

201123027A

厚生労働省科学研究費補助金

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

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 竹田 誠

平成 24(2012)年 3 月



# 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 2011年、近畿ブロックレファレンス活動と麻疹検査

訂正箇所

研究要旨 8 行目

7 症例（麻疹 PCR 陽性 4 症例，陰性 3 症例） -> 6 症例（麻疹 PCR 陽性 4 症例，陰性 2 症例）

研究結果 23 行目

7 症例（麻疹 PCR 陽性 4 症例，陰性 3 症例） -> 6 症例（麻疹 PCR 陽性 4 症例，陰性 2 症例）

考察 28 行目

7 症例（麻疹 PCR 陽性 4 症例，陰性 3 症例） -> 6 症例（麻疹 PCR 陽性 4 症例，陰性 2 症例）

研究発表 4 行目

2203, 2011 なし -> 2203, 2011

研究発表 6 行目

者発生状況 IASR（病原微生物検出情報） -> 者発生状況 IASR（病原微生物検出情報） Vol. 32

p. 255-257: 2011 年

図 1 下図に差替

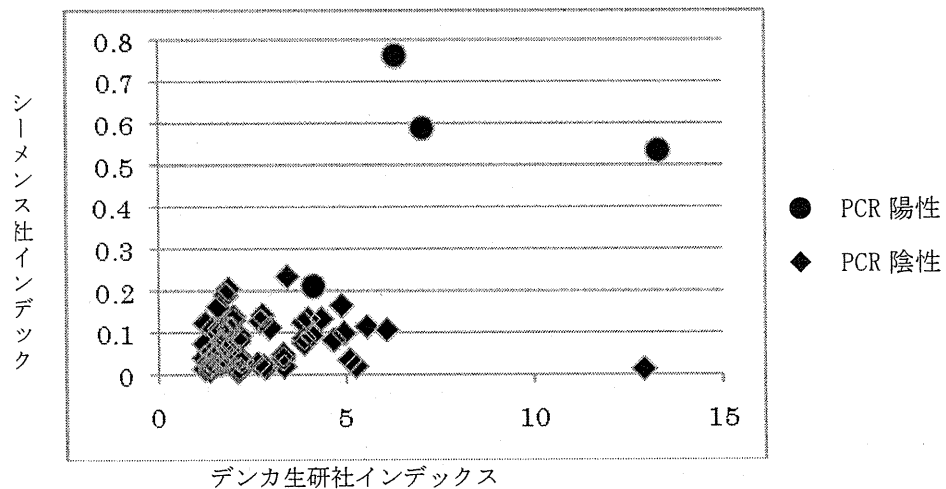


図 1 デンカ生研社とシーメンス社のキットの比較

厚生労働省科学研究費補助金

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

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 竹田 誠

平成 24(2012)年 3 月

## 目次

### I. 総括研究報告

早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究-----	1
竹田 誠(国立感染症研究所 ウイルス第三部)	

### II. 分担研究報告

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-----	17
駒瀬勝啓(国立感染症研究所 ウイルス第三部)	
2011年の北海道における麻疹・風疹について-----	26
長野秀樹(北海道立衛生研究所)ら	
2011年東北・新潟ブロックの麻しんを疑う検査状況-----	34
青木洋子(山形県衛生研究所)	
千葉県の麻疹ウイルス検出の現状と麻疹排除に向けての取り組み-----	38
小川知子ら(千葉県衛生研究所)	
横浜市における麻疹検査診断(平成23年)-----	44
七種美和子(横浜市衛生研究所)ら	
北陸地区における麻疹ウイルスPCR検査、及びIgM ELISA検査の実施状況-----	50
岩持(岩井)雅恵(富山県衛生研究所)ら	
2011年愛知県における麻疹の把握及び2011/2012(冬)の検査診断状況-----	54
皆川洋子(愛知県衛生研究所)ら	
2011年、近畿ブロックレファレンス活動と麻しん検査-----	58
加瀬哲男(大阪府立公衆衛生研究所)ら	
中国四国地区における麻疹流行の把握-----	63
渡邊宜朗(山口県環境保健センター)ら	
九州ブロックにおける麻疹検査実績について-----	68
石橋哲也(福岡県保健環境研究所)ら	
沖縄県における麻疹排除およびサーベイランスシステムの評価(2011)-----	72
平良勝也(沖縄県衛生環境研究所)ら	
麻しん疑い症例のウイルス検査状況 -堺市- -----	77
田中智之ら(堺市衛生研究所)	

麻疹の実験室診断法:血清診断、ウイルス分離、遺伝子診断-----	84
庵原俊昭(国立病院機構三重病院小児科)ら	
麻疹 IgM 抗体の偽陽性に関する研究-----	89
駒瀬勝啓(国立感染症研究所)ら	
全国自治体の麻疹診断における連携強化に関する研究-----	95
小澤邦壽(群馬県衛生環境研究所)ら	
血清麻疹 IgM 測定キットの特異性および感度の検証-----	99
調 恒明(山口県環境保健センター)ら	
発疹性疾患の鑑別実験診断法に関する研究-----	104
森 嘉生(国立感染症研究所ウイルス第三部)	
麻疹ウイルスの流行解析法に関する研究-----	107
木村博一(国立感染症研究所感染症情報センター)ら	
早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究-----	111
柳 雄介(九州大学大学院医学研究院)	
麻疹ウイルスの抗原エピトープの構造解析と効果的なワクチン維持のための研究-----	114
前仲勝実(北海道大学大学院薬学研究院)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧-----	119

# I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金  
平成 23 年度新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業  
総括報告書

早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究

研究代表者

竹田 誠 国立感染症研究所ウイルス第三部

研究分担者

小澤邦壽 群馬県衛生環境研究所  
調 恒明 山口県環境保健センター  
駒瀬勝啓 国立感染症研究所ウイルス第三部  
森 嘉生 国立感染症研究所ウイルス第三部  
木村博一 国立感染症研究所感染症情報センター  
柳 雄介 九州大学大学院医学研究院  
前仲勝実 北海道大学大学院薬学研究院

協力研究者

長野秀樹、駒込理佳、三好正浩、岡野素彦 北海道立衛生研究所  
菊地正幸、佐藤寛子、伊藤はるみ 札幌市衛生研究所  
青木洋子、水田克巳 山形県衛生研究所  
齋藤美香 群馬県衛生環境研究所  
小川知子、堀田千恵美、小倉惇、福島得忍 千葉県衛生研究所  
七種美和子、熊崎真琴、川上千春、宇宿秀三、高井麻美、上原早苗 横浜市衛生研究所  
末永麻由美 横浜市健康福祉局健康安全部  
板持(岩井)雅恵 富山県衛生研究所  
中村雅子 福井県衛生環境研究センター  
谷村陸美 石川県保健環境センター  
皆川洋子、安井善宏、安達啓一、伊藤雅、小林慎一、續木雅子、  
広瀬かおる、廣瀬絵美、藤原範子、平松礼司、山下照夫

	愛知県衛生研究所
加瀬哲男、井澤恭子、倉田貴子	大阪府立公衆衛生研究所
近畿ブロック内地方衛生研究所麻しん担当者	
渡邊宜朗、濱岡修二、岡本(中川)玲子、戸田昌一、富田正章	
	山口県環境保健センター
石橋哲也、吉富秀亮、前田詠里子、世良暢之	
	福岡県保健環境研究所
平良勝也、仁平 稔、岡野 祥、喜屋武向子	
	沖縄県衛生環境研究所
田中智之、内野清子、三好龍也、岡山文香、吉田永祥、沼田富三	
	堺市衛生研究所
庵原俊昭、浅田和豊、菅 秀	国立病院機構三重病院小児科
伊藤正寛	京都市公衆衛生研究所
赤地重宏、大熊和行	三重県保健環境研究所
渡辺正博	すずかこどもクリニック
秋吉京子	神戸市環境保健研究所
岡崎薫	香川小児病院
染谷健二、關 文緒、酒井宏治、田原舞乃、中津祐一郎、藤井薫、 大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、後藤慶子	
	国立感染症研究所ウイルス第三部
竹内史比古、関塚剛史	国立感染症研究所
	病原体ゲノム解析研究センター
加納和彦、野田雅博	国立感染症研究所
	感染症情報センター

## 研究要旨

麻疹は、伝染力と病原性が非常に強い疾患である。世界規模で麻疹を排除する計画が進められている。我が国でも平成 19 年 12 月「麻しんに関する特定感染症予防指針」(以下、特定指針)が告示され、平成 24 年度までに麻しんを排除し、その後排除状態を維持する目標が出された。ワクチン施策の強化など「特定指針」後の取り組みにより、劇的に患者数は減少し、2011 年に世界では大きな麻疹の流行があったにもかかわらず、わが国では前年度同様年間約 450 例程度の症例数に維持された。わが国が、高い免疫保有率に達していることを示して



いる。今年度取り上げた主な研究課題は、(1) 麻疹ウイルスの遺伝子解析(遺伝子型解析)を通じた流行調査研究、(2) 診断技術ならびに診断精度向上のための研究、(3) 流行ルートの効果的な把握法の開発研究、(4) 麻疹ウイルスの分離法の研究や病態解明に関する研究、(5) 抗原性変化の追跡調査、及びワクチン効果を維持するための研究である。地研に送られる臨床検体数は、徐々に増加し、多くの流行経路を的確に捉えることができた。現在のわが国の麻疹症例のほとんどが、外国からの輸入例であることが明らかにされた。一方、顕在化した大きな問題のひとつは、麻疹と診断された症例の中に多数の別疾患(風疹、伝染性紅斑、突発性発疹など)が紛れ込んでいることである。臨床に携わる医師や周辺の関係者に実験室診断の必要性をより強く認識させていかなければならない。また、このような事態が発生する原因のひとつとして、IgM ELISA 法による偽陽性の問題が明らかになった。IgM ELISA 法による偽陽性が起こる原因を解明すること、現状での対応策を考えることが、急務であり、本研究班に来年度課せられた最重要課題のひとつである。基礎的方面においては、麻疹ウイルスの抗原性が単一であることの科学的基盤となるデータを得るとともに、麻疹ウイルスは、今後も大幅な抗原性変化を起こさないこと、現在のワクチンが今後も高い効果を発揮し続けることを科学的に示した。麻疹排除へ向けての今後の最重要課題は、麻疹患者全例の臨床検体を地研へ収集する枠組みを完成させること、実験室診断の精度を高め、医師による確実な診断を助ける枠組みを作ることである。いずれにせよ、ここ4～5年間で、わが国の麻疹対策は、大きく進んだと言える。わが国の麻疹排除の取り組みが、後一步で終わることなく、麻疹排除が完全に達成されるよう、本研究班の最終年度(来年度)の活動をさらに強化させることを計画したい。

## A. 研究目的

麻疹は、世界中で流行が見られる感染症としては、現在、最も致死率の高い感染症である。先進国としては、わが国の対策は特に遅れていたが、平成19年(2007年)12月麻疹に関する「特定指針」が告示され、平成24年度までに国内から麻疹を排除し、その後排除状態を維持するという目標が出された。(2006年から実施の始まった)2回接種に加えて、2008年からの5年間は、10代を対象とした第3期、第4期接種が実施されることになり、また、麻疹症例数は定点把握から、全数把握へと強化された。平成22年(2010年)11月に、麻疹疑いの患者の検体を可能な限り確保し、RT-PCR法による麻疹診断を推進するように「麻疹の検査診断について」の通知が出され、全国の地方衛生研究所(以下、地研)にて、より一層の検査診断が推進されるようになった。本研究は、「麻疹排除」という目標達成に必要な調査研究、基礎研究等を通じて、わが国からの麻疹排除の達成を促進、そして実現させることを目的としている。

## B. 研究方法

### (1)麻疹ウイルスの遺伝子解析(遺伝子型解析)を通じた流行調査研究

平成22年(2010年)11月の「麻疹の検査診断について」の通知に記載されているように、各自治体に、保健所や地研と連携して、麻疹患者の、発症早期の検体(咽頭拭い液、血液、尿)を可能な限り確保し、RT-PCR法を用いた遺伝子検査を実施するよう依頼する。国立感染症研究所(以下、感染研)(研究代表者:竹田誠、研究分担者:駒瀬勝啓)が、RT-PCR法検査に必

要な試験プロトコール、陽性コントロール、必要に応じて試験キットを用意して、各地研や全国の10カ所の麻疹風疹レファレンスセンター(以下、レファレンスセンター)(本研究班協力研究者)へ配布する。10カ所のレファレンスセンター(本研究班協力研究者)は、それぞれの地域のデータを取りまとめ、実験結果の評価や解析を実施する。RT-PCR法は、麻疹ウイルスの検出(診断)のみを行うのではなく、麻疹ウイルスが検出された場合には、遺伝子型解析のために必要な領域の塩基配列を決定し、わが国ならびに世界の流行株との比較解析を行うことによって、流行経路を解明することに努める。感染研(研究代表者:竹田誠、研究分担者:駒瀬勝啓)では、遺伝子型解析のためのプロトコールを準備するとともに、世界の流行株についての情報収集に努め、それらの情報をレファレンスセンター(本研究班協力研究者)、分担研究者、ならびにその他の地研の担当者と共有するように努める。また、レファレンスセンターと感染研は、必要に応じてその他の地研への技術支援や試験法の精度管理を実施する。ウイルスの遺伝子型解析だけで、流行経路を把握することは困難であるので、各自治体との連携を強化して、疫学情報の収集に努める。

### (2)診断技術ならびに診断精度向上のための研究

麻疹排除の達成のためには、偽陽性や偽陰性率の非常に低い検査診断技術を確立するとともに、全国の地研において、同等の精度にて試験が実施できる体制を作ることが必要である。現在、実施している nested RT-PCR法の改良を行うとともに、リアルタイムPCR法を用いたより簡便かつ診断ミスの起こりにくい試験法を開発

する。また、血清診断法(麻疹 IgM ELISA)とウイルス検出法の偽陽性や偽陰性率の比較解析を行い、感染時期による適切な診断法を明らかにする。また、市販されている IgM 検出キット(麻疹 IgM ELISA)の性能比較を行うとともに、その結果をもとに、わが国の現状に合った実験室診断法を確立する。レファレンスセンターでは、IgM ELISA 法と RT-PCR 法との比較解析を実施し、実験結果を総合的に判断するためのデータを収集する。感染研は、WHO とも連携して、レファレンスセンターで実施される IgM ELISA 法の精度管理を担当し、世界のデータとの比較を行うとともに、WHO への情報提供を担当する。

### (3)流行ルートの効果的な把握法の開発研究

全国で検出・分離された麻疹ウイルスの H 遺伝子や N 遺伝子の網羅解析を行い、流行に関連したウイルスの塩基及びアミノ酸変異を明らかにして、感染拡大経路を把握するとともに、麻疹の流行抑制対策の策定に役立てる。

### (4)麻疹ウイルスの分離法の研究や病態解明に関する研究

麻疹ウイルス分離用細胞(Vero/hSLAM 細胞)の改良や、麻疹ウイルスの受容体との相互作用を、マイクロアレイ、蛋白質化学、発現クローニング、動物実験などを駆使して明らかにすることを通じて、ウイルス分離技術の向上や病態解明に役立て、流行株の性質調査に利用する。

### (5)抗原性変化の追跡調査、及びワクチン効果を維持するための研究。

ワクチンが効果を持つことは、ウイルス側の抗原性に変化が起こらないということが前提であり、

将来的には、ワクチンの改良が必要になる可能性がある。主たる麻疹ウイルス抗原である H 蛋白質ならびに麻疹ウイルスの近縁ウイルス(犬ジステンパーウイルス)抗原の立体構造解析を通じて、効果的なワクチン維持の機構を明らかにする。将来的なワクチン改良の必要性の有無について科学的結論を出す。具体的には、H 蛋白質の立体構造を解明するとともに、麻疹ウイルス抗原(H 蛋白質)特異的モノクローナル抗体のパネルを作成し、流行株の抗原性変化を中和活性を指標に解析する。組換えウイルス技術を用いて抗原性変化を引き起こしたアミノ酸変異を同定し、流行株の今後の抗原性変化を予測する。H 蛋白質と受容体あるいは中和抗体との相互作用解析、結晶化、構造解析を進め、ワクチンによる麻疹ウイルスに対する高い中和活性効果の分子基盤を明らかにする。

疫学的フォロー、戦略策定等は主に「H21-新興一般-002(研究代表者:岡部信彦)」で実施されており、そこと連携と取りつつ最終目標に向かう。

## C. 研究結果

(1)平成 22 年(2010 年)11 月の「麻しんの検査診断について」の通知以降、地研に送られる臨床検体数が、増加し、実験室診断がより強化されていることが明らかになった。

(2)麻疹患者報告数は、2008 年約 11,000 例、2009 年約 740 例、2010 年約 450 例と大幅に減少し、2011 年も約 450 例と麻疹患者数が非常に少ない状態が維持されていることが明らかになった。また、一部の地域では、すでに麻疹排

除状態であることが強く示唆された。

(3) 輸入症例やワクチンの副反応例を RT-PCR 検査にて的確に捉えることができ、現在、わが国で検出される麻疹ウイルスが、ほとんど外国からの輸入株であることが明らかになった。わが国が現在、排除に近い状況であることを強く示唆している。

(4) 主に民間の検査センターで実施される麻疹診断のための IgM ELISA 検査において、相当数の偽陽性例が生じていることが明らかになった。偽陽性を生じる、わが国における主な感染症は、突発性発疹や伝染性紅斑であることが明らかになった。市販されている IgM ELISA 検査キットの比較解析の結果、デンカ生研のキットの方が、麻疹患者を検出する感度が、やや優れているものの、偽陽性となる頻度が、シーメンス社のキットより明らかに高いことが示された。

(5) 臨床診断された麻疹症例の中に、多くの風疹症例の紛れ込みがあることが示された。検査診断の重要性がクローズアップされた。風疹の検査診断のための RT-PCR 法の改良が行われ、これまで検出が困難であった遺伝子型のウイルスも検出できるようになった。

(6) 全国の地方衛生研究所のウイルス検査の結果、わが国の麻疹の発生状況の詳細が判明する一方、麻疹の診断根拠および届出に付随する新たな問題点も浮き彫りにされた。届出や地研へのウイルス検査の依頼について、各医療機関により区々であり、検体採取の遅れが明らかとなった。麻疹に対する理解を詳細かつ明瞭にしていくに、今後も全国の地研が、全例に

ウイルス検査を行う取り組みを続けることが必要であると考えられた。

(7) 流行株の H 遺伝子を用いた新しい系統解析法を開発し、各流行株の分岐時期を示しデータを得た。

(8) 麻疹ウイルスや関連ウイルスの受容体結合タンパク質ならびに受容体との複合体の立体構造解明に成功し、麻疹ウイルスの抗原性が単一であることの科学的基盤となるデータを得るとともに、そのデータを基盤にして、麻疹ウイルスの単一血清型を決定すると考えられる主要エピトープを同定した。結果、麻疹ウイルスは、今後も大幅な抗原性変化を起こさないこと、現在のワクチンが今後も高い効果を発揮し続けることを科学的に証明した。

以下に、各研究分担者、研究協力者の結果報告の要点を示す。

(1) 2011 年の北海道における麻疹患者報告数は 8 例で、遺伝子診断において麻疹と確定された症例は 2 例(遺伝子型 D8)であった。北海道立衛生研究所での検査数は 40 例で、麻疹の他、パルボウイルス、風疹ウイルス、E 型肝炎ウイルス、ヘルペスウイルス 1 型が遺伝子検査で検出された。札幌市衛生研究所での検査数は 13 例で、すべての試料において麻疹ウイルス RNA は検出されなかった。また、麻疹病原体サーベイランスにおいて風疹(ウイルスの遺伝子型 1E)の集団感染事例を探知した。

(2) 2011 年、東北・新潟ブロックにおける検査数は 154 検体であり、麻しんを検出したのは、6



検体(ワクチン由来 2 検体含む)であった。一方、麻しん以外のウイルスが検出されたのは 28 検体で、HHV-6、HHV-7、パルボウイルス、風疹ウイルスなどが検出された。

(3)「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が、現在の従来の日本における流行型が検出されず、海外関連の遺伝子型が複数の地域で散見される状況においては、ワクチン接種率の向上がより重要であると考える。「麻疹排除」については、麻疹ウイルスに対する知識やワクチン接種の必要性の啓蒙、情報提供は必須であり、行政、臨床、検査の連携がより重要になってきている時期と考える。

(4)横浜市では、平成 23 年、麻疹疑い例 73 例、このうち 59 例について遺伝子検査を実施した。2 例が麻疹と確定診断され、遺伝子解析および疫学調査の結果、フィリピンからの輸入例およびその関連症例であることが判明した。麻疹ウイルス遺伝子不検出の 57 例から風疹ウイルス(8 例)、ヒトパルボウイルス B19 型(7 例)、ヒトヘルペスウイルス 6 型(3 例)、ヒトヘルペスウイルス 7 型(1 例)の遺伝子が検出された。遺伝子検査と IgM 抗体検査の結果の乖離(遺伝子不検出/抗体検査陽性)は 11 例に認められた。

(5)平成 23 年の北陸地区における麻疹患者の報告数は、3 県で計 1 例と少なかった。麻疹 PCR 検査を行った症例のうち、8 症例 9 件の血漿について IgM ELISA 検査を行ったところ、デンカ生研のキットでは陽性 5 件、判定保留 2 件、陰性 2 件であったが、シーメンスのキットでは 9

件すべて陰性であった。また、麻疹 PCR 検査は 8 症例(9 件)すべて陰性であった。

(6)麻疹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、(1)麻疹疑い患者の実験室診断、伝染性紅斑病原ウイルスに加えて風疹ウイルス検査の導入、東海地区レファレンスセンターとしてブロック内地研への情報及び試薬提供を実施した(愛知県衛生研究所)。岐阜県と愛知県で相次いで同じ遺伝子型(D8)を検出した。(2)検査診断の精度向上に関する研究発表を行った。(3)愛知県麻しん調査事業等愛知県における患者発生、及び予防接種啓発に関する情報提供を行った。

(7)近畿ブロックでは、各地方衛生研究所における麻しん検査の一層強化に努めた。226 症例の麻しん検査結果を集約した結果、疫学リンクしない 4 株の麻しんウイルス野生株が検出された。ウイルスの遺伝子型からいずれもが海外由来株と推察された。184 症例の保存血清について IgM 検査を実施した。デンカ生研のキットを用いた場合、陽性と判定される症例が 68 症例(麻しん PCR 陽性 4 症例、陰性 64 症例)、このうち 66 症例についてシーメンス社のキットを用いて陽性と判定される症例は 7 症例(麻しん PCR 陽性 4 症例、陰性 3 症例)であった。PCR 検査の結果とデンカ生研のキットで測定した IgM インデックス、およびデンカ生研とシーメンス社の IgM 測定の結果が乖離している結果となった。

(8)中国四国地域における各地方衛生研究所は検査体制の確立に取り組んできた。過去 4 年間の報告数は確実に減少しているが、2011

年は広島県における輸入例からの小規模な感染拡大により報告数の増加がみられた。広島、岡山、鳥取、香川において報告のされたものは、渡航歴や疫学的リンクがあることが確認されている症例が多く、それらを除けば中四国においては排除状態に近い状態と考えられた。

(9)福岡県(福岡市、北九州市を除く)では平成23年に28例の麻疹患者が報告されたが、PCR検査による確定診断の結果全て陰性であった。福岡県を除く九州内の麻疹患者報告数は15例であった。九州内の地方衛生研究所への検体搬入数は94例であり、遺伝子検査の結果、全ての検体から麻疹ウイルス遺伝子は検出されなかった。

(10)2011年、沖縄県から麻疹を排除するため麻疹全数サーベイランスを実施した。医療機関から報告された38例の麻疹疑い例について、RT-PCR及び血清学的検査により実験室診断を実施した結果、全症例で麻疹が否定された。WHOが示した指標をもとに本県の麻疹全数サーベイランスシステムの質を検証した結果、本県のサーベイランスシステムの質は高く、患者情報を正確に把握していると考えられ、麻疹排除状態が維持されていることが示唆された。

(11)麻疹疑い患者34症例から得られた咽頭ぬぐい液34検体、鼻汁1検体、血液32検体、尿32検体、合計99検体について、麻疹ウイルスのみならず他のウイルスの関与について検索した。その結果、風疹ウイルス、パルボウイルス、RSウイルス、Mumpsウイルスを含む何らかのウイルスが検出され、検出頻度は麻疹疑い症例の59%に至った。麻疹疑い症例の丁寧な

解析が、麻疹排除に繋がるものとする。

(12)MRワクチン2回接種の効果を検証するために2種の調査を行った。麻疹ウイルス遺伝子型D9児が入院した病棟に勤務するスタッフ18人の患児入院前後の検討の結果、NT抗体32倍は麻疹感染予防閾値と推察された。MRワクチン4期接種世代である専門学校生82人を対象に、麻疹ワクチン(MCV)、風疹ワクチン(RCV)接種と抗体価との関係を検討した結果、MRワクチン4期接種は、麻疹風疹流行抑制に効果的な対策であることが示された。

(13)麻疹IgM抗体検査は、しばしば疑陽性例が報告されている。非特異的な麻疹IgM抗体が検出される事が多いと報告されている伝染性紅斑患者血清中の麻疹IgM抗体を2つのキットで測定した。「生研」キットでは7例中5例から麻疹IgM抗体が検出されたが、「エンザイグノスト」キットではすべて陰性であった。次に、麻疹感染初期の血清を両キットで測定し、感度を比較したところ、「生研」キットの感度は85.1%、「エンザイグノスト」の感度は70.2%であった。それぞれのキットに特徴があることがわかり、IgM抗体測定による麻疹診断は慎重に行う必要があると考えられた。

(14)麻疹排除を確認するためには、麻疹疑い症例の全例にウイルス検査診断を行うことが求められている。全国の地方衛生研究所のウイルス検査の結果、本邦の麻疹の発生状況の詳細が判明したと同時に、麻疹の診断根拠および届出に付随する新たな問題点も浮上してきていることから、ウイルス検査と麻疹に対する医療機関の態勢について、現状とその問題点を調

査した。その結果、届出や衛生環境研究所へのウイルス検査の依頼について、各医療機関により区別であり、検体採取の遅れが明らかとなった。ウイルス感染症の診断は、麻疹ウイルスの証明イコール確定診断である。麻疹に対する理解を詳細かつ明瞭にしていくには、今後も全国の地方衛生研究所が、全例にウイルス検査を行う取り組みを続けることが必要である。

(15)民間試験検査機関で使用されている麻疹特異的 IgM 抗体検査キット(以下キットとする)による陽性例の中には、伝染性紅斑や突発性発疹等、麻疹以外の発疹性疾患によって高い IgM 値を示す例が含まれていることが確認されている。中国・四国ブロックの各地衛研から分与を受けた血漿(血清)を用いて、市販されている2社の検査キットについて特異性、感度を検討した結果、現在広く使用されている検査キットの改良が必要と考えられた。

(16)風疹は2011年に比較的大きな地方流行が発生し、複数の地方衛生研究所で検査が行われた麻疹疑い症例の検体から多くの風疹症例が存在することが報告された。2010-2011年に日本で検出された風疹ウイルスの多くは、これまで日本で報告のなかった遺伝子型のウイルスであった。現在、病原体検出マニュアルに掲載されている風疹遺伝子検査用 RT-PCR 法2種が、これらのウイルスの検出に適しているかを再検討し、さらに質の高い風疹遺伝子検査体制の整備のため、高感度なプライマーセットの設定およびポジティブコントロールの作製を実施した。

(17)分子疫学的手法における麻疹ウイルス

(MeV)の感染経路をさらに効果的かつ詳細に把握するため、最尤法(ML法)によるD3, D5, D9, H1遺伝子型のMeVの時系列系統解析に関する研究を行った。ML法において、MeVの推定分岐年と進化速度(置換数/サイト/年)の2つのスケールを有するH遺伝子の分子系統樹の作成が可能になった。その結果、D3, D5, D9およびH1型のMeVは1905年頃に分岐、さらに進化速度は、他の呼吸器ウイルスに比し、比較的遅いことが推測された。

(18)麻疹の病態に関して、(1)麻疹ウイルスF蛋白質の変異により融合能が亢進すると、SLAMやnectin4のような特異的な受容体がなくともF蛋白質が活性化され、細胞融合を起こしてウイルスが伝播しうること、(2)麻疹ウイルスはインフラマゾームを抑制することにより、宿主細胞のIL-1 betaの産生を低下させて自然免疫に対抗すること、(3)発症に麻疹ウイルスの持続感染が疑われている耳硬化症で、麻疹ウイルス感染の証拠はないことを明らかにした。

(19)主たる麻疹ウイルス抗原であるH蛋白質および、その受容体SLAM(CD150)との複合体の立体構造を決定した結果、H蛋白質表面の広い範囲が糖鎖に覆われ、露出している部分のほとんどがSLAM結合領域となっていることがわかった。これにより、糖鎖部分には抗体はできにくく、露出部位にのみ抗体が産生されるため、多くの抗体がSLAM結合を阻害するものと考えられた。このモデルの検証を進めるため、複数のH蛋白質特異的な中和抗体について、H蛋白質との結合解析と中和活性との関連を検討した。他方、H蛋白質の解析を通じて、麻疹ウイルスの近縁にあたるイヌジステンパーウイ

ルス(CDV) の感染宿主拡大の可能性について考察した。

#### D. 考察

わが国においても麻疹対策が強化され、2008年以降、順調に患者数が減少した。2010年は、年間わずか450例の報告しかなく、2011年においても、欧州やアジアで大きな麻疹の流行があったにもかかわらず、わが国では2010年と同数程度の症例数に維持された。わが国が、麻疹の流行を阻止できる高い免疫保有率に達していることを証明している。しかも、本研究班の活動を通じて、麻疹と報告された症例の中の多数のものが、偽陽性例、すなわち麻疹ではない症例であることが明らかになった。しかも、疫学的にも多くの症例が外国からの輸入麻疹症例であることが示されており、検出されたウイルスの遺伝子型の結果からも、現在わが国で発生する麻疹症例のほとんどのものが、外国からの流入ウイルス株によるものであることが、はっきりと示された。それらのデータからは、わが国が、あるいはすでに麻疹排除状態(土着の株によるウイルス伝播のない状態)にある可能性まで示唆している。ただ、実際に「土着の株によるウイルス伝播のない」ことを証明するためには、麻疹症例のほぼ全例からウイルス株を検出し、遺伝子型の解析を行うか、あるいは、麻疹症例の全例について疫学情報を的確に収集し、流行経路を解明する必要がある。臨床検体の収集率を上昇させることが、来年度の重要な課題のひとつである。

顕在化した大きな問題のひとつは、麻疹と診断された症例の中に多数の別疾患(風疹、伝染性紅斑、突発性発疹など)が紛れ込んでいるこ

とである。臨床に携わる医師、その医師とともに勤務する看護師やその他の医療従事者にそのことを十分に理解させ、実験室診断の必要性をより強く認識させていかなければならない。また、このような(結果として)誤診と思われるケースが発生する原因のひとつとして、IgM ELISA 法による偽陽性の問題があることが明らかになった。現在のように麻疹患者が減少し、医師が麻疹患者を診察する機会が極端に減少すると、診断はより困難になり、その上で、IgM ELISA 法による偽陽性を偽陽性に見極めることは、大変に難しいと思われる。IgM ELISA 法による偽陽性が起こる原因を解明すること、現状での対応策を考えることが、急務であり、本研究班に来年度課せられた最重要課題のひとつである。

麻疹ウイルスは、インフルエンザウイルスのように素早く抗原性変異を起こすことはなく、だからこそ、50年前の株を使ったワクチンが今でも非常に高い効果を発揮している。本研究班では、この現象を科学的に解明し、今後の麻疹ワクチン政策に役立てることをひとつの目標としていた。そのことについては、十分な解答が得られたと考えている。今後も、麻疹ウイルスは、大きな抗原性変異を起こすことは無く、現在のワクチンを用いることにより、今後も確実に麻疹排除計画を推進していけると考えられる。

克服すべき課題は残されているが、ここ4~5年間で、わが国の麻疹対策は、大きく進んだと言える。ワクチン対策の強化による患者数の減少もさることながら、全国の地研、感染研、保健所、自治体、医療機関などが連携し、ウイルス検出を通じて流行を正確に調査し、多くの流行ルートを解明した。欧州やアジア諸国が麻疹の再流行を経験する中で、次々と輸入される麻疹ウイルスの流行を確実に阻止することに成功し



ている。今後、麻疹対策の経験が、広く多くの感染症対策に生かされると思われる。後一步で終わることなく、麻疹排除がわが国で完全に達成されるよう、本研究班の最終年度の活動をさらに強化させることを計画したい。

#### E. 結論

わが国の麻疹患者数は、年間 1000 例を大幅に下回った。地研においては、流行経路の解明に繋がる数々の優れた実験結果が出され、わが国には、もはやほとんど土着の株による流行はなく、海外からの輸入株症例ばかりが発生していることが示された。麻疹排除へ向けての今後の最重要課題は、麻疹患者全例の臨床検体を地研へ収集する枠組みを完成させること、実験室診断の精度を高め、医師による確実な診断を助ける枠組みを作ることである。ウイルス検出を行う RT-PCR 法やウイルス分離法にも、まだまだ改良の余地はあり、今後も、向上させていく必要がある。「麻疹輸出国」「麻疹後進国」とかつて言われたわが国は、今、確実に世界の麻疹対策先進国に変貌し、世界からもそのような評価を受けている。「麻疹排除」という非常に高い目標をもった活動であるが、着実に進展していると考えている。本研究班の活動が、広く日本全体の感染症対策にも貢献するものと期待している。

#### F. 健康危機情報

特になし

#### G. 研究発表

#### 論文発表

1. Abernathy ES, Hübschen JM, Muller CP, Jin L, Brown D, Komase K, Mori Y, Xu W, Zhu Z, Siqueira MM, Shulga S, Tikhonova N, Pattamadilok S, Incomserb P, Smit SB, Akoua-Koffi C, Bwogi J, Lim WW, Woo GK, Triki H, Jee Y, Mulders MN, de Filippis AM, Ahmed H, Ramamurty N, Featherstone D, Icenogle JP. Status of global virologic surveillance for rubella viruses. *J Infect Dis.* 2011 Jul;204 Suppl 1:S524-32.
2. Bankamp B, Takeda M, Zhang Y, Xu W, Rota PA. (2011) Genetic characterization of measles vaccine strains. *J Infect Dis.* 204. S533-48.
3. Featherstone DA, Rota PA, Icenogle J, Mulders MN, Jee Y, Ahmed H, de Filippis AM, Ramamurty N, Gavrillin E, Byabamazima C, Dosseh A, Xu W, Komase K, Tashiro M, Brown D, Bellini WJ, Strebel P. Expansion of the global measles and rubella laboratory network 2005-09. *J Infect Dis.* 2011 Jul;204 Suppl 1:S491-8.
4. Hashiguchi T, Maenaka K, Yanagi Y. Measles virus hemagglutinin: structural insights into cell entry and measles vaccine. *Front Microbiol.* 2:247, 2011
5. Hashiguchi T, Ose T, Kubota M, Maita N, Kamishikiryo J, Maenaka K, Yanagi Y. Crystallization Strategy for the Glycoprotein-receptor Complex Between Measles Virus Hemagglutinin and its Cellular Receptor SLAM. *Protein Pept*

- Lett. 2011 in press.
6. Kamishikiryo J, Fukuhara H, Okabe Y, Kuroki K, Maenaka K. Molecular basis for LLT1 protein recognition by human CD161 protein (NKRPA/KLRB1). *J Biol Chem.* 2011 Jul 8;286(27):23823–30.
  7. Kojima R, Kajikawa M, Shiroishi M, Kuroki K, Maenaka K. Molecular basis for herpesvirus entry mediator recognition by the human immune inhibitory receptor CD160 and its relationship to the cosignaling molecules BTLA and LIGHT. *J Mol Biol.* 2011 Nov 4;413(4):762–72.
  8. Komune N, Ichinohe T, Ito M, Yanagi Y. Measles virus V protein inhibits NLRP3 inflammasome-mediated interleukin-1 beta secretion. *J Virol.* 85:13019–13026, 2011
  9. Komune N, Ohashi M, Matsumoto N, Kimitsuki T, Komune S, Yanagi Y. No evidence for an association between persistent measles virus infection and otosclerosis among patients with otosclerosis in Japan. *J Clin Microbiol.* (in press)
  10. Matsushita H, Endo S, Kobayashi E, Sakamoto Y, Kobayashi K, Kitaguchi K, Kuroki K, Söderhäll A, Maenaka K, Nakamura A, Strittmatter SM, Takai T. Differential but competitive binding of Nogo protein and class I major histocompatibility complex (MHCI) to the PIR-B ectodomain provides an inhibition of cells. *J Biol Chem.* 2011 Jul 22;286(29):25739–47.
  11. Nagano H, Jinushi M, Komagome R, Miyoshi M, Kikuchi M, Muratsubaki E, Ito H, Inoue M, Okano M. Progress towards Measles Elimination between 2008 and 2010 in Hokkaido District, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.,* 64(5): 445–447, 2011.
  12. Miyoshi M, Yoshizumi S, Ishida S, Komagome R, Nagano H, Kudo S, Okano M. Usefulness of the rapid determination system of viral genome sequences in human stool specimens. *J. Virol. Methods,* 179: 256–260, 2012.
  13. Miyoshi M, Komagome R, Nagano H, (他 12 名), Okano M. An isolated incidence of rubella outbreak at a workplace in Hokkaido, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases,* 65(1): 94–97, 2012.
  14. Rota PA, Brown K, Mankertz A, Santibanez S, Shulga S, Muller CP, Hübschen JM, Siqueira M, Beirnes J, Ahmed H, Triki H, Al-Busaidy S, Dosseh A, Byabamazima C, Smit S, Akoua-Koffi C, Bwogi J, Bukonya H, Wairagkar N, Ramamurty N, Incomserb P, Pattamadilok S, Jee Y, Lim W, Xu W, Komase K, Takeda M, Tran T, Castillo-Solorzano C, Chenoweth P, Brown D, Mulders MN, Bellini WJ, Featherstone D. Global distribution of measles genotypes and measles molecular epidemiology. *J Infect Dis.* 2011 Jul; 204. Suppl 1: S514–23.
  15. Sakamoto S, Pongkitwitoon B, Sasaki-Tabata K, Putalun W, Maenaka K, Tanaka H, Morimoto S. A fluorescent single domain antibody against plumbagin

- expressed in silkworm larvae for fluorescence-linked immunosorbent assay (FLISA). *Analyst*. 2011 May 21;136(10):2056-63.
16. Tanaka T, Yokoi H, Kobayashi K, Iwanade H, Noguchi Y, Mitsui Y, Okamoto A, Saitoh M, Noda M, Takeda M, Okabe N, Kimura H (2011) First detection of measles virus genotype G3 in a Japanese woman: an imported case. *Jpn J Infect Dis* 64: 262-263.
  17. 青木洋子, 池田辰也, 安孫子千恵子, 水田克己: 麻疹を疑う患者検体から検出された風疹ウイルス(輸入事例), 山形県衛生研究所所報 (44), 6~8, 2011
  18. 庵原俊昭: ウイルス感染症と疫学・臨床像.: 麻疹. *小児科臨床ピクシス* 25:76-81, 2011
  19. 庵原俊昭: 成人の麻疹対策. *感染炎症免疫* 41:143-145, 2011
  20. 庵原俊昭: 麻疹、風疹、水痘、ムンプスの患者に接触したときの感染予防措置はどうすればよいですか. *小児内科* 43:s559-601, 2011
  21. 岩井雅恵, 堀元栄詞, 小原真弓, 小淵正次, 木村博一, 滝澤剛則: 輸送培地中の麻疹ウイルスへの凍結融解及び保存温度の影響. *富山県衛生研究所年報(平成 22 年度)* 34: 88-93, 2011
  22. 小川知子, 堀田千恵美, 小倉 惇, 福嶋得忍, 平野憲朗, 小山早苗, 駒瀬勝啓, 中山哲夫, 和山行正. MR ワクチン接種後、約4カ月を経て麻疹ワクチン株遺伝子が検出された症例—千葉県 病原微生物検出情報、32、299-300(2011)
  23. 加瀬哲男 VPD(vaccine preventable diseases)のサーベイランス 総合臨牀 60 (11) 2198- 2203, 2011
  24. 倉田貴子, 井澤恭子, 西村公志, 加瀬哲男, 高橋和郎, 大平文人, 松井陽子, 梯和代, 熊井優子, 久保英幸, 改田厚, 後藤薫, 長谷篤, 内野清子, 三好龍也, 田中智之, 森嘉生, 大槻紀之, 坂田真史, 駒瀬勝啓, 竹田誠, 大阪府内における 2011 年の風疹患者発生状況、病原微生物検出情報、32、255-257 (2011)
  25. 駒瀬勝啓, 竹田誠 ヨーロッパの麻疹の状況と今後の日本の課題、病原微生物検出情報 33(2); 29-30 (2012)
  26. 駒瀬勝啓 麻疹排除の進捗と麻疹輸入例の増加 -麻疹排除に向けた今後の課題- *小児科* 金原出版 53 (1):105-112 (2012)
  27. 駒瀬勝啓 麻疹検査診断法とその問題点、*小児科* 金原出版 52 (9):1273-1280 (2011)
  28. 三好正浩, 駒込理佳, 長野秀樹, 高橋健一, 岡野素彦 (他 9 名). 北海道内の事業所で発生した風疹の集団感染事例. *病原微生物検出情報*. 31(9):5-6, 2011.
  29. 竹田誠, 駒瀬勝啓, 社会情勢の中で変わりゆく麻疹という感染症、*BIO Clinica*、26、1198-1202(2011)
  30. 竹田 誠、駒瀬勝啓、森 嘉生. 世界麻疹排除計画の現状と世界麻疹風疹実験室ネットワークの役割. *病原微生物検出情報* 第 32 卷 第 2 号, pp.3-4, 2011
  31. 多屋馨子, 佐藤弘, 新井智, 北本理恵, 岡部信彦, 森 嘉生, 竹田誠, 2010 年度感染症流行予測調査事業風疹感受性調査担当 2010 年度風疹血清疫学調査な

- らびに予防接種率調査—2010 年度感染症流行予測調査中間報告(2010年8月現在速報) 病原微生物検出情報、32(9):14-17, (2011)
32. 皆川洋子:2012年麻疹排除に向かって—現状と未来—. 愛知県小児科医会会報 94:3-11, 2011
  33. 安井善宏、伊藤雅、安達啓一、廣瀬絵美、藤原範子、小林慎一、山下照夫、平松礼司、皆川洋子、高木崇光、池田晃一、多和田光紀、加藤勝子、竹内清美:<速報>渡航歴の無い小児および家族内感染者からの D8 型麻疹ウイルス検出—愛知県. 病原微生物検出情報(印刷中 2012年2月20日掲載)
  34. 森嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、駒瀬勝啓、竹田誠、(2011) 風疹ウイルスの遺伝子解析、病原微生物検出情報、32、260-262 (2011)
  35. 森 嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、駒瀬勝啓、竹田誠 風疹ウイルスの遺伝子解析 病原微生物検出情報、32(9):11-13, (2011)
- 2.学会発表
1. Hashiguchi T, Ose T, Kubota M, Sako M, Kajikawa M, Ito Y, Fukuhara H, Kuroki K, Maita N, Kamishikiryo J, Yanagi Y, Maenaka K. Structural basis for receptor recognition and entry of measles virus、MEASLES VIRUS MINI-SYMPOSIUM □ 頭発表 Rocehster 米国 2011.7
  2. Komune N, Ichinohe T and Yanagi Y. Measles virus V protein inhibits NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 beta secretion. 15th International Congress of Virology, September 2011, Sapporo, Japan
  3. Minagawa H, Yamashita T, Yasui Y, Hata M, Kobayashi S, Adachi H, Mizutani E, Ito M, Fujiwara N, Fujiura A, Komase K: VI-SY50-6 Collection/preservation conditions of samples for measles virus detection to improve laboratory diagnosis for case-based measles surveillance. 15th International Congress of Virology、札幌市、2011年9月13日
  4. Miyoshi M, Yoshizumi S, Ishida S, Komagome R, Nagano H, Kudo S, Okano M. Usefulness of the rapid determination system of viral genome sequences in human stool specimens. 15th International Congress of Virology PO-38-1 札幌 2011年9月
  5. Ose T, Sako M, Kajikawa M, Hashiguchi T, Ito Y, Fukuhara H, Takeda M, Yanagi Y, Maenaka K. (2011 September 11-16. Sapporo, Japan) Protein preparation and preliminary X-ray crystallographic study of hemagglutinin from canine distemper virus. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress.
  6. Otsuki N, Abo H, Kubota T, Mori Y, Okamoto K, Komase K, Takeda M. (2011 July 16-20. Minneapolis, Minnesota) Reduced thermal stability of the P150 protease domain by N1159S mutation makes the To-336 vaccine strain temperature-sensitive. 30th Annual Meeting of American Society for Virology.