

プロジェクト4：ウイルス

風疹と CRS

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

アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究

ラオス人民民主共和国ビエンチャン市の妊娠可能年齢女子の風疹抗体保有率

研究分担者 駒瀬勝啓 国立感染症研究所・ウイルス第3部・室長

研究分担者 山本久美 国立感染症研究所・感染症情報センター・協力研究員

研究協力者 ペンサイ・マニライ WHO Lao Office

**研究要旨** ラオスの国立研究所である National Center for laboratory and Epidemiology (NCLE)、WHO Lao Office と協力して ラオスの首都、ビエンチャン市における妊娠可能年齢女子 (15-35 才) の血中風疹抗体保有状況を調査した。ビエンチャン市内の有力産科病院 4 院に診察に来た 784 名 (15-19 才: 62 名、20-24 才: 330 名、25-29 才: 250 名、30-35 才: 142 名) の女性から採血し、質問を実施した。風疹 IgG 抗体価は ELISA 法で測定し、10IU/ml を cut off 値として抗体保有率を計算した。15-35 才の女性の風疹抗体保有率は 83. 2%、年齢別の抗体保有率は 65. 5% (15-19 才)、80. 6% (20-24 才)、86. 0% (25-29 才)、92. 3% (30-35 才) であった。ラオスで 1 回目の妊娠する頻度の高い年齢相である 20-24 才においても約 20% の感受性者がいることがわかった。これらの情報は風疹ワクチンの導入を検討する上できわめて重要である。また、今回の計画の立案、採血、検査、解析は感染研、WHO のサポートのもと NCLE が実施しており、本研究班の目的の一つである相手国の研究所と友好的関係を築き、研究室機能の向上に貢献するという面においても一定の成果をおさめた。

#### A. 研究目的

人口約 580 万人のラオスは、国民一人あたりの GDP 約 576 ドル (2007 年) の東南アジアの最貧国の一つである。感染症の予防として WHO が推進する EPI (Expanded Programme on Immunization) ワクチン (麻疹、ポリオ、BCG、破傷風、ジフテリア、百日咳、Hep B) の接種は行われているが、他のワクチンは導入されていない。一方、WHO の西太平洋地域では 2012 年までに麻疹の排除を目指しており、ワクチンが存在し同じ発疹、発熱性の疾患である風疹の排除も視野にいれている。ラオスでは風疹ワクチンは未導入であるだけでなく、風疹の流行状況、動態、

国民の抗体保有状況等の正確な情報は極めて限られている。風疹は主に子供が罹患する感染症だが、妊娠初期の女性が感染すると高い頻度で先天性風疹症候群 (congenital rubella syndrome; CRS) と称される障害を持つ子供が生まれる事が知られている。本研究は、ラオス、ビエンチャン市における妊娠可能年齢女子の血中風疹抗体保有率を調査することで、風疹の罹患状況や過去の流行状況を推察し、将来導入を予定している風疹ワクチンの適切な使用方法を検討するための情報を収集する事を目的としている。また、一連の調査、研究の過程を感染研、WHO がサポートしながら、

ラオスの NCLE が主体となり実施する事で、将来におけるラオスの公衆衛生に中心的役割を果たしていく NCLE の Capacity building に寄与する事も本研究の目的としている。

## B. 研究対象と方法

ラオスの首都ビエンチャン市の4つの有力産院、Mother and Child Units of central hospitals in Vientiane Capital: Maternal and Child Hospital (MCH hospital)、Setteteritat Hospital、Mahosot hospital、Mittaphaph hospital に診察のために訪れた15-35才の女性を対象とし採血をした。抗体価は市販の酵素免疫測定法 (EIA kit, デンカ生研, 日本) を用い、使用説明書に従って抗風疹 IgG 抗体価 (EIA 価) を測定した。EIA 価は製造所のデータに従い IU/ml に変換した。

## 倫理面への配慮について

本研究の採血、検査、解析はすべてラオス国内で行われている。倫理面に関してはラオス国家倫理委員会の承認を得た。また被験者には、本研究の目的、実施する施術 (採血) の説明をした上で同意が得られた者のみから採血を実施した。

## C. 研究結果

2010年10月25~29日、および2010年11月1日~5日に前記の4つの産院へ診察に来院し、同意が得られた15-35才の女性784名より採血を行った。採血された女性の年齢の内訳は15-19才:62名、20-24才:330名、25-29才:250名、30-35才:142名 (平均25.1才) であった。15-35才の女性全体の風疹抗体保有率は83.2%であり、年齢別の抗体保有率は64.5% (15-19才)、80.6%

(20-24才)、86.0% (25-29才)、92.3% (30-35才) であった (図1)。また過去に風疹ワクチンを接種した者はいなかった。陽性者の中の抗体価の分布は  $\geq 100$  IU; 31.9%, 100~80 IU; 10.8%, 80 IU~60 IU; 15.5%, 60 IU~40 IU; 17.7%, 40 IU~20 IU; 15.8%, 20 IU~10 IU; 8% であった。

## D. 考察

風疹は発熱、発疹を伴う、主に子供が罹患する比較的症状の軽い感染症である。また、感染者の約30-50%は不顕性感染である。一方、妊娠初期の女性が風疹に罹患すると、高い頻度で聴力、視力、心臓等に障害をもつ先天性風疹症候群 (CRS) の子供を出産する事が知られている。CRSの子供の生まれる頻度は風疹に感染する時期により異なっており、妊娠8週までに風疹に感染すると約半数は何らかの障害をもつ子供を出産するといわれている。現在、WHOは麻疹の排除とともに、効果の高いワクチンが存在する風疹の排除も視野にいれているが、その目的は子供に罹患を防ぐ事ではなく、CRSの発生を防ぐ事としている。しかし、ラオスを含む多くの開発途上国では風疹、CRSの発生頻度、国民の抗体保有率等の情報はなく、また風疹ワクチンも導入されていない。一方、不適切な風疹ワクチンの導入によって風疹の流行が中途半端に減少し、風疹に暴露される機会がないままに女性が成人し、免疫のない状態で妊娠した時に風疹が流行し、CRSが増加した先例が知られている。よって妊娠可能年齢の風疹に対する免疫状態を調査した上で、ワクチン接種対象者、スケジュール等を検討する様WHOも推奨している。本調査はクロスセクショナルスタディであるがラオスにおいて妊娠可能年齢の女性の免疫状態を知るための初め

ての試みであり極めて重要な情報である。今回、15-35才(平均25.1才)の妊娠可能年齢の女性を対象に風疹抗体の保有率を調査し、83.2%以上の女性が風疹抗体を保有していた。また15-19才では64.5%であったが、30-35才では92.3%と上昇していた。これらは2007-2008年に我々が実施した6-12才の小学生を対象とした血清疫学調査と同様の傾向であり(43.6%が抗体を保有しており、また年齢のよって抗体保有率が上昇していた)、風疹ウイルスは常在しており常に感染の危険性があると考えられた。ラオスで最初の妊娠する年齢相は20-24才でといわれており、この年齢の感受性者数は19.4%あり、また、15才-35才の間に抗体保有率が上昇していることから、風疹の流行期に妊娠が重なれば、ある頻度でCRSは発生していると考えられた。抗体保有に関する危険因子の解析は同じく研究分担者の山本が詳細に検討している。

ラオスに於ける定期接種ワクチンである麻疹ワクチンの接種率は約50%である。風疹ワクチンを導入、定期接種としても同様かそれ以下の水準になると予想される。CRSの発生率を下げるには80%以上の接種率の維持が必要とされており、低い定期接種率をワクチン接種キャンペーンで補っている間は風疹ワクチンの導入は慎重にすべきだろう。また、麻疹・風疹混合ワクチンを用いるのか風疹単味ワクチンを用いるのかも検討する必要がある。また、現在の風疹の流行状況、CRSの発生状況を把握できるシステムを構築する事がワクチン導入前に必要である。今回の血清疫学調査において、計画の作成、採血、検査、解析をNCLEが主体的に行い、感染研、WHOはサポート、アドバイスをを行った。今回のプロジェクトの成功はラオスの将来の公衆衛生面を調査面

で担うNCLEの機能の向上に貢献したと考えられた。

#### E. 結論

ラオスにおいて妊娠可能年齢女子(15才-35才)を対象に風疹抗体保有調査を実施した。15-35才女性における風疹感受性者は16.8%であったが15-20才では35.5%、最初の妊娠年齢である20-24才では約20%が感受性者であり、風疹の流行と妊娠の時期が重なればCRSの発生が容易におこると考えられた。一方、不十分なワクチン接種はCRS発生のリスクを増加させる可能性があることから、慎重に実施するとともに、風疹の症例数、CRSの症例数の把握できる体制の構築が重要と思われた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Otsuki N, Abo H, Kubota T, Mori Y, Umino Y, Okamoto K, Takeda M, Komase K. Elucidation of the full genetic information of Japanese rubella vaccines and the genetic changes associated with in vitro and in vivo vaccine virus phenotypes. *Vaccine*. (2011) Jan 18. [Epub ahead of print]
2. Xin JY, Ihara T, Komase K, Nakayama T. Intervirology. Amino Acid Substitutions in Matrix, Fusion and Hemagglutinin Proteins of Wild Measles Virus for Adaptation to Vero Cells (2011) Jan 13. [Epub ahead of print]

3. Sawada A, Komase K, Nakayama T. Vaccine. AIK-C measles vaccine expressing fusion protein of respiratory syncytial virus induces protective antibodies in cotton rats (2011) Feb 4;29 (7) :1481-90. Epub 2010 Dec 24
  4. Tran, D. N., Vu, M. P., Ha, M. T., Giang, T. P. L., Komase, K., Mizuguchi M, Ushijima H. Viral molecular characterization of the first congenital Rubella syndrome case in Vietnam. Clin. Lab. (in press).
  5. Phengxay M., Hayakawa Y., Phan, T. G., Tanaka-Taya, K., Ueno - Yamamoto, K., Phengta Vongphrachanh, Komase, K., Hiroshi Ushijima. Seroprevalence of rubella and measles virus antibody in Lao PDR. Clin. Lab. (in press)
  6. Suzuki J, Goto H, Komase K., Abo H, Fujii K, Otsuki N, Okamoto K. Rubella virus as a possible etiological agent of Fuchs heterochromic iridocyclitis. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. (2010) 248:1487-91.
  7. 駒瀬勝啓 日本の麻疹・風疹の現状と問題点 総合臨床 永井書店 59:435-440 (2010)
  8. 駒瀬勝啓 ワクチンを考える上で必要な臨床検査の知識 -抗体および抗体検査の意義を問題点- 臨床検査 医学書院 54(11) : 1230-1238 (2010)
  9. 染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠 麻疹の検査診断法と全数検査診断に向けた取り組み 小児科 51: 1311-1318 (2010)
  10. 染谷健二、駒瀬勝啓、竹田誠 麻疹風疹実験室ネットワーク 臨床検査 医学書院 54(11) : 1322-1327 (2010)
  11. 駒瀬勝啓 抗原抗体反応 (抗原測定、抗体測定) 臨床と微生物 近代出版 37(5) : 411-416 (2010)
2. 学会発表
    1. 關 文緒、染谷 健二、田原 舞乃、中津 祐一郎、駒瀬 勝啓、竹田 誠、麻疹ウイルス H タンパク質アミノ酸 546 番目のグリシン変異における上皮細胞への感染性および機能変化、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
    2. 扇本 真治、Bhatta Luna、加藤 誠一、綾田 稔、駒瀬 勝啓、竹内 薫、庵原 俊昭、小倉 壽、麻疹ウイルスワクチン株 AIK-C、FF-8、CAM-70 の効率的なウイルス RNA 合成と AIK-C P 蛋白による感染性ウイルス産生の抑制、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
    3. 田原 舞乃、駒瀬 勝啓、染谷 健二、關 文緒、中津 祐一郎、藤井 薫、柳 雄介、竹田 誠、麻疹ウイルス主要表面抗原 H タンパク質の抗原性変化、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
    4. 大槻 紀之、阿保 均、久保田 耐、森 嘉生、海野 幸子、岡本 貴世子、竹田 誠、駒瀬 勝啓、風疹ウイルスによるモルモットでの抗体誘導は温度感受性と一致するわけではない、第

- 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
5. 岡本 貴世子、阿保 均、大槻 紀之、森 嘉生、竹田 誠、駒瀬 勝啓、風疹ウイルス遺伝子検出による実験室診断技術の改良、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
  6. 中津 祐一郎、鈴木 忠樹、馬 学旻、関 文緒、駒瀬 勝啓、柳 雄介、竹田 誠、イメージング技術を用いた麻疹ウイルス L タンパク質の細胞内動態の解析、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
  7. 木所 稔、駒瀬 勝啓、Tuul Renchin、モンゴル国内で流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
  8. 澤田 成史、駒瀬 勝啓、中山 哲夫、RS ウイルス外殻タンパクを発現するキメラ麻疹ウイルスの免疫能の検討、第 58 回日本ウイルス学会学術集会、徳島県郷土文化会館、2010 年 11 月 7 日～9 日
  9. 澤田 成史、駒瀬 勝啓、中山 哲夫、RS ウイルスの外殻タンパクを発現するキメラ麻疹ウイルスの免疫原性の検討、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、九段会館、2010 年 12 月 11 日～12 日
  10. 田原 舞乃、駒瀬 勝啓、染谷 健二、関 文緒、中津 祐一郎、藤井 薫、柳 雄介、竹田 誠、麻疹ウイルスの抗原性変化、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、九段会館、2010 年 12 月 11 日～12 日
  11. 扇本 真治、伊藤 千慧、Bhatta Luna、加藤 誠一、綾田 稔、駒瀬 勝啓、竹内 薫、庵原 俊昭、小倉 壽、麻疹ウイルスワクチン株 AIK-C、FF-8、CAM-70 の効率的なウイルス RNA 合成と AIK-C P 蛋白による感染性ウイルス産生の抑制、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、九段会館、2010 年 12 月 11 日～12 日
  12. 大槻 紀之、阿保 均、久保田 耐、森 嘉生、海野 幸子、岡本 貴世子、竹田 誠、駒瀬 勝啓、T0-336 麻疹ワクチン株及びその関連株における温度感受性とモルモットにおける抗体誘導能の比較、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、九段会館、2010 年 12 月 11 日～12 日
  13. 阿保 均、森 嘉生、岡本 貴世子、大槻 紀之、竹田 誠、駒瀬 勝啓、麻疹ウイルス遺伝子検出 RT-LAMP 法の改良、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、九段会館、2010 年 12 月 11 日～12 日
  14. 木所 稔、駒瀬 勝啓、Tuul Renchin、東アジアで流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析、第 14 回日本ワクチン学会学術集会、九段会館、2010 年 12 月 11 日～12 日
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 なし
  2. その他 なし

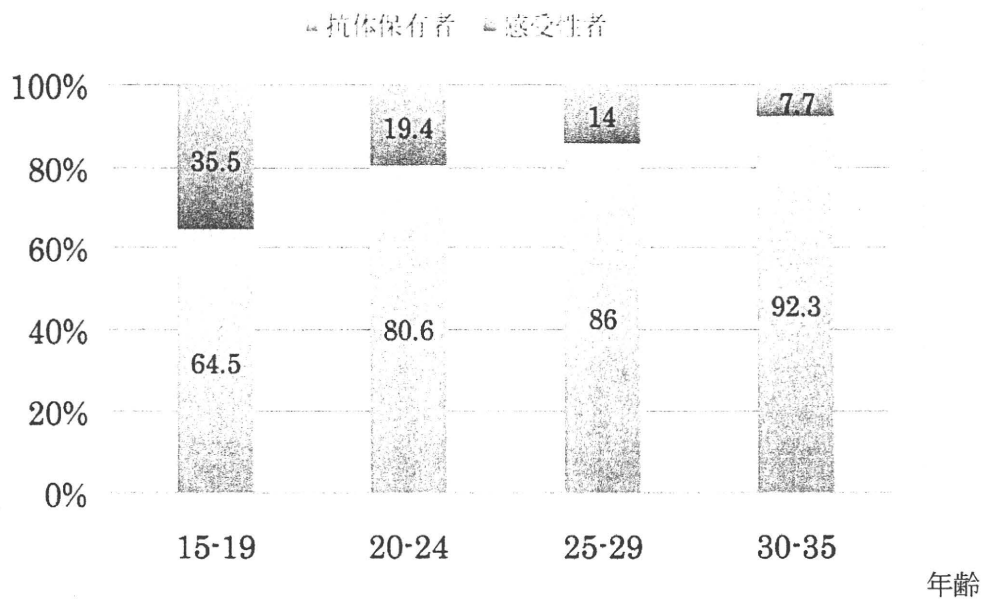


図 1. 15 才～35 才における風疹の抗体保有率と感受性者率

## アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究

ラオス・ビエンチャン市における妊娠可能年齢の女性を対象とした  
風疹の血清疫学調査について ～調査対象者の全体像と危険因子～

研究分担者 山本 久美 (国立感染症研究所感染症情報センター 協力研究員)  
駒瀬 勝啓 (国立感染症研究所ウイルス3部)

**研究要旨** ラオス国内において、先天性風疹症候群(CRS)発生の危険性を検討するために、妊娠可能年齢の女性に対する風疹の血清疫学調査を実施した。ラオス・ビエンチャン市に所在し産婦人科医療を提供する中心的な役割を担う4つの医療機関を受診した15歳から35歳の女性、合計784名(年齢中央値:25.1歳)に関して検討した。結果として、ラオスの国内状況に関連したWHO/UNICEFによるデータと比較すると、本調査の対象は教育、および医療水準が比較的高い集団であったと考えられたが、風疹に対するワクチン接種歴のあるものはいなかった。風疹の抗体保有率に関しては、全体で83.2%(95%CI:80.4%–85.7%)で、年齢が高くなるに従って、抗体保有率は上昇していた。居住地、結婚、妊娠、教育水準、職業、社会経済水準等に関するインタビュー調査の結果、風疹抗体保有とこれらの因子に関しては、いずれの因子も風疹の抗体保有との関連性は認められなかった。

本調査は、ラオスにおいて初めてとなる妊娠可能年齢の女性における過去の風疹感染の状況を測るものであり、公衆衛生上のインパクトは非常に大きいと考える。しかしながら、今回の結果は、あくまでも2010年の一時点での、かつラオス国内でも教育・医療水準の比較的高い可能性のある集団に対する調査であることに注意が必要である。今後、本調査における更なる記述疫学の実施とともに論文化に向けて、ラオスのチームに対する積極的なサポートを継続していくとともに、ラオス国内における風疹およびCRSの各サーベイランス体制の確立、風疹ワクチンの定期接種導入に向けての技術的サポートも必要と考えられる。

### A. 研究目的

本研究班において、駒瀬勝啓ウイルス第三部第一室長を代表とする我々のグループでは、2009年、ラオス・ビエンチャン市内における小学生の麻疹風疹の血清疫学調査を実施した。男児201名、女児211名の計411名に対する血清疫学調査の結果、全体で、風疹に関しては43.6%、麻疹では97.6%が抗体陽性であった。麻疹の抗体保有率に関しては、本調査の直前に実施された麻疹ワクチン接種キャンペーンが影響していると考えられた。

これに次いで、2011年は先天性風疹症候群

(CRS)発生の危険性を含めて検討するために、妊娠可能年齢の女性に対する風疹の血清疫学調査を実施した。

ラオスではいまだに風疹およびCRSに対する患者および病原体のサーベイランス、定期接種としての風疹ワクチンが導入されておらず、国として風疹に対する情報が皆無に近い。2012年を目標とした麻疹のeliminationに向けた活動がWHO西太平洋地域(以下、WPRO)全体でさらに活発になる中、MRワクチンあるいはMMRワクチンの使用に絡んで風疹対策をめぐる公衆衛生上の重要性がますます



ます重要になってきている。

本調査を実施する意義として、ラオスにおける風疹をめぐる公衆衛生の改善に重要な情報を与えることができるのはもちろんのこと、本調査を通して、ラオスの国立検査疫学センター(National Center for Laboratory and Epidemiology: NCLE)に対する国際的な技術協力を行うことで、NCLEのLab. capacity buildingを図ることがあげられる。さらに、同じWPROに所属する国として、ラオスにおける風疹ワクチンの定期接種化の推進等を含めた今後の中長期的な連携体制を構築することも大きな目標の一つとしている。

## B. 研究方法

2010年10月25~29日、11月1~5日の合計10日間において、ラオス・ビエンチャン市に所在し産婦人科医療を提供する中心的な役割を担う以下の4つの医療機関：Mahosot, Mittaphab, Sethathirath hospitals, Mother and Child Hospital (MCH)を受診した15歳から35歳の女性で同意が得られたものを対象に、採血および質問票によるインタビュー調査を行い、風疹に対する抗体をEIA法で測定するとともに、風疹の抗体保有と危険因子との関連を、EpiData (European Field Epidemiology Training Program: EPIET 提供)を用いて解析した。質問票の内容としては、年齢、結婚の有無、妊娠および出産の詳細、家族の人数、居住する村等における居住者の数、職業、収入の程度、教育レベル、麻疹・風疹・破傷風に関するワクチン接種歴等とした。本調査の実施主体はNCLE、およびラオスField Epidemiology Training (FET)コースとし、NIID、およびWHOWPR LaoPDR Officeがサポートする体制で実施した。風疹抗体の測定に関する詳細は、駒瀬研究分担者の報告を参照のこと。

(倫理面への配慮について)

本研究に関連する検体、検体採取、検査、結果解析は全てラオス国内で実施しており、倫理面に関しては、ラオス国内の倫理委員会の承認を得たうえで、対象者には十分に説明したうえで同意が得られたもののみ実施した。

## C. 研究結果

本調査対象の全体像に関して述べる。

医療機関別にそれぞれMahosot 193名(22.8%)、Mittaphab 223名(28.4%)、Sethathirath 251名(32.1%)、MCH 131名(16.7%)の合計784名の協力を得ることができた。年齢中央値は25.1歳(95%信頼区間(CI)：24.7-25.4)で、その年齢の内訳は15~19歳62名(7.9%)、20~24歳330名(42.1%)、25~29歳(31.9%)、30~35歳142名(18.1%)であった。

結婚の有無に関しては、独身148名(18.9%)、既婚632名(80.6%)、離婚2名(0.3%)、返答拒否2名(0.3%)であった。妊娠中のものは545名(69.5%)、そうでないものは239名(30.5%)であった。

職業は、主婦272名(34.7%)、事務職員237名(30.2%)、販売員91名(11.6%)、学生83名(10.6%)、無職56名(7.1%)、農業18名(2.3%)、その他27名(3.4%)という内訳であった。

教育レベルに関しては、大学修了者101名(12.9%)、高校修了者416名(53.1%)、中学修了者172名(21.9%)、小学校修了者92名(11.7%)、学校に未修学のもの3名(0.4%)という結果であった。

麻疹・風疹・破傷風のワクチン接種歴に関しては、以下の通りであった。麻疹：1回17名(2.2%)、2回24名(3.1%)、なし411名(52.4%)、不明332名(42.3%)、風疹：あり0名(0.0%)、なし784名(100.0%)、

破傷風：1回 47名(6.0%)、2回 101名(12.9%)、3回 85名(10.8%)、4回 81名(10.3%)、5回 358名(45.7%)、なし 19名(2.4%)、不明 93名(11.9%)。

風疹の抗体保有率に関しては、全体で83.2%(95%CI：80.4%－85.7%)で、年齢が高くなるに従って、抗体保有率は上昇していた(詳細は駒瀬研究分担者報告書参照のこと)。

風疹の抗体保有と生活環境・社会的因子との関連に関しては、表1に示した。いずれの因子も風疹の抗体保有との関連性は認められなかった。

#### D. 考察

##### 1. 本調査対象の全体像について

本調査は、首都であるビエンチャン市内において産婦人科医療を担う主要な4医療機関にて行われたものである。WHO/UNICEFによる2007年の“Child Survival Profile, Lao PDR”によると、ラオス国内における識字率は74%で、女性に関しては64%と報告されている。加えて、WHO/UNICEF, “Review of National Immunization Coverage 1980-2007, Lao PDR” August 2008によると、2007年の小児における定期接種率ではDPT(3回接種済み者)50%、麻疹40%と報告されている。これらのデータと比較すると、本調査の対象は教育レベル、および医療水準が比較的高い集団であったと考えられる。近年、急速に経済的発展を遂げているラオスであるが、地方から都市部への人口流入が明らかで、地方に住む人口の割合は、1995年83%から2005年72.9%に減少しているという報告もあるものの、本調査の結果がラオス国内の全ての15~35歳の女性を代表しているとは言い難い。しかしながら、ラオス国内で比較的教育・医療水準が高いと

考えられるこれらの集団においても、風疹ワクチンを過去に接種したことがあるものはおらず、全体で8割程度の抗体保有率(全て感染による)であり、年齢が上がるにつれて抗体保有率が上昇するという結果は、ラオス国内においては、風疹ワクチンの有効活用がなされない限り、今後も継続的に風疹の流行、CRSの発生が続くことが懸念される。

##### 2. 風疹の抗体保有率と危険因子について

危険因子に関する解析の結果、いずれの因子も統計学的有意差は見られなかった。これは、風疹の抗体保有、本調査においては風疹の“感染”ということに関しては、どのようなところに住んでいるか、職業は何か、教育、社会経済的水準、過去の妊娠等の状況はいずれも関連はなく、本調査対象の女性においては、どのような生活・社会的環境にあっても、風疹感染の危険性において違いはなかったと解釈される。

##### 3. まとめと今後の活動計画：

本調査はラオスにおいて初めてとなる妊娠可能年齢の女性における風疹の感染の状況を測るものとなった。今回の結果はラオス国内の公衆衛生上のインパクトは非常に大きいと考える。しかしながら、今回の結果は、あくまでも2010年の一時点での、かつ国内でも教育・医療水準の比較的高い可能性のある集団に対する調査であること、過去の風疹の流行状況に関する情報が全くないこと等に注意が必要である。

現在、ラオスにおいては、風疹やCRSに関する患者および病原体のサーベイランスは一切行われておらず、流行の傾向や発生の全体像等が全く不明の状態である。今後は国内の他の地域も視野に入れた血

清疫学調査の実施のみならず、各サーベイランス体制の確立が急務であるとする。

本調査においては、妊娠の有無における抗体保有率の状況、それぞれの教育・社会経済的レベルでの抗体保有率の違い等、さらに記述疫学を深めた上で、論文化に向けて、ラオスのチームに対する積極的なサポートを継続していく必要があると考える。

#### E. 結論

ラオス国内において、CRS 発生の危険性を含めて検討するために、妊娠可能年齢の女性に対する風疹の血清疫学調査を実施した。

ラオス・ピエンチャン市に所在し産婦人科医療を提供する中心的な役割を担う 4 つの医療機関を受診した 15 歳から 35 歳の女性、合計 784 名(年齢中央値：25.1 歳)に関して検討した。結果として、本調査の対象は教育、および医療水準が比較的高い集団であったと考えられたが、風疹に対するワクチン接種歴のあるものはいなかった。風疹の抗体保有率に関しては、全体で約 8 割程度で、年齢が高くなるに従って、抗体保有率は上昇していた。インタビュー調査の結果、風疹の抗体保有と生活・社会的因子との関連に関しては、いずれの因子も関連は認められなかった。

本調査はラオスにおいて初めてとなる妊娠可能年齢の女性における風疹の感染の状況を測るものであり、公衆衛生上のインパクトは非常に大きいと考えるが、今回の結果は、あくまでも 2010 年の一時点での、かつ国内でも教育・医療水準の比較的高い可能性のある集団に対する調査であることに注意が必要である。今後、本調査における更なる記述疫学の実施とともに論文化に向けてラオスのチームに対する積極的なサポートを継続していくとともに、ラオス国内における風疹および CRS の各サーベイランス体制の確立、風疹ワクチンの定期接種導入に向けての技術的サポートも必要と考えられる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表 (著書を含む)

1) Phengxay M., Hayakawa Y., Phan, T.G., Tanaka-Taya, K., Ueno - Yamamoto, K., Phengta Vongphrachanh, Komase, K., Hiroshi Ushijima. Seroprevalence of rubella and measles virus antibody in Lao PDR. Clin. Lab. (in press)

##### 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

##### 3. その他

なし

表 1：風疹の抗体保有と生活・社会的因子の関連

Risk Factor	Chi Square*	P value
<b>Number of pregnancies</b>	2.96	0.08
<b>Number of live births</b>	37.8	0.73
<b>Number of households</b>	25.1	0.91
<b>Number of villagers</b>	28.6	0.73
<b>Socio-economic status</b>	0.27	0.60
<b>Occupations</b>	1.93	0.16
<b>Educational level</b>	1.93	0.16

\* Adjusted for age

厚生労働科学研究補助金（新興再興感染症研究事業）

平成22年度 分担研究報告書

アジアの研究機関との連携におけるラボラトリーネットワークの強化に関する研究

研究科題名 ベトナムにおける風疹の血清および分子疫学調査ならびに風疹迅速診断法の開発

分担研究者

藍野大学 藍野健康科学センター  
国立感染症研究所ウイルス第3部

牛島廣治  
駒瀬勝啓

研究協力者

東京大学 医学系研究科  
Pasteur Institute, Ho Chi Minh City  
Children's Hospital 2, Ho Chi Minh City  
イムノプローブ社

Tran Dinh Nguyen  
Nguyen Minh Phuong  
Ha Manh Tuan  
野村裕子

研究要旨

ワクチンが定期接種となっていないベトナムにおいて風疹の遺伝子診断と分子疫学を行った。先天性風疹症候群および風疹児の遺伝子解析をした。これらはインド、中国、韓国で見られる2Bであった。解析したE1領域で僅かであるが型内の変異がみられた。資料としてベトナム南部の風疹の情報および迅速診断法の開発の情報を加えた。国立感染症研究所、東京大学、ホーチミンのパスツール研究所・小児病院との連携・共同研究が進んだ。

#### A. 研究目的

風疹ウイルスは、1本鎖(+)RNAウイルスであり、9762の塩基である。グアニジンとシチジンを多く含んでいる。また、2つのORFを有する。5'側のORFは、非構造蛋白のp150とp90で、3'側のORFは構造蛋白でカプシドと2つのE1, E2膜蛋白を有する。E1はリガンドとしての作用および中和能を有する。また3つの非翻訳部分があり、5'側末端、3'側末端と2つのORFの間に存在する。風疹ウイルスは1つの血清

型であるが、遺伝子型はE1領域の739塩基によって分けられる。2つのCladesと4つの関連する遺伝子型がある。Clade 1は世界で流行しているが、Clade 2はアジア、ヨーロッパの一部の国に限られている。しかし、遺伝子型がはっきりしないものがある。

1969年にワクチンが国際的に使用され始めた。しかし風疹ワクチンが依然としてなされない国がある。風疹に妊娠初期に罹患すると、流産やCRSの原因となる。ここでは、前回の1例の報告に続いて、その後

2009～2010 年に見られた野生株の風疹ウイルスの遺伝子解析を報告する。この研究はホーチミン第二小児病院で認可された。

## B. 研究方法

2009～2010 年にかけて CRS の 3 乳児および風疹の 3 小児の咽頭ぬるぐい液を採取した。ウイルス RNA は QiaAmp で抽出した。ランダムプライマーを用いて cDNA を作り、E1 領域を 2 つのプライマーで PCR をした。さらに 2nd PCR を行い、その後遺伝子解析をした。WHO が推薦する全遺伝子型の対照株のシークエンスと比較した。最終的には E1 領域の 739 塩基を比較した。

## C. 研究結果

6 つの株すべてに 739 塩基の遺伝子解析がなされた。すべて 2B であった。WHO の 2B の標準株と比較すると 1.9～7.2% の差があった。他の遺伝子型とは 6.8～13.1% の差があった。

## D. 考案

風疹はワクチンで予防できる病気である。ベトナムでは EPI プログラムに含まれず、風疹および CRS が常に発生する。われわれの今回の 6 症例は 2B に属していた。世界の多くの国では Clade1 のウイルスが検出され、Clade2 は限定されている。2B は今まで、インド、中国、韓国で見出されており、今回新しくベトナムでも見出した。

## E. 結論

ベトナムの先天性風疹症候群の 3 例および風疹の 3 例の児から、遺伝子型 2B のウイルスを検出した。ベトナムでの初めて

の遺伝子型の報告である。

## F. 健康危害情報

とくに該当なし。

## G. 論文発表

1. Tran D. N., Vu M. P., Ha M. T., Giang T. P. L., Komase K., Mizuguchi M., Ushijima H. Viral molecular characterization of the first congenital Rubella syndrome case in Vietnam. Clin. Lab. (in press).
2. Phengxay M., Hayakawa Y., Phan, T. G., Tanaka-Taya, K., Ueno - Yamamoto, K., Phengta Vongphrachanh, Komase, K., Hiroshi Ushijima. Seroprevalence of rubella and measles virus antibody in Lao PDR. Clin. Lab. (in press).
3. Hayakawa Y., Zhou Y., Mizoguchi M., Frey TK, Ushijima H. Quantitative and qualitative assay of reubella IgA antibody in breast milk. J Med Virol. 82 (8): 1475-1479 (2010)
4. 生島廣治, 太田由己, 早川有子: 将来的なワクチンの展望 シンポジウム「日本のワクチンの展望」日本小児科医会会報 38:27-41, 2009

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

## 資料 1.

ベトナム南部の風疹に関する情報

はじめに

協力者であるパスツール研究所の Nguyen Minh Phuong 研究者を訪問しベトナム南部およびホーチミン市の風疹の疫学情報を得たことによる。

ベトナムの感染症には、マラリア、下痢症、呼吸器疾患、デングなどの他にワクチンで予防可能な疾患もある。ベトナムでは EPI プログラムが結核、ポリオ、DPT、麻疹、B 型肝炎において行われている。麻疹は全国のワクチン接種によって減少した。また 2005 年から 6 歳以降に再接種のキャンペーンが行われている。現在、麻疹ワクチンは 95% 以上の接種率と言われている。

一方、風疹ワクチンは EPI プログラムに含まれていない。ベトナムでの風疹、先天性風疹症候群 (CRS) の疾病負担については良くわかっていない。2003 年に全国レベルでの発熱・発疹のサーベイランスが行われたが、これは麻疹の流行を調べる目的であった。ベトナム南部はホーチミンなど 20 の地区 (県に相当) に分けられる。そして各地区には予防医学センターがある。そこでは地区内のサーベイランスをし、その結果をホーチミン市にあるパスツール研究所に報告される。

## 2. 3つの情報

資料表 1 はベトナム南部とホーチミン市の人口動態である。2009 年南ベトナムでは約 350 万人、その中でホーチミン市が 88 万人である。表から人口の増加がみられる。1 歳以下の子ども、妊婦、妊娠可能な年齢の女性が、ベトナム南部およびホーチミン市でそれぞれ 58 万人、56 万人、263 万人と 11 万人、9 万人、不明である。

資料表 2 は調査された発熱・発疹の患者数

と血清診断の結果である。麻疹のワクチンが行われたために麻疹が発熱・発疹に占める割合が少なくなった。即ち、麻疹のワクチンがなされたために、風疹の割合が 40% 台から 60~70% に高くなった。しかし 2009 年に麻疹の流行があった。これはワクチンの供給が悪く、流行が見られたと言われている。

資料表 3 はさらに 2009 年 8 月から 9 月にかけてベトナム南部の An Giang 地区において妊娠年齢期の女性に風疹抗体価が調べられた。9 歳から 44 歳までの 80 人である。60.3% の女性が抗体を持っていた。従って自然感染があったことを示す。同時に 40% 陰性であることは CRS の危険性を示している。風疹の流行があった時、CRS の危険性があることを示している。

## 3. 検査の状況

ベトナムでは日常診療においては風疹は臨床診断としておこなわれるだけで、検査はなされていない。その理由として (1) CRS を除くと、麻疹にくらべて軽症で済む。(2) 現在検査としての確定診断は血清診断である。血液を取って調べるのに 6 ドル/日かかる。(3) 風疹はすぐ良くなるために、あまりその後 3~4 日後に血液検査には行かない。(4) サーベイランスシステムが組織だてて行われない。

## 4. 予防の難しさ

(1) 風疹ワクチンは一部のセクターだけでしか行われない。10 ドル/日はベトナムでは高価である。(2) ベトナムの女性は妊娠前に受診する。したがって風疹ワクチンについて話がなされない。(3) 妊娠可能な年齢の女性に CRS に対する教育や情報は十分でない。

## 資料2. 風疹のイムノクロマト法による迅速診断法の開発

### 1. 研究目的

この研究はイムノプローブ社の協力のもとで行われた。

風疹は麻疹と同様に発疹、発熱を伴う疾患で大方の場合は臨床診断がつくが、時に区別がつきにくく血清診断または遺伝子診断によりことがある。血清診断の場合は従来酵素抗体法が用いられていたが、この方法は大量の検体を同時に取り扱うことができる長所がある一方、測定器の必要、煩雑さなど欠点がある。最近、1 検体ずつで抗原あるいは抗体を調べるイムノクロマト法がウイルス抗原あるいは抗体を調べる方法として開発されてきた。我々は下痢症ウイルスであるロタウイルス、ノロウイルスについて抗原検出のためのイムノクロマト法を開発してきたことから今回風疹 IgM の抗体測定キットの開発を考えた。現時点キット化するところまでは行っていない。

### 2. 研究方法と結果

分離風疹ウイルス細胞培養ウイルスを培養し、超遠心法を用いてウイルス抗原を得た。このウイルスを用いて家兎に免疫を行い高力価の IgG 抗体を得た。酵素抗体法を用いて抗体の力価を測定した。さらに抗体を精製しポリクローナル IgG 抗体でも同様に高力価の抗体を得ることが出来た。IgM, IgG モノクローナル抗体を作製し、現在抗体価

を調べている。

抗体の測定のためには安定した大量の抗原があったほうが良い。培養して精製すること以外に大腸菌での発現、その他の抗原の作製を試みている。

### 3. 考案

現時点では抗体検出用のイムノクロマトの作製は出来ていないが、まずそのための標準血清として家兎のポリクローナル抗体やマウスモノクローナル抗体の作製を行った。抗原測定のイムノクロマトは現時点では可能だが、抗体測定に関しては系をこれから組み立てる予定である。資料2 図1として酵素抗体法による抗体測定をしめす。

#### 今後の方針

ベトナムでは風疹ウイルスの分子疫学的な研究がなされていなく我々が最初である。パスツール研究所との交流において酵素抗体法を用いた疫学的な調査は可能な事がわかった。我々の分子疫学的は調査を今後ベトナムでルーチンの情報として希望される。さらにベトナムに加えその他の東南アジアとのネットワーク作りが期待される。

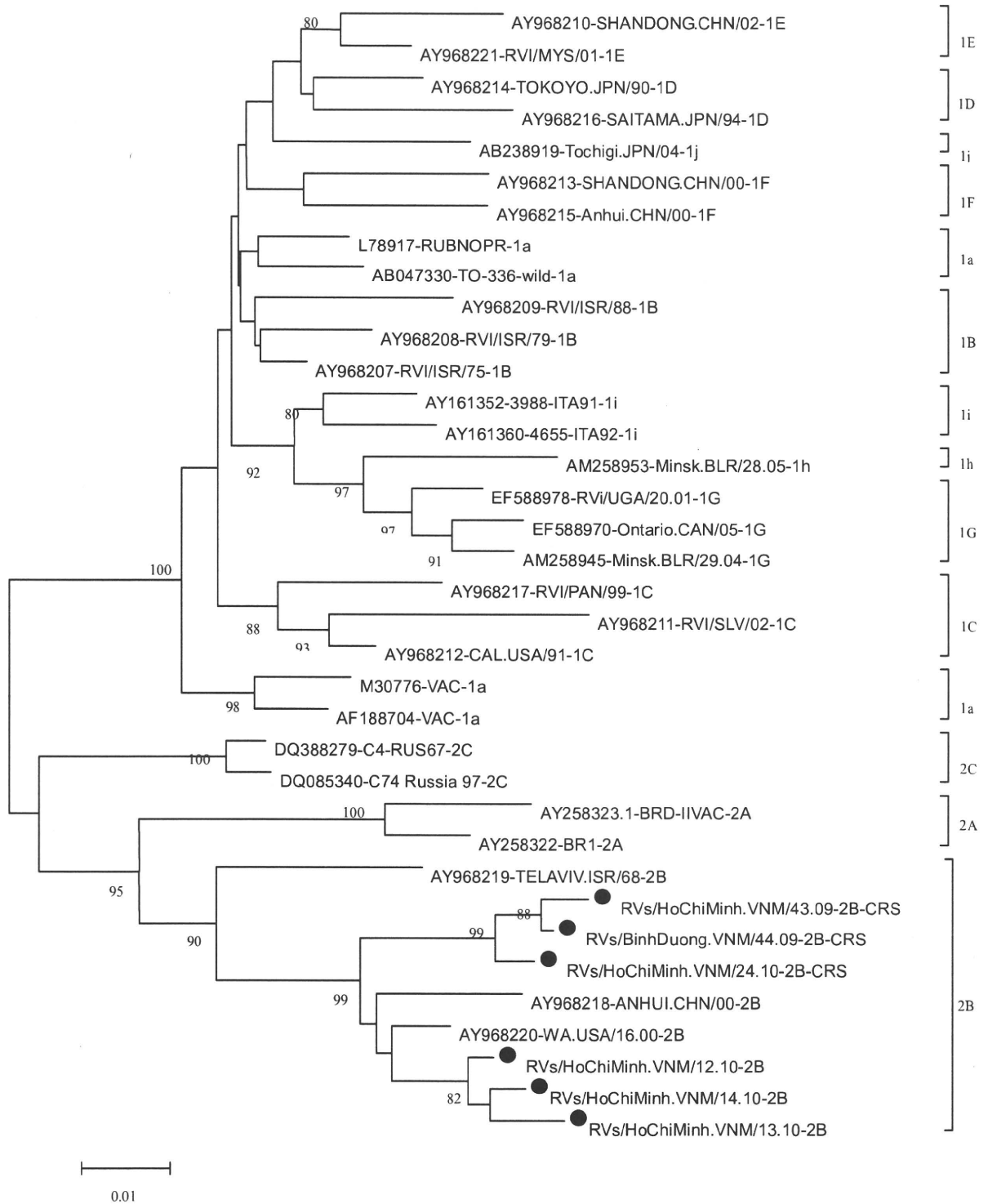
本来の研究目的に加え、ベトナムにおいて風疹のワクチンが定期接種になっていないことは、今後とも先天性風疹症候群が発症する危険性を有している。このことは妊娠可能な年齢の女性の60%ほどのみが抗体を有することから理解できる。ベトナムのみならず近隣の途上国の国々でも同様にあり早急のワクチンの定期接種が望まれる。



Table 1. Rubella virus primers

	Primers	Sense	Sequence 5' to 3'
1 <sup>st</sup>	GRUB739F1	+	CCCACCGACACCGTGATGA
	GRUBR1	-	CCAGGTCTGCCGGGTCTC
2 <sup>nd</sup>	GRUB739F2	+	GTGATGAGCGTGTTCGCCC
	GRUB765	-	GCDGTGGTGTGTGTGCC

Figure 1. Phylogenetic tree was constructed from the studied strains and the reference strains recommended by WHO using the window of 739 nts within the E1 gene (nt 8731-9469) [3] with MEGA 3.1 software. Bootstrap values of greater than 70 % are shown at the branch nodes. The RV strains in this study are marked with solid round.

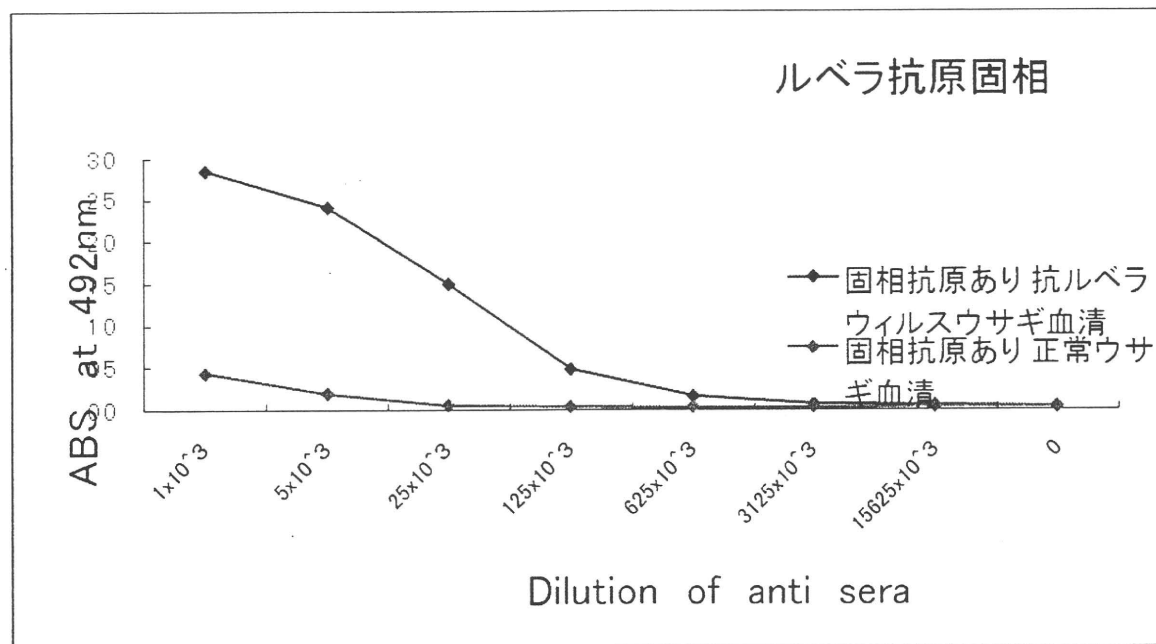


資料1 表1. Demographic figures of the South of Vietnam

		2005	2006	2007	2008	2009
South of Vietnam	Population	30,582,861	30,618,528	30,685,639	32,269,244	34,549,972
	<1yr old	564,618	564,865	564,725	555,033	582,048
	Pregnant women	568,604	575,360	589,128	566,010	567,986
	15-35 yr old age women	4,322,250	NA	3,014,620	2,004,920	2,630,537
Ho Chi Minh City	Population	6,068,993	6,170,932	6,068,933	6,650,942	8,867,500
	<1yr old	97,500	98,000	101,095	101,095	112,084
	Pregnant women	97,500	98,000	101,095	101,095	90,361
	15-35 yr old age women	849,659	NA	869,459	NA	NA

Source: Pasteur Institute at Ho Chi Minh City

資料2 図 精製風疹ウイルス粒子を用い、家兎免疫でのIgG抗体



資料1 表2

Year	Region	Febrile rash illness cases	Serodiansis							
			Selected samples	%	Measles			Rubella		
					Pos	Neg	%Pos	Pos	Neg	%Pos
2005	HCMC	2,336	804	34	1	803	0.1	342	462	42.5
	South VN	3,942	2,280	58	5	2,275	0.2	1,114	1,166	48.9
2006	HCMC	NA								
	South VN	NA								
2007	HCMC	1,388	954	69	1	953	0.1	635	341	66.6
	South VN	4,810	3,248	68	8	3,240	0.2	2,215	1,033	68.2
2008	HCMC	47	25	53	0	25	0	19	6	76.0
	South VN	977	520	53	4	516	0.8	361	159	69.4
2009	HCMC	NA	NA		717 (1death)			29 <sup>a</sup>		
	South VN	4,505	NA		2,061			NA		
2010	HCMC							41 <sup>b</sup>		
	South VN	NA								

Source: Pasteur Institute at Ho Chi Minh City

<sup>a,b</sup>: Data from Preventive Medicine Center at Ho Chi Minh City

<sup>b</sup>: From January to October 2010

資料1 表3.

Age	Number of participants	Anti-Rubella IgG positive (%)
<15	9	2 (22.2%)
15-35	58	35 (60.3%)
>35	13	10 (76.9%)
Total	80	47 (58.8%)