

平成 22 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）「早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究」
分担研究報告書

「麻疹検査技術の標準化、並びに検体輸送体制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

2010 年東北・新潟ブロックの麻疹ウイルス検査状況

研究協力者 青木 洋子 山形県衛生研究所 主任専門研究員

研究要旨 2012 年までに麻疹を排除する目標を達成すべく、地方衛生研究所では検査技術の整備を行なってきた。東北・新潟ブロックで行なった 2010 年感染症発生動向調査における麻疹及び麻疹疑い患者の検査数合計は、2008 年の 16 検体に比べ 2010 年は 33 検体と増加していた。また、麻疹の疑い事例について検査を進める中で、発疹性疾患との鑑別が重要であることが再認識され、麻疹ではないことを確認するだけでなく、他にもウイルス検査項目を増やして遺伝子検査を実施している機関が増えた。2010 年のブロック内の検査状況と、山形県における麻疹患者届出および検査状況をあわせて報告する。

A.研究目的

麻疹・風疹レファレンスセンターの発足から 2 年が経過し、麻疹患者の発生は輸入例が多くを占めるようになった。麻疹検査診断は、麻疹陽性患者を確認・精査することはもとより、麻疹を疑う患者の鑑別診断検査をどこまで行うのかを考えなくてはならない時期に達してきた。患者（疑い含む）の探知は、以前と変わらず遅く、検査に適さない時期の患者検体を扱わざるを得ない状況も変わっていない。地方衛生研究所（地衛研）は、事例によっては検査材料や検査項目を増やすなどしてこれに対応している。この現状把握と山形県における 2010 年の検査

状況を報告する。

B.研究方法

東北・新潟ブロック（ブロック）における検査状況は、2010 年感染症発生動向調査に基づき行なわれた麻疹および麻疹疑い患者の検査数、検査材料、検査項目をアンケート方式で集約した。

山形県衛生研究所では、2010 年に麻疹および麻疹疑い患者として検査依頼があった 4 事例について咽頭拭い液、血液、尿、血清を材料に検査診断を実施した。ウイルス分離は SLAM-Vero 細胞により行なった。遺伝子検査の項目は、麻疹、風疹に加え、

事例ごとにエンテロ、パルボウイルスの遺伝子検査を加えた。

遺伝子の増幅は、麻疹、風疹、パルボウイルスについては病原体検出マニュアルにより行なった。エンテロウイルスにはNixらのVP1領域の増幅プライマーを用いた。また、IgM抗体は、ウイルス抗体EIA「生研」麻疹IgMキット(デンカ生研)を用いて測定した。

2010年に山形県感染症発生動向調査に報告された麻疹患者2名について、疫学調査から検証を行なった。

C.研究結果および考察

(1) ブロックにおける検査状況

2010年は、ブロックから麻疹患者の報告はなかった。ブロックの合計検査数は、2008年の調査では集団発生患者検体を含め16検体であったのに対し、2010年は33検体と増加した(表1)。また、探知が遅れることで検査に適さない検体が採取され、検査依頼されることが多いことから、前回は咽頭拭い液のみの検査を実施している機関が多かったが、ウイルスの排出が長いと考えられる血液や尿、また血清抗体(PA法)を測定する機関が増えた(表2)。また、患者情報から麻疹以外の疾患も疑われる検体について検査項目を増やし、病因ウイルスの同定に努めている機関も多く見られるようになった(表3)。

(2) 2010年山形県における検査状況

麻疹および麻疹疑い患者として検査依頼があった5事例(うち1事例はブロックからの血清抗体測定依頼)について咽頭拭い液、血液、尿、血清を材料に検査診断を実施した(表4)。

事例1は、麻疹IgM抗体指数が陽性であったが、遺伝子検出されなかったことと、保健所における疫学調査を踏まえた医師の総合的な判断により届出はされなかった。診断医師は、以前にも麻疹の陽性患者を診断しており、遺伝子検査の結果を優先したものと考えられた。

事例3の麻疹疑い患者は医師がウイルス性発疹症も疑っていたためエンテロウイルスの遺伝子検査を実施したところライノウイルスが検出された。

事例4は、第22週届出の患者検体について検査を行った事例であるため詳細は後述する。

事例5は、患者探知から速やかに検体は確保されたが、当所で行った検査では何も検出されなかった。

(3) 2010年山形県麻疹患者報告事例

山形県は、2010年に2例の患者報告があった。いずれも検査機関からのIgM抗体指数陽性の結果を受けた医師からの届出によるものであった。麻疹発生届出をもとに事例を検証した(表5)。

14週の事例は、伝染性紅斑の流行が患者の居住地付近において警報基準をこえて発生していることが、同週報の中で特記されていた。またこの患者の子供3人のうち6歳児と3歳児は、伝染性紅斑の診断を受けていたこと、さらに、麻疹ワクチン未接種の0歳10ヶ月児に麻疹の伝播が見られなかったなどから、この事例は、パルボウイルスによるIgM抗体指数の擬陽性を疑われた。しかし、探知時には検体の採取時期を逸していることから、保健

所からの検査依頼はなかった。

22週の事例は、前述検査状況の事例4に該当し、当所に検査診断の依頼があったのは発症から1ヶ月後の血液のみであり、麻疹・風疹の遺伝子検査の結果は陰性であった。

D.結論

2010年ブロック内からの麻疹患者報告はなく、全国的にも輸入事例が多くを占め、集団的な発生も起こりにくい状態にあり、排除の状態に近づきつつあると考えられた。

排除に向けたブロック地研の検査は、患者の探知が遅い状況に変わりがなく、検査材料や項目を増やすなど確実に排除に向かった取組みに変化しつつあった。また、今後検査を進める中で、発疹性疾患の検体が紛れ込む可能性が高く、鑑別していく検査技術の確立も重要であることが再認識された。

表1 2010年検査数

自治体	0～5歳	6～10歳	11～15歳	16歳以上	合計	2008年の合計
A	2	0	0	4	6	0
B	0	0	0	5	5	12*
C	0	0	1	1	2	1
D	0	0	0	0	0	0
E	0	0	0	1	1	0
F	5	0	0	2	7	0
G	2	0	0	1	3	0
H	2	0	0	3	5	2
I	3	0	0	1	4	1
合計					33	16*

*は集団発生の検体を含む

表2 検査材料

自治体	咽頭拭い液	尿	血液	血清
A	●	○	●	●
B	●	○	●	○
C	●	○	●	○
D	●			
E	○			
F	●	○	○	●
G	●	○	○	○
H	●	○	○	○
I	●	●	●	●

●は2008年に実施済み ○2010年調査で追加

表3 検査項目と検査実施機関数

	麻疹	風疹	パルボ	その他		
				エンテロ	HHV-6	HSV
RT-PCR-シークエンス	9	5	4	5	1	1
リアルタイムPCR	1	-	-			
抗体測定	3	1*	0			
細胞培養	6	-	-	1		

*10抗体価

表4 2010年山形県における麻しんおよび疑い患者検体検査結果

	地区	発病日	検体採取日	検体材料	歳	病院名	同定日	ウイルス	遺伝子検査項目
1	村山	2010/1/11	2010/1/15	全血	0歳6ヶ月	Tクリニック	2010/1/28	分離せず、検出せず	麻疹、風疹
				咽頭拭い液				分離せず、検出せず	
				尿				検出せず	
				血清				1.73(陽性)	
2	A県	2010/3/21	2010/4/5	血清	19歳	Aセンター	2010/4/12	0.31(陰性)	
3	村山	2010/4/18	2010/4/23	血清	0歳7ヶ月	K病院	2010/5/13	0.5(陰性)	麻疹、風疹、エンテロ
				全血				分離せず、検出せず	
			2010/4/26	咽頭拭い液				Enterovirus(Rhino58)	
				尿				分離せず、検出せず	
4	庄内	2010/5/9	2010/6/7	全血	76歳	T病院	2010/6/9	検出せず	麻疹、風疹、バルボ
				血漿				1.01(保留)	
5	村山	2010/12/18	2010/12/20	咽頭拭い液	0歳9ヶ月	C病院	2011/12/22	検出せず	麻疹、風疹、バルボ
				尿				検出せず	
				血清				検出せず	
				血清				検出せず	
				血清				検出せず	
				血清				0.43(陰性)	

表5 2010年山形県における麻しん報告患者

	14週報告事例	22週報告事例
患者	36歳 女性	76歳 女性
発病日	平成22年3月28日	平成22年5月9日
臨床診断日	平成22年3月31日	平成22年5月18日
検査診断日	平成22年4月6日	平成22年5月28日
届出日	平成22年4月8日	平成22年5月28日
症状	発熱(3/28～)、発疹(3/30～)	咳、発疹(5/13～)
罹患歴	なし	不明
ワクチン歴	1回	不明
渡航歴なし	なし	なし
IgM抗体指数	1.82	1回目:0.99(5/18)、2回目:0.84(5/25)
IgG抗体指数	28.1	1回目:80.5(5/18)、2回目:113(5/25)
備考	庄内地域伝染性紅斑流行中 子供3人(6歳、3歳、0歳11ヶ月) 4月3日～5日伝染性紅斑に罹患 ワクチン歴のない0歳11ヶ月児に麻しんの伝播なし	同居家族4名発症なし 6月7日血液採取、衛生研究所で検査を実施 麻しん、風疹、バルボウイルス検出せず 血漿IgM: 1.01(判定保留)

平成 22 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）
「早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究」
分担研究報告書

「麻疹検査技術の標準化、並びに検体輸送体制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

「千葉県の麻疹検査の現状と全数検査への取り組み」

研究協力者：小川 知子	千葉県衛生研究所	室長
涌井 拓	千葉県衛生研究所	研究員
照屋 富夫	千葉県衛生研究所	研究員

研究要旨

「麻疹排除」に向けての取り組みは、ワクチン接種率の向上とともに、患者の早期発見、早期診断が重要である。このために、病原体診断として、RT-PCR は感度と迅速性において非常に有効である。しかしながら、民間検査機関で実施されている麻疹 IgM 抗体の測定は、病原体診断と異なることもあり、最終判断を難しくし、「届け出の取り下げ」等の問題が生じている。

これらのことを踏まえ、検査結果の精度、意味等の積極的な情報の提供が必要であり、臨床、強制、検査が連携をとり、システムを構築していく必要があると考えられた。

A. 研究目的

2012 年の「麻疹排除」に向けて、麻疹と診断された患者検体のすべてを検査すること、より精度の高い検査を実施することは、2006 年以降、患者数を多く出している千葉県においては、重大な問題である。

しかしながら、2009 年から 2010 年は、患者数は激減し県独自の取り組みも進み、流行を見ていない。

今回、2010 年度に検査した患者検体から得られた結果と、千葉県での麻疹全数検査への取り組みについて報告する。

B. 研究方法

1. 麻疹患者の検査

2010 年 4 月 1 日～2011 年 1 月 31 日現在に検査依頼のあった麻疹患者数は、23 名であり、検体は血液 20 検体、咽頭ぬぐい液 18 検体、尿 8 検体であった。

病原体の検出については、得られたこれら検体すべてに RT-PCR にて遺伝子の検出を実施した。目的とする遺伝子は、H 遺伝子および N 遺伝子であり、病原体検査マニュアルに準じ、塩基配列を決定し遺伝子型を解析した。

麻疹 IgM 抗体の測定は、検査可能な血液（EDTA 血）18 検体から血漿成分を分離し、ウイルス抗体 EIA 「生研」麻疹 IgM（デンカ生研）を用いて実施した。

2. 麻疹 PA 抗体調査

感染症流行予測調査事業により実施した 2008 年度～2010 年度の抗体保有状況を比較した。

C. 研究結果

1. 麻疹患者の検査

病原体の検出

RT-PCR を実施した 23 名の検体のうち、5

月1日発症、5月7日検体採取された、26歳8ヶ月の会社員のリンパ球から、H遺伝子のみに麻疹遺伝子が検出され、N遺伝子については検出できなかった。

遺伝子型の決定はH遺伝子の塩基配列で解析したところD5型であった(表1、2)。

また、これら検体について、パルボウイルスB19、ヒトヘルペスウイルス6、エンテロウイルスの病原体検査を実施したところ、3検体がパルボウイルスB19が検出された(表1、2)。

検査可能であった血漿18検体については、IgM抗体陽性5検体、判定保留1検体、陰性12検体であった。IgM抗体陽性の5検体の詳細は、1例がIgM抗体指数6.196でパルボウイルスB19検出者、他の4名はIgM抗体指数1.148~2.483の低抗体価であり、このうち1名はパルボウイルスB19が検出されている(表3、4)。

2. 麻疹PA抗体調査

2008年度~2010年度の抗体保有率に大きな変化はみられず、10-14歳群、15-19歳群で抗体を保有していないものがみられる(表5)。

D. 考察

2010年麻疹の流行は極めて小規模になってきていると考えられた。このことは、2006年以降の大流行による抗体の獲得とともに、ワクチン接種率の向上が影響しているものと考えられる。

しかしながら、10-14歳群、15-19歳群で抗体を保有していないものがみられることから、今後もさらなるワクチン接種の重要性を伝えるとともに、実施に向けての具体的な対応が必要であると考えられた。

今回の調査において、検査結果の判断の難しさが表面化してきた。今後、千葉県においては、検査結果による届け出取り下げ等の問題が残される。

これらのことを明瞭に解決するために、病原体検出のための適切な時期の検体採取、医師への適切な情報の提供を行い、臨床、行政、検査が共有した積極的なシステムの構築が必要であると考えられた。

千葉県は、保健所職員の麻疹担当者会議の実施、「千葉県麻しん対応マニュアルの一部改正について」、「麻しん検査診断に伴う検体の取り扱い等について」等で、疑い事例でも検体の搬入および検査、ペア血清採取の協力等を提案している。

2012年の「麻疹排除」に向けて前進していると考ええる。

E. 結論

麻疹排除に向けての取り組みは、ワクチン接種率の向上とともに、患者の早期発見、早期診断、より精度の高い検査が重要である。このためにも、適切な検体の採取や、行政対応は必須であり、臨床、行政、検査の連携が重要になってきている。

F. 健康危機情報

特になし。

G. 研究発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

麻疹検査成績

症例	年齢	性別	発症日	採取日	臨床診断名	検体*	ワクチン	遺伝子結果
1	1y2m	M	4/26	5/2	麻疹	T	2010/3/30	—
2	38y	M	4/29	5/6	修飾麻疹	T	不明	—
3	26y8m	F	5/1	5/7	麻疹	BL、U	なし	+(D5)
4	11y3m	M	5/15	5/15	麻疹疑い	BL	2000/5/13	—
5	23y1m	F	5/22	5/24	麻疹	BL、T、U	有	—
6	1y7m	F	6/16	6/18	麻疹肺炎疑い	BL、T	2010/2/6	—
7	1y7m	F	7/1	7/5	麻疹疑い	BL、T	2009/12/11	—
8	7y	M	7/1	7/7	麻疹	BL、U	有	パルボB19
9	1y6m	F	6/29	7/5	麻疹	BL	有	—
				7/12		T		—
10	1y7m	M	7/8	7/12	麻疹疑い	BL	有	—
11	1y	M	8/5	8/10	麻疹	BL、T	なし	—

* 検体、BL:血液、T:咽頭ぬぐい液、U:尿

麻疹検査成績

症例	年齢	性別	発症日	採取日	臨床診断名	検体*	ワクチン	遺伝子結果
12	15y8m B19	M	9/16	9/17	修飾麻疹	BL、T	有	パルボ
13	16y	M	9/26	9/30	麻疹疑い	BL、T	1996/2	—
14	7y B19	F	?	9/30	麻疹疑い	BL、T、U	2009/4/28	パルボ
15	26y4m	M	10/5	10/7	麻疹疑い	BL、T、U	不明	—
16	5y1m	F	10/5	10/7	麻疹疑い	T、U	2006/10/25	—
17	18y	F	10/9	10/13	麻疹疑い	BL、T、U	2009/4/4	—
18	21y	F	10/24	10/26	麻疹疑い	BL	不明	—
19	85y	F	11/20	12/10	麻疹	BL、T、U	不明	—
20	8y7m	M	12/14	12/14	修飾麻疹疑い	BL、T	2003/6/16 2009/1/9	—
21	6y7m	M	?	12/15	修飾麻疹疑い	BL、T	2003/7/15 2008/5/8	—
22	9y	M	12/13	12/21	麻疹	BL、T	2007/5/24	—

麻疹検査成績

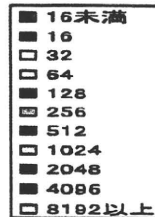
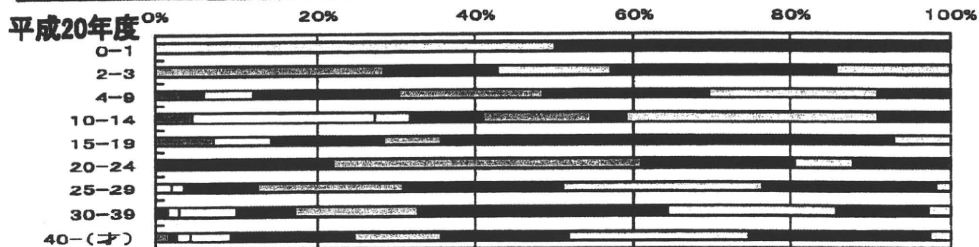
症例	年齢	採取日(病日)	ワクチン	遺伝子結果	IgM抗体指数
1	1y2m	5/2 (7)	2010/3/30	—	NT
2	38y	5/6 (8)	不明	—	NT
3	26y8m	5/7 (7)	なし	+(D5)	1.163
4	11y3m	5/15(1)	2000/5/13	—	0.212
5	23y1m	5/24(3)	有	—	0.286
6	1y7m	6/18(3)	2010/2/6	—	0.522
7	1y7m	7/5(5)	2009/12/11	—	NT
8	7y	7/7(7)	有	パルボB19	1.755
9	1y6m	7/5(7)	有	—	NT
10	1y7m	7/12(5)	有	—	0.241
11	1y	8/10(6)	なし	—	0.347

麻疹検査成績

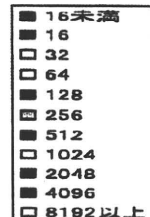
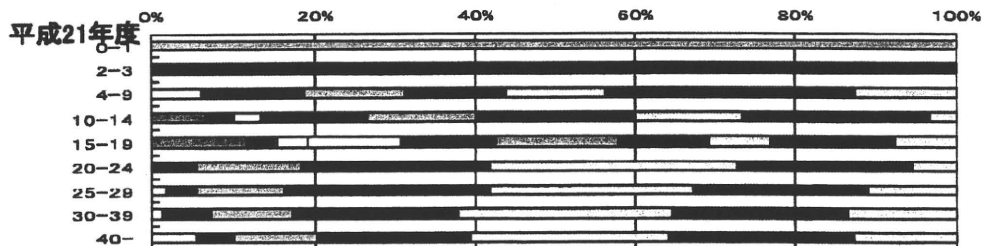
症例	年齢	採取日(病日)	ワクチン	遺伝子結果	IgM抗体指数
12	15y8m	9/17(2)	有	パルボB19	6.196
13	16y	9/30(5)	1996/2	—	0.261
14	7y	9/30(?)	2009/4/28	パルボB19	0.445
15	26y4m	10/7(3)	不明	—	2.438
16	5y1m	10/7(3)	2006/10/25	—	NT
17	18y	10/13(5)	2009/4/4	—	1.498
18	21y	10/26(3)	不明	—	0.229
19	85y	12/10(21)	不明	—	1.824
20	8y7m	12/14(1)	2003/6/16	—	0.314
21	6y7m	12/15(?)	2003/7/15	—	0.376
22	9y	12/21(9)	2007/5/24	—	0.441
23	12y2m	12/28(6)	不明	—	0.449

PA抗体保有状況

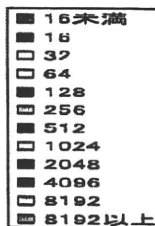
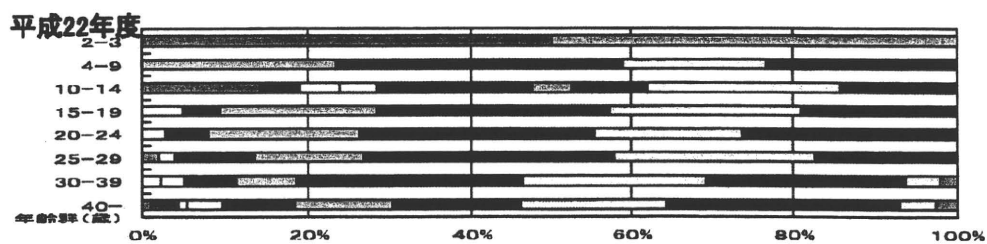
平成20年度



平成21年度



平成22年度



平成 22 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)
「早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究」
分担研究報告書

「麻疹検査技術の標準化、並びに検体輸送体制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

横浜市における麻疹検査診断 (平成 22 年)

研究協力者 七種美和子 横浜市衛生研究所

研究要旨

横浜市では、平成 22 年 4 月から 12 月の期間に麻疹疑い例 53 例を探知し、このうち 43 例について遺伝子検査を実施した。遺伝子検査によって麻疹と確定診断された 1 例は、インドを感染地とする輸入例であった。遺伝子検査陰性/IgM 抗体検査陽性の 12 例のうち、3 例から Human parbovirus B19、4 例から Human herpesvirus 6 が検出された。全例の検査診断を実施するためには、医療機関への周知の徹底とともに、患者の理解を得るための取り組みが必要と考えられた。

A. 研究目的

平成 24 年までに麻疹を排除することを目標とした取り組みの一環として、地方衛生研究所において麻疹の検査診断を実施するための体制が整備されてきた。横浜市では平成 22 年 6 月より麻疹検査診断を本格的に開始し、麻疹が疑われる全ての症例を対象として遺伝子検査を実施することとなった。

本研究では、麻疹排除にむけた検査診断の課題を明らかにすることを目的として、平成 22 年の検査成績について検討した。

B. 研究方法

1. 検査体制

横浜市における麻疹検査体制の概要を図 1 に示した。発症早期の検体採取を可能にするために、麻疹が疑われる患者を診察した段階で医療機関から主管課（健康福祉局健康安全課）に連絡し、主管課は、この連絡を受けて、遺伝子検査への協力を依頼する体制とした。

2. 検査材料

麻疹疑い患者 43 名から採取された咽頭ぬぐい液 (41 検体)、末梢血液 (34 検体)、血清 (2 検体)、尿 (34 検体) を用いた。検体採取にあたっては、患者本人あるいは保護者の同意を得た。

3. 麻疹ウイルス遺伝子検出

病原体検出マニュアル（国立感染症研究所）に基づいて、nested RT-PCR 法で麻疹ウイルスの H および N 遺伝子を検出した。末梢血液検体は、末梢血単核球および血漿について PCR を実施した。遺伝子の増幅が認められた場合は、増幅産物の塩基配列を決定し、系統解析により遺伝子型を同定した。

4. 麻疹 IgM 抗体測定

血漿 (34 検体) および血清 (2 検体) について、ウイルス抗体 EIA「生研」麻疹 IgM（デンカ生研）を使用して IgM 抗体を測定した。

5. Human parbovirus B19 (HPVB19)、Human herpesvirus 6 (HHV6) 遺伝子検出

麻疹ウイルス遺伝子検査陰性で麻疹 IgM 抗体陽性の患者の血漿について、Real-time PCR pathogen detection kit (Filgen) を使用して、リアルタイム PCR 法で各ウイルス遺伝子を検出した。

C. 研究結果

1. 麻疹患者発生状況

2010 年 4 月から 12 月の期間に探知された麻疹疑い症例は 55 例であり、発生届提出時点の病型別内訳は、麻疹（臨床診断例）28 例、麻疹（検査診断例）7 例、修飾麻疹（検査診断例）16 例、発生届未提出 4 例であった。このうち 43 例について遺伝子検査を実施した。遺伝子検査による麻疹確定例は 1 例、麻疹否定例は 42 例であった。

2. 検体採取に要した日数

発疹出現日を 0 日として、検体採取までに要した日数をみると、0 日が 8 例、1 日が 7 例と多く、7 日以内に採取された症例が 86% (37 例) を占めた (図 2)。

3. 麻疹ウイルス遺伝子検出状況

検査を実施した 43 名の 145 検体のうち 1 名の 3 検体 (咽頭ぬぐい液、末梢血単核球、尿) で麻疹 H および N 遺伝子の増幅が認められた。3 検体由来の N 遺伝子増幅産物の塩基配列はすべて一致しており、検出された株 (Mvs/Yokohama. JPN/36. 10) の遺伝子型は D8 であった (図 3)。

4. 麻疹 IgM 抗体測定結果

検査を実施した 36 検体のうち、IgM 陽性は 13 検体、判定保留は 5 検体、陰性は 18 検体であった。陽性検体の抗体指数は、5 未満が 12 検体であり、5 以上は麻疹確定例由来の 1 検体のみであった (抗体指数 6. 61)。

5. 麻疹確定例

遺伝子検査によって、2010 年 9 月に探知された 1 例が麻疹と確定診断された。患者は 5 歳男児。麻疹ワクチン接種歴なし。渡航歴あり (2010 年 6 月 14 日から 9 月 2 日、インド)。9 月 5 日から発熱、上気道炎症状が出現し、いったん解熱したが、10 日に再び発熱し、発疹、コプリック斑、結膜充血が認められたため、臨床症状より麻疹と診

断された。遺伝子検査のための検体は 9 月 10 日に採取された。本症例は、D8 型ウイルスが検出されたことおよび患者の渡航歴から、インドを感染地とする輸入例と判断された。

6. HPVB19、HHV6 検出結果

12 検体について検査を実施し、3 検体から HPVB19、4 検体から HHV6 が検出された。これら 7 症例の概要を表 1 に示した。HPVB19 が検出された患者の年齢は、13 歳、33 歳、39 歳であった。一方、HHV6 が検出された患者はいずれも 1 歳児であった。

7. 主治医の最終判断

遺伝子検査陰性の 42 例中 35 例は麻疹以外と判断され、発生届の取り下げあるいは届出不要となった。残りの 7 例は麻疹と判断され、主な判断要因は、臨床症状 (2 例)、IgM 陽性 (3 例)、ペア血清で IgG 上昇 (2 例) であった。

8. 遺伝子検査を実施できなかった症例

今回の調査で、患者を探知したものの検体が採取されず、検査を実施できなかったのは 10 例あり、このうち 3 例は、届出基準を満たさないことなどにより発生届が取り下げられた。残りの 7 例は、麻疹 (臨床診断例) 3 例、麻疹 (検査診断例) 2 例、修飾麻疹 (検査診断例) 2 例として発生届が受理された。この 7 例には、主管課と医療機関との調整の結果、遺伝子検査は実施しないと判断された症例や、患者の同意は得ていたが、転院のために検体採取が出来なかった症例も含まれていたが、主治医からの連絡が遅れて検体採取のタイミングを逸した症例が 2 例、患者あるいは保護者の同意が得られなかった症例が 1 例あった。

D. 考察

麻疹ウイルスの遺伝子検査では、発症後、出来るだけ早期に検体を採取することが非常に重要である。また、早期の診断の確定はその後の迅速な対応にもつながることから、沖縄県等、いくつかの自治体では、麻疹症例を疑いの段階で探知し、検査を実施する体制が整備されている。横浜市におい

ても、麻疹が疑われる患者を診察した段階で医療機関から連絡を受け、その時点で遺伝子検査への協力を依頼する体制とした。平成22年は、86%の症例（43例中37例）で発疹出現後7日以内に検体が採取されており、この体制で、発症後比較的早期の対応が可能と考えられた。

遺伝子検査で麻疹と確定診断された1例は、遺伝子解析によってインドを感染地とする輸入例と判明した。麻疹患者発生数の減少に伴い、輸入例の監視の重要性は今後さらに高まるものと推察される。

今回の調査では、12例で遺伝子検査とIgM抗体検査の結果が乖離し、遺伝子検査陰性／抗体検査陽性であった。このうち3例からHPVB19、4例からHHV6が検出された。麻疹IgM抗体は、HPVB19、HHV6、デングウイルスなどの麻疹以外のウイルス感染によっても陽性となる場合があることが指摘されており、今回のケースもこれに該当するものと考えられた。今後は、遺伝子検査実施例の増加に伴い、このような遺伝子検査と抗体検査の結果の乖離例が増加することが予想される。症例の情報を蓄積し、医療機関に提供することによって、麻疹の正確な診断の一助となると考えられる。

遺伝子検査陰性の結果を踏まえて、42例中35例は麻疹以外と判断されたが、7例は、臨床症状や、民間検査機関での麻疹IgM、IgG抗体検査結果等から麻疹と判断された。医療機関に確認したところ、7例のIgM抗

体指数は1.26から2.43と低値であった。IgM抗体検査は、その症例が麻疹か否かを判断する上で重要な材料の一つである。しかし、上述したように、麻疹以外の発疹性ウイルス疾患に罹患した場合にも陽性となることがあり、特に、抗体指数が低値での陽性の場合には、1～2週間後に再度検査を行うか、他の検査を試みることが求められておられる。今後は、このことを医療機関に十分に周知する必要がある。

今回、遺伝子検査を実施できなかった症例の中には、探知が遅れて検体採取のタイミングを逸した症例や、患者あるいは保護者の同意が得られなかった症例が含まれていた。全例の検査診断を実施するためには、医療機関への周知の徹底とともに、患者の理解を得るための取り組みが必要と考えられる。

E. 健康危機情報

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

図1. 横浜市の麻疹検査体制
(探知～検体搬入まで)

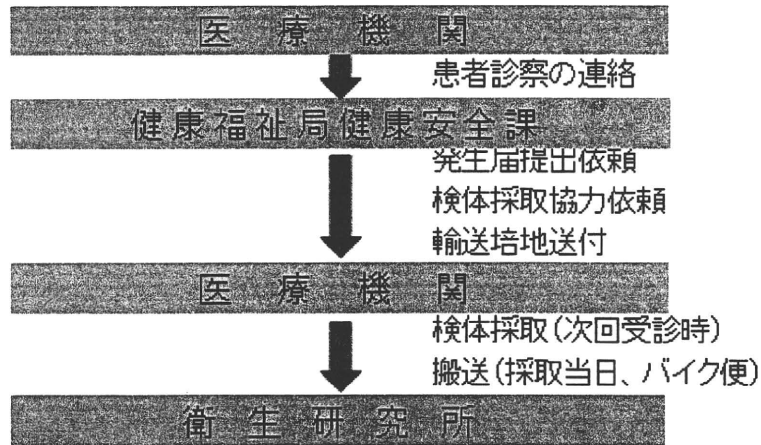


図2. 検体採取までに要した日数
(発疹出現日を0日として)

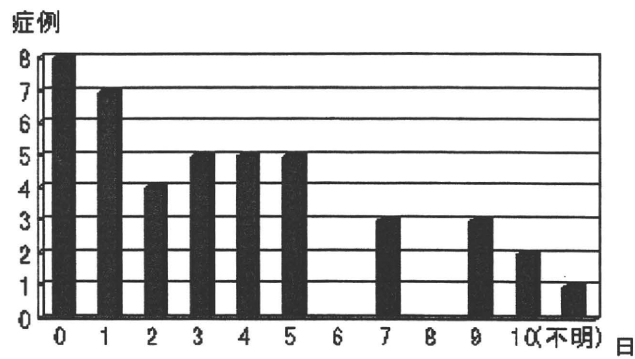


図3. N遺伝子の分子系統樹

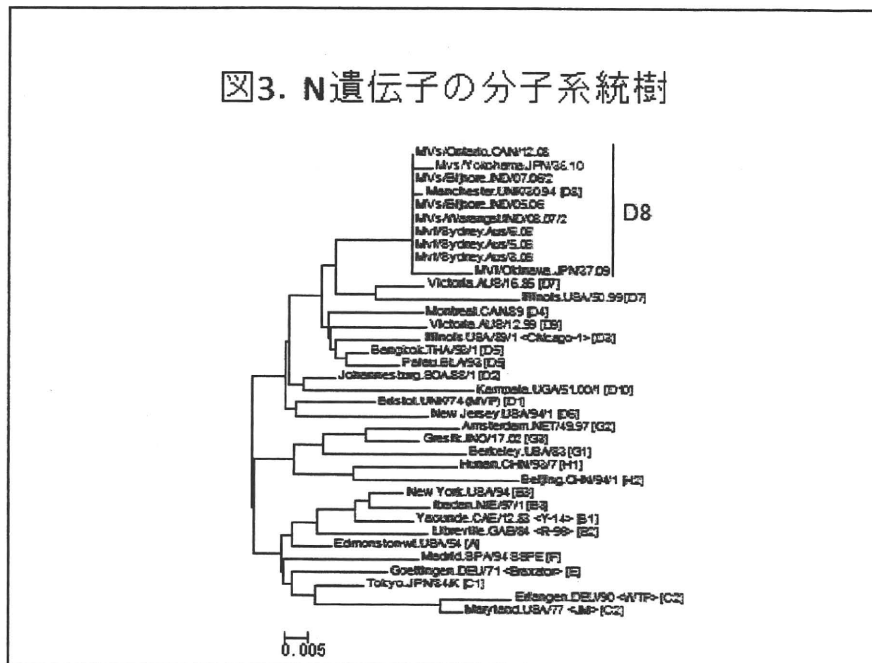


表1. HPV B19およびHHV6陽性症例

検出ウイルス	年齢	性別	臨床症状
HPVB19	13歳	女	発疹、カタル症状
HPVB19	33歳	女	発熱、発疹
HPVB19	39歳	女	発熱、発疹
HHV6	1歳1カ月	女	発熱、発疹、カタル症状
HHV6	1歳2カ月	男	発熱、発疹
HHV6	1歳2カ月	女	発熱、発疹
HHV6	1歳5カ月	女	発熱、発疹、カタル症状

平成 22 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）

「早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究」

分担研究報告書

「麻疹検査技術の標準化、並びに検体輸送体制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

研究報告書

北陸地区における麻疹ウイルス検査状況と麻疹検体輸送培地の検討

研究協力者 岩井雅恵 富山県衛生研究所

研究要旨

平成 22 年度の北陸地区における麻疹患者の報告数は、3 県で計 8 例と少なかった。麻疹検査診断の精度向上のため、PCR 検査と IgM 抗体検査の相関性を調査した。両検査でも判定が困難な症例があり、急性期と回復期での IgM 及び IgG 抗体価の比較が、検査診断に有用であった。

検体輸送培地（生理食塩水とブイヨン、BD ユニバーサルバイラルトランスポート）と凍結融解または輸送時の温度（4℃または 28℃）の、麻疹ウイルス検出率に及ぼす影響を調べたところ、PCR 検査では輸送培地の違いによるウイルス検出率に差は見られなかったが、生理食塩水を用いた場合には、2 回以上の凍結融解を行うとウイルス生存率が他の培地を用いた場合の 10 分の 1 に低下した。

A. 研究目的

麻疹症例の確認検査体制を整備するために、2008 年より全国で 10 か所の地区レファレンスセンターが設置されている。北陸地区では石川県健康保健センターが務めてきたが、今年度から富山県衛生研究所が引き継いだ。

今年度の北陸地区レファレンスセンターの活動としては、麻疹検査普及パンフレット、麻疹 IgG 検査、麻疹検査実績表の国への報告等に関して、地区内地衛研の意見の収集と還元を行っている。また、PCR

法、リアルタイム PCR 法等の検査方法等に関する地衛研からの問い合わせへの回答、麻疹検査試薬の配布を通じて、麻疹検査の円滑な実施に努めている。

本研究では、北陸地区の麻疹検査状況を把握するため、北陸地区の地方衛生研究所へのアンケート及び聞き取り調査を行った。また、麻疹検査診断の精度向上のため、麻疹疑い症例において、血清学的診断法と PCR 法を実施し、両方法の結果の相関性を調査した。さらに、検体輸送用培地の検討として、ブイヨン、生理食塩水、BD ユ

ニバーサルバイラルトランスポート (BVT) を用いた際の PCR 検査及びウイルス分離検査の感度、輸送時の温度の影響について検討した。

B. 研究方法

1. 北陸地区の麻疹検査状況

調査期間：平成 22 年 1 月～12 月

調査対象：石川県保健環境センター、福井県衛生環境研究センター、富山県衛生研究所の計 3 か所

方法：検査症例数及び検査数についてアンケート調査、聞き取りを行った。

2. 麻疹 PCR 検査済検体の IgM 抗体調査：PCR 検査と IgM 抗体検査の結果の相関性に関する調査

調査期間：平成 22 年 4 月～平成 23 年 1 月。

調査対象：富山県衛生研究所において麻疹 PCR 検査を行った 5 症例の血漿。

方法：ウイルス抗体 EIA「生研」麻疹 IgM を用いて、麻疹 IgM 抗体指数を求め、医療機関（民間検査センター）における IgM 抗体検査での EIA 価と比較した。

3. 検体輸送用培地の検討：

検体輸送培地の凍結融解または輸送時の温度の、麻疹ウイルス検査への影響を調べるため、麻疹ウイルス豊島株を 3 種類の輸送培地（生理食塩水、ブイオン、BD ユニバーサルバイラルトランスポート（日本ベクトン・ディッキンソン）（BVT））中にそれぞれ $10^{1.75} \sim 10^2 \text{TCID}_{50}/25 \mu\text{L}$ 、 $10^{5.5} \sim 10^{5.75} \text{TCID}_{50}/25 \mu\text{L}$ となるように加え、4℃、28℃下における 2 日、7 日、

14 日後のウイルス量をリアルタイム PCR 法及びマイクロプレート法により定量し、ウイルス生存率を計算した。また、-80℃での凍結と水浴での融解を 1～3 回繰り返した場合のウイルス量についても定量した。-80℃での凍結期間は、融解 1 回目までは 1 週間、融解 2 回目及び 3 回目は 3 時間である。融解後は速やかに凍結した。

ブイオンの組成は、肉エキス、ペプトン、塩化ナトリウム、リン酸一水素カリウムである。BVT の組成は、ハンクス緩衝塩類、ウシ血清アルブミン、L-システイン、ゼラチン、ショ糖、L-グルタミン、HEPES 緩衝液、バンコマイシン、アンフォテリシン B、コリスチン、フェノールレッドである（各成分の濃度は不明）。

培養細胞は、麻疹ウイルス用に Vero/hSLAM 細胞を、ポリオウイルス用に RD-18S 細胞を用いた。

C. 研究結果及び考察

1. 北陸地区の麻疹検査状況

2012 年 1 月から 12 月までの北陸地区の 3 県における麻疹患者報告数は、石川県が 0 人、福井県が 8 人、富山県が 0 人であった。

麻疹 PCR 検査症例数は、石川県は不明であるが、福井県は 0 症例、富山県は 5 症例であった。石川県と富山県における麻疹 PCR 検査は、すべて陰性であった。

2. 麻疹 PCR 検査済検体の IgM 抗体調査

（PCR 検査と IgM 抗体検査の結果の相関性に関する調査）

表 1 に平成 22 年度の富山県における麻

疹疑い例の検査結果を示す。6 症例（検体数：咽頭拭い液 6、尿 3、末梢血単核球 5、血漿 6）について検査を行ったところ、麻疹 H 遺伝子及び N 遺伝子の PCR 検査結果は、すべて陰性であった。

医療機関（民間検査会社）が麻疹 IgM 検査を実施した症例 No.2、3、4、6 のうち、No.2、3、6 は、麻疹 IgM 陽性または判定保留と判定されたが、いずれも IgM EIA 価が 2 未満と低値であった。症例 No.2 は 3 ヶ月前に麻疹ワクチンの接種歴があった。症例 No.4 は、第 7 病日で IgM EIA 価 1.76 と陽性であったが、第 14 病日、第 21 病日で陰性となり、また、IgG EIA 価がそれぞれ 15.9、24.2、22.0 と値の変動が小さかったこと、さらに第 7 病日と第 14 病日の麻疹 PCR 検査が陰性であったことから、麻疹の診断は否定された。

このように、PCR 検査と IgM 検査の両検査でも判定が困難な症例があり、急性期と回復期での IgM 及び IgG 抗体価の上昇を確かめることが検査診断に役立った。また、発症早期の適切な時期での検体採取が重要であると考えられる。

3. 検体輸送用培地の検討：

検体輸送培地の凍結融解または輸送時の温度の、麻疹ウイルス検査への影響

図 1 に輸送培地別、保存温度別の麻疹ウイルス量の変化を示す。

麻疹ウイルスは -80°C で 1 週間凍結後、1 回の融解でウイルス分離検査での生存率が 30~50%に低下したが、リアルタイム PCR では凍結融解を 3 回繰り返しても 30~70%であった。ウイルス分離検査では、1 回凍結融解を行った場合の麻疹ウイルス生存率は、1 週間 4°C 保存した場合とほ

ぼ同等であった。

リアルタイム PCR の場合、検体輸送用培地による麻疹ウイルスの生存率に差はみられなかったが、ウイルス分離の場合、凍結融解を 2 回以上行くと生理食塩水での生存率（約 3%）が、ブイオン及び BVT（約 30%）より低下した。

4. BVT の細胞障害性について

図 2 に 24well プレート中の培養細胞に維持培地 1mL を入れ、BVT $100\mu\text{L}$ を加えた場合と加えない場合の 3 日後の位相差像を示す。Vero/hSLAM 細胞と B95a 細胞において、BVT を含む維持培地では変性が認められた。また、麻疹ウイルスの増殖量は、BVT を 20%含む維持培地中では、BVT を含まない培地に比べて約 100 分の 1 減少した（図 3）。BVT 添加により細胞が変性した場合、その細胞を回収し、新しい細胞に再度接種する必要があることが考えられる。

D. 健康危険情報

なし

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

滝澤剛則、岩井雅恵：北陸地区麻疹・風疹レファレンスセンター報告。地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部微生物部会。福井市、2011 年 3 月

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

表 1. 富山県における麻疹疑い例の検査結果（平成 22 年度）

症例 No.	年齢	性別	ワクチン 接種歴	医療機関での 血清学的検査(EIA価)		衛研での検査結果		
				麻疹IgM	麻疹IgG	PCR*		麻疹IgM (抗体指数)
						麻疹	その他	
1	1才	女	有(1回)	NT	NT	-	HHV-6 (咽頭拭い液)	+ (2.30)
2	1才	男	有(1回)	±(1.06)	+(4.1)	-	-	±(0.85)
3	27才	男	不明	-(0.44)	+(13.2)	-	風疹(咽頭拭い 液、尿、血漿)	- (0.38)
4	55才	男	なし	第7病日	+(15.9)	-	NT	+(1.42)
				第14病日	+(24.2)	-	-	-(0.46)
				第21病日	+(22.0)	NT	NT	NT
5	6才	男	有(2回)	NT	NT	-	-	-(0.27)
6	4才	男	有(1回)	+(1.24)	+(43.9)	-	ライノ、(HHV-7) (咽頭拭い液)	NT

*PCR の検体は、咽頭拭い液、血漿、末梢血単核球、尿。ただし、症例 No.1 と No.5 は咽頭拭い液、血漿、末梢血単核球のみ。症例 No.6 は咽頭拭い液のみ。

NT, 検査せず。+ 陽性、± 判定保留、- 陰性。

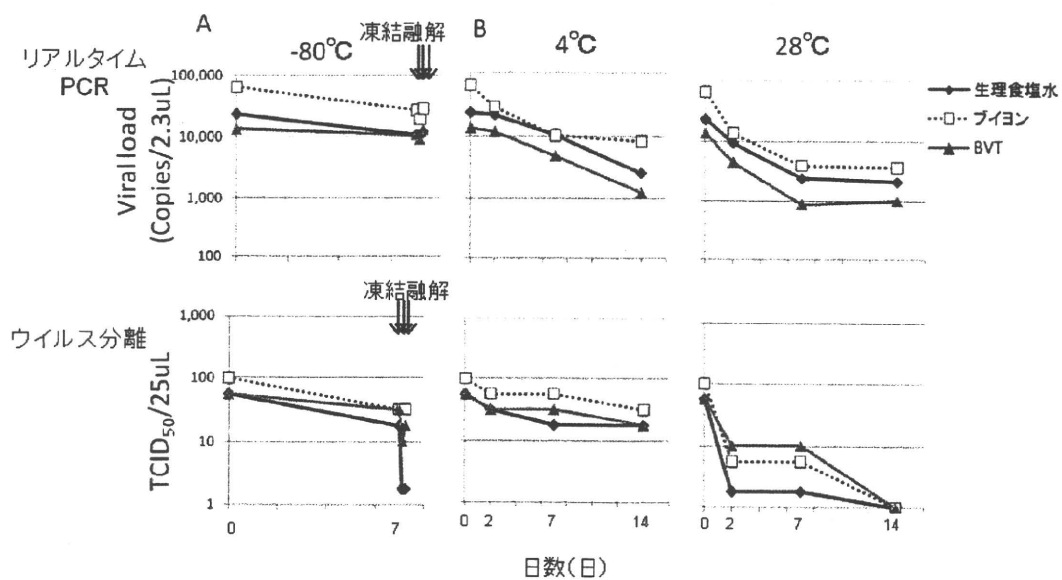


図 1. 輸送培地別、保存温度別の麻疹ウイルス量の変化. A : -80°Cの凍結と融解を 1～3 回繰り返した場合、B : 4°C、または 28°C下におけるウイルス量

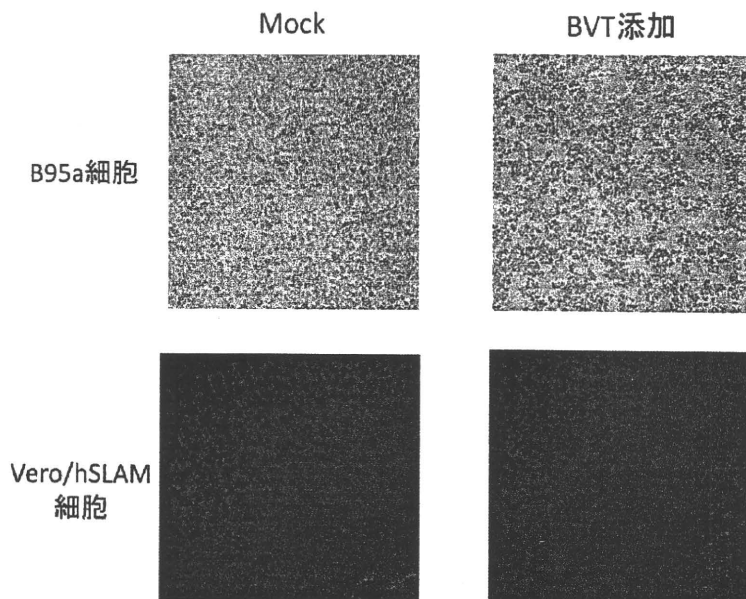


図 2. 24well プレートの培養細胞に培養液（維持培地）1mL を入れ、BVT100 μ L を加えた場合と加えない場合の 3 日後の位相差像。

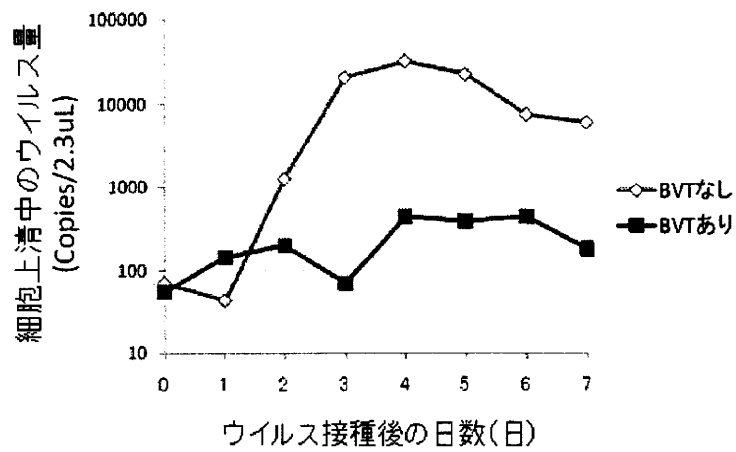


図 3. 麻疹ウイルス豊島株の増殖曲線。24well プレートの Vero/hSLAM 細胞に維持培地 1mL に対して BVT200 μ L を加えた場合と加えない場合（維持培地のみ）の細胞上清中の麻疹ウイルス（豊島株）量を測定した。ウイルス量はリアルタイム PCR 法（Akiyama ら）により定量した。