

「日本脳炎IgM補足ELISA法の評価」、「病原体およびワクチン関連急性脳炎・脳症の病因診断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」、
「急性弛緩性麻痺とエンテロウイルスD68に関する最近の知見の検討（海外文献より）」

研究分担者	倉根 一郎	国立感染症研究所	所長
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第三室 研究員
研究協力者	多屋 馨子	国立感染症研究所	感染症疫学センター第三室 室長

研究要旨 急性脳炎・脳症の実態の把握、病因解明には、その病因や臨床像の多様性を検討しうる評価およびデータ収集・解析方法の構築が重要である。本研究では、その手法の検討に応用しうる最新の知見を収集検討することを目的として、海外文献の調査研究を行った。

急性脳炎・脳症の病因検索において、感染症が疑われるものについてはアルゴリズム化した段階的な検索が有用であった。具体的にアルゴリズムの第一段階では、脳炎症例で検出頻度の高い病原体と病歴に合致した検査項目を実施し、そこで同定されなかった症例について次の段階の病原体検索と神経画像検査、脳炎関連自己抗体検査、髄液検査など、特殊検査を順次加える事で、病原体診断が行える例が多かった。一方、微生物の病原性によらない免疫学的な原因についても検討が必要であった。データ収集・解析方法として、米国のワクチン有害事象報告システム(VEARS)その他の大規模データベースを用いた、特定の有害事象の検出状況の検討事例や単独ワクチン接種後の市販後調査結果と事前の安全性プロファイルとの一致が示された文献などから大規模データベースの利用の有用性が示された。またその活用の手法として、複数の報告事象の重み付けスキーム、アイランド・アルゴリズムを用いた視覚化レイアウトなどの機能を備えた解析システムが有用と報告された。

急性弛緩性麻痺(AFP)の発症とエンテロウイルスD68の関与が示唆検討されており、それぞれの側面から疫学、診断、臨床像についての情報収集、検討を行った。各国のEVD68のサーベイランスや報告において、各々の症例数は多くないものの、AFP症例が含まれていた。一方でAFP症例の一部でEV-D68が主に呼吸器検体から検出された。また便から検出された報告例も少数あった。現在、EV-D68感染とAFPの関連性はまだ明らかでないが、AFP症例において臨床像の把握と積極的な病原体検索の実施によるさらなる情報の集積が重要と考えられた。

A. 研究目的

急性脳炎・脳症は病因も臨床像も非常に多様であり、生理病理学的機序、病態は依然不明な部分も多い。その多様な病因や臨床像を検討しうる有効な評価およびデータ収集・解析方法の構築が重要である。

本研究では、3年間単年度ごとに異なる面から研究班の主題である急性脳炎・脳症の実態の把握と病因解明における取り組みの基礎となる、評価、解析の手法の検討を目的に、国

内外の文献からこれらに応用しうる知見ならびに最新情報の収集による調査研究を行った。

平成26年度：急性脳炎・脳症は現在も原因不明であることが多い。病因診断を積極的に実施し、病因解明を進めるにあたって、より具体的で有効な診断・解析の手法の確立が重要である。また、同時に実体把握のために疫学的な見地から多くの症例情報の蓄積とその解

析・検討を有効かつ合理的に行っていくための大規模なデータベース利用の重要性は高い。データベースの有用性を活かして、より有用な調査研究の構築を目的として関連した情報収集のための文献調査研究を行った。

平成27年度：平成27（2015）年秋、全国的にエンテロウイルスD68（EV-D68）感染症がアウトブレイクし、さらにその後急性弛緩性麻痺（AFP）の症例が散見された。これと同様の事象が前年2014年秋に米国で生じ、急性弛緩性麻痺とEV-D68の関連が示唆され、検討されるようになった。国内におけるAFPの疫学、臨床像とEV-D68感染との関連について調査、検討するにあたり、海外の状況と最新の知見を得て、国内での調査研究、データ解析への応用を図ることを目的とした。

B. 研究方法

①急性脳炎・脳症の病因診断の手法に関する検討

②大規模データベースの利用の有用性についての検討

③急性弛緩性麻痺とエンテロウイルスD68感染症の疫学・臨床像とその関連について

平成26年度、平成27年度は、今後より有効な実態把握と病因診断を行うために、上記3つの課題について、最近報告された学術論文から、診断手法、データ解析の側面、さらに疫学情報など多方面の情報を収集、検討を行った

（倫理面への配慮）

本検討は論文レビューであり、ヒトを対象とした介入ではないことから該当しない。

C. 研究結果

急性脳炎・脳症の病因診断の手法に関する文献的検討

① 急性脳炎・脳症の原因究明の手法

1) Diagnostic Strategy Used To Establish Etiologies of Encephalitis in a Prospective Cohort of Patients in England. 2011; 49(10): 3576-83. Ambrose, H. E. et al.

急性脳炎・脳症の臨床検体からの病原体検出頻度を前方視的に検索し、さらにその結果を反映した、病原体診断の具体的な実施方法が検討され、診断のアルゴリズム構築への活用が試みられている。

2005～2008年英国において、脳炎と診断さ

れた203例から採取された検体（髄液、血液・血清、尿、糞便、咽頭スワブなど）1,500検体が用いて、病因検索が実施された。

具体的に検索の標的とした微生物は、単純ヘルペスウイルス（HSV）、水痘-帯状疱疹ウイルス（VZV）、エンテロウイルス、パレコウイルス、アデノウイルスに始まり、サイトメガロウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、風疹ウイルス、トキソプラズマ、マイコプラズマ、EBウイルスなどであった。その他、HSV、VZV、HEVは血清抗体価が測定された。

段階的に比較的頻度の高い病原体検索と病歴に基づいた追加検査、さらに次の段階でやや頻度が下がるが重要な病原体の検索と、神経画像検査、脳炎関連自己抗体検査、髄液検査を実施し、髄液中の抗体検査、オリゴクローナルバンド（tOCB）の確認、微生物特異的抗体スクリーニングが実施された。これらにより63%の症例の原因が同定された。

同定された病因は、203例中16例（8%）は、N-メチル-D-アスパラギン酸受容体抗体または電位依存性カリウムチャネル複合体抗体と関連していた。

最も多く特定されたウイルスは、HSV（19%）、VZV（5%）、細菌は結核菌（5%）であった。

また、髄液中の抗体を検査する診断価値の評価が実施された。99例に由来する139検体のうち、37例46検体から何らかの抗体が検出された。亜急性期（14～28日目）に採取した検体は、早期（0～6日目）の採取した検体よりも抗体陽性結果となりやすかった。一方で、入院から髄液検査実施日までの時間を統計学的に解析すると、原因が既知のものと不明なもので検査までの日数に有意差はなかった。PCR法で陰性であったHSVによる脳炎症例3例は、中枢神経系（CNS）のウイルス特異的抗体の存在により診断された。

著者らは、検査アルゴリズムとして初期臨床検査の推奨項目に、HSV、VZV、エンテロウイルスを含め、流行期にはインフルエンザウイルス、非ウイルス性病原体としては、肺炎球菌、結核菌、肺炎マイコプラズマ、髄膜炎菌、トキソプラズマ（免疫不全者）を挙げ、免疫性脳炎の原因についての検査を診断アルゴリズムに入れることが重要とした。

髄液中の抗体測定も推奨され、原因不明の患者の20%において、CNS内に限局性の免疫活性化のエビデンスが認められた。しかし、新規のウイルスDNAやRNA配列は認められなかった。これらは、新規の原因を特定するための対象として期待される。

②大規模データベースの利用の有用性についての検討

2) Acute Disseminated Encephalomyelitis Onset: Evaluation Based on Vaccine Adverse Events Reporting Systems. Plos one 2013; 8(10): e77766. Pellegrino, P.

薬剤サーベイランスシステムのデータを用いた検討によって、ワクチン接種後の急性散在性脳脊髄炎(ADEM)の疫学的特徴の評価を試みた文献である。

ワクチン有害事象報告システム(VAERS)データベースおよびEudra Vigilance市販後報告モジュール(EVPM)を検索し、ワクチン接種後のADEM症例を特定し、疫学的特徴解析がなされた。EVPMとVAERSデータベースから、それぞれADEM症例205例および236例を抽出し、このうち404例のワクチン接種後ADEM症例の疫学的解析および因果関係評価について検討がなされた。患者の半数は18歳未満であり、男性の方がやや多かった。ワクチン接種からADEM発現までの期間は、症例の61%が2~30日間であった。ADEMともっとも多く関連していたのは、季節性インフルエンザワクチンとヒトパピローマウイルスワクチンであり、全症例の約30%を占めていた。VAERSデータベースの2005~2012年の平均年間報告数は40±21.7例であった。

本研究は、10億人超に起きた有害事象に関する情報に基づいているため、疫学的検出力が高い。使用したサーベイランスのデータベース固有の弱点により、厳密な症例確認はできていない。小児期のADEMの有病率に関する過去の報告とは異なり、どの年齢でもワクチン接種後にADEMが生じる可能性があることが示された。

3) Adverse events following vaccination with an inactivated, Vero cell culture-derived Japanese encephalitis vaccine in the United States, 2009-2012. Vaccine. 2015; 33: 708-712. Rabea, I. B.

日本脳炎ワクチンの有害事象としての神経症状の発症と、承認後の大規模な市販後調査の有用性の両者を知りうる文献である。

2009年に承認された成人用の日本脳炎ワクチンJE-VCの市販後調査による結果から、その有害事象の発症頻度とともに、それらが承認前臨床試験の知見と一致していたことが示されたことから、JE-VCの安全性プロファイルが優れていることが示された。

2009年5月~2012年4月に日本脳炎ワクチン(JE-VC)を受けた成人(17歳以上)に関して米国ワクチン有害事象報告システム(VAERS)へ報告された有害事象について検討がなされた。

対象の3年間でJE-VCは275,848本が出荷され、これに対して、接種後の有害事象42例がVAERSへ報告された(全報告率はワクチン100,000本あたり有害事象15.2例)。計42例の報告のうち5例(12%)は重篤に分類され、報告率は出荷されたワクチン100,000本あたり1.8例であった。死亡例はなかった。もっとも多く報告された有害事象の種類は過敏症反応(N=12)であり、出荷されたワクチン100,000本あたり4.4例であった。アナフィラキシー症例は報告されなかった。中枢神経系の有害事象3例が報告され(脳炎1例、痙攣発作2例)、報告率は100,000本あたり1.1例であった。いずれもJE-VCとその他のワクチンを同時接種した後に発生した。

承認後の安全性データについて、重篤または稀な有害事象のエビデンスがないかを引き続きモニタリングすべきと述べられている。

4) Novel Algorithms for Improved Pattern Recognition Using the US FDA Adverse Event Network Analyzer. e-Health -For Continuity of Care. 2014: 1178-82. Botsis, T.

米国では医薬品の有害事象報告を医学的に精査するために、US Vaccine Adverse Event Reporting System(米国ワクチン有害事象報告システム; VAERS)などの自発報告システムにデータが保存されている。VAERSデータを解析するために、FDAではVAERSの報告を解析する際に、2つのアプローチを用いてきた。ひとつは、統計学的データマイニングアルゴリズム(DMAs)で、ある製品が他と比べて不釣り合いに有害事象が生じていることがないかを評価する。また手作業のレビューも実施し、地理的、曝露、病歴、臨床的特徴などで安全性に関与するような異常なパターンがないかの確認作業を実施している。しかしこれには制約があり、同時接種のワクチン間での相互作用や複数の有害事象についての評価はできず、手作業のレビューは時間を要し、またヒトによる識別の一貫性は不明なところである。

これに対し、FDA Adverse Event Network Analyzer(有害事象ネットワークアナライザ

ー; AENA)を開発し、データからノイズを減らし、情報を抽出する方法として、従来のパターン認識に加え、新しいネットワーク解析アプローチを開発した。新しいアプローチには報告に基づく重み付けスキーム (report-based weighting(RW)) とされる従来の方法に加えて、topological weightening(TW)、co-occurrence weightening(CW)と呼ばれる、ワクチン、有害事象といったそれぞれの要素の頻度、ペアでの報告頻度に基づいた重み付けの新規のスキームや、Tolerance Band View(TBV)と呼ばれる、時系列的に割り付けられるVEARS networkのIDを横軸におくことで時間軸の要素を付した有害事象の発現状況の図式化、アイランド・アルゴリズムと呼ばれる関連の強さの視覚化レイアウトがある。1999年に生じたRotaShieldワクチン(RV)投与後に腸重積症(IS)が生じたhistorical signalを解析することでこのアプローチを検討し、妥当性を確認した。医薬品の安全性やその他の臨床データにおけるパターン認識にFDA Adverse Event Network Analyzer (有害事象ネットワークアナライザー; AENA)を用いることは有用としている

③ 急性弛緩性麻痺とエンテロウイルスD68感染症の疫学・臨床像とその関連について

参照した文献を表1. に示す。

5) Notes from the field: acute flaccid myelitis among persons aged ≤ 21 years - United States, August 1-November 13, 2014. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2015: 9; 63(53): 1243-4.
Division of Viral Diseases, National Centers for Immunization and Respiratory Diseases, CDC; Division of Vector-Borne Diseases, Division of High-Consequence Pathogens and Pathology, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, CDC; Children's Hospital Colorado; Council of State and Territorial Epidemiologists.

米国で2014年8月以降、2015年11月13日までにCDCへ報告されたAFP症例88例についての記述疫学報告である。

[方法・定義] 米国CDCが全米の州・Local Health DepartmentにAFP症例の報告とCDCへの検体送付を依頼した。

米国CDCの疫学調査のAFP症例定義は下記の4項目を満たすものとされた。

- 21歳以下
- 2014年8月1日以降に発症した神経症状発症
- 急性の上/下肢の筋力低下
- MRI所見で脊髓灰白質に限局した病変を認める

[結果] 2014年8月1日から2014年11月13日までの期間中に88例が報告され、9月中旬にピークのある単峰性のエピカーブを呈していた。年齢中央値7.6歳(範囲:5か月~20歳)、男児61%であった。

臨床症状: 下記症状が認められた。

- ・主に非対称性麻痺
- ・脳神経麻痺 30例(34%)
- ・精神症状 6例(7%)
- ・けいれん 3例(3%)
- ・神経症状に先行する呼吸器症状 81%
- ・神経症状に先行する発熱 68%

また、基礎疾患を有する症例は21例(24%)おり、10%は喘息例であった。

検査所見:

- ・髄液検査(80例)
 - 65例(85%)に軽度髄液細胞数増多あり
 - 髄液蛋白は正常~軽度上昇
- ・上気道検体を用いた病原体検索(41例)
 - 8例 EV-D68陽性
 - 9例 その他のエンテロウイルス、ライノウイルス陽性

特に呼吸器症状発症から14日以内に検体採取された症例19例のうち、7例でEV-D68陽性、3例でライノウイルスが陽性であった。

治療: 人工呼吸管理を要した症例は17例(19%)いた。

予後(77例): 追跡期間中(中央値19日間)に49例(66%)で症状の改善傾向が見られたが、全回復例はなかった。また死亡例はなかった。

6) European surveillance for enterovirus D68 during the emerging North-American outbreak in 2014.

J Clin Virol. 2015 Oct; 71: 1-9.
Poelman R, Schuffenecker I, Van
Leer-Buter C, Josset L, Niesters HG, Lina
B; ESCV-ECDC EV-D68 study group.

欧州 17 か国の 42 検査機関および 51 研究
室で実施された検査における EV-D68 の検出
頻度と EV-D68 陽性例の中で認められた AFP
症例数が報告された。

[方法]対象：2014 年 7 月 1 日～12 月 1 日ま
でに 16 歳以下の呼吸器症状で病院に受診、
もしくは入院した症例で、呼吸器検体からの
EV-D68 特異的 PCR と VP1 領域のシークエン
スによる EV-D68 の検出頻度と EV-D68 陽性例
の臨床症状が調査された。

[結果]検査された呼吸器検体 16,332 検体の
うちエンテロウイルス・ライノウイルス陽性
者は 20.5%、EV-D68 陽性者は 343 例 2.1%であ
った。各国の EV-D68 の検出頻度は 0-25%と
様々であった。検出数のピークは 10 月にあ
った。

EV-D68 陽性者のうち、フランス 2 例、フィン
ランド 1 例の計 3 例が AFP の症状を呈して
いた。いずれの国も EV-D68 の検出頻度は
5-15%で全体の検出頻度に比較して高かった。
[考察]米国に比較し、AFP 症例の報告数は少
なかった。サーベイランスの精度による影響
はないと考えているが、今後も調査評価を継
続する必要がある。

7). Enterovirus D68 disease and molecular epidemiology in Australia.

J Clin Virol. 2015; 69: 117-21.
Levy A, Roberts J, Lang J, Tempone
S, Kesson A, Dofai A, Daley AJ, Thorley
B, Speers DJ.

オーストラリアにおける EV-D68 陽性例の
臨床的、疫学所見が報告された。

[方法] National enterovirus surveillance
および Regional acute flaccid paralysis
(AFP) surveillance に基づいて、National
enterovirus Reference Laboratory において
EV-D68 RT-PCR 陽性症例を探知し、その臨床
情報を解析した。

[結果]報告数の推移：2007 年以降 58 例の
EV-D68 陽性例が報告された。症例は 2008 年

から散発的に認められ、2011 年と 2013 年に
増加が認められた。

症例：年齢中央値は 8.5 歳 (範囲 10 日～81 歳)
で、49%は 6 か月～5 歳未満に分布していた。
症状：呼吸器症状は 64%、発熱は 22%の症例
で認められた。2 例の AFP 症例 (いずれも 2010
年) の報告があった。

検査：EV-D68 の検出検体は、52 例 (90%) が
呼吸器検体であった。AFP 症例 2 例を含む 5
例では便から検出された。髄液からも 1 例検
出された。複数の検体で検査された 3 例は
EV-D68 の検出が 12、19、22 日持続していた。
3 例とも免疫不全者であった。

[考察・結論]EV-D68 は主に呼吸器症状に関与
するが、AFP 症例における EV-D68 の検出は神
経症状の関与を示唆するものと考えられた。

8) Acute flaccid paralysis following ent
erovirus D68 associated pneumonia, Fran
ce, 2014.

Euro Surveill. 2014; 19(44).
Lang M, Mirand A, Savy N, Henquell
C, Maridet S, Perignon R, Labbe
A, Peigue-Lafeuille H.

基礎疾患のない 4 歳男児の EV-D68 関連肺
炎に続発した AFP の症例報告。

[臨床経過]頭痛、嘔吐症状、髄膜刺激症状で
発症し、発症 7 日目に急性呼吸窮迫症候群
(RDS)、血液循環不全を来し集中治療室で
の人工呼吸管理を要した。

[検査所見]血液、画像検査で両側肺炎、心筋
炎の所見を指摘された。発症 3 日目の髄液検
査では髄液細胞の軽度上昇を認めた。

発症 3 日目の便、発症 5 日目の肺胞気管支
洗浄液 (BAL)、鼻咽頭吸引液から EV-D68 が
RT-PCR により検出された。髄液からは検出さ
れなかった。

脊髄 MRI で馬尾腹側神経根の病変を認めた。

[考察]弛緩性麻痺症状の出現前に髄膜刺激
症状、RDS、心筋炎を呈した症例として初め
ての報告であった。本症例は髄液から EV-D68
が検出されなかったが、それだけでは EV-D68
の関与の可能性を必ずしも除外できない。さ
らなる生理病理学的な研究が EV-D68 の神経
向性の評価に必要である。

5. A fatal central nervous
system enterovirus 68 infection.
Arch Pathol Lab Med. 2011; 135(6):793-6.
Kreuter JD, Barnes A, McCarthy

JE, Schwartzman JD, Oberste MS, Rhodes CH, Modlin JF, Wright PF.

急性の経過を取った EV-D68 中枢神経感染の死亡例の報告。

[臨床経過] 基礎疾患のない5歳男児。微熱、頭痛、咽頭痛で発症し、発症3日目に上肢筋力低下が出現、4日目に歩行困難、膀胱直腸障害が出現した。さらに同日、無呼吸、意識障害、上肢強直から心停止に至った。

[検査所見]入院時頭部CTで脳浮腫による脳ヘルニア所見を認めた。髄液のVP1-specific RT-PCR and sequencingによりEVD68が検出された。その他の細菌培養、ウイルス培養は陰性であった。胸部単純X線写真で右下肺野に肺炎像を認め、剖検でも肺炎と肺出血の診断であった。

[考察]症例の所見はエンテロウイルス71の急速進行性で致死的な症例の経過に類似していた。髄液からEV-D68が検出された症例は過去にごくわずかであるが、今後検査が実施されるようになることで真の発症率が評価可能となると考えられた。

9) A novel outbreak enterovirus D68 strain associated with acute flaccid myelitis cases in the USA (2012-14): a retrospective cohort study. Lancet Infect Dis. 2015; 15(6):671-82. Greninger AL, Naccache SN, Messacar K, Clayton A, Yu G¹, Somasekar S, Federman S, Stryke D, Anderson C, Yagi S, Messenger S, Wadford D, Xia D, Watt JP, Van Haren K, Dominguez SR, Glaser C, Aldrovandi G, Chiu CY.

急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の発症と EV-D68 感染の関連を評価する目的で、AFM 症例の各種検体を用いて、PCR、次世代シーケンスにより EV-D68 の検出の有無を評価し、臨床情報、検体内容について EV-D68 陽性群と陰性群の臨床像、検査所見について比較した研究。

[方法]2013年11月24日～2014年10月11日に Children's hospital Colorado, Children's Hospital Los Angeles を受診もしくは、2012年1月1日～2014年10月4日に、カリフォルニア州全体で実施された AFP サーベイランスで探知された急性弛緩性脊髄炎 (AFM) 症例の鼻咽頭スワブもしくは洗浄液、咽頭スワブもしくは洗浄液、血清、全血、直腸スワ

ブ、便、髄液をもちいて EV-D68 specific PCR (VP1 領域)、次世代シーケンサーにより EV-D68 について検査し、臨床および検査所見を陽性例と陰性例で比較した。

[結果]AFM 症例は 25 症例、うち EV-D68 陽性例は 12 例であった。そのうち 2014 年発症した症例は 10 例で 8-10 月の間に発症していた。EV-D68 陽性例の 92% で先行する呼吸器症状を有していた。

呼吸器症状発症から鼻腔スワブ検体採取までの期間は EVD68 陽性例では、中央値 7.8 日 (SD 2.4 日、範囲 3.0-11.0 日) であった。

予後は、改善がなかったもしくはごく限られた症例が AFM 症例全体で 77%、一部回復が見られた症例が 23% であった。EV-D68 陽性例と陰性例で予後に有意差はなかった。

10) Acute Flaccid Paralysis Associated with Novel Enterovirus C105. Emerg Infect Dis. 2015; 21(10):1858-60. Horner LM, Poulter MD, Brenton JN, Turner RB.

CDC の AFP の症例定義に合致しエンテロウイルス C105 (EV-C105) が検出された症例の報告。

[症例経過]症例は米国 Virginia 州の基礎疾患のない6歳女児。

右上腕の筋力低下に加え、構音障害、嚥下障害、呼吸障害、膀胱直腸障害を認めた。神経症状出現の4日前に呼吸器症状、発熱と右耳、右口腋窩間欠痛があった。

発症から8か月後、右上肢筋力はほぼ改善した。

[検査所見]MRI では脊髄灰白質 (C3-C7, Th11-12/L1) に異常信号が指摘された。鼻腔スワブ検体から Enterovirus C105 が検出された。

[考察]症例は CDC が定める AFP の症例定義に合致したが、当該症例から採取した検体からは EV-D68 は検出されず、EVC105 が検出された。これまでの報告で AFP 症例のうち、EV-D68 が検出された症例は一部であり、AFP と EV-D68 の関連、意義について今後さらに検討される必要がある。

D. 考察

①急性脳炎・脳症の病因診断の手法に関する検討

1) の文献では、急性脳炎・脳症症例で検索すべき項目と検査時期に関して、一定の具体的な指針が示された。すなわち、急性脳炎・

脳症症例の病因検索において、感染症が疑われるものについては検出頻度に基づきアルゴリズム化した段階的な検索が有用であった。第一段階の検査として、脳炎症例で検出頻度の高い病原体の検討、旅行歴などの病歴に合致した検査項目を行い、同定されなかった症例について次の段階の病原体検索と神経画像検査、脳炎関連自己抗体検査、髄液検査など、特殊検査を順次加える事で、病原体診断が行える例が多かった。一方、微生物の病原性によらない免疫学的な原因についても検討が必要である。原因が不明なものについては、原因特定において髄液検査の実施時期に有意差はなかった。むしろ既知の病原体以外の原因についても検証対象に位置づけられており、本研究班の研究内容に沿うものであった。

次に、ワクチンに関連したADEMに関する検討では、さまざまなワクチン接種後にADEMの報告があり、今後の更なる知見の蓄積が望まれる。

②大規模データベースの利用の有用性についての検討

2)～4)の文献では大規模データベースを使用した脳炎の疫学調査についての検証が評価、検討された。脳炎は稀な事象であるため、大規模なデータベースでの検証が必要である。その手法として、米国で実施されているワクチン有害事象報告システム(VAERS)や市販後調査のシステムを活用する事で、疫学調査の実施の妥当性と有用性が、これらの文献で示された。これらの問題点としては、大規模なデータベースであるが故に、個々の症例検討が困難であることが挙げられた。

有害事象へのワクチンの寄与を評価する方法として、FDA Adverse Event Network Analyzer(有害事象ネットワークアナライザー;AENA)で用いられた重み付けを行う解析アプローチが新しい手法として提案されており、実際のシステムに適応可能かどうか、課題と考えられた。

③急性弛緩性麻痺とエンテロウイルスD68感染症の疫学・臨床像とその関連について

近年世界各国からEVD68感染症の流行や検出例が報告されるようになった。各国のEVD68のサーベイランスや報告において、各々の症例数は多くないものの、AFP症例が含まれていた。

一方でAFP症例の一部でEV-D68が主に呼吸器検体から検出された。また便から検出された報告例も少数あった。

AFP症例の臨床像は、2014年米国のAFP症例の疫学調査では片側性の弛緩性麻痺が多く、脳神経症状や、その他の報告では膀胱直腸障害をきたす症例もあった。また半数以上でAFPに先行する呼吸器症状、熱性疾患が報告されていた。予後は回復が見られる症例も報告されているものの全回復例はなかった。重症の全身症状を呈する症例報告も複数あり、死亡例の報告もあった。

EV-D68とAFPの関与を言及するにあたり、EV-D68の検出は重要である。多くの報告で、気道検体からの特異的PCR、およびシーケンスによる検出例が主であったが、髄液、便から検出された症例もあった。また、EV-D68が検出された症例の発症から検体採取までの期間について明記された報告は少なかったものの、EV-D68 PCR陽性AFP症例の呼吸器症状の発症から検体採取までの期間は中央値7.8日(範囲3.0-11.0日)であった。また免疫不全者において初発症状から最長22日に検出され報告があった。

EV-C105が検出されたAFPの症例報告もあり、EV-D68をはじめとするエンテロ属ウイルスの発生動向とAFP症例の疫学の関係性、また症例における病原体検索が今後の両者の関与解明に寄与すると思われる。

E. 結論

急性脳炎・脳症の実態把握のため、病原体検索と疫学調査に関して、その方法論および最近の知見について海外の文献を中心に検討を行った。

病原体検索においては、アルゴリズム化が有用であると考えられた。

データベースの検討においては、大規模な有害事象報告システムは有用であり、さらにそれを活用するための新しいアプローチとして、視覚化のメリットが提案された。

今後わが国における急性脳炎・脳症の病原体検索ならびに有害事象報告システムの検討に活用可能と考えられた。

また、EV-D68感染とAFPの関連性については、現在まだ明らかでないが、AFP症例において臨床像の把握と積極的な病原体検索の実施によるさらなる情報の集積が重要と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

急性脳炎・脳症の病因診断の問題点および3次医療機関における傾向について

研究分担者 森島恒雄（岡山労災病院 院長）
（岡山大学大学院小児医科学 特命教授）
研究協力者 八代将登（岡山大学大学院小児医科学 助教）

研究要旨

岡山大学関連病院を中心に中国四国地区の基幹病院を中心に、主に小児科医を対象として急性脳炎脳症の病原体解析の重要性を啓発し、急性期の検体採取法・保存法・感染研への搬送法の指導を行った。上記に加えて、3次病院における急性脳症の傾向評価、病因診断の有用性と注意点に関する検討、2015年の急性弛緩性麻痺の中国四国地区における実態調査を行った。

I：3次病院における急性脳症の傾向評価

A. 研究目的

急性脳症の現状調査として、岡山大学小児科および関連施設における急性脳症66例について後方視的に検討した。

B. 研究方法

2006年～2013年に岡山大学病院での入院加療および関連施設との診療協力を行い急性脳症と診断した66例（0～13歳（中央値2歳0か月）、M:F=26:40）を後方視的に検討した。

C. 研究結果

急性脳症症例数の年次推移

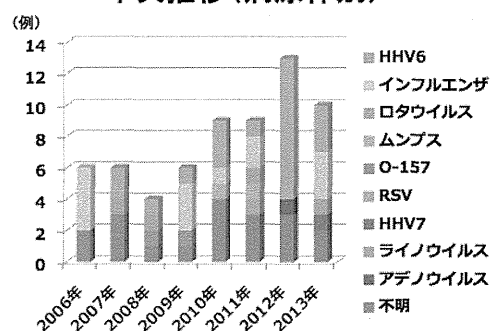
症例数は2010年以降増加傾向を認めている。病原体別では、インフルエンザとHHV6で約半数を占めている。インフルエンザではサイトカインストームを伴う重症例の紹介が多かった。HHV6では二相性脳症を呈した症例に加え、病原体の検索依頼にてHHV6感染が判明した症例を含んでいる。

岡山大学病院および当院関連施設（以降、「当院」と記載）での傾向を知るために、以降のデータを全国調査（水口雅ら、2011）と比較を行った。

病原体分類

全国調査と比較して、当院ではインフルエンザ脳症の割合が低く、HHV6脳症の割合が高いが、それ以外はほぼ同様の傾向を示している。

年次推移(病原体別)



病型分類

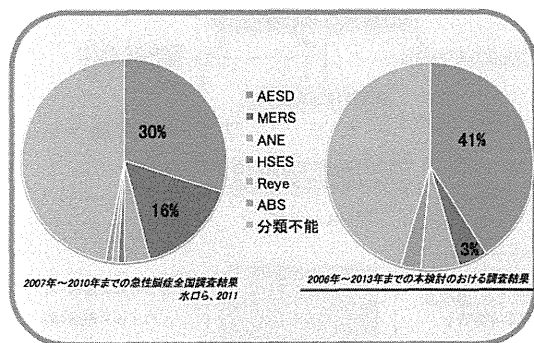
全国調査と同様に病型を以下の通りに分類した。

- ・ 遅発性拡散低下を呈する急性脳症 (AESD)
- ・ 可逆性脳梁膨大部病変を伴う軽症脳炎・脳症 (MERS)
- ・ 急性壊死性脳症 (ANE)
- ・ Hemorrhagic shock and encephalopathy 症候群 (HSES)
- ・ 急性脳腫脹型 (ABS)
- ・ ライ症候群 (Reye)

当院では、AESDの割合が高く、MERSの

割合が低かった。これは軽症である MERS の紹介例が少なかったためと考えられる。

病型分類



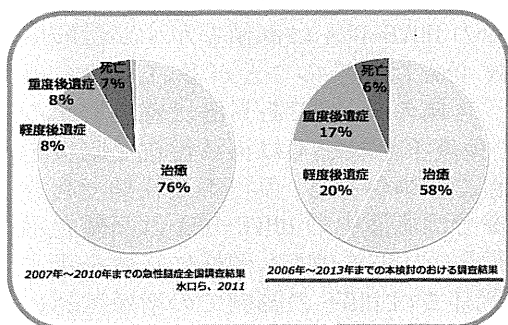
病型分類 (病原体別)

病原体別に病型分類の評価を行った。HHV6 脳症では他の病原体と比較して、AEDS の割合が有意に高かった。

予後

当院では、後遺症を呈する割合を多く認めた。これは、当院への紹介に重症例が多かったことを反映していると考えられる。

予後



予後 (病原体別)

インフルエンザ脳症に比較し、HHV6 脳症の予後が若干不良であった。またロタウイルス脳症では致死率が50%と高かった。

予後 (病型別)

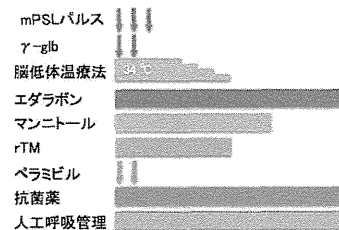
AEDS では死亡例は認めなかったが、後遺症を残す頻度が高かった。当院では AEDS の頻度が高かったことが、全体の後遺症率を上昇させたと考えられた。また ANE と ABS は急激な低下を取り致死率が高い。

当院における急性脳症治療 (急性期)

当院における急性脳症治療 (急性期) を示す。原則としてインフルエンザ脳症ガイドラインに準じて行っている。意識障害が

持続している症例では脳低温療法を施行している (34°Cを48時間施行。その後40時間かけて復温。)。脳低温療法中は、頭部の画像評価が困難であるため、脳圧モニターによる脳圧管理を行い予後改善につなげていく予定である。

当院における重症インフルエンザ脳症治療法の一例
岡山大学小児科



今後は脳圧モニターによる脳圧管理を導入することで、低温療法におけるより適切な脳圧管理を行ない、予後改善につなげていく予定。

D. 考察

当院への紹介症例には MERS などの軽症例が少なく、重症例の紹介が多く含まれていた。HHV6 に多く見られる痙攣重積型が、神経学的な予後不良の要因として重要である。死亡例は、いずれも急性期早期に不可逆的な変化を来していた。今後の展望として、当施設では重症例に対する早期からの脳低温療法や脳圧モニタリングなどを導入しており、今後有効性を評価する予定である。

E. 結論

ガイドラインの普及に伴い、多くの施設で急性脳症の治療が一般化されてきており、専門施設に重症例が集まってきている。ガイドライン公表後8年が経過し、痙攣重積型脳症などの予後向上などさらなる治療法の確立が急務である。

II: 病因診断の有用性と注意点

A. 研究目的

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。これまでの報告や我々が行った研究結果から判定への注意点を考察する。

B. 研究方法

これまでの報告や我々が行った研究結果からHBV, HSV, HHV6, インフルエンザ,

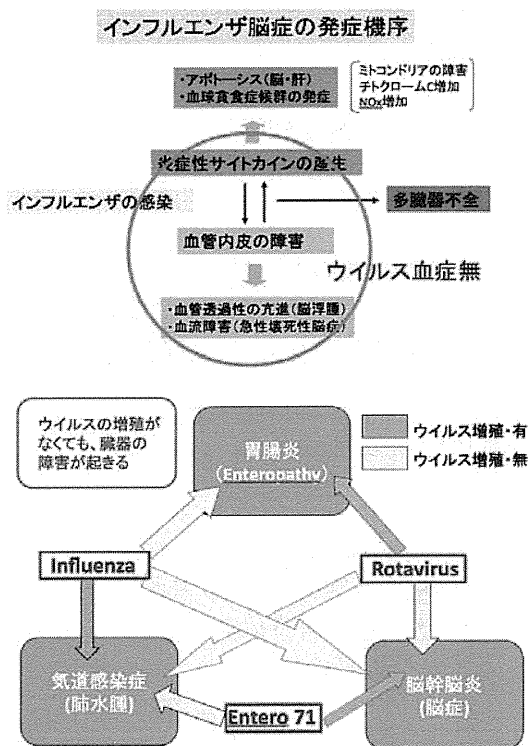
ロタなど、ウイルス別による病態の変化や、炎症性サイトカインによる血液脳関門の破壊機序を検討し、ウイルス感染症における病因判定の注意点を考察する。

C. 研究結果

HBV B型肝炎の母子感染および水平感染の把握とワクチン戦略の再構築に関する研究(平成21年～23年:森島班)において、網羅的全国調査を実施した結果、HBVは水平感染が多いことが判明した。さらにHBキャリアでは各体液(唾液、涙、汗、尿)を調べると、いずれからもHBVが検出された。血液の中にウイルスがいたら特に病気がなくても体液からでることが判明した。

HSV HSV脳炎は年齢によって病態が異なっている。年長児では髄液中のHSV-DNAは高値を示すが血液中のHSV-DNAは陰性のことが多い。これに対し新生児では髄液中のHSV-DNAは同様に高値であるが、血液中のHSV-DNAも高値を示す(中枢神経型の新生児ヘルペス)。これは年長児の単純ヘルペス脳炎ではウイルスが神経にそって脳内に移行するのに対し、新生児の単純ヘルペス脳炎ではまずウイルス血症を引き起こし、BBBを破壊し脳内にウイルスが移行するためである。年長児や成人の単純ヘルペス脳炎では前頭葉・側頭葉での増殖が多く、新生児の単純ヘルペス脳炎では後頭葉での増殖が多いのも、感染経路の違いによるためと考えられている。

インフルエンザ インフルエンザ脳症の代表的な型の1つが、サイトカインストーム型である。これらの血液中では炎症性サイトカインの著明な上昇を認めている。発症機序として、インフルエンザ感染を契機に何らかの遺伝的素因のためサイトカインを制御できない状態が生じ、その結果、血管内皮の障害・血管透過性の亢進・blood brain barrierの破壊が引き起こされ、脳浮腫・細胞死に至ると推察されている(図)。インフルエンザ脳症では気道上皮にはウイルスの増殖を認めるが脳内にウイルスの増殖は認めない。すなわちサイトカインストームなどにより感染臓器とは別の臓器の障害は生じる。これらの病態はインフルエンザにかぎらず、ロタやエンテロなどにおいても説明できる(図)。



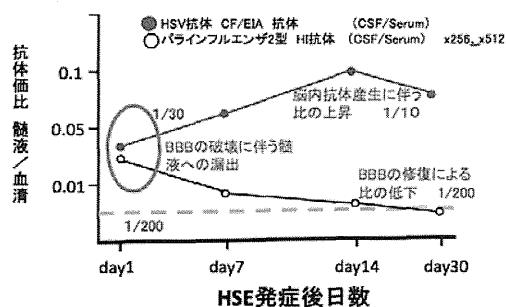
図、ウイルスの増殖がなくとも、臓器の障害は生じる

HHV6 突発性発疹症罹患時に合併する急性脳症をHHV6脳症という。HHV6脳症では血液中のHHV6-DNAは高値を示すが髄液中のHSV-DNAは陰性のことが多い。HHV6はヘルペス属の1種であり潜伏感染をするため、免疫不全状態では再活性化し脳炎を引き起こす事がある。免疫不全状態で起きる脳炎では血液中のHHV6-DNAは高値を示し、髄液中のHSV-DNAも同様に高値を示す。HHV6脳症ではHHV6の脳内での増殖は認めないが、HHV6脳炎ではHHV6は脳内で増殖を認める。同一の病原体であっても宿主の状態が異なることにより、異なる病態を呈し得る。

血液脳関門(BBB)の障害 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。炎症時にはこの漏出はさらに激しくなる。新生児ヘルペスではウイルスは血液から髄液へ移行する。血液と髄液のHSV抗体価の比を取り、差が縮まってくると脳炎と診断した。HSV脳炎では発症後に経時的に抗体価比の上昇を認めた。これに対しコントロールに用いたパラインフルエンザウイルスの抗体価比は急性期のみ軽度上昇していた(図)。このことは脳炎急性期にはBBBの破壊に伴い血液中の抗

体が髄液に流入したことを示している。我々は Evans blue 色素を用いて、抗サイトカインにより BBB が破壊されることでアルブミンが脳内に漏出することを証明した。このようにウイルス血症を呈する疾患は BBB の破壊に伴い血液が髄液へ漏出するため、脳内でウイルスが増殖している病態との鑑別が困難である。この場合、経時的に経過を評価したり、ウイルス量によって判定をおこなったりする必要がある。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。

単純ヘルペス脳炎: 脳内抗体産生とBBBの障害



図, HSV 脳炎における、脳内抗体産生と BBB の障害

D. 考察

原因不明の脳炎・脳症が疑われた場合に病因解明のために各種検体が採取される。原因病原体の違いにより治療方針や予後予測が異なるため、判定は非常に重要な役割を担っている。しかし「病原体が検出された」場合、それだけでそのウイルスが脳炎・脳症の病因と断定することはできない。

ウイルスが検出された場合は、「どの臓器 (検体)」から「どのくらいの量」が検出されたかが重要となる。ウイルスの分布を確認することで侵入経路を推察することができる。障害臓器でウイルス増殖を認めていれば臓器障害の原因と考えられる。上記の評価には、5点セット(血液、髄液、咽頭ぬぐい液、便、尿)の検体採取が重要となる。

病因の判定には以下の2点に注意が必要である。1つ目は「ウイルスの増殖がなくとも臓器障害に関与する。」場合である。インフルエンザ脳症は、中枢神経に病原体が検出されなくても中枢神経障害を来たしうる。サイトカインストームの有無など、その疾患毎の病態の把握が重要である。HHV6 の場合など、宿主の状態に応じて病

態(ウイルスの増殖パターン)が異なるケースにも注意が必要である。

2つ目は「ウイルスが増殖していても臓器障害には関与しない。」場合である。HBV キャリアでは各体液中に HBV-DNA が常に存在しているため、脳炎・脳症を発症した場合、各種検体から HBV-DNA が検出されたとしても、HBV 由来の脳障害と断定することはできない。HSV や HHV6 などのヘルペス族のウイルスは潜伏感染であるため、宿主のストレス下では少量が血液中に検出されることが稀ではない。その他にも不顕性感染や常在化した病原体、環境中存在する病原体のコンタミなど、採取検体中に病原体が検出されることは多々ある。検出感度が上がるほどこれらの頻度も上がるのでより一層の注意が必要である。

上記の問題点を解決法として以下の2点が挙げられる。

1つ目は、「病原体ごとの病態を把握すること。」である。潜伏感染や持続感染をするかどうかは重要な情報である。2つ目は「臨床現場と連携をとること」である。感染症検査以外の所見(臨床症状、各種検体検査、画像検査)は、検出された病原体と臨床像が合致するかどうかの判断材料となる。

原因不明の病原体の検索を行うには、その病原体の特性と病原体が関与する状態を詳細に把握する必要があるが、稀な病原体、新たに発見された病原体などでは情報不足で判定困難である。これを補填するためには、詳細な臨床情報と照らしあわせて、検出された病原体が病態にどのように関わったのかを慎重に判定する必要がある。

E. 結論

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、臨床現場の所見を参考にすることが重要となる。

Ⅲ: 2015 年の急性弛緩性麻痺の中国四国地区における実態調査

A. 研究目的

2015年8月以降、本邦において小児を中心にポリオ様麻痺に類似した原因不明の急性弛緩性麻痺 (AFP: Acute Flaccid

Paralysis)の症例が相次いで国立感染症研究所に報告された。一部の咽頭検体からエンテロウイルスD68 (EV-D68)が検出され、AFPとの関連が示唆されたため、国立感染症研究所を中心に臨床調査が実施された。我々は中国四国地区における網羅的実態調査を行うことでAFP症例のより正確な実態を把握するとともに、国立感染症研究所へのAFP症例の報告の喚起を行った。

B. 研究方法

対象は中国四国地区において小児科を標榜するすべての病院(196カ所)である。調査方法はまず一時調査票を郵送し、症例を認めた病院には二次調査票を電子メールにて依頼した。二次調査には国立感染症研究所を中心に行われている臨床調査のアンケートを用いた。

C. 研究結果

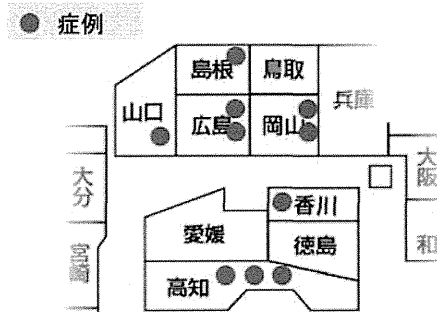
一次調査の回収率は95.4%(178/196)であり10施設10名の報告を認めた。中国四国地区の小児(0-14歳)総人口は150万人であり症例数は10名であった。発症年齢は、最年少が5ヶ月で最高齢が12歳であった(中央値:5歳6ヶ月)。一定の傾向は認めなかった。性別は男児3名、女児7名であった。

初発症状の出現時期は9月、10月が多くエンテロウイルス流行時期に一致していた。7月以前発症症例を2名認めた。全体の症例数が少ないため、本解析ではこの2例も含めた。

初発症状から麻痺出現までの期間は、最短では0日(麻痺が初発症状)、最長が7日であり、8日目以降の麻痺出現症例は認めなかった(中央値:3日)。臨床診断名は、ギランバレー症候群、ウイルス性髄膜炎、Hopkins症候群など様々であった。随伴症状(発熱、喘鳴など)と検査所見(髄液検査、MRI検査など)から臨床診断に至ったと推測される。

中国四国地方におけるAFP症例の分布は下記の通りである。小児人口に比して高知県での発症がやや多いが、9県中6件で発症しており、特定地域に限局した傾向は認めなかった。

分布



麻痺部位は、単麻痺と対麻痺が各3症例で最も多く認めた。筋萎縮は2例で認めた。いずれも麻痺出現以降に認めた。髄液細胞数は2例で増多を認めた。いずれも麻痺出現後に確認された。脊髄MRIでは4例に異常所見を認めた経過中に4例に発熱を認めた。いずれも麻痺出現前であった。経過中に3例に喘息症状を認めた。いずれも麻痺出現前であった。ポリオワクチンは8例で接種されていた。2名は不明であり、未接種者はいなかった。

D. 考察

高知県の2症例からエンテロウイルスが同定された(型は精査中)。その他の症例は精査中または未検出である。

国立感染症研究所の病原微生物検出情報によると2015年度のEV-D68は青森県、東京都、埼玉県、三重県、広島県など、複数から報告されている。報告は特定地域に限局しておらず、EV-D68全国的に広がっている可能性も否定できない。

全国の小児総人口は1670万人であるため、日本国内では約110例の発症が推察される。現在国立感染症研究所と小児神経学会を中心に、各症例を詳細に検討するための追加調査が行われている。今回の網羅的調査の結果が、全体像の把握の一助となることが期待される。

0-14歳総人口



E. 結論

今回の網羅的調査の結果が、2015年AFP症例の全体像の把握の一助となることが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

• Ishida Y, Kawashima H, Morishima T. et al: Brain magnetic resonance imaging in acute phase of pandemic influenza A (H1N1) 2009—associated encephalopathy in children. *Neuropediatrics*. 2015 Feb;46(1):20-5.

• Igarashi T, Ito S, Morishima T, et al: Guidelines for the management and investigation of hemolytic uremic syndrome. Study group for establishing guidelines for the diagnosis and therapy of hemolytic uremic syndrome. *Clin Exp Nephrol*. 2014 Aug;18(4):525-57.

• Hasegawa S, Morishima T, Ichiyama T. Cytokine profile of bronchoalveolar lavage fluid from a mouse model of bronchial asthma during seasonal H1N1 infection. *Cytokine*. 2014 Oct;69(2):206-10.

• Tsuge M, Yashiro M, Morishima T. et. al: Gene expression analysis in children with complex seizures due to influenza A(H1N1)pdm09 or rotavirus gastroenteritis. *J Neurovirol*. 2014 Feb;20(1):73-84.

• Momonaka H, Morishima T, Ichiyama T. High mobility group box 1 in patients with 2009 pandemic H1N1 influenza-associated encephalopathy. *Brain Dev*. 2014 Jun;36(6):484-8.

• Okada S, Hasegawa S, Morishima T, Ichiyama T. et. al: Analysis of bronchoalveolar lavage fluid in a mouse model of bronchial asthma and H1N1 2009 infection. *Cytokine*. 2013 Aug;63(2):194-200.

• Yamashita N, Yashiro M, Morishima T. et. al: Pathogenic mechanisms of influenza A(H1N1)pdm09 infection elucidated on gene expression profiling. *Pediatr Int*. 2013 Oct;55(5):572-7.

• Tsukahara H, Fujii Y, Yashiro M, Morishima T. et. al: Prognostic value of

brain injury biomarkers in acute encephalitis/encephalopathy. *Pediatr Int*. 2013 Aug;55(4):461-4.

• Nakatsukasa Y, Tsukahara H, Yashiro M, Morishima T. et. al:

Clinicoepidemiologic status of mother-to-child infections: a nationwide survey in Japan. Thioredoxin-1 and oxidative stress status in pregnant women at early third trimester of pregnancy: relation to maternal and neonatal characteristics. *J Clin Biochem Nutr*. 2013 Jan;52(1):27-31.

• Yashiro M, Tsukahara H, Morishima T. et. al: Redox-active protein thioredoxin-1 administration ameliorates influenza A virus (H1N1)-induced acute lung injury in mice. *Crit Care Med*. 2013 Jan;41(1):171-81.

• Hasegawa S, Morishima T, Ichiyama T. et. al: Serum soluble CD163 levels in patients with influenza-associated encephalopathy. *Brain Dev*. 2013 Aug;35(7):626-9.

• Okumura A., Morishima T. et. al: Severe form of encephalopathy associated with 2009 pandemic influenza A (H1N1) in Japan. *J Clin Virol*. 56(1):25-30, 2013

2. 学会発表

• Yashiro M., Morishima T. et. al: Difference in the profile of locally produced cytokines/chemokines in pneumonia and encephalitis of mice 16th US-Japan Acute Respiratory Infections Panel Meeting, March, 2013, Singapore

• 藤井洋輔、八代将登、森島恒雄ら：インフルエンザ感染における局所サイトカイン・ケモカインの動態. 第116回日本小児科学会. 2013年4月/広島

G. 知的所有権の取得状況
なし

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

研究分担者 亀井 聡 日本大学医学部内科学系神経内科学分野 主任教授

研究要旨

細菌性髄膜炎治療薬であるメロペネム（MEPM）の髄液移行性と結核性髄膜炎の転帰影響要因について検討した。成人細菌性髄膜炎例でMEPMを静脈内投与（2g/8時間）した際の髄液MEPM濃度を検討し、髄液MEPM濃度が起炎菌に対する最小発育阻止濃度を上回ることを確認した。成人結核性髄膜炎患者を対象とした検討結果から、来院時の重症度と水頭症、投薬までの日数、髄液ADAを転帰影響要因として同定した。

A. 研究目的

日本脳炎ならびに予防接種後を含む急性脳炎あるいは脳症と鑑別を要する疾患として、細菌性髄膜炎や結核性髄膜炎が挙げられる。

本邦において、細菌性髄膜炎の発生率は年間100万人当たり12.4と推計され、その約7割を小児が占める。細菌性髄膜炎の転帰は、死亡率が11～25%、後遺症率が15～34%と、抗菌薬の進歩にもかかわらず未だ満足すべき成績ではない。細菌性髄膜炎では、患者の有するリスクと年齢階層別の起炎菌頻度、予想される起炎菌の抗菌薬に対する耐性化率を考慮した上で抗菌薬が選択される。高用量のメロペネムは、penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) や β -lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* (BLNAR) による細菌性髄膜炎に対する標準的な治療薬として用いられているが、成人の細菌性髄膜炎例を対象とし、メロペネムの髄液移行性を検討した既報はなかったため、日本人成人細菌性髄膜炎患者を対象としMEPM 2gを8時間ごとに静脈内投与した際の髄液中のMEPM濃度を検討した。

また、本邦における結核性髄膜炎の発生率は年間100万人当たり2.0と推計され、その15%を小児が占める。全結核の0.5～1.0%を占めるにすぎないが、死亡率は軽症例で約25%、HIV感染例では約61%に達し、抗結核薬による治療が普及した現在でも転帰不良な疾患である。転帰影響要因として治療開始までの期間や意識障害の程度が指摘されているが、本邦における結核性髄膜炎の予後因子を検討した既報は限られているため、自施設とその関連施設に入院した結核性髄膜炎患者を対象とした転帰影響要因について検討した。

B. 研究方法

日本人成人細菌性髄膜炎患者を対象としMEPM 2gを8時間ごとに静脈内投与した際の髄液中のメロペネム濃度を検討した。

1981年12月から2013年12月に自施設と関連施設に入院した結核性髄膜炎成人28例を対象とし臨床情報と予後因子の関連を検討した。

これらの研究は日本大学医学部附属板橋病院の共同治験審査委員会の承認を得て行われた。

C. 研究結果

成人細菌性髄膜炎患者5名（平均年齢 60.6歳）が登録され、全例で14日間MEPMによる治療が行われた。治療期間の平均は22.6日であった。全ての患者で髄液から起炎菌が同定され、その内訳は *Streptococcus pneumoniae* (3例)、 *Staphylococcus aureus* (1例)、 *Streptococcus salivarius* (1例) であった。髄液中のメロペネム濃度は0.27～6.40 $\mu\text{g/ml}$ に分布し、4/5例でMEPM投与3時間後の髄液中濃度は1 $\mu\text{g/ml}$ 以上であった。全例で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いた。

当該期間に入院した成人結核性髄膜炎患者28例（年齢中央値49.5歳）に対して検討がなされた。HIV感染症合併例はなかった。転帰良好群18例、転帰不良群10例であり、生存群23例、死亡群5例（死亡率17.9%）であった。転帰影響要因として、来院時の重症度と水頭症、投薬までの日数、初回髄液ADA、ADA最高値が同定された。

D. 考察

細菌性髄膜炎の治療に適した抗菌薬の

条件として、耐性菌を含めたスペクトラムを有する、MICが低い、髄液への移行性が良好であることが挙げられるが、本検討結果からMEPMはこれらの条件を満たす薬剤であると考えられた。この研究結果から2013年12月に細菌性髄膜炎成人例におけるメロペネム 6 g/日の適応拡大が承認され、2014年末に公表された細菌性髄膜炎の診療ガイドライン2014では、メロペネムが最近の外科的手術・手技および外傷の既往のない免疫能が正常な16~50歳未満の菌未確定の細菌性髄膜炎に対して単独で推奨された。

結核性髄膜炎患者における予後不良因子として、高齢、水頭症の合併、中枢神経系からの結核菌の検出、中枢神経外の結核病変、脳神経麻痺、痙攣の合併、重症度、意識障害、治療の遅れなどが報告されており、本邦結核性髄膜炎成人例を対象とした検討結果と概ね合致していた。また、髄液ADAの結核性髄膜炎診断における有用性の既報はあるが、予後因子としての検討はこれまでになく、本検討結果から髄液ADAが結核性髄膜炎における予後因子なる可能性が示唆された。

E. 結論

成人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、成人結核性髄膜炎における転帰影響要因を検討し、来院時の重症度と水頭症の合併、治療開始の遅れを予後不良因子として同定した。細菌性髄膜炎や結核性髄膜炎は、早期診断と早期治療が転帰の改善に最も重要であり、これらの検討結果は急性脳炎あるいは脳症を含む中枢神経系感染症の治療に貢献すると考える。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Ishikawa H, Kamei S: Revised Japanese guidelines for the clinical management of bacterial meningitis. *Rinsho Shinkeigaku* 54 (12):1021-1023, 2014.
- Ishihara M, Ogawa K, Suzuki Y, Kamei S, Ochiai T et al: Adult-onset Satoyoshi syndrome with prominent laterality of clinical features. *Intern Med* 53(24):2811-2816, 2014.
- Morita A, Kamei S, Minami M, Yoshida K, Kawabata S et al: Open-label study to evaluate the pharmacodynamics, clinical efficacy, and safety of meropenem for adult bacterial meningitis in Japan. *J Infect Chemother* 20 (9):535-540, 2014.
- Tosa Motofumi, Hara Makoto, Morita Akihiko, Ninomiya Satoko, Ebashi Momoko, Kamei Satoshi, Masada Masafumi, Tokuhashi Yasuak

i, Hemmi Akihiro, Nemoto Norimichi. Idiopathic hypertrophic spinal pachymeningitis. *Intern Med* 2015; 54: 1923-1926

- 亀井聡: 細菌性髄膜炎における治療動向 成人例を中心に 日本化学療法学会雑誌 62:451, 2014.
- 亀井聡: 症候と画像から捉える脳炎のclinical management 神経治療学 31:556, 2014.
- 原誠、亀井聡: 【やさしくわかる神経内科これだけ7疾患】 感染性疾患 脳炎、髄膜炎、脳膿瘍. *Brain Nursing* 30(12):1265-1267, 2014
- 亀井聡: 細菌性髄膜炎診療ガイドライン2014の作成. *神経治療学* 31(4):371-374, 2014
- 森田昭彦、秋本高義、石川晴美、荒木俊彦、亀井聡: 見逃されやすい神経救急・集中治療病態の鑑別と治療 傍腫瘍性辺縁系脳炎と鑑別を要した1例 日本神経救急学会雑誌 27:37, 2014.
- 森田昭彦、原誠、亀井聡: 抗N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) 脳炎. 日本神経救急学会雑誌 26(2):1-3, 2014
- 高橋輝行、田村正人、村上円人、亀井聡、高須俊明: 感冒様症状の後に激しい後頸-後頭部痛で発症した急性石灰沈着性頸長筋炎の稀な若年女性例 神経免疫学 19:178, 2014.
- 高橋輝行、田村正人、三木健司、山口舞、亀井聡 他: 精神症状で発症した化膿性脳室炎の稀な高齢男性例 神経免疫学 19:147, 2014.
- 齋藤磨理、原誠、秋本高義、塩原恵慈、高橋恵子 他: extreme delta brushを呈するも積極的な免疫療法が奏功した抗NMDA受容体脳炎の1例 神経免疫学 19:90, 2014.
- 塩原恵慈、石川晴美、高橋恵子、齋藤磨理、亀井聡: 薬剤性パーキンソンニズムを契機に診断されIgG4との関連が疑われた肥厚性硬膜炎の1例 臨床神経学 54:685, 2014.
- 亀井聡: ニューロ・サイエンスにおける新たな挑戦 抗NMDA (N-Methyl-D-Aspartate) 受容体脳炎の確立とその動向. *日大医学雑誌* 73(2):103-105, 2014
- 石川晴美、亀井聡: 希少神経感染症 希少神経感染症のoverview *NEUROINFECTION* 20: 22-29, 2015.
- 亀井聡: 【神経蘇生ガイドライン】 神経系の蘇生を要する疾患と病態 (成人) 急性中枢神経系感染症 単純ヘルペス脳炎 日本神経救急学会雑誌 27: 39-43, 2015.
- 亀井聡: 【神経蘇生ガイドライン】 神経系の蘇生を要する疾患と病態 (成人) 急性中枢神経系感染症 細菌性髄膜炎 日本神経救急学会雑誌

- 誌 27: 43-46, 2015.
19. 亀井聡：【神経蘇生ガイドライン】神経系の蘇生を要する疾患と病態（成人）急性中枢神経系感染症 結核性髄膜炎 日本神経救急学会雑誌 27: 46-49, 2015.
 20. 亀井聡：【神経蘇生ガイドライン】神経系の蘇生を要する疾患と病態（成人）急性中枢神経系感染症 抗NMDA受容体脳炎 日本神経救急学会雑誌 27: 49-54, 2015.
 21. 亀井聡：【細菌性髄膜炎の臨床と最新の治療】院内感染・施設内感染 Clinical Neuroscience 11: 1225-1228, 2015.
 22. 亀井聡：【細菌性髄膜炎の臨床と最新の治療】疫学 Clinical Neuroscience 11: 1216-1219, 2015.
 23. 亀井聡, 三木健司, 荒木俊彦, 高橋育子, 佐々木秀直, 中嶋秀人, 松木充, 高橋輝行, 田村正人, 石川晴美, 日本神経治療学会治療指針作成委員会：標準的神経治療 結核性髄膜炎 神経治療学 32: 511-532, 2015.
2. 学会発表
 1. 森田昭彦, 亀井聡, 南正之, 吉田一人, 河端聡, 黒田宙, 鈴木靖士, 荒木信夫, 岩崎泰雄, 小林麗, 林直毅, 平山哲之, 落合淳, 上田美紀, 山岸由佳, 丹羽淳一, 進藤克郎, 福嶋由尚, 田北智裕, 佐藤貴之, 佐藤滋, 三嶋廣繁, 岩田敏：成人細菌性髄膜炎におけるメロペネム (MEPM) の髄液移行性について 第55回日本神経学会総会, 福岡, 2014.5
 2. 江橋桃子, 二宮智子, 齋藤磨理, 森田昭彦, 南正之, 塩田宏嗣, 大石實, 亀井聡：小脳を中心に辺縁系まで病変の広がりを認め、マイコプラズマ感染が疑われた急性脳炎の22歳女性例 第209回日本神経学会関東甲信越地区地方会, 東京, 2014.6
 3. 齋藤磨理, 原誠, 秋本高義, 塩原恵慈, 高橋恵子, 森田昭彦, 石川晴美, 塩田宏嗣, 大石實, 亀井聡：extreme delta brushを呈するも積極的な免疫療法が奏功した抗NMDA受容体脳炎の一例 第19回日本神経感染症学会学術集会, 金沢, 2014.9
 4. 見附和鷹, 齋藤磨理, 原誠, 森田昭彦, 南正之, 塩田宏嗣, 大石實, 亀井聡：亜急性の小脳失調で発症し、抗Yo抗体陽性を認め、腹膜癌による傍腫瘍症候群と考えられた63歳女性例 第210回日本神経学会関東甲信越地区地方会, 東京, 2014.9
 5. 二宮智子, 森田昭彦, 寺本紘子, 原誠, 楠進, 中根俊成, 樋口理, 亀井聡：自律神経障害が主体のギラン・バレー症候群に経静脈的免疫グロブリン療法が奏効した41歳男性例 第32回日本神経治療学会総会, 東京, 2014.11
6. 塩原恵慈, 原誠, 秋本高義, 南正之, 石川晴美, 野田博子, 増田しのぶ, 亀井聡：中枢神経に局限したPR3-ANCA陽性血管炎の20歳女性例 第212回日本神経学会関東甲信越地区地方会, 東京, 2015.3
 7. 秋本高義, 石川晴美, 森田昭彦, 原誠, 齋藤磨理, 二宮智子, 高橋恵子, 南正之, 荒木俊彦, 三木健司, 古市眞, 亀井聡：当院および関連施設における結核性髄膜炎28例の検討 第56回日本神経学会総会, 新潟, 2015.5
 8. 秋本高義, 塩原恵慈, 原誠, 森田昭彦, 石川晴美, 亀井聡, 楠進：Cytomegalovirus感染が明らかではなかった抗GM2 IgM抗体陽性Facial diplegia and paresthesiaの1例 第213回日本神経学会関東甲信越地区地方会, 東京, 2015.6
 9. 稲垣喜則, 蓮見禎行, 佐野太一, 大木隆史, 高橋恵子, 小川克彦, 鈴木裕, 相馬正義, 亀井聡：迅速な治療で良好な転帰を得た超高齢者脳炎の1例 第616回日本内科学会関東地方会, 東京, 2015.7
 10. 亀井聡：細菌性髄膜炎の診断と治療ガイドラインから 第33回日本神経治療学会総会, 名古屋, 2015.11
 11. 高橋輝行, 田村正人, 三木健司, 亀井聡, 高須 俊明：Crowned Dens Syndrome (CDS) 35症例の臨床的解析 第33回日本神経治療学会総会, 名古屋, 2015.11
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得
該当事項無し。
 2. 実用新案登録
該当事項無し。
 3. その他
該当事項無し。

「日本脳炎の実験室診断 IgM 捕捉 ELISA 法の改良および
日本脳炎患者・ウイルスサーベイランス」

研究分担者	高崎智彦	国立感染症研究所	ウイルス第一部	室長
研究協力者	田島 茂	国立感染症研究所	ウイルス第一部	主任研究官
	中山絵里	国立感染症研究所	ウイルス第一部	研究官
	モイ メンリン	国立感染症研究所	ウイルス第一部	研究官
		現 長崎大学熱帯医学研究所		准教授
	小滝 徹	国立感染症研究所	ウイルス第一部	協力研究員
		現 株式会社ダナフォーム		研究員

研究要旨

我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かりの日数が必要とされるのが現状である。発症早期の検体が得られないことが多いため、髄液中の抗日本脳炎 IgM 抗体検出が非常に重要であり WHO のパネル血清評価などを用いて感度・特異性を高めた。平成 26 年度には本研究班を通じての検査依頼のうち、1 症例が日本脳炎であることを確定した。また、ここ数年、韓国で日本脳炎ウイルス遺伝子 V 型ウイルスの蚊からの検出が相次いでおり、1990 年代前半に III 型から I 型にシフトしたように V 型ウイルスへのシフトの可能性があることが明らかになった。III 型株が製造株である現行日本脳炎ワクチンが、V 型に対して有効性が低いという報告もあることから、我が国でも今後より積極的な V 型に対するウイルスサーベイランスが必要である。

A. 研究目的

日本脳炎（日脳）の実験室診断は、髄液・血清からのウイルス遺伝子検出と IgM 抗体検出を実施する。ウエストナイルウイルスやデングウイルスなど他のフラビウイルス感染症と鑑別が必要な場合は、中和抗体検査を実施する。日本脳炎の場合、脳炎症状を呈した後すみやかに髄液中に IgM 抗体を検出することができる。我が国の日本脳炎実験室診断は、検査会社では HI（赤血球凝集抑制）法あるいは CF（補体結合反応）が用いられているが、

感度の点から IgM 捕捉 ELISA 法が優れており、IgM 捕捉 ELISA 法が世界的に標準法とされている。また、髄液からのウイルス遺伝子検出は、脳炎発症後早期のものでない限り検出は困難なことが多いが、検出感度を上げるため Nested 逆転写 PCR 法を用いた場合は、非特異反応や偽陽性を来すことがあるため、蛍光標識プローブを用いたリアルタイム PCR 法 (TaqMan 法) を用いて、国内で見逃されている日本脳炎症例の掘り起こしを行なった。また、JEV には 5 つの遺伝子型があるが、国

内で分離されるウイルスは90年代初頭に境に III 型から I 型へと変化した。同様の变化は日だけでなく、韓国やベトナムでもほぼ同時期に起こっていた。近年、中国と韓国で相次いで遺伝子型 V 型の検出、同定されている。わが国で V 型ウイルスへの遺伝子型シフトが起こる可能性を中国 CDC、韓国 CDC と検討、意見交換した。

B. 研究方法

1) 日本脳炎ウイルス遺伝子検出

日脳ウイルス遺伝子 III、I 型共通検出用 (NS5 用)、遺伝子 1 型検出用 (E 領域)、遺伝子 3 型検出用 (E 領域) として、を用いて検討した。

2) 抗日本脳炎ウイルス IgM 抗体検査

抗ヒト IgM 抗体単クローン抗体を 96 穴 ELISA プレートにコーティングし、ブロッキングの上、100 倍希釈した血清を検査検体とし、1 時間室温で反応させた後、プレート洗浄後、そこに細胞培養不活化日本脳炎ウイルス抗原を加え、2 時間室温で反応させる。プレートを洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗フラビウイルス IgG 抗体を 30 分間室温で反応させプレートを洗浄した後、TMB (3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine) ペルオキシダーゼ気質液を加え遮光下に 8 分間反応させ、1 規定硫酸を等量加えて反応を停止し、ELISA リーダーにより測定した。

C. 研究結果

本研究班で原因不明の急性脳炎から、日本脳炎ウイルス遺伝子、IgM 抗体が検出されたのは 1 例のみであった。

D. 考察

日本脳炎は、地域によってはすでに過去の感染症であるという認識が強いのか、急性脳炎を診察しても日本脳炎が鑑別診断として想起されないようである。したがって、日本脳炎の診断にはウイルス遺伝子検出よりも、抗日脳 IgM 抗体検出が重要である。特に、日本脳炎では脳炎発症後早期に髄液中に IgM 抗体が出現し、「髄液中の IgM 抗体陽性」は中枢神経系で日脳ウイルスが増殖したことを間接的に示唆するものであることを医療関係者に啓蒙する必要がある。本研究班で原因不明の急性脳炎から、日本脳炎ウイルス遺伝子、IgM 抗体が検出されたのは 1 例のみであったが、この 3 年間で近畿地方 (京都府、兵庫県)、関東地方 (千葉県) でも患者が発生している。夏季の急性脳炎で日本脳炎が検査されていない症例が存在すると考えられる。また最近、韓国で V 型株への遺伝子型シフトが発生している可能性を考慮して、日本でも日脳ウイルス V 型株に関するサーベイランスを開始する必要がある。

E. 結論

日本脳炎の場合髄液中の IgM 抗体検出が診断上重要である。また、日本脳炎症例が報告された場合は、隠れた日脳症例を掘り起こすために公表の上すみやかに警鐘を発出する必要がある。近年中国と韓国で相次いで分離同定された遺伝子型 V 型日本脳炎ウイルスに対する現行の日本脳炎ワクチンの中和効果は、遺伝子型 I 型や III 型株に比べて弱いという報告がある。日本でも V 型ウイルスのサーベイランスが必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1、齋藤悠香、Moi Meng Ling、竹下望、林昌宏、司馬肇、細野邦昭、西條政幸、倉根一郎、高崎智彦. Fc γ R 発現細胞を用いた新規中和アッセイにて日本脳炎

ワクチン接種者におけるデングウイルスに対する中和・感染増強能の検討.

第 62 回日本ウイルス学会学術集会. 平成 26 年 11 月 10~12 日 (横浜市)

G. 知的所有権の取得状況

特になし.

不明脳炎症例におけるウイルスの網羅的検索

研究分担者	片野晴隆	国立感染症研究所	感染病理部	室長
研究協力者	福本 瞳	国立感染症研究所	感染病理部	
	保科しほ	国立感染症研究所	感染病理部	
	高橋健太	国立感染症研究所	感染病理部	
	峰宗太郎	国立感染症研究所	感染病理部	
	長谷川秀樹	国立感染症研究所	感染病理部	部長
	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	長
	関塚剛史	国立感染症研究所	病原体ゲノム解析研究センター	
	高崎智彦	国立感染症研究所	ウイルス第一部	室長

研究要旨

原因不明の急性脳炎・脳症の症例の髄液、血清、咽頭ぬぐい液、便、尿からウイルスの網羅的検索を行った。multivirus real-time PCR では 94 例の解析を行い、16 例から病態と何らかの関連があると考えられる病原体が検出された。内訳はコクサッキーウイルス、ヒトヘルペスウイルス 6B, パレコウイルス 3 などであった。これらの結果は日本の不明脳炎症例における微生物学的なエビデンスを提供する。

A. 研究目的

感染症法では急性脳炎（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、日本脳炎、ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く）は 5 類感染症に分類され、診断した医師は 7 日以内に最寄りの保健所に届け出なければならない。年間、数百の症例が存在し、単純ヘルペスウイルスのほかに、インフルエンザウイルスやムンプスウイルス、ロタウイルスなどさまざまなウイルスが原因とされているが、少なくとも 3 割程度は、原因不明とされている。また、日本脳炎の検索をしている症例は多くなく、日本脳炎の紛れ込みがどの程度あるか、知られていない。本研究班では、原因不明の急性脳炎・脳症例から検体を収集し、日本脳炎を鑑別すると共に、網羅的な病原体検索を行い、脳炎・脳症、急性散在性脳脊髄炎（acute disseminated encephalo myelitis; ADEM）の実態・病因解明に資するデータを採取することを目的とする。

平成 25 年 11 月 22 日付で、厚生労働省結核感染症課から全国の感染症対策課へ

「日本脳炎及び予防接種後を含む急性脳炎・脳症等の実態把握について」の事務連絡がなされ、感染症法に基づき医療機関から届出のあった急性脳炎症例のうち、地方衛生研究所等において病原体が確認されない場合、又は、地方衛生研究所等での検査が困難と判断された場合、研究班において詳細な解析を行う旨が連絡された。この事務連絡により、全国の医療機関、地方衛生研究所より、原因不明の脳炎のサンプルが当研究所へ送られ、解析に供されることとなった。本分担研究では、この事務連絡に基づいて送付された原因不明の脳炎症例のサンプル（髄液、血清、咽頭ぬぐい液、便、尿）から、原因ウイルスの同定を行う目的で、real-time PCR を応用したウイルスの網羅的検出法を行った。

B. 研究方法

1) 臨床検体

検体収集の方法と、感染研における検査の役割分担は研究代表者の報告書を参照されたい。感染研に到着した検体（髄液、血清、鼻咽頭ぬぐい液、尿、便）は、原則