

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

**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**

平成28年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 多屋 馨子

平成29(2017)年 5月

目 次

I . 総括研究報告

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 多屋 馨子	-----	1
--	-------	---

II . 分担研究報告

1 . 原因不明の急性脳炎（脳症を含む）の発生動向と病原体診断のための検体の確保・ 搬送に関する研究 多屋 馨子 （資料）急性脳炎の届出まとめ 2007～2015年	-----	5
2 . 中国・四国小児科におけるEVD68の早期診断体制整備に関する研究 森島 恒雄	-----	9
3 . 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 亀井 聡	-----	12
4 . 不明脳炎症例におけるウイルス等の網羅的検索 片野 晴隆 （資料）脳炎、脳症のための病原体検索法における検索対象微生物一覧	-----	14
5 . 急性脳炎・脳症患者のアルボウイルス実験室診断・ウイルスサーベイランス 田島 茂 （資料）平成28年度 日本脳炎IgM ELISA結果	-----	18
6 . エンテロウイルスに関連した急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症に関する研究 清水 博之	-----	22
7 . 急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症に関する臨床疫学研究 細矢 光亮	-----	25
8 . 2015年秋に多発した急性弛緩性脊髄炎の臨床像の解明 吉良 龍太郎	-----	26
9 . エンテロウイルスD68流行期の小児の急性弛緩性脊髄炎の神経画像所見に関する 研究 奥村 彰久 森 壘 （資料）脊髄病変の範囲と麻痺の分布、髄内の病変の分布と麻痺の分布 初回のガドリニウム造影効果と麻痺の分布、 ガドリニウム造影効果の経時的変化	-----	29
10 . 急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症の神経生理学的研究に関する研究 鳥巢 浩幸 安元 佐和	-----	33

III . 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	36
----------------------	-------	----

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

原因不明の急性脳炎（脳症を含む）の発生動向と病原体診断のための検体の確保・搬送に関する研究

研究分担者 多屋馨子（国立感染症研究所 感染症疫学センター）
研究協力者 奥野英雄（国立感染症研究所 感染症疫学センター）
研究協力者 新井 智（国立感染症研究所 感染症疫学センター）
研究協力者 佐藤 弘（国立感染症研究所 感染症疫学センター）
研究協力者 森野紗衣子（国立感染症研究所 感染症疫学センター）
研究協力者 砂川富正（国立感染症研究所 感染症疫学センター）

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）は3,919例であった。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。2016年9月から2017年3月までに9例の原因不明急性脳炎（脳症を含む）の病原体検索が研究班で実施された。研究班からの啓発により近年、急性期検体が確保/保存さ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。研究班では、検体の輸送に関してIATAの国際基準に則った取り扱いを行っているが、各施設で十分な周知がなされておらず、ヒトに感染性のある荷物(カテゴリーB相当)に関しては、一般の宅配便の利用が約款において制限されている事実が十分に周知されていないと考えられ、今後ガイドライン等で周知する必要があると考えられた。

A．研究目的

急性脳炎（脳症を含む）は感染症発生動向調査に基づく五類感染症全数把握疾患に指定され、診断したすべての医師に診断から7日以内の届出が義務づけられている。2007年～2016年の感染症発生動向調査から、急性脳炎（脳症を含む）の報告を集計し、現状分析を行うことを目的とした。

また、本研究班では、感染症発生動向調査に病原体不明のまま届け出られた急性脳炎（脳症を含む）の症例に関して、報告自治体に問い合わせを行い、報告医師と患者（保護者）の同意のもと、病原体検索を行っている。病原体検索には、検体の種類とその質の評価が必要であることから、これらの情報の周知と啓発を行うことを目的とした。

B．研究方法

感染症発生動向調査に基づいて2007～2016年の10年間に報告された急性脳炎（脳症を含む）を診断週、報告都道府県、報告患者年齢別に解析し、原因病原体の集計を行った。

2016年9月～2017年3月までに本研究班で病原体検索を行った症例に関して、検体の種類やその質を評価した。各症例について、研究班に搬入された急性期検体（髄液、血液、呼吸器由来検体、便、尿）の種類を確認した。本研究班で実施している病原体の検索方法は、日本脳炎の鑑別のために日本脳炎ウイルス特異的IgM抗体の測定（研究分担者：田島、前木）、マルチプレックスReal-time PCR法を用いた網羅的病原体遺伝子検出（研究分担者：片野）である。マルチプレックスReal-time PCR法による検索は、内因性RNA(human

GAPDH)およびDNA(beta-actin)コントロールが検出できた場合に病原体検索のための質が保たれていると評価した。（研究分担者：田島、前木、片野）。

C．研究結果

感染症発生動向調査のまとめ（急性脳炎（脳症を含む））：2007～2016年に感染症発生動向調査に報告された急性脳炎（脳症を含む）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。2007～2008年の年間報告数は200例前後であったが、2009年はインフルエンザA(H1N1)pdm09によるパンデミックの影響により、526例と急増した。2010年には242例と減少したが、それ以降は徐々に増加し、2012年および2013年は、年間350例を越え、2014年には459例、2015年は511例となった。2016年は716例が報告され、2007年以降で最大の報告数となった（表1）。症状は、発熱が3,564例（90.5%）、けいれんが2,500例（63.8%）と多く、髄液細胞数の増加は983例（25.1%）、嘔吐は783例（20.0%）、頭痛は704例（18.0%）、項部硬直は449例（11.5%）で認められた。

2016年に報告された763例の年齢分布は、0-4歳が392例（51.4%）で最も多く、5-19歳が222例（29.1%）、20-59歳が75例（9.8%）、60歳以上は74例（9.7%）であった。報告された病原体は、0-4歳ではインフルエンザウイルスが9

2例と最多で、その他、ヒトヘルペスウイルス6型あるいは7型(HHV-6,7)が28例、ロタウイルス、ヒトパレコウイルスが各9例であった。病原体不明のまま届けられた症例は217例(55.4%)であった。5-19歳ではインフルエンザウイルスが107例と最も多く、続いてムンプスウイルス、マイコプラズマ、ロタウイルス、水痘-帯状疱疹ウイルス(VZV)が各3例報告された。20-59歳でもインフルエンザウイルスが21例と最も多く、60歳以上ではインフルエンザウイルスが18例、続いて単純ヘルペスウイルスが13例報告された。しかし、いずれの年齢群においても、病原体不明のまま届けられている症例が多く、0-4歳で217例、5-19歳で98例、20-59歳で41例、60歳以上で29例であった。

原因不明急性脳炎(脳症を含む)の病原体検索：2016年9月～2017年3月に、病原体不明のまま届けられた症例のうち、検査の同意が得られた9例について病原体検索を行った。9例全例で、髄液検体と血液検体(血清、全血)が採取・保管されていた。また、9例中6例で血液、髄液、呼吸器由来検体、便、尿の5種類すべてが採取・保管されており、9例中8例で3種類以上の検体が採取・保管されていた。また、検索した全ての検体で内因性のDNAコントロールが検出された。一方、9例中2例については、一部の検体の内因性RNAコントロールが検出されなかった。

D. 考察

感染症発生動向調査に基づく急性脳炎(脳症を含む)の報告数は、年々増加しており、2016年はA(H1N1)pdm09によるパンデミックの影響があった2009年の報告数を上回りサーベイランス開始後最多の報告数となった。

2016年はすべての年齢群で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ていた。次いで、0-4歳ではHHV6,7が、60歳以上では単純ヘルペスウイルスの報告が多かった。

病原体不明のまま届けられている症例は依然多いが、各症例ともに、急性期の検体の確保は比較的積極的に行われていた。また、内因性のDNAコントロールに関しては検索した限り全症例で検出されており、内因性RNAに関しても、ほとんどの検体で検出されていたことから、検体の採取・保管方法が適切に実施されるようになってきたことが考えられる。

しかしながら、民間の宅配便では、その約款の中でヒトに感染性のある荷物(IATA基準のカテゴリ-B相当)は、分類上危険物に該当し、危険物は取り扱わないことが規定されている。国内では、郵便や宅配便等の流通が充実している一方で、取扱い禁止品の情報が十分周知されていないことから、検体の搬送前には必ず検体を梱包する担当者に直接連絡を取り、検体の梱包方法と搬送方法を丁寧に説明している。感染性のある臨床検体等の搬送についてはガイドライン等を作成して各施設に周知し、適切な検体搬送が可能となる

よう啓発を進め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)は3,919例であり、2016年は763例であった。すべての年齢群でインフルエンザウイルスが最も多く報告されていた。2016年9月から2017年3月に病原体検索を行った病原体不明の急性脳炎(脳症を含む)9症例中6例で血液、髄液、呼吸器由来検体、便、尿の5種類すべてが採取・保管されており、全例で3種類以上の急性期検体の確保が行われていた。また、検体の質も比較的良好に保たれていた。

F. 研究発表

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. Adult Case of Acute Flaccid Paralysis with Enterovirus D68 Detected in the CSF. *Neurology: Clinical Practice*, Published online before print, 2016.
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, Saeko 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.
2. 奥野英雄、砂川富正、森野紗衣子、佐藤弘、新井智、大石和徳、多屋馨子: ロタウイルスワクチン接種開始後のロタウイルス関連急性脳症報告数の推移. 第20回日本ワクチン学会学術集会. 東京 20

16年10月.

3. 奥野英雄、佐藤弘、森野紗衣子、新井智、砂川富正、大石和徳、多屋馨子：感染症発生動向調査における、急性脳炎(脳症を含む)として報告されるインフルエンザ脳症のシーズンごとの推移. 第48回日本小児感染症学会総会・学術集会. 岡山 2016年11月.

G. 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

表1.急性脳炎の届出まとめ | 2007~2015年

総数 (例)	3,919	届け出られた症状	
2007年	228	発熱	3,564 90.5%
2008年	192	けいれん	2,500 63.8%
2009年	526	髄液細胞数増加	983 25.1%
2010年	242	嘔吐	783 20.0%
2011年	258	頭痛	704 18.0%
2012年	371	項部硬直	449 11.5%
2013年	369	死亡報告例	
2014年	459		
2015年	511		
2016年	763		
男女比	1.25 : 1		
年齢中央値	5歳 (範囲:0~98)		

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

中国・四国小児科におけるEVD68の早期診断体制整備に関する研究

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科学 特命教授）
研究協力者 八代将登（岡山大学大学院小児医科学 助教）

研究要旨

中国・四国小児科におけるエンテロウイルスD68(EVD68)の早期診断体制を整備するため、呼吸器症状がメインのEVD68に対し、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た。当施設はこれまで中国四国地区の基幹病院を中心に急性脳炎/脳症の病因解明に対しヘルペス属ウイルスPCRを施行してきたが、これからはEVD68も迅速な確定診断を行うことでEVD68の病態解明に繋げて行きたい。

A．研究目的

中国・四国小児科におけるEVD68の早期診断体制を整備する

B．研究方法

呼吸器症状がメインのEVD68の確定診断のため、RT-PCR法を岡山大学小児科で実施する体制を作る

(倫理面への配慮)

本研究は岡山大学病院倫理委員会へ申請を予定している。

C．研究結果

EVD68のプローブ・プライマーを下記の通り作成した(SIGMA-ALDRICH)

HEV-D68 probe:TCGCACAGTGATAAATCAGCACGG

HEV-D68 Forward:CACTGAACCAGAAGAAGCCA

HEV-D68 Reverse:CCAAAGCTGCTCTACTGAGAAA

参考文献) J Clin Microbiol. 2015 Aug;53(8):2641-7.

Development and Evaluation of an Enterovirus D68 Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay. Wylie TN et.al.

測定系の確認のためのEVD68-RNA positive controlは国立感染症研究所ウイルス第2部清水博之先生にご供与いただいた。

岡山大学小児科において、エンテロウイルスD68の検出法を確立した。

D．考察

当院は中国四国地区の基幹病院を中心に、主に小児科医を対象として急性脳炎/脳症の病原体解析の重要性を啓発し、急性期の検体採取法・保存法・感染症研究所への搬送法の指導を行っている。

また当研究室は2005年よりヘルペス属のウイルス検索を行っている(図1)。

(図1)

岡山大学小児科でのウイルス検索

ヘルペスウイルス属

HSV1 HSV2 VZV EBV CMV HHV6 HHV7

依頼時の病態

急性脳炎/脳症	不明熱
肝機能障害	血球貪食症候群
免疫不全児の発熱・皮疹	移植後の発熱 など

依頼症例数

400-600/年

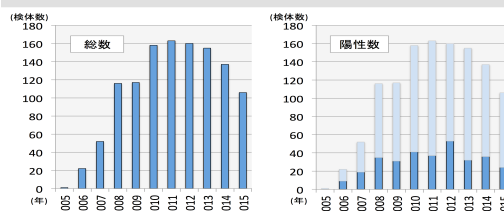
→EVD68追加

特にHHV6はけいれん重積症例で比較的高頻度に検出されており、急性脳炎/脳症の臨床に有用である(図2)。

(図2)

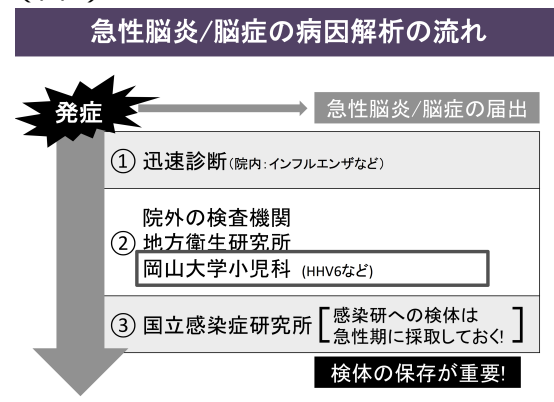
HHV6

依頼目的:急性脳炎・脳症、移植後ほか



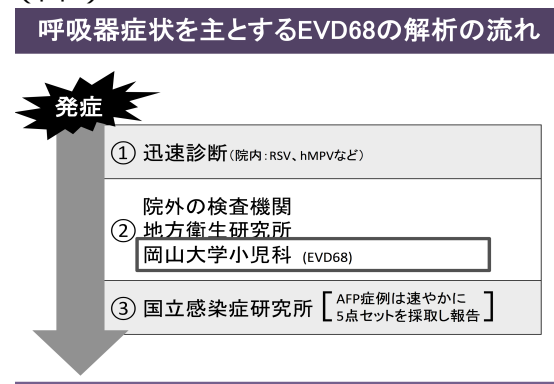
急性脳炎/脳症の病因解析の流れを図3に記載した。まず院内で施行可能な迅速診断を行う。次に院外の検査機関や地方衛生研究所に依頼する。岡山大学病院におけるウイルス検索はここに位置している。上記でも病因が同定できない場合に国立感染症研究所へ依頼を行う。しかしこの時点で検体を採取しても急性期を過ぎており間に合わないため、発症時に5点セットを採取しておくことが重要でありこの点を重点的に啓蒙している。発症時に脳炎/脳症の届け出を行うことも併せて伝える。

(図3)



今回当研究室においてエンテロウイルスD68を検出するRT-PCR法を確立した。呼吸器症状を主とする疾患の病因解析の流れを図4に記載した。まず院内で施行可能な迅速診断を行う。次に院外の検査機関や地方衛生研究所に依頼する。岡山大学病院におけるウイルス検索はここに位置している。経過中に急性弛緩性麻痺(AFP)が出現した場合は速やかに5点セットを採取し国立感染症研究所へ依頼を行う。

(図4)



呼吸器症状が主のEVD68の迅速な確定診断が行われることで、EVD68の病態が明らかになることが期待される。

E. 結論

岡山大学小児科において、エンテロウイルスD68の検出法を確立した。

中国・四国小児科における呼吸器症状が主のEVD68の確定診断に有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1, Miyazaki Y, Morishima T, Yamada M. et al: Monitoring of human herpesviruses-6 and -7 DNA in saliva samples during the acute and convalescent phases of exanthem subitum. J Med Virol. 2017 Apr;89(4):696-702.

2, Nosaka N, Tsukahara K, Yashiro M, et al: Intracranial Pressure Monitoring for Pediatric Acute Encephalopathy. Acta Med Okayama. 2017 Apr;71(2):179-180.

3, Recurrent apnea in an infant with pertussis due to household transmission. Ochi M, Nosaka N, Knaup E, Tsukahara K, Kikkawa T, Fujii Y, Yashiro M, Sato K, Ugawa T, Okada A, Tsukahara H. Clin Case Rep. 2017 Jan 28;5(3):241-245.

4 Letter to the Editor regarding the paper by Sun G et al: Elevated serum levels of neutrophil elastase in patients with influenza virus-associated encephalopathy. J Neuro Sci 2015;349:190-195. Nosaka N, Hatayama K, Fujii Y, Yashiro M, Tsukahara H, Morishima T. J Neurol Sci. 2016 May

2. 学会発表

1, 八代将登、森島恒雄ら：中国四国地区における急性弛緩性麻痺を認める症例の網羅的調査 第57回臨床ウイルス学会 2016年6月/福島

2, 八代将登、森島恒雄ら：リアルタイムPCR法を用いたヘルペスウイルス定量評価の有用性 第48回日本小児感染症学会 2016年11月/岡山

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

G. 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

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

研究分担者 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

エンテロウイルス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、エンテロウイルス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。

A．研究目的

エンテロウイルス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、エンテロウイルス以外のウイルスや細菌、結核菌、真菌、急性散在性脳脊髄炎などの感染因子によるもの他、全身性エリテマトーデスやシェーグレン症候群などの膠原病、橋本病などの自己免疫疾患、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。これらの疾患の診断は一般臨床家にとって決して容易なものではないが、一方で適切な治療介入が転帰の改善に貢献することから、診断のための指針の構築やバイオマーカーやデバイスなどのツールの開発が急務である。

B．研究方法

中耳炎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、頭部単純レントゲンやCTで骨病変を検出することができないことがしばしばある。今回、我々は3次元画像構築ソフトウェア（Ziostation®）を用いた骨病変同定法を試みた。本研究は日本大学医学部附属板橋病院の臨床研究審査委員会の承認を得て行われた。

C．研究結果

対象：47歳・男性。前医で肺炎球菌性髄膜炎（髄液培養陽性）に対して抗菌薬による加療がなされた。退院1週間後から頭痛、発熱を呈し当科を受診。髄膜刺激徴候と髄液糖低下を伴う細胞増多を認め、肺炎球菌性髄膜炎の再発の診断で入院した。入院時の頭部単純CTにおいて左中耳炎を認めた。しかし、左錐体骨上壁の菲薄化を認めるも欠損孔は明らかでなかった。Ziostation®による骨構築像は、錐体部に約10mmの欠損孔を2つ検出し、腹側の欠損孔は鼓室と交通していた。側頭開頭術を行い、側頭骨錐体部の欠損孔を確認した。骨片と筋皮弁による欠損孔の閉鎖が行わ

れた。抗菌薬による加療と欠損孔の閉鎖により、以後、髄膜炎の再発を認めていない。

D．考察

耳鼻科領域感染症における合併症として髄膜炎、脳膿瘍、硬膜外膿瘍、横静脈洞血栓症などが報告されており、これらの合併症を生じたときの死亡率は0～41%と報告されており、予後は必ずしも良好ではない。中耳炎由来の髄膜炎の機序として感染による骨破壊と硬膜の損傷、血行的感染、外傷、手術などによる直接感染、奇形によるものが挙げられる。対象においては、健側である右側頭骨も菲薄化しており、先天的に骨が脆弱な箇所に感染を生じたと考えられた。抗菌薬による治療と鼓膜切開術、鼓室形成術のみで改善を得られる例もあるが、対象においては欠損孔が大きいことから頭蓋底再建術による欠損孔の閉鎖を要した。

再発性細菌性髄膜炎では隣接臓器の感染源検索が重要である。しかし、これまで非侵襲的な菌の侵入門戸となる欠損孔の確認が困難であったことから、再発をくり返す難治例となることがしばしばあり、患者転帰の不良、医療費の増大につながるものが懸念された。Ziostation®を用いた骨病変同定法は中耳炎に伴う細菌性髄膜炎の根治につながるから、患者転帰の改善、医療費の軽減につながると思われる。

E．結論

中耳炎に伴う細菌性髄膜炎では、これまで非侵襲的な菌の侵入門戸となる欠損孔の確認が困難であったことから、再発をくり返す難治例となることがしばしばあり、患者転帰の不良、医療費の増大につながるものが懸念された。本研究結果から、3次元画像構築ソフトウェアを用いた骨病変同定法の有用性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Akimoto T, Morita A, Shiobara K, Hara M, Minami M, Shijo K, Nomura Y, Shigihara S, Haradome H, Abe O, Kamei S. Surgically Cured, Relapsed Pneumococcal Meningitis Due to Bone Defects, Non-invasively Identified by Three-dimensional Multi-detector Computed Tomography. Intern Med. 2016, 55, 3665-9.
 2. 亀井 聡. 細菌性髄膜炎の診断と治療ガイドラインから. 神経治療学. 2016, 33巻2号, 135-40.
 3. 亀井 聡. 細菌性髄膜炎および脳炎における認知機能障害. BRAIN and NERVE. 2016, 68巻4号, 317-27.
 4. 亀井 聡. 細菌性髄膜炎. 診断と治療. 2016, 104巻6号, 743-8.
 5. 亀井 聡. 細菌性髄膜炎診療ガイドライン2014の改訂ポイント. Mebio. 2016, 33巻3号, 10-7.
 6. 亀井 聡. 【脳神経領域で必須のくすり ナース版トリセツ】(第2章)症状に対するくすり 抗菌薬. Brain Nursing. 2016, 夏季増刊, 129-38.
 7. 石原 正樹, 亀井 聡. 内科領域のヘルペスウイルス感染症. Modern Physician. 2016, 36巻12号, 1265-9.
- ### 2. 学会発表
1. 反回神経麻痺を呈したRamsay Hunt syndromeの58歳女性例. 口頭, 塩原 恵慈, 石原 正樹, 森田 昭彦, 見附 和鷹, 寺本 紘子, 塩田 宏嗣, 亀井 聡, 田井道 愛, 第216回日本神経学会関東・甲信越地方会. 2016/3/5.
 2. ホジキン病に合併し治療が奏効した末梢神経障害の17歳男性例. 口頭, 横田 優樹, 見附 和鷹, 二宮 智子, 寺本 紘子, 森田 昭彦, 高橋 宏通, 三浦 勝浩, 亀井 聡, 第217回日本神経学会関東・甲信越地方会. 2016/6/4.
 3. 顕著な両側眼瞼下垂で初発したMiller Fisher症候群の一例. 口頭, 大滝 遼, 石原 正樹, 横田 優樹, 見附 和鷹, 森田 昭彦, 塩田 宏嗣, 亀井 聡, 第218回日本神経学会関東・甲信越地方会. 2016/9/3.
 4. Tolosa-Hunt症候群様の症状で発症した悪性リンパ腫の1例. 口頭, 蓮見 禎行, 赤羽目 翔悟, 大橋 明, 高野 友喜, 亀井 聡, 相馬 正義, 鈴木 裕, 小川 克彦, 第26回関東地方会. 2016/9/10.
 5. 中枢神経系の細菌感染症. 口頭, 亀井 聡, 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会. 2016/10/21-22.
 6. 舌咽・迷走神経麻痺を呈し髄膜炎症状を認めなかった水痘・带状疱疹ウイルス髄膜炎の一例. 口頭, 大野 あゆみ, 石川 晴美, 柳田 幸, 上浦 大輝, 友松 裕貴, 関根 大喜, 横田 優樹, 見附 和鷹, 二宮 智子, 津田 浩昌, 塩田 宏嗣, 神宝 知行, 亀井 聡, 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会. 2016/10/21-22.

7. イソニアジド髄注とステロイドパルス療法によって良好な転機を得た結核性髄膜炎の1例. 口頭, 秋本 高義, 森田 昭彦, 塩原 恵慈, 齋藤 磨理, 高橋 恵子, 原 誠, 亀井 聡, 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会. 2016/10/21-22.
8. 大脳白質病変の可逆性変化を呈した神経梅毒の一例. 口頭, 二宮 智子, 石川 晴美, 市ノ川 桜子, 堀 祥子, 横田 優樹, 見附 和鷹, 津田 浩昌, 神宝 知行, 亀井 聡, 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会. 2016/10/21-22.
9. 診療ガイドライン2014に基づく細菌性髄膜炎成人例の治療. 口頭, 亀井 聡, 第34回日本神経治療学会総会. 2016/11/3-5.
10. インフルエンザワクチン接種後に生じ視神経病変を伴わなかった抗MOG抗体高力価陽性NMOSDの1例. 口頭, 二宮 智子, 石川 晴美, 見附 和鷹, 津田 浩昌, 亀井 聡, 金子 仁彦, 高橋 利幸, 中島 一郎, 第34回日本神経治療学会総会. 2016/11/3-5.
11. 高熱後に脊髄炎を呈した抗MOG抗体・抗SS-A抗体陽性の女性例. 口頭, 見附 和鷹, 石川 晴美, 二宮 智子, 津田 浩昌, 塩田 宏嗣, 亀井 聡, 金子 仁彦, 高橋 利幸, 中島 一郎, 第34回日本神経治療学会総会. 2016/11/3-5.
12. 小脳性運動失調とParkinsonismを呈し、免疫グロブリン大量静注療法が奏効した抗GAD抗体陽性の57歳男性例. 口頭, 横田 優樹, 塩原 恵慈, 二宮 智子, 石原 正樹, 塩田 宏嗣, 森田 昭彦, 亀井 聡, 第34回日本神経治療学会総会. 2016/11/3-5.
13. 発熱、求心性視野狭窄を呈し、髄液検査所見の異常を伴った左視神経周囲炎の21歳女性例. 口頭, 塩原 恵慈, 寺本 紘子, 石原 正樹, 塩田 宏嗣, 森田 昭彦, 白木 夕起子, 加島 陽二, 亀井 聡, 第219回日本神経学会関東・甲信越地方会. 2016/12/3.

G. 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

不明脳炎症例におけるウイルス等の網羅的検索

研究分担者 片野晴隆 国立感染症研究所 感染病理部 室長

研究要旨

原因不明の急性脳炎・脳症の症例につき、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。これを用いて、今年度に検討を行った症例は 7 例であり、3 例から、病態と何らかの関連があると考えられる病原体が検出された。内訳はコクサッキーウイルス A6、アデノウイルス 5、及びタイプ不明のエンテロウイルスであった。これらの結果は本網羅的検索の有用性を示すとともに、日本の脳炎症例における微生物学的なエビデンスを提供するものと期待される。

A . 研究目的

日本において、急性脳炎（ウエストナイル脳炎、西部ウマ脳炎、ダニ媒介脳炎、東部ウマ脳炎、日本脳炎、ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く）の少なくとも 3 割程度は原因不明とされている。本研究班では、原因不明の急性脳炎・脳症例から検体を収集し、日本脳炎の紛れ込みがどの程度あるのかを鑑別すると共に、網羅的な病原体検索を行い、脳炎・脳症の実態・病因解明に資するデータを採取することを目的とする。また、2015 年に発生した急性弛緩性麻痺の症例について、その臨床病態と微生物学的原因の究明も行う。本分担研究では原因不明の脳炎症例のサンプル（髄液、血清、咽頭ぬぐい液、便、尿）から、原因微生物の同定を行う目的で、定量的 PCR を応用したウイルス、細菌、真菌の網羅的検出法を開発し、実際の症例について解析を行った。

B . 研究方法

1) 臨床検体

検体収集の方法と、感染研における検査の役割分担は研究代表者の報告書を参照されたい。感染研に到着した検体（髄液、血清、鼻咽頭ぬぐい液、尿、便）は、原則として日本脳炎ウイルス→定量的 PCR によるウイルスの網羅的検出法の順に実施する。また、蚊の活動性がない冬期に発症した症例につい

ては日本脳炎の検索は行わない。

2) 核酸抽出

髄液、血清、鼻咽頭ぬぐい液、尿、便のそれぞれの検体から QIAamp MinElute Virus Spin Kit（キアゲン社）を用い DNA と RNA を混和した形で抽出した。

3) Real-time PCR によるウイルス、細菌、真菌の網羅的検出法

本研究室で独自に開発した、ウイルスの網羅的検出法 (multivirus real-time PCR, Katano H et al. J Med Virol 2011) を応用し、脳炎、脳症の発症に関連のある微生物（ウイルス、細菌、真菌を含む）を選択し、脳炎、脳症のための病原微生物網羅的検索法を開発した。定量的 PCR は MX3005P、MX-3000P（アジレント社）、または ABI 7500、7900HT（アプライド・バイオシステムズ社）を用いて行った。

（倫理面への配慮）

本研究計画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にて承認済である。試料提供者の個人情報、検体を提出する医療機関において削除され、試料には患者 ID がつけられた状態で感染研に送付される。個人を特定するための対応表は医療機関が保管する（連結可能匿名化）。したが

って、検査実施者が試料提供者個人を特定することはできない。

C . 研究結果

(1) 脳炎、脳症のための病原微生物網羅的検索法の開発

Real-time PCR法を用いて、脳炎、脳症の原因となる病原微生物に特化した網羅的検索法を開発した。標的微生物は表1のとおりであり、ウイルス、細菌、真菌を含め、53種類の病原微生物を選択した。同一プレート内でヒト内因性コントロールを同時に検出できるよう、設計した。ウイルスにはDNAウイルスの他にRNAウイルスを含むため、全体の系をreal-time RT-PCRの系とし、PCR前にRT反応を行った。いくつかの細菌、真菌、ウイルスの核酸を陽性コントロールに用い、感度と特異性を検討し、目的以外の微生物が感度良く検出されること、検出限界が10 copy/reactionであることを確認した。さらに、これまで、特定の微生物が検出された実績のある臨床検体の余剰サンプルを試し、感度と特異性を確認した。

(2) 臨床検体の検索

平成 28 年 10 月から平成 29 年 3 月までに 7 件の解析依頼があり、全例につき、上記の病原微生物の網羅的検索を行った。結果、3 例について、病態と何らかの関連があると考えられる病原体が検出された。内訳はコクサッキーウイルス A6、アデノウイルス 5、及びタイプ不明のエンテロウイルスであった。

D . 考察

前研究班では約 100 例の原因不明脳炎、脳症を解析し、約 2 割程度でその原因病原体（ウイルス）の同定が可能であった。今年からはウイルスに加え、細菌、真菌、原虫を加えることで、より原因病原体を網羅的に検出することを目指したが、一方で、これまでの研究から、脳炎、脳症とは全く関係のないウイルスを検索対象から除外したことで、最終的に 53 種類の微生物を選択した。細菌、真菌などの選定はこれまでの疫学データや、報告を参考にした。数種類の検体で予備実験を行ったところ、咽頭拭い液や便では、健常者でも特定の細菌が大量に検出されてしまう

ことから、これらのサンプルは他の種類のサンプルとは分けて検討する必要が生じた。このため、これらのサンプルと他サンプルのwellを分け、一人の患者検体が96ウエル1プレートで検索できるよう、設計を行った。これにより検体間のコンタミネーションを極力減らしつつ、結果を得ることができた。

症例の解析については、本年度は初年度であり、倫理委員会の承認が得られたのが平成 29 年 10 月であったことから、7 件の症例解析にとどまった。エンテロウイルス系は、臨床症状から疑われるものの、検出がむずかしく、適切な時期、サンプルを選んで検索することが重要であることが示唆された。今回、アデノウイルスが 1 例から検出されているが、脳炎、脳症との関連は不明であり、さらなる詳細な検討が必要である。

E . 結論

原因不明の急性脳炎・脳症の症例の解析のため、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。7 症例を検討し、3 例から、病態と何らかの関連があると考えられる病原体が検出した。

F . 研究発表

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** 2016. 78:66-70.
2. Itoh K, Iwamoto K, Satoh Y, Fujita T, Takahashi K, Katano H, Hasegawa H, Takasaki T, Tando S, Fushiki S: *Knowledge Obtained from an Elderly Case of Japanese Encephalitis.* **Intern Med** 2016. 55:2487-2490.

2. 学会発表

該当なし。

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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。

表 脳炎、脳症のための病原体検索法における検索対象微生物一覧

DNAウイルス	JC virus, Parvovirus B19, Herpes simplex virus 1,-2, Varicella zoster virus, Epstein-Barr virus, Cytomegalovirus, Human herpesvirus 6A, -6B,-7
RNAウイルス	Chikungunya virus, pan-Enterovirus, Enterovirus 68, Poliovirus 1, -3, Parechovirus 1, -3, Dengue virus 1-4, Japanese encephalitis virus, West Nile virus, Tick-borne encephalitis virus, Zika virus, Influenza virus A, -B, A (H1N1 pdm), Nipah virus, astrovirus MLB1, -1, -VA1, sapovirus, Norwalk like virus 1, -2
細菌	Listeria monocytogenes, Streptococcus agalactiae, Streptococcus pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis, Rickettsia prowazekii, Rickettsia japonica, Orientia tsutsugamushi, Bordetella pertussis, Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae, Escherichia coli, Salmonella enterica, Mycoplasma pneumoniae, Treponema pallidum
真菌	Aspergillus fumigatus, Cryptococcus, Mucor
原虫	Toxoplasma

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・脳症患者のアルボウイルス実験室診断・ウイルスサーベイランス

研究分担者 田島 茂（国立感染症研究所・ウイルス第一部・主任研究官）

研究協力者 前木孝洋（国立感染症研究所・ウイルス第一部・主任研究官）

日本脳炎は、日本脳炎ウイルスの感染によって生じる中枢神経感染症である。重症例では錯乱や意識混濁などの中枢神経症状を呈し、確立された治療法が存在しないため、予後は不良である。また、日本脳炎は特異的な症状・一般検査所見に乏しく、報告数も少ないため、診断は困難である。そのため、日本脳炎症例の中には、正確な検査・診断がなされず、原因不明の急性脳炎や脳梗塞と診断されている例があることが知られている。そこで、本分担研究では、原因不明の急性弛緩性麻痺を呈した症例および急性脳炎・脳症症例の検体を用いて、日本脳炎の検査を実施した。平成28年度は5人の患者からの14検体の解析を行い、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、追加の検体を依頼したが、送付されなかった。しかし同日に採取された髄液検体が陰性であったことから、日本脳炎は否定的と考えられる)。しかしながら、平成28年度には11例の日本脳炎の報告例があり(過去2年間は年間2例ずつ)、今後も日本脳炎の検索は重要である。

A．研究目的

日本脳炎は日本脳炎ウイルスの感染によって生じる中枢神経感染症である。無症候性感染が多いことが知られている一方で、一旦発症すると、致死率が高く生存例でも神経学的予後は不良である。日本における日本脳炎の報告数は、近年、10例以下で推移しており、平成26年度、平成27年度は年間2例ずつであった。しかし、平成28年度には11例の日本脳炎患者が報告された。

日本脳炎は特異的な症状・一般検査所見に乏しく、また、報告数も少ないため、診断は困難である。そのため、日本脳炎の症例の中には、原因不明の急性脳炎や脳梗塞と診断されてしまっている例があることが知られている。そこで、本分担研究では、急性弛緩性麻痺を呈した症例および原因不明の急性脳炎・脳症症例と診断されたの中に、日本脳炎の症例が存在するか否かを解析する。

B．研究方法

患者から採取された血清または髄液を用いて、日本脳炎ウイルス IgM ELISAを行った。具体的には、Focus社のDengue Virus IgM Capture DxSelect (Product Code: EL1500M)の抗原を、日本脳炎ワクチン参照品を希釈したものに変更したものをを用いた。方法は以下の通りである。まず、患者から採取された血清または髄液を希釈液にて希釈し、抗ヒトIgM抗体がコーティングされたプレートにアプライする。室温で1時間反応させ洗浄した

後、抗原(日本脳炎ワクチンをPBSで希釈したもの)と室温で2時間反応させる。洗浄後、ペルオキシダーゼが結合された抗IgM抗体と室温で30分間反応させる。洗浄後、基質を加え室温で8分間反応させた後、反応停止液を加え、プレートリーダー(Bio Rad社、iMark Microplate Reader)で吸光度(OD450)を測定する。

結果は、陰性コントロール血清の吸光度に対する検体の吸光度の比をIndexとして算出する。それぞれの検体は2 wellずつアプライし、2 wellのIndexの平均値をその検体のIndexとする。Indexは2.0未満を陰性、2.0を判定保留、2.0を越えれば陽性とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立感染症研究所の医学研究倫理審査委員会で審査され、承認されている。

C．研究結果

結果を表に示す。

平成28年度は、5人の患者からの14検体を用いて解析を行い、1検体(血清)が判定保留、残りの13検体は陰性であった。判定保留となった1検体(血清)については、追加の血清の送付を依頼したが、送付されなかった。

D．考察

平成28年度に解析を行った5人の患者のうち4人は全ての検体が陰性であったため、日本脳炎は否定的と考えられる。そして、血清が判定保留となった1人については、別の時

期に採取された血清を用いて解析を行うため、担当医に、血清の送付を依頼したが、送付はされなかった。しかし、判定保留となった血清と同日に採取された髄液が陰性であったことから、日本脳炎は否定的と考えられる。従って、平成28年度に解析を行った5人の患者は、全て日本脳炎は否定的と考えられる。

一方、日本脳炎の患者報告数は近年10例以下で推移しており、過去2年間(平成26年度、平成27年度)はそれぞれ2例ずつであったが、平成28年度には11例が報告された。11例のうち、急性期に日本脳炎を疑い診断に至ったのは2例だけであり、他の9例は、診断に至ったのは、発症してから1ヶ月前後経過してからであった。連絡を取ることができた担当医に、診断に至るまでの経緯について聴取したところ、日本脳炎は、やはり、特異的な症状や検査結果を示さないため、診断は困難であるとのことであった。従って、平成28年度に報告された11例以外にも、まだ正確に診断されなかった日本脳炎の症例が存在する可能性は否定できないものと考えられる。

平成28年度に診断された11例の予後に関しては、2例は死亡例であり、生存した症例でも後遺症を残している例が多い。従って、日本脳炎は、報告数は減少してきているものの、依然、予後不良の疾患である。また、死亡例の2例はいずれも急性期に診断されていない例であることから、早期の診断が予後の改善につながる可能性はあるものと考えられる。従って、日本脳炎を早期に診断することは臨床的に重要であると考えられる。

日本脳炎は、毎年、流行予測事業として地域毎に、ブタの日本脳炎ウイルスに対する抗体保有率調査を行っている。これは、ブタは日本脳炎ウイルスの増幅動物であり、生後半頃に屠場に出荷されるため、ブタの抗体保有率がその地域の日本脳炎ウイルスの蔓延状況を反映していると考えられるためである。そして、平成28年度に報告された11例のうち、7例は、抗体保有率調査が行われていない地域であった。従って、正確に診断されていない日本脳炎を診断することは、流行予測事業を実施すべき地域の決定にも関わり、公衆衛生的な意味においても重要であると考えられる。

日本脳炎の診断に関しては、日本脳炎ウイルスはウイルス遺伝子の検出が困難であるため、抗体検査による血清診断が主となる。代表的な抗体検査の方法として、本研究で使用したIgM ELISA法の他にHI (hemagglutination inhibition; 赤血球凝集抑制)法、中和試験がある。このうち急性期の診断に適用可能なのはIgM ELISA法とHI法である。

IgM ELISA法とHI法のそれぞれの特徴・問題点は次の通りである。本研究で実施しているIgM ELISA法の特徴として、検査日数(試験を始めてから結果が出るまでの日数)が1~2日間と短いことがあげられる。つまり、急性期に診断を急ぐ症例では極めて有用な検査法である。しかし、問題点として、検査の依頼が煩雑であるという点が挙げられる。即ち、

依頼医は、まず、当部門へ電話にて連絡し、検体発送についての許可を得る必要がある。そして、依頼医は、国立感染症研究所に病院から検体を搬送しなければならない。この点は、検体を搬送した経験のない医師にとっては、大きな問題点となりうる。

一方、HI法は、検査会社が実施しているため、検査の依頼が容易で、検体を搬送する必要もない。即ち、依頼医にとって極めて簡便な検査方法である。しかし、問題点として、検査日数が1~2週間程度かかること、さらに、感度がIgM ELISA法に比べると低いことが挙げられる。(平成28年度に急性期に診断された例においても、同時期に提出された検体で、IgM ELISA法では強陽性で、HI法では陰性/陽性判定基準を少し越える程度の陽性という結果の検体があった)。

即ち、IgM ELISA法はHI法に比べて、依頼・検体の搬送が煩雑であるが、検査日数も少なく感度が高い検査である。

しかし、IgM ELISA法には、一般の臨床医にあまり知られていないという問題点がある。平成28年度に報告された日本脳炎の症例で、急性期を過ぎてから日本脳炎の診断に至った症例の担当医に連絡を取ったところ、日本脳炎の検査法にIgM ELISA法があることを知らなかったとのことであった。即ち、日本脳炎の検査法には検査日数のかかるHI法しかないと考えていたためにHI法を提出し、その結果、急性期には診断できなかったとのことであった。その担当医は、急性期にHI法を提出していたため、急性期に日本脳炎を鑑別疾患として挙げていたということである。つまり、その担当医が、IgM ELISA法の存在を知っていたと仮定すれば、より早期に診断に至った可能性が高い。従って、臨床医(神経内科医)に、日本脳炎のIgM ELISA法を周知することも重要であると考えられる。

E . 結論

平成28年度に本分担研究にて日本脳炎の検索を行った患者は、全て日本脳炎は否定的であった。しかし、平成28年度には11例の日本脳炎患者が報告され、その他にも正確に診断されていない日本脳炎の症例が存在する可能性は否定できない。そのため、今後も、原因不明の脳炎・脳症症例および急性弛緩性麻痺を呈する症例について、日本脳炎の検索を行うことは重要であると考えられる。

F . 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G . 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

表 平成28年度 日本脳炎IgM ELISA結果

検体	種類	受領日	結果通知日	年齢	性別	発症後日数	Index
E1-1	髄液	10月14日	10月17日	2	F	5	0.42
-1	血清	"	"	"	"	6	1.16
E2-1	髄液	10月14日	10月17日	5	F	2	0.71
-1	血清	"	"	"	"	2	1.96
E3-1	髄液	10月21日	10月24日	31	M	2	0.55
-2	血清	"	"	"	"	2	0.58
-3	髄液 2	"	"	"	"	8	0.57
-4	髄液 3	"	"	"	"	17	0.92
-5	血清 2	"	"	"	"	25	0.57
E4-1	髄液	11月18日	11月21日	4	F	0	0.45
-2	血清	"	"	"	"	4	0.98
-5	全血	"	"	"	"	4	0.94
E5-1	髄液	12月7日	12月9日	4	F	6	0.89
-2	血清	"	"	"	"	6	1.07

(#) Indexは2.0を越えれば陽性、2.0未満を陰性、2.0を判定保留とした。

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

エンテロウイルスに関連した急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症に関する研究

研究分担者 清水博之

国立感染症研究所 ウイルス第二部 第二室 室長

研究協力者 花岡 希、藤本嗣人

国立感染症研究所 感染症疫学センター

研究要旨

- (1) 2015年に発症した、急性弛緩性麻痺・急性弛緩性脊髄炎症例の一部に由来する臨床検体から、エンテロウイルス D68 特異的リアルタイム RT-PCR 法等により、エンテロウイルス D68 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。
- (2) エンテロウイルス D68 遺伝子の検出・同定法としては、エンテロウイルス D68 特異的リアルタイム RT-PCR 法の検出感度が高かった。
- (3) 急性弛緩性麻痺・急性弛緩性脊髄炎の流行が発生した場合、発症後できるだけ速やかに、咽頭拭い液を含めた、適切かつ質の高い検体を採取する必要があることが示唆された。
- (4) 2015年のエンテロウイルス D68 流行時に、急性弛緩性麻痺を含む症例から分離されたエンテロウイルス D68 株 3 株について、ウイルス学のおよび遺伝子解析を進めた。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。

A．研究目的

エンテロウイルスD68 (Enterovirus D68; EV-D68) は、ライノウイルスに類似したウイルス学的性状を有するエンテロウイルスとして、一般的な呼吸器感染症の原因ウイルスと考えられてきた。しかし、近年の調査・研究により、EV-D68は、より重篤な呼吸器感染症にも関与する可能性が高く、また、2014年の米国、2015年の日本におけるEV-D68感染症流行時の急性弛緩性麻痺・急性弛緩性脊髄炎症例の多発により、EV-D68感染と中枢神経疾患との関連について注目が集まっている。本研究では、急性弛緩性麻痺・急性弛緩性脊髄炎を含む中枢神経疾患症例に由来する臨床検体からのEV-D68検出・同定法について検討した。

B．研究方法

急性弛緩性麻痺・急性弛緩性脊髄炎を含む中枢神経疾患症例に由来する咽頭拭い液、糞便、髄液等を含む様々な臨床検体から、異なる手法を用いたエンテロウイルス遺伝子検出を試み、一部のエンテロウイルス遺伝子陽性検体については、塩基配列解析を行った。島根県保健環境科学研究所で、2015年のEV-D68流行時に、RD-SCARB2細胞を用いて分離された3株のEV-D68分離株について、ウイル

ス学的性状の解析および次世代シーケンスによる遺伝子解析を行った。EV-D68分離株 SP-658-15株は、気管支喘息による入院後に、弛緩性麻痺を発症した症例の麻痺発症前の気管吸入液から分離されたユニークなEV-D68分離株である。

(倫理面への配慮)

急性弛緩性麻痺症例に由来する臨床検体の検査は、2015年10月21日付の厚労省健康局結核感染症課・協力依頼「急性弛緩性麻痺(AFP)を認める症例の実態把握について」に基づく、積極的疫学調査の一環として、地方衛生研究所、あるいは感染研において実施された。

C．研究結果

米国CDC、および、ワシントン大学のグループから報告されているEV-D68特異的リアルタイムRT-PCR法、および、すべての型のエンテロウイルスを検出できるPan-enterovirus real-time PCR法を用いて、CDCから分与されコピー数が分かっているEV-D68由来ゲノムRNAを用いて検出感度を比較したところ、EV-D68特異的RT-PCR (ワシントン大法) > EV-D68特異的RT-PCR (CDC法) > Pan-enter

ovirus PCRの順に検出感度が高かった。実際の臨床検体を用いた検査でも、EV-D68特異的RT-PCR（ワシントン大法）により、もっとも多くの陽性例が認められ、EV-D68特異的RT-PCR（ワシントン大法）の検出感度が高いことが示唆された。しかし、急性弛緩性麻痺症例に由来する臨床検体の多くは、EV-D68特異的RT-PCR（ワシントン大法）を含む、すべての方法で、EV-D68およびエンテロウイルス遺伝子検出陰性であった。EV-D68遺伝子陽性検体の多くは、咽頭拭い液検体であったが、血液あるいは髄液検体からのEV-D68遺伝子検出事例も認められた。

島根県で、2015年のEV-D68流行時に分離された3株のEV-D68分離株は、RD-A細胞においてCPEを誘導し、多くのエンテロウイルスの増殖最適温度である37より低い、33において、より効率良く増殖する傾向が認められた。3株のEV-D68分離株は、エンテロウイルス特異的プライマーを用いた遺伝子増幅を経ることなく、ウイルスゲノムRNAを鋳型とした次世代シーケンスにより、ウイルスゲノム全長に近い配列の解析が可能であった。データベースに登録されているEV-D68株との分子系統解析により、島根県で2015年に分離されたEV-D68分離株3株は、いずれもEV-D68遺伝子型Clade Bに属することが明らかとなった。2014年米国のEV-D68株の多くも、遺伝子型Clade Bに分類されるが、2015年島根株は、2014年に中国、台湾等、アジア地域で高頻度に検出されたEV-D68株と分子系統学的関連性が高いことが示唆された。

D．考察

2014年の米国、2015年の日本における急性弛緩性麻痺・急性弛緩性脊髄炎を含む中枢神経疾患症例からのEV-D68を含むエンテロウイルス検出率は必ずしも高くなく、髄液検体からのEV-D68検出事例は稀であった。2015年の日本における急性弛緩性麻痺症例の病原体サーベイランスの結果を解析すると、検体の種類および検体量が不十分な症例が多く、また、発症後、時間を経てからの検体が多く認められた。呼吸器症状を呈する際、ウイルス検出頻度が高く、その後の麻痺発症後はウイルス検出頻度が低下する可能性が示唆される。一部検体については、検体の採取・保存法が不適切であった可能性が高い。EV-D68を含むエンテロウイルス検出のためには、明確な症例定義による急性弛緩性麻痺・急性弛緩性脊髄炎の報告とともに、呼吸器、糞便、髄液検体を含む、速やか、かつ適切な検体採取が重要となる。

EV-D68は、一部のヒト培養細胞において増殖することが報告されている。しかし現在、EV-D68を含むエンテロウイルス遺伝子検出・同定が一般的検査法として広く用いられており、本研究で用いた急性弛緩性麻痺症例に由来するEV-D68株は、ユニークかつ貴重である。今後、より詳細なウイルス学的解析に供すると共に、感染動物実験による病原性解析等、EV-D68分離株を用いることが必須とさ

れる研究への利用が期待できる。今回用いたEV-D68分離株は、ウイルスゲノムRNAを鋳型とした、非特異的手法による次世代シーケンス解析が可能であったが、臨床検体等から高感度かつ網羅的にEV-D68遺伝子を解析する方法について、現在評価検討を進めている。

E．結論

急性弛緩性麻痺・急性弛緩性脊髄炎症例の一部に由来する咽頭拭い液等の臨床検体から、EV-D68特異的リアルタイムRT-PCR法により、EV-D68遺伝子を検出した。2015年に発生した急性弛緩性麻痺・急性弛緩性脊髄炎の流行時、EV-D68検出率は必ずしも高くなく、咽頭拭い液を含めた適切かつ質の高い検体を採取する必要があることが示唆された。2015年の流行時に急性弛緩性麻痺を含む症例から分離されたEV-D68株3株について、ウイルス学および遺伝子解析を進めた。

F．研究発表

1. Kimura K, Fukushima T, Katada N, Shimizu H, Nakamura T, Fujimoto T, Hanaoka N, Tanaka-Taya K, Makino K. Adult Case of Acute Flaccid Paralysis with Enterovirus D68 Detected in the CSF. *Neurology: Clinical Practice* Published online before print November 4, 2016
2. Kotani O, Suzuki T, Yokoyama M, Iwata-Yoshikawa N, Nakajima N, Sato H, Hasegawa H, Taguchi F, Shimizu H, Nagata N. Intracerebral inoculation of mouse-passaged Saffold virus type 3 affects cerebellar development in neonatal mice. *J Virol* (in press)
3. 国立感染症研究所 感染症疫学センター、ウイルス第二部：エンテロウイルスD68型（EV-D68）に関する国内の疫学情報のまとめ（更新）（2016年1月20日現在）病原微生物検出情報 37: 33-35, 2016
4. 中村朋史、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のウイルス学的特徴．臨床とウイルス 44：72-78, 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. 清水博之：エンテロウイルスD68型．感染と消毒 23：133-137, 2016
7. 清水博之：【話題の疾患と治療】エンテロウイルスD68．感染炎症免疫 46：51-54, 2016
8. 清水博之：エンテロウイルス感染症．医師会雑誌，（印刷中）2017

2. 学会発表

1. Kinoshita H, Arima Y, Sunagawa T, Tanaka-Taya K, Hanaoka N, Fujimoto T, Oishi K, Shimizu H. Detections of enterovirus D68 based on the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases system in Japan, 2005-2015 Meetings of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses (EUROPIC 2016), Les Diablerets, 3-10 September, 2016
2. 木下一美、有馬雄三、砂川富正、多屋馨子、大石和徳、清水博之、我が国のサーベイランスデータからみるエンテロウイルスD68型検出症例. 感染症学会 2016年4月

G . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

とくに無し

H . 謝辞

EV-D68分離株を分与いただいた島根県保健環境科学研究所の飯塚節子先生、藤澤直輝先生に深謝いたします。

急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症に関する臨床疫学研究
研究分担者 細矢光亮 福島県立医科大学小児科 主任教授

研究要旨

福島県全域における急性弛緩性麻痺および急性脳炎・脳症の発生を前方視的に調査した。

急性弛緩性麻痺は、平成 26～28 年の期間に福島県での発生はなかった。急性脳炎・脳症は、平成 26 年に 12 例、平成 27 年に 13 例、平成 28 年に 8 例の発生があった。

検討しえた範囲において、エンテロウイルスが関与したと思われる急性弛緩性麻痺および急性脳炎・脳症例は認めなかった。

A．研究目的

福島県全域における急性弛緩性麻痺および急性脳炎・脳症の発生を前方視的に調査する。

B．研究方法

福島県内の小児入院施設を有する全医療機関の協力を得て、平成26年1月から、入院を要する重症感染症等の全例について、前方視的発生動向調査を行っている。その対象疾患に、脳炎・脳症、細菌性および無菌性髄膜炎、熱性けいれん重積、胃腸炎関連けいれん、急性散在性脳脊髄炎、多発性硬化症、ギランバレー症候群、急性弛緩性麻痺を加え、福島県全域における急性弛緩性麻痺および急性脳炎・脳症等の発生を調査する。

（倫理面への配慮）

福島県立医科大学倫理委員会の承認を得て行っている。主治医からの報告は、発症日、年齢、性、病因・病態のみであり、これにより個人が特定されることはなく、不利益を被ることもない。

C．研究結果

急性弛緩性麻痺は、平成 26～28 年の期間に福島県での発生はなかった。

急性脳炎・脳症は、平成 26 年に 12 例、平成 27 年に 13 例、平成 28 年に 8 例の発生があった。病因は、ヒトヘルペスウイルス 6 型が 9 例、インフルエンザウイルスが 4 例、ムンプスウイルスが 1 例、不明が 19 例であった。病態は、二相性脳症が 9 例で、そのうちの 3 例がヒトヘルペスウイルス 6 型であった。検討しえた範囲において、エンテロウイルスが関与したと思われる急性脳炎・脳症例は認めなかった。

D．考察

急性脳症は、福島県において年間10例前後の発症がある。原因としてはヒトヘルペスウイルス6型とインフルエンザが多いので、1歳前後の乳幼児における発症と、インフルエンザの流行する冬季の発症には注意が必要である。

平成28年度は福島県内におけるエンテロウイルスD68の流行はなく、これによる急性脳症や急性弛緩性脊髄炎の発症はなかった。

E．結論

最近ではエンテロウイルスD68の流行はなく、これによる神経合併症をきたした症例はないが、今後のエンテロウイルスD68の流行に注意する必要がある。

F．研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G．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

2015年秋に多発した急性弛緩性脊髄炎の臨床像の解明

研究分担者 吉良龍太郎 福岡市立こども病院 小児神経科 科長

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たことにより、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。その結果、この時期に急性弛緩性脊髄炎（acute flaccid myelitis: AFM）と診断される症例が全国で多発し、その数は59例にのぼることが中央解析により判明した。これらの症例の臨床症状および検査所見を解析したところ、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。

A．研究目的

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、特に急性弛緩性脊髄炎（acute flaccid myelitis: AFM）の症例が多いことが判明した。2015年10月21日、厚生労働省から「急性弛緩性麻痺（AFP）を認める症例の実態把握について（協力依頼）」の事務連絡が発出された。この事務連絡により、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）。

今回、一次調査で報告された症例を対象として、臨床・疫学情報に関する詳細な二次調査を行い、AFP多発の実態を明らかにするとともに、AFM患者の臨床症状および検査所見について解析した。

B．研究方法

一次調査でAFPとして報告された患者を対象に二次調査を行った。調査は、二次調査用紙の記入および画像検査・神経生理検査データの送付を担当医に依頼し、得られた情報を基に複数の班員・協力者が中央解析した。次にAFMの診断基準を満たす患者の臨床症状および検査所見を解析した。一次調査および二次調査で用いたAFPおよびAFMの症例定義は以下の通りである。

AFPの症例定義（一次調査）

2015年8月1日以降、同年12月31日までに、急性弛緩性麻痺を認めて、24時間以上入院した者。ただし、血管障害、腫瘍、外傷などの確定診断がなされ、明らかに感染性と

異なる症例は除外。

AFMの症例定義（CSTE 2015）（二次調査）

四肢の限局した部分の脱力を急に発症（acute onset focal limb weakness）

MRIで主に灰白質に限局した脊髄病変が1脊髄分節以上に広がる

髄液細胞増多（白血球数 $>5/\mu\text{L}$ ）

+ はconfirmed、+ はprobable

（倫理面への配慮）

二次調査を行うにあたり「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」の承認を得た（受付番号：655，2015年12月24日）

C．研究結果

一次調査で探知された115例のAFP症例のうち、1例は調査時期以外に発症、3例は入院しなかった、1例は頸椎症の診断、9例は調査協力が得られなかったため、これら14例の二次調査は実施しなかった。これらを除いた101例について二次調査の回答が得られた結果、AFPの症例定義（一次調査）を満たした者は75例であった。AFPの組み入れ基準に合わない7例（入院しなかった2例、調査期間以外に発症した4例、海外で発症した1例）および一次調査で除外されるべき明確な原因を有する19例（心身症9例、脊髄梗塞3例、他の非神経疾患7例）は除外した。75例のAFP患者のうち、AFMの症例定義を満たさなかった16例の症例（ギラン・バレー症候群7例、脳炎7例、急性散在性脳脊髄炎2例、画像で脳幹病変を伴う急性脳神経障害1例、ポツリヌス症1例、小脳失調1例）を

除いた 59 例が AFM (高可能性例 1 例を含む) であった。

患者背景: AFM 症例は、男 35 例、女 24 例。平均年齢 4.4 歳 (IQR 2.6-7.7 歳)。15 歳以下の症例が 55 例 (93%) で、残りの 4 例 (7%) は成人発症であった。10 例 (17%) に気管支喘息、8 例 (14%) にその他のアレルギー疾患の既往があり、41 例 (69%) に特記すべき既往はなかった。

前駆症状: 麻痺症状の出現する前に発熱を認めた症例は 52 例 (88%) あり、発熱から麻痺出現までの期間は平均 3.5 日 (IQR 1.0-5.3 日)、発熱の持続日数は 4 日 (IQR 3-65.3 日)、最高体温 38.5 であった。前駆症状として呼吸器症状が最も多く 44 例 (75%) に見られ、消化器症状 11 例 (19%) であった。

神経症状: 麻痺が完成するまでの時間は 42 例 (78%) が 48 時間以内で、非常に速い発症様式を呈した。全ての患者が弛緩性麻痺を呈し、53 例 (90%) は腱反射の低下・消失を伴った。運動麻痺の部位の検討では、罹患肢 1 肢が 22 例 (37%) (上肢 14 例、下肢 8 例)、2 肢が 23 例 (39%)、3 肢が 3 例 (5%)、4 肢が 11 例 (19%) で、対麻痺の 10 例と四肢麻痺の 4 例を含む 40 例 (68%) が麻痺の左右差を示した。10 例 (17%) に脳神経症状、15 例 (25%) に膀胱直腸障害、12 例 (20%) に感覚障害、7 例 (12%) に頂部硬直、7 例 (12%) に頭痛、7 例 (12%) に意識障害を認めた。40 例 (68%) で経過中に罹患肢が萎縮した。転帰は完全回復、回復良好、かなり回復、回復不良がそれぞれ 7 例 (12%)、10 例 (17%)、32 例 (54%)、10 例 (17%) で、前二者と後二者をそれぞれ合わせて 17 例 (29%) が転帰良好、42 例 (71%) が転帰不良であった。

血液・髄液検査所見 脳脊髄液検査において、50 例 (85%) に白血球数増多、27 例 (46%) に蛋白上昇が見られた。麻痺症状出現から脳脊髄液検査までの日数で白血球数は異なっており、0-5 日、6-10 日、11-15 日でそれぞれ平均 68/mm³ (34-147)、33 (9-65)、11 (6-17)、と徐々に低下し、16 日以降では 4 (3-7) と正常化した。なお 0-5 日に採取した 42 例に限れば、40 例 (95%) とほぼ全例で細胞増多が見られた。ミエリン塩基性蛋白の上昇 (>102 pg/mL) は 44 例中 14 例 (32%) に、IgG インデックスの上昇 (>0.85) は 36 例中 7 例 (19%) に見られた。抗 AQP4 抗体と抗 MOG 抗体は検査を受けた全例で陰性であった。

D. 考察

二次調査の中央解析により 59 例を AFM と診断した。米国における 2014 年の AFM 多発が 120 例と報告されているので、人口を考慮すると米国と同程度の患者の多発であったと推定される。

AFM は 2014 年に新たに提唱された疾患定義である。10 歳未満の小児が、呼吸器症状や発熱といった前駆症状の後に、四肢の運動麻痺が出現し、2~3 日以内に急速に完成する点が非常に特徴的で、ほとんどの症例に共通していた。検査では 85% の症例に髄液細胞増多があり、麻痺の発症後 5 日以内に検査しえた症例に限れば 95% もの高率に細胞増多がみられた。画像検査と神経生理検査でも特徴的な所見を示しており、2015 年秋に日本で多発した AFM は非常に類似した症状と検査結果を示す均一な疾患であったことが明らかとなった。

これらの症例の一部の検体からエンテロウイルス D68 が検出されており、今回の AFM 症例の多発との関連性について、直接的な因果関係の証明はできないが、現在、学術的な検証を行っているところである。

もし、エンテロウイルス D68 感染症と AFM の発症が関連するならば、原因不明とされる AFM がどのようなメカニズムによりウイルスと関連した脊髄炎を引き起こすのか解明することが今後の課題となるであろう。

E. 結論

二次調査の結果、2015 年 8 月~12 月に AFM と診断される症例が全国で多発し、その数は 59 例にのぼることが中央解析により判明した。

これらの症例には、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特徴が見られた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yamaguchi Y, Torisu H, Kira R, Ishizaki Y, Sakai Y, Sanefuji M, Ichiyama T, Oka A, Kishi T, Kimura S, Kubota M, Takanashi J, Takahashi Y, Tamai H, Natsume J, Hamano S, Hirabayashi S, Maegaki Y, Mizuguchi M, Minagawa K, Yoshikawa H, Kira J, Kusunoki S, Hara T: A nationwide survey of pediatric acquired demyelinating syndromes in Japan. *Neurology*. 87:2006-2015, 2016

Lee S, Sanefuji M, Torio M, Kaku N, Ichimiya Y, Mizuguchi S, Baba H, Sakai Y, Ishizaki Y, Torisu H, Kira R, Hara T, Ohga

S: Involuntary movements and coma as the prognostic marker for acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. J Neurol Sci. 370:39-43, 2016

吉良龍太郎: 免疫性・炎症性神経疾患-病態解明から疾患修飾薬開発まで「急性散在性脳脊髄炎」. モダンフィジシャン 36: 669-673, 2016

吉良龍太郎: エンテロウイルス D68 と関連疾患「エンテロウイルス D68 感染症に関連する神経疾患」. 臨床とウイルス 44: 107-111, 2016

2. 学会発表

Chong PF, Kira R, Mori H, Okumura A, Yasumoto S, Torisu H, Shimizu H, Tanaka-Taya K: Clustering of acute flaccid myelitis of unknown origin in Japan, autumn 2015.

The 18th Annual Meeting of Infantile Seizure Society (International Symposium on Acute Encephalopathy in Infancy and Its Related Disorders). July 1-3, 2016, Tokyo, Japan

吉良龍太郎: 分野別シンポジウム: 神経系の自己免疫疾患; up to date 「急性散在性脳脊髄炎、横断性脊髄炎: 急性弛緩性脊髄炎 (EVD68 陽性例を含む) との異同」. 第 119 回日本小児科学会学術集会 2016.5.13-15 札幌

吉良龍太郎: シンポジウム 2: 免疫介在性疾患の急性発作・てんかんを考える「急性散在性脳脊髄炎による急性発作・てんかん発症」. 第 50 回日本てんかん学会学術集会 2016.10.7-9 静岡

吉良龍太郎: ホットトピックス「小児の急性弛緩性脊髄炎」第 21 回日本神経感染症学会総会・学術大会 2016.10.21 金沢

G. 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

エンテロウイルスD68流行期の小児の急性弛緩性脊髄炎の神経画像所見に関する研究

研究分担者 奥村彰久 愛知医科大学医学部小児科学 教授
森 壘 東京大学医学部附属病院放射線科 准教授

研究要旨

2015年8-12月のエンテロウイルスD68流行期に発症した小児の急性弛緩性脊髄炎54例の画像所見を解析した。全例で脊髄病変を認めた。脊髄病変は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た。すなわち、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。これらの所見は小児急性弛緩性麻痺の診断や病態の考察において、重要である。

A．研究目的

2015年秋に小児において原因不明の急性弛緩性麻痺が多発し、同時期にエンテロウイルスD68（EVD68）の流行が判明した。米国でも2014年にEVD68の流行がみられ、同時期に急性弛緩性麻痺が多発したことが報告されている。これらのことから、厚生労働省は感染症法に基づく積極的疫学調査として、2015年8月～12月に急性弛緩性麻痺を認めて入院した症例について調査を開始した。本研究班では、厚生労働省の了解を得て二次調査を実施し、詳細な臨床情報・疫学情報を収集した。

急性弛緩性麻痺の責任病変は脊髄であり、現在ではこの病態を記述するのに急性弛緩性脊髄炎（acute flaccid myelitis, AFM）という用語が一般的になっている。AFMの神経画像所見については現在まで十分な検討が行われておらず、十分な知見が得られていない。本研究では、小児のAFMの神経画像所見を明らかにするため、研究班が二次調査で収集した神経画像をレビューし、その所見を明らかにするとともに病態に対する考察を行った。

B．研究方法

本研究班が施行した一次調査で把握した115例中、101例について二次調査の協力が得られた。このうち、AFMの診断基準を満たし、脊髄MRIの十分な検討が可能であったのは59例であった。このうち、AFM確実例で発症時の年齢が15歳未満であった54例についてその所見を検討した。

画像は担当医からCD-ROMなどの電子媒体によって提供された。その所見を2名の判読者がそれぞれ独立して判読し、その後協議を行って最終的な所見を記載した。

今回検討したのは以下の事項である。

1) 脊髄の所見とその経時的変化

- A．病変の広がり
- B．脊髄内の病変局在
- C．造影効果

- 2) 大脳の所見
- 3) 小脳の所見
- 4) 脳幹の所見

また、脊髄病変の広がりや麻痺症状の分布との関係を検討した。

（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委員会の承認を受けて施行した。すべての画像データは国立感染症研究所に保管されており、本研究以外の目的では閲覧できない。

C．研究結果

54例の年齢は中央値4歳（範囲0～12歳）、男女比は32：22であった。最初の脊髄MRIは麻痺の発症から中央値5日（範囲0～38日）で撮像されていた。

脊髄の縦走病変は全例で認め、その範囲は全脊髄またはほぼ全脊髄26例、頸髄のみ8例、頸胸髄または胸髄のみ3例、胸腰髄7例、撮像が十分でないため特定できず8例であった。髄内の病変局在は、灰白質＋白質38例、灰白質のみ11例、評価困難5例であった。初回脊髄MRIでガドリニウム造影が施行されたのは25例であり、造影効果を18例に認めた。造影効果を認めたのは、馬尾16例、神経根4例、灰白質1例であった。

脳のMRIは50例で施行されていた。大脳では2例に異常を認めたが、脊髄病変との関係は不明であった。および小脳に異常を認めた症例はなかった。脳幹では22例に脊髄から連

続する病変を認めた。病変の範囲は、延髄のみ18例、橋から延髄3例、中脳から延髄1例であった。

病変の範囲と麻痺の分布との関係を表1に示す。病変を全脊髄またはほぼ全脊髄認めた26例では四肢麻痺を6例に認めたが、一方で上肢または下肢の単麻痺を計7例に認め、症例によっては病変の広がりや麻痺の分布との間に乖離を認めた。頸髄のみに病変を認めた8例では、7例が上肢または下肢の単麻痺を認めた。頸胸髄または胸髄のみに病変を認めた3例では三肢麻痺1例、両下肢麻痺2例であった。胸腰髄に病変を認めた9例では、両下肢麻痺を6例に認めた。脊髄病変の上端より頭側の脊髄レベルに該当する麻痺を認めた症例は認めなかった。

髄内の病変分布と麻痺の分布との関係を表2に示す。灰白質と白質との両者に病変を認めた症例は、四肢麻痺から単麻痺まで様々な麻痺の分布を呈したが、灰白質のみの症例では四肢麻痺や三肢麻痺は認めず、両下肢麻痺3例、上肢単麻痺8例であった。

初回のガドリニウム造影効果の有無と麻痺の分布との関係を表3に示す。造影効果を認めた症例は四肢麻痺から単麻痺まで様々な麻痺の分布を呈したが、造影効果を認めなかった症例は、1例を除いて両下肢麻痺または下肢単麻痺を呈した。

ガドリニウム造影効果の経時的変化を表4に示す。麻痺出現後0-2日では、造影を施行した10例中4例に造影効果を認めたのみであったが、麻痺出現後3日以降に造影を施行した症例では造影効果が極めて高率であった。

D. 考察

今回の検討から、小児のAFMの画像所見の特徴が明らかになった。すなわち、全例で縦に長い脊髄病変を認めた。また、馬尾の増強効果も高率に認め、特徴的な所見と考えられる。一方、広範な脊髄病変を認めるにも関わらず麻痺の分布は一肢に限局する症例が散見され、脊髄病変の範囲と麻痺の分布との間に乖離を認めることがあるのも特徴的であった。

縦長な脊髄病変の鑑別には、炎症、脱髄、自己免疫性血管炎、非炎症性血管病変および腫瘍が挙がる。それぞれ具体的には、横断性脊椎炎、HTLV-1関連脊髄炎(HAM)、視神経脊髄炎関連疾患(抗AQP4抗体陽性、抗MOG抗体陽性)、シェーグレン症候群、全身性エリテマトーデス/抗リン脂質抗体症候群、神経Behcet病、原発性中枢神経系血管炎、ANCA関連血管炎や神経サルコイドーシス、硬膜動静脈瘻(dural AVF)、脊髄梗塞および、血管内リンパ腫(IVL)、脊髄転移ないし傍腫瘍性脊髄炎を鑑別しなければならない。病変の広がりや麻痺の部位との間には、しばしば乖離がみられ、極端な場合では全脊髄に病変を認めても、単麻痺を示す例も稀でない。これらの所見からは、神経脱落や脱髄などの直接の(原発性の)神経障害のみならず、静脈性浮腫などの病態も重畳していることが推察される。EVD68によるAFM

の発症機序に関しては、ウイルスの直接的な感染による一次的障害と、炎症などを介在する二次的障害との可能性が考えられる。今回の検討から、脊髄病変は極めて広範であることが多く、症状の出現が急速であることを考え合わせると、一次的障害よりも二次的障害のほうが説明しやすいと思われた。

また、今回の検討でAFMでは馬尾にガドリニウム造影による増強効果を高率に認め、特徴的な所見であると思われた。一方、髄内には造影による増強効果を認めることは稀であった。増強効果は麻痺発症後2日以内には低率であり、やや遅れて出現するのが特徴的であった。また、馬尾の増強効果は頸髄のみに病変を認める病変でも認められた。これらのことからAFMにおける馬尾の造影効果は、二次的障害による血液神経関門の破綻の結果である可能性が示唆された。

E. 結論

2015年8-12月のエンテロウイルスD68流行期に発症した小児のAFMの画像所見を明らかにした。広範な脊髄病変と馬尾の造影効果が特徴的な所見であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Okumura A, Nakahara E, Ikeno M, Abe S, Igarashi A, Nakazawa M, Takasu M, Shimizu T. Efficacy and tolerability of high-dose phenobarbital in children with focal seizures. *Brain Dev* 2016; 38(4): 414-8.

Okumura A, Abe S, Kurahashi H, Takasu M, Ikeno M, Nakazawa M, Igarashi A, Shimizu T. Worsening of attitudes toward epilepsy following less influential media coverage of epilepsy-related car accidents: An infodemiological approach. *Epilepsy Behav* 2016; 64: 206-11.

Kurahashi H, Okumura A, Kubota T, Kidokoro H, Maruyama K, Hayakawa M, Itakura A, Matsuzawa K, Yamamoto H, Kato T, Hayakawa F, Watanabe K. Increased fetal heart rate variability in periventricular leukomalacia. *Brain Dev* 2016; 38(2): 196-203.

Ikeno M, Okumura A, Abe S, Igarashi A, Hisata K, Shoji H, Shimizu T. Clinically silent seizures in a neonate with tuberous sclerosis. *Pediatr Int* 2016; 58(1): 58-61.

Yamakawa K, Yamagishi Y, Miyata K, Shimomura Y, Iwata A, Hori T, Mikamo H, Okumura A. Bacteremia Caused by *Raoultella ornithinolytica* in Two Children. *Pediatr Infect Dis J* 2016; 35(4): 452-3.

Igarashi A, Okumura A, Shimojima K, Abe S, Ikeno M, Shimizu T, Yamamoto T. Focal seizures and epileptic spasms in a child with Down syndrome from a family with a PRRT2 mutation. *Brain Dev* 2016; 38(6): 597-600.

Abe Y, Sakai T, Okumura A, Akaboshi S, Fukuda M, Haginoya K, Hamano S, Hirano K, Kikuchi K, Kubota M, Lee S, Maegaki Y, Sanefuji M, Shimozato S, Suzuki M, Suzuki Y, Takahashi M, Watanabe K, Mizuguchi M, Yamanouchi H. Manifestations and characteristics of congenital adrenal hyperplasia-associated encephalopathy. *Brain Dev* 2016; 38(7): 638-47.

Takeuchi T, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Yamamoto H, Azuma Y, Ito Y, Kurahashi N, Tsuji T, Suzuki M, Itomi K, Yamada K, Kurahashi H, Abe S, Okumura A, Maruyama K, Negoro T, Watanabe K, Kojima S. The effects of co-medications on lamotrigine clearance in Japanese children with epilepsy. *Brain Dev* 2016; 38(8): 723-30.

Miyata K, Hori T, Yamakawa K, Takasu M, Hayakawa T, Shimomura Y, Iwata A, Okumura A, Nakura T, Jyoko M, Mori Y, Takahashi E, Hirato J. Medulloblastoma with epithelioid features in the cerebellar vermis. *Pediatr Int* 2016; 58(9): 908-12.

Matsubara K, Mori H, Hirai N, Yasukawa K, Honda T, Takanashi JI. Elevated taurine and glutamate in cerebral juvenile xanthogranuloma on MR spectroscopy. *Brain Dev* 2016; 38(10): 964-7.

Kamiya K, Kamagata K, Miyajima M, Nakajima M, Hori M, Tsuruta K, Mori H, Kunimatsu A, Arai H, Aoki S, Ohtomo K. Diffusional Kurtosis Imaging in Idiopathic Normal Pressure Hydrocephalus: Correlation with Severity of Cognitive Impairment. *Magn Reson Med Sci* 2016; 15(3): 316-23.

Kunimatsu A, Kunimatsu N, Kamiya K, Katsura M, Mori H, Ohtomo K. Variants of meningiomas: a review of imaging findings and clinical features. *Jpn J Radiol* 2016; 34(7): 459-69.

Kamiya K, Amemiya S, Suzuki Y, Kunii N, Kawai K, Mori H, Kunimatsu A, Saito N, Aoki S, Ohtomo K. Machine Learning of DTI Structural Brain Connectomes for

Lateralization of Temporal Lobe Epilepsy. *Magn Reson Med Sci* 2016; 15(1): 121-9.

2. 学会発表

奥村彰久 . 急性脳症 Up to Date . 第624回日本小児科学会東京都地方会講話会、東京、2016.1.9.

奥村彰久 . 消化管感染症と重症合併症 . 脳炎・脳症 . 第12回日本小児消化管感染症研究会、東京、2016.2.6.

奥村彰久 . 小児の脳炎・脳症:現在と未来 . 第90回日本感染症学会総会、仙台、2016.4.15.

Akihisa Okumura. Neonatal Monitoring. The 12th International Child Neurology Congress, Amsterdam, the Netherlands, 2016.5.2.

奥村彰久 . 急性脳症における脳波 . 第58回日本小児神経学会学術集会、東京、2016.6.3.

Akihisa Okumura.

Electroencephalography in Children with Acute Encephalopathy. The 18th Annual Meeting of Infantile Seizure Society, Tokyo, Japan, 2016.7.2.

奥村彰久 . 急性脳炎・脳症:最近の話題 . 第27回日本小児神経学会中国・四国地方会、岡山、2016.7.16.

Akihisa Okumura, Shinpei Abe, Mitsuru Ikeno, Hirokazu Kurahashi, Michihiko Takasu, Toshiaki Shimizu. Changes in attitude toward epilepsy after media coverage of car accidents related to persons with epilepsy in Japan. 第50回日本てんかん学会学術集会、静岡、2016.10.7.

奥村彰久、池野充、安部信平、倉橋宏和、高須倫彦、清水俊明 . ステロイド投与後に胃穿孔と重症疾患ニューロパチーを来した可逆性膨大部病変を伴う軽症脳症の1例 . 第21回日本神経感染症学会学術大会、金沢、2016.10.22.

G . 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

表1．脊髄病変の範囲と麻痺の分布

	全脊髄または ほぼ全脊髄	頸髄のみ	頸胸髄または 胸髄のみ	胸腰髄	特定できず
四肢麻痺	6	1		1	1
三肢麻痺	2		1		
両上肢麻痺	1				
両下肢麻痺	10		2	6	1
片麻痺					1
上肢単麻痺	4	6		1	3
下肢単麻痺	3	1		1	2

表2．髄内の病変の分布と麻痺の分布

	灰白質 + 白質	灰白質のみ	特定できず
四肢麻痺	9		
三肢麻痺	3		
両上肢麻痺	1		
両下肢麻痺	13	3	3
片麻痺	1		
上肢単麻痺	6	8	
下肢単麻痺	5		2

表3．初回のガドリニウム造影効果と麻痺の分布

	造影効果あり	造影効果なし
四肢麻痺	4	1
三肢麻痺	2	
両上肢麻痺	8	5
上肢単麻痺	1	
下肢単麻痺	3	1

表4．ガドリニウム造影効果の経時的変化

麻痺出現からの 日数	0-2日	3-6日	7-13日	14-20日	21-27日	28-55日
造影効果あり	4	10	12	5	10	7
造影効果なし	6	0	0	1	1	0

急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症の神経生理学的研究に関する研究

研究分担者 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

研究要旨

2015年に多発した急性弛緩性麻痺症例のうち、全国調査で急性弛緩性脊髄炎と診断され、発症後4週間以内に神経生理検査が実施された46例の神経生理学的検査所見を解析した。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が79%、F波の出現頻度の低下が78%の症例に認められた。7病日以内の初回検査でも21例中11例（52%）に両所見をともに認めた。また、「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（相対リスク 5.250（95%信頼区間:1.934-14.249）、 $p = 0.002$ ）。

AFM症例に認めた神経生理学的所見は特徴的であり、他の急性脊髄炎や急性弛緩性麻痺を示す疾患との鑑別や予後予測に有用と考えられる。

A．研究目的

急性弛緩性麻痺（acute flaccid paralysis: AFP）を呈する疾患は血管障害、腫瘍、外傷、中毒、身体症状症など多岐にわたるが、ポリオウイルスによる急性灰白髄炎などの“神経系での炎症や異常な免疫応答に起因する神経傷害”を主病態とする疾患群が存在する。この中には、急性散在性脳脊髄炎などの他の急性脊髄炎やギラン・バレー症候群も含まれる。

急性弛緩性脊髄炎（acute flaccid myelitis: AFM）は、急性脊髄炎のうち、AFPを主徴とする脊髄炎を指し、症候であるAFPとMRIでの脊髄病変の存在で定義される臨床的な症候群である。

我々は、2015年に多発したAFP症例のうち、半数以上を占めるAFM症例に着目し、その神経障害部位を明らかにするために、神経生理学的検査所見の解析を実施した。

B．研究方法

対象：2015から2016年にかけて実施されたAFP症例に関する全国調査で集積された115例*のうち、最終的に当研究班でAFMと診断し**、発症後4週以内に神経生理検査が実施された46例

*全国調査でのAFP症例の定義

2015年8月1日以降、同年12月31日までに、急

性弛緩性麻痺を認めて、24時間以上入院した者。ただし、血管障害、腫瘍、外傷などの確定診断がなされ、明らかに感染性とは異なる症例は除外する。

**AFM（確定例）の定義

とをみたまもの

四肢の限局した部分の脱力を急に発症

MRIで主に灰白質に限局した脊髄病変が1脊髄分節以上に広がる

方法：

- 1) 各症例の発症時の年齢、臨床症候（発症時の筋力、症状ピーク時の筋力、回復時の筋力）、神経生理検査***の結果（波形、測定値）を集積した。

***検討した神経生理検査

運動神経伝導検査（motor conduction study: MCS）、感覚神経伝導検査（sensory conduction study: SCS）、F波、体性感覚誘発電位（somatosensory evoked potentials: SEP）

- 2) 実施された神経生理検査自体の妥当性あるいは結果の妥当性について、各症例の年齢、症候、波形、測定値にもとづいて、鳥巢と安元がそれぞれに検討し、最終的に下記の評価項目を下記の評価基準のもとに確認を行った。

評価項目

MCS：複合筋活動電位（compound muscle action potential: CMAP）の振幅、

伝導速度、波形
SCS： 感覚神経活動電位 (sensory nerve action potential: SNAP) の伝導速度、波形
F波： 出現頻度
SEP： 潜時、波形

評価基準

振幅、伝導速度 (MCS、SCS)
既存のデータ値[#]に照らし合わせ、最低一つの神経で-2.5SDを下回る場合、または左右で30%以上の差 ($|L-R|/\max(L, R)$ 0.3) を認める場合に異常と判定した。
波形 (MCS、SCS)
導出不良の有無 時間的分散の有無
伝導ブロック (近位刺激と遠位刺激がある場合) の有無
F波の出現率
出現率は上肢50%未満、下肢80%未満 または左右で30%以上の差 ($|L-R|/\max(L, R)$ 0.3) を認める場合に異常と判定した。
体性感覚誘発電位潜時
検査施設標準値に照らし合わせて異常値と判断される場合、または30%以上の左右差 ($|L-R|/\max(L, R)$ 0.3) を認める場合に異常と判定した。

[#]Cai F, Zhang J. Study of nerve conduction and late responses in normal Chinese infants, children, and adults. J Child Neurol. 1997; 12:13-18.

3) 確認したデータを元に統計解析を実施し、検定には²検定あるいはFischerの正確確率検定を行った。統計ソフトは、IBM SPSS Statistics 22を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立感染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(承認番号 655)福岡歯科大学倫理審査委員会の承認(承認番号 329)を得て実施した。

C. 研究結果

解析症例は小児43例 (男27、女16)、発症年齢は0 - 12歳 (平均年齢4.2歳) と成人3例 (男1、女2) であり、神経症状発症からピークまでの日数は0または1日が20例 (43%) であった。また、ピーク時の麻痺の型は、単麻痺16例 (35%)、二肢麻痺18例 (39%)、三肢麻痺2例 (4%)、四肢麻痺10例 (22%) であった。解析症例の上記特徴は、集積されたAFM症例全体と比較して有意な差を認めなかった。

初回神経生理検査が7病日以内に実施さ

れたのは29例 (63%)、14病日以内は43例 (93%)であった。

14病日以内に実施された初回検査において、MCSではCMAPの振幅低下が79% (34/43)、伝導速度低下が7% (3/43)、波形の異常が7% (3/43)に認められた。SCSでは伝導速度4% (1/26)、波形の異常0% (0/26)に認められた。F波では出現頻度の低下が78% (28/36)に認められた。SEPでは67% (2/3)に異常を認めた。発症7病日以内にMCSとF波をともに実施した21例は全例いずれかの異常を示し、11例 (52%)は両検査で異常を認めた。

“神経学的後遺症の有無”と“CMAP振幅の異常の有無”の検討では、両者に有意な関連性を認めなかったが、“神経学的後遺症の有無”と“F波出現率の異常の有無”では、「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 (相対リスク5.250 (95% 信頼区間:1.934-14.249), $p = 0.002$)。

D. 考察

2015年にわが国で多発したAFM症例では、神経症状の出現時より運動神経のCMAPの振幅低下とF波の出現率の低下を高率に認め、基本的に運動神経の伝導速度は正常であり、感覚神経では異常を認めなかった。

このことからAFMの神経生理学的診断マーカーとしてCMAPの振幅低下とF波出現率の低下、陰性の診断マーカーとして運動神経の伝導速度の低下と感覚神経の異常が挙げられた。

また、今回の知見から、解析を行ったAFM症例では脊髄前角細胞の障害に加えて、運動神経軸索機能の障害が病初期より認められることが明らかになった。なお、AFM発症後にCMAPの振幅低下を呈する症例が存在することから、脊髄前角細胞の障害は軸索機能障害に先行することが予想された。このことは、1週以内にMCSを行った症例では、CMAP振幅の低下例が69% (20/29) であるのに対し、1週以降の検査では100% (17/17)であったことから示唆される。

AFMにおける末梢運動神経の機能障害の機序としては、1) ウイルス感染に伴う直接傷害、2) ウイルス感染に関連した免疫学的傷害、3) 前角神経細胞障害に伴う二次的変性が予想され、今後、神経生理検査以外

の多角的な検討が必要であると考えられる。

本研究によって、「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。この結果は、「AFMでの神経生理検査は予後予測に有用である」ことを示すとともに、「AFMの発症初期に脊髄前角細胞の傷害を軽減することが、AFMの治療において重要である」ことを示唆すると考えられる。

E . 結論

本研究でAFM症例に認めた神経生理学的所見は特徴的であり、他の急性脊髄炎やAFPを示す疾患との鑑別を行う際や予後予測に有用であると考えられる。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Yamaguchi Y, Torisu H, Kira R, Ishizaki Y, Sakai Y, Sanefuji M, Ichiyama T, Oka A, Kishi T, Kimura S, Kubota M, Takanashi J, Takahashi Y, Tamai H, Natsume J, Hamano S, Hirabayashi S, Maegaki Y, Mizuguchi M, Minagawa K, Yoshikawa H, Kira J, Kusunoki S, Hara T: A nationwide survey of pediatric acquired demyelinating syndromes in Japan. *Neurology* 87: 2006-2015, 2016.
2. Lee S, Sanefuji M, Torio M, Kaku N, Ichimiya Y, Mizuguchi S, Baba H, Sakai Y, Ishizaki Y, Torisu H, Kira R, Hara T, Ohga S: Involuntary movements and coma as the prognostic marker for acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *J Neuro Sci* 370: 39-43, 2016.
3. Kanemasa H, Fukai R, Sakai Y, Torio M, Miyake N, Lee S, Ono H, Akamine S, Nishiyama K, Sanefuji M, Ishizaki Y, Torisu H, Saitsu H, Matsumoto N, Hara T: De novo p.Arg756Cys mutation of ATP1A3 causes an atypical form of alternating hemiplegia of childhood with prolonged paralysis and choreoathetosis. *BMC Neurol* 16:174, 2016.
4. Sakai Y, Fukai R, Matsushita Y, Miyake N, Saitsu H, Akamine S, Torio M, Sasazuki M, Ishizaki Y, Sanefuji M, Torisu H, Shaw CA, Matsumoto N, Hara T: De novo truncating mutation of TRIM8 causes early-onset epileptic encephalopathy. *Ann Hum Genet* 80:235-40, 2016.

2. 学会発表

1. Torisu H: Nationwide survey of ADEM in Japan. The 18th Annual Meeting of Infantile Seizure Society. July 1-3, 2016, Tokyo
2. Chong PF, Kira R, Mori H, Okumura A,

Yasumoto S, Torisu H, Shimizu H, Taya K Keiko : Clustering of acute flaccid myelitis unknown etiology in Japan, autumn 2015. The 18th Annual Meeting of Infantile Seizure Society. July1-3, 2016, Tokyo

3. Ichimiya Y, Sakai Y, Kaku N, Yamashita F, Matsuoka W, Mizuguchi S, Hirata Y, Ishizaki Y, Sanefuji M, Torisu H, Maehara Y, Takada H: Paroxysmal sympathetic hyperactivity during therapeutic hypothermia in a case with severe AESD. The 18th Annual Meeting of Infantile Seizure Society. July 1-3, 2016, Tokyo
4. 鳥巢浩幸：教育講演 小児免疫性中枢神経疾患の臨床：脱髄疾患の診断と治療. 日本小児神経学会総会 2016.6.5 東京

G . 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

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
亀井 聡	化膿性髄膜炎	平山恵造 監修・廣瀬源二郎, 田代邦雄, 葛原茂樹編	臨床神経内科学改訂6版	南山堂	東京	2016	285-287
亀井 聡	ウイルス性髄膜炎	平山恵造 監修・廣瀬源二郎, 田代邦雄, 葛原茂樹編	臨床神経内科学改訂6版	南山堂	東京	2016	287-288
亀井 聡	結核性髄膜炎	平山恵造 監修・廣瀬源二郎, 田代邦雄, 葛原茂樹編	臨床神経内科学改訂6版	南山堂	東京	2016	288-290
亀井 聡	クリプトコッカス髄膜炎	平山恵造 監修・廣瀬源二郎, 田代邦雄, 葛原茂樹編	臨床神経内科学改訂6版	南山堂	東京	2016	290-291
亀井 聡	その他の亜急性髄膜炎	平山恵造 監修・廣瀬源二郎, 田代邦雄, 葛原茂樹編	臨床神経内科学改訂6版	南山堂	東京	2016	291-294
亀井 聡	ヘルペス脳炎	平山恵造 監修・廣瀬源二郎, 田代邦雄, 葛原茂樹編	臨床神経内科学改訂6版	南山堂	東京	2016	294-295
亀井 聡	日本脳炎	平山恵造 監修・廣瀬源二郎, 田代邦雄, 葛原茂樹編	臨床神経内科学改訂6版	南山堂	東京	2016	296
亀井 聡	他の急性脳炎	平山恵造 監修・廣瀬源二郎, 田代邦雄, 葛原茂樹編	臨床神経内科学改訂6版	南山堂	東京	2016	297-299

亀井 聡	脳膿瘍	平山恵造 監修・廣瀬源二郎, 田代邦雄, 葛原茂樹編	臨床神経内科学改訂6版	南山堂	東京	2016	300-301
亀井 聡	神経梅毒(脳梅毒)	平山恵造 監修・廣瀬源二郎, 田代邦雄, 葛原茂樹編	臨床神経内科学改訂6版	南山堂	東京	2016	301-303
鳥巢浩幸、原寿郎	急性散在性脳脊髄炎・急性出血性白質脳症	辻省次	シリーズ<アクチュアル脳・神経疾患の臨床> 免疫性神経疾患 病態と治療のすべて	中山書店	東京	2016	253-258
鳥巢浩幸	急性小脳失調	前垣義弘	診療実践 小児神経科 小児神経疾患のプライマリ・ケア	診断と治療社	東京	2016	150-151
鳥巢浩幸	急性散在性脳脊髄炎	前垣義弘	診療実践 小児神経科 小児神経疾患のプライマリ・ケア	診断と治療社	東京	2016	150-151

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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
Kimura K, Fukushima T, Katada N, Shimizu H, Nakamura T, Fujimoto T, Hanaoka N, Tanaka-Taya K, Makino K.	Adult Case of Acute Flaccid Paralysis with Enterovirus D68 Detected in the CSF.	Neurology: Clinical Practice		Published online before print	2016

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 (5)	227-234	2017
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 (3)	101-106	2016
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 (3)	84-89	2016
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巻6号	831-837	2015
八代将登、森島恒雄	インフルエンザ急性肺炎障害におけるチオレドキシン(TRX-1)の役割	医学のあゆみ		179-182	2015.7
八代将登	重症インフルエンザ、そのメカニズムと診療脳症	Pharma Medica	33	23-28	2015.12
Akimoto T, Morita A, Shiobara K, Hara M, Minami M, Shijo K, Nomura Y, Shigihara S, Haradome H, Abe O, Kamei S.	Surgically Cured, Relapsed Pneumococcal Meningitis Due to Bone Defects, Non-invasively Identified by Three-dimensional Multi-detector Computed Tomography.	Intern Med.	55	3665-9.	2016
亀井 聡	細菌性髄膜炎の診断と治療 ガイドラインから	神経治療学	33	135-40	2016
亀井 聡	細菌性髄膜炎および脳炎における認知機能障害	BRAIN and NERVE	68	317-27	2016
亀井 聡	細菌性髄膜炎	診断と治療	104	743-8	2016
亀井 聡	細菌性髄膜炎診療ガイドライン2014の改訂ポイント	Mebio	33	10-7	2016
石原 正樹, 亀井 聡	内科領域のヘルペスウイルス感染症.	Modern Physician	36	1265-9	2016
Sato M, Kuroda M, Kasai M, Matsui H, Fukuyama T, Katano H, Tanaka-Taya K	Acute encephalopathy in an immunocompromised boy with astrovirus-MLBI infection detected by next generation sequencing.	J Clin Virol	78	66-70	2016

Itoh K, Iwamoto K, Satoh Y, Fujita T, Takahashi K, Katano H, Hasegawa H, Takasaki T, Tando S, Fushiki S	<i>Knowledge Obtained from an Elderly Case of Japanese Encephalitis.</i>	Intern Med	55	2487-2490	2016
Kimura K, Fukushima T, Katada N, Shimizu H, Nakamura T, Fujimoto T, Hanaka N, Tanaka-Taya K, Makino K.	Adult Case of Acute Flaccid Paralysis with Enterovirus D68 Detected in the CSF	Neurology: Clinical Practice	Published online before print		2016
Kotani O, Suzuki T, Yokoyama M, Iwata-Yoshikawa N, Nakajima N, Sato H, Hasegawa H, Taguchi F, Shimizu H, Nagata N	Intracerebral inoculation of mouse-passaged Saffold virus type 3 affects cerebellar development in neonatal mice	J Virol	in press		
国立感染症研究所 感染症疫学センター、ウイルス第二部	エンテロウイルスD68型 (EV-D68)に関する国内の疫学情報のまとめ (更新) (2016年1月20日現在)	病原微生物検出情報	37	33-35	2016
中村朋史、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のウイルス学的特徴	臨床とウイルス	44	72-78	2016
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
清水博之	エンテロウイルス71ワクチン開発の現状	小児科	57	929-936	2016
清水博之	エンテロウイルスD68型.	感染と消毒	23	133-137	2016
清水博之	【話題の疾患と治療】エンテロウイルスD68	感染炎症免疫	46	51-54	2016
清水博之	エンテロウイルス感染症	医師会雑誌	印刷中		2017

清水博之	エンテロウイルスと子どもの麻痺	小児保健研究	印刷中		2017
Yamaguchi Y, Torisu H, Kira R, Ishizaki Y, Sakurai Y, Sanefuji M, Ichiyama T, Oka A, Kishi T, Kimura S, Kubota M, Takanashi J, Takahashi Y, Tamai H, Natsume J, Hamano S, Hirabayashi S, Maegaki Y, Mizuguchi M, Minagawa K, Yoshikawa H, Kira J, Kusunoki S, Hara T	A nationwide survey of pediatric acquired demyelinating syndromes in Japan	Neurology	87	2006-2015	2016
Lee S, Sanefuji M, Torio M, Kasaku N, Ichimiya Y, Mizuguchi S, Baba H, Sakai Y, Ishizaki Y, Torisu H, Kira R, Hara T, Ohgas S	Involuntary movements and coma as the prognostic marker for acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion	J Neurol Sci	370	39-43	2016
吉良龍太郎	免疫性・炎症性神経疾患-病態解明から疾患修飾薬開発まで「急性散在性脳脊髄炎」	モダンフィジシャン	36	669-673	2016
吉良龍太郎	エンテロウイルスD68と関連疾患「エンテロウイルスD68感染症に関連する神経疾患」	臨床とウイルス	44	107-111	2016
Okumura A, Nakahara E, Ikeno M, Abe S, Igarashi A, Nakazawa M, Takasu M, Shimizu T.	Efficacy and tolerability of high-dose phenobarbital in children with focal seizures.	Brain Dev	38(4)	414-8	2016
Okumura A, Abe S, Kurahashi H, Takasu M, Ikeno M, Nakazawa M, Igarashi A, Shimizu T.	Worsening of attitudes toward epilepsy following less influential media coverage of epilepsy-related car accidents: An infodemiological approach.	Epilepsy Behav	64	206-11	2016

Kurahashi H, Okumura A, Kubota T, Kidokoro H, Maruyama K, Hayakawa M, Itakura A, Matsuzawa K, Yamamoto H, Kato T, Hayakawa F, Watanabe K.	Increased fetal heart rate variability in periventricular leukomalacia.	Brain Dev	38(2)	196-203	2016
Ikeno M, Okumura A, Abe S, Igarashi A, Hisata K, Shoji H, Shimizu T.	Clinically silent seizures in a neonate with tuberous sclerosis.	Pediatr Int	58(1)	58-61	2016
Yamakawa K, Yamagishi Y, Miyata K, Shimomura Y, Iwata A, Hori T, Mikamo H, Okumura A.	Bacteremia Caused by Raoultella ornithinolytica in Two Children.	Pediatr Infect Dis J	35(4)	452-3	2016
Igarashi A, Okumura A, Shimojima K, Abe S, Ikeno M, Shimizu T, Yamamoto T.	Focal seizures and epileptic spasms in a child with Down syndrome from a family with a PRRT2 mutation.	Brain Dev	38(6)	597-600	2016
Abe Y, Sakai T, Okumura A, Akaboshi S, Fukuda M, Haginoya K, Hamano S, Hirano K, Kikuchi K, Kubota M, Lee S, Maegaki Y, Sanefuji M, Shimozato S, Suzuki M, Suzuki Y, Takahashi M, Watanabe K, Mizuguchi M, Yamanouchi H.	Manifestations and characteristics of congenital adrenal hyperplasia-associated encephalopathy.	Brain Dev	38(7)	638-47	2016

Takeuchi T, Natsume J, Kidokoro H, Ishihara N, Yamamoto H, Azuma Y, Ito Y, Kurahashi N, Tsuji T, Suzuki M, Itomi K, Yamada K, Kurahashi H, Abe S, Okumura A, Maruyama K, Negoro T, Watanabe K, Kojima S.	The effects of co-mediations on lamotrigine clearance in Japanese children with epilepsy.	Brain Dev	38(8)	723-30	2016
Miyata K, Hori T, Yamakawa K, Takasu M, Hayakawa T, Shimomura Y, Iwata A, Okumura A, Nakura T, Jyoko M, Mori Y, Takahashi E, Hirato J.	Medulloblastoma with epithelioid features in the cerebellar vermis.	Pediatr Int	58(9)	908-12	2016
Matsubara K, Mori H, Hirai N, Yasukawa K, Honda T, Takanashi JI.	Elevated taurine and glutamate in cerebral juvenile xanthogranuloma on MR spectroscopy.	Brain Dev	38(10)	964-7	2016
Kamiya K, Kamagata K, Miyajima M, Nakajima M, Hori M, Tsuruta K, Mori H, Kunimatsu A, Arai H, Aoki S, Ohtomo K.	Diffusional Kurtosis Imaging in Idiopathic Normal Pressure Hydrocephalus: Correlation with Severity of Cognitive Impairment.	Magn Reson Med Sci	15(3)	316-23	2016
Kunimatsu A, Kunimatsu N, Kamiya K, Katsura M, Mori H, Ohtomo K.	Variants of meningiomas: a review of imaging findings and clinical features.	Jpn J Radiol	34(7)	459-69	2016
Kamiya K, Amemiya S, Suzuki Y, Kunii N, Kawai K, Mori H, Kunimatsu A, Saito N, Aoki S, Ohtomo K.	Machine Learning of DTI Structural Brain Connectomes for Lateralization of Temporal Lobe Epilepsy.	Magn Reson Med Sci	15(1)	121-9	2016

Yamaguchi Y, Torisu H, Kira R, ほか21名	A nationwide survey of pediatric acquired demyelinating syndromes in Japan.	Neurology	87	2006-2015	2016
Lee S, Sanefuji M, Torio M, Torisu H, (10番目), ほか9名	Involuntary movements and coma as the prognostic marker for acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion.	Journal of the Neurological Sciences	370	39-43	2016
Kanemasa H, Fukai R, Sakai Y, Torisu H (11番目) ほか11人	De novo p.Arg756Cys mutation of ATP1A3 causes an atypical form of alternating hemiplegia of childhood with prolonged paralysis and choreoathetosis.	BMC Neurology	16	174	2016
Sakai Y, Fukai R, Matsushita Y, Torisu H, (11番目) ほか10人	De novo truncating mutation of TRIM8 causes early-onset epileptic encephalopathy.	Annals of Human Genetics	80	235-240	2016