診者数 10 万人あたり 16.3 人であった。(図 1)

## D. 考察

沖縄県における 1986 年から 2004 年までの麻疹患者からの SSPE の発症率は麻疹患者受診者数 10 万人あたり 16.3 人であり、今までの日本国内から報告(麻疹患者 10 万人あたり約 1-2 人)より明らかに多い結果となった。WHO や海外の報告(麻疹患者 10 万人あたり約 4-22 人)と比較すると妥当な発症率と考えられた<sup>4、5)</sup>。しかし、本研究では小児医療機関数に基づいて推計を行ったが、医療機関ごとの規模や外来患者数等を考慮しておらず、麻疹患者受診者数を過大評価している可能性が高く、実際は麻疹患者受診者数が少なく、SSPE の発症率としては更に高いことが考えられる。そこで小児医療機関外来受診患者数に基づく推計を行うことにより、推計値の精度を向上させることができると考えられる。

今後、麻疹の排除状態の把握のためにも、全国的な SSPE 発症率を算出することが望ましいが、特定機能疾患補助研究事業のデータベースへの患者情報の入力状況には都道府県ごとにばらつきがあり、さらに入力率の低さも問題となっている。小児期においては、小児慢性特定

疾患治療研究事業データベースへの登録者もあると考えられるが、今回入力率等については検討をおこなっていない。本年度は実施しなかった、特定疾患治療研究事業及び当該事業において収集される臨床調査個人票の調査について来年度は再度実施し、全国的に新規 SSPE 発症者の状況を行う予定とする。大きな制約として、生活保護や自治体ごとの小児医療費による別の補助を受けている場合は、既存のデータベースに反映されることはないことへの対応方法を検討する必要がある。麻しん排除の状況下で、SSPE の全国的な発生動向をより明らかにするために、他の研究グループとも連携することがしての全患者のラインリストの作成など急務であるが、医療機関へのアンケート調査などによる患者把握においても、個人情報の問題から容易ではなく、現時点において、全国レベルでの SSPE 患者数把握はかなり難しいことが考えられる。この制約を克服するための方法について検討していく必要がある。

全国の患者数を利用した麻疹患者からの SSPE 発症率を算出することは困難と考えられる。特定機能疾患研究補助事業データベースへの都道府県ごとの入力状況を考えると、沖縄県からの登録数が多い。また、過去の麻疹の流行状況を考慮すると全国にくらべて SSPE 患者が多いと思われる。このことから全国の麻疹患者からの SSPE 患者発症率を予測すると今回の結果と比べて全国的には発症率がより低い可能性もある。

SSPE 患者の麻疹罹患年齢については、0 歳 10 か月と、従来から若年(2 歳未満)での麻疹罹患後の発症が多いとされることと一致しており 5)、潜伏期間についても 6 年 6 か月と従来の報告と同様であった 6)。

## E. 結論

SSPE は、予後不良で重篤な疾患である。麻疹ウイルス感染を防ぐことで発生をなくすることができる疾患である。国内の麻疹排除の認定がされ、麻疹患者の全数把握がされている現在、以前と比較し、麻疹患者数の減少が見られているが、今後 SSPE 患者の発生のないことが、麻疹排除状態の維持、根絶のために重要となる。患者の実態把握が難しいことから、これまで

確な発症率の算出ができていなかったが、一部地域ではあるが本研究により、発症率がこれまで海外で報告されているものとほぼ同等であることが示された。さらなる麻疹根絶に向けて、今後、SSPE の実態把握および、正確な発生数を含めた情報の収集を行い、継続していくことが重要である。また、新規 SSPE 発症者の把握を含めた、全国規模の情報把握のための方法についても検討を深める必要がある。

## [参考文献]

- 1) Centers for Disease Control (CDC). Subacute sclerosing panencephalitis surveillance - United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 31:585-588, 1982.
- 2) 砂川富正, 高橋琢理. 亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) の発生状況—特定疾患治療研究事業データの解析(更新情報)—. 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患政策研究事業)「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」(研究代表者: 山田正仁)平成 26 年度総括研究報告書, pp64-70, 2015.
- 3) 平安京美, 大城 聡, 仲田行克. 沖縄県における亜急性硬化性全脳炎の発生状況(1977-2005). *脳と発達* 42:427-431, 2010.
- 4) WHO. *WER Wkly Epidemiol Rec.* 81:13-20, 2006.
- 5) Bellini WJ, Rota JS, Lowe LE, Katz RS, Dyken PR, Zaki SR, Shieh WJ, Rota PA. Subacute sclerosing panencephalitis: more cases of this fatal disease are prevented by measles immunization than was previously recognized. *J Infect Dis* 192:1686-1693, 2005
- 6) Okuno Y, Nakao T, Ishida N, Konno T, Mizutani H, Fukuyama Y, Sato T, Isomura S, Ueda S, Kitamura I, Kaji M. Incidence of subacute sclerosing panencephalitis following measles and measles vaccination in Japan. *Int J Epidemiol* 18:684-689, 1989.

## F. 健康危険情報

特になし。

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

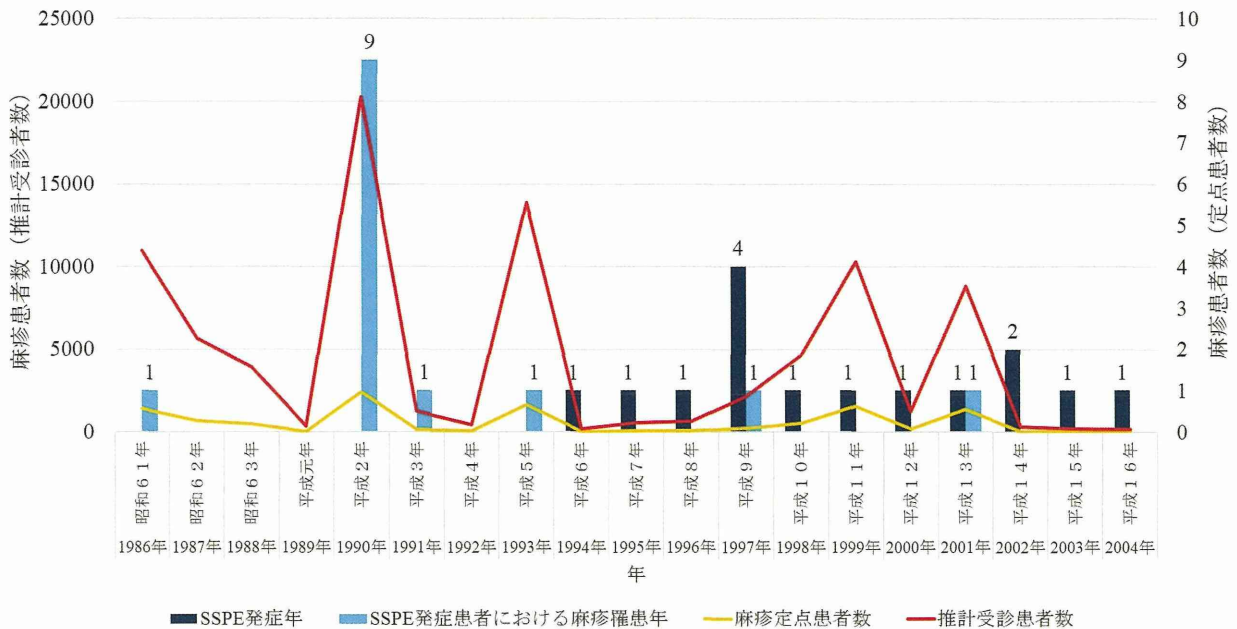
なし

表 1. 沖縄県における SSPE 発症患者 N=15 (1990-2004 年)

症例	性別	発症年	発症年齢	麻疹罹患年	麻疹罹患年齢	潜伏期間
1	M	1994	5歳0か月	1990	1歳2か月	46か月
2	F	1995	6歳5か月	1990	1歳0か月	65か月
3	M	1996	6歳7か月	1990	0歳10か月	65か月
4	F	1997	8歳0か月	1990	1歳6か月	78か月
5	M	1997	12歳0か月	1986	0歳8か月	136か月
6	F	1997	7歳0か月	1990	0歳6か月	78か月
7	M	1997	7歳5か月	1991	1歳6か月	71か月
8	M	1998	9歳6か月	1990	1歳6か月	96か月
9	M	1999	9歳0か月		罹患歴不明	
10	M	2000	10歳9か月	1990	0歳6か月	123か月
11	M	2001	11歳11か月	1990	0歳6か月	138か月
12	M	2002	5歳3か月	1997	0歳8か月	55か月
13	M	2002	10歳2か月	1993	0歳9か月	113か月
14	F	2003	2歳6か月	2001	0歳3か月	55か月
15	M	2004	15歳10か月	1990	1歳9か月	169か月

男：女=11：4 発症年齢：8歳0か月 麻疹罹患年齢※：10か月 潜伏期間※：6年6か月（いずれも中央値）  
 ※症例9は除く

図 1. 沖縄県における麻疹患者数（推計受診者数）と SSPE 発症患者の麻疹罹患年



1986年～2004年（19年間）沖縄県における麻疹患者受診者数10万人あたりのSSPE発症数 **16.32人/10万人**



厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）  
 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

## 亜急性硬化性全脳炎におけるトリプトファン代謝の検討

研究分担者：長谷川俊史 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野  
 研究協力者：松重武志 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野  
 研究協力者：市山高志 鼓ヶ浦こども医療福祉センター小児科  
 研究協力者：大賀正一 山口大学大学院医学系研究科小児科学分野  
 研究協力者：Banu Anlar Department of Pediatric Neurology, Hacettepe University Faculty of  
 Medicine

### 研究要旨

【背景】トリプトファン代謝の主要経路であるキヌレニン経路は indoleamin 2,3-dioxygenase (IDO) が律速段階酵素となり、免疫抑制や神経毒性に関与することが報告されている。本研究では亜急性硬化性全脳炎(SSPE)患者の血清および髄液を用いてキヌレニン経路の活性化および代謝産物であるキノリン酸の濃度を検討した。

【対象および方法】SSPE 患者の診断時血清および髄液、対照群として血清および髄液を対象として、血清キヌレニン/トリプトファン比(KYN/Trp 比)および髄液キノリン酸濃度について検討した。またこのうち1症例における髄液キノリン酸の経時的変化と神経障害との関係についても検討した。

【結果】血清 KYN/Trp 比は SSPE 群と対照群の間には有意差を認めなかった ( $p=0.88$ )。一方で髄液中キノリン酸濃度は SSPE 群では、対照群に比して有意に高値であった ( $p < 0.001$ )。また経時的に測定できた SSPE 症例の髄液中キノリン酸濃度は神経障害(neurological disability index score: NDI score) および病日と有意な正の相関を示した。

【考察】髄液中キノリン酸が SSPE の病態に関与している可能性が示唆された。代謝産物であるキノリン酸の増加はキヌレニン経路の活性化を示唆する。キヌレニン経路の活性化は免疫抑制能獲得に関与するとされ、SSPE における変異型麻疹ウイルスの持続感染への関与の可能性も考える。またキノリン酸は NMDA 型グルタミン酸受容体アゴニストとして興奮性神経毒性をもつため、SSPE における神経症状との関係が示唆された。

### A. 研究目的

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)の診断や病勢評価において病勢を把握する有用な臨床バイオマーカーが未だない。本研究において SSPE の重症度分類の策定・改訂の目的のため、SSPE の病態におけるトリプトファン代謝の関与について検討する。

トリプトファン代謝の主要経路であるキヌレニン経路は indoleamin 2,3-dioxygenase (IDO) が律速段階酵素となり、免疫抑制や神経毒性に関与することが報告されている。本研究では SSPE 患者の血清および髄液を用いてキヌレニン経路の活性化および代謝産物であるキノリン酸の濃度を検討した。

### B. 研究方法

本邦およびトルコ Hacettepe 大学の協力のもと、SSPE 患者の診断時血清 20 検体(年齢 3.5～11.0 歳、中央値 11.0 歳、男 17 名、女 3 名)および髄液 25 検体(年齢 5.0～15.0 歳、中央値 11.0 歳、男 18 名、女 7 名)、対照群として血清 20 検体(年齢 7.2～15.8 歳、中央値 8.5 歳、男 15 名、女 5 名)、髄液 20 検体(年齢 1.9～15.8 歳、中央値 8.4 歳、男 9 名、女 11 名)を対象として、血清キヌレニン/トリプトファン比(KYN/Trp 比)および髄液キノリン酸濃度について検討した。またこのうち1症例(19歳男性)における髄液キノリン酸の経時的変化と神経障害(neurological disability index score: NDI score)との関係について

でも検討した。

#### (倫理面への配慮)

本研究では研究協力者の Hacettepe 大学 Banu Anlar 教授から個人が特定できないような状態で、匿名化した検体の提供を受けている。

本研究はヒト由来の検体を使用するため山口大学医学部附属病院医薬品等治験・臨床研究等審査委員会の承認を得て本研究を遂行している。

#### C. 研究結果

血清 KYN/Trp 比は SSPE 群(0.026~0.081、中央値 0.042)と対照群(0.020~0.096、中央値 0.045)の間には有意差を認めなかった ( $p=0.88$ ) (図 1)。髄液中キノリン酸濃度は SSPE 群(11.4~285.5nM、中央値 24.3nM)では、対照群(3.7~44.6nM、中央値 12.1nM)に比して有意に高値であった( $p < 0.001$ ) (図 2)。また経時的に測定できた SSPE 症例の髄液中キノリン酸濃度は NDI score ( $r = 0.72$ ,  $p = 0.030$ )および病日( $r = 0.85$ ,  $p = 0.0033$ )と有意な正の相関を示した(図 3)。

#### D. 考察

病期の進行に伴って髄液中キノリン酸の増加が認められ、SSPE の病態に関与している可能性が示唆された。代謝産物であるキノリン酸の増加はキヌレニン経路の活性化を示唆する。キヌレニン経路の活性化は、妊娠時の免疫寛容<sup>1)</sup>やがん細胞の免疫抑制能獲得<sup>2)</sup>に関与するとされ、SSPE における変異型麻疹ウイルスの持続感染に関与している可能性もあるため興味深いと考える。さらにキノリン酸は NMDA 型グルタミン酸受容体アゴニストとして興奮性神経毒性をもつ<sup>3)</sup>ため、SSPE における神経症状との関係が示唆された。

#### E. 結論

SSPE 群では対照群に比し、髄液中キノリン酸濃度が有意に高値で、さらに病期の進行に伴って髄液中キノリン酸濃度の上昇が認められた。以上のことから SSPE の病態にはトリプトファン代謝の活性化が関与している可能性が示唆された。

#### 謝辞

貴重な検体をご提供いただきました西新潟中央病院小児科 遠山 潤先生、熊本大学発達小児科 野村恵子先生、土岐市立総合病院神経内科 大塚康史先生、キノリン酸測定にあたりご協力いただきました国立長寿医療研究センター 奥野海良人先生、滝川 修先生、京都大学大学院農学研究科友永省三先生に深謝致します。

#### [参考文献]

- 1) Munn DH, Zhou M, Attwood JT, Bondarev I, Conway SJ, Marshall B, Brown C, Mellor AL. Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. *Science* 281:1191-1193, 1998.
- 2) Uyttenhove C, Pilotte L, Théate I, Stroobant V, Colau D, Parmentier N, Boon T, Van den Eynde BJ. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nat Med* 9:1269-1274, 2003.
- 3) Schwarcz R, Whetsell WO Jr, Mangano RM. Quinolinic acid: an endogenous metabolite that produces axon-sparing lesions in rat brain. *Science* 219:316-318, 1983.

#### 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

- 1) 松重武志, 井上裕文, 梶本まどか, 岡 桃子, 長谷川俊史, 大森啓充, 奥野海良人, 滝川 修, 大賀正一. 亜急性硬化性全脳炎におけるキヌレニン経路活性化の検討. 第 57 回日本小児神経学会, 大阪, 5.28, 2015.

#### 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

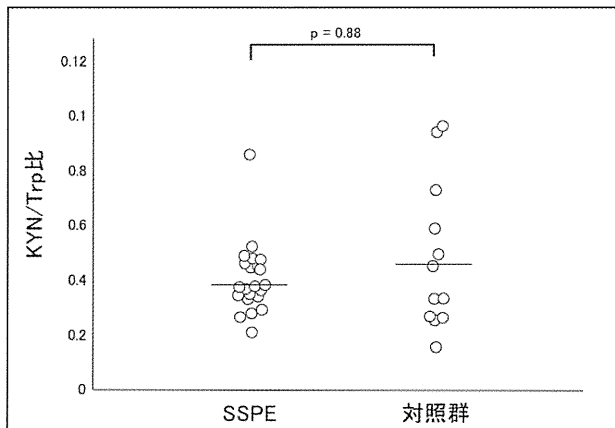


図 1 血清中 KYN/Trp 比の検討

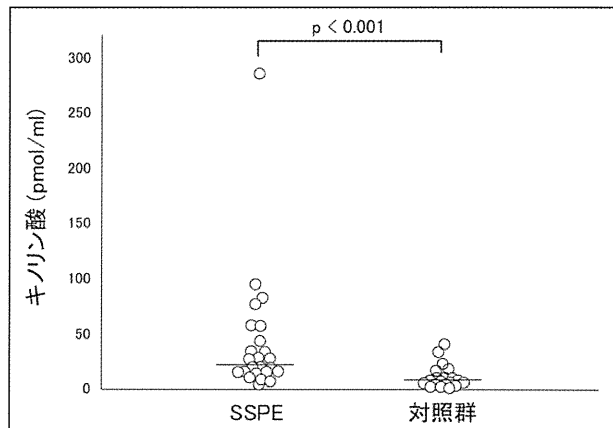


図 2 髄液中キノリン酸濃度の検討

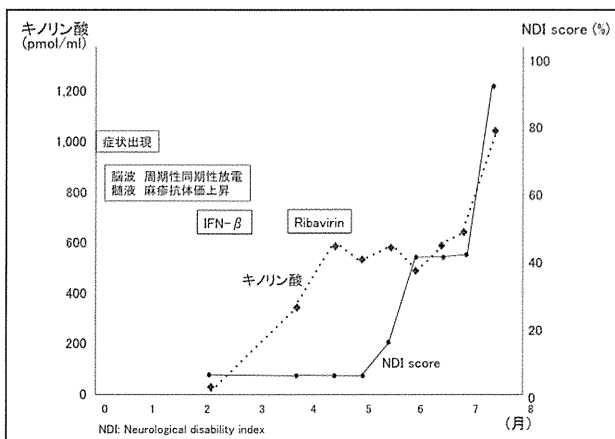


図 3 SSPE 患者 (19 歳男性) における臨床症状の経過と髄液中キノリン酸濃度の推移

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）  
 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

## SSPE 患者由来人工多能性幹細胞 (iPSC) の作製

研究分担者：楠原浩一 産業医科大学小児科  
 研究協力者：石崎義人 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野  
 研究協力者：原 寿郎 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野

**研究要旨** SSPE 患者の疾患感受性の解析に関して、中枢神経では、末梢血球と異なる intrinsic な自然免疫応答が起こっている可能性があり、患者由来人工多能性幹細胞(iPSC)を神経細胞に分化させた検討が必要と思われる。この目的のために、SSPE 患者 3 名の末梢血単核球を出発点として、センダイウイルスベクターを用いた 4 遺伝子の導入により、患者由来 iPSC を患者ごとに 3~6 株樹立した。今後は、この iPSC を神経細胞に分化させ、麻疹ウイルスに対する感受性を正常対照由来のものと比較する予定である。

### A. 研究目的

SSPE の宿主遺伝的要因は正確には解明されていない。私たちは、これまで、遺伝子多型を用いた関連解析により、自然免疫に関わる遺伝子の中で *MxA* と *TLR3*、獲得免疫に関わる遺伝子の中で *IL4* と *PD1* のバリエーションが SSPE の発症に関与していることを報告してきた。

最近、宿主側の遺伝的要因が解明されてきたウイルス性脳炎として、単純ヘルペス脳炎(HSE)がある。HSE は、基本的には散発性に発生する。しかし、家族集積性が認められる家系があること、そのような家系の一部に血族婚がみられること、再発を繰り返す症例があることなどから、何らかの遺伝的要因が関与していることが示唆されていた。2000 年代の後半から、*TLR3* から IFN 産生、IFN-stimulated genes 発現に至る経路の遺伝子異常が HSE の発症要因となっていることが報告されるようになった<sup>1)</sup>。この中で、*UNC93B* 欠損症と *TLR3* 欠損症では、患者由来の人工多能性幹細胞(iPSC)から分化させた神経細胞を用いた研究が行われている<sup>2)</sup>。これによれば、*UNC93B* 欠損症患者および *TLR3* 欠損症患者由来の iPSC から分化させた神経細胞は正常対照由来と比較して HSV-1 に対する感受性が高いこと報告されている。このような現象が、SSPE 患者でもみられるかを検討するために今回の研究を行った。本研究は、「SSPE の診療ガイドラインの策定・改訂」に関連した

研究である。

### B. 研究方法

対象は、SSPE 患者 3 名とした。まず、末梢血から密度勾配遠心法により単核球分画を濃縮し、Tリンパ球を拡大培養した。このTリンパ球に、センダイウイルスベクターを用いて *Sox2*, *KLF4*, *Oct4*, *Myc* の 4 遺伝子を導入した。

#### (倫理面への配慮)

本研究は所属施設の倫理委員会の承認を受けており、被検者あるいは保護者の文書による同意を得て行った。

### C. 研究結果

患者ごとに3~6株のiPSCを樹立した。次に、細胞の品質評価のため、形態学的観察と未分化マーカー *NANOG*、*OCT3/4*、*SSEA4*、*TRA1-60* の免疫蛍光染色を行い、未分化性維持に異常がないことを確認した(図)。また、遺伝子導入に用いたセンダイウイルスベクターがコードする nucleoprotein が発現していないことも確認した。

### D. 考察

SSPE 患者の疾患感受性の解析に関して、中枢神経では、末梢血球と異なる intrinsic な自然免疫応答が起こっている可能性があり、患者由

来 iPSC を神経細胞に分化させた検討が必要と思われる。今後は、まず STEMdiff Neural Induction Medium を用いて、nestin および Sox1 陽性の神経前駆細胞の豊富な Neural rosette clusters を作成する。これに FGF2 および EGF を添加して培養し、TUJ1 陽性の神経細胞を分離する。最終的には、この iPSC 由来の神経細胞に麻疹ウイルスを感染させ、麻疹ウイルスへの抵抗性を健常対照由来のものと比較する予定である。

#### E. 結論

SSPE 患者 3 名の末梢血単核球を出発点として、患者由来 iPSC を患者ごとに 3~6 株樹立した。今後は、この iPSC を神経細胞に分化させ、麻疹ウイルスに対する感受性を正常対照由来のものと比較する予定である。

#### [参考文献]

- 1) Sancho-Shimizu V, Perez de Diego R, Jouanguy E, Zhang SY, Casanova JL. Inborn errors of anti-viral interferon immunity in humans. *Curr Opin Virol* 1:487-496, 2011.
- 2) Lafaille FG, Pessach IM, Zhang SY, Ciancanelli MJ, Herman M, Abhyankar A, Ying SW, Keros S, Goldstein PA, Mostoslavsky G, Ordovas-Montanes J, Jouanguy E, Plancoulaine S,

Tu E, Elkabetz Y, Al-Muhsen S, Tardieu M, Schlaeger TM, Daley GQ, Abel L, Casanova JL, Studer L, Notarangelo LD. Impaired intrinsic immunity to HSV-1 in human iPSC-derived TLR3-deficient CNS cells. *Nature* 491:769-773, 2012.

#### 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

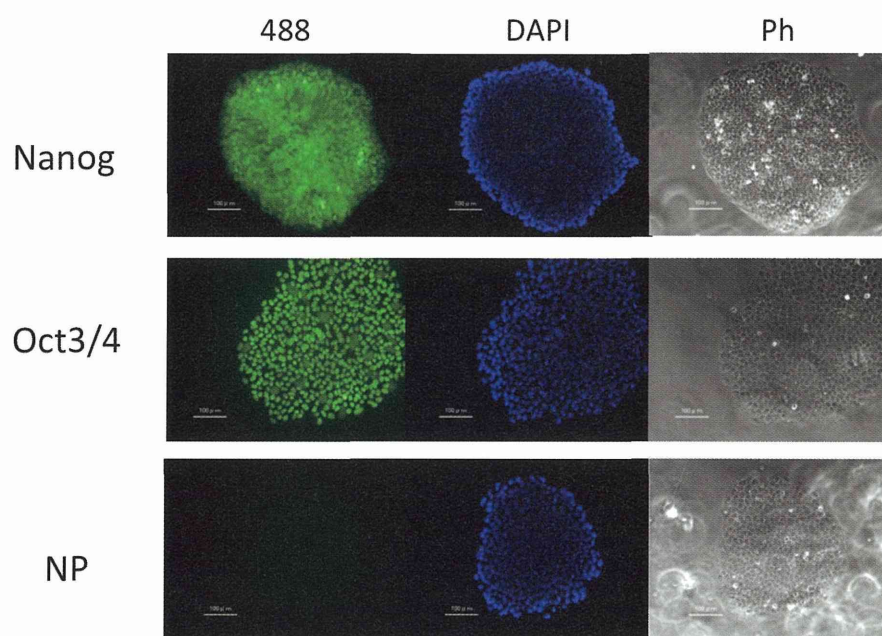


図. 樹立された SSPE 患者由来 iPSC

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）  
 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

## 亜急性硬化性全脳炎 3 例と健常成人における抗体価による 治療効果判定と検体間、測定法間での相関について

研究分担者：細矢光亮 福島県立医科大学小児科学講座  
 研究協力者：橋本浩一 福島県立医科大学小児科学講座  
 研究協力者：宮崎恭平 福島県立医科大学小児科学講座  
 研究協力者：菅野修人 福島県立医科大学小児科学講座  
 研究協力者：前田 創 福島県立医科大学小児科学講座

**研究要旨** 亜急性硬化性全脳炎(SSPE)は、麻疹ウイルス変異株の持続感染による遅発性ウイルス感染症である。診断において、麻疹特異抗体価が用いられているが明確な基準はなく、また治療効果判定に用いることができる客観的な指標も確立されていない。4 種類の麻疹特異抗体価測定法(EIA 法、HI 法、NT 法、CF 法)を用い、①測定法間、②血清・髄液間、③臨床経過に伴う臨床症状スコアとの関連を検討した。検体は SSPE 患者 3 例の血清と髄液、健常成人 38 人の血清を用いた。①測定法間の検討では、EIA/HI 間、EIA/NT 間に正の相関を認めた。②SSPE 患者における血清/髄液間の比較では血清中 EIA 価は髄液中と比較し、10 倍程度高値であった。今回検討した測定法の中では、EIA 法が最も強い相関( $r=0.932$ )を認めた。③概ね臨床症状スコアの上昇(病状の進行)に伴い、EIA 価、HI 価の上昇を認めた。

SSPE 患者血清および髄液、健常成人血清において、麻疹特異的抗体価は血清/髄液間、各種抗体価測定法間に正の相関を認めた。

### A. 研究目的

亜急性硬化性全脳炎(SSPE)は、麻疹ウイルス変異株の持続感染による遅発性ウイルス感染症である。診断において、麻疹特異抗体価が用いられている。SSPE の診断において明確な基準はなく、また治療効果判定に用いることができる客観的な指標も確立されてない。

本研究では 4 種類の麻疹特異抗体価測定法(酵素免疫法(EIA 法)、赤血球凝集抑制反応法(HI 法)、中和抗体価法(NT 法)、補体結合反応法(CF 法))を用い、①血清・髄液間、②測定法間、③臨床経過に伴う臨床症状スコアとの関連を検討した。SSPE の診断基準策定へ向けた基礎データとし、また、麻疹特異抗体価の推移が治療効果判定に用いられるかどうかを検討した。

### B. 研究方法

対象検体：SSPE 患者 3 例の血清および髄液  
 健常成人 38 例の血清

方法：

- ① SSPE 患者血清と健常成人血清を用い、EIA 法、HI 法、NT 法で測定した(健常成人血清では CF 法も施行した)。
- ② 測定した抗体価について、SSPE 患者検体を用いて各種抗体価測定法における血清/髄液間の相関について検討した。
- ③ 健常成人血清や SSPE 患者検体を用いて、各種抗体価測定法間の相関を検討した。
- ④ SSPE 患者の臨床経過に伴う麻疹特異抗体価の経時的推移を EIA 法、HI 法で評価し、臨床症状スコア(88 点満点)の推移と比較した。

#### (倫理面への配慮)

本調査は、個人を特定できるような解析結果は掲載していない。また、SSPE に対する治療法については、本人、家族へのインフォームドコンセントのもと、承諾を得て行っており、福島県立医科大学倫理委員会より承認を受けている。

## C. 研究結果

### ① 抗体測定結果(Table.1)

健常成人血清38検体を用いて、EIA法、HI法、NT法、CF法で麻疹抗体価を測定した。またSSPE患者3症例の経時的な血清、髄液を用いた検討では、EIA法、HI法、NT法でそれぞれ測定し、血清検体はEIA法62検体、HI法69検体、NT法20検体で、髄液検体はEIA法69検体、HI法65検体、NT法20検体の抗体価を用いて検討した。

健常成人血清、SSPE患者血清・髄液を用いた各種抗体価測定法による抗体価をTable.1に示した。健常成人血清でもCF法を除き、各種抗体価は陽性を示したが、SSPE患者血清では各抗体価測定法において著明な高値を示した。健常成人のCF抗体価は全て陰性であった。

### ② SSPE患者血清/髄液間の相関

SSPE患者血清、および髄液を用いた各種抗体価測定法における血清/髄液間の相関では、それぞれ正の相関を示した(EIA法;  $r=0.932$ , HI法;  $r=0.9142$ , NT法;  $r=0.7385$ ) (Figure.1)。特にEIA価は血清/髄液間で強い相関を示し、血清EIA価は髄液EIA価のおよそ10倍であった。

### ③ 各種抗体価測定法間の相関

健常成人血清を用いた抗体価測定法間の相関については、EIA/HI間( $r=0.8543$ )、EIA/NT間( $r=0.8335$ )でそれぞれ正の相関を認めた(Figure.2)。SSPE患者血清・髄液を用いた抗体価測定法間の相関については、EIA/HI間の検討で血清( $r=0.7998$ )、髄液( $r=0.7843$ )と血清、髄液ともに正の相関を認めた(Figure.3)。EIA/NT間は検体数が少なく、解析できなかった。

### ④ 臨床症状スコアとEIA、HI抗体価の推移

SSPEによる疾患の臨床症状の進行・改善と麻疹特異抗体価の推移との関連を検討するために、SSPE患者3症例の入院時から約1年の経過における臨床症状スコアとEIA価、HI価の推移を比較した(Figure.4)。概ね臨床症状スコアの上昇(病状の進行)に伴い、EIA価、HI価の上昇を認めた。

## D. 考察

各種抗体価測定法間(EIA 法、HI 法、NT 法)

では、EIA/HI 間、EIA/NT 間共に正の相関を認めた。血清/髄液間の検討では、EIA 法が最も強い相関を認め、今回、血清 EIA は髄液 EIA 価のおよそ 10 倍との知見が得られた。治療効果判定に抗体価の推移が利用できるかどうかは、今回、臨床症状の改善例がなく、明らかにできなかったが、SSPE の治療経過中は血清 EIA 価をフォローしながら臨床経過を追っていくことが治療効果判定に有用である可能性が示唆された。

## E. 結論

SSPE 患者血清および髄液、健常成人血清において、麻疹特異的抗体価は血清/髄液間、各種抗体価測定法間に正の相関を認めた。

治療効果判定の指標としての有用性の評価のためにはさらなる検討が必要である。

## [参考文献]

1) 高山直秀, 齊加志津子, 一戸貞人. 麻疹中和抗体価, PA抗体価, HI抗体価との比較から推定した麻疹EIA-IgG抗体の麻疹発症予防レベル. 感染症学雑誌 83:519-524, 2009.

## 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

1) 宮崎恭平, 橋本浩一, 佐藤晶論, 佐藤淑子, 細矢光亮. 亜急性硬化性全脳炎に対するリバビリン(Rib)脳室内持続輸注療法時の Rib 投与量と髄液中 Rib 濃度の検討. 日本臨床ウイルス学会, 岡山, 6.13-14, 2015.

## 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

Table.1 抗体価測定結果

	健常成人血清	SSPE 血清	SSPE 髄液
EIA 価	検体数	n=38	n=62
	中央値	20.4	836.9
	範囲	1.9-106	95.4-7173.8
HI 価 (倍)	検体数	n=38	n=69
	中央値	12	256
	範囲	4-128	32-1024
NT 価 (倍)	検体数	n=38	n=20
	中央値	32	1024
	範囲	4-256	128-4096

Figure.1 各抗体価測定法における SSPE 患者血清・髄液間の相関

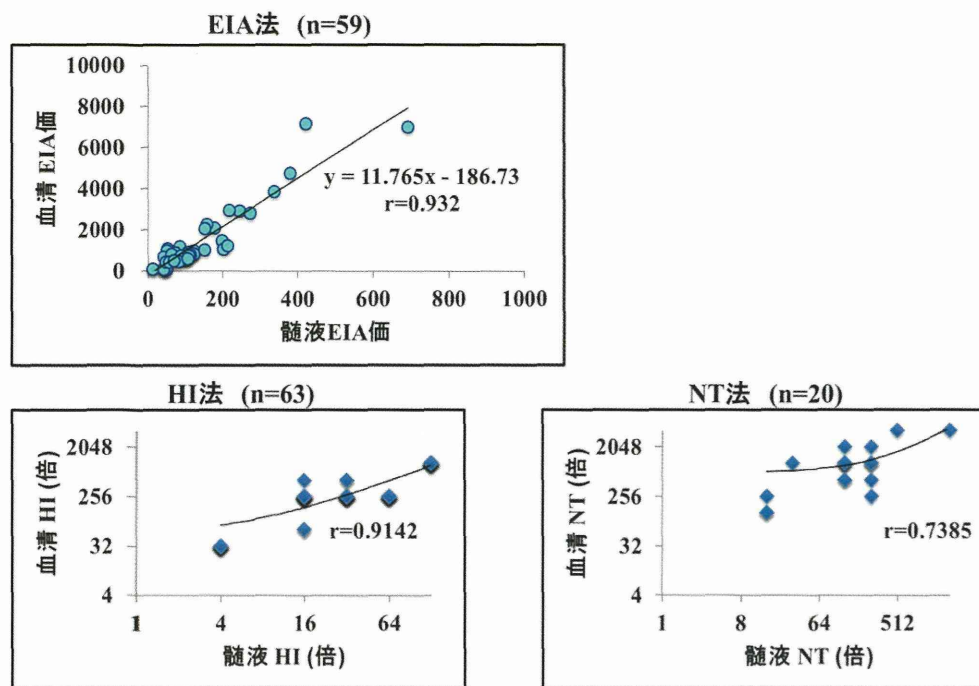




Figure.2 健康成人血清における抗体価測定法間の相関

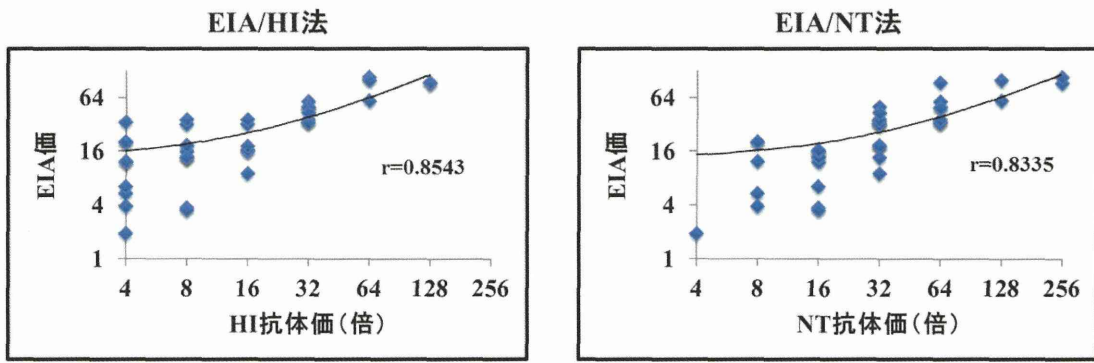


Figure.3 SSPE 患者血清・髄液における EIA/HI 間相関

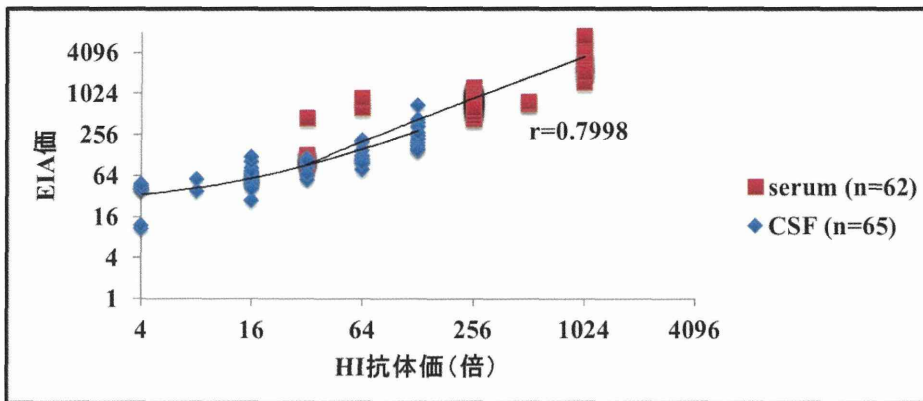
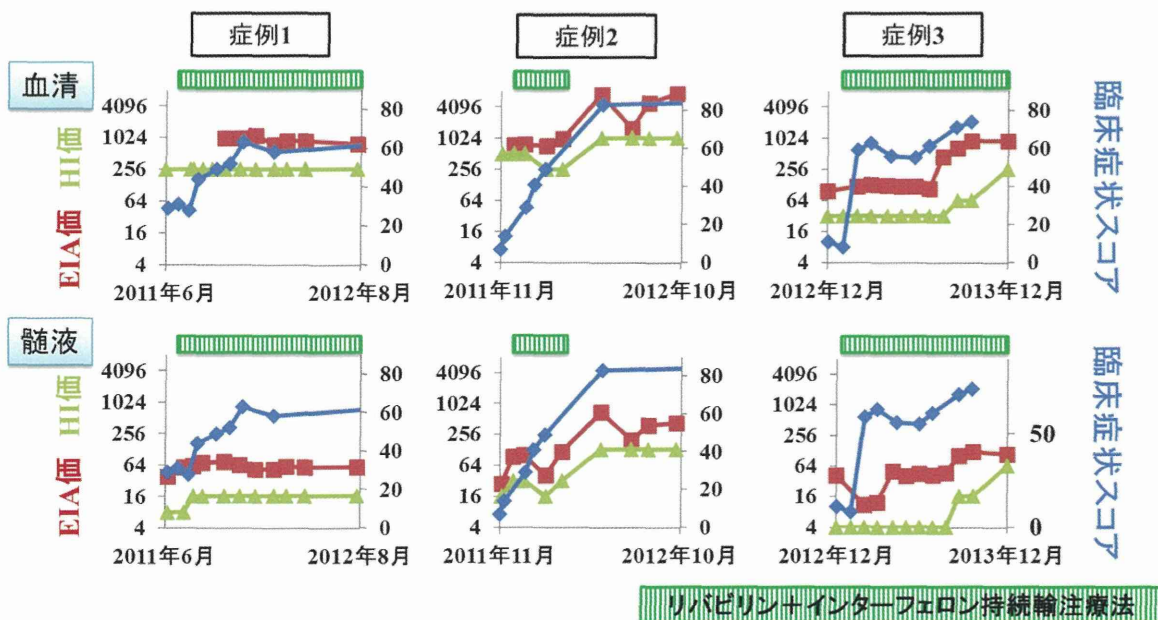


Figure.4 臨床症状スコアと血清・髄液 EIA 価、HI 価の推移



厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）  
 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実験室サーベイランス およびその臨床的・疫学的特徴

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関与する。また、その診断においては脳脊髄液(CSF)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(2007 年 4 月)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 27 年度(12 月現在)までに合計 1,491 件の検査を実施し、139 名の PML 患者を確認した。この期間における医療機関から当研究室への検査依頼の経由を調べたところ、新規の依頼には大きな変動は認められず、過去に検査を受け付けた医局からの再依頼が増加した。また、CSF-JCV 陽性を呈した患者の 71%は、リピーターからの依頼によって検査が施行されていた。平成 27 年 1 月から 12 月までの 203 件の検査実績および患者データを集計し、国内における PML の動向を解析した。平成 27 年では、10 名の患者のフォローアップ検査を実施し、うち 4 名の患者はコマーシャルベースでのリアルタイム PCR 検査において CSF-JCV 陽性を呈した後で当研究室に同検査が依頼された。加えて、同期間において当検査を実施した被検者 166 名のうち、22 名が CSF-JCV 陽性を呈した。陽性患者の年齢や性比、基礎疾患等は近年のパターンと類似していたが、男性においては HIV 感染症、女性においては血液疾患の割合がやや高い傾向にあった。また、80 歳の高齢者 2 名においては明確な基礎疾患が認められないにもかかわらず、CSF-JCV 陽性を呈することがあった。これらの結果から、PML の実験室サーベイランスにおいては、検査のリピーターとなっている医療機関との繋がりが重要であることが分かった。また、平成 27 年度においては CSF-JCV 陽性者の基礎疾患の割合において若干の変化が認められたため、今後も長期的視野からその動向に注視する必要性が示された。

### 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。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、米国のような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が一般的な検査手法となっている。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。平成 27 年度における本研究では、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、CSF-JCV陽性者の臨床情報から国内のPMLに関する最新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

CSFからのDNAの抽出にはQIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)を用いた。リアルタイムPCRによるJCV-DNAの増幅および検出には、LightCyclerおよびLightCycler 480 Probes Master (共にRoche社製)、JCVのT遺伝子領域を標的と

した合成DNA(プライマー、TaqManプローブ)を用いた。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。

## 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27年12月現在までに、1,491件の検査を実施した。被検者1,246名のうち139名のCSFにおいてJCV-DNAを検出した。また、平成27年においては、これまでに実績がなかった青森県の医療機関から検査依頼があった。そのため、被験者数に偏りは認められるものの、現時点において全ての都道府県からの検査依頼に対応した。平成27年1月から12月までの1年間においては、203件の検査を実施し、31検体においてJCV-DNAを検出した。また、前年度から継続しているフォローアップ検査を除く新規の被検者は166名であり、うち22名のCSFからJCVを検出した。

### 2) フォローアップ検査

平成27年では、10名の患者のフォローアップ検査を実施した。これらのケースのうち、4名

の患者はコマーシャルベースでのリアルタイムPCR検査においてCSF-JCV陽性を呈した後、当研究室に確認およびフォローアップの検査が依頼された。また、同検査を実施した10名の患者うち、4名についてはコマーシャルベースの検査は実施されておらず、国内の複数の施設において脳生検が施行されており、JCV抗原陽性と判定されていた。

### 3) 検査依頼の経由

検査を開始した平成19年度から同22年度までの4年間においては、新規の依頼および同一医局からの再依頼が同程度であったが、平成23年度より再依頼の割合が当該年度の約70%を占めていることが分かった。また、平成24年から同27年度において検体が提出され、JCV陽性を呈した患者72名の検査がどのような経由によって依頼されたのかを調べたところ、約70%の患者は過去に検査を実施したことがある依頼元機関もしくは担当医であった。

### 4) CSF-JCV陽性者の分析

平成27年における実験室サーベイランスにおいて確認されたCSF-JCV陽性者22名の臨床情報を解析した。同陽性者の年齢の中央値は63.5歳であり、男性が64%であった。男性のCSF-JCV陽性者14名の基礎疾患の内訳は、①HIV感染症7名、②悪性リンパ腫や白血病といった血液腫瘍系疾患3名、③慢性腎不全2名、④胚細胞腫1名、⑤基礎疾患無1名であった。基礎疾患を有していなかった患者1名は80歳以上の高齢者であった。次に、女性のCSF-JCV陽性者の内訳は、①SLE等の自己免疫疾患2名、②悪性リンパ腫や白血病等の血液腫瘍系疾患4名、③食道癌1名、④基礎疾患無1名であった。基礎疾患が認められない患者1名は、男性での陽性者と同様に80歳以上の高齢者であった。

## 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、平成22年度(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た。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える。

また、9年にわたる実験室サーベイランスを継続した現在では、過去に検査を受け付けたことのある医療機関からの検査依頼の割合が全体の約7割以上を占めている。また、直近4年間において確認したCSF-JCV陽性者の検査の多くがこれらのリピーターから依頼されている。これらの結果から、本実験室サーベイランスにおいて継続的にPML患者を確認する上で、医療機関との繋がりを保ち、今後も連携を図ることの重要性が示唆された。

本年度では、前年度と同様のJCV検査および実験室サーベイランスを継続した。平成27年1月から12月における検査の実施件数は203件であり、平成24年度からの3年間と同様に今年度も年間200件を上回るペースで検査依頼に対応している。平成26年(1～12月)と比較した場合、同27年(1～12月)における検査対象者数は206名から166名へと減少した。ただし、平成27年において確認したCSF-JCV陽性者数は22名であり、平成26年における18名よりも多くの陽性者を確認した。検査依頼数が少ないにも関わらず陽性者数が増加した理由については定かではない。平成27年ではコマーシャルベースのPCR検査においてCSF-JCV陽性を呈した患者の確認検査の実施数が多い傾向にあったことから、これらの民間施設による検査が部分的に一次スクリーニングとして機能した可能性は否定できない。

また、平成27年の1月から12月までに確認されたCSF-JCV陽性者においては、HIV感染症を有する男性患者が多い傾向にあった。平成24年から同26年においては、自己免疫疾患もしくは臓器移植歴を有する陽性者の割合が高い傾向が続いたが、平成27年において新規に確認された陽性者では、自己免疫疾患を有する患者は2

名に留まり、臓器移植歴を有する患者は認められなかった。PMLは希な疾患であり、医療機関からの検査依頼に応じる形での実験室サーベイランスによって確認しうる患者数は限られている。年間20名程度のペースでCSF-JCV陽性者(PML患者)を確認している現状では、5年もしくは10年といった長期のデータについて統計学的解析等を行い、国内のPMLの動向を解析する必要があると思われる。

## E. 結論

CSF-JCVのPCR検査によって国内のPML診療を支援し、実験室サーベイランスを継続した。本サーベイランスにおいてPML患者を確認する際には、これまでに検査依頼があった医療機関との連携が重要であることが分かった。また、平成27年においては、CSF-JCV陽性者の基礎疾患においてパターンの変化が認められたが、今後も長期にわたって動向を把握する必要性が示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Sano Y, Nakano Y, Omoto M, Takao M, Ikeda E, Oga A, Nakamichi K, Saijo M, Maoka T, Sano H, Kawai M, Kanda T. Rituximab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy derived from non-Hodgkin lymphoma: neuropathological findings and results of mefloquine treatment. *Intern Med* 54:965-970, 2015.
- 2) Yoshida T, Kawamoto M, Togo M, Kohara N, Ito T, Nakamichi K, Saijo M, Mizuno T. Progressive multifocal leukoencephalopathy developing after liver transplantation showing marked neurological symptom improvement and arrest of further deterioration of imaging findings: A case report. *J Neurol Sci* 359:1-3, 2015.

### 2. 学会発表

- 1) 吉田誠克, 川本未知, 十河正弥, 幸原伸夫, 伊藤孝司, 中道一生, 西條政幸, 水野敏樹. メフ