

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）による、様々な種類の免疫抑制が関与する致命的な脱髄疾患である。また、その診断においては脳脊髄液（CSF）中の JCV ゲノム DNA を検出する PCR 検査が有用である。私たちは、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。2007 年から 2016 年 11 月までに合計 1,659 件の検査が実施され、172 名の PML 患者が確認された。また、2016 年 4 月より、検査受付時に PML サーベイランス委員会における PML 疑い症例登録について主治医から承諾を受け、都立駒込病院内の PML 情報センターにおける臨床情報の収集（41 例分）を支援した。また、本年度から従来の手法よりも鋭敏な超高感度 PCR 検査を導入した。2016 年 1 月から 11 月までの 150 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。同期間において当検査を実施した被検者 61 名中 32 名が CSF-JCV 陽性を呈した。同検査における陽性者のうち、9 名が HIV 感染症、7 名が自己免疫疾患、4 名が腎疾患、3 名が血液疾患、9 名がその他の疾患もしくは複数の基礎疾患を有した。また、フィンゴリモドを長期服用していた多発性硬化症患者 2 名の CSF が JCV 陽性反応を呈し、薬剤関連 PML の可能性を考慮して本研究班に報告した。超高感度 PCR 検査系（検出下限値 10～50 コピー/mL）を確立し、その検査法を導入したことにより、CSF 中の微量 JCV をより高感度に検出することが可能になった。本研究成績は、日本における PML の疫学的特徴を反映しており、その発症の背景についての有用な情報基盤となる。

### A. 研究目的

進行性多巣性白質脳症（Progressive Multifocal Leukoencephalopathy: PML）は、免疫不全患者等の脳において JC ウイルス（JCV）が増殖することで引き起こされる。PML は免疫抑制に関連した多様な疾患と合併して発生することから、その動向や背景を把握することは、医療行政において重要である。しかし、日本では、PML を含む各種疾患に関する大規模パブリックデータベースが整備されていない。PML の診断に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

目的とした。2016 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 は QIAamp MinElute Virus Spin Kit（Qiagen 社製）を用いて抽出した。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。

## 2) 医療機関への 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。

## 4) PML 疑い症例登録の支援

検査受付時に主治医に対して本研究班への情報提供について説明し、承諾が得られた場合にのみ主治医の連絡先（患者情報は含まれない）を都立駒込病院脳神経内科（三浦義治医師、本研究班の研究分担者）に転送した。

### （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

2007 年 4 月から 2016 年 11 月までに、1,659 件の検査を実施した。被検者 1,348 名中 172 名の CSF に JCV-DNA が検出された。また、2016 年 4 月より、検査受付時に PML サーベイランス委員会における PML 疑い症例登録について主治医から承諾を受け、都立駒込病院内の PML 情報センターにおける臨床情報の収集（41 例分）を支援した。2016 年 1 月から 11 月に、150 件の検査を実施し、56 検体が JCV-DNA 陽性を呈した。同期間に当検査が実施された被検者 61 名中 32 名が CSF-JCV 陽性を呈し、新規の PML 患者として確認された。また、これらの患者のうち、15 名においては、コマーシャルベースの CSF 中 JCV 検査が実施されていたが、確認検査

もしくはフォローアップ検査を目的として当研究室に検体が提出された。加えて、同期間よりも以前に陽性が確認された患者を含む 20 名の PML 患者のフォローアップ検査を実施した。

### 2) CSF-JCV 陽性者の分析

2016 年 1-11 月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 32 名の臨床情報を解析した。年齢の中央値は 58.5 歳、男性が約 59%であった。陽性者 32 名の基礎疾患の内訳は、HIV 感染症、自己免疫疾患、腎疾患、血液腫瘍系疾患、その他の疾患もしくは複数の基礎疾患が、それぞれ 9 名、7 名（SLE 5 名、多発性硬化症 2 名）、4 名、3 名、9 名であった。多発性硬化症を有した患者 2 名はフィンゴリモドの長期投与を受けていた。また、10~50 コピー/mL の JCV-DNA を検出しうる超高感度 PCR 検査系の採用により、4 名の患者において従来の検査の検出下限値（200 コピー/mL）を下回る量のウイルス DNA が検出された。

同時期にコマーシャルベースの CSF 中 JCV 検査が実施された 15 名中 7 名の患者（47%）では JCV-DNA が検出されず陰性を呈していたが、当研究室の検査では陽性を呈した。また、陽性者 32 名中 2 名においては、米国 NIH および当研究室の両方で CSF 中 JCV の超高感度 PCR 検査が実施され、ともに陽性反応を示した。

## D. 考察

本サーベイランスは PML 患者数の規模が限られる反面、詳細な臨床情報をリアルタイムで収集することができるという利点を有する。また、PML 患者だけでなく被検者全体の情報が集積されるため、基礎疾患や性別といった様々な角度から PML 発生の背景を解析することが可能である。

今年度の本実験室サーベイランスにおける大きな変更点としては、超高感度 PCR 検査系の確立およびその導入が挙げられる。本法は高度濃縮精製が可能な核酸抽出カラムおよび独自のプロトコルを用いる検査系であり、ルーチン検査において検出下限値 50 コピー/mL、最高感度の検査において 10 コピー/mL の JCV-DNA を検出することができる。これまでに用いてきた同検査の検出下限値は 200 コピー/mL 程度であり、

PCRにおいて微量のシグナルが検出されたにも関わらず、陽性判定に至らないケースが散見された。しかし、超高感度PCR検査系を用いることでCSF中の極微量JCVを検出することが可能となった。フィンゴリモード投与中の多発性硬化症患者2名の検査においては、この検査系が用いられた。また、抗レトロウイルス療法が施行された患者の場合にはCSF中のJCV量が減少することが多いが、本検査系を用いた場合には同療法を受けたHIV陽性者においてもCSF中JCVを検出していた。そのため、超高感度PCR検査系はPML疑い患者を対象とした検査法として、従来のPCR検査系に比較してより有用であることが示唆された。

特筆すべき点として、本研究期間におけるJCV-DNA陽性者のうち、15名の患者でコマーシャルベースのPCR検査が実施されていたが、約47%の患者においては陰性であり、当研究室の超高感度PCR検査において陽性を呈したことが挙げられる。国内において実施が可能なコマーシャルベースのCSF中JCV検査は、検出下限値が200コピー/mL前後であることが知られており、それらの検査において陰性であったとしてもPMLの可能性を否定せず、超高感度検査を実施することの重要性が明らかとなった。

また、今年度より医療機関からCSF中JCV検査が依頼された時点で本研究班への患者情報の提供について説明し、主治医から承諾が得られた場合には都立駒込病院に連絡先を転送している。その後、都立駒込病院からPML疑い症例の登録について主治医に説明および同意の取得が行われ、より詳しい症例情報の解析がなされるようになった。超高感度検査系およびPML疑い症例の登録は本年度より開始されたが、日本国内におけるPMLの発生动向および診断や治療法の検討等において、これらのシステムが有用であることが示唆された。

## 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。本研究期間におけるCSF-JCV陽性者のパターンは近年と同様であったが、多発性硬化症患者2名において陽性例が認められた。また、本サーベイランスにおいて超高感度PCR検査が採用さ

れ、より鋭敏な検査が可能となった。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ishibashi K, Miura Y, Matsumura K, Kanemasa Y, Nakamichi K, Saijo M, Toyohara J, Ishii K. PET imaging of 18F-FDG, 11C-methionine, 11C-flumazenil and 11C-4DST in progressive multifocal leukoencephalopathy: a case report. *Intern Med*, in press.
- 2) Aotsuka Y, Uzawa A, Nishimura K, Kojima K, Yamaguchi M, Makino T, Nakamichi K, Saijo M, Kuwabara S. Progressive multifocal leukoencephalopathy localized in the cerebellum and brainstem associated with idiopathic CD4+ T lymphocytopenia. *Intern Med* 55:1645-1647, 2016.
- 3) Yokokawa K, Hisahara S, Matsuura Y, Ikeda K, Tsuda E, Saitoh M, Nakamichi K, Saijo M, Kamihara Y, Sato T, Kawamata J, Shimohama S. Progressive multifocal leukoencephalopathy after autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with multiple myeloma treated with combination therapy. *J Neurol Sci* 368:304-306, 2016.

### 2. 学会発表

- 1) 中道一生, 西條政幸. JC ウイルス感染の実態と検出法. 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会, 金沢, 10.21-22, 2016.
- 2) 三浦義治, 岸田修二, 中道一生, 西條政幸, 高橋健太, 鈴木忠樹, 三條伸夫, 阿江竜介, 澤 洋文, 奴久妻聡一, 宍戸-原由紀子, 雪竹基弘, 浜口 毅, 水澤英洋, 山田正仁. PMLの診断と治療. 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会, 金沢, 10.21-22, 2016.
- 3) 伊崎祥子, 田中 覚, 田島考士, 中道一生, 西條政幸, 高橋健太, 長谷川秀樹, 野村恭一. 特発性 CD4+リンパ球減少症の関連が示唆され、メフロキンが有効であった小脳・脳幹型進行性多巣性白質脳症の1剖検例. 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会, 金沢, 10.21-22, 2016.
- 4) 福田晃史郎, 石橋賢士, 松村 謙,

金政祐典, 中道一生, 西條政幸, 三浦義治. 血管免疫芽球性 T 細胞リンパ腫治療後に両側視力障害にて発症し, PET 検査が有用であった進行性多巣性白質脳症の 63 歳男性例. 第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会, 金沢, 10.21-22, 2016.

5) 古川貴大, 松井尚子, 山崎博輝, 和泉唯信, 中道一生, 西條政幸, 梶 龍兒. 非 HIV 関連進行性多巣性白質脳症の 3 例. 第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会, 金沢, 10.21-22, 2016.

6) 三浦義治, 中道一生, 西條政幸, 岸田修二, 高橋健太, 鈴木忠樹, 三條伸夫, 阿江竜介, 澤 洋文, 奴久妻聡一, 原 由紀子, 雪竹基弘, 浜口 毅, 水澤英洋, 山田正仁. 本邦発症進行性多巣性白質脳症患者に対する塩酸メフロキン治療の多数例における有効性の解析. 第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会, 金沢, 10.21-22, 2016.

7) 中道一生, 林 昌宏, 西條政幸. 限外濾過デ

バイスを用いた脳脊髄液中 JC ウイルスの高感度 PCR 検査系の確立および臨床検査における有用性の評価. 第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会, 金沢, 10.21-22, 2016.

8) 中道一生, 林 昌宏, 西條政幸. JC ポリオーマウイルスの調節領域における転写因子結合配列の *in silico* 解析. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会, 札幌, 10.23-25, 2016.

#### 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