

**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29年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 多屋 馨子

平成30(2018)年 5月

目 次

・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 -----	1
多屋 馨子	

・分担研究報告

1．病原体不明脳炎・脳症の原因同定および、エンテロウイルスD68(EVD68)の診断に対する 臨床現場への啓発に関する研究-----	12
八代 将登	
2．成人の急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症に関する研究-----	15
亀井 聡	
3．不明脳炎症例におけるウイルス等の網羅的検索-----	18
片野 晴隆	
4．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-----	20
田島 茂	
5．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-----	26
清水 博之	
6．福島県における感染症関連神経疾患の発生動向調査とその病原体検索-----	30
細矢 光亮	
7．急性弛緩性麻痺患者における急性弛緩性脊髄炎の初期診断の正確性に関する検討-----	32
吉良 龍太郎	
8．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---	35
奥村 彰久、森 壱	
9．エンテロウイルスD68に関連する急性弛緩性脊髄炎の臨床的特徴-----	40
鳥巢 浩幸 安元 佐和	

・研究成果の刊行に関する一覧表 -----	43
-----------------------	----

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

わが国の急性脳炎・脳症・急性弛緩性麻痺（acute flaccid paralysis：AFP）のdisease burdenを明らかにするとともに、原因病原体を検索することを目的として研究を行った。感染症発生動向調査に基づいて、2007～2016年に報告された急性脳炎（脳症を含む）は、3,919例、男女比は56：44で、年齢中央値は5歳（0-98歳）であった。年齢群毎に原因病原体に違いがあり、すべての年齢群で一定数の病原体不明例が存在した。また、届出時に既に死亡と報告された症例は176例（4%）あり、年齢群別に死亡報告割合に差が認められた。急性脳炎・脳症・AFP症例の原因病原体を同定するためには、適した時期に臨床検体を採取することが重要であり、脳炎・脳症・AFP発症早期の5点セット（血液、髄液、呼吸器由来検体、便、尿）を採取し、凍結融解を繰り返さないように小分けでマイナス70℃以下に凍結保管しておくことが、その後の病原体解明に極めて重要である。原因究明には、臨床検体の採取方法、保管方法、搬送方法について医療機関に周知することが大切である。

また、本研究班では、病原体不明急性脳炎・脳症症例から網羅的な病原体検索を実施するとともに、急性脳炎・髄膜炎・脊髄炎の中に日本脳炎（JE）が含まれていないかを確認している。研究班に検討依頼があった病原体不明急性脳炎（脳症）の39%で原因と考えられる病原体が判明し、エンテロウイルスとHHV-6Bの頻度が高かったことは、今後の病原体検索に応用可能である。また、小児の急性脳炎・脳症・AFP症例の全数把握が確実に実施可能な福島県では、小児の急性脳炎・脳症・AFP症例全数をリアルタイムに把握する前方視的発生動向調査システムが確立しており、今後の発生動向把握への貢献が期待された。2017年度の検討では、日本脳炎の紛れ込みは認められなかったが、全例の病原体不明例について検討できていないことから、今後は積極的な鑑別検査が望まれる。成人については、インフルエンザ脳症に次いで、単純ヘルペス脳炎の報告頻度が高いが、その転帰改善に貢献することを目的に、単純ヘルペス脳炎診療ガイドラインの作成を行った。

2015年のエンテロウイルス D68（EV-D68）流行期に多発した急性弛緩性脊髄炎（acute flaccid myelitis：AFM）症例については、臨床学的・ウイルス学的・疫学的に詳細な検討を行い、次の流行に備えるとともに、検討した結果を国際誌に発表した（Chong PF, et al: Clin Infect Dis. 66(5): 653-664, 2018.）。これらの結果をもとに、「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き」を作成している。2015年に国内流行したEV-D68は遺伝子型Clade Bに分類され、乳のみマウスに特徴的な弛緩性麻痺を誘導した。またEV-D68流行期に発症したAFMは左右非対称麻痺例が多く、意識変容を示す割合が低かった。また、造影MRIで増強効果を示す割合が高く、麻痺に関する予後不良例が多かった。EV-D68流行期に発症した小児AFM症例の脊髄MRI画像所見は長い縦走病変が特徴で、脊髄病変の範囲と麻痺の分布に乖離を認める症例が多かったが、急性期の両側かつ広範な病変が、徐々に前核に限局する病変に終息し、ガドリニウム造影効果はやや遅れて出現する傾向が認められた。初回MRI検査で病変が認められなくても、検査の反復や、造影剤の使用により診断することが重要である。2017年12月の厚生科学審議会感染症部会で15歳未満のAFPを全数届出疾患に導入する方針が決まり、2018年5月1日から5類感染症全数把握疾患となった。今後は、医療機関に15歳未満のAFPの全数届出を徹底するとともに、急性期の適切な検体採取が求められる。本研究班で検討してきた適切な検体採取、保存、搬送の成果により、EV-D68非流行期の2017年10月に発症したEVD68陽性AFM症例の探知に繋がったことから、本研究班で作成した「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き」の活用が期待される。届けられたAFP症例の病原体検査については、ポリオウイルスは必須、非ポリオエンテロウイルスは基本的に実施することが求められている。以上のことを総合的に考えると、今後の急性脳炎・脳症・AFPサーベイランスについては、医療機関、保健所、地方衛生研究所、国立感染症研究所の連携強化が益々重要である。

研究分担者

八代将登	岡山大学大学院小児医科学 助教
亀井 聡	日本大学医学部神経内科学分野 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	福島県立医科大学医学部 小児科 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
安元佐和	福岡大学医学部 医学教育推進講座 教授
鳥巢浩幸	福岡歯科大学総合医学講座 小児科学分野 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

わが国の急性脳炎・脳症・急性弛緩性麻痺 (acute flaccid paralysis、以下 AFP) の disease burden を明らかにするとともに、急性脳炎・脳症・AFP 症例の原因病原体を検索する。そのために適した臨床検体の採取時期、採取方法、保管方法、搬送方法を医療機関に周知することを目的とする。

病原体不明急性脳炎・脳症症例から網羅的な病原体検索を実施するとともに、急性脳炎・髄膜炎・脊髄炎の中に日本脳炎 (JE) が含まれていないかを確認することを目的とする。

2015 年に多発した AFP/急性弛緩性脊髄炎 (acute flaccid myelitis、以下 AFM) 症例について詳細に検討を行い、次の流行に備えるために、検討した結果をもとに、AFP を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引きを作成することを目的とする。

B . 研究方法

感染症発生動向調査 (急性脳炎・脳症) の情報を疫学的に解析し、国内外の情報を収集する (多屋、亀井、八代、細矢、研究協力者新井、佐藤、奥野、森野、砂川)。

研究分担者の地域での検討から急性脳炎 (脳症を含む) のサーベイランス届出率を調査する (細矢)。

国立感染症研究所の倫理承認 (平成 28 年承認) を経て、病原体不明として感染症発生動向調査に届けられた急性脳炎 (脳症を含む) の病原体解明を目的として、臨床・疫学情報とともに、急性期の 5 点セット (血液、髄液、呼吸器由来検体、便、尿) 及び急性期と回復期のペア血清を国立感染症研究所に搬送依頼し、multiplex real time PCR 法等により、ウイルス (ダニ媒介脳炎を含む) 細菌、真菌の網羅的検索系を開発し、病原体遺伝子の検出を行う。(片野、研究協力者新井、藤本、花岡)。

日本脳炎の紛れ込みを鑑別するために、JEV 特異的 IgM 抗体測定を行う (田島、研究協力者前木)。

2015 年に多発した急性弛緩性麻痺、呼吸器感染症症例に由来する臨床検体から、EV-D68 特異的リアルタイム RT-PCR 法等により EV-D68 を検出し、EV-D68 陽性検体の一部から培養細胞により EV-D68 株を分離し、ウイルス学的な解析を行う (清水、研究協力者藤本、花岡)。

本研究班で実施した詳細な AFP 二次調査の結果について解析を行い、2015 年秋に発生した AFP 症例の全体像をまとめ 2017 年に論文発表するとともに、この情報を基盤として、さらに詳細に臨床、疫学的に解析をすすめる。また、日本の AFP サーベイランスの構築を行う。AFP に関する手引きを日本小児科学会等と連携して作成し、医療機関に普及させるとともに、AFP の早期診断、治療に繋げるための検討を行う (多屋、吉良、奥村、森、鳥巢、安元、清水、細矢、八代、研究協力者チョン、藤本、花岡、新井、佐藤、奥野、森野)。

適切な臨床検体の採取時期・採取方法・保管・搬送方法を確立し全国の医療機関に情報

提供する（多屋、八代、細矢、亀井、清水、片野、田島、研究協力者新井、佐藤、奥野、森野、藤本、花岡）

（倫理面への配慮）

本研究では、取り扱う情報の中に個人が特定されるような情報が含まれたとしても、機密保護を徹底し、それを研究の結果として含むようなことはしない。従って研究成果の公表にあたって個人的情報が含まれることはない。万が一、個人的情報が本研究の中に含まれる場合には、それに関する機密保護に万全を期する。連結可能匿名化ができる連続した番号を本研究の提供者個々のIDとし、研究者間の臨床データなどのやりとりはすべてこのIDを運用して行う。病原体を取り扱う実験は、国立感染症研究所で定められたバイオセーフティーの規則に則って行う。病原体不明急性脳炎・脳症の病原体検索、AFP/AFM症例の臨床疫学研究については、いずれも、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を審査され、承認されている。

C．研究結果

【急性脳炎・脳症】

感染症発生動向調査に基づく5類感染症全数把握疾患である「急性脳炎（脳症を含む）」について発生動向を集計した。2007～2016年に報告された急性脳炎（脳症を含む）は、3,919例（図1、表1）、男女比は56：44で、年齢中央値は5歳（0-98歳）であった（図2）。年齢群毎に報告される原因病原体に違いがあり、すべての年齢群で一定数の病原体不明例が存在した（図3-1～3-4）。また、届出時に既に死亡と報告された症例は176例（4%）あり、年齢群別に死亡報告割合に差が認められた（図4）。

病原体不明として感染症発生動向調査に届けられた急性脳炎（脳症を含む）23例について検討した結果、9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。内訳はパレコウイルス3型とHHV6Bが各3例とエコーウイルス、ライノウイルス、及びタイプ不明のエンテロウイルスが各1例であった。21例（53検体）について日本

脳炎ウイルスに対するIgM捕捉ELISAを、また、IgM捕捉ELISAで陽性となった検体を用いて日本脳炎ウイルスに対する中和試験を実施した。日本脳炎ウイルスIgM捕捉ELISAでは、1検体が陽性を示し、残りの52検体は陰性であった。陽性を呈した検体が採取された患者は、中和試験の結果および他の検体のIgM捕捉ELISAの結果から、日本脳炎である可能性は否定的で、平成29年度に検索を行った21人の患者には、日本脳炎症例は含まれていないと考えられた。

小児の急性脳炎・脳症・AFP症例の全数把握が確実に実施可能な福島県内において、2017年1年間にAFPの発生はなく、急性脳炎・脳症は、9例（HHV6：3例、インフルエンザA：2例、アデノウイルス：1例、ロタウイルス：1例、不明2例）であった。

成人については、インフルエンザ脳症に次いで、単純ヘルペス脳炎の報告頻度が高いが、その転帰改善に貢献することを目的に、単純ヘルペス脳炎診療ガイドラインの作成を行った。

【AFP/AFM】

2015年8～12月に厚生労働省が感染症法に基づいて実施した一次調査では全国33都府県から115例の急性弛緩性麻痺症例が報告された。2015年7月以前の発症、外来で自然軽快した症例、頸椎症と診断された合計5例を除く106例について本研究班で詳細な二次調査を実施したところ、101例から回答が得られた（回答率：95%）。この内、外来で自然軽快した2例、2015年7月以前に発症していた4例、海外で発症した1例、他疾患19例（心身症9例、脊髄梗塞3例、他の非神経疾患7例）を除く75例のAFP症例について検討を行ったところ、59例（うち1例は可能性例）がAFMの症例定義に一致し、16例はAFMの症例定義に合致しなかった（ギラン・バレー症候群7例、脳炎4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、ボツリヌス症1例、小脳失調1例）。これらの結果について国際誌に研究成果をまとめ報告した（Chong PF, et al. Clin Infect Dis, 66(5), 653-664, 2018.）

また、エンテロウイルスD68（Enterovirus

D68、以下 EV-D68) 流行ピーク期に発症した小児の AFM44 例と流行終息期に発症した 6 例の臨床像を比較した結果、流行ピーク期症例は、流行終息期症例と比較して、極期の麻痺が左右非対称である割合が 77% と高く ($p = 0.001$)、意識変容を示す割合が 44 例中 1 例と低く ($p < 0.001$)。造影 MRI の増強効果を示す割合が 93% と高く ($p = 0.026$)、予後良好の割合が 18% と低かった ($p = 0.024$)。

また、小児 AFM 症例 54 例の画像所見とその経時的变化を解析した結果、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。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。髄内病変の経時的变化では、急性期には両側かつ広範な病変を呈し、徐々に前角に局限する病変へ収束することを認めた。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。

これらの知見から、初期診断の正確性を明らかにするために、本研究班で実施した全国二次調査を元に解析を行った結果、AFM 症例 ($n=59$) の医療機関の退院時診断は AFM が 42 例(71%)、AFM 以外 17 例(29%)であり、ほぼ全例で中央解析により初回 MRI 検査で診断された縦走病変は医療機関では 25 例(42%)が診断されていなかった。20 椎体(中央値)に渡る長大病変は診断されにくく、診断されていた場合でも実際よりも短く判定されていた。

2015 年の EV-D68 国内分離株は、遺伝子型 Clade B に分類され、乳のみマウスに接種することにより、高頻度に EV-D68 が検出され、EV-D68 は乳のみマウスに特徴的な弛緩性麻痺を誘導した。国内 AFP 全数報告サーベイランス構築のために、ポリオウイルス検査も含めた世界的ポリオ AFP サーベイランスについて整理し、「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き」を作成した。

D . 考察

【急性脳炎・脳症】

急性脳炎(脳症を含む)の報告数は年々増加しており、全数把握疾患であることが全国の医療機関に周知されてきたことが推定される。いずれの年齢群でも病原体としてはインフルエンザウイルスが最も多いが、年齢群によってその他の原因病原体に特徴が見られた。0~98歳まで幅広く発症が報告されたが、1歳の報告が最も多く、年齢中央値は5歳であった。届出時に既に死亡と報告された症例は全体の4%であったが、高齢者では届出時の死亡割合が高い傾向が認められた。

網羅的病原体検索のための multiplex real time PCR 法により、病原体不明急性脳炎・脳症として届けられた 23 例中 9 例(39%)から原因と考えられる病原体遺伝子が検出され、高い原因究明率が得られた。特に、エンテロウイルス、HHV-6B は健康保険適用された検査方法がないため、医療機関での実施率は低い。今後はこれらの病原体検索が実施しやすい環境が構築されることが望まれる。日本脳炎についても、健康保険適用されている検査方法としては、HI 法あるいは CF 法による抗体価の測定があるが、ペア血清での検討が行われないうちに、病原体不明急性脳炎(脳症)として届けられている症例が存在している可能性がある。今年度は、病原体不明急性脳炎(脳症)として研究班に検討依頼があった症例から日本脳炎の発見はなかったが、すべての病原体不明急性脳炎について検討できている訳ではないことから、今後の検討課題である。日本脳炎ウイルスに対する IgM 捕捉 ELISA で陽性を呈した検体が採取された患者は、中和試験の結果および他の検体の IgM 捕捉 ELISA の結果から、日本脳炎である可能性は否定的と考えられた。

福島県では、小児の急性脳炎・脳症・AFP 症例全数をリアルタイムに把握する前方視的発生動向調査システムが確立しており、今後の発生動向把握への貢献が期待された。本研究班での研究は、病原体不明急性脳炎・脳症症例における微生物学的なエビデンスを提供することが期待される。また、急性脳炎の中でも、頻度が高く、転帰不良要因の一つとして、適切な抗ウイルス薬の投与の遅れが指摘されている単純ヘルペス脳炎について、単純ヘルペス脳炎診療ガイドラインの作

成を行ったことで、今後の予後改善が期待される。

【AFP/AFM】

2015 年秋にわが国ではエンテロウイルス D68 (Enterovirus D68、以下 EV-D68) の流行が認められ、それと同時に小児を中心として急性弛緩性脊髄炎 (acute flaccid myelitis、以下 AFM) が多発した。医療機関の高い関心もあって、AFP 入院例全国二次調査は 95% の高い回収率が得られた。このうち、外来で自然軽快した症例、2015 年 7 月以前に発症していた症例、海外で発症した症例、心身症、脊髄梗塞、非神経疾患を除く 75 例の AFP 症例について検討を行ったところ、59 例 (うち 1 例は可能性例) が AFM の症例定義に一致した。詳細については、国際誌に研究成果をまとめているので、参照して欲しい (Chong PF, et al. Clin Infect Dis, 66(5), 653-664, 2018.)。また、EV-D68 の流行期に発症した AFM 症例と、流行終了後に発症した AFM 症例について比較した結果から、EV-D68 に関連する AFM は、極期の麻痺が左右非対称である割合が高く、意識変容を示す割合が低く ($p < 0.001$)、造影 MRI で増強効果を示す割合が高く ($p = 0.026$)、麻痺について予後不良例が多かった。これらの所見は EV-D68 による AFM の特徴を現していることが考えられた。

小児 AFM 症例の脊髄 MRI 画像所見は長い縦走病変、灰白質・白質の病変が多く、脊髄病変の範囲と麻痺の分布との間に乖離を認める症例が多かった。急性期には両側かつ広範な病変を呈するが、徐々に前角に限局する病変へ収束し、ガドリニウム造影効果は、やや遅れて出現する傾向を認めたことから、初回検査で病変が診断されなくても検査の反復や造影剤の使用により診断することが大切である。

2015 年に国内で流行した EV-D68 は、遺伝子型 Clade B に分類され、乳のみマウスに特徴的な弛緩性麻痺を誘導したことから、今後の麻痺の病態解明が期待される。

国内 AFP 全数報告サーベイランス構築のために作成した「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関

する手引き」を活用し、次の流行に備えたい。

急性期の検体採取法・保存法・搬送法は、神経疾患の病原体究明に重要である。病原体同定のための急性期検体採取に関しては、医師を含めたすべての関連スタッフが、検体採取の意義と各部所の役割を把握しておくことが望ましく、急性期の検体採取の必要性、複数検体の採取、採取検体の適切な保存について平時から情報を共有しておくことが重要であると考えられた。

E. 結論

わが国の急性脳炎・脳症・急性弛緩性麻痺 (acute flaccid paralysis : AFP) の disease burden を明らかにするとともに、原因病原体を検索することを目的として研究を行った。感染症発生動向調査に基づいて、2007~2016 年に報告された急性脳炎 (脳症を含む) は、3,919 例、男女比は 56 : 44 で、年齢中央値は 5 歳 (0-98 歳) であった。年齢群毎に原因病原体に違いがあり、すべての年齢群で一定数の病原体不明例が存在した。また、届出時に既に死亡と報告された症例は 176 例 (4%) あり、年齢群別に死亡報告割合に差が認められた。急性脳炎・脳症・AFP 症例の原因病原体を同定するためには、適した時期に臨床検体を採取することが重要であり、脳炎・脳症・AFP 発症早期の 5 点セット (血液、髄液、呼吸器由来検体、便、尿) を採取し、凍結融解を繰り返さないように小分けでマイナス 70℃ 以下に凍結保管しておくことが、その後の病原体解明に極めて重要である。原因究明には、臨床検体の採取方法、保管方法、搬送方法について医療機関に周知することが大切である。

また、本研究班では、病原体不明急性脳炎・脳症症例から網羅的な病原体検索を実施するとともに、急性脳炎・髄膜炎・脊髄炎の中に日本脳炎 (JE) が含まれていないかを確認している。研究班に検討依頼があった病原体不明急性脳炎 (脳症) の 39% で原因と考えられる病原体が判明し、エンテロウイルスと HHV-6B の頻度が高かったことは、今後の病原体検索に応用可能である。また、小児の急性脳炎・脳症・AFP 症例の全数把握が確実に実施可能な福島県では、小児の急性脳炎・脳

症・AFP 症例全数をリアルタイムに把握する前方視的発生動向調査システムが確立しており、今後の発生動向把握への貢献が期待された。2017 年度の検討では、日本脳炎の紛れ込みは認められなかったが、全例の病原体不明例について検討できているわけではないことから、今後は積極的な鑑別検査が望まれる。成人については、インフルエンザ脳症に次いで、単純ヘルペス脳炎の報告頻度が高いが、その転帰改善に貢献することを目的に、単純ヘルペス脳炎診療ガイドラインの作成を行った。

2015 年のエンテロウイルス D68 (EV-D68) 流行期に多発した急性弛緩性脊髄炎 (acute flaccid myelitis: AFM) 症例については、臨床学的・ウイルス学的・疫学的に詳細な検討を行い、次の流行に備えるとともに、検討した結果を国際誌に発表した (Chong PF, et al: Clin Infect Dis. 66(5): 653-664, 2018.)。これらの結果をもとに、「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き」を作成した。2015 年に国内流行した EV-D68 は遺伝子型 Clade B に分類され、乳のみマウスに特徴的な弛緩性麻痺を誘導した。また EV-D68 流行期に発症した AFM は左右非対称麻痺例が多く、意識変容を示す割合が低かった。また、造影 MRI で増強効果を示す割合が高く、麻痺に関する予後不良例が多かった。EV-D68 流行期に発症した小児 AFM 症例の脊髄 MRI 画像所見は長い縦走病変が特徴で、脊髄病変の範囲と麻痺の分布に乖離を認める症例が多かったが、急性期の両側かつ広範な病変が、徐々に前核に限局する病変に終息し、ガドリニウム造影効果はやや遅れて出現する傾向が認められた。初回 MRI 検査で病変が認められなくても、検査の反復や、造影剤の使用により診断することが重要である。2017 年 12 月の厚生科学審議会感染症部会で 15 歳未満の AFP を全数届出疾患に導入する方針が決まり、2018 年 5 月 1 日から 5 類感染症全数把握疾患となった。今後は、医療機関に 15 歳未満の AFP の全数届出を徹底するとともに、急性期の適切な検体採取が求められる。本研究班で検討してきた適切な検体採取、保存、搬送の成果により、EV-D68 非流行期の 2017 年 10 月に

発症した EVD68 陽性 AFM 症例の探知に繋がったことから、本研究班で作成した「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き」の活用が期待される。届けられた AFP 症例の病原体検査については、ポリオウイルスは必須、非ポリオエンテロウイルスは基本的に実施することが求められている。以上のことを総合的に考えると、今後の急性脳炎・脳症・AFP サーベイランスについては、医療機関、保健所、地方衛生研究所、国立感染症研究所の連携強化が益々重要である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表 (分担研究者の研究発表は、各分担研究報告書に記載)

1. 論文発表

- 1) Chong PF, Kira R, Mori H, Okumura A, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Hanaoka N, Kusunoki S, Takahashi T, Oishi K, Tanaka-Taya K. Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study Investigators. Clinical Features of Acute Flaccid Myelitis Temporally Associated with an Enterovirus D68 Outbreak: Results of a Nationwide Survey of Acute Flaccid Paralysis in Japan, August-December 2015. Clin Infect Dis. 66(5): 653-664, 2018.
- 2) Okuno H, Yahata Y, Tanaka-Taya K, Arai S, Satoh H, Morino S, Shimada T, Sunagawa T, Uyeki TM, Oishi K.: Characteristics and outcomes of influenza-associated encephalopathy cases among children and adults in Japan, 2010-2015. Clin Infect Dis. in press 2018.
- 3) 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. Neurol Clin Pract. 7(5): 390-393, 2017.
- 4) 諸岡 雄也, 福本 瞳, 山本 剛, 喜多 修久, 西村 良美, 奥野 英雄, 新井 智, 畠

山 邦也, 平田 雅昭, 片野 晴隆, 多屋 馨子: Multivirus real-time PCRによって診断できたヒトパルボウイルスB19脳炎の1例. NEUROINFECTION. 22(1): 144-149, 2017.

- 5) 奥野英雄、多屋馨子: 日本国内での急性脳炎・脳症のサーベイランス:2007～2016年. 臨床とウイルス.45(5): 220-229, 2017.
- 6) 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.
- 7) 多屋馨子: エンテロウイルスD68に関連した急性弛緩性脊髄炎はどのような疾患でしょうか? 亀井 聡、鈴木則宏編著者. 神経内科 Clinical Questions & Pearls 『神経感染症』. 中外医学社.東京.2018. pp227-230
- 8) 奥野英雄: 感染症法による届け出は, どんな神経感染症ですべきでしょうか? 亀井 聡、鈴木則宏編著者. 神経内科 Clinical Questions & Pearls 『神経感染症』. 中外医学社.東京.2018.pp14-16

2. 学会発表

- 1) 多屋馨子: 小児感染症 up to date. 日本外来小児科学会春季カンファレンス2017. 2017年4月. 愛知県名古屋市
- 2) 多屋馨子: エンテロウイルスD68の検出状況と急性弛緩性麻痺(AFP)に関する全国疫学調査、2015年. シンポジウム「急性弛緩性脊髄炎～臨床的特徴とエンテロウイルスD68との関連性～」第59回日本小児神経学会学術集会. 2017年6月. 大阪府大阪市
- 3) 多屋馨子: 予防接種に関する最近の話題. 第42回吉馴学術記念講演会.2017年7月. 兵庫県神戸市.
- 4) 多屋馨子: 急性弛緩性麻痺の全国疫学調査シンポジウム「急性弛緩性脊髄炎」. 第22回日本神経感染症学会総会・学術大会.2017年10月. 福岡県北九州市.
- 5) 多屋馨子: 感染症だより～インフルエンザ、風疹、百日咳、急性弛緩性麻痺とE

VD68～.第642回日本小児科学会東京都地方会講話会. 2018年1月.東京都新宿区

- 6) 多屋馨子: 「VPDの最前線」ワクチンにより変貌する感染症～ウイルスと細菌の両面から～. 第2回石川県小児免疫・感染症セミナー.2018年2月. 石川県金沢市

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
特になし。
2. 実用新案登録
特になし。
- 3.その他
特になし。

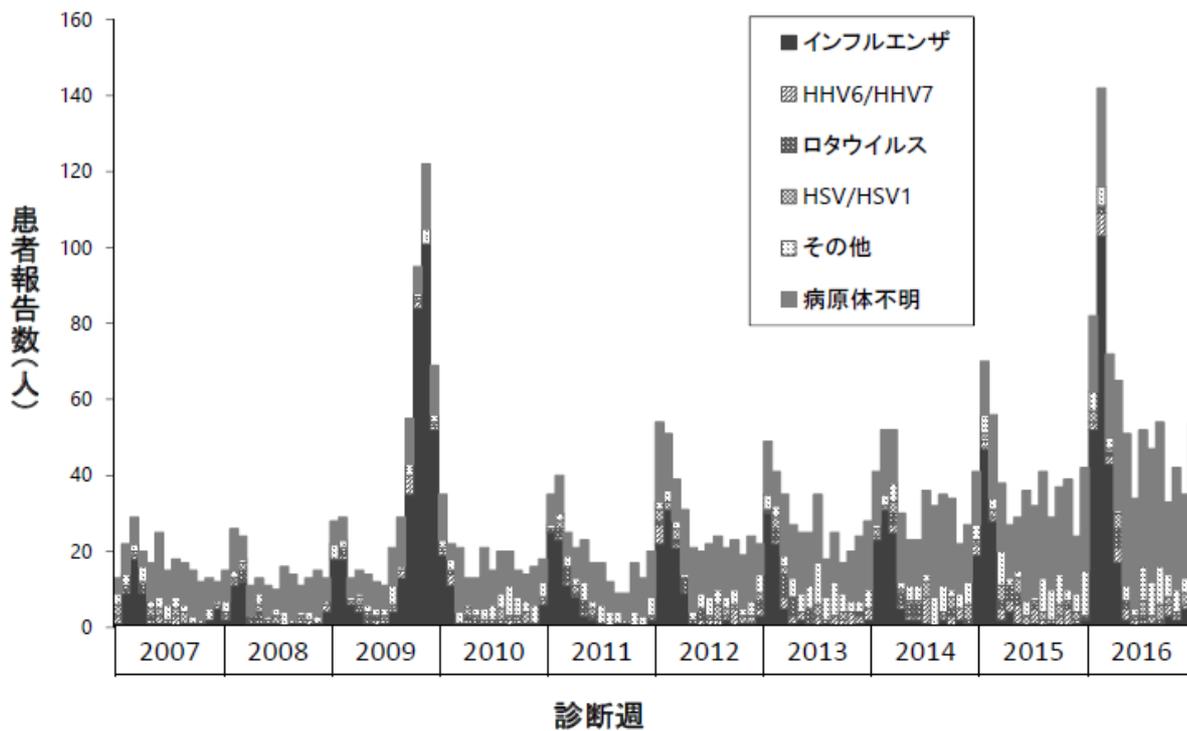


図1 急性脳炎(脳症を含む)の病原体別診断週別報告数の推移
(全年齢、2007～2016年感染症発生動向調査)

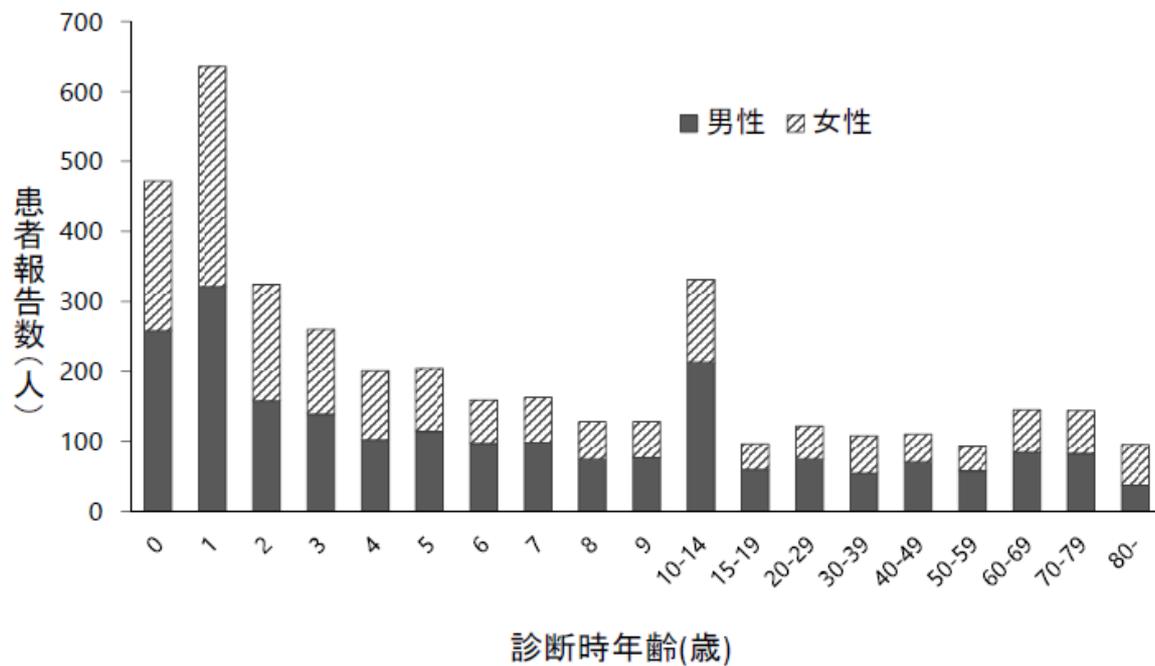
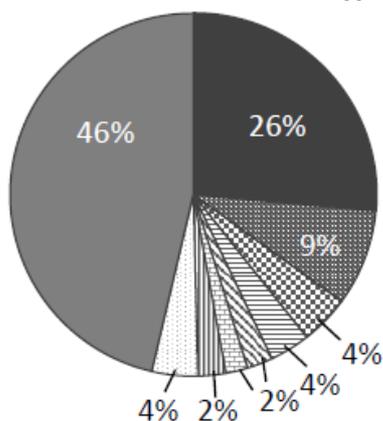


図2 急性脳炎(脳症を含む)の診断時年齢別男女別報告数の推移
(2007～2016年感染症発生動向調査)

2007-2011年

n=617



2012-2016年

n=1,276

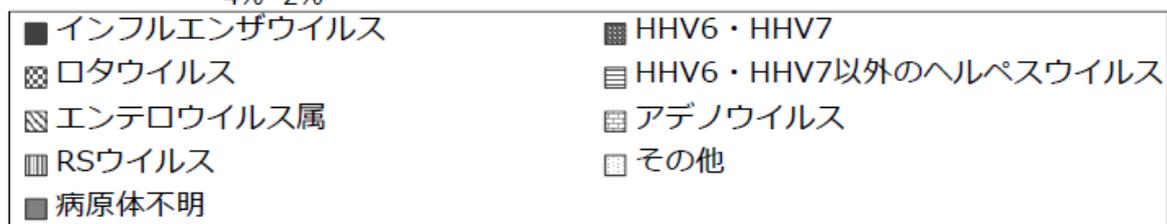
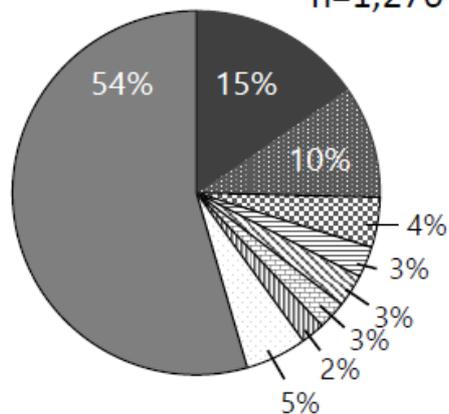
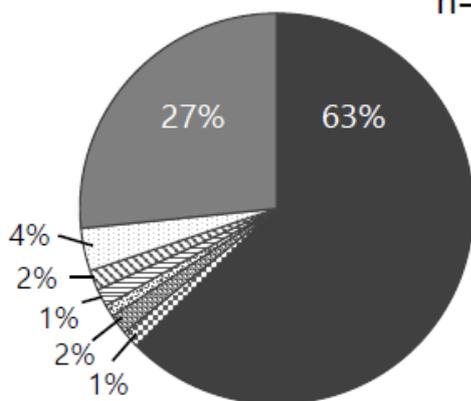


図3-1 0～4歳の急性脳炎(脳症を含む)の年代別原因病原体別内訳(2007～2016年感染症発生動向調査)

2007-2011年

n=480



2012-2016年

n=633

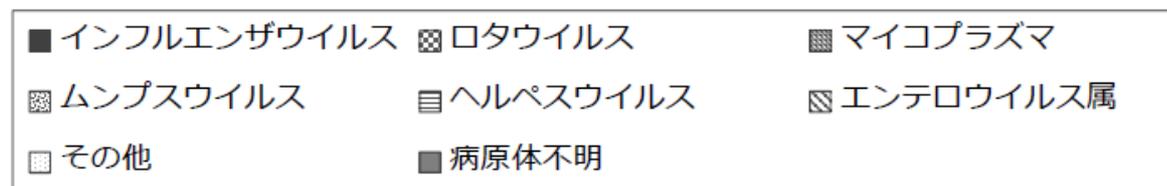
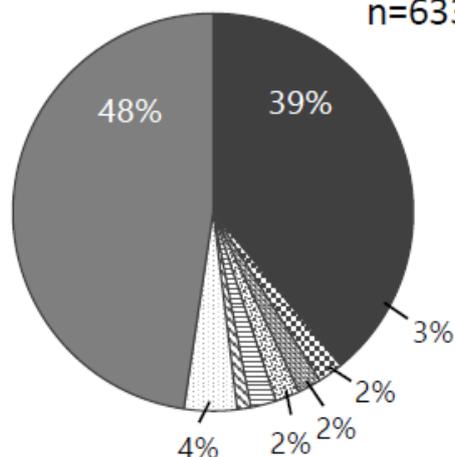
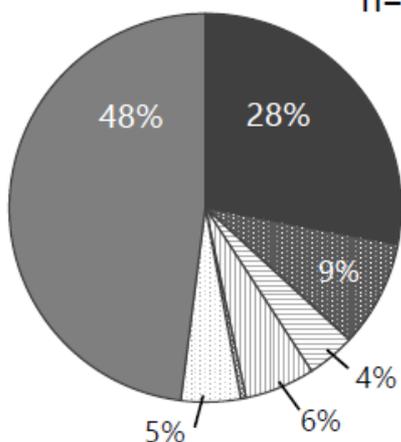


図3-2 5～14歳の急性脳炎(脳症を含む)の年代別原因病原体別内訳(2007～2016年感染症発生動向調査)

2007-2011年

n=225



2012-2016年

n=304

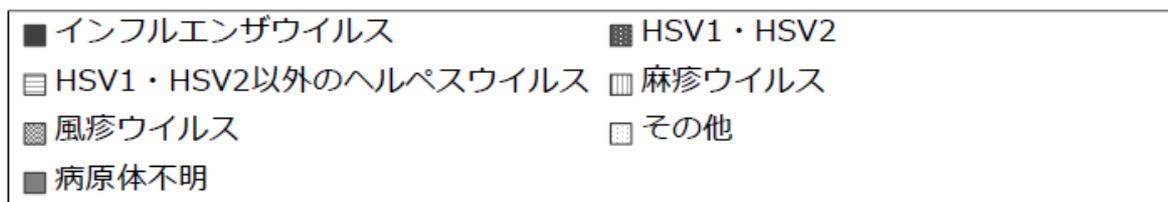
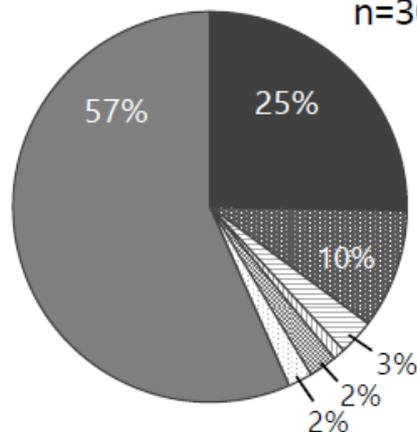
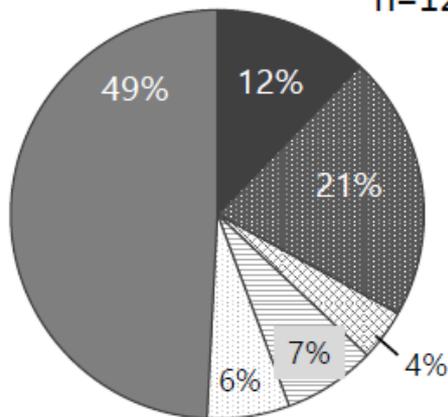


図3-3 15歳～59歳の急性脳炎(脳症を含む)の年代別原因病原体別内訳(2007～2016年感染症発生動向調査)

2007-2011年

n=124



2012-2016年

n=260

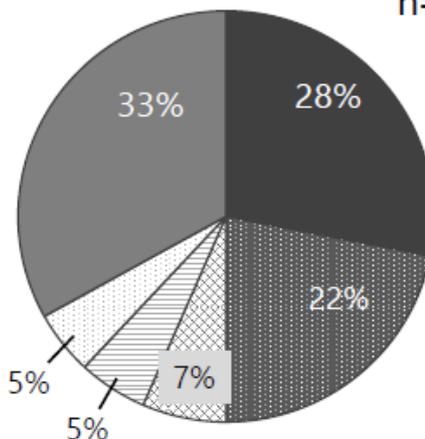


図3-4 60歳以上の急性脳炎(脳症を含む)の年代別原因病原体別内訳(2007～2016年感染症発生動向調査)

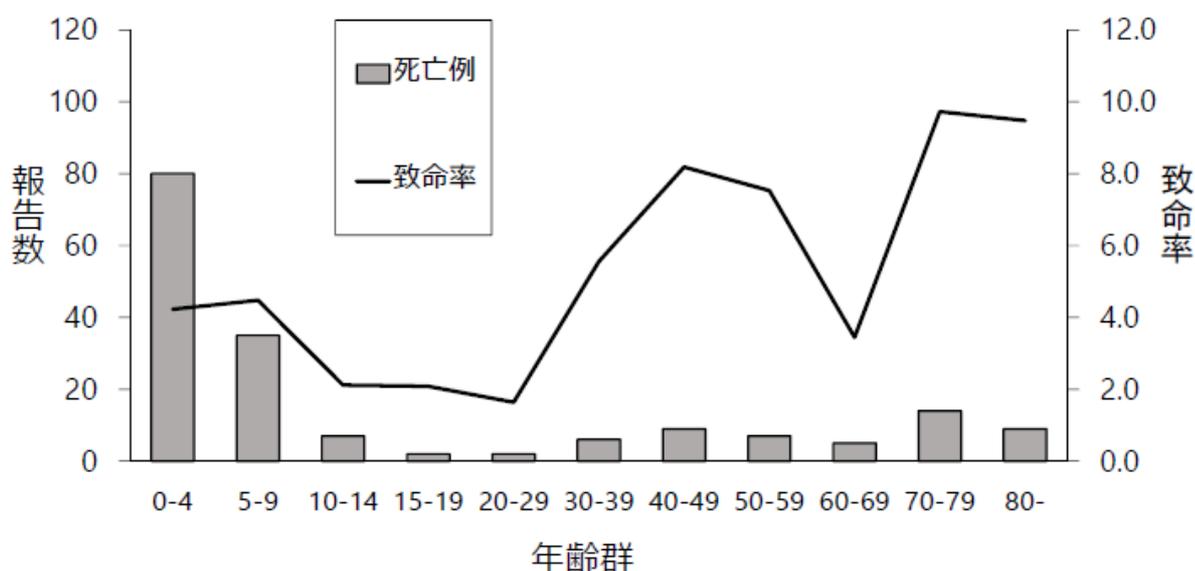


図4 年齢群別の死亡報告数と急性脳炎（脳症を含む）の報告に占める割合（2007～2016年感染症発生動向調査）

年	総数	届出時 死亡報告 (%)	インフルエンザ ウイルス		HHV6/HHV7 (突発性発疹含む)		HSV1/HSV2		ロタ ウイルス		エンテロ ウイルス属		病原体不明	
			報告数	死亡 (%)	報告数	死亡 (%)	報告数	死亡 (%)	報告数	死亡 (%)	報告数	死亡 (%)	報告数	死亡 (%)
2007～2011	1,446	77 (5.3)	542	35 (6.5)	55	2 (3.6)	63	1 (1.6)	34	3 (8.8)	23	0 (0)	634	35 (5.5)
2012～2016	2,473	99 (4.0)	593	51 (8.6)	131	2 (1.5)	115	1 (0.9)	70	5 (7.1)	46	5 (10.9)	1,256	31 (2.5)
総計	3,919	176 (4.5)	1,135	86 (7.6)	186	4 (2.2)	178	2 (1.1)	104	8 (7.7)	69	5 (7.2)	1,890	66 (3.5)

表1 報告年別主要報告病原体別の急性脳炎（脳症を含む）の報告症例数と届出時死亡報告の割合（全年齢、2007～2016年感染症発生動向調査）

病原体不明脳炎・脳症の原因同定および、エンテロウイルスD68(EVD68)の診断に対する
臨床現場への啓発に関する研究

研究分担者 八代将登 岡山大学大学院小児医科学 助教

研究要旨

病原体不明脳炎・脳症の原因同定および、エンテロウイルスD68(EVD68)の診断には臨床現場への啓発が重要である。今回中国・四国地区の小児科を中心に急性脳炎/脳症の病原体解析やエンテロウイルスD68(EVD68)の診断の重要性を啓発し、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た。指導は、以下の3点を中心に行った。急性期の検体採取の必要性、複数検体の採取、採取検体の適切な保存。

病原体同定のための急性期検体採取に関しては、医師を含めたすべての関連スタッフが、検体採取の意義と各部所の役割を把握しておくことが望ましい。

A．研究目的

中国・四国小児科における病原体不明脳炎・脳症の原因同定および、エンテロウイルスD68(EVD68)の診断に対する臨床現場への啓発を行った。

B．研究方法

中国・四国地区の小児科基幹病院（図1）において急性脳炎/脳症の病原体解析やエンテロウイルスD68(EVD68)の診断の重要性を啓発し、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た。

（倫理面への配慮）

岡山大学病院倫理委員会へ申請を行っている。



（図1）

C．研究結果

各施設に指導を行い、現場スタッフの意見を踏まえた結果、急性期に正確に検体を採取するには、主治医とそのチームが、急性期の検体採取の必要性、複数検体の採取の必要性、採取検体の適切な保存の必要性、を事前に把握・共有しておくことが不可欠であることが判明した。

D．考察

当科は2005年よりreal-time PCR法を用いたヘルペス属のウイルス検索を行っており、中国四国地区の小児科基幹病院を中心に依頼を受けている。疾患別では急性脳炎/脳症や不明熱などが多い。このネットワークを用いて、急性脳炎/脳症の病原体解析やエンテロウイルスD68(EVD68)の診断の重要性を啓発し、急性期の検体採取法・保存法・国立感染症研究所への搬送法などについて指導を行った。

慌ただしい急性期の臨床現場において、検体採取を迅速かつ正確に行うことは困難であり、事前の準備が必要である。今回各施設の意見から以下の3点を事前に把握しておくことが重要であると考えた（図2）

適切な検体採取に必要な点

慌ただし急性期の臨床現場で、正確に検体採取と保存を行うために準備しておくべきこと

実施すべきこと	対策
① 急性期の検体採取の必要性を認識する	各施設毎に担当医師を決定する
② 複数の検体を採取する	検体採取1次容器を事前に準備する
③ 採取した検体を適切に保存する(-70度)	医師のみならず、検査技師・看護師などと連携を取る

(図2)

1, 急性期の検体採取の必要性

急性期の検体採取の必要性を認識していても、適切な採取時期を逸することはしばしば認められる。適切な採取時期は急性期の一定期間に限定されている上に、主治医は急性期には臨床の手技や治療方針の決定に追われていることが多いためである。

この点に関しては、検体採取の責任担当医を事前に決めておくことが良い。各施設で感染症診療を担当している医師が適役と考える。これによりたとえ主治医が多忙であっても担当医がチェックを行うことで検体採取忘れを防ぐことができる。可能なら複数回の検体を保存しておくことが望ましい。急性脳炎/脳症の場合は、急性脳炎発生届出も同時に提出するようにしている。

病原体不明脳炎・脳症の原因同定および、エンテロウイルスD68(EVD68)の診断には、何よりもまず病原体同定に対する担当医の強い意志が不可欠である。

2, 複数検体の採取の必要性

病原体同定には急性期に複数の部位から検体を採取することが必要であるが、血液と髄液以外の検体はストックする習慣がないため採取忘れが起こりやすい。

当科では説明を施行した施設に、検体採取1次容器のセット(全血、血清、髄液、尿、便、咽頭ぬぐい液)(図3)とチェックリストを渡している。これにより、採取状況を把握することで採取忘れを防ぐことにつながる。

5点セット採取用 1次容器



(図3)

3, 採取検体の適切な保存の必要性。

採取された検体は速やかに適切に保存される必要がある。しかし臨床現場では検体採取は看護師が行うことが多く、検体保存は検査技師が行うことが多い。

当科では説明を行う各施設に対し、可能な限り看護師や検査技師にも出席していただいている。看護師には、採取する検体の項目の他に、検体を扱う際には唾液の混入を予防するためにマスクを着用すること、採取した検体は長期間常温に放置しないこと、を理解してもらう。検査技師には、-70度での保存が必要なこと、検体量が十分ならば分注して保存すること、を周知してもらっている。

全体を通して、病原体同定のための急性期検体採取に関しては、医師を含めたすべての関連スタッフが、検体採取の意義と各部署が行うべき役割を日頃から共有しておく必要がある。

E. 結論

急性期に複数の検体を迅速に適切に採取することはもっとも重要であるが非常に困難である。医師を含めたすべての関連スタッフが、日頃より対応について共有しておくことが望ましい。

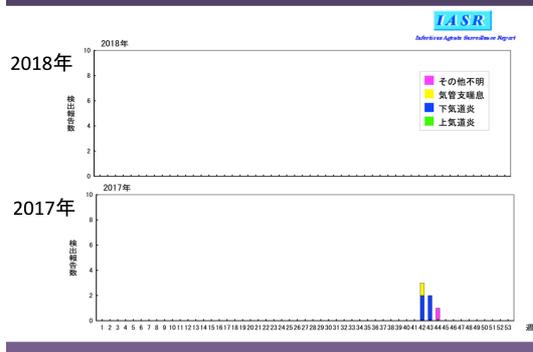
補足

2015年以降、EVD68の大規模な流行は本邦では認めていない。しかし、小規模な流行は散見されている。2017年秋に当科の関連施設で発症した急性弛緩性麻痺(AFM)症例の咽頭ぬぐい液からEV-D68が検出された。同時期に

中国・近畿地方で小規模な流行を認めていたことが判明し、小規模な流行であってもAFMを発症しうることが確認された。このことは病原体検出の重要性がより増すことを意味している。2015年の流行以降でEV-D68が検出されたAFM症例はこの1例のみである(図4)。

EV-D68由来のAFMは麻痺出現以降では検出率が低下する。急性期に迅速かつ正確に検体採取をするためには医師を含めたすべての関連スタッフが、検体採取の意義と各部所が行うべき役割を把握しておくことが望ましい。

週別診断名別Enterovirus 68分離・検出報告数 2017&2018



(図4)

F. 研究発表

1. 論文発表

1, Nosaka N, Yashiro M, Morishima T. et al: Anti-high mobility group box-1 monoclonal antibody treatment of brain edema induced by influenza infection and lipopolysaccharide. J Med Virol. 2018 mar;24

2, Nagaoka Y, Nosaka N, Yashiro M, et al. H. Local and Systemic Immune Response to Influenza A Virus Infection in Pneumonia and Encephalitis Mouse Models. Dis Markers. 2017 Aug

3, Yamashita N, Yashiro M, Yamada M. et al. Metabolic pathway catalyzed by Vanin-1 pantetheinase plays a suppressive role in influenza virus replication in human alveolar epithelial A549 cells. Biochem Biophys Res Commun. 2017 Aug;489(4):466-471

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

2. 学会発表

1, 八代将登：病因解明のためのウイルスゲノム検出の有用性と注意点 第22回香川岡山感染免疫懇話会 2017年2月/香川

2, 八代将登：エンテロウイルスD68感染症～私たちに課せられた使命～ 第23回香川岡山感染免疫懇話会 教育講演 2018年2月/岡山

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

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

成人の急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症に関する研究

研究分担者 亀井 聡 日本大学医学部 教授

研究要旨

髄膜炎や脳脊髄炎を呈する病態として、感染因子や自己免疫疾患、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。なかでも、単純ヘルペス脳炎はウイルスによる急性脳炎の原因として最も多く、転帰不良要因の一つとして、適切な抗ウイルス薬の投与の遅れが指摘されている。単純ヘルペス脳炎診療ガイドラインの開発は、救急の現場で対応する第一線の一般医が臨床症状から脳炎を疑った場合に単純ヘルペス脳炎を早期に疑うことの重要性を啓発周知することに役立ち、単純ヘルペス脳炎患者の転帰改善に貢献すると考える。

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。

ウイルス感染による急性脳炎の中で最も多く、無治療での致死率がきわめて高い単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインを作成した。

B．研究方法

日本医療機能評価機構EBM普及推進事業Mindsのガイドラインの作成基準に準拠し、Clinical Questionとそれに対する回答という形式で作成した。日本神経感染症学会、日本神経学会、日本神経治療学会の利益相反(COI)運用規程に基づき、適切なCOIマネージ

メントのもとに作成した。

C．研究結果

単純ヘルペス脳炎の疫学、転帰・後遺症、症状・症候、検査、単純ヘルペスウイルスの遺伝子診断、感受性遺伝子の検索、鑑別診断、治療に関して、24のクリニカルクエスチョンを作成した。特に治療に関しては、エビデンスレベルに基づく推奨グレードを示した。単純ヘルペス脳炎と臨床診断された患者への初期対応（フローチャート）を示した。

D．考察

単純ヘルペス脳炎はウイルスによる急性脳炎の原因として最も多く、適切な抗ウイルス薬による治療が行われなければ、致死率は60～70%ときわめて高い。アシクロビルの開発は単純ヘルペス脳炎の致死率を10～15%へと大きく低下させたが、生存例の約25%が寝たきりあるいは高度の後遺症を残し、社会復帰できる患者は約半数と限られており、単純ヘルペス脳炎が重篤な疾患であることには変わりはない。単純ヘルペス脳炎の転帰不良の要因の一つとして、適切な抗ウイルス薬の投与の遅れが指摘されており、単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインの開発は、救急の現

場に対応する第一線の一般医が臨床症状から脳炎を疑った場合に単純ヘルペス脳炎を早期に疑うことの重要性を啓発周知することに役立つと考える。このガイドラインが示す単純ヘルペス脳炎と臨床診断された患者への初期対応(フローチャート)は、臨床症状から脳炎が疑われる患者に対する治療の指針を示している。早期診断と早期治療(急性脳炎と臨床診断したら速やかにアシクロビルを開始すること)が患者転帰不良割合の減少につながることから、単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインの普及が単純ヘルペス脳炎患者の転帰改善に貢献すると考える。

E. 結論

単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインを作成した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Takahashi Keiko, Ogawa Katsuhiko, Ishikawa Harumi, Morita Akihiko, Hara Makoto, Minami Masayuki, Shiota Hiroshi, Suzuki Yutaka, Teramoto Hiroko, Ebashi Momoko, Saito Mari, Ninomiya Satoko, Akimoto Takayoshi, Shiobara Keiji, Mitsuke Kazutaka, Kamei Satoshi. Hospital-based study of the distribution of pathogens in adult bacterial meningitis with underlying disease in Tokyo, Japan. *Neurology and Clinical Neuroscience* 2017; 5:8-17.
2. Takahashi Teruyuki, Tamura Masato, Takasu Toshiaki, Kamei Satoshi. Clinical and quantitative analysis of patients with crowned dens syndrome. *J Neurol Sci.* 2017; 376: 52-59.
3. 亀井聡：【実践!神経救急(neurocritical care)】知っておきたい神経救急疾患 神経感染症の診断と治療．*診断と治療* 105：57-63，2017.

4. 亀井聡：診療ガイドライン at a glance 細菌性髄膜炎診療ガイドライン 2014．*日本内科学会雑誌* 106：986-993，2017.
5. 「単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン」作成委員会 編(委員長 亀井聡) 日本神経感染症学会・日本神経学会・日本神経治療学会監修：単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン 2017．南江堂，東京，2017．

2. 学会発表

1. 二宮智子，横田優樹，石原正樹，塩田宏嗣，森田昭彦，川名博徳，本間琢，亀井聡：インフルエンザAを契機に脳症を呈し皮膚にコビキチン陽性核内封入体を認めた67歳女性例 第221回日本神経学会関東・甲信越地方会，東京，2017.6
2. 南紘子，横田優樹，原誠，石原正樹，森田昭彦，山上聡，櫻井裕幸，亀井聡：胸腺腫の再発に伴い重症筋無力症の増悪と視神経炎を呈した43歳女性例 第222回日本神経学会関東・甲信越地方会，東京，2017.9
3. 塩原恵慈，南紘子，原誠，石原正樹，塩田宏嗣，森田昭彦，矢内充，相馬正義，木下浩作，亀井聡：Lemierre症候群に細菌性髄膜炎を合併した75歳男性例 第22回日本神経感染症学会学術集会，北九州，2017.10
4. 秋本高義，森田昭彦，二宮智子，横田優樹，原誠，石原正樹，相澤芳裕，永嶋孝一，加藤真帆人，平山篤志，大幸俊司，宇野澤聡，田中正史，亀井聡：4日前から発熱があり、意識障害、左片麻痺のため搬送された64歳男性例(「若手医師を応援する会」主催セッション、症例から学ぶ感染症関連神経・免疫疾患) 第22回日本神経感染症学会学術集会，北九州，2017.10
5. 齋藤磨理，原誠，秋本高義，石原正樹，森田昭彦，塩田宏嗣，金子仁彦，高橋利幸，亀井聡：MOG抗体陽性脊髄炎の加療中に可逆性脳血管攣縮症候

群を呈した30代女性例 第223回日本神経学会関東・甲信越地方会，東京，2017.12

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。

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

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 23 例であり、9 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。内訳はパレコウイルス 3 型と HHV6B が各 3 例とエコーウイルス、ライノウイルス、及びタイプ不明のエンテロウイルスが各 1 例であった。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

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)として届出のあった脳炎症例のうち、原因不明の急性脳炎・脳症例について、日本脳炎の紛れ込みがどの程度ある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。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、国立感染症研究所(以下、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, 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。検出微生物はウイルス、細菌、真菌を含め、53 種類であり、前年度の報告書を参照されたい。定量的 PCR は MX3005P(アジレント社)、または ABI 7500(アプライド・バイオシステムズ社)を用いた。

(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

前年度に開発した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用い、脳炎、脳症の検体について、解析を行った。平成29年4月から平成29年11月までに23件の解析依頼があり、全例につき、解析を行った。結果、9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。内訳はパレコウイルス3型とHHV6Bが各3例とエコーウイルス、ライノウイルス、及びタイプ不明のエンテロウイルスが各1例であった。

D . 考察

前年度と合わせ、30 例の原因不明脳炎、脳症を解析した。なんらかの病態と関連すると考えられる病原微生物が 12 例で検出されたことから、病原体検出率(陽性率)は約40%となる。しかし、これにはライノウイルスなど、病態の一部と関連するが、脳炎、脳症との関連は不明である病原体も含まれている。また、同一地衛研からの頻回の依頼や、エンテロウイルスが検索されていない検体が多く含まれていることなど、本研究班で検索した症例が日本の原因不明脳炎症例の全体像を反映しているとは言えない点にも注意が必要である。

前研究班で行った解析と合わせて 130 例程度と、限られたサンプル数ではあるものの、病原体不明脳炎、脳症の原因病原体として、エンテロウイルス、HHV6 の頻度が高いことが示唆された。検索した範囲では日本脳炎の紛れ込みはまれと考えられる。本研究で用いたReal-time PCR法による病原微生物網羅的検索法は脳炎、脳症の症例に有効であることが示されたが、本法は検索あたりの単価が高く、可能な施設も限られる。今後、多くの検体をスクリーニングするにはエンテロウイ

ルス、HHV6 など、これまで本研究で検出実績のある病原微生物を主な対象とした検索法も考慮する必要がある。

E . 結論

原因不明の急性脳炎・脳症の症例 23 例を解析し、9 例から、何らかの病態と関連する病原体を検出した。

F . 研究発表

1. 論文発表
該当なし。
2. 学会発表
該当なし。

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

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

研究要旨

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。日本では近年においても、毎年、日本脳炎症例が報告されている。日本脳炎は特異的な症状・一般検査所見に乏しく、また報告数が少ないため、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可能性が指摘されている。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・脳症症例から採取された検体を用いて、日本脳炎の検査を実施した。平成 29 年度は 21 人の患者からの 53 検体を用いて日本脳炎ウイルスに対する IgM 捕捉 ELISA を、また、IgM 捕捉 ELISA で陽性となった検体を用いて日本脳炎ウイルスに対する中和試験を実施した。日本脳炎ウイルス IgM 捕捉 ELISA では、1 検体が陽性を示し、残りの 52 検体は陰性であった。陽性を呈した検体が採取された患者は、中和試験の結果および他の検体の IgM 捕捉 ELISA の結果から、日本脳炎である可能性は否定的と考えられた。従って、平成 29 年度に検索を行った 21 人の患者には、日本脳炎症例は含まれていないと考えられた。しかしながら、平成 29 年度に急性脳炎として届け出が提出されたものの、本研究班で日本脳炎の検索を行っていない例も多い。従って、診断されていない日本脳炎症例が存在する可能性は否定できないため、本研究班で日本脳炎の検索を続行することは重要である。

A．研究目的

日本脳炎は、日本脳炎ウイルス (Japanese encephalitis virus, 以下 JEV) 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、発症例では致命率が高く、生存例の神経学的予後も不良である。日本では 1960 年代までは年間 1000 例を超える日本脳炎症例が報告されていたが、ワクチン接種の開始および他の環境要因の変化に伴って、患者数は減少した。近年、日本では年間 2～11 例の日本脳炎症例が毎年報告されている。日本脳炎患者の大半は 60 歳以上の高齢者である。

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、日本脳炎症例の中には、原因不明の急性脳炎や脳梗塞と誤って診

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、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中に、日本脳炎の症例が含まれているか否かを解析する。

B．研究方法

1. 患者検体

平成 29 年度は、21 人の患者から採取された 53 検体 (髄液 20 検体、血清 33 検体) を非働化処理 (56℃、30 分間による熱処理) した後に、JEV IgM 捕捉 ELISA を実施した。JEV IgM 捕捉 ELISA で陽性を呈した検体は、当該患者の、他の時期に採取された血清とともに、JEV に対する中和試験に供した。

2. JEV IgM 捕捉 ELISA

Focus社のDengue Virus IgM Capture DxS elect (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變更してJEV IgM捕捉ELISAを行った。方法は次の通りである。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した。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時間反応させた。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分間反応させた。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)を測定した。

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として算出した。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とした。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。

3. JEVに対する中和試験

試験前日にVero細胞を12 well plateの各wellに、 3×10^5 cells/mL、1 mL/wellで播種した。試験当日に、希釈液(MEMに2 %FBSを添加したもの)で10倍に希釈し、その後2倍階段希釈した。JEV北京株を、希釈液を用いて2.00 PFU/ μ Lに希釈し、これを攻撃ウイルスとした。希釈した血清75 μ Lと攻撃ウイルス 75 μ Lを混合し、37 °Cで90分間中和反応させた。中和反応終了後、血清希釈液と攻撃ウイルス液の混合液を氷浴中に移した。Vero細胞の培養上清を除いた後、血清希釈液と攻撃ウイルス液の混合液を1 wellあたり60 μ Lずつ接種した。接種後、37 °C、5 %CO₂ インキュベーターで90分間吸着させた。吸着の間、15分毎にティルティングを行った。吸着反応終了後、1 wellあたり1.5 mLの重層培地 (Eagle's MEMで調製した1 %メチルセルロース溶液に2% FBSおよびL-glutamineを最終濃度2 mMで加えたもの)を加え、37 °C、5 %CO₂下で5日間培養した。培養終了後、各wellあたり1.0 mLの10 %中性緩衝ホルマリン液(ホルマリン原液を、PBSを用いて10倍に希釈した液)を

加え、手で軽く振盪した後に1時間静置した。水道水にて洗浄後、メチレンブルー染色液を各wellあたり1.0 mL加え1時間室温で静置した。水道水にて洗浄後、プラーク数を算定した。

攻撃ウイルス液に希釈液のみを加えた細胞のプラーク数に比べ、50 %以上プラーク数が減少していた血清の希釈倍率の最大値を中和抗体価とした。

(倫理面への配慮)

本研究は、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で審査され、承認されている。

C. 研究結果

1. JEV IgM捕捉ELISA

平成29年度に解析を行った21人の患者からの53検体のうち、52検体はJEV IgM捕捉ELISAで陰性を示し、1検体 (E23-2, 急性期血清)が陽性を呈した。

2. JEVに対する中和試験

陽性となった検体(E23-2, 急性期血清)の中和抗体価は160倍、当該患者の回復期血清(E23-3)の中和抗体価は80倍であった。

D. 考察

平成29年度に解析を行った21人の患者のうち20人は、全ての検体がJEV IgM捕捉ELISAで陰性を示した。従って、この20人の患者は、日本脳炎ではないと考えられる。さらに、残りの1人(E23)は急性期血清(E23-2)がJEV IgM捕捉ELISAで陽性を示したものの、以下の2つの理由から日本脳炎ではないと考えられる。当該患者の他の検体(急性期髄液,[E23-1]および回復期血清[E23-3])がJEV IgM捕捉ELISAで陰性を示したこと、急性期血清(E23-2)および回復期血清(E23-3)を用いたJEVに対する中和試験で、急性期から回復期にかけての有意な抗体価の上昇を認めなかったこと。以上より、平成29年度に検索を行った21人の患者の中に、日本脳炎症例は含まれていないと考えられた。

日本脳炎は特異的な臨床症状を示さず、また、脳炎・脳症の診断のための一般的な検査

(血液検査、髄液検査、頭部MRI検査など)においても、日本脳炎に特異的な所見は報告されていない。近年、日本脳炎の報告数が少なくなったため、日本脳炎を経験したことのあつる臨床医が減少していることもあり、急性脳炎・脳症症例において日本脳炎を疑い、検査を実施し診断することは困難である。一方、急性脳炎の届け出数は近年増加傾向にあり、平成29年には688例の急性脳炎が報告された。平成29年度に届け出られた急性脳炎症例のうち、本研究班で日本脳炎の検索を行ったのは一部であるため、検索が行われなかった急性脳炎症例の中に日本脳炎が含まれる可能性は否定できない。

正確に診断されていない日本脳炎症例を診断し、日本脳炎報告数を正確に把握することは、ワクチン接種による日本脳炎の予防戦略において重要である。

日本における近年の日本脳炎患者の大半は60歳以上の高齢者である。日本脳炎は、日本では年間の報告数は多くないものの、致死率が高く、生存例でも神経学的予後は不良である。従つて、日本脳炎は疾病負担の大きい疾患であるため、高齢者を対象としたワクチン接種による予防を検討すべき疾患である。平成30年3月29日現在、高齢者を対象として肺炎球菌ワクチンの定期接種が開始されており、水痘帯状疱疹ワクチンも定期接種へ向けての検討が行われている。高齢者への日本脳炎ワクチン接種開始を検討するにあたり、正確な日本脳炎患者数を把握することが必要である。

一方、日本脳炎の正確な報告数を把握することは、小児への日本脳炎ワクチン接種計画においても重要である。平成27年に千葉県で10ヶ月の乳児の日本脳炎症例が報告された。この報告を受けて、日本小児科学会は、日本脳炎ワクチン(標準的接種開始年齢は3歳)を、日本脳炎罹患リスクの高い者に対しては生後6ヶ月から接種を開始することを推奨する旨の声明を発表した。その声明において、日本脳炎罹患リスクの1つとして「最近日本脳炎患者が発生した地域」が挙げられている。従つて、日本脳炎の発生状況を正確に把握することは、各地域で小児におけるワクチン接種時期を検討する上でも重要である。

日本脳炎を診断するための代表的な検査として、JEV遺伝子検出検査と抗体検査(抗JEV抗体の上昇を確認する検査)があげられる。日本脳炎患者から採取された血清や髄液からはJEV遺伝子はほとんど検出されないため、日本脳炎は主に抗体検査によって診断される。

抗体検査の方法として、今回実施したJEV IgM捕捉ELISA法およびJEVに対する中和試験法の他に、HI (Hemagglutination Inhibition:赤血球凝集抑制)法、CF (complement fixation:補体結合法)法が挙げられる。各検査法の長所・短所は以下の通りである。

HI法、CF法の長所は、検体の提出が簡便であることである。即ち、検査会社がHI法、CF法を実施しているため、病院から外注検査として提出することができる。一方、HI法、CF法の短所として、急性期血清と回復期血清の両方が必要であること、検査を実施してから判定までに1週間近く日数を要する点である。

JEV IgM捕捉ELISA法の長所として、急性期の血清・髄液のみで判定可能であることおよび検査を実施してから判定までに要する日数が短い(1, 2日間)ことが挙げられる。JEV IgM捕捉ELISA法の短所として、検査会社が実施していないため、検体の提出が煩雑であること、中和試験に比べると特異性が低いことが挙げられる。

中和試験の長所は、他の試験法よりも特異性が高い点である。短所として、検体の提出が煩雑であること、検査を実施してから判定までに1週間近く日数がかかること、さらに急性期血清・回復期血清の両方が必要であることが挙げられる。

平成29年度には、外注のHI法、CF法の結果に基づいて3例の日本脳炎症例が報告された。そのうち2例の検体を用いて、当部門において、診断を確定するためのJEV IgM捕捉

ELISAおよび中和試験を実施した。2例とも、JEV検体がJEV IgM捕捉ELISAで陽性を示し、かつ中和抗体価の上昇も確認できたことから、日本脳炎の診断に合致する結果であった。

その2例について、患者の発症日から届け出が提出される日まで1ヶ月近くの間隔があ

ったため、検体を提出した担当医に連絡を取り、詳細を問い合わせた。結果、担当医は急性期の血清をHI法、CF法に提出し陽性の結果を得ていたが、急性期から回復期にかけての有意な抗体価の上昇を確認するために、回復期血清を提出し、その結果を確認してから日本脳炎の届け出を提出したために、発症から届け出までに時間がかかったとのことであった。この担当医が、急性期血清をHI法、CF法に提出し、陽性の結果が返ってきた時点で、急性期血清・髄液をJEV IgM捕捉ELISA法に提出していれば、より早期に日本脳炎を診断できたと考えられる。そのため、日本脳炎を診断する機会のある神経内科医・小児科医に対して、JEV IgM捕捉ELISA法についての情報発信を行うことが、日本脳炎をより早期に診断するために肝要である。

E . 結論

本分担研究で平成29年度に検索を行った21人の患者の中には、日本脳炎症例は含まれていないと考えられる。しかし、日本においては近年でも毎年日本脳炎症例が報告されており、また、急性脳炎の届け出が提出されたものの、本研究班で日本脳炎の検索を行っていない症例も多い。そのため、診断されていない日本脳炎症例が存在する可能性は

否定できない。日本脳炎の報告数を正確に把握することはワクチン接種による予防を検討する上で重要であり、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対して、日本脳炎の検索を行うことは重要である。

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

表 平成29年度 日本脳炎ウイルスIgM捕捉ELISAおよび中和試験結果

検体	検体の種類	年齢	性別	発症後 日数	ELISA index(*)	解釈	中和抗体価(**)
E10-1	髄液	1	男	2	0.51	陰性	not done
-2	血清			2	0.51	陰性	not done
-7	血清			14	0.98	陰性	not done
E11-1	髄液	1	男	0	0.49	陰性	not done
-2	血清			0	0.69	陰性	not done
-6	血清			10	0.75	陰性	not done
E12-1	髄液	10	男	1	0.76	陰性	not done
-2	血清			1	0.84	陰性	not done
E13-1	髄液	1ヶ月	男	0	0.64	陰性	not done
-2	血清			0	0.93	陰性	not done
-6	血清			11	1.29	陰性	not done
E14-1	髄液	1	男	5	0.48	陰性	not done
-2	血清			2	0.74	陰性	not done
-6	血清			7	1.04	陰性	not done
E15-1	髄液	6	男	0	0.68	陰性	not done
-2	血清			5	0.99	陰性	not done
-6	髄液			7	0.88	陰性	not done
-7	血清			18	0.97	陰性	not done
E16-1	髄液	日齢1	男	8	0.73	陰性	not done
-2	血清			8	0.73	陰性	not done
E17-1	髄液	3	男	0	0.54	陰性	not done
-2	血清			0	0.94	陰性	not done
E18-1	血清	1ヶ月	男	3	1.11	陰性	not done
E19-1	髄液	1ヶ月	男	0	0.73	陰性	not done
-2	血清			0	0.74	陰性	not done
E20-1	髄液	1ヶ月	男	3	0.73	陰性	not done
-2	血清			3	1.10	陰性	not done
E21-1	髄液	25	男	0	0.52	陰性	not done
-2	血清			1	0.82	陰性	not done
-6	血清			14	1.02	陰性	not done
E22-1	髄液	30	男	7	0.50	陰性	not done
-2	血清			13	0.87	陰性	not done
-3	血清			33	0.79	陰性	not done
E23-1	髄液	15	女	1	0.48	陰性	not done
-2	血清			3	2.30	陽性	160
-3	血清			49	1.67	陰性	80
E24-1	髄液	7	男	5	0.43	陰性	not done
-2	血清			5	0.66	陰性	not done
E25-1	髄液	50	男	16	0.46	陰性	not done
-2	血清			16	0.88	陰性	not done
E26-1	髄液	1ヶ月	男	0	0.44	陰性	not done
-2	血清			0	0.50	陽性	not done
-6	血清			7	0.56	陰性	not done

(次頁へ続く)

(前頁より)

検体	検体の種類	年齢	性別	発症後 日数	ELISA index ^(*)	解釈	中和抗体価 ^(**)
E27-1	髄液	1ヶ月	女	0	0.44	陰性	not done
-2	血清			0	0.48	陰性	not done
-6	血清			7	0.56	陰性	not done
E28-1	髄液	2ヶ月	男	5	1.25	陰性	not done
-2	血清			5	0.97	陰性	not done
E29-1	髄液	4	女	1	0.54	陰性	not done
-2	血清			1	1.15	陰性	not done
-6	血清			7	1.15	陰性	not done
E30-1	髄液	3	男	0	0.51	陰性	not done
-2	血清			0	0.98	陰性	not done

(*) ELISA Index;

日本脳炎ウイルスIgM捕捉ELISAのindexを示す。Indexは2.00を超えれば陽性と判定する。

(**) 中和抗体価;

日本脳炎ウイルス北京株に対する中和抗体価を示す。中和抗体価は、血清を加えていないコントロールのwellにおけるプラーク数の50 %以上の減少を認めた血清の最大の希釈倍率の逆数で表す。

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 室長
研究協力者 花岡 希 国立感染症研究所感染症疫学センター主任研究官
研究協力者 藤本嗣人 国立感染症研究所感染症疫学センター 室長

研究要旨

2015年に発症した、急性弛緩性麻痺、呼吸器感染症症例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、EV-D68 陽性検体の一部から培養細胞により EV-D68 株を分離した。

2015年のエンテロウイルス D68 国内分離株は、次世代シーケンス解析・分子系統解析により遺伝子型 Clade B に分類された。

2015年の呼吸器感染症症例に由来する咽頭拭い液検体を乳のみマウスに接種することにより、高頻度に EV-D68 が検出され、EV-D68 は乳のみマウスに特徴的な弛緩性麻痺を誘導した。

AFP全数報告国内体制を整備するため、ポリオウイルス検査も含めた世界的ポリオAFPサーベイランスについて整理し、「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き」に反映した。

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 (*Enterovirus D*) として、これまで、一般的な呼吸器感染症の原因ウイルスのひとつと考えられてきた。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年の北米、2015年の日本におけるEV-D68感染症大規模流行時の急性弛緩性麻痺(acute flaccid paralysis; AFP)および急性弛緩性脊髄炎(acute flaccid myelitis; AFM)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。そのため、2015年に日本国内で分離されたEV-D68株のウイルス学的性状解析を行った。

2015年に発生したAFP症例の多発を受け、

AFPおよびAFM症例の実態把握、病原体検索、将来的な予防治療法の開発等を目的として、AFP症例を感染症法による届出疾患として全数報告とするための準備を進めた。そのため、

「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き」(以下、「手引き」と表記)作成に協力し、急性弛緩性麻痺サーベイランスと実験室診断に関する項目について分担執筆を担当した。

B．研究方法

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。また、秋田県健康環境センターで、2015年に発症した喘息等呼吸器感染症症例に由来する咽頭拭い液を乳のみマウスに接種することにより分離したEV-D68株についても、遺伝子解析およびウイルス学的性状の解析を行った。

AFPは急性灰白髄炎(ポリオ)の典型的臨床

症状であり、AFP症例に由来する便検体の病原体検査は、WHOを中心として進められている世界ポリオ根絶計画における標準的サーベイランスとして世界的に確立した手法である。そのため、ポリオウイルス検査体制も含め国内外のAFPサーベイランスの異同について整理した。

(倫理面への配慮)

2015年に発生した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

島根県で、2015年のEV-D68流行時に分離されたEV-D68分離株は、RD-A細胞においてCPEを誘導し、一般的なエンテロウイルスの増殖至適温度である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。秋田県の呼吸器感染症症例に由来する咽頭拭い液検体を乳のみマウスに接種することにより、2015年9月に採取した検体を中心にEV-D68が高頻度に検出された。乳のみマウスで分離されたEV-D68株は、特徴的な弛緩性麻痺を誘導し、抗EV-D68抗血清で中和された。乳のみマウス分離EV-D68株(Aki ta/150455)は、マウス組織懸濁液をRD-A細胞に接種した際のウイルス感染価は低かったが、同細胞で継代することにより、RD-A細胞において増殖可能なウイルス・ストックが得られた。

2015年のEV-D68国内分離株は、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シングにより、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、島根県および秋田県で2015年に分離されたEV-D68分離株は、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年国内分離株は、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。

AFP症例に由来する便検体の病原体検査は、WHOを中心として進められている世界ポリオ根絶計画における標準的サーベイランスとして世界的に確立した手法である。ポリオウイルス検査体制も含めた世界的ポリオAFPサーベイランスについて整理し、国内外のAFPサーベイランスに大きな齟齬が無いよう、「手引き」に反映させた。一方、今後導入される国内AFPサーベイランスでは、EV-D68を含むエンテロウイルスや他の病原体検査についても考慮し、糞便検体以外の臨床検体の採取と非ポリオエンテロウイルス検査について、「手引き」により解説した。

D. 考察

2014年の米国、2015年の日本におけるAFP・AFM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AFP/AFM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。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AFP/AFM症例の報告とともに、呼吸器、糞便、髄液検体を含む、発症後できるだけ速やか、かつ適切な検体採取が重要となる。現在、整備が進められている、感染症法による届出疾患としてのAFP全数報告は、わが国におけるAFP症例の発生動向、および、EV-D68を含む病原因子の関与を明らかにするための重要な基盤情報となることが期待できる。AFP全数報告体制の運用にあたっては、「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き」等を介した継続的な情報提供が重要となる。

EV-D68は、一部のヒト培養細胞において効率良く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AFPあるいは呼吸器感染症に由来するEV-D68分離株は貴重

である。とくに、臨床検体から直接、培養細胞による分離を経ず、乳のみマウスで分離されたEV-D68株は、乳のみマウスにおいて特徴的な弛緩性麻痺を誘導することから、感染動物実験による病原性解析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、現在検討を進めている。

E . 結論

2015年のEV-D68流行時に、日本国内で分離されたEV-D68株の遺伝子解析およびウイルス学的性状解析を行った。島根県および秋田県で2015年に分離されたEV-D68分離株は、いずれもEV-D68遺伝子型Clade Bに属していた。秋田県の呼吸器感染症症例に由来する咽頭拭い液検体を乳のみマウスに接種することにより高頻度にEV-D68が検出された。乳のみマウスEV-D68分離株は、特徴的な弛緩性麻痺を誘導し、抗EV-D68抗血清で中和された。

2015年に発生したAFP症例の多発を受け、AFPおよびAFM症例の実態把握、病原体検索、将来的な予防治療法の開発等を目的として、感染症法による届出疾患としてAFP全数報告とするための準備を進めた。ポリオウイルス検査体制も含めた世界的ポリオAFPサーベイランスについて整理し、国内外のAFPサーベイランスに大きな齟齬が無いよう、「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き」に反映させた。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Chong PF, Kira R, Mori H, Okumura A, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Hanaoka N, Kusunoki S, Takahashi T, Oishi K, Tanaka-Taya K. Clinical Features of Acute Flaccid Myelitis Temporally Associated With an Enterovirus D68 Outbreak: Results of a Nationwide Survey of Acute Flaccid Paralysis in Japan, August-December 2015. *Clin Infect Dis* 66: 653-664, 2018

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) 2017
3. Pham NTK, Thongprachum A, Baba T, Okitsu S, Trinh QD, Komine-Aizawa S, Shimizu H, Hayakawa S, Ushijima H. A 3-month-old child of acute gastroenteritis with enterovirus D68 detected from stool specimen. *Clin. Lab* 63: 1269-1272, 2017
4. Thongprachum A, Khamrin P, Thi Kim Pham N, Takanashi S, Okitsu S, Shimizu H, Maneekarn N, Hayakawa S, Ushijima H. Multiplex RT-PCR for rapid detection of viruses commonly causing diarrhea in pediatric patients. *J Med Virol* 89: 818-824, 2017
5. 斎藤博之、秋野和華子、佐藤寛子、藤谷陽子、柴田ちひろ、佐藤了悦、清水博之: 乳飲みマウスによるエンテロウイルス D68型の分離-秋田県. *病原微生物検出情報* 38: 10-11, 2017
6. 清水博之: エンテロウイルスD68のウイルス学的性状. *神経感染症学雑誌*, 2017 (in press)
7. 清水博之: エンテロウイルスD68感染症の大規模流行、その後. *臨床とウイルス* 45: 256-263, 2017
8. 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* 76, 208-217, 2017
9. 清水博之: エンテロウイルス感染症. *医師会雑誌* 146, 259-263, 2017

2. 学会発表

1. Shimizu H. Nationwide survey of acute flaccid paralysis in August–December 2015 during an enterovirus D68 outbreak in Japan. U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program Viral Diseases Panel Meeting, Shenzhen, China, 8 January, 2018
2. Shimizu H. Understanding of the pathogenesis of enterovirus 71 infection based on the identification of the receptors. The 20nd International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim,

- Shenzhen, China, 8 January, 2018
3. Shimizu H. Surveillance and Laboratory Diagnosis of Enterovirus Infections in Vietnam and Japan. A Joint Meeting on Collaborative Research between NIID and NIHE, Tokyo, 22 August, 2017
 4. Shimizu H. Enterovirus D68 outbreak in Japan during autumn 2015, The 3rd Symposium on Research and Quality Control of Vaccines. Beijing, China, 8 May, 2017
 5. 宮崎誠、斎藤博之、柴田ちひろ、YEN HAI DOAN、荒尾雄二郎、岩田奈織子、長谷川秀樹、清水博之、永田典代. エンテロウイルス D68 型感染後の弛緩性麻痺発現マウスモデルの構築. 第 65 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪, 2017 年 10 月 24 日～26 日
 6. 清水博之. エンテロウイルス D68 のウイルス学的性状, シンポジウム 2 急性弛緩性脊髄炎. 第 22 回日本神経感染症学会学術大会, 北九州, 2017 年 10 月 14 日
- 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、秋田県健康環境センターの斎藤博之先生に深謝いたします。

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

福島県における感染症関連神経疾患の発生動向調査とその病原体検索

研究分担者 細矢 光亮 福島県立医科大学小児科 教授

研究要旨

福島県内における急性弛緩性麻痺および急性脳炎・脳症の小児入院患者の全数を把握するため、平成 26 年 1 月より、小児入院施設のある県内全ての医療機関と連携した前方視的発生動向調査を実施している。それによると、平成 29 年 1 月～12 月の 1 年間に、福島県における急性弛緩性麻痺の発生はなかった。急性脳炎・脳症は、同期間に 9 例（HHV6：3 例、インフルエンザ A：2 例、アデノウイルス：1 例、ロタウイルス：1 例、不明 2 例）の発生があった。福島県において、エンテロウイルスの関与が証明された急性弛緩性麻痺あるいは急性脳炎・脳症の発生はなかった。

A．研究目的

福島県全域で発生した急性弛緩性麻痺および急性脳炎・脳症の全例を把握し、可能な限り病原体を明らかにする。

B．研究方法

福島県内における急性弛緩性麻痺および急性脳炎・脳症の小児入院患者の全数を前方視的に把握するため、小児入院施設のある県内全ての医療機関と連携し、毎週該当疾患の有無と、発生があった場合はその症例を福島県立医科大学小児科に報告してもらい、これを集計する。

（倫理面への配慮）

医療機関からの報告は、性別年齢別の発症者数のみであるので、個人情報には完全に保護されている。

C．研究結果

急性弛緩性麻痺は、平成 26 年 1 月～29 年 12 月の 4 年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（HHV6：3 例、突発性発疹関連：1 例、インフルエンザ A：1 例、インフルエンザ B：1 例、原因不明：6 例）、平成 27 年に 12 例（HHV6：3 例、突発性発疹関連：1 例、ムン

プス：1 例、原因不明：7 例）、平成 28 年に 8 例（HHV6：1 例、インフルエンザ A：3 例（内 1 例死亡）、原因不明：4 例）、平成 29 年に 9 例（HHV6：3 例、インフルエンザ A：2 例、アデノウイルス：1 例、ロタウイルス：1 例、不明 2 例）の発生があった。

福島県において、平成 26 年 1 月～29 年 12 月の 4 年間にエンテロウイルスの関与が証明された急性弛緩性麻痺あるいは急性脳炎・脳症の発生はなかった。

D．考察

福島県内の小児入院施設のある全ての医療機関と連携した前方視的発生動向調査システムが機能し、県内で発生した急性弛緩性麻痺および急性脳炎・脳症の全数が把握されるようになった。これにより、エンテロウイルス D68 型や A71 型の流行に伴う急性弛緩性脊髄炎や脳幹脳炎の発生を、リアルタイムに感知できるものと期待される。

E．結論

福島県内で発生した急性弛緩性麻痺および急性脳炎・脳症の全数をリアルタイムに把握する前方視的発生動向調査システムが確立した。

	(予定を含む。)
F . 研究発表	1. 特許取得
1. 論文発表	無し
無し	
2. 学会発表	2. 実用新案登録
無し	無し
G . 知的財産権の出願・登録状況	3.その他
	無し

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

急性弛緩性麻痺患者における急性弛緩性脊髄炎の初期診断の正確性に関する検討

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

研究要旨

急性弛緩性脊髄炎(AFM)の初期診断の正確性を明らかにするため、2015年に日本でAFMが多発した際に行われた二次調査を元に解析を行った。中央解析に基づき診断されたAFMの症例(n=59)の医療機関の退院時診断はAFMが42例(71%)、AFM以外17例(29%)。ほぼ全例で中央解析により初回MRI検査で診断された縦走病変は医療機関で25例(42%)が診断されていなかった。20椎体(中央値)に渡る長大病変は診断されにくく、診断されていた場合でも実際よりも短く判定されていた。初回検査で病変が診断されなくても検査の反復や造影剤の使用により最終的に診断された例があった。

A．研究目的

急性弛緩性脊髄炎(acute flaccid myelitis: AFM)は2014年に米国でエンテロウイルスD68のアウトブレイクに伴い急性弛緩性麻痺(acute flaccid paralysis: AFP)の症例が多発した際に提唱された、臨床症状とMRI画像所見により診断される新しい疾患概念である。

2015年9月中旬に、我が国においてもAFPを認める小児例の多発が報告され、特に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)。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多発の実態およびAFM患者の臨床症状および検査所見について明らかにしてきた。

2015年のようなAFMの多発はその後、見られていないが、今後の多発に備えて、AFMを早期に診断する上での問題点を明らかにしておく必要がある。本研究ではAFPを呈する疾患の中でAFMが適切に診断されうる

か、AFPを呈する患者におけるAFMの初期診断の正確性を明らかにするため、二次調査で報告された症例を対象として、実際に患者の診療を行った医療機関における画像所見および退院時診断と当研究班で行った中央解析に基づく画像所見および診断の相違を解析した。

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・協力者が中央解析を行った。次に中央解析によりAFMの診断基準を満たす患者について、診療を担当した医療機関における脳脊髄画像の判読結果および退院時診断と中央解析による画像判読結果を解析した。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、明らかに感染性とは異なる症例は除外。

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/μL)

+ は確定、+ は疑い

(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、101 例について二次調査の回答が得られ、AFP の組み入れ基準に合わない 7 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 例を除外した結果、AFP の症例定義 (一次調査) を満たした者は 75 例であった。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 4 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、ボツリヌス症 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。本研究ではこれらの 59 例の AFM を対象として解析を行った。

中央解析に基づき診断された AFM 症例 (n=59) の医療機関退院時の診断名は、AFM が 38 例 (64%)、AFM に他の神経疾患病名が加えられたものが 4 例 (7%)、AFM 以外が 17 例 (29%) であった。AFM に加えられたものの他の神経疾患病名は、ギラン・バレー症候群 (2 例) および Hopkins 症候群 (2 例) であった。AFM 以外の疾患名の内訳は、Hopkins 症候群 (3 例)、急性散在性脳脊髄炎 (4 例)、ギラン・バレー症候群 (4 例)、ニューロパチー (1 例)、腕神経叢損傷 (1 例)、AFP (2 例)、AFP および無菌性髄膜炎 (1 例)、脊髄梗塞 (1) であった。

中央解析で画像不鮮明な 1 例を除く 58 例が初回の脊髄 MRI 検査で「縦走病変あり」と画像診断したのに対し、医療機関では 34 例 (58%) が「縦走病変あり」、25 例 (42%) が

「縦走病変なし」と診断されていた。「縦走病変なし」の 25 例のうち 19 例 (76%) は中央解析で病変の長さ (椎体数) が評価可能で (6 例は評価不能)、中央値 20 椎体 (四分位範囲 12.5-20 椎体) であった。

初回脊髄 MRI 検査で「縦走病変あり」と医療機関で診断していた場合、脊髄病変の長さを中央解析と比較すると、2 椎体以内の違いは 11 例 (32%)、3 椎体以上の違いは 15 例 (44%)、不明 8 例 (24%) であった。

医療機関退院時の診断名が AFM である 38 例のうち、初回脊髄 MRI 検査にて「縦走病変あり」と自施設で診断していたのは 24 例 (63%) (1 例は縦走病変があるが明確ではない)、「縦走病変なし」と診断していたのは 14 (37%) であった。「縦走病変なし」にもかかわらず AFM と診断した理由は、MRI 再検により病変を認めたのが 5 例 (36%)、初回検査で馬尾造影ありが 2 例 (14%)、7 例 (50%) は理由不明であった。

D. 考察

29% の患者は退院時に AFM と診断の病名が適切に使用されていなかったことが判明した。これらの退院時診断は、いずれも AFM の重要な鑑別疾患である Hopkins 症候群、急性散在性脳脊髄炎、ギラン・バレー症候群、ニューロパチー、腕神経叢損傷、AFP、AFP および無菌性髄膜炎となっており、各医療機関とも病態を適切に把握していることが分かる。2015 年の時点で AFM の病名が十分に周知されていなかったことが推測される。

初回の脊髄 MRI 検査で縦走病変があるにもかかわらず、42% は病変を認識されていなかった。また評価可能であった病変の長さは 20 椎体とほぼ脊髄全長に渡って病変が広がっていた。脊髄全長に渡り病変が広がるがゆえに、かえって読影され難いのかもかもしれない。また医療機関と中央解析の病変の長さを比較すると、3 椎体以上の長さの違いがあることも多く、もし病変を認識されたとしても脊髄全長に渡る病変はやはり見逃されやすいのであろうと思われる。

脊髄 MRI 検査で病変が認識されていないにもかかわらず最終的に AFM と診断されたのは、MRI の再検により病変が明確になっ

たり、馬尾の造影という AFM に特徴的な病変を伴っていたりしたためであった。

E . 結論

AFM を初回の脊髄 MRI 検査で診断することが難しく、特に脊髄全長に渡り広がる長大病変の場合には、その傾向がいっそう強くなることが明らかとなった。これらに対して、検査を反復して行うこと、造影を行うこと、などにより、診断の精度が上げられると思われる。また脊髄炎の診断に習熟した医師による読影も役に立つであろう。AFM の診断名を適切に使用されていない例もあり今後も引き続き周知していく必要がある。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Chong PF, Kira R, Mori H, Okumura A, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Hanaoka N, Kusunoki S, Takahashi T, Oishi K, Tanaka-Taya K; AFM collaborative study investigators: Clinical Features of Acute Flaccid Myelitis Temporally Associated with an Enterovirus D68 Outbreak: Results of a Nationwide Survey of Acute Flaccid Paralysis in Japan, August-December 2015. Clin Infect Dis 66: 653-664, 2018
2. 吉良龍太郎：急性弛緩性脊髄炎. BRAIN and NERVE 70:99-112, 2018

2. 学会発表

1. Chong PF, Kira R: A cluster of acute flaccid myelitis observed in autumn, 2015, Japan. The

14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology (symposium). May 11-13, 2017, Fukuoka, Japan

2. Nakamura R, Matsukura M, Chong PF, Kira R: Neonatal encephalitis by enterovirus A71 presented with disseminated lesion in cortex and subcortex. The 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology. May 11-13, 2017, Fukuoka, Japan

3. チョン ピンフィー：シンポジウム「急性弛緩性脊髄炎～臨床的特徴とエンテロウイルス D68 との関連性」2015 年秋に見られた急性弛緩性脊髄炎の臨床的特徴. 第 59 回日本小児神経学会学術集会総会 2017.6.15-17 大阪

4. 吉良龍太郎：シンポジウム「急性弛緩性脊髄炎」急性弛緩性脊髄炎の臨床像. 第 22 回日本神経感染症学会総会・学術大会 2017.10.13-14 北九州

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

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

研究分担者 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例の画像所見とその経時的变化を解析した。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。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。髄内病変の経時的变化では、急性期には両側かつ広範な病変を呈し、徐々に前角に限局する病変へ収束することを認めた。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。これらの知見は、小児の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。本年度は脊髄病変の経時的な変化に着目して検討を行った。

B．研究方法

対象は、本研究班の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15歳未満の54例である。画像データは担当医から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MRIの所見とその経時的变化

A．病変の広がり

B．脊髄内の病変局在

C．ガドリニウム造影の増強効果

脊髄内の病変は、「両側性・広範」、「両側性・前角限局」、「片側性・前角限局」に分類した。

（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。

病変の範囲と麻痺の分布との関係を表1に示す。全脊髄またはほぼ全脊髄に病変を認めた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。

表3に画像所見の経時的変化を示す。髄内病変では麻痺発症後0～6日では全例で「両側性・広範」であったが、発症後7日以降ではほとんどの症例で「両側性・前角限局」または「片側性・前角限局」であった。ガドリニウム造影効果では、麻痺出現後0-2日では、造影を施行した10例中4例に増強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増強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の画像所見の特徴とその経時的変化が明らかになった。すなわち、縦に長い縦走病変が特徴的であるとともに、急性期には広範な病変を呈するが徐々に病変が前角に限局することが判明した。また、造影効果では馬尾の増強効果が高率であるが、発症後早期には造影効果は低率で、やや遅れて出現することが特徴的であった。さらに、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かった。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。

病変の経時的変化も特徴的である。髄内病変は、麻痺発症後約1週間は麻痺の分布に関わらず両側性で広範な病変を呈した。このことは、前述のごとく静脈性浮腫などの病態が関与している可能性を支持すると思われる。また、麻痺発症後1週以降は病変が前角に限局していくことが観察され、病変の主座が前角にあること、亜急性期の所見は不可逆的な障害を表すことが示唆される。増強効果の経時的変化では、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の画像所見とその経時的变化を明らかにした。急性期には広範な病変を呈するが、徐々に前角に病変が収束することが特徴的であった。

F . 研究発表

1. 論文発表

Ikeno M, Abe S, Kurahashi H, Takasu M, Shimizu T, Okumura A. Gastric perforation and critical illness polyneuropathy after steroid treatment in a patient with encephalitis/encephalopathy with transient splenic lesion. *Brain Dev* 2017;39(4):356-360.

Takasu M, Kubota T, Tsuji T, Kurahashi H, Numoto S, Watanabe K, Okumura A. The semiology of febrile seizures: Focal features are frequent. *Epilepsy Behav* 2017;73:59-63.

Fukushima W, Ozasa K, Okumura A, Mori M, Hosoya M, Nakano T, Tanabe T, Yamaguchi N, Suzuki H, Mori M, Hatayama H, Ochiai H, Kondo K, Ito K, Ohfuji S, Nakamura Y, Hirota Y. Oseltamivir use and severe abnormal behavior in Japanese children and adolescents with influenza: Is a self-controlled case series study applicable? *Vaccine* 2017; 35(36): 4817-4824.

Kidokoro H, de Vries LS, Ogawa C, Ito Y, Ohno A, Groenendaal F, Saitoh S, Okumura A, Ito Y, Natsume J. Predominant area of brain lesions in neonates with herpes simplex encephalitis. *J Perinatol* 2017;37(11):1210-1214.

Kurahashi H, Azuma Y, Masuda A, Okuno T, Nakahara E, Imamura T, Saitoh M, Mizuguchi M, Shimizu T, Ohno K, Okumura A. MYRF is associated with encephalopathy with reversible myelin vacuolization. *Ann Neurol* 2018; 83(1): 98-106.

Okumura A, Ida S, Mori M, Shimizu T; Committee on Pediatric Nutrition of the Child Health Consortium of Japan. Vitamin B1 Deficiency Related to Excessive Soft Drink Consumption in Japan. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018 in press.

Muto T, Nago N, Kurahashi H, Minagawa H,

Okumura A. A One-Month-Old Boy With a Seizure During a Febrile Illness. *Clin Pediatr* 2018;57(3):355-357.

Hayakawa YK, Sasaki H, Takao H, Yoshikawa T, Hayashi N, Mori H, Kunimatsu A, Aoki S, Ohtomo K. The relationship of waist circumference and body mass index to grey matter volume in community dwelling adults with mild obesity. *Obes Sci Pract.* 2017;4(1):97-105.

Takumida H, Yakabe M, Mori H, Shibasaki K, Umeda-Kameyama Y, Urano T, Mano T, Hayashi A, Ikemura M, Ogawa S, Akishita M. Case of a 78-year-old woman with a neuronal intranuclear inclusion disease. *Geriatr Gerontol Int.* 2017;17(12):2623-2625.

Hongo H, Miyawaki S, Imai H, Shinya Y, Ono H, Mori H, Nakatomi H, Kunimatsu A, Saito N. Smaller outer diameter of atherosclerotic middle cerebral artery associated with RNF213 c.14576G>A Variant (rs112735431). *Surg Neurol Int.* 2017 Jun 5;8:104. doi: 10.4103/sni.sni_59_17. eCollection 2017.

Kunimatsu A, Kunimatsu N, Kamiya K, Watadani T, Mori H, Abe O. Comparison between Glioblastoma and Primary Central Nervous System Lymphoma Using MR Image-based Texture Analysis. *Magn Reson Med Sci.* 2018;17(1):50-57.

Okamura S, Saito Y, Mori H, Yamasoba T. Cerebral venous sinus thrombosis during superselective intra-arterial infusion of cisplatin and concomitant radiotherapy for maxillary squamous cell carcinoma. *BMJ Case Rep.* 2017 May 12;2017. pii: bcr-2017-220591. doi: 10.1136/bcr-2017-220591.

Kamiya K, Hori M, Irie R, Miyajima M, Nakajima M, Kamagata K, Tsuruta K, Saito A, Nakazawa M, Suzuki Y, Mori H, Kunimatsu A, Arai H, Aoki S, Abe O. Diffusion imaging of reversible and irreversible microstructural changes within the corticospinal tract in idiopathic normal pressure hydrocephalus. *Neuroimage Clin.* 2017;14:663-671.

Chong PF, Kira R, Mori H, Okumura A, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T,

Hanaoka N, Kusunoki S, Takahashi T, Oishi K, Tanaka-Taya K; AFM collaborative study investigators. Clinical Features of Acute Flaccid Myelitis Temporally Associated with an Enterovirus D68 Outbreak: Results of a Nationwide Survey of Acute Flaccid Paralysis in Japan, August-December 2015. Clin Infect Dis 2018;66(5):653-664.

3.その他
なし

2. 学会発表

Akihisa Okumura. Neuophysiological Aspects of Brain Injuries in Neonates. 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Fukuoka, 2017.5.12.

奥村彰久、森壘．急性弛緩性脊髄炎のMRI所見．第59回日本小児神経学会学術集会、大阪、2017.6.16

奥村彰久．急性発作の診療：新生児と小児．第10回日本てんかん学会東海・北陸地方会、岐阜、2017.7.8.

Akihisa Okumura. Neonatal Seizures: from Bench to Incubator: When, How, and What to Treat? The 32nd International Epilepsy Congress, Barcelona, Spain, 2017.9.4.

奥村彰久 .急性脳症診療ガイドラインを読み解く．第11回東海地区小児神経セミナー、名古屋、2017.9.9

奥村彰久、森壘．小児の急性弛緩性脊髄炎のMRI所見．第22回日本神経感染症学会学術大会、北九州、2017.10.14

奥村彰久 .急性脳症における脳波の意義と後障害としてのてんかん：インフルエンザ脳症を中心に．第51回日本てんかん学会学術集荷、京都、2017.11.4

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

表1．脊髄病変の範囲と麻痺の分布

	全脊髄またはほ		頸胸髄または		特定できず
	ぼ全脊髄	頸髄のみ	胸髄のみ	胸腰髄	
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．髄内病変とガドリニウム造影効果の経時的変化

	麻痺発症後の日数					
	0-2	3-6	7-13	14-20	21-27	28-55
髄内病変						
両側性・広範	17	24	5	0	0	0
両側性・前角限局	0	0	11	6	11	9
片側性・前角限局	0	0	3	7	8	7
消失	0	0	0	0	1	0
評価困難	2	0	2	2	0	0
ガドリニウム造影の増強効果						
増強効果あり	4/10	10/11	12/12	5/5	10/11	8/8
増強効果の部位						
馬尾	3	10	12	5	8	6
前根	0	3	1	0	2	2
後根	0	3	1	0	2	0
脊髄実質	1	0	0	0	0	1

エンテロウイルスD68に関連する急性弛緩性脊髄炎の臨床的特徴

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 教授
 研究分担者 安元 佐和 福岡大学 医学部 医学教育推進講座 教授

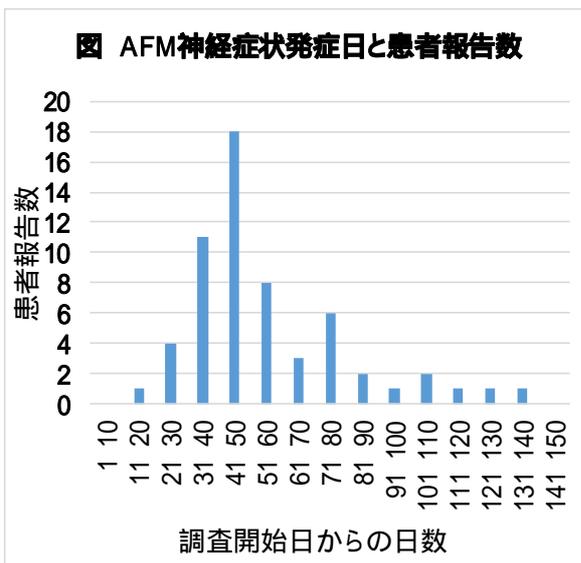
研究要旨

2015年秋に我が国で多発した急性弛緩性脊髄炎症例をエンテロウイルスD68 (EV-D68) の流行ピーク期に神経症状を発症した44例と流行終息期に発症した6例の臨床像を比較した。流行ピーク期症例は、流行終息期症例と比較して、極期の麻痺が左右非対称である割合が77%と高く ($p = 0.001$)、意識変容を示す割合が44例中1例と低く ($p < 0.001$)、造影MRIでの増強効果を示す割合が93%と高く ($p = 0.026$)、予後良好の割合が18%と低かった ($p = 0.024$)。

2015年のEV-D68流行ピーク期に認められた典型的なAFM症例は、左右非対称の麻痺を呈し、意識の変容がなく、造影MRIで増強効果を示し、予後不良であり、EV-D68に関連するAFMの臨床的特徴と考えられる。

A. 研究目的

2015年秋に我が国で多発した急性弛緩性脊髄炎(AFM)の調査集積例を神経症状の発症日別に集計すると、中央値47日目(範囲: 18-131日目)の一峰性の分布となる(図)。



この分布は我が国の感染症サーベイランスで報告されたエンテロウイルスD68 (EV-D68)の検出数の分布とよく一致したことから、Chongらは2015年秋に我が国で多発した

AFMはEV-D68と関連していたと考察した

(Chong PF, et al, Clin Infect Dis, 2018)。

ただし、わが国の全国調査で用いたAFMの診断定義は臨床的特徴の組み合わせで構成されていることから、複数の病態が含まれている可能性がある。

このため、本研究ではEV-D68の流行ピーク期間の症例と流行終息期間の症例の臨床像の特徴を明らかにし、2015年に流行したEV-D68との関連性が高いと考えられるAFMの臨床的特徴を検討した。

B. 研究方法

2015年から2016年に実施された全国調査で集積されたAFM59例のうち、EV-D68の流行ピーク期50日間(21-70日)に神経症状を発症した44例と流行終息期50日間(91-140日)に神経症状を発症した6例を選出し、調査項目に関して比較検討を行った。

統計解析はFisherの正確確率検定で行った。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(表)

流行ピーク期のAFMの症例は、流行終息期症例と比較して、神経症状発症時ならびに極期の麻痺が左右非対称である割合がそれぞれ78%、77%と高く(p = 0.001)、意識変

容を示す割合が44例中1例と低く(p < 0.001)、造影MRIでの増強効果を示す割合が93%と高く(p = 0.026)、予後良好の割合が18%と低かった(p = 0.024)。一方、発熱状況、発症年齢、性別、アレルギー疾患の合併、治療前の筋力低下の程度、髄液所見、MRIでの異常信号分布、神経生理検査所見、治療状況において明らかな相違はなかった。

D. 考察

表 2015年のEV-D68流行終息期とピーク期に報告されたAFM症例の臨床像の比較

	終息期 AFM N = 6	ピーク期 AFM N = 44	p 値
予後良好	4/6 (67)	8/44(18)	0.024
3日間を超える発熱期間	3/6(50)	33/44(75)	0.331
38.5℃を超える発熱	2/6(33)	22/44(50)	0.669
10才以上	1/6(17)	4/44(9)	0.487
小児(20歳未満)	5/6(83)	43/44(98)	0.228
女性	3/6(50)	15/44(34)	0.654
アレルギー疾患の合併	1/6(17)	15/44(34)	0.650
四肢麻痺	3/6(50)	6/44(14)	0.063
単麻痺	0/6(0)	19/44(43)	0.071
非対称性の麻痺(発症時)	0/6(0)	32/44(73)	0.001
非対称性の麻痺(ピーク時)	0/6(0)	34/44(77)	0.001
意識状態の変容	4/6(67)	1/44(2)	< 0.001
治療前のMMT > 3	5/6(83)	37/44(84)	1.000
髄液細胞数増加(60/μL)	2/6(33)	19/44(43)	1.000
髄液蛋白増加(45 mg/dL)	4/6(67)	18/44(41)	0.385
MRIでの大脳病変	1/6(17)	0/44(0)	0.120
MRIでの脳幹病変	1/6(17)	17/44(39)	0.399
MRIで10分節以上の脊髄病変	5/6(83)	23/44(52)	0.211
MRIでの脊髄前角病変	0/6(0)	9/44(20)	0.576
MRIでのガドリニウム増強病変	3/6(50)	27/29(93)	0.026
造影MRIで馬尾が増強される	1/3(33)	23/27(85)	0.094
造影MRIで神経根が増強される	0/3(0)	6/27(22)	1.000
神経生理検査でM波が異常	4/5(80)	30/40(75)	1.000
神経生理検査でF波が異常	2/3(67)	25/32(78)	0.553
EV-D68の検出	0/6(0)	8/43(19)	0.571
抗ガングリオシド抗体の検出	1/1(100)	5/23(22)	0.250
ステロイド療法の未実施	0/6(0)	13/44(30)	0.319
発症2日以内のステロイド療法の開始	3/6(50)	13/31(42)	1.000
ガンマグロブリン療法の未実施	1/6(17)	9/44(20)	1.000
ガンマグロブリン療法の2日以内の開始	2/5(40)	6/35(17)	0.257

2015年の流行ピーク期にみられた典型的な AFM 症例は、左右非対称の麻痺を呈し、意識の変容がなく、造影 MRI で増強効果を示し、予後不良であった。これらの特徴は、EV-D68 に関連する AFM の臨床的特徴と考えられ、脊髄病巣の局在性が高く、炎症の程度が高い AFM と考えられた。

一方、流行終息期の AFM 症例は全例が対称性の麻痺を示し、症候からギラン・バレー症候群との鑑別が問題となると考えられた。また、流行終息期の AFM 症例では意識の変容を示す割合も高く、ADEM を含む脳脊髄炎との鑑別も問題となると考えられた。

E . 結論

2015年のEV-D68流行ピーク期に認められた典型的なAFM症例は、左右非対称の麻痺を呈し、意識の変容がなく、造影MRIで増強効果を示し、予後不良であり、EV-D68に関連するAFMの臨床的特徴と考えられる。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Chong PF, Kira R, Mori H, Okumura A, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Hanaoka N, Kusunoki S, Takahashi T, Oishi K, Tanaka-Taya K; AFM collaborative study investigators: Clinical Features of Acute Flaccid Myelitis Temporally Associated with an Enterovirus D68 Outbreak: Results of a Nationwide Survey of Acute Flaccid Paralysis in Japan, August-December 2015. Clin Infect Dis 66, 653-664, 2018.
2. Takada Y, Sakai Y, Matsushita Y, Ohkubo K, Koga Y, Akamine S, Torio M, Ishizaki Y, Sanefuji M, Torisu H, Shaw CA, Kagami M, Hara T, Ohga S: Sustained endocrine profiles of a girl with WAGR syndrome. BMC Med Genet 18:117, 2017
3. Ichimiya Y, Kaku N, Sakai Y, Yamashita F, Matsuoka W, Muraoka M, Akamine S, Mizuguchi S, Torio M, Motomura Y, Hirata

Y, Ishizaki Y, Sanefuji M, Torisu H, Takada H, Maehara Y, Ohga S: Transient dysautonomia in an acute phase of encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. Brain Dev 39:621-624, 2017

2. 学会発表

1. Torisu H, Takada Y, Kira R, Sakai Y, Ishizaki Y, Sanefuji M, Hara T: Clinical features of pediatric acquired demyelinating syndromes in Japan The 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology. May 11-14, 2017, Fukuoka.
2. 鳥巢浩幸：
シンポジウム 10「急性弛緩性脊髄炎～臨床的特徴とエンテロウイルス D68との関連性」
急性弛緩性脊髄炎症例の神経生理検査所見の特徴
第 59 回日本小児神経学会総会
2017.6.16 大阪
3. 鳥巢浩幸：
シンポジウム 3「ワクチンの有害事象を考える」
ワクチン接種関連 ADEM
第 21 回日本ワクチン学会学術集会
2017.12.3 福岡

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
多屋馨子	エンテロウイルスD68に関連した急性弛緩性脊髄炎はどのような疾患でしょうか？	亀井 聡、鈴木則宏	神経内科 Clinical Questions & Pearls 『神経感染症』	中外医学社	東京	2018	227-230
奥野英雄	感染症法による届け出は、どんな神経感染症ですべきでしょうか？	亀井 聡、鈴木則宏	神経内科 Clinical Questions & Pearls 『神経感染症』	中外医学社	東京	2018	14-16
亀井聡	単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン2017	単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン作成委員会	単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン2017	南江堂	東京	2017	1-100
吉良龍太郎	神経系感染症	小児神経学会	小児神経専門医テキスト	診断と治療社	東京	2017	207-216
松倉 幹、吉良龍太郎	急性散在性脳脊髄炎、多発性硬化症	遠藤文夫	最新ガイドライン準拠小児科診断・治療指針改訂第2版	中山書店	東京	2017	799-803
吉良龍太郎	小児MSの治療はどうしたらいいでしょうか	吉良潤一、鈴木則宏	神経内科 Clinical Questions & Pearls 『中枢脱髄性疾患』	中外医学社	東京	2018	314-319
吉良龍太郎、原 寿郎	急性散在性脳脊髄炎 (ADEM)	水澤英洋、山口修平、園生雅弘	神経疾患 最新の治療2018-2020	南江堂	東京	2018	151-155
Torisu H	Epidemiology of acute disseminated encephalomyelitis	Yamanouchi H, Moshe SL, Okumura A	ACUTE ENCEPHALOPATHY AND ENCEPHALITIS IN INFANCY AND ITS RELATED DISORDERS	Elsevier Inc.	USA	2018	143-149

鳥巢浩幸	急性小脳失調症 オブソクロー ヌス ミオクロー ヌス症候群		最新ガイドラ イン準拠 小児科診断・ 治療指針	中山書店	東京	2017	814-815
鳥巢浩幸	小児脱髄性疾患 の診断基準につ いて教えてください。	吉良潤一	神経内科 Clinical Questions & Pearls 『中枢脱髄性疾患』	中外医学社	東京	2018	67-72
鳥巢浩幸	小児MSはどのよ うな特徴があり ますか。	吉良潤一	神経内科 Clinical Questions & Pearls 「中枢性脱髄性疾患」	中外医学社	東京	2018	220-224

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
Chong PF, Kira R, Mori H, Okumura A, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Hanaoka N, Kusunoki S, Tanahashi T, Oishi K, Tanaka-Taya K. Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study Investigators	Clinical Features of Acute Flaccid Myelitis Temporally Associated with an Enterovirus D68 Outbreak: Results of a Nationwide Survey of Acute Flaccid Paralysis in Japan, August-December 2015	Clin Infect Dis	66(5)	653-664	2018
Okuno H, Yahata Y, Tanaka-Taya K, Arai S, Satoh H, Morino S, Shimada T, Sunagawa T, Uyeki TM, Oishi K.	Characteristics and outcomes of influenza-associated encephalopathy cases among children and adults in Japan, 2010-2015.	Clin Infect Dis	in press		2018
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.	Neurol Clin Pract	7(5)	390-393	2017
Ikeno M, Abe S, Kurahashi H, Takasaku M, Shimizu T, Okumura A.	Gastric perforation and critical illness polyneuropathy after steroid treatment in a patient with encephalitis/encephalopathy with transient splenic lesion.	Brain Dev	39(4)	356-360	2017

Takasu M, Kubota T, Tsuji T, Kurahashi H, Numoto S, Watanabe K, Okumura A.	The semiology of febrile seizures: Focal features are frequent.	Epilepsy Behav	73	59-63	2017
Fukushima W, Ozasa K, Okumura A, Mori M, Hosoya M, Nakano T, Tanabe T, Yamaguchi N, Suzuki H, Mori M, Hatayama H, Ochiai H, Kondo K, Ito K, Ohfuji S, Nakamura Y, Hirota Y.	Oseltamivir use and severe abnormal behavior in Japanese children and adolescents with influenza: Is a self-controlled case series study applicable?	Vaccine	35(36)	4817-4824	2017
Kidokoro H, de Vries LS, Ogawa C, Ito Y, Ohno A, Groenendaal F, Saitoh S, Okumura A, Ito Y, Natsume J.	Predominant area of brain lesions in neonates with herpes simplex encephalitis.	J Perinatol	37(11)	1210-1214	2017
Kurahashi H, Azuma Y, Masuda A, Okuno T, Nakahara E, Imamura T, Saitoh M, Mizuguchi M, Shimizu T, Ohno K, Okumura A.	MYRF is associated with encephalopathy with reversible myelin vacuolization.	Ann Neurol	83(1)	98-106	2018
Okumura A, Ida S, Mori M, Shimizu T	Vitamin B1 Deficiency Related to Excessive Soft Drink Consumption in Japan.	J Pediatr Gastroenterol Nutr	in press		2018
Muto T, Nago N, Kurahashi H, Minagawa H, Okumura A.	A One-Month-Old Boy With a Seizure During a Febrile Illness.	Clin Pediatr	57(3)	355-357	2018
Hayakawa YK, Sasaki H, Takao H, Yoshikawa T, Hayashi N, Mori H, Kunimatsu A, Aoki S, Ohtomo K.	The relationship of waist circumference and body mass index to grey matter volume in community dwelling adults with mild obesity.	Obes Sci Pract	4(1)	97-105	2017
Takumida H, Yakabe M, Mori H, Shibasaki K, Umeda-Kameyama Y, Urano T, Mano T, Hayashi A, Ikegawa M, Ogawa S, Akishita M.	Case of a 78-year-old woman with a neuronal intranuclear inclusion disease.	Geriatr Gerontol Int.	G17(12)	2623-2625	2017

Hongo H, Miyawaki S, Imai H, Shinya Y, Ono H, Mori H, Nakatomi H, Kunimatsu A, Saito N.	Smaller outer diameter of atherosclerotic middle cerebral artery associated with RNF213 c.14576G>A Variant (rs112735431).v	Surg Neurol	18	104	2017
Kunimatsu A, Kunimatsu N, Kamiya K, Watadani T, Mori H, Abe O.	Comparison between Glioblastoma and Primary Central Nervous System Lymphoma Using MR Image-based Texture Analysis.	Magn Reson Med	17(1)	50-57	2018
Okamura S, Saito Y, Mori H, Yamashiro T.	Cerebral venous sinus thrombosis during superselective intra-arterial infusion of cisplatin and concomitant radiotherapy for maxillary squamous cell carcinoma.	BMJ Case Rep.	Cpii	bcr-2017-220591	2017
Kamiya K, Hori M, Irie R, Miyajima M, Nakajima M, Kamagata K, Tsuruta K, Saito A, Nakazawa M, Suzuki Y, Mori H, Kunimatsu A, Arai H, Aoki S, Abe O.	Diffusion imaging of reversible and irreversible microstructural changes within the corticospinal tract in idiopathic normal pressure hydrocephalus.	Neuroimage Clin.	C14	663-671	2017
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		2017
Pham NTK, Thongprachum A, Baba T, Okitsu S, Trinh QD, Komine-Aizawa S, Shimizu H, Hayakawa S, Ushijima H	A 3-month-old child of acute gastroenteritis with enterovirus D68 detected from stool specimen	Clin. Lab:	63	1269-1272	2017
Thongprachum A, Khairin P, Thi Kim Pham N, Takanasahi S, Okitsu S, Shimizu H, Maneekarn N, Hayakawa S, Ushijima H	Multiplex RT-PCR for rapid detection of viruses commonly causing diarrhea in pediatric patients	J Med Virol	89	818-824	2017

Takada Y, Sakai Y, Matsushita Y, Ohkubo K, Koga Y, Akamine S, Torio M, Ishizaki Y, Sanefuji M, Torisu H, Shaw C A, Kagami M, Ara T, Ohga S	Sustained endocrine profiles of a girl with WAGR syndrome.	BMC Medical Genetics	18	117	2017
Ichimiya Y, Kaku N, Sakai Y, Yamashita F, Matsuoka W, Muraoka M, Akamine S, Mizuguchi S, Torio M, Motomura Y, Hirata Y, Ishizaki Y, Sanefuji M, Torisu H, Takada H, Maehara Y, Ohga S:	Transient dysautonomia in an acute phase of encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion.	Brain and Development	D39	621-624	2017
Nagaoka Y, Nosaka N, Yashiro M, et al.	Local and Systemic Immune Responses to Influenza A Virus Infection in Pneumonia and Encephalitis Mouse Models.	Dis Markers.			2017
Yamashita N, Yashiro M, Yamada M. et al.	Metabolic pathway catalyzed by Vanin-1 phosphatase plays a suppressive role in influenza virus replication in human alveolar epithelial A549 cells.	Biochem Biophys Res Commun.	489(4)	466-471	2017
Nosaka N, Tsukahara K, Yashiro M, et al	Intracranial Pressure Monitoring for Pediatric Acute Encephalopathy.	Acta Med Okayama.	O 71(2)	179-180	2017
奥野英雄、多屋馨子	日本国内での急性脳炎・脳症のサーベイランス:2007~2016年	臨床とウイルス	ウ 45(5)	220-229	2017
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	ウ 44(5)	227-234	2017
諸岡 雄也, 福本 瞳, 山本 剛, 喜多 修久, 西村 良新, 美, 奥野 英雄, 井 智, 畠山 邦也, 平田 雅昭, 片野 晴隆, 多屋 馨子	Multivirus real-time PCRによって診断できたヒトパルボウイルスB19脳炎の1例	NEUROINFECTIO	22(1)	144-149	2017

亀井 聡	神経感染症の診断と治療	診断と治療	105	57-63	2017
亀井 聡	診療ガイドライン at a glance 細菌性髄膜炎診療ガイドライン2014 .	日本内科学会雑誌	106	986-993	2017
吉良龍太郎	急性弛緩性脊髄炎	BRAIN and NERVE	70	99-112	2018
吉良龍太郎	急性散在性脳脊髄炎・多発性硬化症	小児科診療	81 Suppl	506-509	2018
斎藤博之、秋野和華子、佐藤寛子、藤谷陽子、柴田ちひろ、佐藤了悦、清水博之	乳飲みマウスによるエンテロウイルス D68型の分離-秋田県	病原微生物検出情報	38	10-11	2017
清水博之	エンテロウイルスD68のウイルス学的性状	神経感染症学雑誌	in press		2017
清水博之	エンテロウイルスD68感染症の大規模流行、その後	臨床とウイルス	45	256-263	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	76	208-217	2017
清水博之	エンテロウイルス 感染症	医師会雑誌	146	259-263	2017