

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

ウイルス検査による輸入麻疹と関連症例の探知経験及び2010年愛知県における麻疹の把握状況

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

研究要旨 わが国からの麻疹排除実現に不可欠な患者早期発見を可能とするサーベイランス体制強化の一環として、以下の3点の活動を通じて地方衛生研究所における麻疹実験室診断実施率の向上をはかった。①輸入麻疹疑い及び関連患者からの実験室診断を実施。②東海地区レファレンスセンターとしてブロック地研におけるリアルタイムPCR及び遺伝子型別体制セットアップを促進した。③麻しん全数把握事業等愛知県における麻疹患者サーベイランスの報告状況を解析した。

A. 研究目的 ワクチン予防可能疾患 (VPD) のうちポリオの次のターゲットとされ日本の属するWHO西太平洋地域 (WPRO) では排除達成目標年が2012年に迫っている麻疹について、わが国からの排除実現に不可欠な患者早期発見を可能とするサーベイランス体制強化の一環として、以下の3点の活動を通じて地方衛生研究所における麻疹実験室診断実施率の向上をはかった。①輸入麻疹疑い及び関連患者からの実験室診断を実施し、保健所等自治体衛生行政担当者の実施する疫学調査に科学的根拠を提供した。②東海地区レファレンスセンターとして、ブロック内5地研におけるリアルタイムPCR及び遺伝子型別体制セットアップを促進した。③愛知県及び県内4市により平成19年2月より実施している麻しん患者調査事業（旧麻しん全数把握事業）や感染症発生動向調査に基づいて報告された愛知県における麻疹患者サーベイランス状況を解析した。

B. 研究方法

①麻疹ウイルスの検出及び遺伝子型別を、病原体検出マニュアルや平成19-21年度厚生労働科研清水班駒瀬小班において検討した方法を活用して実施した。②感染研により行われた麻疹IgM (ELISA) 抗体検査 proficiency testに参加するとともに、東海地区4地衛研に麻疹ウイルス遺伝子型別に必要な試薬を配布した。③愛知県衛生研究所内にある愛知県感染症情報センターに寄せられた麻しん全数把握事業（現麻しん患者調査事業）及び感染症発生動向調査への報告結果を、予防接種歴や検査室診断の実施状況等に関して解析した。

（倫理面への配慮）本研究で用いる臨床検体及び患者情報は、「疫学研究における倫理指針」に基づき、材料提供者および家族の個人の尊厳及び人権の尊重、個人情報保護に配慮して実施する。症例の分析においては、個々の症例が特定できないよう配慮して行う。

C. 研究結果

①2010年の輸入麻疹3例及び関連集団発生（2事例）に関連する試験結果概要を表1にまとめた。集団発生については、病原微生物検出情報への報告2報も参照いただきたい。

特記事項として、発疹が明らかでない発症初期に採取され4週間冷蔵保存されていた血清からの麻疹ウイルス (MeV) 遺伝子増幅と遺伝子型別が、輸入麻疹の家族内感染のみならず、医療機関外来にて接点のあった面識のない患者間での感染を裏付ける科学的根拠を提供できた（表2）。

②TaqManプローブ法によるリアルタイムRT-PCR検査は、現行のnested-double RT-PCR法に比べて手順が若干簡略化できるが、2010年に搬入された臨床検体を用いて、感度を比較した所リアルタイムRT-PCRの感度はsingleとnested-doubleの中間にあった。

③2009（平成21）及び2008年における麻疹患者報告数、2007年全数報告数、参考に2006年の定点報告数を表3に示す。なお、麻しん患者調査事業では1指定都市・3中核市を含む県内より報告を受けた翌開庁日中には当所ウェブページへの掲載・更新するという対応を4年以上続けている。今般の集団発生においては独自の保健所を設置する自治体間の迅速な情報交換に役立ったと自負している。

2010年は、①に報告した輸入麻疹を発端とする集団発生（うち1件は1月末現在未終息）2事例の影響で、2008年に比べ麻疹患者報告数が顕著に減少した2009年と同程度の32例報告があった。内訳をみると1歳以上で予防接種歴のない者の割合は減少しているものの、接種歴無し若しくは不明の感受性者の発症が例目立った。また2008年1月以降麻しん発生届には、診断方法として病原体検出、血清IgM抗体検出若しくはペア血清での抗体検出等が明記されたことをうけ、検査室診断結果を付した報告が2008年以降過半数を占め、2009年には7割に達していたが地衛研への検査依頼葉少なかった。2010年には①の影響か、過半数の症例より検体搬入があり、麻疹発生地域でも流行している伝染性紅斑の鑑別診断も経験した（表1）。

D. 考察

- ①
- ②麻疹ウイルス遺伝子検出の現行法nested double

RT-PCR法は鋭敏であるが、手技が煩雑で全工程に8時間程度を要する。麻疹発生時に迅速な検査対応をはかるには、現行法と同程度の感度を維持しつつ、より簡便・短時間に結果を返すことを可能とする検査法の導入が必要である。21年度東海地区にプライマー・プローブセットを配備したリアルタイムRT-PCRプロトコルを用いた場合の臨床検体からの検出感度をnested double RT-PCR法と比較したところ、single PCRとnested doubleのほぼ中間となる1/10程度であった。現時点ではnested double 法との置き換えはできないが、集団発生等患者確認が急がれる場合には、活用が期待される。

③愛知県における麻疹発生報告状況の変化をみると、定点→全数報告体制への移行は、。病原体確認若しくは血清診断結果の付された報告の割合は、集団発生が頻発した2007年には、民間衛生検査所における検査用試薬需給逼迫等の影響もあり11%と低かったが、2008年は50%を超え、2009年は71%と順調に増大している。報告された検査結果の大部分は血清IgM抗体検出若しくはペア血清抗体価上昇でありPCR（2008年2件、2009年0件）やウイルス分離（2008年1件）は少なかった。当所あるいは名古屋市衛研への検査依頼は、残念ながら未だ少なく、今後は他県と同様輸入麻疹発生にも対応できる分子疫学の有用性啓発や検体収集その他医療機関及び保健所との連携を含め、さらなる体制強化が必要である。

E. 結 論

①輸入麻疹および関連事例検索に対するウイルス遺伝子型別が有用であることを実地で示す機会を得た。1例目への対応以後、行政からの検体搬入が顕著に増加した。②東海地区地衛研への試薬配布を行った。三重県からもD9輸入麻疹の報告がなされている。③愛知県における麻疹発生報告状況において、2008年1月に行われた全数報告への移行は、15歳以上の麻疹患者把握精度の向上をもたらし、2009年には検査室診断の付された報告が7割を占めた。さらに2010年には輸入麻疹と関連症例への分子疫学結果還元が転機となり県内医療機関から当所及び名古屋市衛生研究所への依頼が増加した。特に名古屋市においては、平成22年度の届出3例全てから、PCR用検体が名古屋市衛研に持ち込まれている。

G. 研究発表など

1. 論文等発表

安井善宏、伊藤雅、小林慎一、山下照夫、藤浦明、皆川洋子、柴田陽子、水野周久、土屋啓三、榑原和貴子、長野友、片岡泉、犬塚君雄：愛知県内で検出されたD9型麻疹ウイルス—輸入症例を発端とした感染事例、病原微生物検出情報 31(9)：271-272, 2010.

安井善宏、藤原範子、水谷絵美、安達啓一、伊藤雅、小林慎一、山下照夫、藤浦明、皆川洋子、土屋啓三、榑原和貴子、長野友、片岡泉、犬塚君雄：フィリピンからのD9型輸入麻疹および関連症例の発生—愛知県、病原微生物検出情報 pr3723 2011年1月24日掲載

2. 学会発表等

水谷絵美、安井善宏、伊藤雅、小林慎一、山下照夫、藤浦明、皆川洋子：愛知県における麻疹ウイルス検出状況、平成22年度愛知県公衆衛生研究会、愛知県大府市、2011年1月22日

皆川洋子：平成22年度東海地区麻疹・風疹レファレンスセンター報告、平成22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、福井市、2011年3月4日

3. ウェブページからの情報提供

麻しん患者調査事業における麻しん患者報告状況
http://www.pref.aichi.jp/eiseiken/2f/msl/msl_5.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）

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

参考文献

駒瀬勝啓、皆川洋子、小林慎一、續木雅子、広瀬かおる、山下照夫：麻疹ウイルス実験室診断の向上—検体搬送・保存溶液の検出感度への影響に関する研究及び東海地区麻疹レファレンスセンター活動等について：厚生労働科学研究 新興・再興感染症研究事業 ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討 平成21年度総括・分担研究報告書（研究代表者 清水博之）：131-133, 平成22年3月.

表1 輸入麻疹3例（患者番号10、18、20）及び関連疑い症例の検査概要（2010年愛知県衛生研究所）

番号 ☆	検体受付 月日	診断 年月日	管轄 保健所	性別	診断時 年齢		推定感染経路	実験室診断 (衛研)	実験室診断 (その他)
					(歳)	(月)			
10	7月28日	7月8日	(岡崎)	男	1		国外(発端者)	MeV (D9) IgM陽性	
13	7月28日	7月15日	(岡崎)	女	17		10の家族	MeV (D9) IgM陽性	
14	8月4日	8月6日	衣浦 東部	男	1		医療機関外来	MeV (D9)	
15	9月3日	9月2日	岡崎市	男	33		医療機関外来	MeV陰性 B19V陰性	MeV IgM陽性
(17)	9月13日	麻疹以外	岡崎市	女	12		—	MeV陰性 B19V陽性	B19V抗体陽性
—	10月13日	麻疹以外	岡崎市	男	1		—	MeV陰性 B19V陰性	
19	11月26日	11月25日	半田	女	5		不明	MeV陰性 B19V陰性	
18	11月29日	11月15日	衣浦 東部	男	1		国外	MeV (D9)	
20	11月30日	11月29日	豊田市	女	10		国外(発端者)	MeV (D9)	
21	12月7日	12月7日	岡崎市	男	6		20の家族	MeV (D9)	
23	12月10日	12月10日	岡崎市	男	11	5	小学校	MeV (D9)	
25	12月21日	12月20日	岡崎市	女	11		小学校	MeV (D9)	
26	12月21日	12月20日	岡崎市	男	11		小学校	MeV (D9)	
27	12月21日	12月20日	岡崎市	女	11		小学校	MeV (D9)	
29	12月24日	12月24日	岡崎市	男	6		小学校	MeV (D9)	
—	12月24日	麻疹以外	岡崎市	男	6		(小学校)	MeV P C R 陰性 B19V陽性	
30	12月27日	12月27日	岡崎市	男	27		医療機関外来	MeV (D9)	
33	12月28日	12月29日	岡崎市	男	17		家族	MeV (D9)	

☆：麻疹患者調査事業http://www.pref.aichi.jp/eiseiken/2f/msl/msl_6.html報告の番号

表2 ◎PCR検査と血清抗体検査の相互補完性

報告番号☆	10	13	13	14	14	20
検体採取 病日	発疹出現後 2日	発熱当日 (発疹出現 3日前)	発熱後5日 発疹出現後 2日	発疹出現後 4日	発疹出現後 8日	発熱後2日 (発疹出現 前)
MeV PCR	陽性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性
抗MeV IgM 抗体	陽性	陰性	陽性	陽性	—	陽性

☆：麻疹患者調査事業http://www.pref.aichi.jp/eiseiken/2f/msl/msl_6.html報告の番号

PCRが先行、遺伝子型決定可能。

PCR陰性となった後は、血清IgM若しくはIgG抗体価の有意な上昇により診断。

表3 愛知県における麻疹患者数の把握状況

年	2006 (定点報告)	2007 (愛知県全数 把握事業 2 月1日～12月3 1日)	2008 (全数調査対 象・感染症発 生動向調査・ 県麻疹患者 調査事業 1月1日～)	2009 (感染症発生 動向調査・県 麻疹患者調 査事業)	2010 (感染症発生 動向調査・県 麻疹患者調 査事業)
患者年齢	0～14歳	4か月～82歳	2か月～59歳	6か月～41歳	9か月～42歳
報告数(人)	43	212	198	28	32(他に取 り下げ1)
0～14歳[人](%)	43(100)	89(42)	103(52)	19(68)	23(72)
15歳～[人](%)	0	123(58)	95(48)	9(32)	9(28)
予防接種[人](%)					
済		57(27)	48(24)	14(50)	13(41)*
未		87(41)	86(43)	8(29)	11(34)
不明		68(32)	64(32)	6(21)	8(25)
病原体診断実施 [人](%)		24(11)	104(53)	20(71)	27(84) +取り下げ1
うち衛研に 検体搬入[人](%)		3(1)	3(2)	0(0)	19(59)** +取り下げ1

*2回接種済1名、曝露後1回目接種1名を含む

**32例中6例は名古屋市内より届出、うち3例について名古屋市衛生研究所に検体搬入有。

図1 2010年に愛知県内より届出のあった麻疹患者の受診医療機関(所管保健所別マップ)
(輸入麻疹3例中2例は岡崎市、1例は衣浦東部保健所。関連症例は住所地のほか、休日夜間救急医療センター機能をもつ豊田市内医療機関からも複数届出があった。)

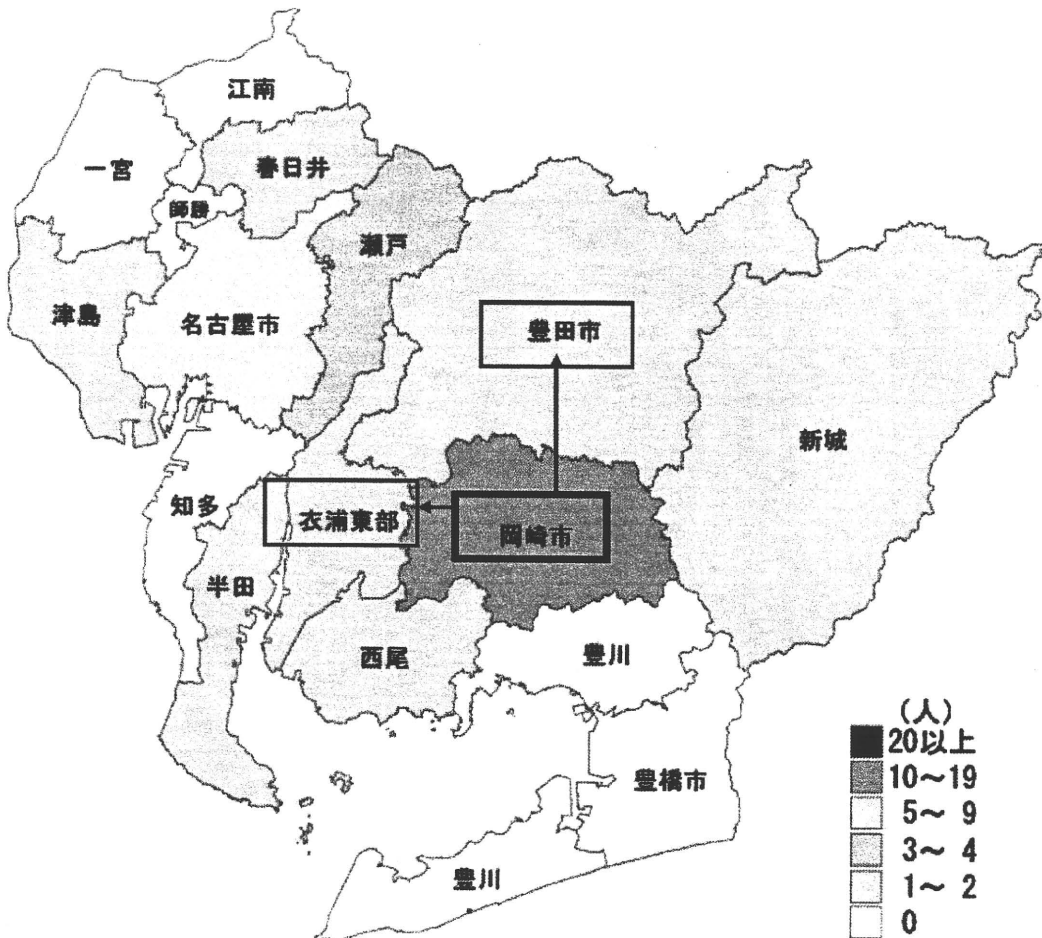
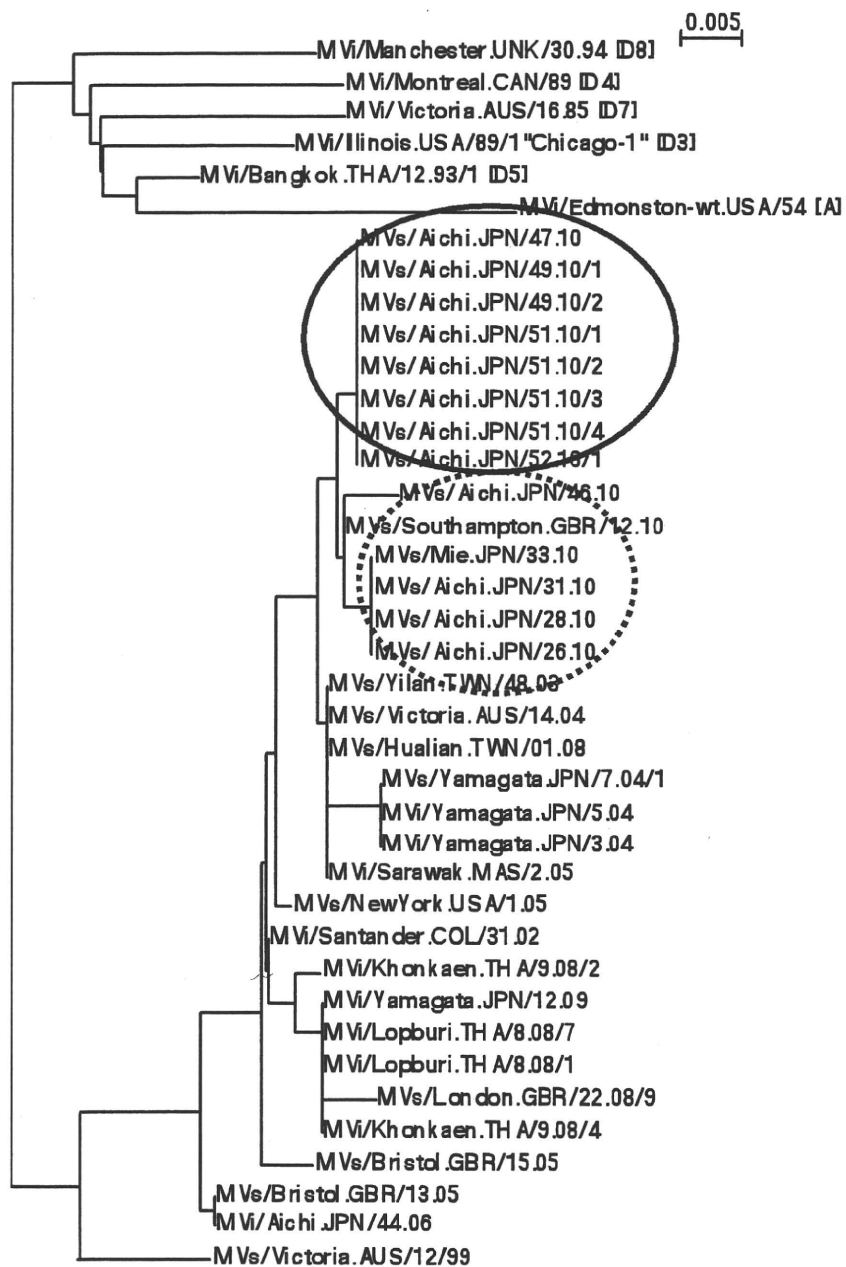


図2 2010年に検出した麻疹ウイルスN遺伝子断片の分子系統樹解析 (全てD9型)
 図中MVs/Aichi. JPN/XX. 10とある配列が当所より報告したもの。
 因みにMVs/Mie. JPN/33. 10は三重県より報告された輸入麻疹 (フィリピン由来)



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

近畿ブロックレファレンス活動と 2010 年の麻疹検査（大阪府）

研究協力者 加瀬哲男
倉田貴子
宮川広実

大阪府立公衆衛生研究所 ウイルス課
大阪府立公衆衛生研究所 ウイルス課
大阪府立公衆衛生研究所 ウイルス課

研究要旨

大阪府立公衆衛生研究所では 2009-2010 年も、近畿ブロックレファレンスセンターとして各地方衛生研究所に麻疹遺伝子検査用試薬一式を配布して、各地方衛生研究所において麻疹の検査が可能となるように支援した。また、各地方衛生研究所で行われた検査結果を集約した結果、近畿ブロック内では麻疹ウイルス野生株は検出されなかった。

2010 年の大阪府における麻疹検査では 2 例にワクチン株に相当する A 型ウイルスを検出したが、その他の検体からはウイルスは検出されなかった。にもかかわらず臨床検査における低値の IgM 価および臨床診断をもって 5 症例は麻疹と届出された。今後はこのような症例における確定診断の基準作成を進めなくてはならないと思われる。

A. 研究目的

近畿ブロックレファレンスセンターとしては、ブロック内地方衛生研究所で麻疹の実験室診断を行うことが可能になるように国立感染症研究所の協力、指示のもとに、物質的、技術的支援を行うこと、さらに全ての麻疹症例について、実験室診断が行われ、麻疹のサーベイランスが正確に行われ、その実態が明らかになるような態勢をつくることを目的としている。

B. 研究方法

1. 近畿ブロックにおける麻疹検査

平成 22 年の近畿ブロック麻疹風しんレファレンスセンターとしての活動としては、同年 12 月に麻疹検査の実施状況についてアンケート調査を行った。なお平成 22 年も麻疹ウイルス検査のための試薬等についてはブ

ック内各地方衛生研究所に配布する。

2. 大阪府立公衆衛生研究所における麻疹検査

大阪府立公衆衛生研究所では 2010 年に病原体検出マニュアルに従い 17 症例 45 検体について RT-PCR を実施した。PCR 陽性例については、ウイルス分離を試みた。また、デンカ生研のウイルス抗体 EIA「生研」麻疹 IgM を用いて麻疹ウイルス IgM 抗体を測定する予定である。

C. 研究結果

1. 近畿ブロックにおける麻疹検査

アンケート調査の結果は表 1、2 に示した。平成 22 年に検出された麻疹ウイルスは大阪府が報告したワクチン株である A 型 2 症例のみであった。

近畿ブロックでは PCR 検査の結果、野生株の検出はされなかったが、その検査症例の中で 13 例は麻疹と届出された。昨年 11 月に厚生労働省課長通知によって麻疹は病原体診断を強く勧められるようになったが、平成 22 年度は病原体診断がされずに届けられた症例は 34 であった。

2. 大阪府立公衆衛生研究所における麻しん検査 (2010年)

大阪府立公衆衛生研究所における麻しん検査の結果を表3に示した。麻しんウイルスが検出できたのは症例11と12であったが、いずれもワクチン株であった。症例1、3、4、5、17はPCR陰性であったが、麻しん届出症例である。その内、1は臨床診断、3、4、5、17は低値のIgM価をもって麻しんと診断されている。

D. 考察

近畿ブロックでは、12カ所の地方衛研で麻しんウイルスを検出するためのRT-PCRが実施された。また、8衛研ではウイルス分離試験も行われた。しかしながら、麻しんウイルスは、大阪で検出されたA型のみであった。これは、麻しんの発生が少なかったことが、最も大きな原因と思われるが、衛生研究所で行われた麻しんウイルス検査の多くが、麻しん疑い症例で類症鑑別を行うことを目的とされたためと思われる。ブロック内全ての地方衛研でいえることであるが、麻しんの確定診断を目的としての検査は少なかったと思われる。特に平成22年11月以降は、疑い症例においても麻しん検査が進んだものと思われる。

当所の検査においても類症鑑別を行うことを目的とした検査が大半を占めたため、野生株のウイルスは検出されなかった。当所で検査した結果、ウイルスの検出は陰性であるが、低値のIgM価および臨床診断をもって5症例は麻しんと届出されている。麻しんウイルスが検出されないことをもって麻しんでないという判定はできないが、実際は

疫学リンクが全くないことなどを勘案するとこれらはすべて麻しん症例とは考えにくい。今後は、このような症例の確定診断を行うための基準作りをしていく必要があると思われる。

2010年は全ての麻しん症例がウイルス検査されたわけではないが、各地衛研の検査結果と、疫学的に2次発生がほとんどなかったことから、近畿ブロック内では、麻しんのactivityは相当低調であったと推察された。

E. 結論

近畿ブロック内の地方衛生研究所で行われた麻しんウイルス検査では大阪府から報告された2例(ワクチン株に相当するA型)を除いて、麻しんウイルスは報告されなかった。これは麻しんウイルスの排除が進んでいることを示唆していると考えられる。

F. 健康危機情報

特になし

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

なし

表1

平成 22 年度近畿地研麻疹ウイルス検査状況(12 月現在)

	被検患者数	RT-PCR (検体数)	陽性数	分離 (検体数)	陽性 数	遺伝子型
滋賀県	2	6	0	6	0	
京都府	1	4	0	4	0	
京都市	9	19	0	0	0	
大阪府	17	45	5	1	1	A(2 症例)
大阪市	16	27	0	27	0	
堺市	11	24	0	24	0	
兵庫県	16	36	0	36	0	
神戸市	10	18	0	18	0	
尼崎市	4	5	0	0	0	
姫路市	0	0	0	0	0	
奈良県	5	8	0	0	0	
和歌山県	1	1	0	1	0	
和歌山市	10	17	0	0	0	
合計	102	210	5	117	1	

表 2

平成 22 年度近畿地研麻しん届出状況(12 月現在)

	被検患者数	検査症例の中で 麻しんと報告され た例数	衛研でウイルス検 査をせずに麻しん と報告された例数
滋賀県	2	0	1
京都府	1	0	5
京都市	9	0	0
大阪府	17	5	6
大阪市	16	6	9
堺市	11	0	3
兵庫県	16	1	5
神戸市	10	0	1
尼崎市	4	1	0
姫路市	0	0	0
奈良県	5	0	2
和歌山県	1	0	2
和歌山市	10	0	0
合計	102	13	34

表3 大阪府立公衆衛生研究所における麻疹検査(2010年)

症例番号	発症日	採取日	性別	年齢	ワクチン歴	検体	IgM	IgG	PCR	分離	Geno-type	症状
1	2010.2.14	2010.2.22	男	18	有 2回 2009年4月	血液	0.48					発熱(38.5°C)・発疹・コプリック斑
2	2010.3.31	2010.4.2	女	42	有(1回)?	咽頭・血液・尿	未検査	未検査	(-)			発熱・発疹・コプリック斑・結膜炎・結膜充血
3	2010.3.29	2010.4.5	女	22	不明	咽頭・血液・尿	2.06	未検査	(-)			発熱(37.4°C)、発疹・結膜充血、その他の症状(腸炎、肝炎、脾腫)
4	2010.4.17	2010.4.30	女	28	有	咽頭・血液・尿	1.4	未検査	(-)			発熱(40°C)、発疹(手の甲のみ)、関節痛、角膜炎、結膜炎、角結膜炎、頭痛、頸部リンパ腫脹
5	2010.4.16	2010.4.19	女	23	有	血液	2.32	未検査	(-)			発熱、発疹、コプリック斑
6	2010.5.21	2010.5.26	男	1	不明	咽頭・血液			(-)			発熱、発疹
7	2010.6.8	2010.6.15	男	21	不明	咽頭・血液・尿	未検査	未検査	(-)			発熱、発疹
8	2010.6.13	2010.6.15	女	29	有	血液・尿	検査中	検査中	(-)			発熱(最高40°Cから)、発疹、全身発疹、耳下腺腫脹
9	2010.6.13	2010.6.24	男	1	無	咽頭・血液・尿	検査中	検査中	(-)			発熱(最高40.5°C)、発疹(顔→全身)、鼻汁、目やに
10	2010.6.25			1	無	咽頭・血液	未検査	未検査	(-)			発熱、コプリック斑、発疹
11	2010.7.4	2010.7.12	女	55	麻疹ワクチン?	咽頭・血液・尿	未検査	未検査	(-)			発熱最高39.5°C、下気道炎咳、発疹、口腔内白斑(コプリック?)、四肢末梢の小さな痲皮化
12	2010.9.5	2010.9.7	男	1y 5m	有(1回 2010.8.26)	咽頭・血液	未検査	未検査	+	+	A	発熱(41°C)、嘔吐、下痢、発疹、腸炎
13	2010.9.26	2010.10.7	女	1y 8m	有(1回 2010.9.21)	咽頭・血液・尿	検査中		+		A	二峰性の発熱、発疹(顔面、体幹から四肢)咽頭、扁桃の発赤、腫脹、頸部リンパ節の腫大
14	2010.9.12	2010.10.28	女	1y 4m	有(1回 2010.7)	咽頭・血液・尿	1.08→1.59	39.5	(-)			発熱、発疹(PLT 8.5万、AST 536、ALT 568)入院中 IgM 上昇により検査依頼(IgM: 10/18 1.08→10/20 1.59)
15	2010.10.31	2010.11.2	男	1y 2m	有(1回 2010.10.18)	血清・髄液(11/2)、鼻腔吸引液・尿(11/8)	11/9 採血 12.68	11/9 採血 49.7	Rhino(鼻腔)			発熱、痲癩、嘔吐・坐位・立位保持困難(発症前は歩行可能)、眼瞼下垂→11/8には改善 麻疹 IgM 11/9 12.68 →11/19 8.23
16	2010.12.21	2010.12.24	男	3y 2m	有(1回 2008.12.8)	咽頭・血液・尿	0.8	検査中	(-)			鼻汁、発疹、発熱、コプリック斑、気管支炎
17	2010.12.17	2011.1.6	女	25	有(1回)	咽頭・血液・尿	1.23	未実施	(-)			発熱(40°C) 発疹、上気道・結膜炎

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

中国・四国ブロック地方衛生研究所における麻疹検査実績について

研究協力者 渡邊宜朗 山口県環境保健センター

研究要旨

2010 年の中国・四国における麻疹発生状況及び疑い例等の検査実績を把握するため中国・四国ブロック各地方衛生研究所の麻疹検査実績を取りまとめたところ、多くの課題や問題点が見出された。

中国・四国においては、人口が少ないこと、環境条件及び交通網の点から、海外からの流入や大規模な集団発生は起こりにくいと考えられるが、WHO の示す麻疹排除の基準達成には未だ達しておらず、地方衛生研究所を中心とした全数検査体制の早急な確立が必要と示唆された。

厚生労働省からの通知や様々な啓発活動により、検査体制は徐々に整備されつつあるが、今後は都道府県医師会及び郡市医師会と保健所等の行政機関が連携を深め、麻疹届出例の確実かつ適切な検体確保及び検査結果、臨床症状等の総合的な判断により最終的な届出の判断がなされるよう努めなければならない。

A. 研究目的

2007 年 12 月 28 日に告示された「麻疹に関する特定感染症予防指針」に基づき、国を主導とし各自治体において予防接種の積極的な勧奨、サーベイランスの強化及び検査体制の確立等がなされてきた。

定点報告から全数報告に切り替わった 2008 年には、11 015 名の麻疹患

者の発生報告があったが、予防接種の第 3 期及び第 4 期開始の効果もあり 2009 年の報告数は 739 名と激減した。そして、2010 年は、患者報告数 457 名と確実に麻疹排除に向かっているといえる。

しかしながら、麻疹排除達成のひとつの指標となる麻疹確定症例が年間人口対 100 万人に 1 人未満という基準

には未だ達していない。

一方、患者の発生数は確実に減少傾向にあるものの、疑い症例を含む全数検査体制への移行については、なされていない自治体も多く、確実な麻疹検査診断ができていない状況にある。

国内から麻疹を排除するためには、まず各自治体単位での排除に向けた取り組みが重要であると考えられるため、今回中国・四国ブロックにおける地方衛生研究所での麻疹検査の実態を把握することにより、今後の検査体制の確立に向けた課題や問題点を抽出し考察することを目的とした。

B. 研究方法

2010年の中国・四国ブロック各地方衛生研究所における麻疹検査実績を把握するとともに、検査結果に基づく発生届の受理状況等を確認することにより、報告例の実際について検討した。

C. 研究結果

全数把握対象疾患に移行した2008年から2010年の中国・四国各県の患者報告数を表1に示す。2010年には373例の報告があったが、2009年には52例そして2010年は18例と減少している。2010年に報告のあった18例について地方衛生研究所での実験室診断による確定例はなく、うち8例は、臨床診断によるものであった。

各地方衛生研究所で実施された検査について、検体種類別に表2にまとめた。中国・四国ブロックでは、39

例の麻疹疑い例があり、咽頭拭い液、尿及び血液等89検体について検査を実施した。結果、全ての検体についてPCRによる遺伝子の検出を行ったが不検出であった。ウイルス分離を行った16検体についても陰性で、IgM抗体検査を実施した5例については、弱陽性を含む陽性が2例、判定保留1例、陰性2例という結果であった。弱陽性の1例及び判定保留1例については、届出はされていたが、PCRの結果等総合的に判断し発生届は取り下げられた。

39例について、発病から検体採取までに要した日数を表3に示す。検体の種類によって異なるが、PCRで遺伝子が検出可能な日数を5病日目までとすると、5病日目までに採取できたのは4割程度であった。また、発症日不明が3例、検体採取日不明が1例あった。

39例について年齢階級別に表4に示す。突発性発疹等の発疹症が好発する0～4歳群は全体の4割を占めているが、20歳以上も3割を超えていた。全てにおいて追跡調査されているわけではないが、30歳以上で3例のパルボウイルスB19をPCRで検出されている。また、1歳児で1例アデノウイルス2型を分離されている。

D. 考察

中国・四国ブロックの2010年の発生動向調査事業における麻疹報告例は、各地方衛生研究所での確定診断例がないことから全ての報告例が民間試験検査機関でのIgM抗体検査結果に基づく届出及び臨床診断による届出で

あったことが明らかになった。確実な検査が実施されていれば、発生届が取り下げられた可能性のあるものも多くあったため、適切な検体の確保及び

斑や突発性発疹等の発疹症との鑑別が困難な場合があるため、適切な時期に検体を確保し、確実にPCR法による診断を行うことやペア血清を用いたIgG抗体検査の併用するなどの検査体制の構築も必要と考える。

発疹等の症状があり、麻疹を否定された検体については、その他の発疹症ウイルスの検査により原因究明をし、確実に麻疹を否定することも必要と考える。

中国・四国ブロックにおいては、麻疹の排除状態に近いところまできていると思われるため、各地方衛生研究所及び保健所が一体となり医療機関等との連携を密にし、疑い症例の適切な検体確保及び検査診断に努めることが必要と考えられた。

発生届の取り下げの判断については、医療機関に委ねられているため、自治体によっては、地方衛生研究所における検査診断結果陰性かつ極めて麻疹の疑いのうすい症例についても発生報告がなされている現状があることから、地方衛生研究所における確定診断が確実に行われ、検査結果が発生届受理に関する判断に反映されることが求められる。

検査の実施ができる体制を各自治体確立することが急務と考えられた。

また、IgM抗体検査のみをもって麻疹の確定診断とすることは、伝染性紅

E. 結論

中国・四国ブロックの地方衛生研究所では、2010年の厚生労働省通知を受け、麻疹の全数検査体制が整備されつつある。疑い症例等含め麻疹検査未実施の機関はなかったことから、検査機能は有するものの、医療機関からの検体の提出数が少ないため、確定診断に至っていないケースが多く見られる。検体の確保については、行政と医療の連携が重要と考えるが、地方衛生研究所の立場からも保健所や県医師会等に検査の重要性を投げかけていかなければならない。

麻疹排除については、各自治体あるいはブロック単位だけでも基準を達成できれば排除宣言が可能になると思われるため、今後も県内関係機関との連携を密にするとともに、中国・四国ブロック内での情報共有及び連携強化に努めることが重要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

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. 年次別中国・四国各県の麻疹発生報告数

年	A県	B県	C県	D県	E県	F県	G県	H県	I県	計
2008	7	4	132	149	20	3	10	43	5	373
2009	2	1	10	23	3	2	5	6	0	52
2010	3	0	3	8	1	0	0	3	0	18

表 2. 検体種類別検査結果

検体種別	検体数	検査結果	検査項目		
			RT-PCR (RealTime PCR)	ウイルス分離	IgM抗体
拭い液 (鼻汁含む)	34	陽性	0	0	—
		陰性	34	7	—
		未実施	0	27	—
尿	26	陽性	0	0	—
		陰性	26	3	—
		未実施	0	23	—
血液	27	陽性	0	0	2
		判定保留	0	0	1
		陰性	27	4	2
		未実施	0	23	22
その他 (糞便)	2	陽性	0	0	—
		陰性	2	2	—
		未実施	0	0	—

表 3. 検体採取に要した日数

検体採取日	検体数
1日目(発症日)	0
2日目	3
3日目	2
4日目	4
5日目	7
6日目	3
7日目以降	16
不明	4
合計	39

表 4. 年齢階級別検査数

年齢(歳)	症例数
0~4	17
5~9	2
10~14	2
15~19	2
20~29	5
30~39	4
40~49	4
50~59	1
60以上	0
不明	2
計	39

「早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究」

「九州ブロックにおける麻疹検査実績について」

研究協力者 石橋哲也、吉富秀亮、田上四郎、世良暢之 福岡県保健環境研究所

分担研究者 駒瀬勝啓 国立感染症研究所

研究要旨

福岡県では平成 22 年に 25 例の麻疹患者が報告されているが、PCR 検査による実験室内確定診断が行われたのは 4 例であり、全て陰性であった。福岡県を除く九州内の麻疹患者報告数は 10 例であった。九州内の地方衛生研究所での検査総数は 31 例であり、ワクチン由来である A 型が 1 例から検出された。九州内の地方衛生研究所では、2012 年の麻疹排除に向けた検査体制が整いつつあった。今後、麻疹排除を実現していくためには、報告患者全てについて PCR 等の実験室内診断を行うこと、検出された麻疹ウイルスの遺伝子型を解析してその動向を把握すること、集団生活をしている小学生～大学生等へのワクチン接種率を上げることなどが重要であることが示唆された。

A 研究目的

世界保健機構（WHO）・西太平洋事務局による 2012 年までの麻疹排除を達成するため、各地方自治体が麻疹ワクチン対策（ワクチン接種率の向上）などを積極的に推進する一方で、各地方衛生研究所は国立感染症研究所（感染研）より提供された麻疹診断マニュアル（第 2 版）に基づいた精度の高い麻疹検査診断を推進していかなければならない。

本研究では、福岡県及び九州内各自治体での麻疹排除に向けた病原体サーベイランスの整備、麻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、麻疹患者に関する解析を実施することを目的とした。そのため、福岡県内で報告された麻疹患者検体について遺伝子検査を行い、麻疹ウイルスの

遺伝子レベルでの解析を行った。また、九州内の各衛生研究所との情報共有と麻疹検査体制の充実を図るために情報交換を行い、九州全体の患者発生状況及び検査状況等の情報を収集し、わが国の取り組み状況等について情報伝達を行ったので、その結果について報告する。

B 研究方法

麻疹患者の週別及び年齢群別報告数は、福岡県感染症情報のデータを用いた。

麻疹ウイルスの遺伝子検査は、平成 22 年に県内医療機関から麻疹患者として報告された中から福岡県保健環境研究所（福岡県保環研）に行政依頼検査で搬入された 4 例および感染症発生動向調査事業でその他の疾患として搬入された 1 例について行った。その内訳は、血液

6 検体 (2 例については各 2 検体ずつ搬入)、咽頭拭い液 4 検体、尿 4 検体の計 14 検体であった。検査は、上記の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 HA 遺伝子を標的とした PCR 及び陽性検体についてはシーケンス解析を実施した。

逆転写反応 (RT) は PrimeScript™ RT reagent Kit (タカラバイオ社製) を用いて、37°C 15 分、85°C 5 秒のインキュベーションにより cDNA 合成を行った。N 遺伝子の PCR は合成した cDNA を鋳型として、PerfectShot® Ex Taq (タカラバイオ社製) を用いて、98°C 10 秒、アニーリング 53°C 30 秒、72°C 1 分を 30 サイクルで行った。Nested PCR は first PCR 産物を鋳型として first PCR と同様に行った。プライマーは、first PCR では pMvGTf1m、pMvGTr1 を使い、nested PCR とシーケンスには pMvGTf2m、pMvGTr2 を用いた。HA 遺伝子の PCR は N 遺伝子の PCR 法と同様に行い、first PCR は cDNA 5 µl を鋳型として、98°C 10 秒、アニーリング 53°C 30 秒、72°C 1 サイクル、nested PCR は first PCR 産物 5 µl を鋳型として、アニーリングの温度を 55°C とした以外は first PCR と同様に行った。プライマーは、first PCR には MHL1 と MHR1、nested PCR には MHL2 と MHR2 を用いた。PCR 産物はアガロースゲル電気泳動で目的とするバンドを確認した後、ダイレクトシーケンス法により N 及び HA 遺伝子の塩基配列を決定、インターネット上に公開されているソフトウェア Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA、<http://www.megasoftware.net/>) を用いて分子系統樹を作成した。

福岡県を除く九州内の各自治体及び各地方衛生研究所における麻疹排除に向けた実施体制については、平成 20 年 7 月 15 日に大分市で

開催された第 61 回地方衛生研究所全国協議会九州支部総会及び 10 月 14 日に佐賀市で開催された第 36 回九州衛生技術協議会におけるウイルス担当者会議で麻疹・風疹レファレンスセンターの活動報告と各自自治体の取り組み状況について調査を行った。

(倫理面への配慮)

本研究においては、行政依頼検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の保護等に十分配慮して実施した。

C 研究結果

感染研・感染症情報センターの報告によると、平成 22 年 12 月末現在、福岡県は神奈川県、東京都、千葉県、愛知県、大阪府、埼玉県について年間麻疹報告数が多い。福岡県の麻疹の患者報告数は、平成 20 年は 677 例であったが、平成 21 年は 25 例、平成 22 年は 25 例と減少し、沈静化している状態である。図 1 に福岡県における麻疹の週別報告数の経年変化を示した。これによると、平成 20 年は 3 週から 17 週にかけて 5 週をピークとした流行が見られたが、その後は散发例のみの報告であった。図 2 に年齢群別麻疹累積報告数の経年変化を示した。これによると、平成 20 年は 0~14 歳で 387 例、高校生、大学生相当の 24 歳までを含めると 568 例と全体の 84% を占めていたが、平成 21 年と平成 22 年は散发事例のみであったため年齢による傾向は読み取れなかった。

図 3 に平成 19~22 年度に福岡県内で発生した麻疹患者から検出された麻疹ウイルス (遺伝子検出のみを含む) 4 例の遺伝子型を示した。分子系統樹解析の結果、平成 19 年に検出された 2 例が D5 型、平成 21 年と 22 年に検出され

た 2 例がワクチン株由来である A 型に分類された。検討株数も少ないため早計には断定できないが、福岡県においても全国と同様平成 21 年以降地域流行株 D5 型による麻疹患者の発生は確認されなかった。平成 21 年の麻疹患者 25 例の内訳は、血清 IgM 抗体の検出等の検査診断が 20 例 (80%)、臨床診断が 5 例 (20%)、また 12 例 (48%) でワクチン接種歴が確認された。平成 22 年の麻疹患者 25 例の内訳は、血清 IgM 抗体の検出等の検査診断が 21 例 (84%)、臨床診断が 4 例 (16%)、またワクチン接種歴が 6 例 (24%) で確認された。診断が難しいといわれる修飾麻疹は 5 例と 10 例それぞれ報告されているが、いずれも検査診断が実施されていた。しかしこれらの確定診断は、平成 21 年は全て、平成 22 年は 21 例が医療機関や民間検査機関等で実施されたもので、福岡県保環研で PCR 等の遺伝子検査を実施したものは 4 例のみであり、麻疹排除に向けた麻疹発生病向を適切に把握する上で今後の課題となった。

平成 22 年に福岡県を除く九州内の自治体で報告された麻疹患者数は、佐賀県 2 例、長崎県 2 例、熊本県 1 例、宮崎県 1 例、鹿児島県 4 例の計 10 例であった。検査診断によるものが 4 例、修飾麻疹が 3 例、臨床診断が 3 例であった。また、ワクチン接種歴は、1 回が 5 例、不明が 5 例であった。平成 22 年の九州内の地方衛生研究所の遺伝子検査状況を表 1 に示した。福岡市保健環境研究所では 2 例 2 検体、北九州環境科学研究所では 1 例 4 検体、佐賀県衛生薬業センターでは 1 例 1 検体、長崎県環境保健研究センターでは 3 例 3 検体、大分県衛生環境研究センターでは 4 例 10 検体、熊本県保健環境科学研究所では 8 例 12 検体、熊本市環境総合研究所では 4 例 4 検体、鹿児島県衛生研究所では 3

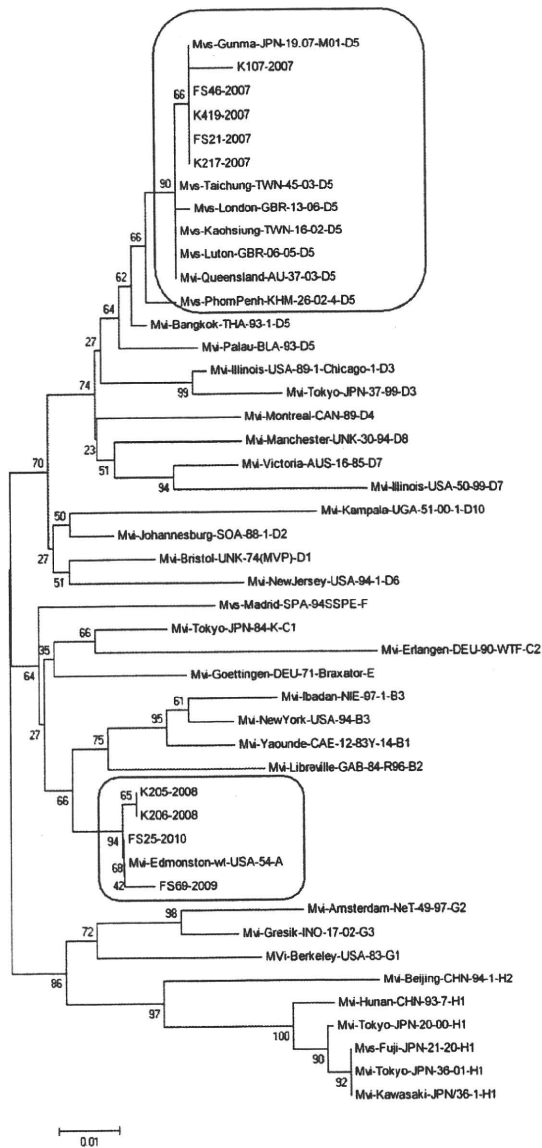
例 3 検体、合計 26 例 39 検体の検査が行われていた。検体は、咽頭拭い液が 27 検体、尿が 8 検体、血液が 4 検体であった。26 例中 6 例で IgM が測定されていたが、その内 4 例で 1.2 以上の値を示していた。PCR 検査の結果は、全て陰性であった。

2012 年の麻疹排除に向けた検査体制の整備は、福岡県、北九州市、佐賀県、長崎県、熊本県、大分県ですで行われていた。その他の自治体も体制整備に向けた取り組みが行われていた。

D 考察

福岡県における麻疹患者発生数は、平成 20 年が 677 例と多くの麻疹患者が報告されたが、平成 21 年は 25 例、平成 22 年は 25 例と沈静化していた。福岡県を含む九州全体でも、平成 20 年が 932 例、平成 21 年は 44 例、平成 22 年は 35 例と 2 年連続して減少していた。これらは全て散発事例であり、地域的な流行などは確認されていない。これは全国的な傾向と一致していた。

平成 22 年に九州内の地方衛生研究所で 53 件について PCR 等による確認検査が行われていたが、結果は、陽性が福岡県で確認された A 型 1 件のみであり他は全て陰性であった。A 型が検出された患者は、シーケンス解析によりワクチン株由来である A 型であることを確認しており、医療機関による調査によってもワクチン接種歴との関連が確認されている。検査検体数が少なく、また、陽性検体数も 1 検体だったために断定はできないが、九州内においても全国的な傾向と同じく地域流行株による麻疹流行は無かったものと推測できる。今後は、各地方衛生研究所の検査体制を充実し、医療機関との連携を密にして報告される麻疹患者



D5



A

図3 N遺伝子の分子系統樹解析