

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

2012 年麻疹排除にむけた取り組みと進捗状況

分担研究者 多屋 馨子 国立感染症研究所感染症情報センター第三室長  
研究協力者 麻疹対策技術支援チーム\*

\*麻疹対策技術支援チーム：国立感染症研究所感染症情報センター（岡部信彦、神谷元、島田智恵、砂川富正、多田有希、多屋馨子、中島一敏、安井良則、八幡裕一郎、山下和予、他）、国立感染症研究所実地疫学専門家養成コース、国立感染症研究所ウイルス第三部、厚生労働省健康局結核感染症課、文部科学省スポーツ・青少年局学校健康教育課

**研究要旨** 2012 年の国内麻疹排除に向けて、取り組みを強化した。麻疹排除に向けた取り組みとしては、「1 例発生したらすぐ対応！」「2 回の予防接種率をそれぞれ 95%以上に！」「麻疹と診断したら麻疹ウイルス直接検出による検査診断を！」が重要な柱と考えているが、各種ガイドラインの改定を実施し、それぞれ第 3 版として国立感染症研究所感染症情報センターのホームページに掲載した。接種率に関しては、2011 年 9 月末、12 月末の接種率について、中間報告としてまとめ厚生労働省に報告した。麻疹の発生状況を考慮すると、2011 年わが国は麻疹輸出国から麻疹輸入国に転じたと考えている。今後は、全例の検査診断をより徹底し、海外渡航前の予防接種や、海外からの輸入例からの感染拡大防止に向けた取り組みを一層強化することが必要である。これを目的に、麻疹検査診断の考え方をまとめ、国の麻疹対策会議に提出した。

**A. 研究目的**

2007 年 12 月 28 日に告示された「麻しんに関する特定感染症予防指針」に基づき、わが国は 2012 年度を麻疹排除の目標年としている。本研究班では、2012 年度までに国内から麻疹を排除し、またその状態を維持することを目的に様々な検討を行うことを目的とした。

**B. 研究方法**

「1 例発生したらすぐ対応！」「2 回の予防接種率をそれぞれ 95%以上に！」「麻疹と診断したら麻疹ウイルス直接検出による検査診断を！」を対策の 3 本柱として、それぞれについて対応を実施した。

（倫理面への配慮）

本研究では、取り扱う情報の中に個人が特定されるような情報は含まれない。もし含まれたとしても、機密保護を徹底し、それを研究の結果として含むようなことはしない。従って研究成果の公表にあたって個人的情報が含まれることはない。

**C. 研究結果**

1) 各種ガイドラインの改定を行った。

（別添：資料 2）

1. 麻しん排除に向けた積極的疫学調査ガイドライン 第三版
2. 医師による麻しん届け出ガイドライン 第三版
3. 医療機関での麻しん対応ガイドライン

### 第三版

2) 2011 年度 9 月末、12 月末時点の麻疹ならびに風疹ワクチンの接種率について厚生労働省健康局結核感染症課とともに調査し、国立感染症研究所感染症情報センターで集計を行った。(別添:資料 2)

3) わが国の麻疹の発生状況は、2008 年の 11,012 人と比較すると、2009 年は 732 人、2010 年は 455 人、2011 年は 434 人(人口 100 万対 3.58)で、検査診断例は 311 (修飾麻疹 110 を含む)、臨床診断例は 123 であった(2012 年 1 月 5 日現在報告数)。麻疹排除を達成するためには、麻疹と診断した場合の全例の検査診断の実施が不可欠であることから、検査診断の考え方をまとめて、国の麻疹対策会議に提出した。(別添:資料 2)

### D. 考察

2011 年のわが国の麻疹患者報告数は 2008 年と比較すると大幅な減少になっており、麻疹ウイルスの検査診断結果(遺伝子型の検討)から考えて、わが国は麻疹輸出国から麻疹輸入国に転じたと考えている。このような状況において、今後は「1 例発生したらすぐ対応」の強化と、「検査診断に基づく質の高い全数サーベイランスの実施」、「2 回の予防接種率を 95%以上に」することが最も重要である。

海外で感染して国内で発症する輸入例が後をたたないことから考えて、改訂した医療機関における麻疹対応ガイドラインや、積極的疫学調査ガイドラインを活用して、検査診断による麻疹の全数報告を徹底していくことが 2012 年度の国内麻疹排除に向けた取り組みとして必要な対策ではないかと考える。

### E. 結論

わが国の麻疹患者報告数は対策の成果により激減しているが、海外で感染して国内で発症する輸入例が後を絶たないことから、輸入麻疹へ

の対策とともに、2 回の接種率を 95%以上にする取り組みが必要である。また、全例の検査診断に基づく、質の高い全数サーベイランスの実施が必要である。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

(書籍)

1. 多屋馨子、岡部信彦: 予防接種概論. pp186-200. 編集田代真人、牛島廣治、ウイルス感染症の検査・診断 スタンダード. 羊土社. 東京、2011
2. 岡部信彦、多屋馨子: 2011 (平成 23 年) 予防接種に関する Q & A 集. 一般社団法人日本ワクチン産業協会. pp1-178, 2011
3. 多屋馨子: 感染症とワクチン. pp 141-152, 一般社団法人日本病院薬剤師会. 薬剤師のための感染制御マニュアル第 3 版. 薬事日報社, 2011
4. 多屋馨子: 予防接種(ワクチン)、ウイルス、風疹、流行性耳下腺炎、麻疹、水痘. pp381-386, 社団法人日本感染症学会. 感染症専門医テキスト第 1 部解説編. 南江堂. 東京, 2011
5. 多屋馨子: HHV-6, HHV-7. 編集岡部信彦. 小児感染症学 改訂第 2 版. 診断と治療社、東京、2011
6. 多屋馨子: VI ワクチン各論 1. 麻疹・風疹ワクチン. 公益社団法人日本産婦人科医学会, 2. 流行性耳下腺炎(おたふくかぜ) ワクチン, 3. 水痘ワクチン. 公益社団法人日本産婦人科医学会. ワクチンのすべて. 57-64、2011
7. 多屋馨子: 麻疹風疹混合ワクチン 2 (風疹ワクチン中心). 小児科学レクチャー 2011 年よくみる子どもの感染症 Q&A. 編集 細矢

## 別紙 3

- 光亮. 総合医学社. 285-294、2011 (2011.06)
8. 多屋馨子：妊娠と予防接種. 母子感染. 編集 川名尚、小島俊行. 金原出版株式会社. 117-121、2011
9. 多屋馨子：麻疹・風疹ワクチンの2回接種の必要性. 皮膚科臨床アセット 3 ウイルス性皮膚疾患ハンドブック. 編集 古江増隆、浅田秀夫. 中山書店. 208-210、2011
10. 多屋馨子：ウイルス感染症にどう対処するか 麻疹. 小児科学レクチャー1 巻 2 号 Page285-294、2011.
2. 多屋馨子：ワクチンと VPD(vaccine preventable disease)に関する最近の話題. 日本小児感染症学会. (2011.11)
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし
- (雑誌)
11. Baba K, Okuno Y, Tanaka-Taya K, Okabe N. : Immunization coverage and natural infection rates of vaccine-preventable diseases among children by questionnaire survey in 2005 in Japan. Vaccine. 29 : 3089-3092, 2011
12. 多屋馨子：2012 年麻疹排除にむけて. 小児科臨床. 65 巻 2 号 Page335-346(2012.02)
13. 多屋馨子：ワクチンプログラム. 総合臨床 60 巻 11 号 Page2176-2183(2011.11)
14. 多屋馨子：今日のワクチン事情 MR ワクチン 2012 年麻疹排除へ向けた現状は?薬局 62 巻 8 号 Page3018-3026(2011.07)
15. 多屋馨子：ワクチンと行政. INFECTION CONTROL 20 巻 6 号 Page609-613(2011.06)
16. 多屋馨子：麻疹排除プロジェクトの総括と今後の課題. 保健師ジャーナル. 67(12). 1063-1070、2011
17. 多屋馨子：第 3 期、第 4 期の麻しん・風しん予防接種について. 学校保健. 293:11-12, 2012
2. 学会発表
1. 多屋馨子：検査診断に基づいた麻疹排除の達成をめざして現状と課題 麻疹の流行状況について. 日本臨床ウイルス学会.

## II. 風疹

平成23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

ワクチン戦略による麻疹および先天性風疹症候群の排除，およびワクチンで予防可能疾患の疫学並びにワクチンの有用性に関する基礎的臨床的研究（岡部班）

分担研究報告書

『分担研究課題 先天性風疹症候群および妊娠にむけた予防接種等で抑制可能な感染症に関する研究』

研究代表者：岡部信彦（国立感染症研究所感染情報センター長）

分担研究者：平原史樹 横浜市立大学大学院医学研究科  
生殖生育病態医学講座（産婦人科学）教授

研究協力者

種村光代 名古屋市立大学大学院遺伝医学非常勤講師（産婦人科学）

寺田喜平 川崎医科大学小児科第1講座教授

川名 尚 帝京平成短期大学副学長帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科教授

多屋馨子 国立感染症研究所感染情報センター室長 第3室（予防接種室）

駒瀬勝啓 国立感染症研究所 室長 ウイルス第3部・第2室

小島俊行 三井記念病院産婦人科

奥田美加 横浜市立大学附属市民総合医療センター准教授（産婦人科）

研究要旨

2004年にCRSが年間10例にまで急増し対策が講じられた結果，麻疹・風疹混合ワクチン（MRワクチン）の認可，2回接種の導入がなされ，妊婦の相談窓口設置や産褥風疹ワクチン接種勧奨がおこなわれている．風疹および麻疹が2008年より全数報告となり，2010年までは患者数が年々減少していたが，2011年には風疹患者数が増加し2008年を上回った．海外で罹患し帰国後に家族が感染した例の報告や，流行ウイルス株の遺伝子型検索から，海外からの輸入感染症としてのリスクが明らかになった．子育て世代の30～40代男性は他の世代に比べ明らかに風疹感受性者が多く，この世代の男性が海外渡航する際にはMRワクチン接種を勧奨する必要がある．抗体価別の風疹ワクチン接種効果の検討では，抗体陰性者は高い抗体獲得率を示すが，接種前のHI抗体価の上昇に従って有意な抗体上昇率が低下する傾向にあり，長期的には接種対象者は抗体陰性者でよいと考えられる．しかし再流行が危惧される現状では，対応策を緩和すべきではない．風疹罹患疑い妊婦の正しいリスク評価と症例把握のために，二次相談窓口の機能向上が必要である．

見出し語；風疹，先天性風疹症候群（CRS），妊娠，MRワクチン，定期予防接種

## A. 緒言・研究目的

我が国では風疹および麻疹の予防接種が定期接種としておこなわれているにも関わらず、過去のワクチン施策が不十分であったためいまだに小流行が発生し、感染年齢の上昇がみられ、2004年には先天性風疹症候群患者が多発した。これを受けて発足した本研究の前身班である「風疹流行にともなう母児感染の予防対策構築に関する研究班」は、これ以上のCRS発生を起さぬ事を喫緊の課題とし、「風疹流行および先天性風疹症候群の発生抑制に関する緊急提言」を発し、風疹予防接種の勧奨、風疹罹患(疑いを含む)妊娠女性への対応、流行地域における疫学調査の強化を提言した。

これにより各地区ブロックに風疹関連の妊婦相談2次窓口(表1)を設け、相談事例の対応を行ってきた。

その後、2006年のMRワクチンの認可、および1歳と就学前の2回接種の導入、2008年からの全数報告開始が功を奏し、2010年までは着々と麻疹・風疹患者報告数が減少し、両疾患の排除が期待された。しかし、2011年は暫定集計で369例の風疹患者報告があり、2008年の294例を上回り、2010年の90例に比しては4倍の患者数に及んだ。一方、2011年のCRS例や妊婦の風疹罹患例(人工妊娠中絶)はベトナムなどの海外において本人または家族が感染した例であり、輸入感染症としてのリスクが増大していることが指摘されている。過去において風疹の大きな流行が生ずる前年に患者数の増加がみられたことより、2012年には風疹の大きな流

行が起こりCRSの発生が増加するのではないかと懸念されている。

本研究では、現在の風疹の流行状況、抗体の保有状況、風疹ウイルス株の遺伝子型からの検索、風疹ワクチン接種効果、相談窓口の現状について検討をおこない、今後の風疹・麻疹流行の抑制と疾患の排除、CRS発生抑止に必要な方策につき提言する。

## B. 研究方法

本研究では昨年に引き続き、風疹撲滅に関するメーリングリストによる専門家間の情報交換を継続した。2次相談窓口担当者連絡会議を開催し、各施設における現状と問題点につき検討をおこなった。

2004年9月以降、2011年までに登録された「風疹罹患の恐れのある妊娠女性」に対する二次相談施設での解析結果を検討した。また、成人女性の抗体保有状況調査やワクチン接種に関する分析をおこなった。疫学調査については、国内風疹患者のウイルス株の遺伝子型を調査、および男女の抗体保有状況から現在の風疹感染経路につき検討した。

(倫理面への配慮) 相談事例については匿名化され個人が特定できないよう配慮されている。また、胎児診断の実施においては、必ず二次相談窓口を介しておこなうこととなっている。

## C. 研究結果

二次相談施設からの症例集計結果から、平成16~23年度の妊婦風疹罹患の現状を検討した。平成23年度には新たに14例

の症例が報告され（報告があったのは 3 施設のみ）、現在までの合計登録症例数は 214 例となった。九州と中部地区でわずかな流行が疑われる。九州から、発疹のある顕性感染が 2 例登録され、いずれも HI 抗体陰性から陽転化していたが、1 例は風疹患者との接触なし、1 例は不明であった。接触の有無が不明の 1 例は、発疹があったにもかかわらず抗体検査の追加が遅延しており、IgM 抗体が測定されるまで長時間が経過し、風疹特異的 IgM 抗体は 0.9 に過ぎなかった。追跡調査未実施例が毎年増加している。IgG 親和性測定は 36 例に実施されていたが特定の施設に限定されている。妊娠前に抗体測定歴があつて陽性だった再感染疑い例が 6 例存在し、こうした例では初感染の否定が確実に出来ている。214 例のうち風疹ワクチン接種なし、不明という症例が 75%を占めている。

某二次施設の風疹罹患妊婦 2 症例は、いずれも海外での風疹感染例であった。1 例が夫の香港出張中の風疹罹患、帰国後に妊娠 14 週の妻が風疹罹患、羊水中風疹ウイルス遺伝子陽性の結果より夫婦は人工妊娠中絶を選択した。他の 1 例はベトナムのハノイに一時帰国した妊婦が妊娠 12 週に風疹を発症、妊娠 15 週に産藤か医院より二次施設へ紹介されたが夫婦の都合で二次施設の初診が妊娠 21 週 6 日となった。週数より人工妊娠中絶の選択肢はなく、CRS の可能性は約 20%とカウンセリングがなされたが、その後紹介元の医院に受診しておらず転帰が不明である。

2010-2011 年に日本で検出された風疹ウイルスの遺伝子型を検査したところ、

遺伝子型は、2B, 1E, 1j であった。これらの遺伝子型のウイルスは世界的にも流行しているウイルスである。同じ遺伝子型のウイルスでも 5-10 塩基の変異があり、起源が異なる可能性があつた。いくつかのウイルスは疫学的に海外からの輸入株、あるいは輸入関連株と推測された。麻疹ウイルスについても、東南アジア、欧州など海外で流行しているタイプがほぼ 100%を占める。

2011 年の風疹患者数は 369 例（暫定集計）で、2008 年の 294 例を上回り、2010 年の 90 例に比しては 4 倍の患者数に及んだ。職場内での集団感染が複数報告されている。現在妊娠する女性の夫となる 20～40 代の男性患者が約 60%を占める。30～40 代男性の風疹抗体陰性者の割合は 20%以上で、他の世代および女性に比べ明らかに低い。

2004 年に発した「風疹流行および先天性風疹症候群の発生抑制に関する緊急提言」では、風疹ワクチン接種を勧奨し、その対象の 1 つとして風疹 HI 抗体価 16 倍以下の産褥早期の女性が含まれている。実際には、HI8 倍または 16 倍の低抗体価の者にワクチン接種をしても、次回妊娠の際に再度 HI を測定すると有意な抗体価の上昇がみられない例が多い。医療系大学学生を対象とし（研究については倫理委員会承認）、入学時に風疹 HI 抗体価を測定、HI 抗体価 32 倍以下のボランティアに風疹単抗原ワクチンを接種し、接種前と接種 4～6 週間および 23～25 か月後における HI 抗体、EIA-IgG, avidity, および IgM 抗体を測定した。登録 200 名のうち、抗体価の有意な増加（陽転また

は4倍以上の上昇)がみられたのは接種前抗体価8倍未満での98%に対し,8倍では87%,16倍では67%,32倍では32%であった。抗体陰性でもワクチン歴のあるものはavidityが高値の例が多くB細胞メモリーを有していることが示された。産褥早期風疹ワクチン接種を受けた女性の次回妊娠におけるHI抗体価においても,同様の傾向がみられた。ワクチン接種後の抗体上昇効果から,長期的にはワクチン接種基準はHI抗体価8倍未満でよいと考えられる。

妊婦における風疹罹患時期の推定にIgM抗体価が不確実であることは,本研究でこれまで報告してきた通り最近の風疹罹患のない女性にも約1%の風疹特異的IgM陽性者または±の例が存在することからも明らかである。IgMに代わりうる検査方法としてIgG avidity index (AI)がある。風疹罹患7症例10検体のうち9検体のAIは40%未満で,これらはすべてIgM3以上,IgG80未満の範囲に入っていた。風疹罹患時期を推定する手段としてAIは有用であるが,現時点では限られた施設での測定にとどまる。

#### D. 考察

2011年12月に風疹罹患が疑われる妊婦への相談窓口施設の担当者が集まり連絡協議会をおこなった。各施設において相談事業は順調に機能しているものの,集計担当者への報告がなされていない例が見受けられ,やや定常状態化している実態がうかがわれた。定期的な相談窓口連絡会議の開催と方針の確認が必要である。各施設への相談事例は大半がIgM陽

性例であり,血清学的所見のみで実際に胎児感染が証明された例はなく,CRSの発生もなかった。妊娠女性に対する対応やワクチン接種対象を緩和してはとの意見が相談窓口の現場医師からは挙げられた。

しかし今回の研究の結果,風疹患者数の増加がみられ再流行が危惧されること,罹患者は主に成人であること,海外の風疹流行地が存在すること,子育て世代の男性に風疹感受性者が多いこと,これら成人が海外の風疹流行地で風疹に罹患し日本国内で他者に感染させうることが明らかとなった。したがってCRSハイリスク例の増加が懸念され,現状では対応の緩和は不適當である。また女性がどの程度の抗体価を有していれば再感染によるCRSを防御しうるかの調査は症例数が少ない現在不可能であり,現在の成人がMRワクチンの2回接種を受けていないことと併せ,記録に残ったワクチン接種歴が2回未満の者については,男女を問わず抗体価によらずMRワクチン接種を勧奨すべきである。特に,抗体陰性者の多い30~40代の男性の海外渡航者には必ず事前にMRワクチン接種を受けるよう啓発する必要がある。

CRSは全数報告であるが,出産に至らなかった胎児感染例,あるいは感染したものの出生後に症状がなくCRSと診断されなかった例は報告対象ではなく,また,眼症状や心疾患,難聴単独の例の中に風疹ウイルス関与例の存在が否定できず,疑われ検索しない限りは報告されない。こうした潜在的な風疹胎児感染例の調査把握が必要である。

## E. 結論

2012年度の風疹 outbreak および CRS の発生が危惧される現状が明らかとなった。MR ワクチン2回接種が浸透し、それ以外の世代に対する追加の任意接種が広くおこなわれ、我が国において風疹・麻疹の流行を抑制するのに十分な抗体保有率が達成されるには、なお長い年月を要すると考えられる。海外での流行が存在する以上、危機感をもって、さらなるワクチン接種勧奨と、風疹罹患疑い妊娠女性の正しいリスク評価の徹底が必要である。

## G. 研究発表

1. Nishimura-Tadaki A, Wada T, Bano G, Gough K, Warner J, Kosho T, Ando N, Hamanoue H, Sakakibara H, Nishimura G, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Wakui K, Saitsu H, Fukushima Y, Hirahara F, Matsumoto N: Breakpoint determination of X; autosomal balanced translocations in four patients with premature ovarian failure. *J Hum Genet*, 2011; **56**(2): 156-160.

2. Okada I, Hamanoue H, Terada K, Tohma T, Megarbane A, Chouery E, Ab

ou-Ghoch J, Jalkh N, Cogulu O, Ozkinay F, Horie K, Takeda J, Furuichi T, Ikegawa S, Nishiyama K, Miyatake S, Nishimura A, Mizuguchi T, Niikawa N, Hirahara F, Kaname T, Yoshiura K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Furukawa T, Matsumoto N, Saitsu H: SMOC1 is essential for ocular and limb development in humans and mice. *Am J Hum Genet*, 2011; **88**(1): 30-41.

3. 平原史樹, 奥田美加, 高橋恒男: 風疹・麻疹. 産婦人科の実際, 2011; **60**(3): 343-350.

4. 平原史樹: ARTによる出生時の問題 1. 生後発育と先天異常. 臨床婦人科産科, 2011; **65**(6): 764-769.

5. 平原史樹: 先天異常モニタリングの有用性と今後の展望. 公衆衛生, 2011; **75**(7): 533-537.

6. 平原史樹: ヒト生殖におけるベースラインリスクーヒト先天異常の発生状況と発生リスク要因. 月刊薬事, 2011; **53**(8): 25-30.

7. 平原史樹, 奥田美加, 高橋恒男: 周産期における小児発疹性疾患の院内感染症対策. 小児科, 2011; **52**(9): 1303-1310.

8. 平原史樹: 日本産科婦人科学会「出生前に行われる検査および診断に関する見解」の改訂. 日本医師会雑誌, 2011; **140**(8): 1706-1707.

9. 平原史樹: 着床後出生前診断. 産婦人科治療, 2011; **102**: 165-169.

表1 「風疹罹患の恐れのある妊娠女性」に対する2次相談施設

北海道	北海道大学病院産科
東北	東北公済病院産科・周産期センター 宮城県立こども病院産科
関東	三井記念病院産婦人科 帝京平成看護短期大学・帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科 横浜市立大学附属病院産婦人科 国立成育医療研究センター周産期センター産科
東海	名古屋市立大学病院産科婦人科
北陸	石川県立中央病院産婦人科
近畿	国立循環器病研究センター病院周産期・婦人科 大阪府立母子保健総合医療センター産科
中国	川崎医科大学附属病院産婦人科
四国	国立病院機構香川小児病院産婦人科
九州	宮崎大学医学部附属病院産科婦人科 九州大学病院産科婦人科

### **III. 流行性耳下腺炎、水痘**

## ムンプス・水痘の臨床像ならびに今後の対策についての検討

分担研究者 庵原俊昭（国立病院機構三重病院小児科）  
研究協力者 菅 秀、長尾みづほ（国立病院機構三重病院小児科）  
落合 仁（落合小児科）  
渡辺正博（すずかこどもクリニック）  
二井立恵、伊佐地真知子（白子クリニック小児科）

研究要旨 ムンプス、水痘はワクチン予防可能疾患であるが、接種率が低いため繰り返し流行が認められている。今年度は二つの方法でムンプスワクチン・水痘ワクチンの有効性の調査を行った。まず、専門学校生 84 人（平均年齢 18.5±2.3 歳）を対象にムンプスと水痘のワクチン歴と既往歴を調査した。各ワクチンの有効率は、ムンプスワクチン 71.3%(P=0.00089)、水痘ワクチン 73.9%(P=0.00021)であった。ムンプス抗体陰性者、同等者 21 人にムンプスワクチンを接種したところ、有意上昇を認める抗体価は 4.37 EIA 価以下であった。次に、水痘流行を認めた保育園において水痘ワクチン有効性の調査を行った。有効率は、2008 年の流行では 52.4%(P=0.00208)、2010/11 年の流行では 55.7%(P=0.00247)と、統計学的に有意な効果が認められた。ワクチン歴がある児の水痘罹患率は、2008 年の調査 45.5%、2011 年の調査 54.7%と高率であった。以上の結果から、ムンプスワクチン、水痘ワクチンともに有効なワクチンであるが、水痘ワクチンでは接種後の水痘罹患率が高く、水痘ワクチンによって流行抑制を図るならば、初回接種後早期（1 年以内）に 2 回目の接種が必要と思われた。

### A. 研究目的

ムンプス、水痘ともにワクチン予防可能疾患であるが、わが国では任意接種のため接種率が 30%程度と低く、繰り返し流行を認めている。わが国は、これらワクチンの定期接種化を図っており、定期接種化するに当たっては、これらワクチンの有効性、接種時期、接種回数について明確にすることが大切である。

わが国のムンプスワクチンの有効率は 78.1～90.0%と、欧米の成績と同等であり、今までのところ星野株と鳥居株の有効性には差が認められていない。一方、わが国水痘ワクチンの抗体は、接種後比較的長期に持続するという報告がある一方、有効率は 55.5%との報告もあり、流行時の水痘ワクチンの効果については十分に検討されていない。

今回、ムンプスワクチン、水痘ワクチンの効果を明らかにするために、思春期集団でのムンプスワクチン・水痘ワクチンの効果について検討するとともに、保育園での水痘流行時における水痘ワクチンの効果についても検討を行ったので報告する。

### B. 研究方法

#### 1) 思春期集団におけるムンプスワクチン、水痘ワクチンの有効性および血清疫学の検討

専門学校生 84 人（女性 75 人、男性 9 人、平均年齢 18.5±2.3 歳、中央値 18 歳）を対象に、ムンプスおよび水痘の既往歴、ワクチン歴を調査し、同時にムンプスおよび水痘に対する血清抗体価を酵素免疫(EIA)法で測定した。ムンプス、水痘抗体陰性者および同等者で、ワクチン接種を希望した人には該当するワクチンを接種し、接種 4 週後の血清抗体価を測定した。

#### 2) 2 度の水痘流行を経験した A 保育園における水痘ワクチンの効果の検討

2008 年と 2010/2011 年の 2 回水痘流行を経験した保育園において、保護者（2008 年は 91 人、2010/11 年は 106 人）にアンケートを配布し、園児の水痘既往歴、水痘ワクチン歴、それぞれの流行時の水痘罹患について調査した。

### C. 研究結果

#### 1) 思春期集団におけるムンプスワクチン有効性および血清疫学の検討

ワクチン歴なし 56 人中、既往歴があるもの 30 人(53.6%)、既往歴がないもの 26 人(46.4%)

であり、ワクチン歴があるもの 28 人（接種率 33.3%）中、既往歴があるもの 6 人（21.4%）、既往歴がないもの 22 人（78.6%）であった（表 1）。なお、ワクチン歴あり 28 人中 2 人はムンプス流行中にムンプスワクチンの緊急接種を受けたが発症したものであった。緊急接種後発症した者を含めたときのムンプスワクチンの有効率は 60.0% ( $P=0.00439$ ) であり、この 2 人を除いたときのワクチンの有効率は 71.3% ( $P=0.00089$ ) と、いずれもムンプスワクチンの有効性が認められた。

ムンプス抗体陽性率は、ワクチン歴なし既往あり群 30 人中 29 人（96.7%）、ワクチン歴なし既往なし群 26 人中 14 人（53.8%）、ワクチン歴あり既往あり群 6 人中 6 人（100%）、ワクチン歴あり既往なし群 22 人中 14 人（63.6%）と、ワクチン歴に関わらず既往歴あり群の方が、抗体陽性率が有意に高率であった（既往あり群 97.2%、既往なし群 58.3%、 $P<0.0001$ ）。

抗体陰性 6 人、判定保留 15 人を対象にムンプスワクチン接種を行ったところ、平均抗体価は接種前  $1.16 \pm 0.71$ （ $2^{\text{nd}}$  EIA 価）から接種後  $3.05 \pm 0.70$ （ $2^{\text{nd}}$  EIA 価）に有意に上昇した（ $P<0.0001$ ）。接種前抗体価（2 を底とする対数に変換）を横軸に、抗体上昇率（接種後抗体価/接種前抗体価、2 を底とする対数に変換）を縦軸にとると、接種前抗体価と抗体上昇率との間には有意の負の相関が認められた（ $R=0.69324$ 、 $P=0.0005$ ）。相関直線は  $Y=-0.95X+2.99$  となり、EIA 抗体価が 2 倍以上上昇する抗体価は  $2^{2.09}(4.37)$ EIA 価以下であった。

## 2) 思春期集団における水痘ワクチン有効性および血清疫学の検討（表 2）

ワクチン歴なし群 74 人中、既往歴があるもの 63 人（85.1%）、既往歴がないもの 11 人（14.8%）であり、ワクチン歴があるもの 10 人（接種率 11.9%）中、既往歴があるもの 3 人（30%）、既往歴がないもの 7 人（70%）であった。なお、ワクチン歴あり 10 人中 1 人は水痘流行中に水痘ワクチンの緊急接種を受けたが発症したものであった。緊急接種後発症した者を含めたときの水痘ワクチンの有効率は 64.8% ( $P=0.00056$ ) であり、緊急接種例 1 人を除いたときのワクチンの有効率は 73.9% ( $P=0.00021$ ) と、いずれも水痘ワクチンの有効性が認められた。

水痘抗体陽性率は、ワクチン歴なし既往あり群 63 人中 61 人（96.8%）、ワクチン歴なし既往なし群 11 人中 11 人（100%）、ワクチン歴あり既往あり群 3 人中 1 人（33.3%）、ワクチン歴あり既往なし群 7 人中 4 人（57.1%）であった。ワクチン歴により陽性率を比較すると、既往歴にかかわらず、ワクチン歴なし群 97.2%（72 人中 70 人）、ワクチン歴あり群 50%と、ワクチン歴なし群の方が、抗体陽性率は有意に高率であった（ $P=0.00015$ ）。

抗体陰性 2 人、判定保留 4 人を対象に水痘ワクチン接種を行ったところ、平均抗体価は接種前  $1.33 \pm 0.75$ （ $2^{\text{nd}}$  EIA 価）から接種後  $3.74 \pm 1.31$ （ $2^{\text{nd}}$  EIA 価）へと有意に上昇した（ $P<0.00016$ ）。

## 3) 2008 年保育園における水痘流行時の水痘ワクチンの有効性の検討

2008 年流行時の水痘ワクチン接種率は 91 人中 46 人（50.5%）であった。水痘流行前の水痘罹患率は、ワクチン歴なし群 45 人中 25 人（55.6%）、ワクチン歴あり群 46 人中 4 人（8.7%）と、ワクチン歴あり群では有意に水痘発症率が低率であった（ $P<0.0001$ ）（表 3）。なお、今回の流行前の水痘既往者は 29 人（うちワクチン接種者は 4 人）であり、水痘ワクチン歴なし群では、年齢が高くなるほど水痘既往率が高率であった（ $P=0.00162$ ）。

1 歳児クラスから 5 歳児クラスをまとめた水痘発症率は、ワクチン歴なし群 20 人中 16 人（発症率 80%）、ワクチン歴あり群 42 人中 16 人（38.1%）であり、水痘ワクチンの有効率は 52.4%と、有意の発症予防効果が認められた（ $P=0.00206$ ）。なお、流行時の水痘発症率は、1 歳児クラス～3 歳児クラス 43.5%に対し、4 歳児クラス～5 歳児クラス 31.6%と、年齢が高いクラス群の方が、発症率が低率であった。

## 4) 2010/11 年同じ保育園における水痘流行時の水痘ワクチンの有効性の検討

2010/11 年流行時の水痘ワクチン接種率は 106 人中 75 人（70.8%）であった。0 歳児クラスから 5 歳児クラスをまとめた水痘発症率は、ワクチン歴なし群 13 人中 13 人（発症率 100%）、ワクチン歴あり群 61 人中 27 人（44.3%）であり、水痘ワクチンの有効率は 55.7%と、有意の発症予防効果が認められた（ $P=0.00247$ ）（表 4）。

なお、今回の流行前での既往者は 32 人（うちワクチン接種者は 14 人）であり、年齢が高くなるほど水痘既往率が高率であった（水痘ワクチン歴なし群：P=0.00028）。また、2008 年の流行を経験し、このとき水痘を発症しなかった 6 人は、2 度目の水痘流行時にも発症しなかった。

水痘既往のない水痘ワクチン接種者 61 人のうち、0 歳児クラス～2 歳児クラスの 38 人では 23 人(60.5%)が発症したが、3 歳児クラス～5 歳児クラスの 23 人では 4 人(17.4%)しか発症せず、年齢が小さい群ほど発症率が高率であった（P=0.0010）（表 5）。また、ワクチン接種日が記載されていた 0 歳児クラス～2 歳児クラスの 37 人では、接種から流行までの期間が 0～12 ヶ月の群では、発症者は 19 人中 8 人(42.1%)であったのに対して、13 ヶ月以上群では 18 人中 14 人(77.8%)と、発症率は有意に高率であった（P=0.02956）（表 6）。

#### 5) 水痘ワクチン後の罹患者数と水痘の集団免疫率の検討

2008 年の水痘流行時、水痘ワクチン歴がある 44 人中 4 人は水痘既往があり、流行時に 16 人が発症したため、水痘ワクチン後の水痘総罹患者数は 20 人、水痘発症率は 45.5%であった。2010/11 年の流行時、水痘ワクチン歴がある 75 人中 14 人は水痘既往があり、流行時に 27 人が発症したため、水痘ワクチン後の水痘総罹患者数は 41 人、水痘発症率は 54.7%であった。

水痘流行の曝露を受けたとき、発症しなかった水痘ワクチン接種者は水痘に対する免疫があると考えられ、また今回の流行で、水痘既往がなく発症しなかった人を除けば、他の人は理論上水痘に対する免疫があると考えられる。今回の検討結果から、2008 年流行終了時の免疫率は 95.6%であり、2010/11 年の流行終了時の免疫率は 100%であった。

#### D. 考察

ムンプス、水痘ともにワクチン予防可能疾患であるが、入院率が低いいため軽症の感染症と考えられており、また任意接種であることもあって、接種率は低率である。今回の思春期群の検討でも、ムンプスワクチン接種率 33.3%、水痘ワクチン接種率 11.9%と、いずれも低率であった。

今回調査した思春期群において、ワクチン歴、既往歴からみた、ムンプスワクチン、水痘ワクチンの有効率は、それぞれの感染症流行中に緊急にワクチン接種を受け発症した者を除くと、ムンプスワクチン 71.3%、水痘ワクチン 73.9%と、今までの報告と同様に高い有効率が認められた。

思春期群の血清疫学の検討では、ムンプス及び水痘の抗体陽性率は、それぞれ 75.0%、92.9%と、水痘に比しムンプスは低率であった。ムンプスにおいては、既往歴を有する者は抗体陽性率が高かったが、既往歴がないものは抗体陽性率が低く、思春期群でムンプス既往歴がないものは、ワクチン接種が勧められる集団と判断された。

ムンプスワクチン、水痘ワクチンはいずれも生ワクチンであり、接種後ウイルスが体内で増殖することで抗体の有意上昇が誘導される。今回の検討では、いずれのワクチンも、抗体陰性者および判定保留者に接種したところ、平均抗体価の有意の上昇が認められた。また、ムンプスでは接種前の抗体価と接種後の抗体上昇率との間には有意の負の相関があり、得られた相関直線から、ムンプスワクチン後に抗体の有意上昇を示す抗体価は、4.37 EIA 価以下と算出された。以上の結果から、抗体陰性者に加えて判定保留者にもワクチン接種をすることは、効果的な感染対策と思われた。

保育園流行時の水痘ワクチンの有効率は 55.5%との報告がある。今回の検討では、2008 年の流行時および 2010/11 年の流行時の水痘ワクチンの有効率は、それぞれ 52.4%、55.7%と、以前の報告と同程度であった。また、今回の検討では、いずれの流行時ともに、ワクチン群においては低年齢群の方が高年齢群よりも発症率が高く、また 2008 年の流行を経験した年中児および年長児 6 人は 2010/11 年の流行時にはいずれも発症しなかった。以上の結果から、水痘ワクチン後に誘導される特異免疫は低いため、流行の曝露を受けると発症のリスクは比較的高いが、この時に発症しなかった児は、抗体の自然ブースタがかかり、その後に流行の曝露を受けても発症しないと推察された。

今回の検討では、2010/11 年の流行時、0 歳児クラス～2 歳児クラスにおいては、水痘ワクチン接種後 1 年以上経過した児の発症率は 77.8%と極めて高率であった。また、水痘ワク

チン接種者の発症率は、2008年では45.5%、2010/11年では54.7%と比較的高率であった。以上の結果から、水痘ワクチンにより発症予防を期待するならば、多くの子どもの移行抗体が消失した1歳過ぎに初回を、2回目は初回接種後1年以内に接種することが適切と思われた。現在ドイツでは水痘ワクチンの2回目の接種時期を初回接種4～12ヶ月後としている。本邦でも水痘ワクチンを定期接種にし、水痘流行を抑制するためにはドイツ方式による接種が適切と判断された。

水痘の集団免疫率については十分に検討されていない。今回の検討では、水痘の集団免疫率は95.6～100%と極めて高率であり、この値は麻疹や百日咳と同等であった。以上の結果から、保育園での水痘流行を抑制するためには、95%以上の高い接種率で2回接種することが大切と思われた。

#### E. 結論

ムンプス、水痘はワクチン予防可能疾患であるが、接種率が低いと繰り返しの流行が認められている。思春期集団のワクチン有効率および保育園での水痘流行時の検討結果から、ムンプスワクチン、水痘ワクチンともに有効なワクチンであるが、水痘ワクチン後の水痘罹患率が高く、水痘ワクチンによって流行抑制を図るならば、初回接種後早期（1年以内）に2回目接種が必要と思われた。

#### G. 研究発表

##### 1. 著書・論文発表

- 1) 庵原俊昭：流行性耳下腺炎. 社団法人日本感染症学会編、感染症専門医テキスト 第I部解説編、南江堂、東京、854-856, 2011
- 2) 庵原俊昭：ムンプスとムンプスワクチン. 日本小児科医会会報 41:95-98, 2011
- 3) 庵原俊昭、中野貴司、落合 仁、渡辺正博：改良されたムンプス酵素免疫法(EIA)-IgM抗体検査法の臨床評価. 小児感染免疫 23:123-129, 2011
- 4) 庵原俊昭：ムンプス（流行性耳下腺炎）. 小児科学レクチャー1:301-307, 2011

##### 2. 学会発表

- 1) 庵原俊昭：ムンプスワクチン. 第114回日本小児科学会学術集会（東京、8月）
- 2) 庵原俊昭：今後のムンプス、麻疹、風疹対策について～おたふくかぜワクチンを中心に～第43回日本小児感染症学会総会（岡山、10月）
- 3) 落合 仁、庵原俊昭、菅 秀：2度の水痘流行を経験した保育園における水痘ワクチンの効果の検討. 第15回日本ワクチン学会（東京、12月）

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
特記することなし。
2. 実用新案特許  
特記することなし。

(表1) 思春期群のワクチン歴・既往歴によるムンプス抗体価

ワクチン歴	既往歴	陰性	判定保留	陽性	合計
なし	なし	6	6	14	26
	あり		1	29	30
あり	なし		8	14	22
	あり			6*	6
合計		6	15	63	84

\*緊急接種後発症した2人を含む

全症例 : ワクチン有効率 =  $(30/56 - 6/28) \div 30/56 \times 100 = 60.0\%$  (P=0.00439)

緊急接種例を除く : ワクチン有効率 =  $(30/56 - 4/26) \div 30/56 \times 100 = 71.3\%$  (P=0.00089)

既往歴あり群の抗体陽性率 =  $35/36 \times 100 = 97.2\%$

既往歴なし群も抗体陽性率 =  $28/48 \times 100 = 58.3\%$

(表2) 思春期群のワクチン歴・既往歴による水痘抗体価

ワクチン歴	既往歴	陰性	判定保留	陽性	合計
なし	なし			11	11
	あり	1	1	61	63
あり	なし		3	4	7
	あり		2	1*	3
合計		1	6	77	84

\*緊急接種後発症した1人を含む

全症例 : ワクチン有効率 =  $(63/74 - 3/10) \div 63/74 \times 100 = 64.8\%$  (P=0.00056)緊急接種例を除く : ワクチン有効率 =  $(63/76 - 2/9) \div 63/76 \times 100 = 73.9\%$  (P=0.00021)

(表3) A 保育園 2008年水痘流行時の水痘発症

クラス	既往あり		既往なし				合計
	Vなし	Vあり	Vなし		Vあり		
			発症なし	発症	発症なし	発症	
1歳児	3	0	3	3	5	1	15
2歳児	1	0	0	5	5	5	16
3歳児	5	1	0	5	3	4	18
4歳児	6	1	1	2	8	5	23
5歳児	10	2	0	1	5	1	19
合計	25	4	4	16	26	16	91

V : 水痘ワクチン

水痘ワクチン有効率 =  $(16/20 - 16/42) \div 16/20 \times 100 = 52.4\%$  (P=0.00206)

ワクチン群の発症率 : 1歳児~3歳児群 = 43.5%、4歳児~5歳児群 = 31.6%

(表4) A 保育園 2010/11年水痘流行時の水痘発症

クラス	既往あり		既往なし				合計
	Vなし	Vあり	Vなし		Vあり		
			発症なし	発症	発症なし	発症	
0歳児	0	0	0	5	3	2	10
1歳児	2	0	0	3	10	13	28
2歳児	2	1	0	3	2	8	16
3歳児	4	2	0	1	11	3	21
4歳児	3	6	0	1	5	0	15
5歳児	7	5	0	0	3	1	16
合計	18	14	0	13	34	27	106

V : 水痘ワクチン

水痘ワクチン有効率 =  $(13/13 - 27/61) \div 13/13 \times 100 = 55.7\%$  (P=0.00247)

(表5) 水痘ワクチン接種者の年齢群別の発症率

クラス群	例数	発症(%)
0歳児～2歳児	38	23(60.5%)
3歳児～5歳児	18	4(17.4%)

P=0.00099

(表6) ワクチン接種から発症までの期間と発症率 (0歳児～2歳児クラス)

接種から流行曝露まで	例数	発症 (%)
0～12ヶ月	19	8(42.1%)
≥13ヶ月	18	14(77.8%)

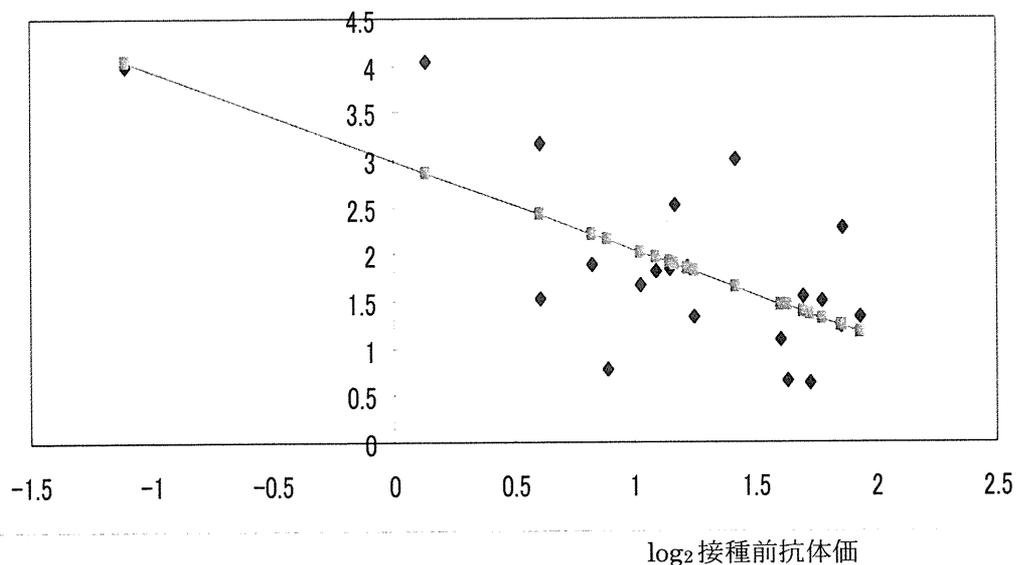
P=0.02956

(表7) 水痘ワクチン接種者の水痘発症率

流行	例数	既発症	発症	発症者数(%)
2008年	44	4	16	20(45.5%)
2010/11年	75	14	27	41(54.7%)
合計	119	18	43	61(51.3%)

(図1) ムンプスワクチン接種による接種前抗体価と抗体上昇率の関係

log<sub>2</sub> 抗体上昇率



R=0.69324 (P=0.0005)

Y=-0.95X+2.99

Y=1 のとき X=2.09 (EIA 価=4.37)

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）

ワクチン戦略による麻疹および先天性風疹症候群の排除、およびワクチンで  
予防可能疾患の疫学並びにワクチンの有用性に関する基礎的臨床的研究

ムンプスウイルスの中枢神経病原性遺伝子に関する研究、および  
国内流行株の分子系統学的解析に関する研究

分担研究者 木所 稔（国立感染症研究所・ウイルス第三部・主任研究官）  
研究協力者 庵原俊昭（国立病院機構三重病院）  
加藤 篤（国立感染症研究所・ウイルス第三部）  
網 康至、須崎百合子（国立感染症研究所・動物管理室）  
永田典代（国立感染症研究所・感染病理部）

**研究要旨** ムンプスウイルスの中枢神経病原性に関わる遺伝子を特定することはムンプスウイルスの病原性発現機構を解明する上でも、新ワクチンの開発や品質管理においても重要である。我々は、リバーシジェネティクス法を確立し、強毒株 Y213 から組換えウイルス rY213 を作成した。しかし、rY213 は高度に弱毒化しており原株の性状を反映していなかった。その原因は rY213 の遺伝的多様性の低下によるものと推定された。そこで r213 の遺伝的多様性を変異原処理によって増加させたところ r213 の病原性が原株と同程度に回復した。この病原復帰ウイルスのより詳細なゲノム解析から、病原復帰ウイルスには P 遺伝子と L 遺伝子内に 2 ヶ所のアミノ酸置換が存在し、これらの変異を rY213 に導入した組換えウイルスはいずれも病原性が復帰した。従って、この 2 ヶ所の変異がムンプスウイルスの病原性復帰に関わることが明らかとなった。

日本国内で流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析は、国内での流行動態を理解する上でも、ワクチン対策においても重要である。我々は 1993 年から 2011 年にかけて三重県内で分離されたムンプスウイルスについて分子疫学的解析を行い、流行株の経年変化について解析した。その結果、1990 年代は遺伝子型 B と J が主に流行していたが、1999 年に突然 G 型と L 型に取って代われ、2000 年以降現在まで G 型が流行の主流占めることが明らかとなった。

#### A. 研究目的

日本国内においては MMR の中止以降ムンプスワクチンの普及が進まず、おたふくかぜの流行は制御できていない。一方、他の先進諸国においては MMR ワクチンの 2 回接種が普及しているにも係わらずおたふくかぜのたび重なるアウトブレイクが頻発している。こうした状況を打開するためには、より有効で安全なワクチンの開発が必要である。そのためにはムンプスウイルスの病原性発現機構を解明する必要がある。また、こうした情報はワクチンの品質管理にも重要である。そこで我々はムンプスウイルスの組換え技術であるリバーシジェネティクス法を確立し、同一の野外株に由来しながら病原性の異なる Y125 株と Y213 株の塩基配列の違いに着目して病原性発現機構の解析を進めて来た。その過程で、リバーシジェネティクスで作製された強毒株 Y213 由来の組換えウイルス rY213 が病原性を失っていること（図 1）、その病原性が変異原処理によって復活することを見出した（図

2, 3, 4）。この病原性復帰の原因を解明するため、詳細な遺伝子解析をしたところ、この病原性復帰はポリオウイルスで報告されたようなウイルスの遺伝的多様性によるのではなく、P 遺伝子と L 遺伝子に新たに生じた 2 ヶ所の点変異に由来することが明らかとなった。

国内で流行するムンプスウイルスの経時的な分子疫学的解析は、国内での流行動態を深く理解するためにも、ワクチン対策上においても重要である。今回我々は、1993 年から 2011 年にかけて国立病院機構三重病院で分離されたムンプスウイルスについて分子疫学的解析を行い、流行株の経年変化について解析した。併せて、遺伝子型によって抗原性にどの程度の違いがあるかを調べるため、国産ワクチン株星野株（遺伝子型 B）に対する抗ムンプスウイルス高度免疫ウサギ血清を用いていくつかの遺伝子型について抗原解析を行った。

#### B. 研究方法

(1) リバビリ処理組換えウイルスゲノム配列の解析

リバビリ処理組換えウイルス rY213/Rib のゲノム RNA から RT-PCR によって全ゲノム領域をカバーする 7 つの領域を増幅し、ダイレクトシーケンスを行った。

(2) rY213/Rib の変異部位導入キメラウイルスの作製

site-direct mutagenesis によって Y213 の cDNA の P、L 遺伝子の一方または両方に rY213/Rib で見出された塩基置換を導入した 3 種類の cDNA を作製した。これらの cDNA から定法に従ってウイルスを回収し (rY213Pmut、rY213Lmut、rY213W) 試験に供した。

(3) 新生ラット脳内接種試験

生後 24 時間以内の Lewis 系ラットの右脳に 100 PFU の組換えウイルスを接種し、一ヶ月後に MRI によって脳室の拡張を観察した。得られた頭部の断面画像から脳全体の面積に対する脳室の面積比パーセントを求め、これを neurovirulence score (NV 値) とした。

(4) ムンプス患者由来分離ウイルス

1993 年から 2011 年にかけて国立三重病院においてムンプス患者から分離された分離ウイルス 185 株を庵原俊昭先生から分与頂き、試験に供した。

(5) 分子系統学的解析

全分離株の SH 遺伝子領域の配列を決定し、データベースに登録された既知の塩基配列を基に、NJ 法を用いて遺伝子型を決定した。

(6) 分離ウイルスの抗原性解析

北里大学生命科学研究所中山哲夫先生より分与頂いた星野株 (遺伝子型 B) に対する高度免疫ウサギ血清を用いて、北海道株 (遺伝子型 G) のほかモンゴル分離株 (遺伝子型 H3)、Enders 株 (遺伝子型 A)、占部株 (遺伝子型 B)、02-49 株 (遺伝子型 J)、および大館株 (遺伝子型 I) に対する中和曲線を求めた。4 倍階段希釈された高度免疫血清とウイルスを等量混合して、37°C、2 時間インキュベーションした後、4°C にて 5 時間インキュベーションした。96 ウェルマルチプレートに培養した Vero 細胞に階段希釈した中和ウイルスを接種し、各血清希釈倍率ごとのウイルス力価を測定した。これをグラフにプロットし、各ウイルスごとの中和曲線を得た。

(倫理面への配慮)

動物実験は全て国立感染症研究所動物実験委

員会の審査を受け、動物に対する苦痛低減措置、および使用個体数が適切であるという承認を得た上で、国立感染症研究所動物実験委員会実施規程に基づき実施した。

C. 結果

(1) リバビリ処理組換えウイルス rY213/Rib ゲノムの変異部位解析

リバビリ存在下で rY213 を培養したウイルスサンプル (rY213/Rib) のゲノムの全塩基配列を解析したところ、P 遺伝子と L 遺伝子内にそれぞれ 1 ヶ所の塩基置換が検出された (図 5)。

(2) 新規変異導入組換えウイルスの中中枢神経病原性

当初、rY213/Rib の病原性復帰はウイルスの遺伝的多様性の上昇によるものと想定されたが (図 3、4)、新たに 2 ヶ所の変異が見出されたことから、これらの変異が rY213 の病原性復帰に関与するかどうかを確認する必要が出てきた。そこで、Y213 の cDNA にこれらの変異をそれぞれ 1 つずつ、あるいは両方を導入した 3 種類の組換えウイルス (rY213Pmut、rY213Lmut、rY213W) を作製し、その中枢神経病原性を新生ラット脳内接種試験で評価した (図 6)。その結果、いずれのウイルスにおいても元の rY213 (rY213ori) よりも病原性が上昇しており、特に P 遺伝子に変異導入したウイルス (rY213Pmut) において病原性復帰が顕著であった (図 6)。これらの結果から、rY213 の病原性復帰にはゲノムの多様性ではなく、P 遺伝子と L 遺伝子内の変異が直接関与していることが証明された。

(3) 国内分離ウイルスの経年変化

1993 年から 2011 年にかけて三重県内でムンプス分離されたウイルス 185 株の遺伝子型を解析したところ、1990 年代 (1993-1998 年) は B 型と J 型がほぼ拮抗する状態で流行の主流であった (図 7)。しかし、1999 年に突然 G 型と L 型に取って代われ、2000 年以降は G 型が流行の主流を占めることが判明した。L 型の流行は 1999 年の 1 年間で途絶えていた。1999 年以降流行している G 型は大きく 2 つの系統に分かれ、年によって流行する系統が変化することが判明した (図 8)。

(4) 抗ムンプスウイルス高度免疫ウサギ血清による流行株の抗原性解析

遺伝子型 G 以外のウイルスはほぼ同様の中和曲線を示し、効率よく中和されることが明らかとなった (図 9)。一方、遺伝子型 G の北海道株は検討した株の中では最も中和されにくく、最

も低い希釈倍率の抗血清（1：4倍）においてやっと完全に中和された。

#### D. 考察

平成 21 年度の報告において、強毒株由来の組換えウイルス rY213 がリバビリン処理によって病原性復帰したのは、その遺伝的多様性がリバビリンの作用によって上昇したためと考察した。しかし、その後の更に詳細なゲノム解析によって、リバビリン処理ウイルス（rY213/Rib）のゲノム内に全てのクローンに共通する 2 ヶ所の変異が存在することが判明し、さらに、それらの変異を導入したキメラウイルスがいずれも病原性を復帰したことから、rY213 の病原性復帰にはポリオウイルスで報告されたゲノムの多様性による影響よりはむしろ、この 2 ヶ所の変異が直接関与していることが強く示唆された。これらの変異はいずれか一方のみでも病原性を回復しており、特に P 遺伝子内の変異は病原性復帰の効果が顕著であった。一方の L 遺伝子内の変異は病原性復帰への影響は P 遺伝子ほど大きくないものの、L 遺伝子が病原性に係わるとい報告は今までになく興味深い。いずれにしても、わずか 1 ヶ所の変異によってこれほど劇的にウイルスの病原性が変化する現象は報告が無く、ムンプスウイルスの病原性発現機構の解明にとって、非常に有効な材料となりうる。今後は、これらの変異がどのような機構によって病原性発現に係わっているかを分子レベルで解明していきたい。

日本国内における流行株は 1999 年を境に大きく変化していることが今回の解析で明らかとなった。国産ワクチン株と同じ遺伝子型 B は日本固有の遺伝子型と考えられ、以前から長く流行株の主流を占めてきたが、2000 年代にはその主役の座を遺伝子型 G に取って代わられた。遺伝子型 L は 1999 年前後に日本の他の地域でも分離されているが、その後は全く分離されておらず、その理由は明らかではない。一方の遺伝子型 G は 1999 年以降現在まで流行の主流を占め続け、これは全世界的な傾向でもある。しかしながら、日本国内で流行している G 型ウイルスと欧米各国でアウトブレイクを引き起こしているウイルスとは系統学的に異なっており、国内流行株の由来は不明である。国内流行株は更に 2 系統に分かれており、同じ配列を持ったウイルスは首都圏で分離されたウイルスでも見られるため、全国的な傾向と考えられる。

国産ワクチン株星野株（遺伝子型 B）に対す

る高度免疫血清を用いた中和試験の成績から、G 型の抗原性は他の遺伝子型に比べて遺伝子型 B から最も離れていることが示唆された。この結果から、この株の流行は国産ワクチンの効果を減じる可能性が有る可能性を示唆しているのかもしれない。また、流行株の主流が B 型の後に G 型に取って代わられた原因の一つがこの抗原性の違いに因るのかもしれない。

#### E. 結論

1. リバビリン処理ウイルス（rY213/Rib）のゲノム内に全てのクローンに共通する 2 ヶ所の変異が存在する。
2. 病原性復帰の直接の原因は P および L 遺伝子内の 2 ヶ所のアミノ酸変異であった。
3. 従って、rY213 の病原性復帰に遺伝的多様性が影響している可能性は否定された。
4. 三重県内においては 1993-1998 年は B 型と J 型の流行が主流であった。
5. 1999 年に突然 G 型と L 型に取って代わられるが、L 型の流行は 1 年で途絶えた。
6. 2000 年以降の流行は G 型が主流。
7. G 型には 2 つの系統が存在し、いずれも欧米での流行株とは系統が異なっている。
8. 抗 B 型血清では G 型のみが中和されにくい。

#### F. 健康危害情報

無し

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kidokoro M., R. Tuul, K. Komase, P. Nymadawa. Characterization of mumps viruses circulating in Mongolia: identification of a novel cluster of genotype H. *J Clin Microbiol* 2011, 49, 1917-1925.
2. Hikichi M., M. Kidokoro, T. Haraguchi, H. Iba, H. Shida, H. Tahara, T. Nakamura, MicroRNA regulation of glycoprotein B5R in oncolytic vaccinia virus reduces viral pathogenicity without impairing its antitumor efficacy. *Molecular Therapy* 2011, 19, 1107-1115.

##### 2. 学会発表