

麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための  
実験室検査に関する研究  
分担研究報告書

研究分担者 駒瀬勝啓 国立感染症研究所

2014年東北・新潟ブロックにおける麻疹・風疹検査状況

研究協力者 青木洋子 (山形県衛生研究所)  
東北・新潟ブロック担当者  
筒井 理華 (青森県環境保健センター)  
高橋 雅輝 (岩手県環境保健研究センター)  
柴田ちひろ (秋田県健康環境センター)  
阿部 美和 (宮城県保健環境センター)  
中田 歩 (仙台市健康福祉局衛生研究所)  
鈴木 理恵 (福島県衛生研究所 )  
青木 順子 (新潟県保健環境科学研究所)  
山本 一成 (新潟市衛生環境研究所)

研究要旨

2014年における東北・新潟ブロックの麻疹・風疹患者報告数と、疑い事例を含めた検査実績についておよび、先天性風疹症候群（CRS）報告症例の検査経過等を集約した。

麻疹患者報告数はブロック内で5名（検査診断4名、臨床診断1名）であり、大きな流行は見られなかった。風疹患者報告数は、2013年のブロック内209名の報告と比べ、13名（検査診断7名、臨床診6名）と16分の1であった。

遺伝子検査は、麻疹が50症例のべ128検体についての検査が実施され、陽性は福島県の3症例のみであった。遺伝子型はB3で、フィリピンからの輸入症例から家族内感染したものと推定された。風疹は、19症例のべ55検体の検査が実施され、陽性は秋田県の2症例のみであった。遺伝子型はいずれも2Bであった。

CRSの報告が、福島県と新潟県から1事例ずつあり陰性確認の検査が行われた。CRSに関する検査は、陰性確認されるまで継続することから、検体確保をする保健所と検査を担当する地方衛生研究所とが十分な調整を行うことが重要となると考えられた。

A.研究目的

2015年までの麻疹排除目標達成と風疹の排除に向けた取組みにおいて、われわれ

地方衛生研究所が担う役割は、正確な検査と遺伝子解析等必要なデータの分析を行うことである。そのために検査体制を整備し、

各地方衛生研究所間で協力しながらこれを維持していく必要がある。本研究は、2014年に実施された検査の実績を把握し、情報を共有することで、検査体制の維持に役立てることを目的とした。

## B. 研究方法

東北・新潟ブロックの地方衛生研究所9施設から以下の項目について報告を求め集計をした。

- ①麻疹患者報告数と疑い症例を含めた麻疹検査実績
- ②風疹患者報告数と疑い症例を含めた風疹検査実績
- ③CRS患者の発生と検査経過

## C. 研究結果および考察

### (1) 東北・新潟ブロックにおける麻疹患者報告数および検査実績

2014年感染症発生動向調査におけるブロック内の麻疹患者は、福島県から検査診断による4名、新潟県から臨床診断による1名が報告されたのみであった(表1)。

疑い検査を含めた麻疹遺伝子検査実績は、全体で50症例(のべ128検体)行われ、このうち、麻疹が検出されたのは、福島県の3症例のみであった(表2)。福島県における患者報告数の検査診断4例のうち1例は民間検査機関によるものであった。

ウイルス分離を実施した症例は、山形県の2症例と福島県の3症例であった。山形県の2症例は、麻疹遺伝子が検出されない検体であったため分離されず、また福島県の3症例は、遺伝子検査で麻疹が検出された検体であるが、分離に至らなかった。

福島県の遺伝子陽性症例(表3)は、遺伝子解析の結果、すべて遺伝子型B3で、いずれも遺伝子バンクへ登録を行った。この3症例の患者は家族であり、フィリピンに渡航した母が感染して帰国後に発症、子と祖父へ家族内感染したものと推察された。

### (2) 東北・新潟ブロックにおける風疹患者報告数および検査実績

2014年感染症発生動向調査におけるブロック内の風疹患者は、5施設(4県1市)で報告があり、検査診断による7名と、臨床診断による6名が報告された(表4)。

疑い検査を含めた風疹遺伝子検査実績は、全体で19症例(のべ55検体)行われ、このうち、風疹が検出されたのは、秋田県の2症例のみであった(表5)。岩手県における患者報告数の検査診断3例は民間検査機関によるものであった。

ウイルス分離を実施した症例は、山形県の4症例で分離はされなかった。この4症例は、風疹遺伝子が検出されない検体であった。

秋田県の遺伝子陽性症例(表6)は、遺伝子解析の結果、すべて遺伝子型2Bであり、すべて遺伝子バンクへ登録を行った。

### (3) CRSの発生と検査経過

全国における2014年の風疹患者報告数は2013年に比べ大きく減少したことから、CRSの報告事例も32事例から9事例へと減少した。東北・新潟ブロックにおいて2014年は、福島県と新潟県から報告があり出産児の検査が定期的実施された。また、山形県においては、疑い事例の検査を行った。

福島県の事例(図1)は、母親のワクチン歴が不明、渡航歴もなかったが妊娠中に罹患が確認された事例であった。

初回検査は2014年1月4日採取の咽頭拭い液、尿、肛門拭い液について行われ、風疹NS領域のコンベンショナルPCR法による遺伝子検査の結果、すべての検体から風疹遺伝子が検出された。遺伝子解析により遺伝子型は2Bであった。

その後、約3カ月おきに検査を実施しているが、搬入される検体材料がたびたび変

更されるなど、同じ検査材料について継続した検査データが得られない状況が見られた。陰性化の確認を判断するための重要な根拠となることから、検体確保にあたる保健所と連絡調整が必要になると思われた。

新潟県の事例（図2）は、母親には1991年13歳でワクチン接種歴があった。渡航歴はなく、帰省先の千葉県での感染が疑われた。妊娠中の風疹HI抗体価が512倍と高い値を示した。

初回検査は2014年3月12日採取の咽頭拭い液、血液、唾液、尿について行われ、コンベンショナルPCR法による遺伝子検査の結果、すべての検体から風疹遺伝子が検出された。遺伝子解析により遺伝子型は2Bであった。また、新潟県で行った抗体価の測定結果は、IgM：115.5、IgG：24.1と大きな値を示した。

その後、1か月から3か月おきに検査が実施され、6回目の検査となる12月9日採取の検体（咽頭拭い液、尿）から遺伝子の検出は見られなかった。さらに2015年1月7日に行った7回目の検査でも遺伝子は検出せず陰性化が確認された。今後は、保健所の判断にゆだね調整をしながら追加検査が必要であれば実施する。

山形県の疑い事例（図3）は、母親のワクチン歴は幼少期のみであった。妊娠中に実施したHI抗体価の測定結果は、妊娠18週で16倍、27週で64倍と4倍の抗体上昇がみられた。また、胎児の奇形が疑われたことから保健所ではCRSの検査を実施することとした。同検査の実施が決定した妊娠33週時には、確保する検査材料や、検査の経過等についての打合せを保健所と十分に行うことができた。出産は37週で、2014年12月24日に検体（咽頭拭い液、血清微量、尿）が確保された。遺伝子検査は、咽頭拭い液、尿について行ったが風疹遺伝子は検出されなかった。また、血清抗体価の測定を行ったところIgM：0.06陰性、IgG：

2.94陽性であった。IgG抗体が陽性であったもののその値は、妊娠33週に行った母親のIgG抗体価とほぼ同じ値であったため、移行抗体と考えられた。遺伝子検査結果とIgM抗体測定結果から、この事例はCRSではないと判断された。

#### D.結論

麻疹・風疹排除の目標を達成するには、各方面での取組みが確実に遂行されることもにその継続が行われなければならない。われわれ地方衛生研究所は、遺伝子検査診断をより迅速で正確に実施できることが使命である。今後、患者が減少することが想定されるなかの検査体制を維持するためには、毎年の検査実績を把握し共有することは重要であると考えます。また、地方衛生研究所として避けることができない職員の異動に対応できるよう、検査方法のマニュアル化とともに精度管理を行うことも必要と思われる。

また、CRS事例で経験したように、検体確保にあたる保健所と、検査を行う地方衛生研究所間の連絡調整が良好に行われることで、さらに有効な科学的データが得られると考えられた。

#### E.健康危険情報

なし

#### F.研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

なし

#### G.知的財産権の出願・登録状況

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 東北・新潟ブロック風疹患者報告数

	患者	検査	臨床
	報告数	診断数	診断数
青森県	0	0	0
岩手県	0	0	0
秋田県	0	0	0
宮城県	0	0	0
仙台市	0	0	0
山形県	0	0	0
新潟県	1	0	1
新潟市	0	0	0
福島県	4	4	0
合計	5	4	1

表2 東北・新潟ブロック麻疹検査実績

	疑い検査	のべ	陽性	遺伝子	遺伝子	ウイルス	ウイルス
	症例数	検査数	症例数	解析	バンク	分離	分離
				実施数	登録数	実施症例数	陽性症例数
青森県	8	23	0	0	0	0	0
岩手県	3	9	0	0	0	0	0
秋田県	4	12	0	0	0	0	0
宮城県	7	21	0	0	0	0	0
仙台市	1	3	0	0	0	0	0
山形県	2	2	0	0	0	2	0
新潟県	10	27	0	0	0	0	0
新潟市	4	6	0	0	0	0	0
福島県	11	25	3	3	3	3	0
合計	50	128	3	3	3	5	0

表3 麻疹検査陽性例

症例	発症日	検体採取日	年齢	性別	麻疹遺伝子検査			遺伝子型	ワクチン歴	海外渡航歴
					咽頭拭い液	血液	尿			
1	4月15日	4月24日	3	女	+	+	なし	B3	なし	なし
2	不明	4月25日	28	女	+	+	+	B3	あり	フィリピン
3	4月17日	4月28日	58	男	+	+	+	B3	なし	なし

表4 東北・新潟ブロック風疹患者報告数

	患者	検査	臨床
	報告数	診断数	診断数
青森県	0	0	0
岩手県	3	3	0
秋田県	7	2	5
宮城県	0	0	0
仙台市	1	0	1
山形県	0	0	0
新潟県	1	1	0
新潟市	0	0	0
福島県	1	1	0
合計	13	7	6

表5 東北・新潟ブロック風疹検査実績

	疑い検査	のべ	陽性	遺伝子	遺伝子	ウイルス	ウイルス
	症例数	検査数	症例数	解析	バンク	分離	分離
				実施数	登録数	実施症例数	陽性症例数
青森県	3	9	0	0	0	0	0
岩手県	0	0	0	0	0	0	0
秋田県	7	21	2	2	2	0	0
宮城県	1	3	0	0	0	0	0
仙台市	0	0	0	0	0	0	0
山形県	4	12	0	0	0	4	0
新潟県	1	2	0	0	0	0	0
新潟市	3	8	0	0	0	0	0
福島県	0	0	0	0	0	0	0
合計	19	55	2	2	2	4	0

表6 風疹検査陽性例

症例	発症日	検体採取日	年齢	性別	風疹遺伝子検査			遺伝子型	ワクチン歴	海外渡航歴
					咽頭拭い液	血液	尿			
1	3月19日	3月24日	36	男	+	+	+	2B	不明	不明
2	3月22日	3月25日	25	女	+	+	+	2B	不明	不明

### CRS事例 1 (福島県 男児)

母親の状況 ワクチン歴 : なし  
 海外渡航歴 : なし  
 妊娠中の罹患 : あり  
 妊娠中の風疹抗体価 : 不明

#### 検査の経過

検体採取日	咽頭拭い液	血液・血清	尿	肛門拭い液	糞便	唾液	遺伝子型
2014年 1月 4日	+	発症せず	+	+	発症せず	発症せず	2B
4月18日	+	+	+	-	発症せず	発症せず	
7月10日	+	-	+	発症せず	-	発症せず	
10月15日	+	-	+	発症せず	-	+	
2015年 1月 0日	発症せず	-	発症せず	-	発症せず	-	
1月23日	発症せず	発症せず	-	発症せず	発症せず	発症せず	

風疹遺伝子検査(NS領域コンベンショナルRT-PCR)

図1 CRS事例 福島県

### CRS事例 2 (新潟県 男児)

母親の状況 ワクチン歴 : あり (13歳)  
 海外渡航歴 : 不明  
 妊娠中の罹患 : 不明  
 妊娠中の風疹抗体価 : HI: 512 (12週)

#### 検査の経過

検体採取日	咽頭拭い液	血液・血清	唾液	尿	遺伝子型	lgM	lgG
2014年 3月12日	+	+	+	+	2B	115.5	24.1
6月9日	+	発症せず	+	+			
8月6日	+	発症せず	-	+			
10月8日	+	発症せず	-	-			
11月12日	-	発症せず	-	+			
12月9日	-	発症せず	発症せず	-			
2015年 1月7日	-	発症せず	発症せず	-			

風疹遺伝子検査(NS領域コンベンショナルRT-PCR)

図2 CRS事例 新潟

### CRS疑い事例 (山形県 男児)

母親の状況 ワクチン歴 : あり (幼少期)  
 海外渡航歴 : なし  
 妊娠中の罹患 : 不明  
 妊娠中の風疹抗体価 : 18週 HI 16倍  
 27週 HI 64倍

#### 検査の経過

検体採取日	咽頭拭い液	血液・血清	尿	lgM	lgG
2014年12月24日	-	発症せず	-	陰性 0.06	陽性 2.94

風疹遺伝子検査(リアルタイムPCR、コンベンショナルRT-PCR併用)

図3 CRS疑い事例 山

麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための実験室検査に関する研究

分担研究者：駒瀬 勝啓

千葉県の麻疹・風疹の現状と北関東ブロックにおける麻疹・風疹検査状況

研究協力者：小川知子、小倉 惇、堀田千恵美、平良雅克、仁和岳史（千葉県衛生研究所）

北関東ブロック担当者

土井 育子	(茨城県衛生研究所)
水越 文徳	(栃木県保健環境センター)
長島 史子	(宇都宮市衛生環境試験所)
塚越 博之	(群馬県衛生環境研究所)
小川 泰卓	(埼玉県衛生研究所)
大泉佐奈江	(さいたま市健康科学研究センター)
田中 俊光	(千葉市環境保健研究所)
長谷川道弥	(東京都健康安全研究センター)

#### 研究要旨

2014年、千葉県の麻疹は、1月にB3型が地域流行を起こした。これは輸入症例に引き続き起こったものであり、検査の迅速性だけでなく情報の早期開示の重要性が明瞭になった。また、流行の中で実施された麻疹感受性者に対するワクチンの緊急接種は、一定の効果が得られた。4月に検出されたD9型は2例にとどまり感染拡大しなかった。北関東ブロックで検出された遺伝子型は、D8型、D9型、B3型、H1型で、全て海外由来の遺伝子型であり、感染の疫学的リンクが途切れていることから、「麻疹の排除状態の維持」がなされているものと考えられた。海外から持ち込まれた株が、引き続いて国内感染を起さないためにも、ワクチン接種率のさらなる向上が重要であると考えられた。

2014年、風疹の届出数は激減している。しかしながら、届出に反映されない先天性風疹感染(CRI)の症例数のことから実際の感染者数は明瞭でない。その様な状況にあつては、ワクチン接種率の向上により感受性を減らすことが重要であると考えられた。

「麻疹排除状態の維持」「風疹排除」については、ウイルスに対する知識やワクチン接種の必要性を啓蒙していくことが重要であり、患者発生時の情報提供は「適切に。迅速に。」することが求められる。

感染者が少なくなってきた現在は、都道府県の枠を越えた疫学的リンクの調査を実施し、情報提供する必要があると考えられた。その役割において感染症疫学センターが“要”になることを希望する。引き続き、行政、臨床、検査の連携を強化する時期であると考えられた。

#### A. 研究目的

2014年、千葉県においても北関東ブロックにおいても、麻疹は輸入症例から引き続き、B3型、D9型、D8型による流行が起こったが、積極的疫学調査により、リンクが切れたことによ

り土着株となっていないことが示された。また、風疹は多くの患者数を出した2013年に比較して大きく減少しているが、CRIの人数が届出上把握できない等、実際の感染者数は明瞭でない。今回、千葉県における麻疹及び風疹の流行状

況と検査の現状を報告するとともに、北関東ブロックにおける麻疹及び風疹検査の状況を併せて報告し、問題点を明瞭にし、対応策を考えることを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 麻疹の検査（千葉県）

2014年1月1日～2014年12月31日に検査依頼のあった麻疹（疑い例を含む）患者118例について検査した。

病原体の検出については、これら検体すべてに田部井らのリアルタイム PCR (*Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. Pub. Health*, 62, 43-48, 2011) にて遺伝子検出を実施し、陽性検体について病原体検査マニュアルに準じ、RT-PCR を実施しN遺伝子領域における塩基配列を決定し遺伝子型を解析した。

### 2. 風疹の検査（千葉県）

2014年1月1日～2014年12月31日は、96例について検査した。

このうち風疹の単独依頼は10例であり、前年度より継続して実施しているCRI患者の経時的検査3例、CRI疑い例1例、CRS疑い例の経時的検査3例、妊婦2例について検査した。

病原体の検出は、岡本らのリアルタイム PCR (*Journal of Virological Methods*. 168 (2010)267-271) と病原体検査マニュアルに準じたRT-PCRを二段階で実施し、陽性の検体についてはE1領域での遺伝子型別を実施した。

### 3. 北関東ブロックにおける麻疹及び風疹検査

茨城県衛生研究所、栃木県保健環境センター、宇都宮市衛生環境試験所、群馬県衛生環境研究所、埼玉県衛生研究所、さいたま市健康科学研究センター、千葉市環境保健研究所、東京都健康安全研究センター、千葉県衛生研究所の9施設に対し、2014年1月～12月に遺伝子型の決定まで終了した実績数を調査した。

## C. 研究結果

### 1. 麻疹の検査（千葉県）

2014年1月、フィリピンからの3例の輸入症例が千葉県に入った（図1.2.表1.）。1例は自らの発症のみ、もう1例は医療モールドで同席した1例に疫学的リンクが確認された。さらにもう1例からは、A保健所管内の総合病院に関連して15例に感染が拡大した。また、3名は疫学的リンクが明瞭にできなかった（図2）。届出22例は、IgM抗体陽性2例、遺伝子検査陽性20例で、全て検査診断された。遺伝子型はB3型であった。

この地域流行において、C保健所管内の小学校では、患者の座席や行動形態から教員及び児童の罹患歴やワクチン接種状況を調べ、感受性者4名に緊急MRワクチン接種を実施した。1名からB3型麻疹ウイルスが検出されたものの、1名からはワクチン株由来のA型が検出され、2名は発熱等軽度の症状がみられたものの発疹はなく、麻疹遺伝子は陰性（内1名は風疹ワクチン由来の1a型を検出）であった。

4月、遺伝子型D9型が2名から検出されたが、2名とも海外渡航歴はなく、感染経路も明瞭でなかった。

### 2. 風疹の検査（千葉県）

#### 風疹ウイルスの検出

検査を実施した102例のうち5例から風疹ウイルスを検出した。CRIの経時的検査の3例（2B型）、MRワクチン接種によるワクチン株検出の2例（1a型）であった。2013年4月（誕生時）にCRIの感染が確認された児は、生後13カ月で遺伝子検査陰性となった。なお、児はその後難聴が確認され2014年9月に先天性風疹症候群（以下CRS）の届出がなされた。

### 3. 北関東ブロックにおける麻疹及び風疹検査

遺伝子検査が実施された麻疹疑い症例数は、9施設の合計で905症例であり、遺伝子検査陽性症例数は126症例であった。その全てで、遺伝子型解析が実施された。検出された遺伝子型は、D8型24、D9型16、B3型73、H1型1、

ワクチン由来である A 型 5、遺伝子解析不可 7 であった。ウイルス分離を実施した症例数は 120 症例であり、ウイルス分離陽性となった症例数は 16 症例であった（表.2）。

また、遺伝子検査が実施された風疹疑い症例数は、8 施設の合計で 227 症例であり、遺伝子検査陽性症例数は、6 症例であった。その全てで、遺伝子型解析が実施された。検出された遺伝子型は、2B 型 4、ワクチン由来である 1a 型 2 であった。ウイルス分離を実施した症例数は 25 症例であり、ウイルス分離陽性となった症例数は 1 症例であった（表.3）。

なお、1 施設については、遺伝子検査が実施された風疹疑い症例数は、600 症例で遺伝子検査陽性症例数は、57 症例であった。遺伝子型別は継続中である。

#### D. 考察

2014 年 1 月から始まった千葉県の遺伝子型 B3 型の麻疹の流行は、フィリピンからの輸入例が始まりだったものの、A 保健所管内の総合病院に関連して地域流行を起こし、約 2 ヶ月を経て終息した。この間、症例の 1 名は東京都内の病院を受診・入院し、そこでの院内感染を起こした。このことは、情報の早期開示や提供の重要性が示されたと考える。地域流行は 4 つの保健所管内に関与したが（表.1）、C 保健所管内の小学校は、速やかに積極的疫学調査を実施し、MR ワクチンの緊急接種を行い効果を得ている。この結果は今後の緊急接種を考える上で、重要な資料となったと考える。

4 月に検出された遺伝子型 D9 型麻疹ウイルスは、輸入例によるものでは無かった。明瞭な疫学的情報は得られていないが、この時期隣接する東京都や関東地方 D9 型の流行が確認されていたことから、この地域から入りこんだものと考えられた。

これらのことから、ワクチン接種の重要性が明瞭に示された。

風疹は、2012～2013 年の大きな流行の後、

2014 年の実際の陽性数は極めて少ない状況であった。しかしながら、麻疹と同時検査を実施していることや麻疹ウイルス非検出の場合の検査等で、検査数はあまり減少していない。また、CRI の届出が明瞭になっていないことによる実際の胎児の風疹感染の状況が把握できない等の問題が存在している。さらに、検査においてもリアルタイム PCR の感度が低いことから、他の検査法と併せて判断する等運用についても慎重な対応が必要であることが示唆され、今後さらなる検討や議論が必要であると考えられた。

#### E. 結論

2014 年の麻疹の流行は、輸入例に引き続き地域流行を起こしたものであった。流行を最小限に抑えるためには、早期診断と適切な情報提供が必須であると考えられた。また、現在のように患者発生が極めて少なくなった状態においては、ワクチン接種率のさらなる向上が重要であり、「麻疹の排除状態の維持」のためにも最も強化すべき項目と考えられた。

風疹については、2014 年陽性者数は激減したものの、CRI 等の届出数に反映されない風疹感染症例が存在している。これらについても、適切に把握しフォローしていくシステムが必要であると考えられた。

「麻疹排除」「風疹排除」に向けては、都道府県の枠を越えた疫学的リンクの調査を実施し情報提供する必要があり、その“要の役割”を感染症疫学センターが担ってくれることを希望する。引き続き、行政、臨床、検査が連携して取り組むべき時期と考えられた。

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

調恒明<sup>1)</sup>、村田祥子<sup>1)</sup>、戸田昌一<sup>1)</sup>、岡本（中



川) 玲子<sup>1)</sup>、小川知子<sup>2)</sup>、堀田千恵美<sup>2)</sup>、小倉惇<sup>2)</sup>、平良雅克<sup>2)</sup>、仁和岳史<sup>2)</sup>：風疹/先天性風疹症候群の検査、臨床と微生物 Vol.41, No3, 2014.5. 229-234

1)山口県環境保健センター

2)千葉県衛生研究所

2.学会発表

小川知子、小倉惇、堀田千恵美、平良雅克、仁和岳史：風疹 IgM 抗体についての考察、平成 26 年度（第 29 回）関東甲信静支部ウイルス研究部会 2014.9.25～26 長野市

長澤耕男<sup>1)</sup>、石和田稔彦<sup>2)</sup>、小倉惇<sup>3)</sup>、小川知子<sup>3)</sup>、竹内典子<sup>2)</sup>、菱木はるか<sup>1)</sup>、内藤幸子<sup>1)</sup>、

下条直樹<sup>1)</sup>：Real-time PCR 法にて啓示的にウイルス量を測定した先天性風疹感染（CRI）の 1 例、第 46 回日本小児感染症学会総会・学術集会 2014.10.18～19 東京都

1)千葉大学大学院医学研究院 小児病態学

2)千葉大学医学部附属病院 感染症治療部

3)千葉県衛生研究所

## H.知的財産権の出願・登録状況

なし

図1..千葉県の麻疹流行状(届出数)

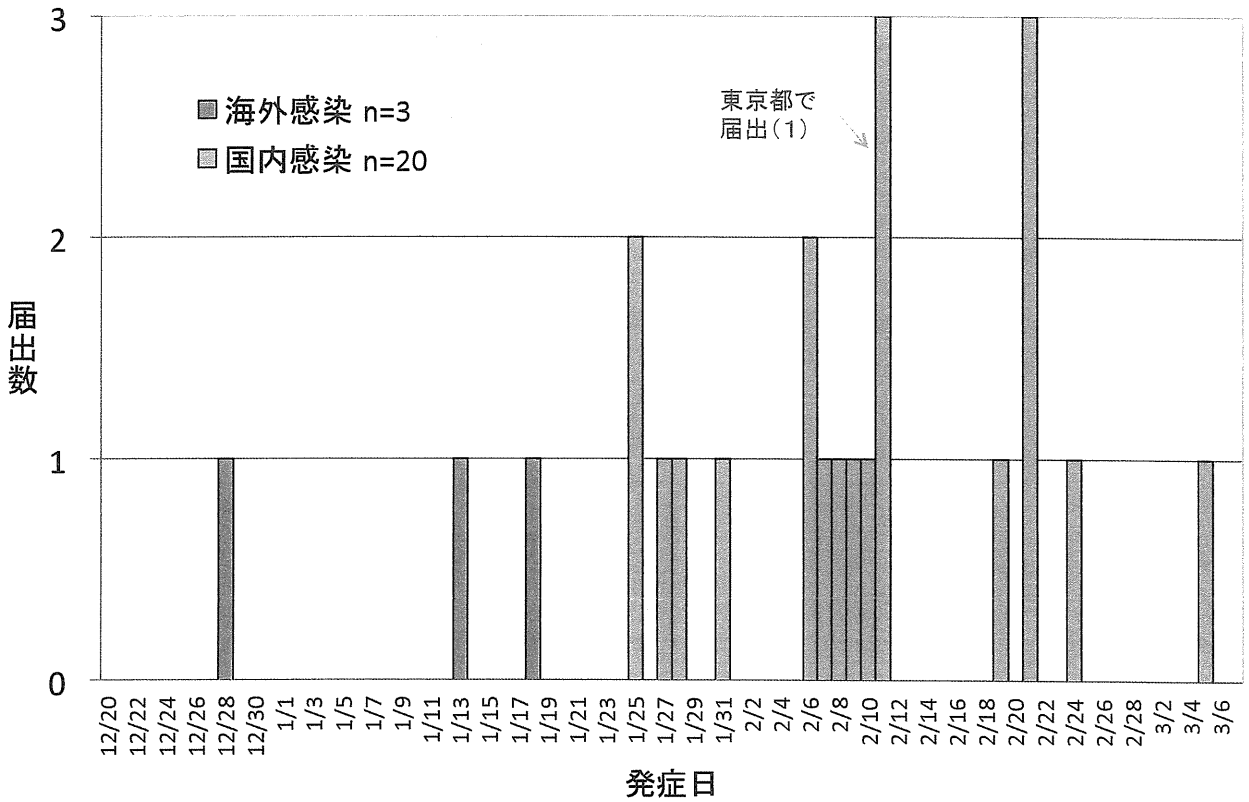


図2. 届出例のリンク

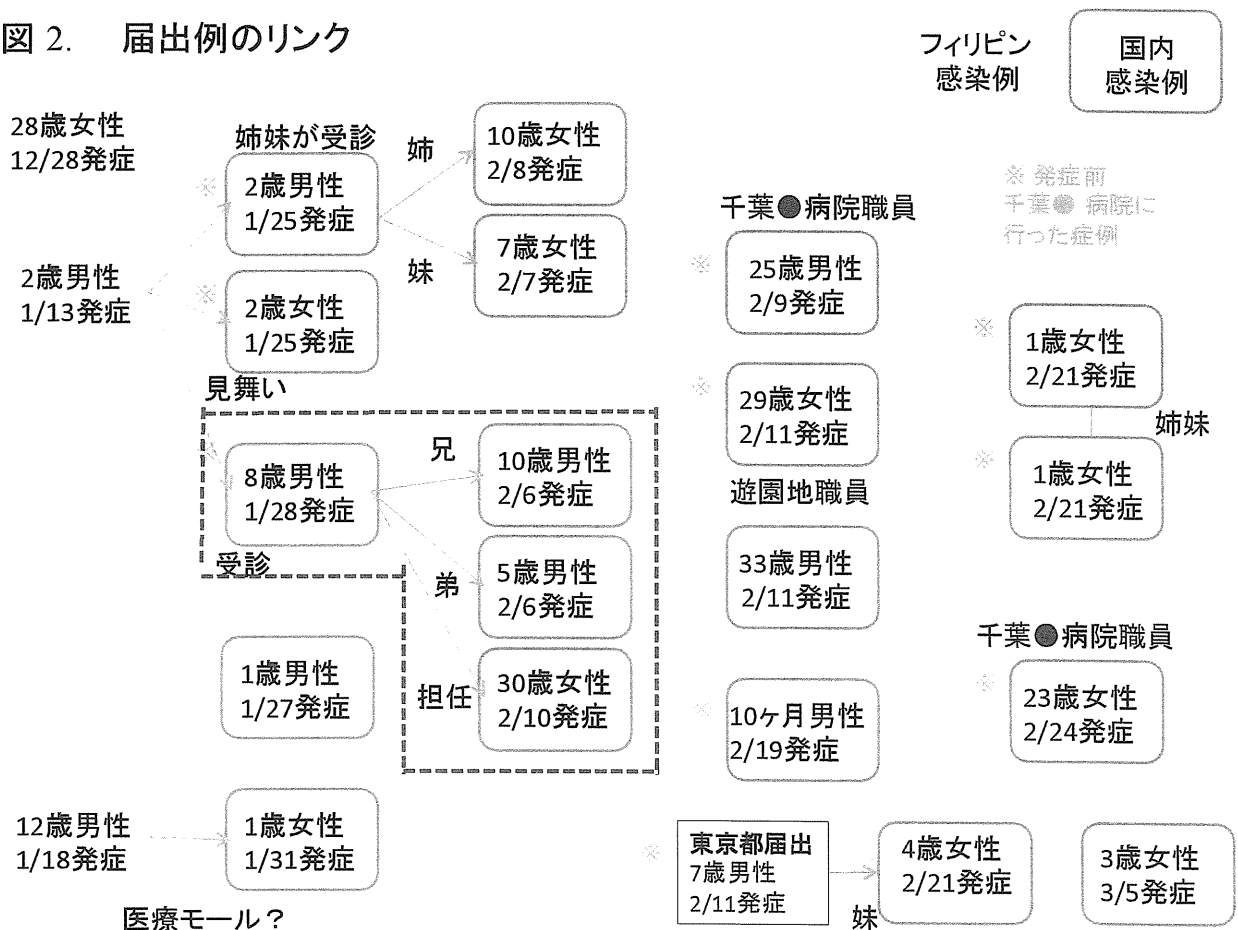


表1 保健所別届出数 2014年第1週～

診断週	保健所			
	A	B	C	D
1				1(フィリピン由来)
2				
3				
4	1(フィリピン由来)			
5	4	1(フィリピン由来)		
6	2	1		
7	2		1	
8	4			
9	3			
10	1			
11				
12	1			
保健所別合計	18	2	1	1

n=22

表2 麻疹検査実績

北関東ブロック	9施設	計
遺伝子検査を実施した麻疹疑い症例数		905
遺伝子検査陽性症例数		126
遺伝子解析を実施した陽性症例数		126
遺伝子解析未実施の陽性症例数		0
遺伝子型	D8	24
	D9	16
	B3	73
	H1	2
	A	5
	遺伝子解析不可	7
遺伝子バンク登録数		0
ウイルス分離を実施した麻疹疑い症例数		120
ウイルス分離陽性症例数		16

表3 風疹検査実績

北関東ブロック	8施設 計
遺伝子検査を実施した麻疹疑い症例数	227
遺伝子検査陽性症例数	6
遺伝子解析を実施した陽性症例数	6
遺伝子解析未実施の陽性症例数	0
遺伝子型	
2B	4
1a	2
遺伝子解析不可	7
遺伝子バンク登録数	0
ウイルス分離を実施した麻疹疑い症例数	25
ウイルス分離陽性症例数	1

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）  
「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための  
実験室検査に関する研究」班  
研究報告書

研究分担者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所

南関東・甲信静ブロックにおける麻疹および風疹の検査状況（2014年）

研究協力者 七種美和子、小澤広規、熊崎真琴、川上千春、宇宿秀三、高井麻美、  
畔上栄治、上原早苗、船山和志、森田昌弘（横浜市衛生研究所）  
一村美恵子、羽布津昌子、岩田眞美（横浜市健康福祉局健康安全部）

南関東・甲信静ブロック担当者

鈴木理恵子（神奈川県衛生研究所）  
清水英明（川崎市健康安全研究所）  
山口純子（横須賀市健康安全科学センター）  
望月響子（相模原市衛生試験所）  
大沼正行（山梨県衛生公害研究所）  
内山友里恵（長野県環境保全研究所）  
岡村雄一郎（長野市環境衛生試験所）  
池ヶ谷朝香（静岡県環境衛生科学研究所）  
柴原乃奈（静岡市環境保健研究所）  
神保達也（浜松市保健環境研究所）

研究要旨 南関東・甲信静ブロックにおいては、2014年に麻疹疑い  
321例について麻疹遺伝子検査が実施され、陽性例は78例であった。検  
出された遺伝子型はD8型24例、D9型5例、B3型45例、H1型2例、A型2  
例であった。風疹遺伝子検査は281例について実施され、陽性例は9例で  
あった。このうち7例の遺伝子解析が実施され、遺伝子型はいずれも2B  
であった。横浜市では63例についてウイルス検査を実施し、麻疹陽性は  
11例（D8型5例、D9型1例、B3型5例）、風疹陽性は5例（2B）、その他の  
ウイルス陽性は17例であった。麻疹IgM抗体検査の偽陽性例は、検査試  
薬の改良後はみられなかった。麻疹検出real-time PCR法は、nested  
RT-PCR法と同等の感度、特異度を有していた。一方、風疹検出real-time  
PCR法は、nested RT-PCR法と比較して感度は低い、特異度は高かった。

#### A. 研究目的

日本における麻疹排除については、平成  
25年4月1日に適用された麻しんに関する  
特定感染症予防指針において、「2015年ま  
でに麻しん排除を達成し、WHOによる麻し  
ん排除認定を受け、その後も排除状態を維  
持する」ことが目標とされた。また、風疹  
排除については、平成26年4月1日に風し  
んに関する特定感染症予防指針が適用され、

「早期に先天性風しん症候群の発生をなく  
すとともに、平成32年度までに風しんの排  
除を達成すること」が目標とされた。

WHOは、麻疹排除の定義を「質の高いサー  
ベイランス体制の下、土着株による感染  
が1年以上確認されないこと」、また、風疹  
排除の定義を「質の高いサーベイランス体  
制の下、土着株による感染が1年以上確認  
されず、それに関連したCRS症例が確認さ

れないこと」としている。日本では、国立感染症研究所、地方衛生研究所、保健所、医療機関の連携によるサーベイランス体制が構築され、地方衛生研究所において麻疹、および風疹の遺伝子検査が実施されている。

本研究では、2014年の南関東・甲信静ブロックにおける麻疹および風疹遺伝子検査実績の把握を目的とした。併せて、横浜市における麻疹疑い例の検査状況と、IgM抗体検査およびreal-time PCR法についての検討結果を報告する。

## B. 研究方法

### 1. 南関東・甲信静ブロックにおける麻疹および風疹の遺伝子検査実績の調査

南関東・甲信静ブロックの地方衛生研究所（11施設；神奈川県衛生研究所、川崎市健康安全研究所、横須賀市健康安全科学センター、相模原市衛生試験所、山梨県衛生公害研究所、長野県環境保全研究所、長野市環境衛生試験所、静岡県環境衛生科学研究所、静岡市環境保健研究所、浜松市保健環境研究所、横浜市衛生研究所）の協力のもと、2014年の麻疹および風疹の遺伝子検査症例数等の情報を集計した。

### 2. 麻疹疑い例のウイルス検査（横浜市）

2014年1月～12月に搬入された63例215検体（咽頭ぬぐい液59検体、末梢血単核球51検体、血漿・血清59検体、尿46検体）について検査を実施した。麻疹および風疹ウイルス遺伝子検出は、咽頭ぬぐい液、末梢血単核球、血漿・血清、および尿検体を試料として、病原体検出マニュアル（国立感染症研究所）に従い、nested-RT-PCR法で実施し、検出された株の遺伝子型別を行った。遺伝子検査によって麻疹、風疹のいずれも否定された症例については、血漿・血清検体を試料として、Real-time PCR pathogen

detection kit（Filgen）を使用して、real-time PCR法でhuman parvovirus B19（B19）、human herpesvirus 6、7（HHV6、HHV7）、cytomegalovirus（CMV）、Epstein-Barr virus（EBV）を検出した。また、咽頭ぬぐい液を試料として、Seeplex® RV 15 OneStep ACE Detection（Seegene）を使用して、multiplex PCR法でadenovirus、human coronavirus、parainfluenzavirus（PIV）、rhinovirus、respiratory syncytial virus（RSV）、influenzavirus、human bocavirus、human metapneumovirus（hMPV）、enterovirusを検出した。

### 3. 麻疹IgM抗体検査の偽陽性例の調査（横浜市）

2010年4月以降に当所で遺伝子検査を実施した麻疹疑い例のうちで、民間検査センターにおける麻疹IgM抗体検査の成績を把握できた143例を対象として、ウイルス検出成績との比較により、IgM抗体検査の偽陽性例の有無を調査した。

### 4. 麻疹および風疹検出real-time PCR法とnested RT-PCR法の比較検討（横浜市）

Nested RT-PCR法で麻疹と確定した6例由来の24検体および麻疹が否定された36例由来の129検体を試料として、real-time PCR法（米国CDC法、病原体検出マニュアル改訂版に掲載予定）で麻疹ウイルスを検出し、nested RT-PCR法の結果と比較した。同様に、nested RT-PCR法で風疹と確定した16例由来の64検体および風疹が否定された8例由来の32検体を試料として、real-time PCR法（病原体検出マニュアル改訂版に掲載予定）で風疹ウイルスを検出し、nested RT-PCR法の結果と比較した。

## C. 研究結果

### 1. 南関東・甲信静ブロックにおける2014年の麻疹および風疹遺伝子検査実績

麻疹検査実績を表 1 に示した。南関東・甲信静ブロックの全 11 施設で検査が実施され、症例数は 321 例であった。このうち遺伝子検査陽性例は 78 例（7 施設で検出）で、全例の遺伝子解析が実施され、遺伝子型の内訳は、D8 型が 24 例（3 施設で検出）、D9 型が 5 例（2 施設で検出）、B3 型が 45 例（5 施設で検出）、H1 型が 2 例（2 施設で検出）、A 型が 2 例（2 施設で検出）であった。遺伝子バンク登録数は 25 例（3 施設で実施）であった。ウイルス分離が実施されたのは 23 例（2 施設）で、陽性は 3 例（2 施設）であった。

風疹検査実績を表 2 に示した。風疹の検査は、麻疹疑い例あるいは風疹疑い例を対象として、南関東・甲信静ブロックの全 11 施設で実施され、症例数は 281 例であった。このうち遺伝子検査陽性例は 9 例（5 施設で検出）で、7 例の遺伝子解析が実施され、遺伝子型はいずれも 2B 型（3 施設で検出）であった。遺伝子バンク登録数は 5 例（1 施設で実施）であった。ウイルス分離が実施されたのは 1 例（1 施設）で、ウイルスは分離されなかった。

## 2. 麻疹疑い例のウイルス検査成績（横浜市）

2010 年から 2014 年のウイルス検査成績を表 3 に示した。2014 年は、検査を実施した 63 例中 33 例からウイルスが検出された。Measles virus は 11 例から検出され、遺伝子型の内訳は、D8 型が 5 例、D9 型が 1 例、B3 型が 5 例であった。遺伝子解析結果と疫学調査により、D8 型 5 例中 4 例は、他の自治体に届出されたカザフスタンからの輸入例とのリンクが疑われた。残りの 1 例は、ベトナムからの輸入例であった。D9 型 1 例は、他の自治体に届出された D9 型の症例とのリンクが確認された。B3 型 5 例中 4 例は

フィリピンからの輸入例あるいは輸入関連症例であった。残りの 1 例は疫学的リンクが確認できなかったが、解析した N 遺伝子 450 塩基の配列は他の 4 株と 100%一致していた。Rubella virus は 5 例から検出され、遺伝子型はいずれも 2B であった。このほか、B19 や HHV6 等 17 株のウイルスが検出された。

## 3. 麻疹 IgM 抗体検査の偽陽性例（横浜市）

検査試薬改良前（～2013 年 11 月）と改良後（2014 年 1 月～）の成績を表 4-1、4-2 に示した。試薬改良前の IgM 抗体検査陽性 36 例中 20 例からウイルスが検出されたが、このうち measles virus は 1 例のみで、rubella virus が 11 例、B19 が 5 例、HHV6 が 2 例、EBV が 1 例であった。一方、改良後の抗体検査陽性 6 例は全て measles virus が検出された症例であった。Rubella virus、B19、EBV 検出例は、いずれも抗体検査陰性であった。また、measles virus が検出された 3 例も抗体検査陰性であった。これらの症例の検体採取日は、発疹出現日の 1 日前が 1 例、当日が 1 例、翌日が 1 例であった。

## 4. 麻疹および風疹検出 real-time PCR 法と nested RT-PCR 法による検査成績の比較（横浜市）

麻疹の成績を表 5-1、風疹の成績を表 5-2 に示した。麻疹検出 real-time PCR では、nested RT-PCR 陽性の 6 例は陽性、陰性の 36 例は陰性と判定され、nested RT-PCR 法と結果が一致した。一方、風疹検出 real-time PCR では、nested RT-PCR 陽性の 16 例中 4 例は陽性、1 例は判定保留、11 例は陰性と判定された。なお、この成績に民間検査センターにおける風疹 IgM 抗体検査の成績を加味すると、陰性 11 例中 5 例が陽性となり、陽性は計 9 例となった。Nested RT-PCR 陰性の 8 例はいずれも陰性と判定された。

#### D. 考察

南関東・甲信静ブロックにおける2014年の麻疹遺伝子検査実施症例数は321例であった。遺伝子検査陽性78例全例の遺伝子解析が実施され、海外流行株あるいはワクチン株由来の症例であることが判明し、麻疹排除の状態が維持されていると考えられた。土着株による感染でないことの証明や、疫学的リンクの解明には、疫学調査とともに、検出された株の遺伝子情報が重要である。今回の調査では、遺伝子検査陽性の全例で遺伝子解析が実施されているものの、遺伝子バンクに登録されたのはその一部であった。今後、遺伝子バンクへの登録を積極的に行う必要があると考えられる。

一方、風疹の遺伝子検査は281例について実施された。風疹の検査は、麻疹疑い例を対象として実施している施設がほとんどであり、風疹疑い例を対象とした検査を実施している施設は少なかった。風疹排除に向けて、今後、麻疹と同様に遺伝子検査体制を充実させるとともに、流行株の遺伝子情報を蓄積していくことが必要と考えられる。

横浜市においては、遺伝子検査を実施した63例中11例からmeasles virusが検出された。D8型が検出された4例は、カザフスタンからの輸入例との疫学的リンクが疑われたが、関連する症例の届出が複数の自治体（保健所）にまたがっていたため、情報の共有が困難で、全体像の解明には至らなかった。早期の対応ができていれば、感染拡大を防ぐことができた可能性も考えられ、自治体間のタイムリーな情報共有が今後の課題である。このほか、D8型1例、D9型1例、B3型4例については、疫学調査によって輸入例あるいは輸入関連症例であること

が確認できた。疫学的リンク不明はB3型1例であったが、遺伝子解析の結果からは、輸入例との関連が推察される。Rubella virusは5例から検出され、麻疹症例の否定と風疹症例の正確な把握の一助となった。また、measles virus、rubella virus以外のウイルスが17例から検出され、麻疹症例の否定に有用であった。

麻疹IgM抗体検査については、これまで、麻疹以外のウイルス感染例で偽陽性例がみられることが問題であった。今回の調査では、試薬の改良前はrubella virusやB19等、麻疹以外のウイルスが検出された症例も陽性と判定されていた。しかし、改良後は、陽性となったのはmeasles virusが検出された症例のみであり、解析した症例数は少ないものの、検査試薬の改良によって偽陽性例はほとんどみられなくなったと考えられた。遺伝子検査の検体を適切な時期に採取できなかった場合でも、正確な診断の一助となることが期待される。一方、発症後早期に検体が採取された場合には、偽陰性となる可能性を考慮する必要がある。

国内で麻疹および風疹の遺伝子検出法として用いられてきたnested RT-PCR法は、感度は高いものの、操作が煩雑で結果の判明までに時間を要すること、また、コンタミネーションのリスクが高いことから、real-time PCR法の導入が望まれていた。今回の検討で、麻疹についてはreal-time PCR法とnested RT-PCR法の結果はよく一致しており、real-time PCR法はnested RT-PCR法と同等の感度、特異度を有していることが確認された。一方、風疹については、特異度はnested RT-PCRと同等であるが、感度は低かった。操作の簡便性や迅速性、コンタミネーションのリスクの低減等の観点から、real-time PCR法の導入は有用と考えられる



ため、引き続き検討したい。

(予定を含む。)

#### E. 結論

南関東・甲信静ブロックにおいて2014年に確認された麻疹症例は海外流行株あるいはワクチン株由来であり、麻疹排除の状態が維持されていると考えられた。風疹の検査は、麻疹の鑑別診断として実施されているケースが多いが、排除達成の目標年が定められたことから、今後は麻疹と同様に検査体制を充実させ、質の高いサーベイランス体制を構築する必要がある。検査診断に関しては、麻疹 IgM 抗体検査は偽陽性例がほぼみられなくなり、その成績は麻疹か否かの総合的な判断の一助として有用と考えられる。また、麻疹検出 real-time PCR 法は nested RT-PCR と同等の成績を得ることができるが、風疹検出 real-time PCR 法は偽陰性例に注意して慎重に判定を行うことが必要と考えられる。

特許取得

該当なし。

実用新案登録

該当なし。

その他

該当なし。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表

論文発表

該当なし。

学会発表

国際学会

該当なし。

国内学会

岩田眞美、七種美和子：横浜市における麻疹患者発生時の対応 第63回日本感染症学会東日本地方会学術集会、東京、2014年10月29～31日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

表1. 南関東・甲信静ブロックにおける麻疹検査状況

		南関東・甲信静ブロック (11施設) 合計	備 考
遺伝子検査を実施した麻疹疑い症例数		321	11施設
遺伝子検査陽性症例数		78	7施設
遺伝子解析を実施した陽性症例数		78	
遺伝子解析未実施の陽性症例数		0	
遺伝子型	D8	24	3施設
	D9	5	2施設
	B3	45	5施設
	H1	2	2施設
	A	2	2施設
遺伝子バンク登録数		25	3施設
ウイルス分離を実施した麻疹疑い症例数		23	2施設
ウイルス分離陽性症例数		3	2施設

表2. 南関東・甲信静ブロックにおける風疹検査状況

		南関東・甲信静ブロック (11施設) 合計	備 考
遺伝子検査を実施した風疹疑い症例数		281	11施設
遺伝子検査陽性症例数		9	5施設
遺伝子解析を実施した陽性症例数		7	
遺伝子解析未実施の陽性症例数		2	
遺伝子型	2B	7	3施設
	1E	0	
	1j	0	
遺伝子バンク登録数		5	1施設
ウイルス分離を実施した風疹疑い症例数		1	1施設
ウイルス分離陽性症例数		0	

表3. 麻疹疑い例のウイルス検査成績（2010～2014年 横浜市）

	2010	2011	2012	2013	2014	合 計
検査症例数	43	59	54	59	63	278
検出ウイルス株数	25	33	37	38	33	166
【内訳】						
Measles virus	1	2			11	14
Rubella virus	5	11	32	35	5	88
B19	4	7	1		4	16
HHV6	5	3		1	4	13
HHV7	2	2				4
EBV	1	1	1		1	4
CMV	1	1				2
Enterovirus			1	2	3	6
PIV	5	2			4	11
RSV		3	2			5
Rhinovirus		1			1	2
hMPV						1

表4-1. 民間検査センターにおけるIgM抗体検査成績とウイルス検出結果

(n=119、2010～2013年11月 横浜市)

IgM抗体検査成績	症例数	ウイルス検出症例数	検出ウイルス（症例数）
陰 性	62	34	Rubella virus (27), B19 (1), HHV6 (1), Enterovirus (1), RSV (1), PIV (1) Rhinovirus (1) hMPV & PIV (1)
判定保留	21	11	Rubella virus (6), HHV6 (1), HHV7 (1), EBV (1), PIV (2)
陽 性	36	20	Measles virus (1), Rubella virus (11), B19 (5), HHV6 (2), EBV (1)

表4-2. 民間検査センターにおけるIgM抗体検査成績とウイルス検出結果  
(n=24、2014年 横浜市)

IgM抗体検査成績	症例数	ウイルス検出症例数	検出ウイルス (症例数)
陰 性	16	9	Measles virus (3), Rubella virus (3), B19 (2), EBV (1)
判定保留	2	0	
陽 性	6	6	Measles virus (6)

表5-1. Nested RT-PCR法とreal-time PCR法の判定結果の比較 (麻疹)

		Nested RT-PCR		合 計
		陽 性	陰 性	
Real-time PCR	陽 性	6	0	6
	判定保留	0	0	0
	陰 性	0	39	39
合 計		6	39	45

表5-2. Nested RT-PCR法とreal-time PCR法の判定結果の比較 (風疹)

		Nested RT-PCR		合 計
		陽 性	陰 性	
Real-time PCR	陽 性	4	0	4
	判定保留	1	0	1
	陰 性	11	8	19
合 計		16	8	24

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための  
実験室検査に関する研究  
研究報告書

研究分担者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所ウイルス第3部第1室

北陸ブロックにおける麻疹および風疹患者報告ならびに地方衛生研究所における検査実施状況  
(2014年)

研究協力者： 児玉 洋江、成相 絵里、崎川 曜子（石川県保健環境センター）  
稲畑 良（富山県衛生研究所）  
小和田 和誠（福井県衛生環境研究センター）

#### 研究要旨

2014年の北陸ブロックにおける麻疹および風疹患者報告数ならびに地方衛生研究所（以下、地衛研）における麻疹および風疹を疑う症例についての検査実施状況を調査した。その結果、麻疹は患者報告がなかった。麻疹を疑う14症例から採取された37検体（咽頭ぬぐい液：14検体、血液：12検体、尿：11検体）について検査が実施されており、いずれの検体からも、麻疹ウイルスは検出されなかったことから、北陸ブロックにおいては、2013年に引き続き麻疹排除状態が維持されていると考えられた。

一方、風疹は3人の患者報告があったが、この症例も含めて地衛研では風疹を疑う症例についての検査は実施されていなかった。類似する症状の疾病から風疹を正確に見分けるためには、病原体を確認することが不可欠であると考えられることから、風疹排除に向けた対策をより確実にするためには、引き続き、地衛研における病原体の検査実施状況を把握するとともに、行政および医療機関ならびに地衛研の連携を強化し、病原体診断体制を確立することが重要である考える。

#### A. 研究目的

「麻疹に関する特定感染症予防指針」では、「平成27年度までに麻疹の排除を達成し、世界保健機関による麻疹の排除の認定を受け、かつ、その後も麻疹の排除の状態を維持すること」が目標と定められている。世界保健機関による麻疹排除達成の認定基準として「適切なサーベイランス制度の下、土着株による感染が3年間確認されず、また遺伝子型解析により、そのことが示唆されること」が示されており、サーベイランス制度を検証するためには、地衛研での分離・同定による病原体検出および遺伝子検査による病原体の検査実績を正確に把握する必要がある。

一方、風疹についても、「風しんに関する特定感染症予防指針」において、平成32年度までに風疹の排除を達成することを目標としている。排除の定義は麻疹に準じていることから、風疹排除に向けた対策を講じるためには、麻疹対策と同様に診断体制も含めた現状を把握することは重要である。

本研究では、北陸ブロックにおける麻疹および風疹対策の現状および課題を明らかにすることを目的に、麻疹および風疹の患者報告数ならびに地衛研での病原体の検査実施状況を調査した。

#### B. 研究方法

2014年の麻疹および風疹患者報告数は、感染症

発生動向調査事業により把握した。

北陸ブロックにおける麻疹および風疹を疑う症例の地衛研での病原体の検査実施状況は、北陸ブロックの地衛研3機関からの報告に基づき集計した。なお、調査対象期間は2014年1月から12月とした。

## C. 研究結果

### 1. 麻疹

北陸ブロックにおいては、2014年は麻疹患者報告はなかった。北陸ブロックの地衛研では、麻疹を疑う14症例から採取した37検体（咽頭ぬぐい液：14検体、血液：12検体、尿：11検体）について麻疹ウイルス遺伝子検査が実施された。このうち、4症例から採取された10検体については分離培養検査も併せて実施された（表1）。血液および咽頭ぬぐい液ならびに尿の3種類が検体として提出されたのは11症例（78.6%）であった。検査の結果、いずれの検体からも麻疹ウイルスの遺伝子検出および分離はみられなかった。全ての症例について、発熱、発疹性疾患の原因となるウイルスについて検査が実施され、3症例（21.4%）からウイルス遺伝子が検出された。内訳は、パルボウイルス B19、HHV6、ライノウイルスであり、各々1症例から検出されていた。

### 2. 風疹

北陸ブロックにおいては、2014年は3人の風疹患者報告があった。一方、2014年に北陸ブロックの地衛研にて、風疹を疑う患者に対する病原体の検査は実施されなかった。

## D. 考察

調査の結果、麻疹に関しては行政および医療機関ならびに地衛研の連携の下、検体の確保から地衛研における遺伝子検査実施までの病原体診断体制が確立されており、北陸ブロックでは精度の高い麻疹サーベイランスが実施されていると考えられた。この状況下で、北陸ブロックの麻疹患者は、2013年に引き続き2014年も報告がなかったことから、北陸ブロックでは麻疹排除状態が維

持されていると考えられた。この状態を維持するためには、今後も海外からの輸入麻疹に対する対策を含め、関係機関と連携を密にし、引き続き精度の高いサーベイランス体制の維持に努める必要がある。

一方、風疹に関しては、「風しんに関する特定感染症予防指針」にて、我が国における風疹患者の発生数が一定数以下になった場合には、原則として全例に地衛研におけるウイルス遺伝子検査の実施を求めるものとしているが、現在は「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」に基づき、病原体検出、遺伝子検出、抗体検出のいずれかによる病原体診断を伴う検査診断または臨床診断により患者が報告されている。北陸ブロックでは2014年は3人の風疹患者の報告があったが、地衛研による病原体検出および遺伝子検査は実施されていないことから、これらの症例は抗体検出による病原体診断を伴う検査診断または臨床診断による報告であったと考えられる。類似する症状を呈する疾病から風疹を正確に見分けるためには、臨床診断に加え、抗体検出および遺伝子検出による迅速な病原体診断を実施するのが望ましい。また、発症早期にはIgM抗体価が低く、三主徴（発熱、発疹、リンパ節腫脹）の全てが揃わない症例も多いことから、今後、風疹排除に向けた対策をより確実にするためには、引き続き地衛研における病原体の検査実施状況を把握するとともに、麻疹対策と同様に、関係機関との連携を強化し、病原体診断体制を確立することが重要であると考えられる。

## E. 結論

北陸ブロックでは、麻疹に関しては、実質的な排除状態にあると考えられた。一方、風疹に関しては、排除に向けた対策をより確実にするためには、関係機関の連携を強化し、病原体診断体制を確立することが重要であると考えられる。

## F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 北陸ブロックの地衛研における麻疹を疑う症例に対する病原体の検査実施状況(2014)

症例数	年齢	性別		検体数	検体種別内訳			検査結果		発熱発疹性疾患 原因ウイルス(症例数)	
		男	女		咽頭 ぬぐい液	血液	尿	遺伝子 検出 症例数	分離 陽性 症例数		
富山県	4	9ヶ月～ 73歳	2	2	10	4	3	3	0	0	・パルボウイルスB19(1)
石川県	5	9ヶ月～ 23歳	2	3	12	5	4	3	0	実施 せず	・HHV6(1) ・ライノウイルス(1)
福井県	5	11ヶ月～ 23歳	2	3	15	5	5	5	0	実施 せず	-

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）  
「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための  
実験室検査に関する研究」班

分担研究報告書

「麻疹検査診断ネットワーク機能の強化に関する研究」

研究分担者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所

愛知県における2014年麻疹集団発生及び麻疹風しん疑い事例における  
実験室検査の活用

研究協力者 皆川 洋子、安井 善宏、安達 啓一、尾内 彩乃、伊藤 雅、  
小林 慎一、広瀬かおる、山下 照夫  
愛知県衛生研究所

研究要旨 愛知県（人口740万）における2014年の麻疹発生報告は46例、風しんは21例であった。麻疹は2014年3月に名古屋市の集合住宅において、5月には2年連続となる県内で医療機関を接点とする集団発生合計2件がみられ、何れも輸入事例からの感染拡大と考えられた。名古屋市を除く県内で検出された麻疹ウイルスの分子疫学解析の結果集団発生関連14症例から遺伝子型B3の麻疹ウイルスを検出した。輸入麻疹はフィリピンから3例(遺伝子型B3)、ベトナム(遺伝子型H1)から1例計4例みられた。風疹ウイルス陽性2例の遺伝子型は2B型であった。両ウイルス陰性であった麻疹風しん疑い55例について他のウイルス検査を実施した結果、10例からアデノウイルス、インフルエンザウイルス、エンテロウイルス等が検出され、診断精度の向上に有用であった。

A. 研究目的

麻疹及び風しんは世界保健機関(WHO)により排除が進められているウイルス感染症であり、日本も2013年4月に改正した麻疹に関する特定感染症予防指針において2015年麻疹排除を目標とした。麻疹及び風しんの排除達成に不可欠な症例数の正確な把握には、伝染性紅斑、突発性発疹、手足口病等発疹症との鑑別診断が必要である。愛知県はフィリピンや中国等未だ麻疹・風しんの流行がみられる国との人的交流が盛んであるためか、輸入事例からの感染拡大と思われる10例以上の規模の麻疹集団発生が、直近5年間に5回観察されている（うち名古屋市のみの

事例は1回）。麻疹風しん疑い事例のウイルス検査は、症例の確定根拠及び分子疫学情報源となる。さらに、散发疑い事例における他の発疹症の紛れ込み排除には、原因ウイルス検出が有用である

B. 研究方法

1. 麻疹風しん疑い事例検体からのウイルス検出

麻疹風しん疑い事例から採取された検体（咽頭ぬぐい液、尿、血液等）は、まず麻疹ウイルス(MeV)及び風疹ウイルス(RUBV)のRT-PCR検査を同時に実施し、何れも陰性検体のみアデノウイルス、エンテロウイルス等のウイルス分離に供した。



また前記 PCR にて MeV 若しくは RUBV 陽性を示した検体は、各々 VERO-hSLAM 若しくは RK-13 に接種しウイルス分離を試みた。

## 2. MeV の分子疫学解析

麻疹 N 遺伝子陽性例について、PCR 増幅産物(450bp)のヌクレオチド配列を決定し、分子疫学解析に供した。

## 3. 麻疹ウイルス風疹ウイルスを同時検出する PCR 検出システムの実地検証

前年度より継続して実施している同時検出系を、臨床検体に適用した。

## C. 研究結果

### 1. 麻疹風疹疑い事例検体からのウイルス検出

2014 年 1 月・12 月の間に合計 85 例の検査依頼があり、MeV 陽性は 24 例(遺伝子型 B3 22 例、H1 2 例)RUBV 陽性 2 例(遺伝子型 2B)であった。MeV, RUBV とも陰性症例のうち 10 例よりコクサッキー(Cox.) A9 ウイルスを 3 例から、B19V・インフルエンザ AH1pdm09・インフルエンザ B(山形系統)・アデノウイルス 3 型・Cox.A10・Cox.B5・エコーウイルス 25 型を各 1 例から検出した。

### 2. MeV の分子疫学解析

B3 遺伝子型の N 遺伝子増幅産物分子疫学解析の結果(図 1)から、2014 年に愛知県保健所管内で探知された集団発生事例の MeV は、前年に県内で探知された B3 による事例とは相違がみられた。

ベトナムからの輸入麻疹 1 事例(家族内感染 1 例が発生したため 2 症例)から検出された H1 遺伝子型の N 遺伝子増幅産物分子疫学解析の結果、2013 年に中国からの輸入事例とは異なるクラスターを形成していた(図 2)。

### 3. MeV, RUBV を同時検出する PCR 検出システムの実地検証

同時検出の有用性について英文論文にまとめた。

### 4. 麻疹風疹予防対策及びウイルス検査有用性の周知

県内で麻疹風疹患者への関心の高い小児科医の集まる日本小児科学会東海地方会での発表や、患者発生の多い時期に集中したマスメディア取材対応をとおして定期予防接種の意義や感染予防対策、ウイルス検査の有用性や成果の広報に努めた。

## D. 考察

麻疹風疹疑いとして検査を要する事例は、2012 年に始まった風疹の国内流行が 2014 年に終息をみても発生している。地衛研によるウイルス検査は、集団発生や輸入麻疹の診断確定及び感染源推定につながる疫学調査に有力な情報を提供できることを前年に引き続き示すことができた。2014 年の集団発生は 2013 年と同じ遺伝子型 B3 に属する MeV が原因であったが、分子疫学解析結果は、県内で流行が持続していたのではなく新たな輸入ウイルスが原因である可能性を支持するものであった。

加えて、散発事例の一部において他のウイルス感染症が紛れ込んでいることを、伝染性紅斑の病原ウイルス(B19V)、手足口病等発疹症の病原体となるエンテロウイルス(コクサッキー A 群、コクサッキー B 群、エコーウイルス)やアデノウイルス、あるいはインフルエンザウイルスの検出により科学的に示すことができた。他の発疹症原因ウイルスの検出は、麻疹・風疹の除外診断に強力な根拠となるほか、病原体サーベイランス対象感染症である手足口病、咽頭結膜熱や無菌性髄膜炎の病原体による臨床像把握のうえでも有用な情報が得られ

るため、地衛研は積極的に実施すべきと考える。

特記事項として 70 年ぶりとなるデング熱国内発生に伴い、鑑別診断として DENV と並行検査依頼が 3 件あった。

#### E. 結論

麻疹風しん疑いとして検査を要する事例は、2012 年に始まった麻疹の国内流行が終息した後も散発している。集団発生や輸入麻疹の診断確定及び分子疫学解析にウイルス検査は多くの情報源となる。加えて、散発事例対応に他のウイルス感染症が紛れ込んでいることの科学的根拠として、アデノウイルス、ピコルナウイルス等の病原ウイルスの検出は極めて有用であり、地衛研は積極的に実施すべきと考える。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Yasui Y, Mori Y, Adachi H, Kobayashi S, Yamashita T, Minagawa H: Detection and genotyping of rubella virus from exanthematous patients suspected of having measles using reverse transcription-PCR. Japanese Journal of Infectious Diseases 67(5):379-391, 2014.

2. 安井善宏、尾内彩乃、伊藤雅、安達啓一、中村範子、廣瀬絵美、小林慎一、山下照夫、皆川洋子、荒ヶ田智子、浅井康浩、加藤勝子、竹内清美：ベトナム渡航者からの麻疹ウイルス遺伝子 H1 型の検出—愛知県、病原微生物検出情報 35(7):177-178, 2014.

##### 学会発表

国際学会 なし

##### 国内学会

1. 皆川洋子：愛知県内で検出される麻疹ウイルス遺伝子型の変遷、第 261 回日本小児科学会東海地方会

2014 年 5 月 18 日 愛知県長久手市

2. 皆川洋子、児玉洋江：平成 26 年度麻疹・風疹レファレンスセンター報告、平成 26 年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部微生物部会、名古屋市、2015 年 3 月 6 日

##### ウェブページからの情報提供

1. 麻疹患者調査事業における麻疹患者報告状況(2014 年)

[http://www.pref.aichi.jp/eiseiken/2f/msl/msl\\_2014.html](http://www.pref.aichi.jp/eiseiken/2f/msl/msl_2014.html) (政令市を含む愛知県内医療機関から届出の翌開庁日中に掲載・更新)

##### マスメディアへの情報提供

1. 麻疹の流行状況と対策

NHK 名古屋 東海地方ニュース

2014 年 4 月 1 日放送

2. 麻疹の流行状況と対策

東海テレビスーパーニュース

2014 年 4 月 17 日放送

3. 麻疹の流行状況と対策

CBCテレビ イッポウ

2014 年 4 月 18 日放送

4. 麻疹の流行状況と対策

名古屋テレビ ドデスカ!

2014 年 4 月 22 日放送

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

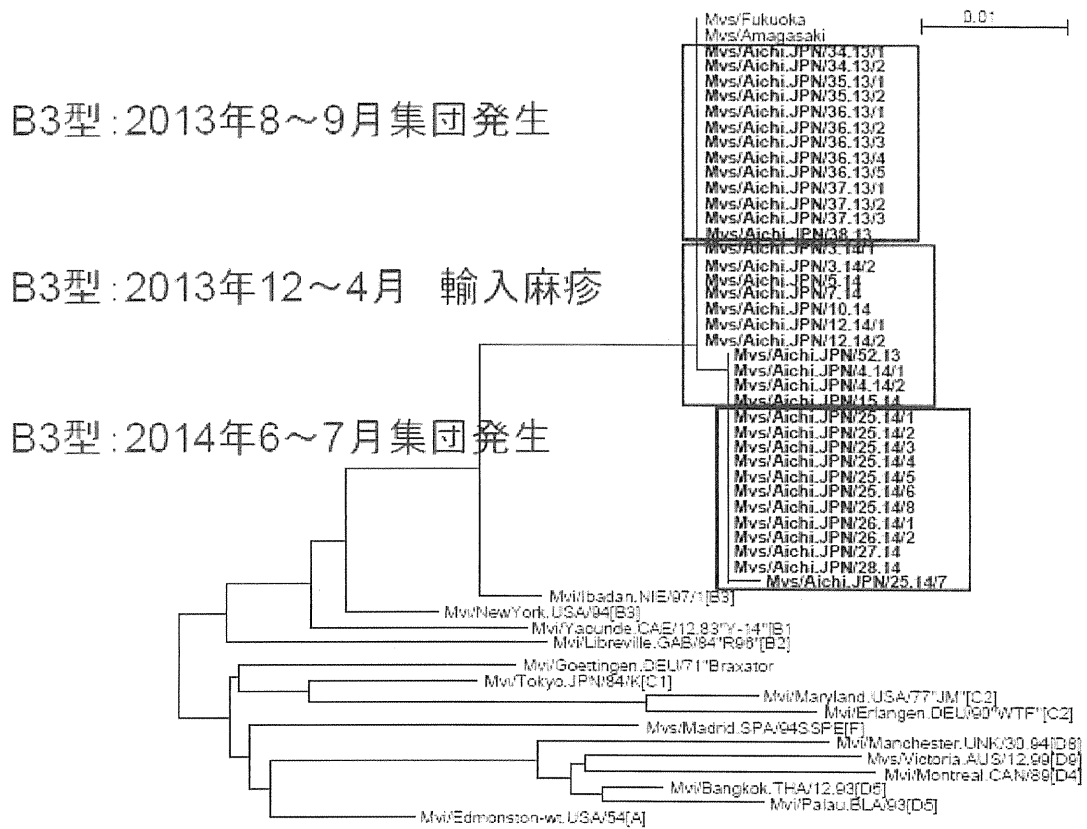


図1 麻疹ウイルスB3型のN遺伝子(450nt)に基づく分子系統樹

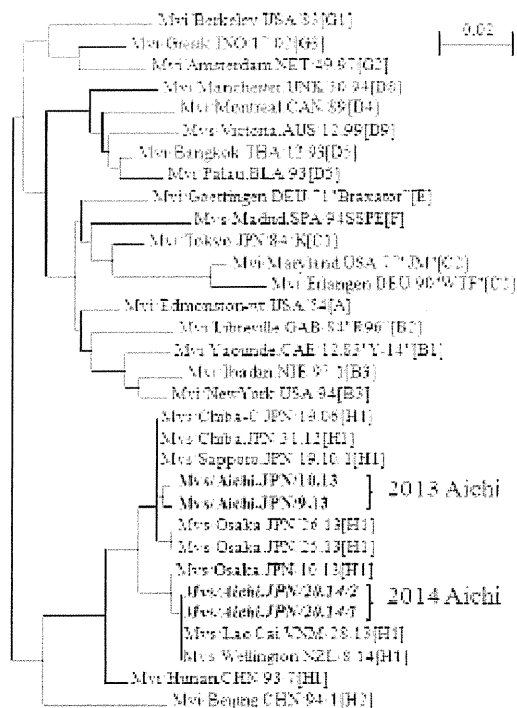


図2 麻疹ウイルスH1型のN遺伝子(450nt)に基づく分子系統樹

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）  
「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための  
実験室検査に関する研究」班

分担研究報告書

「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための実験室検査  
に関する研究」

研究分担者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所

研究報告書

2013 - 2014 年における中国四国地域の麻疹、風疹の流行および検査状況

研究協力者 佐倉 千尋 鳥取県衛生環境研究所  
加藤 喜幸 鳥取県衛生環境研究所  
竹内 功二 鳥取県衛生環境研究所

研究要旨 2015 年までに麻疹排除の認定を受け、排除状態を維持するために、適切なサーベイランス制度を整備することは各都道府県において重要である。調査により、中国四国地域の各地方衛生研究所は適切な麻疹遺伝子検査体制を維持し、検査精度を保持していることが判明した。臨床診断例は2013 年に麻疹患者届出数4件のうち2件、2014 年は18件中1 件のみであり、他のすべては遺伝子検査、抗体検査での検査診断例であった。麻疹遺伝子検査陽性例での遺伝子型別はすべての症例で実施され、2013 年、2014 年共にB3 型が最も多かった。遺伝子型解析により検出された麻疹ウイルスはすべて輸入株であることが示唆され、疫学調査において輸入例との関連性や他症例との疫学的関連性を示す証拠として用いられている。風疹については2012 - 2013 年の流行に起因すると考えられる先天性風疹症候群の発生が、中国四国地域において2014 年に1 件あった。各地方衛生研究所において風疹疑い症例の遺伝子検査が実施されたが、患者の届出数と比較し、検査数は少なく遺伝子型別も陽性例の半数以上で未実施であった。2013 年の風疹遺伝子型は2B 型が最も多かった。2020 年度までの風疹排除認定の為には第一期、第二期の95 %以上の予防接種率達成及び全世代の感受性群の減少が必要である。

A. 研究目的

西太平洋地域における2012 年までの麻疹排除の為、取組まれてきた種々の活動にも関わらず、日本は2014 年3 月に世界保健機構(WHO)の麻疹排除認定を受けることができなかった。しかしながら、実質的には排除状態にあり、「麻しんに関する特定感染症予防指針」の目標である2015 年度

までに認定を受けるために、追加の情報収集を行っている。必要となる情報のうち、地方衛生研究所において関与する割合が大きいものは、精度管理された検査室における80 %以上の疑い患者の検査診断および人口10 万人当たり2 例以上の麻疹取下げ例の報告である。検査状況を把握し、排除に向けてどのような課題があるのかを検討

するため調査を実施した。風疹については全国における2012 - 2013年の流行およびその後の先天性風疹症候群（以下CRSという。）患者の発生を受け、2014年4月1日より「風しんに関する特定感染症予防指針」が適用され、2020年度までに風疹を排除することを達成目標としている。風疹と臨床診断された症例に可能な限り検査診断を実施することを求めており、通知の適用前後での検査状況の変化を把握するため調査を実施した。

## B. 研究方法

中国四国地域の9県1政令市における地方衛生研究所（以下地研という。）に麻疹、風疹の検査状況に関するアンケート調査を実施した。また、患者届出数については、感染症発生動向調査事業年報の情報を一部引用した。

## C. 研究結果

### 1. 麻疹検査状況

2008年から2014年までの麻疹患者届出数を表1に示す。2013年は4件、2014年は18件の届出があった。2014年は岡山県、広島県で小規模な感染伝播が認められた。

2010年から2014年までの麻疹遺伝子検査実績を表2に示す。2013年の麻疹疑い検査症例数は85件、陽性症例数は4件であり、2014年はそれぞれ105件、17件であった。リアルタイムPCRとコンベンショナルPCRを併用している地研が3機関、コンベンショナルPCRのみの地研が7機関であった。

麻疹疑い症例のうちウイルス分離を実施した症例は、2013年8件、2014年11件であり、そのうちのウイルス分離が陽性であったのは2014年の7件であった。

麻疹疑い検査症例数の年齢分布を図1に示す。いずれの年代においても検査実績はあるが、2013年は2歳未満の乳幼児および20 - 40代の成人、2014年は2歳未満の乳幼児が多数を占めた。

検査症例の検体内訳は表3に示すとおり、咽頭拭い液・血液・尿の3点の採取が最も多く、2013年は85例中54例(63.5%)、2014年は105例中69例(65.7%)であった。また、総検体数は2013年には218検体、2014年は272検体であり、すべての検体において表4・a、4・bに示すとおり遺伝子検査が適正に実施されていた。

麻疹遺伝子検査に使用された臨床検体の発症から検体採取までの日数を図2に示す。2013年は発症後0 - 3日が最も多く38.8%、4 - 6日は30.6%、7日以上は25.9%、不明のものは4.7%であった。2014年は発症後0 - 3日は34.3%、4・6日が最も多く40%、7日以上は25.7%であった。

麻疹遺伝子検査陽性と判定された症例から検出されたウイルスの遺伝子型別件数を表5に示す。2013年はA型2件、B3型2件、2014年はA型1件、B3型13件、D8型3件であり、遺伝子型別未実施のものはなかった。また、2013年にB3型2件、2014年にB3型5件、D8型1件について遺伝子配列をDDBJに登録していた。

麻疹遺伝子検査が陰性であった症例のうち、発疹性疾患の原因となる他のウイルスを検出したものを表6に示す。2013年は風疹ウイルスの検出が17件と最も多く、ヘルペスウイルス7型6件、6型3件と続いた。2014年はヘルペスウイルス6型が15件と最も多く、ヘルペスウイルス7型5件、Epstein-Barrウイルス3件の順であった。2013年は10機関中8機関、2014年は7機関の地研で麻疹以外の発疹

性ウイルスの検査を実施していた。

## 2. 風疹検査状況

2008年から2014年までの風疹患者届出数を表7に示す。2013年は383件、2014年は11件の届出があった。2013年は中国四国地域全域で風疹の流行が確認された。CRSは2012年に香川県で1件、2014年に島根県で1件届出があった。

2013年から2014年までの風疹およびCRS遺伝子検査実績を表8および9に示す。2013年の風疹疑い検査症例数は120件、陽性症例数は76件であり、2014年はそれぞれ35件、1件であった。2013年のCRS疑い検査症例数は10件、陽性症例数は2件（他県で届出）、2014年はそれぞれ4件、1件であった。

風疹疑い症例において風疹ウイルス分離を実施したものは2013年に23例あり、20例で分離陽性であった。

風疹疑い検査症例の検体内訳は表10に示すとおり、咽頭拭い液・血液・尿の3点の採取が最も多く、2013年は120例中65例(54.2%)、2014年は35例中25例(71.4%)であった。総検体数は2013年は287検体、2014年は92検体であった。血液検体は単核球、血漿、血清と様々なものが検査に供されており、複数の組み合わせもあった。

CRS疑い検査症例の検体内訳は表11に示すとおり、咽頭拭い液・唾液・尿の3点の採取は少なく、2013年は10例中5例が咽頭拭い液のみ、2014年は4例中2例が尿のみの採取で最も多かった。総検体数は2013年には15検体、2014年は9検体であった。

風疹が疑われ、風疹遺伝子検査陽性と判定された症例の遺伝子型別件数を表12に示す。2013年は1a型1件、1E型1件、

2B型30件、型別不能が2件、型別未実施が42件であり、2014年の陽性例1件は遺伝子型別未実施であった。また、2013年に検出された2B型30件のうち7件が遺伝子配列をDDBJに登録していた。2013年および2014年にCRS疑い症例において風疹遺伝子検査陽性と判定された3症例はすべて遺伝子型別未実施であった。

## D. 考察

中国四国地域の麻疹疑い症例については、ほぼ全症例の検査診断がされており、2013年、2014年の臨床診断例による麻疹の届出はそれぞれ2件、1件である。2014年に岡山県、広島県で起きた小規模の感染伝播を含め、2013年、2014年ともに輸入症例や疫学的関連が確認できたものが大部分であり、土着株の症例はない。また、多くの麻疹疑い症例において検査診断の為に、適切な検体が適切な時期に採取され各地研に搬入されている。全ての遺伝子検査陽性例についてシーケンスによる遺伝子配列の解析が行われ、遺伝子型の決定および感染源の推定に係る疫学情報に活用されている。麻疹以外の発疹性疾患の検索も積極的に行われ、2013年には特に多くの地研で風疹ウイルスが検出されている。2014年は突発性発疹の原因となるヘルペスウイルス6型、7型の検出が多く、風疹やこれらのウイルスによる発疹性疾患と麻疹を臨床症状のみで鑑別することは困難と考えられる。

風疹疑い症例については2013年、2014年ともに遺伝子検査を実施した症例数が届出数を下回り、IgM等抗体価測定による検査診断の他、臨床診断のみによる届出も比較的多く行われていたと推測される。風疹遺伝子検査に用いられた血液検体には様々な組成の血液成分のものがあり、検出感度

に差が生じる可能性があるため今後検討が必要である。

E. 結論

麻疹排除の認定に必要な「適切なサーベイランス制度」確立のための遺伝子検査体制は中国四国地域の各地研において、十分に整備され、麻疹ウイルスの土着株による感染伝播がないことを確認している。CRSの発生を早期になくすためには、第一期、二期の麻疹予防接種率が95%を超え、且つすべての世代の感受性群に対策を講じる必要がある。麻疹遺伝子検査は麻疹と比較すると実施症例数が少なく、陽性の場合の遺伝子型別も未実施の割合が多い。しかしながら、型別に必要な機器、検査技術は麻疹と同様であり、中国四国地域の地研に既

存の検査体制で十分対応可能である。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

表1 中国四国地域における麻疹患者届出数（2008年から2014年）

	鳥取県	島根県	岡山県	広島県	山口県	徳島県	香川県	愛媛県	高知県	合計
2008年	8	4	132	149	20	3	10	43	5	374
2009年	2	1	9	22	3	2	5	6	0	50
2010年	3	0	2	8	1	0	0	3	0	17
2011年	1	0	4	25	0	1	1	4	0	36
2012年	0	0	6	6	0	0	0	2	0	14
2013年	0	0	3	1	0	0	0	0	0	4
2014年	0	0	6	10	2	0	0	0	0	18

表2 中国四国地域における麻疹遺伝子検査実績

	2010年	2011年	2012年	2013年	2014年
検査症例数	39	126	115	85	105
麻疹遺伝子検査陽性症例数	0	18	5	4	17

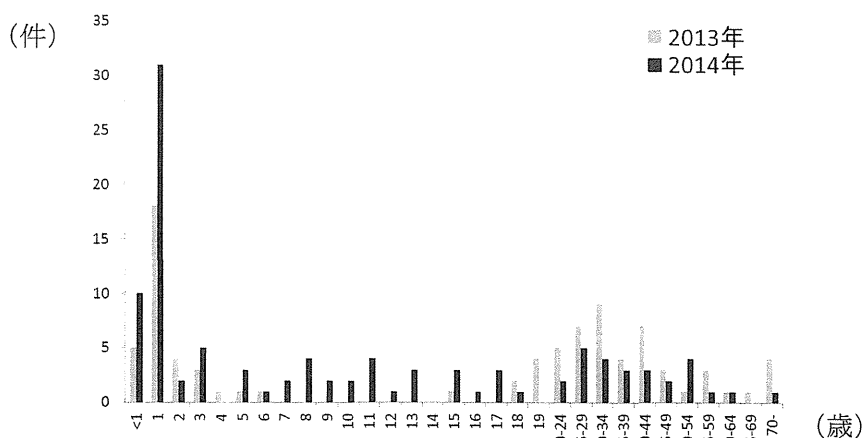


図1 年齢群別麻疹疑い遺伝子検査症例数

表 3 麻疹疑い症例ごとの検体内訳

	検査症例数	咽・血・尿	咽・尿	咽・血	血・尿	咽頭拭い液	血液	尿	合計検体数
2013年	85	54	14	8	3	4	0	2	218
2014年	105	69	14	11	4	4	1	2	272

表 4 - a 2013 年検体別麻疹遺伝子検査結果

	検体数	麻疹PCR陽性数	麻疹PCR陰性数
咽頭拭い液	80	4	76
血液	65	1	64
尿	73	2	71
合計	218	7	211

表 4 - b 2014 年検体別麻疹遺伝子検査結果

	検体数	麻疹PCR陽性数	麻疹PCR陰性数
咽頭拭い液	98	15	83
血液	85	13	72
尿	89	15	74
合計	272	43	229

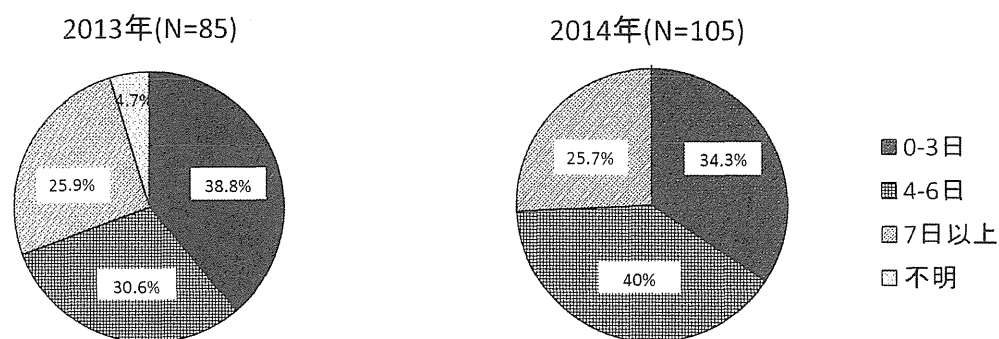


図 2 麻疹疑い患者における発症から検体採取までの日数

表 5 麻疹遺伝子検査陽性症例遺伝子型内訳

	A 型	B3 型	D8 型	型別未実施
2013年	2	2	0	0
2014年	1	13	3	0

表 6 麻疹疑い症例からの麻疹ウイルス以外の発疹性疾患原因ウイルスの検出数

検出ウイルス	2013年	2014年
Rubella virus	17	1
Human Herpes virus 6	3	15
Human Herpes virus 7	6	5
Varicella zoster virus	0	2
Epstein-Barr virus	0	3
Herpes simplex virus	0	1
Echovirus 25	1	0
Coxsackievirus A4	0	1

表 7 中国四国地域における風疹患者届出数 (2008 年から 2014 年)

	鳥取県	島根県	岡山県	広島県	山口県	徳島県	香川県	愛媛県	高知県	合計
2008年	0	4	13	15	0	1	1	1	1	36
2009年	1	1	3	3	0	0	0	0	1	9
2010年	0	0	2	5	0	0	0	0	0	7
2011年	1	1	1	13	1	0	3	1	0	21
2012年	3	3	6	12	5	0	4	2	4	39
2013年	32	46	76	92	32	30	34	32	9	383
2014年	0	0	2	3	0	2	1	2	1	11



表 8 中国四国地域における風疹疑い患者における風疹遺伝子検査実績

	2013年	2014年
遺伝子検査症例数	120	35
風疹遺伝子検査陽性症例数	76	1
風疹遺伝子検査陰性症例数	44	34

表 9 中国四国地域における CRS 疑い患者における風疹遺伝子検査実績

	2013年	2014年
検査症例数	10	4
風疹遺伝子検査陽性症例数	2	1
風疹遺伝子検査陰性症例数	8	3

表 10 風疹疑い症例ごとの検体内訳

	検査症例数	咽・血・尿	咽・尿	咽・血	血・尿	咽頭拭い液	血液	尿	その他(再掲)	合計検体数
2013年	120	65	8	15	7	10	14	1	5	287
2014年	35	25	4	3	0	2	1	0	0	92

\*その他は鼻汁、髄液、直腸内容物等であり、単独ではなく左記検体と共に搬入

表 11 CRS 疑い症例ごとの検体内訳

	検査症例数	咽・唾・尿	咽・尿	咽・唾	唾・尿	咽頭拭い液	唾液	尿	その他(再掲)	合計検体数
2013年	10	1	2	0	0	5	0	2	1	15
2014年	4	1	1	0	0	0	0	2	2	9

\*その他は髄液、血漿、単核球であり、単独ではなく左記検体と共に搬入

表 12 風疹疑い症例における風疹遺伝子検査陽性症例遺伝子型内訳

	1a	1E	2B	型別不能	型別未実施
2013年	1	1	30	2	42
2014年	0	0	0	0	1

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための実験室検査に関する研究」

研究分担者 駒瀬勝啓 国立感染症研究所

「九州における麻疹および風疹検査の現状」

研究協力者 濱崎光宏 福岡県保健環境研究所

協力いただいた九州ブロックの衛生研究所

松藤貴久、古川英臣、宮代守 福岡市保健環境研究所

坂田和歌子 北九州市環境科学研究所

安藤克幸 佐賀県衛生薬業センター

松本文昭 長崎県環境保健研究センター

島崎裕子 長崎市保健環境試験所

吉岡健太 熊本県保健環境科学研究所

岩永貴代 熊本市環境総合センター

本田颯子 大分県衛生環境研究センター

三浦美穂 宮崎県衛生環境研究所

御供田睦代 鹿児島県環境保健センター

吉富秀亮、芦塚由紀、中村麻子、堀川和美 福岡県保健環境研究所

### 研究要旨

2014年に九州内の10施設の地方衛生研究所では、麻疹（疑い）146症例から採取された335検体についてPCR検査を実施した。その結果、麻疹ウイルス遺伝子は20症例から検出された。検出された麻疹ウイルスの遺伝子型は、B3型が15症例と最も多く、D9型が4症例、D8型が1症例であった。

13症例の風疹（疑い）患者から採取された41検体についてPCR検査を実施した。その結果、風疹ウイルス遺伝子は検出されなかった。

今後は、麻疹排除状態の維持にむけて、麻疹（疑い）病原体サーベイランス体制の維持、検出された麻疹ウイルスの遺伝子型の解析及び積極的疫学調査による輸入麻疹の侵入伝搬経路の特定などが重要である。また、風疹についても麻疹と同様に、検出された風疹ウイルスの遺伝子型の解析及び積極的疫学調査による感染源の特定が重要と考えられる。

### A 研究目的

日本を含む世界保健機構・西太平洋地域において2012年にこの地域での麻疹排除達成の

認定基準として「適切なサーベイランス体制の下、麻疹ウイルス土着株による感染が3年間確認されず、また遺伝子解析によりそのことが示

唆されること」が提案された。また、世界保健機関（WHO）は、西太平洋地域の37の国及び地域のうち、日本を含め32の国及び地域で土着株の流行が無くなっている可能性があることを表明している。このような状況を受け、日本では2013年12月に一部改正された「麻疹に関する特定感染症予防指針」において「2015年までに麻疹排除を達成し、WHOによる麻疹排除認定を受け、その後も排除状態を維持する」ことを目標としている。一方、風疹に関してもWHOは、2020年末までに少なくとも5つのWHO地域において風疹の排除を達成することを目標に掲げている。その際、風疹排除の定義として「適切なサーベイランス体制の下、ある特定の地域において、土着株による感染が1年以上存在せず、それに関連した先天性風疹症候群の症例が確認されないこと」が提案された。これらの目標を達成するために、各地方衛生研究所（地衛研）は国立感染症研究所（感染研）で作成された診断マニュアル麻疹第2版及び風疹第2版に基づき麻疹ウイルス及び風疹ウイルス検査診断（PCR検査）を実施してきた。

本研究では、九州内の各自治体での麻疹及び風疹の病原体サーベイランス体制の整備、麻疹・風疹レファレンスセンターとしての実験室診断技術の精度向上と普及、麻疹（疑い）及び風疹（疑い）患者に関する情報収集及び解析を実施することを目的とした。

なお、本研究は九州内10施設の地衛研の協力により実施し、麻疹及び風疹に関する種々の情報を共有できる体制を整備した。

## B 研究方法

### B-1 麻疹及び風疹ウイルス検査実施状況

麻疹（疑い）患者及び風疹（疑い）患者の検査診断（PCR検査）の実施状況は、九州内の11

施設の地衛研より送付されてきた情報を集計した。なお、長崎市保健環境試験所は麻疹ウイルスおよび風疹ウイルスの検査を長崎県環境保健研究センターに委託している。

### B-2 麻疹ウイルス検査

麻疹ウイルスの検査診断（PCR検査）は、2014年に九州内の医療機関から麻疹（疑い）患者として報告された146症例335検体について実施した。麻疹ウイルスの検査は、麻疹診断マニュアル（第2版）に準拠して、麻疹ウイルスのN遺伝子及びH遺伝子を標的としたPCRを実施した。

### B-3 風疹ウイルス検査

風疹ウイルスの検査診断（PCR検査）は、2014年に九州内の医療機関から風疹（疑い）患者として報告された13症例41検体について実施した。風疹ウイルスの検査は、風疹第2版に準拠して、風疹ウイルスのNS遺伝子を標的としたPCRを実施した。

### B-4 検査情報共有

九州内の各地衛研における検査情報共有は、2014年10月9日～10日に沖縄県那覇市で開催された第40回九州衛生環境技術協議会におけるウイルス分科会において、麻疹及び風疹レファレンスセンターの活動報告、麻疹及び風疹の各県の検査状況、その他の意見交換等を通して行った。

（倫理面への配慮）

本研究においては、積極的疫学調査及び感染症発生動向調査事業に基づいて搬入された検体を用いており、倫理面への対応は個人情報保護等に十分配慮して実施した。

## C 研究結果

### C-1 麻疹

2014年1月から12月まで10施設の地衛研に

における麻疹ウイルス検査状況を表 1 に示す。麻疹ウイルス検査は 146 症例(男 78 人、女 68 人、年齢は 0 歳～75 歳、IgM は 2.10～8.08)、335 検体(咽頭拭い液 126 検体、血液 99 検体および尿 110 検体)について行われ 20 症例から麻疹ウイルス遺伝子が検出された。麻疹ウイルス遺伝子が検出された症例は表 2 に示すように、遺伝子型 B3 が 15 症例、D9 が 4 症例及び D8 が 1 症例であった。推定される感染地域は、海外からの輸入例(海外で感染後に国内で発症又はその家族から感染症例)が 11 症例、推定感染地域不明が 7 症例、保育園や医療機関を介しての感染事例が 2 症例で、いずれも地域及び期間の限定された発生であった。

それぞれの地衛研における麻疹ウイルス遺伝子検査実績調査結果を表 3 に示す。麻疹ウイルスが検出された全ての地衛研において遺伝子解析が実施されていたが、DNA データバンクへの登録は 2 施設のみであった。

### C-2 風疹

2014 年 1 月から 12 月までの 10 地衛研における風疹ウイルス検査状況を表 4 に示す。風疹ウイルス検査は 5 施設 16 症例(男 8 人、女 8 人、年齢は 0 歳～77 歳)、41 検体(咽頭拭い液 16 検体、血液 13 検体、尿 12 検体)について行われたが、風疹ウイルスは検出されなかった。

それぞれの地衛研における風疹ウイルス遺伝子検査実績調査結果を表 5 に示す。ウイルス分離が実施された施設は 1 施設のみであった。

### D 考察

九州地区における麻疹患者は主に輸入事例によるもので日本の土着ウイルスと言われている D5 型は検出されておらず排除状態を維持していると考えられる。また、フィリピンへの渡航者から検出された B3 型ウイルスも一部家

族内感染や保育園および医療機関を介した集団発生が確認されたが流行は限定的であった。今後も麻疹排除状態を維持するため、各地衛研の遺伝子診断による輸入麻疹のサーベイランスを充実していくことが重要と考えられる。

一方、本邦において 2014 年の風疹患者報告数は 321 人と 2013 年の 14357 人比較するとかなり減少した。九州地区で風疹ウイルスの検査を行った地衛研は 5 施設であり、検査数も 41 検体と少ない傾向であった。2014 年 3 月に「風疹に関する特定感染症予防指針」が発出されたが、検査を行うための法的根拠が乏しく積極的な検査が行われていないためと考えられる。今後は、麻疹と同様に検査体制を充実させ流行しているウイルスの遺伝子型の把握、海外からの輸入株との鑑別を積極的に行っていくことが必要と考えられる。

### E 結論

九州内においては麻疹排除にきわめて近い状態が維持されており、今後も各地衛研の遺伝子診断による輸入麻疹のサーベイランスを充実していくことが重要と考えられる。一方、風疹に関しては、積極的な検査が行われていないのが現状である。今後は、麻疹と同様に検査体制を充実させ流行しているウイルスの遺伝子型の把握、海外からの輸入株との鑑別を積極的に行っていくことが必要と考えられる。

### F 健康危険情報

なし

### G 研究発表

- |         |    |
|---------|----|
| 1. 論文発表 | なし |
| 2. 学会発表 | なし |

## H 知的所有権の取得情報

なし

表 1. 2014 年（1 月から 12 月）の九州各地衛研における麻疹ウイルスの検査状況

地衛研名	症例数	検体数	年齢	性別		検体種別			検出症 例数	その他の ウイルス
				男	女	咽頭拭 い液	血液	尿		
福岡県保健環境研究所	17	37	1～44	11	6	14	10	13	2	
福岡市保健環境研究所	16	40	0～46	7	9	14	16	10	5	
北九州市環境科学研究所	1	2	41	1	0	1	0	1	0	
佐賀県衛生薬業センター	3	9	1～61	1	2	3	3	3	0	
長崎県環境保健研究センター	8	21	0～6	3	5	8	8	5	0	
大分県衛生環境研究センター	39	51	0～35	23	16	28	3	20	3	
熊本県保健環境科学研究所	7	20	1～48	6	1	7	7	6	1	HSV1 <sup>*1</sup> (2症 例)、HHV6 <sup>*2</sup> (2症例)
熊本市環境総合センター	7	16	0～50	4	3	7	3	6	0	麻疹ウイルス (1症例)
宮崎県衛生環境研究所	37	105	0～75	17	20	35	35	35	4	
鹿児島県環境保健センター	11	34	0～34	5	6	9	14	11	5	
合計	146	335		78	68	126	99	110	20	

\*1：ヒトヘルペスウイルス1型

\*2：ヒトヘルペスウイルス6型

表 2. 九州地区で麻疹ウイルスが検出された事例 (2014年1月~12月)

検出地区	年齢	性別	発病日	臨床症状	発生状況	IgM抗体価	発症1月前の渡航歴	遺伝子型	備考
福岡県	28	男	3月29日	発熱・発疹	散発	8.08	有(中国)	D9	接客業(外国人旅行者担当)
	21	女	7月28日	発熱・発疹	散発	6.25	無	D8	
福岡市	3	女	1月5日	発熱・発疹・カタル	散発		有(フィリピン)	B3	
	29	男	3月1日	発熱・発疹	散発		有(フィリピン)	D9	
	30	男	3月12日	発熱・発疹・カタル	散発		無	D9	
	6	男	3月20日	発熱・発疹・カタル	散発		有(フィリピン)	B3	
	25	女	5月16日	発熱・発疹・カタル	散発		有(フィリピン)	B3	
大分県	11ヵ月	女	4月16日	発熱・発疹・カタル	家族内		有(フィリピン)	B3	フィリピンで麻疹患者(叔父)と接触
	8ヵ月	男	4月24日	発熱・発疹・カタル	集団		無	B3	上記の患者と同じ保育園に通園
	3	女	5月5日	発熱・発疹・カタル	集団		無	B3	11ヵ月女児と4/21に医療機関で接触
熊本県	48	男	3月2日	発熱・発疹・カタル	散発		有(フィリピン)	B3	
	24	男	1月18日	発熱・発疹	散発		有(フィリピン、韓国)	B3	
宮崎県	18	男	1月26日	発熱・発疹・カタル	家族内		無	B3	
	12	男	1月16日	発熱・発疹・カタル	家族内		有(フィリピン)	B3	
	28	女	8月10日	発熱・発疹	散発		無	B3	隣県の病院で麻疹疑い患者と接触
鹿児島県	0	女	4月14日	発熱・発疹	散発		有(インドネシア)	D9	
	5	男	7月28日	発熱・発疹	散発		無	B3	
	34	女	7月16日	発熱・発疹	家族内	11.8	無	B3	
	26	女	不明	発熱	集団		無	B3	
	20	女	8月12日	発熱	集団		無	B3	

表 3. 麻疹ウイルス遺伝子検査実績調査

地衛研名	遺伝子検査							ウイルス分離		
	実施数	陽性症 例数	解析実 施数	解析未 実施数	遺伝子型			実施数	陽性数	
					D8	D9	B3	DDBJ登 録数		
福岡県保健環境研究所	17	2	2	0	1	1	0	2	13	0
福岡市保健環境研究所	16	5	5	0	0	2	3	5	0	0
北九州市環境科学研究所	1	0							0	0
佐賀県衛生薬業センター	3	0							0	0
長崎県環境保健研究センター	8	0							0	0
大分県衛生環境研究センター	39	3	3	0	0	0	3	0	0	0
熊本県保健環境科学研究所	7	1	1	0	0	0	1	0	0	0
熊本市環境総合センター	7	0							0	0
宮崎県衛生環境研究所	37	4	4	0	0	0	4	0	17	0
鹿児島県環境保健センター	11	5	5	0	0	1	4	0	0	0
合計	146	20	20	0	1	4	15	7	30	0

表 4. 2014 年（1 月から 12 月）の九州各地衛研における麻疹ウイルスの検査状況

地衛研名	症例数	検体数	年齢	性別		検体種別			麻疹ウイ ルス
				男	女	拭い液	血液	尿	
福岡市保健環境研究所	1	2	59	1	0	1	1	0	0
長崎県環境保健研究センター	1	3	16	1	0	1	1	1	0
熊本市環境総合センター	1	2	0	0	1	1	0	1	0
宮崎県衛生環境研究所	7	24	0～31	3	4	10	7	7	0
鹿児島県環境保健センター	3	10	35～77	2	1	3	4	3	0
合計	13	41		7	6	16	13	12	

表 5. 麻疹ウイルス遺伝子検査実績調査

地衛研名	遺伝子検査					ウイルス分離	
	実施数	陽性症 例数	解析実 施数	解析未 実施数	DDBJ登 録数	実施数	陽性数
福岡市保健環境研究所	1	0	0	0	0	0	0
長崎県環境保健研究センター	1	0	0	0	0	0	0
熊本市環境総合センター	1	0	0	0	0	0	0
宮崎県衛生環境研究所	7	0	0	0	0	7	0
鹿児島県環境保健センター	3	0	0	0	0	0	0
合計	13	0	0	0	0	7	0

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための  
実験室検査に関する研究」

研究報告書

沖縄県の麻疹および風疹検査状況 (2014 年)

研究協力者 加藤 峰史、久場 由真仁、新垣 絵理、高良 武俊  
岡野 祥、喜屋武 向子、久高 潤 (沖縄県衛生環境研究所)  
仁平 稔 (沖縄県北部食肉衛生検査所)

### 研究要旨:

沖縄県では 2014 年に医療機関から 31 例の麻疹疑い例の報告があった。一方、風疹は 2012～2013 年にかけて全国で流行がみられ、沖縄県内においても 2009～2011 年まで報告はなかったが、2012 年は 46 例、2013 年は 52 例の報告があった。2014 年は報告数が減少し、医療機関から 6 例の報告があった。本研究では、2014 年に感染症発生動向調査事業により報告された 31 例の麻疹疑い例について、麻疹と併せて風疹について RT-PCR および血清学的検査により実験室診断を実施した。また、風疹および先天性風疹症候群 (以下 CRS) 疑い例については、2014 年に保健所からの検査依頼はなかった。その結果、麻疹は 2009 年 9 月以来となる確定例が 1 例みられたが、B3 型麻疹ウイルスであり渡航歴および潜伏期間から輸入症例であると判断された。その後、二次感染者の報告はなく沖縄県では麻疹排除状態が維持されていると考えられた。風疹は麻疹確定例以外の麻疹疑い例 30 例について風疹検査診断を実施したが全て陰性であり、医療機関からの報告数も減少したことから 2014 年は風疹の伝播は沈静化したと考えられた。

### A. 研究目的

沖縄県では、2003 年に麻疹全数把握を開始してから 12 年が経過した。麻疹確定例は、2003～2009 年は 0～41 例で推移したが、2010～2013 年は 4 年連続で“麻疹ゼロ”を達成している。風疹は 2009～2011 年まで報告はなかったが、2012 年は 46 例、2013 年は 52 例、2014 年は 6 例であった。今回、2014 年に感染症発生動向調査事業により報告された麻疹疑い例 31 例について、麻疹と併せて風疹の RT-PCR および IgM 検査を実施し、沖縄県の麻疹および風疹発

生状況について検証を行った。また風疹については、保健所から風疹および CRS 疑い例の検査依頼はなかった。

### B. 研究方法

2014 年の麻疹疑い例は 31 例であり、検体種別では咽頭ぬぐい液 31、末梢血液 27、尿 6 であった。

これらの臨床検体は、常法にて RNA 抽出後、病原体検出マニュアル (国立感染症研究所) に基づいて麻疹では麻疹ウイルス N および H 遺伝子の RT-PCR を実施した。



また、N 遺伝子が陽性であった症例は、部分塩基配列（450bp）について遺伝子解析を実施し、咽頭ぬぐい液を Vero/hSLAM 細胞に接種し、麻疹ウイルスの分離を行った。末梢血液が採取された 27 例については、血中 IgM 検査を 2013 年 11 月に販売された麻疹 IgM「生研」（デンカ生研）を用いて実施した。

風疹では風疹ウイルス NS 遺伝子の RT-PCR を実施した。末梢血液が採取された 27 例については、血中 IgM 検査をウイルス抗体 EIA「生研」ルベラ IgM（デンカ生研）を用いて実施した。

## C. 研究結果

### 1. 麻疹の検査

麻疹疑い例 31 例で RT-PCR を実施し、3 例で麻疹ウイルス遺伝子を検出した。検出された検体は咽頭ぬぐい液 3、末梢血液 1 であった。遺伝子解析により 2 例はワクチン株（遺伝子型 A）であることが確認され、それぞれワクチン接種歴が検体採取日の 10 日前と 12 日前であった。また残りの 1 例は遺伝子型 B3 であることが確認され（図 1）、渡航歴および潜伏期間からフィリピンで感染し帰国後に発症した輸入症例であると判断した。なお、この症例の検体は咽頭ぬぐい液のみであり麻疹ウイルスの分離を試みたが分離はされなかった。麻疹 IgM 検査では実施した 27 例のうち 2 例で陽性を示した。この 2 例は麻疹 RT-PCR 陰性であった。1 例はワクチン接種歴不明でアルコール離脱症状があり、検体採取時期は 1 病日であった（抗体指数：6.48）。1 例はワクチン接種歴が検体採取日の 20 日前であり、検体採取時期は 0 病日であった（抗体指数：4.35）。この 2 症例の PCR 検体採取時期は適切であり、臨床経過により総合的に判断され、麻疹は否定された。（図 2）。

### 2. 風疹の検査

麻疹疑い例 31 例のうち麻疹が否定された 30 例で RT-PCR を実施したところ全て陰性であった。風疹 IgM 検査では実施した 27 例のうち 1 例で判定保留を示した（抗体指数：1.09）。この 1 例は風疹 RT-PCR 陰性で、麻疹 IgM 検査は陽性であった。ワクチン接種歴が検体採取日の 20 日前であり、検体採取時期は 0 病日であった。この症例の PCR 検体採取時期は適切であり、総合的に風疹陰性と判断した。

## D. 考 察

麻疹は 31 例の麻疹疑い例の報告があったが、1 例で 2009 年 9 月以来となる確定例がみられた。この症例は B3 型麻疹ウイルスであり渡航歴および潜伏期間からフィリピンからの輸入症例であると判断され、その後二次感染者の報告がないことから、沖縄県の“麻疹ゼロ”は維持されているものと考えられた。IgM 検査では 2 例の陽性例があったが、PCR 検査結果等から麻疹は否定された。1 例でワクチン接種歴不明でアルコール離脱症状があり、陽性を示した原因は不明であった。1 例でワクチン接種後 20 日であったが、国立感染症研究所の「麻疹の検査診断アルゴリズム」で麻疹含有ワクチン接種から 8～56 日の場合、麻疹特異的 IgM 抗体が陽性になる場合があると示されていること、昨年に本所においてワクチン接種後 56 日以内の症例 8 例で同キットによる検査をしたところ 2 例で陽性であり、接種後 14 日以降（平均 17 日）で陽性になる傾向がみられたことから、今回の症例はワクチン接種によるものと考えられた。2014 年の麻疹全数サーベイランスにおける実験室診断の RT-PCR 実施率は 100%で、IgM 検査の実施率は 87%であり高い水準でサーベイランスが維持されてい

ると考えられた。

風疹は麻疹疑い例 30 例で RT-PCR を実施したが全て陰性であった。IgM 検査では 1 例の判定保留例があったが、この症例はワクチン接種後 20 日であり、麻疹 IgM 検査陽性だったことから、ワクチン接種により風疹および麻疹それぞれの特異的抗体価が上昇したものと考えられた。

なし。

3.その他

なし。

## E. 結 論

麻疹は 2014 年において麻疹全数サーベイランスを実施した結果、1 例で確定例がみられたが、輸入症例であることを判断したので麻疹はゼロであり排除状態が維持されていると考えられた。麻疹については今後も適切なサーベイランス制度の下、PCR 検査の結果陽性が確認された場合には速やかに遺伝子解析を実施していきたい。

風疹は 2012～2013 年において県内での流行が確認されたが、2014 年は報告数が減少し、麻疹疑い例からも風疹が検出されなかったことから風疹の伝播は沈静化したと考えられた。風疹排除に向けては、検査体制について麻疹同様質の高いサーベイランスシステムを構築する必要がある。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし。

### 2. 学会発表

なし。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし。

### 2. 実用新案登録

図 1. 麻疹ウイルス N 遺伝子 (450bp) に基づく分子系統樹

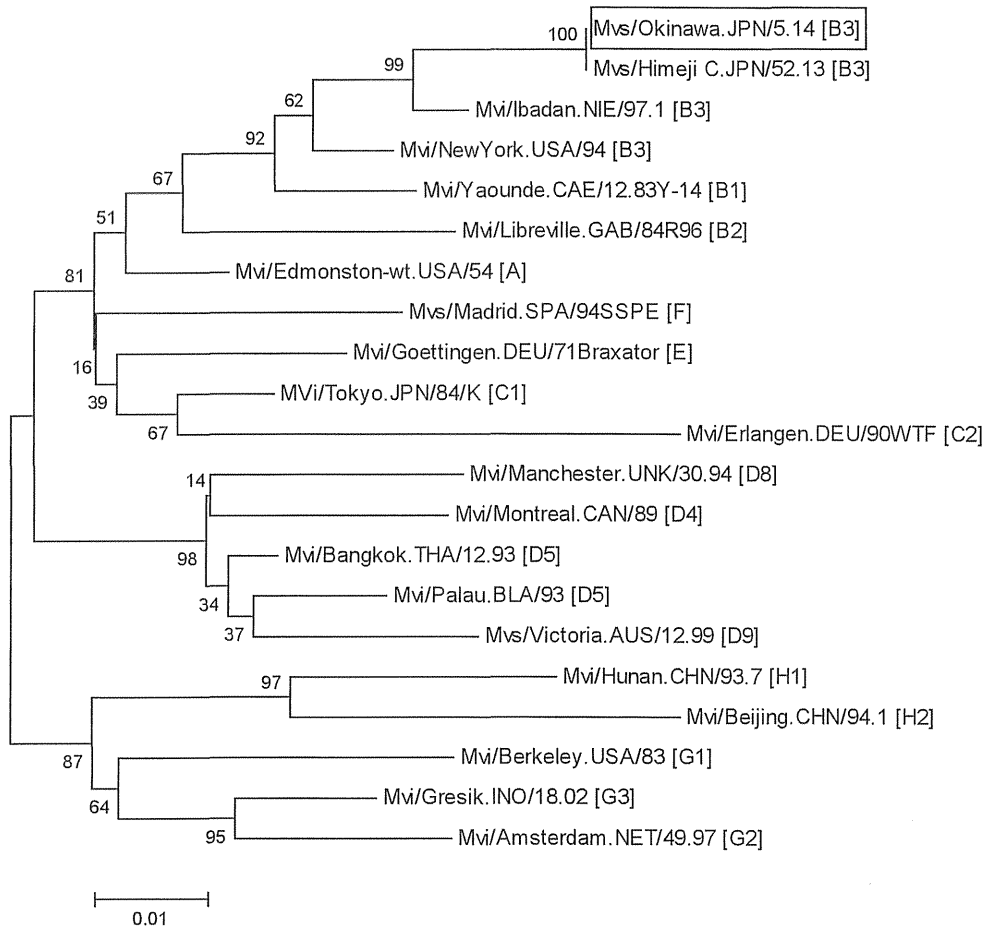
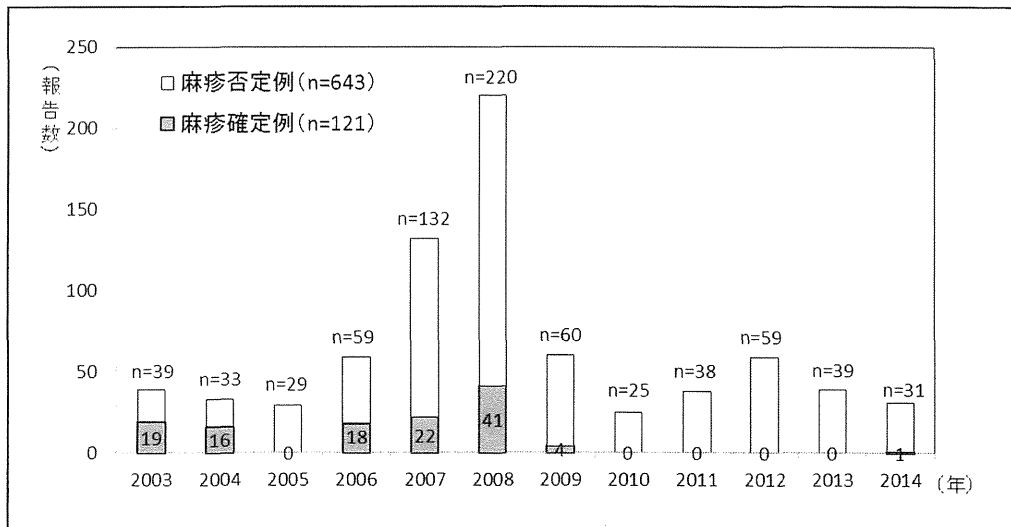


図 2. 麻疹疑い報告例における確定例および否定例 (2003-2014 年)



厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）  
「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための  
実験室検査に関する研究」班

分担研究報告書

「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための実験室検査に関する研究」

研究分担者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所

「堺市における2014年麻疹・風疹の発生状況」

研究協力者 内野 清子 三好 龍也 岡山 文香 堺市衛生研究所  
芝田 有理 吉田 永祥 沼田 富三 堺市衛生研究所  
田中 智之 小林 和夫 堺市衛生研究所

研究要旨

堺市において2014年1月から12月にかけて当研究所に搬入された麻疹疑い26、麻疹・風疹疑い2、風疹疑い5、計33症例の咽頭ぬぐい液32、血液30、尿19、計81検体を用い、麻疹ウイルス(MeV)および風疹ウイルス(RuV)遺伝子検出、他のウイルス検索を行った。33症例は発熱および発疹が主症状で、MeVが2、RuVが3、ヒトメタニューモウイルス、コクサッキーウイルスA4型、エコーウイルス18型、インフルエンザウイルスB型 Yamagata 系統がそれぞれ1症例から検出された。

麻疹疑い症例で渡航歴の無い2症例からMeV遺伝子が検出され、当市では、ほぼ5年ぶりの麻疹発生となった。MeV遺伝子N領域450bpの解析では、2症例ともに遺伝子型H1に分類され、相互に100%の相同性があったが、疫学的関連性は不明であった。

風疹届出数は2013年には309であったが、2014年には3であり著減した。対象症例のうち3例からRuV遺伝子が検出され、遺伝子型は1症例において2Bであったが、他の2症例では型別プライマーにて十分な遺伝子増幅産物が得られず型別不能であった。

発熱・発疹を伴う疾患では多様なウイルスの関与が認められ、確定診断には麻疹のみならず風疹においても精度の高い実験室内ウイルス検査が必要であり、麻疹や風疹排除の達成・維持に向けて、ウイルス遺伝子解析や積極的疫学調査が重要である。また、感染源や経路究明のため、他の自治体との情報共有システムの整備が望まれる。

A. 研究目的

「麻しんに関する特定感染症予防指針」の改正（平成25年4月1日施行）により、麻疹の検査診断は原則として全例を対象に、地方衛生研究所で遺伝子検査を実施することが示された。

堺市では積極的疫学調査として、関係医療機関の協力体制のもと、麻疹だけでなく風疹疑い症例においても全例を対象にMeVおよびRuV遺伝子検出検査を行っている。

2014年1～12月にかけて、当市における麻疹および風疹検査結果から流行状況を把握し、2015年麻疹排除や2020年風疹排除へ向けた体制整備への一助とする。

B. 研究方法

材料

2014年1月から12月にかけて搬入された麻疹疑い26、麻疹・風疹疑い2、および風疹疑い5、計33症例の咽頭ぬぐい液32、血液30、尿19、計81検体を検査に用いた。

方法

検体はVero-E6、HEp2、RD、LLC-MK2、MDCK、Vero/SLAM細胞に接種し、ウイルス分離を行った。また、検体からRNA抽出を行い、MeVはHAおよびN領域を検出するプライマーを用いて遺伝子検出を行い、N領域450

bp の系統樹解析により遺伝子型を決定した。また、RuV は NSL 領域を検出するプライマーにて遺伝子検出を実施し、遺伝子が検出されたウイルス株は E1 領域 739 bp の系統樹解析により遺伝子型別を実施した。(国立感染症研究所麻疹・風疹検査マニュアル)。また、他のウイルスも検索するため、エンテロウイルス、RSウイルス、ヒトメタニューモウイルス遺伝子検出を行った。(国立感染症研究所 病原体検出マニュアル)

(倫理面への配慮)

対象となった臨床検体および患者情報は個人情報保護に配慮して実施する。

### C. 研究結果

検査依頼のあった 33 症例における主症状は発熱 91%、発疹 88%、リンパ節腫脹 15%と、ほとんどが発熱および発疹を伴う症例であった。また、33 症例において検索したウイルスが 9 症例で検出され、内訳は MeV が 2、RuV が 3、ヒトメタニューモウイルス (hMPV)、コクサッキーウイルス A4 型(CA4)、エコーウイルス 18 型(E11)、インフルエンザウイルス B 型(Yamagata 系統)がそれぞれ 1 症例であった(表 1)。

MeV は麻疹疑い症例で渡航歴の無い 2 症例(症例 6、8)から検出された。MeV 遺伝子 N 領域 450 bp の解析では、2 症例ともに遺伝子型 H1 に分類され、相互に 100%の相同性があったが、疫学的関連性は不明であった。また、ウイルス分離には至らなかった。

RuV は 3 症例(症例 1、3、9)から検出された。症例 3 は風疹疑い症例で、発熱・発疹・リンパ節腫脹と 3 症状が出現していたが、MR ワクチンは 2 回接種済であった。遺伝子型は症例 3 が、2B であったが、他の 2 症例では型別プライマーで十分な遺伝子増幅産物が得られず、型別不能であった。なお、3 例ともウイルス分離には至らず、海外渡航歴のない症例であった。

その他のウイルス検索の結果、インフルエンザウイルス B 型(Yamagata 系統)は 9 歳児の咽頭ぬぐい液から分離され、hMPV、CA4、E18 は 1～2 歳児の咽頭ぬぐい液からそれぞれ分離および遺伝子検出された。

### D. 考察

麻疹および風疹疑い症例のような発熱・発疹を伴う疾患では多様なウイルスの関与が認められ、特に小児では鑑別診断を難渋していることが窺われた。

当市において、麻疹は 2009 年 8 事例の届出

があったが、それ以降の患者発生はみられず、ほぼ 5 年ぶりの麻疹発生であった。2 症例の MeV 遺伝子型は H1 に分類された。H1 は中華人民共和国や台湾での流行型であったが、2 症例ともに海外渡航歴はなかった。また、MeV N 領域遺伝子塩基配列における高い相同性から推測して、地域流行の可能性が考えられた。大阪府内において 5～6 月に感染経路が特定できない遺伝子型 H1 の麻疹症例が増加していたが、当市の事例との疫学的関連性は不明であった。麻疹排除達成からその維持に向けて、積極的疫学調査と情報の共有化が重要な課題である。

風疹届出数は 2012 年 44、2013 年 309 と増加したが、2014 年は 3 と減少した。今後の風疹排除に向けて、MR ワクチン接種の普及に加え、関係医療機関と協力関係を強化し、今後も麻疹と同様、精度の高い実験室内病原体検査を提供し、風疹確定診断を実施する必要がある。

### E. 結論

麻疹や風疹の確定診断には精度の高い実験室内ウイルス検査が必要である。麻疹や風疹排除を達成・維持するため、ウイルス遺伝子解析や積極的疫学調査が重要となる。感染源や経路を究明するため、広域性を加味した他の自治体との情報共有システムの整備が望まれる。

### F. 健康危険情報

該当なし

### G. 研究発表

#### 論文発表

小林和夫	田中智之	東野博彦	八木由奈
塩見正司	吉田英樹	廣川秀徹	奥町彰礼
松本治子	田邊雅章	高橋和郎	中川直子
高野正子	入谷展弘	信田真里	松岡太郎
笹井康典			

#### 感染症発生動向調査解析評価小委員会

(大阪府・大阪市・堺市・東大阪市・高槻市・豊中市・枚方市)

大阪府における麻疹流行状況－2014年前半－  
IASR Vol. 35 p. 296- 298: 2014 年 12 月号

#### 学会発表

##### 国際学会

該当なし

##### 国内学会

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況  
 (予定を含む。)  
 特許取得  
 該当なし  
 実用新案登録

該当なし  
 その他  
 該当なし

表1. 麻疹および風疹疑い症例から検出されたウイルス(2014年1~12月)

症例No.	検体採取日	発症日	年齢	性別	遺伝子が検出された検査材料	診断名(疑)	検査結果	ワクチン歴	渡航歴
1	2月20日	2月18日	31歳	男	尿	麻疹	風疹ウイルス	不明	無し
2	2月27日	2月26日	9歳	女	咽頭拭い液	風疹疑い・インフルエンザ	インフルエンザB Yamagata	不明	無し
3	3月25日	3月24日	10歳	女	咽頭拭い液、血液	風疹	風疹ウイルス	MR2回	無し
4	4月24日	4月15日	2歳3ヶ月	男	咽頭拭い液	麻疹	ヒトメタニューモウイルス	MR1回	無し
5	6月24日	6月20日	1歳9ヶ月	女	咽頭ぬぐい液	麻疹疑	コクサッキーウイルスA4	MR1回	無し
6	7月11日	7月1日	35歳7ヶ月	女	尿、咽頭ぬぐい液、血液	麻疹	麻疹ウイルス	無し	無し
7	7月12日	7月8日	1歳0ヶ月	男	咽頭ぬぐい液	麻疹、ウイルス性発疹症	エコーウイルス18型	無し	無し
8	7月15日	6月26日	28歳	男	尿、血液	麻疹	麻疹ウイルス	不明	無し
9	11月10日	11月8日	41歳	女	咽頭ぬぐい液	麻疹・風疹疑い	風疹ウイルス	不明	無し

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）  
「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための  
実験室検査に関する研究」班

分担研究報告書

東京都における麻疹および風疹の発生状況と遺伝子検査(2013～2014年)

研究協力者 長谷川道弥 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科  
林 志直 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科  
甲斐 明美 東京都健康安全研究センター微生物部

A. 研究目的

東京都では、リアルタイム PCR 法により麻疹の全数検査を実施している。この検査において麻疹ウイルスが陽性の場合には引き続き遺伝子型別判定を行い、陰性の場合には類似感染症鑑別目的で風疹ウイルスの遺伝子検査を行っている。

当センターでは 2014 年 1 月から麻疹ウイルスの陽性例が増えたが、全国的にも麻疹の流行が報告された。また風疹ウイルスについては、2012 年の陽性例を下回るものの、2013 年度も陽性例が 112 検体と依然として高い数値で推移していた。今回は麻疹および風疹の流行状況と当センターでの遺伝子検査結果を報告する。

B. 研究方法

対象検体は咽頭拭い液・尿・血清の 3 種類で、いずれもセパジーン RV-R(エーディア)を用いて RNA の抽出を行い、AMV Reverse Transcriptase XL(Life Sciences)を用い逆転写反応を行った。逆転写反応によって得られた cDNA について、麻疹ウイルスは HA 領域を対象としたリアルタイム PCR 法（東京健安研セ年報, 62, 43-48, 2011.）、風疹ウイルスは E1 領域内の約 130bp を増幅するプライマーを用いた PCR 法（BOSMA ET AL., *J.Clin.Microbiol.*

33(5):1075,1995)によって検査を行った。陽性の場合には、さらに麻疹、風疹ウ

イルスともに国立感染症研究所の遺伝子診断マニュアルに従い型別試験を行い、PCR 産物からダイレクトシーケンス法で塩基配列を得た。

C. 研究結果

1. 麻疹

麻疹ウイルスは、2011 年の流行後ワクチン型以外はほぼ検出が無かったが、2014 年 1 月中旬、A 区にてフィリピンへの渡航歴が認められた患者において麻疹ウイルス B3 型が検出された。これとほぼ同時期に A 区を中心に 3 例の麻疹 B3 型陽性例が発生し、3 例ともフィリピンへの渡航歴が確認された。この後 A 区と B 区から海外渡航歴の無い麻疹 B3 型陽性患者が発生し、同時期には別区内においても他県での感染・接触を疑う B3 型検出が数件見られ、これらは国内発生例と考えられた。

その後、中東方面への渡航歴のある患者から D8 型、4 月下旬からは A 区内での地域流行と思われる渡航歴の無い D9 型、5 月以降は多摩地区内での国内感染患者起源と思われる D8 型の流行と、型を変えながら流行が続いた。

2014 年 1 月から 7 月まで麻疹の遺伝子検査を行った検体数は 399 検体で、陽性は 73 件、内 34 件が B3 型、以下 D8 型が 18 件、D9 型が 11 件と続いた。その他はワクチン型や H1 型、および型別不明であった。

## 2. 風しん

2013年度に風しんの遺伝子検査を行った検体は579検体で、陽性は112検体であった。これらの陽性検体中から89検体を型別試験に供した結果、型別決定領域のほぼ全て、および一部しか読めなかったがBLASTで型を推察できた検体は46検体であった。その内訳は2Bが42件、1Eが3件であり、この割合は昨年とほぼ同様であった（残り1件はワクチン型）。検出時期は4月～7月および11月に陽性数のピークがあり、1か月に20件前後の陽性検体が確認された。また患者は20代から40代の男性が大半を占めており、昨年の結果と同様であった。

## D. 考察

フィリピンに渡航歴のある麻しん患者からフィリピンの流行株である B3 型が検出され、中東方面への渡航歴のある患者から D8 型が検出された。B3 型は 2013 年以前に日本で検出されたことがなく、フィリピンで同型の麻しんの流行があったことから輸入例と考えられた。国内患者起源と思われる麻しんの流行も見られたが、日本の土着株である D5 型の検出はなかったことから、日本国内の流行はほぼ全てが輸入例に関連したものであると推定された。風しんの流行は 2B 型が中心であった。20 代から 40 代の男性が大半を占めており、過去のワクチン政策の影響によるものと思われた。

## E. 結論

麻疹は、海外からの輸入例が流行の主体となってきており、麻しん排除に向けて遺伝子解析による型別の重要性がさらに増大している。風しんの流行状況からは、ワクチン政策の重要性が明らかになった。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

論文発表

1. 該当なし

学会発表

国際学会

1. 該当なし

国内学会

1. 角田徳子, 長谷川道弥, 林志直, 甲斐明美, 他, 東京都における麻しんおよび風しんの発生状況と遺伝子検査 (2013~2014 年), 平成 26 年度地方衛生研究所全国協議会 第 29 回関東甲信静支部ウイルス研究部会 (甲府, 2014)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特許取得

該当なし

実用新案登録

該当なし

その他

特記事項なし



厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）  
「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための  
実験室検査に関する研究」班  
分担研究報告書

自治体における麻疹と風疹の排除に関する公衆衛生学的データの収集・解析に関する研究

研究分担者	小澤邦壽	群馬県衛生環境研究所
研究協力者	小林美保 横田陽子 松田錦弥	群馬県衛生環境研究所 群馬県衛生環境研究所 群馬県衛生環境研究所

研究要旨 本邦では各自治体において麻しんの遺伝子検査体制が構築されており、医師から届け出のあった疑い症例については、原則全例に対して検査が行われることとなっている。しかし臨床症状から麻しんを強く疑っても遺伝子検査により否定される事例も多い。そこで、臨床症状と検査結果の関連性を明らかにすることを目的として、全国の地方衛生研究所に対してアンケート調査を行った。その結果、麻しんが強く疑われ、適切に検体を採取したにも関わらず遺伝子検査で陰性となった事例のうち、35%からは麻しん以外のウイルスが検出されていた。本調査の結果から、麻しん疑い事例には他の発熱発疹性疾患が数多く含まれており、種々の病原体が関与していることが推測され、これらの鑑別が重要であることが示唆された。

#### A. 研究目的

本邦では「麻しんに関する特定感染症予防指針」に基づき、麻しん排除に向けた取り組みを進めており、質の高いサーベイランス体制の構築を目指している。平成25年4月の指針改正により、疑い例を含む全症例に対して遺伝子検査を実施することとなったが、臨床症状から麻しんと診断されたにも関わらず、遺伝子検査により否定される事例が相次いで報告されている。これらの事例には、類似する他の発熱発疹性疾患の患者が相当数紛れ込んでいると考えられ、臨床診断上の鑑別が重要である。そこで全国の麻しん疑い事例を収集・解析し、本邦における麻しん対策の強化に資することを目的として調査を実施した。

#### B. 研究方法

地方衛生研究所全国協議会に加入している79施設に対して麻しん疑い事例に関するアンケート調査を実施した。平成21年1月から平成26年9月末までに、麻しん遺伝子検査を実施し陰性だった事例を対象に、以下の項目について報告を求めた。

- ・ 患者の性別、年齢、発病年月日
- ・ 臨床症状
- ・ 麻しん遺伝子検査に使用した検体の種類、採取日および結果
- ・ 麻しん IgM/IgG 抗体検査の結果  
麻しん以外に検出された病原体

#### C. 研究結果

全79施設中、麻しん遺伝子検査を実施して

いる74施設より回答があり、合計で約5600事例の報告があった。

この中で①発熱、発疹の症状を呈しており、②咽頭ぬぐい液、血液、尿のうち、2種類以上の検体で遺伝子検査を実施し、③検体採取日が発病後7日以内であったものを「麻しんが強く疑われ、適切に検体を採取したが遺伝子検査で陰性となっている事例」とし、該当する2629事例について精査した。このうち、914事例(35%)からは麻しんウイルス以外の病原体が検出されていた。病原体の種類は風しんウイルスが最も多く、次いでヒトヘルペスウイルス6型、パルボウイルス B19型、ヒトヘルペスウイルス7型が多く検出されていた(図1)。また、2種類以上の病原体が検出されているものが34事例あった。

#### D. 考察

本調査の結果から、麻しん疑い事例には多岐にわたる病原体が関与していることが明らかになった。麻しん以外の病原体検索については施設によって実施項目が異なるため、実際の検出割合は今回の調査結果よりも高いものと推測される。検出されたウイルスの種類から、臨床所見が類似している風しんの他、突発性発疹、伝染性紅斑、手足口病、ヘルパンギーナなどが「麻しん疑い」として紛れ込んでいる可能性が示唆された。麻しんのみならず、他の発熱発疹性疾患も視野に入れた検査診断が求められる。

#### E. 結論

調査結果から麻しん疑い事例には様々な発熱発疹性疾患が紛れ込んでいることが示唆された。各自治体ではこれらの鑑別診断を視野にいれた検査を実施することも重要である。

今後は収集したデータをより詳細に解析

し、臨床症状と検査結果の関連性を明らかにしていく。

#### F. 健康危険情報

該当なし

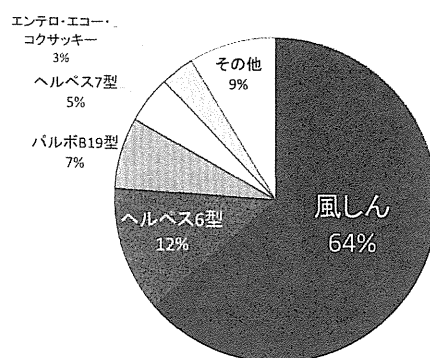
#### G. 研究発表

1. なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1 麻しん以外に検出された病原体(n=914)



厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）  
「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための  
実験室検査に関する研究」班

分担研究報告書

麻疹風疹実験室診断の地方衛生研究所における精度管理に関する研究

研究分担者 調 恒明 山口県環境保健センター  
研究協力者 村田祥子 山口県環境保健センター  
本永恭子 山口県環境保健センター  
岡本玲子 山口県環境保健センター  
戸田昌一 山口県環境保健センター

研究要旨 日本における麻疹ウイルス検出法として、現在汎用されているNested RT-PCR法について、22カ所の地方衛生研究所の参加による麻疹ウイルス検出感度測定及び麻疹ウイルス遺伝子検出に関する外部精度管理（EQA）をおこなった。スタンダードRNAを用いた検出感度の測定では施設間で100倍程度の感度の差がみられた。また、同時に実施したFTAカード法を用いたBlind sampleからの麻疹ウイルスRNAの検出についてはH1型のサンプルからの検出率は86.4%であった。B3型のサンプルについては全ての施設でB3型が検出された。しかし、プロトコールの解釈が施設により異なっていた可能性があり、PCR反応系に添加したRNA量の確認等、現在追加調査を実施し、結果を再検討しているため今回は中間報告とする。

A. 研究目的

平成19年12月「麻疹に関する特定感染症予防指針」（以下、特定指針）が告示され、国内の麻疹排除に向けての取り組みがはじまった。平成25年4月には特定指針の改正が行われ、その中で都道府県が設置する地方衛生研究所において、原則として麻疹疑い患者全例にウイルス遺伝子検査等を実施し、可能な限り麻疹ウイルスの遺伝子配列の解析を行うことが明記された。また、WHOの麻疹排除認定の定義には「質の高いサーベイランス」も要件の一つであり、National Laboratory（日本では国立感染症研究所）により精度管理された施設による

検査診断に基づいたサーベイランスが求められている。このような状況の中、日本では地方衛生研究所における麻疹ウイルス検査の外部精度管理が行われていない状況にある。麻疹ウイルス検出法としてはReal-time PCR法の導入が急がれているが、本研究では、現在汎用されているNested RT-PCR法について、検出感度の比較、N遺伝子、H遺伝子の検出ならびに遺伝子解析技術についての精度管理を実施し、地方衛生研究所における麻疹ウイルス検査の状況の把握と精度管理のあり方について検討を行った。

B. 研究方法

#### 1. 精度管理に参加する地方衛生研究所への試料等の配布

全国の地方衛生研究所のうち、22施設に国立感染症研究所（以下、感染研）で準備された「麻疹ウイルス遺伝子検出検査（Nested RT-PCR法）のEQA(External Quality Assessment)」プロトコールを配布しスタンダードRNA、FTAカード法によるBlind sample 3検体を常温で郵送した。

#### 2. スタンダードRNAを用いた検出感度の比較

プロトコールに従いスタンダードRNAを $10^7$ コピー/ $\mu\text{L}$ から $10^1$ コピー/ $\mu\text{L}$ まで段階希釈し、そのうち、 $10^4$ コピー/ $\mu\text{L}$ から $10^1$ コピー/ $\mu\text{L}$ について、各施設で通常の麻疹ウイルス検査に使用している機器、試薬を用いた検出感度の測定を行い、1stPCR、Nested PCR実施後のゲル泳動写真とともに結果の報告を求めた。

#### 3. Blind sampleからの麻疹ウイルス検出

3検体のFTAカード(No.1~No.3)をプロトコールに従い溶出後、各施設で通常の麻疹ウイルス検査に使用している方法によりRNAの抽出、逆転写反応(RT)及びPCRを行い、1stPCR、Nested PCR実施後のゲル泳動写真とともに検出結果の報告を求めた。

#### 4. ダイレクトシーケンス法による遺伝子解析

Blind sampleについて、Nested RT-PCRを実施した後、陽性となったサンプルについてダイレクトシーケンス法による遺伝子配列の決定を求めた。また、得られたウイルス遺伝子配列について相同解析を行い、リファレンス株を用いて分子系統樹を作成

し、ダイレクトシーケンスの波形図、遺伝子配列と共に報告を求めた。

#### C. 研究結果

##### 1. 精度管理に参加する地方衛生研究所への試料等の配布

乾燥状態のスタンダードRNA及びFTAカードの常温での郵送配布について、各施設とも破損、異常は認められなかった。また、感染研発送後、3日以内には全ての施設へ配布が完了した。

##### 2. スタンダードRNAの検出感度について

###### ・N遺伝子検出系

1stPCRでは陰性であった施設が18.2%あったが、Nested PCRでは全ての施設が陽性であった。1stPCRでは陰性から $10^1$ コピー/ $\mu\text{L}$ と感度にかかなりの差がみられた。Nested PCRでの感度差は $10^2$ コピー/ $\mu\text{L}$ から $10^0$ コピー/ $\mu\text{L}$ と100倍程度であった。

###### ・H遺伝子検出系

1stPCRでは陰性から $10^0$ コピー/ $\mu\text{L}$ までと、N遺伝子検出系と同様に感度にかかなりの差がみられた。Nested PCRについてもN遺伝子検出系と同様に $10^2$ コピー/ $\mu\text{L}$ から $10^0$ コピー/ $\mu\text{L}$ と100倍程度であった。

##### 3. Blind sampleからの麻疹ウイルス検出結果

###### ・Sample No.1について

H遺伝子検出系は1st、Nested PCRの両方とも陽性であった施設が9.1%あった。残りの90.9%はNested PCRのみ陽性であった。N遺伝子検出系についても、1st、Nested PCRの両方とも陽性であった施設は9.1%あった。81.8%の施設はNested PCRでのみの検出であった。また、1st、Nested PCRとも陰性の施設が9.1%あった。

・ Sample No.2 について

全ての施設で H 遺伝子、N 遺伝子とも陰性であった。

・ Sample No.3 について

H 遺伝子検出系は 1st、Nested PCR の両方とも陽性であった施設は 18.2%あったが、反対に両方とも陰性で検出できなかった施設が 27.3%あった。N 遺伝子検出系についても、1st、Nested PCR の両方とも陽性であった施設は 9.1%であり、1st、Nested PCR とも陰性で検出できなかった施設が 4.6%あった。また、通常検査の際に使用する参照 RNA は、スタンダード検出系、Blind sample 検出系とも全ての施設で使用され、検出されていた。

#### 4. ダイレクトシーケンス法による遺伝子解析結果

Sample No.1 について N 遺伝子を検出した 91%の施設がウイルス遺伝子配列決定をおこない、そのうちの 95% (全体として 86.4%) の施設から遺伝子型 H1 と報告された。Sample No.3 については N 遺伝子が不検出の施設も H 遺伝子の配列を用いてウイルス遺伝子配列の決定及び遺伝子型の決定が行われた。その結果、全ての施設から遺伝子型 B3 と報告された。

#### D. 考察

N 遺伝子検出系、H 遺伝子検出系ともに、スタンダード RNA の感度測定の検出において 100 倍程度の感度の差がみられた。この結果については、EQA プロトコールの解釈に差があり、逆転写反応 (RT) をおこなう際に RNA 量を 1 $\mu$ L で実施した施設と、各施設で通常検査の際に行っている反応量 (麻疹診断マニュアルによる RNA 量は試薬量と 1:1) を添加し cDNA を作成し、PCR

反応の際に cDNA 量を 1 $\mu$ L 添加した施設があった。Blind sample については、ほとんどの施設で同じ遺伝子型が報告された。しかし N 遺伝子検出が陰性の施設では使用した RNA 量に差があったことも懸念された。これらのことから、使用した RNA 量、反応量等の追加調査を現在行っている。今回、各施設で使用している試薬、機器、反応条件さらに機器のメンテナンス状態についてもアンケート調査を行い、回答を得ている。「麻疹診断マニュアル (第 2 版)」に準じた試薬、反応条件でおこなっている施設が多いが、反応条件が異なる施設もあることから今後、これらと結果への影響の有無について解析を実施する予定である。

#### E. 結論

22施設の地方衛生研究所の参加を得て麻疹ウイルス遺伝子検出検査 (Nested RT-PCR法) についての外部精度管理を実施した。スタンダードRNAによる検出感度の測定では各地研で100倍程度の差が生じる結果となった。Blind sampleからの麻疹ウイルス遺伝子検出ではB3型については100%、H1型については86.4%の施設で遺伝子型の決定ができ、分子系統樹の作成が行われた。各施設で通常使用している試薬、機器等の影響を考慮した解析を今後行っていく予定である。

国内における麻疹の排除状態の維持を持続するためには地方衛生研究所における麻疹ウイルス遺伝子検査が引き続き重要である。今後導入が見込まれる麻疹ウイルス検出系のReal-time PCR法とともに、汎用されているNested RT-PCR法についても、今後も引き続き精度管理を実施し、国内の検査精度の向上を図る必要がある。各施設で使用している機器、試薬等、条件の違いを

考慮した上でEQAが実施できるよう、今後  
プロトコル等の作成、実施方法について  
考慮する必要があった。

F. 健康危険情報

特記事項無し

G. 研究発表

論文発表

1. なし

学会発表

国際学会

1. なし

国内学会

1. なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）  
「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための  
実験室検査に関する研究」班

分担研究報告書

臨床検体を用いた麻疹・風疹リアルタイムPCR法の検討

研究分担者 加瀬哲男 大阪府立公衆衛生研究所

研究協力者 駒野淳 国立病院機構名古屋医療センター  
倉田貴子 大阪府立公衆衛生研究所  
上林大起 大阪府立公衆衛生研究所

研究要旨 平成25・26年度に国立感染症研究所で作製された麻疹および風疹リアルタイムPCR法について、当所でのRT-nested PCR法で既に麻疹および風疹ウイルスゲノムの有無が明らかになっている200を越える臨床検体のRNAを用いて検証試験を行った。麻疹リアルタイムPCRでは感度92.3%、特異度は97.6%で、風疹リアルタイムPCRでは感度73.2%、特異度は86.0%であった。風疹において感度が従来法よりもやや劣るものの、複数種の検体で検査した結果と風疹IgM抗体の有無を勘案すれば、検査導入可能であり、実用性は高いと考えられた。

#### A. 研究目的

麻疹および風疹の迅速且つコンタミネーションの少ない正確な実験室診断には、現行のRT-nested PCR法よりもリアルタイムPCR法が適していると考えられる。このため、平成25・26年度に国立感染症研究所で、米国のCDCで行われている方法をもとに、麻疹および風疹リアルタイムPCR法が考案されたが、臨床検体を用いた十分な検証は行われていなかった。

本年度は、当所でのRT-nested PCR法で既に麻疹および風疹ウイルスゲノムの有無が明らかになっている臨床検体のRNAを用いて、リアルタイムPCRを行い、麻疹および風疹それぞれの系について、感度と特異度を算定し、実際の行政検査への導入の可否を検討する事を目的とした。

#### B. 研究方法

2007年から2014年までに発疹性疾患を

疑い大阪府立公衆衛生研究所で実施された行政検査において、血液・咽頭拭い液、尿検体から抽出されたRNAを用いて麻疹・風疹のリアルタイムPCRを行い、従前の標準検査法であるRT-nested PCR (conventional PCR) 検査の結果と相関を解析した。実地検査には従前法で陽性と陰性の結果になった検体をあわせて麻疹261検体および風疹220検体を供した。試薬はTaqMan Fast Virus 1-step Master Mix (ABI社)を、機器はStepONEplus (ABI社)を使用した。検体のCt値がコントロール(5 copy/reaction)のCt値未満の場合を陽性、Ct値40以上を陰性、それ以外を判定保留とした。結果の解析においてはリアルタイムPCRの判定保留は陰性と評価した。

#### C. 研究結果

麻疹ではconventional PCR陽性検体の92.3% (48/52検体) がリアルタイムPCR陽

性(Ct:20.38-34.85, median 29.60)となり、特異度は97.60% (204/209検体)であった(表1)。一方、風疹ではconventional PCR陽性検体の73.2% (93/127検体)がリアルタイムPCR陽性(Ct:22.06-34.89, median 29.87)となり、特異度は86.0% (80/93検体)であった(表1)。

麻疹では、conventional PCRで陽性、リアルタイムPCR陰性となった偽陰性検体が7.7%(4/52)であったが、風疹では26.8%(34/127)と割合が高く、風疹で偽陰性となった検体のうち52.9%(18/34)は判定保留(Ct: 33.9-35.9, median 34.9)であった。

また、風疹で偽陽性となった13検体について精査したところ、7検体は患者の風疹IgM抗体陽性または他の検体種のリアルタイムPCRで風疹ウイルスが検出された事例であったことから、事実上の偽陽性とは言い難い検体であり、リアルタイムPCRは、conventional PCRより高感度な場合もあることが示された。

#### D. 考察

麻疹リアルタイムPCR法は麻疹検査を高い特異度で行うことができ、実地に適すると考えられた。風疹リアルタイムPCRは、ウイルス排泄量が多く感染拡大が懸念される事例の捕足には有用だが、ウイルスゲノム量が比較的少ない場合の感度は十分高くないため、複数の検体種での検査や風疹IgM抗体の結果を総合的に判断することで、実地に耐えうると考えられた。また、発生頻度が低く症例数が少ない先天性風疹症候群疑い事例の検査は、conventional PCRを用いて検査する方が適切であると思われる。実験系として改善すべき点としては、風疹診断の一層の感度・特異度の改善と鑑別診断を勘案した発疹性疾患検査のアルゴリズム

最適化が求められる。また、風疹で偽陰性となった検体のうち判定保留が占める割合が高かったため、今後全国的に導入した後に判定基準の調整が必要となる可能性が考えられた。今後は新検査法を導入した結果として、行政効果とコストパフォーマンスに関する評価が求められる。

#### E. 結論

国立感染症研究所が作製した麻疹および風疹のリアルタイムPCR系について、臨床検体を用いて検討した結果、複数種類の検体を用いて検査することで、現行のRT-nested PCR法に替えて導入可能であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

- (1) Kurata T, Kanbayashi D, Kinoshita H, Arai S, Matsui Y, Fukumura K, Matsumoto H, Odaira F, Murata A, Konishi M, Yamamoto K, Nakano R, Ohara T, Otsuru E, Komano J\*, Kase T, Takahashi K. Late onset of vaccine-associated measles in an adult with severe clinical symptoms: a case report. *Am J Med.* 2014. 127(4):e3-4.
- (2) Kurata T, Kanbayashi D, Komano J, Kase T, Takahashi K. The reply. Pitfalls of National Surveillance Systems for Vaccine-associated Measles. *Am J Med.* 2014. 127(8):e19.
- (3) Kurata T, Kanbayashi D, Nishimura H, Komono J, Kase T, Takahashi K.



Increased reports of measles in a low endemic region during a rubella outbreak in adult populations. *Am J Infect Control*. In press.

学会発表

国際学会

1. Satoshi Takeda, Daiki Kanbayashi, Takako Kurata, Hironori Yoshiyama, Jun Komano, Measles virus as a potential oncolytic virotherapy against B cell lymphomas, 第 73 回日本癌学会学術総会、横浜 (2014)
  2. Daiki Kanbayashi, Takako Kurata, Tetsuo Kase, Kazuo Takahashi, Jun Komano : Cross-Neutralization of Rubella Virus Strains with Human Sera Measured by A Novel High-Throughput Neutralization Assay, The 13th Awaji International Forum on Infection and Immunity、奈良 (2014).
- 国内学会
3. 上林大起, 倉田貴子, 福村和美, 畑中己穂, 田邊雅章, 松本治子, 駒野淳, 加瀬哲男, 高橋和郎: 麻疹と修飾麻疹について~MR ワクチン 2 回接種の重要性~, 第 18 回日本ワクチン学会学術集会、福岡 (2014)
  4. 倉田貴子, 上林大起, 加瀬哲男, 高橋和郎, 福村和美, 畑中己穂, 田邊雅章, 松本治子, 五十嵐愛子, 北島博之, 駒野淳: 大阪府における麻疹の流行と先天性麻疹症候群の検査診断, 第 18 回日本ワクチン学会学術集会、福岡 (2014)
  5. 倉田貴子, 上林大起, 駒野淳, 加瀬哲男, 高橋和郎: ヒト胎盤由来細胞における麻疹ウイルスの増殖 kinetics, 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜 (2014)

6. 上林大起, 倉田貴子, 駒野淳, 加瀬哲男, 高橋和郎: HI 抗体価で評価されてきた麻疹に対する感染防御力は流行ウイルスに対して正しい判断をあたえるのか? 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜 (2014)
7. 倉田貴子, 上林大起, 西村公志, 加瀬哲男, 駒野淳: 水面下における麻疹の流行レベル推定, 第 73 回日本公衆衛生学会総会、宇都宮 (2014)
8. 上林大起, 倉田貴子, 駒野淳, 加瀬哲男, 高橋和郎: 生物発光を利用した麻疹ウイルス検出系の実験室診断への応用~流行要因解明に向けて~, 第 73 回日本公衆衛生学会総会、宇都宮 (2014)
9. 駒野淳, 上林大起, 倉田貴子, 加瀬哲男: 麻疹ウイルス感染評価システムの確立と中和活性測定系への応用, H25 年度厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)「麻疹ならびに麻疹排除およびその維持を科学的にサポートするための実験室検査に関する研究」(H25-新興-一般-010) 研究班第 1 回班会議 東京 (2014)
10. 倉田貴子, 上林大起, 加瀬哲男, 高橋和郎: 先天性風しん症候群の検査診断, 衛生微生物技術協議会第 35 回研究会、東京 (2014)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特許取得

該当なし

実用新案登録

該当なし

その他

該当なし

MV		RT-nested PCR	
Real-time PCR		+	-
	+	48	5
	-	4	204

N=261

RV		RT-nested PCR	
Real-time PCR		+	-
	+	93	13
	-	34	80

N=220

麻疹 (MV) におけるRT-real time PCRのRT-nested PCRに対する感度 92.3%、特異度97.6%、偽陰性率4/52 (7.7%) .

風疹 (RV) におけるRT-real time PCRのRT-nested PCRに対する感度 73.2%、特異度86.0%、偽陰性率34/127 (26.8%) .

表1 麻疹 (MV) および風疹 (RV) 検査における感度・特異度

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）  
「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための  
実験室検査に関する研究」班  
分担研究報告書

麻疹ウイルス風疹ウイルス同時検出リアルタイム PCR 系の確立、WHO 推奨系との比較解析、  
ならびに風疹流行の時系列解析、系統解析

研究分担者 森 嘉生 国立感染症研究所ウイルス第三部第二室

研究協力者 大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史  
国立感染症研究所ウイルス第三部第二室

研究要旨 これまでに麻疹検査と同時に実施可能な風疹Real-time RT-PCR法を構築したが、本法はRT-nested PCR法よりもやや感度が低いことが示された。そこで、Real-time RT-PCR法で感度が低い原因を検討した。しかし原因が明らかとならなかったため、本邦をしようして風疹検査を実施しても誤判定がないようにするための判定アルゴリズムを作成した。また、近年の日本の風疹ウイルス流行株の分子系統学的な時系列地理別解析を行い、日本の2010～2014年の流行は、異なる由来を持つ複数のウイルスによって引き起こされたことを明らかにした。

#### A. 研究目的

Measles and Rubella initiative が発表した 2012-2020 年の行動計画において、麻疹だけでなく風疹についても 2020 年までに WHO 6 地域のうち 5 地域で排除を達成することを目標に掲げられている。WHO 西太平洋地域では、風疹の排除目標年は具体的には定められていないが、風疹制御促進と先天性風疹症候群の予防が進められている。日本においては 2004 年の流行以来患者報告数の少ない状況が続いてきたが、2013 年に 1 万 4 千人を越える風疹患者と 40 名を越える先天性風疹症候群患者の発生があった。これに伴い、厚生労働省から「風しんに関する特定感染症予防指針」が示され、早期に先天性風疹症候群の発生をなくすとともに、平成三十二年度までに風疹の排除を達成することが目標として掲げられた。本指針において、風疹サーベイランスの強化が求め

られている。特に必要性に応じて地方衛生研究所でのウイルス遺伝子検査等の実施を行うことが示されていることから、検査に用いることができる実用性の高い風疹の遺伝子検出法の整備普及が必要とされる。

これまでに風疹においては高感度な RT-nested PCR 法を開発し、病原体検出マニュアルに掲載することで広く普及を図ってきた。しかしながら RT-nested PCR 法は比較的手技が煩雑であること、コンタミネーションの危険性が高いことが問題点としてあげられている。そこで我々はこれまでに手技が簡便でコンタミネーションの危険性の低い Real-time RT-PCR 法についても開発を行ってきた。昨年度は全国 10 カ所の麻疹風疹リファレンスセンターの協力のもと風疹 Real-time RT-PCR 法の評価を実施し、本法は特異度が高いが、RT-nested PCR 法よりもやや感度が低

いことが示された。そこで、Real-time RT-PCR 法で感度が低い原因を検討するとともに、やや低感度であっても齟齬がないように判定を行うためのアルゴリズムを検討した。

また、風疹排除の確認のためには、「適切なサーベイランス精度の下、土着株による感染が1年以上確認されないこと」が必要であり、遺伝子解析による風疹ウイルス野外株の解析によって、どのようなウイルス株が流行しているのか明らかにしていく必要がある。そこで、日本の風疹ウイルス流行株について時系列、地理的な解析を行い、近年どのようなウイルスが流行してきたかを検討した。

## B. 研究方法

### 1. <風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time RT-PCR 法の感度の検討>

風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time RT-PCR 法の感度がやや低い原因を探るため、参照 RNA を用いて Real-time RT-PCR 法と RT-nested RT-PCR 法の検出限界濃度の比較、遺伝子型ウイルス間での増幅効率の比較および咽頭拭い液を用いてのスパイクテストを行った。

### 2. <風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time RT-PCR 法を使用する際の判定アルゴリズムの検討>

風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time RT-PCR 法を用いた場合の判定の目安となるフローチャートを麻疹の検査診断アルゴリズム（国立感染症研究所ホームページ麻疹）を参考に検討した。

### 3. <日本における風疹ウイルス流行株の分子疫学的な時系列地理別解析> 地方衛生研究所を中心に解析され、DDBJ 等の遺伝子データベースあるいは、

NESID に登録された日本の風疹ウイルス株について系統樹解析を行い、流行株の時系列地理別傾向を検討した。遺伝子解析には E1 遺伝子領域内の遺伝子型決定領域 739bps を用いた。

## C. 研究結果

### 1. <風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time RT-PCR 法の感度の検討>

昨年までの検討で、本法は臨床検体を用いた場合、RT-nested PCR 法よりもやや感度が低いことが示された。そこで、再度風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time RT-PCR 法と RT-nested RT-PCR 法の感度を検討するため、希釈段階した参照 RNA（遺伝子型 1a ウイルス由来）を同時に測定した。その結果、両方法とも検出限界濃度は 5 コピー／反応と差は認められなかった。次に近年流行している株では、Real-time RT-PCR 法の増幅効率が悪い可能性を考え、プライマー・プローブ認識部位の検討を行ったが、近年流行している遺伝子型ウイルスで目立った変異等は認められなかった。さらに 5 種類のウイルス（遺伝子型 1a, 1E, 1G, 1J, 2B）を用い、Real-time RT-PCR 法でそれぞれのウイルスに対する PCR 増幅効率を検討したが、増幅効率の差は認められなかったことから、近年の流行株について本法の感度が低くなっていることは考えにくいことが示された。臨床検体中のような夾雑物の多い検体から検出する際に本法の感度が低下する可能性を考え、咽頭拭い液にウイルス液を添加して疑似検体を作製し、そこからの回収効率の変化を検討した（図 1）。その結果、5 種類のウイルス（遺伝子型 1a, 1E, 1G, 1J, 2B）を用いた場合、回収率に大きな差は認められなかった。以上のことから、今回の検討では風疹ウイル

ス遺伝子検出 Real-time RT-PCR 法が RT-nested PCR 法よりもやや感度が低い原因について明らかにならなかった。

## 2. <風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time RT-PCR 法を使用する際の判定アルゴリズムの検討>

風疹検査で正確な結果を得るためには、検体の種類、検体の採取時期が重要であり、複数の方法による検査結果が得られる場合、総合して判定することが重要と考え、判定アルゴリズムを作成した(図2)。風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time RT-PCR 法を用いて風疹検査を行う場合、可能な限り、咽頭拭い液、尿、血液の3検体を用いることを推奨し、そのうち、一検体でも陽性であった場合、風疹陽性とする事とした。一検体以上で判定保留ならびに全て陰性であった場合、必ずしも風疹陰性と確定できないため、医療機関で併行して実施された IgM 検出法の結果を参考にすることを推奨した。

Real-time RT-PCR 法陰性かつ IgM 試験陰性であった場合、検体の採取日が適切であったかを確認して、風疹でない可能性が高いとして判定することを推奨した。本アルゴリズムは医療機関、保健所、地方衛生研究所等広い範囲で使用可能であると考えられるため、国立感染症研究所ホームページ等に掲載できるかを検討している。

## 3.<日本における風疹ウイルス流行株の分子疫学的な時系列地理別解析>

2010~2014年に日本で検出された風疹ウイルスの遺伝子型は2B, 1E, 1J, 1aであり、2B および 1E が主に検出された。特に遺伝子型 2B ウイルスは年々検出率が増加し、2013年の流行株の大多数を占めていた。日本の株は2009年以前にはこの遺伝

子型 2B や 1E ウイルスが検出されておらず、2010年以降から報告されるようになった。また、2010~2011年と2012~2013年では同じ遺伝子型 2B や 1E であっても流行株に関連性はなく、異なる由来によるものと推測された(図3)。2012~2013年に流行した遺伝子型 2B ウイルスは、東南アジア流行株と非常に近縁であったが、大きく2系統に別れることが示された(2B-2と2B-3)(図4)。2B-2系統のウイルスは2012年に西日本を中心に検出され、主要なウイルス流行株であった。しかし、このウイルスは2013年の半ばから検出されなくなっている。一方、2B-3系統のウイルスは2012年の半ばから検出されるようになり、2013年には全国に広がる流行を示した。この系統に含まれるウイルスが2014年も検出されており、1年以上にわたって土着した可能性が否定できなかった。

## D. 考察

風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time RT-PCR 法は臨床検体での検討でコンベンショナル RT-nested PCR 法と比較して感度がやや低いが、その原因は明らかとならなかった。本 Real-time RT-PCR 法を使用して風疹検査を行う場合、今回作成した判定アルゴリズムを参考にすることで、誤判定の危険性を減らすことが出来ると考えられる。今後、本法は早急に病原体検出マニュアルに掲載し、地方衛生研究所へ普及することが求められる。近年全世界的に遺伝子型 2B ウイルスが流行しており、遺伝子型のみ情報ではその由来が分からない。一方、分子系統学的な時系列地理別解析によって、日本においては2010~2014年の流行は、異なる由来を持つ複数のウイ

ルスによって引き起こされたことが明らかとなった。これは日本においては周辺諸国の風疹ウイルスの流行状況に合わせて絶えず侵入してきていることが推測される。本解析は風疹排除を確認する上で非常に有用である可能性が示されたことから、今後も継続して解析を行っていく必要がある。

#### E. 結論

風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time RT-PCR 法が現行の RT-nested PCR 法よりやや感度が低い原因は明らかにならなかったが、判定の目安となるアルゴリズムを作成し、実際の検査の使用に役立てるようにした。近年の日本の風疹ウイルス流行株の遺伝子解析を行い、日本の 2010～2014 年の流行は、異なる由来を持つ複数のウイルスによって引き起こされたことを明らかにした。

#### F. 健康危険情報

該当無し

#### G. 研究発表

論文発表

1. Abo H, Okamoto K, Anraku M, Otsuki N, Sakata M, Icenogle J, Zheng Q, Kurata T, Kase T, Komase K, Takeda M, Mori Y. Development of an improved RT-LAMP assay for detection of currently circulating rubella viruses. *Journal of Virological Methods*. 207, 73-77. 2014
2. Yasui Y, Mori Y, Adachi H, Kobayashi S, Yamashita T, Minagawa H. Detection and genotyping of rubella virus from exanthematous patients suspected of

measles using reverse transcription-PCR. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. 67, 389-391. 2014

3. 森嘉生、大槻紀之、風疹ウイルスの特徴、臨床とウイルス 42(1)、19-25、2014
4. 岡本貴世子、森嘉生、先天性風疹症候群の予防と風疹抗体価の推移、検査と技術 42(5)、464-469、2014
5. 坂田真史、森嘉生、風疹ウイルスの生活環境、ウイルス 64(2)、137-146、2014

学会発表

国際学会

該当無し

国内学会

該当無し

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特許取得

該当無し

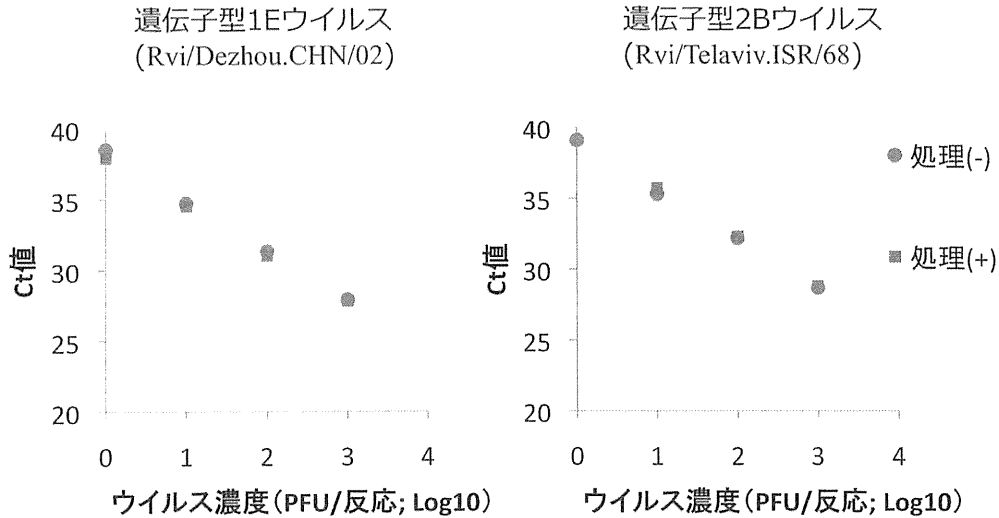
実用新案登録

該当無し

その他

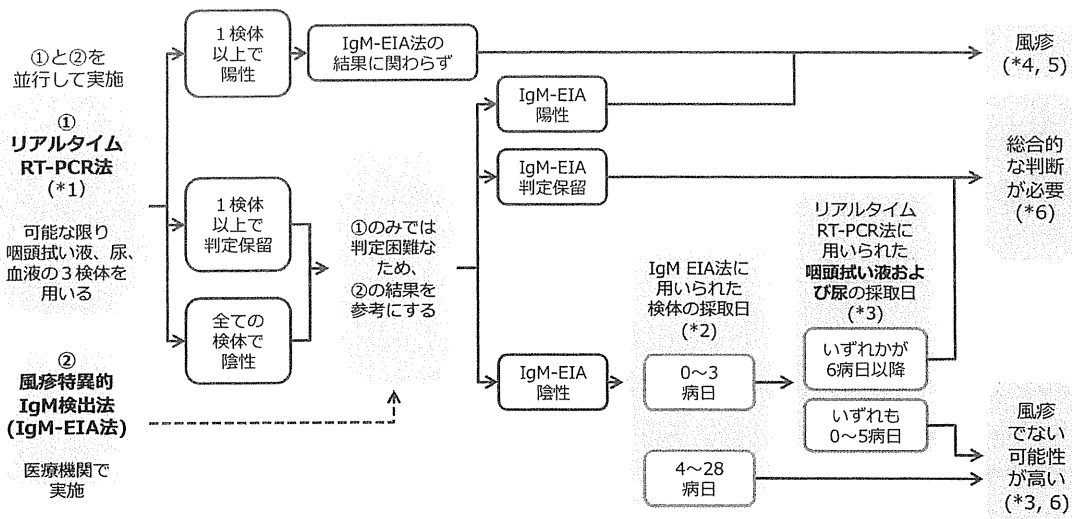
該当無し

図1 咽頭拭い液へ添加したウイルスの回収実験



他の遺伝子型ウイルス (1a, 1D, 1H, 1J) についても同様の結果が得られた。

図2 リアルタイムRT-PCRを風疹検査に用いた場合の風疹検査診断の考え方



- \*1: 患者が妊婦の場合や、検体が5病日以内に採取されていない場合には、より感度の高いNestled RT-PCR法を本法の代わりに実施することを検討する。
- \*2: **IgM EIA法の感度:** 発疹発現後3日目まではnested RT-PCR陽性検体のうち約50%がIgM EIA法で陰性と判定されるが、4日目以降ではほぼ100%陽性と判定される【麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための実験室検査に関する研究、H25年度研究分担報告書 田中智之(堺市衛生研究所)ならびにH25年度研究分担報告書 加瀬哲男(大阪府公衆衛生研究所)】
- \*3: **リアルタイムRT-PCRの感度:** 咽頭拭い液(0~5病日)または尿(0~5病日)を検体とした場合、nested RT-PCR陽性検体の10~15%がリアルタイムRT-PCRで陰性と判定される(別表参照)。血液成分(血清、血漿、全血、PBMC)からも検出可能であるが、検出感度が低い(nested RT-PCR陽性検体の約35%がリアルタイムRT-PCRで陰性と判定される)。
- \*4: 発症前の風疹含有ワクチン接種歴がある場合には、ワクチン株による反応の可能性を考慮する。
- \*5: 必要に応じてウイルスの遺伝子型解析を検討する。
- \*6: 臨床所見、疫学情報、ペア血清によるIgG-EIA法等を用いて総合的に判断する。

図3 風疹ウイルスの系統樹

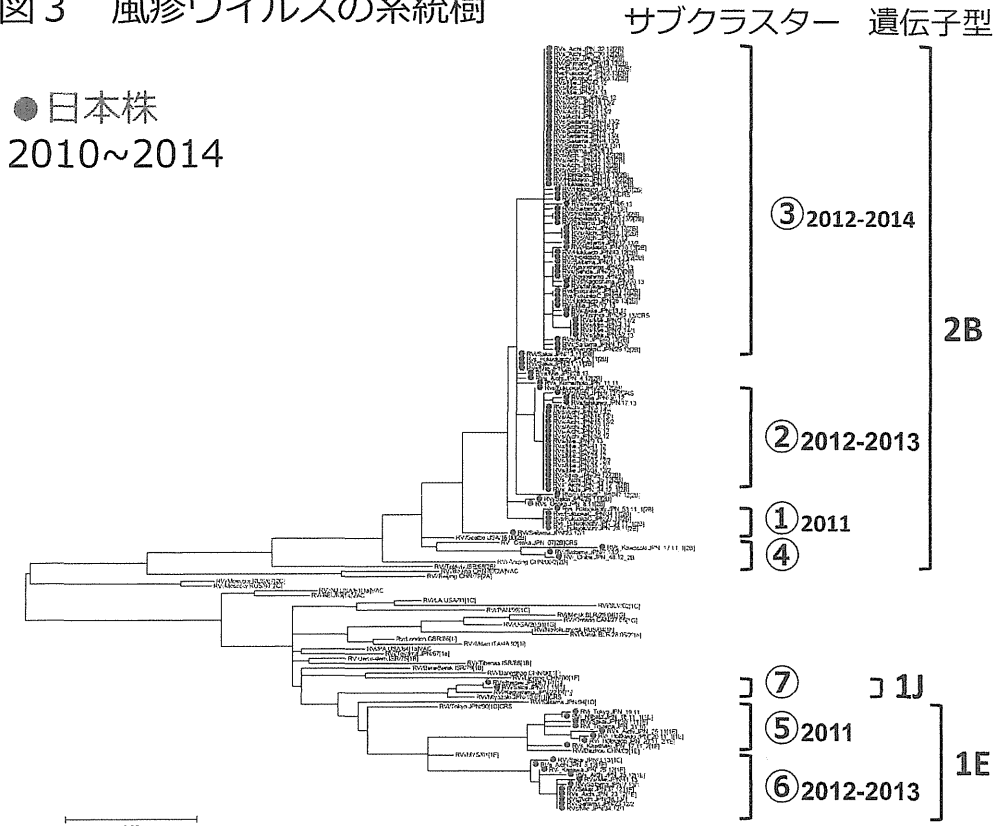


図4 遺伝子型2Bウイルスの時間的分布, 2012-2014

