

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。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 30 年度(12 月現在)までに合計 1,932 件の検査を実施し、252 名の PML 患者を確認した。また、平成 29 年度に引き続いて、従来の検査よりも鋭敏な超高感度 PCR 検査、ならびに本研究班の PML サーベイランス委員会における PML 疑い症例登録の支援を継続した。平成 30 年 1 月から 12 月までに医療機関から依頼された 220 件の検査の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 136 名のうち、44 名が CSF-JCV 陽性を呈した。同検査における陽性者のうち、血液疾患、HIV 感染症、自己免疫疾患、その他の基礎疾患を有した患者が、それぞれ 14 名、8 名、5 名、10 名であった。また、70 代以上の高齢者を中心として、明らかな基礎疾患が認められない患者 7 名に JCV 陽性反応が認められた。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、免疫不全患者等の中枢神経組織において 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、医療行政を適切に実施する上で重要である。

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 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 が一般的な検査手法となっている。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本研究の目的とした。平成 30 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 MinElute Virus Spin Kit(Qiagen 社製)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、加水分解プローブ)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情報をインターネットサイトに公開している。医療機関の主治医等から電子メールにて検査の依頼を受け付けた後、検体輸送用のキットを依頼者に送付した。輸送キットを用いて当研究所に到着した CSF 検体から DNA を抽出し、リアルタイム PCR を用いた定量検査によって JCV ゲノムのコピー数を測定

した。解析結果を依頼者に報告した。

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主治医に送付し、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

主治医からの検査依頼を受け付けた際、本研究班における PML 疑い症例の登録について説明し、承諾を得た後で主治医の連絡先を PML サーベイランス委員会に転送した。

(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

平成19年4月から同30年12月現在までに、1,932件のCSF中JCVのPCR検査を実施した。被検者1,627名のうち252名のCSFにおいてJCV-DNAを検出した。また、平成28年4月より、検査受付時に主治医に対して本研究班のPML疑い症例登録について説明し、PMLサーベイランス委員会に主治医の連絡先を転送している。登録開始から平成30年12月現在までに、約330名の主治医の情報を同委員会に転送し、本研究班におけるPMLサーベイランスを支援した。平成30年1月から12月までの1年間においては、220件の検査を実施し、105検体(陽性後のフォローアップ検査を含む)においてJCV-DNAを検出した。同期間において当検査を実施した被検者136名のうち、44名がCSF-JCV陽性を呈し、新規陽性者として確認された。また、14名の陽性者においては、民間検査会社でのCSF中JCV検査が実施されていたが、9例が陽性と判定されておらず、当研究室での超高感度検査を実施することでJCV陽性であることが判明した。

2) CSF-JCV陽性者の分析

平成29年1月から12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44名の臨床情報を解析した。陽性者の年齢の中央値は60.0歳であり、男性が59.0%であった。陽性

者44名の基礎疾患の内訳は、①血液腫瘍系疾患14名(悪性リンパ腫、白血病等)、②HIV感染症8名、③自己免疫疾患5名(SLE、多発性硬化症等)、④その他10名であった。加えて、70代以上の高齢者を中心として、明らかな基礎疾患が認められない患者7名にJCV陽性反応が認められた。

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。平成 30 年度の本実験室サーベイランスにおいては、平成 28 年度に導入した超高感度 PCR 検査を継続した。本法は下限値 10 コピー/mL までの JCV-DNA を検出することが可能である。これまで用いられ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。超高感度 PCR 検査系を用いることで CSF 中の極微量の JCV-DNA を確実に検出することが可能となり、より多くの CSF-JCV 陽性者の確認に繋がっている。

また、近年では、コマーシャルベースの CSF 中 JCV 検査において陰性と判断された検体が、当研究室における超高感度検査によって陽性を呈するケースが珍しくない。併せて、民間検査会社において CSF 中 JCV 検査が実施された後、当研究室に超高感度検査が依頼されるケースが増えている。CSF 中 JCV の超高感度検査は、その工程において熟達した作業者が手作業で検査を行う必要があるため、検査の自動化が困難である。一方、民間企業の CSF 中 JCV 検査はハイスループット化がなされており、迅速性や簡便性において利点を有する。近年では、PML が疑われた場合にコマーシャルベースで迅速検査が実施された後、当研究室に確認検査もしくはフォローアップ検査が依頼されるケースが目立っている。つまり、より多くの PML 疑い患者について民間検査会社でスクリーニングが実施された後、超高感度検査を目的として当研究室に症例情報が集積されるフローが

考えられる。この現状は、本研究班における PML サーベイランスの効率化において有用であると考える。

本年度の実験室サーベイランスにおいては、血液疾患や HIV 感染症、自己免疫疾患を有する患者を中心として CSF-JCV 陽性者が認められた。これらの傾向は日本国内における PML に特徴的なパターンであることが推察された。しかし、本年度においては CSF-JCV 陽性者 44 名のうち 7 名において明らかな基礎疾患が認められず、例年とは異なった特徴が観察された。これらの患者について、主治医から提供された臨床情報を解析したところ、7 名中 6 名が 68 歳以上の高齢者であり、5 名が脳生検もしくは民間検査会社における CSF 検査において JCV 陽性を呈していた。免疫抑制を伴う明確な基礎疾患が認められない高齢者における PML について、そのリスクの分析ならびに臨床へのアナウンスが重要である。

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。本年度における CSF-JCV 陽性者のパターンは近年と比較して概ね同様であったが、明らかな基礎疾患が認められない高齢者における陽性例が複数認められた。また、一昨年度から引き続いて超高感度 PCR 検査を継続し、より多くの PML の診断に貢献した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kinoshita H, Nakamichi K, Lim CK, Takayama-Ito M, Wang L, Iizuka I, Kurane I, Saijo M. A loop-mediated isothermal amplification assay for the detection and quantification of JC polyomavirus in cerebrospinal fluid: a diagnostic and clinical management tool and technique for progressive multifocal leukoencephalopathy. *Virology* 15:136, 2018.

2) Ueno T, Sato N, Kon T, Haga R, Nunomura JI, Nakamichi K, Saijo M, Tomiyama M. Progressive multifocal leukoencephalopathy associated with thymoma with immunodeficiency: a case report and literature review. *BMC Neurol* 18:37, 2018.

2. 学会発表

1) 中道一生, 西條政幸. 進行性多巣性白質脳症が疑われた自己免疫疾患患者の脳脊髄液における JC ウイルスゲノム DNA の検出. 第 23 回日本神経感染症学会学術大会, 東京, 10.19-20, 2018.

2) 徳井啓介, 丹羽淳一, 林 未久, 比嘉智子, 中道一生, 西條政幸, 道勇 学. 成人 T 細胞白血病を背景に当初非典型的な頭部 MRI 所見を呈し、脳生検にて診断確定に至った進行性多巣性白質脳症の 1 例. 第 23 回日本神経感染症学会学術大会, 東京, 10.19-20, 2018.

3) 竹腰 顕, 吉倉延亮, 小澤憲司, 大槻美佳, 中道一生, 西條政幸, 下畑享良. 経過中にバリエーション症候群を呈し、塩酸メフロキンとミルタザピンの併用療法により改善した進行性多巣性白質脳症の 1 例. 第 23 回日本神経感染症学会学術大会, 東京, 10.19-20, 2018.

4) 中道一生, 西條政幸. 進行性多巣性白質脳症の原因と診断. 第 36 回日本神経治療学会学術集会, 東京, 11.23-25, 2018.

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