

ISSN 1348-2718

NEUROINFECTION

神経感染症

Vol. 18 No. 1 2013

日本神経感染症学会

Japanese Society for Neuroinfectious Diseases

目 次

第17回日本神経感染症学会学術集会報告	中川 正法
会長講演 亜急性硬化性全脳炎(SSPE)に対する新たな治療法の開発を目指して	中川 正法 1
特別講演 NEW ASPECTS OF PRION DISEASES	Herbert Budka 11
特別講演2 震災・原発事故とその後の対応	細矢 光亮 12
教育講演1 感染症と免疫性神経疾患	楠 進 15
教育講演2 中枢神経感染症の画像診断	山田 恵 20
教育講演3 HIV感染症の治療	高折 晃史 23
教育講演4 鳥インフルエンザウイルス	中屋 隆明 28
シンポジウム1 「ブリオン病の最近の進歩」	
遺伝性ブリオン病における病型と髄液所見	三條 伸夫 35
ヒトブリオン病患者における髄液中の 生化学的バイオマーカーと異常ブリオン蛋白の検出について	佐藤 克也 41
ブリオン病の治療法開発	坪井 義夫 44
ブリオン病の感染予防	岸田 日帶 48
シンポジウム2 「小児の急性脳症」	
急性脳症—発症の遺伝的背景—	水口 雅 54
小児急性脳症の脳波	奥村 彰久 61
小児急性脳症の臨床と画像	高梨 潤一 68
病態を踏まえた治療戦略	市山 高志 74
シンポジウム3 「日和見感染と神経感染症」	
同種造血細胞移植後HHV-6脳炎	緒方 正男 80
中枢神経系日和見感染症の病理	新宅 雅幸 89
シンポジウム4 「神経感染症の診断システム」	
中枢神経感染症の臨床からみた診断上の問題点と今後の課題	森田 昭彦 92
中で発症する細菌性髄膜炎に対する迅速診断システムの構築	生方 公子 96
神経ウイルス感染症の遺伝子診断とその応用： ヘルペス脳炎の病原HSV-1のACV感受性試験法の開発	西條政幸 102
役員一覧	108
会則	109
投稿規程	111
投稿承諾書	113
編集者	

第17回日本神経感染症学会総会学術集会を終えて

第17回日本神経感染症学会総会学術集会会長 中川正法
(京都府立医科大学大学院神経内科学)

2012年10月19日、20日にわたって、標記総会学術集会を京都(ホテルルビノ京都堀川)にて開催いたしました。小児科学、感染対策部、免疫・微生物学、放射線診断・治療学および神経内科学の各教室の先生方にご参加頂き京都府立医大内に実行委員会を結成し、2011年3月より企画を進めて参りました。本大会のメインテーマとして「神経感染症の克服を目指して～新たなる挑戦～」を掲げて、これまでの神経感染症研究を振り返り、その問題点を明らかにし、そして、神経感染症の克服を目指す新たな挑戦を開始することを目的としました。

特別講演1では、ウイーン大学Herbert Budka先生に「New aspects of Prion diseases」と題して、プリオント病研究の歴史と現在の問題点についてご講演頂きました。特別講演2では、福島県立医科大学小児科 細矢光亮先生は2011年3月11日の東日本大震災とその後の取り組みについて「震災・原発事故とその後の対応」をご講演いただきました。福島県立医大の積極的な健康管理事業に感銘するとともに、1年6ヶ月を経過してもなお多くの重い課題があることを改めて認識致しました。

教育講演として、「感染症と免疫性神経疾患」(近畿大学医学部内科学講座神経内科部門 楠 進先生)、「神経感染症の画像診断」(京都府立医科大学放射線診断治療学 山田 恵先生)、「HIV感染症の治療」(京都大学医学研究科血液・腫瘍内科学 高折晃史先生)、「鳥インフルエンザ」(京都府立医科大学医学研究科感染病態学 中屋隆明先生)の4演題を各先生にご講演いただきました。すべての教育講演が興味深いものであり、聴講された参加者からも高い評価を頂きました。

シンポジウムは、「プリオント病の最近の進歩」、「小児の急性脳症」、「日和見感染と神経感染症」、「神経感染症の診断システム」の4テーマを企画しました。いずれのシンポジウムも充実した内容であり、シンポジストの先生方ならびにオーガナイザーの先生方に心よりお礼申し上げます。

会長講演では、私が長年にわたって取り組んでおりますHAMやNeuroAIDSの研究を「レトロウイルスと神経疾患」として発表させて頂きました。

今大会では3つの新企画を試みました。Debate session(イブニングセミナー「疾患予防ワクチンの選択」)、「若手医師のための神経感染症治療セミナー」、若手医師・研究者の優れた発表に対する「日本神経感染症学会」学会賞です。その中でも「若手医師のための神経感染症治療セミナー」は81名の先生方に参加いただいたうえに、参加者からも非常に高い評価もいただきました。また、学会賞は症例報告部門と基礎研究部門の二つを設けましたが、接戦の末、基礎・臨床研究部門 安藤 仁先生(聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター 病因病態解析部門)、症例報告部門 濱野 愛先生(京都府立医科大学 神経内科)が受賞されました。

一般演題は119演題と過去最大の演題数を記録し、充実したご発表と貴重な御討論を頂きました。演者、座長、参加者の皆様に改めて感謝申し上げます。10月の京都開催という季節・場所柄、開催両日の天候にも恵まれ、予想をはるかに上回る360名の医療関係者にご参加いただきました。大会初日の懇親会では京都祇園甲部の芸妓さん、舞妓さんに舞を披露いただき、参加者も艶やかな

舞に魅了され、京都の秋を楽しんで頂けたものと思います。

今大会が本学会の新たな発展に多少とも貢献できたのではないかと考えております。

最後に、本大会の実行委員になって頂いた先生方ならびに京都府立医科大学神経内科の同門会員、医局員、スタッフの皆様に深謝申し上げます。

2013年3月

会長講演

レトロウイルスと神経疾患

中川正法

1はじめに

レトロウイルスは逆転写酵素をもつ一本鎖RNAウイルスである。外在性レトロウイルスのレンチウイルス亜科のHIV-1, HIV-2, オンコウイルス亜科のHTLV-1, HTLV-2などがヒトに感染して、神経疾患であるNeuroAIDS (HIV感染に伴う神経合併症) やHAM (HTLV-1 Associated Myopathy) を引き起こす。両疾患共にひとりの患者さんとの出会いが私の研究の出発点となった。

HIV感染症

AIDSとの関わりは、病棟医長として看取ったHIV認知症の29歳の血友病患者さんを症例報告した時から始まった¹⁾。その後、「HIV等のウイルスによる痴呆や運動失調をはじめとする神経障害に関する基礎的、臨床的研究」班の班員として、わが国で最初のNeuroAIDSに関する全国調査を行った²⁾。

NeuroAIDS

NeuroAIDSは、HIV感染によって引き起こされる神経障害の総称であり、AIDS脳症や薬剤関連末梢神経障害などきわめて多彩な病態を含んでいる。抗レトロウイルス療法(combination antiretroviral therapy:cART)により、全NeuroAIDSの発症は大幅に減少した³⁾。しかし、わが国におけるHIV感染者・AIDS患者数は毎年増加傾向であり、cARTに関連して引き起こされる進行性多巣性白質脳症(PML)、免疫再構築症候群、薬剤耐性による日和見感染、薬剤関連神経障害、脳血管障害等に注意が必要である(図1)。

HIV関連神経認知障害 (HIV-Associated Neurocognitive Disorders : HAND)

cARTによりHIV感染者の免疫機能は改善しAIDS脳症は減少したが、それ以外のHANDが大きな問題として残っている^{4,5)}。HAND有病率は無症状のHIV感染者の約30%、AIDS患者の約50%と言われ、その鋭敏な評価法が課題となっている⁶⁾。European AIDS Clinical Society (EACS)は、HIV-associated neurocognitive impairment (NCI)のガイドラインを2011年発表している⁷⁾(図2)。わが国においても「MIND EXCHANGE研究会(HIV神経認知障害[HAND]研究会)が発足し、HANDの啓発と研究に取り組んでいる。岸田らはcART治療中にAIDS脳症を発症した例を報告し、抗ウイルス薬の中でもプロテアーゼ阻害薬は脳血管閥門を通過しにくく、中枢神経組織がHIVのリザーバーとなる可能性を指摘している⁸⁾。cART中であっても髄液中HIV-RNA量が血中よりも高い場合などは、髄液移行性にも配慮した抗HIV薬の処方と脳症発症を見逃さないための神経合併症に配慮した経過観察が重要である。

米国でのALLRT調査などでみられるように、cART服用者でも軽症の認知障害患者が相当数いること、免疫の改善により認知機能の改善の見込みがあること、逆に軽症認知障害が残存したり、抗ウイルス療法が奏功しても新たに認知障害が発症する場合があることが指摘されており^{9,10)}、cART導入後もNeuroAIDSに関する注意が必要である。

HIV感染者用の高次脳機能評価バッテリーと
神経画像所見

私は、「NeuroAIDSの発症病態と治療法の開発を目指した長期フォローアップ体制の構築研究」班

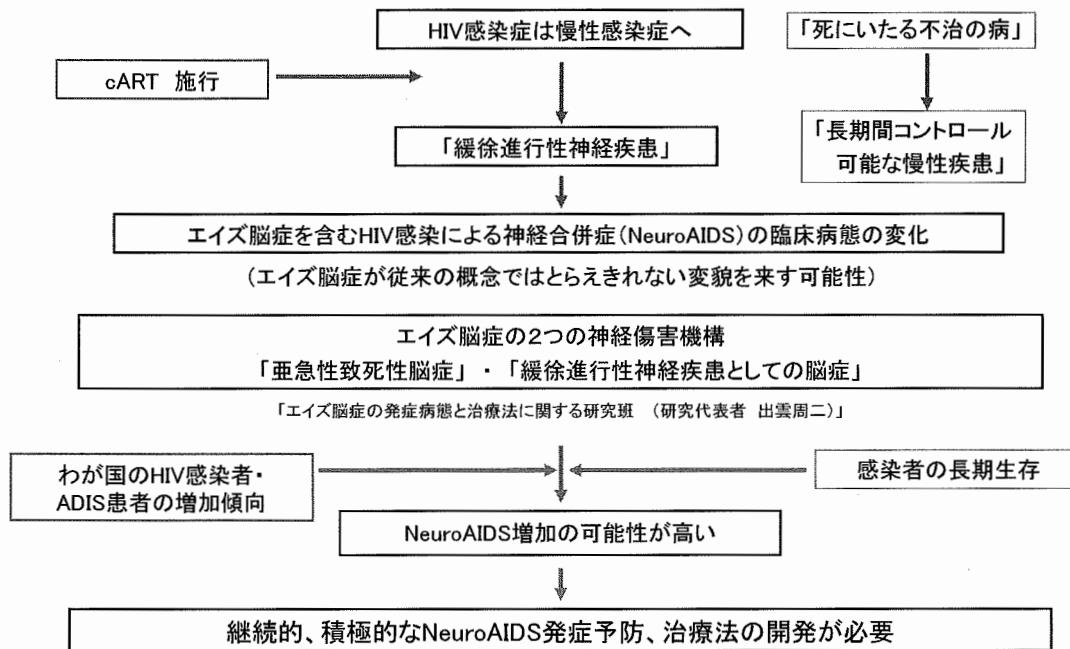


図1 cARTとNeuroAIDSの動向

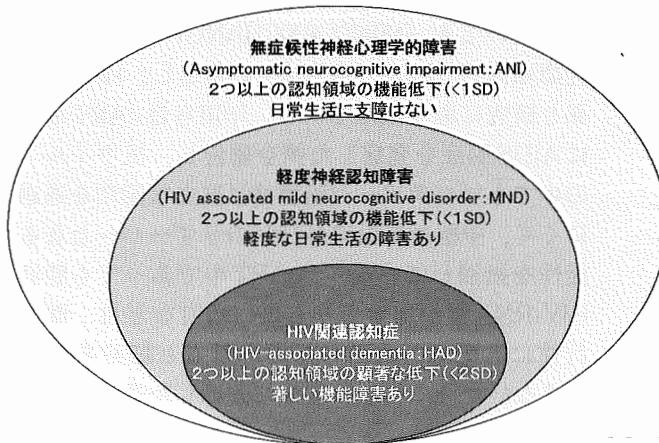


図2 HIV関連神経認知障害(HIV-Associated Neurocognitive Disorders: HAND)

cARTによりHIV感染者の免疫機能は改善し、HADは減少したがANI、MNDが大きな問題として残っている。2007年Frascati criteriaおよび岸田修二先生作図より引用

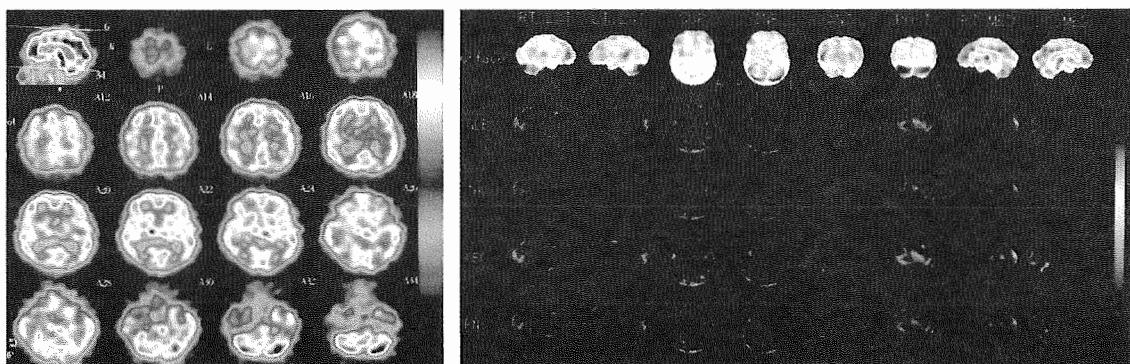


図3. 神経症状のないHIV感染者の脳血流SPECT画像

35歳男性HIV感染者:cARTなし、神経学的局所症状なし。MMSE30点であったが、レーブンマトリックス試験、Rey-Osterrieth複雑図形試験の再生、数唱、符号問題で低下を認め、記憶、注意、遂行機能の障害が示唆された。脳血流SPECTでは両側の後頭葉・頭頂葉の血流低下を認めた。

(平成18～20年)の研究代表者として、中枢神経異常のないHIV-1感染者のフォローアップ研究を行った。高次脳機能の評価バッテリーは、HIV痴呆の評価スケールである国際的HIV痴呆スケール(IHDS)に加え、一般に認知されている検査で記憶、遂行機能、注意、視空間能力、言語機能、総合認知機能を評価する検査法を組み合わせてバッテリーを作成した。IHDS以外の7項目は、Rey-Osterriethの複雑図形(ROCF)、Ravenカラーマトリックス試験(RCMT)、数唱(順唱と逆唱)、符号問題、時計描画検査、語流暢性検査(カテゴリー課題と語頭音課題)、Mini Mental State Examination(MMSE)である(表1)¹¹⁾。器質的中枢神経障害のないHIV感染者6例と正常対照者4例について、前述のバッテリー検査と頭部MRI、脳血流SPECTを行い、各検査結果の解釈と画像所見との関連について検討した。HIV感染者群では、RCMT、ROCFの再生、数唱、符号問題で低下が目立ち、記憶、注意、遂行機能の障害が示唆された。頭部MRIでは明らかな脳萎縮はみられず、脳血流SPECTは主に後頭葉、頭頂葉の軽度血流低下を認めた(図3)。Tuckerらは前頭部の集積低下を報告しており¹²⁾、今回の結果とは異なっているが、われわれが行った高次脳機能検査でもHIV感染者群では前頭葉機能低下を示しており、神経画像所見との関連については今後の経過観察と検討症例数の増加が必要であると考えている。

**表1 HIV感染者用の高次脳機能評価バッテリー
(所要時間 約50分間)**

- ① IHDS (国際HIV痴呆スケール)
- ② Raven's Matrices (遂行機能)
- ③ Rey-Osterrieth complex figure test (記憶)
- ④ 数唱 (記憶、注意)
- ⑤ 符号問題 (複雑注意能力)
- ⑥ Draw a Clock Test (視空間能力)
- ⑦ Word Fluency Test (言語機能)
- ⑧ Mini Mental State Examination (MMSE) (総合認知機能)

推定されるエイズ脳症の発症機序

AIDS脳症の病態の中心は、脳内血管周囲に存在するHIV-1感染マクロファージとミクログリアである。AIDS脳症患者の脳より検出されるウイルスは、CCR5をコレセプターとして使用するマクロファージ指向性HIVである。神経細胞やオリゴデンドログリアへの直接の感染増殖ではなく、間接的細胞障害が病態の中心であると考えられている(図4)¹³⁾。

AIDS脳症の病理像として、多核巨細胞を伴うHIV脳炎と大脳皮質の神経変性病態が知られている¹⁴⁾。大脳皮質変性病態ではアストロサイトによるグルタミン酸除去作用を担うEAAT-2の発現低下とミクログリアのびまん性活性化が生じている。アストロサイトの障害により生じたEAAT-2発現低下を補うためにミクログリアが活性化し、アストロサイトの神経保護作用を代償していることが推察されている。炎症惹起性サイトカインであるIL-1 β が、HIV脳炎に特徴的な多核巨細胞に一致して強く発現しており、HIV脳炎の炎症の持続、組織の変性に関与していることが、サルAIDS脳症モデルおよびヒトAIDS脳症剖検例の検討を通じて想定されている(図5)¹⁵⁾。AIDS脳症マウスモデルも開発され、この分野での更なる発展が期待される¹⁶⁾。

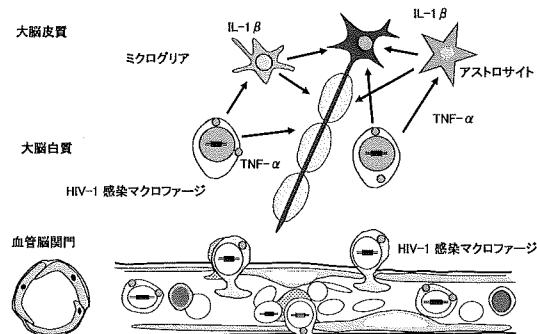


図4 推定されるエイズ脳症の発症機序

HIV-1感染マクロファージが神経組織内に浸潤し、IL-1 β 、TNF- α などの炎症性サイトカインを放出し、脳炎などの神経傷害を惹起すると想定されている。

免疫再構築症候群とAIDS脳症

cARTの導入に伴って、免疫再構築症候群(Immune reconstitution inflammatory syndrome:IRIS)が重要な問題となっている。IRISは、cART開始後にHIVウイルス量が減少し、CD4陽性T細胞が上昇する過程でみられる感染・炎症の再燃・顕在化をいう¹⁷⁾。IRISによる脳炎の神経病理学的特徴は、白質を中心として小血管周囲へのCD8陽性T細胞を主体とする著明な細胞浸潤、軸索・髓鞘の変性などである^{18,19)}。IRISは脳炎以外にも、PML、クリプトコッカス髄膜炎、サイトメガロウイルス感染症に発症頻度が高く、クリプトコッカス髄膜炎ではcART導入時点での高抗原価に発症危険性が高いことが指摘されている。IRISに対して副腎皮質ステロイドホルモンの投与が有効な場合もあるが、死に至ることも多く、IRISの病態解明がNeuroAIDSの

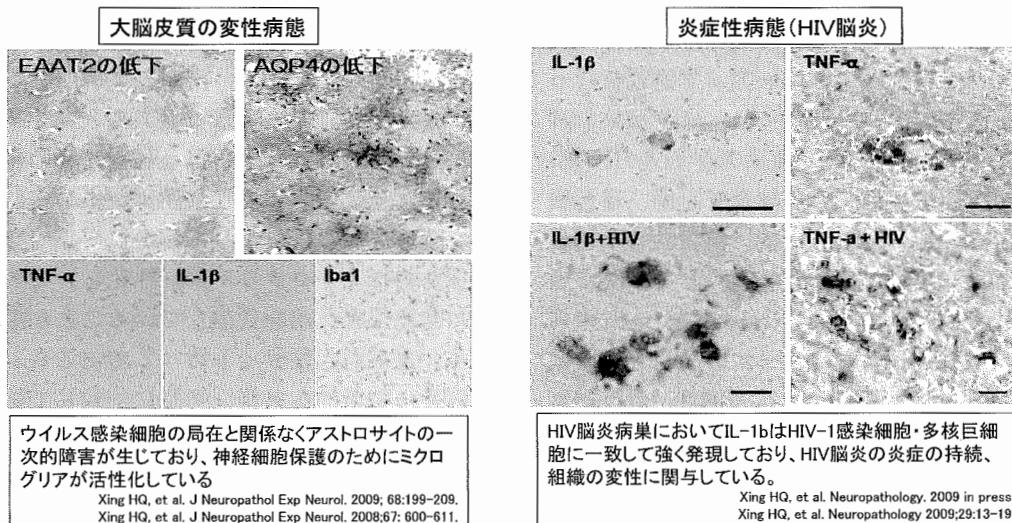


図5 サルエイズモデルとヒト剖検例を用いたエイズ脳症発症機序の解析¹⁵⁾。

治療においても重要な課題となっている。

HIV-1関連脊髄症

HIV-1関連脊髄症はその病理学的特徴から、vacuolar myelopathyと言われ、特に側索・後索にマクロファージの活性化と空胞変化が多く見られる¹³⁾。臨床的には、緩徐進行性の痙性対麻痺で感覚性運動失調、神經因性膀胱を合併することが多い。海外ではAIDS患者の5～10%に臨床症状が認められ、剖検例の50%にvacuolar myelopathyを認めるとされている。わが国のAIDS患者ではその頻度は低く、剖検例でも10%以下である²⁰⁾。HIV-1関連脊髄炎は臨床的に横断性脊髄炎の症状を示すが比較的まれな疾患であり、HTLV-1、梅毒、結核、サイトメガロウイルス、ヘルペスウイルスなどによる脊髄炎との鑑別が必要である。

HIV-1関連末梢神経障害

HIV-1感染に伴う末梢神経障害として、多発脳神経炎や慢性炎症性脱髓性多発根神経炎(CIDP)などが知られているが、感覚優位多発神経炎が最も高頻度でみられる。HIV関連感覚優位多発神経炎(HIV-SN)は、HIV-1自体に関連した多発神経炎とHIV治療に伴う薬剤性末梢神経障害が含まれるが両者の鑑別は困難なことが多い。HIV-SNの臨床的特徴は、“痛み”または“不快な異常感覚”であり、歩行時や夜間に悪化する。HIV-SNの病態として、後根神経節における炎症細胞浸潤と神経細胞の脱落が指摘されている¹¹⁾。末梢神経伝導検査では遠位部優位に軸索性感覚神経障害を認める。現時点では、HIV-SN

に対する有効な治療法はなく、cARTの内容変更などの対症療法に止まっている。

NeuroAIDSのまとめ

世界的にはHIV感染者数・AIDS患者数とともに頭打ち傾向にある中で、わが国ではHIV感染者・AIDS患者数は年々増加し、特にHIV感染を知らない、あるいは治療を自己中断してAIDSを発症してくれる患者の割合が増加し続けている。cARTが奏功しても神経障害が持続することやcART治療後もNeuroAIDSが発症する場合があり、長期生存により認知機能障害のリスクが高まることが指摘されている。NeuroAIDSの発症機構の解明と治療戦略は、延命化したHIV感染症対策において最も重要な課題であると考える。

HAM : HTLV-1 Associated Myelopathy (HTLV-1関連脊髄症)

私がHAM研究に関わる契機も病棟指導医として診療を担当した一人のHTLV-1陽性痙性対麻痺患者さんとの出会いであった。その患者さんがHAM患者第一号となった。HAM発見の歴史は、40年前の昭和46年、鹿児島大学医学部第三内科教授に井形昭弘先生就任され、昭和47年からの鹿児島、宮崎、沖縄県での難病検診開始まで遡ることになる。井形先生が「鹿児島には、排尿障害・感覚障害を持つた痙性脊髄麻痺の患者さんが多いね」と言われ、昭和50年に納先生が難病検診の結果を報告（当時、中川は医学生として検診に参加）された。そして、昭和51年高月先生（当時京都大学医学部）が成人T細胞

白血病(ATL)を報告され、昭和55年HTLVの発見(Gallo先生、日沼先生)、昭和56年HTLVがATLの原因ウイルスと確認された。そして、昭和60年6月、前述のHAM患者さん発見があり、昭和61年3月に井形先生が「HAM」と命名され、納先生が日本神経学会九州地方会で報告された^{21,22)}。昭和61年11月からは、献血のHTLV-Iスクリーニング開始され、その後、スクリーニングを受けた血液由來のHAM発症はない。

HAMは2008年に厚生労働省特定疾患に指定されたが、医療費軽減措置を含む対策の充実が望まれる。

HAMの疫学

1995年に私が代表としてHAM213例のまとめを報告した²³⁾。当時の厚生省免疫性神経疾患に関する研究班として第一次、第二次のHAM全国調査を行った。そして、最近、HTLV-1感染者および第三次HAM患者全国調査が行われた。その結果、HTLV-1感染者は全国で約108万人存在し(図6)²⁴⁾、関東、関西などの都市圏でHAM患者が増加していることが明らかとなった(図7)²⁵⁾。また、1995年以降は

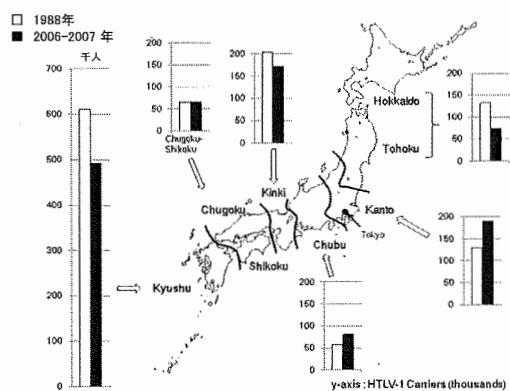


図6 HTLV-1保因者の変遷。現時点のHTLV-1保因者数は108万人と推定された。Satake M, et al. J. Med. Virol. 84:327-335, 2012より引用。

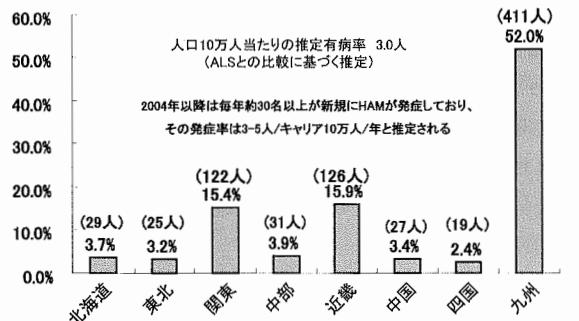


図7 第3次HAM全国調査で登録されたHAM患者790名の地域分布。

出雲周二、他:HAMの新しい展開。神経内科 75:369-373, 2011より引用

高齢発症のHAM患者が多く、高齢発症割合(65歳以上)は、1994年前は4 / 317例(1.3%)、1995年以後は122 / 464例(26.3%)、p<0.0001(Fisher's直接法)であった。ALSの有病率との比較に基づいて、HAMの人口10万人当たりの推定有病率は3.0人と推定された。

HAMの診断上の注意点

抗HTLV- I 抗体陽性の症例において、多発性硬化症、視神經脊髄炎、頸椎症性脊髄症などとの鑑別が重要となる。抗HTLV- I 抗体価、HTLV- I プロウイルス量、抗アクアボリン4抗体、電気生理学的検査所見が参考となる^{26,27)}。まれにATLの合併例もある。一般的に緩徐進行性であるが、時に急速に進行する例がある。急速進行を示すHAM患者の定義は、発症2年以内に両杖歩行レベル以上に悪化、または、3 ~ 6ヶ月以内に納の運動障害重症度が1段階以上の悪化としている。比較的急速に症状が進行している例には、ステロイドホルモン大量投与、インターフェロンα注射(保険適応あり)などが有効な場合がある。

HAMとりハビリテーション —インナーマッスルの再教育—

HAMの治療において、継続的なリハビリテーション(リハビリ)は必須である。痙性のコントロールに加えて、体幹筋の再教育・強化を行う事で体幹を円筒状に強化保持し、さらに、固定の役割をする体幹と下肢をつなぐ、骨盤周囲筋の再教育・強化を行う事で、足の振り出しがスムーズになりリハビリ効果の向上に役立つと考えられる(図8)^{28,29)}。

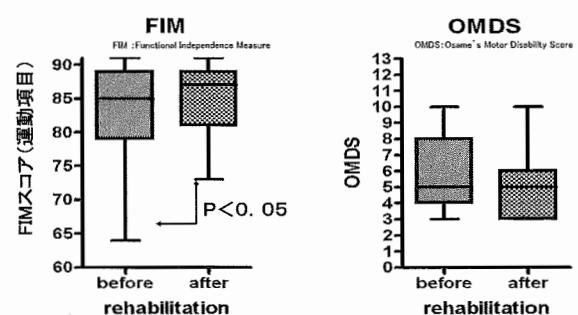


図8 HAMに対するリハビリ効果。

HAM症例15例(男性3例、女性12例)に4週間の集中リハビリを行った。

奥田求己、他。理学療法科学 25(4): 573-578, 2010より引用

HAM患者に対するロボットスーツHALの即時効果

ロボットスーツHAL[®]はCYBERDYNE(株)により開発された装着型動作支援機器でHAMの歩行障害を改善する可能性がある。HAM患者3例に40分間、T字杖2本を使用し、HALを装着して歩行練習を行った(図9)。三次元動作解析装置を用いて、歩行中の計測空間に対する骨盤角度、および左右の股関節、膝関節における関節角度を計測し、更に歩幅、ケイデンス、歩行速度をHALの歩行練習前後で比較した。その結果、HAL装着歩行練習により共通して歩幅の増大、歩行速度の改善を認めた。HAM患者の中でもOMDS 5度以上の症例がHAL装着歩行練習に適応していると考えている。



図9 HAL[®]を装着して歩行練習をしているHAM患者。

HAM患者に対するバクロフェン髄注療法 (ITB療法)

バクロフェンは、脊髄後角に分布するGABAB受容体にアゴニストとして作用し、脊髄内の单・多シナプス反射の両方をシナプス前抑制により抑制し、 γ 運動ニューロンの活性を低下させる。しかし、脳血管閥門を通過しにくいという弱点があった。そこで、バクロフェン髄注療法(ITB療法)が開発され、わが国でも2006年4月保険適応となった。われわれは、ITB療法のスクリーニングにて有効性が認められたHAM患者3例にバクロフェン髄注療法用ポンプの埋め込み術を行い、その後、継続的リハビリを施行した。三次元動作解析装置(VICON MX)を用いて、歩行中の計測空間に対する骨盤角度、左右の下肢の各関節角度を計測し、更に歩幅、ケイデンス、

歩行速度をITB療法の前後で比較した。3例ともに下肢痙攣性および歩行の改善を認めた。

いずれの療法も継続的リハビリが不可欠であり、HAMの治療には薬物療法と継続的リハビリの併用が重要であることを強調したい。

HAMの病態

脊髄の病理学的検討から、HAMでは胸髄中下部の左右対称性の側索、前側索、後索腹側部の変性、血管周囲から実質内にひろがる小円形細胞の浸潤がみられる³⁰⁻³³。HTLV-1 mRNAおよびプロウイルスDNAは浸潤単核細胞内のCD4陽性Tリンパ球内にのみ確認される。HAMの発症にはホスト側とウイルス側の発症関連要因(HLA、ウイルスタイプなど)が関与している。脊髄病巣部のHTLV-1感染CD4陽性Tリンパ球とそれを攻撃するHTLV-1特異的CD8陽性Tリンパ球との相互作用により種々のサイトカインが持続的に放出され、神経組織を傷害している想定されている(by stander効果)³⁴。

HAMに関連した最近の研究

HTLV-1 basic leucine zipper factor (HBZ)は、HTLV-1 Tax遺伝子の逆方向からの転写により産生される。Saitoらは、HAM 56例、ATL 10例、無症候キャリア 38例、非感染者 20例のHBZ mRNA発現量を検討し、HAM重症度および髄液中ネオプテリン量と相関し、IFN- α 治療により減少すると報告している³⁵。Yamanoらは、IFN- γ $^+CD4^+CD25^+CCR4^+T$ 細胞(T_{HAM})がHAM患者で増加しており、HAMの臨床的重症度および髄液中ネオプテリン量と相関していると報告している³⁶。Satouらは、HAM患者ではFoxP3 $^+CD4^+T$ 細胞の割合が増加し、GITRとCTLA-4の発現が有意に低下し、HTLV-1はFoxP3 $^+CD4^+T$ 細胞に高頻度で感染していると報告した。制御性T細胞が抑制性機能を果たす時に重要な分子であるGITRやCTLA-4が低下していた事から、HAM患者で増加しているFoxP3 $^+CD4^+T$ 細胞は抑制性機能が低下している可能性を指摘している³⁷。

最近、ATLに対するヒト化抗CCR4モノクローナル抗体が認可されたが、今後、HAMに対する有効性も期待される。

HTLV-1対策の強化

HAM患者会の積極的な働きかけとHTLV-1研究者のサポートによりHTLV-1対策が強化され、1)感染予防対策、2)相談支援(カウンセリング)、3)医療体制の整備、4)普及啓発・情報提供、5)研究開発の推進が掲げられた。その結果、新たな厚生労働省研究班が組織され、全国的なHAM患者登録事業(HAMねっと)がスタートした(図10)。また、ATL研究者も含めた「HTLV-1研究会・合同班会議」が組織され年々活発になっており、HAM研究は新たな時代を迎えている。

最後に

私は常に患者さんの声に耳を傾けることを心がけているが(表2)、最後に第1例目のHAM患者さんよりのメッセージを紹介して本講演の締めくくりとしたい。「私は毎年少しづつ歩きにくくなっています。このままでは寝たきりになるようでとても不安です。25年間HAMの新しい治療法を待っています。

表2 HAM患者さんからの疑問・訴え(抜粋)

- ① HAMは白血病なのですか?
- ② 自分の周りにHAM患者がいないので心細い
- ③ 医療関係者なのにHAMのことを知らない人が多い
- ④ 自己導尿をしているが、外出するとなると大変である
- ⑤ 排泄に時間がかかる。夜間排尿が4~5であり熟睡できない
- ⑥ 体がこわばって硬くなる感じがする。全身に痛みがある
- ⑦ インターフェロンのため3回/wの通院をしているが、経済的負担、家族への時間的負担が大変である
- ⑧ 特定疾患にならないのか、何らかの公的負担はないのか?
(2008年 難病指定となったが医療費軽減措置は
2013年1月時点では行われていない)

HAM患者ウェブ登録システムの全体像

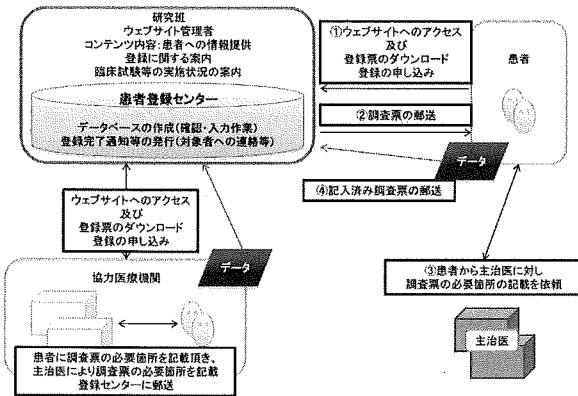


図10 HAMねっと(HAM患者登録システム)

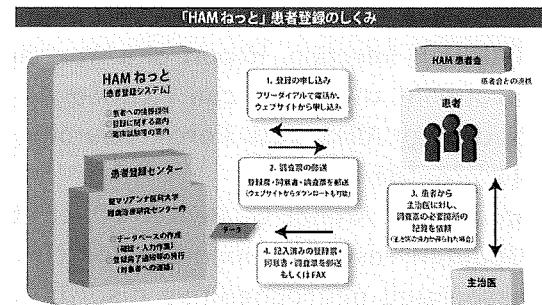
このシステムは「HTLV-1関連脊髄症(HAM)の新規医薬品開発に関する研究」班(研究代表者聖マリアンナ医科大学 山野嘉久先生)によって運営されている。

HAMねっと[HAM患者登録システム]のご案内

HAM [HTLV-1関連脊髄症]は患者さんの数が少ない疾患有り、患者さんが全国のさまざまな医療機関に点在しているため、情報を効率的に集めることができず、治療の研究が進まない大きな原因となっています。そこで、実際の検査や治療の状況など、全国のHAM患者さんの情報を集め、また明らかにかかっていないHAMの病状を明らかにし、より早く治療開発のための研究が進むよう、このたびHAM患者登録システム「HAMねっと」を開設しました。

また患者さんに直接聞くことで、治療方法を開発・確立していくために必要な臨床試験、治療の情報を収集することも可能となるため、治癒研究の円滑な実施を助ける効果も期待されます。このような新しい治療法の開発、両疾の研究を進めていくためには患者さんのご協力がとても大切です。一人でも多くの患者さんのご協力を待ちています。

このHAM患者登録システムは、厚生労働省研究班によるプロジェクトの一環であり、HAMの新たな治療方法の確立に向けた研究推進のために、右記のメンバーが運営しています。



HAMの治療法の開発のためならばどのような治療に受けます。」

謝辞

本研究は、厚生労働科学研究費補助金（エイズ研究事業）「NeuroAIDSの発症病態と治療法の開発を目指した長期フォローアップ体制の構築に関する研究（H18—エイズ—一般—009）」、同（難治性疾患克服研究事業）「重症度別治療指針作成に資すHAMの新規バイオマーカー同定と病因細胞を標的とする新規治療法の開発」班、および同「HTLV-1関連脊髄症（HAM）の新規医薬品開発に関する研究」班（研究代表者山野嘉久先生）の助成を受けて行われた。各研究班の関係者の皆様に深謝致します。

文献

- 1) Arimura H, Nakagawa M, Maruyama Y, et al: A hemophiliac with human immunodeficiency virus (HIV)-1-associated dementia complex. *Inter Med* 34: 995-999, 1995.
- 2) Nakagawa M, Maruyama Y, Sugita H, et al: Nationwide survey of neurologic manifestations of acquired immunodeficiency syndrome in Japan. *Inter Med* 36: 175-178, 1997.
- 3) Yoritaka A, Ohta K, Kishida S. Prevalence of neurological complications in Japanese patients with AIDS after the introduction of HAART. *臨床神経* 47: 491-496, 2007.
- 4) Janssen RS, Cornblath DR, Epstein LG. Nomenclature and research case definitions for neurologic manifestations of human immunodeficiency virus-type 1 (HIV-1) infection. Report of a Working Group of the American Academy of Neurology AIDS Task Force. *Neurology* 41:778-785, 1991.
- 5) Antinori A, Arendt G, Becker JT, et al: Updated research nosology for HIV-associated neurocognitive disorders. *Neurology* 69:1789-1799, 2007
- 6) Gandhi NS, Moxley RT, Creighton J, et al: Comparison of scales to evaluate the progression of HIV associated neurocognitive disorder. *HIV Ther* 4:371-379, 2010.
- 7) European Treatment Guideline (<http://www.europeanaidsclinicalsociety.org/>)
- 8) 岸田修二: HAART導入後の神経系AIDSとその関連疾患—真菌性髄膜炎を含めて。 *Neuroinfection* 14:78-84, 2009.
- 9) Robertson KR, Smurzynski M, Parsons TD, et al: The prevalence and incidence of neurocognitive impairment in the HAART era. *AIDS* 21:1915-1921, 2007.
- 10) Bhaskaran K, Mussini C, Antinori A, et al: CASCADE Collaboration. Changes in the incidence and predictors of human immunodeficiency virus-associated dementia in the era of highly active antiretroviral therapy. *Ann Neurol* 63: 213-221, 2008.
- 11) 中川正法。HIV感染と神経合併症。 *Clinical Neuroscience* 28:331-334, 2010.
- 12) Tucker KA, Robertson KR, Lin W, et al: Neuroimaging in human immunodeficiency virus infection. *J Neuroimmunol* 157:153-162, 2004.
- 13) McArthur JC, Brew BJ, Nath A. Neurological complications of HIV infection. *Lancet Neurol.* 4: 543-555, 2005.
- 14) Xing HQ, Hayakawa H, Gelpi E, et al: Reduced expression of excitatory amino acid transporter 2 and diffuse microglial activation in the cerebral cortex in AIDS cases with or without HIV encephalitis. *J Neuropathol Exp Neurol* 68:199-209, 2009.
- 15) Xing HQ, Moritoyo T, Mori K, et al: Expression of proinflammatory cytokines and its relationship with virus infection in the brain of macaques inoculated with macrophage-tropic simian immunodeficiency virus. *Neuropathology* 2009; 29: 13-9.
- 16) Miura Y, Misawa N, Kawano Y, et al: Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand induces neuronal death in a murine model of HIV central nervous

- system infection. Proc Natl Acad Sci USA 100: 2777-2782, 2003.
- 17) Shelburne SA 3rd, Hamill RJ, Rodriguez-Barradas MC, et al. Immune reconstitution inflammatory syndrome: emergence of a unique syndrome during highly active antiretroviral therapy. Medicine(Baltimore) 81: 213-227, 2002.
- 18) Venkataramana A, Pardo CA, McArthur JC, et al: Immune reconstitution inflammatory syndrome in the CNS of HIV-infected patients. Neurology 67: 383-388, 2006.
- 19) 今村栄次、山下拓史、福原敏行ほか：高活性抗レトロウイルス療法により免疫再構築症候群をきたしたAIDSにともなう進行性多巣性白質脳症の1剖検例。臨床神経 47: 650-656, 2007.
- 20) Funata N, Maeda Y, Koike M, et al: Neuropathology of the central nervous system in acquired immune deficiency syndrome (AIDS) in Japan. With special reference to human immunodeficiency virus-induced encephalomyopathies. Acta Pathol Jpn 41: 206-211, 1991.
- 21) Osame M, Usuku K, Izumo S, et al: HTLV-I associated myelopathy: A new clinical entity. Lancet 1 (8488): 1031-1032, 1986.
- 22) Osame M, Matsumoto M, Usuku K, et al: Chronic progressive myelopathy associated with elevated antibodies to HTLV-I and adult T-cell leukemia-like cells. Ann Neurol 21:117-122, 1987.
- 23) Nakagawa M, Izumo S, Ijichi S, et al: HTLV-I-associated myelopathy : analysis of 213 patients based on clinical features and laboratory findings. J Neurovirol 1: 50-61, 1995.
- 24) Satake M, Yamaguchi K, Tadokoro K. Current prevalence of HTLV-1 in Japan as determined by screening of blood donors. J Med Virol 84:327-335, 2012.
- 25) 出雲周二、松崎敏男、久保田龍二:HAMの新しい展開。神経内科 75:369-373, 2011.
- 26) Koga M, Takahashi T, Kawai M, et al. Neuromyelitis optica with HTLV-
- 1 infection: different from acute progressive HAM? Intern Med 48:1157-1159, 2009.
- 27) 梅原藤雄:HAMの臨床的多様性。神経内科 75:374-379, 2011.
- 28) 奥田求己, 栗山長門, 瀬尾和弥, 他:HTLV-1 associated myelopathy(HAM)患者に対する短期集中リハビリテーションのADL効果。理学療法科学 25:573-578, 2010.
- 29) 武澤信夫、奥田求己、中川正法:HAMのリハビリテーション。神経内科 2011;75:393-401.
- 30) Izumo S, Ijichi T, Higuchi I, et al: Neuropathology of HTLV-I-associated myelopathy-a report of two autopsy cases Acta Paediatr Jpn 34: 358-364, 1992.
- 31) Umehara F, Izumo S, Nakagawa M, et al: Immunocytochemical analysis of the cellular infiltrate in the spinal cord lesions in HTLV-I associated myelopathy. J Neuropathol Exp Neurol 52:424-430.1993.
- 32) Umehara F, Izumo S, Takeya M, et al: Expression of adhesion molecules and monocyte chemoattractant protein - 1 (MCP-1) in the spinal cord lesions in HTLV-I-associated myelopathy. Acta Neuropathol (Berl) 91:343-350, 1996.
- 33) Moritoyo T, Reinhart TA, Moritoyo H, et al: Human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy and tax gene expression in CD4+ T lymphocytes. Ann Neurol 40:84-90, 1996.
- 34) 納光弘、宇宿功市郎、梅原藤雄、他:HAMの病態と治療。日本内科学会雑誌92:1673-1682, 2003.
- 35) Saito M, Matsuzaki T, Satou Y, et al: In vivo expression of the HBZ gene of HTLV-1 correlates with proviral load, inflammatory markers and disease severity in HAM/TSP. Retrovirology 6:19, 2009.
- 36) Yamano Y, Araya N, Sato T, et al: Abnormally high levels of virus-infected IFN-gamma+ CCR4+ CD4+ CD25+ T cells in a retrovirus-associated neuroinflammatory disorder. PLoS One. 4:e6517, 2009.

- 37) Satou Y, Utsunomiya A, Tanabe J, et al:
HTLV-1 modulates the frequency and
phenotype of FoxP3+CD4+ T cells in
virus-infected individuals. *Retrovirology*.
30:9:46, 2012.

特別講演 1

NEW ASPECTS OF PRION DISEASES

Herbert Budka^{1,2)}

Prion diseases affect both humans and animals and are unique in biomedicine as occurring spontaneously, by genetic mutation, or by transmission from an infected or disease-bearing individual to another of the same or different species. Human prion diseases comprise spontaneously occurring sporadic Creutzfeldt-Jakob disease/sCJD, genetic (familial CJD, Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease/GSS, fatal familial insomnia/FFI) and acquired (iatrogenic CJD, variant CJD/vCJD : true prion infection) disease forms. While the nature of the causative agent has been hypothesized for decades, the prion or protein-only hypothesis was only recently proven by creation of prion disease in wild type animals inoculated with purely synthetic prions (recombinant prion protein/PrP converted into amyloid fibrils). Much of public interest in prion diseases originated from the fact that BSE in cattle transmitted by food to humans and caused vCJD in an epidemic of currently 227 victims world-wide. Both the BSE epidemic in the UK, EU and elsewhere, and the vCJD epidemic are on decline, resulting in loss of public interest with this topic. However, there are still several important prion problems to be resolved : the possible existence of BSE and vCJD in countries or regions that do not have appropriate surveillance; the intended eradication of animal prion diseases; the relaxation of costly BSE control measures without sacrificing food safety; the potential risk to humans from recently discovered atypical prion strains in animals; the development of sensitive and specific in-vivo diagnostic tests and of specific therapies; and last but by no means least the risk to blood transfusion and blood product recipients from donations by yet healthy vCJD carriers.

1) Institute of Neuropathology, University Hospital Zurich, Switzerland and
2) Institute of Neurology, Medical University of Vienna, Austria

特別講演2

震災・原発事故とその後の対応

細矢光亮

はじめに

2011年3月11日14時46分、突然の不気味な地鳴りに大きな地震が来ると直感した。東北から北関東にかけて、かつて経験したことのない激震となつたが、その時、これほどまでの被害をもたらすことになるとは想像できなかつた。震災直後から現在まで、福島県立医科大学附属病院が大震災にどのように向き合ってきたか、私の経験した小児科領域を中心に述べさせていただく。

1. 震災後の医療と支援

1) 震災直後の対応

地震発生直後に、附属病院内に災害対策本部を立ち上げ、一般診療は制限し、多数搬入されると予想される重症外傷患者を中心とした診療体制に変更した。重症度に応じて重症、中等症、軽症の3つの外来に分け、外科系医師を中心に2交代制で診療にあたることとし、搬送された患者をすべて収容できるよう、救急病床のみでなく一般病床もできるだけ確保し、外来には多数の簡易ベッドを並べて待機した。しかし、3月12日16時までの24時間に来院した救急患者累計は、軽症（緑）42名、中等症（黄）12名、重症（赤）26名、死亡（黒）1名と、建物の倒壊などによる重症の負傷者は予想に反し少なかつた。また、福島県沿岸部においても巨大津波による溺水患者が多数発生したが、海岸より約50km離れた福島医大附属病院まで治療のために搬送された者もなかつた。しかし、その後明らかとなった東京電力福島第一原子力発電所の事故により、当院は通常の震災医療に加え、原発内における高度放射能汚染受傷者の受け入れ、避難地域（20km圏内）や屋内退避地域（30km圏内）からの救急患者の受け入れ、そして避難地域に残された療養施設等に入所している高齢者の一時収

容など、放射線災害医療も担当することとなつた。

2) 巡回診療

震災後1週間、地震・津波・原子力災害による小児の搬送例は僅かであった。避難した子どもたちがどのようにすごしているのか情報が届かず不安であったため、避難所に直接連絡して聞き取り調査を行つた。また、小児科学講座のマーリングリストを通じて、県内の病院・診療所の小児科医に周辺にある避難所に直接出向き、実態を確認するようお願いした。これらの情報を基に不足物品や必要な情報を収集し、県内避難所への巡回支援・診療活動を開始した。多くは着の身着のままの避難であり、すべての生活必需物品が不足していたが、時間とともに支援物資が届くようになり、2週間程でほぼ解消された。福島県内の多くの避難所で、子どもの姿は思ったほど多くなかつた。小さな子どもを持つ家庭ほど、事故を起こした原発から遠く離れるべく県外に避難しているのではないかと思われた。避難所で見かける子どもたちは概して元気であった。

3) その後の周産期・小児医療

地震発生後3ヶ月を経過した時点において、原発周囲30km圏内を除くと、周産期～小児医療はほぼ通常の診療体制に回復した。しかしながら出産数をみると、海岸線の「浜通り」では前年の6割程度、新幹線が通る「中通り」では7-8割と減少していた。小児科外来・入院患者数は、会津を含む全県において減少が見られた。これらは現在においても十分には回復していない。妊婦や乳幼児を持つ親を中心に、放射線による健康被害に対する不安から、県外への避難が続いていることを示している。

2. 東京電力福島第一原発事故の状況

東京電力福島第一原子力発電所は、東日本大震災において原子炉圧力容器内の核燃料に制御棒が挿入

され自動停止した。しかし、地震およびそれに伴う津波の被害によりすべての外部電源を喪失し、冷却水の供給が絶たれ、圧力容器内の水位が下がり、燃料棒が水面から露出して炉心溶解を起こした。現在は外部ポンプにより原子炉内にほぼ安定的に真水が注入されており、溶解した核燃料は原子炉格納容器内にあると考えられている。この事故による放射性物質の放出量は、放射性希ガスが650万テラベクレル、放射性ヨウ素131は15万テラベクレル、放射性セシウムが1.2万テラベクレルと推定され、 Chernobyl と比較すると総放出量は10分の1程度と考えられている。また、放出された放射線の多くは、3月のこの地域にみられる風向きにより太平洋に拡散したとみられている。

原発20km圏内(避難地域)に居住していた多くの住民は、事故発生後短期間のうちに避難している。また、避難地域外にあるが3月15日から16日にかけての放射性ブルームの飛来により比較的高線量地域となった浪江町、飯館村、川俣町山木屋地区などの住民においても、事故後外出や汚染食物摂取を自主的に控えており、 Chernobyl のような外部および内部被ばくはないものと思われる。

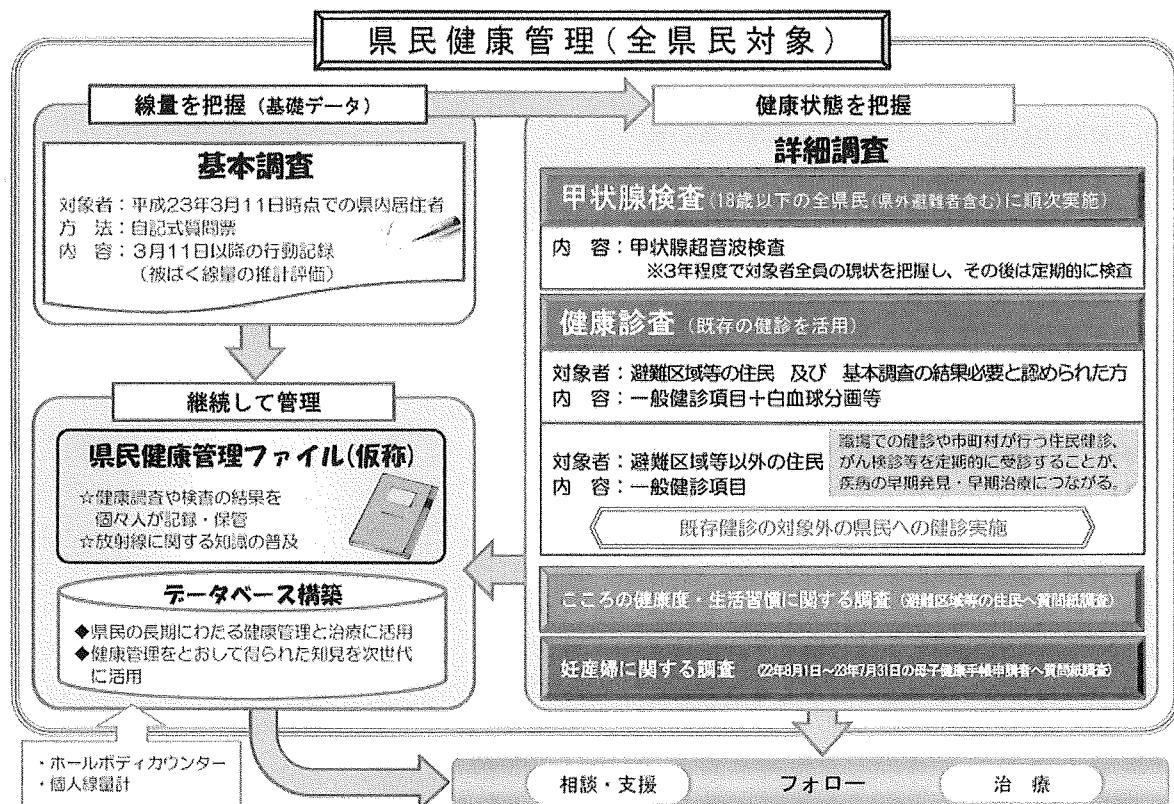
すなわち、放出された放射線量、地表に降下した放射線量、食物や水から摂取した放射線量、日本人のヨウ素摂取状況などを勘案すると、 Chernobyl

のような小児甲状腺がんの多発はないと思われる。しかしながら、これまで低線量長期被ばくの経験はなく、甲状腺がん等の発生増加が全くないと断言することはできない。

3. 今後の対応：県民健康管理調査

福島県民が切に願っていることは、1)原子炉を安定的に停止させ、完全に廃炉とすること、2)環境中の放射線量を出来る限り早く低減させ、老若男女を問わず安心して住める環境にすること、3)原発事故に起因する特に小児における健康被害が生じないよう万全な方策をとることである。

この度の原発事故は、自然災害等による全外部電源喪失の可能性が指摘されておりながら、その対策を怠ってきたための「人災」であり、その責任は、当事者である東京電力と原子力発電を国策として推進してきた国にあるのは明白である。したがって、原発事故被害者への補償は東電と政府が責任を持つべきものである。しかしながら、政府の対応は住民への指示や説明においても迅速性を欠いた。福島県民の政府に対する不信と放射線による健康被害に対する不安は深く、福島県はこれに応えるべく「県民健康管理調査」を行うこととし、その実施を福島県立医科大学に委託した。



県民健康管理調査の骨子は、①基本調査と②詳細調査よりなる(図)。基本調査は、事故のあった3月11日以降の居住地や行動から事故後4か月間の外部被ばく線量を推定するものであり、県民の健康を管理し、健康被害を調査するうえで基本になるものである。

詳細調査は、(1)甲状腺エコー検査、(2)健康診査、(3)こころの健康度・生活習慣調査、(4)妊産婦調査よりなる。甲状腺エコー検査は、原発事故による健康被害として、起こるとすれば最も可能性のある甲状腺がんの発生増加の有無を調査するものであり、万一発症者がいた場合であっても治療により治癒が望める疾患であるため、早期発見によりがん死を防ぐことを目的としている。県民における小児甲状腺がんへの不安が非常に強いことから、災害時18歳以下の全県民を対象に、20歳までは2年に1度、20歳以降は5年に1度のエコー検査を、今後長期にわたり実施する予定である。

健康診査は、放射線の直接影響を評価するのみならず、長期の避難生活などのストレスが健康に与える影響を調査し、疾患の予防や早期発見・早期治療につなげるためのものであり、避難区域等の住民と基本調査の結果必要と判定された方々を対象に行われる。基本的には市町村や職場で実施している特定健診や健康診断などを活用し、白血球分画や尿潜血反応等の上乗せ項目を追加して実施するもので、健診受診率を向上させ、がんや生活習慣病の早期発見・早期治療により、質の高い生活を送れるようにしようとするものである。健康診断の充実と受診率の向上により、原発事故前に比べて県民の平均寿命が延長することを期待している。

こころの健康度・生活習慣調査は、地震や津波による心的外傷、長期の避難所生活のストレス、原発事故による放射線に対する不安、職を失ったことによる経済的不安など、様々なストレスがこころや生活習慣に与える影響を調査するものであり、避難区域等の住民と基本調査の結果必要と判定された者を対象に行われる。調査によりカウンセリングや治療が必要と判定された方々をケアするシステムを構築している。

妊産婦調査は、災害発生時に妊娠している、あるいは災害後に妊娠した方々を対象にアンケート調査を行うものであり、妊娠から出産を通して妊産婦を支え、出生後の母子をケアするシステムを構築している。

おわりに

東日本大震災は、福島県に甚大な被害をもたらした。地震による建物の倒壊、津波による沿岸部の壊滅的被害は、現在もなお復旧・復興の気配が見えない。しかし、それにもまして我々を苦しめているのは東京電力福島第一原子力発電所の事故である。原子力災害は福島県全域に重大な放射能汚染をもたらした。その放射線量は、原爆やチェルノブイリ原発事故に比較すると少ないが、決して看過できるものではない。特に放射線に感受性の高い小児における健康被害に対する福島県民の不安は強く、小さな子供を持つ親や妊婦は放射線量の低い地域を求めて避難している。すべての県民が安心して福島県内で生活できるよう、そして放射線被ばくに起回する子どものがん死を絶対に出さないよう、除染などの環境整備の徹底とともに、県民の健康を護る健康管理体制の構築が必要である。

文献

- 1) 正しく怖がる放射能の話 山下俊一監修 長崎文献社 2011年発行

教育講演 1

感染症と免疫性神経疾患

楠 進

【要約】免疫性神経疾患の発症や増悪のメカニズムには、感染症の関与が考えられる場合がある。その中でも詳細が検討されているのは、糖脂質の糖鎖に対する抗体が病態に関与する Guillain-Barre 症候群 (GBS)、その亜型の Fisher 症候群、Bickerstaff 型脳幹脳炎、急性散在性脳脊髄炎などである。GBS は約 70% で発症の 1 ~ 2 週間前に先行感染をみとめる。先行感染が免疫系を刺激して糖脂質に対する抗体が産生され神経障害をきたす可能性が考えられている。それぞれの糖脂質抗体は、特定の臨床病型と関連することが多く、また特有の先行感染との関連がみられることが多い。*Campylobacter jejuni* および *Mycoplasma pneumoniae* では、菌体表面の糖鎖が神経系の糖脂質に類似した構造であり、菌体の糖鎖に対する免疫反応の結果として抗糖脂質抗体が産生されるという分子相同性機序が示されている。免疫性神経疾患の病態を理解する上で、感染症との関連は重要であり、さらなる詳細な解析が必要である。

はじめに

神経疾患の病態には様々なものがあるが、免疫学的機序も重要なひとつであり、免疫が関与する神経疾患は「免疫性神経疾患」と呼ばれる。厚生労働省の免疫性神経疾患調査研究班の対象疾患としては、多発性硬化症、重症筋無力症、Guillain-Barré 症候群、Fisher 症候群、慢性炎症性脱髓性多発ニューロパチー、多巣性運動ニューロパチー、クロウ・深瀬症候群 (POEMS 症候群)、HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) の 8 疾患が上げられるが、そのほかにも抗 NMDAR 脳炎・傍腫瘍性神経症候群・急性散在性脳脊髄炎など多くの疾患の病態に免疫機序が関連すると考えられる。

これらの免疫性神経疾患の発症や増悪のメカニズムには、感染症の関与が考えられる場合がある。HTLV-1 ウィルス感染との関連がわかっている HAM はもちろんあるが、多発性硬化症の病態と EB ウィルスとの関連なども注目されている¹⁾。

また近年、急性の末梢神経障害である Guillain-Barré 症候群 (GBS)、その亜型の Fisher 症候群、Bickerstaff 型脳幹脳炎などでは、感染症と疾患自体の病態メカニズムについて、詳細が検討され分子レベルで明らかになってきた。これらの疾患では、糖脂質の糖鎖に対する抗体の上昇が知られており、糖

脂質は神経系の細胞膜に豊富に存在することから、それらの抗体の病態への関与が考えられている²⁾。

GBS は約 70% で発症の 1 ~ 2 週間前に先行感染をみとめる。明らかな感染因子が同定されることはない。平成 12 年度の免疫性神経疾患調査研究班の報告では、わが国の GBS で前駆症状のみられた中では呼吸器症状が約 60%、消化器症状が約 30% と記載されている。一方同定される先行感染因子としては、消化器感染の原因菌である *Campylobacter jejuni* が多い。前述の糖脂質の糖鎖に対する抗体 (抗糖脂質抗体) は、これらの先行感染が患者の免疫系を刺激することにより産生され、抗原の局在部位に結合して神経症状をきたすと考えられる。

そこで、以下では糖脂質抗体上昇を伴う免疫性神経疾患に焦点をあて、糖脂質抗体の種類ごとに、感染症との関連についての知見を我々のデータを中心に述べる。

1) GM1 抗体

C. jejuni 感染後の GBS では、急性期の血中に GM1, GM1b, GD1a, GalNAc-GD1a などのガングリオシドに対する IgG 抗体が高頻度にみられ、電気生理学的には軸索障害型のことが多く、純粋運動型の頻度が高い。中でも GM1 抗体については多くの研

究報告がある。GM1抗体陽性GBS患者から得られた*C. jejuni*の菌体にはGM1様の糖鎖構造があるため、GM1抗体は菌体に対する免疫反応として「分子相同性機序」により産生されると考えられている。GM1抗体の作用部位はRanvier絞輪部であり、補体介在性の神経障害をきたすことが示されている⁴⁾。

2) Galactocerebroside (Gal-C) 抗体

Galactocerebroside (Gal-C) は、中枢神経および末梢神経のミエリンに存在する糖脂質であるが、Gal-Cに対する抗体がマイコプラズマ肺炎後のGBSや脳脊髄炎にみられることが多く、病態との関連が注目されている^{5,6)}。

Gal-Cでウサギを感作すると脱髓性ニューロパチーが作成されること、さらに抗Gal-C抗体は脱髓を引き起こす因子であることが報告されている⁷⁾。従って、マイコプラズマ肺炎後に上昇する抗Gal-C抗体も、神経障害の病態機序において脱髓因子として働く可能性が高い。しかし、同抗体はマイコプラズマ肺炎後で神経症状のない症例においても、頻度は神経症状のある例より低いがみられることがある。従って抗Gal-C抗体の血中での上昇のみでは脱髓をきたすとは限らず、脱髓をきたすには他の要因の関与も必要であると考えられる。

マイコプラズマ菌体から作成されたマイコプラズ

マ抗原試薬により、患者血中の抗Gal-C抗体は吸収された⁸⁾。また、マイコプラズマ菌体から脂質を抽出して分析すると多くの糖脂質が存在し、患者血清はそれらの糖脂質に強く反応する抗体をもつことも確認された。さらにマイコプラズマと無関係に、Gal-Cをウサギに免疫して得られた抗Gal-C抗血清も、マイコプラズマ菌体の糖脂質に反応することが示された。以上よりマイコプラズマ肺炎後の抗Gal-C抗体産生にも「分子相同性機序」が示唆される。また肺炎マイコプラズマの一部の糖脂質抗原の糖鎖構造も明らかとなっている⁹⁾。

3) GalNAc-GD1a抗体

GalNAc-GD1aは、ウシ脳ガングリオシドのジシアロシル画分(シアル酸を2個含むガングリオシドを主に含む画分)から、われわれがGBSの標的分子として見出した、比較的微量な成分である¹⁰⁾。IgG型のGalNAc-GD1a抗体は、GM1抗体と同様に軸索障害型・純粹運動型のGBSにみられることが多い。一方IgM型のGalNAc-GD1a抗体は、末端の糖鎖構造が同じであるためしばしばGM2にも交差反応する。その場合は、サイトメガロウィルス感染後のGBSのことが多く、顔面神経麻痺や感覚障害を伴うことが多い¹¹⁾。また同ウィルス感染後のneuralgic amyotrophyでもこのタイプの抗体が報告されてい

抗原	Igクラス	先行感染
GQ1b	IgG	呼吸器感染
GD1b (monospecific)	IgG	呼吸器感染
Gal-C	IgG>IgM	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
LM1	IgG	呼吸器感染、消化器感染
GalNAc-GD1a (monospecific)	IgG, IgM	<i>C. jejuni</i>
GM2	IgM>IgG	CMV
GM1	IgG>IgM	<i>C. jejuni</i>
GD1a	IgG	<i>C. jejuni</i>
GM1b	IgG>IgM	<i>C. jejuni</i>
GD1a/GD1b	IgG	消化器感染>呼吸器感染
GM1/GalNAc-GD1a	IgG	呼吸器感染>消化器感染

表1 GBSにおける抗ガングリオシド抗体と先行感染の関連

る¹²⁾。

GalNAc-GD1aに対する特異的抗体を作成してヒト末梢神経組織における局在を免疫組織化学的に検討したところ、前根や筋内神経で軸索周囲膜(あるいはミエリン最内層)が染色された。一方、後根や腓腹神経の小径線維の染色もみられた¹³⁾。前者はIgG型GalNAc-GD1a抗体の、また後者はGM2と交差反応するIgM型GalNAc-GD1a抗体の、それぞれ標的部位と考えられるが、それぞれのタイプの抗体の結合部位がなぜ異なるのかは今後の検討課題である。

4) GQ1b抗体

GQ1bに対するIgG抗体は、急性単相性の経過で眼球運動麻痺と運動失調をきたしGBSの亜型とされるFisher症候群において、9割以上の頻度で陽性となる。また眼球運動麻痺や運動失調をきたしたGBS、Fisher症候群の症状に加えて中枢神経障害を伴うBickerstaff型脳幹脳炎、眼球運動麻痺と運動失調のどちらか一方のみをきたすFisher症候群の不全型などでも高率に陽性となる^{2, 14)}。すなわち、GBSと同様の機序により眼球運動麻痺あるいは運動失調をきたす場合に陽性となる抗体である。さらに患者数は少ないがGBSの亜型で急性単相性に嚥下・構音障害をきたす場合にも陽性となる。眼球運動を支配する脳神経(III, IV, VI)の傍絞輪部ミエリンや一部の後根神経節細胞、あるいは神経筋接合部がその標的と考えられている。

GQ1b抗体陽性例の先行感染は、どの病型をとる場合も大多数は呼吸器感染であるが、感染因子が同定されることは少ない。一方、消化器感染が先行する場合には*C. jejuni*の頻度が高いことが知られている。

5) ガングリオシド複合体抗体

単独のガングリオシドではなく、2種類のガングリオシドの糖鎖の相互作用で形成されるエピトープを認識する抗体がみられる場合があり、ガングリオシド複合体抗体と呼ばれる。GD1a/GD1b複合体に対する抗体は、重症度の高いGBSにみられることが多いが、先行感染としては消化器感染が多い²⁾。一方GM1/GalNAc-GD1a複合体に対する抗体陽性のGBSでは、神経幹中間部の伝導ブロックがみられることが多い³、呼吸器感染が先行することが多い¹⁵⁾。

GD1bに対する特異性の高い抗体は、運動失調を

伴うGBSにみられるが、そのような抗体はGD1bにGD1aなどのガングリオシドを添加すると反応性が弱くなる¹⁶⁾。GD1aなどの添加によりGD1bの糖鎖構造が変化するためと考えられる。そのようなGD1b特異的抗体陽性例では、大部分で呼吸器感染が先行する。

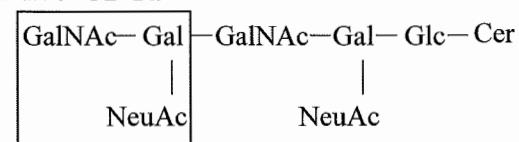
6) LM1関連抗体

末梢神経のミエリンに局在する糖脂質であるLM1およびLM1/GM1, LM1/GD1a複合体に対する抗体は、脱髓型のGBSでみられる¹⁷⁾。これらの抗体陽性例の先行感染は、呼吸器感染・消化器感染のどちらの場合もあり、特定の感染との関連はまだ明らかになっていない。LM1関連抗体に関わる感染因子の検討は今後の課題と考えられる。

おわりに

免疫性神経疾患の病態を考える上で、感染症についての検討は極めて重要である。今後腸管免疫との関係等も重要な研究課題となることが予想され、さらに詳細な病態メカニズムが解明されるものと思われる。

GalNAc-GD1a



GM2

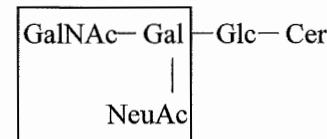


図1 GalNAc-GD1aとGM2の糖鎖構造

GalNAc-GD1aのみに反応する抗体と両者に共通する糖鎖末端(□で囲んだ部分)に反応する抗体では、伴う臨床病型が異なる(本文参照)

文献

- 1) Lassmann H, Niedobitek G, Aloisi F, et al: Epstein-Barr virus in the multiple sclerosis brain: a controversial issue—report on a focused workshop held in the Centre for Brain Research of the Medical University of Vienna, Austria. *Brain* 134: 2772-2786, 2011
- 2) Kaida K, Kusunoki S: Antibodies to gangliosides and ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome and Fisher syndrome: Mini-review. *J Neuroimmunol* 223: 5-12, 2010
- 3) 萩野美恵子、斎藤豊和、有村公良、ほか：Guillain-Barré症候群の全国調査－第3次調査結果を含めた最終報告－。厚生労働省特定疾患対策研究事業 免疫性神経疾患に関する調査研究班 平成12年度研究報告書(班長 納光弘) p99-101, 2001
- 4) Susuki K, Rasband MN, Tohyama K, et al: Anti-GM1 antibodies cause complement-mediated disruption of sodium channel clusters in peripheral motor nerve fibers. *J Neurosci* 27: 3956-67, 2007
- 5) Kusunoki S, Chiba A, Hitoshi S, et al: Anti-Gal-C antibody in autoimmune neuropathies subsequent to mycoplasma infection. *Muscle Nerve* 18: 409-413, 1995.
- 6) Nishimura M, Saida T, Kuroki S, et al: Post-infectious encephalitis with anti-galactocerebroside antibody subsequent to Mycoplasma pneumoniae infection. *J Neurol Sci* 140: 91-95, 1996.
- 7) Saida T, Saida K, Dorfman SH, et al: Experimental allergic neuritis induced by sensitization with galactocerebroside. *Science* 204: 1103-1106, 1979.
- 8) Kusunoki S, Shiina M, Kanazawa I: Anti-Gal-C antibodies in GBS subsequent to mycoplasma infection: Evidence of molecular mimicry. *Neurology* 57: 736-738, 2001.
- 9) Miyachi A, Miyazaki A, Shingu Y, et al: Synthesis and absolute structures of *Mycoplasma pneumoniae* β -glyceroglycolipid antigens. *Carbohydr Res* 344: 36-43, 2009.
- 10) Kusunoki S, Chiba A, Kon K, et al: N-acetylgalactosaminyl GD1a is a target molecule for serum antibody in Guillain-Barré syndrome. *Ann Neurol* 35:570-576, 1994.
- 11) Kaida K, Kusunoki S, Kamakura K, et al: Guillain-Barré syndrome with IgM antibody to the ganglioside GalNAc-GD1a. *J Neuroimmunol*, 113:260-267, 2001.
- 12) Moriguchi K, Miyamoto K, Takada K, et al: Four cases of anti-ganglioside antibody-positive neuralgic amyotrophy with good response to intravenous immunoglobulin infusion therapy. *J Neuroimmunol* 238: 107-109, 2011
- 13) Kaida K, Kusunoki S, Kamakura K, et al: GalNAc-GD1a in human peripheral nerve: target sites of anti-ganglioside antibody. *Neurology* 61:465-470, 2003.
- 14) Chiba A, Kusunoki S, Obata H, et al: Serum anti-GQ1b IgG antibody is associated with ophthalmoplegia in Miller Fisher syndrome and Guillain-Barré syndrome: Clinical and immunohistochemical studies. *Neurology* 43:1911-1917, 1993.
- 15) Kaida K, Sonoo M, Ogawa G, et al: GM1/GalNAc-GD1a complex: a target for pure motor Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 71: 1683-1690, 2008
- 16) Kaida K, Kamakura K, Ogawa G, et al: GD1b-specific antibody induces ataxia in Guillain-Barré syndrome. *Neurology* 71: 196-201, 2008
- 17) Kuwahara M, Suzuki S, Takada K, Kusunoki S. Antibodies to LM1 and LM1-containing ganglioside complexes in Guillain-Barré syndrome and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Neuroimmunol* 239: 87-90, 2011

Infection and neuroimmunological diseases

Susumu Kusunoki

Infection is associated with the pathogenesis of some neuroimmunological diseases. Antiglycolipid antibodies are frequently involved in the pathogenesis of such diseases as Guillain-Barré syndrome, Fisher syndrome, Bickerstaff brainstem encephalitis and acute disseminated encephalomyelitis. In about 70 % of the cases with Guillain-Barré syndrome, neurological onset is preceded by some infections. Antecedent infections may induce the production of antiglycolipid antibodies that cause neurological disturbance. Each antiglycolipid antibody is often associated with a certain clinical feature and with a particular antecedent infection. It has been suggested that the antiglycolipid antibodies are produced by the immune reaction against the surface carbohydrate antigen of the infectious agents, which mimics glycolipid of the human nervous system, in the case of *Campylobacter jejuni* and *Mycoplasma pneumoniae* infections. Further investigations on the roles of infections are necessary to understand the precise pathogenetic mechanisms of neuroimmunological diseases.

教育講演2

中枢神経感染症の画像診断

山田 恵

はじめに

本稿においては最初に脳の画像診断の一般的注意事柄に簡単に触れた上で、後半には感染症を疑った時に活用されるMRIの撮影方法に関して概説を試みる。MRIやCTが中枢神経領域の診療で重要な位置を占めるのは周知のとおりだが、残念ながら読影方法に関して一般化したような一定の手順(定石)は存在しない。このことをかんがみて我々が大学病院においてレジデントの教育を行うにあたって強調している点を幾つか選択して、本稿の前半部分で解説を行う。

ファーストステップ；全体像をみる

脳画像を見る時には、まず全体像の把握が大切である。第一印象として感じ取られる脳の形状やボリュームの評価は多くの医師が反射的に行っている作業の一つであろうが、かなりの部分が主観的である。例えば脳萎縮を軽度、中等度、高度の三つに分類したとしても、そのグレーディングに定量性は期待できない。複数の放射線科医に萎縮の程度を独立して評価させた場合、必ずしも一致率は高くないということを示した論文が存在する¹⁾。とはいっても自分なりに主観的でもよいので「全体像」を最初に把握することは重要である。特に経時変化を見る時には全体像の把握が重要となる。全体像を把握するにあたってモニター上での画像の表示方法はとても重要なので次の項目で述べる。

タイル表示の重要性

医用画像の電子化が進み、モニター上で画像を観察することが、この数年で世のスタンダードとなってきたが、その過程で1枚の画像を画面に大きく表

示してスクロールをしながら頭尾方向に追跡するという読影手法が自然に一般化してきた経緯がある。この手法の利点は大きく、解剖学的構造の連続性をとらえ易いことから、初学者には好まれる。しかし図1に示したようなタイル表示(この図では4×5)による読影というのも捨てがたい情報をもたらすので、筆者はこれも愛用している。その理由は「一覧性」にある。つまり全体像を観察したり、萎縮の経時変化を評価するにあたって、この一覧性には大きな利点がある。逆に言えば1枚の画像をスクロールするようにして読影することで全体像がかえって捉えにくくなることに多くの医師がまだ気づいていない。

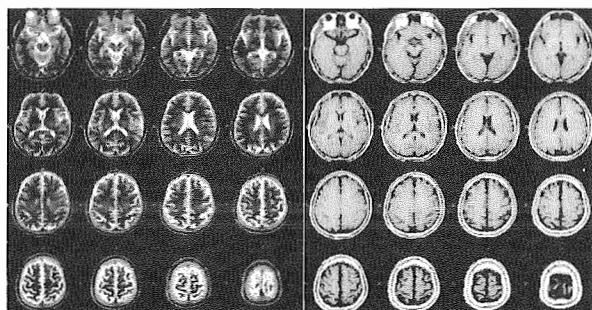


図1 68歳の健常人の頭部MRI。T2強調画像(左)とT1強調画像(右)を示す。脳脊髄液がT2強調画像で強い輝度をもつためT1強調画像と比べて広めに見える点に着目されたい。従って水頭症の程度や脳のボリュームの経時的評価をする時には常にどちらかのシーケンスで統一して観察する必要がある。

下角は必ず見る

水頭症や脳萎縮の判定において、必ず確認しなければいけないのが下角の大きさである。図1の最上列にも示されているように健常人では水平断画像で側脳室下角は、かぎ型の線状構造物としてのみ検知

される。これが面として見えた場合は開大があると考える必要がある。ただし下角開大自体は非特異的所見であり、水頭症においてのみ見られるものではなく、変性疾患による側頭葉萎縮でも、やはり開大する。従って冠状断画像を参照しながら判断を下す必要がある。

画像の端は盲点

しばしば診断上、鍵となるような画像所見が撮影範囲の一番端に存在することがあり、これらが見落とされる可能性が高い。以下にそのような症例を供覧する。症例は58歳男性で主訴は不明熱である。既往歴には mycosis fungoides (cutaneous T cell lymphoma) があり髄膜炎除外のために頭部 MRI が施行された。頭部 MRI 自体は正常である(図2-a)。しかし、よく見ると画面の端に写っている上位頸椎において椎体周囲に膿瘍が形成されていることが判る(図2-b)。後に施行された椎体の MRI ではこれが再確認され椎間板炎及び硬膜外膿瘍の診断がなされた(図2-c)。このような画面の端にあるような所見をできるだけ高い確率で見つけ出すためには系統的な観察方法を自分なりに作っていく必要がある。特にペーディングで三次元画像を読影する時は、手順を決めて系統的に見ていくことが大切である。これは人間が集中して観察できる視野にかなりの限界があるためだ。ペーディング中に漫然と画面全体を眺めていると、細部において観察からもれる領域が生じてしまう。

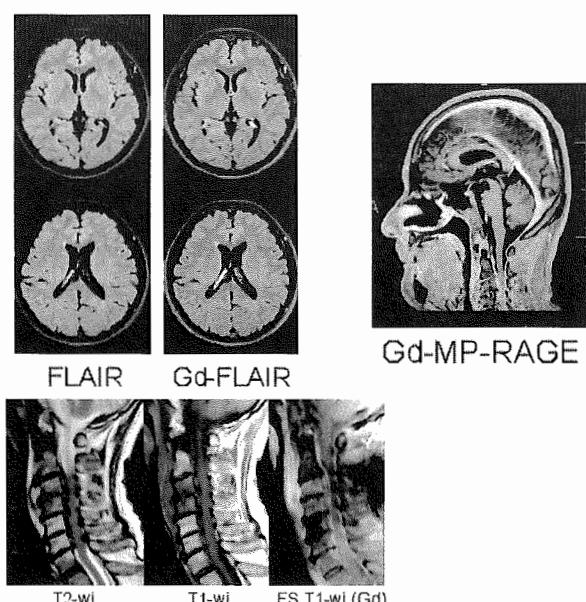


図2 58歳男性不明熱。頭部 MRI (造影前後) にて髄膜病変を指摘することはできない(2-a)。3D で撮影された MP-RAGE においてはC3頸椎レベルにおける椎体周囲の濃染像が疑われた(2-b)。後に施行された椎体の MRI でも同部における感染症が確認された(2-c)。

拡散強調画像

脳炎や脳膿瘍の判定において拡散強調画像の果たす役割は大きい。膿瘍の内腔は拡散強調画像で高信号を呈し ADC の低下を認めるのが通常である(図3)。膿瘍における、もう一つ大きな画像上の特徴を挙げるとすれば拡散異方性の指標である FA マップにおいて、しばしば内部に高い FA 値を呈する縞模様を形成することである(図3上段中央及び右端)。その原因はよく分かっていないが細胞間の接着因子が関与しているという報告が存在する。即ち白血球が層状構造を形成するに伴い生じる拡散異方性で形成される模様なのかもしれない。

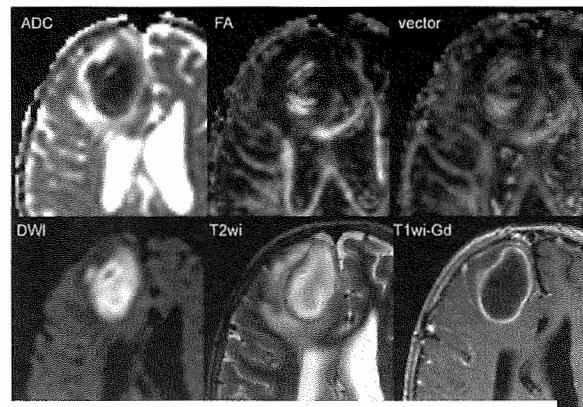


図3 先天性心疾患の寄与を有する6歳女児。頭部 MRI にて右前頭葉の囊胞性病変が観察される。囊胞内腔が拡散強調画像で高信号を呈するのが膿瘍の最も大きな画像的特徴である。

造影検査について

カドリニウム製剤を用いた造影 MRI は禁忌事項がない限り必須項目の一つである。その使用目的としては大きく分けて二つあり、即ち腫瘍性病変の精査、そして髄膜病変の検索である。脳に腫瘍性病変を見た場合、脳膿瘍に加えて脳腫瘍や脱髓性疾患は必ず鑑別に挙がる。この時に病変の造影パターンを参考に読影を行うわけだが、一般的に膿瘍の方が均一で強いリング状濃染像を呈することが多い。また一般的に深部よりも脳表側で壁が厚い傾向にある。ただしこのような画像的特徴は必ずしも特異性が高いものではない。脱髓性疾患ではしばしば完全なリングを形成せず、部分的に濃染を呈さない場合があり、これをオープンリング・サインと呼ぶ。膿瘍における壁の濃染の程度は患者の免疫状態によっても左右され、免疫不全の状態にある場合には、淡い不完全な濃染像を認めるのみであることもある。

髄膜炎を疑う症例においても、やはり造影検査は必須である。造影後のT1強調画像を撮影するのが最もスタンダードな手法であるが、これに加えて造影後のFLAIR画像は有用であることが知られており、鋭敏に髄膜病変をとらえることを可能とする。従ってこれは是非とも追加しておきたいシーケンスの一つである。時に遅延相も有用であることが報告されている²⁾。図4には造影後FLAIRが有用であった症例を示す。

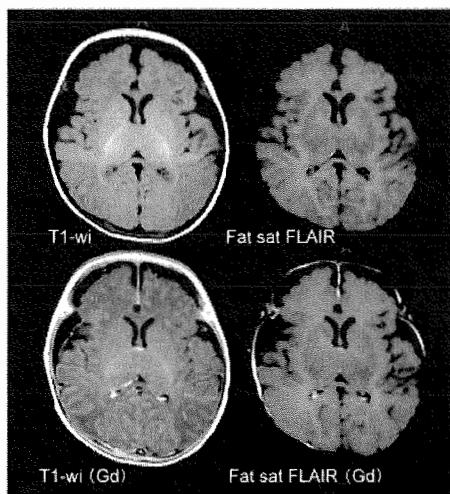


図4 3歳女児。発熱・不機嫌・意識障害で来院した。造影後のT1強調画像では髄膜の濃染像がやや観察しにくい。これは髄膜濃染像が脳表の血管と類似したり骨髓の高信号に邪魔をされて検知しにくい傾向にあるわけだが、造影後のFLAIR画像では比較的容易に検知可能である。本症例の起炎菌は penicillin-susceptible. S. pneumoniae (PSSP)、であつたため抗生物質への反応は良好で完治して退院している。

文献

- 1) Leonardi M, Ferro S, Agati R, Fiorani L, Righini A, Cristina E, D'Alessandro R. Interobserver variability in CT assessment of brain atrophy. *Neuroradiology*. 1994; 36: 17-9.
- 2) Hirota T, Ishihara K, Akazawa K, et al. Case report: delayed post-contrast fluid-attenuated inversion recovery image for depicting meningeal carcinomatosis. *Br J Radiol*. 2004; 77: 528-531.

教育講演3

HIV感染症の治療

高折晃史

【要旨】HIV(Human Immunodeficiency Virus)感染症は、レトロウイルスであるHIVによって引き起こされる感染症であり、後天性免疫不全症候群(Acquired ImmunoDeficiency Syndrome: AIDS)という形で様々な病態を惹き起す。1981年に最初のAIDS症例が報告されて約30年が経過したが、この間、原因ウイルスの分離・同定、その遺伝子機能解析を経て、各種のウイルス阻害薬の開発がなされ、多剤併用療法(Highly Active Anti-Retroviral Therapy: HAART)により「不治の病」から「慢性疾患」へと変化した。ひとつの病気の発見から、病因の発見、治療法の開発がこれほど急速になされた例は過去には見られない。これらを可能にしたのは、AIDSという病気を治そうとする基礎及び臨床の研究者の熱意と絶え間ない努力である。本講演では、まず、HIV感染症およびAIDSの基礎として、その診断・疫学等に関して述べるとともに、実際の臨床の現場において注意すべき事柄をまとめた。そして、HIV感染症の治療に関して、その歴史と変遷、現在の治療の現状と問題点、さらに「治癒」へと向けた未来への試みに関して述べる。

また、最後に神経感染症としてのHIV感染を理解するうえで、近年提唱されたHIVに関連した認知障害である「HIV関連神経認知障害(HIV-1-associated neurocognitive disorders: HAND)」についてもまとめた。

Key words: HAART、予後、逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、治癒、予防

1. HIV-1感染症の診断・疫学

ヒト免疫不全ウイルス1型(Human Immunodeficiency Virus Type 1: HIV-1)感染症は、通常性行為により感染が成立した後、4-8週の急性感染期を経て、無症候期へと移行する。無症候期は、平均して約10年間持続するが、最終的には急激なウイルス量の増加とそれに伴うCD4(+)T細胞の減少により免疫不全状態となり、後天性免疫不全症候群(Acquired Immunodeficiency Syndrome: AIDS)を発症する。感染の診断は血中の抗体の存在によってなされ、一方、AIDSの診断は23の指標疾患の罹患をもってなされる。HIV-1感染者数の推移に関しては、日本においては、依然、①感染者数の増加と②「いきなりエイズ」で診断を受ける患者数の多さ(感染者全体の約1/3)が大きな問題となっている。これは、日本においては早期に検査を受ける人が未だに少ないことが大きな要因の一つである。ご存知のようにHIV-1感染は、性行為、母子感染、麻薬使用が感染の大きな3つのルートであるが、なかでも

性行為は感染全体の80%以上を占める。通常の性行為における感染のリスクは0.1～1.0%と決して高いものではないが、この数値は性行為の形態や他の性行為感染症(STD)の存在により大きく変わることから注意が必要である。

2. プライマリーケアとしてのHIV-1感染症

1) HIV-1検査について

米国CDCの報告によれば、米国在住の成人の38-44%がHIV検査を受けており、毎年1600-2200万人が検査を受けている。その様な状況においても、今なお年間の新規感染者数はほぼ4万人で推移しており、2006年の勧告において、HIV検査は、本人へ検査を行うことを知らせた後に、本人が検査を断らない限り(Opt-Outスクリーニング)すべての医療機関受診機会において行うことを推奨している¹⁾。これは、あくまで、上記のような感染者数を擁する米国における現状に基づくものであり、それをそのまま日本に当てはめることは決してできないが、日本

の10年後が米国のようにならぬよう、検査体制の拡充と受検者への啓蒙を行うべきであろう。

HIV検査は、抗体検査であり、通常、EIA法を中心としたスクリーニング検査とWestern Blot法やPCR法からなる確認検査の2段階で行われ、スクリーニング検査が陽性もしくは判定保留の場合、確認検査に進む²⁾。この際、①検査のウインドウ期の存在と②偽陽性の問題に注意しなければならない。

検査のウインドウ期は、現在の最新の第4世代検査においては、抗原抗体の両者を検出することにより約28日と短縮されている。一方で、献血の際に問題となる感染性のウインドウ期は従来22日といわれてきたが、NAT検査導入により13日に短縮された。しかしながら、献血におけるHIV陽性者数は年々増加傾向であり、2007年には献血者10万人当たり約2.065人となっており、特に大阪では一時期9.4人を記録するなど、陽性者の献血が大きな問題となっている。この意味でも、HIV検査体制の拡充と受検者への啓蒙が急務であると考えられる。

検査の感度は99.5%、特異度は99.99%と非常に優れた検査である。偽陽性率は、PA法、EIA法の場合、0.03～0.3%であり、1000人に1～3人の偽陽性者が存在し得る。これは、一見して非常に少ない数値ではあるのだが、その解釈には十分な注意が必要である。というのは、日本のような陽性者が少ない集団ほど偽陽性の確率は高くなるからである。保健所検査の受検者における感染者の割合はおよそ0.3% (3/1000人) であり、通常のスクリーニング検査の偽陽性率を0.3% (3/1000人) とした場合、理論的には、約50%が偽陽性となるわけである。実際、厚生労働省の調査によれば、ある2施設で2004～5年の1年間にスクリーニング検査を受けた妊婦4424人中13人が陽性であったが、確認検査ではこのうち1名が真の陽性で、12名が偽陽性であった。妊婦の場合、約5%が真の陽性、裏返せば95%が偽陽性であるとされている。

- ・若い男性の帯状疱疹
- ・腸炎:アメーバー、CMV腸炎の可能性
- ・他の性感染症(STD)がある場合
 - 梅毒、尖圭コンジローマ、クラミジア、淋病
 - ウィルス肝炎(A, B, C)、赤痢アメーバも含む
- ・結核
- ・カンジダ症(口腔内、食道)
- ・間質性肺炎:カリニ肺炎
- ・伝染性单核球症:EBV, CMV, トキソプラズマ(-)
- ・無菌性髄膜脳炎

表1 HIV-1感染を疑うべきケース

重要なのは疑わしい症例には積極的に検査を勧めることであり、表1のようなケースには是非検査を施行すべきである。

3. HIV感染症の治療

抗HIV-1薬開発の歴史は、表2に示す通りであるが、HIV-1ウイルスの分離同定とそれによるウイルス酵素の機能解析に基づき多くの薬剤が開発された。現在入手可能な薬剤の多くが、逆転写酵素、プロテアーゼ、インテグラーゼというウイルスの有する3つの酵素の阻害薬であることがその事実を如実に示している。これら薬剤の組み合わせにより、1995年に多剤併用療法(Highly Active Anti-Retroviral Therapy: HAART)が開発され、HIV-1感染症による死亡率は著明に改善した。

	主な発見
1981	最初のAIDS症例報告
1983	HIVの分離・同定
1984	CD4受容体の同定
1987	逆転写酵素阻害薬、AZTの開発(満屋ら)
1995	プロテアーゼ阻害薬の開発
1996	多剤併用療法(HAART)の開発
	ケモカイン受容体の同定
2002	APOBEC3Gの同定
2008	インテグラーゼ阻害薬、侵入阻害薬の開発

表2 抗HIV-1薬開発の歴史

治療の開始基準は、時代によって変遷があり、HAARTが登場した1995年においては、この治療によりHIV-1が約3.2年で根絶できるという数理学的推論がなされたため、なるべく感染早期に治療を開始すべきとの見解が大勢であった。しかしながら、治療の中止は必ずウイルスの早期のリバウンドをもたらすことが示され、また、その後潜伏感染細胞(いわゆるリザーバー)の存在から、生涯の内服継続が必要であることが明らかにされたため、2000年代に入り、治療の開始はなるべく遅らせる(CD4<200/ μ l)ことに転換された。しかしながら、さらに、薬剤の改良による副作用の低減がもたらしたコンプライアンスの向上や、一方、CD4の低下がない状態においてもウイルス複製そのものが様々な臓器障害をもたらすことがわかり、現在では、再び早期の治療

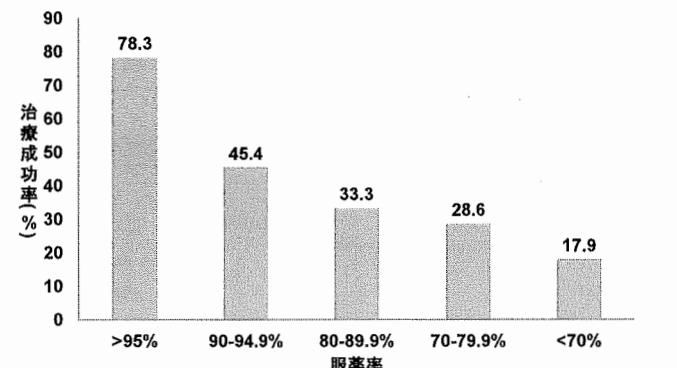
介入が望ましいとされている。日本のガイドラインにおいては、依然 CD4 < 350/ μ l が治療の開始基準ではあるが(表3)、すでに米国のガイドラインにおいては、なるべく早期に治療を開始すべきであるとされており、CD4細胞数にかかわらず感染が判明すれば治療を開始するとの見解になつてている³⁻⁵⁾。

状態	抗HIV療法の推奨度
エイズ発症	ただちに治療開始
CD4 < 350/ μ l	ただちに治療開始
CD4 350-500/ μ l	治療開始推奨
CD4 > 500/ μ l	治療開始を考慮
妊婦、HIV腎症、HBV重複感染者	ただちに治療開始
HCV重複感染者、心血管疾患リスク患者	早期の治療開始考慮

表3 抗HIV療法の開始時期

2) 治療の現状と問題点

初回治療として推奨される抗HIV-1療法のレジメンは、キードラッグ1剤(非核酸系逆転写酵素阻害剤、プロテアーゼ阻害剤、インテグラーゼ阻害剤のうちどれか1剤) + バックボーン2剤(核酸系逆転写酵素阻害剤2剤)である(表4)。抗HIV療法においては、抗結核療法と同様、そのコンプライアンスの遵守が治療の成功の鍵であり、図1のごとく⁶⁾、服薬率が95%未満になると治療の成功率は大きく損なわれるが、現在は1日1-2回2-4錠と、薬剤数・服用回数は減り、コンプライアンスが守りやすくなっていることが、成績向上にも寄与している。本治療の出現により、25歳の感染者の平均余命は約40年近くまで改善した。これは、同年齢の1型糖尿病患者やC型肝炎患者の余命を大きく凌駕するものであり、本疾患の予後の改善を物語っている(図2)⁷⁾。

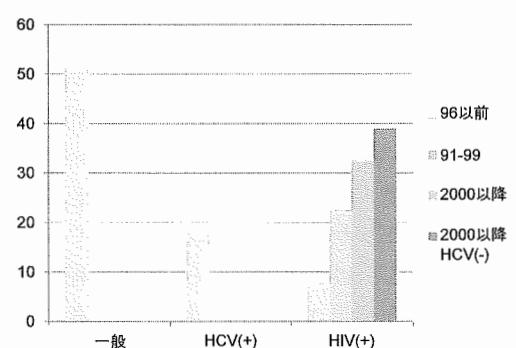
図1 服薬率と抗HIV療法の成功率
(Ann Intern Med 133: 21, 2000)

一方、抗HIV療法の問題点として、まず治療失敗に関して述べる。抗HIV療法を継続してもウイルスRNA量が20コピー/ml未満に維持できない場合、ウイルス量が1000コピー/ml未満であれば、服薬の確認・指導と慎重な経過観察が推奨される。ウイルス量が1000コピー/ml以上の場合、耐性検査の結果に従い、治療変更を考慮することとなる。いずれの場合も、適切な服薬は不可欠であり、重ねての服薬指導が望まれる。次に、主な抗HIV-1薬の副作用に関しては、表5に列挙したが、核酸系逆転写酵素阻害薬の代謝への影響、プロテアーゼ阻害薬の脂質代謝への影響等の共通した副作用に加えて、EFVの精神神経症状やABCの過敏症といった薬剤特異的な副作用に注意すべきである。さらに、CD4数の少ない患者に治療を導入する場合、抗HIV療法により免疫状態が回復したことにより、日和見感染症の発症、再発、再増悪が見られる免疫再構築症候群の出現には十分な注意を払わねばならない。本邦においては、その発症頻度は約16%と報告されており、決して珍しい病態ではない。しかしながら、その発症機序の詳細は現時点では不明であり、どのような場合に発症するかも予想できないため、とりあえずCD4 < 50/ μ l、HIV RNA > 10万コピー/ml以上の場合には注意する必

A欄、B欄から1つずつ選んで組み合わせる			
A欄(キードラッグ)		B欄(バックボーン)	
NNRTIかPI(rtV-boosted)かINSTI		NRTI 2剤	
推奨	非核糖系逆転写酵素阻害剤	ストックリン	
	プロテアーゼ阻害剤	レイアタッツ +ノーピア	
		ブリジスタ +ノーピア	
	インテグラーゼ阻害剤	アイセントレス	
注1) 血中HIV RNA量が10万コピー/mlを超える症例ではTDF/FTCをより強く推奨する。			
注2) ABC/3TCと、DRV+rtV、RALを組み合わせる場合、現時点では十分なデータがないため、推奨評価はBIIとなる。			

抗HIV治療ガイドライン(2012年3月)

表4 初回治療として選択すべき抗HIV薬の組合せ

図2 25歳のHIV-1感染者の平均余命
(Ann Intern Med 146: 87, 2007)

要がある。

治療ガイドラインの詳細に関しては、以下の文献(3-5)を参照いただきたい。

抗HIV薬	副作用の出現時期と持続時間			
	直後で一過性	1-3週後で一過性	1ヶ月以上で持続	稀だが重篤
AZT	胃腸症状、頭痛	骨髓抑制	乳酸アシドーシス	
ABC			乳酸アシドーシス、過敏症	
3TC/FTC			乳酸アシドーシス	
TDF			乳酸アシドーシス 腎障害、骨粗鬆症	
EFV	精神神経症状 皮疹	高脂血症		
ATV	胃腸症状、 高Bil血症	皮疹 高脂血症、 リポアトロフィー	高脂血症、 リポアトロフィー	尿路結石
DRV	胃腸症状	皮疹 高脂血症、 リポアトロフィー		
RAL	頭痛		肝障害	

抗HIV治療ガイドライン(2012年3月)

表5 主な抗HIV薬の副作用

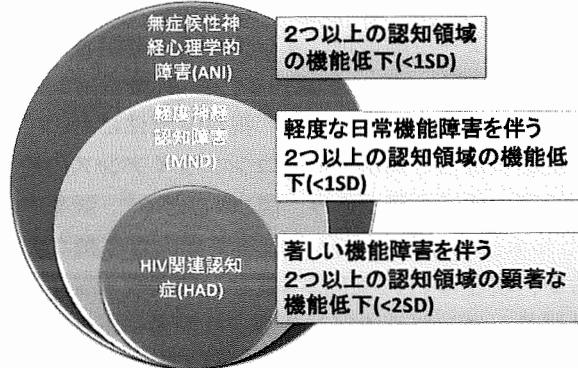
3) 治療の未来

前述したように、現在の抗HIV療法は、体内におけるウイルス複製をほぼゼロに抑えることが可能であるが、ウイルスを完全に排除することは不可能であり、生涯薬剤の継続が必要である。しかしながら、2009年に New England Journal of Medicine 誌にいわゆる「ペルリンケース」が報告され、世界中に熱狂と興奮を巻き起こした⁸⁾。これは、骨髄移植を受けたHIV-1感染患者が治癒したという驚くべきものであった。HIV-1の細胞侵入における受容体は、CD4とケモカイン受容体であるが、後者のなかでもCCR5が感染の成立に特に重要であることが1996年に明らかにされていた。白人においては本受容体を遺伝的に欠損する△32というSNPsが比較的高い頻度で(ヘテロ接合者は10人に一人)存在し、そのヘテロ接合者はHIV-1感染症の進行・エイズの発症頻度が低いこと⁹⁾、さらにホモ接合者はHIV-1感染に対して抵抗性を示すこともすでに知られていた¹⁰⁾。本患者は、HIV-1感染の経過中に急性骨髄性白血病を発症し、その治療として同種骨髄移植を施行された。その際主治医は、HIV-1感染症に対する効果を期待して△32ホモ接合者をドナーに採用したのだが、果たして患者は移植後20か月以上経過した現在も無治療(抗HIV療法なし)でウイルスの出現を認めておらず、初めての治癒症例と考えられている。このペルリンケースが世界に与えたインパクトは極めて大きく、以来人々は、「たった1例ではあるが治癒の可能性が示された」として、「治癒」へ向けて様々な試みを開始している。その中には、患者の末梢血CD4(+)細胞をアフェレーシスにて回収し、CCR5を欠損させる遺伝子治療を行い患者に返すと

いうやや乱暴な臨床研究まで含まれるが、着実に世界は「治癒」を目指す方向で進んでいる。

4. HIV-1関連神経認知障害 (HIV-1-associated Neurocognitive Disorders: HAND)

近年、HIV-1感染に伴う認知機能障害の概念が整理され、HANDと呼ばれるようになった。本疾患は、皮質下性認知障害に特徴的な認知、運動、行動異常を中核症状とし、進行すると全般的認知症となる病態と定義づけられ、従来のHIV脳症のみならず、軽症の認知障害もすべて包括する概念である(図3)。しかしながら、その正確な診断方法は未だ確立されておらず、中枢神経への移行のよい薬剤の組み合わせ(表6)を使用すべきであるという議論はあるが未だ未確立である。今後の病態の解析、診断・治療法の確立が待たれる。



(Frascati criteria, 2007)

図3 HIV-1関連神経認知障害

CPE	4	3	2	1
核酸系逆転写酵素阻害薬	ジドブシン	アバカビル エムトリシタビン	ジダノシン ラミブジン サニルブジン	テノホビル
非核酸系逆転写酵素阻害薬	ネビラビン	デラビルジン エファビレンツ	エトラビリン	
プロテアーゼ阻害薬	インジナビル/r	ダルナビル/r ホスアンブレナビル/r ロビナビル/r	アザナビル/r	ネルフィナビル サキナビル/r
インテグラーゼ阻害薬		マラビロク		
侵入阻害薬		ラルテグラビル		

(Letendre, Top HIV Med 18:45, 2010)

表6 主な抗HIV薬の中枢神経移行

文献

- 1) Revised Recommendations for HIV Testing of Adults, Adolescents, and Pregnant Women in Health-Care Setting. MMWR 55 (PR14); 1-17, 2006.
- 2) HIV検査について Ver.5。厚労省「HIV感染者の医療体制の整備に関する研究班」中国四国ブロック編, <http://www.aids-chushi.pr.jp>
- 3) HIV感染症「治療の手引き」。HIV感染症治療研究会編, <http://www.hivjp.org>
- 4) 成人および青少年HIV-1感染者における抗レトロウイルス薬の使用に関するガイドライン 2012年3月27日版
- 5) 抗HIV治療ガイドライン。厚労省「HIV感染症及びその合併症の課題を克服する研究班」編
- 6) Paterson DL, Swindells S, Mohr J, et al. Adherence to protease inhibitor therapy and outcomes in patients with HIV infection. Annals of internal medicine. 2000;133(1):21-30.
- 7) Survival of persons with and without HIV infection in Denmark, 1995-2005. Lohse, N. et al., Annals of internal medicine 146:87-95, 2007.
- 8) Hutter G, Nowak D, Mossner M, et al. Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. The New England journal of medicine. 2009;360(7):692-698.
- 9) Dean M, Carrington M, Winkler C, et al. Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CCR5 structural gene. Hemophilia Growth and Development Study, Multicenter AIDS Cohort Study, Multicenter Hemophelia Cohort Study, San Francisco City Cohort, ALIVE Study. Science. 1996;273(5283):1856-1862.
- 10) Liu R, Paxton WA, Choe S, et al. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. Cell. 1996;86(3):367-377.

教育講演4

鳥インフルエンザウイルス

中屋隆明

【要旨】我々が罹患するインフルエンザウイルスはヒトからヒトへの感染により伝播するが、その何十倍もの種類のインフルエンザウイルスが「鳥」や「豚」を宿主として地球上に存在する。憂慮すべきことに、これら「動物」インフルエンザの中から、時としてヒト間で大流行するウイルスが出現することがある。2009年の新型(豚)インフルエンザウイルス(H1N1pdm)のパンデミック(汎流行)はその一例であるが、それ以外にも、鳥インフルエンザウイルスH5N1が、2003年の発生以来、今もなお鳥からヒトに致死的な感染を起こしている。本稿では、これらインフルエンザウイルスのパンデミックの歴史、病原性の分子機構、およびH5N1ウイルスがヒト間で伝播するウイルスに変異する可能性について解説する。

Key words: HAART、予後、逆転写酵素阻害薬、プロテアーゼ阻害薬、インテグラーゼ阻害薬、治癒、予防

1. はじめに

インフルエンザウイルス(A型)はオルソミクソウイルス科に属し、8本(分節)の一本鎖マイナス鎖RNAをゲノムとするRNAウイルスである。ウイルス表面のヘマグルチニン(hemagglutinin; HA)とノイラミニダーゼ(neuraminidase; NA)の2種類の外被糖タンパク質の抗原性の違いによりHAは16種(H1～H16)、NAは9種(N1～N9)の亜型(subtype)に分類される(図1)¹⁾。この2種類のウイルスゲノムの組み合わせにより、多様なインフルエンザウイルスが存在するが、鳥類、特にカモなどの水禽類からはその全てのタイプが分離されている²⁾。一方、鳥類以外の動物からはその一部が分離されているだけであり、ヒトではこれまでにH1-H3、N1-N2の亜型のウイルスが分離されている。したがって、インフルエンザウイルスは本来、鳥類を自然宿主とするウイルスであり、インフルエンザウイルス=鳥インフルエンザウイルス、と考えるべきである。

これらのHA、NAの組み合わせに加え、ウイルス複製酵素の読み間違いやウイルスゲノム分節間の組換え(Reassortant)が起こることがさらに多様なインフルエンザウイルスの出現をもたらす原因となる。インフルエンザウイルスが種間を超えるメカ

ニズムは十分に分かっているとは言い難い。しかしながら、明らかにされたことの一つに、HAタンパク質とそのレセプターである細胞因子との結合がある。レセプターはシアル酸を含む複数の糖鎖から構成されており、鳥由来のインフルエンザウイルスは主にシアル酸 α -2-3ガラクトース含有糖鎖を認識する。一方、ヒト由来インフルエンザウイルス粒子上のHAタンパク質は主にシアル酸 α -2-6ガラクトース含有糖鎖と結合し、細胞内へ侵入する。 α -2-3は鳥類の腸管細胞に発現していることが知られているが、 α -2-6はヒトの上気道の上皮細胞に多く発現している。この違いがインフルエンザウイルスの宿主特異性(トロピズム)を決定している因子であることはほぼ確実であるが、ヒトにおいて α -2-3は肺深部の上皮細胞にも多く発現していることが報告されている³⁾。このことが、鳥(および豚)由来のウイルスがヒトに感染する際の病原性に、あるいはヒト間で伝播するパンデミックウイルスの出現に深く関係することになる。

2. インフルエンザウイルスのパンデミック

1) 20世紀のパンデミック

鳥類あるいは豚などのヒト以外の動物で感染を繰り返していたインフルエンザウイルスがヒトに感染

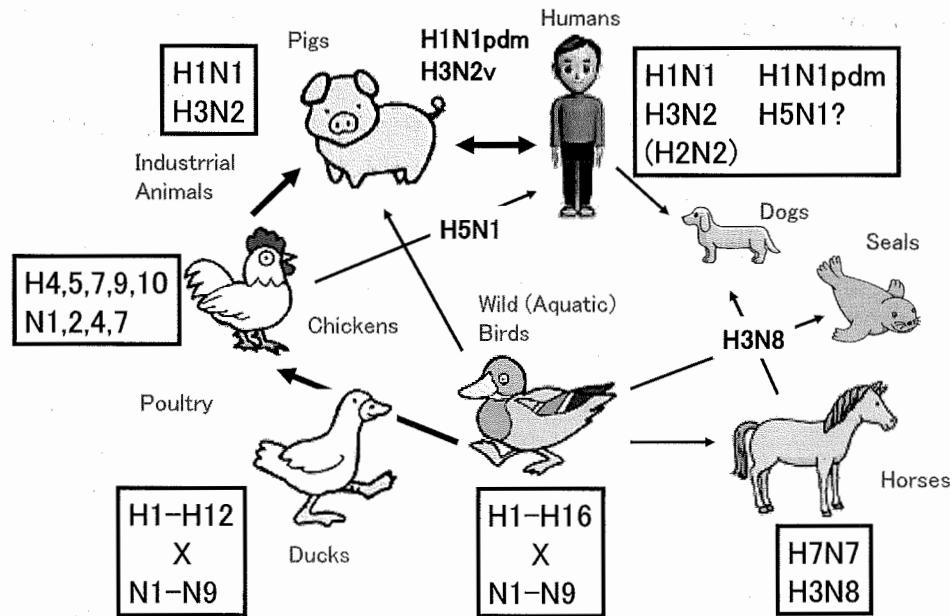


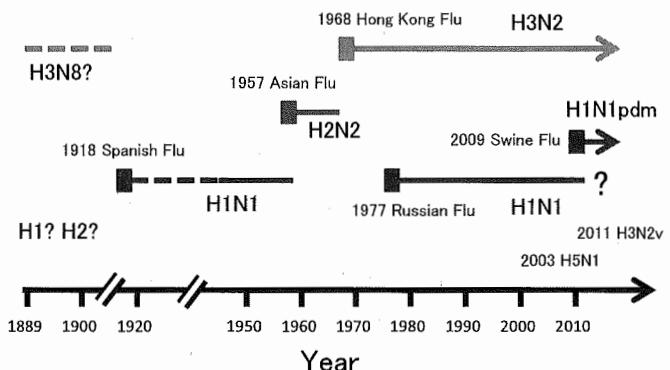
図1 インフルエンザウイルスの宿主動物

し、なおかつヒト間で高率に伝播するようなウイルスが出現した場合、我々は汎流行（パンデミック）と呼ばれる新しいインフルエンザの脅威に直面することになる。

20世紀には少なくとも3度のパンデミックが起こっている（図2）。1918年には“スペイン風邪”と呼ばれる高い致死率をもたらすウイルスの流行が起き、全世界で1年間に4千万人が死亡したと推定されている。1957年に発生した“アジア風邪”はH2N2型のウイルスが引き起こしたものであるが、前回流行したH1N1との相同性はHAが66%またNAが37%であった。このように同じインフルエンザウイルスとはいえ、新たに発生・流行するウイルスはこれまで流行していたウイルスとは全く（血清型が）異なるウイルスであると考える必要がある。この“アジア風邪”後の1968年に、新たなH3N2型のウイルスが引き起こすパンデミック（香港風邪）が発生した。このウイルスはH2N2型のウイルスと比べHA型は変化していたものの、NA型は同じであった。このことが前回の汎流行より死亡率が低かった一因であると考えられる。以後現在に至るまで、このH3N2ウイルスは“季節性インフルエンザウイルス”としてヒト間で流行し続けている。

加えて、1977年以降は“ソ連風邪”と呼ばれたH1N1ウイルスは21世紀を迎ても季節性インフルエンザウイルスとして存続していた。このウイルスは1950年に見られたH1N1ウイルスと高い相同意を示し、そのためこの流行は主として1950年

以降に生まれた世代に広がった（中屋隆明、鳥インフルエンザ、京都府立医科大学雑誌 114(8), 503-509, 2004年）。このウイルスの流行は2009年に停止（あるいは休止）することになる。その主な原因が、次に述べる新たなH1N1ウイルスのパンデミックであることは疑いの余地がないが、その詳細なメカニズムについては不明である。

図2 インフルエンザウイルス パンデミックの歴史
(Pelese P. Nat Med. 2004を改変)

2) H1N1pdmのパンデミック進行に伴うHA遺伝子型の変遷

2009年に発生した豚インフルエンザ由来のパンデミック・インフルエンザウイルス（H1N1pdm）の出現は記憶に新しい（図2）。21世紀最初のパンデミックであり、発生時の中米（メキシコ）におけるウイルス感染に伴う重症肺炎の報告が世界中にスペイン

表1 H1N1pdm HAのアミノ酸変異
(Yasugi et al. PLoS One 2012を改変)

Specimen	Total read	K119N (%)	N125D (%)	D187E (%)	D222G (%)	Q223R (%)
H1N1pdm #1	3,308	8.59	4.99	0.15	3.60	4.64
1st wave #2 (2009)	29,607	4.61	1.01	0.72	5.20	2.39
#3	15,514	3.45	4.88	0	3.16	3.62
#4	15,485	0.00	1.07	0	0.04	0.57
H1N1pdm #5 (2010)	25,429	0.00	1.33	0	0.02	0.53
2nd wave #6	14,183	0.02	2.15	0	0.07	0.47
#7	18,046	0.01	1.87	0	0.01	0.63
#8	11,179	3.10	0.66	0	0.05	0.48
#9	2,014	0.00	0.00	0	0.1	0.1
H1N1 Seasonal #10 (2008)	7,170	0.00	0.00	0	0.04	0.15
#11	3,652	0.00	0.00	0	0.08	0.16
#12	3,733	0.00	0.00	0	0.11	0.13
#13	7,268	0.00	0.00	0	0.01	0.41
Plasmid (control)	12,428	0.00	0.00	0	0	0.38

風邪の再来を予感させた。幸いなことに、ウイルスの病原性(致死性)はスペイン風邪ほど高くはなく、抗インフルエンザウイルス薬も効果的であり、パンデミックに伴う死者数は低く抑えることができた。豚は α 2-3および α 2-6を細胞表面に発現しており、鳥由来およびヒト由来のインフルエンザウイルスに高い感受性を示すと考えられている。そのため、豚において、鳥由来およびヒト由来のインフルエンザウイルスとのハイブリッド型ウイルスが出現し、新しい性質を持つインフルエンザウイルスが生み出す場となっていることが指摘されている。H1N1pdmもそうした豚、鳥およびヒト由来ウイルスのハイブリッドであり、HAおよびNAが現在の遺伝子型に変化したためにヒト間で高率に伝播するようになったと考えられる。

上述したように豚細胞では α 2-3および α 2-6両方を発現しており、それぞれにトロピズムを示すウイルスが混在していることが予想される。我々はパンデミック発生当初より、H1N1pdm-HA遺伝子のレセプター結合領域について、生体内ウイルス集団の遺伝子型多様性を検討した。特に、パンデミック当初の2009年5月(第1波)および第2波の2010年12月に大阪府内において採取されたヒト臨床検体よりインフルエンザウイルスHA遺伝子をPCR増幅し、ハイスループット性能を有する“次世代シーケンサー”を用いて、PCR産物(アンプリコン)を各検体につき数千～数万クローニングを解析(ディープ・シーケンス)した。その結果を表1に示した。第1波の臨床検体中のH1N1pdmウイルスの中には、鳥型レセプター(α 2-3)に結合するウイルスが2-5%程度マイナーコードとして存在していた^{4,5)}。その一方で、第2波のH1N1pdmウイルスは、ヒト型レセプター α 2-6に結合するタイプのみに収束しており、 α 2-3

に結合する遺伝子配列を持つウイルスは検出限界以下であった。このことは(対照とした)パンデミック以前の2008年の季節性H1N1ウイルス(ソ連型)のディープシーケンス解析結果とも一致した⁵⁾。

上述したように、豚由来ウイルスであるH1N1pdmは、パンデミック当初に重篤な肺炎等の呼吸器症状を引き起こしたことが報告されている。本ウイルスは、ヒトに侵入したばかりのパンデミック当初は、豚ウイルス由来の性質を一部残しており、 α 2-3結合型ウイルスが含まれており、この α 2-3結合型ウイルスが肺上皮細胞に感染し、肺炎を起こした可能性が考えられた。これを裏付けるデータとして、肺炎で亡くなった患者の肺組織より得られたウイルスゲノムには α 2-3結合型ウイルスの割合が(軽症例由来のウイルスより)高いという報告がある。しかしながら、重症化と α 2-3結合型ウイルスとの関連性が認められないという症例報告もあることから、H1N1pdmウイルスの高病原性の分子機構は複数存在する可能性が考えられる。

3. 病原性鳥インフルエンザH5N1ウイルス

1) 病原性の分子機構の解明

2009年のH1N1pdmパンデミック以前より、次のパンデミックウイルスの候補として考えられていたのが鳥由来のH5N1ウイルスである。1997年に香港でヒトへの感染が報告されたこのウイルスは、2003年以降東南アジアを中心に鳥類間で拡がり、現在では中近東からアフリカ大陸へと拡散している。それに伴い、ヒトへの感染事例も散発的に報告され、WHOの報告では2003年から2012年末までに610人が感染し、死亡率は60% (360名死亡)に迫っている(URL: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/en/)。

我々はこれまでに、H5N1ウイルスHAの遺伝子型(アミノ酸変異)とウイルス侵入過程および細胞傷害性との関連性を明らかにする研究を行ってきた。「これまでにもH5型ウイルスの鳥(家禽)間でのアウトブレイクは何度もあったのに、なぜ今回のH5N1ウイルス(以後Asian-H5N1と呼ぶ)は家禽のみならずヒトに対しても重篤な感染症を引き起こすのか」という疑問に対する答えの糸口を見つけるべく研究を続けている。これまでに得られた研究成果について簡単に述べる。

発育卵感染試験および胎児由来初代細胞を用いたH5N1-HAタンパク質の病原性解析

従来の鳥インフルエンザウイルスとは異なり、Asian-H5N1は家禽(ニワトリ)のみならず、野鳥においても高病原性であることが報告されている。鴨に近縁なアヒルの発育卵に各種ウイルスを接種した結果、従来のH5亜型ウイルスでは(ニワトリ由来発育卵とは対照的に)病原性が低かったのに対し、Asian-H5N1接種群ではニワトリ由来の発育卵と同様に高い病原性(胎児致死性)を示した。

発育卵由来初代細胞を用いた感染試験においても、発育卵の接種試験と同様の傾向が見られ、アヒル由来初代細胞では従来のH5ウイルスの細胞傷害性は低かったのに対し、Asian-H5N1は高い細胞傷害活性が見られ、細胞感染試験においても *in vivo* の病原性を反映する結果を得た。さらに、細胞傷害性の分子機構として、H5N1感染により細胞外のカルシウムイオン(Ca^{2+})が流入し、ミトコンドリア機能不全による細胞死(アポトーシス)が誘導されること、さらにそのウイルス側因子としてH5N1-HAが重要であることを明らかにした(図3)⁶⁾。

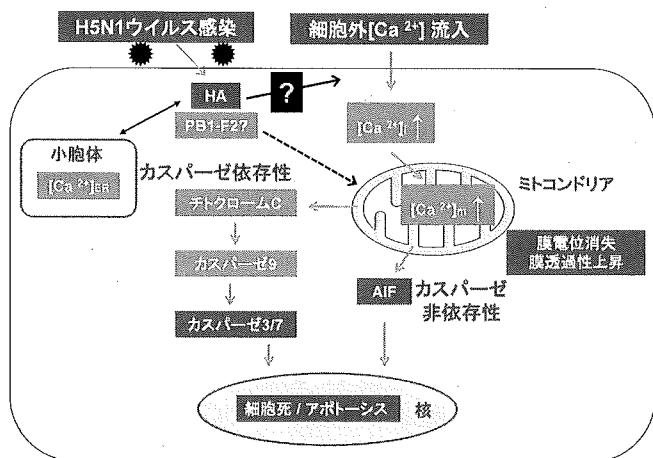


図3 トリ細胞におけるH5N1アポトーシス誘導の分子機構 (Ueda et al. JVI 2010を改変)

マウス感染試験およびヒト呼吸器上皮由来初代細胞を用いたH5N1-HAタンパク質の病原性解析
マウスにH5N1ウイルスを経鼻接種すると呼吸器においてウイルスは増殖し、肺障害によって死亡する。一方、従来のH5亜型ウイルスでは肺におけるウイルス増殖は見られるものの、死に至ることはなく、マウスにおいて低病原性である。組換えウイルスの作出系を用いて作製したAsian-H5N1のHAを発現する従来のH5ウイルスは、マウスに対してAsian-H5N1と同程度の病原性(致死性)を示すことを明らかにした(未発表データ)。その結果、H5N1のHAタンパク質が *in vivo* 病原性に重要であることが示唆された。

これまでにSV40-T抗原で不死化したヒト細気管支上皮細胞株約70株を樹立した。各種トリ由来ウイルスおよびヒト由来ウイルスについて感染試験を行った結果、ヒトウイルスのみに感受性を示す細胞株、ヒト-鳥由来ウイルス両方に感受性を示す細胞株に大別されることが分かった。ヒトウイルスのみに感受性を示す細胞群においても鳥由来ウイルスの細胞への接着は起きていることから、細胞内への侵入後の複製過程が阻害されている可能性が示唆された(大道寺智他、第60回日本ウイルス学会)。また、H5N1感染した細胞では上述した発育卵由来細胞における感染結果と同様に、アポトーシス誘導による細胞傷害が見られたが、従来のH5亜型ウイルスでは低い細胞傷害が見られるにとどまった⁷⁾。

これらの知見から、現在問題となっているH5N1ウイルスは、鴨(アヒル)を含む鳥類および哺乳動物にも高い病原性および細胞傷害性を示すことが明らかとなった。さらにヒト呼吸器上皮細胞においても従来の鳥インフルエンザウイルスには見られない、広い宿主域(tropism)と高い細胞傷害性を示すことが分かった。これらのことからヒトに致死的な感染をもたらす一因であると考えられ、その分子メカニズムの詳細について現在研究を進めている。

2) ヒト間で伝播する(パンデミック)ウイルス出現の可能性

これまで述べてきたようにAsian-H5N1は一旦ヒトに感染すると致死的な感染を引き起こす。その一方でヒト間での伝播は濃厚接触を除いてはこれまで報告されていない。もし2009年のH1N1ウイルスのようにヒト間で高率に感染が広まるようなH5N1ウイルスが出現した場合、スペイン風邪ウイルスを上回る被害をもたらすパンデミックとなる可能性が考えられる。

ヒトインフルエンザウイルスの個体間伝播の動物モデルとしてフェレットがよく使われている。さらにフェレットにおけるインフルエンザウイルスの病原性はヒトのそれに近いことも報告されている。このフェレットモデルを用いて、H5N1に変異を導入することにより、個体間伝播するウイルスが出現することを日本[8]およびオランダ[9]の研究グループが昨年相次いで発表した。

変異箇所は主にHAに集中しており、現在のHAが4から5アミノ酸変異するだけで、個体間伝播するウイルスとなることは衝撃であった。フェレットモデルがそのままヒト間での伝播を反映するか否かは未

だ議論があるが、このような”次世代“ウイルスの研究を自然に先回りして進めることにより、パンデミックに向けたサーベイランス体制の強化やワクチン供給の準備が進むと考えられる。

4. おわりに

これまでH5N1鳥インフルエンザおよびH1N1pdmを中心に、インフルエンザウイルスの宿主、パンデミック、および病原性の分子機構について紹介してきた。これまでに分かっている知見だけでもインフルエンザが最も広い宿主域を持つ人獣共通感染症ウイルスであると言えるが、近年それをさらなる確信へと導く報告が相次いでいる。

馬由来のインフルエンザウイルスH3N8が犬に感染することが報告された¹⁰⁾。また、H1N1pdmの抗体を有する犬も多く見られることから、ヒトに感染したインフルエンザウイルスが犬に伝播した可能性が考えられた(堀本泰介他、第60回日本ウイルス学会)。加えて、2011年にアメリカ合衆国東海岸において、前述した馬インフルエンザウイルスと同じ亜型である(鳥由来)H3N8ウイルスがアザラシに感染し、多くが肺炎で死亡したことが報告された¹¹⁾。さらに同国では、昨年、豚インフルエンザウイルスがヒトに感染したことが報告されH3N2v(variant)と命名された。このウイルスは豚間で伝播していたウイルスのM遺伝子がH1N1pdmゲノムのM遺伝子と置き換わった不連続変異(リアソータント)ウイルスであり、このことがヒトに感受性をもたらすようになった原因であると考えられている¹²⁾。

これらのインフルエンザウイルスは上述したように水禽類を自然宿主とするA型インフルエンザウイルスであるが、最近、中米に生息するコウモリ(Fruit Bat)においても従来のインフルエンザウイルスと高い相同意を示すウイルスが発見され、コウモリインフルエンザウイルス(Bat Flu)と命名されている¹³⁾。これらの知見は、我々が考えている以上にインフルエンザウイルスの宿主域が広く、また多様な遺伝子型のウイルスが存在することを示唆する。これらウイルスが連続変異やリアソータントを経て、ヒトに高い感染性を有する新しいウイルスが出現する危険性に対して、我々は備えていく必要がある。

さらに上述したH5N1ウイルスは鳥類に高い神経指向性を示し、このことが(鳥類における)致死率の高さに関係することが指摘されている¹⁴⁾。現在のヒ

トインフルエンザウイルスにはこのような高い神経指向性を示すウイルスは存在しないものの、ヒト神経細胞に高率に感染し、脳炎を引き起こすインフルエンザウイルスが出現した場合は、大きな脅威になると考えられる。

文献

- 1) Palese P (2004) Influenza: old and new threats. *Nat Med* 10: S82-87.
- 2) Kida H (2004) [Avian influenza virus]. *Uirusu* 54: 93-96.
- 3) Shinya K, Ebina M, Yamada S, Ono M, Kasai N, et al. (2006) Avian flu: influenza virus receptors in the human airway. *Nature* 440: 435-436.
- 4) Ramadhan R, Yasugi M, Nakamura S, Daidoji T, Watanabe Y, et al. (2012) Tropism of Pandemic 2009 H1N1 Influenza a Virus. *Front Microbiol* 3: 128.
- 5) Yasugi M, Nakamura S, Daidoji T, Kawashita N, Ramadhan R, et al. (2012) Frequency of D222G and Q223R hemagglutinin mutants of pandemic (H1N1) 2009 influenza virus in Japan between 2009 and 2010. *PLoS One* 7: e30946.
- 6) Ueda M, Daidoji T, Du A, Yang CS, Ibrahim MS, et al. (2010) Highly pathogenic H5N1 avian influenza virus induces extracellular Ca²⁺ influx, leading to apoptosis in avian cells. *J Virol* 84: 3068-3078.
- 7) Daidoji T, Koma T, Du A, Yang CS, Ueda M, et al. (2008) H5N1 avian influenza virus induces apoptotic cell death in mammalian airway epithelial cells. *J Virol* 82: 11294-11307.
- 8) Imai M, Watanabe T, Hatta M, Das SC, Ozawa M, et al. (2012) Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. *Nature* 486: 420-428.
- 9) Herfst S, Schrauwen EJ, Linster M, Chutinimitkul S, de Wit E, et al. (2012) Airborne transmission of influenza A/

- H5N1 virus between ferrets. *Science* 336: 1534-1541.
- 10) Payungporn S, Crawford PC, Kouo TS, Chen LM, Pompey J, et al. (2008) Influenza A virus (H3N8) in dogs with respiratory disease, Florida. *Emerg Infect Dis* 14: 902-908.
 - 11) Anthony SJ, St Leger JA, Pugliares K, Ip HS, Chan JM, et al. (2012) Emergence of fatal avian influenza in New England harbor seals. *MBio* 3: e00166-00112.
 - 12) Swine-origin influenza A (H3N2) virus infection in two children--Indiana and Pennsylvania, July-August 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 60: 1213-1215.
 - 13) Tong S, Li Y, Rivailler P, Conrardy C, Castillo DA, et al. (2012) A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 4269-4274.
 - 14) Swayne DE, Pantin-Jackwood M (2006) Pathogenicity of avian influenza viruses in poultry. *Dev Biol (Basel)* 124: 61-67.

Avian influenza viruses

Takaaki Nakaya

Department of Infectious Diseases

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

Influenza remains an important disease in humans and animals including swine, horses, seals, and a large variety of birds. Representatives of each of the known subtypes of influenza A virus have been isolated from aquatic birds. Infection with most strains of influenza A virus are asymptomatic. Thus, aquatic birds such as ducks might occupy a very important position in the natural history of influenza viruses.

The most striking features of this virus are its ability to infect and cause disease in a wide range of animals and to spread from person to person. In 2009, a novel swine-derived “pandemic” influenza A virus (H1N1pdm) emerged and rapidly spread around the world. Moreover, the highly pathogenic avian influenza virus H5N1 emerged from southeast Asia and has raised serious worldwide concern about the risk of the next influenza pandemic. So far, more than 300 people have died in Asian, middle eastern and African countries.

To elucidate the mechanism of H5N1 and H1N1pdm pathogenesis, we are focusing on the viral glycoprotein, hemagglutinin (HA), and studying its roles in viral growth and cell toxicity through in vitro as well as animal experiments. By genetically changing H5 viruses via recombinant DNA techniques, H5N1-HA has been shown to be one of the major viral factors determining lethality, and its function is unique compared with other H5 viruses that previously circulated. In 2012, two other research groups independently demonstrated that H5N1 viruses have the potential to cause a human pandemic using a ferret to ferret transmission model. I would like to present this important work in addition to our current achievements.

Key word: Influenza virus, Pandemic, Hemagglutinin

〈シンポジウム I〉 プリオン病の最近の進歩

遺伝性プリオン病における病型と髄液所見

三條伸夫¹、日熊麻耶¹、北本哲之²、佐藤克也³、新竜一郎³、
西田教行³、山田正仁⁴、水澤英洋¹

【要旨】本邦のプリオン病サーベイランス調査は1999年に開始され、これまでに353例(全体の18.6%)を遺伝性プリオン病と認定した。孤発性に比べて、遺伝性は表現型が多彩であり、*PRNP*変異における表現型の差が髄液に反映されているかどうかを確認するため、髄液バイオマーカーの14-3-3蛋白、tau蛋白を測定したところ、進行の早い表現型ほど高値になる傾向があり、神経細胞の変性の程度や速度を表していると考えられた。一方、QUIC法による髄液異常プリオン蛋白の定性所見が陽性の症例群は発症年齢が若く、罹病期間とは無関係だったことより、髄液異常プリオン蛋白は発症年齢に影響を与える因子である可能性が示唆された。

1. はじめに

本邦のプリオン病サーベイランス調査は1999年に開始され、2012年9月までに3,664名の患者のサーベイランス調査を行い、年2回のサーベイランス委員会を開催し、1,894例をプリオン病と認定した¹⁾。そのうち遺伝性プリオン病は353例(18.6%)であった(図1)。遺伝性プリオン病のタイプ別頻度について、EUROCJDプロジェクト参加各国²⁾と本邦を比較すると、以前から指摘されているような欧米と日本の差というよりも、各国毎に異なっていると言った方が正確なのかもしれない(図2)。全プリオン病患者数に対する遺伝性プリオン病の比率は、EUROCJDではスロバキアの69.5%からイスの1.2%まで幅広く分散しているが、平均は10.2%であるので、本邦の遺伝性プリオン病の比率は他国と比較して多いと考えられる²⁾。変異遺伝子別にみると、本邦ではプリオン蛋白遺伝子(*PRNP*)コドン180のValine(V)からIsoleucine(I)への変異であるV180Iのほか、M232R、P105Lなどの変異が認められていることが特徴的で、これらの変異は他の国ではほとんど報告がなく、言わば本邦特有の遺伝子変異であるといえる。コドン129や219などの正常多型以外の病的な*PRNP*異常はこれまでに、30種類以上の遺伝子変異と15種類の欠失・挿入が報告されている(図3)。遺伝性プリオン病は表現型によ

り以下のように分類できる。まず急速進行性CJDは古典型孤発型CJDと同様の経過をとり、E200KやM232Rの急速進行型がこれに相当する。次が緩徐進行型のCJDで急速進行型に比べると初期の進行が緩徐であるため、CJD以外の診断を受けていることがある。V180IやM232Rの緩徐進行型などがこれに相当する。そして、Gerstmann-Sträussler-Scheinker病(GSS)は小脳失調で発症し、緩徐に施行する。P102L症例のうち約8割の症例がこのタイプであり、P105Lは全例GSSになる。最後が致死性家族性不眠症(FFI)でコドン129の多型がMM型であるD187Nがこの病型を呈する。

孤発性プリオン病に比べて、遺伝性プリオン病は発症年齢、臨床病型、進行速度、予後などが各病型において大きく異なっている(表1)。そこで、表現型の差が髄液バイオマーカーに反映されているかどうか確認するため、本邦の遺伝性プリオン病における髄液バイオマーカーの14-3-3蛋白、tau蛋白の定量値、およびreal-time quaking-induced conversion(RT-QUIC)法³⁾による異常プリオン蛋白の定性所見と各病型の発症年齢、生存期間、症状の進行速度を比較検討した。

本邦の遺伝性プリオン病の特徴

本邦の遺伝性プリオン病の主な特徴は以下の2点

1：東京医科歯科大学大学院脳神経病態学（神経内科）

2：東北大学大学院プリオン病コアセンター

3：長崎大学医学部感染分子解析学

4：金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科）

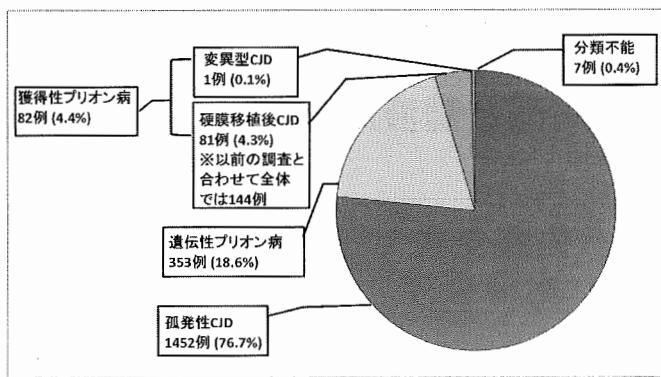


図1 本邦の遺伝性プリオント病の各病型患者数と頻度
1999年4月から2012年9月までのサーベイランス資料より作成

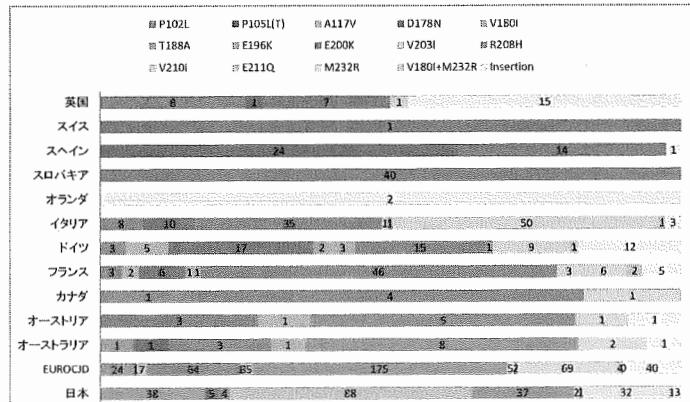


図2 各国別の遺伝性プリオント病における変異遺伝子毎の患者数と比率

EUROCJD 参加11ヶ国と本邦の10年間のデータ同士で比較した。引用文献2より改変。本邦のデータは1999年4月から2009年3月までの10年間のサーベイランス資料より作成。

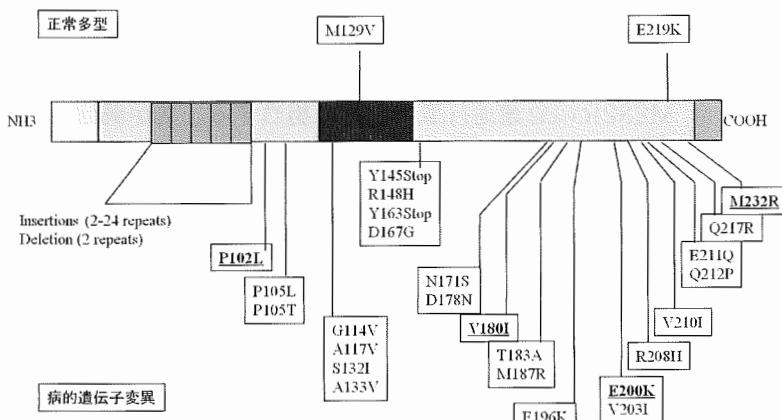


図3 プリオント蛋白遺伝子の正常多型と病的変異

上段が正常多型で下段が報告されている病的遺伝子変異を表している。プリオント蛋白は254のアミノ酸からなる蛋白で、カルボキシル末端にあるGPIアンカーを介して形質膜に結合している。本邦で多く認められる変異を下線で示した。

変異	P102L	P105L	D178N	V180I	E200K	V203I	R208H	V210I	M232R	V180I M232R	Insertion	その他
例数	57	8	4	151	46	3	1	1	50	1	3	6
%	13.40%	2.40%	1.90%	44.9%	13.7%	0.90%	0.50%	0.50%	14.0%	0.50%	1.40%	2.60%
発症年齢	55.2	44.3	57.8	76.5	58.6	73.0	74.0	55	63.9	73.0	49.7	
罹病期間(年)	4.5	11.0	1.2	1.9	1.1	0.8	2.8	0.2	1.7	2.3	2.1	
ミオクローネス	31.40%	20.00%	75.00%	48.10%	88.60%	100%	100%		86.70%	100%	33.30%	
PSD	22.60%	0%	0%	11.60%	91.70%	100%	100%		64.50%	0%	66.70%	
MRI(DWI)	37.50%	0%	0%	100%*	93.80%	100%	100%		86.20%	100%	50.00%	
I29MM	28	0	3	65	34	2	1	1	29	1	2	1
I29MV	3	4	1	20	0	0	0	2	0	0	0	0

表1 各PRNP変異における表現型
1999年4月から2009年3月までの10年間のサーベイランス資料より作成

である。1つ目は上述したように、本邦特有のタイプがあるということで、以下の3つの変異が知られている。P105Lは本邦で6家系が報告されており⁴⁾、若年で発症し、非常に緩徐な進行を呈する。認知機能障害の頻度は少なく、精神症状に先行して、失調症状や痙攣性対麻痺、末梢神経障害などを呈することより、P102Lと同様に脊髄小脳変性症の診断を受けていることがある。変異遺伝子がコドン129のバリンのアレル側にのみ認められる。本邦以外では、P105T(5)やP105S(6)の報告があるが、P105Lは本邦のみである。

V180Iは本邦の遺伝性プリオント病のうち約半数を占めている(図2)。記録力障害で発症することが多いタイプで、初期の進行が緩徐であり家族歴をほとんど有していないことよりアルツハイマー型認知症と診断されていることもある⁷⁾。本邦以外ではフランスと韓国⁸⁾で報告されている。男女比が1:2で女性に多く、診断には脳MRIが有用であり、拡散強調画像(DWI)ではほぼ全例に後頭葉と中心溝前後を除いた全域に大脳皮質にリボン状、基底核に左右差のある高信号と、大脳皮質全体が浮腫状に腫脹する像を呈する(図4)⁹⁾。

M232Rは古典型孤発性CJDと類似する急速進行例とMM2皮質型様の緩徐進行例が報告されており¹⁰⁾、家族歴のある症例の報告がなく臨床上の特徴も乏しいため、原因遺伝子ではなく、リスク多型の可能性が指摘されている。診断のためには遺伝子検索が必須である。

逆に欧米ではE200Kについて多いV210Iは、本邦では2例のみ確認されており、頻度が少ない。

特徴の2番目は家族歴を有する症例が少ない点である。上述のようにV180IやM232Rでは家族歴のある症例がほとんどみられず、家族歴のある変異においても同一家系内で同一遺伝子変異が確認されているのはわずかに10.2%にとどまっている。これまでに浸透率に関する調査研究はされていないため、これらの変異が病的なものかリスク多型であるかは結論が出ていないが、V180Iに関しては特徴的な臨床症状から病因遺伝子である可能性が高いと思われる。

発症年齢と罹病期間の関係

各変異遺伝子の発症年齢と罹病期間の分布を図5上段に示した。特に目立つのはP105Lの症例では発症年齢が平均44.3と非常に若く、罹病期間が平均11年以上と非常に長いことで、対照的に、発症年齢

が76.5と最も遅いV180Iは、罹病期間が1.9年と古典型孤発例に比べると長いが、それでも数ヶ月の差であり、このような臨床病型の差がどのような病的なプロセスの違いにより惹き起こされているのかわかつていない。発症年齢と罹病期間の相関解析を行うと、若年発症例ほど罹病期間が長い傾向があり、これは他の遺伝性疾患ではあまり認められない。

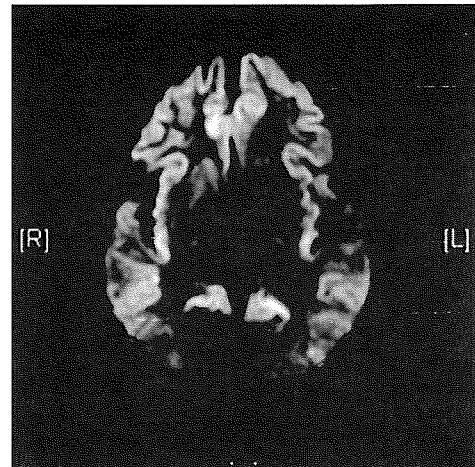


図4 V180I変異による遺伝性CJDの脳MRI拡散強調画像

遺伝性プリオント病の 髄液中バイオマーカーの測定

遺伝性プリオント病の症例において、標準化ウエスタン・ブロット法による14-3-3蛋白、ELISA法による総tau蛋白という2種類のバイオマーカーの測定をおこなった。解析したのはPRNP変異がP102L、P105L、V180I、E200K、M232Rの症例で、髄液バイオマーカーの陽性率を図5下段に示した。各バイオマーカーは、進行の早い表現型で高値になる傾向があり、いずれのバイオマーカーも罹病期間が最も短いE200Kが最も高値であった。このことより、これらのバイオマーカーは神経細胞の障害(破壊)に伴って髄液中に放出されており、疾患の進行速度の早さや変性病変の強さを反映しているものと推測される。

一方、RT-QUIC法による髄液中の異常プリオント蛋白の検出率は、P102L、E200K、M232Rなどで80%を超えており一方、P105LやV180Iで陽性率が半分以下であるなど、臨床病型や病勢とは関連性が認められなかった(図6上段)。興味深いことに、RT-QUIC法が陽性の症例群では発症年齢が若く、RT-QUICの所見は罹病期間とは関連性が見いだせなかつたこと(図6下段)より、髄液中の異常プリオ

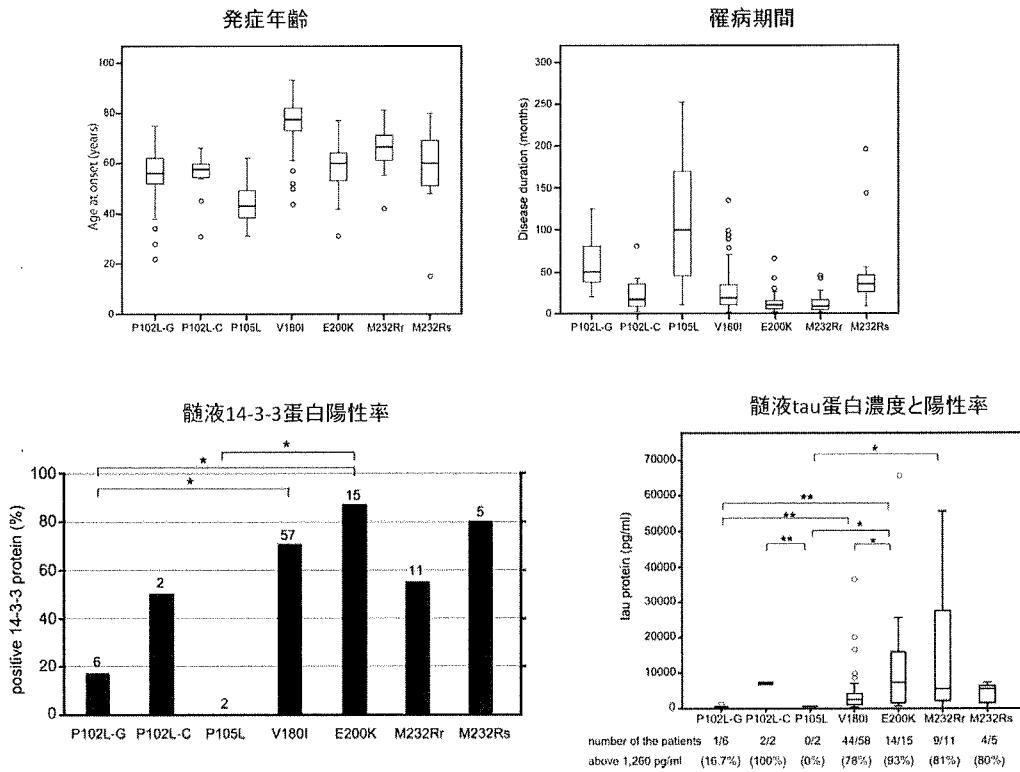


図5 各PRNP変異遺伝子における発症年齢(上段左)、罹病期間(上段右)、
髄液14-3-3(下段左)、髄液tau蛋白(下段右)

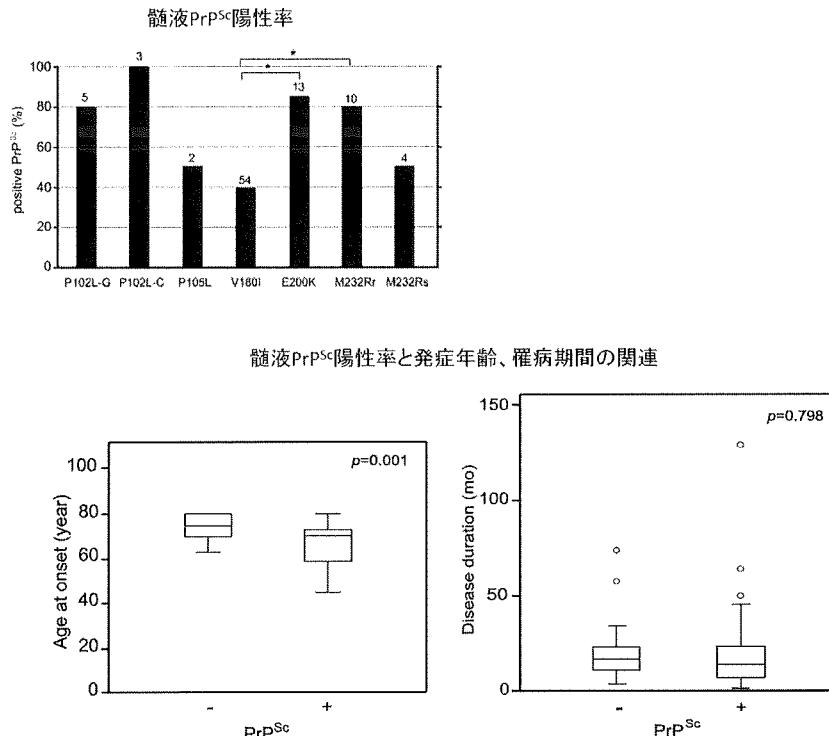


図6 各PRNP変異における髄液異常プリオント蛋白(上段)と
発症年齢、罹病期間との関連(下段)

ン蛋白は発症年齢に影響を与える因子である可能性が示唆される。剖検脳における病理所見ではRT-QUIC陽性率が低いV180Iにおいて脳に沈着するプリオント蛋白は免疫染色、ウエスタン・ブロッティング共に弱陽性になるが、剖検脳における海綿状変化は非常に強いことが報告されており¹¹⁾、脳に沈着する異常プリオント蛋白の量や髄液中の異常プリオント蛋白と、神経変性の進行度は相関しない可能性があると思われた。このことは異常蛋白の蓄積から神経細胞変性までの過程において、防御する因子や調整する因子が存在することを示唆していると考えられ、そのような因子が解明できれば、プリオント病を含めたコンフォーメーション病の治療法のヒントが得られるかもしれない。

謝辞

本サーベイランスにご協力いただきました患者様、およびご家族の方々、主治医の先生方に心からお礼申し上げます。本研究にご協力いただいておりますプリオント病サーベイランス委員の皆様に深謝いたします。

文献

- 1) Nozaki I, Hamaguchi T, Sanjo N, et al.: Prospective 10-year surveillance of human prion diseases in Japan. Brain 133(10): 3043-3057, 2010
- 2) Kovacs GG, Puopolo M, Ladogana A, et al.: Genetic prion disease: the EUROCDJ experience. Hum Genet 118(2): 166-174, 2005
- 3) Atarashi R, Satoh K, Sano K, et al.: Ultrasensitive human prion detection in cerebrospinal fluid by real-time quaking-induced conversion. Nat Med 17(2): 175-178, 2011
- 4) Iwasaki Y, Kizawa M, Hori N, et al.: A case of Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome with the P105L prion protein gene mutation presenting with ataxia and extrapyramidal signs without spastic paraparesis. Clin Neurol Neurosurg 111(7): 606-609, 2009
- 5) Rogava E, Zadikoff C, Ponsette J, et al.: Childhood onset in familial prion disease with a novel mutation in the PRNP gene. Arch Neurol 63(7): 1016-1021, 2006
- 6) Tunnell E, Wollman R, Mallik S, et al.: A novel PRNP-P105S mutation associated with atypical prion disease and a rare PrPSc conformation. Neurology 71(18): 1431-1438, 2008
- 7) Jin K, Shiga Y, Shibuya S, et al.: Clinical features of Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation. Neurology 62(3): 502-505, 2004
- 8) Yang TI, Jung DS, Ahn BY, et al.: Familial Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation. J Korean Med Sci 25(7): 1097-1100, 2010
- 9) Ishida S, Sugino M, Koizumi N, et al.: Serial MRI in early Creutzfeldt-Jacob disease with a point mutation of prion protein at codon 180. Neuroradiology 37(7): 531-534, 1995
- 10) Shiga Y, Satoh K, Kitamoto T, et al.: Two different clinical phenotypes of Creutzfeldt-Jakob disease with a M232R substitution. J Neurol, 2007
- 11) Iwasaki Y, Mori K, Ito M, et al.: An autopsied case of V180I Creutzfeldt-Jakob disease presenting with panencephalopathic-type pathology and a characteristic prion protein type. Neuropathology 31(5): 540-548, 2011

Relationship between Clinical Features and Cerebrospinal Fluid Biomarkers in Japanese Patients with Genetic Prion Disease

Nobuo Sanjo,¹ Maya Higuma,¹ Tetsuyuki Kitamoto,²
Katsuya Satoh,³ Ryuichirou Atarashi,³ Noriyuki Nishida,³
Masahito Yamada,⁴ Hidehiro Mizusawa¹

[Abstract] A national system for surveillance of prion diseases (PrDs) was established in Japan in April 1999. Here we analyzed the relationships among PRNP mutations and clinical features and cerebrospinal fluid (CSF) markers of the major genotypes of genetic PrDs (gPrDs). We retrospectively analyzed data on age at onset; disease duration; 14-3-3 protein, tau protein, and abnormal prion protein (PrPSc) in the CSF in gPrD patients with P102L, P105L, E200K, V180I, or M232R mutations. Four clinical phenotypes were seen: rapidly progressive CJD, which included E200K cases, rapid form of M232R, and about 20% of P102L; slowly progressive CJD, which included V180I and slowly progressive form of M232R; Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease, which included P105L and about 80% of P102L. PrPSc was detected in the CSF in more than 80% of patients with E200K, M232R, or P102L mutations, but in only 39% of patients with V180I. Patients with negative PrPSc in the CSF were older at onset: and Fetal Familial Insomnia, which was caused by the combination of the mutation at codon 178 and the polymorphism at codon 129. Patients with mutations associated with higher 14-3-3 protein levels in the CSF had shorter disease duration. The quantity of PrPSc in the CSF may influence age at onset, whereas the amount of 14-3-3 protein in the CSF may influence the pathophysiology of PrPSc in the brain after onset and disease progression.

1 : Department of Neurology and Neurological Science, Tokyo Medical and Dental University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo, Japan

2 : Department of Prion Protein Research, Division of CJD Science and Technology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Miyagi, Japan

3 : Department of Molecular Microbiology and Immunology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan

4 : Department of Neurology and Neurobiology of Aging, Kanazawa University Graduate School of Medical Science, Kanazawa, Japan

〈シンポジウム I〉 プリオニン病の最近の進歩

ヒトプリオニン病患者における髄液中の生化学的バイオマーカーと異常プリオニン蛋白の検出について

佐藤克也

【要旨】2011年ヒト孤発性プリオニン病における髄液中の異常プリオニン蛋白試験管内増幅法(RT-QuIC法)の解析結果を報告した。しかしながら多数例のdefinite casesにおけるヒト孤発性プリオニン病の髄液中のバイオマーカーの検討と異常プリオニン蛋白試験管内増幅法(RT-QuIC法)による解析は報告されていない。今回我々は多数例のdefinite casesにおけるヒト孤発性プリオニン病の髄液中のバイオマーカーの検討と異常プリオニン蛋白試験管内増幅法(RT-QuIC法)の解析を本研究の目的とした。definite casesは計92症例について検討を行った。(非プリオニン病患者は240症例について検討を行った。) definite cases 92症例と非プリオニン病240症例について14-3-3蛋白及び総タウ蛋白はELISA法、異常プリオニン蛋白試験管内増幅法はRT-QuIC法にて検討した。14-3-3蛋白の感度・特異度は90.8%、81.2%、総タウ蛋白の感度・特異度は87.6%、86.8%、RT-QuIC法の感度・特異度は82.5%、98.7%であった。さらに14-3-3蛋白と総タウ蛋白とRT-QUIC法の組み合わせにて検出できた症例は88症例、95.6%検出であった。14-3-3蛋白と総タウ蛋白とRT-QUIC法を組み合わせて診断することは極めて重要である。

はじめに

ヒトプリオニン病における髄液を用いた生化学的補助診断法として14-3-3蛋白などの幾つかのマーカーの意義が報告されている。1998年より14-3-3蛋白はヒトプリオニン病の診断基準の1つとして利用されている。2011年当教室の新ら¹⁾はヒトプリオニン病の髄液中から異常プリオニン蛋白の検出に成功している。一方でプリオニン病の既存のバイオマーカーである14-3-3蛋白や総タウ蛋白について感度・特異度の研究のまとめが報告され、14-3-3蛋白や総タウ蛋白の特異度は予想していた程高くなく、他の神経変性疾患を含めた鑑別疾患の重要性が謳れるようになっている。

今回我々は既存のバイオマーカーの他の神経変性疾患を含めた鑑別疾患に着目し、髄液検査のポイントについて述べる。又確実例の孤発性ヒトプリオニン病のバイオマーカーとReal-time QUIC法における感度・特異度についても述べる。

プリオニン病の既存のバイオマーカー(14-3-3蛋白)の発見

14-3-3蛋白はMooreとPerez²⁾により脳蛋白質の解析により発見された分子量約30kDaの酸性タンパク質で酵母・植物・動物に普遍的に存在し、ほ乳類では脳に豊富に含まれ、海馬・視床・大脳皮質・小脳などに分布し、主に神経細胞の細胞質内に局在しているが、グリア細胞でも細胞質・核で発現を認める。

現在までCJD患者での脳脊髄液中の14-3-3蛋白は、1996年Hsichら³⁾がN Engl J MedにCJD患者の脳と正常人の脳を二次元電気泳動で比較・検討し、14-3-3蛋白を同定しCJD患者での特異性を示した。同年Zerrら⁴⁾がCJD患者の脳脊髄液をHsichと同様な方法で解析し14-3-3蛋白を同定し、脳脊髄液中の14-3-3蛋白の有用性を示した。その後多種多様な神経疾患について14-3-3蛋白の有効性を検討された。

総タウ蛋白についてはOttoらが1999年有効性⁵⁾を報告し、2002年多数例での有効性⁶⁾を示した。

プリオント病の既存のバイオマーカーの問題点

平成22年よりプリオント病の髄液中のバイオマーカーである14-3-3蛋白と総タウ蛋白の感度・特異度について多くの論文・研究が報告されている。(第17回神経感染症学会総会学術集会・平成24年では論文を紹介したが、本文中では削除します。)又アメリカ⁷⁾やヨーロッパ⁸⁾では14-3-3蛋白や総タウ蛋白の標準化について論文さえている。日本では2009年14-3-3蛋白や総タウ蛋白の標準化が論文となり、これらのバイオマーカーについてはすでに標準化されている。

感度・特異度は国によって明らかに異なる。バイオマーカーの検査の標準化がされていないのも理由の1つではあるが、特に特異度は対象となる疾患が、どのような疾患を対象疾患とするかで全く異なる。又感度においても疑い例を含めると感度は下がる。さらにはほぼ確実例(probable case)のみとすると古典型CJDのみとなり、感度は上昇しやすい。又確実例(definite case)のみとすると感度は上昇しやすい。

これらのこともあり、感度・特異度に研究には注意を払うべきである。

ヒトプリオント病患者における髄液中の生化学的バイオマーカーと異常プリオント蛋白の検出について

2011年ヒト孤発性プリオント病における髄液中の異常プリオント蛋白試験管内増幅法(RT-QuIC法)の解析結果を報告した。しかしながら多数例のdefinite casesにおけるヒト孤発性プリオント病の髄液中のバイオマーカーの検討と異常プリオント蛋白試験管内増幅法(RT-QuIC法)による解析は報告されていない。

現在我々は多数例のdefinite casesにおけるヒト孤発性プリオント病の髄液中のバイオマーカーの検討と異常プリオント蛋白試験管内増幅法(RT-QuIC法)の解析を本研究の目的とした。definite casesは計92症例(表1)について検討を行った。(非プリオント病患者は240症例について検討を行った。)definite cases 92症例と非プリオント病240症例(表2)について14-3-3蛋白及び総タウ蛋白はELISA法、異常プリオント蛋白試験管内増幅法はRT-QuIC法にて検討した(表3)。14-3-3蛋白の感度・特異度は90.8%、81.2%、総タウ蛋白の感度・特異度は87.6%、86.8%、RT-QuIC法の感度・特異度は82.5%、98.7%

%であった。さらに14-3-3蛋白と総タウ蛋白とRT-QuIC法の組み合わせにて検出できた症例は88症例、95.6%検出であった(表4)。

しかしながら擬陽性を示した症候性けいれんと神経梅毒について多数例で検討し、現在まで偽陽性を示した症例以外で偽陽性の症例は認められなかつた。(表5)

表1 孤発性CJDのdefinite casesにおけるタイプ別の内訳(92症例)

MM1	41症例
MV1	2症例
VV1	2症例
MM2-cortical form	27症例
MM2-thalamic form	1症例
MV2	8症例
VV2	11症例

表2 非プリオント病患者の内訳(240症例)

アルツハイマー型認知症	200	症例
前頭側頭型認知症	4	症例
脳血管性認知症	4	症例
橋本脳症	6	症例
辺縁系脳炎	6	症例
精神疾患	7	症例
症候性けいれん	2	症例
神経梅毒	3	症例
MELAS	4	症例
リンパ腫	2	症例
大脳皮質基底核変性症	1	症例
進行性多巣性白質脳症	1	症例

表3 各検査の陽性率 (definite cases 92症例)

14-3-3蛋白	総タウ蛋白	RT-QuIC	総数
+	+	+	68
+	-	+	4
-	+	+	0
+	+	-	9
-	+	-	2
+	-	-	2
-	-	+	3
-	-	-	4

表4 タイプ別における髄液中のバイオマーカーとRT-QuIC法の陽性率

	14-3-3 蛋白	総タウ蛋白	RT-QuIC
MM1	90.2	85.4	82.9
MV1	100	100	100
VV1	50	0	0
MM2-cortical form	88.9	88.9	85.2
MM2-thalamic form	0	0	0
MV2	100	87.5	75
VV2	100	100	100

表5 RT-QuIC法における偽陽性

	年齢	総タウ蛋白 (pg/ml)	14-3-3 蛋白		RT-QuIC assay	診断
			WB	ELISA		
男性	41	<40	-	1520	+	神経梅毒
男性	67	700	-	1650	+	症候性けいれん
男性	72	2872	+	3482	+	症候性けいれん

文献

- 1) Atarashi R, Satoh K, Sano K, et al. Ultrasensitive human prion detection in cerebrospinal fluid by real-time quaking-induced conversion. *Nat Med.* Feb 2011;17(2):175-178. Hamlin C, Puoti G, Berri S, et al. A comparison of tau and 14-3-3 protein in the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology.* Aug 7 2012;79(6):547-552.
- 2) Hsich G, Kenney K, Gibbs CJ et al. The 14-3-3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J Med.* 1996;335:924-930
- 3) Zerr I, Bodemer M, Otto M et al. Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease by two-dimensional gel electrophoresis of cerebrospinal fluid. *Lancet.* Vol. 348, 1996:846-849
- 4) Otto M, Wilfong J, Tumani H et al. Elevated levels of tau-protein in cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurosci Lett.* 1997;225:210-212
- 5) Otto M, Wilfong J, Cepek L et al. Tau protein and 14-3-3 protein in the differential diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology.* 2002;58:192-197
- 6) Muayqil T, Gronseth G, Camicioli R. Evidence-based guideline: Diagnostic accuracy of CSF 14-3-3 protein in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: Report of the Guideline Development Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* Oct 2 2012;79(14):1499-1506.
- 7) Sorbi S, Hort J, Erkinjuntti T, et al. EFNS-ENS Guidelines on the diagnosis and management of disorders associated with dementia. *Eur J Neurol.* Sep 2012;19(9):1159-1179.
- 8) Alcalde-Cabero E, Almazan-Isla J, Brandel JP, et al. Health professions and risk of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, 1965 to 2010. *Euro Surveill.* Apr 12 2012;17(15).

〈シンポジウムⅠ〉 プリオニン病の最近の進歩

プリオニン病の治療法開発

坪井義夫

【要旨】クロイツフェルト・ヤコブ病を代表とするプリオニン病は、進行性、致死性の神経変性疾患である。病型は孤発性、家族性（遺伝性）、感染性（獲得性）プリオニン病があるが、その脳病理ではプロテアーゼ抵抗性の不溶性プリオニン蛋白が蓄積している点で共通している。感染性プリオニン病は英国に多い変異型プリオニン病と、本邦に多い硬膜移植後の医原性プリオニン病に対して、行政的措置や啓蒙によりその発生が減じたが、他の病型に対する治療法は全く確立していない。これまでに抗マラリア薬であるキナクリンの臨床研究では明らかな効果を示さず、肝障害の頻度が高かった。ペントサンポリサルフェート（PPS）は脳室内持続投与法として臨床研究が行われ、本邦で11例のプリオニン病を対象に、経過を観察中である。生命予後を含めた臨床的検討と、剖検脳の病理学的、生化学的検討を行い、疾患修飾効果に関する最終的評価を行う必要がある。欧州ではドキシサイクリンのRCTが行われているが未だ結果が明らかでない。今後、本邦に新規薬剤による臨床研究の可能性を論じる。

Key Words: プリオニン病、治療、キナクリン、ペントサンポリサルフェート、ドキシサイクリン

はじめに

クロイツフェルト・ヤコブ病を代表とするプリオニン病は、いったん発症すると進行性の運動、精神症状を呈し、急速な認知機能低下が進行する致死的な神経変性疾患群である。プリオニン病の疫学では、発生率は年間100万人に約1人の稀な疾患で、近年その数が微増していることが示されているが、その理由は明らかではない¹⁾。クロイツフェルト・ヤコブ病は以前、遅発性ウイルス感染症という概念で認識された。これには麻疹ウイルス感染に伴うSSPEや、JCウイルス感染で生じるPMLが知られているが、クロイツフェルト・ヤコブ病の原因ウイルスは同定されなかった。一方、プリオニン蛋白病原説は1982年にPrusinerらにより発表され、原因物質としての感染性蛋白質（プリオニン）の概念を確立した。病態機序としては、正常脳細胞に存在する正常型プリオニン蛋白（PrP^C）が、病的状態で高次構造変化を生じ、不溶性（プロテアーゼ抵抗性）の感染型プリオニン蛋白（PrP^{SC}）に変化し病原性もつと考えられた²⁾。PrP^{SC}は神経毒性を有し、プリオニン病の脳においてPrP^{SC}が凝集、蓄積がみられることから、この蛋白

が原因で、神経細胞変性を生じると考えられている。プリオニン病には孤発性CJD以外にも、プリオニンタンパク遺伝子変異を有する家族性（遺伝性）CJDやGerstmann-Sträussler-Scheinker（GSS）病、も含まれる。また近年、英国、欧州で発生した、変異型CJDは疫学、あるいは分子生物学的検討から、ウシ海綿状脳症との関連（感染）が推測されている。このプリオニン病の3病型；孤発性、家族性（遺伝性）、感染性（獲得性）プリオニン病は、脳病理における不溶性プリオニン蛋白の蓄積は共通している。これまでにPrP^CからPrP^{SC}への構造変化もしくは蓄積を阻害する化学物質を検索するため、薬物のスクリーニングあるいは創薬などの基礎研究が成されてきた。

プリオニン病の臨床症状と診断

孤発性プリオニン病の平均発症年齢は65歳で、40～80歳の発症が多い。年間発生率は100万人に約1人程度とされ、本邦でのサーベイランス委員会のデータでも、年間に150名前後の患者が発生し、大きな矛盾はしない結果が示されているが、その数は年々微増している¹⁾。初発症状は、進行性の見当識障

害や注意障害、失調性の歩行障害、性格変化等が多い。これらの症状から遡ること数ヶ月前より、軽いうつ症状や不安症状等の非特異的な「発病前症状」を呈すること指摘されているが、その時点での診断は困難である。一般に急速進行性認知症といわれるよう、他の認知症疾患に比べ症状の進行は速く、典型例では、発症より数週間から数ヶ月でミオクロース・小脳性運動失調・視覚異常・失語・錐体路徴候・錐体外路徴候・歩行障害等の多彩な神経学的異常所見が出現し、半年以内に寝たきり、無動無言の状態となる。経口摂取は不可能となり、最終的には肺炎等の感染症で死亡することが多い。臨床的な観察からは「入院時にはある程度会話も可能であったにも関わらず、数日で発語は単語レベルとなり、更にその数日後には全失語になっている」、もしくは「前日までボールを投げるという行為が可能であったが翌日には不可能となっている」というように、日単位での進行を認める症例も少なくない。

プリオント病の補助診断

プリオント病の診断は、臨床経過に加え髄液検査、脳波、頭部MRIを中心に行われる。髄液検査では、比較的早期より、神経細胞由来の14-3-3蛋白、neuron-specific enolase (NSE)、タウ蛋白が高値を示す。1996年にHsichらがCJD患者の脳組織に特異的に発現する14-3-3蛋白を同定し、脳脊髄液中の濃度がCJDの診断に有用であると報告した³⁾。その後も髄液マーカーの検索が行われ、14-3-3蛋白以外にタウ蛋白、NSEの有用性が示されている。脳波では、発症早期より基礎律動に徐波の出現率が増加し、臨床的にミオクロースを認める時期に至る頃、周期性同期性放電(Periodic Synchronous Discharge: PSD、欧米ではperiodic sharp wave complexes<PSWCs>と記載されることが多い)が出現する。しかし特徴的とされていた脳波上PSDに関しては、感度67%、特異度86%と偽陰性が多いため、PSD陽性であっても、諸検査の所見を加味して慎重に診断することが望まれる。頭部MRIでは、早期診断に拡散強調画像(Diffusion weighted imaging: DWI)が非常に有用である。この場合、主に大脳皮質や線条体の高信号を認め、当初非対称性であった病巣が拡大し、経過と共に対称性へと移行することが多い。通常、孤発性CJD及び変異型CJDの診断は、WHOの定めた診断基準に準じるのが一般的であるが、遺伝性CJDに関しては、遺伝子変異の多様性のため遺伝子検索にて診断される。欧洲の

改定CJD診断基準ではMRI所見が始めて組み入れられた。⁴⁾

プリオント病治療の現状

プリオント病の治療は、対症療法以外に有効な治療法は確立されていない。1986年に牛海绵状脳症が英国で初めて確認され、1996年に変異型CJDの発生が報告されてから、CJDは世界的問題となり早急な治療法の発見が急務と考えられた。その研究速度は加速し、現在までに抗プリオント効果を有する化合物が数多く報告された。そのうち現在までに臨床的に使用されたのは、長年マラリアの治療薬として使用されていたキナクリン(quinacrine)・キニーネ(quinine)、またこれまで海外で間質性膀胱炎や関節炎の治療に用いられてきたペントサンポリサルフェート(pentosan polysulphate: PPS)等である(Table)⁵⁾。キナクリンについては、比較的安全性が確立された薬剤であり、血液脳関門の通過も良好であるという利点から、その類似の作用を持つキニーネと共に臨床応用されるに至った。一方PPSは血液脳関門を通過しない為、外科的処置により脳室内に留置したカテーテルからPPSを持続投与する方法がとられている点が特徴である⁶⁾。本邦で福岡大学において、2004年11月から2007年3月までにプリオント病と診断された11症例に対しPPS脳室内投与を行い、現在その後の経過を観察中である。いずれの治療法も一過性の臨床的改善は見られた例はあるものの、長期予後を改善させると結論づけるには今後の経過の検討が必要と思われる⁶⁾。現在本邦では行われていないが、イギリスとアメリカでキナクリン治療の無作為対照試験が行われたほか、シンバスタチン、塩酸ミノサイクリン、ドキシサイクリン等が候補薬として、本邦や、ドイツ、イタリアにおいて臨床応用の検討が進められている⁷⁾。

プリオント病治療のこれから

発症前の予防的治療として注目されているのがイタリア、ドイツで行われている致死性家族性不眠症(fatal familial insomnia: FFI)の家系における発症素因(at risk)患者に対する遺伝子診断と予防的投与で、10年の研究期間をプラセボ対照試験でドキシサイクリンの発症予防効果を検討する。今まで動いている抗プリオント作用薬の各種薬剤について、今後の臨床評価の集積が待たれる。

本邦の家族性(遺伝性)プリオント病の中ではGSS病

が2番目に多く、発症予防の対象疾患として注目される。GSSは常染色体優性遺伝病であり、発症者の診断に遺伝子診断は必要であるが、発症者の家族における発症前遺伝子診断は倫理的に議論がある。現在福岡・佐賀地区には12家系を超えるGSS家系が確認されており、これまでの疫学的研究では、少なくとも50名の発症素因(at risk)家族が存在する。発症素因(at risk)家族における、疾患に対する意識、遺伝子診断の希望の有無をこれまでに調査した研究はない。今後は発症素因家族が、疾患に対してどのような意識を有しており、遺伝子診断の希望があるか、予防的治療への理解などの調査が必要で、将来の発症前遺伝子検査の是非や、発症予防治療の可能性につなげて行く基礎としたい。

治療候補薬剤の選択はこれから課題となるが、創薬の分野でも、*in silico*スクリーニングにおいて合成された化合物GN8が、実験室的に抗プリオニン効果を証明し、動物実験でもよい結果を示している⁸⁾。

Table. Recent clinical trials for treating prion disease

Country	Agent	Study design	Results
Italy	Doxycycline	Compared study	Longer survival time
	Doxycycline	RTC	NA
Germany	Doxycycline	Observational study	NA
		RTC	NA
France	PPS	Observational study	NA
	Doxycycline	RTC	NA
USA	Quinacrine	RTC	NA
UK	PPS	Observational study	Longer survival time
Japan	PPS	Observational study	Longer survival time

218:1309-1311, 1982.

- 3) Hsich G, Kenney K, Gibbs CJ et al: The 14-3-3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J Med* 335: 924-930, 1996.
- 4) Zerr I, Kallenberg K, Summers DM, et al. Updated clinical diagnostic criteria for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain* 132(Pt 10):2659-2668, 2009.
- 5) Stewart LA, Rydzewska LH, Keogh GF, Knight RS. Systematic review of therapeutic interventions in human prion disease. *Neurology* 70:1272-1281, 2008.
- 6) Tsuboi Y, Doh-Ura K, Yamada T. Continuous intraventricular infusion of pentosan polysulfate: clinical trial against prion diseases. *Neuropathology* 29:632-636, 2009.
- 7) De Luigi A, Colombo L, Diomedea L, Capobianco R, Mangieri M, Miccolo C, Limido L, Forloni G, Tagliavini F, Salmona M. The efficacy of tetracyclines in peripheral and intracerebral prion infection. *PLoS One* 26;3:e1888. 2008.
- 8) Kuwata K, Nishida N, Matsumoto T, et al. Hot spots in prion protein for pathogenic conversion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:11921-11926, 2007.

文献

- 1) 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 プリオニン病及び遅発性ウイルス感染に関する調査研究. <http://prion.umin.jp/prion/survey.html>
- 2) Bolton DC, McKinley MP, Prusiner SB: Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. *Science*

Toward the treatment and prevention for prion disease

Yoshio Tsuboi, MD

【Abstract】 Human prion diseases including Creutzfeldt-Jakob disease are fatal neurodegenerative diseases. There are subtypes of prion disease, such as sporadic, familial/genetic, and infectious/acquired prion disease, but they share with a common neuropathology characterized by protease-resistant prion protein accumulating in the brain. Despite numerous clinical and basic researches, there have been no effective treatments for prion diseases. Oral administration with quinacrine hydrochloride, which was antimalarial agent, has shown no clear effect for prion diseases with frequent liver dysfunction as the adverse effects. A clinical study with intraventricular continuous administration with pentosan polysulfate (PPS) was performed for 11 patients with prion disease in our country. It is time to perform the final evaluation of PPS treatment for prion disease regarding estimating disease modifying effects. RCT with the doxycycline is performed in Europe, but we have not obtained the results yet. Although recent clinical investigation for treating patients with prion disease has resulted in little progress, I will here discuss the possibility of the clinical study with the newly discovered drug in our country in future.

〈シンポジウムⅠ〉 プリオン病の最近の進歩

プリオン病の感染予防

岸田日帶¹、田中章景²、黒岩義之³

【要旨】 プリオン病は、異常プリオン蛋白を病原体とする稀少な致死性神経疾患であるが、医療行為を介して感染する可能性がある。そのため医療者による感染予防が非常に重要であり、本邦でも感染予防ガイドラインが作成されている。患者の日常のケアや診療では感染することではなく隔離は不要である一方、患者の中権神経系や網膜・視神経などの感染組織に接するハイリスク手技に関わる際には十分な注意を払う必要がある。ガイドラインでは脳神経外科・神経内科のみならず、眼科、歯科、整形外科、手術部などの診療科における日常臨床に即した対応についての各論も記載されている。厚生労働省難病情報センターホームページよりダウンロードできる(<http://prion.umin.jp/guideline/index.html>)ので参照いただければ幸甚である。

Key Words: プリオン、プリオン病、感染予防ガイドライン、ハイリスク手技

1. はじめに

プリオン病が、ほかの神経感染症、神経変性疾患と大きく異なる最大の点は「感染(伝播)」する、ということである。これまでの歴史を振り返っても、パプアニューギニアでのクールー(kuru)では現地部族へのカニバリズム(食人習慣)禁止の教育啓蒙が、英國でのウシ海綿状脳症(Bovine Spongiform Encephalopathy; BSE)では肉骨粉の食餌への混入禁止の法制化が、それぞれのプリオン病の発生の原因を絶ち、疾患の終息に大きく貢献したのである。これらのことからもプリオン病において感染対策が重要であることはいうまでもない。

プリオン病は、病原因子である「異常プリオン蛋白(以下、プリオン)」を原因とする致死性神経疾患の総称である。プリオンは熱や化学物質に抵抗性を有する蛋白質であり、かつ核酸を介さずに自己増殖・感染(伝播)することが可能である。そのためプリオンは通常の滅菌・消毒法に耐性を示し、エタノール、紫外線やガス滅菌などは無効である。プリオン病に接する可能性のある現場では、医療行為を介する二次感染を防ぐためにもプリオンの滅菌・消毒を確実に施行することが必要とされる。

2. プリオン病

ヒトのプリオン病を分類する際に、プリオンの感染経路が明らかである場合には、獲得性プリオン病とする。たとえば、医療行為を介して感染した医原性クロイツフェルト・ヤコブ病(Creutzfeldt-Jakob disease; CJD)やBSE由来の食材の経口摂取による変異型CJD(variant CJD; vCJD)である。医原性CJDについて、Brownらが2012年に原因となった医療処置について報告している¹⁾(表1)。

このうち、硬膜移植後CJDは、世界で最も多い142例が日本で発生している。1997年日本でヒト硬膜の使用が禁止され、それ以降に施行された手術での感染事例は激減したが、手術から発症までの潜伏期間が1.3~30年(平均約12年)と様々で、今後も少数例の発生は予測される。病型も孤発性CJDに類似した比較的早い経過で無動性無言に至るdura classic type、比較的緩徐に進行しミオクローヌスもほとんど認めないdura variant type、の2つがあり、前者が全体の2/3ほどをしめる²⁾。

ほかの注目すべき医原性CJDとしては、海外で成長ホルモン製剤由来CJD、輸血を介したvCJD二次感染の報告がある。特に輸血を介したvCJDの二次感染は、2004年以降英國のみで3件の事例が報告されている³⁻⁵⁾。vCJD患者がその発症前に(18~40

1 : 横浜市立大学附属市民総合医療センター神経内科 (〒232-0024 神奈川県横浜市南区浦舟町4-57)

2 : 横浜市立大学大学院医学研究科神経内科学・脳卒中医学

3 : 帝京大学医学部附属溝口病院神経内科

ヶ月前)に提供した血液のレシピエントが輸血後にvCJDを発症している。現時点で我が国でのvCJDは英国滞在歴のある1名の患者の発生のみであり、このような血液を介する二次感染のリスクはほとんどないと考えられている。そのため、我が国のvCJDの二次感染予防は、1980～1996年(BSE流行期)に英国に通算1ヶ月以上の滞在歴がある人などの献血制限のみとなっている。

獲得性CJDの発生は、クールー、vCJD、医原性CJDとともに減少傾向であり、プリオント病に対する知見の集積と感染対策の効果といえるだろう。しかし今後も新たなアウトブレイクの発生もあり得るため、注意深いモニタリングが重要である。特に、現在北米で増加しているシカのプリオント病、慢性消耗

病(Chronic Wasting Disease; CWD)は、水平感染により自然界で拡大の傾向を示しており、十分注意をすべきであろう。

3. 感染予防ガイドライン^{6,7)}(図1)

本邦のプリオント病の感染予防ガイドラインについて述べたい。ガイドラインは、厚生労働省難病情報センターホームページ(HP)よりダウンロードできる(<http://prion.umin.jp/guideline/index.html>)。詳細はそちらを参照下されば幸甚である。

(1) 総論

プリオント病の感染性について知ることは非常に重要な、「感染する」といっても、プリオント病は日

図1 二次感染防止の観点からみたハイリスク手技使用機器の洗浄・滅菌方法のまとめ

1. CJD患者に対して使用した手術機器の滅菌
<ul style="list-style-type: none"> 可能な限りディスポーザブルの機器を使用し焼却
<ul style="list-style-type: none"> 廃棄不可能な機器 → 3% SDS溶液にて 3～5分間 100℃煮沸 → オートクレーブ滅菌(プレバキューム方式) 134℃, 8～10分
2. CJDか否か不明の患者にハイリスク手技を行う場合の洗浄・滅菌
<p>前処理として手術機器に付着した組織をていねいに拭き取った後、機器別に以下に示す方法のいずれかにより処理を行う。</p> <ol style="list-style-type: none"> 適切な洗浄+3% SDS(ドデシル硫酸ナトリウム)溶液を用い100℃で3～5分間煮沸、このうち機器に応じて日常的な滅菌 アルカリ洗浄剤を用いたウォッシャーディスインフェクタ(90-93℃)洗浄+プレバキューム式によるオートクレーブ滅菌 134℃ 8-10分。 なお、ウォッシャーディスインフェクタを用いることができない場合には、適切な洗浄剤による十分な洗浄+プレバキューム式によるオートクレーブ滅菌 134℃ 18分もありうる。 軟性内視鏡については、適切な洗浄剤による十分な洗浄+過酸化水素低温ガスプラズマ滅菌2サイクル

表1 医原性CJDの原因となった医療処置(文献1より改変引用)

硬膜移植	228例(日本142例)
成長ホルモン投与	226例
脳神経外科手術(1950～60年)	4例
ゴナドトロピン投与	4例
角膜移植(1974, 1997年)	2例
脳波電極挿入	2例
輸血	3例(全てvCJD)

表2 孤発性CJD(sCJD)および変異型CJD(vCJD)における組織感染性(文献7より改変引用)

組織	sCJD	vCJD
脳、脊髄、脊髄神経根、硬膜	高	高
視神経、網膜	高	高
その他の眼組織	中	中
脳脊髄液	中	中
虫垂	低	中
扁桃	低	中
脾臓	低	中
その他リンパ節	低	中
血液	低	中
その他の組織	低	低

常生活や一般的なケアを介して介護者や医療者に感染することはない。「何となく心配」という理由で、プリオント病患者を個室隔離したり、ケアの際にガウンテクニックをさせていたり、ということを耳にするが、そのような措置は全く不要である。

孤発性CJD(sporadic CJD; sCJD)の感染性は患者の脳・脊髄、神経節、視神経・網膜というハイリスク臓器・組織に限定されている(表2)。ガイドラインでは、sCJDのハイリスク臓器つまり、脳、脊髄、脳神経節(三叉神経節を含む)、脊髄後根神経節、視神経および網膜に接触する可能性のある手技をハイリスク手技と定義している(表3)。このハイリスク手技を施行する医療者は、二次感染対策に十分留意する必要がある。

vCJDでは中枢神経系に限らず血液にも感染性が認められるように、プリオント病の病原性は「株(strain)」によって異なる。遺伝性CJDの感染性についてはエピデンスが全く存在しない。2010年にWHOでも動物を含む各種のプリオント病の組織感染性についてのガイドラインを示しているが、非常に混沌としている。本邦のガイドラインはsCJDを対象に記載されており、実際的には遺伝性CJDについてもこれに準じて対応がなされている。

(2) 各論(表4)

次に各医療処置についての各論を概説する。当然のことであるが、まず医療処置を施行する際に、その処置が絶対に必要かどうかを判断すべきである。たとえば、sCJD患者が経口摂取不良となった際に経鼻経管栄養ではなく胃瘻造設まで必要かどうか、プリオント病を強く疑う場合に確定診断のために脳生検が必要なのか(私見ではいずれもNOと考える)、各

位が処置の是非について再考いただきたい。

sCJD患者または、sCJD疑いの患者に対するハイリスク手技は可能な限りディスポーザブルの機器を使用し、原則として廃棄・焼却することが望ましい。廃棄不能な機器については、①使用後の器具を乾燥させない、②見える組織片をガーゼで拭き取る(ガーゼは焼却)、③十分に洗浄する。その後、④3% SDS溶液で3~5分間100℃煮沸し、さらに⑤オートクレーブ滅菌(プレバキューム方式)134℃、8~10分間、が推奨される。

厚生労働科学研究「プリオント病二次感染対策に対する現実的滅菌法開発研究班(北本哲之班長)」の平成20年度総括・分担研究報告書の中で、単独で10⁻⁷以下に感染性を低下させる滅菌方法はないが、2つの汚染除去方法の組み合わせで10⁻⁷以下の滅弱効果を認めることができると報告されている。そのうえで、報告書では原則として、廃棄・焼却が望ましい、としている。

看護・ケアの面では、患者の隔離は不要であり、標準予防策 standard precautionで十分対応可能である。万一、血液でスタッフの手が汚染されたときには石けんを用いて水道水で十分洗浄する。患者の喀痰や尿は一般の医療廃棄物と同様に廃棄する。一般診療も、標準予防策での対応としている。針刺し事故については、記録に残すことは必要であるが、これまでにそれによる感染事例の報告はない。脳脊髄液検査については、やや注意を要する。術者はメガネ、マスク、手袋、ガウンを着用する。髄液が垂れる可能性のある場所には、まず平オムツを敷いた上に、液体を透過させない滅菌布を敷き、全てディスポーザブルの器具を使用して施行する。処置終了後に全ての器具を廃棄する。検査室技師にも、

表3 ハイリスク手技

脳神経外科手術について	<ol style="list-style-type: none"> 1. 硬膜を切開または穿刺する手技 2. 松果体、または下垂体周囲組織を切開して下垂体自体に接触する手技 3. 脳神経節を包む周囲組織を切開して神経節自体に接触する手技 4. 硬膜外の手術であっても術中操作により、髄液の漏出が見られる等、結果的に硬膜を穿刺または切開した場合
眼科手術について	
視神経または網膜に関する手技	<ol style="list-style-type: none"> 1. 眼窩手術 <ol style="list-style-type: none"> (ア) 眼窩内容除去術 (イ) 眼球内容除去術 (ウ) 眼球摘出術（角膜移植のためのドナー眼球摘出も含む） (エ) 眼球摘出及び組織又は義眼台充填術 (オ) 眼窩内異物除去術、眼窩内腫瘍摘出術および眼窩悪性腫瘍手術については術中操作により手術器具が視神経に接触した場合 2. 網膜・硝子体手術 <ol style="list-style-type: none"> (ア) 黄斑下手術 (イ) 硝子体茎顎微鏡下離断術 (ウ) 増殖性硝子体網膜症手術 (エ) 網膜復位術 (オ) その他の網膜硝子体手術において術中操作により手術器具が網膜に接触した場合
※ 角膜移植のためドナーから角膜を採取する手技については、視神経を切断する手技が含まれていることからハイリスク手技と分類	
整形外科手術について	<ol style="list-style-type: none"> 1. 硬膜を穿刺または切開する手技 2. 脊髄後根神経節を包む周囲組織を切開して神経節自体に接触する手技 3. 硬膜外の手術であっても術中操作により、髄液の漏出が見られる等、結果的に硬膜を穿刺または切開した場合
その他の手術について	<ol style="list-style-type: none"> 1. 硬膜を穿刺または切開することにより内部のハイリスク組織に接触する手技

（厚生労働省 CJD 二次感染予防に関する対策検討会報告書「ハイリスク手技に用いた手術器具を介する CJD 二次感染予防について」より引用）

表4 感染対策(各論) 抜粋

医療行為	感染対策
看護ケア	<ul style="list-style-type: none"> ・隔離は不要 ・標準予防策 standard precaution ・万一、血液でスタッフの手が汚染されたときには石けんを用いて水道水で十分洗浄 ・一般的な医療廃棄物と同様に廃棄（喀痰、尿）
一般診療	<ul style="list-style-type: none"> ・標準予防策 ・針刺し事故：これまでに感染事例の報告なし
脳脊髄液検査	<ul style="list-style-type: none"> ・メガネ、マスク、ガウンの着用 ・ディスポーザブルの器具を使用 ・計算板も、使い捨てが望ましい。再使用の際は、CJD 専用とし 3% SDS 溶液処理が望ましい。
消化管内視鏡検査	<ul style="list-style-type: none"> ・プリオニン感染を示唆するエビデンスはない ・ただし検査適応については十分に是非を検討する必要がある ・vCJD の多発地域に居住歴があり、進行性の精神神経症状を有している患者では、内視鏡施行前に専門医にコンサルトすることを推奨
歯科処置	<ul style="list-style-type: none"> ・可能な限りディスポーザブルの器具を使用 ・原則、再使用せず廃棄 ・歯科医療行為により CJD の感染が起こりうるという証明はなされていない
ハイリスク手技 ・脳神経外科 ・整形外科 ・眼科	<ul style="list-style-type: none"> ・ハイリスク処置に使用した器具は原則廃棄

表5 ハイリスク手技に用いられた手術器具等に対して現時点で推奨される処理方法

① 適切な洗浄 + 3% SDS溶液で3~5分煮沸処理、その後機器に応じた日常的滅菌・消毒.
②-1 アルカリ洗浄剤を用いたウォッシャーディスインフェクタ (90~93°C) 洗浄 + プレバキューム式によるオートクレープ 134°C 8分~10分.
②-2 ウォッシャーディスインフェクタを用いることができない場合には、 適切な洗浄剤による充分な洗浄 + プレバキューム式によるオートクレープ 134°C 18分.
③ 非耐熱性の機器に対しては、 アルカリ洗剤洗浄 + 過酸化水素低温ガスプラズマ滅菌2サイクル.

※ いずれの場合にも、滅菌処理の前に組織片の除去、十分な洗浄が必要である

(厚生労働省 CJD 二次感染予防に関する対策検討会報告書「ハイリスク手技に用いた手術器具を介する CJD 二次感染予防について」より改変引用)

検体がプリオントン病疑いであることを伝え、医師より注意を喚起すべきである。計算板も、使い捨てが望ましい(どうしても再使用する場合には、CJD専用とし3% SDS溶液処理が望ましい)。

消化管内視鏡検査を介したプリオントン感染を示唆するエビデンスはこれまでにない。ただし検査の適応については十分検討する必要がある。vCJDの多発地域に居住歴があり、進行性の精神神経症状を有している患者では、内視鏡施行前にプリオントン病の可能性を疑って専門医にコンサルトすることが推奨される。

歯科医療行為によりプリオントン病の二次感染が起こったという報告はこれまでになされていない。しかし、sCJD患者の歯科処置の際には可能な限りディスポーザブルの器具を使用し、原則、器具を再使用せず廃棄することを推奨している。

sCJD患者または、sCJD疑いの患者に対するハイリスク手技(脳神経外科、一部の整形外科・眼科手術)に使用した医療器具については、原則廃棄することを推奨している。

剖検、病理標本作製については、日本神経病理学会の「プリオントン病剖検・病理検査ガイドライン2008」を参考にされたい。同学会のHPよりダウンロード可能である(http://www.jsnp.jp/pdf/news_26.pdf)。

プリオントン病を発症した患者は視覚障害や運動障害、認知症などを呈するために、医療機関を受診し、プリオントン病の診断前に手術を受ける可能性がある。そして、術後、神経症状が増悪しプリオントン病と診断されるケースが少なからず存在する。そのため、ハイリスク手技に利用した器具については、全ての患者の術後、プリオントンを失活させる表5に示す滅菌・

消毒を施行することが重要である。また、術中から器具を乾燥させないようにすること、付着した組織片は拭き取ること、よく洗浄することが、滅菌・消毒の前提として推奨されている。

4. 今後の課題

これまで、中枢神経系を除く生体組織や使用した医療器具から感染性を有する異常型プリオントン蛋白を迅速に検出することは、技術的に困難だった。しかし、わが国で最近になってQUIC法という異常プリオントン蛋白のin vitroでの增幅法が開発され、迅速診断法として期待されている⁸⁾。

本ガイドライン作成にあたって引用した滅菌・消毒法についてのエビデンスは、ほとんどがマウスなどの実験動物によるものである。今後、ヒト型ノックインマウスを用いた基礎研究を含めたヒトプリオントンでのエビデンスの構築が望まれる。またsCJDだけではなく、「strain」の異なる遺伝性プリオントン病、vCJDへの対策も課題である。さらに、無症候性キャリアへの対応、具体的には輸血・血液製剤、観血的処置、針刺し事故の際の対応なども重要な検討事項である。

文献

- 1) Brown P, Brandel JP, Sato T, et al : Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease, final assessment. Emerg Infect Dis 18 : 901-07, 2012
- 2) Kobayashi A, Sakuma N, Matsuura Y, et al : Experimental verification of a traceback

- phenomenon in prion infection. J Virol. 84: 3230-38, 2010
- 3) Llewellyn CA, Hewitt PE, Knight RSG, et al. Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. Lancet 363: 417-21, 2004.
 - 4) Peden AH, Head MW, Ritchie JE, et al. Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patients, Lancet 364: 527-9, 2004.
 - 5) Wroe S, Pal S, Siddique D, et al.: Clinical presentation and pre-mortem diagnosis of blood transfusion associated variant Creutzfeldt-Jakob disease. Lancet 368: 2061-7, 2006.
 - 6) クロイツフェルト・ヤコブ病感染予防ガイドライン, 厚生労働科学特別研究事業 医療機関におけるクロイツフェルト・ヤコブ病保因者(疑い含む)に対する医療行為についてのガイドライン策定に関する研究(金子清俊班長), 2003.
 - 7) プリオント病感染予防ガイドライン(2008年版), 厚生労働科学研究費補助金・難治性疾患克服研究事業 プリオント病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班(水澤英洋班長), 2008.
 - 8) Atarashi R, Moore RA, Sim VL, et al. Ultrasensitive detection of scrapie prion protein using seeded conversion of recombinant prion protein. Nat Methods. 4:645-50, 2007.

〈シンポジウムII〉 小児の急性脳症

急性脳症—発症の遺伝的背景—

水口 雅

【要旨】急性脳症には多くの症候群が含まれ、その大多数は環境要因（感染症、薬物・毒物）と遺伝要因（遺伝子の変異・多型）の両方が関与する複雑疾患である。現在までに急性脳症との関連が指摘された遺伝子の多くは、代謝、自然免疫、神経興奮などに関わるものである。遺伝子型と表現型の相関はしばしば複雑である。

Key words: 急性壊死性脳症、二相性けいれんと遅発性拡散低下を呈する急性脳症（けいれん重積型急性脳症）、難治頻回部分発作重積型急性脳炎

はじめに

急性脳症とは、感染症を契機に発症して急激な経過で高度の意識障害に陥る症候群の総称である。ただし中枢神経系の炎症（脳炎・髄膜炎）は急性脳症から除外される。急性脳症においては、病理学的にはびまん性ないし広範囲な非炎症性脳浮腫があり、臨床的にはこれが頭部CTやMRIで可視化される。脳浮腫の機序には血管性浮腫と細胞性浮腫の2つおりがあり、頭部MRI拡散強調画像を用いて両者を区別することができる。

急性脳症には先行感染の病原による分類（ウイルス学的分類）と、脳症の臨床・病理にもとづく分類（症候群分類）の2つおりがあり、病態や治療の面からは後者が重要である。多くの症候群が分類されており、それらは病態にもとづき代謝異常を主とする群、サイトカインの嵐を主とする群、興奮毒性を主とする群、その他に大別される¹⁾（表1）。これら3つの病態は互いに関連しており、重症例では複数の病態が重畠して悪循環を形成すると推定される（図1）。各群の代表的症候群は、「代謝異常」群ではReye症候群、「サイトカインの嵐」群では急性壊死性脳症（acute necrotizing encephalopathy、以下ANE）、「興奮毒性」群では二相性けいれんと遅発性拡散低下を呈する急性脳症（acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduce diffusion、以下AESD、別名けいれん重積型）である。

急性脳症の遺伝

急性脳症の症候群の大部分は、明らかな家族集積性やMendel遺伝を示さない。しかし例外的には家族例もあること、民族により罹病率に大きな差がある（東アジア人で高い）ことから、急性脳症の発症には遺伝的素因が関与すると推測される。いっぽうウイルスなどの感染、特定の薬物・毒物、飢餓（食物摂取不足）など環境要因の関与も明らかである。つまり、急性脳症は多くの遺伝的・環境的因素が絡む複雑疾患である。

近年、複雑疾患の遺伝的素因の解明に次世代シークエンサーなど網羅的遺伝子解析が多用され、威力を発揮しているが、こういった方法では多数例のDNA検体が必要となる。ところが急性脳症の罹病率は低く、すべての病型を合わせても日本での症例数は年間400～700人程度と推定される²⁾。小さな検体数という制約のため、当面は網羅的手法でなく候補遺伝子アプローチを用いざるを得ない。前述した急性脳症の病態からは、酵素（欠損ないし熱感受性）、自然免疫系の因子、イオンチャネルや神経修飾物質などが候補として考えやすい（図1）。

以下、本稿ではこれまでに急性脳症との関連が判明した遺伝子の変異や多型について、最新の知見を概説する。

代謝系：酵素、CPT2、RANBP2

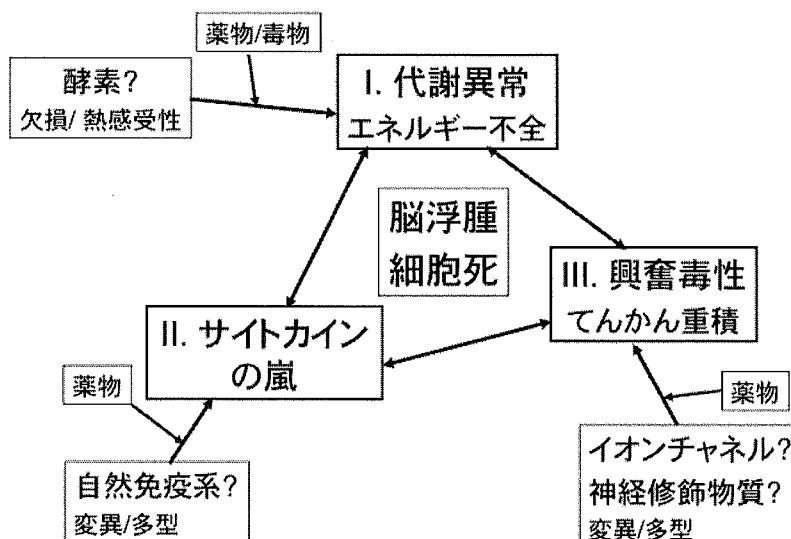
脂肪酸の輸送やβ酸化、有機酸代謝、糖代謝、尿

表1 急性脳症の症候群分類

群	主な病態	症候群	
I	代謝異常 (metabolic error)	各種の先天代謝異常症	
		古典的 Reye 症候群	
II	サイトカインの嵐 (cytokine storm)	Reye 様症候群	
		Hemorrhagic shock and encephalopathy 症候群	
III	興奮毒性 (excitotoxicity)	急性壞死性脳症 (ANE)	
		二相性けいれんと遅発性拡散低下を呈する急性脳症(AESD, けいれん重積型)	前頭葉を主として障害する乳児急性脳症 Hemiconvulsion-hemiplegia -epilepsy (HHE)症候群
IV	その他	可逆性脳梁膨大部病変を有する軽症脳炎・脳症	
		難治頻回部分発作重積型急性脳炎 (AERRPS)	

ANE, acute necrotizing encephalopathy; AESD, acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion; AERRPS, acute encephalitis with repetitive, refractory partial seizures.

図1 急性脳症の病態と候補遺伝子



素サイクルに関わる酵素の先天的欠損による表現型は、しばしば脳症状を呈する。典型的には慢性進行性の経過を辿ることが多い。しかし一部の患者、とくに酵素欠損の程度が軽い場合には、ある時期まで明らかな症状を示さず、感染・飢餓などのストレスを契機として急激に発症し、急性脳症様の臨床経過を呈することがある。このような症例は、狭義の急性脳症からは除外されるべきであるが、発症後直ちに鑑別診断することはしばしば不可能であるため、臨床実地では広義の急性脳症として扱わざるを得ない。

い。実際、厚生労働科学研究・インフルエンザ脳症研究班(森島班)の調査ではインフルエンザ脳症の症例の約5%において有機酸代謝、脂肪酸代謝の先天的欠陥が関与している可能性が指摘された³⁾。

カルニチントランスパルミトイльтランスクエラーゼII(CPT2)はミトコンドリア内膜の内側に局在し、ミトコンドリアの脂肪酸β酸化によるATP産生に必須の酵素である。本酵素の欠損は、活性低下の程度に応じて、乳幼児期に発症し肝臓、心臓、骨格筋などの症状を呈する重症型から学童～成人期に発

症して筋症状のみを呈する軽症型まで幅広い臨床像を呈しうる⁴⁾。とくに前者において脳症状をともないやすく、感染などを契機に急性脳症様の経過を辿ることもある。さらに近年、CPT2については熱感受性(thermolability)が注目されている。熱感受性とは、酵素活性が平熱(37°C)時には正常であるのに、高熱(41°C)時に大きく低下するようなvariationを指す。このような多型の頻度が、インフルエンザ脳症予後不良例において高いという結果が徳島大学の研究グループにより2005年に報告され、大いに注目を集めた⁵⁾。私たちはインフルエンザ以外の先行感染による急性脳症に範囲を広げて検討を加えたところ、AESDとANEの両者を含む急性脳症症例において、CPT2熱感受性多型の頻度が対照群より高かった。すなわちこの多型は先行感染の種類によらず急性脳症の危険因子であること、複数の症候群の発症に関与していることが示された⁶⁾。

Ran結合タンパク2(Ran binding protein 2、以下RANBP2)は核膜孔の細胞質側に局在し、核膜・細胞質間の分子の移動やモーター蛋白との結合など多くの機能を有し、ミトコンドリアの局在や機能にも関与すると考えられている⁷⁾。2009年、RANBP2遺伝子変異が家族性反復性ANE(別名ANE1)の病因として同定された⁸⁾。ANE1は欧米のコーカソイドに見られ、しばしば家族性(常染色体優性遺伝、浸透率40%)、再発性に発症するが、肝臓その他の臓器障害は軽く、予後はさほど悪くない(死亡例は少なく、回復して社会生活を営む例が多い)。これに対し、典型的なANEは東アジアのモンゴロイドに多発し、家族歴はなく、再発もしないが、多臓器障害が重く、予後不良である(致死率30%で、生存例の後遺症も重い)。私たちのRANBP2遺伝子解析の結果、欧米のANEでは、家族歴のない例でも、同遺伝子の変異が見つかった⁹⁾。これに対し、日本のANEでこの変異を有する症例はこれまで1例も見当たらない⁸⁾。

免疫系: TLR、サイトカイン、HLA

ANEなどサイトカインの嵐を主な病態とする急性脳症では、感染を契機に自然免疫系の過剰反応が生じ、脳が全身性炎症反応症候群(systemic inflammatory response syndrome)の標的臓器となることにより傷害されると考えられる¹⁰⁾。いっぽうAESDなど別種の病態においても、脳内でインターロイキン(interleukin、以下IL)の産生や作用が強まる結果、けいれんや意識障害などをもたらす可能

性が推測されている。

Toll様受容体(Toll-like receptor、以下TLR)は、病原体の成分を感じて自然免疫を作動させる細胞表面の受容体であり、10種類あまりが知られている。このうちTLR3は二本鎖RNAを検知するTLRである。2006年、インフルエンザ脳症の1症例において、TLR3遺伝子の機能喪失変異が見いだされた¹⁰⁾。その後、新たな症例が追加されず、この変異の病的意義が確定したとは言い難いが、TLRをコードする遺伝子の変化が急性脳症発症の原因となりうる可能性がある。

炎症性サイトカインやその修飾物質の遺伝子多型については、私たちが現在、急性脳症との関連を調べている。Preliminaryな結果では、IL1やその受容体アンタゴニストの特定の遺伝子多型とAESDとの関連が示唆されている(未発表データ)。

ヒト白血球型抗原(human leukocyte antigen、以下HLA)がさまざまな免疫系疾患に関与することは周知の事実である。私たちは現在、HLAとANEの関連について調査中であり、特定のHLA型がANE発症の危険因子である可能性を示唆するデータ(未発表)を得つつある。

神経系(その1): イオンチャネル、神経修飾物質

イオンチャネルは細胞膜にある膜貫通タンパク質で、内部をイオンが通過する。イオンの流入・流出の通路であり、細胞の膜電位の維持・変化にあずかる。神経細胞のように電気的に興奮する細胞では、その役割がとくに大きい。ナトリウム・カリウム・カルシウムのチャネルや関連するアセチルコリン・ガンマアミノ酪酸(GABA)受容体の遺伝子変異は、種々の遺伝性てんかん症候群の原因となる。代表的な症候群は、電位感受性ナトリウムチャネルSCN1A、SCN2A、SCN1B遺伝子の変異に起因する全般てんかん熱性けいれんプラス(GEFS+)、SCN1A、GABRG2変異に起因するDravet症候群(別名、乳児重症ミオクロニーてんかん)である。このうちDravet症候群は経過中に急性脳症を併発しやすいことが知られている^{11,12,13)}。

最近Dravet症候群とは別に、AESD、難治頻回部分発作重積型急性脳炎(acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures、以下AERRPS)など種々の型の急性脳症の症例の数%がSCN1A遺伝子変異を有することが私たちや他の研究グループの研究により判明した^{14,15,16)}。遺伝子型

と表現型の関連は複雑であり、同じ変異を有する家族内で、親は無症状、子は急性脳症という例がある。また同一の変異を有しながら、ある症例はAESD、他の症例はANEと、異なる症候群を発症した例もある。また急性脳症の同胞例でありながら、一方(兄)にはSCN1A遺伝子変異があり、他方(妹)にはないという家系もある¹⁶⁾(表2)。これらの事実は、SCN1A遺伝子変異が急性脳症の発症を規定する唯一の要因ではなく、複数ある原因のひとつに過ぎないことを如実に示している。

SCN1A以外では、私たちはSCN2A変異をAERRPSの1例で¹⁷⁾、SCN9A変異を紅痛肢端症(erythermalgia)(冬期低体温症と急性脳症を合併)の1例で¹⁸⁾、それぞれ見いだした。また他施設からは、電位依存性P/Q型カルシウムチャネルCACNA1A遺伝子変異を有するhemictonvulsion-hemiplegia-epilepsy(HHE)症候群(一側大脳半球が傷害されるAESDのサブグループ)の症例が報告された¹⁹⁾。

神経系(その2)：神経修飾物質、その他

アデノシンは複数のGタンパクを受容体とするシグナル伝達物質であり、脳では神経修飾物質(neuromodulator)として重要な役割を演じる。脳で発現する主要な受容体はA1受容体(神經興奮を抑制)とA2A受容体(神經興奮を促進)である。生理的には前者の働きが優位なため、アデノシンはいわば「内因性抗けいれん薬」として作用する。いっぽうテオフィリンは非選択的アデノシン受容体アンタゴニストである。テオフィリン使用中に熱性けいれんを生じると、遷延したり難治化しやすく、急

性脳症(AESD)の危険因子として指摘されている²⁰⁾。私たちはこの事実に着目し、AESDではアデノシンを介した情報伝達系に遺伝的変化があり、過興奮に傾きやすいという仮説を立てた。これを検証するためAESD患者を対象にA2A受容体をコードするADORA2A遺伝子の多型解析を行い、発現が亢進するタイプの多型がAESDの危険因子であることを示した²¹⁾。将来、A2A受容体を介してサイクリックAMPを産生する経路を抑制する薬物を用いたAESDの新しい治療が開発される可能性が、この研究を通じて見えてきた。

今後の研究では、成長因子受容体などについても研究を広げる必要がある。なぜなら無痛無汗症(別名、遺伝性感覺性自律神経性ニューロパシーIV型)は神経成長因子(nerve growth factor、以下NGF)受容体TrkAの変異に起因する先天性神経疾患であるが²²⁾、経過中、高率に急性脳症を併発することが知られている²³⁾。発汗を通じた体温調節機能の低下は急性脳症をきたしやすいと考えられ、こうした観点からのアプローチの必要性を示唆している。

おわりに

急性脳症の発症の危険因子として同定された遺伝子の多型や変異について、遺伝子の種類別に整理して概説した。候補遺伝子アプローチにより急性脳症の遺伝的背景がつぎつぎと明らかになっているが、まだまだ未解明の部分も多い。AESDのように罹病率の比較的高い病型については、今後さらに検体数を増やして網羅的アプローチに移行する必要がある。

「急性脳症の遺伝子解析」は日本小児神経学会が

表2 SCN1A遺伝子変異を有する急性脳症の臨床的多様性

症例	年齢	性	SCN1A 遺伝子変異	てんかん	急性脳症	文献
1	2歳	女	R1892X/nonsense	Dravet	AESD (HHE)	Sakakibara et al (2009) ¹³⁾
2	1歳	女	ex1-c.126Adel (D43fs)/truncation	Dravet 疑い	AESD 疑い	Takayanagi et al (2010) ¹⁴⁾
3	6歳	男	R1575C/missense	なし(熱性けいれんのみ)	AERRPS	Kobayashi et al (2010) ¹⁵⁾
4	3歳	男	M1977L/missense	GEFS+	分類不能	Saitoh et al (2012) ¹⁶⁾
5	2歳	男	V982L/missense	複雑部分発作	重症 AESD	
6	0歳	男	R1575C/missense	なし	家族性 ANE 類症	

GEFS+, generalized epilepsy with febrile seizures plus.

支援する共同研究として、全国規模で展開されている。本研究は、あらゆる型の急性脳症の症例を対象としている。ゲノムDNAの解析であるので、急性期のみならず回復期以降の患者であっても良い。多くの病院やリハビリテーション施設に、検体の集積にご協力を是非お願いしたい。患者・家族への説明と同意の文書、検体の採取や送付の方法、病歴を記載する書式などは東京大学医学部発達医科学教室のホームページ(<http://www.development.m.u-tokyo.ac.jp/>)のリンクに置いてあるので、参照されたい。

文献

- 1) Mizuguchi M, Yamanouchi H, Ichiyama T, et al: Acute encephalopathy associated with influenza and other viral infections. *Acta Neurol Scand* 115: 45-56, 2007.
- 2) 水口雅:重症・難治性急性脳症の病因解明と診療確立に向けた研究. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 平成22年度総括・分担研究報告書. 東京, 2011, pp3-10.
- 3) 森島恒雄, 岡部信彦, 中村祐輔, ほか:インフルエンザ脳症ガイドライン【改訂版】. 小児科臨床 62: 2483-2528, 2009.
- 4) 依藤史郎:カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼII欠損症. 日本臨牀 領域別症候群シリーズ 先天代謝異常症候群(上巻). 日本臨牀社, 大阪, 1998, pp405-406.
- 5) Chen Y, Mizuguchi H, Yao D, et al: Thermolabile phenotype of carnitine palmitoyltransferase II variations as a predisposing factor for influenza-associated encephalopathy. *FEBS Lett* 579: 2040-2044, 2005.
- 6) Shinohara M, Saitoh M, Takanashi JI, et al: Carnitine palmitoyl transferase II polymorphism is associated with multiple syndromes of acute encephalopathy with various infectious diseases. *Brain Dev*. 33: 512-517, 2011.
- 7) Cho KI, Cai Y, Yi H, et al: Association of the kinesin-binding domain of RanBP2 to KIF5B and KIF5C determines mitochondria localization and function. *Traffic* 8: 1722-1735, 2007.
- 8) Neilson DE, Adams MD, Orr CM, et al: Infection-triggered familial or recurrent cases of acute necrotizing encephalopathy caused by mutations in a component of the nuclear pore, RANBP2. *Am J Hum Genet* 84: 44-51, 2009.
- 9) Bergamino L, Capra V, Biancheri R, et al: Immunomodulatory therapy in recurrent acute necrotizing encephalopathy ANE1: is it useful? *Brain Dev* 34: 384-391, 2012.
- 10) Hidaka F, Matsuo S, Muta T, Takeshige K, Mizukami T, Nunoi H. A missense mutation of the Toll-like receptor 3 gene in a patient with influenza-associated encephalopathy. *Clin Immunol* 119: 188-194, 2006.
- 11) Sakauchi M, Oguni H, Kato I, et al: Mortality in Dravet syndrome: search for risk factors in Japanese patients. *Epilepsia* 52(Suppl 2): 50-54, 2011.
- 12) Okumura A, Uematsu M, Imataka G, et al: Acute encephalopathy in children with Dravet syndrome. *Epilepsia* 53: 79-86, 2012.
- 13) Sakakibara T, Nakagawa E, Saito Y, Sakuma H, Komaki H, Sugai K, Sasaki M, Kurahashi H, Hirose S. Hemiconvulsion-hemiplegia syndrome in a patient with severe myoclonic epilepsy in infancy. *Epilepsia* 50: 2158-2162, 2009.
- 14) Takayanagi M, Haginoya K, Umehara N, et al. Acute encephalopathy with a truncation mutation in the SCN1A gene: a case report. *Epilepsia* 51: 1886-1888, 2010.
- 15) Kobayashi K, Ouchida M, Okumura A, Maegaki Y, Nishiyama I, Matsui H, Ohtsuka Y, Ohmori I. Genetic seizure susceptibility underlying acute encephalopathies in childhood. *Epilepsy Res* 91: 143-152, 2010.
- 16) Saitoh M, Shinohara M, Hoshino H, et al: Mutations of the SCN1A gene in acute encephalopathy. *Epilepsia* 53: 558-564, 2012.
- 17) Kobayashi K, Ohzono H, Shinohara M, et al: Acute encephalopathy with a novel point mutation in the SCN2A gene.

- Epilepsy Res 102: 109-112, 2012.
- 18) Takahashi K, Saitoh M, Hoshino H, et al: A case of primary erythermalgia, wintry hypothermia and encephalopathy. Neuropediatrics 38: 157-159, 2007.
- 19) Yamazaki S, Ikeno K, Abe T, et al: Hemiconvulsion-hemiplegia-epilepsy syndrome associated with CACNA1A S218L mutation. Pediatr Neurol 45: 193-196, 2011.
- 20) 塩見正司: テオフィリンは治療域濃度であっても、けいれん重積型急性脳症の原因となる。小児科臨床 59: 187-196, 2006.
- 21) Shinohara M, Saitoh M, Nishizawa D, et al: ADORA2A polymorphism predisposes children to encephalopathy with febrile status epilepticus. Neurology 80: 1571-1576, 2013
- 22) Indo Y, Tsuruta M, Hayashida Y, et al: Mutations in the TRKA/NGF receptor gene in patients with congenital insensitivity to pain with anhidrosis. Nat Genet 13: 485-458, 1996.
- 23) 重里敏子, 樋口隆造, 白井高司, ほか: 14カ月時にheat strokeと思われる急性脳症を契機に遺伝性感覚・自律神経性ニューロパシーIV型(無痛無汗症)と診断した1例. 脳と発達 29: 254-260, 1997.

Genetic background of acute encephalopathy

Masashi Mizuguchi

Acute encephalopathy is classified into many syndromes. The majority of these conditions are complex diseases in which environmental factors, such as infections and drugs, and genetic factors, such as mutations and polymorphisms, are involved. To date, many genes have been identified to be associated with acute encephalopathy. They have roles either in metabolism, natural immunity, neural excitation, or other functions. The relationship between genotype and phenotype is often complicated.

Key words: acute necrotizing encephalopathy, acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion, acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures

〈シンポジウムII〉 小児の急性脳症

小児急性脳症の脳波

奥村彰久

【要旨】脳波やamplitude-integrated EEGの急性脳炎・脳症における知見を解説した。二相性けいれんと遅発性拡散脳低下を伴う急性脳症では、一般に初期には意識障害は軽微であることが多いが、脳波では高率に異常を認め早期診断に有用である。熱せん妄と脳症との鑑別は容易でないが、全般性徐波化を認めない場合は予後良好であった。脳波やamplitude-integrated EEGによる持続モニタリングでは様々なタイプの急性脳症で潜在発作の存在を確認した。したがって、急性脳炎・脳症の治療においては持続脳波モニタリングが必要であると思われる。

Key words: 脳波、amplitude-integrated EEG、急性脳炎・脳症、潜在発作

はじめに

脳波はリアルタイムの脳機能を反映する検査である。したがって、急性脳症の臨床において有用であると予想されるが、その意義は十分に明らかになっていない。急性脳症の診断は、必ずしも容易であるとは限らない。発症後早期から重い意識障害を認めるとは限らず、二相性けいれんと遅発性拡散能低下を伴う急性脳症 (acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion, AESD)¹⁾では発症後早期の意識障害は軽度であることが一般的である。また、熱せん妄と急性脳症との鑑別にも苦慮することが稀でない。頭部MRIは急性脳症の診断に極めて有用であるが、全例で異常を認めるわけではない。このような場面で脳波は診断に有力な方法となり得る。近年、無酸素性脳症や心停止後などの遷延性意識障害における脳波モニタリングの重要性が認識されている²⁻⁴⁾。小児の急性脳症においても、脳波モニタリングを施行すると予想外の変化を認めることがある。Amplitude-integrated EEG(aEEG)は簡易な脳波モニタリングのデバイスとして、日本ではNICUを中心に普及しつつある。欧米では、aEEGの利用が小児や成人へと広がりつつある⁵⁾。我々は、急性脳症の患児に対し、aEEGによる持続脳波モニタリングを積極的に施行してきた。本稿では、小児の急性脳症における脳波・aEEGの有用性について概説する。

急性脳症の早期診断と脳波

我々は、AESDおよび長い熱性けいれんの患児の発症後48時間以内の脳波について、後方視的な検討を行った。各症例の脳波を小児神経専門医7名で判読し、各々が脳波所見の異常を評価した。脳波判読時は症例の年齢のみを明らかにし、最終診断は伏せて判読した。その後、全員で合議し最終的な脳波所見は7名全員のコンセンサスで決定した。その結果、脳波異常としては局在性あるいは全般性徐波化(図1上)・紡錘波の異常(図1中)・半球性低振幅(図1下)を認めた。これらの所見を2群間で比較すると、いずれの所見ともAESDで高率であり、特に紡錘波の異常はAESDで有意に高率であった(表1)。また、何らかの脳波異常を認めた児は、AESDでは67%、長い熱性けいれんでは14%で、有意差を認めた。さらに、脳波記録時に明らかな意識障害を認めない例(AESD5例・長い熱性けいれん7例)に限定して比較しても、紡錘波の異常はAESD3例のみに認められ、2群間で有意差を認めた。これらの結果は、急性期の脳波が急性脳症の早期診断に有用であることを示す。特に、紡錘波の異常は急性脳症の診断の有力な根拠になる可能性があると思われる。

なお、急性脳症を疑った場合に脳波を記録する際には、1) 鎮静を行わないこと、2) 記録中に十分な覚醒刺激を与えること、が極めて重要である。また、判読の際には思い込みを避け、生理的所見からの逸

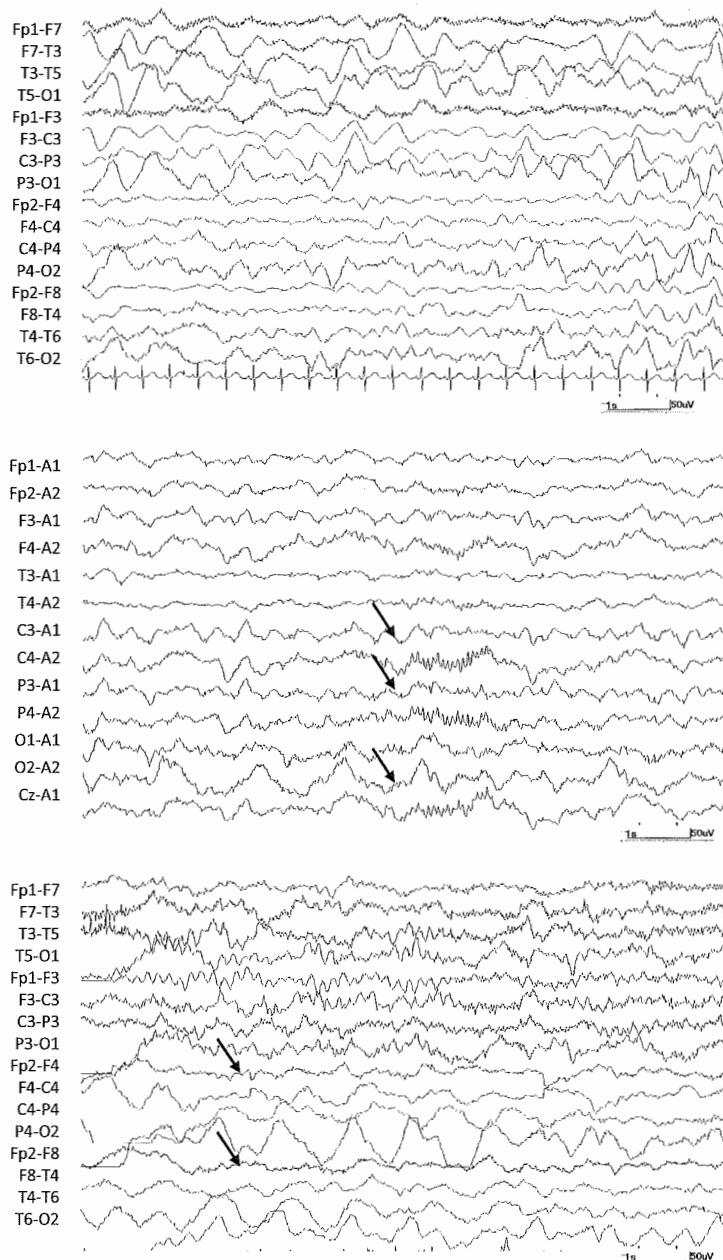


図1 二相性けいれんと遅発性拡散能低下を伴う急性脳症の早期に認めた脳波異常
上. 高振幅徐波化
中. 紡錘波の出現不良(矢印)
下. 半球性低振幅(矢印)

表1 二相性けいれんと遅発性拡散能低下を伴う急性脳症と
長い熱性けいれんとの脳波所見の比較

	AESD 9例	長い熱性けいれん 7例	
覚醒時記録あり	5 (56%)	5 (71%)	N.S.
局在性／全般性徐波化	5 (56%)	1 (14%)	N.S.
紡錘波の異常	6 (67%)	0 (0%)	p < 0.05
半球性低振幅	2 (18%)	0 (0%)	N.S.
何らかの脳波異常	6 (67%)	1 (14%)	p < 0.05

AESD : 二相性けいれんと遅発性拡散能低下を伴う急性脳症

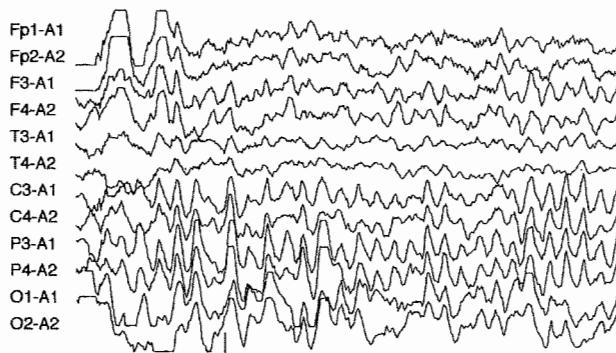
脱の有無を評価する必要がある。

異常言動と脳波

インフルエンザなどの発熱に伴う異常言動は社会的にも注目されており、それを主訴に受診する患児も稀でない。このような場合、急性脳症と熱せん妄との鑑別を迫られるが、症状から鑑別することは容易でない。また、このような児では拡散強調画像で脳梁膨大部に異常信号を認めることがあるが、異常信号を認めた児の全てが最終的に急性脳症と診断されるわけではない^{6, 7)}。我々は、インフルエンザに伴って異常言動を認めた児の脳波を検討し、多くの場合に後頭部優位の局所性徐波化を認めることを報告した(図2)⁸⁾。同様の報告は他施設からもなされており⁹⁾、熱せん妄では非特異的な局在性の徐波化が特徴であると思われる。

図2 インフルエンザに伴って異常言動を認めた児の脳波(文献8)から引用)

後頭部優位の徐波化を認める。



さらに、我々は異常言動and/or意識障害を認めた児の来院後3日以内の脳波を比較し、熱せん妄と急性脳症との相違を検討した。その結果、軽症の脳症に伴う異常言動と熱せん妄との両者で局所性徐波化を一定の割合で認め、脳波所見から両者を鑑別することは困難であると思われた(表2)。一方、全般性徐波化を呈した1例は、脳波記録後急速に深昏睡に陥り後に死亡している。このことから、脳波所見が正常または局所性徐波化までであれば急性脳症であるか否かに関わらず予後は良好であり、予後不良な急性脳症との鑑別にはある程度有用である可能性がある。一方、脳波で全般性徐波化を認めた場合は、その時点で重篤な神経症状を呈していないなくても重症の急性脳症の可能性を考えて治療する必要があろう。

表2 異常言動で受診した児の脳波所見と最終診断

	急性脳症 5例	熱せん妄 44例
異常なし	2 (0)	14 (0)
局所性徐波化	2 (0)	30 (0)
全般性徐波化	1 (1)	0

括弧内は重症例の例数

急性脳症における脳波モニタリング

近年、NICUやICUなどの集中医療の現場で、脳機能モニタリングに注目が集まりつつある。aEEGは脳波の振幅に関する情報を時間軸を圧縮して表示するトレンドグラムである。その詳細については、成書を参照して頂きたい¹⁰⁾。正期産の新生児については、aEEG所見と予後との関係が明らかになっており^{11, 12)}、低体温療法の開始の判断や治療中の脳機能モニタリングとして用いられている。方法論的には新生児以外の小児や成人にも適用できるものであり、日本でも今後はPICUやICUでも利用されることが増える可能性がある。小児の急性脳症に対するaEEGによる脳波モニタリングはまだ十分に知見が集積していないが興味深い所見が得られており、症例を提示して紹介する。

症例1: Acute encephalitis with repetitive, refractory, partial seizures (AERRPS)¹³⁾の8歳女児。発熱の1週間後から、意識減損・口角のけいれんから全身けいれんに至る発作が群発し、急性脳炎・脳症と診断した。デキサメサゾンとともにジアゼパム・ミダゾラム・フェノバルブを投与したが、発作が抑制できなかった。AERRPSと診断し、第6病日からaEEGによるモニタリングを開始した。図3に示すようにaEEGトレースが周期的に上昇と下降とを繰り返してsaw-tooth patternを呈しており、発作が断続的に起きていることが判明した¹⁴⁾。aEEG上では発作回数は1時間に10回以上の頻度であったが、症状から把握された発作はその20%程度であった。この所見は、AERRPSでは発作は断続的に起きており、非けいれん性てんかん重積の状態であることを示唆する。

症例2: AESDの1歳男児。発熱当日に長いけいれんがあり、入院した。翌日には概ね意識が回復し、第4病日に解熱し体幹に紅斑が出現したため突発疹と診断した。第5病日から意識障害が増悪し、けいれんが群発した。同日からaEEGによるモニタリングを開始した。aEEGを開始した時には意識障害の増悪を認めていたが、発作には気づかれていないなかつ

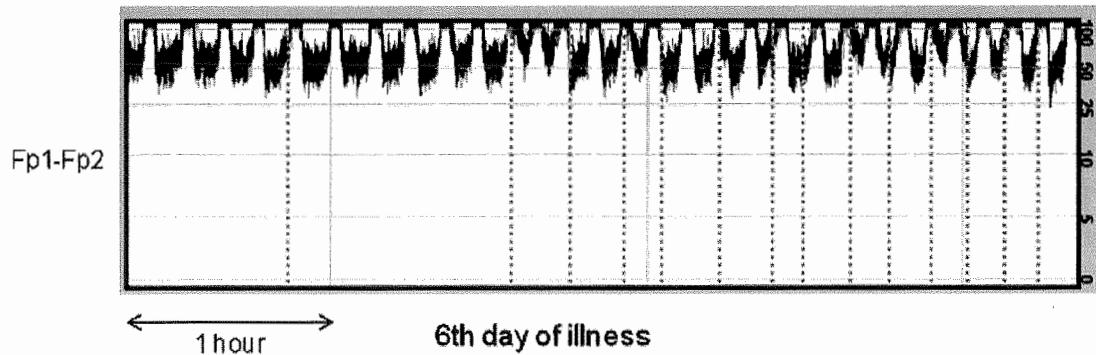


図3 症例1のaEEG所見(文献14)から引用)
aEEGトレースが周期的に上昇と下降とを繰り返し saw-tooth patternを呈している。

た。しかし、aEEGはsaw-tooth patternを呈しており、発作を断続的に繰り返している状態であった(図4)¹⁵⁾。明らかにけいれん発作が出現した後にフェニトインを投与したところ、発作が抑制されるとともに意識状態の改善を認めた(図4)。なお、第5病日の拡散強調画像で皮質下白質に異常高信号域を認め、AESDと診断した。この症例では、症例1と同様に意識状態の増悪は、非けいれん性てんかん重積によるものである可能性を示唆する。また、抗てんかん薬の効果も明瞭に把握することができた。症例1および2の経験から、我々は急性脳症の急性期やAESDの意識増悪の時期には脳波モニタリングは必須であると考えている。

症例3. 自己免疫性脳炎の5歳男児。2か月前から「片付けができない」・「行動が粗暴になる」等の性格変化を認めていた。1週間前から意識減損・一点凝視を伴う発作が出現し、急速に頻度が増えてきた。受診当日には発作が1時間に1回程度になり、発作抑制のため入院した。この時点では意識障害は軽度であり、てんかんか急性脳炎・脳症かの鑑別に苦慮した。aEEGによる持続脳波モニタリングを施行しつつ、フェノバルビタール静注で発作抑制を試みたところ、臨床症状を伴う発作は速やかに抑制されたが、断続的に潜在発作を認めた(図5)。この所見はてんかんとしては非典型的であり、急性脳炎・脳症の可能性が高いと判断しステロイドパルス療法とガンマ

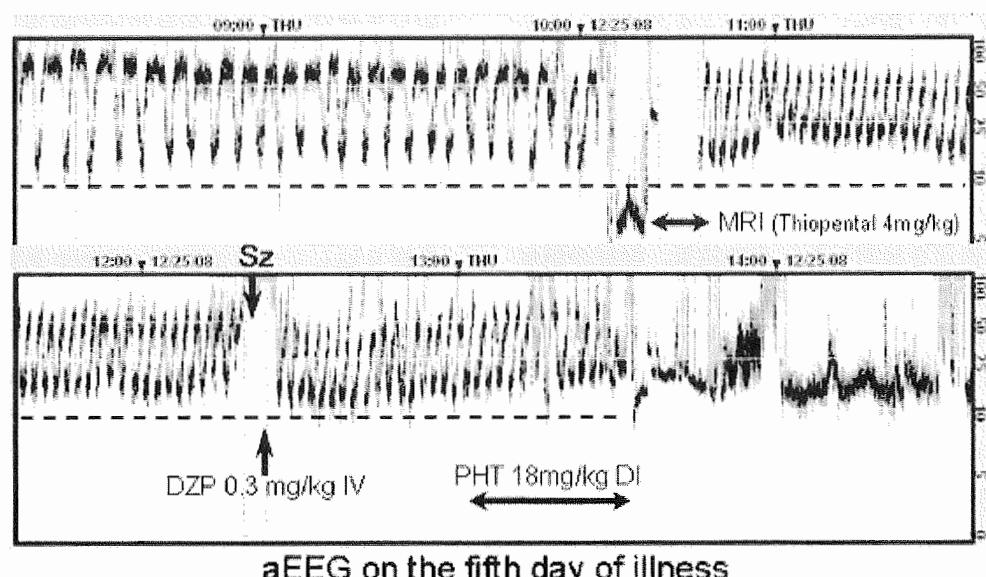


図4 症例2のaEEG所見(文献15)から引用)
上. aEEGトレースが周期的に上昇と下降とを繰り返し saw-tooth patternを呈している。
この時点では臨床症状を伴う発作を認めていない。
下. Szで示す時点でけいれんを認めた。ジアゼパム静注ではaEEGトレースに変化はなく、
フェニトイン投与後にsaw-tooth patternが消失し、意識状態の改善を認めた。

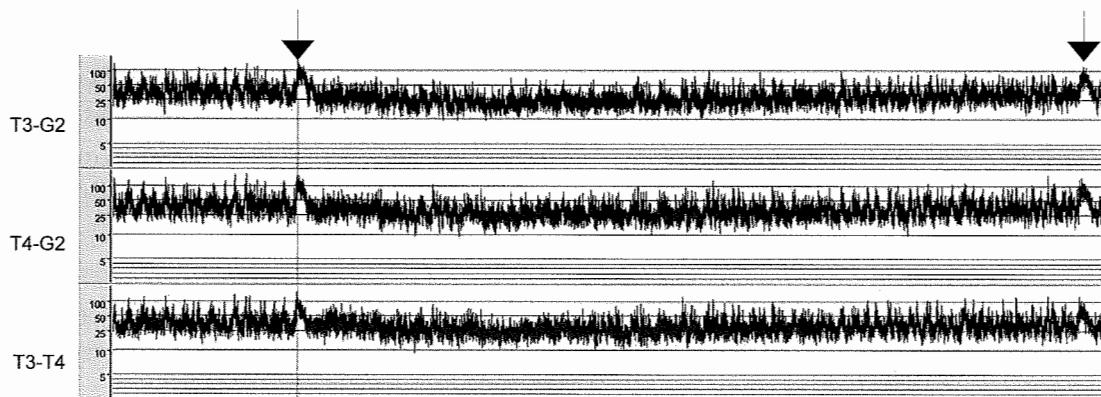


図5 症例3のaEEG所見
一過性のaEEGトレース上昇があり、潜在発作の存在を示す(矢印)。

グロブリン大量療法とを施行した。後に患児は免疫組織化学染色の結果から、自己免疫性脳炎と診断された。この症例では潜在発作を確認したことが診断に結びついており、基礎疾患に関わらずaEEGによる持続モニタリングは頻発する発作の治療モニタリングに必須であると思われた。今後は、自己免疫性脳炎の急性期における持続脳波モニタリングの知見を集めることが望まれる。

症例4. AESDの5歳男児。発熱当日に長い有熱時けいれんを認め、他院に入院した。ジアゼパムとフェノバルビタールの投与にてけいれんは抑制されたが、意識が回復せず第3病日に転院した。ステロイドパルス療法および大量ガンマグロブリン療法を施行したが、明らかな改善は認めなかった。第5病日の拡散強調画像で皮質下白質に異常信号を認め、

AESDと診断するとともに低体温療法を開始した。体温34℃で48時間維持した後に、40時間かけて復温した。復温後に、開眼して流涎し両上肢を屈曲して強直した後に両下肢のペダル漕ぎ様の交互運動を伴う発作様のイベントが群発した。発作時脳波から開眼して流涎し両上肢を屈曲して強直する部分は皮質起源の発作であり、両下肢のペダル漕ぎ様の交互運動は不随意運動と判断した。これらの一連のイベントは、睡眠導入薬で睡眠させると消失した。この経過はaEEGを見ると一目瞭然である(図6)。急性脳炎・脳症に限らず、低体温療法などの脳保護療法を施行中あるいはその前後において、aEEGなどによって持続脳波モニタリングを施行することの重要性が確認された。

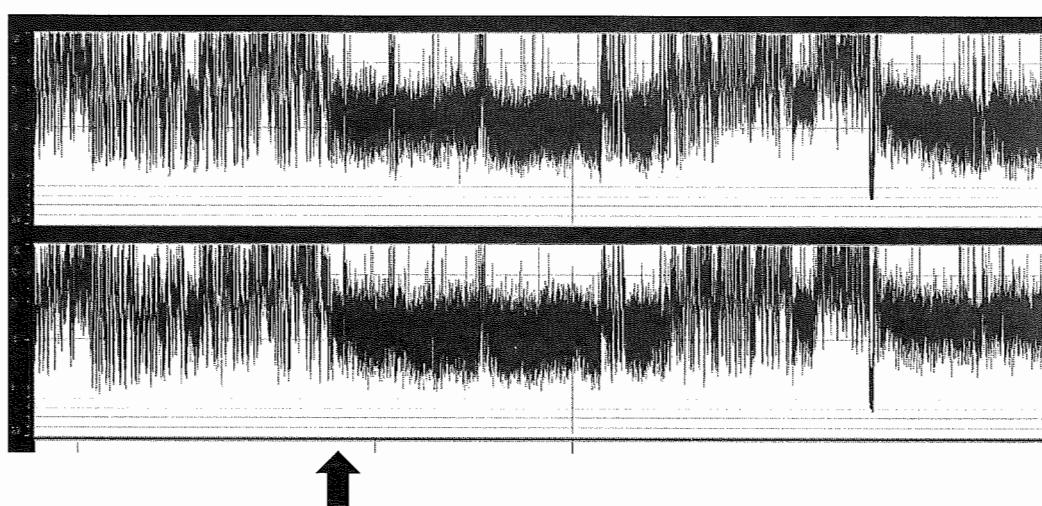


図5 症例4のaEEG所見
矢印の時点でトリクロリールを使用し入眠させた。その前はsaw-tooth patternを呈しているが、睡眠中はsaw-tooth patternが消失している

おわりに

脳波やaEEGを急性脳炎・脳症の患児のベッドサイドで記録することは、脳機能のリアルタイムの情報を得ることができる数少ない手段の一つである。通常の脳波計は操作が簡単でなく判読にもある程度の熟練が必要であるが、aEEGは機械の操作も判読も決して難解ではない。今後、脳波やaEEGが急性脳炎・脳症の診療の現場に浸透し、十分に活用されることを期待したい。

謝辞

貴重な症例の情報を提供して頂きました、安城更生病院小児科 久保田哲夫先生に深謝します。

文献

- 1) Takanashi J, Oba H, Barkovich AJ, et al: Diffusion MRI abnormalities after prolonged febrile seizures with encephalopathy. *Neurology*. 66: 1304-1309, 2006.
- 2) Abend NS, Topjian A, Ichord R, et al: Electroencephalographic monitoring during hypothermia after pediatric cardiac arrest. *Neurology* 72: 1931-1940, 2009.
- 3) Claassen J, Mayer SA, Kowalski RG, et al: Detection of electrographic seizures with continuous EEG monitoring in critically ill patients. *Neurology* 62: 1743-1748, 2004.
- 4) Williams K, Jarrar R, Buchhalter J: Continuous video-EEG monitoring in pediatric intensive care units. *Epilepsia* 52: 1130-1136, 2011.
- 5) Rundgren M, Westhall E, Cronberg T, et al: Continuous amplitude-integrated electroencephalogram predicts outcome in hypothermia-treated cardiac arrest patients. *Crit Care Med* 38: 1838-1844, 2010.
- 6) Okumura A, Hayakawa F, Kato T, et al. Callosal lesions and delirious behavior during febrile illness. *Brain Dev* 31: 158-162, 2009.
- 7) Takanashi J, Tada H, Kuroki H, et al: Delirious behavior in influenza is associated with a reversible splenial lesion. *Brain Dev* 31: 423-426, 2009.
- 8) Okumura A, Nakano T, Fukumoto Y, et al: Delirious behavior in children with influenza: its clinical features and EEG findings. *Brain Dev* 27: 271-274, 2005.
- 9) 柏木充、田辺卓也、七里元督、ほか：高熱に際しせん妄が出現した症例の鑑別診断、脳と発達 35: 310-315, 2003.
- 10) 奥村彰久、側島久典、早川昌弘 編：aEEG ピギナーズマニュアル、診断と治療社、東京、2010.
- 11) Hellström-Westas L, Rosén I: Continuous brain-function monitoring: state of the art in clinical practice. *Semin Fetal Neonatal Med* 11: 503-511, 2006.
- 12) Hallberg B, Grossmann K, Bartocci M, et al. The prognostic value of early aEEG in asphyxiated infants undergoing systemic hypothermia treatment. *Acta Paediatr* 99: 531-536, 2010.
- 13) Sakuma H, Awaya Y, Shiomi M, et al: Acute encephalitis with refractory, repetitive partial seizures (AERRPS): a peculiar form of childhood encephalitis. *Acta Neurol Scand* 121: 251-256, 2010.
- 14) Okumura A, Komatsu M, Abe S, et al: Amplitude-integrated electroencephalography in patients with acute encephalopathy with refractory, repetitive partial seizures. *Brain Dev* 33: 77-82, 2011.
- 15) Komatsu M, Okumura A, Matsui K, et al: Clustered subclinical seizures in a patient with acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Brain Dev* 32: 472-476, 2010.

Conventional and amplitude-integrated EEG in children with acute encephalitis/encephalopathy

Akihisa Okumura

The author described the findings of conventional and amplitude-integrated EEG (aEEG) in children with acute encephalitis/encephalopathy. Conventional EEG is useful for early diagnosis of acute encephalitis/encephalopathy. In general, children with acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD) had mild or subtle reduction of consciousness during the first few days after onset. We compared EEG findings during 48 hours after the onset between children with AESD and those with a prolonged febrile seizure. EEG abnormalities were significantly more frequent in those with AESD. This suggests that EEG during the acute period will be useful to early identification of children with AESD. The differentiation between children with delirious behavior alone and those complicated with acute encephalopathy is not always easy. Conventional EEG shows non-specific focal slowing in children with delirious behavior alone as well as those complicated with acute encephalopathy and is not useful for differential diagnosis. However, outcome of these patients are favorable, when EEG does not demonstrate generalized slowing of background activities. EEG will be useful to identify those with severe forms of acute encephalitis/encephalopathy. Continuous brain functional monitoring with conventional EEG or aEEG is attracting an attention of physicians and intensivists. We have performed continuous aEEG monitoring in several children with acute encephalitis/encephalopathy. Unexpected occurrence of subclinical seizures is not uncommon in those children. In children with AESD or acute encephalitis with repetitive, refractory, partial seizures, marked clusters of subclinical seizures were characteristic. Non-convulsive status epilepticus will be closely related to decreased level of consciousness in those children. We found repetitive subclinical seizures in a child with autoimmune acute encephalitis proven by immunohistochemistry. This may be a clue to diagnosis of autoimmune encephalitis. We hope that, in the near future, EEG and aEEG will be more widely utilized to children with acute encephalitis/encephalopathy and result in the improved outcome of such children.

〈シンポジウムII〉 小児の急性脳症

小児急性脳症の臨床と画像

高梨潤一

【要旨】 染を契機とする急性脳症は東アジアの乳幼児に好発し、インフルエンザウイルス、ヒトヘルペスウイルス6型 (HHV-6)、ロタウイルスの頻度が高い。急性脳症はインフルエンザ脳症などと起因病原体により呼称されることが多いが、単一の疾患ではなく複数の臨床・画像症候群の集合体である。本稿では日本の乳幼児に好発する2つの急性脳症、すなわち二相性けいれんと遅発性拡散能低下を呈する急性脳症 (AESD)・けいれん重積型急性脳症、可逆性脳梁膨大部病変を有する脳炎・脳症 (MERS) についてその臨床像、画像所見について概説する。

Key words: 急性脳症、インフルエンザ脳症、二相性けいれんと遅発性拡散能低下を呈する急性脳症、けいれん重積型急性脳症、可逆性脳梁膨大部病変を有する脳炎・脳症。

1. 急性脳症の概要、病因、病態

急性脳症は病理学的には非炎症性浮腫を特徴とし、臨床的には意識障害、けいれん、異常言動・行動など脳機能障害を呈する症候群である^{1, 2)}。感染を契機とする急性脳症は東アジアの乳幼児に好発し、インフルエンザウイルス、ヒトヘルペスウイルス6型 (HHV-6)、ロタウイルスの頻度が高い。急性脳症はインフルエンザ脳症、HHV-6 脳症などと起因病原体により呼称されることが多い。しかし、各々単一の疾患ではなく複数の臨床・画像症候群の集合体である。症候群として急性壊死性脳症 (acute necrotizing encephalopathy of childhood [ANE])³⁾、出血性ショック脳症症候群 (hemorrhagic shock and encephalopathy syndrome [HSES])、二相性けいれんと遅発性拡散能低下を呈する急性脳症 (二相性脳症、acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion [AESD])^{4, 5)}・けいれん重積型急性脳症、Reye症候群、Reye様症候群、可逆性脳梁膨大部病変を有する脳炎・脳症 (clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion [MERS])^{4, 6)} などに分類される。いずれにも当てはまらない症例も存在する^{1, 2)}。急性脳症は病原ウイルスが中枢神経を直接傷害するわけで

はなく、宿主側の異常反応によって発症すると考えられている。主たる病態によりサイトカインの嵐による急性脳症 (サイトカイン型)、興奮毒性による急性脳症 (興奮毒性型) に分けられる²⁾。前者はANE、HSES、Reye様症候群が、後者にはAESDが分類される。

2. 急性脳症疫学

重症・難治性急性脳症研究班 (水口班) の全国実態調査⁷⁾ (2007年4月から2010年3月、総数983名) によると、症候群分類 (図1-A) ではAESDが29%と最多でありMERS (16%)、ANE (4%) が続く。症先行感染症 (図1-B) としてはインフルエンザが最多 (27%) であり、HHV-6 (17%)、ロタウイルス (4%) がそれに続く。インフルエンザ脳症の1年あたり症例数は110-190人と推定される。

3. 急性脳症診断の進め方

急性脳症に対する治療を速やかに行うために、病初期の診断が重要である。インフルエンザ脳症診断指針¹⁾に基づいて記載する。他の病原体関連の急性脳症においても適応可能と考えられる。病初期には感染 (発熱) に伴った意識障害、けいれん、異常言

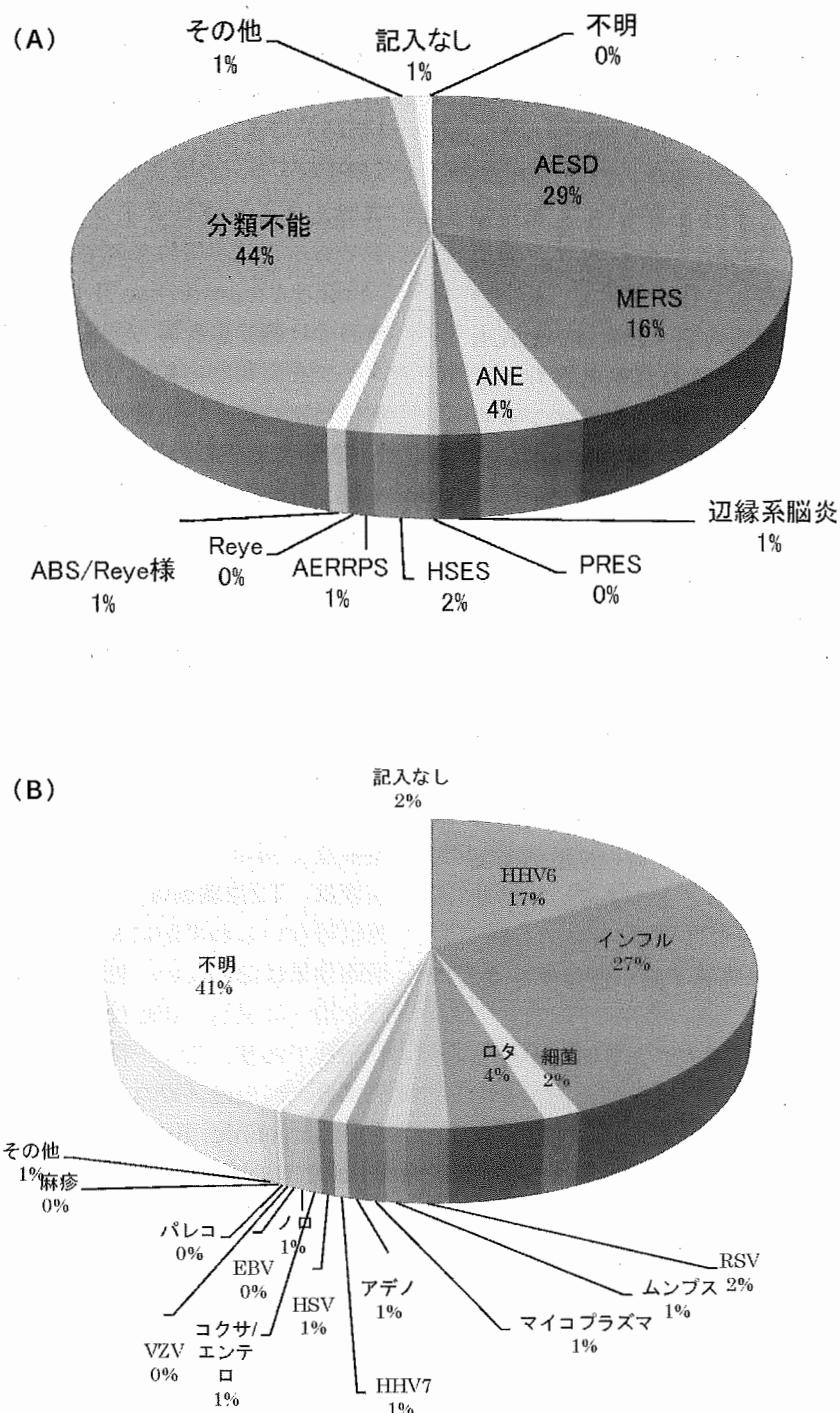


図1 2007年4月から2010年3月までの急性脳症全国実態調査結果(文献7)
急性脳症全体(983名)の病型分類(A)、病原分類(B)

動・行動から本症を疑う。なかでも意識障害が、最も重要な急性期の臨床指標である。けいれん後の意識障害、抗けいれん剤による鎮静状態を除外し、JCSで20以上(GCS 10-11以下)の意識障害を持って確定診断とする。意識障害が経過中、増悪する場合、JCS10以上(GCS13以下)の意識障害が24時間以上

遷延する場合も確定例とする。けいれん後の意識障害、抗けいれん剤の影響を除外することは、臨床の現場では時に困難であり、数時間の経過観察が必要な場合も少なくない。AESDでは、初回けいれん(多くはけいれん重積)後の意識障害がないかごく軽度なことがあるため、注意が必要である。

4. 症候群各論 (AESD)

AESDは、二相性の臨床経過と遅発性の画像所見を特徴とする。発熱24時間以内に多くはけいれん重積で発症し、意識障害はいったん改善傾向となるも4-6病日にはけいれん（多くは部分発作の群発）が再発し意識障害も増悪する^{4, 5)}。予後は正常ないし軽度精神発達遅滞（発語の低下、自発性の低下）から、重度の精神運動障害、四肢麻痺まで様々である。初回けいれんが短く、その後の意識清明、遅発けいれんも軽症で後遺症を残さないAESD軽症例も存在する⁴⁾。発症に関与する病原体としてインフルエンザウイルス、HHV-6, 7の頻度が高い。髄液細胞数、タンパクは正常である。

AESDは経時に特徴的な画像所見を呈する^{4, 5)}。1, 2病日に施行されたMRIは拡散強調画像を含めて正常（図2-A, B）である。3-9病日で拡散強調画像にて皮質下白質高信号（bright tree appearance [BTA]）、T2強調画像、FLAIR画像にてU fiberに沿った高信号（図2-C, D）を認める。病変は前頭部優位（前頭葉、前頭頭頂葉、図2）であり、中心前・後回は傷害されにくい。9-25病日には拡散強調画像の皮質下白質の高信号は消失し、皮質の拡散強調画像での高信号（図2-E）を認めることがある。同時期にT2強調画像、FLAIR画像では皮質下白質に高信号（図2-F）を認める。2週以降脳萎縮が残存する（図2-G, H）。

AESDの報告は、ほぼ全例日本人であり明らかな人種差が存在する。従って何らかの遺伝的素因が発症に関与していると考えられる。興奮毒性の遺伝的素因としてイオンチャンネル遺伝子、神經伝達物質受

容体の変異・多型が想定される。Dravet症候群などの原因であるSCN1A遺伝子変異が急性脳症症例（ANE, AESDなど）でも報告されている。しかしAESD 61症例の検討では、SCN1A遺伝子変異は1例のみであった⁸⁾。アデノシン受容体A2A遺伝子（ADORA2A）の解析から、興奮性神經伝達物質を増加させるハプロタイプがAESD発症のリスク因子であることが報告されている⁹⁾。また、Carnitine palmitoyl transferase II (CPT II) の遺伝子多型の検討では脳症患者群（ANE, AESD）でC-I-Mハプロタイプを高頻度に有し、発熱時のエネルギー需要増加に対応しにくい可能性が指摘されている¹⁰⁾。しかしANEとAESDの間には有意差を認めていない。今後、遺伝的素因の解明によりAESDを含めた急性脳症の病態解明、治療法確立に益することが期待される。

5. 症候群各論 (MERS)

MERSは臨床的には発熱後1週以内に、異常言動・行動（54%）、意識障害（35%）、けいれん（33%）などで発症し、多くは神經症状発症後10日以内に後遺症なく回復する^{4, 6)}。MERS急性期の脳梁膨大部病変は、T2強調画像では高信号、T1強調画像では等信号ないしわずかに低信号を呈し、造影剤による増強効果は認めない。拡散強調画像では著明な高信号を均一に呈し、ADCは低下する。これらの変化は一過性であり、ごく一部の例を除き一週間以内に消失する。病変のメカニズムとして髓鞘・軸索の浮腫（intramyelinic, axonal edema）、軸索が密な脳梁膨大部では間質性浮腫であっても拡散低下に働く可

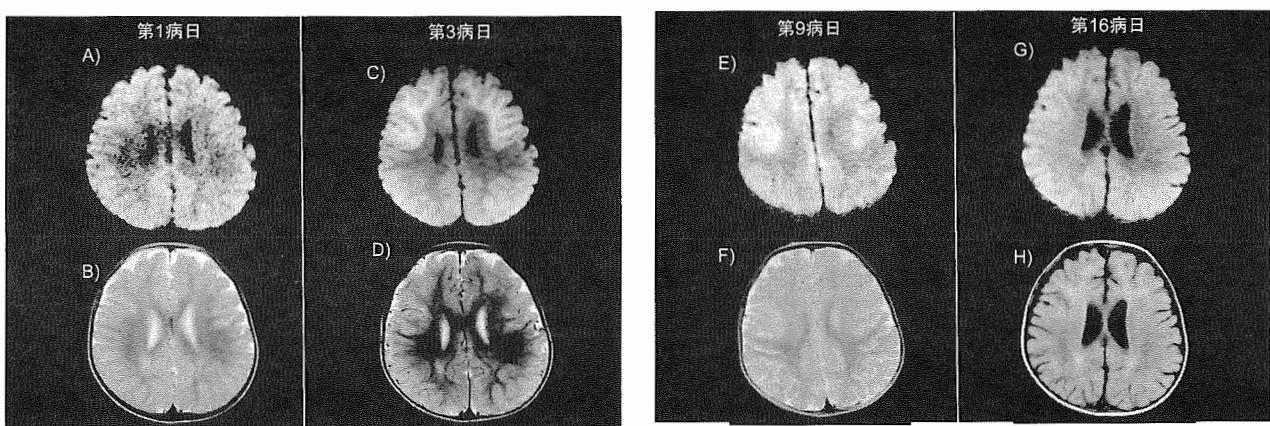


図2 11か月女児、HHV-6初感染（突発性発疹）に伴うAESD

発熱後2時間で、1時間持続するけいれん重積を発症。入院当日（1病日）のMRIでは異常は認めなかった（A, B）。3病日には前頭部皮質下白質の拡散強調画像高信号（BTA）（C）を認めた。解熱後発疹が出現した5病日に、短いけいれんを2回認め、意識障害の増悪を認めた。9病日の拡散強調画像では皮質主体に高信号（E）を認めた。16病日、拡散強調画像の高信号は消失（G）し、FLAIR画像にて前頭部皮質下白質主体の高信号、萎縮を認めた（H）。

能性、炎症性細胞浸潤が想定される。脳梁のみ(膨大部のみ、ないし膨大部を含む脳梁)に病変を有する症例を1群(図3-A)とし、脳梁(少なくとも膨大部を含む)に加えて対称性白質(主に中心溝周囲皮質下白質)に病変を有する症例を2群(図3-B)として分類すると、1群と2群は臨床・画像的に共通する特徴を有することが判明した¹¹⁾。すなわち臨床的には軽症でありかつ後遺症を残さず回復し、画像的には急性期均一な拡散能の低下を示し経時に消失する。従って1群のみならず2群も含めてMERSスペクトラムと捉えるべきと考えられる。

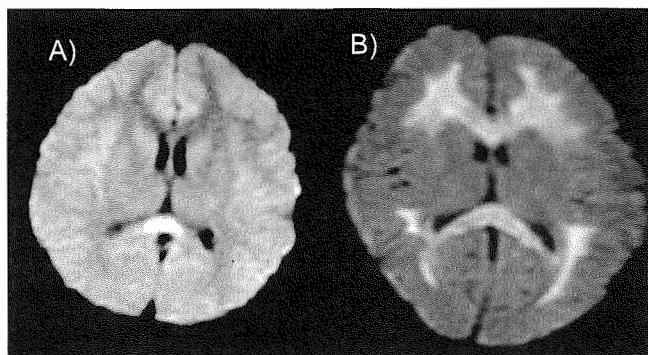


図3 A. MERS 1群, B. MERS 2群の典型画像(拡散強調画像)、いずれも経時に病変は消失する。

抗けいれん薬投与・中断に伴って、ないし高山病(high altitude cerebral edema)で認めうる脳梁膨大部病変とは信号強度、経時的变化は同一と思われる。これら2者の病態として脳浮腫が想定されている。これら2者で見られる脳梁膨大部病変は円形ないし橢円形であるのに対し、MERSのそれは脳梁のより外側まで進展していることが多い。MERS 30症例において他のタイプの脳症、熱性けいれん症例に比してナトリウムが有意に低値であることが判明した¹²⁾。低ナトリウム血症に伴う脳浮腫が抗けいれん薬投与・中断、高山病同様に、MERSの発症に関与している可能性を示唆している。最近MERSを発症した姉妹例¹³⁾、MERSを3回反復した症例¹⁴⁾が報告されている。これらの症例からはMERSの発症に何らかの遺伝素因の関与が示唆され、今後の検討が望まれる。

ロタウイルス小脳炎の病初期に脳梁膨大部病変を認めやすいことが報告されている¹⁵⁾。ロタウイルス小脳炎は小脳性無言と引きつづく構音障害、小脳失調症状などが臨床的な特徴であり、小脳症状は残存しうる。画像上は、急性期に一過性脳梁膨大部病変、亜急性期にやはり一過性の小脳白質・深部核病変、その後小脳皮質・虫部に病変を認め、半数以上に小

脳委縮を残す。急性期には脳梁膨大部の拡散能低下のみを認めうる(3/11例)。したがってロタ胃腸炎における脳梁膨大部病変は必ずしも予後良好を意味せず注意が必要である。

最後に、急性脳症は日本の乳幼児に好発する難治性疾患である。病態解明・治療法確立のため遺伝素因の解明が急務である。遺伝素因研究(東京大学大学院・発達医科学 HP; <http://www.development.m.u-tokyo.ac.jp>、慢性期の血液検体で可)にご協力ください。

文献

- 1) 厚生労働省インフルエンザ脳症研究班. インフルエンザ脳症ガイドライン[改訂版]. 2009
- 2) Mizuguchi M, Yamanouchi H, Ichiyama T, et al: Acute encephalopathy associated with influenza and other viral infections. *Acta Neurol Scand* 115: 45-56, 2007
- 3) Mizuguchi M: Acute necrotizing encephalopathy of childhood: a novel form of acute encephalopathy prevalent in Japan and Taiwan. *Brain Dev* 19: 81-92, 1997
- 4) Takanashi J: Two newly proposed encephalitis/encephalopathy syndromes. *Brain Dev* 31: 521-528, 2009
- 5) Takanashi J, Oba H, Barkovich AJ, et al: Diffusion MRI abnormalities after prolonged febrile seizures with encephalopathy. *Neurology* 66: 1304-1309, 2006.
- 6) Tada H, Takanashi J, Barkovich AJ, et al. Clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion. *Neurology* 63: 1854-1858, 2004.
- 7) Hoshino A, Saitoh M, Oka A, et al: Epidemiology of acute encephalopathy in Japan, with emphasis on the association of viruses and syndrome. *Brain Dev* 34: 337-343, 2012.
- 8) Saitoh M, Shono M, Hoshino H, et al: Mutations of the SCN1A gene in acute encephalopathy. *Epilepsia* 53: 558-564, 2012.
- 9) Shinohara M, Saitoh M, Nishizawa D,

- etal: *ADORA2A* polymorphism predisposes children to encephalopathy with febrile status epilepticus. *Neurology* 80: 1571-1576, 2013.
- 10) Shinohara M, Saitoh M, Takanashi J, et al: Carnitine palmitoyl transferase II polymorphism is associated with multiple syndromes of acute encephalopathy with various infectious diseases. *Brain Dev* 33: 512-517, 2011.
 - 11) Takanashi J, Barkovich AJ, Shiihara T, et al: Widening spectrum of a reversible splenial lesion with transiently reduced diffusion. *AJNR Am J Neuroradiol* 27: 846-8, 2006.
 - 12) Takanashi J, Tada H, Maeda M, et al: Encephalopathy with a reversible splenial lesion is associated with hyponatremia. *Brain Dev*. 31: 217-20, 2009.
 - 13) Imamura T, Takanashi J, Yasugi J, et al: Sisters with clinically mild encephalopathy with a reversible splenial lesion (MERS)-like features; familial MERS? *J Neurol Sci* 290: 153-6, 2010.
 - 14) Kouga T, Iai M, Yamashita S, et al: A case of 3 episodes of reversible splenial lesions. *Neuropediatrics* in press.
 - 15) Takanashi J, Miyamoto T, Ando N, et al: Clinical and radiological features of rotavirus cerebellitis. *AJNR Am J Neuroradiol* 31: 1591-1595, 2010.

Clinical and radiological features of acute encephalopathy in children

Jun-ichi Takanashi

[Abstract] Acute infectious encephalopathy, including influenza associated encephalopathy, is more frequently observed in Japanese infants. MRI is accepted as a more sensitive technique than CT for the diagnosis of encephalopathy. In this article, I reviewed clinical and radiological features in infectious encephalopathy syndromes, especially two newly proposed ones, that is, acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD) and clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion (MERS).

AESD is reported only in East Asian infants, characterized by a febrile seizure (usually >30 minutes) as the initial neurological symptom on day 1, followed by secondary seizures at day 4 to 6; affected children display variable levels of neurological sequelae. MRI shows no acute abnormality during the first two days; reduced diffusion appears in the frontal or fronto-parietal subcortical white matter during days 3 to 9, then disappears between days 9 and 25. Excitotoxic injury with delayed neuronal death is hypothesized as a possible mechanism based on MR spectroscopic findings.

MERS is characterized by a reversible lesion with homogenously reduced diffusion in the corpus callosum (at least involving the splenium), sometimes associated with symmetrical white matter lesions. The most common neurological symptom is delirious behavior, followed by consciousness disturbance, and seizures, all of which completely recover within a month. The reason for the transiently decreased diffusion within the lesions is unknown; possibilities that have been postulated include intramyelinic edema, interstitial edema in tightly packed fibers, and a transient inflammatory infiltrate.

Key words : acute encephalopathy, influenza encephalopathy, acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD), clinically mild encephalitis/encephalopathy with a reversible splenial lesion (MERS).

〈シンポジウムII〉 小児の急性脳症

病態を踏まえた治療戦略

市山高志

【要旨】急性脳症の病態は単一ではなく、いくつかの病型が存在し、分類が試みられている。個々の患者の病態を解析し把握することは治療戦略を構築するために重要である。本稿では比較的頻度が多くかつ重症である「高サイトカイン血症型＝サイトカインストーム型」と「けいれん重積型＝興奮毒性型」について取り上げ、病態と治療戦略について概説した。症例により複数の病型を有することもあるので、個々の症例の病態を見極める必要がある。

Key words: 高サイトカイン血症、けいれん重積、自己抗体

はじめに

急性脳症の病態は単一でなく、複数の病型が存在する¹⁾。本稿では、高頻度かつ重症である「高サイトカイン血症型＝サイトカインストーム型」と「けいれん重積型＝興奮毒性型」の二病型を中心に筆者らのサイトカインプロファイルの成績からみた病態解析とそれに基づいた治療戦略について概説する^{2), 3)}。

1. 「高サイトカイン血症型＝サイトカインストーム型」

十数年前に「インフルエンザ脳症」が認知されつつあった時期において中心となった病型であるが、インフルエンザウイルス以外の病原体でも起こりうる。画像上は急性壊死性脳症(図1)⁴⁾やびまん性脳腫脹を呈し、血液生化学検査では逸脱酵素の上昇や出血傾向を伴う。サイトカイン解析では、髄液中に比し、血清中で炎症性サイトカインおよび抗炎症性サイトカインの異常高値が認められる⁴⁾⁻⁶⁾。Interleukin-6 (IL-6) は本病型で最も鋭敏に上昇する炎症性サイトカインであり、死亡例での血清中濃度は数万 pg/ml に達する。一方、炎症性サイトカインの産生を抑制する抗炎症性サイトカイン IL-10 も高度に上昇し、高サイトカイン血症に対する生体防御反応と考えられる。従って高 IL-10 血症は高サイトカイン血症の存在を示す所見である。また本病型

患児の末梢血のTリンパ球や単球内の転写因子NF- κ Bが活性化する⁶⁾。NF- κ Bは炎症に関わる様々なメディエーターの産生に関与する細胞内転写因子である。さらに最近筆者らは本病型では単球/マクロファージの活性化の指標である soluble CD163 が血中で上昇することを明らかにした⁷⁾。本病型では末梢血単核球が炎症性サイトカインを産生することが示唆された。

臨床現場においては、すみやかにサイトカイン濃度を測定できない。本病型は高サイトカイン血症により全身性炎症反応症候群(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)を呈していることが多い。感染症あるいは感染症が強く疑われる際に発症したSIRSは「敗血症」と診断されるので、本病型脳症は敗血症の状態を呈していることが多い。小児におけるSIRSの診断基準を表1、2に示す^{8,9)}。急性脳症であり、SIRSを伴い、血液検査と画像検査で前述のような異所見がみられれば、本病型が強く疑われる。

本病型はサイトカインを過剰産生しやすい遺伝要因を有する患児が、感染症に伴い高サイトカイン血症を来たす。大量の炎症性サイトカインにより血管内皮細胞傷害が起こり脳浮腫、多臓器不全などを呈すると同時にさらなる炎症とサイトカイン産生が助長され病状が悪化すると考える(図2)²⁾。本病型には、抗サイトカイン療法としてステロイドパルス療法、免疫グロブリン大量療法が推奨されるが、その作用は同じではない^{10,11)}。前者は免疫担当細胞全般、

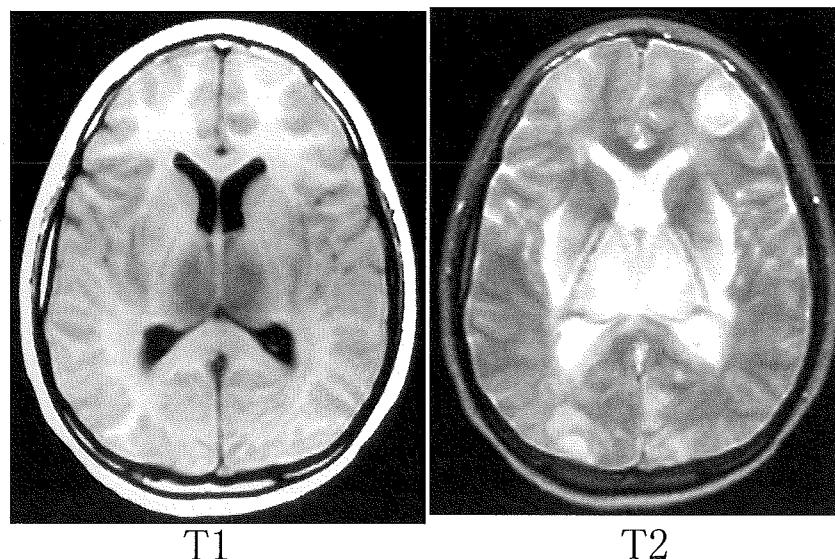


図1 急性壊死性脳症のMRI所見 文献4)より引用
両側の視床、内包、前障や多発性大脳皮質病変を認める。

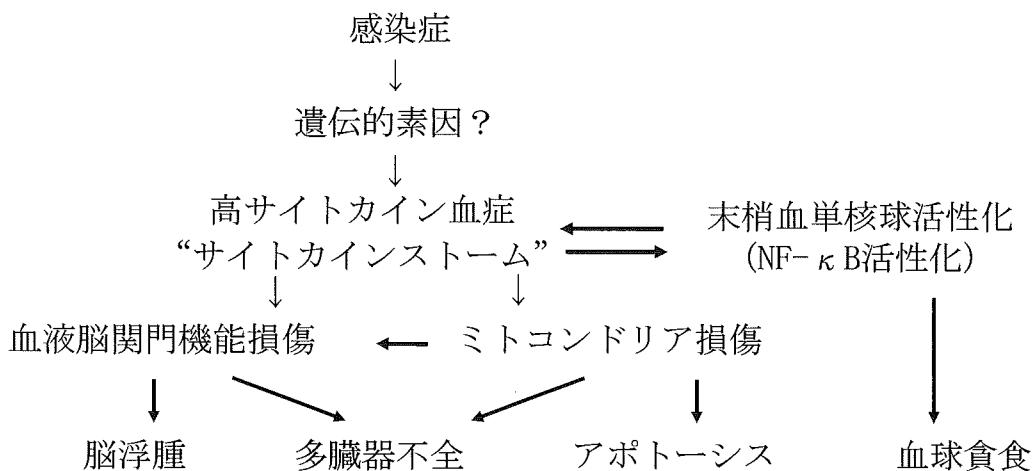


図2 「高サイトカイン血症型」急性脳症の病態 文献2)より引用

特にTリンパ球活性化の病態に有効である。一方、後者は主に単球/マクロファージ活性化の病態に効果を示す。フローサイトメトリーにおいてCD3陽性Tリンパ球、CD4陽性Tリンパ球、CD8陽性Tリンパ球ではCD69やHLA-DR陽性細胞などが、一方CD14陽性単球/マクロファージではCD16陽性細胞などが多く活性化状態が示唆される。個々の患者においてどの細胞が活性化しているかを把握することは、治療薬選択の際の参考になると考える。

2. 「けいれん重積型＝興奮毒性型」

近年疾患概念が確立しつつある病型であり、多くは有熱性けいれん重積で発症し、亜急性に局所の大脳機能障害が明らかになる経過をとる(図3)²⁾。「けいれん重積型急性脳症」、「acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion (AESD)」「二相性臨床経過を伴う急性脳症」などの名称が提唱されている。筆者らは本病型の血清および髄液サイトカイン解析を行い、臨床上早期鑑別が困難な後遺症のない熱性けいれん重積群と比較した^{12,13)}。髄液中IL-6値が熱性けいれん重積

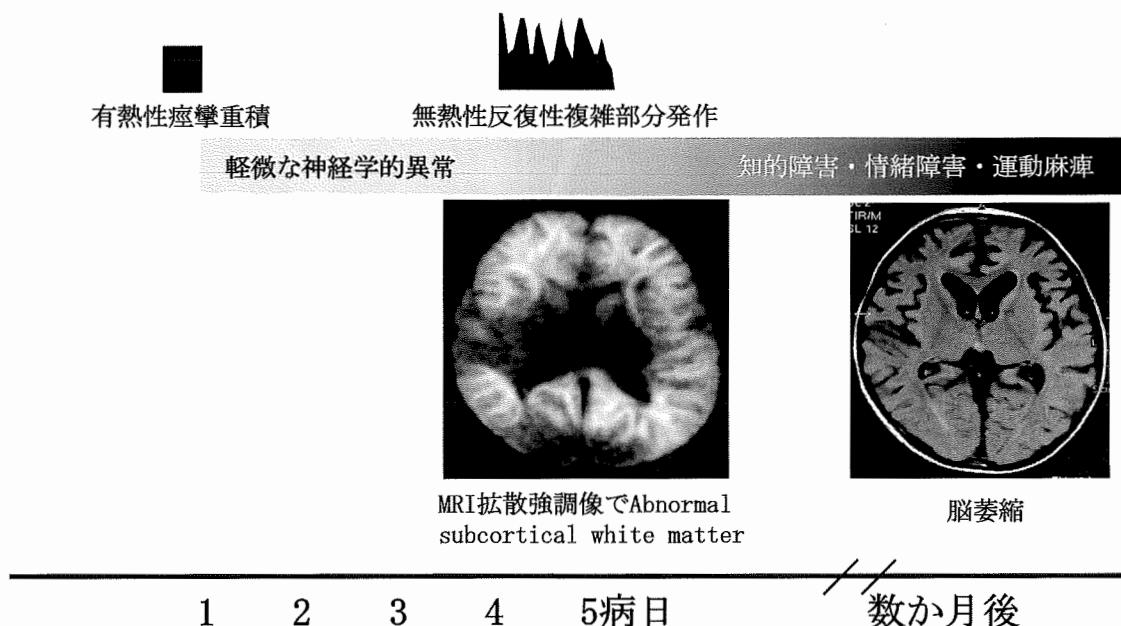


図3 「けいれん重積型」急性脳症の臨床経過 文献2)より引用

表1 小児SIRSの診断基準

下記4項目のうち2項目以上の存在。ただし1)か4)の1項目は満たすもの。

- 1) 深部体温^a >38.5°Cか<36°C
- 2) 頻脈か徐脈^b
- 3) 多呼吸^bか人工呼吸管理状態
- 4) 白血球数增多か減少^bもしくは>10%幼若白血球

a. 直腸、膀胱、口腔、中心カテーテル温
b. 表2参照

文献8) より引用 (一部改変)

表2 小児SIRSにおける年齢別バイタルサインおよび白血球数異常の基準

Age Group	Heart Rate, Beats/Min		Respiratory Rate, Breaths/Min	Leukocyte Count, Leukocytes × 10 ³ /mm ³
	Tachycardia	Bradycardia		
0 days to 1 wk	>180	<100	>50	>34
1 wk to 1 mo	>180	<100	>40	>19.5 or <5
1 mo to 1 yr	>180	<90	>34	>17.5 or <5
2-5 yrs	>140	NA	>22	>15.5 or <6
6-12 yrs	>130	NA	>18	>13.5 or <4.5
13 to <18 yrs	>110	NA	>14	>11 or <4.5

NA, not applicable

文献8) より引用 (一部改変)

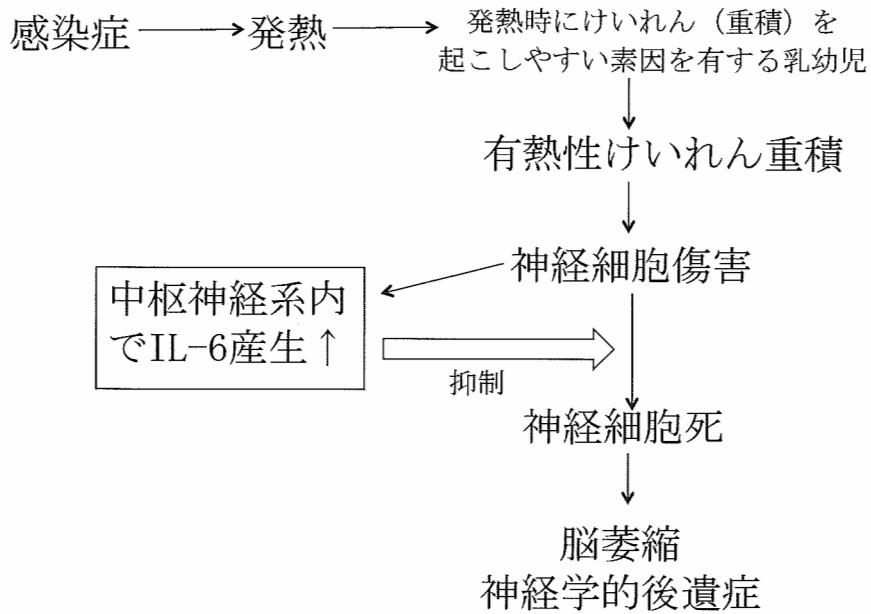


図4. 「けいれん重積型」急性脳症の病態

図4 「けいれん重積型」急性脳症の病態 文献3) より引用

群に比し、本病型で有意に高値だった。本病型における髄液サイトカインプロファイルでは、多くの症例で抗炎症メディエーターであるIL-10、soluble TNF receptor 1 (sTNFR1) の上昇を伴わないIL-6上昇がみられた。通常生体では炎症反応が生じれば、同時に過剰な炎症反応を抑制する抗炎症反応も生じる。従って本病型における髄液IL-6上昇は「炎症反応」とは考えにくい。けいれん重積は神経細胞興奮による毒性のため神経細胞自身の傷害をもたらす。IL-6は炎症のメディエーター以外に虚血や興奮毒性による神経細胞傷害を保護する作用も有する^{14,15)}。本病型における髄液IL-6上昇はけいれん重積による神経細胞傷害に対する保護反応と考えられる。神経細胞傷害の程度が熱性けいれん重積より強い本病型において、中枢神経系内でより多くIL-6が産生されると考える。本病型の病態を図4に示す³⁾。

本病型ではけいれんによる神経細胞損傷に対する対策が必要と考える。subclinical seizureを含めたけいれんのコントロールと脳低温療法などの脳保護的治療が有効と考えられる。積極的に脳低温療法を導入し、良い成績が得られている報告も散見されるが、導入基準や過剰治療の懸念など解決すべき問題点もある。本病型におけるステロイドパルス療法の有効性は明らかではない。

3. その他

自己抗体が関与する急性脳症も存在する¹⁶⁾。グルタミン酸受容体抗体を有する非ヘルペス性急性脳炎・脳症に代表される病型である。精神症状、痙攣、健忘など辺縁系症状で発症し、血液および髄液でグルタミン酸受容体抗体を認める。画像上大脳辺縁系に病変を伴う症例は少ない。特に成人領域では、グルタミン酸受容体抗体以外の自己抗体も複数報告され、臨床像などの研究が進められている。自己抗体が関与する病型のため、治療は免疫抑制療法が主体と考える。臨床現場ではステロイドパルス療法が多く用いられている。発症後治療開始が早いほど予後が良好と報告されている。できるだけ早期に診断し、治療を始めることが肝要である。

おわりに

代表的な急性脳症における病態と治療戦略について概説した。できるだけ速やかに個々の患児の病態と重症度を把握し、治療戦略を構築することが重要と考える。

文献

- 1) Mizuguchi M, Yamanouchi H, Ichiyama T, et al: Acute encephalopathy associated with influenza and other viral infections. *Acta Neurol Scand* 115: 45-56, 2007
- 2) 市山高志：サイトカイン解析からみた急性脳症の病態. 小児科診療 74: 921-924, 2011
- 3) 市山高志：脳炎・脳症とサイトカイン. 小児内科 45: 183-186, 2013
- 4) Ichiyama T, Endo S, Kaneko M, et al: Serum cytokine concentrations of influenza-associated acute necrotizing encephalopathy. *Pediatr Int* 45: 734-736, 2003.
- 5) Ichiyama T, Isumi H, Ozawa H, et al: Cerebrospinal fluid and serum levels of cytokines and soluble tumor necrosis factor receptor in influenza virus-associated encephalopathy. *Scand J Infect Dis* 35: 59-61, 2003.
- 6) Ichiyama T, Morishima T, Isumi H, et al: Analysis of cytokine levels and NF- κ B activation in peripheral blood mononuclear cells in influenza virus-associated encephalopathy. *Cytokine* 27: 31-37, 2004.
- 7) Hasegawa S, Matsushige T, Inoue H, et al: Serum soluble CD163 levels in patients with influenza-associated encephalopathy. *Brain Dev* in press
- 8) Goldstein B, Giroir B, Randolph A: International Consensus Conference on Pediatric Sepsis. International pediatric sepsis consensus conference: definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics. *Pediatr Crit Care Med* 6: 2-8, 2005.
- 9) 市山高志. サイトカインストーム. 小児科臨床 63: 2111-2114, 2010.
- 10) Ichiyama T, Ueno Y, Hasegawa M, et al: Intravenous immunoglobulin inhibits NF- κ B activation and affects Fc γ receptor expression in monocytes/macrophages. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol* 369: 428-433, 2004.
- 11) Makata H, Ichiyama T, Uchi R, et al: Anti-inflammatory effect of intravenous immunoglobulin in comparison with dexamethasone in vitro: implication for treatment of Kawasaki disease. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 373: 325-332, 2006.
- 12) Ichiyama T, Suenaga N, Kajimoto M, et al: Serum and CSF levels of cytokines in acute encephalopathy following prolonged febrile seizures. *Brain Dev* 30: 47-52, 2008.
- 13) 市山高志. サイトカインからみたけいれん重積型急性脳症の病態. 脳と発達 40: 141-144, 2008.
- 14) Loddick SA, Turnbull AV, Rothwell NJ: Cerebral interleukin-6 is neuroprotective during permanent focal cerebral ischemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 18: 176-179, 1998
- 15) Ali C, Nicole O, Docagne F, et al: Ischemia-induced interleukin-6 as a potential endogenous neuroprotective cytokine against NMDA receptor-mediated excitotoxicity in the brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 20: 956-966, 2000
- 16) 高橋幸利、伊藤智城、臼井大介ほか:自己免疫が関わる脳炎・脳症. 小児科 51: 1737-1748, 2010.

Therapeutic strategy taking the pathogenesis into consideration

Takashi Ichiyama

[Abstract] The pathogenesis of acute encephalopathy in childhood is not a single type, but several types exist. In this chapter, "Cytokine storm type" and "Excitotoxic type" as the main two types of acute encephalopathy are focused. There are some patients with the plural types of acute encephalopathy. We should exactly evaluate the individual pathogenesis of acute encephalopathy, and construct the therapeutic strategy.

Key words: Hypercytokinemia, status convulsive, autoantibody

同種造血細胞移植後 HHV-6脳炎

緒方正男

【要旨】同種造血細胞移植後human herpesvirus (HHV)-6脳炎はHHV-6再活性化に伴い、移植後3週目前後に好発する。記憶障害での発症が特徴的で、頭部MRIでは大脳辺縁系に異常信号を認める。近年国内より4-12%という高い発症頻度が連続して報告されている。臍帯血移植は強い危険因子であり、移植に伴う免疫反応も脳炎の発症を誘発している可能性がある。発症例に対してはganciclovirやfoscarnetによる治療を行う。予後は不良で、過半数は死亡あるいは後遺症を残す。HHV-6脳炎は未だ克服されていない重要な移植後合併症であり、病態の解明と予防法の確立に力を注ぐ必要がある。

はじめに

同種造血細胞移植療法(allogeneic hematopoietic cell transplantation; allo-HCT)は難治性血液疾患の治癒を目指す治療法として近年急速に施行件数が増加している。allo-HCTに伴う特異な合併症として、human herpesvirus 6 (HHV-6)脳炎が最近注目されている。発症例の予後は不良で、救命例においても記憶障害などの後遺症を残すことが多い。HHV-6脳炎は稀な合併症と考えられていたが、最近高頻度の発症が国内の移植施設より連続して報告されている。本稿ではallo-HCT後HHV-6脳炎について、主に臨床的な側面より概説を行う。

HHV-6について

HHV-6はヒトヘルペスウイルスの中で、*Betaherpesvirinae* 亜科に属し、2つの異なる species (HHV-6AとHV-6B) から成る。その初感染は突発性発疹の発症と関連し、生後数年のうちにほぼ全てのヒトに感染する。他のヒトヘルペスウイルスと同様にHHV-6は初感染の後に潜伏感染あるいは慢性感染状態を保ち、免疫抑制状態などで再活性化を来す。HHV-6の複製が最も効率よく行われるのはCD4陽性T細胞とされ、その他唾液腺、脳、肝臓、扁桃、唾液腺、血管内皮細胞に感染性を有する。潜伏先は唾液腺、脳、単球、骨髄前駆細胞が報告されている。現在まで表1に示すような多彩な疾患とHHV-6と

の関連が報告されている。しかしここに挙げられた疾患のほとんどでHHV-6の発病への役割や意義については十分に解明されておらず、また一部では関連性について否定的な報告もみられている。

稀にHHV-6のゲノムがヒト染色体に組み込まれていることがあり、Chromosomally integrated (CI) HHV-6と呼ばれる¹⁾。これはヒトヘルペスウイルスの中でHHV-6AとBのみに認められるユニークな特性であり、親から子にウイルスはgerm line中に引き継がれる。CIHHV-6では血中HHV-6 DNAは常に高値となるが、これはHHV-6のreplicationを示すものではない。CIHHV-6の病的意義は十分には明らかになっていない。日本人での頻度は0.21%と報告されている¹⁾。

Allo-HCT後のHHV-6再活性化

Allo-HCTでは免疫細胞を含む造血がドナー由来に置き換わり、免疫システムの再構築が行われる。その過程でgraft versus host disease (GVHD)と呼ばれる同種免疫関連の合併症を予防するために、シクロスボリンやタクロリムスなどによる強力な免疫抑制療法を行う。GVHDが発症した場合にはさらにステロイド治療が追加される。このように移植レシピエントはallo-HCTを通じ高度に免疫が抑制され、極めて日和見感染症を来しやすい。ヘルペスウイルスに関し、herpes simplex virusやvaricella zoster virusの再活性化に対しacyclovir予防投与

表 1. HHV-6 と関連が報告されている疾患

感染	疾患
初感染	突発性発疹 脳炎/脳症 (突発疹関連脳症) 肝炎 血球貪食症候群 胃腸炎
慢性感染/再活性化	神経疾患 血液疾患 循環器疾患 皮膚科疾患 移植領域
その他	多発性硬化症 内側側頭葉てんかん 健常人の髄膜脳炎 (初感染?) 特発性血小板減少性紫斑病 ホジキンリンパ腫 心筋炎 薬剤性過敏症症候群 脳炎/脳症 脊髄炎 せん妄 皮疹 間質性肺炎 骨髓抑制 生着不全 肝炎 GVHD サイトメガロウイルス感染症 消化管疾患 HIV 感染者での AIDS への進行の促進

GVHD, graft versus host disease; HIV, human immunodeficiency virus; AIDS, acquired immunodeficiency syndrome

が必須であり、cytomegalovirus (CMV) の再活性化は抗原血症法などにより厳重に監視される。HHV-6も allo-HCT による免疫抑制で再活性化を来たし、その一部がHHV-6脳炎を来すものと考えられる。

Allo-HCT 後の HHV-6 再活性化を評価する方法としては、血中 HHV-6 DNA の定量的 PCR が推奨され²⁾、報告の多くは血漿検体で評価が行われている³⁻⁶⁾。HHV-6 再活性化の頻度は 30-50% で、移植後の 2-6 週後、生着の 10 日以内に集中する³⁻⁶⁾。図 1 に我々の施設での allo-HCT レシピエントにおける、HHV-6 DNA 陽性化の累積頻度と陽性例の動態を示す(文献 7 より転載)。約半数のレシピエントに再活性化が観察され、再活性化は移植後 3-4 週目に集中し、HHV-6 DNA は短期間で大きく変動していた。Allo-HCT 後の再活性化および脳炎の原因となる HHV-6 の殆ど (>95%) は HHV-6B である³⁾。HHV-6 の再活性化と関連する因子として、HLA ミスマッチ^{4,5)}、ステロイドの使用^{3,4)}、非血縁者間移植⁴⁾、臍帯血移植^{5,8)}が報告されている。

HHV-6 再活性化の多くは無症状であるが、脳炎以外にも表 1 に示すような様々な移植後合併症と

HHV-6 再活性化との関連が報告されている。しかし脳炎以外の HHV-6 関連合併症における HHV-6 の役割については不明な点も多い。

Allo-HCT 後 HHV-6 脳炎の特徴

移植後 HHV-6 脳炎は発症時期、症状、MRI 所見など極めて特徴的である。すなわち移植後 3 週目前後に好発し、健忘・近時記憶障害から痙攣への進行が典型的であり、頭部 MRI では海馬を中心とした大脳辺縁系に異常信号を認める。

国内の HHV-6 脳炎症例 23 例の調査結果⁹⁾では、HHV-6 脳炎は移植より中央値 22 日で発症し、症状は健忘/近時記憶障害 (74%)、痙攣 (70%)、意識障害 (91%) で、頭部 MRI では海馬や側頭葉の異常信号が 78% に認められた。HHV-6 脳炎として症例報告された 48 例の解析¹⁰⁾では、発症時期は移植後より中央値 24 日で、症候は近時記憶障害や意識障害、混迷、痙攣などで特徴づけられ、頭部 MRI で高頻度に側頭葉内側部に異常が認められている。

近時記憶障害は HHV-6 脳炎の特徴的な初発症状である^{4,9,-11)}。患者自身が「記憶が飛ぶ」と不安を訴

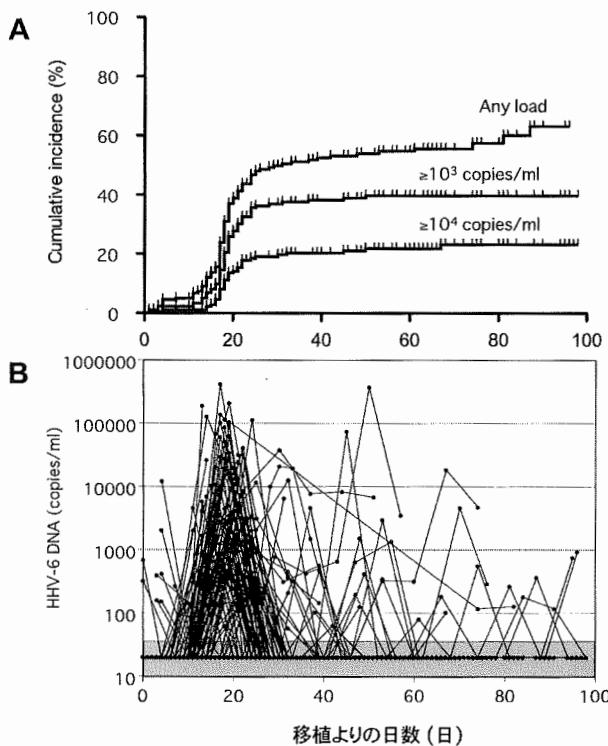


図1 同種造血細胞移植後の血漿HHV-6 DNA陽性化の頻度と動態。対象は大分大学病院及び大分県立病院において同種造血細胞移植を行った178例。A. Kaplan-Meier法による血漿HHV-6 DNA陽性化の累積頻度。B. 血漿HHV-6 DNA陽性化症例におけるその動態(文献7より転載)。

えたり、「自分はどうしてここにいるのでしょうか」、「私は移植を受けたのでしょうか」などと言われることもある。初期には意識は清明で、遠い過去に関する質問には答え得るが、日々の出来事を覚えられない¹¹⁾。続いて無反応、不穏、意識障害、痙攣などを来す^{4,9,10)}。症状の進行は半日の期間で記憶障害から昏睡まで進行する場合もある一方で、記憶障害のみがゆっくりと進行する場合もある。また突然の意識障害や痙攣、脱力感などで発症する例もある。移植患者における生着に近い時期に発症する近時記憶障害はHHV-6脳炎の可能性を考慮すべきである。

図2に大分大学病院で経験された移植後HHV-6脳炎のMRI所見を示す^{4,12)}。いずれの症例においても海馬を中心とした大脳辺縁系に特異的な左右対称性の異常シグナルを認め、いわゆる辺縁系脳炎の所見を呈している。異常所見のより早期の同定には拡散強調画像が有用であり、次いでfluid attenuated inversion recovery、T2の順で病変の指摘が可能となる¹³⁾。なお、頭部CTには診断的価値はほとんどない。

HHV-6脳炎の確立した診断基準は示されていないが、中枢神経症状が存在し、髄液中HHV-6 DNA

が陽性、中枢神経症状を来たす他の原因が除外される場合にはHHV-6脳炎と診断可能である。HHV-6脳炎の特徴について表2にまとめた。

発症頻度と危険因子

HHV-6脳炎の発症について、精度の高い前向き疫学試験は存在しない。後方視的検討であるが、近年国内より論文^{4-6,14,15)}や学会で4.0-12%という高頻度の発症が連続して報告されている。明らかな発症の危険因子は臍帯血移植である。国内の単施設における228例の後方視的検討¹⁴⁾ではHHV-6脳炎の発症率は臍帯血移植で15.8%，骨髓、末梢血幹細胞移植で2.8%と報告され、海外での単施設1344例の後方視的検討¹⁶⁾では臍帯血移植で9.9%，成人ドナーよりの移植で0.7%であったされている。過去の報告のmeta-analysis(症例数2760例)¹⁷⁾では臍帯血移植で8.3%，臍帯血移植以外で0.5%と報告されている。さらにMoriら¹⁴⁾は二回目あるいはそれ以上の移植を臍帯血で行った21例中6例(28.6%)でHHV-6脳炎/脊髄炎を來したと報告している。臍帯血移植では輸注T細胞が他の移植に比べて少なく、T細胞が未熟で、さらに成人ドナーよりの移植片中には存在するHHV-6特異リンパ球が臍帯血には存在しない。これらの条件がHHV-6脳炎の発症と関連すると考えられる。

生着症候群(骨髄生着時期の発熱、皮疹、体重増加、capillary leak syndrome)、preengraftment immune reaction(PIR；臍帯血移植においてday 9付近の骨髄生着前に発症する発熱、浮腫、低酸素血症)、GVHDなど移植特有の免疫反応とHHV-6脳炎発症との関連も指摘されている。HHV-6脳炎を來した症例において、Vuら¹⁸⁾は5例中4例で≥grade III GVHDを來していたと報告し、Ogataら⁶⁾は8例中6例でGVHDあるいは生着症候群が先行していたとしており、Moriら¹⁴⁾は13例(脊髄炎含む)全例で発症前にPIRを來していたと報告している。

現在私たちは移植後HHV-6脳炎の発症率、危険因子について、信頼性の高い疫学結果を得るために週2回の血漿HHV-6 DNAモニタリングを併用した多施設共同前向き試験を行っている。

HHV-6脳炎の病態

HHV-6脳炎の発症機序は不明である。病理学的検討や発症と関連する因子の検討がHHV-6脳炎発症機序の解明に繋がることが期待される。

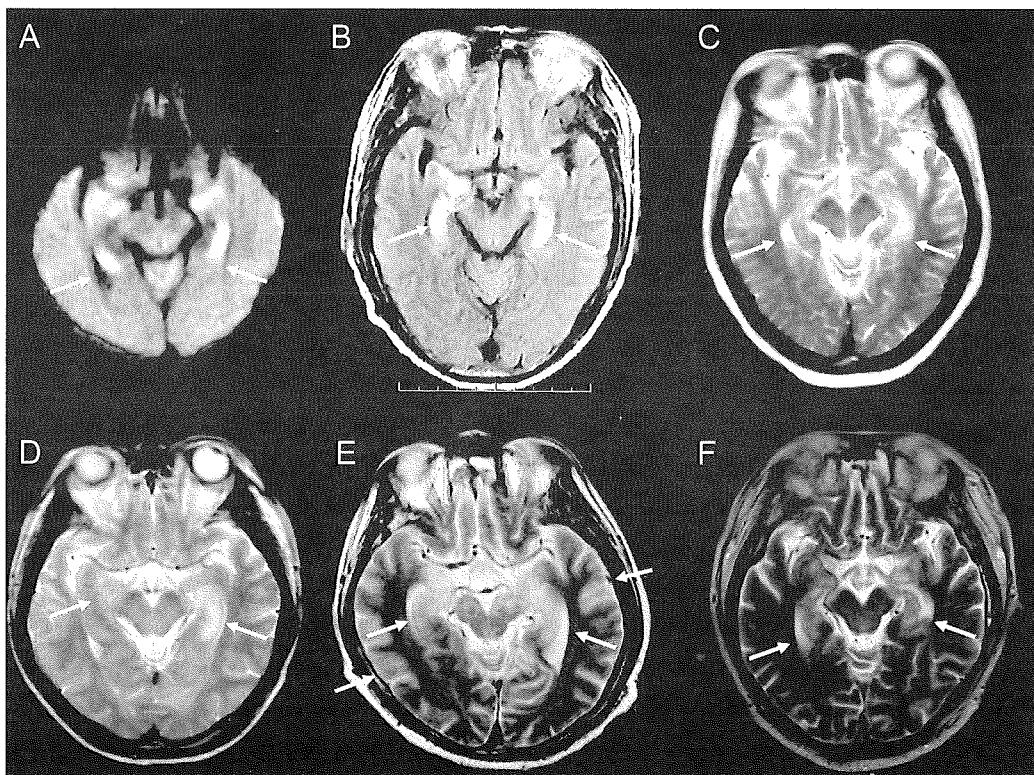


図2 大分大学医学部附属病院においてHHV-6脳炎を発症した症例における頭部MRI所見。A. 43歳、男性。記憶障害での発症より6日後のDiffusion imaging。B. 53歳、男性。記憶障害と痙攣を発症した当日におけるT2強調 fluid attenuated inversion recovery imaging。C. 54歳、女性。発症より20日後のT2強調画像。D. 34歳、男性。記憶障害発症から10日後のT2強調画像。E. 43歳、男性。意識障害で発症した6日後のT2強調画像。F. 45歳、男性。記憶障害での発症より7日後のT2強調画像。(A-Dは文献4、Eは文献12より改変して転載)

表2 同種造血細胞移植後 HHV-6脳炎の特徴

	所見
好発時期	生着より10日間 臍帯血移植では生着前発症も多い
症状	近時記憶障害、意識障害、痙攣
髄液	HHV-6 DNA陽性
脳波	髄液細胞增多はしばしば認めない 側頭葉てんかん、前頭側頭葉てんかん
頭部MRI	内側側頭葉（大脳辺縁系）の高信号 多くは両側性
随伴症状	SIADH
発症の危険因子	臍帯血移植 HLA不一致移植 生着時のステロイド使用 PIR, ES, GVHDの先行 二回目以上の移植

SIADH, Syndrome of inappropriate diuretic hormone secretion; PIR, pre-engraftment immune reaction; ES, engraftment syndrome; GVHD, graft versus host disease.

MRI画像所見より、移植後HHV-6脳炎では海馬を中心とする大脳辺縁系の障害が特徴的であることが示される。剖検例の病理学的検討の報告は多くないが³、脳組織の浮腫、炎症細胞集積、壊死、myelinやneuronの減少^{11,19)}、反応性astrocytosis^{11,19)}、反応性microglia¹¹⁾が報告されている。PCRや免疫組織学的検討により、HHV-6が大脳辺縁系、特に海馬のastrocyteに親和性が高いことが示されている^{11,20,21)}。このようなHHV-6のtropismは、記憶障害、行動異常から意識障害、痙攣へと進行するHHV-6脳炎の症状に合致する。

HHV-6脳炎発症例の臨床的検討では、中枢神経症状の発症は血漿HHV-6がピークに達した時期に一致し(図3、文献6より引用)、またそのウイルス量はHHV-6陽性となるも中枢神経症状を発症しなかった症例より高値を示す。^{4,6)}これらの観察結果は高

い意見もある¹⁹⁾。

発症例に対する治療

HHV-6脳炎発症例に対し、多くの学会やグループより同様の治療選択が推奨されており^{2,23-25)}、第一選択はfoscarnet(PFA)またはganciclovir(GCV)、第二選択はcidofovirとされている。HHV-6の薬剤感受性は同じ*Betaherpesvirinae*亜科に属するCMVと同様であり、acyclovirの効果は乏しい²⁶⁾。

Allo-HCT後HHV-6脳炎発症例の予後は不良である。少しでも早期に、適切な抗ウイルス剤を、十分量投与することが予後の改善に繋がると考えられる。極論すれば、生着に近い時期に進行性の記憶障害がみられた場合には、髄液HHV-6DNAの結果報告による確定を待たずして治療を開始してよいと考えられる。

GCVの主な副作用は骨髄抑制でPFAでは腎障害であり、投与開始時の患者の状態(造血能、腎障害)に応じて選択する。in vitro活性がGCVで劣っている可能性²⁶⁾や、CMV感染症に対するGCV投与中にHHV-6脳炎を来し、PFA変更後に改善した例も報告されており、PFAの使用を優先させたほうがよいかかもしれない。PFAは減量した投与では充分な効果は期待出来ない²⁷⁾。可能な限りPFA 180 mg/kg/dayで開始すべきである。PFA投与中には腎障害を軽減するために水分補給を行い、尿量を確保する。腎機能、電解質異常には充分に注意する。腎機能障害を有する患者では添付文書に従った減量を行う。

補助療法として、痙攣発作にはジアゼパム、フェノバルビタール、フェニトインの投与を行い、痙攣が続く場合には呼吸管理下でミタゾラム、ペントバルビタールの持続点滴を行う。単純ヘルペス脳炎で有効性が示されている副腎皮質ステロイドのHHV-6脳炎に対する有効性は不明である。またSIADHを合併することがしばしばであり、注意を要する。HHV-6脳炎を来した例では脳炎に引き続いて、GVHDの悪化、敗血症や肺炎などの感染症、骨髄不全、臓器障害など様々な合併症の発症がみられ、死亡に至る例も少なくない^{9,10,14)}。一部はHHV-6による合併症あるいはHHV-6によるimmunomodulation作用が関連しているかもしれない。予防、治療に努める。

表3に予後についての報告^{9,10,13,15,16,28)}をまとめた(文献29より引用改変)。HHV-6脳炎と診断された症例のほとんどはPFAまたはGCVの投与を受けている。にも関わらず後遺症を伴わない生存は一

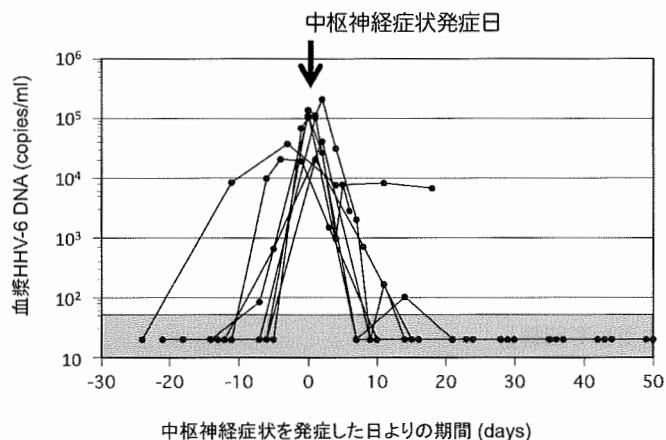


図3 血漿HHV-6 DNAのピークに一致して中枢神経症状を来た8例における血漿HHV-6 DNAの動態。中枢神経症状発症日をday 0として血漿HHV-6 DNAの動態を示している。(文献6より改変して転載)

レベルの再活性化がHHV-6脳炎発症の必要条件であることを示唆する。HHV-6が感染したastrocyteはグルタミンの取り込みの調整不全を来すことが報告されており²²⁾、この機序が痙攣の発症と関連しているかもしれない。一方HHV-6脳炎はMRIで病変部位が極めて左右対称的であることが多く、単純な局所感染ではない可能性もある。Allo-HCT後HHV-6脳炎発症例において発症の約1週間前に血漿interleukin 6(IL-6)が一過性に急上昇していることが報告されている⁶⁾。IL-6自体によるニューロンや血管内皮の障害、Blood Brain Barrierの透過性の亢進などの関与も考えられる⁶⁾。HHV-6による辺縁系脳炎は傍腫瘍性辺縁系脳炎とMRI所見や臨床症状が類似しており、自己免疫の機序の関与を疑う

表3 HHV-6脳炎発症例の予後

文献	研究タイプ	N	HHV-6 脳炎に対する GCV, VGCV, または PFA による治療	転帰				詳細不明
				生存、後遺症 無し	生存、後遺症あり	脳炎以外の原因によ る死亡	脳炎による 死亡	
Fujimaki et al. ²⁸	多施設、後方視	11	11 (100%)	0	0	7 (64%)	2 (18%)	2 (18%)
Zerr et al. ¹⁰	過去の報告のレビュー	—	44 ^{a)}	38 of 48 (79%)	19 (43%)	8 (18%)	6 (14%)	11 (25%)
Seeley et al. ¹⁹	単施設、後方視	9	9 (100%)	1 (11%)	3 (33%)	5 (56%)	0	0
Muta et al. ⁹	国内サーベイランス	23 ^{b)}	23 (100%)	11 (48%)	10 (43%)	0	2 (9%)	0
Mori et al. ¹³	単施設、後方視	13	12 (92%)	0	3 (23%)	9 (69%)	1 (8%)	0
Sakai et al. ¹⁵	多施設、後方視	8	8 (100%)	1 (12%)	4 (50%)	3 (38%)	0	0
Hill et al. ¹⁶	単施設、後方視	19	18 (95%)	4 (22%)	9 (50%)	0	5 (28%)	0

表は文献 [29]より引用、一部改変

GCV, ganciclovir; VGCV, valganciclovir; PFA, foscarnet.

^{a)} 予後に関する情報は 48 例中 44 例で得られた

^{b)} 初期の予後について示す。7人は様々な理由により脳炎発症後に死亡している。

部でしかない。記憶障害などの後遺症は生涯回復せず、quality of life を大きく損なう¹⁵⁾。

発症予防

European Conference on Infections in Leukemia (ECIL) の勧告では HHV-6 脳炎予防を目的とした抗ウイルス剤の予防投与は推奨されていない²⁾。これは HHV-6 脳炎の頻度が低く、また抗ウイルス剤の毒性を考慮してとされる²⁾。しかし HHV-6 脳炎発症した場合予後は不良であり、その頻度も以前考えられていたより稀でない可能性が高い。どのような症例にどのような予防法を行うことは適切であるのか、HHV-6 脳炎発症予防法の確立にむけて効果と副作用を臨床試験で確認する必要がある。

移植後の CMV の再活性化は致死的な CMV 肺炎と関連するが、CMV 再活性化をモニタリングし、発症前の再活性化に対して GCV を投与する、いわゆる pre-emptive therapy の確立によりほぼ克服された。HHV-6 脳炎に関しても発症予防を目的とした pre-emptive therapy の試みは二つ報告されている^{12,30)}。しかし、週 1 回¹²⁾あるいは週 3 回³⁰⁾ 血漿 HHV-6 DNA のモニタリングを行っても血漿 HHV-6 DNA の急上昇とそのピークに一致する HHV-6 脳炎発症を許したと報告されている。血漿 HHV-6 DNA のごく短期間での大きな変動は pre-emptive therapy を困難なものとしている。

予防投与においては抗ウイルス剤の毒性が問題となる。GCV は骨髄抑制の副作用のため、骨髄生着時期に好発する HHV-6 脳炎の予防には使用し難い。

PFA は投与量依存性の腎機能障害が問題となる。最近 PFA 50 mg/kg という少量を HHV-6 の再活性化が集中する 10 日間のみ投与を行う試験が報告された²⁷⁾。Grade 3 以上の副作用を認めず、安全であったが HHV-6 再活性化の抑制効果は不十分であり、予防投与を行った 67 例中 3 例で breakthrough HHV-6 脳炎を発症したとされている。今後 PFA 投与量をより増量し、長期間投与を行う試験が必要である。

おわりに

この 10 年ほどで移植後 HHV-6 脳炎は移植医の間で良く知られた合併症となってきた。特に臍帯血移植においては移植後早期に強く心配される合併症の 1 つと捉えられている。しかし現在も HHV-6 脳炎の発症予測は不可能であり、発症例の予後は不良である。HHV-6 脳炎を未だ克服されていない重要な移植後合併症とられ、病態の解明と克服に力を注ぐ必要がある。発症機序の解明は、より有効な予防、治療法の開発に繋がることが期待される。神経内科医による、病態解明への貢献が期待される。

文献

- 1) Pellett PE, Ablashi DV, Ambros PF, et al: Chromosomally integrated human herpesvirus 6: questions and answers. Rev Med Virol 22: 144-155, 2012.
- 2) Ljungman P, de la Camara R, Cordonnier C, et al: European Conference on Infections in Leukemia. Management of

- CMV, HHV-6, HHV-7 and Kaposi-sarcoma herpesvirus (HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT. *Bone Marrow Transplant* 42: 227-240, 2008.
- 3) Zerr DM, Corey L, Kim HW, et al: Clinical outcomes of human herpesvirus 6 reactivation after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis* 40: 932-940, 2005
- 4) Ogata M, Kikuchi H, Satou T, et al: Human herpesvirus 6 DNA in plasma after allogeneic stem cell transplantation: incidence and clinical significance. *J Infect Dis* 193: 68-79, 2006.
- 5) Yamane A, Mori T, Suzuki S, et al: Risk factors for developing human herpesvirus 6 (HHV-6) reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and its association with central nervous system disorders. *Biol Blood Marrow Transplant* 13: 100-106, 2007.
- 6) Ogata M, Satou T, Kawano R, et al: Correlations of HHV-6 viral load and plasma IL-6 concentration with HHV-6 encephalitis in allogeneic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 45: 129-136, 2010.
- 7) 緒方正男: 移植後HHV-6脳炎(豊島崇徳、編)。症例とエビデンスに学ぶ造血細胞移植と感染症。医薬ジャーナル社、大阪2011、pp99-112。
- 8) Sashihara J, Tanaka-Taya K, Tanaka S, et al: High incidence of human herpesvirus 6 infection with a high viral load in cord blood stem cell transplant recipients. *Blood* 100: 2005-2011, 2002.
- 9) Muta T, Fukuda T, Harada M: Human herpesvirus-6 encephalitis in hematopoietic SCT recipients in Japan: a retrospective multicenter study. *Bone Marrow Transplant* 43: 583-585, 2009
- 10) Zerr DM: Human herpesvirus 6 and central nervous system disease in hematopoietic cell transplantation. *J Clin Virol* 37: 52-56, 2006.
- 11) Wainwright MS, Martin PL, Morse RP, et al: Human herpesvirus 6 limbic encephalitis after stem cell transplantation. *Ann Neurol* 50: 612-619, 2001.
- 12) Ogata M, Satou T, Kawano R, et al: Plasma HHV-6 viral load-guided preemptive therapy against HHV-6 encephalopathy after allogeneic stem cell transplantation: a prospective evaluation. *Bone Marrow Transplant* 41: 279-285, 2008.
- 13) Noguchi T, Mihara F, Yoshiura T, et al: MR imaging of human herpesvirus-6 encephalopathy after hematopoietic stem cell transplantation in adults. *AJNR Am J Neuroradiol* 27: 2191-2195, 2006.
- 14) Mori Y, Miyamoto T, Nagafuji K, et al: High incidence of human herpes virus 6-associated encephalitis/myelitis following a second unrelated cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 16: 1596-1602, 2010.
- 15) Sakai R, Kanamori H, Motohashi K, et al: Long-term outcome of human herpesvirus-6 encephalitis after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 17: 1389-1394, 2011.
- 16) Hill JA, Koo S, Guzman Suarez BB, et al: Cord-blood hematopoietic stem cell transplant confers an increased risk for human herpesvirus-6-associated acute limbic encephalitis: a cohort analysis. *Biol Blood Marrow Transplant* 18: 1638-1648, 2012.
- 17) Scheurer ME, Pritchett JC, Amirian ES, et al: HHV-6 encephalitis in umbilical cord blood transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2012 [Epub ahead of print].
- 18) Vu T, Carrum G, Hutton G, et al: Human herpesvirus-6 encephalitis following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 39: 705-709, 2007.
- 19) Seeley WW, Marty FM, Holmes TM, et al: Post-transplant acute limbic encephalitis:

- clinical features and relationship to HHV-6. *Neurology* 69: 156-165, 2007.
- 20) Drobyski WR, Knox KK, Majewski D, et al: Brief report: fatal encephalitis due to variant B human herpesvirus-6 infection in a bone marrow-transplant recipient. *N Engl J Med* 330: 1356-1360, 1994.
- 21) Fotheringham J, Akhyani N, Vortmeyer A, et al: Detection of active human herpesvirus-6 infection in the brain: correlation with polymerase chain reaction detection in cerebrospinal fluid. *J Infect Dis* 195: 450-454, 2007.
- 22) Fotheringham J, Williams EL, Akhyani N, et al: Human herpesvirus 6 (HHV-6) induced dysregulation of glutamate uptake and transporter expression in astrocytes. *J Neuroimmune Pharmacol* 3: 105-116, 2008.
- 23) Dewhurst S: Human herpesvirus type 6 and human herpesvirus type 7 infections of the central nervous system. *Herpes* 11: 105A-111A, 2004.
- 24) Tunkel AR, Glaser CA, Bloch KC, et al: The management of encephalitis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 47: 303-327, 2008.
- 25) 日本造血細胞移植学会: 造血細胞移植ガイドライン、移植後早期の感染管理 第2版、CMV以外のウイルス感染対策。日本造血細胞移植学会 (JSHCT) Monograph 34: 24. 2012. <http://www.jshct.com/guideline/pdf/kansenkanri.pdf>
- 26) De Clercq E, Naesens L, De Bolle L, et al: Antiviral agents active against human herpesviruses HHV-6, HHV-7 and HHV-8. *Rev Med Virol* 11: 381-395, 2001.
- 27) Ogata M, Satou T, Inoue Y et al: Foscarnet against human herpesvirus (HHV)-6 reactivation after allo-SCT: breakthrough HHV-6 encephalitis following antiviral prophylaxis. *Bone Marrow Transplant*. 2012. [Epub ahead of print]
- 28) Fujimaki K, Mori T, Kida A, et al: Human herpesvirus 6 meningoencephalitis in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Int J Hematol* 84: 432-437, 2006.
- 29) Ogata M: Human herpesvirus-6 in hematopoietic cell transplant recipients. *Journal of Hematopoietic Cell Transplantation* 1: 76-92, 2012.
- 30) Ishiyama K, Katagiri T, Hoshino T, et al: Preemptive therapy of human herpesvirus-6 encephalitis with foscarnet sodium for high-risk patients after hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 46: 863-869, 2011.

Human herpesvirus-6 encephalitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Masao Ogata

Reactivation of human herpesvirus-6 (HHV-6) after allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT) is sporadically associated with development of HHV-6 encephalitis. HHV-6 encephalitis typically develops around 3 weeks after allo-HCT, and is characterized by short-term memory loss. Magnetic resonance imaging typically shows bilateral signal abnormalities in the limbic system. Recently, a high incidence of HHV-6 encephalitis has been reported from several Japanese stem cell transplant units. Cord blood transplantation is associated with increased risk of HHV-6 encephalitis. While antiviral therapy using ganciclovir or foscarnet is recommended, the prognosis of HHV-6 encephalitis remains poor. We should recognize that currently available treatment is insufficient for patients with HHV-6 encephalitis. Elucidation of pathogenesis of HHV-6 encephalitis, and establishment of preventative therapy is needed to overcome this disease.

Key words: human herpesvirus-6, HHV-6 encephalitis, limbic encephalitis, umbilical cord blood transplantation, antiviral therapy

〈シンポジウムⅢ〉 日和見感染と神経感染症

中枢神経系日和見感染症の病理

新宅雅幸

1. 日和見感染症とは

感染性疾患の病像は、近年における医学、医療の急速な進歩に伴って最も大きな変貌を遂げた医学の分野の一つである。即ち、かつては感染性疾患はもっぱら病原微生物によるものだけが問題とされ、いわゆる「伝染病」という名称で呼ばれていたが、近年に至ってその範囲は著しい拡がりを見せ、非病原微生物を含めたすべての微生物による「感染症」へと変容した。このうち、非病原性あるいは弱毒性微生物による感染症は、その発病が宿主の抵抗性の減弱に強く依存する host-dependent infection であり、その代表的なものが本稿で取り上げる「日和見感染症 (opportunistic infection)」である。そこでは微生物と宿主の間の文字通りの「出会い」(opportunity)が発病の重要な契機となる。

“Opportunistic infection”という術語は本来政治用語である “opportunism” (機会主義、ご都合主義) に由来するが、それが医学の領域で用いられたのは、1962 年に真菌感染症の国際シンポジウムの場で “opportunistic fungal infection” という術語が用いられたのが最初であったと言われる。そして当時、日本医真菌学会の会長を務めておられた関西医科大学皮膚科学教授、大原一枝先生 (現名誉教授。本年で 100 歳を超えて御健在である) が、それに対して「日和見感染」の和訳を提唱され、以後この術語が広く定着、普及して今日に至っている。

日和見感染症の定義は研究者によりそれぞれニュアンスが少しずつ異なっており、確実にそれを定義することは意外と容易ではないが、現在広く用いられている病理学の教科書の 1 つに従えば、「免疫不全を有する宿主において、通常では病原性を有しない微生物が病原性を獲得し、より重篤で、より播種性の、そしてより持続性の感染症を惹起し、ある場合には正常の宿主に見られるものとは異なるパター

ンの病像を呈すること」ということになる (McGee JOD, Isaacson PG, Wright NA. (eds) “Oxford Textbook of Pathology”, Oxford University Press, Oxford, 1992, p. 285)。

また近縁の術語として、最近「日和見腫瘍」(“opportunistic neoplasm”) という術語も用いられるようになってきており、その中には Kaposi 肉腫、中枢神経系原発悪性リンパ腫、ある種の平滑筋性腫瘍などが含まれる。これらの腫瘍では、ウイルス (human herpesvirus 8, Epstein-Barr virus など) が腫瘍の発生に重要な役割を演じることが知られている。

2. 中枢神経系の日和見感染症

日和見感染症は、悪性腫瘍とくに白血病や悪性リンパ腫など、血液系腫瘍に対する化学療法を受けた患者や種々の膠原病や臓器移植後の免疫抑制治療後に見られる合併症として、前世紀の半ばごろから注目されるようになっていたが、日和見感染症が広く蔓延し、また大きな社会問題にまでなったことは、1981 年における後天性免疫不全症候群 (AIDS) の突然の出現と切り離しては考えられない。米国で最初に発見され、瞬く間にその拡がりが全世界に及ぶに至ったこの世紀の業病は、信じられないほど多くの人々 (特に若年者) に死をもたらし、また現在でも特に東南アジア、サハラ砂漠以南のアフリカ大陸において、なお多くの人々の命を現に奪いつつあるが、筆者は米国において AIDS が猛威を振るっていた 1986~1987 年、New York の Montefiore Hospital & Medical Center で神経病理の修練を受け、その時に多数の AIDS 剖検例を自ら検索する機会を得た。その後帰国してからも、主として血友病患者に発生した数例の AIDS の剖検を行うことができた。それら AIDS 剖検例における日和見感染

症のおおよその頻度を表1,2に示す。

AIDSにおいては、その疾患そのものの重篤さもさることながら、AIDSの出現が他の疾患、特に感染性疾患に与えた影響も極めて大きな問題である。多くの感染症がAIDSの出現、蔓延により甚大な影響を受けた。中枢神経系においては、例えば進行性多巣性白質脳症 (progressive multifocal leukoencephalopathy, PML) は、かつては比較的珍しい疾患であったが、AIDSの出現以降ありふれた疾患となった。AIDS患者の中で経過中にPMLを合併する頻度は、どの報告でも大体約5%程度

であるが、AIDSの患者数が数百万、数千万人に及ぶため、PMLも遭遇する機会が稀ではなくなった訳である。トキソプラズマ脳炎、中枢神経系以外では非定型抗酸菌症やpneumocystis jirovecii(旧称pneumocystis carinii)の感染症などについても同じことが言える。また、厳密には日和見感染症の範疇に入らないが、AIDSに伴う結核と梅毒の急速かつ広範な蔓延は、特に米国では大きな社会問題にまでなった。

表1

Systemic opportunistic infections in 94 AIDS cases (including CNS)

PCP	62	(66%)
candidiasis	51	(54%)
MAI infection	40	(43%)
herpes virus inf.	26	(28%)
(h. zoster)	5	
CMV	23	(24%)
cryptococcosis	10	(11%)
toxoplasmosis	7	(7%)
tuberculosis	7	(7%)
PML	4	(4%)
histoplasmosis	3	(3%)
aspergillosis	2	(2%)

表2

AIDS中枢神経系における日和見感染症 (105剖検例)

CMV encephalitis	14	
toxoplasmosis	7	
cryptococcosis	7	combined
PML	4	CMV + crypto. 1
aspergillosis	2	CMV + PML 1
MAI	2	toxo. + crypto. 1
tuberculosis	1	
herpes zoster	1	
histoplasmosis	1	

3. 中枢神経系日和見感染症の病理

中枢神経系日和見感染症の病理組織学については、筆者は既に2編の総説を発表しており、またそれ以前並びに以後においてもいくつかの症例報告を発表している。シンポジウム当日は、日頃中枢神経系日和見感染症の診療に携わっておられても、実際に病変の病理組織像を自ら検鏡して確認される機会がそれほど多くない、主として若い神経内科の先生方を対象に、自ら経験した症例を基にして、種々の病変の古典的組織像の写真を多数提示しつつ講演を行なった。それを本誌上で再録、記載することは、過去の自分自身の報告と殆ど重複することになるので、控えることにしたい。筆者がこれまでに報告した総説、症例報告、解説を参考文献として以下に掲げるので、その記載を参照して頂きたい。症例報告は、単に珍しい症例の記載というのみならず、多くの場合何らかの病理学的新知見を含んでいる積りであるし、またその疾患の古典的病理組織学に関する主な文献はそれらの報告の中で引用されているので、索引代わりに利用して頂ければ幸いである。参考のため、一部、中枢神経系以外の消化管、腎などにおける日和見感染症症例も含めてある。

文献

[日和見感染症一般]

- ・新宅雅幸、平野朝雄、水澤英洋。AIDS の中枢神経病変。New York における94剖検例の病理学的検討。病理と臨床 7: 1517-1526, 1989。
- ・新宅雅幸。AIDS の神経病理。日和見感染症とHIV脳症を中心とする。脳と神経 49: 5-17, 1997。
- ・新宅雅幸。中枢神経系 HIV 感染症の病理。近年の動向。病理と臨床 25: 1119-1123, 2007。

[細菌感染症]

- ・Shintaku M, Sasaki M, Senzaki H, et al. An autopsy case of purulent mycobacterial meningitis in AIDS. Acta Pathol Jpn 41: 895-899, 1991.

[真菌感染症]

- ・新宅雅幸、平野朝雄。AIDS に合併した脳 histoplasmosis。神経内科 28: 659-660, 1988。
- ・新宅雅幸。脊髄の病理(4) AIDS に合併した脊髄 aspergillus 症。日赤医学 45: 239-240, 1993。

- ・新宅雅幸。ヒストプラズマ症。別冊 日本臨床 領域別症候群シリーズ No. 26. 神経症候群。643-646, 1999。
- ・新宅雅幸。脳室炎における脳室表面の astrocyte の増殖と上皮細胞の変化。神経内科 55: 478-484, 2001。
- ・Shintaku M, Sangawa A, Yonezawa A, et al. Aortic lesions in aspergillosis. Histopathological study of two autopsy cases. Virchows Arch 439: 640-644, 2001.

[原虫感染症]

- ・新宅雅幸。後天性脳トキソプラズマ症。Clin Neurosci 24: 1202-1203, 2006.

[ウイルス感染症]

- ・Shintaku M, Inoue N, Sasaki M, et al. Cytomegalovirus vasculitis accompanied by an exuberant fibroblastic reaction in the intestine of an AIDS patient. Acta Pathol Jpn 41: 900-904, 1991.
- ・Shintaku M, Nasu K, Ito M. Necrotizing tubulo-interstitial nephritis induced by adenovirus in an AIDS patient. Histopathology 23: 588-590, 1993.
- ・Shintaku M, Matsumoto R, Sawa H, et al. Infection with JC virus and possible dysplastic ganglion-like transformation of the cerebral cortical neurons in a case of progressive multifocal leukoencephalopathy. J Neuropathol Exp Neurol 59: 921-929, 2000.
- ・新宅雅幸。HHV6 脳脊髄炎。Clin Neurosci 27: 1094-1095, 2009.
- ・Shintaku M, Kaneda D, Tada K, et al. Human herpes virus 6 encephalomyelitis after bone marrow transplantation. Report of an autopsy case. Neuropathology 30: 50-55, 2010.

〈シンポジウムIV〉 神経感染症の診断システム

中枢神経感染症の臨床からみた診断上の問題点と今後の課題

森田昭彦

【要旨】中枢神経感染症は初期治療や診断の遅れが患者の転帰に大きく影響するため、neurological emergencyとして位置付けられている。中枢神経感染症の病因確定診断には、髄液の塗抹・培養検査のほか、ラテックス凝集法や髄液ウイルス抗体価の有意な上昇、PCR法による病原体遺伝子の検出が用いられる。しかし、これらの検査の多くが結果を得るまでに時間を要することから、病因確定診断を待たずに初期治療を開始せざるをえない実情がある。また、病原体遺伝子検査は保険診療として行うことができず各研究者に委嘱している場合も多いことから、各種の病原体遺伝子検査の臨床検査としての取り扱いは今後の課題として重要である。

Key Words: 中枢神経感染症、診断、塗抹検査、抗原検査、病原体遺伝子検査

はじめに

中枢神経感染症は初期治療や診断の遅れが患者の転帰に大きく影響することから、neurological emergencyとして位置付けられている。中枢神経感染症の診断は「病歴や神経診察、髄液所見、画像所見から病因を推定する」神経学的診断と「生物学的検査や血清学的検査から病因を確定する」病因確定診断に分けることができる。病因確定診断は、生物学的検査と血清学的検査に分けられ、前者として髄液や咽頭、鼻腔、血液、唾液、便、尿などからの塗抹・培養による病原体の分離やPCR法を用いた病原体遺伝子の検出が用いられ、後者として髄液や血清における経時的に有意な抗体価上昇や特異的IgMの検出が用いられる。病因確定診断のために行われる検査の多くが結果を得るまでに時間を要することから、実際には、神経学的診断から病因を推定し、病因確定診断を待たずに初期治療を開始し、病因確定診断が得られた時点で治療の再検討を適宜行うというプロセスをとらざるをえないという実態がある。

以下、中枢神経感染症の臨床からみた診断上の問題点について述べる。

(1) 塗抹・培養検査

髄液の塗抹検査は、細菌性髄膜炎や結核性、真菌性髄膜炎の診断に欠かせない検査であり、細菌性髄膜炎では患者年齢とグラム染色を用いた髄液塗抹標本の結果から起因菌の推定がある程度可能である。結核菌に対しては抗酸菌染色、クリプトコッカス症に対しては墨汁染色が行われる。髄液塗抹検査における菌の最小検出感度は 10^5 colony forming units (cfu) / ml とされている¹⁾が、毎視野に菌を検出するためには、 10^7 cfu / ml 以上が必要であるとされている。高齢者に多くみられるリステリア菌による髄膜炎での菌量は通常 10^3 cfu / ml 以下であることから、塗抹検査での検出率は低い。髄液検体は喀痰などと異なり、菌体が自己融解しやすく、この結果グラム陰性を呈したり、膨化・変形した結果、桿菌と報告されることがある。自施設においても、過去に、初療時にグラム陽性球菌である肺炎球菌をグラム陽性桿菌と判定した報告例があつた。本邦の細菌性髄膜炎の診療ガイドライン²⁾においても、髄液の塗抹検査は髄液検査の必須項目として記載されているが、グラム染色の結果解釈には判定者の経験や手技的な要因および検体の取り扱い状況が大きく依存する背景から、このガイドラインのフローチャートの冒頭には、「塗抹について、迅速かつ信頼性のある結果が得られる施設か」と記載されている。

(2) 細菌抗原検査

細菌抗原検査はラテックス凝集を用いた検査法で、迅速に結果が得られ、髄液検査前に抗菌薬が投与されている場合も菌の検出が可能である。Camargos らの検討³⁾において細菌抗原検査は感度84%、特異度94%であり、有用な検査法であるといえる。しかし、対象となる菌が限定される、耐性菌の判別ができない、培養陰性例における感度は7%との報告⁴⁾もあり注意を要する。ラテックス凝集を用いた細菌抗原検出キットが各社より発売されているが、本邦において汎用されていたスライデックスメンギートキット-5(シスメックス・ビオメリュー株式会社、東京)は2007年に発売が終了しており、各施設毎に類似品を用いている現状がある。しかし、一部の検査キットでは、ラテックス粒子が各抗原ごとに異なる色で着色されているために、却って凝集が観察しにくいという問題が指摘されている。

(3) 遺伝子検査(PCR)

各種病原体の遺伝子検査は、速やかな病因確定診断につながり、薬剤感受性に関する情報も得られることから推奨される。PCR 法を用いた病原体の遺伝子検査における検出感度は、特異度とともに非常に高く、細菌性髄膜炎でのPCR 法の感度は91-98%、特異度96-98%、単純ヘルペス脳炎でのPCR 法の感度は96-98%、特異度95-99%とされている^{2, 5, 6)}。抗原検査や培養が陰性であった例でも病原体の検出が可能であり、薬剤感受性も推測することができる。単純ヘルペスウイルスや結核菌のように臨床診断に必要な最小検出感度がごく小さい病原体については通常のsingle PCR 法ではなく、nested PCR 法^{7, 8)}やrealtime PCR 法⁹⁾などを用い評価することが重要である。また、細菌性髄膜炎やウイルス性髄膜炎・脳炎などでMultiplex PCR 法を用いた病原微生物の検出^{10, 11)}や塗抹培養陰性の細菌性髄膜炎や脳膿瘍で16S ribosomal RNA を検索することによる病因確定診断¹²⁾などが研究レベルでは行われている。商業ベースでは、インフルエンザウイルスやエンテロウイルス、日本脳炎ウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、単純ヘルペスウイルス、水痘・帯状ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス(CMV)、EBウイルス(EBV)、ヒトヘルペスウイルス6型(HHV-6)、ヒトヘルペスウイルス7型(HHV-7)、マイコプラズマニューモニエ、結核菌などを対象としPCR 法を用いた検査が行われてい

る。しかし、現時点において、髄液検体を対象として保険収載されているものはない。このため、自施設に検査を行う体制がない場合は検査の結果が得られるまでに時間を要することから、病因確定診断には有用であるが初療に寄与することができない場合もある。また、研究レベルで行われている各種の病原体遺伝子検査は、臨床検査と異なり検査の継続性という点で問題がある。

(4) 検体採取

病因確定診断のために考慮される検査が適切に行われるためには、検体採取が適切に行われていることが最も重要である。具体的には、検体がいつ採取されたか、検体が適切に採取されているか、検体がどのように運搬されたか、が問題となる。

検体採取は可能な限り速く行う方がよい。病変部位の微生物は時間とともに減少するものもあるため、発症後3日以内に採取するべきである。しかし、長期間にわたり検出可能な場合もあり、たとえば麻疹では発症10日後の血液や尿からPCR 法によりウイルス核酸を検出することができ、単純ヘルペス脳炎では病初期のPCR 法による検出が偽陰性となることがある一方で、アシクロビルを開始していたとしても、第3から第10病日に再検した髄液でのPCR 法による検出結果がしばしば陽性となることが知られている。病原微生物を検出するにあたり、末梢血液中の単核球細胞を病原診断に用いる場合は、凝固させずにacid citrate dextrose (ACD) 管やethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 管に採血する。髄液や便は、そのまま滅菌容器に採取する。鼻咽頭分泌物は、ウイルスを検査する場合はウイルス輸送培地を、細菌を検査する場合は専用の培地を用いる。スワブは検査ごとに、日々、別のものを用いることが重要である。また、ウイルスや細菌の分離を目的とする場合は、検体採取後すみやかに検査室や検査機関に適切な温度管理の下に輸送することが重要である。ウイルス分離では4℃、細菌では室温で輸送する。特に髄膜炎菌やインフルエンザ菌、淋菌は低温に弱いことから冷蔵してはいけない。一方、ウイルスや細菌は、時間の経過とともに失活するため、24時間以内に検査機関に届けることができない場合は、-80℃で保存する。血液は冷蔵により単核球の回収率が低下することから室温で輸送する。

このように、病因確定診断が適切に行われるため

には、患者から適切に検体が採取され、検査室あるいは検査機関に適切な条件で運搬されることがきわめて重要である。

結語

中枢神経感染症の臨床からみた、診断上の問題点と今後の課題について、塗抹培養検査、抗原検査、遺伝子検査、検体採取について述べた。中枢神経感染症の診断には多岐にわたる検査方法が用いられており、これらの臨床検査の結果がどの施設においても同じように得られるようになること（標準化、均質化）が重要である。また、各種病原体の遺伝子検査は病因確定診断にきわめて有用であるが、各研究者に委嘱し行われている検査も多く、商業ベースで行われているものはきわめて限定され、髄液検体を対象として保険収載されているものはないという現状がある。このような病原体遺伝子検査を臨床検査として今後どのように運用していくかは、神経感染症の診断システムを構築する上で大きな課題である。

文献

- 1) Feldman WE: Concentrations of bacteria in cerebrospinal fluid of patients with bacterial meningitis. *J Pediatr* 88:549-552, 1976.
- 2) 細菌性髄膜炎の診療ガイドライン作成委員会：細菌性髄膜炎の診療ガイドライン 神經治療学 24: 69-132, 2007.
- 3) Camargos PA, Almeida MS, Filho GL, et al: Blood stained cerebrospinal fluid responsible for false positive reactions of latex particle agglutination tests. *J Clin Pathol* 47:1116-1117, 1994.
- 4) Tarafdar K, Rao S, Recco RA, et al: Lack of sensitivity of the latex agglutination test to detect bacterial antigen in the cerebrospinal fluid of patients with culture-negative meningitis. *Clin Infect Dis* 33:406-408, 2001.
- 5) Tunkel Allan R, Glaser Carol A, Bloch Karen C, et al: The management of encephalitis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 47:303-327, 2008.
- 6) Tyler Kenneth L: Update on herpes simplex encephalitis. *Rev Neurol Dis* 1:169-178, 2004.
- 7) Kamei S, Takasu T, Morishima T, et al: Comparative study between chemiluminescence assay and two different sensitive polymerase chain reactions on the diagnosis of serial herpes simplex virus encephalitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 67:596-601, 1999.
- 8) Takahashi T, Nakayama T, Tamura M, et al: Nested polymerase chain reaction for assessing the clinical course of tuberculous meningitis. *Neurology* 64:1789-1793, 2005.
- 9) Weidmann M, Meyer-Konig U, Hufert FT: Rapid detection of herpes simplex virus and varicella-zoster virus infections by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 41:1565-1568, 2003.
- 10) Corless CE, Guiver M, Borrow R, et al: Simultaneous detection of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, and *Streptococcus pneumoniae* in suspected cases of meningitis and septicemia using real-time PCR. *J Clin Microbiol* 39:1553-1558, 2001.
- 11) Cassinotti P, Mietz H, Siegl G: Suitability and clinical application of a multiplex nested PCR assay for the diagnosis of herpes simplex virus infections. *J Med Virol* 50:75-81, 1996.
- 12) Saito N, Hida A, Koide Y, et al: Culture-negative brain abscess with *Streptococcus intermedius* infection with diagnosis established by direct nucleotide sequence analysis of the 16S ribosomal RNA gene. *Intern Med* 51:211-216, 2012.

Controversial issues in the clinical diagnosis of CNS infection

Akihiko Morita

Central nervous system (CNS) infection, including acute encephalitis, bacterial meningitis, tuberculous meningitis, fungal meningitis, and brain abscess is a potentially life-threatening neurological emergency. The etiological diagnosis of a CNS infection is made a definite diagnosis based on the identification of pathogenic agents in the CNS using cerebrospinal fluid (CSF) smear or culture, pathogenic antigen in CSF, pathogenic products evaluated by polymerase chain reaction (PCR) in brain tissue or CSF, or specific antibody response in the CSF. Since it takes time to get the results of such laboratory tests, the introduction of empirical initial treatment for CNS infection is required. In this article, controversial situations in the clinical diagnosis of CNS infection are reviewed.

The optimal process of specimen sampling and delivery is essential to reach a definite diagnosis. CSF smear is an undisputed and indispensable test for the diagnosis of bacterial, tuberculous and fungal meningitis. The causative pathogenic antigen can be reliably predicted by the age of the patient, predisposing factors, underlying diseases, immunological competence and the result of Gram-stained smears. The identification of the causal bacteria depends on staining and culture of CSF, which should always be tested in samples obtained fresh. If not processed quickly, cells from CSF often become degenerate and the stainability is lost. Nucleic acid amplification tests such as PCR assays have high sensitivity and specificity in detecting pathogens from CSF. When herpes simplex virus, encephalitis or tuberculous meningitis is suspected, it is important to evaluate using nested PCR and real time PCR techniques. In Japan, most genetic tests for pathogenic agents are performed as part of academic research. The number of commercially available genetic tests is limited. Currently, national health insurance in Japan does not pay for any genetic test for pathogenic agents in CSF. To manage the continuity of genetic tests, this system should be improved. To detect pathogenic agents in the CNS, several laboratory diagnostic techniques have been developed and applied in clinical settings. Appropriate specimens and standardized laboratory tests are required to perform accurate diagnosis of CNS infection.

〈シンポジウムIV〉 神経感染症の診断システム

市中で発症する細菌性髄膜炎に対する迅速診断システムの構築

生方公子

【要旨】著者らが構築した細菌性髄膜炎の原因となりうる8菌種を同時に検索可能な網羅的real-time PCR法の概略とその具体例について紹介した。同時に、髄液に対して培養法と本方法とを併行して行なった結果についても示した。感染症としては最も的確な対応が求められる当該疾患の診断法としてその普及が強く望まれる。

Key Words: 細菌性髄膜炎, 迅速診断, リアルタイムPCR

I. はじめに

細菌性髄膜炎は乳幼児にとっては最も重篤な急性疾患であり、小児科医は外来診療の場において本疾患をいかに見落さないかに留意してきた。私たちの研究室では小児および成人の髄膜炎の原因菌について1999年以来全国規模のサーベイランスを実施し、その成績を報告^{1,2,3)}してきたが、2010年末から施行された「子宮頸がん等ワクチン接種緊急促進事業」による公的助成に伴い、2011年から小児に対するHibコンジュゲートワクチン(Hibワクチン)と肺炎球菌7価コンジュゲートワクチン(PCV7)が本格的に接種されるようになった。2012年のHibとPCV7の推定接種率は全国平均で80%を超えたが、このためHib髄膜炎⁴⁾は著しく減少し、肺炎球菌のそれ⁵⁾も半減してきている。

加えて、少子高齢化社会の到来、交通網の発達や経済発展によるグローバル化に伴い、原因菌も多様化してきている。このような背景から、細菌性髄膜炎例において後遺症を残さずに救命するには、発症時に短時間で起炎菌を推定し、それらに基づいて最も適切な抗菌薬投与と処置を行なうことが必要となる。特に高齢者においては、感染症そのものは治癒し得ても、難聴や失明といった後遺症のみならず歩行困難といったQOL低下例が多く発生し、本人のみならず社会的な経済負担も大きい。

ここでは、私どもが細菌性髄膜炎の迅速診断として、原因菌として頻度の高い菌種を網羅的に検索できるよう構築したreal-time PCR法の実際を述べる。

II. 対象と方法

1. 髄液に対するreal-time PCR法の確立

細菌性髄膜炎の原因菌を推定するには、発症時に採取された微量の髄液を用いてその中に含まれる原因菌を検索することが最も確実な方法である。しかし現実的には、多くの症例において既に抗菌薬が投与されている場合が多く、培養しても菌の発育を認めないことが多い。このようなことから現実に即して、原因菌が死滅あるいは損傷を受けていても迅速に菌種を推定することができる網羅的real-time PCR法を構築した。

手法の概略は図-1に示す。検索可能菌種は、i) 肺炎球菌(*S. pneumoniae*, *lyt4*遺伝子), ii) インフルエンザ菌(*H. influenzae*, 16S rRNA遺伝子), iii) 大腸菌(*E. coli*, 16S rRNA遺伝子), iv) B群溶血性レンサ球菌(*S. agalactiae*, *dltS*遺伝子), v) 髄膜炎菌(*N. meningitidis*, 16S rRNA遺伝子), vi) リステリア菌(*L. monocytogenes*, 16S rRNA遺伝子), vii) 黄色ブドウ球菌(*S. aureus*, *spa*遺伝子), viii) 肺炎マイコプラズマ菌(*M. pneumoniae*, 16S rRNA遺伝子と*mip*遺伝子)である。

各菌種に対するprimerとprobeのセットは表-1に示したが、ひとつのチューブで2菌種ずつ検索できる。3菌種以上のmultiplexになると感度が低下しつつ非特異反応がみられる場合がある。

著者らのreal-time PCR法⁶⁾は、図-2に示すMolecular beacon probe(MB probe)を用いる方法である。電気泳動を伴ういわゆるconventional

図1 髄液の細菌検索に用いるreal-time PCR法の概略

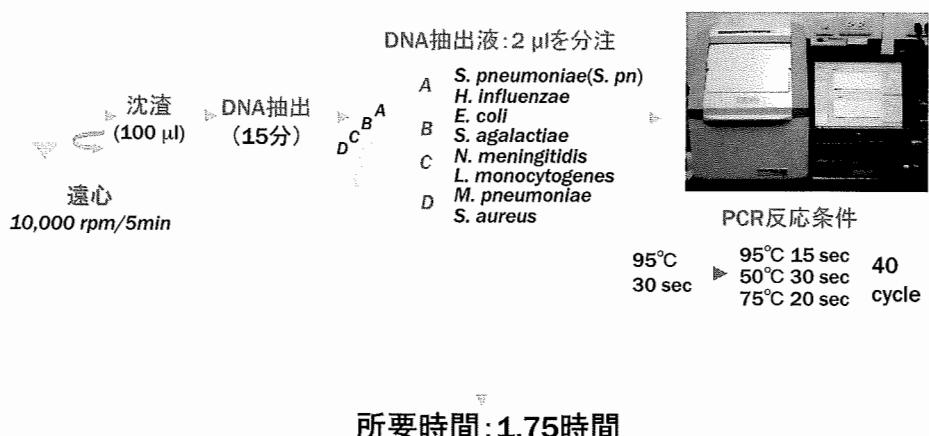
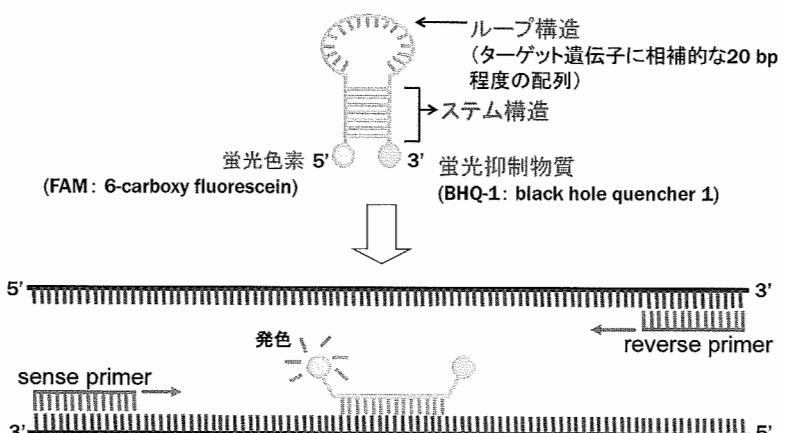


表1 8菌種のprimerとMB probe

Tube (Paired)	Species	primer and probe	Primer or probe ^a sequence
A	<i>S. pneumoniae</i>	S-primer R-primer Probe	5'-CAACCGTACAGAATGAAAGGG-3' 5'-TTATTCGTGCAATCTCGTGC-3' HEX-CGCGATCAGGTCTCACGATTCCAACGCCGATCGCG-BHQ1
A	<i>H. influenzae</i>	S-primer R-primer Probe	5'-TTGACATCTAAGAACGACTC-3' 5'-TCTCTTGTAGTTCCGACCG-3' FAM-CGCGATCCTGACGACAGCATGCGAC-BHQ1
B	<i>E. coli</i>	S-primer R-primer Probe	5'-GGGAGTAAAGTTAATACCTTTC-3' 5'-CTCAAAGCTTCCAGTATCAG-3' HEX-CGCGATCACTCCGTCGCCAGCAGCCGGATCGCG-BHQ1
B	<i>S. agalactiae</i>	S-primer R-primer Probe	5'-AGGAATACCAGCGATGAAAC-3' 5'-AGGCCCTACGATAATCGAG-3' FAM-CGCGATCATTGGCTAGTTATGAAGTCCTTATGC GATCGCG-BHQ1
C	<i>N. meningitidis</i>	S-primer R-primer Probe	5'-CATATCGAACGTACCGAGT-3' 5'-GCCGCTGATATTAGCAACAG-3' HEX-CGCGATCCTATTGCGCCGATATCGATCGCG-BHQ1
C	<i>L. monocytogenes</i>	S-primer R-primer Probe	5'-CGCTTTGAAAGATGGTTCG-3' 5'-CTTCAGTTCCAATGACCC-3' FAM-CGCGATCGCGCGTGTCCGTCAGACTTGATCGCG-BHQ1
D	<i>M. pneumoniae</i>	S-primer R-primer Probe	5'-GTAATACTTAGAGGCCAAC-3' 5'-TACTTCAGCATGCTACAC-3' HEX-CGCGATACCAACTAGCTGATATGGCGCAATCGCG-BHQ1
D	<i>S. aureus</i>	S-primer R-primer Probe	5'-TACATGTCGTTAACCTGGT-3' 5'-TACAGTTGACCGATGAAATGG-3' FAM-CGCGATCCAAGAACCTGTTGATAAGAAGCAACOGATCGCG-BHQ1

図2 Molecular Beacon (MB) probe法



PCR法は、菌数の極めて少ないこともある髄液に対し、35サイクル以上の増幅回数にすると、非特異反応が生じやすいという欠点がみられる。これを回避するため、増幅されるDNA断片中にさらに特異性の高い配列をみいだしその部分に結合する相補的probeを設計する。Probeの5'側には蛍光色素(FAMやHEXなど波長の異なるもの)を結合させ、3'側には蛍光を消去するquencherを結合させる。Real-time PCR時には増幅されるDNAに結合したprobeの蛍光量を増幅サイクル毎に測定する仕組みである。

PCR法の感度と特異度は、標準菌株を用いて検討され既に報告⁶⁾しているが、PCR用反応チューブに数個の菌が存在すれば、理論的には32-35サイクルで陽性反応が認められるはずである。40サイクル以上の増幅は非特異反応を生じやすく、またそのサイクル数では理論的に菌は存在しない。

III. 結果

1. Real-time PCRによる陽性例の実際

real-time PCRを用いた成人髄膜炎例の具体例を図-3に示す。症例は30代の女性、既往歴として中耳炎が認められていた。このため経口セフェム系薬のcefpodoximeが既に投与されている。救命救急センターへの搬送時の臨床所見は、頸部硬直、意識障害等がみられている。血液検査所見ではWBCが30,000/ μ L、CRPが16mg/dL、髄液は細胞数が16,000/ μ L、糖が1mg/dL、蛋白が597mg/dLと

典型的な髄膜炎所見を示していた。しかし、前投与薬の影響で菌は分離されず、そのため髄液の直接的検査が私どもへ依頼された。real-time PCRでは31サイクルから肺炎球菌に対する陽性反応が確認され、続けて実施した耐性遺伝子検索⁷⁾によって細胞壁合成酵素のPBP2Xをコードする遺伝子変異株のgPISP(*pbp2x*)であることが判明している。このレベルの耐性菌であれば、経口抗菌薬によってもダメージを受け、培養では発育して来ない可能が高いのである。

図-4には髄膜炎菌が原因菌と特定できた症例を示す。本症例のように学童期で基礎疾患のない児の原因菌としては、インフルエンザ菌や肺炎球菌の頻度は非常に低くなってくる。しかし、検査所見では好中球優位、髄液の糖は低値、蛋白は高値を示している。このような場合には、通常経験する菌種以外も原因になっている可能性のあることを考慮する必要がある。

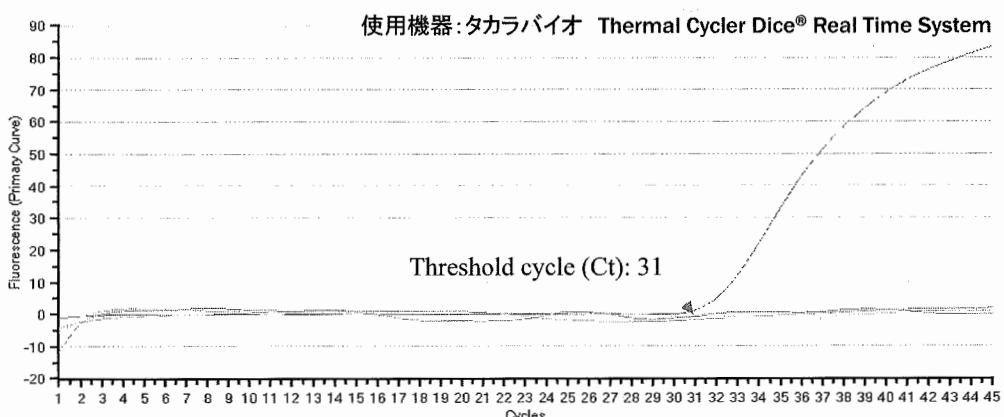
2. 培養法とreal-time PCR法の比較

図-5には当研究室に髄液の解析依頼を受けた115例について、real-time PCR法と培養法での成績を示す。“抗菌薬の前投与なし”例が53.9%、“抗菌薬の前投与あり”例が46.1%とほぼ半数ずつとなっている。前投与なし例における培養法とreal-time PCR法での原因菌の推定率を見ると、培養では69.8%であったのに対し、PCRでは88.7%と高い確率で原因菌が明らかにできている。

一方、抗菌薬が既に投与されていると、菌の分離率

図3 肺炎球菌性髄膜炎の成人例

Case: 30代、既往歴: 中耳炎、前投与薬: cefpodoxime
入院時所見: 頸部硬直、意識障害、血液検査所見: WBC 30,000/ μ L, CRP 16 mg/dL
髄液細胞数: 16,000/ μ L、糖: 1mg/dL、蛋白: 597 mg/dL



注: 続けて実施したPCRによる耐性遺伝子検索でgPISP (*pbp2x*) と推定されている。

図4 髄膜炎菌による髄膜炎例

症例: 7y, 女児

臨床経過: 11月29日 発熱, 翌日 嘔吐から → 不穏状態 → 救命センター(JCS100)

血液検査所見: WBC 17,000/ μ L, CRP 6mg/dL

髄液検査: 細胞数 9,565/ μ L (多核球 压倒的優位), 糖 30mg/dL, 蛋白 400mg/dL

グラム染色: グラム陰性球菌(+)

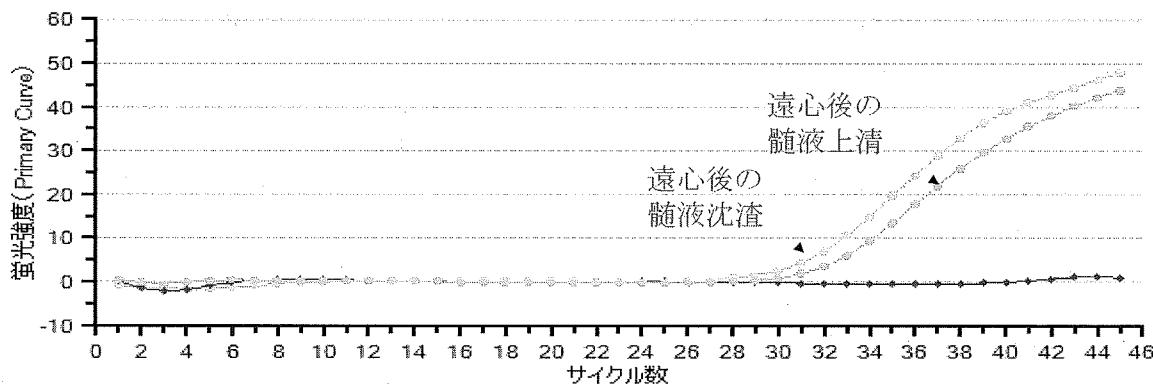
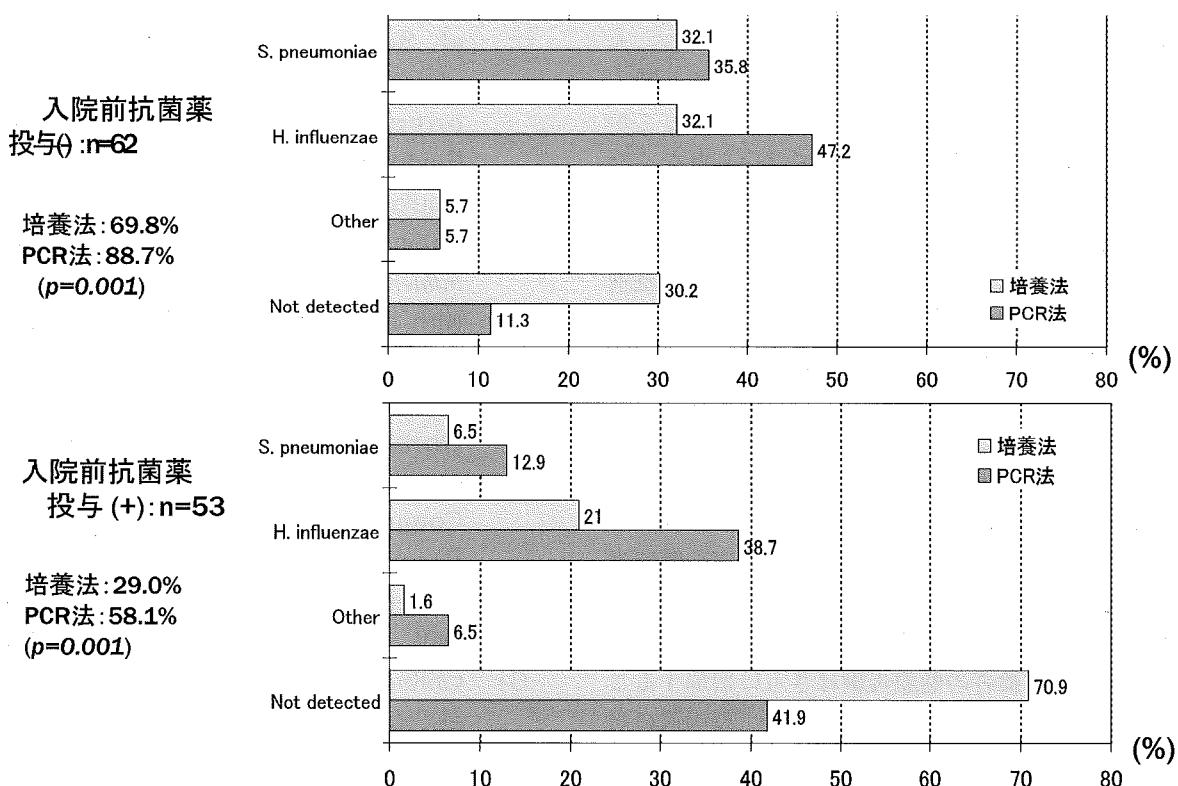


図5 抗菌薬投与の有無と陽性率の関係 (n=115)



は29.0%と著しく低下している。PCRでも58.1%と約半数例しか推定できていない。特に小児においては注射用抗菌薬のceftriaxoneがoutpatient parenteral antimicrobial therapy (OPAT)として1度でも使用されると、菌によってはその影響を強く受け、培養法で明らかにすることは困難である。

なお、遭遇する機会の少ない*L. monocytogenes*や*M. pneumoniae*、あるいは新生児に多い*S. agalactiae*(GBS)などの検索には、網羅的real-time PCR法是有用である。

IV. 考察とまとめ

21世紀における重症感染症を考える際、いくつかのキーワードを念頭におく必要があろう。ひとつは、急速な少子・高齢化社会の到来である。1990年には65歳以上は12%程度であったが、2012年には24%と倍増しており、今後益々基礎疾患有する高齢者は増加してくる。その背景にはもちろん医療の進歩の恩恵があるものの、このような宿主側の変化が市中型重症感染症の増加に繋がっていることも事実である。

二つ目は「人々の多極化移動」である。激しい人々の移動は、新たな病原性をもつ菌、あるいは新たな耐性菌を知らない間に世界中へ拡散させている。人口密度の高いわが国では、一度持ち込まれると瞬く間に全国へと拡散していく。私どもは世界のどこかで発生した新たな感染症に無関心ではいられなくなっているのである。第三のキーワードは、市中型感染症・原因菌の「耐性化と耐性率の変化」である。最も影響する「外来処方抗菌薬の変化」を各系統別にみると、2010年にはセフェム系薬、マクロライド系薬、そしてキノロン系薬がおよそ30%ずつ処方されている。ペニシリン系薬の処方は少なく、この点が欧米とは異なるところである。

これらの環境要因の変化を踏まえ、今後の市中型細菌性髄膜炎を予測すると、ワクチン導入のお陰で、リスクファクターをもつ乳幼児を除き小児の髄膜炎は相対的に減少するであろう。しかし、腎機能や肝機能低下、心疾患、糖尿病等のリスクを抱え、免疫能の低下した高齢者の髄膜炎例はさらに増加することが予測される。このような症例では、原因菌に対する的確な早期診断が行なわれ、速やかに適切な抗菌薬が投与されないと予後は極めて不良となりやすい。ちなみに、肺炎球菌による成人例の死亡率は今でも25%近いのである⁸⁾。

Real-time PCR法による原因微生物の網羅的迅速診断は、その有用性は理解されつつある。しかし、まれな疾患を対象としているが故に、"市販の診断キット"にはなり難い。この解決のためには、重症感染症の迅速診断が集中してできる検査システムの構築がぜひとも必要である。将来、そのようなシステムが具体化されることを期待している。

文献

- 1) Hasegawa K, Chiba N, Kobayashi R, et al. Rapidly increasing prevalence of β -lactamase-nonproducing, ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* type b in meningitis. *Antimicrob Agents Chemother.* 48:1509-1514. 2004
- 2) Ubukata K, Chiba N, Hasegawa K, et al. 2004. Antibiotic susceptibility in relation to penicillin-binding protein genes and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* strains responsible for meningitis in Japan, 1999-2002. *Antimicrob Agents Chemother.* 48:1488-1494. 2004
- 3) Chiba N, Morozumi M, Sunaoshi K, et al. Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan. *Epidemiol Infect.* 138(1):61-68. 2010
- 4) Ubukata K, Chiba N, Morozumi M, et al. Longitudinal surveillance of *Haemophilus influenzae* isolates from pediatric patients with meningitis throughout Japan, 2000-2011. *J Infect Chemother.* 19:34-41. 2013
- 5) Chiba N, Morozumi M, Shouji M, et al. Rapid Decrease of 7-Valent Conjugate Vaccine Coverage for Invasive Pneumococcal Diseases in Pediatric Patients in Japan. *Microb Drug Resist.* DOI: 10.1089/mdr.2012.0180. 2013
- 6) Chiba N, Murayama S, Morozumi M, et al. Rapid detection of causative eight pathogens for diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR. *J Infect Chemother.* 15:92-98. 2009
- 7) Chiba N, Morozumi M, Ubukata K.

Application of the Real-Time PCR Method for Genotypic Identification of β -Lactam Resistance in Isolates from Invasive Pneumococcal Diseases. *Microb Drug Resist.* 18:149-156. 2012

解析その診断・治療に関する研究、新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 (H22-新興-一般-013). 2012

- 8) 生方 公子. 重症型のレンサ球菌・肺炎球菌感染症に対するサーベイランスの構築と病因

Construction of a system to rapidly diagnose community-acquired bacterial meningitis

Kimiko Ubukata

Key words: Bacterial meningitis, rapid diagnosis, real-time PCR

Laboratory of Molecular Epidemiology for Infectious Agents, Kitasato Institute for Life Sciences, Kitasato University (5-9-1 Shirokane, Minato-ku, Tokyo, 108-8641, JAPAN)

〈シンポジウムIV〉 神経感染症の診断システム

神経ウイルス感染症の遺伝子診断とその応用：ヘルペス脳炎の病原HSV-1のACV感受性試験法の開発

垣内五月^{1, 2}、木下一美¹、伊藤睦代¹、中道一生¹、
林昌宏¹、西條政幸¹

はじめに

神経ウイルス感染症の診断において、脳脊髄液(cerebrospinal fluid, CSF)を用いた迅速かつ高感度なPCRを利用した遺伝子増幅法は、CSFからのウイルス分離や抗原検出法にとってかわりつつあり、現在では脳炎等の診断のゴールデンスタンダードである¹⁾。様々なウイルスについてCSFを材料とした特異的遺伝子診断法が開発・実用化されている。従来の遺伝子増幅法により可能なのは、目的病原体の遺伝子断片の有無を検出することのみであるが、病原体の性質を診断する方法も病原体の種類により応用が可能である。本稿では、単純ヘルペスウイルス1型(herpes simplex virus type 1, HSV-1)によるヘルペス脳炎の遺伝子診断を応用して開発・実用化した、病原HSV-1のアシクロビル(acyclovir, ACV)感受性試験法について解説する。

1. HSV-1とACV

HSV-1はほとんどの人は幼少期に感染(初感染)し、三叉神経節等の神経節に潜伏し終生再活性化を繰り返す。健常者では再活性化による病変は口唇ヘルペスなど軽い疾患にとどまるが、まれに脳炎を引き起こしその予後は不良である²⁾。HSV-1は成人の病原体の判明した非流行性ウイルス脳炎の病原体として最も多い³⁾。新生児ではHSV-1、HSV-2ともに全身型・中枢神経型など重篤な感染症(新生児ヘルペス)を引き起こす⁴⁾。第一選択薬のグアノシン誘導体であるACVは、HSV遺伝子にコードされるチミジンキナーゼ(viral thymidine kinase, vTK)によって第一リン酸化されACV-monophosphateとなる。その後は宿主細胞のリン酸化酵素によりさらに

リン酸化が進行し、ACV-triphosphateとなると、グアノシン3リン酸に拮抗しウイルス性DNA合成酵素を阻害するとともに、ウイルスDNAに取り込まれ、取り込まれた部位でDNA合成を停止させる(図1)⁵⁾。HSV-1のACV耐性はvTKおよびDNAポリメラーゼ変異により獲得されるが、大部分はvTK変異による⁶⁾。しかしながら、vTK遺伝子には多型性があるため^{7, 8)}、vTK遺伝子の塩基配列が決定されたとしても、その変異が薬剤耐性を誘導する変異であるかどうかについては詳細な解析が必要である。ヘルペス脳炎においてCSFからHSVが分離培養されることはほとんどなく⁹⁾、原因となるウイルスの薬剤感受性は評価できない。これらの点を克服するため、当研究室では培養細胞に当該ウイルスの組換えvTKを発現させ、高度ACV耐性vTK欠損HSV-1(TAR株)を感染させACV存在下での増殖能を評価することにより、vTKの変異がACV耐性変異であるか否かを評価する方法を考案した(図2)^{10, 11)}。また、実際の新生児ヘルペス脳炎患者でこの方法を用いて、ACV耐性HSV-1による脳炎をウイルス学的に世界で初めて証明した¹²⁾。

2. 患者の治療から診断までのプロセス

ヘルペス脳炎患者において、適切なACV治療(10～20mg/kg/回×4、点滴静注)が行われているにもかかわらず、CSF中のウイルスゲノム量が低下しない場合や、一旦低下したウイルスゲノム量が治療を継続しているにも関わらず再度増加する場合などにACV耐性HSVの出現が疑われる。臨床症状の改善が乏しくてもウイルスゲノム量が減少していく場合は、耐性株出現以外に、過剰な免疫反応の影響や支持療法の不十分さも考慮すべきである(図3、私案)。

1：国立感染症研究所ウイルス第一部(〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1)

2：東京大学大学院医学系研究科生殖発達加齢医科学小児医学専攻(〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1)

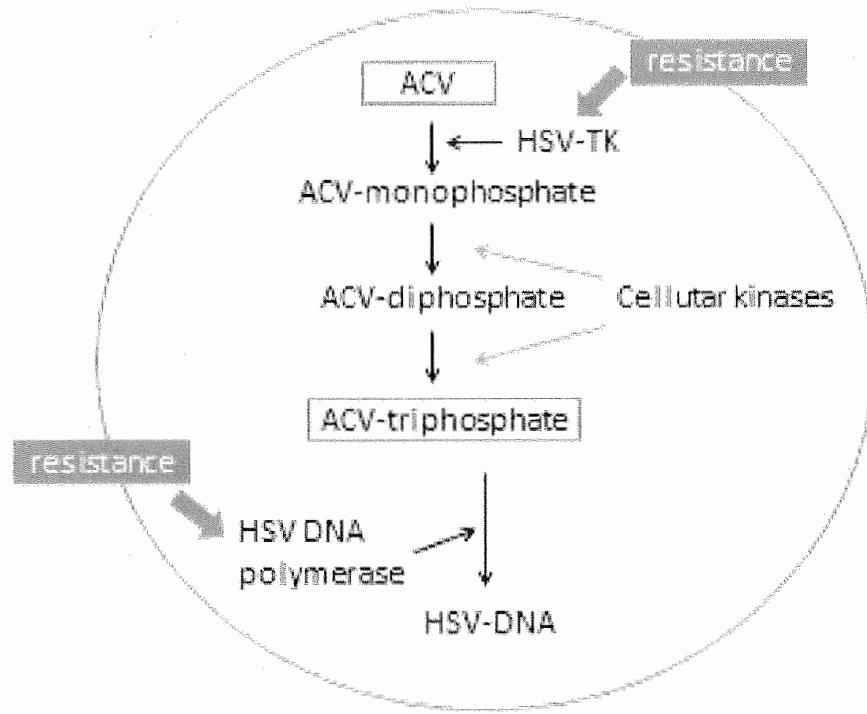


図1 ACVの作用機序および、HSVのACV耐性機序（文献1より引用、一部改変）
ACVはHSVなどもがvTKによってリン酸化を受け、DNA合成停止機能を発揮する3リン酸化体となる。HSVのACV耐性獲得はvTKまたはDNAポリメラーゼ変異によるが、前者が大多数を占める。

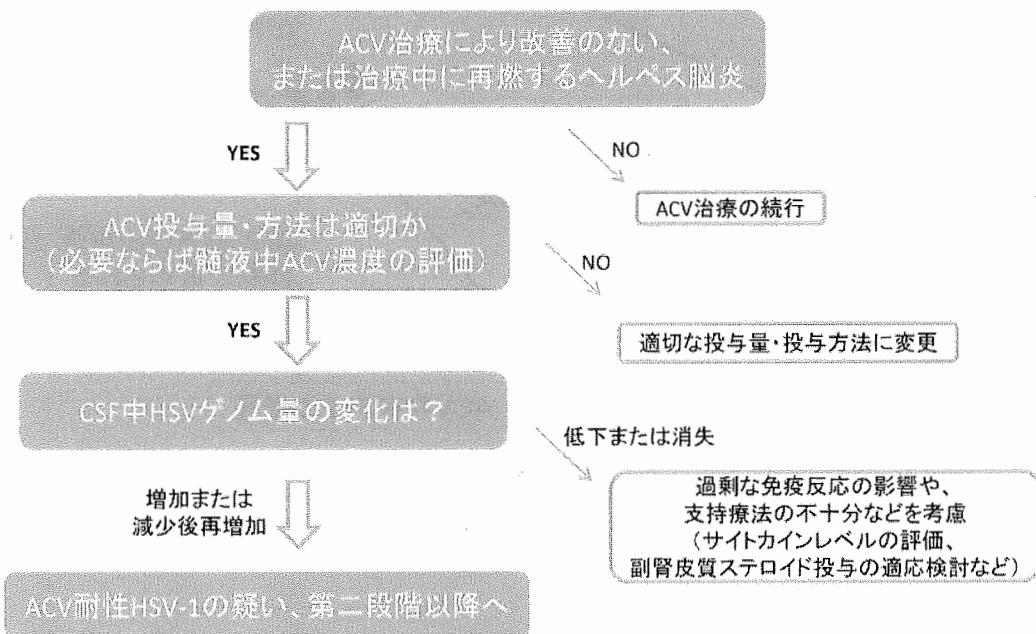


図2 臨床経過から、ACV耐性HSV-1の出現の可能性を考慮するプロセスのフローチャート(私案)。

2) 第二段階(vTK遺伝子の増幅・塩基配列の決定)

CSFから核酸を抽出しnested PCRを用いてHSV-1のvTK遺伝子を増幅する。vTK遺伝子が増幅された場合には、塩基配列を決定する。この段階で、停止コドン変異やフレームシフト変異およびACV耐性を誘導する既知のアミノ酸置換の遺伝子変異が見つかれば、ACV耐性が確定する。ACVへの感受性について未知のアミノ酸置換が見つかった場合、次の段階に進め、さらなる解析を行う。

3) 第三段階(vTK発現細胞の作成、vTK欠損HSV-1感染)

前段階でのPCR産物を発現ベクターにクローニングし培養細胞にトランスフェクションする。この細胞にACV高度耐性vTK欠損HSV-1を感染させ、各濃度のACV存在下、または、非存在下で12～24時間培養し、増殖したTAR株の感染価を測定する。もし当該変異が耐性変異でなければ、強制発現されたvTKのため、ACVが磷酸化されることによりACVによるTAR株増殖抑制効果が強くみられるが、耐性変異であればACVのリン酸化が不十分のためその効果は減弱する(図3)。

3. ACV耐性HSV-1による脳炎であることが世界で初めて証明された患者

患者は日齢12男児。哺乳力低下を主訴に来院し、典型的なヘルペス性皮疹を認め(図4a)、水疱底のHSV-1抗原が陽性で、新生児ヘルペスと診断された。PCRによるHSV-1ゲノム検出は、血液陰性、CSF陽性であり、中枢神経型新生児ヘルペスと診断された。ACV点滴静注(60mg/kg/日)を治療開始したところ、治療3週目までは順調に経過したが、4週目からCSF中HSV-1ゲノム量が再増加に転じた。ACV耐性HSV-1の出現を疑い、ビダラビン(15mg/kg/日)を追加し軽快した(図4b)。ACV治療への抵抗性の背景を明らかにするため、治療開始前(sample 1)および5週目のCSF(sample 2)からnested PCRによりvTK遺伝子を増幅し塩基配列を決定したところ、sample 2から増幅されたvTK遺伝子に入院時にはなかった、一アミノ酸置換Q125H(一塩基置換G375Tによる、耐性に関しては未知)が認められた(図4c)。そこで、上記の方法にのっとり解析した。ACV感受性HSV-1(TAS株)のvTK発現プラスミド(vTK-TAS)および、変異前TK

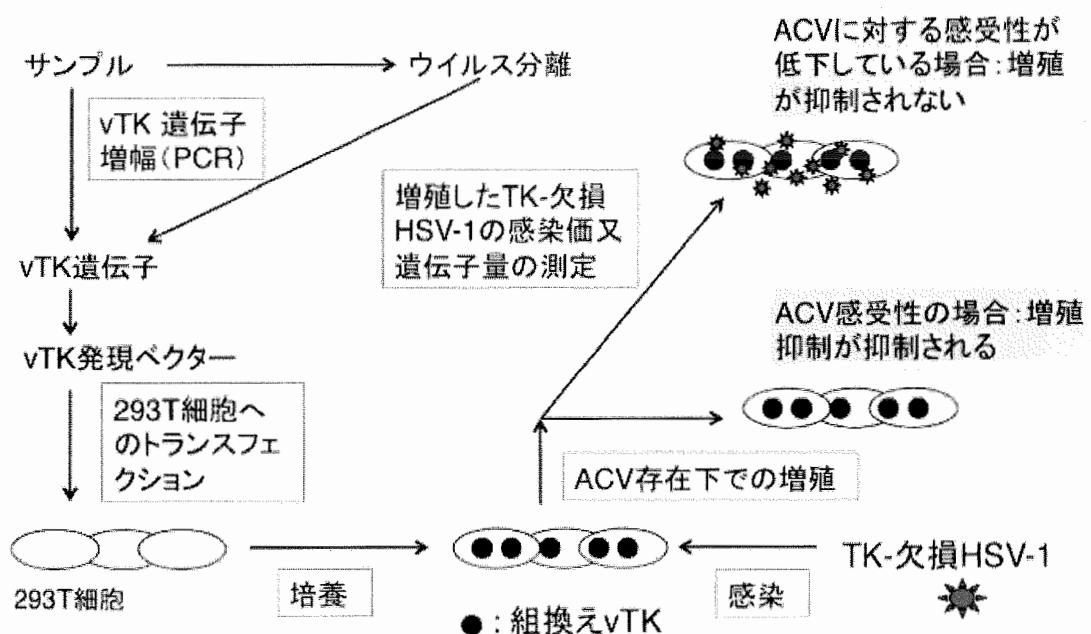


図3 vTK発現ベクターを用いたHSVのACV感受性アッセイ(文献11より引用、一部改変)。HSV-1において、耐性について未知のアミノ酸置換がvTKにみられた場合、クローニングしてベクターに組み込んで細胞で発現させる。この細胞にACV高度耐性vTK欠損HSV-1を感染させ、ACV存在下に培養し、ACVの増殖抑制効果を評価することで、間接的に変異vTKのACV感受性を評価することができる。

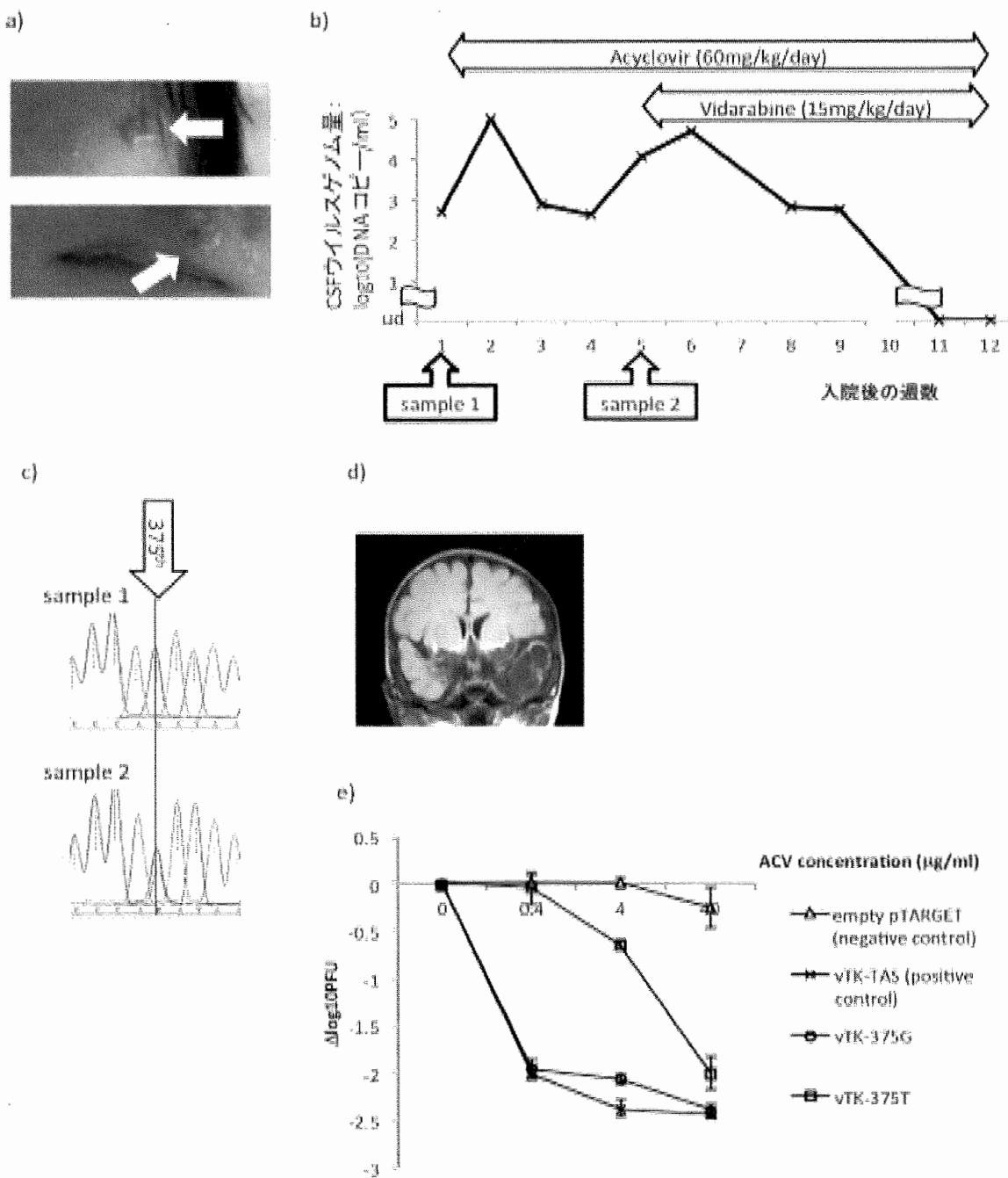


図4 実際の患者(中枢神経型新生児ヘルペス)でのアッセイの例(文献4より引用)。a)顔面の水疱。b)臨床経過。c) vTK 塩基配列。治療5週目の段階で、vTKの第375塩基がGからTに変異したウイルスが混在していた。d) MRI所見(T1強調画像)。左後側頭葉優位に破壊性病変が認められた。e) 薬剤感受性試験成績。ACVのTAR抑制効果を $\Delta \log_{10} \text{PFU}$ =(それぞれのACV濃度で増殖したTARの力価)-(ACV無しで増殖したTARの力価)で評価した。G375T変異(アミノ酸Q125H変異)を有するvTKが発現された細胞ではACVによるvTK欠損HSV-1増殖抑制効果が、変異なしに比べ減弱していることが示された。

発現プラスミド(vTK-375G)をトランスフェクションした細胞ではACVによるTAR株の増殖抑制が同程度にみられたが、変異TK発現プラスミド(vTK-375T)をトランスフェクションした細胞ではその抑制効果が劣っていた[図4d、ACVによるHSV-1のTAR株増殖抑制効果は、 $\Delta \log_{10} \text{PFU} = (\text{それぞれのACV濃度で増殖したTARの力価}) - (\text{ACV無しで増殖したTARの力価})$ で評価した]。ACV耐性HSV-1によるヘルペス脳炎がウイルス学的に証明された世界初の患者である。なお、MRI上は破壊性病変が認められ(図4e)、神経学的後遺症が残った。

なお、この報告に先行して、ヘルペス脳炎成人患者で、臨床的にACV治療抵抗性であり、ホスカルネットに治療効果があった報告がある¹³⁾。この患者では、CSFから增幅されたvTK遺伝子に複数変異が認められているとのことであるが、これらの変異が耐性を引き起こすかどうかは証明されていない。

結語

神経ウイルスの遺伝子診断として用いられるPCRの手法を応用したHSV-1のACV感受性試験の方法と、実際の患者での適用例を示した。今回紹介した方法は、①ウイルス分離が不成功でも施行できる、②他のvTK関連抗HSV剤についての感受性試験も可能であるといった利点を持つ。一方、この方法の現状での課題としては、①DNAポリメラーゼ遺伝子変異に基づく耐性については評価できない、②vTK遺伝子全長を一括して増幅するnested PCRの感度が限定的なためウイルスDNA量が少ない場合はアッセイができない、などがある。②の点を改善する手段としては、細分化したプライマーを設計しvTKの塩基配列を決定したのち、標準vTK発現ベクターにsite-directed mutagenesisを用いて変異を挿入し変異vTK発現ベクターを作成する方法などが考えられる。

ACV耐性HSVによる重篤な感染症は免疫不全患者でない限り非常に稀とされてはいるものの、薬剤の適切な変更により治療が成功し患者予後を改善させうるので、薬剤耐性についての診断は重要であり、今回示した方法はその一助となる。遺伝子診断法に応用を加えることによって、単に病原体の有無を診断するだけでなく、その性状をも解析できる可能性がある。

謝辞

この研究は日本学術振興会による科学研究費助成事業に基づいて行われた(登録番号21591402、24591591)。また、共同研究者である防衛医科大学小児科学教室の野々山恵章先生、子川和宏先生、若松太先生、国立感染症研究所ウイルス第一部の井上直樹先生に深謝いたします。

文献

- 1) Mutton K, Guiver M: Laboratory techniques for human viral encephalitis diagnosis. *Infect Disord Drug Targets* 11:206-234, 2011
- 2) Corey L, Spear PG: Infections with herpes simplex viruses (1). *N Engl J Med* 314:686-691, 1986.
- 3) Dennett C, Cleator GM, Klapper PE. HSV-1 and HSV-2 in herpes simplex encephalitis: a study of sixty-four cases in the United Kingdom. *J Med Virol* 53:1-3, 1997.
- 4) Whitley RJ: Neonatal herpes simplex virus infections. *J Med Virol Suppl* 1:13-21, 1993.
- 5) Bacon TH, Levin MJ, Leary JJ, et al: Herpes simplex virus resistance to acyclovir and penciclovir after two decades of antiviral therapy. *Clin Microbiol Rev* 16:114-28, 2003.
- 6) Piret J, Boivin G: Resistance of herpes simplex viruses to nucleoside analogues: mechanisms, prevalence, and management. *Antimicrob Agents Chemother* 55:459-472, 2011.
- 7) Kudo E, Shiota H, Naito T, et al: Polymorphisms of thymidine kinase gene in herpes simplex virus type 1: analysis of clinical isolates from herpetic keratitis patients and laboratory strains. *J Med Virol* 56:151-158, 1998.
- 8) Morfin F, Souillet G, Bilger K, et al: Genetic characterization of thymidine kinase from acyclovir-resistant and

- susceptible herpes simplex virus type 1 isolated from bone marrow transplant recipients. *J Infect Dis* 182:290-293, 2000.
- 9) Nahmias AJ, Whitley RJ, Visintine AN, Y. et al: Herpes simplex virus encephalitis: laboratory evaluations and their diagnostic significance. *J Infect Dis* 145:829-836, 1982.
- 10) Shiota T, Wang L, Takayama-Ito M, et al: Expression of herpes simplex virus type 1 recombinant thymidine kinase and its application to a rapid antiviral sensitivity assay. *Antiviral Res* 91:142-149, 2011.
- 11) 西條政幸：アシクロビル耐性単純ヘルペスウイルスによる中枢神経感染症, *Neuroinfection* 17:132-135, 2012.
- 12) Kakiuchi S, Nonoyama S, Wakamatsu H, et al: Neonatal herpes encephalitis caused by a virologically confirmed acyclovir-resistant herpes simplex virus 1 strain. *J Clin Microbiol* 51:356-359, 2012.
- 13) Schulte EC, Sauerbrei A, Hoffmann D, et al: Acyclovir resistance in herpes simplex encephalitis. *Ann Neurol* 67:830-833, 2010.

会の現況

(2013年4月1日現在)

顧問	井形 昭弘	加地 正郎	倉田 毅	萬年 徹	
特別功労会員	糸山 泰人 岩田 誠	葛原 茂樹 塙澤 全司	庄司 紘史 高須 俊明	富樫 武弘 古川 漸	松永 宗雄 水谷 智彦
功労会員	渥美 哲至 内野 誠 岡部 信彦 小鹿 幸生 岸田 修二	栗原 照幸 栗山 勝 黒岩 義之 黒田 康夫 清水 輝夫	高柳 哲也 竹内 博明 田代 邦雄 寺尾 壽夫 長嶋 和郎	西丸 雄也 服部 孝道 本藤 良 松本 博之 水野 美邦	森松 光紀 山口 英世 山本 恃司 湯浅 龍彦 若山 吉弘
理事長	水澤 英洋				
理事	大原 義朗 亀井 聰	辻 省次 中川 正法	中野 今治 布井 博幸	原 寿郎 細矢 光亮	水澤 英洋 山田 正仁
監事	池田 修一	楠原 浩一			
評議員	相原 正男 綾部 光芳 荒木 俊彦 荒木 信夫 有村 公良 飯塚 高浩 池田 修一 石川 欽也 石崎 義人 伊住 浩史 出雲 周二 市川 博雄 市山 高志 井出 俊光 伊藤 瑞規 糸川 かおり	河村 満 神田 隆 岸田 日帶 木村 成志 吉良 潤一 吉良 龍太郎 楠 進 楠原 浩一 久保田 龍二 倉根 一郎 栗田 正 小島 重幸 西條 政幸 齊藤 峰輝 佐々木 秀直 佐多 徹太郎 犬塚 貴 岩崎 靖 上野 聰 尾内 一信 大石 実 太田 宏平 大原 義朗 小川 克彦 影山 恭史 梶 龍兒 形岡 博史 片山 泰朗 亀井 聰 河島 尚志	砂田 芳秀 瀬川 文徳 祖父江 元 平良 直人 高嶋 博 高梨 潤一 高橋 輝行 高橋 幸利 高橋 良輔 高橋 若生 瀧山 嘉久 田中 恵子 田中 正美 谷脇 考恭 玉岡 晃 田村 正人 千葉 進 辻 省次 塙田 宏嗣 塙見 正司 宍戸-原 由紀子 嶋崎 晴雄 自見 隆弘 下濱 俊 東海林 幹夫 調 減 新藤 和雅 鈴木 重明 鈴木 則宏 鈴木 裕 鈴木 ゆめ	中根 俊成 中野 今治 長野 祐久 中村 龍文 滑川 道人 成田 光生 西澤 正豊 布井 博幸 野倉 一也 野村 恒 馬場 恭一 濱野 忠則 原 寿郎 平田 幸一 平山 幹生 藤田 浩司 藤田 之彦 藤原 一男 渕上 達夫 法化団 陽一 細矢 光亮 前垣 義弘 松井 真 松本 昌泰 三浦 義治 三木 健司 水口 雅 水澤 英洋 武藤 多津郎	村井 弘之 村上 龍文 村田 顕也 村山 繁雄 持田 嘉之 望月 秀樹 森内 浩幸 森田 恒雄 矢部 昭彦 山田 一郎 山内 正仁 山本 秀雄 山脇 知盛 山脇 健弘 吉井 基隆 吉川 文均 吉川 哲史 吉川 秀人 吉川 浩男 吉田 誠克 吉田 真理 米田 誠 陸 重雄

(144名:五十音順)

逝去会員 粟屋 豊
(2012/10/3逝去) 濱田 毅
(2010/5/13逝去)

賛助会員 グラクソ・スミスクライン株式会社

総会員数 575名 (一般会員:391名)

事務局 株式会社 春恒社

日本神経感染症学会会則

第1条 本会は日本神経感染症学会 (Japanese Society for Neuroinfectious Diseases) と称する。

第2条 本会は神経感染症に関する基礎的及び臨床的研究と教育の発展を図り、併せてその成果を社会へ還元することを目的とする。

第3条 本会の目的を達成するために次の事業を行う。

- (1) 年次集会「日本神経感染症学会 総会・学術集会」の開催
- (2) 学会誌(NEUROINFECTION)の発行
- (3) その他 本会の目的に必要な調査、研究、教育および啓発活動

第4条 本会の正会員は、前条の目的にかなった調査・研究を行う研究者であつて、評議員会によって承認されたものとする。会員は会費納入の義務を負う。

第5条 役員(評議員、会長、理事、監事、理事長及び顧問)

1. 評議員は理事会により正会員より選出される。
2. 評議員は本会の運営につき審議する。
3. 理事は評議員の中より若干名選出される。
4. 理事は、本会の運営に当たる。
5. 理事の互選により理事長を選出する。
6. 会長 1 名を評議員の中から選ぶ。会長の任期は 1 年とし、年次集会「総会・学術集会」を担当する。会長は評議員会及び総会を招集する。
7. 会計監査のため、評議員の中より 2 名の監事を任命する。監事は理事を兼ねない。
8. 助言者として若干名の顧問をおくことができる。
9. 上記役員の任期は 2 年とし、再任を妨げない。

第6条 会議（評議員会、理事会、総会）は、それぞれ以下の事項を担当する。

1. 評議員会は委任状を含め半数以上の評議員の出席をもって成立し、次の事項を審議決定する。
 - (1) 年次集会「日本神経感染症学会 総会・学術集会」の開催
 - (2) 学会誌の発行
 - (3) 会員の入会と退会
 - (4) 理事会の選出した役員の承認
 - (5) 会則の変更
 - (6) その他、本会の目的に必要な調査・研究・教育などの事業
 - (7) 次年度予算と前年度決算
2. 理事会は会の運営に当たる。
3. 総会は評議員会での審議決定の報告を受け、意見を述べることができる。

第7条 本会の事務局は、評議員会の指定するところにおく。

第8条 1. 本会の経費は会費その他をもって充てる。
2. 本会の会計年度は4月1日に始まり、3月31日に終わるものとする。
3. 会員は年度初めまでに当該年度の会費を納入するものとする。
4. 本会の毎会計年度収支決算はその前年度終了後監査を受け、評議員会の承認に付するものとする。

附則1 本会の事務局は、当分の間、株式会社春恒社におく。

附則2 本会則は2006(平成18)年4月1日から実施する。

附則3 本会の会費は年額以下のごとく定める。

【会費】

一般会員	_____	¥7,000-
評議員	_____	¥9,000-
理事	_____	¥10,000-
賛助会員	_____	¥50,000-(一口) ※一口以上

[2005(平成17)年10月20日一部変更]

[2010(平成22)年10月7日一部変更]

[2012(平成24)年10月19日一部変更]

「NEUROINFECTION」投稿規程

[2012年12月改訂]
[2013年 5月改訂]

1. 投稿にあたって

- 1) 著書、共著者は日本神経感染症学会会員に限らない。
- 2) 論文の内容は神経感染症に関連するものを広く採用する。
- 3) 投稿論文(原著、症例報告)は国内外の他雑誌に掲載されていないもの、あるいは投稿中でない論文に限る。なお、英文の論文も受け付ける。
- 4) 投稿論文の採否は編集委員会での審査により決定する。
- 5) 論文審査料は無料とする。
- 6) 論文掲載料は無料であり、写真については原則白黒とする。ただし、カラー写真を希望とする場合は実費を徴収する。
- 7) 別刷は有料とする。50部単位で実費を徴収する。
- 8) すべての論文の著作権は日本神経感染症学会に帰属する。

2. 論文の構成

投稿論文(原著、症例報告)：原著は要旨300字以内、本文400字詰原稿用紙20枚(8000字)以内、文献30以内、図表8個以内、英文抄録500語以内とする。(但し、学術集会関連の総説原稿の場合は、英文抄録の提出が無い場合でも可とする。)

症例報告は、6000字以内、文献20個以内、図表6個以内、要約、英文抄録は原著と同じ。

	要約	本文	文献	図・表	英文抄録
原著	300字	8000字以内	30個以内	8個以内	500語
症例報告	300字	6000字以内	20個以内	6個以内	500語

3. 執筆要項

- 1) 原稿送付先

〒169-0072 東京都新宿区大久保2-4-12 新宿ラムダックスビル9F
 株式会社春恒社 学会事業部(内)
 日本神経感染症学会 事務局 編集委員長 宛
 電話：03-5291-6231 FAX：03-5291-2176

- 2) 原稿はパソコンまたはワープロに限り、A4判(1枚あたり2000字まで)で印刷したものとする。
- 3) 原稿の電子ファイルを送ること、メディアはCD-R、USBメモリーとする。
(OS、ソフトウェア、ファイル名を必ず記載のこと。)
- 4) 投稿論文の原稿はオリジナル1部、コピー2部(図表を含む)を送ること。
- 5) 投稿論文とともに、共著者全員の署名の入った投稿承諾書を送ること。
- 6) 表紙には和文、英文で表題、著者名、所属、連絡先を記す。
- 7) 表紙にはKey Wordsを英語と日本語で掲げる。(5つまで)
- 8) 投稿論文の場合、要旨について本文として、はじめに、目的、対象・方法、考察、結論または結語などの項目を掲げる。また、症例報告の場合、症例という項目を掲げてもよい。

- 9) 専門用語以外は当用漢字、現代仮名遣いを用い、句読点を正確に書く。
- 10) 外国語の固有名詞(人名、地名)は原語のまま用いる。すでに日本語化して久しいものはなるべくカタカナとする。商標薬品名®、その他の固有名詞の頭文字は大文字とするが、文中の外国語単語(病名、その他)の頭文字は、ドイツ語名詞及び文頭の場合を除きすべて小文字とする。
- 11) 数字は算用数字を用い、度量衡単位は CGS 単位で、m, cm, mm, cm², Kg, g, mg などとする。
- 12) 写真、図、表には必ず表題をつける。また必要に応じて説明もつけること。組織標本には染色法と倍率を付ける。写真は原寸大で印刷できる大きさで、十分鮮明なものとし、原寸大の大きさは 21cm×14cm を限度とする。写真は原則として白黒とする。
- 13) 文献は本文に用いられたものを引用順に挙げ、引用番号は、本文中の引用箇所に肩番号で記す。また、文献は下記のように記載し、欧文雑誌の略名は最近の Index Medicus に従う。

[雑誌の場合]著者氏名：題名、誌名、巻数：起始頁—最終頁、西暦発行年

[書籍の場合]著者氏名：書名、版数、発行所名、発行地、西暦発行年、巻数、引用頁

執筆者名：論文名、書籍名、編集者名、章(または巻)、発行所名、発行地、
西暦発行年、引用頁(起始頁—最終頁)

学会発表の抄録を引用するときは表題の最後に(会)、欧文発表の場合は(abstr)とする。

- 14) 引用文献の著者氏名は、3名以内の場合は全員を書き、4名以上の場合は3名連記の上、「ほか」あるいは et al とする。

4. 引用文献例

- 1) Whitley RJ, Alford CA, Hirsch MS, et al:Vidarabine versus acyclovir therapy in herpes simplex encephalitis. N Engl J Med 314:144–149, 1986.
- 2) Baringer JR, Pisani P:Herpes simplex virus genomes in human nervous system tissue analyzed by polymerase chain reaction, Ann Neurol 36:823–829, 1994.
- 3) 水谷裕迫、水谷弘子、亀井聰、ほか：単純ヘルペスウイルス脳炎のウイルス血清学的診断に関する研究、感染症学会誌 58:187–196, 1984.
- 4) 平井良、三浦夕美子、綾部光芳、ほか：海馬に限局した MRI 所見を呈したヘルペス脳炎で、肺小細胞癌が判明した 1 症例(会)、Neuroinfection 8:57, 2003.
- 5) Heilman KM, Valenstein E, eds:Clinical Neuropsychology, 2nd ed. Oxford University Press, Oxford, 1985, pp94–97.
- 6) 岩田誠、織田敏次 監修:新・病気とからだの読本 第 1巻 消化器、暮らしの手帖社、東京、2000, pp52–58.
- 7) 高須俊明:ウイルス性脳炎(亀山正邦、高倉公明、編)。今日の神経疾患治療指針、医学書院、東京、1994, pp325–328.

投稿承諾書

年 月 日 提出

日本神経感染症学会 殿

論文題名 : _____

筆頭著者 所属 : _____

フリガナ
氏名 : _____ 印

上記の論文を日本神経感染症学会に投稿することを、共著者として承諾いたします。
また、本論文の著作権が日本神経感染症学会に帰属することに、筆頭著者を含め異議ございません。

共著者

所属 : _____ フリガナ
氏名 : _____ 印

編集責任者 原 寿郎

Neuroinfection 第18巻1号
発行 平成25年8月12日
発行者 水澤 英洋

発行所 日本神経感染症学会事務局
〒113-8519 文京区湯島1-5-45
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
脳神経病態学（神経内科）分野
TEL: 03-5803-5234
FAX: 03-5803-0169

印刷所 S&M トラスト株式会社
〒811-2312 福岡県糟屋郡粕屋町戸原231-1
TEL: 092-939-2211
FAX: 092-931-3788
E-mail: sandm-t@sandm-t.com

正 誤 表

発行所 日本神経感染症学会事務局
〒113-8519 文京区湯島1-5-45
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
脳神経病態学(神経内科)分野
TEL: 03-5803-5234
FAX: 03-5803-0169

発行所 〒169-0072 東京都新宿区大久保 2-4-12
新宿ラムダックスビル 9F
株式会社春恒社 学会事業部
TEL: 03-5291-6231
FAX: 03-5291-2176

