

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）
（総合）研究報告書

急性脳炎（脳症を含む）症例からの病原体網羅的検索に関する研究

研究分担者	藤本 嗣人	国立感染症研究所	室 長
研究協力者	花岡 希	国立感染症研究所	主任研究官
研究協力者	小長谷 昌未	国立感染症研究所	協力研究員
研究協力者	新橋 玲子	国立感染症研究所	協力研究員
研究協力者	森野 紗衣子	国立感染症研究所	主任研究官

研究要旨

平成 30 年(2018 年)度に発生した原因不明の脳炎患者として届けられた 37 名からの臨床検体 220 件について網羅的な病原体検出(ウイルス・細菌)を実施した。37 名中 11 名(29.7%)から脳炎の病原体を検出・同定した。検出病原体は、エンテロウイルス、ライノウイルス、パラインフルエンザウイルス、パレコウイルス、HHV-6、アデノウイルス、メタニューモウイルスであった。

A . 研究目的

脳炎（脳症）は原因不明でおわることが多く、臨床的・疫学的に問題となっている。また、民間の検査センターや病院、地衛研で検査されても原因が不明のことも多い。そこで原因不明とされた脳炎・脳症の患者検体に関して病原体を明らかにすることを目的とした。

B . 研究方法

【核酸抽出】様々な臨床検体200ulからHi gh Pure Viral Nucleic Acid Kit（ロシュ）をDNA, RNA同時抽出した。

【Real-time 多項目検出】: FTD: Fast track Diagnosticsの4種のキットを組み合わせることによって以下の32種の病原体を検出した(スクリーニング)。試験は内在性、試験コントロールを含む。

インフルエンザウイルス A
インフルエンザウイルスH1N1
インフルエンザ ウイルスB
ライノウイルス
コロナウイルス NL63
コロナウイルス229E
コロナウイルスOC43
コロナウイルスHKU1
パラインフルエンザ 1
パラインフルエンザ 2
パラインフルエンザ 3

パラインフルエンザ 4
ヒトメタニューモウイルス A/B
ポカウイルス
肺炎マイコプラズマ
RSウイルス A/B
アデノウイルス
エンテロウイルス
パレコウイルス
単純ヘルペスウイルス 1
単純ヘルペスウイルス 2
水痘・帯状疱疹ウイルス
流行性耳下腺炎ウイルス(ムンプスウイルス)
ノロウイルスG1
ノロウイルスG2
アストロウイルス
ロタウイルス
サポウイルス
ヒトヘルペスウイルス6
ヒトヘルペスウイルス7
パルボウイルスB19
麻しんウイルス

各病原体が陽性になった場合は、個別の病原体に関して確認検査を実施した。

（倫理面への配慮）
国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理審査(承認番号965)で承認されており、患者の同意が得られない検体は検査から除外した。

C . 研究結果

37名の患者から採取された220検体に関して病原体の網羅的検索を行ない、11例(29.7%)から脳炎の原因と考えうる病原体が検出された。

【エンテロウイルス】

1例はエコーウイルス11型が喀痰に加えて、血漿からも検出された。

【ライノウイルスおよびパラインフルエンザウイルス】

ライノウイルスが4例から単独で検出され、他の1例では咽頭ぬぐい液から、ライノウイルスに加えてパラインフルエンザ3型が検出された。

【パレコウイルス】

1例でパレコウイルス5型が血清、咽頭、便および尿から検出された。糞便から41型が検出された1例の糞便でパレコウイルス1型も検出された。

【HHV-6】

1例の血清からHHV-6が検出された。

【アデノウイルス、メタニューモウイルス】
1例の咽頭ぬぐい液からアデノウイルス3型およびメタニューモウイルスが検出された。

【アデノウイルス、パレコウイルス】

1例の2回採取された糞便から、いずれもアデノウイルス41型が検出された。2回目に採取された糞便からパレコウイルス1型が検出された(上記のパレコウイルス項目にも記載したものと同一)。アデノウイルス2型および3型も検出された。

【その他：備考】

HHV-6のみが検出された患者は上記の血清から検出された1例以外の3症例で検出されたが呼吸器検体や全血検体からの検出のため病原体陽性と判定しなかった。

同様に、HHV-7のみ陽性の6症例およびHHV-6とHHV-7の両方が陽性となった1症例も

D. 考察

インフルエンザ脳症や、ヘルペス脳炎のように頻度が高い脳炎は既に、民間の検査センターや病院、地衛研で検査され、それらが見つからず病原体不明として届けられた急性

脳炎(脳症をふくむ)症例からの網羅的病原体検索を実施した。

そのため、インフルエンザウイルスや単純ヘルペスウイルスのように脳炎・脳症の頻度が高い病原体は今回の研究で検出されていない。

エンテロウイルス、パレコウイルス、およびHHV-6は脳炎を引き起こすことで知られる。2018年度に、これらのウイルスが全て検出された。

エンテロウイルスは100以上の型があるが、そのうちエコーウイルス11型が検出され脳炎の病原体と考えられた。

パレコウイルスは10を超える型の存在が知られている。このうち特に1型と3型が脳炎の病原体として知られている。今回、1型が検出されたが糞便から41型との重複検出であった。5型は検出自体が希であり、重症患者から5型を検出したことは今回の研究の大きな成果として強調される。HHV-6は血球成分を含まない血清から検出された場合のみ脳炎の病原体としての意義があるとされ、今回は1例で血清から検出され脳炎の原因と考えられた。

ライノウイルスは、エンテロウイルスおよびピコルナウイルスと同じく、ピコルナウイルス科に属する。今回、4例でライノウイルスの単独検出であり、うち3例は糞便検体のみからの検出であった。通常、ライノウイルスは呼吸器感染症の病原体として知られる。今回の研究では間に合わなかったが、検出されたライノウイルスに関するウイルス学的な検討が必要と考えられた。単独検出4例中の1例は血清と咽頭ぬぐい液からの検出であり、病原体と考えられた。

アデノウイルスは脳炎の原因となることが報告されている。今回、2型、3型および41型が検出されいずれも原因となった可能性がある。2型は単独感染であったが、3型および41型はそれぞれメタニューモウイルスおよびパレコウイルス1型との重複検出である。いずれも脳炎の原因になることが報告されているウイルスであり、結果の解釈は臨床症状も含めて総合的になされるべきである。

E. 結論

脳炎患者37名から採取された220件の臨床検体について網羅的病原体検索を実施したところ、11例(29.7%)から脳炎の原因と考えうる病原体を検出することが可能であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1: [Hanaoka N](#), [Ito S](#), [Konagaya M](#), [Nojiri N](#), [Yasuda M](#), [Fujimoto T](#), [Deguchi T](#). Infectious human adenoviruses are shed in urine even after disappearance of urethral symptoms. *PLoS One*. 2019 Mar 6;14(3):e0212434.

2: Fujimoto T, Hanaoka N, Konagaya M, Kobayashi M, Nakagawa H, Hatano H, Tsukahara-Kawamura T, Uchio E, Kaneko H. Evaluation of a silver-amplified immunochromatography kit for adenoviral conjunctivitis. *J Med Virol*. 2019 Jan 19.

3: Matsuura K, Terasaka Y, Uchio E, Saeki Y, Fujimoto T, Hanaoka N, Miyazaki D, Inoue Y. Human adenoviral type 54 keratoconjunctivitis accompanied by stellate keratitis and keratic precipitates: two cases. *BMC Ophthalmol*. 2019 Jan 7; 19(1):7.

4: Okumura A, Mori H, Fee Chong P, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Tanaka-Taya K; Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study Investigators. Serial MRI findings of acute flaccid myelitis during an outbreak of enterovirus D68 infection in Japan. *Brain Dev*. 2018 Dec 26.

5: Takahashi S, Metcalf CJE, Arima Y, Fujimoto T, Shimizu H, Rogier van Doorn H, Le Van T, Chan YF, Farrar JJ, Oishi K, Grenfell BT. Epidemic dynamics, interactions and predictability of enteroviruses associated with hand, foot and mouth disease in Japan. *J R Soc Interface*. 2018 Sep 12; 15(146).

6: Thongprachum A, Fujimoto T, Takashi S, Saito H, Okitsu S, Shimizu H, Khamrin P, Maneekarn N, Hayakawa S, Ushijima H. Detection of nineteen enteric viruses in raw sewage in Japan. *Infect Genet Evol*. 2018 Sep; 63:17-23.

7: Tsukahara-Kawamura T, Fujimoto T, Gonzalez G, Hanaoka N, Konagaya M, Arashiro T, Saeki Y, Uchio E. Epidemic Keratoconjunctivitis Cases Resulting from Adenovirus Types 8 and 54 Detected at Fukuoka University Hospital between 2014 and 2015. *Jpn J Infect Dis*. 2018 Jul 24;71(4):322-324.

8: Tatsumi C, Iizuka S, Mita T, Wada M, Hanaoka N, Fujimoto T. First Identification of Human Adenovirus 57 (HAdV-57) in Japan. *Jpn J Infect Dis*. 2018 Jul 24;71(4):259-263.

9: Hashimoto S, Gonzalez G, Harada S, Oosako H, Hanaoka N, Hinokuma R, Fujimoto T. Recombinant type Human mastadenovirus D85 associated with epidemic keratoconjunctivitis since 2015 in

Japan. *J Med Virol*. 2018 May;90(5):881-889.

10: Nakamura H, Fujisawa T, Suga S, Taniguchi K, Nagao M, Ito M, Ochiai H, Konagaya M, Hanaoka N, Fujimoto T. Species differences in circulation and inflammatory responses in children with common respiratory adenovirus infections. *J Med Virol*. 2018 May; 90(5): 873-880.

2. 学会発表

1: 藤本嗣人、高橋健一郎、花岡希、田村まり子、鈴木葉子、杉原茂孝、渡邊日出海。Simultaneous diagnosis of group A Streptococcus and Adenovirus of pharyngitis patients were useful for judicious antibiotic use. 第66回日本ウイルス学会学術集会。10月28 - 30日, 2018年, 京都市。

2: THONGPRACHUM Aksara, NOMURA Akiko, TAKANASHI Sayaka, FUJIMOTO Tsuguto, OKITSU Shoko, HAYAKAWA Satoshi, USHIJIMA Hiroshi. Further study of detection of enteric viruses in raw sewage in Japan. 第66回日本ウイルス学会学術集会。10月28 - 30日, 2018年, 京都市。

3: 藤本嗣人。アデノウイルスの型と疾患・流行。第59回 日本臨床ウイルス学会。6月9 - 10日, 2018年, 大宮市。

4: Kazuhiro Yoshida, Tsuguto Fujimoto, Masamichi Muramatsu, Hiroyuki Shimizu. 深層学習を用いた手足口病症例報告数の予測。10月28 - 30日, 2018年, 京都市。

5: 川村朋子、花岡希、藤本嗣人、小長谷昌未、内尾英一。新型アデノウイルス(53, 54, 56型)に対する米国イムノクロマトキットの評価。角膜カンファレンス2019。2月7 - 9日, 2019年, 京都市。

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし