

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

急性弛緩性麻痺、急性脳炎・脳症等の神経疾患に関する網羅的病原体検索を含めた
原因及び病態の究明、治療法の確立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 予防接種総括研究官

研究要旨

2009～2020年に感染症発生動向調査に基づいて報告された急性脳炎（脳症を含む）は6,319人であり、2020年は488人が報告された。新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の流行で、多くの感染症の発生動向に変化が見られているが、急性脳炎・脳症についても同様で、2020年の報告数は過去5年と比較して少なく、特にインフルエンザウイルス、ロタウイルス、エンテロウイルスによる症例の報告が減少した。病原体不明として届けられた症例のうち、14人から採取された臨床検体100件について網羅的な病原体検索を実施したところ4人（29%）から急性脳炎・脳症に関与した可能性がある病原体が検出された（パルボウイルスB19、アデノウイルス56型、コクサッキーウイルスA4、ムンプスウイルス＋ヒトボカウイルス）。今回解析の対象とした、原因不明の急性脳炎・脳症と診断された患者14人には日本脳炎およびダニ媒介脳炎の患者は含まれていないと考えられた。

胎生18日のラット海馬神経細胞の初代培養システムを構築し、自己免疫性脳炎患者の髄液に含まれる抗神経抗体の新規検出法を確立し、本手法を含めた網羅的神経抗体診断法を用いた自己免疫性脳炎の診断アルゴリズムについて検討した。

2018年第18週から全数報告になったAFPについては、2020年第16週までに257人が報告された。2019年、2020年の報告数は想定された年間報告数（154人）より少なかった。年齢中央値は4歳で、男女差はなかった。検出病原体として報告されたもののうち最多はライノウイルス、次いでコクサッキーウイルス、エンテロウイルスD68が続いた。ポリオウイルスが検出された症例はなかった。単麻痺21%、対麻痺44%、4肢麻痺20%で麻痺は上肢より下肢に多かった。その他の神経症状・初見としては、感覚障害、膀胱直腸障害、顔面神経麻痺、呼吸筋麻痺、筋萎縮、深部腱反射低下、髄液細胞数増加、髄液蛋白質増加、脊髄の画像異常所見が認められた。神経症状以外では、発熱が最多で、咳、鼻汁、頭痛が続いた。

AFMでは、1～2肢麻痺として運動障害が持続する率が高いものの、障害レベルは発症後3年の時点で全般的に改善する。2015年、2018年ともに画像所見は類似しており、長大な脊髄縦走病変が半数を占め、急性期には灰白質＋白質に病変を認める例が多かった。ガドリニウム造影効果は、発症後早期には比較的低率で、やや遅れて出現する傾向を認めた。2018年のAFM症例の神経生理学的特徴は、M波振幅の低下とF波出現率の低下であり、2015年AFM症例と同様に運動神経の軸索型障害を呈していると考えられた。AFMと非AFMの鑑別において、電気生理学的検査を単独で診断に利用することは難しいが、スクリーニングを含めた、診断の補助には有用な検査であると考えられた。2018年のAFMの画像所見は、2015年と概ね類似しており再現性が確認された。2015年流行3年後追跡調査では、長期的には運動機能障害の改善が期待できる。AFMでは脊髄前角ニューロンのみならず腕神経叢も障害されている可能性がある。

2020年の1年間に、福島県で発生した急性脳炎・脳症は5例（インフルエンザA:1例、水痘:1例、不明:3例）であった。急性弛緩性麻痺、急性散在性脳脊髄炎は認めなかった。

AFP症例由来検体の病原体検査フローの問題点を検討し「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」改訂作業を進めた。急性脳炎・脳症・AFPの届出症例について、地衛研で行っている病原体の探索内容を明らかにした。COVID-19の流行に伴い、顔面神経麻痺等の神経学的異常を呈する症例を経験した。また、小児の鼻咽頭ぬぐい液の採取にウイルスガードを用いることは可能であり、特に乳幼児においては有用であることを明らかにした。

研究分担者・所属研究機関名及び所属研究機関における職名

清水博之・国立感染症研究所ウイルス第二部 室長
藤本嗣人・国立感染症研究所感染症危機管理研究センター 室長
林 昌宏・国立感染症研究所ウイルス第一部 室長
四宮博人・愛媛県立衛生環境研究所 所長
原 誠・日本大学医学部神経内科学講座 准教授
八代将登・岡山大学病院小児科 助教
細矢光亮・福島県立医科大学医学部小児科学講座 主任教授
吉良龍太郎・福岡市立こども病院小児神経科 科長
奥村彰久・愛知医科大学医学部小児科学講座 教授
安元佐和・福岡大学医学部医学教育推進講座 教授
鳥巢浩幸・福岡歯科大学総合医学講座小児科学分野 教授
森 壘・自治医科大学医学部放射線医学講座 教授

A. 研究目的

2015 年秋にエンテロウイルス D68（以下、EV-D68）感染症の流行が認められ、同時に国内で急性弛緩性脊髄炎（以下、AFM）が多発した。これらの関連を解析し、次の流行に備えて 2018 年に「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）を作成した。また、2018 年 5 月（第 18 週）から「急性弛緩性麻痺（急性灰白髄炎を除く）」が感染症法に基づく感染症発生動向調査の 5 類感染症全数把握疾患に導入され、15 歳未満の急性弛緩性麻痺（以下、AFP）は全例、診断後 7 日以内に管轄の保健所に届出することが義務づけられた（国内 AFP サーベイランス導入）。その結果、2018 年秋の国内 AFP の多発を採知することができた。

感染症発生動向調査で 5 類感染症全数把握疾患である「急性脳炎」（脳症を含む）は、死亡あるいは重篤な後遺症を残すことが多い極めて重篤な疾患であり、診断後 7 日以内に管轄の保健所に届出することが義務づけられている。しかし、病原体不明として届けられる症例が多く、サーベイランスを強化し、原因病原体の検索を行うことは治療法・予防法の開発や予後改善に重要である。

2015 年と 2018 年に多発した AFP について全国調査を実施し、詳細に解析するとともに、AFP の原因ウイルスの一つとして検討されている EV-D68 に対する治療法の可能性を検討する。また、基礎的・臨床的・疫学的視点から予後改善に繋げられる方法の検討を目的とする。特に AFM につい

ては病態に不明点も多く、本研究班で実施した全国調査の結果を基に、2018 年秋に多発した AFP 症例全体の電気生理学的特徴を明らかにし、2015 年に多発した AFM 症例と比較検討することで、AFM の診断における電気生理学的検査の有効性を検討し、神経障害の病態を推定するとともに、2015 年と 2018 年に発症した AFM 症例について、神経画像レビュー、病変の経時的变化の検討、上腕神経叢 MRI 等を用いた検討し、神経障害の病態解明に繋げることを目的とする。また、2015 年の EV-D68 のアウトブレイクに関連して多発した AFM 小児患者の運動障害の長期的な転帰と障害レベルを明らかにするとともに、AFM における腕神経叢病変に関する研究を行う。さらに、2015 年および 2018 年に発生した AFP98 例の画像所見を比較し、AFM の神経画像所見の特徴を明らかにする。

感染症発生動向調査に基づいて保健所に届けられた急性脳炎・脳症、AFP については、全国の地方衛生研究所（地衛研）で病原体検索が実施されているが、地衛研との連携を強化し、地衛研における急性脳炎・脳症及び AFP の病原体検査について実態調査を実施する。

また、地衛研での検討で原因が見つからなかった、あるいは検索が実施されていない症例については、国立感染症研究所（感染研）において、診断されていない日本脳炎（JE）およびダニ媒介脳炎（TBE）の症例が含まれているか否かを解析することを目的とする。また、網羅的病原体検索を実施することで、原因不明とされた急性脳炎・脳症の患者検体に関して病原体を明らかにし、一人でも多くの原因究明に繋げることを目的とする。また、自己免疫性脳炎の診断法の開発を目的に、ラットの初代培養神経細胞を用いた抗神経抗体の新規検出法を確立し、相補的な網羅的抗体検出による自己免疫性脳炎の診断アルゴリズムを開発することを目的とする。

AFP・急性脳炎・脳症のサーベイランスを強化し、その病態解明のために詳細な検討を行うとともに、AFP サーベイランス導入後の病原体検索における課題を整理し、国内検査フローの改善を図る。また、検体採取のあり方、保管・搬送方法の確立、検査・診断法及び手順を確立し、国内検査フローの改善を図ることを目的とする。また、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の流行下における小児の鼻咽頭ぬぐい液の採取にウイルスガード（患者と術者を遮蔽するアクリル板）が応用可能かどうかを明らかにする。

研究分担者の所属する地域（福島県）においては、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）について、小児の入院患者の全数を把握し、発生動向およびその原因を調査することを目的とする。

B. 研究方法

【研究の対象】

- ① 5類感染症全数把握疾患「急性脳炎（脳症を含む）」として届けられた症例年間約250～1,000人の内、病原体不明の症例で研究班での検査に同意が得られた症例：網羅的な病原体遺伝子検索と抗JEV,TBEV特異的IgM抗体測定を実施する。
- ② 5類感染症全数把握疾患「急性弛緩性麻痺（急性灰白髄炎を除く）」として届けられた症例年間約30～200人の内、病原体不明の症例で研究班での検査に同意が得られた症例：網羅的な病原体遺伝子検索の対象とする。
- ③ 5類感染症全数把握疾患「急性脳炎（脳症を含む）」「急性弛緩性麻痺（急性灰白髄炎を除く）」として届けられた症例について臨床疫学的に解析し、国内のdisease burdenを明らかにする。
- ④ 2015年および2018年に発症したAFP症例ならびに研究期間中に発症したAFP症例：詳細な臨床疫学解析の対象とする。

【研究期間】

2015年ならびに2018年に多発したAFP症例について詳細な検討を行うとともに、研究期間中に発症したAFP症例について詳細な検討を行う（2019～2021年度）。

急性脳炎・脳症・AFPに関するサーベイランス結果をまとめて国内のdisease burdenを明らかにする（2019～2021年度）。

全国の医療機関に病原体検索の重要性を啓発し、検体採取の方法、保管、搬送方法を普及させることで、病原体検索の効率上昇に繋げる（2019～2021年度）。

地方衛生研究所との連携を強化すると共に、病原体不明の急性脳炎・脳症・AFP症例から採取された臨床検体を用いてエンテロウイルス感染症、日本脳炎、ダニ媒介脳炎の鑑別を行うとともに、網羅的な病原体検索を行う（2019～2021年度）。

3年間の研究成果を基に「手引き」改定する（2021年度）。

【研究方法・役割分担】

- ① 2015年、2018年に多発したAFP症例について臨床症状、病原体検索、神経画像所見、神経生理学的所見について詳細な解析を行い、AFMの病態解明を行うとともに、早期診断、治療に繋げるための検討を行う（多屋、吉良、奥村、鳥巢、安元、森、八代、細矢、清水、藤本、研究協力者 チョン）。
- ② 感染症発生動向調査（急性脳炎・脳症・AFP）の情報を疫学的に解析し、国内外の情報を収集するとともに、国内の急性脳炎・脳症・AFPのdisease burdenを明らかにする（多屋、清水、藤本、研究協力者 新井、新橋、森野、島田、砂川）。
- ③ 研究分担者の地域での検討から急性脳炎・脳症・AFPについて全数把握を行い、感染症発生動向調査の補足率を検討するとともに、医療者の意識調査と、病原体検索の重要性につ

いて啓発を行う。（細矢、八代）。

- ④ 自己免疫性脳炎の診断方法を確立するために、抗神経抗体測定系を確立し、臨床応用に繋げる（亀井、原）。
- ⑤ 地方衛生研究所における急性脳炎・脳症・AFPの病原体検索の現状を明らかにするとともに、研究班との連携を密にして、一人でも多くの病原体不明急性脳炎・脳症・AFPの病原体検索を行う。（四宮、清水、藤本、林、多屋、研究協力者 花岡、前木、新井、新橋）
- ⑥ 適切な臨床検体の採取時期・採取方法・保管・搬送方法を全国の医療機関に普及させるとともに、網羅的な病原体解析を行う。⑤で病原体不明であった症例については、国立感染症研究所の倫理承認（平成31年承認）に基づいて、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、網羅的な病原体遺伝子の検出を行うとともに、日本脳炎、ダニ媒介脳炎の紛れ込みを鑑別するために、特異的IgM抗体測定を行う。EVが検出された症例についてはウイルス学的な解析を行う（多屋、清水、藤本、林、四宮、研究協力者 新井、新橋、森野、前木、花岡）。

（倫理面への配慮）

本研究では、取り扱う情報の中に個人が特定されるような情報が含まれたとしても、機密保護を徹底し、それを研究の結果として含むようなことはしない。従って研究成果の公表にあたって個人的情報が含まれることはない。万が一、個人的情報が本研究の中に含まれる場合には、それに関する機密保護に万全を期する。連結可能匿名化ができる連続した番号を本研究の提供者個々のIDとし、研究者間の臨床データなどのやりとりはすべてこのIDを運用して行う。病原体を取り扱う実験は、国立感染症研究所で定められたバイオセーフティーの規則に則って行う。病原体不明急性脳炎・脳症の病原体検索、AFP/AFM症例の臨床疫学研究・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での審査され、承認されている（平成28年承認、平成31年承認）。

C. 研究結果

2009～2020年に感染症発生動向調査に基づいて報告された急性脳炎（脳症を含む）は6,319人であり、2020年は488人が報告された。COVID-19の流行で、多くの感染症の発生動向に変化が見られているが、急性脳炎・脳症についても同様で、2020年の報告数は過去5年と比較して少なく、特にインフルエンザウイルス、ロタウイルス、エンテロウイルスによる症例の報告が減少した。

病原体不明として届けられた症例のうち、14人から採取された臨床検体100件について網羅的な病原体検索を実施したところ4人(29%)から急性脳炎・脳症に関与した可能性がある病原体が検出された(パルボウイルスB19、アデノウイルス56型、コクサッキーウイルスA4、ムンプスウイルス+ヒトボカウイルス)。今回解析の対象とした、原因不明の急性脳炎・脳症と診断された患者14人には日本脳炎およびダニ媒介脳炎の患者は含まれていないと考えられた。

胎生18日のラット海馬神経細胞の初代培養システムを構築し、自己免疫性脳炎患者の髄液に含まれる抗神経抗体の新規検出法を確立し、本手法を含めた網羅的神経抗体診断法を用いた自己免疫性脳炎の診断アルゴリズムについて検討した。

2018年第18週から全数報告になったAFPについては、2020年第16週までに257人が報告された。2019年、2020年の報告数は想定された年間報告数(154人)より少なかった。検出病原体として報告されたもののうち最多はライノウイルス、次いでコクサッキーウイルス、エンテロウイルスD68が続いた。ポリオウイルスが検出された症例の報告はなかった。単麻痺21%、対麻痺44%、4肢麻痺20%で麻痺は上肢より下肢に多かった。その他の神経症状としては、感覚障害18%、膀胱直腸障害18%、顔面神経麻痺10%、呼吸筋麻痺9%、筋萎縮2%が報告された。深部腱反射低下は54%、髄液細胞数増加は32%、髄液蛋白質増加は21%、脊髄の画像異常所見は29%に認められた。神経症状以外では、発熱が最多で42%、咳21%、鼻汁21%、頭痛11%が続いた。

AFMでは、1~2肢麻痺として運動障害が持続する率が高いものの、障害レベルは発症後3年の時点で全般的に改善していた。2015年、2018年ともに画像所見は類似しており、長大な脊髄縦走病変が半数を占め、急性期には灰白質+白質に病変を認める例が多かった。ガドリニウム造影効果は、発症後早期には比較的低率で、やや遅れて出現する傾向を認めた。

2018年のAFM症例の神経生理学的特徴は、M波振幅の低下とF波出現率の低下であり、2015年AFM症例と同様に運動神経の軸索型障害を呈していると考えられた。AFMと非AFMの鑑別において、電気生理学的検査を単独で診断に利用することは難しいが、スクリーニングを含めた、診断の補助には有用な検査であると考えられた。2018年のAFMの画像所見は、2015年と概ね類似しており再現性が確認された。2015年流行3年後追跡調査では、長期的には運動機能障害の改善が期待できる。AFMでは脊髄前角ニューロンのみならず腕神経叢も障害されている可能性がある。

2020年の1年間に、福島県で発生した急性脳炎・脳症は5例(インフルエンザA:1例、水痘:1

例、不明:3例)であった。急性弛緩性麻痺、急性散在性脳脊髄炎は認めなかった。

AFP症例由来検体の病原体検査フローの問題点を検討し「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」改訂作業を進めた。

急性脳炎・脳症・AFPの届出症例について、地衛研で行っている病原体の探索内容を明らかにした。COVID-19の流行に伴い、顔面神経麻痺等の神経学的異常を呈する症例を経験した。また、小児の鼻咽頭ぬぐい液の採取にウイルスガードを用いることは可能であり、特に乳幼児においては有用であることを明らかにした。

D. 考察

感染症発生動向調査に基づく急性脳炎・脳症、AFPサーベイランスの結果を解析することで、病原体不明の症例を明らかにするとともに、AFPについてはポリオウイルスの検出が認められないことについて検討を行うとともに、原因となる病原体の検索が地衛研ならびに本研究班で実施された。

COVID-19の流行により、多くの感染症の発生が激減しているが、急性脳炎・脳症・AFPについてもその影響と考えられる現象が認められた。また、ウイルスガードを用いて鼻咽頭ぬぐい液を採取することで、術者への新型コロナウイルスの二次感染を予防するのみならず、PPE消費の軽減や、医療スタッフの負担軽減が期待された。

小児の全例調査が実施可能な福島県においては、感染症関連神経疾患の発生動向調査とその病原体検索を通じ、福島県内の小児入院医療施設間の情報交換が密になり、AFP等の発生時に早期に対応できるようになり、病原体の同定にも繋がることと期待された。

病原体検索情報の活用・提供により、臨床・検査側双方の円滑なコミュニケーションを図り、今後の治療や予防・原因究明に役立てることが期待される。また、論文、感染研等のホームページで結果を公開することにより急性脳炎・脳症の原因究明のための知見として社会的に役立て、急性脳炎・脳症の診断・治療のための基礎資料として活用することが可能となる。

相補的な抗神経抗体の網羅的検出法の確立により、自己免疫性脳炎の早期診断に寄与すると考えられた。また自己免疫性脳炎診療ガイドライン作成のための資料になることが期待される。

学術集会や学術雑誌を通して、原因不明の急性脳炎・脳症症例においては日本脳炎およびダニ媒介脳炎を鑑別に挙げて検査を行うことが重要であることを発信するとともに、適切な時期に、適切な方法で、適切な検体から臨床検体(5点セット)を採取し、小分けで-70℃以下で凍結保管すること

により、原因と考えられる病原体の検出が可能となる。また、病原体を含む可能性のある検体の搬送方法を確立することは、その他の疾患にも応用可能であり、今後の感染症研究に活かすことが可能となる。

AFP 症例からの検体採取を含む検査フロー、役割分担、具体的な検査方法について再確認し「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」改訂版に反映させる作業を進めている。

AFM 発症 3 年時の長期予後が明らかになり、急性期の治療方針に役立てることが可能となった。本研究の成果は AFM の診断において重要であり、ガイドラインの改訂において必須の項目である。本研究の成果を広く公表することによって、AFP の新規発症例の正確な診断が可能になることが期待される。

E. 結論

2 年目となる令和 2 年度は COVID-19 の流行により、急性脳炎・脳症、AFP の国内発生動向についても影響が出た（例年より減少した）。原因不明の急性脳炎・脳症と診断された 14 人から採取された検体を用いて日本脳炎およびダニ媒介脳炎の実験室診断のための検査（IgM 捕捉 ELISA）を実施した結果、全て陰性であった。日本脳炎およびダニ媒介脳炎に対する IgM 抗体価の測定を行うことで、正確な発生数把握への寄与とともに、臨床医への啓発を行った。原因不明とされた急性脳炎・脳症症例から採取された検体に関して 33 種類の病原体をリアルタイム PCR 法で網羅的にスクリーニングし、陽性の検体をさらに精査することで、14 人から採取された臨床検体 100 件について網羅的な病原体検索を実施したところ 4 人（29%）から急性脳炎・脳症に関与した可能性がある病原体が検出された（パルボウイルス B19、アデノウイルス 56 型、コクサッキーウイルス A4、ムンプスウイルス＋ヒトボカウイルス）。

自己免疫性脳炎患者の髄液に含まれる抗神経抗体の新規検出法を確立した。

2018 年第 18 週から全数報告になった AFP については、2019 年、2020 年ともに想定された年間報告数（154 人）より少なかったが、ポリオウイルスが検出された症例はなかった。AFM では、1～2 肢麻痺として運動障害が持続する率が高いものの、障害レベルは発症後 3 年の時点で全般的に改善していた。2015 年、2018 年ともに画像所見は類似しており、長大な脊髄縦走病変が半数を占め、急性期には灰白質＋白質に病変を認める例が多かった。ガドリニウム造影効果は、発症後早期には比較的 low rate で、やや遅れて出現する傾向を認めた。

2018 年の AFM 症例の神経生理学的特徴は、M

波振幅の低下と F 波出現率の低下であり、2015 年 AFM 症例と同様に運動神経の軸索型障害を呈していると考えられた。AFM と非 AFM の鑑別において、電気生理学的検査を単独で診断に利用することは難しいが、スクリーニングを含めた、診断の補助には有用な検査であると考えられた。2018 年の AFM の画像所見は、2015 年と概ね類似しており再現性が確認された。2015 年流行 3 年後追跡調査では、長期的には運動機能障害の改善が期待できる。AFM では脊髄前角ニューロンのみならず腕神経叢も障害されている可能性が示唆された。

AFP 症例由来検体の病原体検査フローの問題点を検討し「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」改訂作業を進めた。

急性脳炎・脳症・AFP の届出症例について、地衛研で行っている病原体の探索内容が明らかになった。COVID-19 の流行に伴い、顔面神経麻痺等の神経学的異常を呈する症例を経験した。また、COVID-19 流行下で、小児の鼻咽頭ぬぐい液の採取にウイルスガードを用いることは可能であり、特に乳幼児においては有用であることを明らかにした。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表 (研究分担者の報告書に記載)

1. 論文発表

- ① Chong PF, Kira R, Torisu H, Yasumoto S, Okumura A, Mori H, Tanaka-Taya K; AFM Study Group. Three-Year Longitudinal Motor Function and Disability Level of Acute Flaccid Myelitis. *Pediatr Neurol.*;116:14-19, 2021.
- ② Nakamura R, Chong PF, Haraguchi K, Katano H, Tanaka-Taya K, Kira R. Disseminated cortical and subcortical lesions in neonatal enterovirus 71 encephalitis. *J Neurovirol.* 26(5):790-792, 2020.
- ③ Chong PF, Yoshida T, Yuasa S, Mori H, Tanaka-Taya K, Kira R. Acute Flaccid Myelitis With Neuroradiological Finding of Brachial Plexus Swelling. *Pediatr Neurol.* 109:85-88, 2020.

2. 学会発表

- ① 多屋馨子：ワクチンにより予防できるウイルス感染症の最新情報. 第61回日本臨床ウイルス学会. ウェブ開催. 2020.

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