

**急性弛緩性麻痺を認める疾患の
サーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き**

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業

**「エンテロウイルス等感染症を含む急性弛緩性麻痺・
急性脳炎・脳症の原因究明に資する臨床疫学研究」
研究班**

平成30（2018）年4月

目次

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

はじめに

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

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

平成30（2018）年4月

厚生労働科学研究費補助金
新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業
「エンテロウイルス等感染症を含む
急性弛緩性麻痺・急性脳炎・脳症の原因究明に資する臨床疫学研究」
研究代表者 多屋 馨子

文献*

Chong PF, Kira R, Mori H, Okumura A, Torisu H, Yasumoto S, Shimizu H, Fujimoto T, Hanaoka N, Kusunoki S, Takahashi T, Oishi K, Tanaka-Taya K; AFM collaborative study investigators. Clinical Features of Acute Flaccid Myelitis Temporally Associated with an Enterovirus D68 Outbreak: Results of a Nationwide Survey of Acute Flaccid Paralysis in Japan, August-December 2015. Clin Infect Dis 66(5):653-664, 2018. doi: 10.1093/cid/cix860.

執筆者一覧（五十音順）

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

執筆担当

診断・届出のフローチャート（多屋）

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

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

診断・届出のフローチャート

急性弛緩性麻痺を認める症例

渡航歴・予防接種歴を含めた詳細な病歴聴取、神経学的診察
血液検査、髄液検査、脳及び全脊髄 MRI（矢状断、横断、ガドリニウム造影を含む）、
電気生理学的検査（運動・感覚神経伝導検査と F 波検査を患側と健側の両方で実施）
救急の現場では、脊髄圧迫による急性ミエロパチーを鑑別し、
毒物や薬物についても検討する必要がある

診断時の年齢が 15 歳未満で、感染症法に基づく感染症発生动向調査で 5 類感染症全数把握疾患である「急性弛緩性麻痺」の届出基準(10 頁)を満たした場合は、診断後 7 日以内に管轄の保健所に届出 (11 頁)。

ただし、急性灰白髄炎（ポリオ）との鑑別のため、診断後速やかに病原体検査のための検体を採取し、検査結果を待つことなく、出来るだけ速やかに管轄の保健所へ届出が必要。（届出票：11 頁）。（2018 年 5 月 1 日施行）

急性弛緩性麻痺を起こす疾患は多数あり、届出基準 (10 頁) の臨床的特徴に記載されているポリオ様麻痺、急性弛緩性脊髄炎、急性脳脊髄炎、急性脊髄炎、ギラン・バレー症候群、急性横断性脊髄炎、Hopkins 症候群等が含まれる。可能な限り、届出票 (11 頁) の空欄に臨床診断名を記載する。

感染症のまん延の防止や原因究明に重要と考えられる下記の様な情報がある場合は、できるだけ届出票 (11 頁) の空欄に記載する。
例 1：急性弛緩性麻痺の症状を認めるが、*Campylobacter jejuni* が便から検出されており、GBS が疑われる。例 2：数日前から発熱、喘鳴を認め、急激に四肢の麻痺を発症した。2015 年に多発した EVD68 による急性弛緩性脊髄炎を疑っている。例 3：便秘、対光反射の減弱、瞳孔散大から、乳児ボツリヌス症を疑っており、迅速な検査が必要である。例 4：保育所に通園中であるが、同じ保育所に同様の症状を認める児がいる。例 5：野生株ポリオ流行国への渡航歴がある友人と数日間を過ごす。友人は発熱、感冒症状を訴えていた。等

1 週間以内（急性期：麻痺発症後できるだけ早期、麻痺初発日が望ましい）の 5 点セットを採取し、マイナス 70℃以下に凍結保管（各検体 2 つ以上に分注）

【検体の種類：5 点セット】

- 1) 血液 (EDTA 加血)：
採取後 2 日以内に、末梢血単核球と血漿成分に分けられる場合は、分けることが望ましい。
- 2) 髄液
- 3) 呼吸器由来検体（後鼻腔ぬぐい液、咽頭ぬぐい液、後鼻腔吸引液、下気道由来検体など：可能であれば複数）
*必ず鼻咽頭（後鼻腔）由来の検体を採取し、加えて可能な限り下気道由来の検体も採取する。その際、気管内挿管されている場合は、気管内吸引液でよい。
- 4) 便（発症後できるだけ速やかに、24 時間以上の間隔をあけて、2 回採取。排便が認められない場合は、直腸ぬぐい液）
- 5) 尿

【急性期と回復期（発症後 2 週間以降）のペア血清】なお、ヒト免疫グロブリン製剤を投与する場合は、投与前、投与後 1, 3, 6 か月：数値の動きを見る上で参考になる場合があるので、製剤の種類とロット番号を控えておく。

直ちに急性灰白髄炎（ポリオ）との鑑別が必要なため、発症後できるだけ速やかに、24 時間以上の間隔をあけ 2 回採取した便あるいは直腸ぬぐい液を、管轄の保健所に相談の上、提出する。その他の検体については、必要に応じて、エンテロウイルス D68、エンテロウイルス A71 をはじめとするエンテロウイルス属、ボツリヌス毒素、その他、急性弛緩性麻痺を認める可能性のある病原体について検討する。なお、検討方法・内容については管轄の保健所と相談するが、検討には急性期検体の凍結保管が重要となる。

届出後の病原体検査によりポリオウイルス又はボツリヌス毒素が検出され、急性灰白髄炎（ポリオ）又はボツリヌス症と診断された場合は、「急性弛緩性麻痺」の届出を取り下げ、改めて「急性灰白髄炎」又は「ボツリヌス症」の届出を行う。

1. 急性弛緩性麻痺（AFP）および急性弛緩性脊髄炎（AFM）の説明

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

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

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

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

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

AFP と AFM

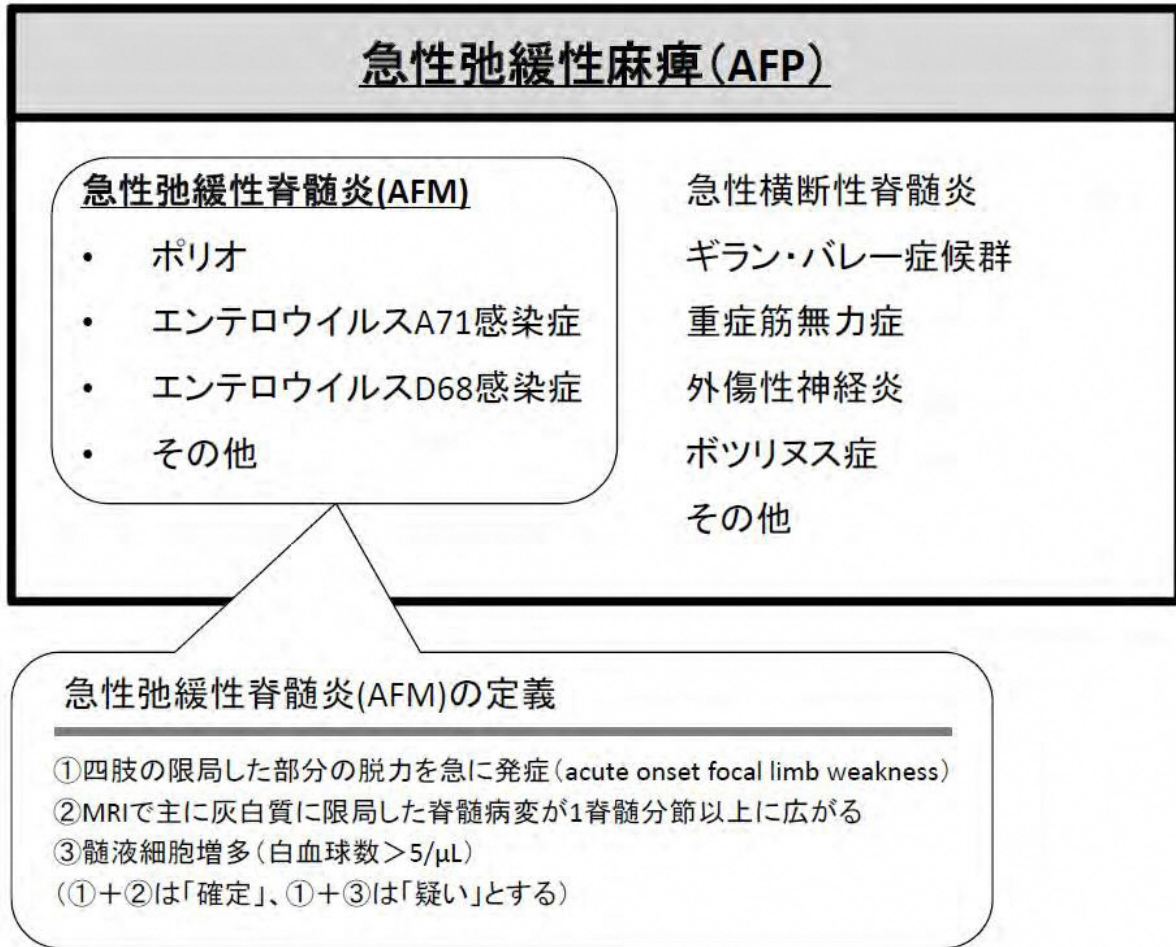


図1 AFP と AFM

文献

1. World Health Organization. Manual for immunization programme managers on activities related to polio eradication. March 1989, Geneva, WHO, Switzerland.
2. Quadros CAD, et al. Eradication of poliomyelitis : Progress in the Americas. *Pediatr Infect Dis J* 10 : 222-229, 1991.
3. World Health Assembly. Global eradication of polio myelitis by the year 2000. Geneva : World Health Organization, 1988 (Resolution WHA41, 28).
4. 吉良龍太郎. エンテロウイルス D68 感染症に関連する神経疾患. *臨床とウイルス* 44 (3) : 107-111, 2016.
5. 中村朋史, 清水博之. エンテロウイルス D68 感染症. *臨床と微生物* 42 (3) : 69-75, 2015.

2. 急性弛緩性麻痺 (AFP) を認める疾患の鑑別

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

1) 急性弛緩性麻痺 (AFP) を呈する疾患

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

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

2) 鑑別の進め方

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

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

3) 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) について

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

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

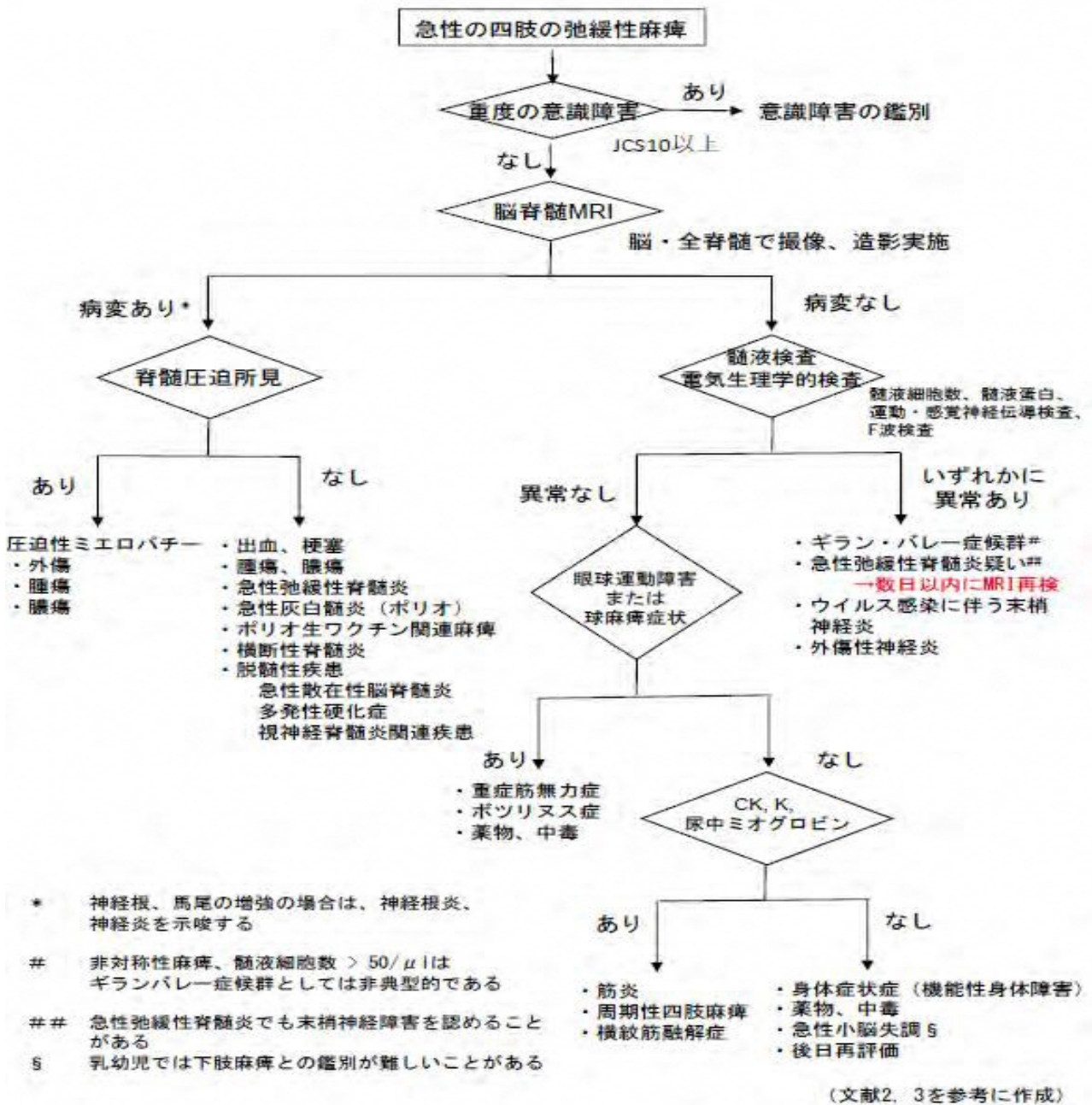
表 1. 急性弛緩性麻痺を呈する主な疾患の病変と病態

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

（文献 2, 3 を参考に作成）

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

図2 急性弛緩性麻痺の鑑別



文献

1. Chong PF, et al. Clinical Features of Acute Flaccid Myelitis Temporally Associated with an Enterovirus D68 Outbreak: Results of a Nationwide Survey of Acute Flaccid Paralysis in Japan, August-December 2015. Clin Infect Dis 66(5):653-664, 2018. doi: 10.1093/cid/cix860.
2. Marx A, et al. Differential Diagnosis of acute flaccid paralysis and its role in poliomyelitis surveillance. Epidemiologic Reviews 22:298-316, 2000.
3. Singhi SC, et al. Approach to a child with acute flaccid paralysis. Indian J Pediatr 79:1351-1357, 2012.

3. 急性弛緩性麻痺 (AFP) の症例定義・届出票

5 類感染症全数把握疾患

4 急性弛緩性麻痺（急性灰白髄炎を除く。）

(1) 定義

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

(2) 臨床的特徴

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

(3) 届出基準

ア 患者（確定例）

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

イ 感染症死亡者の死体

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

(4) 届出に必要な要件（3つすべてを満たすもの）

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

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

別記様式 5-4

急性弛緩性麻痺（急性灰白髄炎を除く。）発生届

都道府県知事（保健所設置市長・特別区長） 殿

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

報告年月日 平成 年 月 日

医師の氏名 _____ 印
 （署名又は記名押印のこと）

従事する病院・診療所の名称 _____
 上記病院・診療所の所在地（※） _____
 電話番号（※） _____
 （※病院・診療所に従事していない医師にあっては、その住所・電話番号を記載）

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

2 性別	3 診断時の年齢（0歳は月齢）
男・女	歳（ か月）

病 型		11 感染原因・感染経路・感染地域
1) 病原体 ()		①感染原因・感染経路（確定・推定）
2) 病原体不明		1 飛沫・飛沫核感染（感染源の種類・状況：)
4 症状	<ul style="list-style-type: none"> ・弛緩性麻痺 左 upper 肢・右 upper 肢・左 lower 肢・右 lower 肢・呼吸筋・顔面・他 () ・深部腱反射低下 ・膀胱直腸障害 ・瞳孔散大 ・筋萎縮・筋肉痛・頭痛・髄液蛋白質増加 ・髄液細胞数増加・発熱・喘鳴・咳・鼻汁 ・下痢・嘔吐・便秘・腹痛・意識障害・感覚障害 ・小脳症状・不随意運動・脊髄の画像異常所見 ・その他 () 	2 接触感染（接触した人・物の種類・状況：)
		3 経口感染（飲食物の種類・状況：)
5 診断方法	<ul style="list-style-type: none"> ・次の①～③の全ての要件を満たすことを確認 ①15歳未満 ②急性の弛緩性の運動麻痺症状を伴って死亡した者、又は当該症状が24時間以上消失しなかった者 ③明らかに感染性でない血管障害、腫瘍、外傷、代謝障害などでないこと、及び痙性麻痺でないこと 	4 その他 ()
		②感染地域（ 確定・推定 ）
6 初診年月日	平成 年 月 日	1 日本国内（ 都道府県 市区町村）
7 診断（検案（※））年月日	平成 年 月 日	2 国外（ 国 詳細地域)
8 感染したと推定される年月日	平成 年 月 日	③ポリオウイルス検査の実施（有・無）
9 発病年月日（*）	平成 年 月 日	④ポリオ含有ワクチン接種歴
10 死亡年月日（※）	平成 年 月 日	1回目 有（ か月）・無・不明
		ワクチンの種類（生・IPV・DPT-IPV・不明）
		接種年月日（S・H 年 月 日 ・不明）
		製造会社/Lot 番号（ / ・不明）
		2回目 有（ か月）・無・不明
		ワクチンの種類（生・IPV・DPT-IPV・不明）
		接種年月日（S・H 年 月 日 ・不明）
		製造会社/Lot 番号（ / ・不明）
		3回目 有（ か月）・無・不明
		ワクチンの種類（生・IPV・DPT-IPV・不明）
		接種年月日（S・H 年 月 日 ・不明）
		製造会社/Lot 番号（ / ・不明）
		4回目 有（ 歳）・無・不明
		ワクチンの種類（生・IPV・DPT-IPV・不明）
		接種年月日（S・H 年 月 日 ・不明）
		製造会社/Lot 番号（ / ・不明）
		その他：海外でポリオ含有ワクチンの接種歴がある場合（生・IPV含有ワクチン・不明）
		接種年月日（H 年 月 日 ・不明）
		製造会社/Lot 番号（ / ・不明）

(1, 2, 4, 11 欄は該当する番号等を○で囲み、3, 6 から 10 欄は年齢、年月日を記入すること。
 (※) 欄は、死亡者を検案した場合のみ記入すること。
 (*) 欄は、患者（確定例）を診断した場合のみ記入すること。
 4, 11 欄は、該当するものすべてを記載すること。)

4. 急性弛緩性麻痺 (AFP) サーベイランスとウイルス学的診断

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

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

I. ポリオ AFP サーベイランス

1) 世界ポリオ根絶計画における AFP サーベイランス

AFP は、ポリオウイルス感染による急性灰白髄炎 (ポリオ; poliomyelitis) の典型的臨床症状であり、AFP サーベイランスおよび AFP 症例に由来する便検体の病原体検査は、世界保健機関 (World Health Organization; WHO) を中心として進められている世界ポリオ根絶計画における標準的サーベイランスとして、世界的に確立した手法である。AFP サーベイランスに基づく、野生株ポリオウイルスあるいはワクチン由来ポリオウイルス (vaccine-derived poliovirus; VDPV) 伝播の迅速かつ正確な把握は、ワクチン追加接種等によるポリオウイルス伝播の効果的コントロールにとって不可欠である。

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

2) ポリオを対象とした世界的 AFP サーベイランスの概要

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

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

3) 日本におけるポリオサーベイランス

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

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

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

II. ポリオウイルス以外のウイルスによる急性弛緩性麻痺

1) 非ポリオエンテロウイルスと AFP

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

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

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

2) エンテロウイルス A71 による AFP

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

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

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

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

4) その他のウイルスと AFP

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

III. AFP サーベイランスにおける検体採取の概要

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

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

表2 急性弛緩性麻痺症例に実施するウイルス検査方法と検査材料

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

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

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

【検査のために必要な検体】

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

1. 採取検体の種類

- ① 麻痺発症後数日以内（麻痺初発日が望ましい）の 5 点セット
 - 1) 血液（EDTA 加血）：採取後 2 日以内に、末梢血単核球と血漿成分に分けられる場合は、分けることが望ましい。
 - 2) 髄液
 - 3) 呼吸器由来検体（後鼻腔ぬぐい液、咽頭ぬぐい液、後鼻腔吸引液、下気道由来検体など：可能であれば複数） *必ず鼻咽頭（後鼻腔）由来の検体を採取し、加えて可能な限り下気道由来の検体も採取する。その際、気管内挿管されている場合は、気管内吸引液でよい。
 - 4) 便（発症後できるだけ速やかに、24 時間以上の間隔をあけて、2 回採取、排便が認められない場合は、直腸ぬぐい液）
 - 5) 尿

- ② 急性期と回復期のペア血清（ヒト免疫グロブリン製剤を投与する場合は、投与前、投与後 1, 3, 6 か月：数値の動きを見る上で参考になる場合があるので、製剤の種類とロット番号を控えておく。）

2. 検体採取器材

起因病原体としてウイルスが想定される場合、上記 1. の①3) 呼吸器由来検体と、4) 便に、細菌培養用の保存器材を使用してはならない（細菌用の器材に採取した検体からのウイルス検出は PCR・ウイルス分離ともに困難である）。また、エンテロウイルス等は乾燥に弱いので、綿棒の先端を保存液に浸す。

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

3. 検体の保存・輸送

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

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

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

【検体採取時の留意点】

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

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

(イ) 滅菌綿棒は、もしあればフロックスワブ*が望ましい。

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

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

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

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

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

【検体保管・輸送時の留意点】

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

【検査に必要とされるサンプルの種類】

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

基本5点セット：急性期（発症後数日以内：初発日が望ましい）

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

【検査に必要とされる検体の条件】

基本5点セット

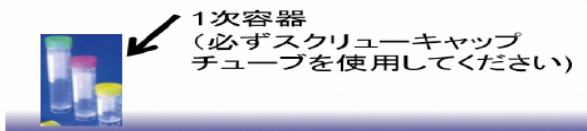
- 基本的に凍結サンプルが適している
- 急性期に採取し、小分けで保管する
- すぐに-70℃以下に凍結保管
- 凍結融解を繰り返さない
- 回復期血清を凍結保管

原因究明に極めて重要

【検体の採取法、保存法】

①血液（EDTA 加血）：急性期が望ましく、**可能な限り1mL以上**。採取後、**小分けにして血清保管チューブ等に密封して直ちに-70℃以下に保存**。ドライアイスと共に輸送。
※ 採取後2日以内に、末梢血単核球と血漿成分に分けられる場合は、分けることが望ましい。

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



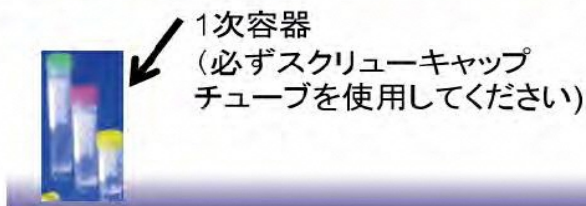
※ スクリューキャップチューブがない場合は、凍結保存・搬送の際に、蓋が開かないように厳重に密封すること。

【検体の採取法、保存法】

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

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

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



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

【検体の採取法、保存法】

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

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

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

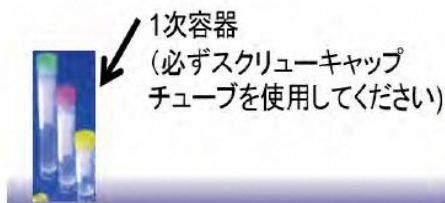


注 咽頭等をぬぐった後の綿棒は、細菌培養用の培地には絶対に入れないこと。ウイルス学的な検査が不可能となる。

【検体の採取法、保存法】

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

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



1次容器
(必ずスクリーキャップ
チューブを使用してください)

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

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

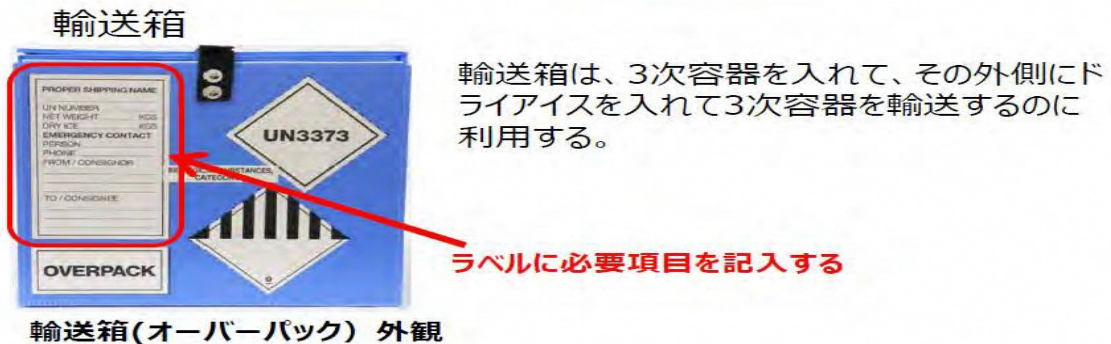
【検体の輸送法：感染研】

輸送前に、輸送内容、日時を事前に打ち合わせます。
(通常の宅急便は利用することができません。専門業者に依頼します)
臨床サンプルは、カテゴリーBに該当します。
サンプルの輸送にはカテゴリーB用の輸送容器を利用する必要があります。専用容器は感染研からお送りします。

臨床サンプルの梱包方法は下記サイトを参考にしてください
(<http://www.nih.go.jp/niid/ja/biorisk-guidance/947-youkisb.html>)

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

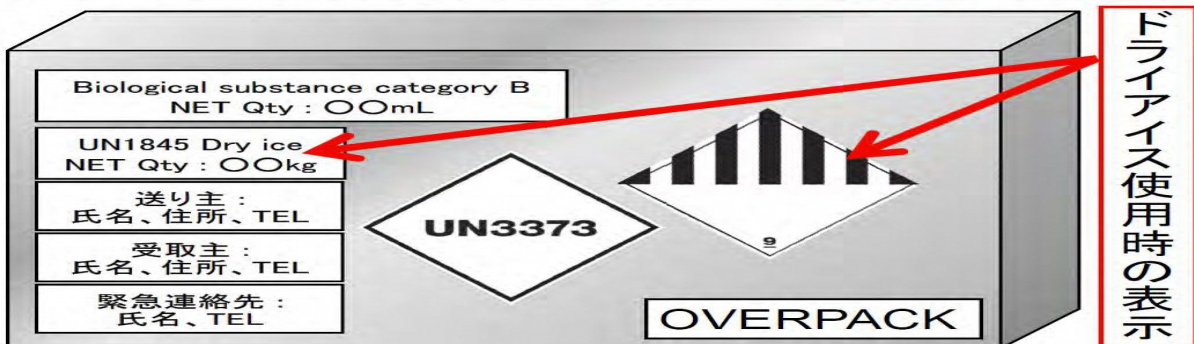
検体搬送用容器一覧



ステップ6

オーバーパック(4次容器)への表示例

カテゴリーBの場合(ドライアイス使用)の場合



梱包手順

梱包手順 - 1



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

梱包手順 - 2



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

梱包手順 - 3



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

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

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

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

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

AFP 症例由来検体のウイルス学的検査

I. ポリオウイルス

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

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

II. 非ポリオエンテロウイルス

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

検査主体

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

1) エンテロウイルス D68 (EV-D68) 検査法

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

ウイルス RNA の抽出

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

表 3 EV-D68 特異的リアルタイム PCR

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

反応液組成

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

使用試薬

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

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

使用装置 ABI StepOne など

反応条件	45 °C	10 min
	95 °C	10 min

95 °C	15 sec	} ×45
60 °C	45 sec	

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

② EV-D68 高感度検出 PCR

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

1) 酵素に PrimeSTAR GXL を使用した場合（文献1を改変）。

表4 1st PCR：779bp

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

表5 2nd PCR：424bp

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

使用試薬 PrimeSTAR® GXL DNA polymerase (TaKaRa)

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

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

2) 酵素に Ex-Taq を使用した場合¹⁾

表 6 1st PCR : 779bp

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

表 7 2nd PCR : 424bp

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

使用試薬 Ex Taq[®] (TaKaRa)

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

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

② エンテロウイルス A71 (EV-A71) その他のエンテロウイルス

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

文献

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

7. 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の患者背景・症状・徴候

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

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

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

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

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

表8 急性弛緩性脊髄炎の概要

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

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

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

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

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

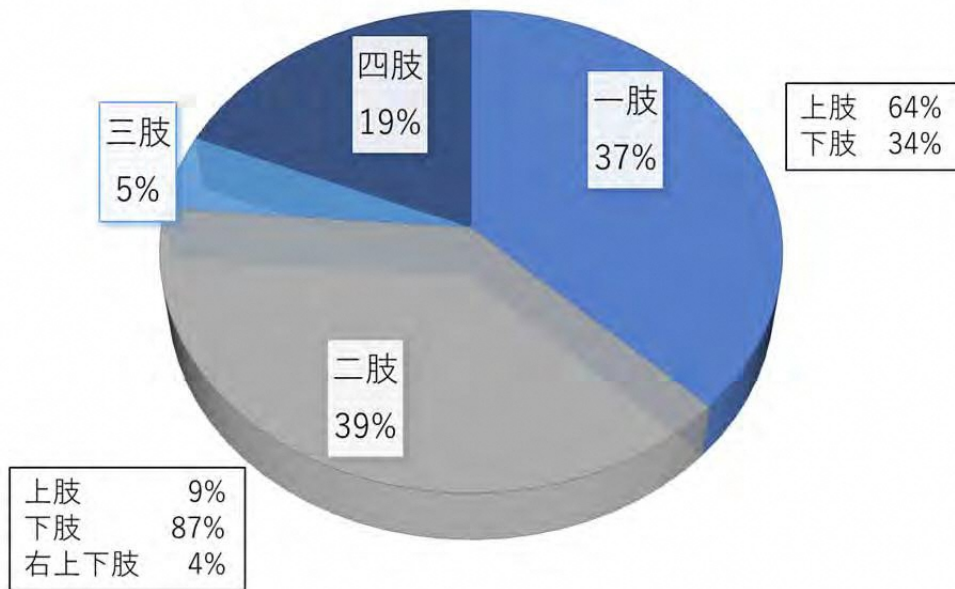
CHCO = Children’s Hospital Colorado. Case definition: AFP and/or cranial nerve dysfunction with MRI lesions in the gray matter of the spinal cord or brainstem presenting to CHCO August 1, 2014–October 31, 2014.

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

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

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

図3 運動麻痺



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

文献

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

8. 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の検査

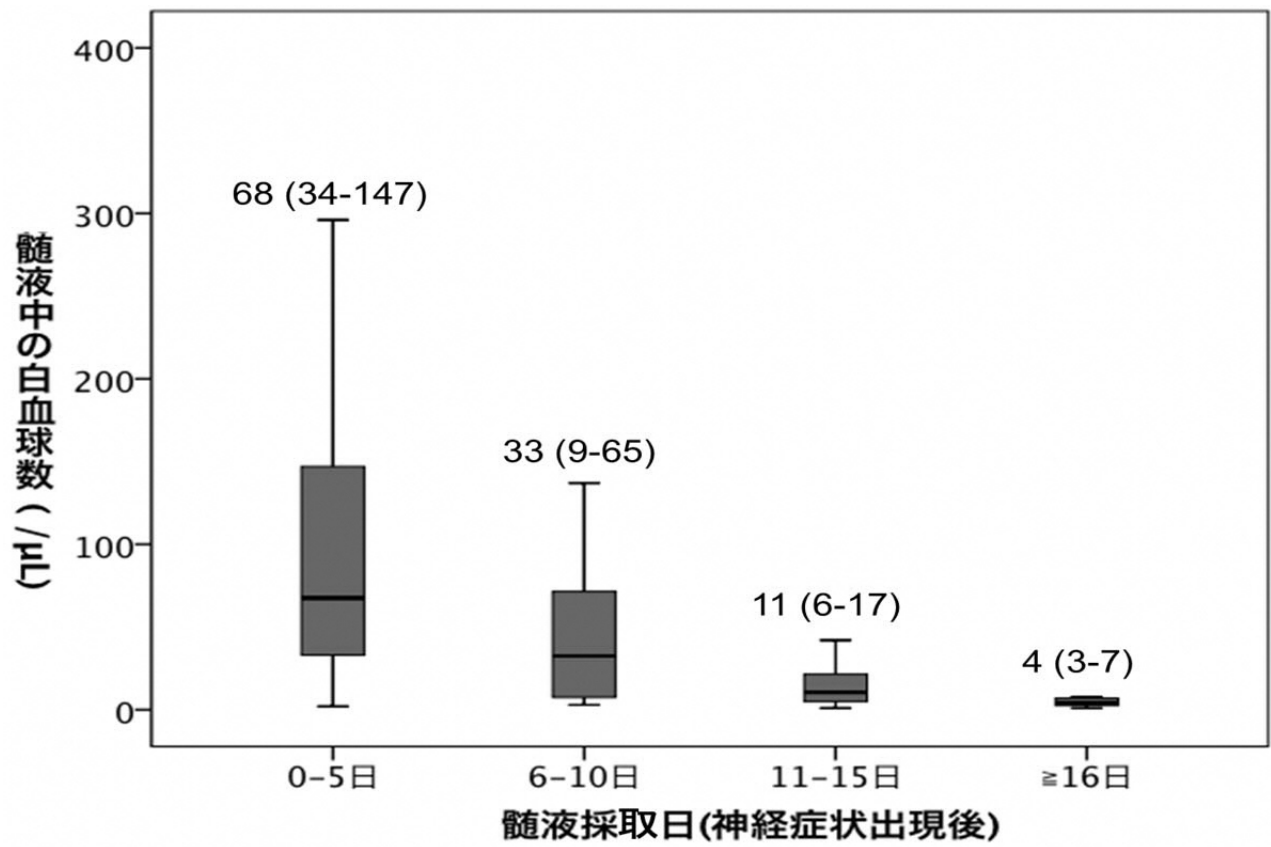
- 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) では、ほぼ全例に髄液検査で単核球優位の白血球増多がみられる。ただし、細胞数が発症早期ほど高く、経時的に低下し、麻痺の発症16日以降には正常化する。
- 抗アクアポリン4 (AQP4) 抗体は陰性であるが、抗糖脂質抗体が陽性となることがある。

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

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

文献

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



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

図4 髄液採取日と髄液中の白血球数

9. 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) における画像検査

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

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

麻痺の発症後の初回 MRI で全例に T2 強調像で高信号を示す縦走病変を認めた (図 5)。縦走病変の範囲は、全脊髄またはほぼ全脊髄 26 例、頸髄のみ 8 例、頸胸髄または胸髄のみ 3 例、胸腰髄 9 例、撮像が十分でないため特定できず 8 例であった。これらの結果から長大な縦走病変が AFM の特徴であると考えられた。また、AFM を疑う場合は、発症後早期に脊髄 MRI を撮像することにより診断の根拠を得ることができると考えられる。米国の報告でも、3 椎体レベル以上にわたる脊髄病変は 90～100%に認めたと記述されている⁹⁻¹²⁾。撮像条件としては各施設の小児用のルーチン検査プロトコルで支障ないと思われるが、①頭部および全脊髄の MRI 検査、②頭部の T2 強調横断像を含める、③脊髄の T2 強調矢状断像 (スライス厚 3mm 以下) および T2 強調横断像、の全てを含むことが必要である。

髄内の病変局在は、灰白質+白質 38 例、灰白質のみ 11 例、評価困難 5 例であった。発症後早期の画像では、病変は左右対称性で、前角にやや明瞭である傾向はあるが広範で境界がやや不明瞭な病変を呈した (図 5、図 6)。発症から時間が経過するにつれて病変は前角に局限するようになり、しばしば左右差を認めるようになった (図 6)。このような経時的な画像所見の変化は、米国での EV-D68 流行期の AFM でも報告されており、AFM に共通した所見であると思われる^{7, 8)}。

初回脊髄 MRI でガドリニウム造影が施行されたのは 25 例であり、造影効果を 18 例に認めた。初回に造影効果を認めたのは、馬尾 16 例、神経根 4 例、灰白質 1 例であった。造影効果は麻痺の出現に数日程度遅れて出現する傾向を認めた (表 9)。麻痺出現後 0～2 日では、10 例中 4 例に造影効果を認めたのみであったが、麻痺出現後 3 日以降では造影効果が極めて高率であった (図 7)。したがって、AFM を疑った場合には脊髄 MRI を撮像する際にガドリニウム造影を施行することが望ましい。初回の検査で造影効果を認めない場合でも、数日以内に造影を含めた再検査が望ましい。

脳の MRI は 50 例で施行され、22 例に脊髄から連続する脳幹病変を認めた。脳幹病変の範囲は、延髄のみ 18 例、橋から延髄 3 例、中脳から延髄 1 例であった。米国の報告では脳幹病変の合併率は 35～75%であり、我々の調査結果と類似していた⁷⁾。

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

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

髄内の病変分布と麻痺の分布との関係を表11に示す。灰白質と白質との両者に病変を認めた症例は、四肢麻痺から単麻痺まで様々な麻痺の分布を呈したが、灰白質のみの症例では四肢麻痺や三肢麻痺は認めなかった。この結果は、髄内の病変分布が広範であるほど神経症状が重篤である可能性を示唆する。

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

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

文献

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

2663–2671, 2015.

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

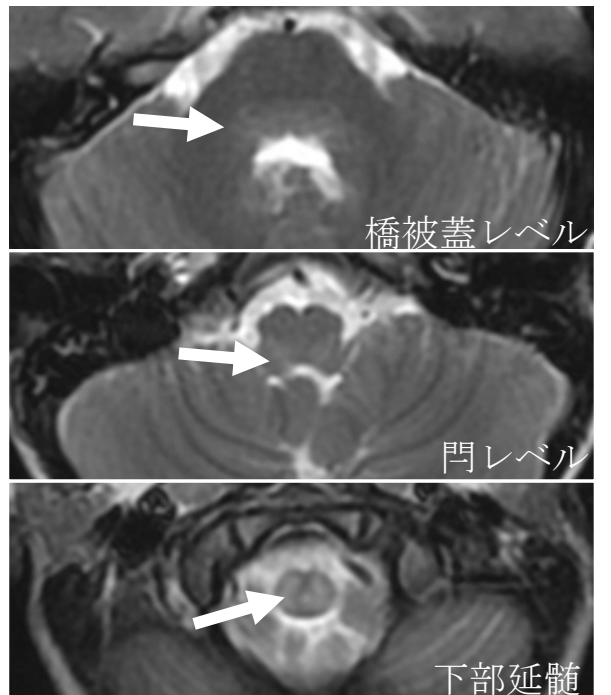
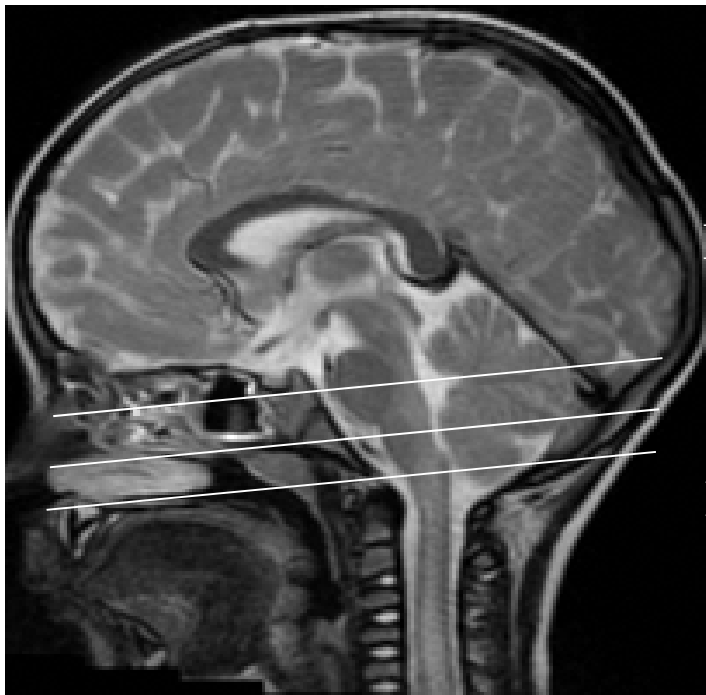
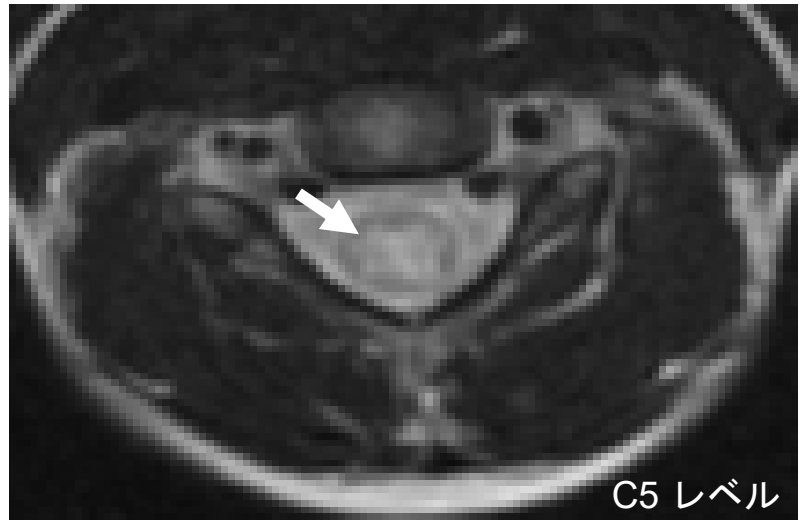
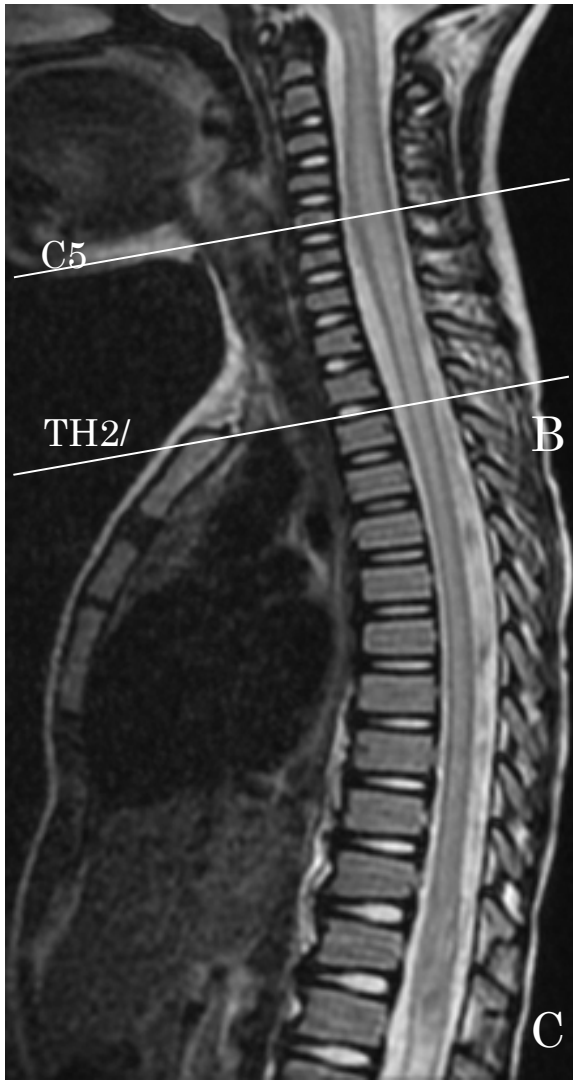


図 5

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

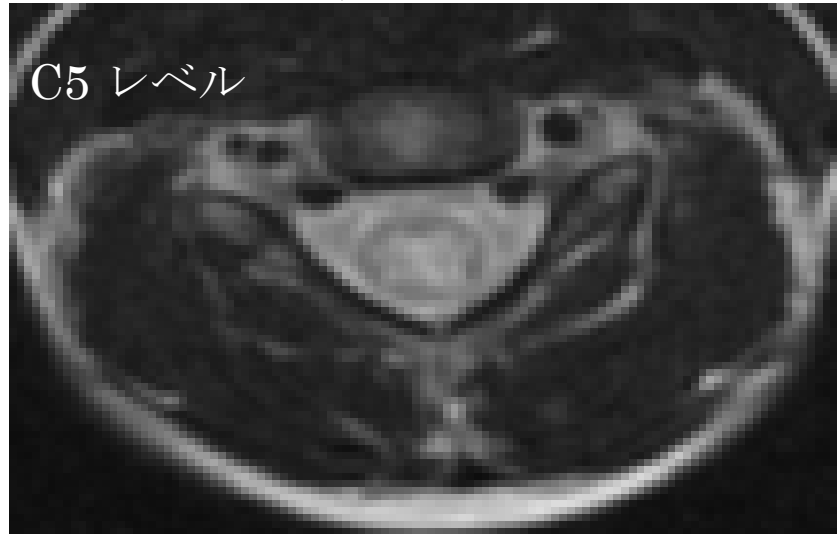
A～C. 脊髄 MRI (T2 強調像)

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

D～G. 頭部 MRI (T2 強調像)

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

麻痺発症後 2 日



麻痺発症後 23 日

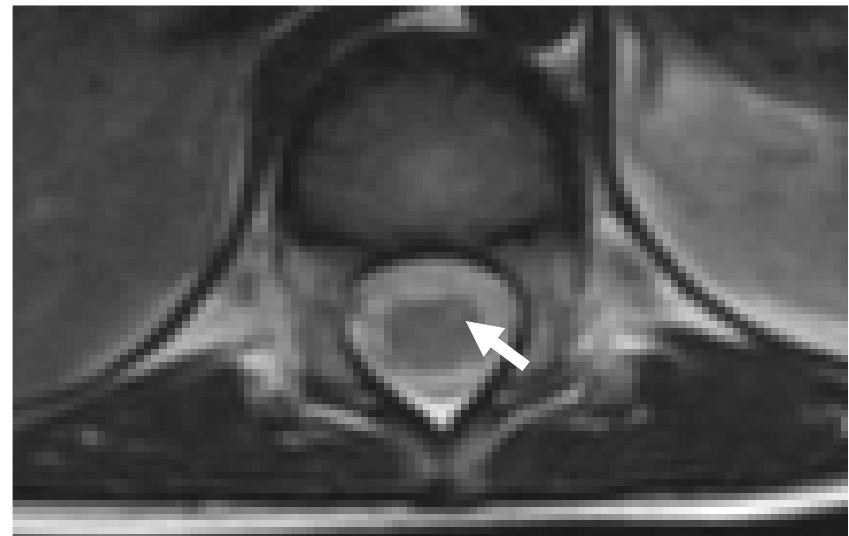
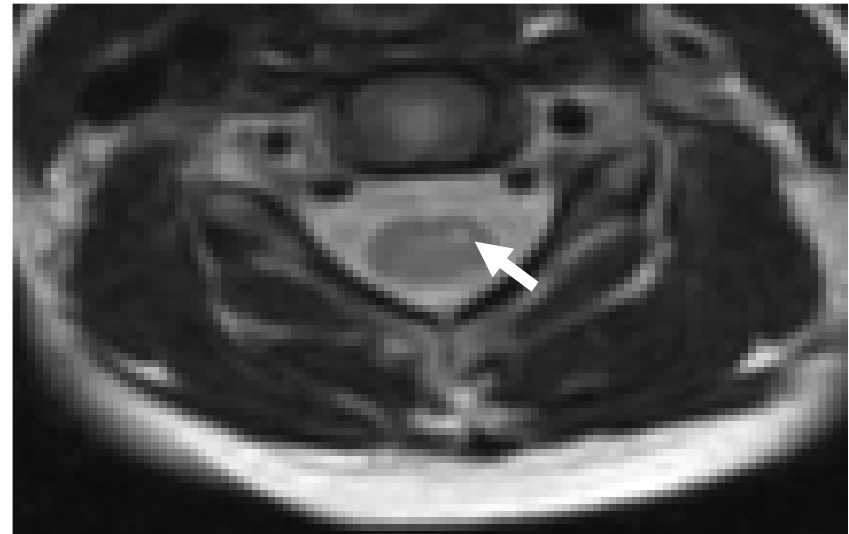
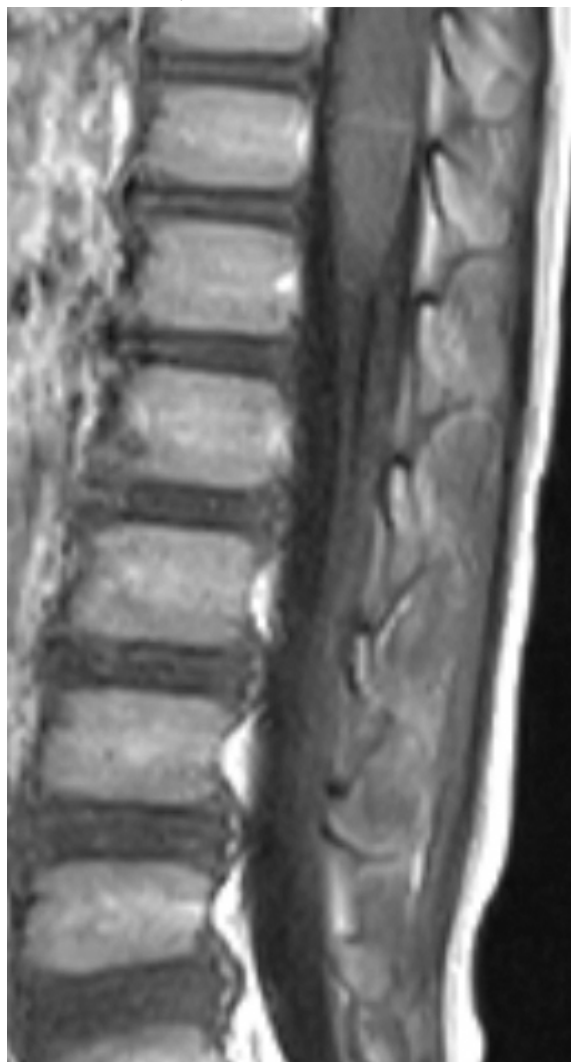


図 6

図 6. 髄内病変の経時的変化（5 歳児、T2 強調像）

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

麻痺発症後 0 日



麻痺発症後 20 日

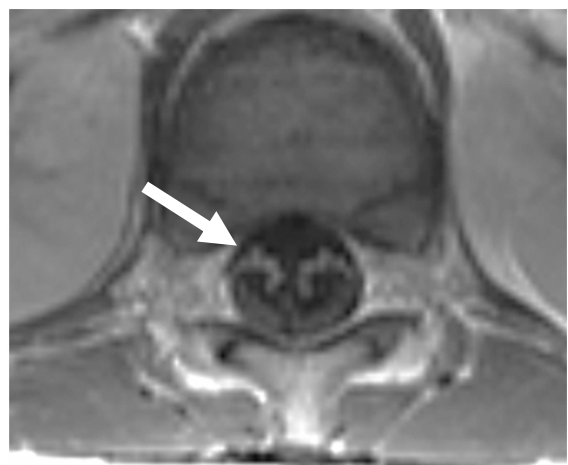
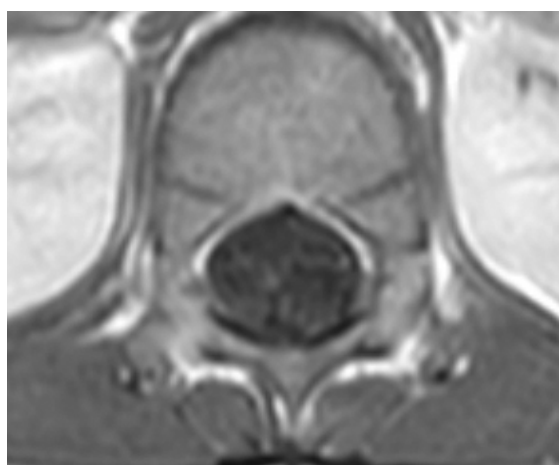
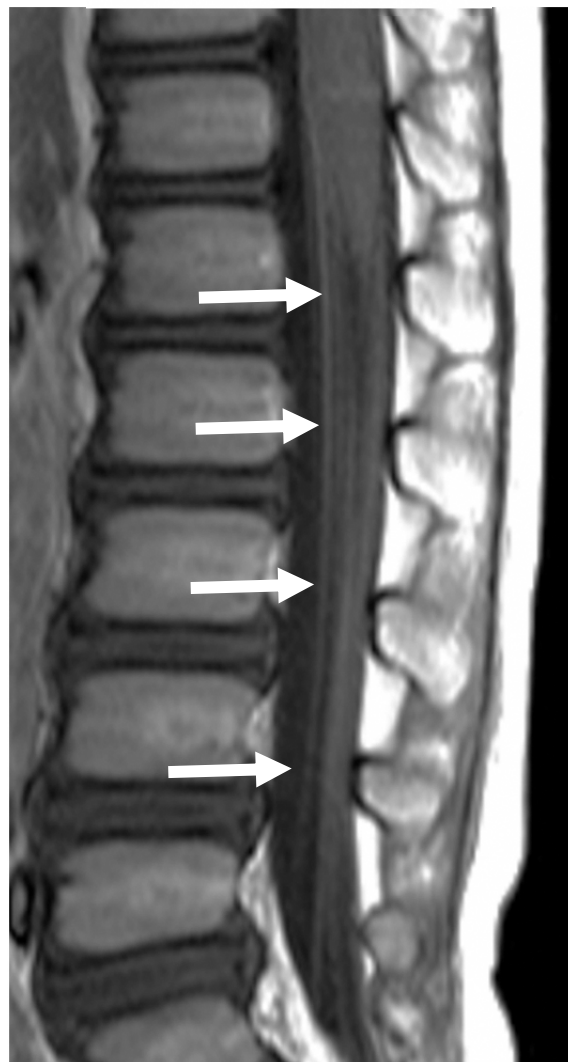


図 7

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

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

表9. ガドリニウム造影効果の経時的変化

麻痺出現からの日数	0-2日	3-6日	7-13日	14-20日	21-27日	28-55日
造影効果あり	4	10	12	5	10	8
造影効果なし	6	1	0	0	1	0

表10. 脊髄病変の範囲と麻痺の分布

	全脊髄または ほぼ全脊髄		頸胸髄または 胸髄のみ		胸腰髄	特定できず
	頸髄のみ	胸髄のみ	胸髄のみ	胸腰髄		
四肢麻痺	6	1			1	1
三肢麻痺	2			1		
両上肢麻痺	1					
両下肢麻痺	10			2	6	1
片麻痺						1
上肢単麻痺	4	6			1	3
下肢単麻痺	3	1			1	2

表11. 髄内の病変の分布と麻痺の分布

	灰白質+白質	灰白質のみ	特定できず
四肢麻痺	9		
三肢麻痺	3		
両上肢麻痺	1		
両下肢麻痺	13	3	3
片麻痺	1		
上肢単麻痺	6	8	
下肢単麻痺	5		2

10. 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の電気生理学的検査

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

1) 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) 患者の電気生理学的特徴

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

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

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

2) 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) 患者の電気生理学的検査の時期

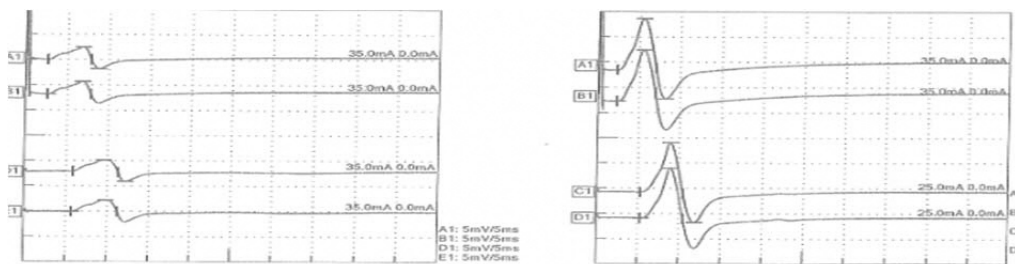
急性弛緩性脊髄炎 (AFM) 患者では発症早期より電気生理学的所見の異常を認める。全国調査では、発症 7 病日以内の症例では F 波の異常を 86%、M 波の異常を 67% に認めた。ただし、発症 7 病日以内の 21 例中 3 例で、F 波の異常を認めず、M 波の異常を認めており、両者の検査はともに行うことが望ましい。

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

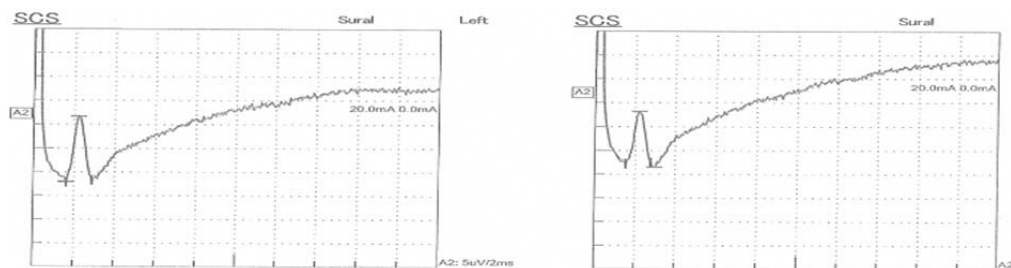
3) 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) 患者における電気生理学的検査の意義

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

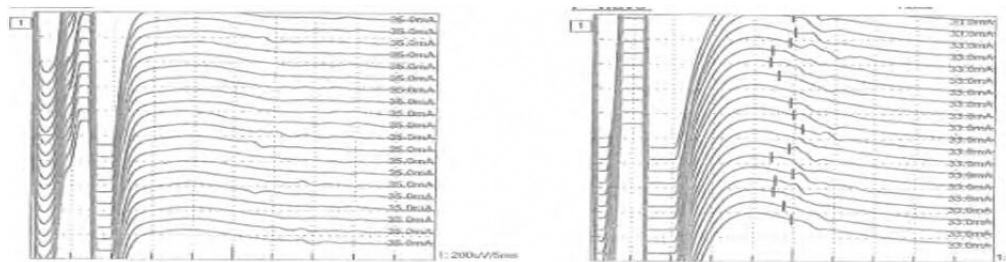
運動神経伝導検査（脛骨神経）



感覚神経伝導検査（腓骨神経）



F波（脛骨神経）



患側

健側

図8 急性弛緩性脊髄炎の電気生理学的検査（1歳女兒）

文献

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

1 1. 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の治療

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

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

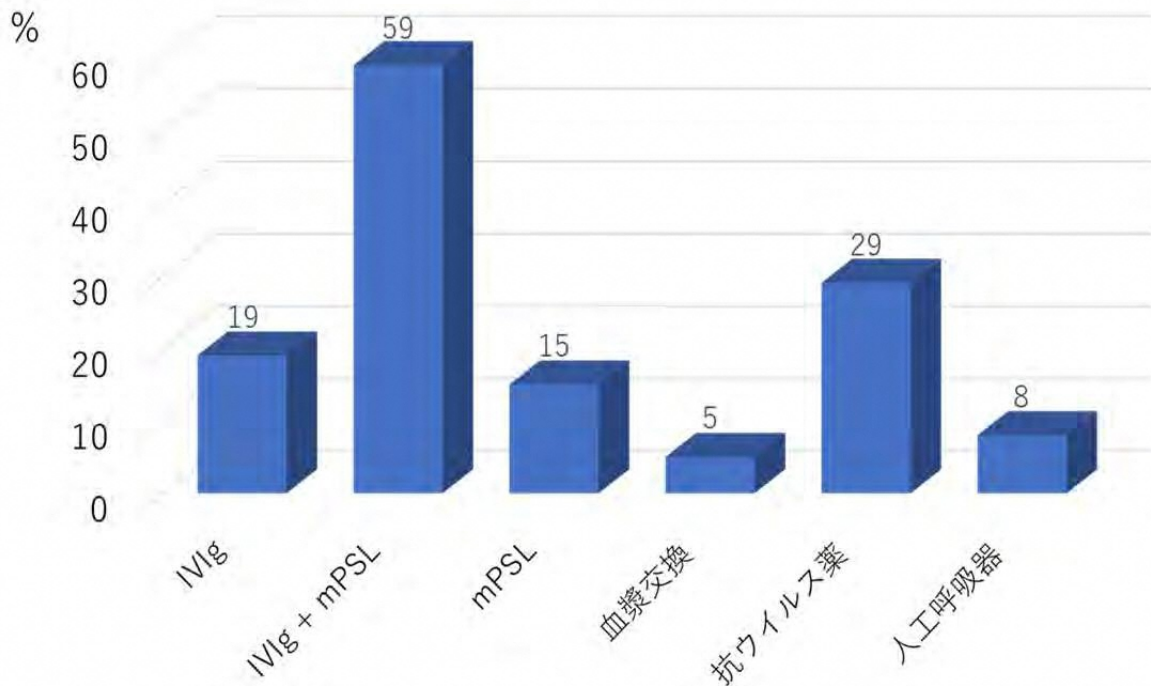
新生仔マウスへのエンテロウイルスD68 (EV-D68) の感染実験において、免疫グロブリンは麻痺を軽減しウイルス量を減らし、反対にデキサメサゾン麻痺を増悪させ、ウイルス量と死亡率をあげている³⁾。静注免疫グロブリンはEV-D68に対する中和抗体を含んでいる可能性がある (日本では未確認)⁴⁾。

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

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

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

図9 治療の種類



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

文献

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

1 2. 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の転帰・予後

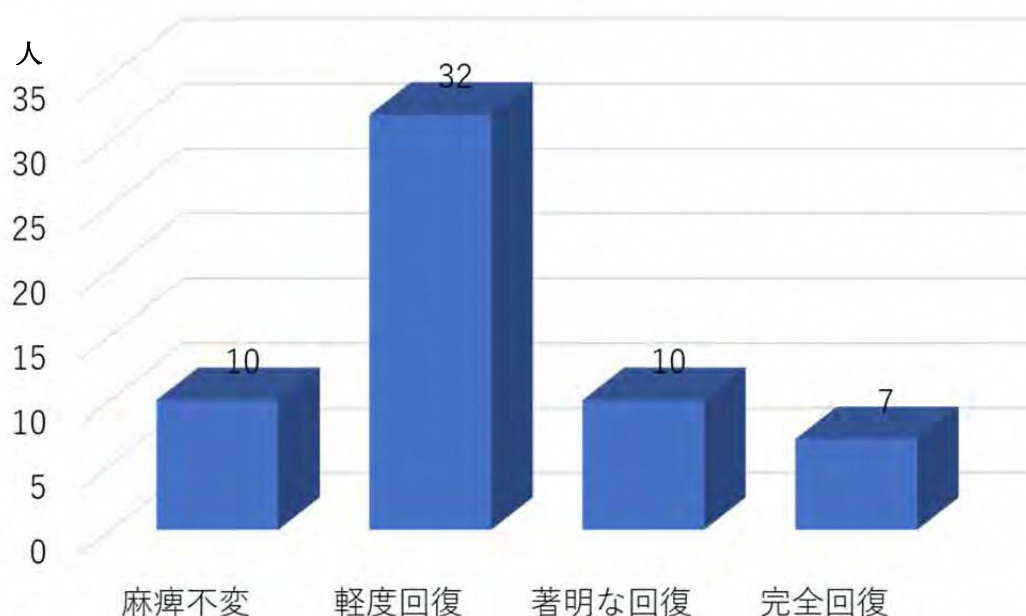
- 急性弛緩性脊髄炎 (AFM) の患者の多くで運動麻痺と筋萎縮が残存する。
- 予後予測因子は治療前の徒手筋力テスト、F波検査、エンテロウイルス (EV-D68) の検出である。

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

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

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

図 10 予後



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

文献

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