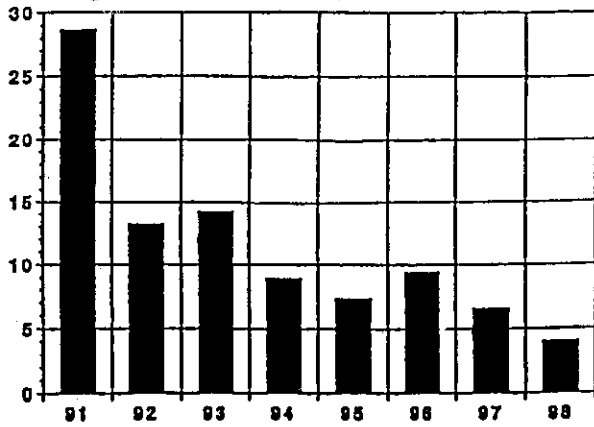
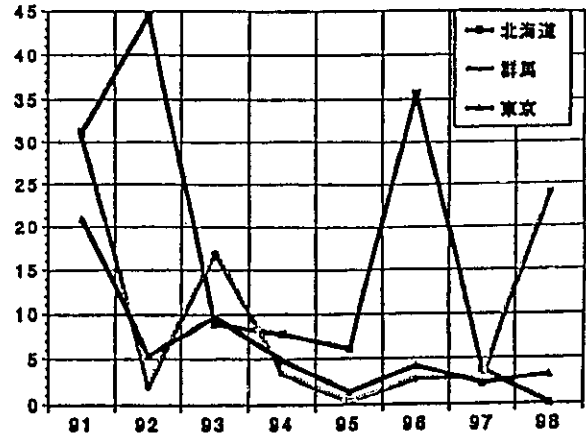


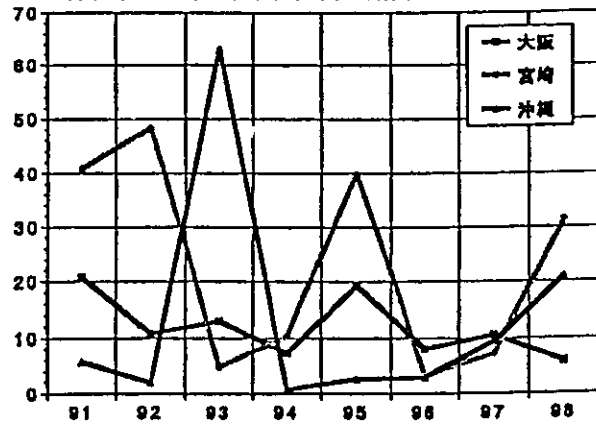
㉚1 全国定点当たりの麻疹患者数



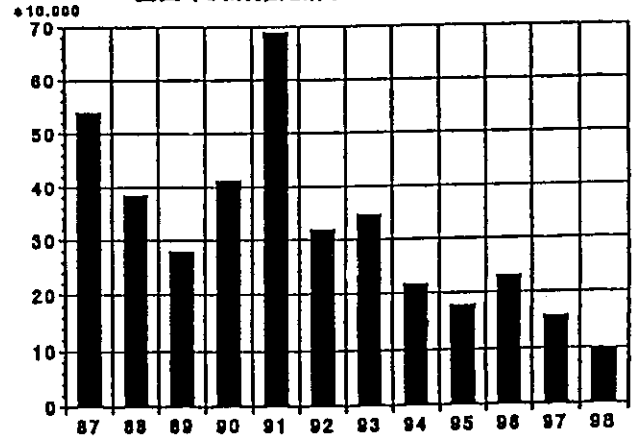
㉚2 各府県における定点当たりの麻疹患者数



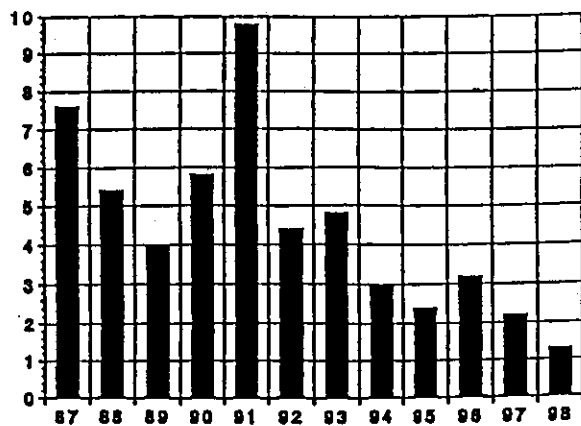
㉚3 各府県における定点当たりの麻疹患者数



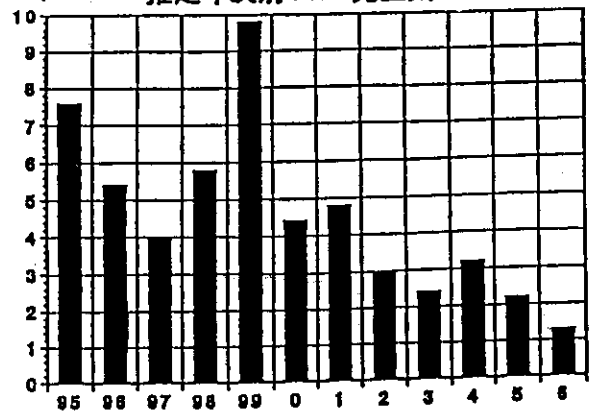
㉚4 全国年次別推定麻疹患者発生数



㉚5 推定SSPE発生患者数



㉚6 推定年次別SSPE発生数



出産直前の経胎盤感染によると思われる SSPE とその問題点

班 員：二瓶 健次(国立小児・神経)
研究協力者：井合 瑞江(神奈川こども・神経)
山下 純正(神奈川こども・神経)
山田 美智子(神奈川こども・神経)
岩本 弘子(神奈川こども・神経)

〔研究要旨〕

妊娠まで麻疹の感染歴がない女性で出産直前に麻疹に罹患し、出産した女児が、生後2ヶ月時に右眼瞼、右上下肢の間代性けいれんが見られた。その後ミオクローヌスが出現し1歳6ヶ月から喃語も減少し、精神運動発達も退行を示した。脳波にて周期性高圧棘徐波結合が見られ、髄液IgGの上昇、血清麻疹抗体価、髄液麻疹抗体価の上昇が認められ、亜急性硬化性全脳炎(SSPE)と診断された。年長者の麻疹罹患が増加傾向にあり、妊婦の麻疹罹患による新しいタイプのSSPEの可能性が示唆される症例で、今後このような症例が増える可能性があり、ワクチンの徹底、妊娠可能年齢の女性の麻疹管理などの注意を喚起したい。

A case report of subacute sclerosing panencephalitis(SSPE) caused by transplacental measles infection.

Kenji Nihei¹⁾

Mizue Iai²⁾, Yoshimasa Ymashita²⁾, Michiko Yamada²⁾, Hiroko Iwamoto²⁾

1)Department of Neurology, National Children's Hospital

2)Department of Neurology, Kanagawa Children's medical center

ABSTRACT

We report a case of 18 months old girl with SSPE whose mother had measles infection 4 days before delivery. She was diagnosed as SSPE from clinical findings and laboratory findings including typical EEG findings of high voltage slow complex, elevated measles antibody titers in serum and cerebrospinal fluid (CSF) and Ig-G index in CSF. This case was suspected congenital SSPE by intrauterine measles infection or early onset SSPE by transplacental measles infection.

Recently, measles in adulthood over 15years old are gradually increasing in Japan. It is thought that one of the reasons of this phenomenon is decrease of inoculation rate of measles vaccination. It suggests that such congenital or very early onset SSPE may increase. Increases of inoculation rate of vaccination and protection of measles infection in adult females are needed.

〔はじめに〕

亜急性硬化性全脳炎（SSPE）は麻疹ウイルスによる遅発性ウイルス感染の代表的な疾患である。近年麻疹ワクチンの普及によりその発症は減少しているが、現在わが国での普及率は70%程度であり、各地で麻疹の流行が今も見られており、SSPEの発症も毎年数例の報告がなされている。麻疹ウイルスが関与することが確認されているが、その治療法は見つかっておらず、現在もなお予後不良の疾患である。そのために、ワクチン普及率を向上させて本症の発症を防ぐことが最も重要なことである。

ワクチンの接種率の高い先進国では麻疹が劇的に減少しSSPEの発症もほとんど認められていない。

〔目的〕

SSPEは予後不良な疾患であると同時に、麻疹の自然罹患予防により多くは回避可能な疾患でもある。そのため、効果的な治療法の確立とともに予防が必要とされる。我々は出産直前の経胎盤感染によると思われる稀なSSPEを経験した。ワクチン接種率が低下してきている現在、適齢期女性の麻疹予防と発症時の適切な管理についての検討の必要性を喚起することを目的として報告した。

〔症例〕

1歳6ヶ月 女児、初発時の主訴は痙攣。

現病歴：母親が妊娠末期に、咳嗽を伴う二峰性発熱が見られ、その2日後に体幹を中心に発疹が認められた。発疹出現2日後に切迫早産にて出産した。

頭位分娩。在胎34週5日、2280g、Apgar 9/9で、新生児期には特に異常は認められなかった。

生後2ヶ月に一日だけの発熱、哺乳不良後、右眼瞼びくつき、顔面蒼白となる発作が見られた。右上下肢間代性痙攣繰り返すために神奈川県立こども医療センターに入院した。入院時の検査では、髄液の細胞数は49/3、蛋白量は58.4mg/dl、糖は37.2mg/dl。脳炎が考えられ治療が行なわれた。その後、約1ヶ月半の経過で、右足関節、右大腿-手関節ミオクローヌスが順次、出現したり消退したりしていた。頭部MRIでは、左境界域多巣性T1T2延長像が順次認められるようになった。

その後の発達は生後で6ヶ月喃語がみられるようになり、指シャブリも可能となった。1歳で寝返り可能となった。1歳4ヶ月で左手ではものを掴んだり、投げ足りることが可能となった。しかし低緊張著しく、頸定も見られていなかった。右の痙攣性麻痺が見られていた。

1歳6ヶ月頃から次第に喃語が減少し、活気がなくなり、眼球上転と上肢強直する発作を5-10秒毎に繰り返すようになった。笑顔も消失し、筋緊張低下強まり、再度入院することになった。

入院時現症：神経学的所見としては意識は清明で覚醒睡眠リズムは保たれていた。固視は時にあるが、追視は見られなかった。眼球運動に制限なく、眼振は見られていない。咽頭反射は陽性。舌の偏位も見られない。あやし笑いはなく、喃語も見られなかった。痛みに対しては反応し啼泣した。左手でおしゃぶりをもち口へ運ぶ随意運動は見られたが、右では不可能であった。四肢体幹の筋緊張低下著しく、腱反射の亢進はとくに見られなかった。移動運動は見られていない。

発作の様子については、数秒-10秒間隔で右上方へ両眼球偏位。上肢のミオクローニー伴う。時に発声と上肢（下肢）強直を伴っていた。覚醒中は持続的に発作が認められた。

主な検査所見：血液・生化学検査ではとくに異常なし。髄液では細胞数が1/3(mono)、タンパク

19.2mg/dl、糖 45.4mg/dl、Cl 124mEq/L、乳酸 10.9mg/dl、ピルビン酸 0.87mg/dl でいずれも正常範囲であった。

頭部 MRI は白質髄鞘化遅延と脳室周囲白質T2延長、脳表の造影効果増強、陳旧性 T1T2 延長の病変が認められた。

SPECT(99mTc-HMPAO)では左後頭葉血流低下、相対的大脳皮質血流増加が認められた。

<u>ABR</u>	I	II	III	IV	V	I-V
左刺激	1.46	3.08	4.29	5.87	7.09	5.63msec
右刺激	1.29	2.21	3.97	5.40	6.48	5.19msec
<u>SSEP</u>	N9		N20			
右刺激	5.05	17.3 msec				
左刺激	4.93	15.8 msec				

脳波は SSPE に見られる、周期性全般性高振幅徐波を示した (図1)。

症例の麻疹ウイルス抗体

	99.3.(2Mo)	4(3Mo)	00.7.(1Y6Mo)	8月	10月
血清 IgG	30.3	51.1	2470.0		8800.0
IgM	0.35-	0.47-	0.21-		0.31 -
髄液 IgG	4.87	3.15	(1.378)	71.70	
IgM					
血清 HI			64		64
CF			4096		2048
髄液 HI	<1	<1	4	8	
CF	32	16	32	32	

髄液のオリゴクローナル IgG バンド-異常バンド陽性、麻疹 RNA(RT-PCR) 陰性、

IgG 25.0mg/dl、IgGindex 2.05 ↑、2-5AS 活性 29pMOL/dl

母親の臨床経過と麻疹抗体価については図2に示した。

以上の臨床症状、検査所見から SSPE と診断した。

(倫理面への配慮)

症例の検査等はインフォームド Consent のもとに行なわれた。症例の個人的なプライバシーについては充分に守られている。

[考察]

1. 母体が出産 4 日前に発熱、発疹があり麻疹と診断され、発疹出現後 2 日目に出生した児は新生時期には問題がなく、2 ヶ月時に亜急性に経過する脳炎症状で発症し MRI にて多巣性梗塞所見が認められていた。経胎盤感染によると思われる非典型的麻疹ウイルス持続感染症例と考えられた。その後 1 歳 6 ヶ月頃から退行現象が見られるようになり、麻疹抗体価の血清、髄液における上昇、髄液の IgGindex の上昇、脳波の周期性高圧徐波結合などが見られ SSPE と診断された。しかし、典型的な SSPE

とは異なる経過を示し、先天性麻疹後の SSPE 報告例と類似していた。今後患児の麻疹ウイルス M 蛋白に対する抗体の有無、麻疹ウイルスの解析も必要である。

麻疹ウイルスによる亜急性進行性の脳炎がこれまでも報告されているが、これらの症例はいずれも母体が妊娠中に麻疹に罹患しており、児が出生後何年かして症状が出現し進行しており、進行性風疹脳炎と呼ばれ、SSPE と類似の機序が考えられている。本症も進行性風疹脳炎に類似するとも考えられる。

本症例において、母親が妊娠可能年齢まで麻疹の既往がないこと、麻疹ワクチンの接種歴がないことが問題となっている。現在、本邦では麻疹ワクチンの接種率が 70%程度で決して高くなく、現在でも各地で小流行が見られている。麻疹罹患年齢を見てみると 15 歳以上の率が増加している傾向がある。これは不完全なワクチン接種率なため大きな流行がないために、ワクチンをしていなくても成人になるまで麻疹に罹患しない可能性が高くなったためとも考えられる。

1 歳未満の時期の麻疹の罹患が最も SSPE が発症しやすいことが知られているが、妊娠周辺時期の麻疹は SSPE を最も起こしやすい時期の児への感染を引き起こし、SSPE 発症へとつながっていくことが予想される。

出産適齢期女性の麻疹発症が今後も増加することが予想され、それに伴う SSPE の発症例が増加することが考えられ、出産適齢期の女性の麻疹罹患について注意を喚起し、周生期管理の検討が必要と思われた。またあわせて、ワクチン接種（妊娠前に）の奨励、追加接種についての検討、妊婦の麻疹抗体チェックなども必要である。

〔結論〕

今回、我々は妊娠末期に麻疹に罹患した母親から出生した児が、その後退行現象を示し、検査所見等から SSPE と診断された例を報告した。出産適齢期女性の麻疹発症が今後も増加することが予想され、それに伴う SSPE の発症例が増加することが考えられ、出産適齢期の女性の麻疹罹患について注意を喚起し、周生期管理の検討が必要と思われた。またあわせて、ワクチン接種（妊娠前に）の奨励、追加接種についての検討、妊婦の麻疹抗体チェックなども必要であると考えられた。

〔研究発表〕

1、論文発表

- 1) Hara T., Yosida S., Aiba H., Nihei K., et al: Measles virus-specific T helper 1/T helper 2-cytokine production in subacute sclerosing panencephalitis. *J Neurovirol.* 6:121-126, 2000
- 2) 二瓶健次：亜急性脳炎、慢性脳炎、小児神経学の進歩、vol27, 2000

2、学会発表

なし

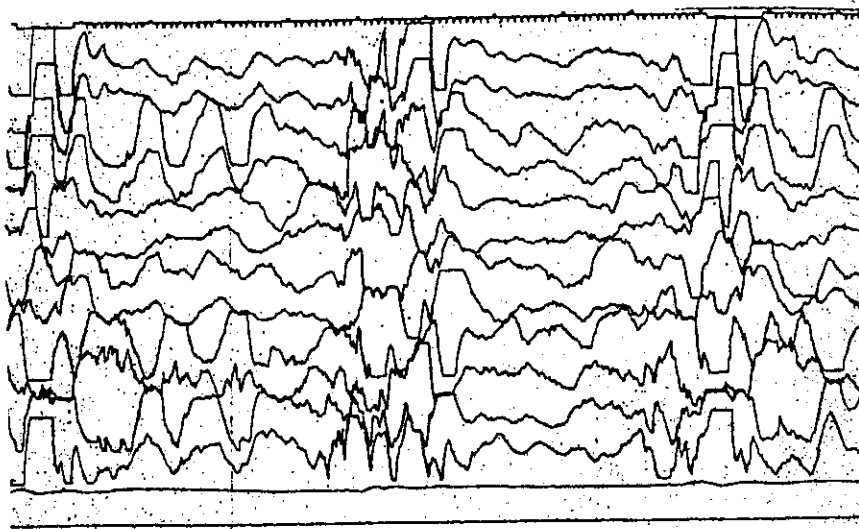


図1 症例の脳波：周期性全般性高振幅徐波を示す

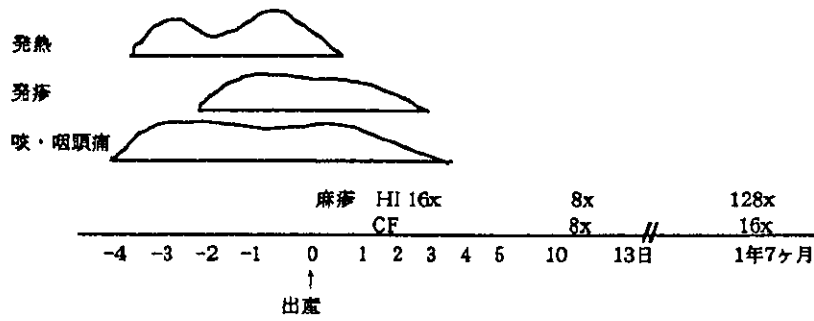


図2 母親の経過

パプアニューギニア (PNG) の SSPE : 臨床疫学像と症例対照研究

班 員 : 高須 俊明 (日本大学・総合科学研、医・神経内)
班 員 : 中村 好一 (自治医科大学・公衆衛生)
研究協力者 : 三木 健司 (日本大学・医・神経内、北里研究所・生物製剤研開発研究部)
研究協力者 : 尾島 俊之 (自治医科大学・公衆衛生)
研究協力者 : 谷原 真一 (島根医大・公衆衛生)
研究協力者 : 大木 いずみ (自治医科大学・公衆衛生)
研究協力者 : 駒瀬 勝啓 (北里研究所・生物製剤研開発研究部)
研究協力者 : 河西 竜太 (日本大学・医・神経内)
研究協力者 : 水谷 智彦 (日本大学・医・神経内)
研究協力者 : Joyce M. Mgone (ゴロカ基盤総合病院・小児)
研究協力者 : Charles S. Mgone (PNG 医学研究所・分子遺伝)
研究協力者 : Peter G. Asuo (ゴロカ基盤総合病院・小児)
研究協力者 : Michael P. Alpers (PNG 医学研究所)
研究協力者 : John Reader (PNG 医学研究所)

Subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) in Papua New Guinea; clinical and epidemiological features and case control study results

Toshiaki TAKASU¹, Yoshikazu NAKAMURA², Kenji MIKI³, Toshiyuki OJIMA⁴, Shin-ichi TANIHARA⁵, Izumi OKI⁶, Katsuhiko KOMASE⁷, Ryuta KAWANISHI⁸, Tomohiko KAWANISHI⁹, Joyce M. MGONE¹⁰, Charles S. MGONE¹¹, Peter G. ASUO¹², Michael P. ALPERS¹³, John READER¹⁴

¹University Research Center, Nihon University; ^{1,3,8,9}Department of Neurology, Nihon university School of Medicine; ^{2,4,5,6}Department of Public Health, Jichi Medical College; ⁵Department of Public Health, Shimane Medical University; ⁷Research Center for Biologicals Department of Research and Development, The Kitasato Institute; ^{10,12}Department of Pediatrics, Goroka Base General Hospital, Eastern Highlands Province, Papua New Guinea; and ^{11,13,14}Papua New Guinea Institute of Medical Research

ABSTRACT

We reported the continuing high incidence of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) in Eastern Highlands of Papua New Guinea (PNG). The majority of SSPE patients had had measles below 1 year. There were following unusual findings. The majority of SSPE patients had received measles vaccination before they developed SSPE. Among those SSPE patients there were several who received measles vaccination within 1 month after they had measles illness. To identify risk factors behind those findings we conducted a case hospital-control study. Following were the results. There was no significant difference between case and control in the rate of having been vaccinated against measles. The rate of having had measles illness was significantly higher in case than in control. The rates of being vaccinated after measles illness and within 1 month after measles illness were significantly higher in case than in control with 5% and 6% levels of significance, respectively.

〔研究要旨〕

パプアニューギニア国東部高地州では、亜急性硬化性全脳炎の著しい多発が続いている（既報）。当地の SSPE 患者は乳児期に麻疹に罹患している者が大多数を占めている。また、麻疹予防接種を受けた者が大多数を占めるという異常な現象を呈している。その中には、麻疹罹患後 1 ヶ月未満の時に麻疹予防接種を受けたという者が少なからぬ割合で複数名含まれていた。これらの現象の背後にある危険因子を確定するために、今回、症例－病院対照研究を実施した。その結果、麻疹予防接種受種率は症例と対照の間に有意な差がなく、麻疹罹患率は症例の方が対照より有意の差を以って高いこと、麻疹罹患後に麻疹予防接種を受けた者の割合は症例の方が対照より有意の差を以って高く、麻疹罹患後 1 ヶ月以内に麻疹予防接種を受けた者の割合は症例の方が対照より 6 %未満の危険率で高いことを明らかにした。

〔はじめに〕

亜急性硬化性全脳炎（SSPE）は、小児期に発病する脳疾患である。経過は進行性であり、数年以内に死の転帰をとることが多い。我が国における発生頻度は 20 歳未満人口 100 万から年間 1 未満である。病因は麻疹ウイルスの脳内感染であるが、その発生要因や発生機序には不明な部分が残っている。予防は麻疹ワクチン接種によってかなり良く達成できるが、発病後には根本的治療法が未だない。

1997 年 4 月からの 2 年間に、パプアニューギニア国東部高地州ゴロカ所在のゴロカ基盤総合病院で登録された SSPE 患者例数 55 を分子とし、背景となる 20 歳未満人口を分母として年間発生率を推測すると、100 万当たり 125 という数値となり、他地域からの報告値に比べ著しく高い（平成 10 年度当班班会議で報告）。このような地域における SSPE 多発の理由が解明されれば、SSPE の発病要因の解明に資するところが大きいと考えられた。また、当地の患者の麻疹予防接種歴、麻疹罹患歴を詳しく分析して見ると、受種した者が大多数を占めており、しかもその中に、麻疹罹患後 1 ヶ月以内に受種した者が多く含まれているという異常な現象が見出された（平成 11 年度当班班会議で報告）。このような異常な臨床疫学像の背後にある危険因子を確定することは、SSPE の発病要因、発病機構解明のために重要と考えられた。

〔目的〕

PNG 国東部高地州で発生した SSPE 患者の臨床疫学像に追補を行なうと共に、認められた異常所見（上記）について、対照との間に有意の差があるかないかを検討する。

〔方法〕

1997 年 4 月から 1999 年 11 月までの間にゴロカ基盤総合病院（GBGH）で登録された SSPE 患者の臨床的、疫学的パラメーターを集計、解析した。

同病院に受診した非 SSPE 患者の中から、SSPE 患者各症例と性と生年月日が一致する対照例を無作為に選び（カード法）、症例群と対照群のペアを作った。生年月日 6 ヶ月以内のずれは、生年月日一致と認める許容範囲とした。

近親保護者から麻疹予防接種受種歴、麻疹罹患歴を聴取し、各人の Child Health Record Book（CHRB、小児保健記録帳）の記載を参考にして、受種歴、罹患歴を表 1、表 2 のように分類した。

表1 麻疹予防接種受種歴

クラス	定義	
	近親保護者の供述	本人の CHRB
A	既受種	受種の記載あり
B	未受種	受種の記載なし
C	既受種	面接時に不所持
D	未受種	面接時に不所持
E	既受種、未受種の別不確実	面接時に所持または不所持
F	未調査	未調査

表2 麻疹罹患歴

クラス	定義	
	近親保護者の供述	本人の CHRB
A*	既罹患	罹患の記載あり
B*	未罹患	罹患の記載なし
C*	既罹患	面接時に不所持
D*	未罹患	面接時に不所持
E*	既罹患、未罹患の別不確実	面接時に所持または不所持
F*	未調査	未調査

麻疹予防接種受種後の麻疹罹患を A→A*、麻疹罹患後の麻疹予防接種受種を A*→A とし、A→A* を麻疹予防接種後 1 ヶ月未満での麻疹罹患 A→A* と麻疹予防接種受種 1 ヶ月以上での麻疹罹患 A→A** に分け、A*→A を麻疹罹患後 1 ヶ月未満での麻疹予防接種受種 A*→A' と麻疹罹患後 1 ヶ月以上での麻疹予防接種受種 A*→A" とに分けた。これらのクラス分類を用いて、麻疹予防接種受種状況、麻疹罹患状況、麻疹予防接種受種と麻疹罹患の関係（有無、前後関係、および間隔）に関係すると考えられる指標を設定し、症例と病院対照の間の相対危険度（オッズ比で近似）と有意差を求めた（症例－病院対照研究）。

〔倫理面への配慮〕

本研究は、患者については通常診療の結果をレトロスペクティブに検討したものであり、対照者については保護者の了解の下に保護者に対する問診と本人母子手帳の閲覧をしたものであり、いずれも個人名を伏せてある。以上より、倫理面で問題はないと判断している。

〔結果〕

1. 臨床疫学像（追補）

上記期間に登録された SSPE 患者は 73 例であった。その性、麻疹予防接種受種、麻疹罹患、両者の関係、SSPE 発病年齢、および麻疹罹患から SSPE 発病までの間隔を、図に示す。

2. 症例－病院対照研究の結果

1999 年 10 月と 11 月、および 2000 年 2 月と 3 月に、合計 92 名の病院対照例を集めた。

麻疹予防接種を受種した者の占める比率については、両群の間で有意な差が得られなかった。麻疹に罹患した者の占める比率は、症例群の方が対照群より有意差をもって大であった。麻疹に罹患してから麻疹予防接種を受けた者の比率は、症例群の方が対照群より危険率 5% 未満の有意水準で大であり、麻疹に罹患してから 1 ヶ月未満の時点で麻疹予防接種を受けた者の比率は、症例群の方が対照群より危険率 6% 未満の有意水準で大であった。（図参照）

〔考察〕

一病院における SSPE 患者の中で麻疹予防接種を受けた者の率が、同じ病院の非 SSPE 患者と違わなかったことは、当地において行なわれてきた麻疹予防接種が、SSPE の発病予防の上で有効でなか

ったことを示す。

麻疹に罹患した者の率が SSPE 患者において、非 SSPE 患者より高かったことは、麻疹罹患が当地の SSPE の危険因子であったことを示している。

麻疹罹患後 1 ヶ月以内に麻疹予防接種を受けた者の率が、SSPE 患者で非 SSPE 患者より 6%未満の危険率では有意に高かったことは、麻疹罹患後の早期に麻疹予防接種を行なうことが SSPE の危険因子になっていた可能性を示すもので、重要である。今後、症例を増やして確定することと共に、生物学的な意味を探る研究が重要である。麻疹罹患後、生ワクチンによる麻疹予防接種後には数週間、宿主の細胞性免疫が低下する。麻疹罹患後、細胞性免疫が低下している時期に麻疹生ワクチンの接種を受けると、持続感染に移行する率が高くなる可能性がある。そのことによって、SSPE のリスクを高める可能性がある。

〔結論〕

パプアニューギニア国東部高地州で発生している SSPE は、麻疹罹患年齢が幼若な者が多く、麻疹予防接種を受けた者が多い。

麻疹罹患は、当地 SSPE の危険因子になっていた。

当地の麻疹予防接種受種は、SSPE の発病を防ぐ上で有効でなかった。麻疹罹患後 1 ヶ月未満で行なわれた麻疹予防接種については、SSPE 危険因子になっていた可能性が示唆され、そのさらなる確認と共に、生物学的な意味を明らかにする研究が今後重要である。

〔参考文献〕

- 1) 高須俊明、國分裕司、西村敏樹、ほか 4 名：パプアニューギニアの亜急性硬化性全脳炎、疹、および麻疹予防接種—学術調査、共同研究、および NGO 活動—（その 1）熱帯 31：251-258、1998
- 2) 高須俊明、三木健司、駒瀬勝啓、ほか 4 名：パプアニューギニアの亜急性硬化性全脳炎、麻疹、および麻疹予防接種—学術調査、共同研究、および NGO 活動—（その 2）熱帯 32：149-161、1999

〔研究発表〕

1. 論文発表

- 1) 高須俊明、パプアニューギニアの亜急性硬化性全脳炎、医学のあゆみ 194：928、2000

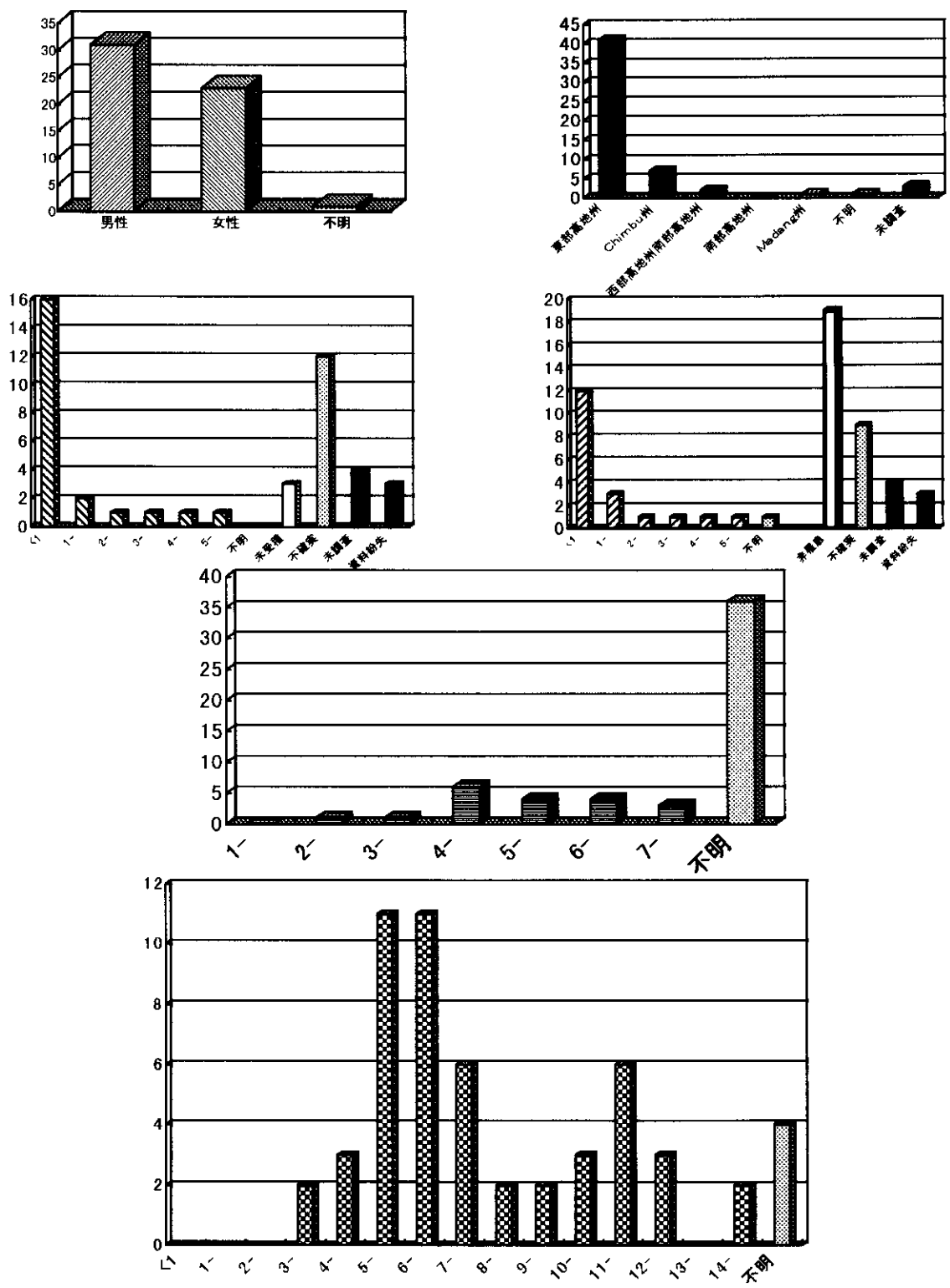
2. 学会発表

- 1) 高須俊明、ほか：神経感染症研究会、2000 年 7 月
- 2) 三木健司、ほか：神経感染症研究会、2000 年 7 月

以下、図 9 点

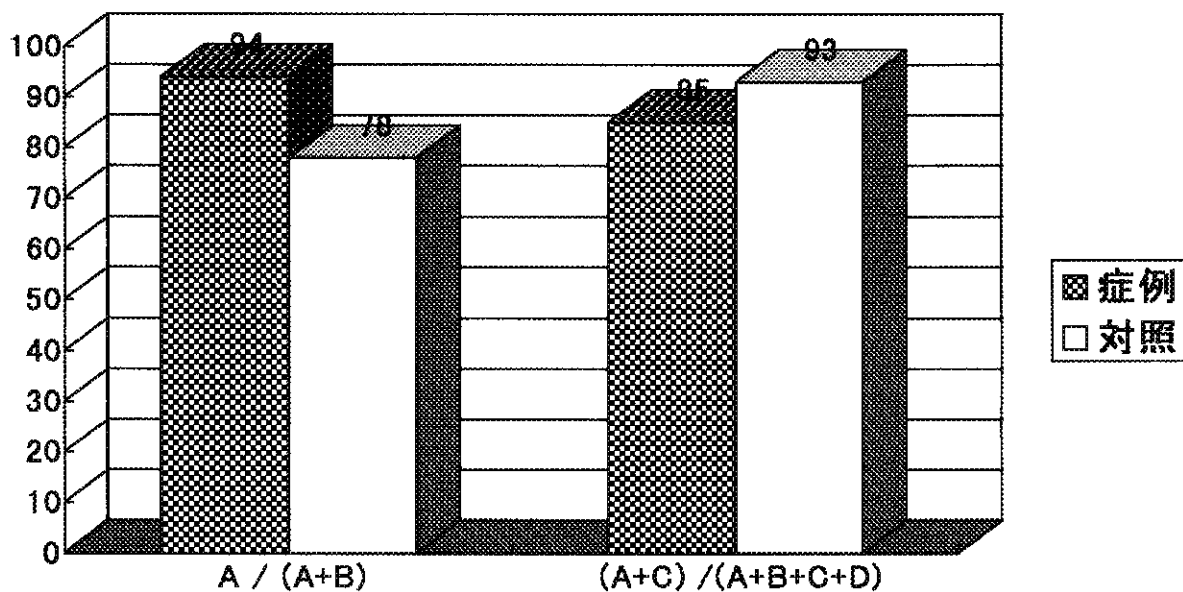
SSPE 患者 (n=55) の臨床疫学像

左上は性別、右上は出身地別、第2段左は麻疹予防接種受種年齢（横軸、歳）、第2段右は麻疹罹患年齢（横軸、歳）、第3段はSSPE発病年齢（横軸、歳）、最下段は麻疹罹患からSSPE発病までの間隔（横軸、年）。縦軸は症例数。



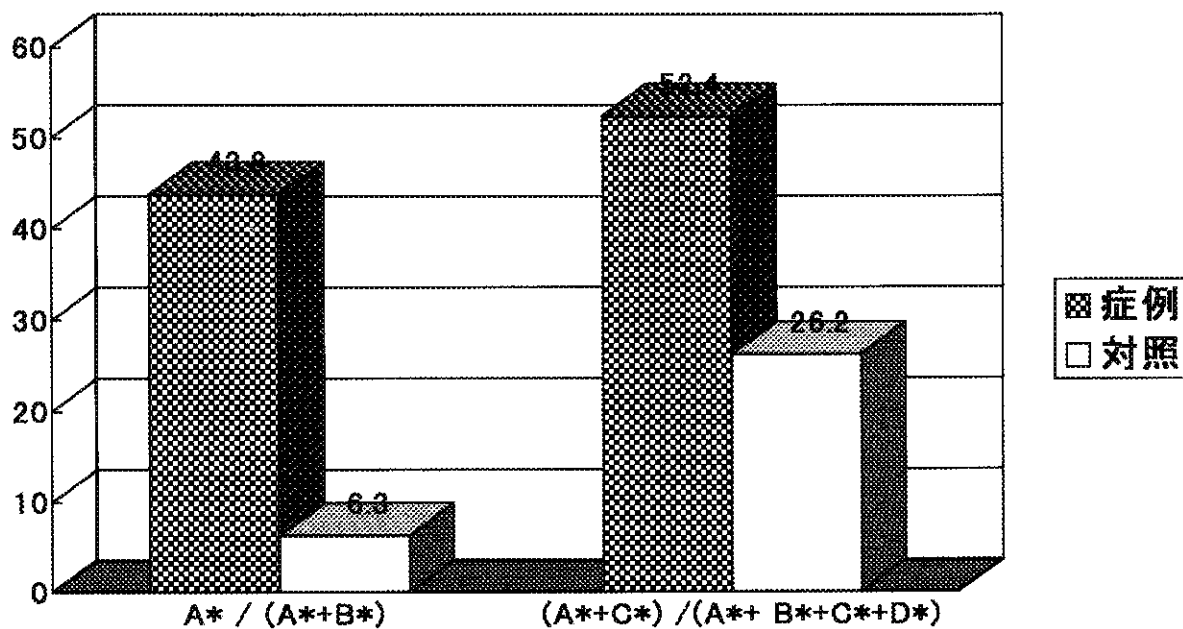
SSPE患者の麻疹予防接種受種率

縦軸は百分率。左の組 $A/(A+B)$ は $n=18$ ずつで、オッズ比 4.86、 $p=0.146$ 。右の組 $(A+C)/(A+B+C+D)$ は $n=40$ ずつで、オッズ比 0.46、 $p=0.164$ 。



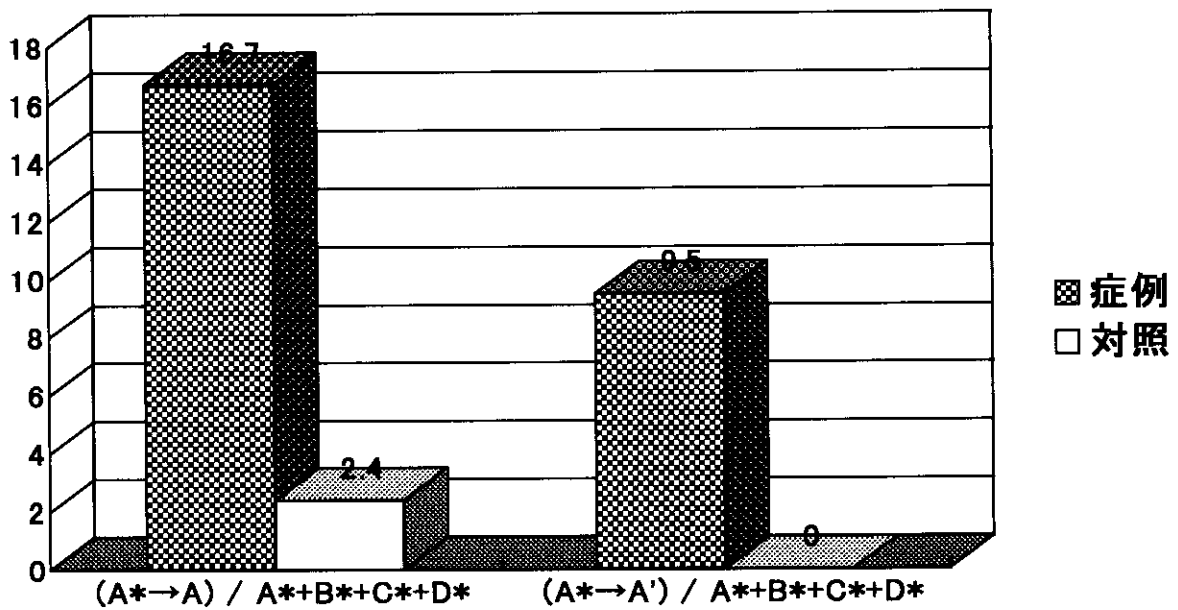
SSPE患者者の麻疹罹患率

縦軸は百分率。左の組 $A^*/(A^*+B^*)$ は $n=16$ ずつで、オッズ比 11.7、 $p=0.017$ 。右の組 $(A^*+C^*)/(A^*+B^*+C^*+D^*)$ は $n=42$ ずつで、オッズ比 3.1、 $p<0.001$ 。



S S P E 患者の中で、麻疹罹患後に
麻疹予防接種を受けた者の割合（左組）と、麻疹罹患後 1 カ月
未滿に麻疹予防接種を受けた者の割合（右組）

縦軸は百分率。左の組 $(A^* \rightarrow A) / (A^* + B^* + C^* + D^*)$ は $n = 42$ ずつで、オッズ比 8.2、 $p = 0.026$ 。右の組 $(A^* \rightarrow A') / (A^* + B^* + C^* + D^*)$ は $n = 42$ ずつで、オッズ比 4.3、 $p = 0.058$ 。



麻疹ウイルス感染カニクイザルにおける免疫誘導

班 員:網 康至(国立感染症研究所 動物管理室)
協力研究者:須崎 百合子(国立感染症研究所 動物管理室)
片山 未来、小船 富美夫(国立感染症研究所 ウイルス製剤部)
甲斐 知恵子(東京大学医科学研究所)

〔研究要旨〕

麻疹ウイルスが持続感染する要因を解析する目的で、ワクチン未接種およびワクチン接種カニクイザルに麻疹ウイルスを経鼻接種し、それらのサルにおける免疫反応について解析、比較を行った。ワクチン接種群では、CD4 および CD8 陽性細胞の活性化が感染後 2 週で収束するのに対して、ワクチン未接種群では感染後 6 週にわたり持続した。血清中の中和抗体は、接種後 10 日で上昇することから、ウイルスが完全に排除されるまで、主として細胞性免疫の活性化が持続し、ウイルス排除に関わっているものと考えられた。この間、脳脊髄液中の白血球数の有意な上昇が認められ、特に接種後 6 週で顕著であった。これらの結果は、麻疹ウイルスが感染後少なくとも 6 週間におよび存在することを間接的に意味するものと考えられる。

Immunological aspects in cynomolgus monkeys infected with measles virus

Yasushi AMI¹, Yuriko SUZAKI¹, Miku KATAYAMA², Fumio KOBUNE², and Chieko KAI³

¹Division of Experimental Animal

²Department of Safety Research on Biologics, National Institute of Infectious Disease

³Institute of medical science, The University of Tokyo

ABSTRACT

When measles virus, HL strain, intranasally infected to naive and vaccinated cynomolgus monkeys, lymphocytes depletion in peripheral blood occurred in both monkeys peaked at 7days post infection(p.i.). Degree of depletion was higher in naive monkeys than in vaccinated. Virus infected lymphocytes were detected started at 4 days p.i. and peaked at 7days p.i. in naive monkeys but not detected in vaccinated. Virus neutralizing antibody titer rose and was boosted at 10 days p.i. in naive monkeys and vaccinated, respectively. Activation of T cells detecting with CD69 expression on the cell surface continued until 6 weeks p.i. in naive monkeys while it decreased in starting level within 2weeks peaked at 7days p.i. in vaccinated monkeys. In naive monkeys increase of white blood cell count in CSF was significant during 6 weeks p.i. These results suggested that measles virus was persistently present in the body for 6 weeks including central nervous system and stimulated host immune system. Cell mediated immunity may play important roles in eliminating measles virus.

〔はじめに〕

麻疹ウイルスの脳内における持続感染が SSPE 発症要因のひとつであると考えられている。我々は、

間接的ながら、カニクイザルへの麻疹ウイルス HL 株を経鼻接種すると接種後 1 週には脳内にウイルスが検出されることを報告した。この結果は、少なくとも麻疹ウイルスが感染早期に脳内に侵入する可能性を示唆するものと考えられる。また、免疫不全マウスへの麻疹ウイルス脳内接種の実験から、感染性ウイルスは検出されないものの、感染後 10 週以降に病変を形成、致死させうることから、脳内における持続感染の成立には、何らかの免疫学的欠如が関与しているものと考えられる。すなわち、通常の個体においては脳内の麻疹ウイルスを排除する免疫機能が誘導されるということになる。今回、我々は、カニクイザルに麻疹ウイルスを経鼻接種し、接種後 6 週まで、末梢血リンパ球表面マーカーを指標とする免疫誘導の経時的变化について解析を行った。また、同時に脳脊髄液中の細胞数に注目し、脳内における免疫誘導が感染 6 週以降に起こる可能性について検討を行った。

〔材料と方法〕

麻疹ワクチン未接種 4 頭およびワクチン接種したカニクイザルあるいは感染耐過したカニクイザルそれぞれ 2 頭を実験に用いた。ワクチン接種群は、3 年前に試作ワクチンを皮下接種した。感染耐過群は、1 年前に HL 株を経鼻感染した。以下、あわせてワクチン接種群とした。それぞれの群のカニクイザルに麻疹ウイルス HL 株 10^5 TCID₅₀ を経鼻接種し、経時的に採血を行い、血液学的検査を行った。また、末梢血リンパ球を常法にしたがって分離し、 10^6 個を 2 倍段階希釈し、B95a 細胞と co-culture を行い、CPE の出現した最高の希釈倍数を 10^6 あたりの感染リンパ球数として測定した。また、リンパ球表面抗原である、CD8、CD4、CD69 を蛍光ラベルマウスモノクローナル抗体を用いて染色、フローサイトメーターを用いて解析を行った。血清中の中和抗体価の測定も行った。また、ワクチン未接種カニクイザル 10 頭に、同様に麻疹ウイルスを接種し、接種後経時的に解剖を行い、脳脊髄液を採材、白血球数の測定を行った。リンパ球数およびその表面抗原の解析結果は、平均値を求め、接種時の数を 1 としその比を index として表した。

（倫理面への配慮）

実験内容は、本研究所の動物実験委員会の承認を得ており、かつ実験動物の飼育、処置等は、日本実験動物学会の規定に従って行った。

〔結果及び考察〕

接種後のリンパ球絶対数の変化は、ワクチン接種、未接種にかかわらず減少した（図 1）。しかし、減少率はワクチン未接種群でより顕著に認められた。麻疹感染における免疫不全の理由としての、末梢血におけるリンパ球減少については再考の余地があると考えられる。感染リンパ球数は、ワクチン接種サルでは実験期間を通じて認められなかった。未接種群では、接種後 7 日をピーク（105 個あたり 128 ~ 256）として、その後減少するが、接種後 14 日後においても認められる個体があった（図 2）。この個体では、抗体上昇の緩慢で、血清中の中和抗体 16 倍が認められた。ワクチン未接種のサルにおける血清中の中和抗体価の上昇は、多くの場合、接種後 10 日から認められ、16 倍から 256 倍を示した（図 3）。中和抗体の誘導は、ウイルス血症からの回復に関与するかも知れない。

リンパ球の活性化マーカーである CD69 陽性細胞率は、CD4 および CD8 陽性細胞中ともにワクチン接種、未接種群でその挙動に差が認められた（図 4）。感染初期では、両群とも、感染後速やかに上昇するが、未接種群では特に感染 4 日後にピークを形成した。ワクチン接種群では接種後 7 日をピークとして、接種後 2 週では元の値に戻った。しかし、未接種群では、接種後 2 週においても接種時

の値に戻ることはなかった。未接種群で元の値に戻るのは、接種後 6 週であった。また、未接種群では CD8 陽性細胞の活性化が CD4 陽性細胞に比べて強く、ワクチン接種群では逆である傾向が認められた。CD69 陽性細胞率は、非特異的ながら、免疫の活性化を意味するものと考えられ、活性化はウイルスの体内における感染を間接的に示すものとする、ウイルスが排除されるまでに中和抗体上昇後かなりな時間を要すると考えられる。また、ワクチン接種後あるいは再感染においてもウイルス血症は認められないものの、局所すなわち鼻粘膜上皮細胞および局所リンパ節内リンパ球に感染が起きているものと考えられた。ワクチン未接種サルでは、この間、脳脊髄内の白血球数が、軽度に認められ、接種後 6 週では有意な上昇が認められた。これらの結果から、ウイルスは感染後 6 週にわたって中枢神経を含む体内に存在し、とくに中枢神経においては、その最後に免疫反応が行われることが示唆された。麻疹後脳炎を解析する手段として有用な実験系かも知れない。

[研究発表]

1、論文発表

- 1) Yoshino N., Ami Y., Terao K., Tashiro F., and Honda M.: Upgrading of flow cytometric analysis for absolute counts, cytokines and other antigenic molecules of cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) by using anti-human cross-reactive antibodies. *Exp.Anim.* 49:97-110, 2000
- 2) Takeda M., Takeuchi K., Miyajima N., Kobune F., Ami Y., Nagata N., Suzaki Y., Nagai Y., and Tashiro M.: Recovery of pathogenic measles virus from cloned cDNA. *J. Virol.* 74:6643-6647, 2000

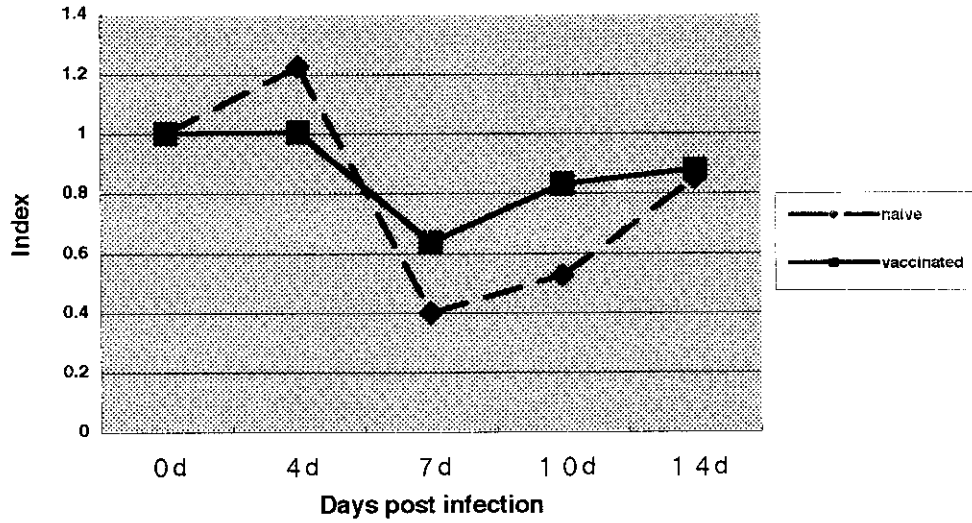


図1 麻疹ウイルスHL 株接種後のカニクザル末梢血リンパ球の変化

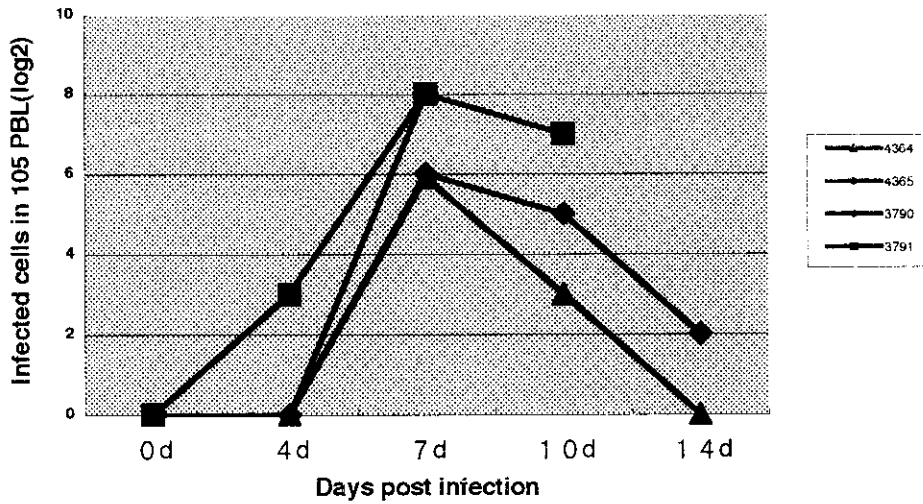


図2 麻疹ウイルス感染カニクザルにおける末梢血中の感染リンパ球数の変化

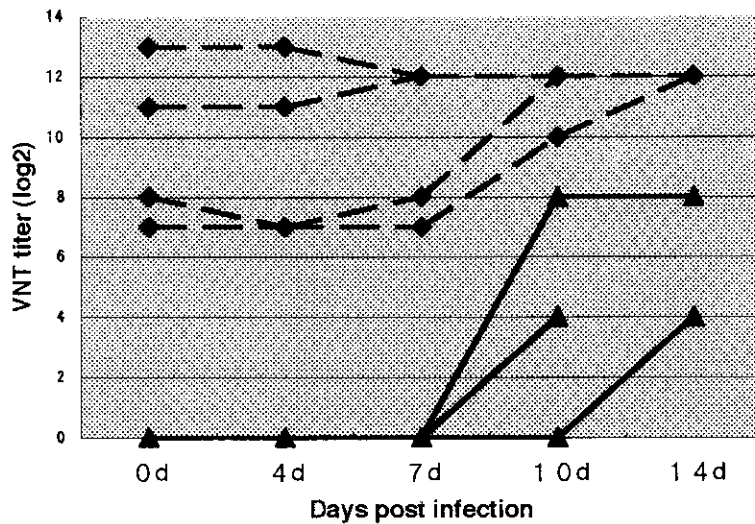


図3 血清麻疹ウイルス中和抗体価 (破線:vaccinated 実線:naive)

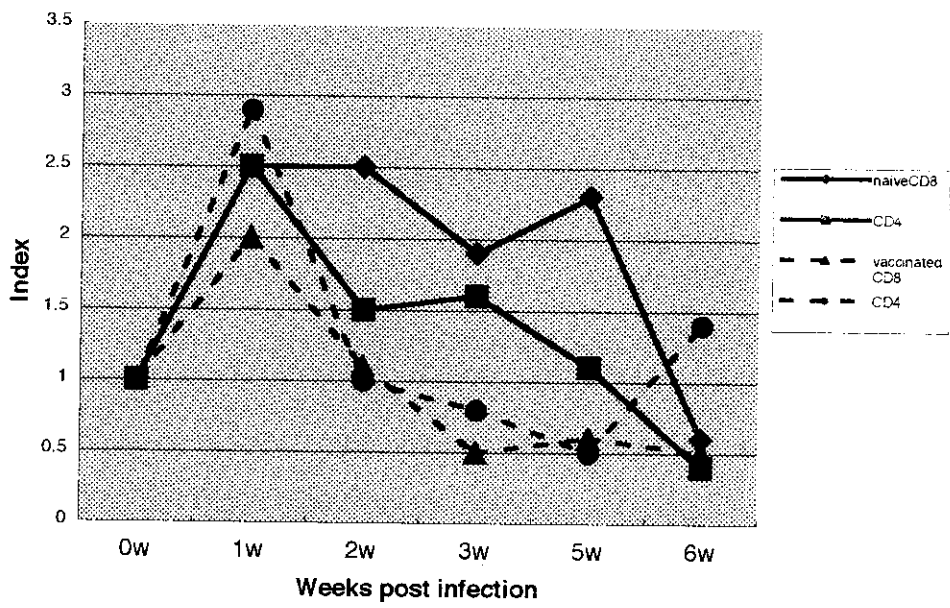
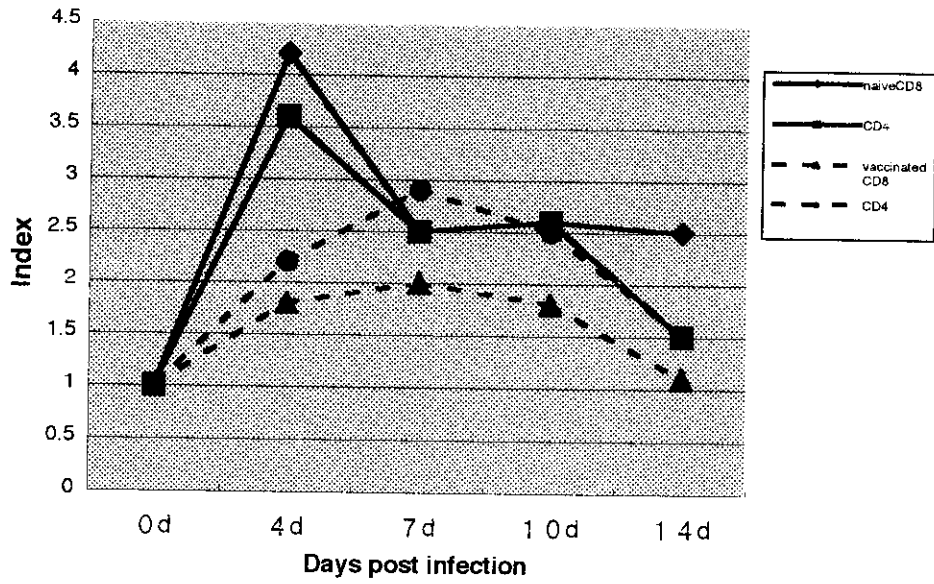


図4 CD69+ % in CD8+ and CD4+ cells

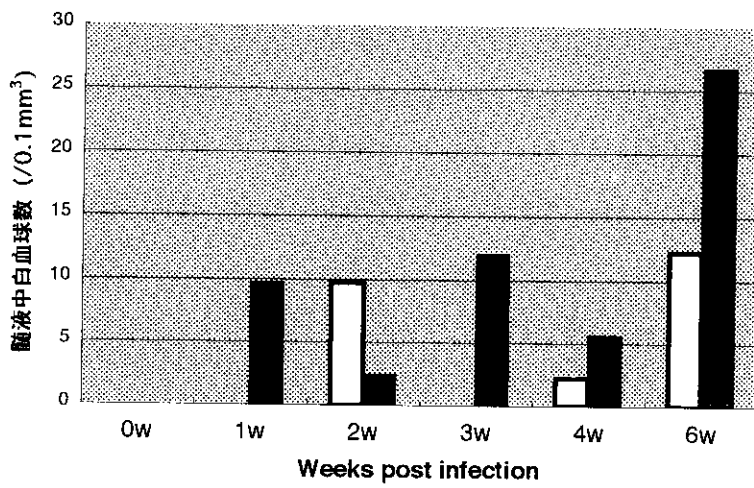


図5 麻疹ウイルス経鼻接種カニクイザル髄液中の白血球数の変動

ワクチン接種者及び麻疹既往者の麻疹中和抗体価の解析 ならびにワクチン接種後の麻疹ウイルス感染の解析

班 員：堀田 博（神戸大学・医・微生物）
研究協力者：伊藤 正恵（大阪府立公衆衛生研究所・ウイルス）
研究協力者：奥野 良信（同）
研究協力者：片山 友子（厚生労働省関西空港検疫所）
研究協力者：本間 守男（神戸女子大学・家政）

〔研究要旨〕

麻疹ワクチン接種者あるいは麻疹既往者の血清中抗麻疹ウイルス抗体について、年齢別に、ワクチン株及び野外流行株に対する中和抗体価ならびに HI 抗体価を比較測定した。ワクチン接種者、麻疹既往者いずれの場合でも、個々人の血清は、ワクチン株親株及び2種類の異なる遺伝子型の野外流行株に対して同程度の中和抗体価を示した。すなわち、現行麻疹ワクチンの感染防御効果は、ウイルスエンベロープH蛋白抗原性の変化による影響をほとんど受けていないことが示された。しかし、ワクチン接種者においては、自然麻疹感染の場合に比べて、中和抗体価が有意に低く、また、その持続期間が短くて、ワクチン接種後 15～20 年すると中和抗体価の低下する傾向がみられた。ワクチン接種後 30 年以上経過した者では再び中和抗体価の上昇がみられ、この時期に野外流行株への暴露の機会が増加する可能性が示唆された。また、小児では、ワクチン接種後 2～6 ヶ月経過しても感染防御免疫の誘導が不十分で、野外流行株による麻疹に罹患する症例が時にみられた。安全性は保ちつつ、より有効性を高めるワクチンの改良が望まれる。しかし、このような症例でも麻疹ウイルスは PCR で検出されるのみであり（分離は陰性）、感染源になる危険性は低いものと考えられた。一方、このようなワクチン効果が不十分なために麻疹に罹患した患児が、将来 SSPE を発症しやすいか否かについては今後の検討を要するものと思われる。

Comparative analysis of neutralizing antibodies against measles virus after vaccination or measles.

Hak Hotta¹, Masae Itoh², Yoshinobu Okuno², Yuko Katayama³, and Morio Homma⁴

Department of Microbiology, Kobe University School of Medicine¹
Division of Virology, Osaka Prefectural Institute of Public Health²
Kansai Airport Quarantine Office, Ministry of Health and Labor³
Faculty of Home Economics, Kobe Women's University⁴

ABSTRACT

Serum antibody titers against measles virus (MV) were measured for different age groups of those who had been vaccinated with attenuated MV vaccine or those who had been infected with wild-type MV in the past. Each of the serum samples, irrespective of either from the vaccinees or those who had presented with measles in the past, exhibited anti-MV neutralizing (NT) antibodies of practically the same titers to the vaccine strain and each of two different genotypes of MV field isolates. This result suggests that protective immunity, including NT antibodies, induced by the current MV vaccine is not affected by the apparent, though not drastic,

antigenic alteration of the envelope H protein of MV field isolates compared with the vaccine strain. However, the average titer of the NT antibodies was significantly lower in the vaccinees than in the individuals with past history of measles. Moreover, some of the vaccinees, but not the individuals with past history of measles, failed to maintain high titers of anti-MV antibodies for 15-20 years. Twenty to 30 years after vaccination, the once-decreased antibody titers in those individuals appeared to increase again to the average levels of MV-infected individuals, suggesting the possibility that the risk of re-exposure to MV increases at those ages. We also found that some children, though rather small in number, did not develop sufficient protective immunity against MV and presented with measles 2-6 months after vaccination. The effort to improve immunogenicity, while maintaining the safety, of the current MV vaccine should be appreciated. It should also be mentioned, however, that no infectious virus was isolated from those children, with only MV RNA being detected by RT-PCR. This result implies that such children would not shed MV to the environment to become the source of MV transmission. It remains to be solved as to whether or not such an infection mode, as MV infection due to primary or secondary vaccine failure, is associated with the occurrence of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE).

〔はじめに〕

亜急性硬化性全脳炎（SSPE）は麻疹ウイルスの持続感染によっておこる中枢神経系の遅発性ウイルス感染症である。麻疹ウイルス感染は一般にワクチンによって予防可能であるが、一方、ワクチンにより誘導された感染防御免疫はあまり長期間持続しない可能性も指摘されている¹⁾⁻⁵⁾。また、ワクチン株と最近の流行株の間でいくつかの遺伝子変異がみられ、ウイルス抗原性が異なっていることも観察されている^{6), 7)}。それらと関連するように、ワクチンによる免疫の誘導が不十分であるため、時には、ワクチン接種を受けたにもかかわらず野外流行株による麻疹に罹患してしまうこともある。従って、現行の麻疹ワクチンの有効性について、その抗原性、免疫応答誘導性・持続性の観点から、詳細に検討しておく必要がある。

〔目 的〕

本研究では、麻疹ワクチンにより誘導された免疫（主として中和抗体）の程度及び持続期間、ならびにワクチン株と野外流行株それぞれの抗原に対する応答性について、麻疹罹患後に獲得された免疫応答と比較し、現行の麻疹ワクチンの有効性を詳細に検討することを目的とした。また、麻疹ワクチン接種後の感染防御免疫の誘導が不十分なために野外流行株による麻疹に罹患した症例におけるウイルス感染の動態および中和抗体価との関連についても検討した。

〔材料と方法〕

1) 調査対象：① 大阪近郊の内科、小児科、皮膚科等の診療施設を受診した患者を対象に、調査内容に関する本人あるいは保護者の同意を得たうえで、麻疹罹患歴、ワクチン接種歴等に関するアンケート調査を行い、主治医により抗体測定用の採血を行った。採血は2000年9月から12月にかけて実施した。② 麻疹ワクチン接種後に典型的麻疹症状を呈した患児について、臨床経過を観察するとともに、血清及び咽頭拭い液を採取した。

2) 抗麻疹ウイルス抗体価の測定：① 中和抗体価：被験血清の階段希釈と麻疹ウイルス液を混合して1時間反応させた後、B95-8細胞に接種して1晩培養した。翌日、細胞を固定し、酵素抗体法を用いた免疫染色によりウイルス感染細胞を計測し、麻疹ウイルスの感染性を完全に抑制する血清の希釈度の逆数を中和抗体価として求めた。なお、抗体測定用の麻疹ウイルスとして、遺伝子型D5 (Mvi/Osaka.JPN/40.99/1株)あるいはD3タイプの野外流行株 (Mvi/Osaka.JPN/29.99株)とワクチン株の親株であるエドモントン株を用いた。② HI抗体価の測定：麻疹ウイルス豊島株を抗原として用い、アフリカミドリザル血球凝集阻止を指標として、マイクロタイター法により血清のHI抗体価を求めた。