

**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～30年度 総合研究報告書

研究代表者 多屋 馨子

令和元（2019）年 5月

目 次

I . 総合研究報告

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

(資料1) 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 - 15

(資料2) 急性弛緩性麻痺症例(2018年)に関する臨床調査質問票 ----- 67

(資料3) 急性弛緩性麻痺症例(2015年)に関する予後調査質問票 ----- 70

II . 分担研究報告

1 . 成人の急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症に関する研究----- 72
亀井 聡

2 . 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 ----- 75
森島 恒雄、八代 将登

3 . 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----- 78
清水 博之

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----- 82
田島 茂、前木 孝洋

5 . 不明脳炎症例におけるウイルス等の網羅的検索----- 94
片野 晴隆

6 . 急性脳炎(脳症を含む)症例からの病原体網羅的検索に関する研究----- 97
藤本 嗣人

7 . 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----- 100
細矢 光亮

8 . 急性弛緩性脊髄炎の病態解明に関する研究
ー 臨床像の解明ならびに正確な診断へ向けた検討 - ----- 101
吉良 龍太郎

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- 106
奥村 彰久

10 . 急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症の神経生理学的研究 ----- 112
鳥巢 浩幸 安元 佐和

11 . 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- 117
森 壘、奥村 彰久

III . 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 122

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
（総合）研究報告書

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 【急性脳炎・脳症】

感染症発生動向調査に基づいて届出された急性脳炎（脳症を含む）について解析した。パンデミックインフルエンザが発生した2009年の報告数は前後数年と比較すると多く、2010年以降、報告数は徐々に増加し、近年は年間約700例となった。インフルエンザ脳症の報告と同期して冬期に増加した。症例は小児に多いが、届出時点の致死率は成人の方が高かった。原因病原体不明が約半数を占めたが、報告された病原体では、インフルエンザウイルスが約30%と最多で、ヒトヘルペスウイルス（HHV）-6,7、単純ヘルペスウイルス（HSV）、ロタウイルス、エンテロウイルス、アデノウイルス、RSウイルス、その他ヘルペスウイルス（EBウイルス、サイトメガロウイルスを含む）、水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）、パレコウイルス、マイコプラズマが続いた。年齢群により原因病原体が異なった。報告数としてはインフルエンザウイルスが多かったが、届出時点の致死率はインフルエンザ脳症とロタウイルス脳症は同程度であった。2014年の水痘ワクチン定期接種化後、0-4歳群でVZVの報告はなくなり、VZV脳炎の7割以上が60歳以上となった。

HSV 脳炎の診療ガイドラインの作成と、急性脳炎・脳症との鑑別が必要とされる細菌性髄膜炎の起炎菌侵入門戸同定のための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開発した。髄膜炎や脳脊髄炎と鑑別を要する病態として、自己免疫介在性脳炎が挙げられるが、診断は決して容易ではない。適切な治療介入が転帰の改善に貢献することから、tissue based assay（TBA）による神経細胞表面抗体を検索する方法を開発した。結果判定までの中央値は3日（2～5日）であり、迅速な抗体診断が可能であった。TBAによる神経細胞表面抗体検索の手法はNMDA受容体抗体を含む10種類以上の抗体を一度にスクリーニング可能で、未知の神経細胞表面抗体も検出しうることから、成人の急性脳炎・脳症、急性弛緩性麻痺（AFP）の鑑別に極めて有用であり、迅速診断・治療経過の観察にも有用なバイオマーカーとなりうることを示された。

研究分担者が所属する福島県では、小児の感染症関連神経疾患を詳細に全数把握できるしくみを導入した。急性脳炎・脳症は毎年10例前後、急性散在性脳脊髄炎（ADEM）および急性弛緩性麻痺（AFP（GBSを含む））は毎年0～3例発生、急性脳炎・脳症の病原体判明率は近年上昇し、インフルエンザウイルスA型とHHV-6が多く、インフルエンザウイルスA型は致死率が高く、HHV-6は後遺症率が高いこと、ADEMおよびAFPの病原体が判明した症例は少ないこと、が明らかとなった。

病原体不明として研究班に検討依頼があった症例について、網羅的検査によりスクリーニングした結果（1,2年目と3年目は研究分担者（方法）が異なる）いずれの年度も約30%から原因と考えられる病原体（エンテロウイルス、ライノウイルス、パラインフルエンザウイルス、パレコウイルス、HHV-6、アデノウイルス、メタニューモウイルス、コクサッキーウイルスA6、エコーウイルス）を検出・同定した。網羅的検査の有用性と、脳炎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できた。

日本脳炎（JE）、ダニ媒介脳炎（TBE）はいずれも疾病負荷の大きい疾患であるが、有効なワクチンが開発されているため、正確に診断しその報告数を把握することは重要である。病原体不明として研究班に検討依頼があった症例について検索した結果、いずれの症例もJEおよびTBEは否定的であった。

原因病原体同定には、発症早期の5点セット（血液、髄液、呼吸器由来検体、便、尿）を、凍結融解を繰り返さないように小分けで-70℃以下に凍結保管しておくことが極めて重要である。全国の医療機関に病原体診断の啓発を進めるとともに、研究分担者の所属する地域でも、病原体解析の重要性を啓発した。検体採取、検体保管には担当医に加えて、コメディカルとの連携が不可欠である。

研究要旨 【急性弛緩性麻痺 (AFP)】

2015年秋のエンテロウイルスD68 (EVD68) 流行期に多発したAFP症例について、詳細な検討を行い報告した (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. Clin Infect Dis. 66 : 653-664, 2018.)。また、検討結果をもとに、「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」(資料1)を作成し、国立感染症研究所のホームページ (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/idsc/7993-guideline.html>) に掲載した。AFPを認める疾患の中でも、急性弛緩性脊髄炎 (acute flaccid myelitis: AFM) の麻痺は予後不良例が多く、予後改善に資する治療法の検討が急務である。AFMの厳密な定義が2018年に新たに提案されたが、2015年に発症した日本のAFM症例の95%は8つの診断基準項目のうち7項目以上満たしており、この基準が妥当であることを示した。

2015年に発症した小児AFM54例の年齢中央値は4歳(範囲0~12歳)、男女比は1.5:1であった。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、髄液細胞増多を伴う共通の特徴が見られた。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、麻痺の予後は不良であった。また、広範な脊髄病変を認めるが、横断性の脊髄症状に乏しく、四肢の弛緩性麻痺が主たる症状で、下位運動ニューロン障害が主病態と考えられた。末梢神経の電気生理検査は脊髄前角の病変をよく反映し、診断あるいは予後予測に有用であった。誘発筋電図でのM波異常は、回復期の脊髄前角への画像病変の局在化、馬尾前根の造影効果と統計学的に有意に関連していた。また、初回検査のM波の振幅と回復期の徒手筋力検査(MMT)には有意な関連を認めた。このため、神経生理検査はAFMの診断・予後予測に有用と考えられた。14病日以内の初回検査で、M波の振幅低下または消失、F波の出現頻度の低下をそれぞれ約80%に認め、脊髄炎に加えて進行性の軸索型末梢運動神経障害を合併すると考えられた。脊髄前角細胞障害が予後を左右すると推定され、脊髄前角細胞の保護がAFM治療のターゲットとなると考えられた。

2015年のEVD68流行時にAFM症例が多発したが、麻痺急性期の検体確保がされていない症例が多く、また、咽頭拭い液を含めた呼吸器由来検体の確保が少なく、AFM症例からのEVD68検出率は低かった。咽頭拭い液を含めた麻痺発症早期の検体の確保の重要性を啓発した。2015年の流行時にAFPを含む症例から分離されたEV-D68株は、いずれも遺伝子型Clade Bに属し、乳のみマウスに特徴的な弛緩性麻痺を誘導し、抗EVD68抗血清により中和された。日本で使用されている免疫グロブリン製剤9種類について、2010~15年に日本で分離された3種類の異なる遺伝子型のEVD68分離株を用いて中和抗体価を測定した結果、高いEVD68中和活性(1:1024以上)を示し、高力価のEVD68中和抗体を含むことが明らかとなった。麻痺発症72時間以内の早期治療が神経画像へ与える影響について検討したところ、ステロイドパルス療法、免疫グロブリン大量静注療法、両者併用は有意に急性期の馬尾前根造影効果の出現と相関しており、relative riskは、それぞれ0.428、0.505、0.500であった。AFMへのステロイドの使用について議論はあるが、馬尾前根の造影の減弱が見られており治療効果が得られる可能性が示唆された。

2015年発症AFM症例で、最初の脊髄MRIは麻痺発症から中央値5日(範囲0~38日)で撮像されていた。脊髄病変は長い縦走病変が特徴であり、脊髄病変の範囲と麻痺の分布との間には乖離を認め、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。灰白質のみでなく白質にも病変を認める例が多かった。灰白質と白質の両者に病変を認めた症例では、四肢の筋力低下はより重症な傾向があった。脊髄の髄内病変は、急性期には、両側性でかつ広範な病変を呈し、T2強調像において境界不明瞭に広がる高信号域として認められた。亜急性期では徐々に前角に限局する病変へ収束し、四肢麻痺の分布は画像所見の分布と一致した。ガドリニウム造影剤投与では約80%に馬尾に異常増強効果を認めた。この造影増強効果は発症2日以内では不明瞭であり、その後顕在化する症例が多かった。脊髄病変と連続する脳幹病変を認めた症例もあった。画像所見の経時的変化では、髄内病変は麻痺発症後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。馬尾のガドリニウム造影効果の頻度が高いが、発症後早期には稀で、やや遅れて出現する傾向を認めた。

2018年5月から感染症法に基づいてAFPの全数届出制度が始まったが、2018年5-12月に139例が報告され、年齢中央値は3歳(四分位範囲2-7歳)、男女比は1.1:1であった。2018年10~11月に報告数の急増を感知した。研究分担者が所属する地域(東海3県)で調査した結果、下気道感染の入院数とAFM症例数との間には明らかな相関を認めなかったが、ICU管理数とAFM症例数との間には7-12歳及び13-19歳で有意な相関を認め、人工換気管理数とは7-12歳で有意ではないが相関傾向を認めた。日本小児科学会の協力を得て、入院施設を有する小児医療機関を対象に緊急の全国調査を実施した(資料2)。同時に2015年症例の麻痺に関する長期予後調査を行った(資料3)。今後、麻痺の予後改善に繋がる治療法・予防法の検討が必要である。

研究分担者

亀井 聡	日本大学医学部神経内科学分野 教授
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
八代将登	岡山大学大学院小児医科学 助教
清水博之	国立感染症研究所 ウイルス第二部 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
前木孝洋	国立感染症研究所 ウイルス第一部 主任研究官
片野晴隆	国立感染症研究所 感染病理部 室長
藤本嗣人	国立感染症研究所 感染症疫学センター 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 主任教授
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・脳症症例の原因病原体検索のために網羅的検索を行うとともに、日本脳炎(以下、JE)およびダニ媒介脳炎の紛れ込みを確認する。原因病原体検索のために適した臨床検体の採取、保管、搬送方法を医療機関に周知し、病原体診断に努めることを目的とする。

2015 年秋に国内で多発した急性弛緩性脊髄炎(acute flaccid myelitis: 以下、AFM)の臨床的特徴を明らかにして、対策立案を行う。エンテロウイルス D68(EVD68)を含むエンテロウイルス(EV)

を検出・同定する手法を検討し、AFP サーベイランスの国内導入について検討し(2018 年 5 月に感染症法に基づく 5 類感染症全数把握疾患に「急性弛緩性麻痺(急性灰白髄炎を除く)」が導入される)AFP を呈する EV 感染症の実態を把握する。全数把握が可能と考えられる地域については、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病原体を可能な限り明らかにする。

2015 年に多発した AFP/AFM 症例に関して実施した全国二次調査について詳細に検討を行い、次の流行に備えるために、「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(以下、手引き)」を作成し、2018 年 5 月から始まった AFP サーベイランスについて疫学的に解析することを目的とする。

自己免疫性介在脳炎は、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を目的とする。

B．研究方法

感染症発生動向調査に基づいて届出がなされた急性脳炎・脳症・AFP 症例について疫学的に解析する(多屋、研究協力者:新橋、奥野、森野、佐藤、新井、砂川)。

研究分担者の所属する地域(福島県)での検討から入院した急性脳炎・脳症・AFP について全数調査を実施し、病原体検索を実施する(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、網羅的病原体検索を実施し、病原体遺伝子の検出を行う。(片野、藤本、研究協力者:花岡、小長谷、新井、新橋、森野)。

日本脳炎およびダニ媒介脳炎の紛れ込みを鑑別するために、JEV ならびにダニ媒介脳炎ウイルス特異的 IgM 抗体測定を行う(前木、研究協力者:田島)。

脳炎と臨床診断された症例に対して tissue based assay(TBA)による神経細胞表面抗体を検索する(亀井、研究協力者:森田)。

国内で使用されている免疫グロブリン製剤の中に、エンテロウイルス D68 (以下、EV-D68) に対する中和抗体が含まれるかどうかについて検討を行う (清水、研究協力者: 吉田)

2015 年秋に多発した AFP 症例に関する二次調査の結果について詳細に解析を行い、神経生理学的所見、画像所見から AFM の病態を解析する (吉良、奥村、森、鳥巢、安元、多屋、研究協力者: チョン)。

適切な臨床検体の採取時期・採取方法・保管・搬送方法を医療機関へ情報提供し、中国四国地方の小児科医療機関への情報伝達を実施し、急性脳炎・脳症・AFP 症例の探知を行う。(森島、八代)。

2018 年秋に多発した AFP 症例について検討するために、国立感染症研究所の倫理承認 (平成 31 年承認) を経た上で、日本小児科学会の協力を得て入院施設を有する小児科医療機関を対象に全国調査を実施し、症例を診療した医療機関に対して、詳細な二次調査を実施する。また、2015 年秋に発症した AFP 症例の長期予後調査についても、同時に実施する (多屋、細矢、研究協力者: 岡田 (日本小児科学会予防接種・感染症対策委員会委員長、北本、田中、佐藤))。

(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・行政検査で実施されなかった症例に対する病原体検索については、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審査され、承認されている (平成 28 年承認、平成 31 年承認)。

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解析した。

急性脳炎 (脳症を含む) の届出基準は、意識障害を伴う死亡や 24 時間以上の入院に加えて、発熱、中枢神経症状、先行感染症状の少なくとも一つを満たすもののうち、血管障害・腫瘍など感染症以外の病態によるものを除外する、と規定されている。症状が揃った時点で、原因病原体の精査等の結果を待たずに、診断後 7 日以内に届出を行うため、他の症候群サーベイランス同様、疾患の増加を早くに探知することが可能である。急性脳炎についてサーベイランスを強化している国は稀で、特定の病原体に関わらず急性脳炎が届出疾患となっている日本以外の国は、調べた限り英国、インドのみであった。

2007 ~ 2016 年 (総報告数 3,919 例) および 2009 年 ~ 2018 年 (総報告数 4,860 例) の 10 年間に報告された急性脳炎 (脳症を含む) 報告数を示す (図 1-1、1-2)。インフルエンザのパンデミックが発生した 2009 年の報告数は 526 例であり、前後数年と比較すると多かった (2007 年 228 例、2008 年 192 例、2010 年 242 例、2011 年 258 例)。2013 年以降、報告数が増加し、最近数年間の年間報告数は約 700 例であった (2012 年 371 例、2013 年 369 例、2014 年 459 例、2015 年 511 例、2016 年 763 例、2017 年 702 例、2018 年 657 例暫定値)。例年冬季に急性脳炎・脳症の報告数が増加するが、インフルエンザ脳症と時期が同期していた。

インフルエンザ脳症報告数とインフルエンザ定点あたり報告数を示す。インフルエンザ定点あたり報告数に大きなシーズン差は認められなかったが、インフルエンザ脳症の報告数はシーズン毎に異なっていた (図 2)。

男女比、年齢分布を示す。男女比は 1.3 : 1 でやや男性に多く、年齢中央値 (四分位範囲) は 5 歳 (1-12 歳) であった。ピークは 1 歳、次に多いのが 0 歳で、2 歳以降 10 代までは年齢が上がるにつれて徐々に報告数が減少した (図 3)。

届出時に既に死亡していた症例数と届出時死亡割合を記載した (図 4)。死亡報告数は小児が多かったが、届出時点で既に死亡と報告された割合は成人の方が高かった。40 代、50 代の死亡症例について、特定の病原体が検出されている傾向は見られなかった。総死亡報告数は 10 年間で 191 例 (報告数全体の 4%) であったが、届出後に死亡した場合、

転帰の情報が更新されていない可能性がある。この10年間で急性脳炎（脳症を含む）死亡例の報告割合に差は認められなかった（図5）。

報告数が多かった病原体4種（インフルエンザウイルス、HHV-6,7,HSV,ロタウイルス）と、病原体不明例の届け出時死亡報告数と致命率を示す。インフルエンザ脳症が死亡報告数、致命率ともに高い。ロタウイルス脳症は死亡報告数は10年間で8例とインフルエンザ脳症に比べると少ないが、致命率はインフルエンザ脳症同等で高かった（図6）。

届けられた原因病原体を示す。複数種類の病原体が記載されているものはそれぞれに集計した。約半数の症例で病原体は不明、原因病原体が記載されているもののうち、最多はインフルエンザウイルスで28%であった。次に、ヒトヘルペスウイルス（HHV）6,7, HSV、ロタウイルス、エンテロウイルス、アデノウイルス、RSウイルス、その他ヘルペスウイルス（EBV,サイトメガロウイルス）、水痘帯状疱疹ウイルス、パレコウイルス、マイコプラズマが続いた（表1）。

年齢群別にみると、5-14歳群以外では病原体不明が最も多く、5-14歳群ではインフルエンザウイルスが最多であった。パレコウイルスの報告があったのは0-4歳群のみで、RSV、ロタウイルスも小児（0-4歳群と5-14歳群）のみから報告された。ただし、15歳以上群でこれらの病原体が検査されているかについては不明である。HHV6,7は全年齢群で報告されたが、0-4歳群で多かった。一方、単純ヘルペスウイルス（HSV）は成人例に多く、特に60歳以上群ではインフルエンザに次いで2番目に多い原因病原体であった（図7）。

水痘・帯状疱疹ウイルスによる急性脳炎報告例の年齢内訳を示す。2014年10月に水痘ワクチンが小児の定期接種に導入されたが、2014年以降0-4歳群の報告はなかった。水痘・帯状疱疹ウイルスによる脳炎の報告割合はこの10年間1%前後で推移しており大きな変化はなかったが、小児の割合が減少し60歳以上の報告割合が増加した。2014年以降の水痘帯状疱疹ウイルスによる急性脳炎の70%以上が60歳以上であった（図8）。

この10年間で急性脳炎（脳症を含む）は全都道府県から報告されており、報告が多い地方は関東、少ないのは四国であった（図9）。

研究分担者の研究結果については、研究要旨に記載した。詳細は各分担研究報告書を参照のこと。

【AFP/AFM】

2018年5月から感染症法に基づく感染症発生動向調査に5類感染症全数把握疾患として、「急性弛緩性麻痺（急性灰白髄炎を除く）」が導入され、すべての医師に、15歳未満のAFP（ギラン・バレー症候群：GBSを含む）を診断した場合は、7日以内に管轄の保健所に届け出ることが義務づけられた。WHO 西太平洋地域で唯一AFPサーベイランスを実施していなかったわが国においてもAFPサーベイランスが法律に基づいて実施されることになった。小児人口当たりのGBSの症例数から、日本では年間161例のAFP症例が発生することがWHOにより推定されている。

2018年第18～52週までに139例（2019年1月9日現在暫定値）が報告された（図10）。2018年第39週頃から報告数が増加し始め、2018年10月にピークが見られ、10～11月に多発していた（診断月10月：51例）（図11）。2019年は第15週までに16例（暫定値）が報告された。

地域別では、東海地方と九州からの報告数が多く、北海道・東北地方からの報告は少なかった（図12）。

年齢別男女別の報告数を示す（図13）。年齢中央値は3歳（四分位範囲2-7歳）で、男女比は1.1：1であった。16歳以上の症例は報告対象ではないため、把握できていない。

これを受けて、平成31年1月に国立感染症研究所の倫理承認を得た上で、日本小児科学会の協力のもと、入院施設を有する小児科医療機関を対象に、2018年5-12月のAFP症例の診療数について全国調査を実施した。症例を経験したと回答があった医療機関に二次調査用紙を郵送し、2015年に実施した時と同様の症例調査を実施した。MRI画像、神経生理学的検査、病原体検査、その他の検査結果について詳細な調査を実施した。解析については、2019年度から開始となった新規研究班（研究代表者：多屋馨子）で解析する。

また、長期予後調査の重要性から、2015年に発症したAFP症例の主治医を対象に現在の麻痺の状態について調査を実施した。これについても、解析は、2019年度から開始となった新規研究班（研究代表者：多屋馨子）で解析する。

研究分担者の研究結果については、研究要旨に記載した。詳細は各分担研究報告書を参照のこと。

D . 考察

【急性脳炎・脳症】

急性脳炎（脳症を含む）の報告数は、近年約700例/年で一定となり、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く、冬期に増加した。年齢群によって、原因病原体の分布に違いがあった。男性が女性よりやや多く、年齢は小児に多く、1歳の報告が最多で、年齢中央値は5歳（四分位範囲1-12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、小児より成人で届出時の死亡割合が高かった。

届け出られた原因病原体はインフルエンザウイルスが最も多かったが、次いでHHV-6,7、HSV、ロタウイルス、エンテロウイルス、アデノウイルス、RSウイルスが続いた。水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）による急性脳炎は、2014年に水痘ワクチンが小児の定期接種に導入されて以降、小児のVZVによる脳炎が激減し、水痘ワクチンの効果が明らかとなった。そのためVZVによる急性脳炎は70%以上が60歳以上となった。病原体別の届出時点の致命率をみると、インフルエンザ脳症は数、致命率ともに高かったが、ロタウイルス脳症は数は少ないものの、インフルエンザ脳症と同等の致命率であり注意を要する。ワクチンによる重症化予防が期待される。

研究分担者の研究の考察については、研究要旨に記載した。詳細は各分担研究報告書を参照のこと。

【AFP/AFM】

2015 年秋に多発した AFM 症例について、画像所見、神経生理学的検査所見から詳細な検討を行った結果、急性期に進行する軸索型末梢神経障害を呈し、脊髄前角細胞障害の程度が予後を左右すると考えられた。このため、脊髄前角細胞の保護が AFM 治療のターゲットとなると考えられた。

特徴的な画像所見についても明らかになってきており、今後の更なる調査が期待される。

また 2018 年秋に多発した AFP 症例の二次調査結果も届き始めており、2015 年秋に多発した時の AFP 症例の長期予後調査の結果と併せて解析し、予後改善に向けた治療法の構築が期待される。

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。

研究分担者の研究の考察については、研究要旨に記載した。詳細は各分担研究報告書を参照のこと。

E . 結論

【急性脳炎・脳症】

感染症発生動向調査に基づいて届出された急性脳炎（脳症を含む）症例について解析を行った。2010年以降報告数が増加し、近年は年間約700例であった。報告症例は小児に多いが、届出時死亡割合は成人に多かった。インフルエンザ脳症とロタウイルス脳症の届出時点の致命率は同等であった。原因病原体不明が約半数で、インフルエンザウイルスが最多で、HHV-6,7、HSV、ロタ、エンテロウイルスが続いた。年齢群により原因病原体が異なった。2014年の水痘ワクチン定期接種化により小児のVZVによる急性脳炎が激減し、定期接種化の効果が明らかとなった。定期接種化後は60歳以上が7割以上を占めた。

病原体不明として検討依頼があった急性脳炎症例について網羅的病原体検査を実施した結果、約30%から脳炎の原因と考えられる病原体（エンテロウイルス、ライノウイルス、パラインフルエンザウイルス、パレコウイルス、HHV-6、アデノウイルス、メタニューモウイルス）を検出・同定した。病原体不明として届けられた急性脳炎症例の中に、日本脳炎およびダニ媒介脳炎の症例は含まれていなかった。

急性脳炎（脳症）・急性弛緩性麻痺（acute flaccid paralysis: AFP）の原因病原体同定には、適した時期の臨床検体採取が重要で、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-70℃以下に凍結保管しておくことが極めて重要である。また、福島県で感染症関連中枢神経疾患等による小児の入院患者の全数を県内全域で継続して調査した結果、2018年度は急性脳炎・脳症7例、急性散在性脳脊髄炎（ADEM）0例、AFP（ギラン・バレー症候群：GBSを含む）3例の発生があり、病原体検索でHHV-6が3例、インフルエンザAが1例、マイコプラズマが1例検出された。

鑑別を要する病態として、自己免疫介在性脳炎が挙げられるが、診断は決して容易ではなく、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。tissue based assay（TBA）による神経細胞表面抗体を検索した結果、陽性を12%（5/41例）に認めた。スクリーニング結果判定までの中央値は3日（2～5日）であり、迅速な抗体診断が可能であった。TBA

による神経細胞表面抗体検索の手法は NMDA 受容体抗体を含む 10 種類以上の抗体を一度にスクリーニング可能で、未知の神経細胞表面抗体も検出する。TBA による神経細胞表面抗体スクリーニングは自己免疫が関与する脳炎の診療に寄与するとともに、成人の AFP、急性脳炎・脳症の鑑別に極めて有用であり、迅速診断・治療経過の観察にも有用なバイオマーカーとなりうることから、さらに症例数を増やし検討を進める必要がある。

【AFP/AFM】

2018年5月から感染症法に基づいて始まったAFPサーベイランスの実施にあたり、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（手引き）」を国立感染症研究所のホームページに掲載した。2018年5-12月に139例が報告され、10～11月にAFP症例の多発を感知した。年齢中央値は3歳（四分位範囲2-7歳）で、男女比は1.1：1であった。日本小児科学会の協力を得て、入院施設を有する小児医療機関を対象に緊急の全国調査を実施した。同時に2015年症例の長期予後調査を行った。東海3県での調査では、ICU管理数とAFM症例数との間には7-12歳及び13-19歳で有意な相関を認め、人工換気管理数とは7-12歳で有意ではないが相関傾向を認めた。

AFMの麻痺は予後不良例が多く、改善に資する治療法の検討の必要性から、2015年のEVD68流行期に発症した小児AFMについて詳細な解析を行った。末梢神経の電気生理検査は脊髄前角の病変をよく反映し、診断あるいは予後予測に有用であった。AFMの厳密な定義が2018年に海外から提案され、日本の症例（2015）の95%は8つの診断基準項目のうち7項目以上満たしており、日本のAFM症例は十分に除外診断が行われており、この基準が妥当であることを示した。

2015年のAFM症例で、M波異常は、回復期の前角への画像病変の局在化、馬尾前根の造影効果と統計学的に有意に関連していた。2015年秋のAFM症例は、広範な脊髄病変を認めるが、横断性の脊髄症状に乏しく、四肢の弛緩性麻痺が主たる症状で、下位運動ニューロン障害が主病態と考えられた。

当研究班でAFMと診断した49例について、電気生理検査が実施された肢の検査結果から末梢神経障害の特徴を解析した結果、初回のM波の振幅と回復期のMMTには有意な関連が認められた。AFMの麻痺肢は、急性期に進行する軸索型末梢神経障害を呈し、脊髄前角細胞障害の程度が予後を左右すると考えられた。このため、脊髄前角細胞の保護がAFM治療のターゲットとなると考えられた。

麻痺発症 72 時間以内の早期治療が神経画像へ

与える影響について検討したところ、ステロイドパルス療法、免疫グロブリン大量静注療法、両者併用は有意に急性期の馬尾前根造影効果の出現と関連していた。AFMにおいて末梢神経の電気生理検査は脊髄前角の病変をよく反映しており、診断あるいは予後予測に有用と考えられた。AFMへのステロイドの使用については、馬尾前根の造影の減弱が見られており治療効果が得られる可能性が示唆された。

EV-D68 感染症治療への応用の可能性を検討するため、日本で使用されている免疫グロブリン製剤 9 種類について、3 種類の異なる遺伝子型の EV-D68 分離株を用いて中和抗体価を測定した結果、高い EV-D68 中和活性(1:1024 以上)を示し、高力価の EV-D68 中和抗体を含むことが明らかとなった。

2015 年秋に発症した小児 AFM 症例 54 例全小児例で脊髄縦走病変は脊髄中心灰白質に病変を認めた。うち 26 例では脊髄縦走病変は全脊髄に及び、6 例では四肢筋力低下がある一方、7 例では単肢筋力低下であった。38 例で灰白質と白質の両者に病変を認め、四肢の筋力低下はより重症な傾向があった。急性期では、脊髄病変は T2 強調像において両側性で境界不明瞭に広がる高信号域として認めた。亜急性期には、病変は境界明瞭となり、前角へ収束した。亜急性期での四肢麻痺の分布は画像所見の分布と一致した。ガドリニウム造影剤投与 37 例中 29 例で馬尾に異常増強効果を認めたが、発症 2 日以内では不明瞭であり、その後に顕在化する症例がほとんどであった。22 例では脊髄病変と連続する脳幹病変も認めた。画像所見の経時変化では、髄内病変は麻痺発症後 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高率に認められた。髄内病変は、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した。馬尾のガドリニウム造影効果の頻度が高いが、発症後早期には稀で、やや遅れて出現する傾向を認めた。

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、各分担研究報告書を参照のこと。）

本研究班での研究成果をもとに、「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（手引き）」を作成し、国立

1. 論文発表

- 1) Chong PF, Kira R, Tanaka-Taya K. Description of restrictively defined acute flaccid myelitis [letter] JAMA Pediatr. in press 2019
- 2) Satoh H, Tanaka-Taya K, Shimizu H, Goto A, Tanaka S, Nakano T, Hotta C, Okazaki T, Itamochi M, Ito M, Okamoto-Nakagawa R, Yamashita Y, Arai S, Okuno H, Morino S, Oishi K. Polio vaccination coverage and seroprevalence of poliovirus antibodies after the introduction of inactivated poliovirus vaccines for routine immunization in Japan. Vaccine. 37(14):1964-1971, 2019.
- 3) Morita A, Ishihara M, Kamei S, Okuno H, Tanaka-Taya K, Oishi K, Morishima T. Nationwide survey of influenza-associated acute encephalopathy in Japanese adults. J Neurol Sci. 399:101-107, 2019.
- 4) Okumura A, Mori H, Fee Chong P, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Tanaka-Taya K; Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study Investigators. Serial MRI findings of acute flaccid myelitis during an outbreak of enterovirus D68 infection in Japan. Brain Dev. 41(5):443-451, 2019.
- 5) 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.
- 6) Morino S, Tanaka-Taya K, Satoh H, Arai S, Takahashi T, Sunagawa T, Oishi K. Descriptive epidemiology of varicella based on national surveillance data before and after the introduction of routine varicella vaccination with two doses in Japan, 2000-2017. Vaccine. 36(40):5977-5982, 2018.
- 7) 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, 2017. 7(5):390-393.
- 8) 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. 66(12):1831-1837, 2018.
- 9) Hattori F, Miura H, Sugata K, Yoshikawa A, Ihira M, Yahata Y, Kamiya H, Tanaka-Taya K, Yoshikawa T; Nagoya VZV study group. Evaluating the effectiveness of the universal immunization program against varicella in Japanese children. Vaccine. 35(37):4936-4941, 2017.
- 10) 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.
- 11) 多屋 馨子. AFP サーベイランスとは何でしょうか. Up-to-date 子どもの感染症. 6(1): 16-18. 2018.
- 12) 多屋 馨子. エンテロウイルス D68 の疫学 急性弛緩性麻痺を中心に. ウイルス. 68(2): 161-164, 2018.
- 13) 永瀬 静香, 親里 嘉展, 多屋 馨子, 高橋 幸利, 新井 智, 奥野 英雄, 黒田 誠, 高崎 智彦, 荻 美貴, 近平 雅嗣, 押部 智宏, 中谷 尚子, 中尻 智史, 米谷 昌彦. 詳細な検索によりウイルス感染の関与が示された抗 NMDA 型 GluR に対する抗体陽性脳炎の小児 3 症. NEUROINFECTION. 23(1): 127-133, 2018.
- 14) 森野 紗衣子, 多屋 馨子, 砂川 富正, 大石 和徳. 感染症法に基づく全数届出疾患である水痘入院例からみた神経合併症に関する検討. NEUROINFECTION. 23(1): 121-126, 2018.
- 15) 多屋 馨子. 「急性弛緩性脊髄炎」 急性弛緩性麻痺の全国疫学調査の実施-2015. NEUROINFECTION. 23(1): 67-74, 2018.
- 16) 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.
- 17) 奥野 英雄, 多屋 馨子. 【中枢神経系とウイルス感染症】 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.
- 18) 多屋 馨子. 【ジカウイルス・デングウイルスなど蚊媒介性感染症ウイルス】 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.

- 19) 多屋 馨子.【進化する感染症】子どもに対して新たな脅威となった感染症. チャイルドヘルス. 19(12): 882-884, 2016.
- 20) 多屋 馨子.【エンテロウイルス D68 と関連疾患】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.
- 21) 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.
- 22) 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.pp
- 23) 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.pp

2. 学会発表

- 1) 多屋馨子.新たに全数報告対象となった疾患(百日咳・急性弛緩性麻痺)のサーベイランスと予防ワクチン. 第 50 回日本小児感染症学会総会・学術集会、第 9 回アジア小児感染症学会. 2018 年 11 月. 福岡県福岡市.
- 2) 多屋馨子.風疹と EV68 についての緊急提言. 第 50 回日本小児感染症学会総会・学術集会、第 9 回アジア小児感染症学会. 2018 年 11 月. 福岡県福岡市.
- 3) 多屋 馨子. シンポジウム 脳炎・脳症・脊髄炎の動向. 「手引き」に基づくエンテロウイルス D68 の関与が疑われる急性弛緩性脊髄炎の診断・検査・治療について.第 36 回日本神経治療学会学術集会..2018 年 11 月.東京都江東区
- 4) 多屋 馨子.シンポジウム 急性弛緩性麻痺の新たな動向 急性弛緩性麻痺(AFP)サーベイランス.第 23 回日本日本神経感染症学会総会・学術大会.2018 年 10 月.東京都江戸川区.
- 5) 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
- 6) 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EVD68～.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
- 7) 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.
- 8) 多屋馨子: 予防接種に関する最近の話題. 第42回吉野学術記念講演会. 2017年7月. 兵庫県神戸市.
- 9) 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～臨床の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
- 10) 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
- 11) 多屋馨子. 感染症だより. 第632回日本小児科学会東京都地方会講話会. 2016年12月. 東京都新宿区.
- 12) 多屋馨子. エンテロウイルスD68. 衛生微生物技術協議会第37回研究会. 2016年7月. 広島県広島市.
- 13) 多屋馨子. 感染症サーベイランスの重要性和異常な集積が疑われた時の対応-検体採取保存の重要性-. 小児感染症専門医育成フォーラム学術集会 2016. 2016 年 7 月. 東京都千代田区

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。

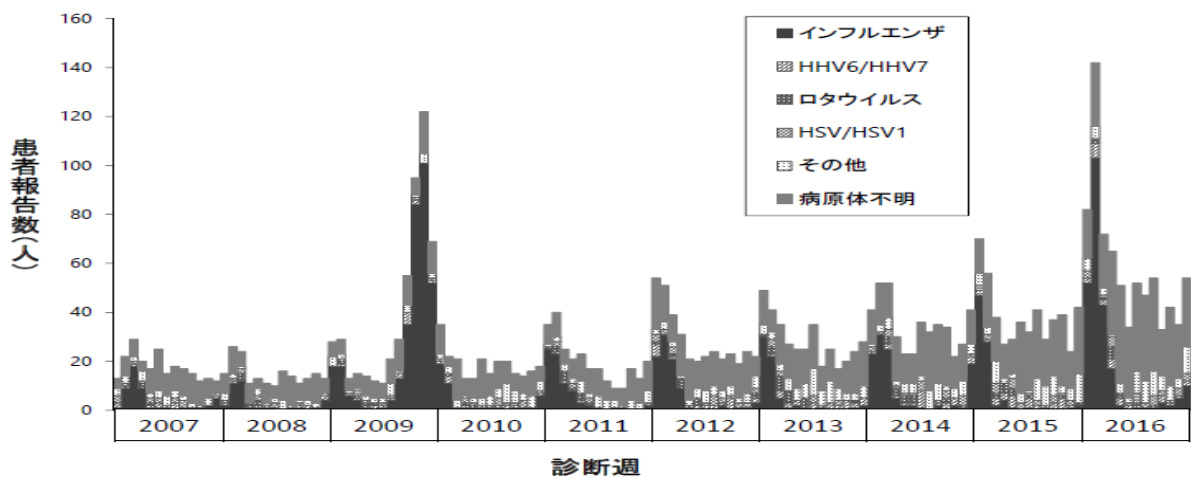
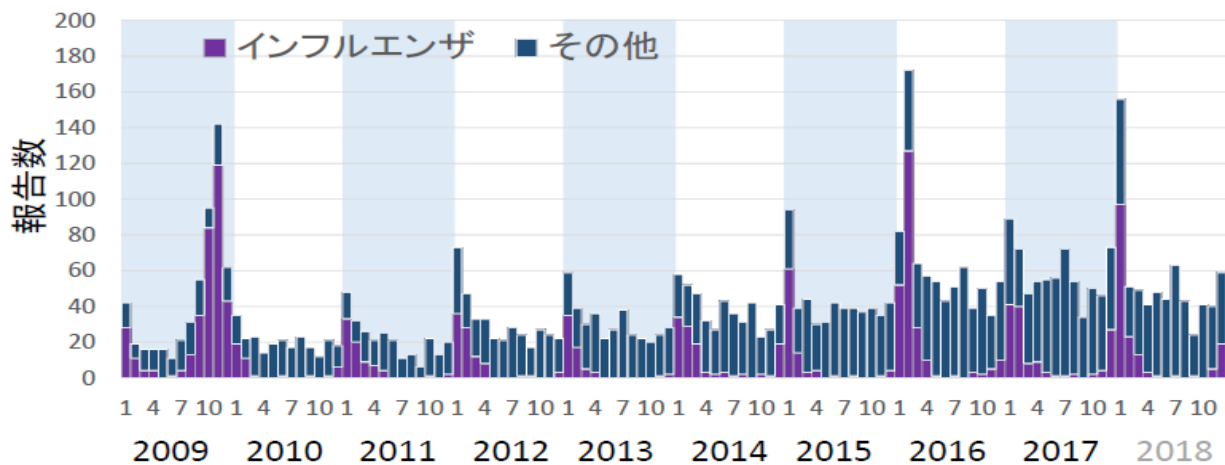


図1 急性脳炎(脳症を含む)の病原体別診断週別報告数の推移
(全年齢、2007～2016年感染症発生動向調査)

図1 (図1-1 上段 (2009-2018年、n=4,860)、図1-2下段 (2007-2016年、n=3,919)「急性脳炎(脳症を含む)」として届けられた症例のうちインフルエンザ脳症とその他の原因による急性脳炎(脳症)の月別報告数感染症発生動向調査より
2019年1月8日時点 *2018年は暫定値

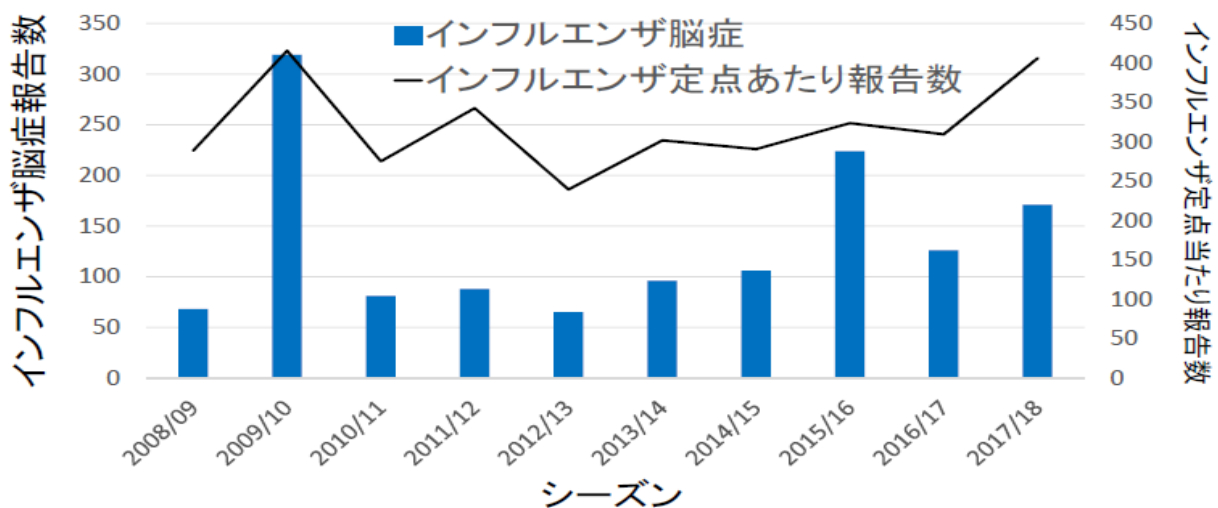


図2 インフルエンザ脳症とインフルエンザ定点あたり報告数のシーズン比較
感染症発生動向調査より (2009-2018年、n=4,860) 2019年1月8日時点 *2018年は暫定値

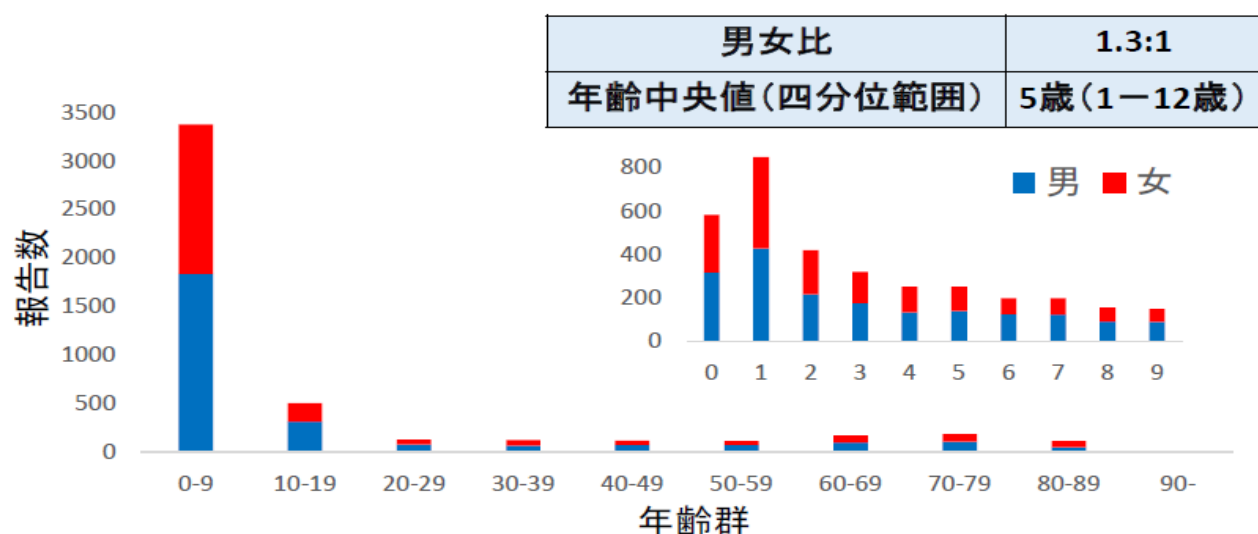


図3 性別・年齢群別急性脳炎（脳症を含む）報告数感染症発生動向調査より
(2009-2018年、n=4,860) 2019年1月8日時点 *2018年は暫定値

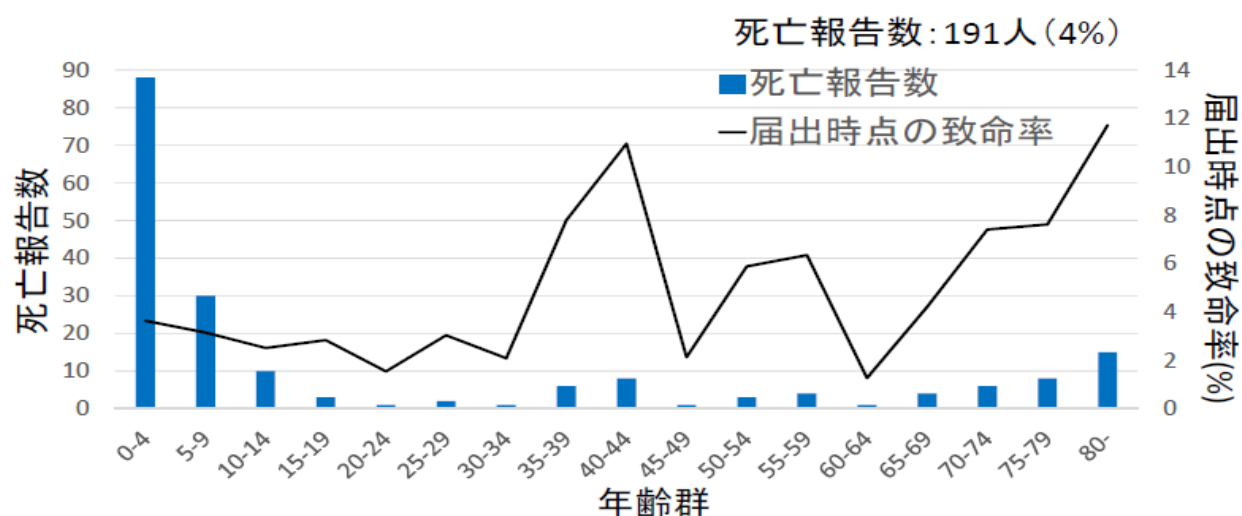


図4 年齢群別急性脳炎（脳症を含む）届出時死亡報告数と届出時点の致命率感染症発生動向調査より
(2009-2018年、n=4,860) 2019年1月8日時点 *2018年は暫定値

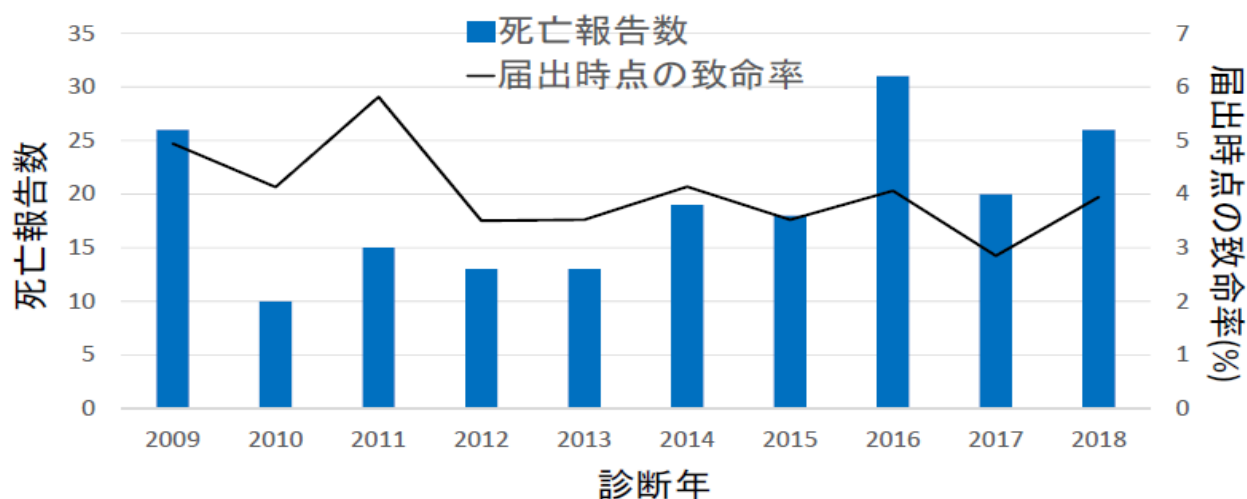


図5 報告年別急性脳炎（脳症を含む）届出時死亡報告数と届出時点の致命率感染症発生動向調査より
(2009-2018年、n=4,860) 2019年1月8日時点 *2018年は暫定値

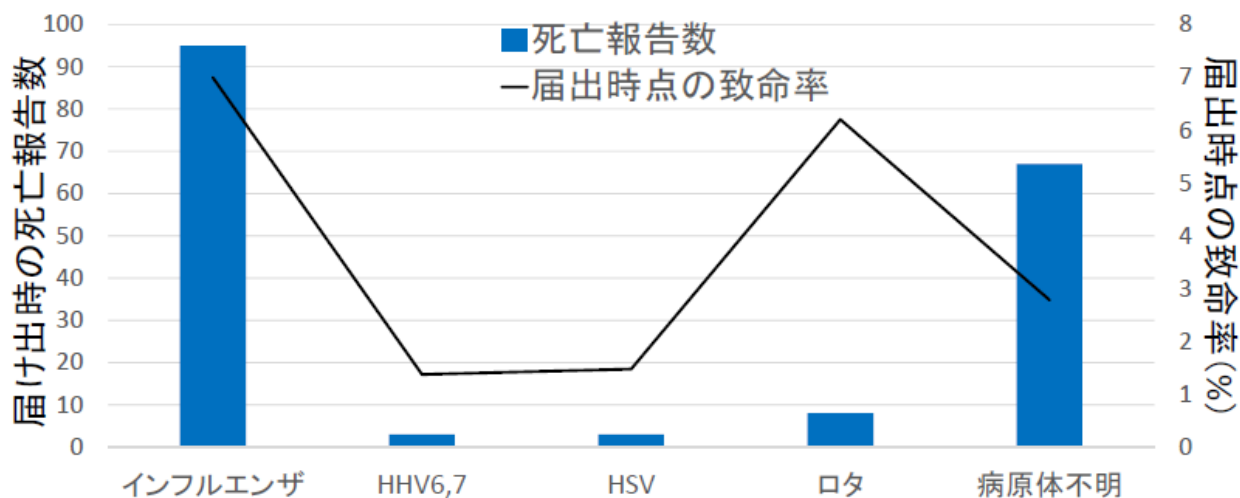


図6 病原体別急性脳炎（脳症を含む）届出時死亡報告数と届出時点の致命率
感染症発生動向調査より(2009-2018年) 2019年1月8日時点 *2018年は暫定値

表1 急性脳炎（脳症を含む）報告例の原因病原体内訳 感染症発生動向調査より
(2009-2018年、n=4,860) 2019年1月8日時点 *2018年は暫定値

病原体不明	2405 (49%)	その他
インフルエンザウイルス	1358 (28%)	麻疹ウイルス
HHV6,7	218 (4%)	風疹ウイルス
HSV	203 (4%)	ムンプスウイルス
ロタウイルス	129 (3%)	肝炎ウイルス
エンテロウイルス	83 (2%)	リケッチア
アデノウイルス	66 (1%)	A群β溶連菌
RSウイルス	64 (1%)	大腸菌
その他ヘルペスウイルス	63 (1%)	サルモネラ
水痘・帯状疱疹ウイルス	55 (1%)	緑膿菌
パレコウイルス	28 (0.6%)	セラチア
マイコプラズマ	22 (0.5%)	カンピロバクター
その他	190 (4%)	黄色ブドウ球菌
		肺炎球菌
		結核菌
		カンジダ

*複数の病原体が記載されているものはそれぞれ集計

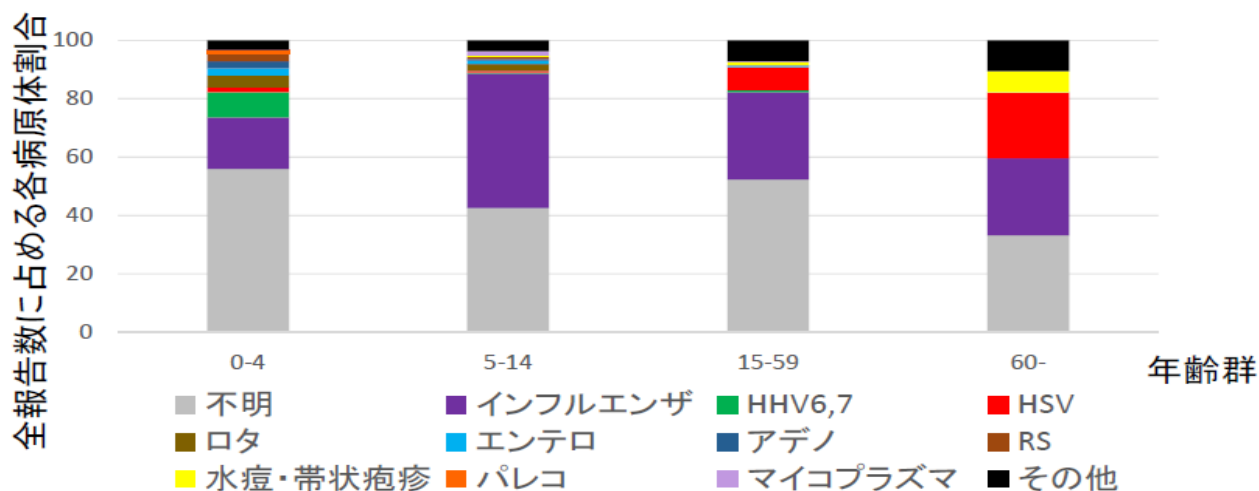


図7 年齢群別急性脳炎（脳症を含む）報告例の原因病原体 感染症発生動向調査より
(2009-2018年、n=4,860) 2019年1月8日時点 *2018年は暫定値

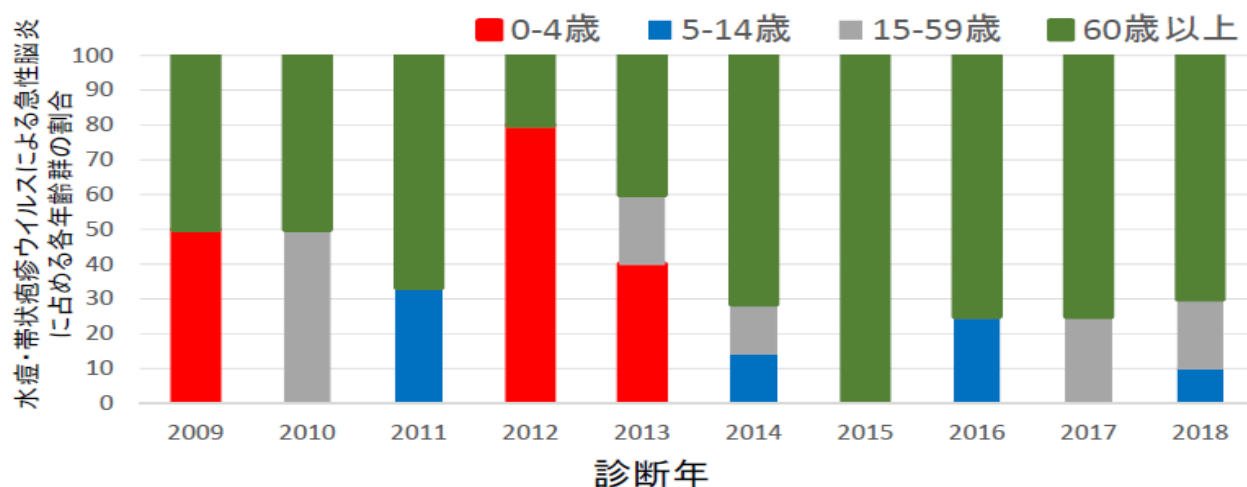


図8 水痘帯状疱疹による急性脳炎報告数の報告年別年齢群別割合感染症発生動向調査より (2009-2018年) 2019年1月8日時点 *2018年は暫定値 (注: 2014年10月に水痘ワクチンが小児の定期接種に導入される)

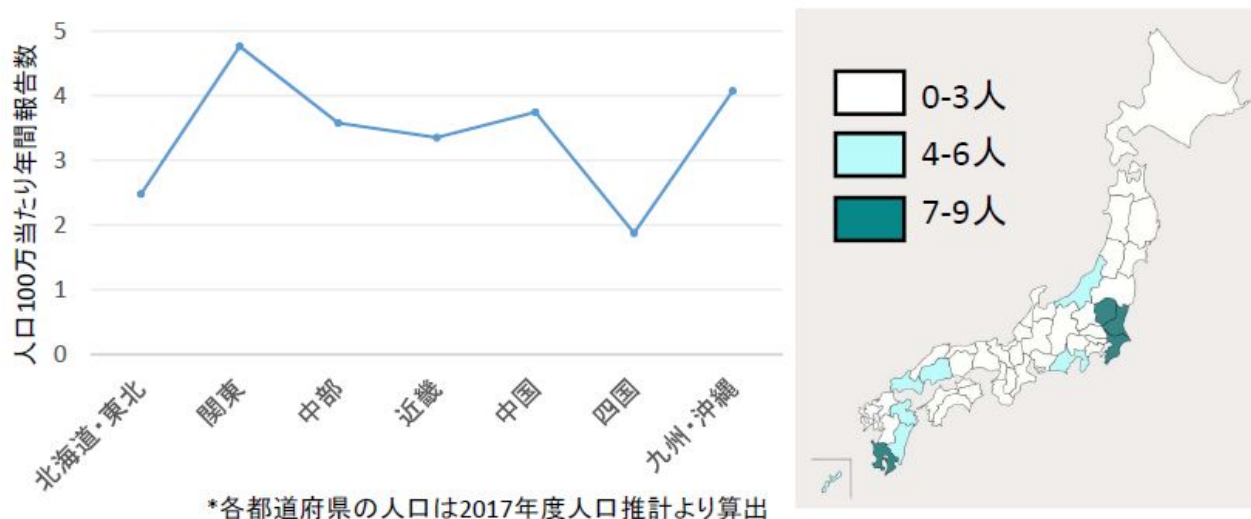


図9 報告地域別人口100万人あたり報告数 感染症発生動向調査より (2009-2018年、n=4,860) 2019年1月8日時点 *2018年は暫定値

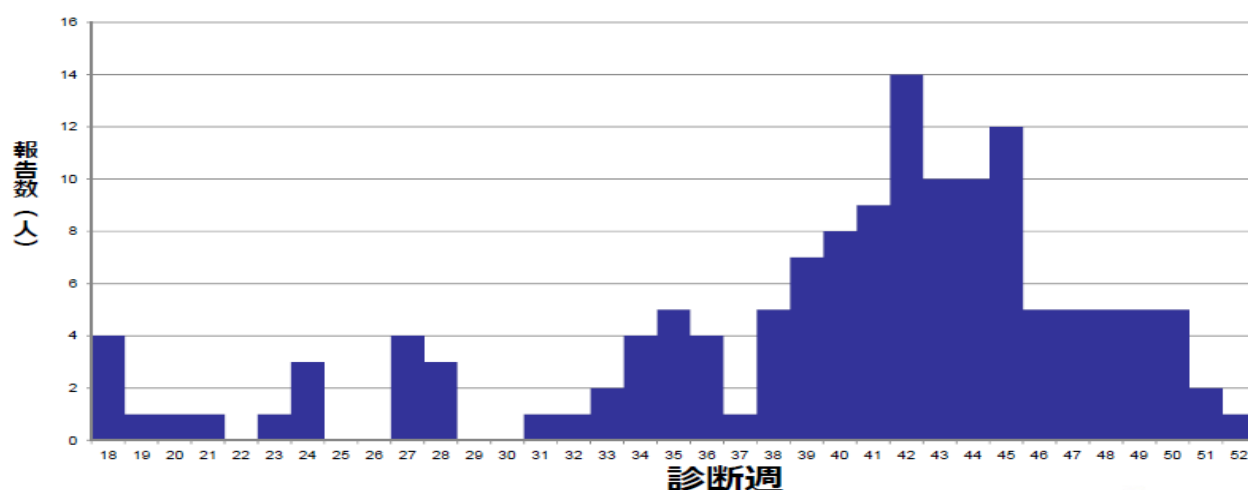


図10 診断週別急性弛緩性麻痺報告数 感染症発生動向調査より(2018年第18-52週、n=139) 2019年1月8日時点暫定値

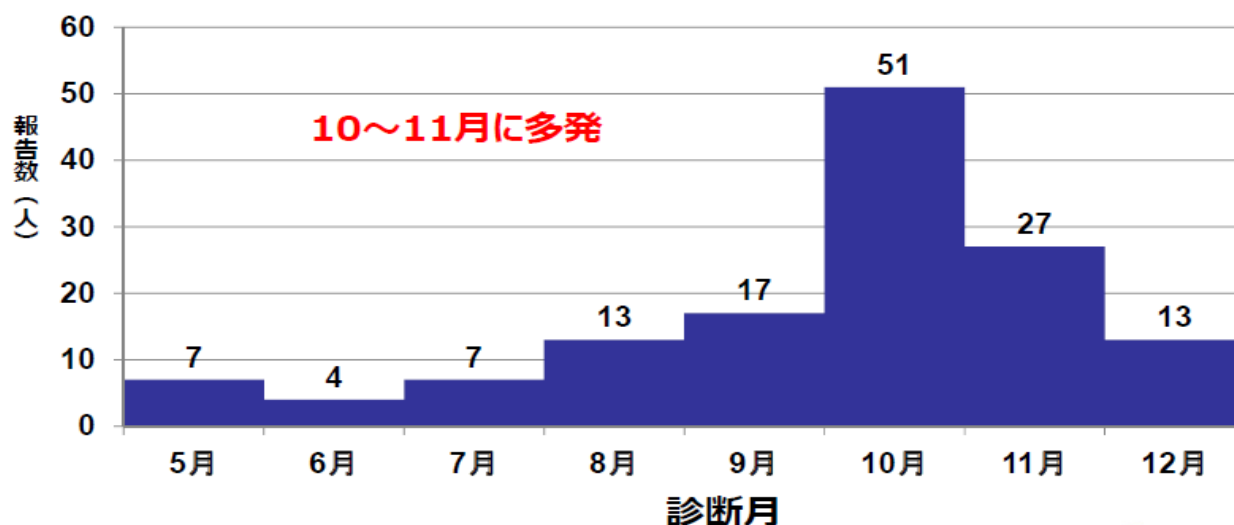


図11 診断月別急性弛緩性麻痺報告数 感染症発生動向調査より(2018年第18-52週、n=139)
2019年1月8日時点暫定値

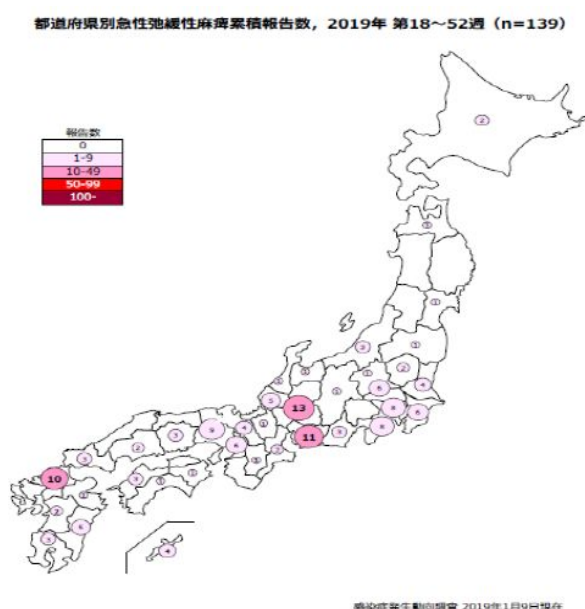


図12 都道府県別急性弛緩性麻痺報告数 感染症発生動向調査より(2018年第18-52週、n=139)
2019年1月8日時点暫定値

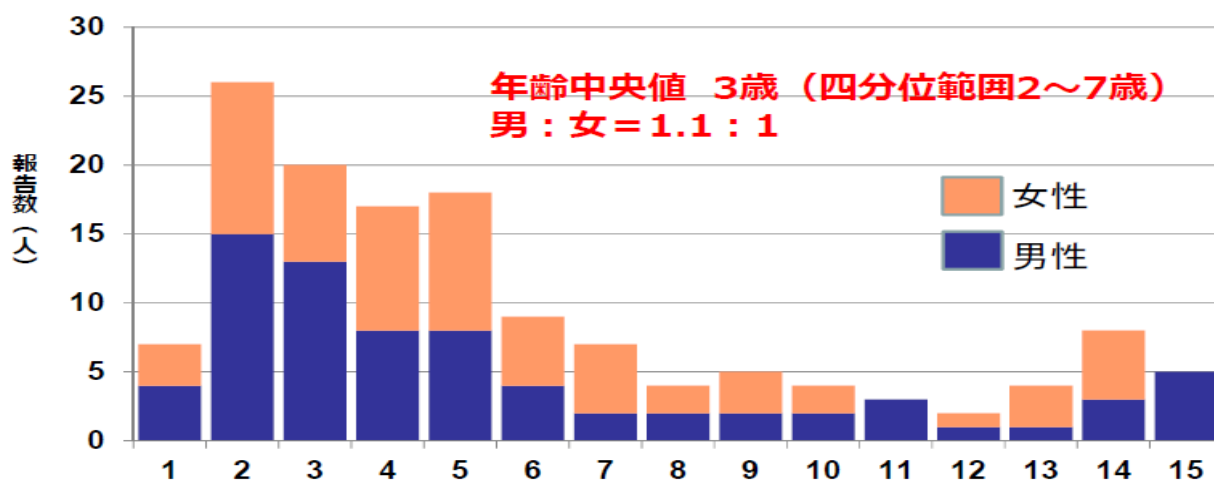


図13 年齢別男女別急性弛緩性麻痺報告数 感染症発生動向調査より(2018年第18-52週、n=139)
2019年1月8日時点暫定値

**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**

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」
研究班**

平成30（2018）年4月

目次

はじめに	2
執筆者一覧	3
診断・届出のフローチャート	4
1. 急性弛緩性麻痺（AFP）および急性弛緩性脊髄炎（AFM）の説明	5
2. 急性弛緩性麻痺（AFP）を認める疾患の鑑別	7
3. 急性弛緩性麻痺（AFP）の症例定義・届出票	10
4. 急性弛緩性麻痺（AFP）サーベイランスとウイルス学的診断	12
5. 急性弛緩性麻痺（AFP）の病原体検査のために必要な検体採取・保存・輸送方法	17
6. 急性弛緩性麻痺（AFP）、急性弛緩性脊髄炎（AFM）の実験室診断	24
7. 急性弛緩性脊髄炎（AFM）の患者背景・症状・徴候	29
8. 急性弛緩性脊髄炎（AFM）の検査	35
9. 急性弛緩性脊髄炎（AFM）における画像検査	37
10. 急性弛緩性脊髄炎（AFM）の電気生理学的検査	46
11. 急性弛緩性脊髄炎（AFM）の治療	48
12. 急性弛緩性脊髄炎（AFM）の転帰・予後	50

はじめに

2014年に北米で急性弛緩性脊髄炎（acute flaccid myelitis: AFM）症例が多発したのに引き続き、翌2015年秋、日本でも急性弛緩性麻痺（acute flaccid paralysis: AFP）症状を認める症例が多発しました。当時、日本ではAFPサーベイランスが実施されていませんでしたので、集団発生の全体像を速やかに把握し、迅速な対策に繋げるために、感染症法に基づく積極的疫学調査の一環で全国調査が実施されました（一次調査）。その結果、2015年8～12月に成人を含めて全国から100例を超えるAFP症例が報告されました。一次調査では、詳しい臨床症状や検査所見、治療方法、予後に関する情報が得られませんでした。そこで、国立感染症研究所（以下、感染研）の「ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会」承認後に、本研究班で詳細な臨床・疫学調査を実施しました（二次調査）。また、行政検査として全国の地方衛生研究所あるいは感染研で病原体検索が実施されました。調査結果の詳細については、下記文献*にまとめていますのでご参照下さい。

2015年秋に発生したAFPの集団発生の経験をもとに、一次調査、二次調査の結果に基づいて、将来再びAFPの多発が認められた際の早期診断・治療・予後の改善に繋げることを目的として、「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」を作成いたしました。本手引きが国内のAFPサーベイランス・診断・検査・治療の一助となることを期待いたします。

平成30（2018）年4月

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」
研究代表者 多屋 馨子

文献*

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(5):653-664, 2018. doi: 10.1093/cid/cix860.

執筆者一覧（五十音順）

新井 智	国立感染症研究所感染症疫学センター 主任研究官
奥野 英雄	国立感染症研究所感染症疫学センター第三室 協力研究員
奥村 彰久	愛知医科大学医学部小児科学講座 教授
吉良 龍太郎	福岡市立こども病院小児神経科 科長
清水 博之	国立感染症研究所ウイルス第二部第二室 室長
多屋 馨子	国立感染症研究所感染症疫学センター第三室 室長
チョン ピンフィー	福岡市立こども病院小児神経科 医員
鳥巢 浩幸	福岡歯科大学総合医学講座小児科学分野 教授
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
藤本 嗣人	国立感染症研究所感染症疫学センター第四室 室長
細矢 光亮	福島県立医科大学小児科学講座 教授
森 壘	東京大学大学院医学系研究科放射線医学講座 准教授
八代 将登	岡山大学病院小児科 助教
安元 佐和	福岡大学医学部医学教育推進講座 教授

執筆担当

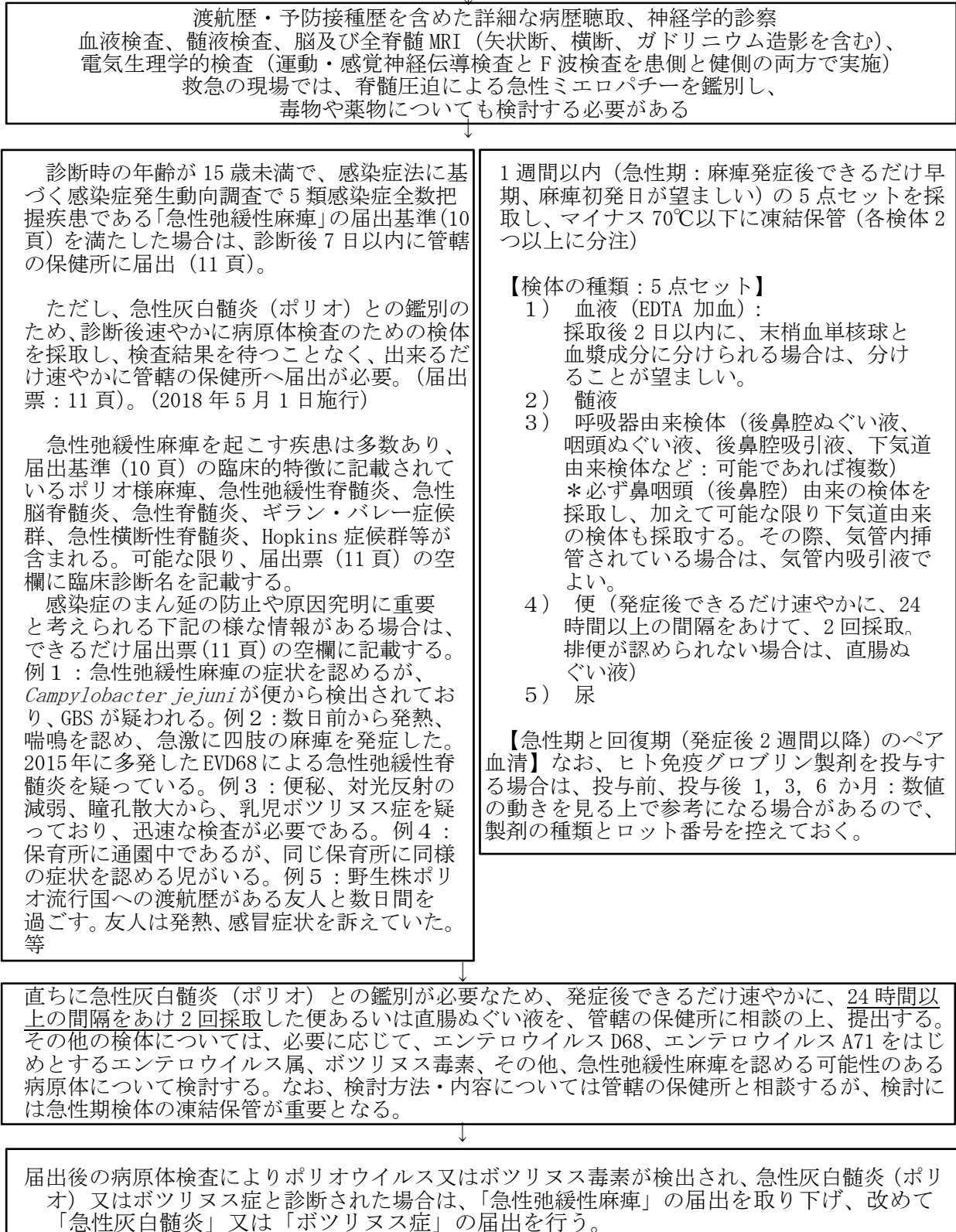
診断・届出のフローチャート（多屋）

1. 急性弛緩性麻痺（AFP）および急性弛緩性脊髄炎（AFM）の説明（細矢、八代）
2. 急性弛緩性麻痺（AFP）を認める疾患の鑑別（鳥巢）
3. 急性弛緩性麻痺（AFP）の症例定義・届出票（多屋）
4. 急性弛緩性麻痺（AFP）サーベイランスとウイルス学的診断（清水、藤本）
5. 急性弛緩性麻痺（AFP）の病原体検査のために必要な検体採取・保存・輸送方法（新井、奥野、多屋）
6. 急性弛緩性麻痺（AFP）、急性弛緩性脊髄炎（AFM）の実験室診断（藤本、花岡）
7. 急性弛緩性脊髄炎（AFM）の患者背景・症状・徴候（吉良、チョン）
8. 急性弛緩性脊髄炎（AFM）の検査（吉良、チョン）
9. 急性弛緩性脊髄炎（AFM）における画像検査（奥村、森）
10. 急性弛緩性脊髄炎（AFM）の電気生理学的検査（鳥巢、安元）
11. 急性弛緩性脊髄炎（AFM）の治療（吉良、チョン）
12. 急性弛緩性脊髄炎（AFM）の転帰・予後（吉良、チョン）

※本手引きの作成にあたりましては、日本小児科学会予防接種・感染症対策委員会の先生方に多大なご協力を賜りました。ここに深く御礼申し上げます。

診断・届出のフローチャート

急性弛緩性麻痺を認める症例



1. 急性弛緩性麻痺（AFP）および急性弛緩性脊髄炎（AFM）の説明

- 急性弛緩性麻痺（AFP）は急性に四肢の弛緩性運動麻痺を呈する疾患の総称である。
- 急性弛緩性脊髄炎（AFM）は AFP の一つであり、エンテロウイルス D68（EV-D68）の流行期に多発した急性脊髄炎による弛緩性麻痺を検知するために提唱された概念である。
- AFM では MRI 検査や髄液検査にて脊髄炎を示唆する所見を認める。
- AFM では起因病原体の種類は問わない。

急性弛緩性麻痺（AFP：Acute Flaccid Paralysis）^{1),2)}は、世界ポリオ根絶計画³⁾のなかで提唱された概念で、「急性に四肢の弛緩性運動麻痺を呈する疾患」の総称である。AFP は脊髄前角細胞より末梢側、すなわち脊髄・末梢神経・神経筋接合部・筋の何れかに、あるいはその幾つかに病変を有する。脊髄前角細胞を病変の主座とするポリオは AFP の代表的な疾患である。現在本邦においてポリオは根絶されているため、AFP の原因としてはギラン・バレー症候群、重症筋無力症、横断性髄炎などがあるが、ポリオ以外のエンテロウイルスも稀ながら急性脊髄炎による AFP を起こす。手足口病で知られるエンテロウイルス A71（EV-A71）はその代表である⁴⁾。

急性弛緩性脊髄炎（AFM：Acute Flaccid Myelitis）は 2014 年に米国でエンテロウイルス D68（EV-D68）感染症流行と同時期に発生したポリオ様麻痺の多発を受け、AFP との混乱を避けるため提唱され、以下の通りに定義された。①四肢の限局した部分の脱力を急に発症（acute onset focal limb weakness）、②MRI 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、③髄液細胞増多（白血球数 $>5/\mu\text{L}$ ）（①+②は「確定」、①+③は「疑い」とする）。本手引きにおいても上記の定義を満たしたものを AFM とする。上記を満たせば起因病原体の種類は問わない。

EV-D68 流行期に発症した AFM は、EV-D68 の関与が強く疑われるにもかかわらず臨床検体からの EV-D68 検出率が低い。これは EV-D68 が他のエンテロウイルスと異なり腸管ではなく主に呼吸器に感染し短期間増殖するため、麻痺出現後の検体からの検出率が低いことや、採取検体の種類やタイミングが原因としてあげられる。

AFM は新しい概念でありその病態は未だ不明な点が多い。AFM の疾患概念を把握し迅速かつ適切に届出・検体採取を行うことが、病原体検出率向上と病態解明につながると考えられる。

AFP と AFM

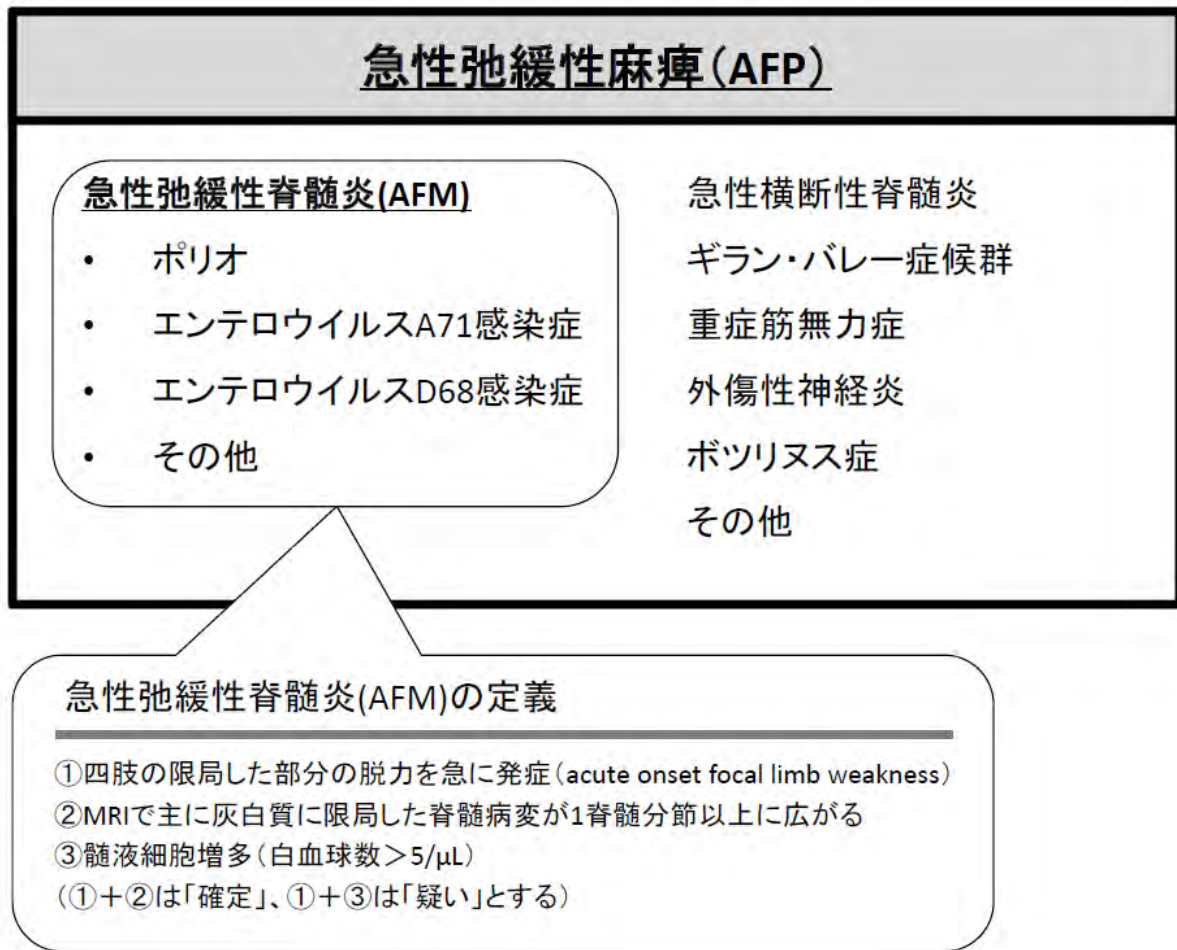


図1 AFP と AFM

文献

1. World Health Organization. Manual for immunization programme managers on activities related to polio eradication. March 1989, Geneva, WHO, Switzerland.
2. Quadros CAD, et al. Eradication of poliomyelitis : Progress in the Americas. *Pediatr Infect Dis J* 10 : 222-229, 1991.
3. World Health Assembly. Global eradication of polio myelitis by the year 2000. Geneva : World Health Organization, 1988 (Resolution WHA41, 28).
4. 吉良龍太郎. 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 (3) : 107-111, 2016.
5. 中村朋史, 清水博之. エンテロウイルス D68 感染症. *臨床と微生物* 42 (3) : 69-75, 2015.

2. 急性弛緩性麻痺 (AFP) を認める疾患の鑑別

- 急性弛緩性麻痺 (AFP) を呈する疾患は多岐にわたる。
- AFP を呈する疾患の鑑別は、推定される病変部位と病態を手がかりに行う。
- 病変部位と病態の推定には、詳細な病歴聴取と神経学的診察、脳脊髄 MRI、髄液検査、電気生理学的検査が有用である。
- MRI 検査は、脳と全脊髄で行い、ガドリニウム造影も併せて実施する。
- 電気生理学的検査は、運動・感覚神経伝導検査と F 波検査を罹患肢だけでなく健側肢も併せて実施する。
- 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) は末梢神経障害を合併することがあるため、非典型的なギラン・バレー症候群と診断される症例では AFM との鑑別を慎重に行う必要がある。AFM は様々な病原体による脊髄炎が含まれると考えられ、ポリオウイルスによる脊髄炎を鑑別することは公衆衛生上重要である。

1) 急性弛緩性麻痺 (AFP) を呈する疾患

急性弛緩性麻痺 (AFP) を認める疾患は多岐にわたるため、病変部位と病態によって分類して理解するのが一般的である (表 1)。弛緩性運動麻痺を起こしうる解剖学的部位は、脊髄 (特に前角細胞)、末梢神経、神経筋接合部、筋肉である。また、病態は、感染、免疫介在性、薬物・中毒、代謝性、血管性、外傷・圧迫、腫瘍などがある。

2015 年 8～12 月の全国調査では、59 例の急性弛緩性脊髄炎 (AFM)¹⁾に加えて、7 例のギラン・バレー症候群、4 例の急性脳炎、3 例の脊髄梗塞、1 例の急性散在性脳脊髄炎、1 例の急性小脳失調、1 例の乳児ボツリヌス症が認められた。また、9 例の身体症状症 (機能性身体症状) も含まれていた。

2) 鑑別の進め方

AFP を呈する疾患の鑑別は推定される病変部位と病態を手がかりに行う。病変部位と病態の推定には、詳細な病歴聴取 (発熱の有無、麻痺の経過など)、神経学的評価、脳脊髄 MRI・髄液検査・電気生理学的検査を中心とした検査が必要である。なお、MRI 検査は、脳と全脊髄で行い、ガドリニウム造影も併せて実施する。電気生理学的検査では、運動・感覚神経伝導検査と F 波検査を罹患肢だけでなく健側肢に対しても実施する。

実際には脊髄 MRI と電気生理学的検査で病変部位の絞り込みを行い、病歴と髄液検査結果で病態を推定しながら、適宜検査を追加して鑑別を進める。なお、救急の現場では、最初に脊髄圧迫による急性ミエロパチーを鑑別し、毒物や薬物についても検討する必要がある。疾患鑑別のための評価アルゴリズムを図に示す (図 2)。

3) 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) について

AFM は、症候と検査所見によって定義された新しい疾患概念である。本手引きでは、MRI 検査で脊髄病変を認める AFP 症例を AFM と定義し、髄液細胞増多のみを認める場合は AFM 疑い例と定義している。このため、初回 MRI 検査で明らかな脊髄病変を認めない場合でも髄液

細胞増多を認める症例は AFM の可能性を考慮し、後日再評価を行うことが望ましい。とくに、AFM は末梢神経障害を合併することがあるため、非典型的なギラン・バレー症候群と診断される症例では AFM との鑑別を慎重に行う必要がある。なお、AFM には様々な病原体による脊髄炎が含まれると考えられ、ポリオウイルスによる脊髄炎は必ず鑑別（便検体からのウイルス分離・同定）を行う。

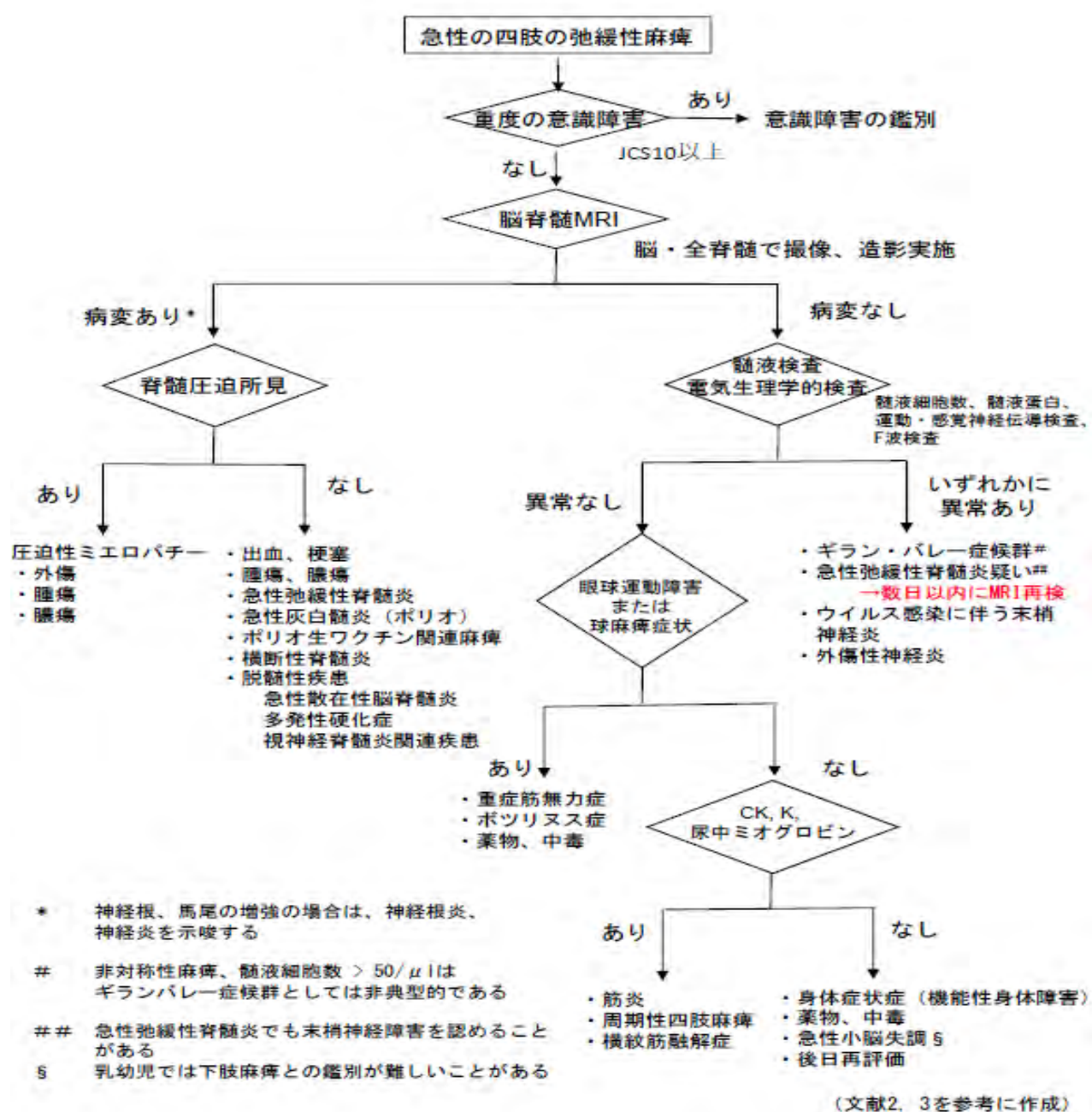
表 1. 急性弛緩性麻痺を呈する主な疾患の病変と病態

主病変	病態	主な疾患
脊髄	外傷・圧迫	外傷性脊髄損傷、硬膜外膿瘍・血腫、脊髄腫瘍
	血管性	前脊髄動脈梗塞
	炎症 (感染・免疫介在性)	横断性脊髄炎、脱髄性疾患（急性散在性脳脊髄炎、視神経脊髄炎関連疾患を含む）、急性弛緩性脊髄炎（ポリオ、非ポリオエンテロウイルス脊髄炎を含む）、ポリオ生ワクチン関連麻痺
末梢神経	免疫介在性	ギラン・バレー症候群
	薬物・中毒・代謝性	ポルフィリン症、ヒ素
	感染	狂犬病、日本脳炎、ライム病、ジフテリア
	外傷	外傷性神経炎
神経筋 接合部	免疫介在性	重症筋無力症
	薬物・中毒	有機リン酸塩、ヘビ毒、フグ毒、貝毒 アミノグリコシド系薬剤
	感染	ボツリヌス症
	電解質異常	高マグネシウム血症
筋肉	感染	ウイルス性筋炎
	免疫介在性	皮膚筋炎・多発性筋炎
	電解質異常	低 K 血症、低リン血症
	その他	周期性四肢麻痺、横紋筋融解症
その他	心因性	身体症状症(機能性身体症状)

(文献 2, 3 を参考に作成)

※なお、四肢の弛緩性麻痺に加えて、瞳孔散大、眼瞼下垂、便秘等の症状が認められた場合は、ボツリヌス症も鑑別に入れて、便からのボツリヌス毒素の検出について保健所に相談する。

図2 急性弛緩性麻痺の鑑別



文献

1. Chong PF, et al. 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. doi: 10.1093/cid/cix860.
2. Marx A, et al. Differential Diagnosis of acute flaccid paralysis and its role in poliomyelitis surveillance. Epidemiologic Reviews 22:298-316, 2000.
3. Singhi SC, et al. Approach to a child with acute flaccid paralysis. Indian J Pediatr 79:1351-1357, 2012.

3. 急性弛緩性麻痺 (AFP) の症例定義・届出票

5 類感染症全数把握疾患

4 急性弛緩性麻痺（急性灰白髄炎を除く。）

（1）定義

ウイルスなどの種々の病原体の感染により弛緩性の運動麻痺症状を呈する感染症である。

（2）臨床的特徴

多くは何らかの先行感染を伴い、手足や呼吸筋などに筋緊張の低下、筋力低下、深部腱反射の減弱ないし消失、筋萎縮などの急性の弛緩性の運動麻痺症状を呈する。発症機序が同一ではないが、同様の症状を呈するポリオ様麻痺、急性弛緩性脊髄炎、急性脳脊髄炎、急性脊髄炎、ギラン・バレー症候群、急性横断性脊髄炎、Hopkins 症候群等もここには含まれる。

（3）届出基準

ア 患者（確定例）

医師は、（2）の臨床的特徴を有する者を診察した結果、症状や所見から急性弛緩性麻痺が疑われ、かつ、（4）届出に必要な要件を満たすと診断した場合には、法第12条第1項の規定による届出を7日以内に行わなければならない。

イ 感染症死亡者の死体

医師は、（2）の臨床的特徴を有する者の死体を検案した結果、症状や所見から、急性弛緩性麻痺が疑われ、かつ、（4）の届出のために必要な要件を満たすと判断した場合には、法第12条第1項の規定による届出を7日以内に行わなければならない。

（4）届出に必要な要件（3つすべてを満たすもの）

ア	15歳未満
イ	急性の弛緩性の運動麻痺症状を伴って死亡した者、又は当該症状が24時間以上消失しなかった者
ウ	明らかに感染性でない血管障害、腫瘍、外傷、代謝障害などでないこと、及び痙性麻痺でないこと

1. 急性灰白髄炎との鑑別のため、診断後速やかに病原体検査のための検体を採取し、検査結果を待つことなく、出来るだけ速やかに管轄の保健所へ急性弛緩性麻痺の届出をしていただきますようお願いいたします。
2. 届出後、病原体検査により急性灰白髄炎と診断された場合については、届出の取り下げ等にご協力いただきますようお願いいたします。

別記様式 5-4

急性弛緩性麻痺（急性灰白髄炎を除く。）発生病

都道府県知事（保健所設置市長・特別区長） 殿

感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律第12条第1項（同条第6項において準用する場合を含む。）の規定により、以下のとおり届け出る。

報告年月日 平成 年 月 日

医師の氏名

印
（署名又は記名押印のこと）

従事する病院・診療所の名称

上記病院・診療所の所在地（※）

電話番号（※）

（※病院・診療所に従事していない医師にあっては、その住所・電話番号を記載）

1 診断（検案）した者（死体）の類型
・患者（確定例） ・感染症死亡者の死体

2 性別	3 診断時の年齢（0歳は月齢）
男・女	歳（ か月）

病 型		11 感染原因・感染経路・感染地域
1) 病原体（ ）		①感染原因・感染経路（確定・推定）
2) 病原体不明		1 飛沫・飛沫核感染（感染源の種類・状況： ）
4 症状	・弛緩性麻痺 左上肢・右上肢・左下肢・右下肢・呼吸筋・顔面・他（ ） ・深部腱反射低下 ・膀胱直腸障害 ・瞳孔散大 ・筋萎縮・筋肉痛・頭痛・髄液蛋白質増加 ・髄液細胞数増加・発熱・喘鳴・咳・鼻汁 ・下痢・嘔吐・便秘・腹痛・意識障害・感覚障害 ・小脳症状・不随意運動・脊髄の画像異常所見 ・その他（ ）	2 接触感染（接触した人・物の種類・状況： ） 3 経口感染（飲食物の種類・状況： ） 4 その他（ ）
5 診断方法	・次の①～③の全ての要件を満たすことを確認 ①15歳未満 ②急性の弛緩性の運動麻痺症状を伴って死亡した者、又は当該症状が24時間以上消失しなかった者 ③明らかに感染性でない血管障害、腫瘍、外傷、代謝障害などでないこと、及び痙性麻痺でないこと	②感染地域（ 確定・推定 ） 1 日本国内（ 都道府県 市区町村） 2 国外（ 国 詳細地域 ） ③ポリオウイルス検査の実施（有・無） ④ポリオ含有ワクチン接種歴 1回目 有（ か月）・無・不明 ワクチンの種類（生・IPV・DPT-IPV・不明） 接種年月日（S・H 年 月 日 ・不明） 製造会社/Lot 番号（ / ・不明） 2回目 有（ か月）・無・不明 ワクチンの種類（生・IPV・DPT-IPV・不明） 接種年月日（S・H 年 月 日 ・不明） 製造会社/Lot 番号（ / ・不明） 3回目 有（ か月）・無・不明 ワクチンの種類（生・IPV・DPT-IPV・不明） 接種年月日（S・H 年 月 日 ・不明） 製造会社/Lot 番号（ / ・不明） 4回目 有（ 歳）・無・不明 ワクチンの種類（生・IPV・DPT-IPV・不明） 接種年月日（S・H 年 月 日 ・不明） 製造会社/Lot 番号（ / ・不明） その他：海外でポリオ含有ワクチンの接種歴がある場合（生・IPV含有ワクチン・不明） 接種年月日（H 年 月 日 ・不明） 製造会社/Lot 番号（ / ・不明）
6 初診年月日	平成 年 月 日	
7 診断（検案（※））年月日	平成 年 月 日	
8 感染したと推定される年月日	平成 年 月 日	
9 発病年月日（*）	平成 年 月 日	
10 死亡年月日（※）	平成 年 月 日	

（1, 2, 4, 11 欄は該当する番号等を○で囲み、3, 6 から 10 欄は年齢、年月日を記入すること。

（※）欄は、死亡者を検案した場合のみ記入すること。

（*）欄は、患者（確定例）を診断した場合のみ記入すること。

4, 11 欄は、該当するものすべてを記載すること。）

4. 急性弛緩性麻痺 (AFP) サーベイランスとウイルス学的診断

- 急性弛緩性麻痺 (AFP) サーベイランスは、世界ポリオ根絶計画のため、多くの国々で導入されている。
- ポリオの可能性を考慮して、AFP 発症後出来るだけ早く2回便検体を採取し、ポリオウイルス分離・同定検査に供する。
- エンテロウイルスA71、エンテロウイルスD68、その他の病原体がAFP 発症に関与する可能性があるため、急性期の便、咽頭拭い液を含む5点セットの臨床検体を採取・保存する。
- 可能な限り、AFP 死亡例に由来する、中枢神経組織を含む剖検材料の採取・保存を行う。

急性弛緩性麻痺 (acute flaccid paralysis; AFP) は、ポリオ様急性弛緩性麻痺、急性弛緩性脊髄炎、ギラン・バレー症候群等、多様な臨床症状を示す疾患の総称であり、感染症以外の原因も含め、様々な要因が AFP 発症に関与しうる。本項ではそのうち、ウイルス学的病原体検査が必要とされる項目について、サーベイランスの背景と検体採取について概説する (病原体検査の詳細は別項)。

I. ポリオ AFP サーベイランス

1) 世界ポリオ根絶計画における AFP サーベイランス

AFP は、ポリオウイルス感染による急性灰白髄炎 (ポリオ; poliomyelitis) の典型的臨床症状であり、AFP サーベイランスおよび AFP 症例に由来する便検体の病原体検査は、世界保健機関 (World Health Organization; 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。AFP サーベイランスに基づく、野生株ポリオウイルスあるいはワクチン由来ポリオウイルス (vaccine-derived poliovirus; VDPV) 伝播の迅速かつ正確な把握は、ワクチン追加接種等によるポリオウイルス伝播の効果的コントロールにとって不可欠である。

ポリオを対象とした AFP サーベイランスは、多くの国・地域で実施されているが、日本、欧米等先進国の一部では、ポリオ流行リスクの相対的な低さや、その国におけるサーベイランス体制整備の経緯等により、AFP サーベイランスが導入されていない国もある。そのため、日本における AFP サーベイランス導入にあたっては、世界的ポリオ AFP サーベイランスおよびポリオウイルス検査体制と我が国のシステムに大きな齟齬が無く、野生株ポリオウイルスあるいは VDPV を検出することが可能なサーベイランスおよび検査体制が必要とされる。

2) ポリオを対象とした世界的 AFP サーベイランスの概要

WHO によるポリオ AFP サーベイランスでは、ギラン・バレー症候群を含む 15 歳未満の全ての AFP 患者、および、ポリオが疑われる全ての年齢の麻痺症例が報告および検査対象とされる。これらの疑い症例から、麻痺発症後 14 日以内に、24~48 時間の間隔をあけて、2 回便検体を採取する。世界的ポリオ実験室ネットワーク (Global Polio Laboratory Network) に所属する、WHO が認可した検査機関において、疑い例から採取された便検体のポリオウイルス検査を実施する。世界的ポリオ実験室ネットワークにおけるポリオウイルス検出・同定検査により、ポリオウイルスの検出、ポリオウイルスの血清型の型別、野生株、VDPV、および通常のワクチン株ポリオウイルスの同定、野生株・VDPV の塩基配列解析等が行われる。

AFP 症例数と検査結果は、症例の発生が無い場合も含め、定期的 (通常毎月) に WHO 地域事務局に報告する。AFP サーベイランスは、現在、WHO 加盟 194 ヶ国中 174 ヶ国で実施されており、WHO 西太平洋地域の 17 の国・地域において、AFP サーベイランスを導入していないのは日本だけである。ポリオ AFP サーベイランスの質的検証の指標として、15 歳未満人口 10 万人あたり年間 1 例以上の非ポリオ AFP 症例の報告が目標として定められており、日本では年間約 160 例以上の AFP 症例数が想定される。

3) 日本におけるポリオサーベイランス

我が国では、急性灰白髄炎は感染症法による 2 類感染症に分類されており、診断した医師は直ちに保健所に届け出る必要がある。急性灰白髄炎の届出基準は、AFP を含む臨床症状だけでなく、ポリオウイルス分離・同定が必須なので、臨床症状からポリオ様疾患が疑われる場合は、生ポリオウイルスワクチンによる副反応症例も含め、発症後できるだけ速やかに適切な臨床検体 (便、直腸拭い液、咽頭拭い液、髄液) を採取し、ウイルス分離同定により確定診断を行う必要がある。ポリオウイルスが検出されたポリオ疑い症例は、ワクチン株も含め、すべて 2 類感染症による報告対象となる。

ポリオウイルス検査の有無に関わらず、15 歳未満のすべての AFP 症例について報告し検査対象とする AFP サーベイランスは、2018 年 4 月まで日本では導入されていなかった。地方衛生研究所等で実施している感染症法に基づく感染症発生動向調査により、感染性胃腸炎、手足口病、無菌性髄膜炎等の検体からポリオウイルスが検出された場合には、厚生労働省健康局結核感染症課に速やかに連絡するとともに、WHO 認可ポリオウイルス検査機関である、国立感染症研究所ウイルス第二部に行政検査を依頼することが望ましい。感染症流行予測調査事業による環境サーベイランス由来検体から、ポリオウイルスが検出された場合にも、厚生労働省健康局結核感染症課及び国立感染症研究所感染症疫学センター第三室に速やかに連絡するとともに、国立感染症研究所ウイルス第二部に行政検査を依頼することが望ましい。

このように、現在、我が国では、2 類感染症による急性灰白髄炎症例の届出、感染発生動向調査、感染症流行予測調査等に由来するポリオウイルス検出等の補足的サーベイランスを組みあわせることにより、野生株ポリオウイルスおよび VDPV を検出・報告する体制が整備されている。

II. ポリオウイルス以外のウイルスによる急性弛緩性麻痺

1) 非ポリオエンテロウイルスと AFP

エンテロウイルスは、ピコルナウイルス科エンテロウイルス属に分類され、ヒト疾患に関与するエンテロウイルスは *Enterovirus A~D* の 4 つの species に含まれる。エンテロウイルスは、エンペロープを有しない比較的小型の RNA ウィルスであり、ウィルス粒子は、一本鎖ゲノム RNA を中心として、4 種類のカプシド蛋白質 (VP1~VP4) が規則正しく配置された正二十面体構造をとる。エンテロウイルス感染症の大きな特徴のひとつは、多くのエンテロウイルス型を反映した多様な病態にある。エンテロウイルスは、手足口病、無菌性髄膜炎のような一般的な急性熱性疾患、呼吸器感染症、さらには死亡例を含む重篤な中枢神経疾患の発症に、直接的あるいは間接的に関与しており、エンテロウイルス感染症の病態は、きわめて多様である。エンテロウイルスは、主として糞口感染あるいは経口感染・飛沫感染により伝播する。感染後、咽頭あるいは便からウイ

ルスが検出され、その後、数週間程度、便からウイルスが検出される。しかし、呼吸器由来検体からの検出頻度が高いエンテロウイルス D68 (Enterovirus D68; EV-D68) や、眼の拭い液から検出されるエンテロウイルス D70 (Enterovirus D70; EV-D70) 等、感染伝播経路が異なるエンテロウイルスにも留意する必要がある。

ポリオ AFP サーベイランスに由来する便検体からは、様々な型の非ポリオエンテロウイルス、あるいは、エンテロウイルス以外の多様なウイルスが検出される。多くのエンテロウイルスは不顕性感染および発熱・発疹性疾患等の比較的軽症の感染症に関与し、健常人の便検体からも一定の割合でエンテロウイルスが検出されることから（地域・季節等により頻度は異なる）、非ポリオエンテロウイルス検出と AFP 発症の関連性については慎重な解釈が必要とされる。しかし、非ポリオエンテロウイルスの多くは、species (種) や型により程度の差はあるものの、中枢神経病原性を有すると考えられており、無菌性髄膜炎、急性脳炎、脳幹脳炎、運動失調、神経原性肺水腫、ポリオ様 AFP 等、様々な中枢神経疾患への非ポリオエンテロウイルス感染の関与が報告されている。

2) エンテロウイルス A71 による AFP

手足口病は、口腔粘膜および四肢に現れる水疱性の発疹を特徴とし、小児および乳幼児に多く認められ、毎年、夏季を中心に流行を起こす。日本における手足口病の主要な原因ウイルスは、*Enterovirus A* に分類されるコクサッキーウイルス A16 およびエンテロウイルス A71 (Enterovirus A71; EV-A71) であるが、2008 年以降、コクサッキーウイルス A6 による手足口病が増加している。1990 年代後半以降、マレーシア、台湾、中国、ベトナム等東アジア地域を中心に乳幼児の重症中枢神経合併症をとまなう大規模な手足口病流行が多発し、公衆衛生上大きな問題となっている。手足口病流行時の重症例・死亡例の多くは、EV-A71 感染による中枢神経合併症によることが明らかにされている。急性脳炎と比較すると頻度は低いが、EV-A71 重症例流行時には、EV-A71 感染による AFP 症例の報告が認められる。我が国では、他のアジア諸国のような、多数の重症例・死亡例を伴う大規模手足口病流行は発生していないが、手足口病合併症として AFP 散発例が報告されている。

3) エンテロウイルス D68 感染症と急性弛緩性麻痺・脊髄炎 (AFP・AFM)

EV-D68 は、*Enterovirus D* に分類されるが、温度感受性や酸感受性等、ライノウイルスと類似したウイルス学的性状を有するユニークなエンテロウイルスである。米国では従来、EV-D68 検出の報告はまれであったが、2014 年 8 月以降、北米の広範な地域で EV-D68 感染症の流行が発生し、2014 年 8 月～2015 年 1 月にかけて、1,153 例の EV-D68 検出事例が報告された。EV-D68 流行と同時期に発生したポリオ様麻痺の多発を受け、米国では、四肢の脱力、MRI 脊髄病変等の指標による急性弛緩性脊髄炎 (acute flaccid myelitis; AFM) の症例定義を定めた。その結果、2014 年 8～12 月にかけて、120 例の AFM 症例が報告された。ウイルス検査を実施した 56 症例のうち、11 例の呼吸器検体から EV-D68 が検出されたが、髄液、便、血液からは、EV-D68 は、ほとんど検出されなかった。日本でも、2015 年 8 月以降、重症例を含む呼吸器感染症症例等からの EV-D68 検出事例の増加が報告され、EV-D68 検出数は 2015 年 9 月をピークに急増した。ほぼ同時期に、小児を中心とした AFP 症例の報告が相次ぎ、一部の麻痺症例から EV-D68 が検出された。そのため、

厚生労働省は、2015 年 10 月 21 日付の事務連絡「急性弛緩性麻痺を認める症例の実態把握について」を発出し、積極的疫学調査の枠組みによる原因究明のための調査が行われた。

4) その他のウイルスと AFP

AFP サーベイランスでは、通常、ポリオウイルス検出を目的とした検体採取および検査が行われるため、他のウイルスが検出されることはあるものの、AFP 発症との関連性や頻度を評価することは一般的には困難である。一方、ヘルペスウイルス (HSV-1, HSV-2, HHV-6, HHV-7 等)、フラビウイルス、アデノウイルス等、急性脳炎等重症中枢疾患に関与する多くのウイルスが、AFP 発症の原因ウイルスとして報告されている。とくに、フラビウイルスに属するウエストナイルウイルスおよび日本脳炎ウイルスによる重症中枢疾患において、ポリオと似た AFP 症状を呈する症例が報告されている。

III. AFP サーベイランスにおける検体採取の概要

WHO によるポリオ AFP サーベイランスとの整合性を考慮し、AFP 症例から、発症後できるだけ速やかに、24～48 時間の間隔をあけて 2 回便 (直腸拭い液) 検体を採取する。非ポリオエンテロウイルス検出に適した検体は、ウイルス型により異なるが、EV-A71 の場合には咽頭拭い液および便、EV-D68 の場合、咽頭拭い液からの検出率が比較的高い。一般的に、髄液および血液検体からの EV-A71 および EV-D68 の検出率は低い、髄液あるいは血液からエンテロウイルスが検出された場合の診断的価値は高いので、発症時の髄液および血液の採取が推奨される。無菌性髄膜炎症例からの検出頻度が高い、エコーウイルスおよびコクサッキー B 群ウイルス (*Enterovirus B*) は、髄液からの検出頻度が比較的高い。一般的に、尿検体は、ポリオウイルスおよびエンテロウイルス検査には用いられないが、ポリオウイルスおよびエンテロウイルス以外のウイルス検査の可能性を考慮して、発症後できるだけ速やかに、便 (2 回)、咽頭拭い液、髄液、血液、尿の 5 点セットの臨床検体を採取・保存する。検体採取時の汚染を避けるため、検体採取は無菌的に実施して検体相互の接触がないように留意する。

ポリオウイルスおよび EV-A71 による中枢神経疾患重症例では、頻度は高くないが死亡例が認められる。米国あるいは日本の EV-D68 流行時に報告された急性弛緩性麻痺・脊髄炎 (AFP・AFM) 症例では、死亡例はほとんど報告されていないが、EV-D68 陽性呼吸器感染重症例では死亡例の報告がある。死亡例に由来する剖検組織、とくに中枢神経組織からの感染性ウイルス、ウイルス遺伝子、ウイルス抗原の検出、および感染病理学的解析の診断的価値は極めて高いので、可能な限り、AFP 症例死亡例に由来する剖検組織の採取・保存を行うことが望ましい。

表 2 急性弛緩性麻痺症例に実施するウイルス検査方法と検査材料

検査方法	検査材料
分離・同定による病原体の検出	<ul style="list-style-type: none"> ・便あるいは直腸ぬぐい液（発症後できるだけ速やかに、24 時間以上の間隔をあけて、2 回採取） ・発症後できるだけ速やかに、麻痺発症後数日以内（麻痺初発日が望ましい）の 5 点セット <ol style="list-style-type: none"> 1) 急性期の血液（EDTA 加血） 2) 髄液 3) 急性期呼吸器由来検体（後鼻腔ぬぐい液、咽頭ぬぐい液、後鼻腔吸引液、下気道由来検体など：可能であれば複数＊）
PCR 法による病原体の遺伝子の検出	<ul style="list-style-type: none"> *必ず鼻咽頭（後鼻腔）由来の検体を採取し、加えて可能な限り下気道由来の検体も採取する。その際、気管内挿管されている場合は、気管内吸引液でよい。 4) 便（発症後できるだけ速やかに、24 時間以上の間隔をあけて、2 回採取、排便が認められない場合は、直腸ぬぐい液） 5) 尿

5. 急性弛緩性麻痺 (AFP) の病原体検査のために必要な検体採取、保存、輸送方法

- 麻痺発症後数日以内（麻痺初発日が望ましい）の 5 点セットを採取する。
- 5 点セットは急性期の血液（EDTA 加血）、髄液、急性期呼吸器由来検体、便、尿である。
- 急性期と回復期のペア血清の保管が重要である。
- 採取した検体をすぐに病原体検索可能な施設に搬送できない場合は、原則として、マイナス 70℃以下に小分けで凍結保存をしておくことが望ましい。
- 検体の輸送にはバイオセーフティの観点から細心の注意が必要である。

【検査のために必要な検体】

患者（保護者）から検査に関するインフォームドコンセントを取った後、下記の 5 種類を確保する。すべて確保できない場合は出来るだけ多種の検体を確保する。

1. 採取検体の種類

- ① 麻痺発症後数日以内（麻痺初発日が望ましい）の 5 点セット
 - 1) 血液（EDTA 加血）：採取後 2 日以内に、末梢血単核球と血漿成分に分けられる場合は、分けることが望ましい。
 - 2) 髄液
 - 3) 呼吸器由来検体（後鼻腔ぬぐい液、咽頭ぬぐい液、後鼻腔吸引液、下気道由来検体など：可能であれば複数） *必ず鼻咽頭（後鼻腔）由来の検体を採取し、加えて可能な限り下気道由来の検体も採取する。その際、気管内挿管されている場合は、気管内吸引液でよい。
 - 4) 便（発症後できるだけ速やかに、24 時間以上の間隔をあけて、2 回採取、排便が認められない場合は、直腸ぬぐい液）
 - 5) 尿
- ② 急性期と回復期のペア血清（ヒト免疫グロブリン製剤を投与する場合は、投与前、投与後 1, 3, 6 か月：数値の動きを見る上で参考になる場合があるので、製剤の種類とロット番号を控えておく。）

2. 検体採取器材

起因病原体としてウイルスが想定される場合、上記 1. の① 3) 呼吸器由来検体と、4) 便に、細菌培養用の保存器材を使用してはならない（細菌用の器材に採取した検体からのウイルス検出は PCR・ウイルス分離ともに困難である）。また、エンテロウイルス等は乾燥に弱いので、綿棒の先端を保存液に浸す。

保存液は、ウイルス保存用の器材として市販されているのであらかじめ準備しておくとし便利である。次世代シーケンサーによる網羅的な解析が可能である場合は、ウイルス保存液は生理食塩水の方が良い。

3. 検体の保存・輸送

直ちに急性灰白髄炎（ポリオ）との鑑別が必要なため、発症後できるだけ速やかに、24 時間以上の間隔をあけ 2 回採取した便あるいは直腸ぬぐい液を、管轄の保健所に相談の上、提出する。

その他の検体については、必要に応じて、エンテロウイルス D68、エンテロウイルス A71 をはじめとするエンテロウイルス属、ボツリヌス毒素、その他、急性弛緩性麻痺を認める可能性のある病原体について検討する。なお、検討方法・内容については管轄の保健所と相談するが、検討には急性期検体の凍結保管が重要となる。原則として、マイナス 70℃以下に小分けで凍結保存をしておくことが望ましい。早急に検体を送付できる場合は、冷蔵での輸送が可能であるため、送付先と送付者との間で連絡しておく（ただし、検体の輸送にはバイオセーフティの観点から細心の注意が必要である）。

管轄保健所が窓口となる自治体が多い。2015 年は厚生労働省健康局結核感染症課からの通知が根拠となり、積極的疫学調査として多くの自治体の協力が得られた。

【検体採取時の留意点】

1. 髄液・呼吸器由来検体・便・尿は、採取後できる限りベッドサイドですぐに氷上に置いて保冷し、EDTA 加血は、採取後固まらないように室温で混和する。
2. 検体採取容器については、各医療機関の採取容器（滅菌）を使用。
 - 1) 血液（EDTA 加血）・・・各医療機関の採取容器を使用。可能な限り 1mL 以上。
 - 2) 髄液・・・各医療機関の採取容器（滅菌スピッツ）を使用。可能な限り 1mL 以上。
 - 3) 呼吸器由来検体・・・滅菌綿棒で後鼻腔あるいは咽頭を十分にぬぐい、1mL の 生理食塩水（あるいは PBS: Phosphate Buffered Saline、VTM : Virus Transport Medium ウイルス搬送用培地）を滅菌スピッツに入れてその中でよく攪拌する。スワブの綿球部分が乾燥しない様に棒部分を折って短くし、保存容器内に入れたままにする。採取後可能な限り速やかに氷上に置き、その後凍結保存する。凍結保存時には、スピッツ管を立てて凍結する。鼻腔吸引液、人工呼吸管理中は気管内吸引液を滅菌容器に吸引し、上記と同様に採取後可能な限り速やかに氷上に置き、凍結保存を行う。

(ア) 複数検体の採取が望ましい。必ず鼻咽頭（後鼻腔）由来の検体を採取し、加えて可能な限り下気道由来の検体も採取する。その際、気管内挿管されている場合は、気管内吸引液でよい。

(イ) 滅菌綿棒は、もしあればフロックスワブ*が望ましい。

*フロックスワブ：先端が柔らかくブラシのようになっていてサンプルの採取効率および試料中への放出効率が良いとされる。

(ウ) 生理食塩水（もしあれば PBS、VTM）追加は乾燥防止目的。希釈されるため必要最小限（1mL 未満）が望ましい。

(エ) 抗菌薬や、BSA: Bovine Serum Albumin（ウシ血清）等のキャリア蛋白が入った VTM はウイルス分離、PCR には適しているが、次世代シーケンサーによる解析は困難となる。

(オ) 後鼻腔/咽頭をぬぐった綿棒は、細菌培養用の寒天培地には入れないこと。
 - 4) 便・・・各医療機関の採取容器（採便用容器）を使用。十分量採取する。発症後できるだけ速やかに、24 時間以上の間隔をあけ 2 回採取した便あるいは直腸ぬぐい液を採取する。
 - 5) 尿・・・各医療機関の採取容器を使用（滅菌スピッツ）。5mL 程度採取する。

6) 血清・・・各医療機関の採取容器（血清分離剤入りの容器）に 1～2mL 程度採血し、遠心分離したのち上清（血清成分）を採取する。

【検体保管・輸送時の留意点】

1. 1 次保管容器：血清保管チューブ（スクリューキャップチューブが望ましい。スクリューキャップチューブがない場合は、凍結保存・輸送の際に、蓋が開かないように厳重に密閉すること。）等を用い、検体採取日、検体の種類（検体採取部位）、各医療機関で照合可能な識別番号を記載。
2. 各検体ともに小分けで（できれば 3 個以上）マイナス 70℃以下に凍結保管する。マイナス 70℃以下の冷凍庫がない場合は、マイナス 20℃以下に保管する。家庭用冷蔵庫の冷凍室は霜取り装置がついており保管には不適。小分け後の各容器に入れる必要量（全血：各 0.2mL 以上、髄液：各 0.2mL 以上、尿：各 0.2mL 以上、便：各 0.5 g 程度、乳剤にしても可。）
3. すぐに検査部・検査（研究）機関に搬送可能な場合は、凍結せずに、冷蔵のまま速やかに搬送する場合もあるが、長期間の冷蔵保存、室温保存は不可。凍結融解を避けることに留意すること。
4. 凍結融解が繰り返された検体、長期間冷蔵保管あるいは室温保管された検体は、ウイルス（遺伝子）の分離（検出）が困難となる。

【検査に必要とされるサンプルの種類】

- 髄液や血液中に病原体が見つからない神経疾患は多い
- 急性期の5点セットでの検討を原則とする

基本5点セット：急性期（発症後数日以内：初発日が望ましい）

- ① 血液（EDTA 加血）：採取後2日以内に、末梢血単核球と血漿成分に分けられる場合は、分けることが望ましい。
 - ② 髄液
 - ③ 呼吸器由来検体（後鼻腔ぬぐい液、咽頭ぬぐい液、後鼻腔吸引液、下気道由来検体など：可能であれば複数）
＊必ず鼻咽頭（後鼻腔）由来の検体を採取し、加えて可能な限り下気道由来の検体も採取する。その際、気管内挿管されている場合は、気管内吸引液でよい。
 - ④ 便（発症後できるだけ速やかに、24時間以上の間隔をあけて、2回採取、排便が認められない場合は、直腸ぬぐい液）
 - ⑤ 尿
- ・ 病理学的検査が実施されている場合は、**パラフィン切片、凍結切片**
 - ・ 急性期と回復期（発症2週間以降）の**ペア血清**（ヒト免疫グロブリン製剤を投与する場合は、投与前、投与後 1, 3, 6 か月：数値の動きを見る上で参考になる場合があるので、製剤の種類とロット番号を控えておく。）

【検査に必要とされる検体の条件】

基本5点セット

- 基本的に凍結サンプルが適している
- 急性期に採取し、小分けで保管する
- すぐに-70℃以下に凍結保管
- 凍結融解を繰り返さない
- 回復期血清を凍結保管

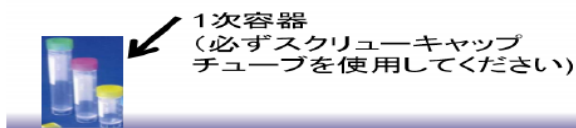
原因究明に極めて重要

【検体の採取法、保存法】

① **血液（EDTA 加血）**：急性期が望ましく、**可能な限り1mL以上**。採取後、**小分けにして**血清保管チューブ等に密封して直ちに -70°C 以下に保存。ドライアイスと共に輸送。

※ 採取後2日以内に、末梢血単核球と血漿成分に分けられる場合は、分けることが望ましい。

※ **血清**：急性期と回復期のペアが望ましく、**可能な限り1mL以上**。採血後、血清と血球を遠心分離し、血清成分を**小分けにして**保管チューブ等に密封して直ちに -70°C 以下に保存。ドライアイスと共に輸送。ヒト免疫グロブリン製剤を投与する場合は、投与前、投与後 1, 3, 6 か月：数値の動きを見る上で参考になる場合があるので、製剤の種類とロット番号を控えておく。



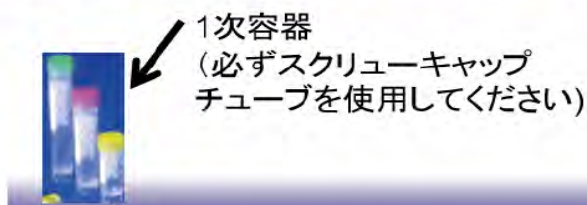
※ スクリューキャップチューブがない場合は、凍結保存・搬送の際に、蓋が開かないように厳重に密封すること。

【検体の採取法、保存法】

② **髄液**：急性期が望ましく、**可能な限り1mL以上**。採取後、**小分けにして**血清保管チューブ等に密封して直ちに -70°C 保存。ドライアイスと共に輸送。

※ **脳生検材料**：下記URL参照。**米粒大の組織で十分だが、確実に病変部を含んでいることが必要**。採取後、血清保管チューブ等に密封して直ちに -70°C 以下で保存。ドライアイスと共に輸送。

<http://idsc.nih.go.jp/iasr/28/334/dj3341.html>



※ スクリューキャップチューブがない場合は、凍結保存・搬送の際に、蓋が開かないように厳重に密封すること。

【検体の採取法、保存法】

③呼吸器由来検体（後鼻腔ぬぐい液、咽頭ぬぐい液、後鼻腔吸引液、下気道由来検体など：可能であれば複数）

＊急性期が望ましく、必ず鼻咽頭（後鼻腔）由来の検体を採取し、加えて可能な限り下気道由来の検体も採取する。その際、気管内挿管されている場合は、気管内吸引液でよい。

※後鼻腔ぬぐい液、咽頭ぬぐい液：滅菌綿棒で後鼻腔あるいは咽頭を十分にぬぐい、1mLの生理食塩水（あるいはPBS：Phosphate Buffered Saline、VTM：Virus Transport Medium ウイルス搬送用培地）を滅菌スピッツに入れて綿棒部分をよく攪拌する。スワブの綿球部分が乾燥しない様に棒部分を折って短くし、保存容器内に入れたままにする。密封して直ちに－70℃以下に保存。ドライアイスと共に輸送。血清やキャリア蛋白が入った輸送培地に保管すると、NGS検査が実施できないことがある。



注 咽頭等をぬぐった後の綿棒は、細菌培養用の培地には絶対に入れないこと。ウイルス学的な検査が不可能となる。

【検体の採取法、保存法】

④ 便：発症後できるだけ速やかに、24時間以上の間隔をあけて、2回採取、排便が認められない場合は、直腸ぬぐい液。便は十分量採取するが、必要量は0.5g以上。乳剤にしても可。採取後、小分けにして保管し、密封して直ちに－70℃以下に保存。ドライアイスと共に輸送。

⑤ 尿：急性期が望ましく、5mL程度採取。採取後、小分けにして血清保管チューブ等に密封して直ちに－70℃以下に保存。ドライアイスと共に輸送。



1次容器
（必ずスクリーキャップ
チューブを使用してください）

※ スクリーキャップチューブがない場合は、凍結保存・搬送の際に、蓋が開かないように厳重に密封すること。

※ この頁の内容は、国立感染症研究所（感染研）で行っている輸送法の1例です。

【検体の輸送法：感染研】

輸送前に、輸送内容、日時を事前に打ち合わせます。

(通常の宅急便は利用することができません。専門業者に依頼します)

臨床サンプルは、カテゴリーBに該当します。

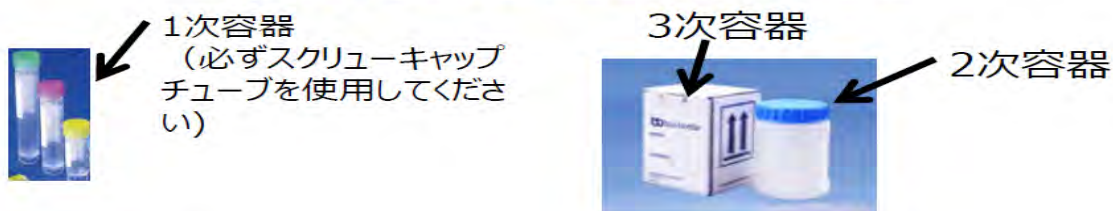
サンプルの輸送にはカテゴリーB用の輸送容器を利用する必要があります。専用容器は感染研からお送りします。

臨床サンプルの梱包方法は下記サイトを参考にしてください

(<http://www.nih.go.jp/niid/ja/biorisk-guidance/947-youkisb.html>)

* 注意：カテゴリーBの輸送方法にはゆうパックを利用する方法と、他の輸送業者（日通航空、近鉄ロジスティクス・システムズなど）を利用する方法がありますが、**感染研から専門業者に依頼する方法をとります。**

検体搬送用容器一覧

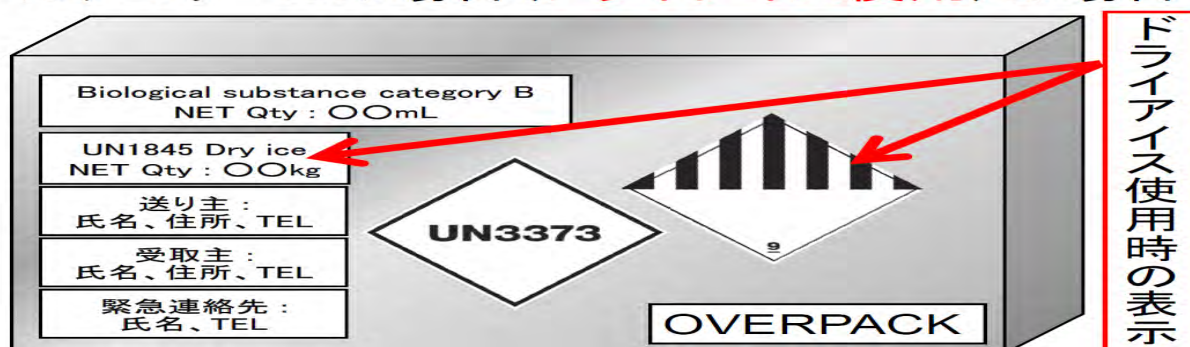


輸送箱は、3次容器を入れて、その外側にドライアイスを入れて3次容器を輸送するのに利用する。

ラベルに必要項目を記入する

ステップ6 オーバーパック(4次容器)への表示例

カテゴリーBの場合(ドライアイス使用)の場合

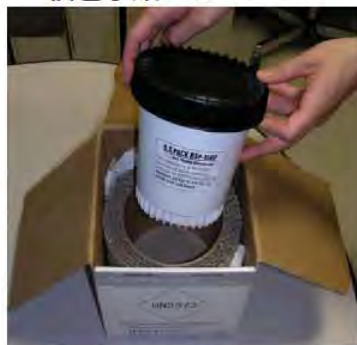


梱包手順

梱包手順－1



梱包手順－2



1. 2次容器を3次容器に入れる。
2. 2次容器と3次容器の間にサンプル一覧表を入れる
3. 蓋を閉める。

1. 検体を1次容器に入れる。ふたの部分にパラフィルム等でシールする。
2. 2次容器（バイオボトル等）に1次容器に入れた検体を入れる。2次容器中で1次容器が動かないよう詰め物および吸水シートを入れる。
3. 2次容器内にドライアイスを絶対に入れない。
 ➤ 密閉されるため容器の爆発・破裂の危険がある。
 ➤ バイオボトル等の容器が十分冷えた状態で検体を入れる。
4. 蓋をしっかりと閉める。

梱包手順－3



1. 3次容器を輸送箱に入れる。
2. 隙間にドライアイスを詰める（約5キロのドライアイスが入る。）
3. 発泡スチロールの上蓋は閉める。蓋はテープ等で密封しない。
4. 輸送箱のプラスチック段ボールの蓋を閉める。

6. 急性弛緩性麻痺 (AFP) 、急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の実験室診断

- 臨床検体の無菌的採取が重要である。
- 特にエンテロウイルス D68 で顕著であるが、発症から日数が経つとウイルスの検出が極めて困難になる。
- エンテロウイルス A71 は髄液からの検出が困難である。
- 神経系感染症であるが、髄液のみではなく、5点セットを採取することが望ましい。
- 採取した検体を相互に接触させないこと。
- 検体保存中に凍結融解が頻回に起こらないようにする。

※ 家庭用冷蔵庫は霜取り機能がついており、凍結融解が起こりやすいので避ける。

※ 採取時に複数の検体容器に分注して保管することで、汚染リスクを減じることができる。

AFP 症例由来検体のウイルス学的検査

I. ポリオウイルス

AFP 症例に由来する便 (直腸拭い液) 検体からのポリオウイルス検査は、WHO 標準法および「ポリオウイルス感染症の実験室診断マニュアル」に基づく、培養細胞によるポリオウイルス分離により行う。便 (直腸拭い液) 検体が入手できない場合には、他の臨床検体 (咽頭拭い液等、髄液) からポリオウイルス検出を試みることも出来るが、24 時間以上の間隔をあけて 2 回採取した便検体の検査が基本となる。ポリオウイルスが検出された AFP 症例は、ワクチン株が検出された場合も含め、すべて 2 類感染症による届出対象となる。ポリオウイルス型内鑑別検査 (ワクチン株ポリオウイルス、野生株・ワクチン由来ポリオウイルス (vaccine-derived poliovirus; VDPV) 等の同定) については、WHO 認可ポリオウイルス検査機関である、国立感染症研究所ウイルス第二部に行政検査を依頼することが望ましい。国立感染症研究所ウイルス第二部で実施した AFP 症例に由来するポリオウイルス同定結果は、速やかに、行政検査依頼元および厚生労働省健康局結核感染症課に報告する。WHO 西太平洋地域事務局には、厚生労働省から報告する。

ポリオウイルス検査方法の詳細については、「ポリオウイルス感染症の実験室診断マニュアル」を参照 (<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/polio.pdf>)。

II. 非ポリオエンテロウイルス

AFP (AFM) の起因病原体として多くの病原体が考えられるが、ここでは、エンテロウイルスを中心とした検査法を示す。検体の採取時期が非常に重要であり、詳細は「5. 急性弛緩性麻痺 (AFP) の病原体検査のために必要な検体採取、保存、輸送方法」を参照のこと。

検査主体

地方衛生研究所で実施可能な場合は、地方衛生研究所で実施する。不可能な場合は自治体を通じて国立感染症研究所で行政依頼検査等として検査可能である。

1) エンテロウイルス D68 (EV-D68) 検査法

EV-D68 は CODEHOP VP1 RT-seminested PCR (IASR 30: 12-13, 2009) や、VP4 領域を増幅する PCR およびリアルタイム PCR での検出効率がよくない。その理由は、EV-D68 がエンテロウイルス D であり多用されているプライマーとのミスマッチを多く含むためである¹⁾。次に記載する EV-D68 用のリアルタイム PCR および日本で開発された PCR 法は EV-D68 に対する検出感度が高い。

ウイルス RNA の抽出

市販のキットを用いる。凍結融解の回数が少ない検体を用いる。2015 年の EV-D68 アウトブレイク時の経験から、検体の容量が少ないことが多いため、可能な限り十分量の検体採取が望まれる。抽出キットでは最低 150～200 μ L 程度の検体が必要であることが多い。小分けにする際は 1 つの検体は 200 μ L 以上の量で分注されることが望ましい。

表 3 EV-D68 特異的リアルタイム PCR

EV-D68 Real-time PCR / JCM: Washington Univ.法

反応液組成

試薬名	濃度		μ L
	試薬濃度	最終濃度	
RNase free dH ₂ O	—	—	3.0
2x RT-PCR Buffer	x 2	x 1	12.5
Primer F	10 μ M	0.4 μ M	1.0
Primer R1	10 μ M	0.4 μ M	1.0
Primer R2	10 μ M	0.4 μ M	1.0
Probe	10 μ M	0.2 μ M	0.5
25x RT-PCR Enzyme	x 25	x 1	1.0
Template RNA	—	—	5.0
Total	—	—	25.0

使用試薬

AgPath-ID™ One-Step RT-PCR Reagents/ JCM: Washington (Thermo Fisher Scientific, MA, USA)

使用 primer	primer F	L1-2	CACYGAACCAGARGAAGCCA
	primer R1	R1-2	CCAAAGCTGCTCTACTGAGAAA
	primer R2	R2-2	CTAAAGCTGCCCTACTAAGRAA
	probe1	P1-2	[FAM]TCGCACAGTGATAAATCAGCAYGG[TAMRA]

使用装置 ABI StepOne など

反応条件	45 °C	10 min
	95 °C	10 min

95 °C	15 sec	} ×45
60 °C	45 sec	

この手法は、感度良好である。2015 年 9 月の EV-D68 アウトブレイク時も、他の方法では陰性であったが、この方法で検出可能な症例が認められた^{2~4)}。

② EV-D68 高感度検出 PCR

市販のキットを用いて、抽出した RNA から cDNA を合成したのち PCR 反応を次のとおり実施する。キットの例：PrimeScript™ II 1st strand cDNA synthesis Kit

1) 酵素に PrimeSTAR GXL を使用した場合（文献 1 を改変）。

表 4 1st PCR : 779bp

試薬名	濃度		μL
	試薬濃度	最終濃度	
RNase free dH ₂ O	—	—	29.0
5 × PrimeSTAR GXL Buffer (Mg ²⁺ plus)	x 5	x 1	10.0
dNTP mixture	2.5mM	200mM each	4.0
Primer F1	50μM	0.5μM	0.5
Primer R	50μM	0.5μM	0.5
PrimeSTAR GXL	1.25U/μL	1.25U/50μL	1.0
Template cDNA	—	—	5.0
Total	—	—	50.0

表 5 2nd PCR : 424bp

試薬名	濃度		μL
	試薬濃度	最終濃度	
RNase free dH ₂ O	—	—	33.0
5 × PrimeSTAR GXL Buffer (Mg ²⁺ plus)	x5	x1	10.0
dNTP mixture	2.5mM	200mM each	4.0
Primer F2	50μM	0.5μM	0.5
Primer R	50μM	0.5μM	0.5
PrimeSTAR GXL	1.25U/μL	1.25U/50μL	1.0
Template cDNA	—	—	1.0
Total	—	—	50.0

使用試薬 PrimeSTAR® GXL DNA polymerase (TaKaRa)

Primer primer F1 EVD68-F1 AATGCAGTTGAAACGGGHGCAA
 primer F2 EVD68-F2 CAATGTTTGTRCCCACTGGTGC
 primer R EVD68-R CTVTCTCTATTGCCAATTATRG

使用装置	サーマルサイクラー		
反応条件	94 °C	2 min	
	98 °C	10 sec	
	62 °C	1 min	} ×35
	68 °C	1 min	
	68 °C	7 min	
	4 °C	∞	

2) 酵素に Ex-Taq を使用した場合¹⁾

表 6 1st PCR : 779bp

試薬名	濃度		μL
	試薬濃度	最終濃度	
RNase free dH ₂ O	—	—	34.5
10 x buffer (Mg ²⁺ plus)	x10	x1	5.0
dNTP mixture	2.5mM	200mM each	4.0
Primer F1	50μM	0.5μM	0.5
Primer R	50μM	0.5μM	0.5
Ex Taq	5U/μL	2.5U/50μL	0.5
Template cDNA	—	—	5.0
Total	—	—	50.0

表 7 2nd PCR : 424bp

試薬名	濃度		μL
	試薬濃度	最終濃度	
RNase free dH ₂ O	—	—	38.5
10x buffer (Mg ²⁺ plus)	x10	x1	5.0
dNTP mixture	2.5mM	200mM each	4.0
Primer F2	50μM	0.5μM	0.5
Primer R	50μM	0.5μM	0.5
Ex Taq	5U/μL	2.5U/50μL	0.5
Template cDNA	—	—	1.0
Total	—	—	50.0

使用試薬 Ex Taq[®] (TaKaRa)

Primer	primer F1	EVD68-F1 AATGCAGTTGAAACGGGHGCAA
	primer F2	EVD68-F2 CAATGTTTGTRCCCACTGGTGC
	primer R	EVD68-R CTVTCTCTATTGCCAATTATRG

使用装置	サーマルサイクラー	
反応条件	94 °C	2 min
	94°C	30 sec
	62 °C	1 min
	72 °C	1 min
	72 °C	7 min
	4 °C	∞

} ×35

② エンテロウイルス A71 (EV-A71) その他のエンテロウイルス

エンテロウイルス A71 の検査法は、国立感染症研究所病原体診断マニュアルの 5 類感染症「手足口病」(<http://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/HFMdis.pdf>) に詳細な検査法が記述されているので参照のこと。エンテロウイルス A71 はエンテロウイルス 71 と記載されることもあるが、近年はエンテロウイルス A71 との呼称が用いられている。

文献

1. 蕪木 康郎, 他. 臨床検体からのエンテロウイルス D68 型を特異的に検出・同定するためのプライマー開発と RT-Seminested PCR 条件の決定. 感染症学雑誌 91(3): 376- 385, 2017.
2. Wylie TN, et al. Development and Evaluation of an Enterovirus D68 Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay. J Clin Microbiol. 2015 Aug;53(8):2641-7.
3. 藤本 嗣人, 他. エンテロウイルス(D68 を含む) の検査法. 臨床とウイルス 44 (3): 84- 89, 2016.
4. Kimura K, et al. Adult case of acute flaccid paralysis with enterovirus D68 detected in the CSF. Neurology Clinical Practice. Published online before print November 4, 2016.

7. 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の患者背景・症状・徴候

- 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) は、幼児期から学童期の小児に、発熱、呼吸器症状などの症状に引き続き、四肢の運動麻痺で急に発症する。
- 運動麻痺は、腱反射の減弱または消失を伴う弛緩性麻痺で、単麻痺から四肢麻痺まで、不全麻痺から完全麻痺まで様々であるが、左右差を伴うことが多く、大部分で数日以内にピークを迎える。脳神経系の運動麻痺として、球麻痺、顔面神経麻痺、外転神経麻痺を伴うことがある。
- AFMでは膀胱直腸障害や感覚の異常を伴うこともあるが、運動麻痺に比べると頻度が少ない。

2014年に疾患名が提唱されて以降、AFMは主に米国(2014年)¹⁾、カリフォルニア州(2012-2015年)²⁾、日本(2015年)の三つの調査によりその臨床的特徴が明らかにされている。いずれの調査もエンテロウイルスD68の流行期に伴い発症した症例が中心となっており、臨床的特徴はよく似ている。しかし、先行症状など感染症の症状は病原体によって異なる可能性があり、またAFMの病因・病態も単一とは限らないので、症状や徴候の出現頻度は調査により変わる可能性がある。

- 1) 発症年齢：幼児から学童が大半を占める。発症年齢の中央値は米国の報告が7.1歳、カリフォルニア州の報告が9歳であるのに対して、日本の報告は4.4歳とやや年齢が低い。ほとんどが小児期の発症で、成人期の発症者は数%とわずかである。
- 2) 性：56-59%とわずかに男児に多い。
- 3) 既往歴：気管支喘息の既往が10-19%と最も多い。次いで、白血病 (CML)、治療中の全身性エリトマトーデス、後天性免疫不全症候群、心臓移植後など免疫不全状態が報告される。
- 4) 先行症状・前駆症状：90～97%に発熱、呼吸器症状、消化器症状などの先行症状または前駆症状を認める。発熱は64～88%、呼吸器症状は71～81%、消化器症状は19～64%と報告されている。2014年の米国と2015年の日本では呼吸器症状の頻度が高いが、2012～2015年のカリフォルニアの報告は消化器症状の頻度が高くなっており、原因となるウイルスの特徴を反映している可能性がある。先行症状から麻痺までの期間は米国の報告で中央値5日 (範囲 0～18日：四分位範囲 (IQR) 3～9日)、発熱から麻痺出現までの期間は日本の報告で中央値3.5日 (IQR 1.0～5.3日)、発熱の持続日数は4日 (IQR 3～6日)、最高体温38.5℃であった。
- 5) 運動麻痺：急に発症する四肢の限局した部分の脱力 (acute onset focal limb weakness)は、AFMの中核的な症状である。急性弛緩性麻痺やポリオ様麻痺と呼ばれるこの症状は、定義に含まれるため、100%に認められる。麻痺は上肢と下肢、罹患肢で1肢 (単麻痺) から4肢 (四肢麻痺) までいずれにも起こり得る。また麻痺の程度も徒手筋力テスト (Manual Muscle Test; MMT) で0から4までさまざま、同一個体内でも部位により麻痺の程度が異なる。5～7割の患者で麻痺は左右非対称である。運動麻痺は、急速に進行し、約8割の患者で48時間以内にピークに達する。
- 6) 腱反射の減弱・消失：81～90%の患者で麻痺した部位の腱反射が減弱または消失する。
- 7) 感覚の異常：運動麻痺が中核症状であるのに対して、感覚の異常は2014年の米国と2015年の日本で20%程度、2012～2015年のカリフォルニアで44%と少ない。四肢の痛みは日本で1割程

度と少なく、米国で5-6割と多いが、日本のAFMは若年発症者が多いことを考慮しなければならない。

- 8) 膀胱直腸障害：27～51%の患者で膀胱直腸障害を認める。
- 9) 脳神経症状：17～28%に脳神経症状を認める。米国の報告では顔面麻痺（14%）、嚥下障害（12%）、複視（9%）、構音障害（7%）、顔面のしびれ（1%）とされ、主に脳神経系の運動麻痺である。米国における2014年のエンテロウイルスD68のアウトブレイクの時には、脊髄炎症状を伴わず脳神経症状のみを示す症例が脳幹病変を伴う急性脳神経機能異常（acute cranial nerve dysfunction with brainstem lesions ; ACB）の病名で報告されている³⁾。
- 10) その他の神経症候：髄膜炎や脳炎を示唆する、頭痛、項部硬直、精神状態の変化といった神経症候は、日本の報告ではいずれも1割程度である。

表 8 急性弛緩性脊髄炎の概要

		カリフォルニア 2012-2015 (CDPH)	米国 2014 (CDC)	日本 2015 (多屋班)
	症例数	59	120	59
性・年齢				
	男性, %	56	59	59
	年齢: 中央値 (範囲)	9 (0~73)	7.1 (0~20)	4.4 (0~71)
既往歴, %		25	21	31
	気管支喘息	19	10	17
	免疫不全状態	5	2	0
前駆症状, %		92	90	97
	発熱	80	64	88
	呼吸器症状	71	81	75
	消化器症状	64	NR	19
神経症状, %				
	頭痛	49	NR	12
	項部硬直	34	NR	12
	四肢の痛み	69	51	15
	精神状態の変化	22	11	12
神経学的所見, %				
	四肢の脱力	100	100	100
	上肢のみ	73	77	27
	下肢のみ	NR	66	47
	1 肢のみ罹患	9	NR	37
	2 または 3 肢が罹患	42	NR	44
	3 肢または片麻痺	NR	18	8
	4 肢とも罹患	49	25	19
	非対称性麻痺	NR	47	68
	感覚の異常	44	21	20
	腱反射の減弱・消失	NR	81	90
	脳神経麻痺	27	28	17
	膀胱直腸障害	51	NR	27
検査所見, %				
	髄液細胞増多 (白血球数の中央値, 範囲 / μ L)	74 (41, 0~888)	81 (44, 0~664)	85 (48, 2~296)

	髄液蛋白増加（初回検査で蛋白>45mg/dl）（中央値，範囲 mg/dl）	48 (44, 10~286)	48 (43, 17~921)	46 (41, 15~264)
	髄液中に同定されたウイルス	0	2	2
	呼吸器検体で同定されたエンテロウイルス D68（陽性数／検査された数）	22 (9/41)	20 (11/56)	18 (7/40)
	呼吸器検体で同定された D68 以外のエンテロウイルス／ライノウイルス（陽性数／検査された数）	10 (4/41)	21 (12/56)	NR
画像所見，%				
	脊髄 MRI で 2 椎体レベル以上の長さがある灰白質の T2 病変	90 (>3 椎体)	96 (>1 椎体)	98 (>1 椎体)
	脊髄 MRI で神経根の造影	20	34	15
	脳 MRI で脳幹病変	NR	35	42
	脳 MRI でテント上の病変	31	11	4
電気生理学的所見，%				
	罹患肢の運動神経の所見	100 (12/12)	NR	82 (42/51)
	罹患肢の感覚神経の所見	NR	NR	27 (8/30)
治療／経過，%				
	静注免疫グロブリン	73	73	78
	血漿交換	22	15	5
	静注ステロイド	71	54	75
	抗ウイルス薬	3	NR	29
	治療の反応性	None noted	NR	12
	挿管／呼吸サポート	34	20	8

最終フォローアップ 時における神経学的 異常所見の持続(持続 している患者数／フ ォローアップできた 患者数; フォローア ップ期間の中央値)	84 (38/45; 9 か月)	95 (53/56; 4.2 か月)	90 (52/58; 8.6 か月)
筋力がさらに悪化(初 期と比べて)	NR	2	0
筋力は低下したまま	NR	11	17
筋力が改善	NR	73	71
筋力は完全に回復	NR	5	12

CDCのデータは他で既に報告された症例を含む：CDPHの24例、CHCOの9例、PCHの10例

CDPH = California Department of Public Health. Case definition: acute flaccid myelitis (AFP) with magnetic resonance imaging (MRI) lesion in gray matter of spinal cord or electrodiagnostic evidence of spinal motor neuron damage in California June 2012–July 2015.

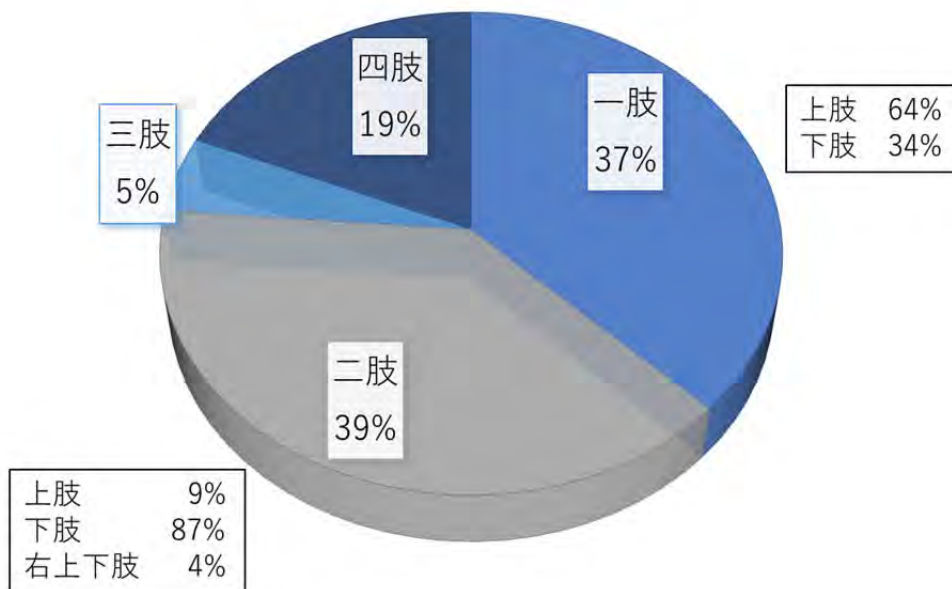
CHCO = Children’s Hospital Colorado. Case definition: AFP and/or cranial nerve dysfunction with MRI lesions in the gray matter of the spinal cord or brainstem presenting to CHCO August 1, 2014–October 31, 2014.

PCH = Primary Children’s Hospital. Case definition: AFP with MRI lesions in the spinal cord largely restricted to gray matter in patients <21 years presenting to PCH February 2014–January 2015.

CDC = Centers for Disease Control and Prevention. Case definition: AFP with MRI lesions in the spinal cord largely restricted to gray matter in patients <21 years in the United States August 1, 2014–December 31, 2014.

CSF = cerebrospinal fluid; WBCs = white blood cells; NR = not reported.

図 3 運動麻痺



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

文献

1. Sejvar JJ, et al. Acute Flaccid Myelitis in the United States, August-December 2014: Results of Nationwide Surveillance. Clin Infect Dis 63:737-745, 2016.
2. van Haren K, et al. Acute Flaccid Myelitis of Unknown Etiology in California, 2012-2015. JAMA 314:2663-2671, 2015.
3. Messacar K, et al. A cluster of acute flaccid paralysis and cranial nerve dysfunction temporally associated with an outbreak of enterovirus D68 in children in Colorado, USA. Lancet 385:1662-1671, 2015.

8. 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の検査

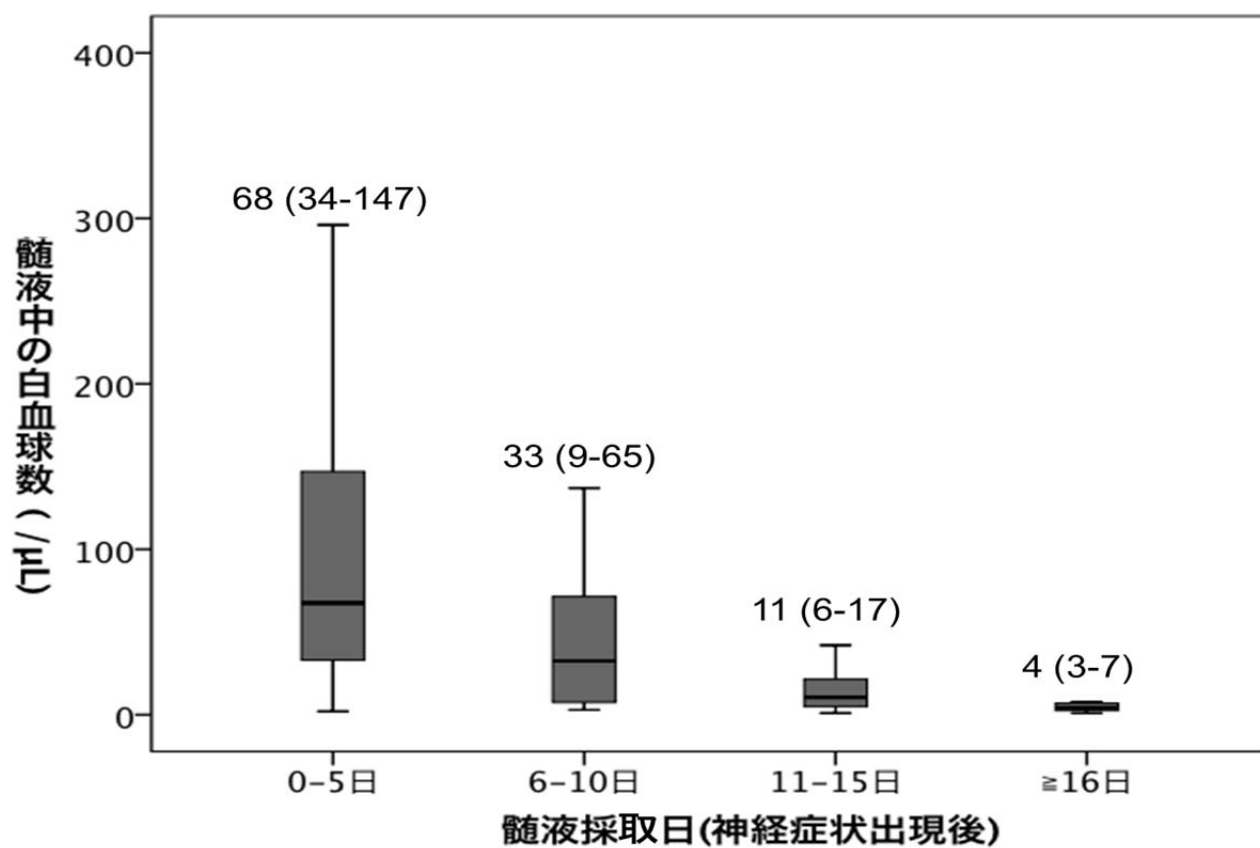
- 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) では、ほぼ全例に髄液検査で単核球優位の白血球増多がみられる。ただし、細胞数が発症早期ほど高く、経時的に低下し、麻痺の発症16日以降には正常化する。
- 抗アクアポリン4 (AQP4) 抗体は陰性であるが、抗糖脂質抗体が陽性となることがある。

画像検査 (9項)・電気生理学的検査 (10項) 以外のAFMに特徴的な検査所見を以下に示す。一般的な血液検査や尿検査でAFMに特徴的、特異的な所見は今のところない。

1. 髄液検査：74～85%に髄液細胞数増多、46～48%に髄液蛋白上昇が認められる。日本の報告では麻痺症状出現から髄液検査までの日数で髄液細胞数は異なっており、0～5日、6～10日、11～15日でそれぞれ中央値68/ μ L (IQR 34～147)、33 (IQR 9～65)、11 (IQR 6～17) と徐々に低下し、16日以降では4 (IQR 3～7) と正常化した。麻痺出現後5日以内に行われた髄液検査ではほぼ全例 (95%) で髄液細胞数増多が見られる。髄液細胞数が1,000/ μ L を超えた症例は報告されていない。髄液細胞の分類は単核球 (リンパ球) 優位である。ミエリン塩基性蛋白の上昇 (>102 pg/mL) は1割程度の症例に、IgGインデックスの上昇 (>0.85) は2割程度に見られる。
2. 免疫学的検査：視神経脊髄炎やその他の急性脱髄性症候群で上昇することが知られている抗アクアポリン4 (aquaporin 4; AQP4) 抗体と抗ミエリンオリゴデンドロサイト糖蛋白 (myelin oligodendrocyte glycoprotein; MOG) 抗体が陽性となることはない。ギラン・バレー症候群やフィッシャー症候群で陽性となることが知られている抗糖脂質抗体のうち、抗GM1-IgG抗体と抗GQ1b-IgG抗体が陽性となることはないが、抗糖脂質抗体の網羅的検討^{1,2)}を行うと、約半数の症例で何らかの抗体が陽性となる。ただし、共通の抗原は見出されていない。

文献

1. Kusunoki S, et al. N-acetylgalactosaminyl GD1a is a target molecule for serum antibody in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 35:570–576, 1994.
2. Kusunoki S, et al. Binding of immunoglobulin G antibodies in Guillain-Barré syndrome sera to a mixture of GM1 and a phospholipid: possible clinical implications. *Muscle Nerve* 27:302–306, 2003.



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

図4 髄液採取日と髄液中の白血球数

9. 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) における画像検査

- 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の診断には脊髄 MRI の撮像が重要である。
- 発症後早期に頭部および全脊髄の MRI 検査を施行する。脊髄 MRI は矢状断像(スライス厚 3mm 以下) だけでなく横断像も撮像する必要がある。
- ガドリニウム造影を施行することが望ましい。初回検査で増強効果を認めない場合は、数日以内に造影を含めた再検査を行うことが望ましい。
- AFM の脊髄 MRI 所見では、T2 強調像で高信号を呈する長大な縦走病変と馬尾の造影効果とが特徴的である。
- 縦走病変の範囲と弛緩性麻痺の分布との間に乖離を認めることが稀でない。

AFM の診断には脊髄病変の存在を証明することが重要であり、脊髄 MRI が有用である。2015 年 8～12 月のエンテロウイルス D68 (EV-D68) 流行期に発症した 15 歳未満の AFM の 54 例についてその脊髄および脳 MRI 所見を検討した。

麻痺の発症後の初回 MRI で全例に T2 強調像で高信号を示す縦走病変を認めた(図 5)。縦走病変の範囲は、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 9 例、撮像が十分でないため特定できず 8 例であった。これらの結果から長大な縦走病変が AFM の特徴であると考えられた。また、AFM を疑う場合は、発症後早期に脊髄 MRI を撮像することにより診断の根拠を得ることができると考えられる。米国の報告でも、3 椎体レベル以上にわたる脊髄病変は 90～100%に認めたと記述されている⁹⁻¹²⁾。撮像条件としては各施設の小児用のルーチン検査プロトコルで支障ないと思われるが、①頭部および全脊髄の MRI 検査、②頭部の T2 強調横断像を含める、③脊髄の T2 強調矢状断像(スライス厚 3mm 以下) および T2 強調横断像、の全てを含むことが必要である。

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。発症後早期の画像では、病変は左右対称性で、前角にやや明瞭である傾向はあるが広範で境界がやや不明瞭な病変を呈した(図 5、図 6)。発症から時間が経過するにつれて病変は前角に局限するようになり、しばしば左右差を認めるようになった(図 6)。このような経時的な画像所見の変化は、米国での EV-D68 流行期の AFM でも報告されており、AFM に共通した所見であると思われる^{7, 8)}。

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。初回に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。造影効果は麻痺の出現に数日程度遅れて出現する傾向を認めた(表 9)。麻痺出現後 0～2 日では、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 日以降では造影効果が極めて高率であった(図 7)。したがって、AFM を疑った場合には脊髄 MRI を撮像する際にガドリニウム造影を施行することが望ましい。初回の検査で造影効果を認めない場合でも、数日以内に造影を含めた再検査が望ましい。

脳の MRI は 50 例で施行され、22 例に脊髄から連続する脳幹病変を認めた。脳幹病変の範囲は、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。米国の報告では脳幹病変の合併率は 35～75%であり、我々の調査結果と類似していた⁷⁾。

病変の範囲と麻痺の分布との関係を表 10 に示す。病変を全脊髄またはほぼ全脊髄に認めた 26 例

では、6例が四肢麻痺である一方で7例は単麻痺であった。このように、縦走病変の広がりとは麻痺の分布との間には乖離を認めることが稀でなかった。しかし脊髄病変の上端より頭側の脊髄レベルに相当する範囲に麻痺を認めた症例はなかった。

髄内の病変分布と麻痺の分布との関係を表11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なかった。この結果は、髄内の病変分布が広範であるほど神経症状が重篤である可能性を示唆する。

長大な脊髄病変の鑑別診断には、横断性脊髄炎¹⁵⁾、視神経脊髄炎関連疾患^{16,17)}、SLEなどの自己免疫疾患¹⁸⁾、脊髄梗塞^{14,19)}など多くの疾患が挙げられる。脊髄MRI所見は類似している点も多く、画像所見のみで鑑別をすることは必ずしも容易であるとは限らない。したがって、診断にあたっては画像所見のみならず、臨床症状やその時間経過、血液検査や電気生理学的検査の結果などを十分に検討し、総合的に判断しなければならない。

AFMの原因となるウイルスはEV-D68以外に、ポリオウイルス²⁰⁾、Enterovirus A71 (EV-A71)などの非ポリオエンテロウイルス属^{1,2)}、ウエストナイルウイルス⁵⁾、水痘帯状疱疹ウイルス¹³⁾、EBウイルス⁹⁾などが挙げられる。これらのウイルスによる急性弛緩性麻痺の脊髄MRI所見は、EV-D68と同様に長大な縦走病変を呈することが報告されている^{3,4)}。現時点では原因となったウイルスによってAFMの画像所見に明らかな相違があるという報告はない。したがって、総合的にAFMと診断した場合の病原ウイルスの同定には、ウイルス学的検査が必要である。AFMを疑った症例では、ウイルス学的検査のために血液・髄液・呼吸器由来検体（後鼻腔ぬぐい液、咽頭ぬぐい液、後鼻腔吸引液、下気道由来検体、気管内吸引液等）・尿・便を発症後早期に採取し保存しておくことが重要である。

文献

1. Huang CC, et al. Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection. *N Engl J Med* 341(13):936-42, 1999.
2. Ooi MH, et al. Clinical features, diagnosis, and management of enterovirus 71. *Lancet Neurol* 9(11):1097-105, 2010.
3. Chen CY, et al. Acute flaccid paralysis in infants and young children with enterovirus 71 infection: MR imaging findings and clinical correlates. *Am J Neuroradiol* 22(1):200-5, 2001.
4. DeVries AS, et al. Vaccine-derived poliomyelitis 12 years after infection in Minnesota. *N Engl J Med* 364(24):2316-23, 2011.
5. Jeha LE, et al. West Nile virus infection: a new acute paralytic illness. *Neurology* 61(1):55-9, 2003.
6. Sanefuji M, et al. Epstein-Barr virus-associated meningoencephalomyelitis: intrathecal reactivation of the virus in an immunocompetent child. *J Child Neurol* 23(9):1072-7, 2008.
7. Messacar K, et al. Acute flaccid myelitis: A clinical review of US cases 2012-2015. *Ann Neurol* 80(3):326-38, 2016.
8. Maloney JA, et al. MRI findings in children with acute flaccid paralysis and cranial nerve dysfunction occurring during the 2014 enterovirus D68 outbreak. *Am J Neuroradiol* 36(2):245-50, 2015.
9. Van Haren K, et al. Acute flaccid myelitis of unknown etiology in California, 2012–2015. *JAMA* 314:

2663–2671, 2015.

10. Messacar K, et al. A cluster of acute flaccid paralysis and cranial nerve dysfunction temporally associated with an outbreak of enterovirus D68 in children in Colorado, USA. *Lancet* 385:1662–1671, 2015.
11. Sejvar JJ, et al. Acute flaccid myelitis in the United States, August–December 2014: results of nation-wide surveillance. *Clin Infect Dis* 63(6):737-745, 2016.
12. Nelson GR, et al. Recognition and management of acute flaccid myelitis in children. *Pediatr Neurol* 55:17–21, 2016.
13. Wang Y, et al. Acute longitudinal and hemorrhagic myelitis caused by varicella-zoster virus in an immunocompetent adolescent. *Neurologist* 19(4):93-5, 2015.
14. Weidauer S, et al. Magnetic Resonance Imaging and Clinical Features in Acute and Subacute Myelopathies. *Clin Neuroradiol* 27(4):417-433, 2017.
15. Absoud M, et al. Pediatric transverse myelitis. *Neurology* 87(9 Suppl 2):S46-52, 2016.
16. Kim HJ, et al. MRI characteristics of neuromyelitis optica spectrum disorder: an international update. *Neurology* 84(11):1165-73, 2015.
17. Lechner C, et al. Antibodies to MOG and AQP4 in children with neuromyelitis optica and limited forms of the disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 87(8):897-905, 2016.
18. Kimura KY, et al. Systemic lupus erythematosus related transverse myelitis presenting longitudinal involvement of the spinal cord. *Intern Med* 41(2):156-6, 2002.
19. AbdelRazek MA, et al. Fibrocartilaginous embolism: a comprehensive review of an under-studied cause of spinal cord infarction and proposed diagnostic criteria. *J Spinal Cord Med* 39(2):146-54, 2016.
20. Cherry JD, et al. Enteroviruses, parechoviruses, and saffold viruses. In. Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL, Steinbach WJ, Hotes PJ, editors. *Feigin & Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. seventh edition. Elsevier Saunders: Philadelphia: pp 2051-2109, 2014.

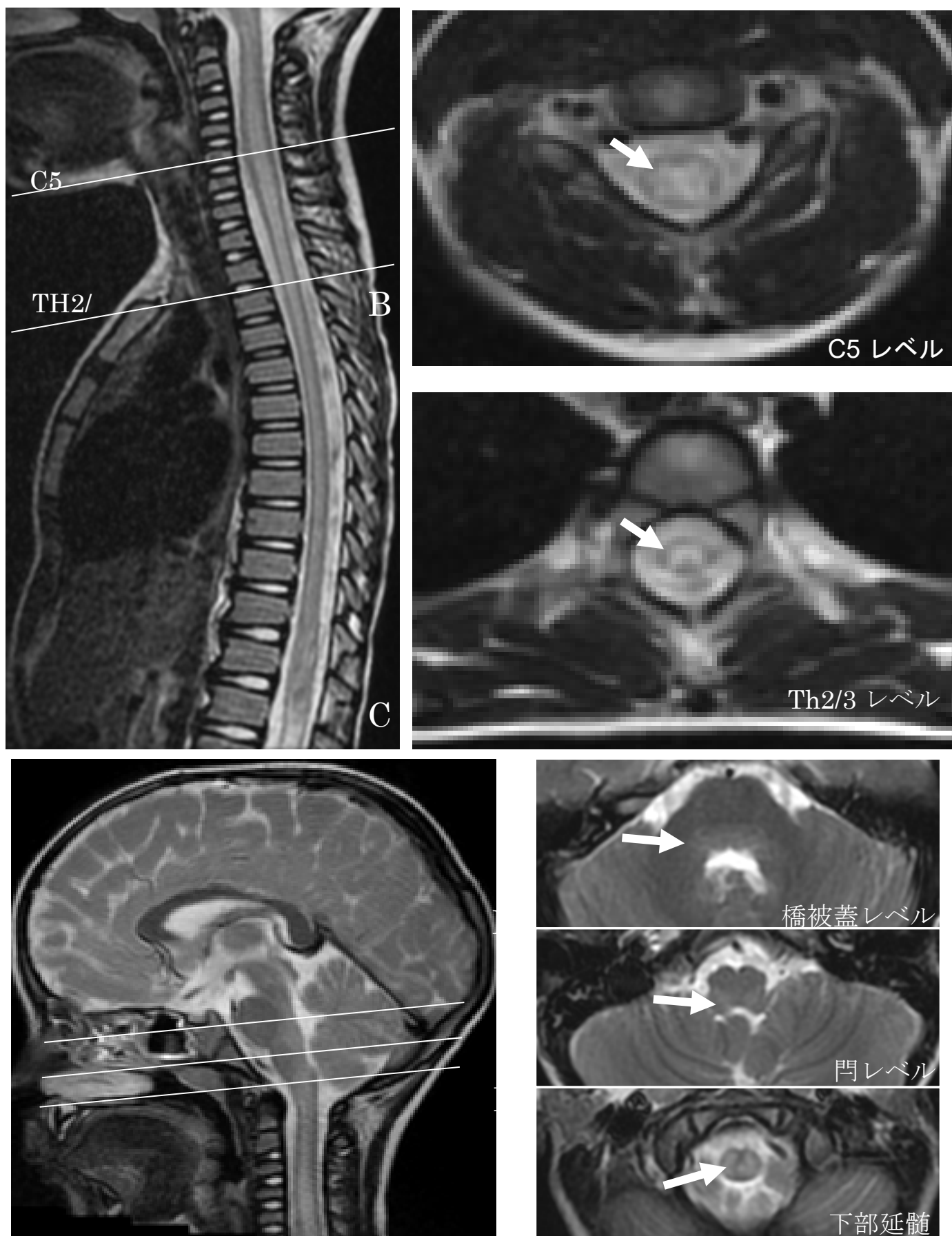


図 5

図 5. 急性期の脊髄および頭部 MRI 所見（5 歳児、麻痺発症後 2 日）

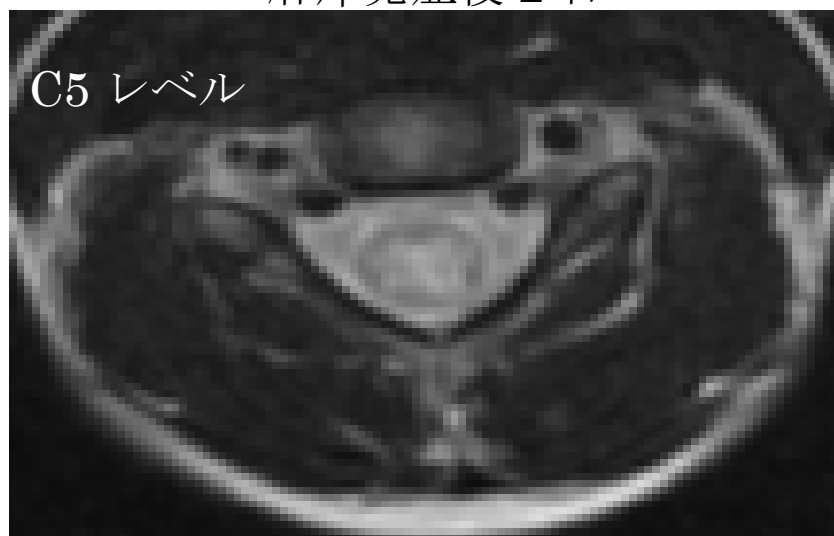
A～C. 脊髄 MRI（T2 強調像）

矢状断（A）では、脳幹から仙髄まで連続した高信号を呈する病変を認める。水平断（B・C）では、髄内の灰白質および白質に高信号を呈する病変を認める（矢印）。

D～G. 頭部 MRI（T2 強調像）

矢状断（D）では、脊髄から連続した高信号を呈する病変を認める。水平断（E～G）では灰白質に高信号を呈する病変を認める（矢印）。

麻痺発症後 2 日



麻痺発症後 23 日

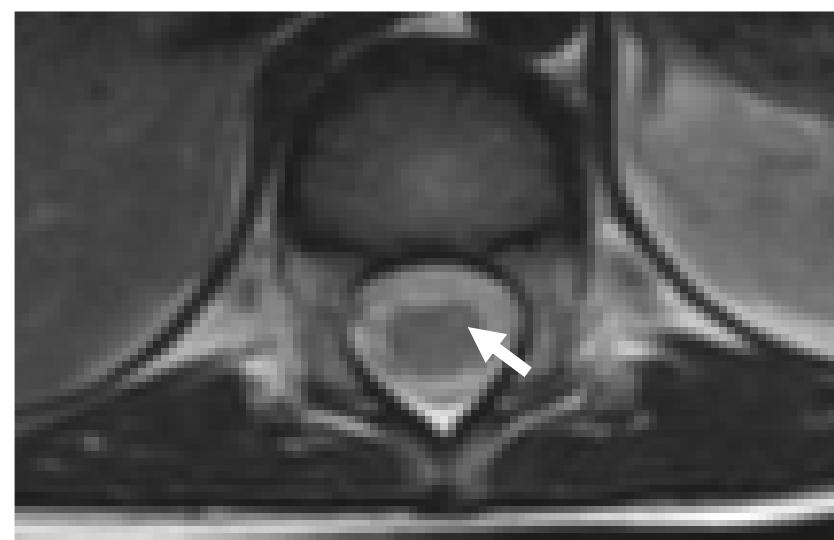
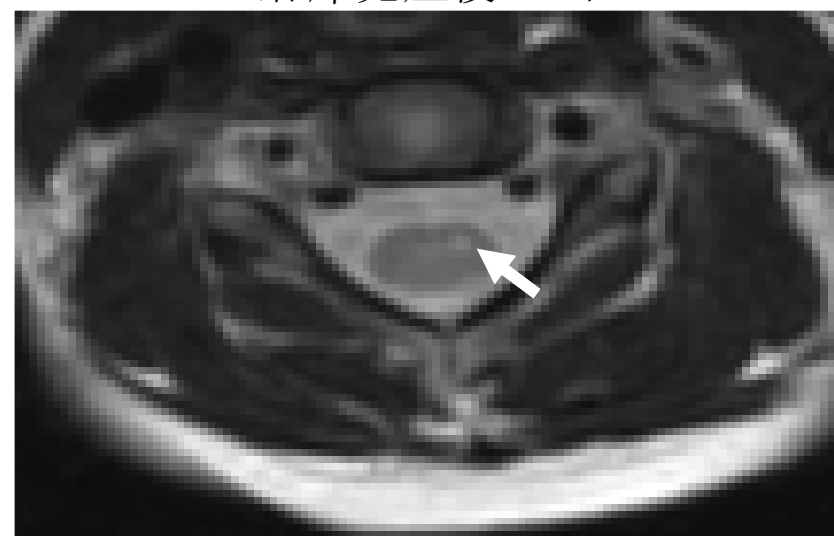
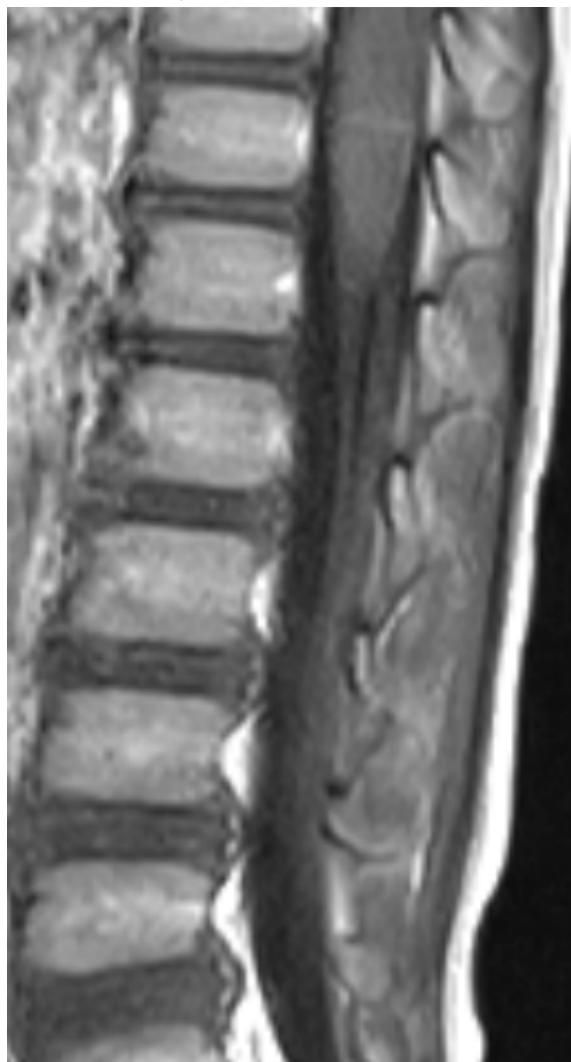


図 6

図 6. 髄内病変の経時的変化（5 歳児、T2 強調像）

麻痺発症後 2 日（左）では、両側性に灰白質および白質に広範な高信号を呈する病変を認める。麻痺発症後 23 日（右）では、高信号を呈する病変は左の前角に局限している（矢印）。

麻痺発症後 0 日



麻痺発症後 20 日

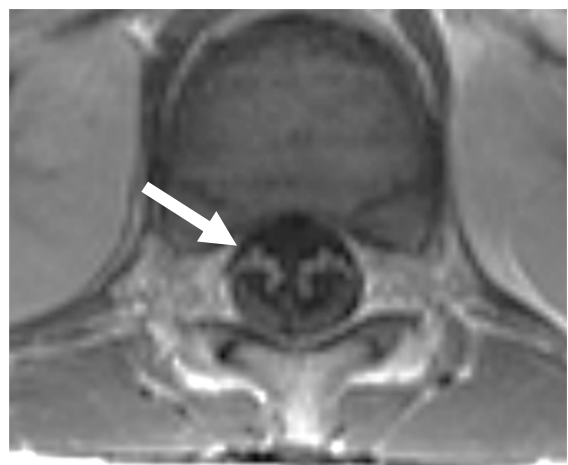
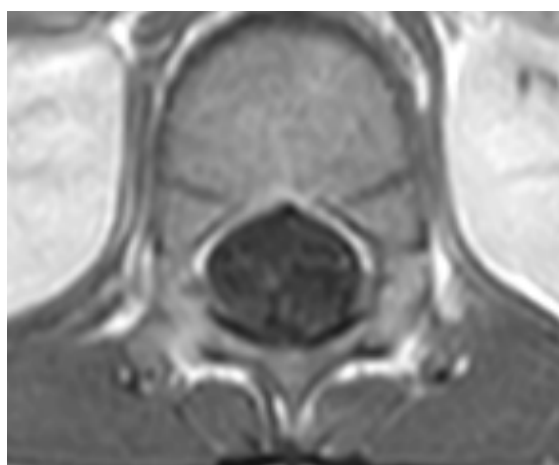
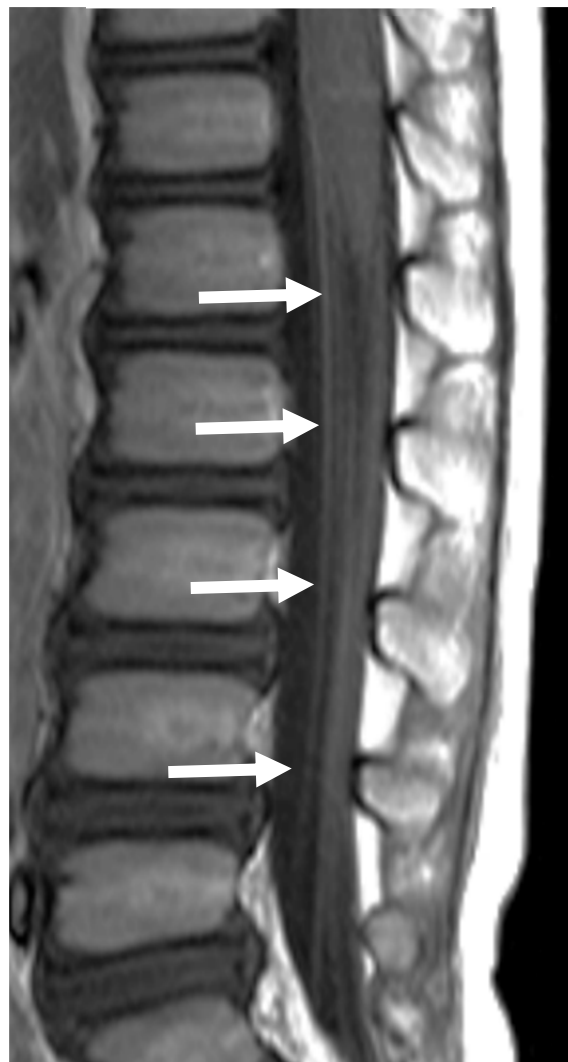


図 7

図 7. ガドリニウム造影効果の経時的変化（4 歳児、ガドリニウム造影 T1 強調像）

麻痺発症後 0 日（左）では、馬尾に造影効果を認めない。麻痺発症後 20 日（右）では、馬尾前根に造影効果を認める（矢印）。

表 9. 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	8
造影効果なし	6	1	0	0	1	0

表10. 脊髄病変の範囲と麻痺の分布

	全脊髄または		頸胸髄または		特定できず
	ほぼ全脊髄	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11. 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

10. 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の電気生理学的検査

- 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) では発症早期より罹患肢の運動神経障害を認める。
- 神経伝導検査において、罹患肢では M 波の導出不能、または伝導速度の低下を伴わない M 波の振幅低下を高率に認める。また、F 波の出現頻度の低下を高率に認める。
- M 波と F 波の異常は発症早期より同時に認められる。
- M 波異常は遅れて出現することもある。
- M 波と F 波は AFM の神経学的予後の予測因子として有用である。

1) 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) 患者の電気生理学的特徴

急性弛緩性脊髄炎 (AFM) 患者では、罹患肢において、感覚神経障害を伴わない運動神経単独の障害を高率に認める (図 8)。全国調査では発症 14 病日以内の症例の 79% で、M 波の導出不能、または伝導速度の低下を伴わない M 波の振幅低下を認めた。また、罹患肢の F 波の出現頻度の低下を 78% に認めた。

発症 14 病日以内の症例では、全例で M 波の振幅低下または F 波の異常を認め、両者の異常を 60% に認めた。この電気生理学的特徴は海外の症例でも認められる^{1,2,3)}。

AFM 患者の針筋電図に関しては、全国調査で早期に実施されたものはなかった。海外では、針筋電図所見は神経原性変化を示す所見が報告されている^{2,3)}。また、全国調査での体性感覚誘発電位の実施例は 3 例であり、2 例で潜時の軽度延長が示された。

2) 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) 患者の電気生理学的検査の時期

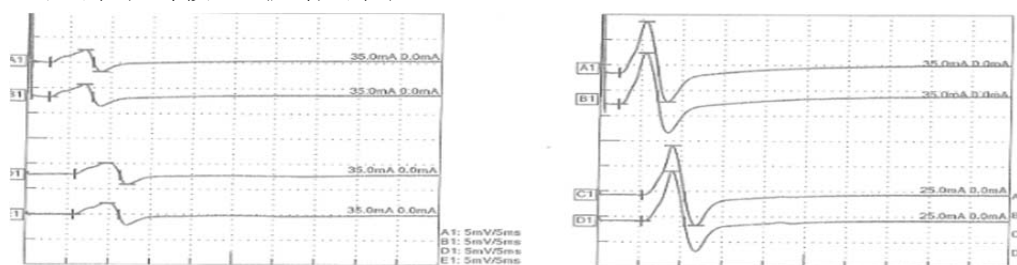
急性弛緩性脊髄炎 (AFM) 患者では発症早期より電気生理学的所見の異常を認める。全国調査では、発症 7 病日以内の症例では F 波の異常を 86%、M 波の異常を 67% に認めた。ただし、発症 7 病日以内の 21 例中 3 例で、F 波の異常を認めず、M 波の異常を認めており、両者の検査はともに行うことが望ましい。

M 波異常は F 波異常に遅れて出現することもある。全国調査では M 波の異常検出率は検査時期が遅くなるにつれて高くなり、M 波の振幅が経過中に低下した症例を認めた。このため、発症早期の電気生理学的検査で異常がない場合でも症状が進行する場合は、再検査を行うことが考慮される。

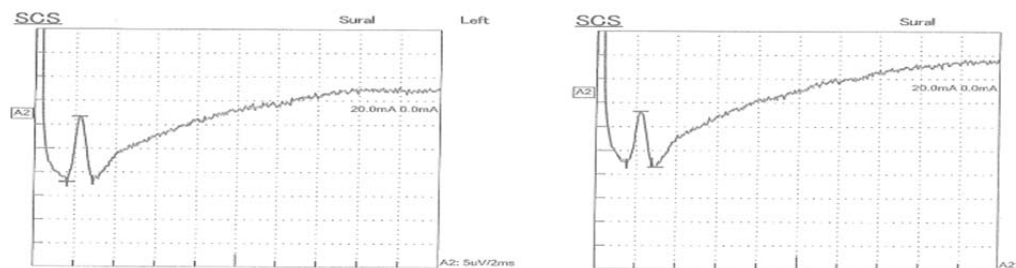
3) 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) 患者における電気生理学的検査の意義

F 波と M 波は急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の神経学的予後の予測因子として有用と考えられる。全国調査では、「初回検査で F 波が正常である」ことは神経学的予後良好因子であった。一方、初回検査で M 波の異常を認めた肢は、有意に回復時の筋力が低いことが示された。F 波の異常は運動神経傷害の早期指標と考えられ、M 波の異常は運動神経軸索傷害の重症度の指標と考えられる。

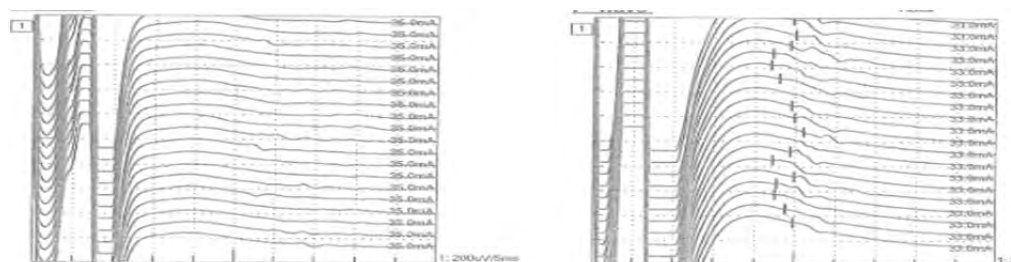
運動神経伝導検査（脛骨神経）



感覚神経伝導検査（腓骨神経）



F 波（脛骨神経）



患側

健側

図 8 急性弛緩性脊髄炎の電気生理学的検査（1歳女児）

文献

1. Olive G, et al. Acute flaccid weakness with myelopathy and peripheral nerve involvement in 2 children: Recent characterization of a previously observed phenomenon. Eur J Paediatr Neurol 20:948-952, 2016.
2. Hovden IA, et al. Electrodiagnostic findings in acute flaccid myelitis related to enterovirus D68. Muscle Nerve 52:909-10, 2015.
3. Messacar K, et al. A cluster of acute flaccid paralysis and cranial nerve dysfunction temporally associated with an outbreak of enterovirus D68 in children in Colorado, USA. Lancet 385:1662-71, 2015.

1 1. 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の治療

- 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) に対して、今のところ著効する治療はなく、対症療法、支持療法を中心に行う。
- 静注免疫グロブリンの投与は試みられてよい治療法である。

治療として、静注免疫グロブリン投与、血漿交換、静注ステロイド、抗ウイルス薬の投与が行われる^{1,2)}。日本の報告では、免疫性中枢性・末梢性神経疾患で用いられるメチルプレドニゾロンによるステロイドパルス療法と経静脈的免疫グロブリン大量療法がそれぞれ7～8割の症例で行われていた (図9)。抗ウイルス薬は、単純ヘルペスウイルスまたは水痘帯状疱疹ウイルス感染症を想定して、アシクロビルの投与が行われていた。これまでのところ、これらの治療が奏効するという事実は得られていない。一方で、これらの治療が症状を増悪させるなど不利益をもたらす明確な証拠もない。

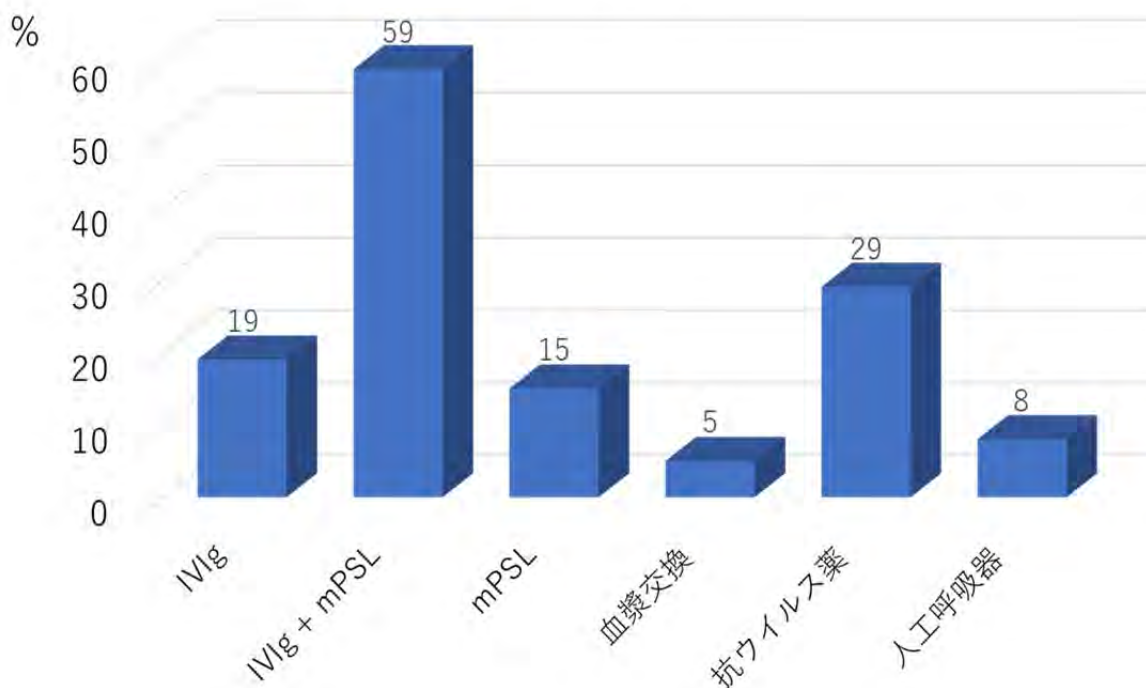
新生仔マウスへのエンテロウイルスD68 (EV-D68) の感染実験において、免疫グロブリンは麻痺を軽減しウイルス量を減らし、反対にデキサメサゾン麻痺を増悪させ、ウイルス量と死亡率をあげている³⁾。静注免疫グロブリンはEV-D68に対する中和抗体を含んでいる可能性がある (日本では未確認)⁴⁾。

日本の報告では、麻痺に先行した喘息症状に対してステロイドパルス療法が行われ、麻痺の回復期にも血液中のウイルスが検出された1例があるが、予後予測因子の解析では、静注免疫グロブリンと静注ステロイドいずれの治療の選択および開始時期も予後に影響を与えていない。AFMの診療を行う上で、病初期に、直ちに正確に急性横断性脊髄炎、視神経脊髄炎やその他の急性脱髄性症候群を鑑別することは困難であるため、これらの治療は容認されるべきと考えられる。

支持療法として、気道症状が強い場合の呼吸管理が重要である。8～34%で気管内挿管・人工呼吸器によるサポートが行われていた。早期にリハビリテーションを開始する。

回復期では神経移行術などの機能再建術が行われることもある。手術のタイミングが重要となるため機会を逸しないようにする^{5,6)}。

図9 治療の種類



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

文献

1. Sejvar JJ, et al. Acute Flaccid Myelitis in the United States, August-December 2014: Results of Nationwide Surveillance. Clin Infect Dis 63:737-745, 2016.
2. van Haren K, et al. Acute Flaccid Myelitis of Unknown Etiology in California, 2012-2015. JAMA 314:2663-2671, 2015.
3. Hixon AM, Clarke P, Tyler KL. Evaluating treatment efficacy in a mouse model of enterovirus D68-associated paralytic myelitis. J Infect Dis 216:1245-1253, 2017.
4. Zhang Y, et al. Neutralization of Enterovirus D68 isolated from the 2014 US outbreak by commercial intravenous immune globulin products. J Clin Virol 69:172-175, 2015.
5. Funahashi S, et al. Restoration of shoulder function and elbow flexion by nerve transfer for poliomyelitis-like paralysis caused by enterovirus 71 infection. J Bone Joint Surg Br 89:246-248, 2007.
6. Satbhai NG, et al. Restoration of prehensile function for motor paralysis in Hopkins syndrome: case report. J Hand Surg Am 39:312-316, 2014.

1 2. 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の転帰・予後

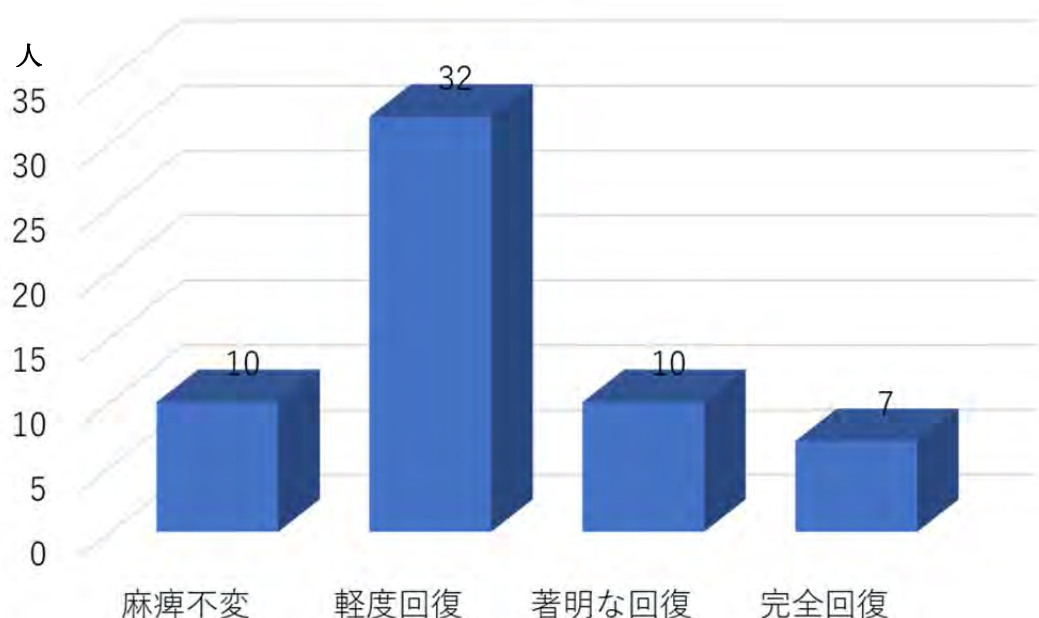
- 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の患者の多くで運動麻痺と筋萎縮が残存する。
- 予後予測因子は治療前の徒手筋力テスト、F波検査、エンテロウイルス (EV-D68) の検出である。

運動麻痺は改善するものの、最終的に75～90%の患者で様々な程度の筋力低下が残存する（中央値6か月以上のフォローアップ期間）¹⁻³⁾。遠位筋は近位筋に比べ筋力が回復しやすい。筋力の改善は主に6か月以内に見られるが、12か月以内はさらに改善することもある。麻痺肢には著しい筋萎縮が見られる。一方、膀胱直腸障害や意識障害、感覚障害といった他の神経症候は多くで完全に回復する。

本研究班の報告では、最終フォローアップ時における運動麻痺に関して、筋力の完全回復が12%、著明な回復（徒手筋力テスト（Manual Muscle Test ; MMT）が4またはMMTスコア2以上改善）は17%、軽度の回復が54%、回復不良（麻痺不変）が17%に見られた。

前二者を転帰良好、後二者を転帰不良とした予後因子の解析では、治療前MMTが>3、F波正常、EV-D68陰性が予後良好な因子であったが、治療法の選択や開始時期は予後に影響しなかった。

図 10 予後



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

文献

1. Yea C, et al: Longitudinal Outcomes in the 2014 Acute Flaccid Paralysis Cluster in Canada. *J Child Neurol* 32:301-307, 2017.
2. Martin JA, et al: Outcomes of Colorado children with acute flaccid myelitis at 1 year. *Neurology* 89:129-137, 2017.
3. van Haren K, et al. Acute Flaccid Myelitis of Unknown Etiology in California, 2012-2015. *JAMA* 314:2663-2671, 2015.

急性弛緩性麻痺症例（2018 年）に関する臨床調査質問票

記載日時： 年 月 日

調査票とともに下記資料を添付して送ってください。（添付したものをチェック）

MRI 報告	MRI 画像（CD-ROM）	神経生理報告	神経生理データ
検査結果	病原体検索結果	予防接種記録	

基礎情報

- 年齢（麻痺発症時）： 歳 月
- 性別：
- 居住都道府県（麻痺発症時）： 都・道・府・県
- 最終臨床診断名：
- 神経・筋疾患既往：無し・不明・有り；病名 ()
- 基礎疾患
免疫不全状態（無し・不明・有り；病名 ()
ステロイド以外の免疫抑制剤使用（半年以内）（無し・不明・有り： 年 月 日～ 年 月 日）
全身投与ステロイド使用（半年以内）（無し・不明・有り： 年 月 日～ 年 月 日）
気管支喘息（無し・不明・有り）
その他（無し・不明・有り；病名 ()
- 急性弛緩性麻痺による入院歴：無し・不明・有り；初回入院した時期（ 年 月 日）
- 最終退院時期（ 年 月 日）（まだ入院中）
- この疾患による死亡：無し・不明・有り；有りなら死亡時期（ 年 月 日）
- 五類感染症「急性弛緩性麻痺（急性灰白髄炎を除く）」として管轄の保健所に届出：無し・有り

発症状況（麻痺症状が出現するまでの3週間以内のものとしてご記入ください）

- 前駆症状：無し 有りは以下に記載
呼吸器症状（無し・有り；咽頭痛・鼻汁・咳嗽・喘鳴）；あれば発症時期（ 年 月 日）
消化器症状（無し・有り；嘔吐・下痢・腹痛）；あれば発症時期（ 年 月 日）その他（無し・有り： ）；あれば発症時期（ 年 月 日）
- 発熱：無し・有り；あれば発症時期（ 年 月 日、最高体温 ()
- 麻痺出現時に罹患している病気：無し・有り；あれば疾患名（)

神経症状 麻痺発症日（ 年 月 日）

- 麻痺の部位：（回復時は、最も回復した時もしくは最後に確認した時を記載してください）

		右上肢	左上肢	右下肢	左下肢
麻痺の有無		無し・有り	無し・有り	無し・有り	無し・有り
ピーク時 MMT	(年 月 日)				
回復時 MMT	(年 月 日)				

徒手筋力テスト（MMT）は別表を参考に0～5の6段階でお答え下さい（MMT:manual muscle testing）

- 麻痺症状の発症様式：急性（24hr 以内、48hr 以内）・亜急性（72hr 以上）・慢性（1週間～）・不明
- 急性脳炎・脳症症状の有無（意識障害やけいれんなど）：無し・有り（症状：)
- 感覚障害：無し・有り（感覚の鈍麻・しびれや違和感等の異常感覚・痛み・その他 ()、部位 ()
- 脳神経症状：無し・有り（複視・顔面麻痺・球麻痺・その他 ()
- 小脳症状：無し・有り（具体的に ()
- 不随意運動：無し・有り（具体的に ()
- 膀胱直腸障害：無し・有り（尿閉・便失禁・肛門括約筋反射陰性・その他 ()
- 視神経障害：無し・有り（具体的に ()
- 深部腱反射：消失・減弱(部位：)・亢進(部位：)・正常・不明
- 呼吸筋麻痺：無し・有り（人工呼吸管理：無し・有り（ 年 月 日～ 年 月 日）
(まだ人工呼吸管理中)、気管切開：無し・有り（ 年 月 日）

病原体関連

1. ポリオウイルス検査実施: 無し・有り (1 回目便検体・2 回目便検体) 検査実施有りの場合、結果 (分離: 陽性・陰性・検査中、PCR: 陽性・陰性・検査中)
2. ポリオウイルス以外のエンテロウイルス検査実施: 無し・有り (便・血液・髄液・呼吸器検体; 方法: PCR・分離) 検査実施有りの場合、結果: 分離: 陽性<ウイルスの種類 () >・陰性・検査中; PCR: 陽性<ウイルスの種類 () >・陰性・検査中
3. 検出された 1・2 以外の病原体 (細菌・ウイルスを問わず): 無し・有り・未実施
 検査結果: (検査日: 年 月 日): 有り (病原体名:) (検出部位:) 検出方法 ()
 検査結果: (検査日: 年 月 日): 有り (病原体名:) (検出部位:) 検出方法 ()
 検査結果: (検査日: 年 月 日): 有り (病原体名:) (検出部位:) 検出方法 ()
 検査実施機関: 院内・外注検査会社・地方衛生研究所・国立感染症研究所・その他 ()
4. 病原体検索用の検体保存: 無し・有り

初回髄液検査 (検査日: 年 月 日)

1. 細胞数: / μ L (多形核白血球 %、単核球 %)
2. 蛋白: mg/dL
3. 糖: mg/dL
4. 再検結果 (年 月 日): 細胞数 / μ L (多形核白血球 %、単核球 %), 蛋白 mg/dL・未検査

画像検査 (匿名化した上で CD-ROM で情報の提供をお願いします)

1. 脳 MRI 検査: 無し・有り; あれば初回検査日 年 月 日、再検日 年 月 日
2. 脊髄 MRI 検査: 無し・有り; あれば初回検査日 年 月 日、再検日 年 月 日
3. Gd 造影検査: 無し・有り; あれば初回検査日 年 月 日、再検日 年 月 日

神経生理 (検査日: 年 月 日) (匿名化した上で検査報告書の添付をお願いします) 1.

- 神経伝導速度検査: 無し・有り; あれば初回検査日 年 月 日、再検日 年 月 日
 運動神経 感覚神経 F 波
2. 筋電図: 無し・有り; あれば初回検査日 年 月 日、再検日 年 月 日

治療方法 (該当の部分をチェックして下さい)

グロブリン製剤 (麻痺発症日を day0 として 日目から) mPSL パルス療法 (麻痺発症日を day0 として 日目から)
 血漿交換療法 (麻痺発症日を day0 として 日目から) ICU 管理
 人工呼吸管理 (麻痺発症日を day0 として 日目から) その他の治療 () (麻痺発症日を day0 として 日目から)
 治療していない

転帰 (再来なしあるいは転院の場合は、電話確認等でも構いません)

1. 全経過を通じた回復傾向: 無し・有り (軽度・中等度・著明)
2. 60 日目/最終診察時 (いずれかを○) の麻痺の予後: 改善無し 軽度改善 著明な改善 麻痺なし
3. 肢麻痺以外の神経症状残存: 無し 有り (症状:)

主治医 (記載者) の先生の連絡先

お名前: _____
 貴病院名: _____ 診療科名: _____
 メールアドレス: _____

以上です。ご協力どうもありがとうございました。

<表：徒手筋力テスト(MMT)>

5 (5 / 5) 正常	強い抵抗を加えても、完全に運動できる。 上肢・下肢：挙上可能
4 (4 / 5)	重力以上の抵抗を加えても肘関節あるいは膝関節の運動を起こすことができる。 上肢：挙上できるが弱い 下肢：膝立て可能・下腿を挙上できる
3 (3 / 5)	重力に拮抗して肘関節あるいは膝関節の運動を起せる。 上肢：ようやく挙上可能、保持は困難 下肢：膝立て可能、下腿の挙上は困難
2 (2 / 5)	重力を除外すれば、可動域で運動できる。 上肢・下肢：挙上できない(ベッド上で水平運動のみ)
1 (1 / 5)	筋収縮は見られるが、肘関節あるいは膝関節の動きが見られない。 上下肢：筋収縮のみ
0 (0 / 5)	筋収縮も見られない。(完全麻痺)

急性弛緩性麻痺症例(2015 年)に関する予後調査質問票

記載日時： 年 月 日

基礎情報

1. 年齢（麻痺発症時）： 歳 月； 年齢（現在）： 歳 月
2. 性別： _____
3. 麻痺発症日： 年 月 日
4. 退院日： 年 月 日
5. 現在の社会参加： 支援を要する/要しない；具体的に：特別支援学校/特別支援学級/ _____

治療

1. 急性期人工呼吸管理： 無し・有り（開始日：2015 年 月 日～ 日間）；呼吸器離脱：無し・有り；
気管切開術を要する： 無し・有り
2. 機能再建術： 無し・有り； 有りなら施行施設名： _____ 病院 _____ 科
 (a) 神経移行術：施行日（ 年 月 日）；部位：左/右 上肢/下肢
 (b) 遊離筋肉移植術/腱移行術：施行日（ 年 月 日）；部位：左/右 上肢/下肢
 機能再建術は有効であったか： 無効・有効；具体的に： _____

神経症状と予後

1. 四肢麻痺の部位：

		右上肢	左上肢	右下肢	左下肢
現在（最終確認時）麻痺の有無		無し/有り	無し/有り	無し/有り	無し/有り
現在（最終確認時）の MMT	(年 月)				
発症時（麻痺ピーク時）の MMT	(年 月)				

2. 現在（最終確認時）、その他の神経学的後遺症：無し・有り； 脳神経症状 感覚障害 膀胱直腸障害；
具体的に： _____

現在の ADL（各評価項目に最も近い内容に○を付けてください）

評価項目	点数	内容	ピーク時	最終確認時
食事	10	自立、自助具などの装着可、標準的時間内に食べ終える		
	5	部分介助（例えば、おかずを切って細かくしてもらう）		
	0	全介助		
車椅子から ベッドへの移動	15	自立、ブレーキ、フットレストの操作も含む		
	10	軽度の部分介助または監視を要する		
	5	座ることは可能であるがほぼ全介助		
	0	全介助または不可能		
整容	5	自立（洗面、整髪、歯磨き、髭剃り）		
	0	部分介助または不可能		
トイレ動作	10	自立（衣服の操作、後始末を含む）		
	5	部分介助、体を支える、衣服、後始末に介助を要する		
	0	全介助または不可能		
入浴	5	自立		
	0	部分介助または不可能		
歩行	15	45M 以上の歩行、補装具の使用の有無は問わず		
	10	45M 以上の介助歩行、歩行器の使用を含む		
	5	歩行不能の場合、車椅子にて 45M 以上の操作可能		
	0	上記以外		
階段昇降	10	自立、手すりなどの使用の有無は問わない		
	5	介助または監視を要する		
	0	不能		
着替え	10	自立、靴、ファスナー、装具の着脱を含む		
	5	部分介助、標準的な時間内、半分以上は自分で行える		
	0	上記以外		
排便コントロール	10	失禁なし、浣腸、座薬の取り扱いも可能		
	5	ときに失禁あり、浣腸、座薬の取り扱いに介助を要する		
	0	上記以外		
排尿コントロール	10	失禁なし、収尿器の取り扱いも可能		
	5	ときに失禁あり、収尿器の取り扱いに介助を要する		
	0	上記以外		

以上です。ご協力どうもありがとうございました。

記載者氏名：_____

所属：_____

連絡先(TEL)：_____

E-mail：_____

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

神経細胞表面の受容体に対する抗体が関与する自己免疫性脳炎の迅速診断法としてラット脳凍結組織を用いた免疫染色法（tissue based assay; TBA）を用いた抗神経細胞表面抗体スクリーニング法を開発した。本法は NMDA 受容体抗体以外の細胞表面抗体も検出することが可能であり、自己免疫性脳炎のスクリーニングと治療効果判定に極めて有用なバイオマーカーである。このほか、単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインの作成と、細菌性髄膜炎の起炎菌侵入門戸同定のための 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開発した。

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。

自己免疫性脳炎の診断と治療に対して臨床応用可能なバイオマーカーは確立されていないため、自施設においてラット脳凍結組織を用いた免疫染色法（tissue based assay; TBA）により抗神経細胞表面抗体をスクリーニングする手法を確立し、本手法が自己免疫性脳炎の診断および治療効果判定に対するバイオマーカーとして利用可能であるかを検討した。

このほか、単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインの作成と、細菌性髄膜炎の起炎菌侵入門戸同定のための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開発した。

B．研究方法

自施設で脳炎（疑い患者、脳脊髄炎などの準じた病態を含む）と臨床診断され、本年度に同意の得られた全患者を迅速抗体スクリーニングの対象とした。患者から採取した髄液検体に対して、6μm厚のラット脳凍結組織切片を作製して、患者髄液中の自己抗体を一次抗体、ビオチン化抗ヒトIgG抗体を二次抗体として免疫染色を施行し、ABC法を用いて可視化した。免疫染色陽性例については、cell-based assay（CBA）法を用いて、特異抗原を特定し確定診断をした。さらに、陽性例に対しては、希釈倍率法を用いた抗体価定量法（immunoreactivity-oriented antibody titration）を用いて、抗体価の経時的追跡による治療効果判定が可能かを検討した。

（倫理面への配慮）

日本大学医学部附属板橋病院の臨床研究審査会（承認番号: RK-170711-04）動物実験審査会（承認番号: AP17M049）で承認を受けている。

C．研究結果

対象として集積した脳炎患者は41例であった。全例にTBAを施行した結果、陽性を12%（5/41例）

に認めた。染色性はneuropil pattern 3例、cerebellar pattern 1例、astrocytic pattern 1例であり、CBAによりNMDA受容体抗体、GAD65抗体、AQP4抗体と各々確定診断を得た。スクリーニング結果判定までの中央値は3日（2-5日）であり、迅速な抗体診断が可能であった。また、NMDA受容体抗体陽性であった2例に対して経時的にimmunoreactivity-oriented antibody titrationで抗体価を追跡した結果、免疫療法による臨床症状の改善に伴い、抗体力価の低下を確認した。

D．考察

2007年Dalmauらにより原因不明であった脳炎患者から新規の細胞抗原表面抗体である抗NMDA受容体抗体の関与する脳炎が報告された。現在までにAMPA受容体、GABA受容体を含む10種類に及ぶ自己抗体の関与する脳炎が報告されている。自施設での脳炎患者に対して施行中である前向き研究の中間報告から、本手法は結果判定までの所用時間が約3日程度と早期診断が可能であり、またNMDA受容体抗体に加えてGAD抗体、AQP4抗体など神経細胞内抗体の検出も可能であった。治療経過に対する抗体力価の変化についても、治療バイオマーカーとして応用できる可能性があるため、さらに症例数を増やして検討していく予定である。

単純ヘルペス脳炎は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死亡率がきわめて高いことから単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインを作成した。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。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。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蒙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。

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 などの非侵襲的手法では病変を検出できないことがしばしばみられる。Ziostation を用いた非侵襲的骨病変同定法は菌の侵入門戸となる欠損孔の同定を容易にし、欠損孔の閉鎖による細菌性髄膜炎の根治につながる。再発を根治的に抑制することが患者転帰の改善、医療費の軽減につながると考える。

E . 結論

自己免疫介在性脳炎の診断と治療のためのバイオマーカーとして tissue based assay（TBA）を用いた神経細胞表面抗体の診断手法を開発した。同時に、単純ヘルペス脳炎の診療ガイドラインの作成、細菌性髄膜炎の起炎菌侵入門戸同定のためのデバイスの開発を行った。

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. A case of surgically cured, relapsed pneumococcal meningitis due to bone defects, non-invasively identified by three-dimensional multi-detector computed

- tomography. Intern Med 2016; 55: 3665-3669.
2. Takahashi K, Ogawa K, Ishikawa H, Morita A, Hara M, Minami M, Shiota H, Suzuki Y, Teramoto H, Ebashi M, Saito M, Ninomiya S, Akimoto T, Shiobara K, Mitsuke K, Kamei S. 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.
3. Takahashi T, Tamura M, Takasu T, Kamei S. Clinical and quantitative analysis of patients with crowned dens syndrome. J Neurol Sci. 2017; 376: 52-59.
4. Toi T, Nomura Y, Kishino A, Shigihara S, Oshima T, Ishikawa H, Kamei S, Miyazaki H. Repeated Attacks of Dizziness Caused by a Rare Mitochondrial Encephalomyopathy. J Int Adv Otol. 14:157-160, 2018.
5. Morita A, Ishihara M, Kamei S, Okuno H, Tanaka-Taya K, Oishi K, Morishima T. Nationwide survey of influenza-associated acute encephalopathy in Japanese adults. J Neurol Sci. 399:101-107, 2019.
6. 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 68:317-328, 2016.
7. 亀井聡:【感染症ガイドラインのすべて】日本神経感染症学会 細菌性髄膜炎診療ガイドライン. 化学療法の領域 32:762-769, 2016
8. 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 33:135-140, 2016. 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:129-138, 2016.
9. 石原正樹, 亀井聡:【多彩なヘルペスウイルス感染症-その診断と治療 up to date として-】ヘルペスウイルス感染症の診断と治療 内科領域のヘルペスウイルス感染症. Modern Physician 36:1265 - 1269, 2016
10. 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
11. 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.
12. 「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.
13. 亀井聡:【脳炎・脳症・脊髄症の新たな展開】単純ヘルペス脳炎診療ガイドライン 2017. 神経内科 89:282-289, 2018.
14. 森田昭彦, 亀井聡:【認知症トータルケア】代表的な認知症疾患 神経梅毒. 日本医師会雑誌 147:S125-S126, 2018.
15. 亀井聡:神経疾患治療ノート 脳膿瘍. Clinical Neuroscience 36:1110-1111, 2018.
16. 亀井聡:【痛み関連の神経内科疾患】脳炎. ペインクリニック 39:1145-1156, 2018.
17. 亀井聡:【ヘルペスウイルス感染症の最近の知見】単純ヘルペスウイルス 単純ヘルペス脳炎. 臨牀と研究 95:345-352, 2018.
18. 亀井聡:中枢神経系の細菌感染症. Neuroinfection 22: 77-82, 2018.

2. 学会発表

1. 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: 反回神経麻痺を呈したRamsay Hunt syndromeの58歳女性例 第216回日本神経学会関東・甲信越地方会, 2016.3.東京
2. 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: Tolosa-Hunt症候群様の症状で発症した悪性リンパ腫の1例 日本内科学会第626回関東地方会, 2016.9.東京
3. 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: 大脳白質病変の可逆性変化を呈した神経梅毒の一例 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会, 2016.10.金沢
4. 大野あゆみ, 石川晴美, 榎田幸, 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: 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 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会, 2016.10.金沢
5. 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: 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帰を得た結核性髄膜炎の1例 第21回日本神経感染症学会総会・学術大会, 2016.10.金沢
6. 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ピ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
7. 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
8. 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
9. 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: M OG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
10. 小川克彦, 鈴木裕, 須崎愛, 相馬正義, 亀井聡, 吉野篤緒: Streptococcus milleri感染による髄膜炎・硬膜下膿瘍の50歳女性例 第547回 日大医学会例会, 東京, 2017.12
11. 江橋桃子, 秋本高義, 原誠, 森田昭彦, 中嶋秀人, 辻村隆介, 本間琢, 亀井聡: 第119回関東臨床神経病理懇話会, 東京, 2018.7.
12. 原誠, 中嶋秀人, 秋本高義, 横田優樹, 江橋桃子, 石原正樹, 塩田宏嗣, 森田昭彦, 小川克彦, 亀井聡: 脳炎患者に対する抗神経細胞表面抗体の迅速スクリーニング診断. 第30回神経免疫学会学術集会, 郡山, 2018.9.
13. 横田優樹, 江橋桃子, 原誠, 石原正樹, 森田昭彦, 中嶋秀人, 楠進, 亀井聡: 多発脳脊髄神経麻痺を呈した抗Gal-C抗体陽性ニューロパチーの50歳代男性例. 第226回日本神経学会関東・甲信越地方会, 東京, 2018.9.
14. 中嶋秀人, 原誠, 溝口知孝, 秋本高義, 横田優樹, 江橋桃子, 石原正樹, 塩田宏嗣, 森田昭彦, 亀井聡: 抗NMDA受容体脳炎の長期転帰患者アンケート調査. 第30回神経免疫学会学術集会, 郡山, 2018.9.
15. 亀井聡: 次世代につなぐ脳炎の研究(会長講演). 第23回日本神経感染症学会総会・学術大会, 東京, 2018.10.
16. 亀井聡: 成人脳炎・脳症における対応—ガイドラインを中心に—(企画セッション12 急性脳炎・脳症への対応). 第52回日本てんかん学会学術集会, 横浜, 2018.10.
17. 森田昭彦, 石原正樹, 亀井聡: 脳炎・脳症・脊髄炎の動向-シンポジウム4 インフルエンザ脳症成人例の解析. 第36回日本神経治療学会学術集会, 東京, 2018.11.
18. 二宮智子, 石川晴美, 秋本高義, 塩田宏嗣, 中嶋秀人, 亀井聡, 渡辺裕樹, 林伸一, 神宝知行, 本村正勝: 3,4-DAPが奏効し癌治療を継続しえたクリーゼを伴うLambert-Eaton筋無力症候群合併肺小細胞癌の1例. 第36回日本神経治療学会学術集会, 東京, 2018.11.
19. 溝口知孝, 原誠, 森田昭彦, 中嶋秀人, 亀井聡, 渡邊美帆, 櫻井健一: 歩行失調を契機に乳癌の再発が診断されたZic4抗体陽性の80歳代女性例. 第36回日本神経治療学会学術集会, 東京, 2018.11.
20. 秋本高義, 溝口知孝, 原誠, 畑中善成, 阿部雅紀, 斉藤友衣子, 内山真, 亀井聡: 支離滅裂な独語を呈し辺縁系脳炎と鑑別を要した甲状腺クリーゼの20歳台女性例. 第227回日本神経学会関東・甲信越地方会, 東京, 2018.12

(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

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
（総合）研究報告書

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（平成 28 年度）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（平成 28 年度）研究分担者（平成 29-30 年度） 八代将登（岡山大学病院小児科 助教）

研究要旨

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、急性期の検体採取の必要性、複数検体の採取、採取検体の適切な保存、に重点をおき指導を行った。正確な検体採取にはコメディカルとの連携が不可欠であること、および EVD68 感染症の早期診断にはアレルギー医の役割が重要であることが判明した。

1, 当院での検査系の確立

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・プライマーを作成した。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。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。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。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。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。

2, 診断に有用な因子について

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、岡山・香川地区の小児感染症基幹病院、岡山地区のアレルギー疾患基幹病院において急性脳炎/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。

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

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下図の3点を事前に把握しておくことが重要であると考えた

適切な検体採取に必要な点

慌ただしい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

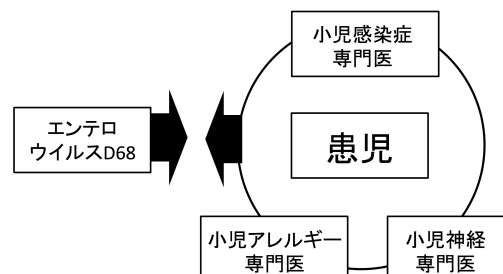
また EVD68 感染症は、急性弛緩性麻痺 (AFP) を併発する特性に加えて、重度呼吸器症状を併発する特性も有しているため、喘息発作と診断されアレルギー医によって診療を受けることが多い。また、EVD68 はほかのエンテロウイルスと異なり腸管ではなく気道で増殖しやすい特性を有しており、診断には小児感染症医の役割が大きい。したがって、EVD68 診療においては各専門分野における役割があり、各々が連携を行う必要がある。

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。EVD68 診療には小児神経科医、小児感染症医、小児アレルギー医が連携することで流行の早期把握と、重症症例診療の対策につながることを期待される(下図)。

EVD68診療には各専門分野の連携が必要



F. 研究発表

1. 論文発表

- 1, Hatayama K, Yashiro M, Morishima T. et al: Combined effect of anti-high-mobility group box-1 monoclonal antibody and peramivir against influenza A virus-induced pneumonia in mice. 2019 Mar; 91 (3):361-369
- 2, Goto S, Yashiro M, Morishima T. et al: Epidemiology of Pediatric Acute Encephalitis/Encephalopathy in Japan. Acta Med Okayama. 2018 Aug; 72(4):351-357
- 3, Fujii Y, Yashiro M, Morishima T. et al: Serum Procalcitonin Levels in Acute Encephalopathy with Biphasic Seizures and Late Reduced Diffusion. Dis Markers. 2018 Mar.
- 4, 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
- 5, 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 Aug
- 6, 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

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

8, 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.

9, 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.

10, 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：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

2, 八代将登：エンテロウイルスD68感染症における小児アレルギー医の役割 第55回日本小児アレルギー学会総会学術集会 ミニ

シンポジウム 2019年10月/岡山

3, 八代将登：病原体検索のための急性期検体採取に対する当院の取り組み 第48回日本小児感染症学会 一般演題 2019年11月/福岡

4, 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

5, 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

6, 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

7, 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1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

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
（総合）研究報告書

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

吉田和央（国立感染症研究所 ウイルス第二部）

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

急性弛緩性麻痺（AFP）・急性弛緩性脊髄炎（AFM）症例の一部に由来する咽頭拭い液等の臨床検体から、エンテロウイルスD68（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AFP・AFM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発症期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AFPを含む症例から分離されたEV-D68株は、いずれもEV-D68遺伝子型Clade Bに属していた。EV-D68分離株は、乳のみマウスに特徴的な弛緩性麻痺を誘導し、抗EV-D68抗血清により中和された。

日本で使用されている9種類の国内免疫グロブリン製剤は、いずれも、国内EV-D68分離株に対する中和抗体を有していた。すべての製剤が高いEV-D68中和活性を示したことから、各製剤は、高力価のEV-D68中和抗体を含むことが明らかとなった。

2015年に発生したAFP・AFM症例の多発事例を受け、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。検査体制も含めた国内外の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」に反映させた。

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、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。また、EV-D68感染症の予防治療への応用の可能性を検討するため、日本で使用されている免疫グロブリン製剤中の、国内EV-D68分離株に対する中和抗体価を測定した。

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塩基配列解析を行った。2015年のEV-D68流行時に分離されたEV-D68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シングによる遺伝子解析を行った。

日本で使用されている代表的免疫グロブリン製剤9種類を購入し、2010年～2015年に日本で分離されたEV-D68分離株6株に対する中和抗体価を測定した。CPE発現を抑制するのに必要な免疫グロブリン製剤希釈倍率により、各製剤の抗EV-D68中和活性を評価した。

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サーベイランス体制の異同について整理した。

(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等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検出が可能なPan-enterovirus real-time PCR法を用いて、EV-D68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-enterovirus PCRの順に検出感度が高かった。AFP症例に由来する臨床検体の多くは、EV-D68特異的RT-PCR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。島根県で、2015年のEV-D68流行時に分離されたEV-D68分離株は、次世代シーケンズにより、EV-D68遺伝子型Clade Bに属することが明らかとなった。

9種類の国内免疫グロブリン製剤は、いずれも、日本のEV-D68分離株6株に対する中和抗体を有していた。すべての製剤は、1024倍より高い希釈倍率で、EV-D68中和活性を示したことから、高力価のEV-D68中和抗体を含むことが明らかとなった。EV-D68遺伝子型と中和活性に顕著な相関は認められなかった。また、海外および国内の血液に由来する免疫グロブリン製剤間で、製剤中の中和抗体価およびEV-D68株間の中和活性の傾向に顕著な違いは認められなかった。

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、「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」の内容に反映させた。

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、麻痺発症後、時間を経たからの検体が多く認められた。呼吸器症状発症時には、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大きく低下する可能性が示唆された。また、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否定できない。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AFP症例の報告とともに、呼吸器、糞便、髄液検体を含む、迅速かつ適切な検体採取が重要となる。

本研究で使用した9種類の国内免疫グロブリン製剤は、いずれも、日本のEV-D68分離株に対する中和抗体を有していた。すべての製剤が高いEV-D68中和活性を示したことから、各製剤は、高力価のEV-D68中和抗体を含むことが明らかとなった。本研究により、国内で使用されている免疫グロブリン製剤が、抗EV-D68中和抗体を含むことが確認されたが、EV-D68感染症に対する免疫グロブリン製剤の有効性については、今後の検討が必要とされる。

E. 結論

AFP・AFM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AFP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急性期検体採取の必要性が示唆された。2015年の流行時にAFPを含む症例から分離されたEV-D68株について、ウイルス学および遺伝子解析を進めた。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。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抗血清により中和された。

本研究で使用した9種類の国内免疫グロブリン製剤は、いずれも、日本のEV-D68分離株に対する中和抗体を有していた。すべての製剤が高いEV-D68中和活性を示したことから、各製剤は、高力価のEV-D68中和抗体を含むことが明らかとなった。

2015年に発生したAFP症例の多発を受け、AFP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のため、感染症法による届出疾患としてAFP症例を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、「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。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Funakoshi Y, Ito K, Morino S, Kinoshita K, Morikawa Y, Kono T, Doan HY, Shimizu H, Hanaoka N, Konagaya M, Fujimoto T, Suzuki A,

- Chiba T, Akiba T, Tomaru Y, Watanabe K, Shimizu N. Enterovirus D68 respiratory infection in a children's hospital in Japan in 2015, *Pediatrics International* (in press) 2019
2. Okumura A, Mori H, Chong PF, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Tanaka-Taya K. Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study I. Serial MRI findings of acute flaccid myelitis during an outbreak of enterovirus D68 infection in Japan. *Brain & development* (in press) 2019
 3. 清水博之. 感染症法施行規則の一部改正 急性弛緩性麻痺(AFP; ポリオを除く)が五類感染症に追加. *ファルマシア* 55, 341, 2019
 4. 藤本嗣人、小長谷昌未、花岡希、清水博之. エンテロウイルス実験室診断の現状と課題. *病原微生物検出情報* 39: 98-99, 2018
 5. 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* 23, 62-66, 2018
 6. 清水博之. 「エンテロウイルス (ポリオウイルスを含む)」の項を担当、147-156、ウイルス検査法、日本臨床ウイルス学会、2018
 7. 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
 8. 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
 9. 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
 10. 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
 11. 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
 12. 清水博之. エンテロウイルス感染症. *医師会雑誌* 146, 259-263, 2017
 13. 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
 14. 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* 90: 10007-10021, 2016
 15. 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
 16. 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
 17. 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
 18. 清水博之. エンテロウイルス D68 型. *感染と消毒* 23 : 133-137, 2016
 19. 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
2. 学会発表
 1. Shimizu H. A cluster of cases with acute flaccid myelitis coincident with an enterovirus D68 outbreak in Japan, 2015 A respiratory “neurovirulent”? enterovirus. *International Workshop on Laboratory Diagnosis for Enterovirus*,

Taipei, Taiwan, 23 April, 2018

術大会、北九州、2017 年 10 月 14 日

2. Miyazaki M, Saito H, Shibata C, Yen DH, Arao Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Shimizu H, Nagata N. Development of a flaccid paralysis mouse model after infection with enterovirus D68. Europic 2018, Egmond aan Zee, The Netherlands, 3-7 June, 2018
3. Shimizu H. An Outbreak of Enterovirus D68 in August–December 2015 in Japan as an emerging “neurovirulent” enterovirus infection, Lessons Learned since 1998 Enterovirus A71 Epidemic in Taiwan Contributions and Implications. Taipei, Taiwan, 29 September, 2018
4. Saito H, Akino W, Sato H, Fujiya Y, Shibata C, Sato R, Shimizu H. Isolation of enterovirus D68 using suckling mice and the background. 乳飲みマウスによるエンテロウイルス D68 型の分離とその背景 (ポスター). 第 66 回日本ウイルス学会学術集会, 2018 年 10 月 28 日～30 日、京都
5. 斎藤博之、柴田ちひろ、佐藤寛子、清水博之. エンテロウイルス D68 型の乳飲みマウスでの分離例. 第 59 回日本臨床ウイルス学会、2018 年 6 月 10 日、大宮
6. 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
7. 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
8. 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
9. 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
10. 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
11. 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

特になし

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）
（総合）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

「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（平成 28-29 年度）田島 茂 国立感染症研究所ウイルス第一部 主任研究官
研究分担者（平成 30 年度）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（Japanese encephalitis, 以下 JE）およびダニ媒介脳炎（Tick-borne encephalitis, 以下 TBE）は、それぞれ、日本脳炎ウイルスおよびダニ媒介脳炎ウイルス感染による中枢神経感染症である。JE、TBE は、近年の日本における報告数は少ないものの、生命予後および神経学的予後不良の疾患である。JE および TBE に特徴的な症状や一般検査における特異的な異常所見は知られていないため、JE、TBE の診断は困難である。そのため、JE および TBE を診断するための検査が正確に実施されずに、JE および TBE が誤って「原因不明急性脳炎・脳症」と診断されている可能性が考えられる。そこで、本研究では、平成 28 年度から平成 30 年度の 3 年間にわたり、本研究班で解析を行った、原因不明急性脳炎・脳症症例に対して、JE および TBE を診断するための検査を実施した。結果、いずれの症例も、JE および TBE は否定的であると考えられた。しかし、今回検索を行ったのは、急性脳炎・脳症として届出されている症例の一部であるため、依然、正確に診断されていない JE、TBE 症例が存在する可能性が考えられる。JE、TBE とともに疾病負荷の大きい疾患であるが、有効なワクチンが開発されているため、JE、TBE を正確に診断しその報告数を把握することは予防医学の面において、重要である。また、2020 年に開催される東京オリンピック・パラリンピックでは多くの外国人が来日することが見込まれるため、日本における JE および TBE の発生数を正確に把握することは、公衆衛生面においても肝要である。さらに、本研究班に検体を提出した依頼医に JE および TBE の結果を伝えることで、臨床医へ JE および TBE に関する情報を発信することができる。正確に診断されていない JE および TBE 症例の検索を継続する意義は大きいと、本研究班における JE および TBE の検索を継続することは重要である。

A．研究目的

日本脳炎（Japanese encephalitis, 以下 JE）は、JEV（Japanese encephalitis virus, 以下 JEV）の感染による中枢神経感染症である。JEV はフラビウイルス科フラビウイルス属に分類され、主に、蚊（コガタアカイエカなど）による吸血により、ヒトに感染する。JEV は不顕性感染が多いことが知られている一方で、脳炎を発症した例では生命予後および生存例での神経学的予後は不良である。日本では、JEV に対するワクチン接種が行われており、近年の日本における JE の報告数は年間平均 4.5 例である（2009 年から 2018 年の 10 年間に 45 例の JE 患者が報告された）。

ダニ媒介脳炎（Tick-borne encephalitis, 以下 TBE）は、TBEV（Tick-borne encephalitis virus, 以下 TBEV）が感染することで生

じる中枢神経感染症である。TBEV も JEV と同様に、フラビウイルス科フラビウイルス属に分類され、ヒトは、主に、ダニ（マダニなど）に吸血されることで感染する。JEV 同様に、不顕性感染が多い一方で、脳炎発症例の生命予後および神経学的予後は不良である。日本ではこれまで 5 例の TBE 患者が報告されている。TBE に対するワクチンは海外では使用されているが、日本では認可されていない。

JE および TBE の診断に関して、JE や TBE に特徴的な症状や一般検査（血液検査、髄液検査、頭部 MRI 検査など）における特異的な異常所見は報告されていない。さらに、JE、TBE とともに近年の日本における報告数が少ないために、脳炎の鑑別疾患として挙がりにくい。そのために、JE および TBE を診断するための検査が正確に実施されずに、原因不明急性性脳

炎・脳症と診断されてしまっている可能性が考えられる。

そこで、本研究は、急性脳炎・脳症と診断された症例の中に、正確に診断されていないJEおよびTBEの症例が含まれていないかどうかを検索することを目的とした。

B．研究方法

1. JEV IgM捕捉ELISA

ELISA には、Dengue Virus IgM Capture DxSelect (Focus 社、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变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および髄液を 56 で 30 分間、非働化処理した後に、希釈液を用いて希釈し、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。

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 として算出した。それぞれの検体を 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 が 2.00 を越えれば陽性、2.00 を判定保留、2.00 未満を陰性と判定した。

2. 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、非働化処理した患者血清を希釈液(MEM に 2 %FBS を添加したもの)で 10 倍に希釈し、その後 2 倍段階希釈した。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 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 、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 、5 %CO₂ 下で 5 日間培養した。培養終了後、各 well に 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 に 1.0 ml ずつ加え 1 時間室温で静置した。水道水にて洗浄後、ブランク数を算定した。

攻撃ウイルス液に希釈液のみを加えた細胞のブランク数に比べ、50 %以上ブランク数が減少していた血清の希釈倍率の最大値の逆数を中和抗体価とした。

3. TBEV IgM 捕捉 ELISA

EIA TBE virus IgM キット (TestLine 社、Product Code: TBM096) を用いて、添付の指示書通りに行った。

患者検体は、検体量が十分である場合は 2 well ずつアプライし、2 well の Index の平均を当該検体の Index とした。検体量が十分でなかった場合には、1 well にアプライし、その well の Index を当該検体の Index 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

1. JEV IgM 捕捉 ELISA

平成 28 年度、29 年度、30 年度に、それぞれ、14 検体(5 人の患者から採取)、53 検体(21 人の患者から採取)、48 検体(21 人の患者から採取)を用いて JEV IgM 捕捉 ELISA を実施した。平成 29 年度の 1 検体(E23-2、急性期血清)および平成 30 年度の 1 検体(N17-2、急性期血清)が陽性を呈し、その他の検体の結果は全て陰性であった(表 1、表 2、表 3)。

2. JEV に対する中和試験

JEV IgM捕捉ELISAで陽性を示した検体(急性期血清)およびその回復期血清を用いて JEV に対する中和試験を実施した。平成 29 年度の検体(E23-2、急性期血清)および当該患者の回復期血清(E23-3)の JEV に対する中和抗体価は、それぞれ、160 倍と 80 倍であった(表 2)。また、平成 30 年度の検体(N17-2、急性期血清)およびその当該患者の回復期血清(N17-6)の JEV に対する中和抗体価は、それぞれ、640 倍、320 倍であった(表 3)。

3. TBEV IgM 捕捉 ELISA

平成28年度、29年度、30年度の各年度に、それぞれ、本研究班で解析を行ったけんたいのうち、5検体（4人の患者から採取）、34検体（21人の患者から採取）、48検体（21人の患者から採取）を用いてTBEV IgM捕捉ELISAを実施した。結果、全ての検体が陰性を示した（表1、表2、表3）。

D．考察

JEおよびTBEの診断において、患者が脳炎を発症した時期に採取された血清や髄液からJEVあるいはTBEV遺伝子が検出されることは極めて稀である。従って、「脳炎患者から採取された血清や髄液からJEVおよびTBEV遺伝子が検出されなかった」という結果から、「当該患者の診断がJEあるいはTBEVである可能性は否定的である」という結論を導くことはできない。JEおよびTBEVを否定するためには、抗JEV抗体および抗TBEV抗体検出検査を実施する必要がある。本研究班においては、JE、TBEを正確に診断するために、JEVおよびTBEVに対する抗体検査を実施した。

平成28年度から平成30年度の3年間に、本研究班で解析された検体を用いてJEV IgM捕捉ELISAを実施した結果、平成29年度の1検体（E23-2、急性期血清）および平成30年度の1検体（N17-2、急性期血清）のみが陽性を呈した。それぞれの回復期血清とのペア血清を用いてJEVに対する中和試験を実施した結果、いずれのペア血清においても、急性期血清から回復期血清にかけての有意な抗体価の上昇は確認されなかった（JEVに対する中和抗体価はE23-2が160倍、その回復期血清であるE23-3が80倍、N17-2が640倍、その回復期血清であるN17-6が640倍であった）。従って、E23およびN17を含め、この3年間に解析を行った患者は、全て、JEは否定的であると考えられる。なお、E23およびN17の年齢は、それぞれ、15歳と3歳であるため、JEVに対する中和抗体価はワクチン接種によって獲得されたものと考えられる（N17は2回のJEワクチン接種歴があるが、E23のJEワクチン接種歴は不明）。

TBEは1993年に初めて、日本での発生例が北海道から報告された¹。その後、20年間以上、TBE患者の発生は報告されていなかったが、2016年に2例目のTBE患者が北海道から報告され、その後、2017年に2例、2018年に1例報告された。これまでの日本におけるTBE症例は全て北海道で発生しているが、本州でもTBEVが活動していることを示唆する報告が発表されている^{2,3}。具体的には、1948年に、東京で、脳炎患者から、TBEVに近縁のウイルスが分離されたこと²や、島根県で採取されたネズミ（TBEVの自然宿主）がTBEVに対する抗体を保有していたこと³が報告されている。従って、本州でもTBE患者が発生している可能性が考えられるため、本研究班において、TBEの診断のための検査を行ったところ、結果は全て陰性であった。

平成28年度から平成30年度の3年間に検索を行った急性脳炎脳症患者の中には、JEおよびTBE症例は含まれていないと考えられる。

しかし、回復期血清が入手できず、急性期の髄液あるいは血清のみでしか検査を実施できなかった症例も含まれている。そのような症例では、より厳密にJEおよびTBEを否定するためには、回復期血清を用いた検査を実施することが必要である。また、今回JEおよびTBEの検索を行ったのは、急性脳炎脳症として届出されている症例のごく一部である。さらに、近年の日本におけるJEおよびこれまで日本で報告されたTBE患者は成人および高齢者（大半が高齢者）である。一方、本研究班で検査を実施した対象は小児が中心である。従って、依然、正確に診断されていないJEおよびTBE症例が存在する可能性は否定できない。

JEおよびTBEともに、ワクチン接種により予防可能な疾患である。そのため、JEおよびTBEの発生数を正確に把握することで、患者が発生した地域でのワクチン接種を促進するなどの予防措置を取ることが可能である。JE、TBEともに日本における報告数は多くないものの、その疾病負荷は極めて大きい。そのため、JEおよびTBEを正確に診断し適切な予防措置を講じることが重要である。

本研究班によるJEおよびTBEの検索は、公衆衛生の面でも重要である。2020年に東京オリンピック・パラリンピックが開催されるため、多くの外国人が来日することが予想される。日本を訪問する前に、トラベラーズワクチンとしてのJEおよびTBEのワクチン接種を推奨すべきか否かを決定するにあたり、JEおよびTBEの正確な発生数を把握しておくことが重要である。「JEおよびTBEを診断するための検査が適切に行われていないために、JEおよびTBEが正確に診断されずに報告されていない」という事態を避けるためにも、本研究班を継続することは重要である。

さらに、本研究班は、JEおよびTBEに関する知識を臨床医へ発信するという意味においても重要である。即ち、本研究班へ検体を提出した依頼医へJEおよびTBEの検査結果を伝え研究班でその成果を発表することで、臨床医は、急性脳炎・脳症の診断においてはJEおよびTBEを鑑別に挙げる必要があること、

JE、TBEを診断するための検査を感染研で実施していること、ウイルス感染症の診断においては、ペア血清が重要性であること、を知ることができる。に関して、JEVに対する中和試験を実施した検体は、ペア血清があることでJEを否定することができた。つまり、抗体検査の結果を解釈するにあたって、ペア血清で解析を行うことが重要である。即ち、本研究班を通して、臨床医へ、「なぜペア血清が重要なのか」という情報を発信することができる。昨今、次世代シーケンサーやマルチプレックスPCRなどにより、急性期に採取された検体を用いて、網羅的に多くの病原体の検索を行うことができるようになっている。結果、何らかのウイルス遺伝子が検出された場合、そのウイルスが患者の臨床症状の原因となっているのかどうかについて、検討を行う必要がある。とくに不顕性感染が多いことが知られているウイルス

においては、検出された病原体と、疾患との関連性を解析するにあたり、ペア血清による抗体検査が重要である。本研究班によりペア血清の意義を臨床医へ伝えることは、JE、TBEのみならず、他のウイルス感染症の診断においても重要である。

E．結論

平成28年度から平成30年度の3年間にわたり、本研究班で解析を行った急性脳炎脳症患者に対して、JEおよびTBEの検索を行った。結果、いずれの患者も、JEおよびTBEは否定的であると考えられた。しかし、依然、正確に診断されていないJE、TBE症例が存在する可能性は否定できない。そして、日本におけるJEおよびTBEを正確に診断することの意義は大きいため、本研究班におけるJEおよびTBEの検索を継続することは重要である。

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1 平成28年度 日本脳炎ウイルス(Japanese encephalitis virus, JEV)IgM 捕捉 ELISA およびダニ媒介脳炎ウイルス(Tick-borne encephalitis virus, TBEV) IgM 捕捉 ELISA の結果

検体番号	検体の種類	年齢 (歳)	性別	発症後日数 (日)	JEV IgM 捕捉 ELISA ¹		TBEV IgM ELISA ²	
					Index	判定	Index	判定
E1-1	髄液	2	女	5	0.42	陰性	*	
-3	血清			6	1.16	陰性	0.43	陰性
E3-1	髄液	31	男	2	0.55	陰性	*	
-2	血清			2	0.58	陰性	0.25	陰性
-3	髄液			8	0.57	陰性	*	
-4	髄液			17	0.92	陰性	*	
-5	血清			25	0.57	陰性	0.16	陰性
E4-1	髄液	4	女	0	0.45	陰性	*	
-2	血清			4	0.98	陰性	0.20	陰性
E5-1	髄液	4	女	6	0.89	陰性	*	
-2	血清			6	1.07	陰性	0.14	陰性

1 JEV IgM 捕捉 ELISA の Index が 2.00 を超えれば陽性と判定する。

2 TBEV IgM ELISA の Index が 1.10 を超えれば陽性と判定する。*は未実施を表す。

表2 平成29年度 日本脳炎ウイルス (Japanese encephalitis virus, JEV) IgM 捕捉 ELISA および中和試験、ダニ媒介脳炎ウイルス (Tick-borne encephalitis virus, TBEV) IgM 捕捉 ELISA の結果

検体番号	検体の種類	年齢 (歳) ¹	性別	発症後日数 (日)	JEV		中和抗体価	TBEV IgM 捕捉 ELISA ⁴	
					IgM 捕捉 ELISA ²	判定		Index	判定
E10-1	髄液	1	男	2	0.51	陰性	*	*	
-2	血清			2	0.91	陰性	*	0.33	陰性
-7	血清			14	0.98	陰性	*	0.24	陰性
E11-1	髄液	1	男	0	0.49	陰性	*	*	
-2	血清			0	0.69	陰性	*	0.15	陰性
-6	血清			10	0.75	陰性	*	0.17	陰性
E12-1	髄液	10	男	1	0.76	陰性	*	*	
-2	血清			1	0.84	陰性	*	0.10	陰性
E13-1	髄液	1ヶ月	男	0	0.64	陰性	*	*	
-2	血清			0	0.93	陰性	*	0.09	陰性
-6	血清			11	1.29	陰性	*	0.12	陰性
E14-1	髄液	1	男	5	0.48	陰性	*	*	
-2	血清			2	0.74	陰性	*	0.14	陰性
-6	血清			7	1.04	陰性	*	0.36	陰性
E15-1	髄液	6	男		0.68	陰性	*	*	
-2	血清			5	0.99	陰性	*	0.21	陰性
-6	髄液			7	0.88	陰性	*	*	
-7	血清			18	0.97	陰性	*	0.17	陰性
E16-1	髄液	日齢1	男	8	0.73	陰性	*	*	
-2	血清			8	0.73	陰性	*	0.08	陰性

E17-1	髄液	3	男	0	0.54	陰性	*	*	
-2	血清			0	0.94	陰性	*	0.23	陰性
E18-1	血清	1 ヶ月	男	3	1.11	陰性	*	0.08	陰性
E19-1	髄液	1 ヶ月	男	0	0.73	陰性	*	*	
-2	血清			0	0.74	陰性	*	0.09	陰性
E20-1	髄液	1 ヶ月	男	3	0.73	陰性	*	*	
-2	血清			3	1.10	陰性	*	0.10	陰性
E21-1	髄液	25	男	0	0.52	陰性	*	*	
-2	血清			1	0.82	陰性	*	0.14	陰性
-6	血清			14	1.02	陰性	*	0.17	陰性
E22-1	髄液	30	男	7	0.50	陰性	*	*	
-2	血清			13	0.87	陰性	*	0.12	陰性
-3	血清			33	0.79	陰性	*	0.17	陰性
E23-1	髄液	15	女	1	0.48	陰性	*	*	
-2	血清			3	2.30	陽性	160	0.31	陰性
-3	血清			49	1.67	陰性	80	0.17	陰性
E24-1	髄液	7	男	5	0.43	陰性	*	*	
-2	血清			5	0.66	陰性	*	0.16	陰性
E25-1	髄液	50	男	16	0.46	陰性	*	*	
-2				16	0.88	陰性	*	0.14	陰性
E26-1	髄液	1 ヶ月	男	0	0.44	陰性	*	*	
-2	血清			0	0.50	陰性	*	0.10	陰性
-6	血清			7	0.56	陰性	*	0.13	陰性
E27-1	髄液	1 ヶ月	女	0	0.44	陰性	*	*	
-2	血清			0	0.48	陰性	*	0.10	陰性
-6	血清			7	0.56	陰性	*	0.13	陰性
E28-1	血清	2 ヶ月	男	1	1.25	陰性	*	0.12	陰性
-5	血清			7	0.97	陰性	*	0.10	陰性

E29-1	髄液	4	女	1	0.54	陰性	*	*
-2	血清			1	1.15	陰性	*	0.29 陰性
-6	血清			7	1.15	陰性	*	0.22 陰性
E30-1	髄液	3	男	0	0.51	陰性	*	*
-2	血清				0.98	陰性	*	0.19 陰性

1 患児の年齢が1歳未満の場合は、月齢または日齢を示す。

2 JEV IgM 捕捉 ELISA の Index が 2.00 を超えれば陽性と判定する。

3 JEV（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。*は未実施を表す。

4 TBEV IgM ELISA の Index が 1.10 を超えれば陽性と判定する。*は未実施を表す。

表 3

平成 3 0 年度 日本脳炎ウイルス (Japanese encephalitis virus, JEV) IgM 捕捉 ELISA および中和試験、ダニ媒介脳炎ウイルス (Tick-borne encephalitis virus, TBEV) IgM 捕捉 ELISA の結果

検体番号	検体の種類	年齢 (歳) ¹	性別	発症後日数 (日)	JEV		中和抗体価 ³	TBEV IgM 捕捉 ELISA	
					IgM 捕捉 ELISA Index ²	判定		Index ⁴	判定
N1-1	髄液	6	女	77	0.48	陰性	*	0.10 [#]	陰性
-2	血清			79	0.81	陰性	*	0.20	陰性
-6	血清			100	1.23	陰性	*	0.24	陰性
N10-1	髄液	7	女	2	0.47	陰性	*	0.12	陰性
-2	血清			4	0.73	陰性	*	0.34	陰性
-3	血清			22	0.71	陰性	*	0.42	陰性
N11-1	髄液	2	女	2	0.47	陰性	*	0.07	陰性
-2	血清			3	0.86	陰性	*	0.17	陰性
N12-1	髄液	1	男	6	0.51	陰性	*	0.10	陰性
N13-1	髄液	10	男	24	0.55	陰性	*	0.08 [#]	陰性
-2	血清			24	0.78	陰性	*	0.15	陰性
-6	血清			35	0.97	陰性	*	0.24	陰性
N14-1	血清	4	女	1	0.60	陰性	*	0.27	陰性
N15-1	髄液	5	男	1	0.45	陰性	*	0.06 [#]	陰性
-2	血清			1	0.83	陰性	*	0.22	陰性
-7	血清			35	1.16	陰性	*	0.22	陰性
N16-1	血清	1	男	3	1.18	陰性	*	0.13	陰性
-6	血清			54	0.91	陰性	*	0.18	陰性
N17-1	髄液	3	男	0	0.96	陰性	*	0.09	陰性
-2	血清			0	2.03	陽性	640	0.11	陰性

-6	血清			18	1.06	陰性	320	0.17	陰性
N18-1	髄液	7	男	1	1.03	陰性	*	0.21 [#]	陰性
-2	血清			1	1.34	陰性	*	0.13	陰性
-6	血清			8	1.09	陰性	*	0.20	陰性
N19-1	髄液	日齡 13	男	1	0.52	陰性	*	0.07 [#]	陰性
-2	血清			3	0.61	陰性	*	0.19	陰性
N20-1	髄液	1 ヶ月	男	0	0.61	陰性	*	0.09 [#]	陰性
N21-1	髄液	7	男	0	0.49	陰性	*	0.07	陰性
-2	血清			0	1.03	陰性	*	0.16	陰性
-6	血清			15	0.93	陰性	*	0.32	陰性
N22-1	髄液	3	女	0	0.56	陰性	*	0.09	陰性
-2	血清			0	0.73	陰性	*	0.16	陰性
-6	血清			26	0.64	陰性	*	0.10	陰性
N23-1	髄液	2	女	56	0.49	陰性	*	0.08	陰性
-2	血清			49	1.11	陰性	*	0.14	陰性
-6	血清			66	1.48	陰性	*	0.31	陰性
N24-1	髄液	5	男	1	0.5	陰性	*	0.08	陰性
N25-1	髄液	2	男	8	0.47	陰性	*	0.08	陰性
-2	血清			8	0.62	陰性	*	0.28	陰性
N26-1	血清	11 ヶ月	女	2	0.85	陰性	*	0.25	陰性
N27-1	髄液	1	男	2	0.43	陰性	*	0.09	陰性
-2	血清			2	1.73	陰性	*	0.32	陰性
-6	髄液			11	0.48	陰性	*	0.09	陰性
-8	血漿			5	1.44	陰性	*	0.28	陰性
N28-1	髄液	2	男	4	0.34	陰性	*	0.20	陰性
-2	血清			13	0.84	陰性	*	0.85	陰性
N29-1	髄液	1	女	5	0.51	陰性	*	0.11	陰性
-2	血清 1			7	0.70	陰性	*	0.43	陰性

-6	血清 2			32	0.46	陰性	*	0.26	陰性
N30-1	髄液	6	女	3	0.42	陰性	*	0.14 [#]	陰性
-2	血清			3	0.79	陰性	*	0.28	陰性
N31-1	髄液	2	女	0	0.43	陰性	*	0.05 [#]	陰性
-2	血清 1			0	1.04	陰性	*	0.12	陰性
-6	血清 2			6	0.74	陰性	*	0.12	陰性
N32-1	血清	10 ヶ月	女	7	0.65	陰性	*	0.09	陰性
N33-1	髄液	2	男	8	0.42	陰性	*	0.05	陰性
-2	血清			8	0.83	陰性	*	0.12	陰性
-10	血清 2			36	0.94	陰性	*	0.12	陰性
N34-1	髄液	15	女	2	0.81	陰性	*	0.49	陰性
-2	血清 1			2	1.00	陰性	*	0.58	陰性
-6	血清 2			45	1.13	陰性	*	0.42	陰性
N35-1	髄液	40	女	2	1.02	陰性	*	0.07	陰性
-2	血清			2	0.84	陰性	*	0.11	陰性
N36-1	髄液	10	女	0	0.36	陰性	*	*	
-2	血清 1			0	0.78	陰性	*	0.40	陰性
N36-6	血清 2			4 ヶ月	0.94	陰性	*	0.36	陰性
N36-7	髄液 2			4	0.36	陰性	*	*	
N36-8	血清 3			4	0.86	陰性	*	0.41	陰性
N37-1	髄液	2	女	9	0.57	陰性	*	*	
-2	血清 1			11	0.79	陰性	*	0.48	陰性
-5	血清 2			32	0.51	陰性	*	0.30	陰性
N38-1	髄液	72	女	15	0.38	陰性	*	*	
-2	血清			5	0.54	陰性	*	0.15	陰性
N39-1	髄液	5	女	2	0.40	陰性	*	0.10	陰性
-2	血清			2	0.84	陰性	*	0.17	陰性

- 1 患者の年齢が1歳未満の場合は、月齢または日齢を示す。
- 2 JEV IgM 捕捉 ELISA の Index が 2.00 を超えれば陽性と判定する。
- 3 JEV（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 におけるブランク数の 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。*は未実施を表す。
- 4 TBEV IgM ELISA の Index が 1.10 を超えれば陽性と判定する。#は、1 well での解析結果を、*は未実施を表す。

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。平成 28 年度から 29 年度に検討を行った症例は 30 例であり、エンテロウイルス、パレコウイルス、HHV6 など、12 例から原因ウイルスの候補を検出した。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

5 類感染症としての急性脳炎（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）症例のうち、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った。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、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された。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、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は、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(表1)。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30年3月までに30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、12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(3例)、HHV-6B(3例)、タイプ不明のエンテロウイルス(2例)、コクサッキーウイルスA6、エコーウイルスE7、アデノウイルス5、ライノウイルスAが各1例であった。

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。本研究班からはウイルスに、細菌、真菌を加えることで、より原因病原体を網羅的に検出することを目指した。ウイルス、細菌、真菌の選定はこれまでの疫学データや、報告を参考にし、最終的に53種類の微生物を選択した。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、健康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ウェル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。

30件の症例から12例(40%)の症例で病原微生物の検出に至った。前研究班における検出率(16.0%)よりも著しく向上している。これは、適切なサンプル採取やサンプルの質の向上があった反面、依頼施設の偏りがある点に関連している可能性も考えられた。とくに、エンテロウイルス未検索の施設からの検体で、エンテロ系のウイルスが検出された症例が目立った。

検出されたウイルスでは、エンテロウイルスとHHV-6Bの検出率が高く、乳児ではパレコウイルスが高頻度に検出されている。したがって、脳炎患者では汎エンテロウイルスRT-PCR、および、HHV-6のPCR、さらに、生後3か月ぐらい乳児ではパレコウイルス3型の検索を行うことが重要であることが示された。これらの検索ができるような機関が増加させることが脳炎の原因検索には望ましい。前研究班の結果と合わせると131例の症例を検索し32例で病原体が検出されたことになる(表2)。日本脳炎ウイルスが検出された例は1例のみであり、紛れ込みは極めて少ないことが推定された。

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。30症例を検討し、12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. 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。

表 1 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 influenza, Escherichia coli, Salmonella enterica, Mycoplasma pneumoniae, Treponema pallidum
真菌	Aspergillus fumigatus, Cryptococcus, Mucor
原虫	Toxoplasma

表 2 第1期および第2期の本研究班検体における検出病原体。総数131例を検索し、32例で病原体が判明した(判明率24.4%)。病原体が判明したものの5割はエンテロ系である。NGS は次世代シーケンサーにより検出された病原体。

CMV: cytomegalovirus, Cox: coxsackievirus, EBV: Epstein-Barr virus, Echo: echovirus, EV: enterovirus, HHV: human herpesvirus, JEV: Japanese encephalitis virus, NGS: next generation sequencer

検出病原体	数	%	Subtype, 内訳	備考
Enterovirus	10	31	EV71 (1), Cox A6 (2), Cox A10 (1), CoxB3 (1), CoxB4 (2), Echo 7 (1), panEntero (2)	0-42歳。便での検出率が高い。
Parechovirus	6	19	Type 3	ほとんどが乳児。血清や髄液。
HHV6	6	19	Type B	1-4歳。血清。
Rhinovirus	2	6	Type A	
Parvovirus B19	2	6		
Norovirus	2	6	Type 2	
JEV	1	3		NGS
CMV	1	3		
EBV	1	3		リンパ腫?
Astrovirus	1	3	Strain MLB	NGS
adenovirus	1	3	Type 5	

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
（総合）研究報告書

急性脳炎（脳症を含む）症例からの病原体網羅的検索に関する研究

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

研究要旨

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

A . 研究目的

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

B . 研究方法

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

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

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

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

各病原体が陽性になった場合は、個別の病原体に関して確認検査を実施した。

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

C . 研究結果

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

【エンテロウイルス】

1例はエコーウイルス11型が喀痰に加えて、血漿からも検出された。

【ライノウイルスおよびパラインフルエンザウイルス】

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

【パレコウイルス】

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

【HHV-6】

1例の血清からHHV-6が検出された。

【アデノウイルス、メタニューモウイルス】

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

【アデノウイルス、パレコウイルス】

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

【その他：備考】

HHV-6のみが検出された患者は上記の血清から検出された1例以外の3症例で検出されたが呼吸器検体や全血検体からの検出のため病原体陽性と判定しなかった。同様に、HHV-7のみ陽性の6症例およびHHV-6とHHV-7の両方が陽性となった1症例も

D. 考 察

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

脳炎(脳症をふくむ)症例からの網羅的病原体検索を実施した。

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

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

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

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

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

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

E. 結 論

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

F. 研究発表

1. 論文発表

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

2. 学会発表

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

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

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

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

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

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
（総合）研究報告書

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 主任教授

研究要旨 福島県内で発生した感染症関連神経疾患（急性脳炎・脳症、ADEM・MS、GBS を含む急性弛緩性麻痺、細菌性・ウイルス性髄膜炎等）の全例を把握するため、小児医療施設のある県内すべての医療機関と連携し、対象となる小児入院患者を前方視的に把握する発生動向報告システムを確立した。その結果、福島県内において、急性脳炎・脳症は毎年 10 名前後が、ADEM および AFP (GBS を含む) は毎年 0～3 名発生していること、急性脳炎・脳症の病原体判明率は近年上昇傾向にあり、インフルエンザウイルス A 型と HHV-6 が多く、インフルエンザウイルス A 型は死亡率が高く、HHV-6 は後遺症率が高いこと、ADEM および AFP の病原体が判明した例が少ないことが明らかになった。

A．研究目的

感染症関連中枢神経疾患等による小児の入院患者の全数を福島県内全域で継続して把握し、福島県における発生動向を明らかにする。

B．研究方法

2014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「福島県内における小児重症感染症等の前方視的発生動向調査」を行っている。この調査対象項目に、急性脳炎・脳症、急性散在性脳脊髄炎 (ADEM)、急性弛緩性麻痺 (AFP、GBS を含む) 等を加え、感染症関連中枢神経疾患による小児の入院患者の全数を把握し、発生動向を調査する。また、可能な限り原因となった病原体を明らかにする。

（倫理面への配慮）

収集する情報は性別と年齢階級のみであり、その他の個人情報は扱わない。

C．研究結果

福島県内で発生した感染症関連神経疾患（急性脳炎・脳症、ADEM・MS、GBS を含む急性弛緩性麻痺、細菌性・ウイルス性髄膜炎等）の全例を把握するため、小児医療施設のある県内すべての医療機関と連携し、対象となる小児入院患者を前方視的に把握する発生動向報告システムを確立した。

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、病院不明: 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 (HHV-6: 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、原因不明: 2 例)、平成 30 年に 7 例

(HHV-6: 3 例、インフルエンザ A: 1 例、マイコプラズマ: 1 例、原因不明: 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や急性脳炎・脳症の発生はなかった。平成 30 年に急性弛緩性麻痺が 3 例 (ギラン・バレー症候群: 2 例、急性弛緩性脊髄炎: 1 例) あったがエンテロウイルスの関与は証明されなかった。

D．考察

急性脳炎・脳症は、福島県内で毎年 10 名前後が発生していた。病原体判明率は、前方視的調査開始後上昇傾向にあり、最も多いのはインフルエンザウイルス A 型で、次が HHV-6 であった。インフルエンザウイルス A 型は死亡率が高かったが、HHV-6 は後遺症率が高かった。ADEM、AFP (GBS を含む) の発生は毎年 0～3 名であったが、ADEM、AFP で病原体が判明した例はなかった。

E．結論

前方視的発生動向調査の結果、福島県内において、急性脳炎・脳症は毎年 10 名前後、ADEM および AFP (GBS を含む) は毎年 0～3 名発生していることが明らかになった。

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

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
（総合）研究報告書

急性弛緩性脊髄炎の病態解明に関する研究
－臨床像の解明ならびに正確な診断へ向けた検討－

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:2015年8月～12月に発症した急性弛緩性麻痺の症例探査が感染症法に基づく積極的疫学調査の一環として実施された（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（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像の解析で、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、髄液細胞増多を伴うといった共通の特徴が見られた。末梢神経の電気生理検査は脊髄前角の病変をよく反映しており、診断あるいは予後予測に有用であることを明らかにした。AFMの初期では正確な画像診断が難しく、検査の反復や造影剤の使用、さらに生理検査との組み合わせなどが必要となる。新たに提案された restrictively defined AFM の診断基準が今後重要になるであろう。

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）。

本研究では、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。日本では他国と比較して、末梢神経の電気生理検査が行われている症例が多いことから、これらの臨床的な有用性を検証するため、両者の関連性について重点的に解析を加えた。AFMは最近提唱された疾患概念で、現在の診断基準に関して問題点も指摘されていることから、初期診断の正確性の検討ならびに新たに提案された診断基準の妥当性の検討も行った。

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。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。二次調査は、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。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17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、ボツリヌス症1例、小脳失調1例）を除いた59例がAFM（可能性例1例を含む）であった。

中央解析によりAFMと診断した59例例に対して以下の検討を行った。

1. AFMの臨床像の解明
2. 画像検査ならびに末梢神経の神経生理検査データの関連性の解析
3. AFMの初期診断の正確性に関する検討
4. 新たに提案された急性弛緩性脊髄炎の定義（Elrick MJ, et al. JAMA Pediatr [published online November 30, 2018]）に基づく日本の症例の検討

AFM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 $> 5/\mu\text{L}$)

+ は確定、+ は疑い

restrictively defined AFMの定義

(Elrick MJ, et al. JAMA Pediatr [published online November 30, 2018])

1. 先行する発熱またはウイルス感染症状
2. 四肢の1肢以上、顔面、顔面、および/
または球筋に、下位運動ニューロン障害パ
ターンの筋力低下

a. 四肢の筋力低下は、筋緊張の低下と腱
反射の低下/消失を伴うべき

3. 裏付けとなるエビデンスとして次の少
なくとも1つがある:

a. 脊髄MRI画像で、複数分節に及び、造
影で脊髄前根の増強を伴う/伴わない、
主に灰白質のT2高信号病変

b. 筋電図検査および神経伝導検査で運
動ニューロノパチーを示す所見があり、
感覚神経伝導は正常

c. 脳脊髄液検査で細胞増多 (白血球数
 $> 5/\mu\text{L}$)

4. 以下は認められない:

a. 神経学的診察で他覚的感覚脱失 (Ob
jective sensory deficits)

b. 1cmを超えるテント上の白質または
皮質病変

c. 発熱、疾病、呼吸窮迫、代謝異常で
は説明できない脳症

d. 脳脊髄液で細胞増多がなく蛋白が正
常域上限の2倍を超えて上昇

e. 明確な別の診断名がある

(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

1. 臨床像の解明

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4
2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%)に項部硬直、7例(12%)に頭
痛、7例(12%)に意識障害を認めた。40例(6
8%)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(4
6%)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($> 102 \text{ pg/mL}$)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。

2. 画像検査ならびに末梢神経の神経生理 検査データの関連性の解析

画像検査および末梢神経の神経生理検査
データが検証可能な49症例に対して統計
学的解析を行った結果、M波の異常は、画
像検査において、回復期の前角への病変の
局在化、馬尾前根の造影効果(上肢±下肢
麻痺)、馬尾前根の造影効果(下肢麻痺)
と統計学的に有意に関連し、Fisher検定で
p値は、それぞれ0.003、0.004、 1.62×10^{-4}
であった。脳幹病変および馬尾後根の造
影効果(下肢麻痺)との関連は認められな
かった。

F波の異常およびS波の異常と画像検査デ
ータとの関連はいずれも認められなかつ
た。

画像/生理検査で異常所見があるのに麻
痺がない例や画像/生理検査が正常なの
に麻痺がある例を経験することから、麻痺
肢を感知するための画像検査および神経
生理検査の感度および特異度について検
証したところ、M波異常の感度は64%、特異

度は93%、F波異常の感度55%、特異度67%、初期脊髄MRI検査の病変は感度83%、特異度45%であった。

早期治療（72時間以内）が神経画像へ与える影響について検討したところ、ステロイドパルス療法、免疫グロブリン大量静注療法、両者併用の急性期の馬尾前根造影効果が出現するrelative riskは、それぞれ0.428 ($p=7.0 \times 10^{-5}$)、0.505 ($p=0.027$)、0.500 ($p=0.027$)であった。脳幹病変、回復期の前角への病変の局在化などへの影響は認められなかった。

3. AFMの初期診断の正確性に関する検討

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。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%）で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。

4. 新たに提案された急性弛緩性脊髄炎の定義に基づく日本の症例の検討

FMの症例定義（CSTE 2015）を満たし、かつ他の除外診断が行われたAFMの中核的症例の検討から、restrictively defined AFMとして以下の定義が2018年に提案された（Elrick MJ, et al. JAMA Pediatr [published online November 30, 2018]）。日本の症例がrestrictively defined AFMの8つの診断項目、すなわち3つの基準項目、5つの除外基準項目に当てはまるか検証した結果、41症例（70%）が8つの項目全てを、15症例（25%）が7項目を、3症例（5%）が6項目を満たした。

D. 考察

1. 臨床像の解明

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強く疑われた。米国や欧州のエンテロウイルスD68に関連して発症したAFM症例とも臨床像が一致していた。

2. 画像検査ならびに末梢神経の神経生理検査データの関連性の解析

運動神経伝導検査のM波異常が回復期画像の病変局在化、馬尾前根の造影効果と関連していた。とくに馬尾後根の造影効果は上肢よりも下肢麻痺の症例と関連していた。神経生理学的異常と回復期における前角への病変の限局化の相関性は、前角を病変の主座としていると推測されるAFMの病態をよく反映していると考えられる。馬尾前根は下肢の前角細胞の末梢側であるため、造影効果は前角の炎症の強さは示唆しており、その結果、M波異常を来しやすいと思われる。急性期の麻痺肢を探知、診断するため、M波は感度64%、特異度93%と特異度が高く、画像検査は感度83%、特異度45%と感度が高かった。これらの画像検査と神経生理検査の特性をよく理解した上で、両者を組み合わせて診断することが重要と考えられた。早期治療が神経画像へ与える影響について検討では、ステロイドパルス療法を受けた場合に馬尾前根の造影効果が減弱していた。先行研究では早期の治療的介入が麻痺の予後に影響を与えるという事実は得られなかったが、画像レベルでは炎症を抑制している可能性が示唆された。

3. AFMの初期診断の正確性に関する検討

AFM患者の29%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が、いずれもAFMの重要な鑑別疾患が病名として使用されており、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

4. 新たに提案された急性弛緩性脊髄炎の定義に基づく日本の症例の検討

新たに提案されたrestrictively defined AFMの診断基準8項目のうち、日本で厳密に診断した2015年の症例の多くが全ての項目を満たし、7項目以上を満たした症例は95%に及んだ。この診断基準の妥当性が示されたと考えられる。しかし、感覚脱失は横断性脊髄炎との鑑別のため有用であるものの、実際に幼児では他の感覚障害との区別が難しく、基準の改訂が必要と思われる。

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。

画像検査は脊髄の形態の変化を、神経生理検査は末梢神経の機能の変化を示すが、AFMにおいてもこれらの検査は脊髄前角の病変をよく反映しており、診断あるいは予後予測に有用と考えられた。両者の特性をよく理解し、検査を併用することで、診断の精度が上がると考えられた。AFMへのステロイドの使用について議論はあるが、馬尾前根の造影の減弱が見られており治療効果が得られる可能性が示唆された。

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、その傾向がいつ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。

2018年に新しく提案されたrestrictively defined AFMは臨床の場においても有用と考えられた。問題点も残されており、今後の改訂が期待される。

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, Mae gaki 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 a cute 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

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

吉良龍太郎: 急性弛緩性脊髄炎. *BRAIN and NERVE* 70:99-112, 2018

Chong PF, Kira R, Tanaka-Taya K. Description of restrictively defined acute flaccid myelitis [letter]. *JAMA Pediatr* (in press)

Okumura A, Mori H, Chong PF, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Tanaka-Taya K; Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study Investigators: Serial MRI Findings of Acute Flaccid Myelitis during an Outbreak of Enterovirus D68 Infection in Japan. *Brain Dev* 41(5):443-451, 2019

吉良龍太郎、チョン ピンフィー: 急性弛緩性脊髄炎の臨床像. *NEUROINFECTION* 23: 75-79, 2018

吉良龍太郎: エンテロウイルス等感染症を含む急性弛緩性麻痺. *Annual Review 神経* 2019. Pp. 89-96 中外医学社 2019

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 Sympos

ium 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19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

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

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

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

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

Kira R: Pediatric Neurology Case Studies: Infection or Autoimmunity? The 22th Annual & Scientific Meeting of Taiwan Child Neurology Society. May 26, 2018, Linkou, Taiwan

吉良龍太郎：特別講演「急性弛緩性麻痺・急性弛緩性脊髄炎の疾患概念と臨床的特徴」。第32回日本小児神経学会北海道地方会 2018.10.6 札幌

吉良龍太郎：教育講演「急性弛緩性脊髄炎とエンテロウイルスD68」第50回日本小児感染症学会総会・学術集会 2018.11.10 福岡

吉良龍太郎：シンポジウム「AFM（急性弛緩性脊髄炎）って何？」AFMの臨床。第30回九州臨床神経生理研究会 2018.7.15-20 那覇

吉良龍太郎、チョンピンフィー、森 懇、奥村彰久、鳥巢浩幸、安元佐和、清水博之、楠 進、高橋利幸、藤本嗣人、花岡 希、大石和徳、多屋馨子：エンテロウイルスD68のアウトブレイクに関連した急性弛緩性脊髄炎。第121回日本小児科学会学術集会 2018.4.20-22 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

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変化を解析した。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。髄内病変の経時的変化では、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。

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変化

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枝麻痺は認めず、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、極端な場合に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、神経脱髄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変化を明らかにした。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。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

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, Shimojima 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.
- 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.
- Okumura A, Ida S, Mori M, Shimizu T. Vitamin B1 Deficiency Related to Excessive Soft Drink Consumption in Japan. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2018; 66(5): 838-842.
- Okumura A, Ida S, Mori M, Shimizu T. Attitudes of pediatricians toward children's consumption of ionic beverages. *BMC Pediatrics* 2018; 18: 176.
- Okumura A, Maruyama K, Shibata M, Kurahashi H, Ishii A, Numoto S, Hirose S, Kawai T, Iso M, Kataoka S, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S. A patient with a GNAO1 mutation with decreased spontaneous movements, hypotonia, and dystonic features. *Brain Dev*. 2018; 40(10): 926-930.
- Okumura A, Ida S, Ito S, Oguni T, Suzuki M, Mori M, Shimizu T. Parental awareness of young children's pattern of ionic beverage consumption. *Pediatr Int*. 2018; 60(10): 969-973.
- 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*. 2018; 66(5): 653-664.
- Kurahashi H, Takami A, Murotani K, Numoto S, Okumura A. Decreased platelet count in children with epilepsy treated with valproate and its relationship to the immature platelet fraction. *Int J Hematol*. 2018; 107(1): 105-111.
- 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.
- 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.
- Hatanaka M, Shimakawa S, Okumura A, Natsume J, Fukui M, Nomura S, Kashiwagi M, Tamai H. The efficacy of adrenocorticotrophic hormone in a girl with anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Brain Dev*. 2018; 40(3): 247-250.
- Iwayama H, Hirase S, Nomura Y, Ito T, Morita H, Otake K, Okumura A, Takagi J. Spontaneous adrenocorticotrophic hormone (ACTH) normalisation due to tumour regression induced by metyrapone in a patient with ectopic ACTH syndrome: case report and literature review.

BMC Endocrine Disorders 2018; 18: 19.

Igarashi A, Sakuma H, Hayashi M, Noto D, Miyake S, Okumura A, Shimizu T. Cytokine-induced differentiation of hematopoietic cells into microglia-like cells in vitro. Clin Exp Neuroimmunol 2018; 9: 139-149.

Hattori F, Kawamura Y, Kawada JI, Kojima S, Natsume J, Ito K, Saito S, Kitagawa Y, Okumura A, Yoshikawa T. Survey of rotavirus-associated severe complications in Aichi Prefecture. Pediatr Int. 2018; 60(3): 259-263.

Goto T, Kakita H, Takasu M, Takeshita S, Ueda H, Muto D, Kondo T, Kurahashi H, Okumura A, Yamada Y. A rare case of fetal extensive intracranial hemorrhage and whole-cerebral hypoplasia due to latent maternal vitamin K deficiency. J Neonatal Perinatal Med. 2018; 11(2): 191-194.

Miyata K, Hori T, Shimomura Y, Joko M, Takayasu M, Okumura A. Pseudoprogession successfully treated with bevacizumab in a child with spinal pilocytic astrocytoma. Childs Nerv Syst. 2018; 34(11): 2305-2308.

Okumura A, Mori H, Fee Chong P, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Tanaka-Taya K. Serial MRI findings of acute flaccid myelitis during an outbreak of enterovirus D68 infection in Japan. Brain Dev. 2019; 41(5): 443-451.

Takasu M, Kubota T, Tsuji T, Kurahashi H, Numoto S, Okumura A. The effects of antihistamines on the semiology of febrile seizures. Brain Dev. 2019; 41(1): 72-76.

Okuda M, Nomura K, Kato M, Lin Y, Mabe K, Miyamoto R, Okumura A, Kikuchi S. Gastric cancer in children and adolescents in Japan. Pediatr Int. 2019; 61(1): 80-86.

Shima T, Okumura A, Kurahashi H, Numoto S, Abe S, Ikeno M, Shimizu T. A nationwide survey of norovirus-associated encephalitis/encephalopathy in Japan. Brain Dev. 2019; 41(3): 263-270.

奥村彰久、森壘．小児の急性弛緩性脊髄炎のMRI所見．Neuroinfection 2018; 23(1): 80-83.

2. 学会発表

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年4月15日．

Akihisa Okumura. Neonatal Monitoring. The 12th International Child Neurology Congress, Amsterdam, the Netherlands, 2016年5月2日．

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年6月3日．

Akihisa Okumura. Electroencephalography in Children with Acute Encephalopathy. The 18th Annual Meeting of Infantile Seizure Society, Tokyo, Japan, 2016年7月2日．

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年7月16日．

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年10月7日．

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年10月22日．

Akihisa Okumura. Neuophysiological Aspects of Brain Injuries in Neonates. 14th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Fukuoka, 2017年5月12日．

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年6月16日．

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年7月8日．

Akihisa Okumura. Neonatal Seizures: from Bench to Incubator: When, How, and What to Treat? The 32nd International Epilepsy Congress, Barcelona, Spain, 2017年9月4日．

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年10月14日

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年11月4日

奥村彰久．小児急性脳症診療ガイドラインのポイント．第60回日本小児神経学会学術集

会、千葉、2018 年 5 月 31 日

奥村彰久．エンテロウイルス D68 流行期の
急性弛緩性脊髄炎の臨床像と画像所見．第
23 回日本神経感染症学会学術大会、東京、
2018 年 10 月 20 日

奥村彰久．急性弛緩性脊髄炎・重症呼吸器感
染症の発生状況と EV-D68 .第 11 回愛知小児
臨床研究会、名古屋、2019 年 3 月 15 日

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．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

急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症の神経生理学的研究

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 教授
安元 佐和 福岡大学 医学部 医学教育推進講座 教授

2015年秋に我が国で多発した急性弛緩性脊髄炎（AFM）症例の臨床データをもとに、AFMの神経生理学的特徴と病態を解析し、神経生理検査の有用性を検討した。AFMでは、14病日以内の初回検査で、M波の振幅低下または消失を79%、F波の出現頻度の低下を78%に認め、脊髄炎に加えて進行性の軸索型末梢運動神経障害を合併すると考えられた。また、脊髄前角細胞障害が予後を左右すると推定され、初回検査のM波の振幅と回復期のMMTには有意な関連を認めた（ $p = 0.001$ ）。このため、神経生理検査はAFMの診断・予後予測に有用と考えられた。ただし、2015年秋に多発したAFMは、エンテロウイルスD68に関連したAFM（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）が主体であり、多様な病因からなるAFMの一部と考える必要がある。

A．研究目的

急性弛緩性脊髄炎（acute flaccid myelitis: AFM）は、急性発症の弛緩性麻痺（AFP）を主徴とする脊髄炎である。AFMは、2014年に米国で多発したことから注目され、その後、世界中で報告されるようになった。我が国では、2015年秋に多発し、当研究班により全国調査が実施された。

本研究は、全国調査で得たAFM症例の臨床データをもとに、AFMの神経生理学的特徴を明らかにし、神経生理検査の有用性を検討する。さらに、神経生理学的視点からAFMの基本的な病態を明らかにする。

加えて、2015年に我が国で多発したAFMは、エンテロウイルスD68（EV-D68）の流行期に一致したことから、EV-D68に関連すると予想されるAFMの特徴を明らかにする。

B．研究方法

I．AFMの神経生理学的特徴の解明

<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、解析した。

***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、下記の評価項目を下記の評価基準のもとに判定を行った。

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.

II. AFMの末梢神経障害の解明

対象:

2015～2016年に実施した急性弛緩性麻痺の全国調査で集積され、当研究班でAFMと診断した59例のうち、発症後2週間以内に神経生理検査が実施され、波形等で結果の確認が可能な肢。

MCS	90肢 (麻痺61、非麻痺29)
SCS	72肢 (麻痺43、非麻痺18)
F波	69肢 (麻痺51、非麻痺18)

方法:

各肢のMCS、SCS、F波の検査結果を集積し、研究Iと同じ評価基準のもとに判定し、解析を行った。

評価項目

MCS : CMAPの振幅、伝導速度、波形
SCS : SNAPの伝導速度、波形
F波 : 最小潜時、伝導速度、出現頻度

III. EV-D68に関連するAFMの臨床的特徴

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。

(データ解析)

研究 I, II, IIIともに、確認したデータをもとに統計解析を実施し、検定には χ^2 検定、Fischerの正確確率検定、Mann-Whitney U 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 325) を得て実施した。

C. 研究結果

I. AFMの神経生理学的特徴の解明

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。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), $p = 0.002$)

II. AFMの末梢神経障害の特徴

< MCS >

1. 14日以内に検査された61麻痺肢では、7肢 (11%) で導出不能、32肢 (52%) で振幅低下、5肢 (8%) で速度低下を認めた。

2. 14日以内に2回目の検査を実施された13肢中8肢（62％）で悪化を認めた。また、初回検査日が発症より遅れるほど、振幅異常を示す肢の割合が上昇した。
3. 同一肢の複数の神経伝導検査において、一方で正常判定、他方で異常判定を示したものが、上肢で14肢中3肢（21％）に、下肢で18肢中5肢（28％）に認めた。
4. 14日以内の初回MCS結果とピーク時のMMTを検討すると、正常は平均2.09、振幅低下は平均1.31、導出不能は平均0.29であり、MCS正常肢は導出不能肢に対し、有意にピーク時のMMTが高かった（ $p=0.001$ ）
5. 14日以内の初回MCS結果と回復期のMMTを検討すると、正常は平均3.32、振幅低下は平均2.81、導出不能は平均0.86であり、MCS正常肢は導出不能肢に対し、有意に回復時のMMTが高かった（ $p=0.001$ ）
6. 14日以内に検査された非麻痺肢29肢中2肢に振幅低下を認めた。いずれも両下肢麻痺例の上肢であった。

<F波>

1. 14日以内に検査された51麻痺肢では、12肢（24％）で出現なし、16肢（31％）で出現頻度低下を認めた。潜時の延長は38麻痺肢中2肢（5％）であった。
2. 14日以内の初回F波結果と回復期のMMTを検討すると、正常は平均3.43、出現率低下または消失は平均2.50であり、正常肢は有意にMMTが高かった（ $p=0.043$ ）。
3. 14日以内に検査された非麻痺肢18肢中6肢に出現頻度低下または消失を認めた。そのうち5肢は両下肢麻痺例の上肢であった。

<SCS>

14日以内に検査された43罹患肢では、1肢（2％）で導出不能、7肢（16％）で振幅低下、1肢（2％）で速度低下を認めた。

<神経生理検査結果相互の関連性>

14日以内のMCSの振幅とF波の出現頻度に関しては有意な関連性を認めなかった。

III. EV-D68に関連するAFMの臨床的特徴

EV-D68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

2015年にわが国で多発したAFM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、典型的には運動神経の伝導速度が正常であり、感覚神経の異常を認められなかった。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。

我々はさらに肢のレベルで解析を行い、AFM患者の麻痺肢は、急性期に運動神経の軸索型障害を認め、急性期には障害が進行することを明らかにした。この病態は、脊髓前角細胞障害に伴う軸索変性に起因するものと予想されるが、一部の症例は、発症早期より遠位部の軸索障害を認め、全ての症例を脊髓前角細胞障害による神経変性のみで説明することは困難と考えられた。AFMのMRIにおいて神経根や馬尾の造影所見が高頻度で認められることを考慮すると、AFMは脊髓炎に加えて、神経根や末梢神経自体の炎症も並存することが予想された。

個体レベルの検討では、「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」ことが示されたが、肢レベルの解析では、MCSでの振幅低下の程度が急性期の筋力低下の指標となり、回復期の筋力と関連することが示された。このことから、AFM予後と直接関連するものは、脊髓前角細胞障害であり、前角細胞の保護がAFMの予後改善につながると考えられた。

最後に、AFMは、定義上多様な病因を含むことから、症例の多様性について検討を行った。その結果、EV-D68に関連するAFM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」、「予後不良であること」が明らかになった。一方、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AFM、さらに、意識の変容を示し、ADEMを含む脳脊髄炎との鑑別が問題とな

るAFMも存在することが明らかになった。

E . 結論

2015年に我が国で多発したAFMの麻痺肢は、進行性の軸索型末梢運動神経障害を呈し、特徴的な神経生理検査所見を示す。このため、神経生理検査はAFMの診断に有用である。また、AFMでは脊髄前角細胞障害が神経学的予後を左右すると予想され、神経生理検査はAFMの予後予測にも有用である。

AFMは多様な疾患と考えられ、EV-D68との関連が推定されるAFM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.
5. 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.

6. 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
7. 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
8. Torisu H, Okada K: Vaccination-associated acute disseminated encephalomyelitis. *Vaccine* 37:1126-29, 2019.
9. Chong PF, Sakai Y, Torisu H, Tanaka T, Fruno K, Mizuno Y, Ohga S, Hara T, Kira R: Leucine-rich alpha-2 glycoprotein in the cerebrospinal fluid is a potential inflammatory biomarker for meningitis. *J Neurol Sci* 392:51-55, 2018.
10. Okumura A, Mori H, Chong PF, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Tanaka-Taya K: Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study Investigators: Serial MRI Findings of Acute Flaccid Myelitis during an Outbreak of Enterovirus D68 Infection in Japan. *Brain Dev* 41, 443-451, 2019.

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

5. 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.
6. 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
7. 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
8. 野田麻里絵、チョン・ピンフィー、安元佐和、奥村彰久、森壑、吉良龍太郎、多屋馨子、鳥巢浩幸: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.第 60 回日本小児神経学会 2018.5.31-6.2 千葉
9. 野田麻里絵、チョン・ピンフィー、安元佐和、奥村彰久、森壑、吉良龍太郎、多屋馨子、鳥巢浩幸:2015 年に多発した急性弛緩性脊髄炎とエンテロウイルス D68 に関連についての臨床的検討 第 23 回日本神経感染症学会 2018.10.19-20 東京
10. Nanishi E, Hoshina T, Sanefuji M, Torisu H, Okada K, Sakai Y, Ohga S:

A nationwide survey of pediatric-onset Japanese encephalitis in Japan. The 9th Asian congress of pediatric infectious diseases Nov 10-12, 2018, Fukuoka

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
鳥巢浩幸：
急性弛緩性麻痺（AFP）を認める疾患の鑑別
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
平成30年4月
2. 鳥巢浩幸、安元佐和：
急性弛緩性脊髄炎（AFM）の電気生理学的検査
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
平成30年4月

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 壱 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変化を解析した。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。髄内病変の経時的変化では、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変化

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とは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

では四肢麻痺や三枝麻痺は認めず、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、極端な場合に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、神経脱髄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変化を明らかにした。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.
- Nakada T, Kikuta S, Mori H, Shimizu Y, Nishijima H, Kondo K, Yamasoba T. Low CT Attenuation Values of Sinonasal Benign Tumours Relative to the Brainstem Identify Schwannomas. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 2018;80(1):41-50.
- Kamiya K, Okada N, Sawada K, Watanabe Y, Irie R, Hanaoka S, Suzuki Y, Koike S, Mori H, Kunimatsu A, Hori M, Aoki S, Kasai K, Abe O. Diffusional kurtosis imaging and white matter microstructure modeling in a clinical study of major depressive disorder. *NMR Biomed*. 2018;31(7):e3938.
- Gondo T, Kurihara M, Sugiyama Y, Mano T, Mori H, Hayashi T, Tsuji S. Longitudinally extensive vasogenic edema following spinal cord infarction. *Neurol Clin Neurosci*. 2018;6(5):143-145.
- Yamaguchi N, Mano T, Ohtomo R, Ishiura H, Almansour MA, Mori H, Kanda J, Shiota Y, Taira K, Morikawa T, Ikemura M, Yanagi Y, Murayama S, Shimizu J, Sakurai Y, Tsuji S, Iwata A. An Autopsy Case of Familial Neuronal Intranuclear Inclusion Disease with Dementia and Neuropathy. *Intern Med*. 2018;57(23):3459-3462.
- Katsura M, Sato J, Akahane M, Tajima T, Furuta T, Mori H, Abe O. Single-energy metal artifact reduction technique for reducing metallic coil artifacts on post-interventional cerebral CT and CT angiography. *Neuroradiology*. 2018;60(11):1141-1150.
- Taniguchi G, Fuse H, Okamura Y, Mori H, Kondo S, Kasai K, Takahashi Y, Tanaka K. Improvement in anti-N-methyl-d-aspartate receptor antibody-mediated temporal lobe epilepsy with amygdala enlargement without immunotherapy. *Epilepsy Behav Case Rep*. 2018;10:96-98.
- Miyatake S, Sacha Schneeberger S, Koyama N, Yokochi K, Ohmura K, Shiina M, Mori H, Koshimizu E, Imagawa E, Uchiyama Y, Mitsuhashi S, Frith MC, Fujita A, Satoh M, Taguri M, Tomono Y, Takahashi K, Doi H, Takeuchi H, Nakashima M, Mizuguchi T, Takata A, Miyake N, Saito H, Tanaka F, Ogata K, Hennet T, Matsumoto N. Biallelic COLGALT1 variants are associated with cerebral small vessel disease. *Ann Neurol*. 2018;84(6):843-853.
- Kunimatsu A, Kunimatsu N, Yasaka K, Akai H, Kamiya K, Watadani T, Mori H, Abe O. Machine Learning-based Texture Analysis of Contrast-enhanced MR Imaging to Differentiate between Glioblastoma and Primary Central

Nervous System Lymphoma. Magn Reson Med Sci. 2019;18(1):44-52.

Okumura A, Mori H. Acute flaccid myelitis: an emerging clinical entity. Dev Med Child Neurol. 2019;61(3):290-291.

Miyano R, Kurihara M, Orimo K, MAno T, Kaburaki T, Ranaka R, Nishijima H, Ikemura M, Takahashi M, Mori H, Mutoh T, Hamada M, Hayashi T, Toda T. Severe visual impairment and subclinical encephalitis preceding clinical signs of chondritis in relapsing polychondritis. Neurol Clin Neurosci. 2018 [Epub ahead of print]

Okumura A, Mori H, Fee Chong P, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Tanaka-Taya K; Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study Investigators. Serial MRI findings of acute flaccid myelitis during an outbreak of enterovirus D68 infection in Japan. Brain Dev. 2019;41(5):443-451.

Okumura A, Mori H. Reply to "Poor clinico-radiological correlation: A hallmark of acute flaccid myelitis". Brain Dev. 2019;41(5):482.

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
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．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

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
「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」研究班	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	多屋馨子	IDSC手引き	国立感染症研究所 感染症疫学センター	東京	2018	1-51
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あるべきでしょうか？	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
吉良龍太郎	エンテロウイルス等感染症を含む急性弛緩性麻痺	鈴木則宏、荒木信夫、宇川義一、桑原 聡、塩川芳昭	Annual Review of Neurology 2019	中外医学社	東京	2019	89-96
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	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 「中枢性脱髄性疾患」	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 医学社ゆ中	東京	2018	220-224
金子久俊、 藤本嗣人	眼科領域感染症 アデノウイルス、ヘルペスウイルス	日本臨床ウイルス学会	ウイルス検査法 臨床と検査室のための手引き	春恒社	東京	2018	291-297
清水博之	エンテロウイルス (ポリオウイルスを含む)	日本臨床ウイルス学会、	ウイルス検査法	春恒社	東京	2018	147-156
藤本嗣人	ヒトアデノウイルス	日本食品衛生協会	食品衛生検査指針	日本食品衛生協会	東京	2018	711-719
野田麻里、 鳥巢浩幸	急性散在性脳脊髄炎		小児疾患の診断治療基準第5版	東京医学社	東京	2018	748-749
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
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

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, Tanaka-Taya K.	Description of restrictively defined acute flaccid myelitis [letter]	JAMA Pediatr	in press		2019
Satoh H, Tanaka-Taya K, Shimizu H, Goto A, Tanaka S, Nakano T, Hotta C, Okazaki T, Ito M, Okamoto-Nakagawa R, Yamashita Y, Arai S, Okuno H, Morino S, Oishi K.	Polio vaccination coverage and seroprevalence of poliovirus antibodies after the introduction of inactivated poliovirus vaccines for routine immunization in Japan.	Vaccine	37(14)	1964-1971	2019
Morita A, Ishihara M, Kamei S, Okuno H, Tanaka-Taya K, Oishi K, Morishima T.	Nationwide survey of influenza-associated acute encephalopathy in Japanese adults.	J Neurol Sci.	399	101-107	2019
Okumura A, Mori H, Chong PF, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Tanaka-Taya K; Acute Flaccid Myelitis Collaborative Study Investigators.	Serial MRI findings of acute flaccid myelitis during an outbreak of enterovirus D68 infection in Japan.	Brain Dev	41(5)	443-451	2019
Funakoshi Y, Ito K, Morino S, Kinoshita K, Morikawa Y, Kono T, Doan HY, Shimizu H, Hanaoka N, Konagaya M, Fujimoto T, Suzuki A, Chiba T, Akiba T, Tomaru Y, Watanabe K, Shimizu N	Enterovirus D68 respiratory infection in a children's hospital in Japan in 2015.	Pediatrics International	in press		2019
Hanaoka N, Ito S, Konagaya M, Nojiri N, Yasuda M, Fujimoto T, Deguchi T.	Infectious human adenoviruses are shed in urine even after disappearance of urethral symptoms	PlosOne	14(3)	e0212434	2019
Fujimoto T, Hanaoka N, Konagaya M, Kobayashi M, Nakagawa H, Hatano H, Tsukahara-Kawamura T, Uchio E, Kaneko H.	Evaluation of a silver-amplified immunochromatography kit for adenoviral conjunctivitis	Journal of Medical Virology	91(6)	1030-1035	2019
Lee S, Morioka T, Chong PF, Suzuki SO, Imagi T, Murakami N, Baba H, Kira R	Subcortical axonal loss with glial reactions following partial status epilepticus with neuroradiological findings of reduced subcortical diffusion	Neurol Sci	40(4)	851-855	2019

Okuzono S, Fukai R, Noda M, Miyake N, Le S, Kaku N, Sanefuji M, Akamine S, Kanno S, Ishizaki Y, <u>Torisu H, Kira R, Matsumoto N, Sakai Y, Ohga S</u>	An acute encephalopathy with reduced diffusion in BRAF-associated cardio-facio-cutaneous syndrome	Brain Dev	41(4)	378-381	2019
Tsuji M, <u>Chong PF, Yamashita F, Maeda K, Kira R</u>	Cytotoxic lesion of the corpus callosum exclusively at the genu in a case of callosal hypogenesis	J Neuroradiol	46(3)	222-223	2019
Takasu M, Kubota T, Tsuji T, Kurahashi H, Numoto S, <u>Okumura A</u>	The effects of antihistamines on the semiology of febrile seizures.	Brain Dev.	41(1)	72-76	2019
Okuda M, Nomura K, Kato M, Lin Y, Mabe K, Miyamoto R, <u>Okumura A, Kikuchi S.</u>	Gastric cancer in children and adolescents in Japan.	Pediatr Int.	61(1)	80-86	2019
Shima T, <u>Okumura A, Kurahashi H, Numoto S, Abe S, Ikeno M, Shimizu T.</u>	A nationwide survey of norovirus-associated encephalitis/ encephalopathy in Japan.	Brain Dev.	41(3)	263-270	2019
<u>Torisu H, Okada K</u>	Vaccination-associated acute disseminated encephalomyelitis.	Vaccine	37	1126-29	2019
<u>Okumura A, Mori H.</u>	Reply to "Poor clinico-radiological correlation: A hallmark of acute flaccid myelitis".	Brain Dev.	41(5)	482	2019
<u>Okumura A, Mori H.</u>	Acute flaccid myelitis: an emerging clinical entity.	Dev Med Child Neurol.	61(3)	290-291	2019
Morino S, <u>Tanaka-Taya K</u> , Satoh H, Arai S, Tanaka-Taya K, Sunagawa T, Oishi K.	Descriptive epidemiology of varicella based on national surveillance data before and after the introduction of routine varicella vaccination with two doses in Japan, 2000-2017.	Vaccine.	36(40)	5977-5982	2018
Okuno H, Yahata Y, <u>Tanaka-Taya K</u> , 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	66(12)	1831-1837	2018

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
Chong PF, Sakai Y, Torisu H, Tanaka T, Furuno K, Mizuno Y, Ohgata S, Hara T, Kira R	Leucine-rich alpha-2 glycoprotein in the cerebrospinal fluid is a potential inflammatory biomarker for meningitis	J Neurol Sci	392	51-55	2018
Okumura A, Ida S, Mori M, Shimizu T.	Vitamin B1 Deficiency Related to Excessive Soft Drink Consumption in Japan.	J Pediatr Gastroenterol Nutr.	66(5)	838-842	2018
Okumura A, Ida S, Mori M, Shimizu T.	Attitudes of pediatricians toward children's consumption of ionic beverages.	BMC Pediatrics	18	176	2018
Okumura A, Maruyama K, Shibata M, Kurahashi H, Ishii A, Numoto S, Hirose S, Kawai T, Iso M, Kataoka S, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S.	A patient with a GNAO1 mutation with decreased spontaneous movements, hypotonia, and dystonic features.	Brain Dev.	40(10)	926-930	2018
Okumura A, Ida S, Mori M, Shimizu T.	Parental awareness of young children's pattern of ionic beverage consumption.	Pediatr Int.	60(10)	969-973	2018
Kurahashi H, Takami A, Murotani K, Numoto S, Okumura A.	Decreased platelet count in children with epilepsy treated with valproate and its relationship to the immature platelet fraction.	Int J Hematol.	107(1)	105-111	2018
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
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
Hatanaka M, Shimakawa S, Okumura A, Naitsume J, Fukui M, Nollmura S, Kashiwagi M, Tamai H.	The efficacy of adrenocorticotrophic hormone in a girl with anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis.	Brain Dev.	40(3)	247-250	2018

Iwayama H, Hirase S, Nomura Y, Ito T, Morita H, Otake K, <u>Okumura A</u> , Takagi J.	Spontaneous adrenocorticotrophic hormone (ACTH) normalisation due to tumour regression induced by metyrapone in a patient with ectopic ACTH syndrome: case report and literature review.	BMC Endocrine Disorders.	18	19	2018
Igarashi A, Sakuma H, Hayashi M, Noto D, Miyake S, <u>Okumura A</u> , Shimizu T.	Cytokine-induced differentiation of hematopoietic cells into microglia-like cells in vitro.	Clin Exp Neurol Immunol	9	139–149	2018
Hattori F, Kawamura Y, Kawada JI, Kojima S, Natsume J, Ito K, Saito S, Kitagawa Y, <u>Okumura A</u> , Yoshikawa T.	Survey of rotavirus-associated severe complications in Aichi Prefecture.	Pediatr Int.	60(3)	259-263	2018
Goto T, Kakita H, Takasu M, Takeshita S, Ueda H, Muto D, Kondou T, Kurahashi H, <u>Okumura A</u> , Yamada Y.	A rare case of fetal extensive intracranial hemorrhage and whole-cerebral hypoplasia due to latent maternal vitamin K deficiency.	J Neonatal Perinatal Med.	11(2)	191-194	2018
Miyata K, Hori T, Shimomura Y, Joko M, Takayasu M, <u>Okumura A</u> .	Pseudoprogression successfully treated with bevacizumab in a child with spinal pilocytic astrocytoma.	Childs Nerv Syst.	34(11)	2305-2308	2018
Pham NTK, Thongprachum A, Baba T, Okitsu S, Trinh QD, Kominami-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
Hattori F, Miura H, Sugata K, Yoshikawa A, Ihira M, Yahata Y, Kamiya H, <u>Tanaka-Taya K</u> , Yoshikawa T; Nagoya VZV study group.	Evaluating the effectiveness of the universal immunization program against varicella in Japanese children.	Vaccine.	35(37)	4936-4941	2017
Kimura K, Fukushima T, Katada N, Shimizu H, Nakamura T, Fujimoto T, Hanaoka N, <u>Tanaka-Taya K</u> , 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, 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	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
Takada Y, Sakai Y, Matsushita Y, Torisu H (10番目)ほか10人	Sustained endocrine profiles of a girl with WAGR syndrome.	BMC medical genetics	18	117	2017
Ichimiya Y, Kaku N, Sakai Y, Torisu H (14番目)ほか13人	Transient dysautonomia in an acute phase of encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion.	Brain & development	39	621-624	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
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
Yamaguchi Y, Torisu H, Kira R, Ishizaki Y, Sakai Y, Sanefuji M, Ichiyama T, Oka A, Kinshi 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
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 <i>Raoultella ornithinolytica</i> 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-medication 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
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 Safford virus type 3 affects cerebellar development in neonatal mice	J Virol	90	10007-10021	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
清水博之	エンテロウイルスD68感染症	小児科診療	in press		2019
清水博之	感染症法施行規則の一部改正 急性弛緩性麻痺 (AFP; ポリオを除く) が五類感染症に追加	ファルマシア	55	341	2019
多屋 馨子	AFPサーベイランスとは何でしょうか	Up-to-date 子どもの感染症	6(1)	16-18	2018
多屋 馨子	エンテロウイルスD68の疫学 急性弛緩性麻痺を中心に	ウイルス	68(2)	161-164	2018

永瀬 静香, 親里 嘉展, 多屋 馨子, 高橋 幸利, 新井 智, 奥野 英雄, 黒 田 誠, 高崎 智彦, 荻 美 貴, 近平 雅嗣, 押部 宏, 中谷 尚子, 中尻 智 史, 米谷 昌彦	詳細な検索によりウイルス 感染の関与が示された抗NM DA型GluRに対する抗体陽 性脳炎の小児3症例	NEUROINFEC TION.	23(1)	127-133	2018
森野 紗衣子, 多屋 馨子, 砂川 富正, 大石 和徳	感染症法に基づく全数届出 疾患である水痘入院例から みた神経合併症に関する検 討.	NEUROINFEC TION	23(1)	121-126	2018
多屋 馨子	「急性弛緩性脊髄炎」 急性 弛緩性麻痺の全国疫学調査 の実施-2015年	NEUROINFEC TION	23(1)	67-74	2018
森田昭彦, 亀井聡	【認知症トータルケア】代表 的な認知症疾患 神経梅毒.	日本医師会雑誌	147	S125-S126	2018
亀井聡	神経疾患治療ノート 脳膿 瘍	Clinical Neuro science	36	1110-1111	2018
亀井聡	【痛み関連の神経内科疾患】 脳炎.	ペインクリニッ ク	39	1145-1156	2018
亀井聡	【ヘルペスウイルス感染症 の最近の知見】 単純ヘルペ スウイルス 単純ヘルペス 脳炎	臨床と研究	95	345-352	2018
亀井聡	中枢神経系の細菌感染症	Neuroinfection	22	77-82	2018
八代将登	インフルエンザの治療-小児-	臨床と研究	95	19-24	2018
藤本嗣人, 小長谷昌末, 花岡希, 清水博之	エンテロウイルス実験室診 断の現状と課題	病原微生物検出 情報	39	98-99	2018
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	23	62-66	2018
藤本 嗣人, 花岡 希	【腎と透析ベッドサイド検 査事典】(第10章)感染マー カー、感染症検査 アデノウ イルス	腎 と 透 析 84(増刊)	84 増刊	287 ~ 289	2018
門屋亮, 西郷謙二郎, 兼 安秀信, 小泉玄, 中本貴 人, 飯田恵庸, 三宅晶子, 寺地真一, 大淵典子, 井 上裕文, 調 恒明, 戸田昌 一, 岡本玲子, 村田祥子, 松倉幹, 吉良龍太郎	当院で経験した可逆性脳梁 膨大部病変を有する脳炎・脳 症(MERS)4 例の検討: 2 例 が反復発症しそのうち 1 例 は同胞が同時期に発症した	NEUROINFEC TION	23	134-139	2018

吉良龍太郎、チョン ピン フィー	急性弛緩性脊髄炎の臨床像	NEUROINFEC TION	23	75-79	2018
中村涼子、吉良龍太郎	私の処方 2018 神経・筋疾 患の処方 多発性硬化症、急性散在性脳 脊髄炎	小児科臨床	71	814-819	2018
奥村彰久、森壘 .	小児の急性弛緩性脊髄炎の MRI 所見 .	Neuroinfection	23(1)	80-83	2018
亀井聡	神経疾患治療ノート 脳膿 瘍	Clinical Neuroscience	36	1110-1111	2018
亀井聡	【痛み関連の神経内科疾患】 脳炎.	ペインクリニッ ク	39	1145-1156	2018
亀井聡	【ヘルペスウイルス感染症 の最近の知見】 単純ヘルペ スウイルス 単純ヘルペス 脳炎	臨床と研究	95	345-352	2018
亀井聡	中枢神経系の細菌感染症	Neuroinfection	22	77-82	2018
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 2018	81 Suppl	506-509	2018
八代将登	インフルエンザの治療-小児-	臨床と研究	95	19-24	2018
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
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.	NEUROINFEC TION.	22(1)	144-149	2017
奥野 英雄, 多屋 馨子.	【中枢神経系とウイルス感 染症】 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.

多屋 馨子.	【ジカウイルス・デングウイルスなど蚊媒介性感染症ウイルス】 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.
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 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
多屋 馨子.	【進化する感染症】 子どもに対して新たな脅威となった感染症.	チャイルド ヘルス.	19(12)	882-884	2016
多屋 馨子.	【エンテロウイルス D68 と関連疾患】 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.
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
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
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	317-328	2016
亀井聡	【感染症ガイドラインのすべて】 日本神経感染症学会細菌性髄膜炎診療ガイドライン.	化学療法の領域	32	762-769	2016

石原正樹、亀井聡	【多彩なヘルペスウイルス感染症-その診断と治療 up to date として-】ヘルペスウイルス感染症の診断と治療 内科領域のヘルペスウイルス感染症 .	Modern Physician	36	1265-1269	2016
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
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
八代将登、森島恒雄	インフルエンザ急性肺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.
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.