

原著

定量的 real time PCR で診断を確証した
HHV-6 脳炎の 1 例岩田直之^{1,3)} 志水麻実子^{2,3)}

要旨 2歳7カ月男児の human herpes virus 6 (HHV-6) 脳炎症例を報告する。入院時検査で HHV-6, 単純ヘルペスウイルス (HSV) とアデノウイルス (Ad) の血清抗体の上昇を認め、脳炎の原因病原体の特定に難渋した。血清学的診断でウイルス性脳炎の診断が困難な場合、目的臓器からウイルスの同定または増殖を確認することが診断に有益である。本症例は HHV-6 DNA が血清と髄液から定量的 real time polymerase chain reaction (PCR) で検出され、HHV-6 の一次性脳炎と確定診断できた。

はじめに

Human herpes virus-6 (HHV-6) は HHV-7 や サイトメガロウイルスと同じく β 科に属するヘルペスウイルスの一つである。もともとヘルペスウイルスは α , β , γ の亜型に分類され、単純ヘルペスウイルス (herpes simplex virus: HSV) は α 科に属する。HHV-6 は 1986 年アメリカで最初に発見され、1988 年に日本で突発性発疹の原因ウイルスとして Yamanishi らにより公表された¹⁾。その後種々の合併症が報告され、神経系親和性が高いと報告されている^{2,3)}。脳炎・脳症は重大な合併症の一つであるが、現在も病態の不明な点が多い。今回報告する脳炎症例はアデノウイルス (Ad)、HHV-6 そして HSV の感染が示唆されたが、最終的に real time PCR で血清と髄液から HHV-6 ウイルスゲノムが検出されたため、HHV-6 脳炎と診断できた。

1. 症例提示

症例: 2歳7カ月, 男児。

既往歴: 2006年9月1日, Ad 咽頭炎に合併した熱性けいれんを含め合計2回の単純型熱性けいれん。

家族歴: 母は新生児期に細菌性髄膜炎後水頭症に罹患した。

経過: 2006年10月11日から発熱, 翌日の第2病日に小牧市民病院小児科を受診。来院時歩行困難, 意識レベル低下 (JCSIII-200) を認めたため同日入院した。咽頭拭い液の Ad 迅速検査が陽性で入院後に数分間の全身強直間代性けいれんを数回認めた。髄液細胞数 $242/\mu l$ と増多あり, MRI の拡散強調画像 (DWI) で小脳半球, 脳梁膨大部に高信号を認めた。急性期脳波で徐波を認めた。臨床症状・画像所見から急性脳炎と診断した。メチルプレドニゾロンによるステロイドパルス療法

Key words: HHV-6, HSV, real time PCR, 脳炎, ウイルス診断

- 1) 一宮市立市民病院小児科
〔〒491-8558 一宮市文京 2-2-22〕
- 2) 志水こどもクリニック
- 3) 元 小牧市民病院小児科

表 1 入院時検査所見

【血算】		【髄液検査】	
WBC	9,400/ μ l	細胞数	242/ μ l
RBC	492 \times 10 ⁴ / μ l	(リンパ球：好中球=235：7)	
Hb	11.0 g/dl	蛋白	170 mg/dl
Plt	32.2 \times 10 ⁴ / μ l	糖	76 mg/dl
【生化学】		オリゴクローナルバンド	陰性
AST	69 IU/l	ミエリン塩基蛋白	陰性
ALT	25 IU/l	【バイオマーカー、その他】	
LDH	344 IU/l	IL-6	0.7 pg/ml
Na	128 mEq/l	TNF- α	<5 pg/ml
K	5.1 mEq/l	フェリチン	34.9 ng/ml
Cl	96 mEq/l	β_2 MG	2.4 mg/dl
BUN	22.8 mg/dl		
Cre	0.33 mg/dl		
CK	1,232 IU/l		
CRP	0.95 mg/dl		

を 2 クール、マンニトールで脳浮腫治療を行った。また HSV 脳炎が否定できないためアシクロビル (ACV) による抗ウイルス治療を 21 日間行った。症状改善が乏しいため HSV 感染が否定できるまでビダラビン (Ara-A) を併用投与した。発熱期間は 3 日間だった。その後、四肢をわずかに動かし呼びかけに対して反応して開眼するが、焦点が合わず意思疎通ができない状態が続いていた。第 13 病日に非癒合性全身性紅斑と指末端に膜様落屑を認めた。第 14 病日から徐々に開眼時間が増え、TV 映像や音に反応するようになった。第 20 病日以降に水分経口摂取ができ、追視、発声、指差しが可能となった。第 43 病日の退院時には独歩ができず、わずかな単語が発語できる程度だったが、外来でリハビリ継続により運動機能は改善し軽度知的障害を残す程度になり、保育園通園を再開した。

検査所見 (表 1)：入院時検査所見で髄液細胞数増多と血清 Na の低下、CK の上昇を認めた。表記はないが凝固機能異常は認めなかった。

ウイルス検査 (表 2)：入院時に HSV (EIA：免疫酵素抗体法) と HHV-6 (FA：蛍光抗体法) の血清 IgM 抗体価の上昇を認めた。Ad 抗原迅速検出キットが陽性だったが、急性期と回復期 (1 カ月後) の Ad-3 型の血清抗体価 (NT：中和抗体法) を比較したが有意な上昇はなかった。そして愛知

表 2 ウイルス検査

【血清ウイルス検査】	
HHV6 DNA (PCR)	(+) 5,665 コピー/ml
HSV DNA (PCR)	(-)
抗体検査	
HHV6 (FA)	IgM 20 倍(+), IgG<10 倍(-)
HSV (EIA)	IgM 1.73(+), IgG 22.5(+)* ¹
CMV (EIA)	IgM<0.8(-), IgG<2.0(-)* ¹
EBV 抗 VCA (EIA)	IgM<0.5(-), IgG 0.8(±)* ²
VZV (CF)	<4 倍
麻疹 (CF)	<4 倍
風疹 (HI)	128 倍
ムンプス (HI)	<4 倍
アデノウイルス (CF)	16→<4 倍* ³
アデノウイルス 3 型 (NT)	8→16 倍* ³
【髄液ウイルス検査】	
HHV6 DNA (PCR)	(+) 549 コピー/ml
HSV DNA (PCR)	(-)
抗体検査	
HSV (EIA)	IgG<0.20 (-) (13 病日)
【その他】	
咽頭拭い液アデノウイルス迅速検査	陽性 (+)
咽頭、便、髄液ウイルス分離	すべて陰性* ⁴

*¹HSV, CMV EIA cut off IgM 1.2, IgG 4.0

*²EBV 抗 VCA EIA cut off IgM, IgG ともに 1.0

*³ペア血清抗体検査ではない。

*⁴ウイルス分離 (愛知県衛生研究所):HHV-6 分離不可能。

県衛生研究所に血清と髄液のウイルス分離同定を依頼したが HSV と Ad は陰性だった。ウイルス PCR の詳細は図 1 で説明する。

画像検査 (図 2, 3)

MRI：急性期 (第 3 病日) の拡散強調画像で脳梁膨大部、小脳半球に高信号を認めた。脳梁膨大部は T2 強調画像でも高信号だった。FLAIR 画像で左後頭葉白質の一部に高信号域を認めた。後に確認した回復期 MRI では脳全体の萎縮を認めた。

SPECT (Tc^{99m}-ECD)：回復期の脳血流。右前頭葉白質と左後頭葉～頭頂葉白質集積の低下と左右基底核の集積亢進を認めた。

臨床経過と real time PCR、抗体価の推移 (図 1)：有熱期間は 3 日間、解熱 10 日後に色素沈着を残さない非癒合性紅斑を認めた。その後認めた指先の膜様落屑は A 群 β 溶血性連鎖球菌感染を思わせたが、抗生剤投与前の咽頭拭い液の培養結果は陰性であった。残念ながら ASO 値の確認は

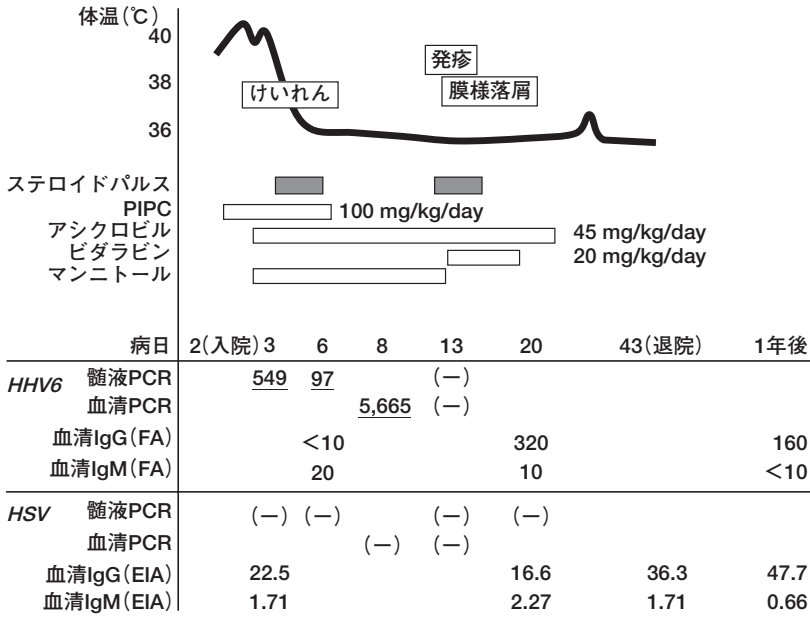


図 1 臨床経過と HHV6, HSV の real time PCR, 抗体価の推移

注：real time PCR の単位：コピー数/ml, HHV-6 FA の単位：倍, HSV EIA の cut off IgG 4.0, IgM 1.2

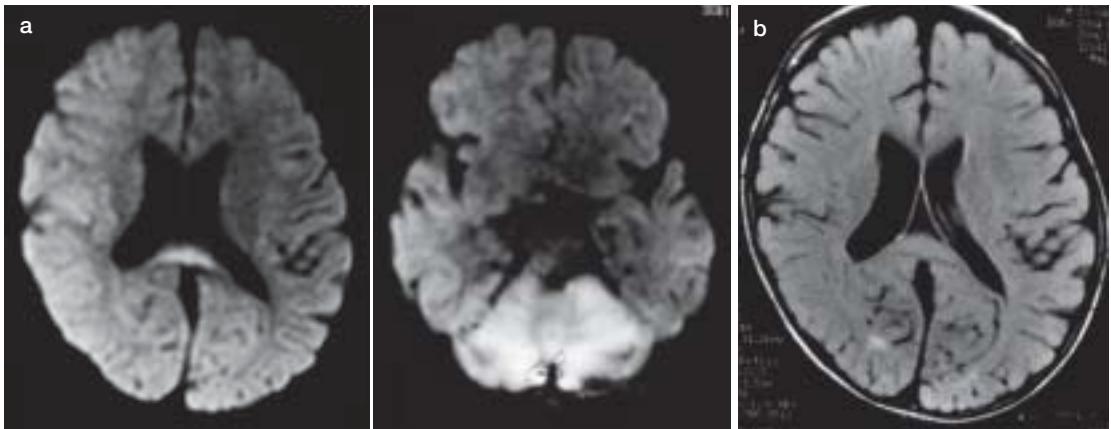


図 2 頭部 MRI 検査 第 3 病日

a：拡散強調画像 DWI. 脳梁膨大部と小脳半球に高信号を認める。
 b：T2 FLAIR 画像. 左後頭葉白質の一部に高信号を認める。

できていない。患者の凍結保存検体（髄液と血清）のウイルス real time PCR 測定を名古屋大学へ依頼した。HHV-6 は第 8 病日の血清で 5,665 コピー/ml を認めた。髄液は第 3 病日 549 コピー/ml だったが第 5 病日には 97 コピー/ml に減少、第 13 病日には血清、髄液とも検出感度以下に

なった。HSV はアシクロビル使用前の第 3 病日、使用中の第 6, 13 病日の髄液、また第 8 病日の血清すべて検出感度以下だった。最終的に HSV は血清抗体検査以外すべて陰性で、HHV-6 は血清、髄液とも real time PCR 法でウイルスゲノムが確認できた。

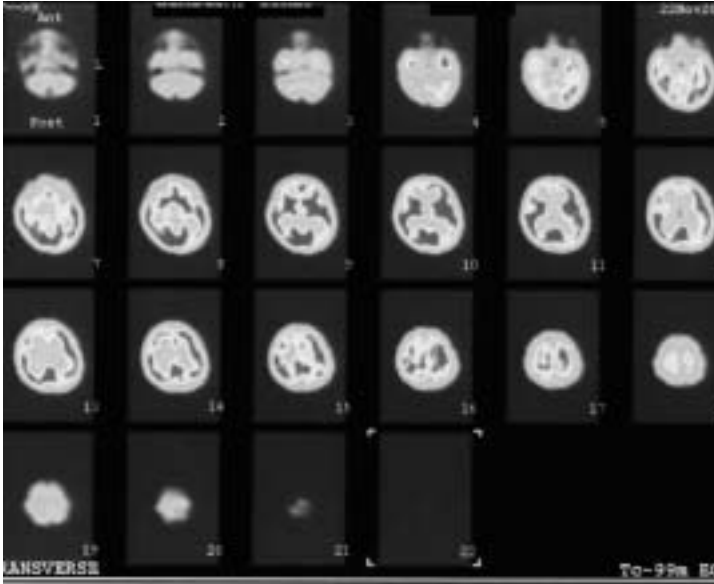


図 3 Tc^{99m} ECD 脳血流シンチ

右前頭葉白質と左後頭葉～頭頂葉白質集積の低下。

II. 考 察

感染病原体の検索がそのままウイルス性脳炎の診断に直結するわけではない。ウイルスの同時感染やコンタミネーション、そしてヘルペス属であれば潜伏・持続感染や再活性の可能性を考慮して、脳炎の臨床像とそれを支持するようなウイルス感染の証明が大事になる。例えば HSV 脳炎のような一次性脳炎の場合、中枢神経系の髄液や脳細胞にウイルスが分離されることが大切であり、逆にサイトカインによる二次性脳炎であれば宿主免疫反応を証明する必要がある。

今回、脳炎の原因ウイルスとして HHV-6、HSV、Ad の 3 種類の可能性があげられる。

最初に Ad について検討する。入院時とその 1 カ月前も咽頭 Ad 抗原迅速検査が陽性であった。今回使用したキットは日本ベクトン・ディッキンソンの Ad 抗原検出試薬「キャピリアアデノ」である。添付文書によれば HHV-6 と HSV-1 型の交差反応による偽陽性は認めない。入院時の Ad 抗体 (CF: 補体結合抗体) が 16 倍でその後は感度以下に低下している。ペア血清ではないが Ad-3 型 (NT: 中和抗体) は入院時が 8 倍、1 カ月後は 16 倍、4 カ月後によく 32 倍に達しているため、今回の感染を証明するような有意な抗

体上昇とはいいい難い。そして愛知県衛生研究所にウイルス分離を依頼しているが、提出した入院時の咽頭拭い液、血清、髄液検体から Ad は分離されなかった。2006 年当時、研究所では脳炎患者の検体に対して Ad の PCR は行われていなかったが、ウイルス分離は Ad-3 型も検出可能な Vero, Hela, RD 細胞の 3 系統を用いて分離していた。特異度が高い検査であるため、結果として Ad 迅速抗原診断が偽陽性だったと推測した。PCR が未施行であり、病原体診断の信頼度が低くなるが脳炎の原因として確定する根拠は乏しかった。

次に HSV について検討する。発病 3 日目の HSV の血清抗体価 IgM, IgG (EIA) が上昇していた。血清 HSV IgM 抗体は酵素免疫の捕捉 EIA 法のため感度は高く⁴⁾、抗体の上昇は初感染以外に既感染の非特異的の反応による偽陽性、ウイルス再活性化が考えられた。そして交差反応について吉川らの研究結果によると HHV-6 と HHV-7 両ウイルス抗体に交差反応性は存在するが、ウイルス構成蛋白の相同性が低い HHV-6 と HSV との間には認めないと述べられている⁵⁾。またヘルペスによる脳障害の好発部位が側頭葉、大脳辺縁系であることも考慮すると、今回の MRI (図 2) は所見が異なる。

HSV 脳炎はウイルスの直接的な侵襲による一

次脳炎であり、血清診断よりも急性期の髄液中の HSV DNA を検出することが早期診断に重要とされる。しかし抗ウイルス薬治療前の血清と髄液検体は名古屋大学で検査した real time PCR も愛知県衛生研究所で行ったウイルス分離も HSV が検出されなかったため、再活性化も含め HSV 脳炎は否定的と考えられた。そして血清 IgG 抗体価の上昇は乏しく、血清学的に HSV は既感染と思われた。

最後に HHV-6 脳炎の可能性を検討する。血清 HHV-6 IgM 抗体 (FA) の上昇は軽度だったが、IgG 抗体 (FA) は 2 週間後に 10 未満から 320 倍に上昇しておりウイルス再活性化よりも初感染の可能性が高いと考えられた。HHV-6 は月齢 24 カ月の時点で 77% の児が罹患すると報告⁶⁾があり、症例は 2 歳 7 カ月であり初感染としては比較的高年齢であった。

HHV-6 の一般的な経過としてウイルス感染後にウイルス血症を起こし発熱する、その後は宿主免疫の誘導により抗体産生しウイルス血症は消退、解熱とともに発疹が生じる⁷⁾。本症例は解熱 4 日後の血清でも 5,665 コピー/ml と多く、まだウイルス血症が存在し、何らかの影響でウイルス減少が遅延していると考えた。したがって解熱して 8 日後に発疹を認めたのもそれが原因と推測した。その影響としてステロイドパルス治療が関与していた可能性がある。髄液中の HHV-6 ウイルス量が急性期から回復期にかけて減少して (図 1)、意識回復の徴候を認め始めた 13 病日にウイルスが陰性化していることが確認できた。

HHV-6 脳炎は発症時期により有熱時脳炎と発疹時脳炎が存在する⁸⁾。有熱時脳炎の発症メカニズムは中枢神経系への直接浸潤による一次性脳炎と推測され、脳脊髄液中にウイルスの存在が証明されている。発疹時脳炎は二次性脳炎としてサイトカインによる血管炎が推測されている。また中枢神経のグリア細胞への潜伏感染後の再活性化により IL-6、IL-1 β のサイトカイン合成促進⁹⁾やオリゴデンドロサイトに感染親和性を示すことで脱髄疾患と関連している可能性¹⁰⁾が報告されているが、今回は表 1 で示したようにサイトカインなどバイオマーカー、オリゴクロナルバンドやミエ

リン塩基蛋白は確認できなかった。

最後に脳血流 SPECT (Tc^{99m}-ECD) により回復期の脳血流評価をする。右前頭葉白質と左後頭葉～頭頂葉白質集積の低下を認めたが、これは白質に対する親和性が高いと示唆されている HHV-6 が、幼児期早期にまだ髄鞘化が残る前頭葉白質優位に病変が分布する可能性があるという報告³⁾に一致する。また脳血流が低下している領域は血管炎の存在を反映しており、意識レベルの回復が遅れ後遺症を残すほどの脳障害を呈したのは、血管炎が影響していた可能性が推測されたが、二次性脳炎の証明を後押しするような結果はそれ以外から得ることができなかった。

以上、一連の結果と考察より HHV-6 初感染による有熱時の一次性 HHV-6 脳炎と診断した。

謝辞：今回 real time PCR を測定していただいた、名古屋大学医学部大学院ウイルス学 木村宏准教授と医学研究科小児科学 伊藤嘉規講師、ウイルス分離をしていただいた愛知県衛生研究所 皆川洋子所長、そして小牧市民病院小児科部長 大野敏行先生はじめ、ご指導賜りました皆様に深謝いたします。

文 献

- 1) Yamanishi K, et al : Identification of human herpes virus 6 as causal agent for exanthema subitum. *Lancet* 1 : 1065-1067, 1988
- 2) Ishiguro N, et al : Meningoencephalitis associated with HHV6 related exanthema subitum. *Acta Paediatrica Scand* 79 : 987-989, 1990
- 3) 筒井祥博 : β ヘルペスウイルスの中中枢神経系感染. *日本臨牀* 64 増刊号 ヘルペスウイルス学 : 440-445, 2006
- 4) 木村 宏 : ヘルペスウイルス感染症の診断. *日本臨牀* 64 増刊号 ヘルペスウイルス学 : 55-58, 2006
- 5) 吉川哲史, 他 : HHV-6 初感染時における他のヘルペス群ウイルスとの交差反応性に関する検討. *臨床と微生物* 17 (6) : 83-86 (727-730), 1990
- 6) Zerr, et al : A Population-Based Study of Primary Human Herpes virus 6 Infection. *N Engl J Med* 352 : 768-776, 2005
- 7) Takao N, et al : Viremia and neutralizing antibody

- response in infants with exanthema subitum. *J Pediatr* 114 : 535-539, 1989
- 8) 浅野喜造, 他 : HHV6, HHV7 感染症の今日的话题. *日児誌* 106 (9) : 1167-1171, 2002
- 9) Yoshikawa T, et al : Human herpes virus 7 associated meningitis and optic neuritis in patient after allergenic stem cell transplantation. *J Med Virol* 70 : 440-443, 2003
- 10) 吉成 聡, 他 : ヒト・ヘルペスウイルス 6 型脳炎・脳症の脳血流 SPECT 所見. *日児誌* 110 (1) : 33-37, 2006

**A case of human herpes virus 6 (HHV-6) encephalitis ;
the diagnosis is confirmed by the detection of HHV-6 with
quantitative real time polymerase chain reaction (PCR)**

Naoyuki IWATA^{1,2)}, Mamiko SHIMIZU^{1,3)}

1) *Department of Pediatrics, Komaki City Hospital*

2) *Department of Pediatrics, Ichinomiya Municipal Hospital*

3) *Shimizu Children's Clinic*

We report a case of a 2 year 7 month-old boy affected with HHV-6 encephalitis. It was difficult to determine the pathogen of encephalitis, because the elevation of three different serum antibodies against HHV-6, herpes simplex virus (HSV) and adenovirus (Ad) was detected. Identification and proliferation of the virus from target organ is useful to diagnose viral encephalitis when the serological diagnosis is difficult to achieve it. In this case, we were able to detect HHV-6 by using quantitative real time polymerase chain reaction (PCR) in serum and cerebrospinal fluid (CSF), and then it confirmed the diagnosis of primary encephalitis of HHV-6.

(受付 : 2010 年 12 月 8 日, 受理 : 2011 年 4 月 6 日)

* * *