

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）
分担研究報告書

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
研究協力者	新井 智	国立感染症研究所	主任研究官

研究要旨

2019年の急性脳炎・脳症患者18名の臨床検体100件について網羅的な病原体検索をしたところ8名(44.4%)で病態と関連する可能性がある病原体が検出された。検出病原体は、重複検出を含めるとHHV-6(1例)、Parechovirus(1例)、Enterovirus(1例)、パルボウイルスB19(1例)、アデノウイルス(4例)、ライノウイルス(2例)、およびコロナウイルスNL63(1例)と同定された。アデノウイルスが検出された4名のうち2名は単独検出であり、病態との関連が示唆された。

A . 研究目的

急性脳炎（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急性脳炎・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High Pure Viral Nucleic Acid Kit（ロシュ）を用いてウイルスゲノムを抽出した。

【Real-time 多項目検出】：FTD: Fast track Diagnosticsの4種のキットを組み合わせて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ウイルス 1
パラインフルエンザウイルス 2

パラインフルエンザウイルス 3
パラインフルエンザウイルス 4
ヒトメタニューモウイルス A/B
ボカウイルス
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
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
麻疹ウイルス

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

18 例の患者から採取された 100 検体に関して病原体の網羅的検索を行ない、8 例 (44.4 %) から急性脳炎・脳症の原因となりえる病原体が検出された。

【HHV-6】

1 例の急性期血清から HHV-6 が検出された。

【パレコウイルス】

1 例でパレコウイルス 1 型が糞便および尿から検出された。

【エンテロウイルス】

1 例はコクサッキーウイルス A16 型が糞便から検出された。

【パルボウイルス B19】

1 例で急性期血清および喀痰からパルボウイルス B19 が検出された。

【アデノウイルス】

2 症例から検出された。1 例は急性期血清から 2 型が、1 例は咽頭検体および糞便検体から 3 型が検出された。

【ライノウイルス】

ライノウイルスが 2 例から検出されたがアデノウイルス 5 型およびコロナウイルスが検出された症例からの重複検出であった。

【コロナウイルス】

1 症例で咽頭検体からコロナウイルス NL63 が検出された。ライノウイルスとの重複検出であった。

【その他】

HHV-7 が咽頭検体から検出された 2 症例がみられたが、病態との関連は低く、病原体検査陰性と判定した。

D. 考察

インフルエンザ脳症や、ヘルペス脳症のように頻度が高い脳炎・脳症は既に、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（脳症を含む）症例からの網羅的病原体検索を実施した。

その結果、予想されたとおり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、

今回の研究でも検出された。

エンテロウイルスは 100 以上の型があるが、そのうちコクサッキーウイルス A16 型が検出され脳炎の病原体であることが示唆された。

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と尿から検出された。

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、エンテロウイルスと同じピコルナウイルス科に属する。今回、2 例から検出されたが他の病原体との重複検出であった。

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 型と 3 型が単独で検出され、急性脳炎・脳症との関連が強く示唆された。

E. 結論

2019 年に原因不明の急性脳炎・脳症として検査依頼があった 18 症例からの 100 件の臨床検体について網羅的病原体検索を実施した。その結果、8 名 (44.4 %) で病態と関連する可能性がある病原体が検出された。検出病原体は、重複検出を含め HHV-6 (1 例)、Parvovirus (1 例)、Enterovirus (1 例)、パルボウイルス B19 (1 例)、アデノウイルス (4 例)、ライノウイルス (2 例)、およびコロナウイルス NL63 (1 例) と同定された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1: Tsukahara-Kawamura T, Hanaoka N, Konagaya M, Uchio E, Fujimoto T. Characteristic of slow growth in cell culture of adenovirus type 54 causing nationwide outbreak epidemic keratoconjunctivitis in Japan. *Jpn J Ophthalmol*. 2020 Mar 3. doi: 10.1007/s10384-020-00727-2. [Epub ahead of print]

2: Takahashi K, Gonzalez G, Kobayashi M, Hanaoka N, Carr MJ, Konagaya M, Nojiri N, Ogi M, Fujimoto T. Pediatric Infections by Human mastadenovirus C Types 2, 89, and a Recombinant Type Detected in Japan between 2011 and 2018. *Viruses*. 2019 Dec 6;11(12). pii: E1131. doi: 10.3390/v11121131. PubMed PMID: 31817764.

3: Miyazaki M, Hara K, Takayoshi T, Kawase T, Nakagawa Y, Arai T, Sugimoto T, Nishiyama K, Gonzalez G, Hanaoka N, Fujimoto T, Yasutomo Y, Yokono K. Epidemic Myalgia Associated with Human Parechovirus Type 3 Infection. *Intern Med.* 2020 Mar 1;59(5):739-744. doi: 10.2169/internalmedicine.3326-19. Epub 2019 Oct 31. PubMed PMID: 31666464.

○ 4: Gonzalez G, Carr MJ, Kobayashi M, Hanaoka N, Fujimoto T. Enterovirus-Associated Hand-Foot and Mouth Disease and Neurological Complications in Japan and the Rest of the World. *Int J Mol Sci.* 2019 Oct 20;20(20). pii: E5201. doi: 10.3390/ijms20205201. Review. PubMed PMID: 31635198.

5: Kaneko H, Hanaoka N, Konagaya M, Tsukahara-Kawamura T, Kobayashi M, Nakagawa H, Hatano H, Ikuta K, Fujimoto T. Conjunctivitis Due to the Human Adenovirus Type 2 Variant Identified during Epidemic Keratoconjunctivitis Surveillance in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2019 Sep 19;72(5):353-355. doi: 10.7883/yoken.JJID.2019.064. Epub 2019 Jul 31. PubMed PMID: 31366858.

○ 6: Hatayama K, Goto S, Yashiro M, Mori H, Fujimoto T, Hanaoka N, Tanaka-Taya K, Zuzan T, Inoue M. Acute flaccid myelitis associated with enterovirus D68 in a non-epidemic setting. *IDCases.* 2019 May 3;17:e00549. doi: 10.1016/j.idcr.2019.e00549. eCollection 2019. PubMed PMID: 31193053.

7: Funakoshi Y, Ito K, Morino S, Kinoshita K, Morikawa Y, Kono T, Doan YH, Shimizu H, Hanaoka N, Konagaya M, Fujimoto T, Suzuki A, Chiba T, Akiba T, Tomaru Y, Watanabe K, Shimizu N, Horikoshi Y. Enterovirus D68 respiratory infection in a children's hospital in Japan in 2015. *Pediatr Int.* 2019 Aug;61(8):768-776. doi:10.1111/ped.13903. Epub 2019 Aug 22. PubMed PMID: 31136073.

8: Takahashi K, Fujimoto T, Hanaoka N, Tamura M, Suzuki Y, Sugihara S. Useful manifestations to detect adenovirus in children with upper respiratory infections: A retrospective study. *J Med Virol.* 2019 Apr 25. doi: 10.1002/jm

v.25492. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31021428.

9: Migita H, Ueno T, Tsukahara-Kawamura T, Saeki Y, Hanaoka N, Fujimoto T, Uchio E. Evaluation of adenovirus amplified detection of immunochromatographic test using tears including conjunctival exudate in patients with adenoviral keratoconjunctivitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2019 Apr;257(4):815-820.

10: 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 Jun;91(6):1030-1035. doi: 10.1002/jmv.25404. Epub 2019 Jan 28. PubMed PMID: 30659635.

○ 11: 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.* 2019 May;41(5):443-451. doi:10.1016/j.braindev.2018.12.001. Epub 2018 Dec 26. PubMed PMID: 30594353.

○ 12: 藤本 嗣人, 花岡 希, 小長谷 昌未, 高橋健一郎, 多屋馨子, 清水博之. エンテロウイルス脳炎と検体採取について. *I ASR Vol. 40 p107-108*:2019年 6月号

2. 学会発表

1. 藤本 嗣人. アデノウイルス型別法の20年間における変遷への対応. 第20回 アデノウイルス研究会. 7月6日, 2019年, 京都市.
2. 藤本 嗣人. アデノウイルスの疫学情報. 第56回 日本眼感染症学会 イブニングセミナー7月6日, 2019年, 京都.
3. 花岡 希, 伊藤 晋, 藤本 嗣人. 尿道炎患者から分離されたアデノウイルス7型の解析. 第93回 日本感染症学会. 4月5日, 2019年, 名古屋市.
4. 花岡 希, 高橋 健一郎, 藤本 嗣人. アデノウイルスワクチンの現状と課題. 第23回ワクチン学会. 11月30日, 2019年, 東京都.
5. 高橋 健一郎, 花岡 希, 鈴木 葉子, 杉原 茂孝, 藤本 嗣人. 小児急性咽頭炎に

- 対する臨床症状に基づいたアデノウイルス抗原迅速検査の効果的な使用法の検討 . 日本感染症学会東日本地方会学術集会 . 10月17日 , 2019年 , 仙台市 .
6. 花岡 希、藤本 嗣人 . オゾン化アルコール消毒剤「アルタント」の抗アデノウイルス活性について . 日本感染症学会東日本地方会学術集会 . 10月17日 , 仙台市 .
 7. 花岡 希、吉田 英一、藤本 嗣人 . オゾン化アルコール消毒剤「アルタント」、オゾン化ノンアルコール消毒剤「イソタント」の抗アデノウイルス活性について . 環境感染症学会 : 2020年2月14日 (金) (横浜市)
 8. 佐渡 一成、花岡 希、藤本 嗣人 . 仙台市での流行性角結膜炎関連アデノウイルスの流行型情報に関する調査 : 仙台のアデノウイルス流行型情報 . 日本眼感染症学会 . 7月5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