

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
総括研究報告書

エンテロウイルス等感染症を含む急性弛緩性麻痺・急性脳炎・脳症の
原因究明に資する臨床疫学研究

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 2007～2016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)3,919例の疫学所見について解析した。報告数は2013年から4年連続で増加し、2016年の報告数は716例であった。診断時の年齢中央値は5歳(0～98歳)、男女比は1.25:1であった。2016年は0～4歳が最多で、各年齢群ともにインフルエンザウイルスが原因病原体として最も多く報告された。病原体不明として届けられた症例について定量的PCRを応用したウイルス、細菌、真菌の網羅的検索系を開発した。2016年度は7例について検討し、3例からコクサッキーウイルスA6、アデノウイルス5型、型不明のエンテロウイルス(以下、EV)が検出された。病原体不明急性脳炎(脳症)症例の中に日本脳炎(Japanese encephalitis: 以下、JE)が紛れ込んでいないかについて、JEウイルス特異的IgM抗体の測定により検討したがJEの紛れ込みは認められなかった。2016年度には25年ぶりに10例を超える11例のJEの報告例があり(過去2年間は年間2例)、今後も原因病原体不明急性脳炎(脳症)患者からのJEVの検索は重要であると考えられた。病原体病原体検索には適切な検体採取・搬送が重要であるが、検体採取、検体搬送に関するガイドライン案を作成した。

エンテロウイルス(Enterovirus: 以下、EV)感染症に伴う髄膜炎や脳脊髄炎と鑑別を要する病態として、EV以外のウイルスや細菌などの感染因子の他、自己免疫疾患や傍腫瘍性神経症候群、自己免疫介在性脳炎などが挙げられる。中耳炎や副鼻腔炎などの耳鼻科領域の感染症に合併した細菌性髄膜炎では、感染により骨破壊と硬膜を損傷し髄膜炎を発症するが、骨病変の検出にしばしば難渋する。本検討から3次元画像構築ソフトウェア(Ziostation®)を用いた骨病変同定法は、菌の侵入門戸となる欠損孔の同定に強力な診断デバイスとなることが示唆された。

2015年9月中旬に、急性弛緩性麻痺(acute flaccid paralysis: AFP)を認める小児例の多発が報告され、感染症法に基づく積極的疫学調査の一環として、2015年8月～12月に発症したAFP症例の症例探査が実施された(一次調査)。これらを対象として、本研究班で臨床・疫学情報に関する詳細な二次調査を行った結果、急性弛緩性脊髄炎(acute flaccid myelitis: AFM)と診断される症例が全国で多発し、その数は59例にのぼることが判明した。原因病原体として疑われたエンテロウイルスD68(以下、EVD68)遺伝子の検出・同定法としては、EVD68特異的リアルタイムRT-PCR法の検出感度が高く、症例の一部に由来する臨床検体から、EVD68を検出した。咽頭拭い液からの検出頻度が比較的高かったが、髄液や血液からの検出事例も認められた。検出されたEVD68株3株について次世代シーケンス解析により、分離株は遺伝子型Clade Bに分類された。福島県、中国四国地方については、積極的症例探索により、全AFP症例の探知を試みた。福島県では、AFPおよび急性脳炎・脳症の発生を前方視的に調査したが、2014～2016年に福島県でAFPの発生はなかった。急性脳炎・脳症は、毎年10例前後の症例が認められたが、EVが関与したと思われる症例は認めなかった。中国・四国地方の小児科では、積極的症例探索に加えて、EVD68の早期診断体制を整備するため、RT-PCR法を用いて確定診断を行う体制を確立した。

2015年に報告された59例のAFMの症状は気道感染症が先行した後に四肢の運動麻痺が急に出現し、検査では髄液細胞増多を伴うといった共通の特徴が見られた。14病日以内の初回検査において、運動神経の複合筋活動電位の振幅低下と、F波の出現頻度の低下が約8割の症例に認められた。初回検査でF波の出現率が正常であることは神経学的予後良好因子であることが示された。画像所見については、全例で脊髄病変が認められ、長い縦走病変が特徴であり、灰白質のみでなく白質にも病変を認める例が多かった。ガドリニウム造影では、馬尾の造影効果が高率であった。脊髄病変の範囲と麻痺の分布との間には、しばしば乖離を認め、全脊髄に病変を認めても、単麻痺を示す例も稀でなかった。ガドリニウム造影効果は、発症後早期には稀で、やや遅れて出現する傾向を認めた。米国では2014年のAFMの多発に続き2016年にも同様の多発が確認されている。日本でも次のAFM症例の多発に備えて、早期探知、早期診断に繋げるためには、AFPサーベイランスの構築と診療ガイドラインが必要であると考えられた。

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学特命教授

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

片野晴隆：国立感染症研究所感染病理部室長

田島 茂：国立感染症研究所ウイルス第一部主任研究官

清水博之：国立感染症研究所ウイルス第二部室長

細矢光亮：福島県立医科大学小児科主任教授

吉良龍太郎：福岡市立こども病院小児神経科科長

奥村彰久：愛知医科大学医学部小児科学教授

鳥巢浩幸：福岡歯科大学総合医学講座小児科学分野准教授

安元佐和：福岡大学医学部医学教育推進講座教授

森 壱：東京大学医学部附属病院放射線科准教授

A . 研究目的

病原体不明急性脳炎・脳症ならびに予防接種後脳炎・脳症症例に関して、ウイルス、細菌、真菌を含めた病原体遺伝子の網羅的検索を行い、原因微生物を同定して、わが国における急性脳炎・脳症の疫学を明らかにするとともに、病原体不明急性脳炎・髄膜炎・脊髄炎の中に日本脳炎が含まれていないかについて抗体検査により確認することを目的とする。また、急性脳炎・脳症、急性弛緩性麻痺（acute flaccid paralysis, 以下 AFP）症例の病原体診断には、急性期ならびに回復期の適切な臨床検体の採取、保管、搬送が必要なことからガイドライン等を作成し、医療機関に啓発するとともに、病原体診断の向上に努めることを目的とする。

2015 年秋に国内で多発した AFP/急性弛緩性脊髄炎(acute flaccid myelitis: 以下、AFM)の臨床的特徴を明らかにすると共に、AFP/AFM サーベイランスの体制強化、病原体検索、神経症状や予後との関係、適切な画像診断法とその至適施行時期、神経生理学的特徴の解明と電気生理学的診断法の確立・臨床的有用性の検証を行うと共に新しい対策の立案に繋げることを目的とする。また、AFP/AFM 症例に由来する検体から、EV-D68を含む EV を検出・同定する手法を検討し、検出された EV-D68 の分子疫学的・ウイルス学的解析を行うとともに、AFP サーベイランスの国内導入について検討し、AFP などの合併症を呈するエンテロウイルス感染症の実

態を把握することを目的とする。

また、全数把握が可能と考えられる地域については、急性脳炎・脳症、急性散在性脳脊髄炎（ADEM）/多発性硬化症（MS）、GBS を含む AFP、細菌性・ウイルス性髄膜炎等の感染症関連神経疾患の全例を把握するリアルタイム報告システムを確立し、全国における発生動向調査のモデルと成り得るかについて検討するとともに、感染症関連神経疾患に関与した病原体を可能な限り明らかにすることを目的とする。

B . 研究方法

感染症発生動向調査に基づく5類感染症急性脳炎（脳症を含む）として届けられた症例のうち、病原体不明で届けられた症例について、研究班での網羅的病原体検索に同意が得られ症例の5点セット（血液、髄液、呼吸器由来検体、便、尿）および急性期と回復期のペア血清を臨床症状、検査所見とともに研究班に送付してもらい、研究分担者の片野らにより網羅的リアルタイムPCR法で数十種類のウイルス、細菌、リケッチア、真菌のゲノム検索を実施し、田島らにより日本脳炎特異的IgM抗体価の測定を行い病原体不明急性脳炎症例の中に日本脳炎が紛れ込んでいる可能性を検討する。予防接種後脳炎・脳症症例に関しては、予防接種法に基づく予防接種後副反応疑い報告として医療機関から届けられた脳炎・脳症・急性散在性脳脊髄炎（ADEM）症例について、研究班での網羅的病原体検索に同意が得られ症例について、上記と同様の検討を行う。

2015年に多発したAFP症例の検討については、2015年に感染症法に基づく積極的疫学調査により収集された症例について、国立感染症研究所のヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会の承認を得て、詳細な症状、予後、検査結果、画像検査結果、神経生理学的検査結果について検討し、AFMとそれ以外のAFP症例に分類し、詳細な臨床的検討を行う。病原体検索については、感染症法に基づく積極的疫学調査により収集した検体について、地方衛生研究所ならびに国立感染症研究所で病原体検索を実施し、EVD68については、ウイルス遺伝子検出に最も感度の高い方法を検討し、送付された臨床検体について検討を行った。

詳細な全例調査が可能な地域については、地域での症例収集方法を確立し、今後の全国展開に資する方法かについて検討する。

(倫理面への配慮)

本研究班による研究は「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」の承認を得て実施した。

C. 研究結果

2007～2016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)について検討した。報告数の合計は3,919例であり、診断時の年齢中央値は5歳(0～98歳)男女比は1.25:1であった。報告数は2013年から4年連続で増加し、2016年は716例であった。見つかった原因病原体の中ではインフルエンザウイルスが最多であった。急性期検体の保存は近年適切に行われるようになってきており、検体の質も比較的良好に保たれていた。一方、搬送方法については、十分に周知されていない部分があったことから、検体採取ならびに検体搬送のガイドライン案を作成した。

急性脳炎(脳症を含む)の原因病原体を検索するために、定量的PCRを応用したウイルス、細菌、真菌の網羅的検索系を開発した。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)のうち、原因病原体不明として届けられた症例のうち、研究班での病原体検索に同意が得られた7例について検討し、3例からコクサッキーウイルスA6、アデノウイルス5型、型不明のエンテロウイルス(以下、EV)が検出された。

2016年は25年ぶりに10例を超える11例の日本脳炎(以下、JE)の報告例があった(過去2年間は年間2例)。原因病原体不明の急性脳炎(脳症)からJEの紛れ込みを除外するために、JEV特異的IgM抗体の検出を試みた結果、1検体(血清)が判定保留となった以外は全検体陰性であった(判定保留となった検体の症例については、再検ができなかったが、同日に採取された髄液検体が陰性であったことから、JEは否定的と考えられた)。

EV感染症に伴う髄膜炎や脳脊髄炎と鑑別を要する病態として、EV以外のウイルスや細菌などの感染因子の他、自己免疫疾患や傍腫瘍性神経症候群、自己免疫介在性脳炎などが挙げられる。中耳炎や副鼻腔炎などの耳鼻科領域の感染症に合併した細菌性髄膜炎では、感染により骨破壊と硬膜を損傷し髄膜炎を発症するが、骨病変の検出にしばしば難渋する。本検討から3次元画像構築ソフトウェア(Ziostation®)を用いた骨病変同定法は、菌の侵入門戸となる欠損孔の同定に強力な診断デバイスとなることが示唆された。

2015年9月中旬に、AFPを認める小児例の多発が報告され、感染症法に基づく積極的疫学調査の一環として、2015年8月～12月に発症したAFP症例の症例探査が実施された(一次調査)。これらを対象として、臨床・疫学情報に関する詳細な二次調査を行った結果、AFMと診断される症例が全国で多発し、その数は59例にのぼることが判明した。症

状は気道感染症が先行した後に四肢の運動麻痺が急に出現し、検査では髄液細胞増多を伴うといった共通の特徴が見られた。14病日以内の初回検査において、運動神経の複合筋活動電位の振幅低下と、F波の出現頻度の低下が約8割の症例に認められた。初回検査でF波の出現率が正常であることは神経学的予後良好因子であることが示された。画像所見については、全例で脊髄病変が認められ、長い縦走病変が特徴であり、灰白質のみでなく白質にも病変を認める例が多かった。ガドリニウム造影では、馬尾の造影効果が高率であった。脊髄病変の範囲と麻痺の分布との間には、しばしば乖離を認め、全脊髄に病変を認めても、単麻痺を示す例も稀でなかった。ガドリニウム造影効果は、発症後早期には稀で、やや遅れて出現する傾向を認めた。

AFMの原因の一つとして疑われているEVD68遺伝子の検出・同定法としては、EVD68特異的リアルタイムRT-PCR法の検出感度が高く、症例の一部に由来する臨床検体から、EVD68を検出した。咽頭拭い液からの検出頻度が比較的高かったが、髄液や血液からの検出事例も認められた。検出されたEVD68株3株について次世代シーケンス解析により、分離株は遺伝子型Clade Bに分類された。

中国・四国地方の小児科では、EVD68の早期診断体制を整備するため、RT-PCR法を用いて確定診断を行う体制を岡山大学小児科にて確立し、ヘルペス科ウイルスの検索とともに、早期に実施できる体制を構築した。

福島県では、AFPおよび急性脳炎・脳症の発生を前方視的に調査した。AFPは、2014～2016年の期間に福島県での発生はなかったが、急性脳炎・脳症は、2014年に12例、2015年に13例、2016年に8例の発生があった。検討の結果、EVが関与したと思われる症例は認めなかった。

D. 考察

原因不明の急性脳炎(脳症)は未だ多く、今後も一人でも多くの原因病原体を解明することで、病原体の違いによる症状・所見の特徴が明らかになることが期待される。また、2016年は25年ぶりに日本脳炎の報告数が10例を超えたが、原因不明急性脳炎の中に日本脳炎が紛れ込んでいる可能性は否定できず、今後も原因不明の急性脳炎(脳症)症例から、JEVの検索を継続して実施していく必要があると考えられた。

2015年に多発したAFP症例に関する詳細な検討により、59例のAFMが同定され、AFM症例の特徴、予後を明らかにすることができた。今後はこれらの研究結果を活用して、早期探知、早期診断に繋がるようなガイドラインの作成と普及が喫緊の課題である。また、全国規模で継続的なAFPサーベイランスの実施が必要と考えられた。

病原体診断には適切な臨床検体の採取が最も重要である。急性脳炎、脳症、AFP症例を診断した際に、適切な臨床検体の採取ならびに保管、搬送が可能となるようなガイドラインを作成し、これらを医療機関等に普及させる必要があると考えられた。

E . 結論

2007～2016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）3,919例の疫学所見について解析した。原因不明として届けられた急性脳炎（脳症）からコクサッキーウイルスA6、アデノウイルス5型、型不明のエンテロウイルス（以下、EV）が検出された。検討した症例の中にJEの紛れ込みは認められなかった。原因病原体検索には適切な検体採取・搬送が重要であるが、検体採取、検体搬送に関するガイドライン案を作成した。髄膜炎、脳炎の鑑別として耳鼻科領域の骨病変の検出にしばしば難渋するが3次元画像構築ソフトウェア（Ziostation®）を用いた骨病変同定法は強力な診断デバイスとなることが示唆された。

2015年9月中旬に、AFPを認める小児例の多発が報告され、詳細な検討の結果、59例がAFMの症例定義を満たした。AFMとの関連が疑われているEVD68遺伝子の検出・同定法としては、EVD68特異的リアルタイムRT-PCR法の検出感度が高く、咽頭拭い液からの検出頻度が比較的高かったが、髄液や血液からの検出事例も認められた。分離株は遺伝子型Clade Bに分類された。2014～2016年に福島県でAFP症例の発生はなかったが、急性脳炎・脳症は、毎年10例前後認められた。中国・四国地方の小児科では、積極的症例探索に加えて、EVD68とヘルペス科ウイルスの確定診断を行う体制を確立した。2015年に多発したAFMの症状、検査所見、画像所見、神経生理学的検査所見についてその特徴をまとめて報告した。次の流行の早期探知、早期診断に繋げるためには、AFPサーベイランスの構築と診療ガイドラインが必要である。

F . 研究発表

（研究分担者、研究協力者は分担研究報告書に記載）

1. 論文発表

1. Sato M, Kuroda M, Kasai M, Matsui H, Fukuyama T, Katano H, Tanaka-Taya K. Acute encephalopathy in an immunocompromised boy with astrovirus-MLB1 infection detected by next generation sequencing. J Clin Virol. 78:66-70. 2016.
2. Kimura K, Fukushima T, Katada N, Shimizu H, Nakamura T, Fujimoto T, Hanaoka N, Tanaka-Taya K, Makino K. Clinical Practice. Adult Case of Acute Flaccid Paralysis with Enterovirus D68 Detected in the CSF. Neurology: 2016. Published online before print
3. 多屋馨子. 日本脳炎は過去の病気か？ ワクチンをどう使う？. 臨床とウイルス. 44 : 227-234. 2017.
4. 多屋馨子. 2015年に多発した急性弛緩性麻痺症例の概要. 臨床とウイルス. 44 : 101-106. 2016.
5. 藤本嗣人、花岡 希、多屋馨子、清水博之. エンテロウイルス D68 と関連疾患 エンテロウイルス (D68 を含む) の検査方法. 臨床とウイルス. 44 : 84-89. 2016.
6. 奥野英雄、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課題. 小児科. 56 (6) : 831-837. 2015.

2. 学会発表

1. Hideo Okuno, Tomimasa Sunagawa, Sae ko Morino, Hiroshi Satoh, Satoru Arai, Kazunori Oishi, Keiko Tanaka-Taya: Pathogenic agents detected among acute encephalitis and encephalopathy cases less than 5 years of age, Japan, 2011-2015. Tokyo, June 2016.

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