

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

急性脳炎（脳症を含む）症例からの病原体網羅的検索に関する研究

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

研究要旨

令和 2 年(2020 年)度に発生した原因不明の脳炎患者として届けられた 14 症例からの臨床検体 100 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。4 症例(29%)から急性脳炎・脳症に関連する病原体を検出・同定した。

検出病原体は、ヒトパルボウイルス B19 型、ヒトアデノウイルス（ヒトアデノウイルス 56 型、HAdV-56）、エンテロウイルス（コクサッキーウイルス A4 型、CV-A4）、ヒトヘルペスウイルス 7 (HHV-7)、ムンプスウイルス (mumps, 星野株)、ヒトボカウイルスであった。

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（ロシユ）でDNA,RNAを同時抽出した。

【Real-time 多項目検出】：FTD: Fast track Diagnosticsの4種のキットを組み合わせてることによって以下の33種の病原体を検出した(スクリーニング)。試験は内在性、試験コントロールを含む。

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

パラインフルエンザウイルス 3
パラインフルエンザウイルス 4
ヒトメタニューモウイルス A/B
ボカウイルス
肺炎マイコプラズマ
RSウイルス A/B
アデノウイルス
エンテロウイルス
パレコウイルス
単純ヘルペスウイルス 1
単純ヘルペスウイルス 2
水痘・帯状疱疹ウイルス
ムンプスウイルス
ノロウイルスG1
ノロウイルスG2
アストロウイルス
ロタウイルス
サポウイルス
ヒトヘルペスウイルス6
ヒトヘルペスウイルス7
パルボウイルスB19
麻しんウイルス
新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) *

*SARS-CoV-2は 2020年からの世界的なパンデミックおよび急性脳炎・脳症との関連の可能性を考慮して加えた。

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

14名の患者から採取された100検体に関して病原体の網羅的検索を行ない、4症例(29%)から採取された10検体から脳炎の原因と考えうる下記の病原体が検出された。

【ヒトパルボウイルス B19 型 (HPV-B19)】

1例(0歳男)の血清からヒトパルボウイルス B19 が発症 3 日(2020/8/7)および 9 日(2020/8/13)に検出された。

ヒトパルボウイルス B19 は脳炎を起こすことがあり、急性脳炎に関与していた可能性もあると考えられた。

(症例 AE29)

【アデノウイルス】

1例(0歳男)の急性脳炎・脳症患者の糞便からヒトアデノウイルス 56 型 (HAdV-56) が検出された。HAdV-56 は、致死性の呼吸器感染症からの検出報告があり、急性脳炎に関与していた可能性もあると考えられた。

(症例 AE30)

【エンテロウイルス】

1例(3歳男)の気管内吸引痰および糞便からコクサッキーウイルス A4 型 (CV-A4) が検出された。患者は低血糖脳症を発症しており CV-A4 による関与が示唆された。

(症例 AE31)

【ムンプスウイルス(mumps, 星野株) および ヒトボカウイルス】

1例(1歳男)の髄液よりムンプスウイルス星野株遺伝子、全血・血漿、急性期と回復期の血清よりボカウイルス遺伝子が検出された。脳炎発症に、これらのいずれか、または両方のウイルスが関与した可能性がある。

(症例 AE34)

【HHV 7】

上記の症例 AE31 の気管内吸引液、および症例 AE34 の全血から HHV7 が検出されたが、HHV7 は初感染後に宿主に潜伏感染するため、既感染者の末梢血単核球や唾液等からウイルス遺伝子が検出されることは多い。HHV7 が血球成分を含まない血清・血漿や髄液から検出された場合は病態に関連していると考えられる。

上記の 2 症例においては、HHV7 と急性脳炎・脳症発症との関連は否定的と考えられる。

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。

2020年以降の傾向として、新型コロナウイルス(COVID-19)のパンデミックに伴い、徹底した感染対策が社会全体で実施された。それに伴って、例年より定点把握疾患の患者数が大幅に減少している。

そのような状況で、原因不明の急性脳炎・脳症の29%で病原体が検出され疾患との関連が強く示唆された。

E. 結論

脳炎患者14名から採取された100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、4例(29.7%)から HPV-19、HAdV-56、CV-A4、およびムンプスウイルスとヒトボカウイルスの重複検出が確認された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1: Omatsu Y, Miyazaki D, Shimizu Y, Matsuura K, Sasaki SI, Inoue Y, Uchio E, Fujimoto T. Efficacy of compartmentalization in controlling an adenovirus type 54 keratoconjunctivitis outbreak on Oki Island, Japan. *Jpn J Ophthalmol*. 2021 25:1-9. doi: 10.1007/s10384-021-00826-8.

2: Yamada S, Fukushi S, Kinoshita H, Ohnishi M, Suzuki T, Fujimoto T, Saijo M, Maeda K; Virus Diagnosis Group (NIID Toyama). Assessment of SARS-CoV-2 infectivity of upper respiratory specimens from COVID-19 patients by virus isolation using VeroE6/TM PRSS2 cells. *BMJ Open Respir Res*. 2021 Feb;8(1):e000830. doi: 10.1136/bmjresp-2020-000830.

3: Fujino T, Nomoto H, Kutsuna S, Ujiie M, Suzuki T, Sato R, Fujimoto T, Kuroda M, Wakita T, Ohmagari N. Novel SARS-CoV-2 Variant in Travelers from Brazil to Japan. *Emerg Infect Dis*. 2021 Apr;27(4):1243-5.

4: Onda Y, Kanda J, Hanaoka N, Wa

tanabe M, Arai Y, Hishizawa M, Kon do T, Yamashita K, Nagao M, Fujimoto T, Takaori-Kondo A. Possible nosocomial transmission of virus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol.* 2021 Mar;100(3):753-761.

5: Onda Y, Kanda J, Sakamoto S, Okada M, Anzai N, Umadome H, Tashima M, Haga H, Watanabe C, Hanaoka N, Fujimoto T, Takaori-Kondo A. Detection of adenovirus hepatitis and acute liver failure in allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients. *Transpl Infect Dis.* 2021 Apr;23(2): e13496.

6: Hanaoka N, Ito S, Nojiri N, Konagaya M, Yasuda M, Deguchi T, Fujimoto T. Human Adenovirus B7d-Associated Urethritis after Suspected Sexual Transmission, Japan. *Emerg Infect Dis.* 2020 Oct;26(10):2444-2447.

7: Hanaoka N, Nojiri N, Takahashi K, Yoshida E, Fujimoto T. Evaluation of the Anti-Adenoviral Activity of ALT ANT, an Ozonated Alcohol Disinfectant. *Jpn J Infect Dis.* 2020 Sep 24;73(5):349-353.

8: Kaneko H, Hanaoka N, Konagaya M, Kobayashi M, Nakagawa H, Hatanoh H, Ikuta K, Sekiryu T, Fujimoto T. Five Cases of Epidemic Keratoconjunctivitis Due to Human Adenovirus Type 85 in Fukushima, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2020 Jul 22;73(4):316-319.

9: Tsukahara-Kawamura T, Hanaoka N, Konagaya M, Uchio E, Fujimoto T.

Characteristic of slow growth in cell culture of adenovirus type 54 causing nationwide outbreak epidemic keratoconjunctivitis in Japan. *Jpn J Ophthalmol.* 2020 May;64(3):312-320.

10: 藤本嗣人. アデノウイルス・パレコウイルス・エンテロウイルス感染症. *臨床と微生物.* 2021年3月; 48(2):132-136.

2. 学会発表

1:高橋健一郎,小林正明,荻美貴,花岡希, 藤本嗣人. 日本の小児呼吸器感染症におけるアデノウイルスC種の分子疫学的多様性.第61回日本臨床ウイルス学会10月3日. 2020年,新潟.

2:藤本嗣人, 花岡希, 小長谷昌未, 小林正明, 中川尚.アデノウイルス用銀増幅イムノクロマトキットのアデノウイルス検出限界.第94回日本感染症学会総会・学術講演会.4月16-18日, 2020年, 東京.

3:藤本嗣人, 小長谷昌未, 花岡希, 高橋健一郎, 小林正明.手足口病患者の咽頭・糞便・皮膚検体からのウイルス検出・定量. 第94回日本感染症学会総会・学術講演会.4月16-18日, 2020年, 東京.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし

2. 実用新案登録
該当なし

3.その他
該当なし