

表5

TABLE 3 Neutralizing titers against recombinant MVs possessing the H protein of genotype D3 virus with amino acid substitutions

Cell line	Mutation	Neutralizing titer against recombinant MV ^a :		
		B5(I)	E81(I)	E103(vj)
B95a	wt: (-)	7,536	1,727	10,231
	Q391R	<471	<14	20,462
	Q311R	1,884	1,727	80
II-18	wt: (-)	3,764	27,631	20,462
	Q391R	<4	<3	20,462
	Q311R	1,884	27,631	20

^a Neutralizing titers for 1 mg/ml of Ig.

図1

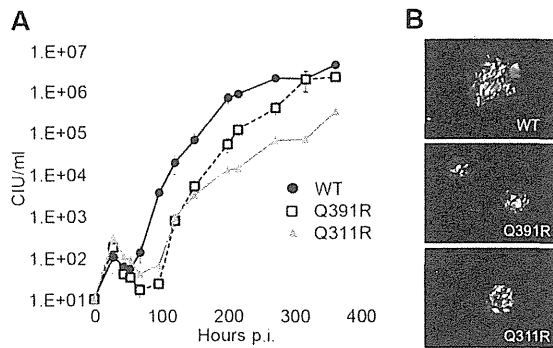


FIG 2 Replication kinetics of two recombinant MVs possessing Q311R or Q391R mutations. (A) Replication kinetics of two escape mutants in II-18 cells. II-18 cells were infected with the MVs at an MOI of 0.01. At various time intervals, cells were harvested in the culture medium and their CIU values were determined in Vero/hSLAM cells. (B) EGFP autofluorescence in MV-infected monolayers of II-18 cells. Panels show representative images obtained with a fluorescence microscope at 6 days postinfection.

表6

TABLE 5 Amino acid differences in recombinant MVs

Amino acid position	Amino acid difference in recombinant MV ^a :						
	A	D3	β12(N481Y)	H8	H9	H10	H11
174	T	A	T	A	A	A	A
176	T	A	T	A	A	A	A
211	G	S	G	S	S	S	S
235	E	G	E	G	G	G	G
243	K	G	K	G	G	G	G
252	Y	H	Y	H	H	H	H
276	L	F	L	F	F	F	F
284	L	F	L	F	F	F	F
296	L	F	L	F	F	F	F
302	G	R	G	R	R	R	R
334	Q	R	Q	R	R	R	R
390	I	N	N	I	I	N	I
416	D	N	N	D	N	D	D
446	S	T	T	T	S	S	S
481	Y	N	Y	Y	Y	Y	Y
492	G	E	E	G	G	G	E
575	Q	K	K	K	K	K	K

^aThese recombinant MVs were reported previously (31).

图2

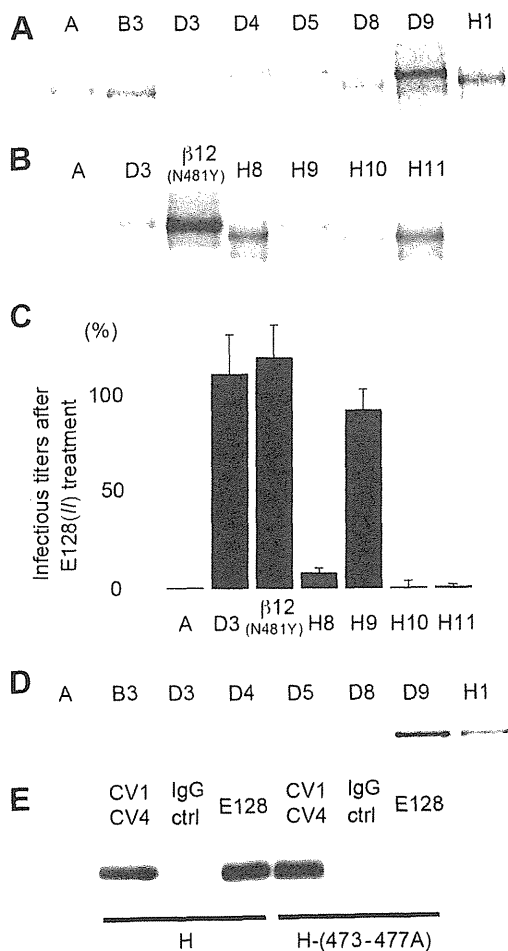


FIG 3 Masking of epitope II by the N416-linked sugar. (A) SDS-PAGE analyses for the mobility of H proteins of different genotypes. MV-infected Vero/hSLAM cells at 36 h postinfection were labeled with [³⁵S]methionine-cysteine and lysed in RIPA buffer. Polypeptides were then immunoprecipitated with a polyclonal Ab against MV and resolved by SDS-PAGE. (B) SDS-PAGE analyses for the mobility of H proteins of previously reported recombinant MVs possessing a chimeric H gene between the IC323 (genotype D3) and Edmonston (genotype A) strains or various point mutations. (C) Neutralizing assays of E128 against EGFP-expressing MV strains possessing a chimeric H gene between the IC323 (genotype D3) and Edmonston (genotype A) strains or various point mutations. The CIU of each virus was determined in H-18 cells in the presence or absence of E128. The CIU determined in the presence of E128 was compared with that in the absence of E128. The CIU in the absence of E128 was set to 100%. (D) SDS-PAGE analyses for the mobility of Endo-H-treated H proteins of different genotypes. (E) A five-residue alanine substitution in the H protein at residues 473 to 477 prevents binding of MAbs E128. Immunoprecipitation of MV H_{Flag} and CD46-binding defective MV H_{Flag}-(473-477A) with MAbs CV1/CV4 and E128. The immunoprecipitated material was gel fractionated, followed by immunoblotting and detection of H_{Flag} with an anti-Flag M2 antibody. IgG ctrl; control IgG.

図3

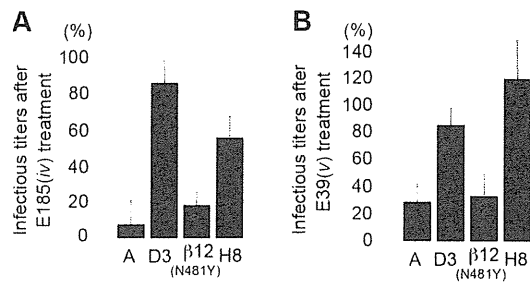


FIG 4 Neutralizing assays of E185 and E39 against EGFP-expressing MV strains with different H protein sequences. (A) The CIU of each virus was determined in B95a cells in the presence or absence of E185. (B) The CIU of each virus was determined in II-18 cells in the presence or absence of E39. The CIU determined in the presence of the Abs was compared with that in the absence of the Abs. The CIU in the absence of the Abs was set to 100%.

表7

TABLE 6 Neutralizing titers against recombinant MV possessing the Edmonston H protein with various amino acid substitutions^a

Mutation	Neutralizing titer against recombinant MV:	
	E185(<i>iv</i>) in B95a	E39(<i>v</i>) in II-18
(-)	494	1,750
G211S	494	875
E235G	62	1,750
Y252H	494	1,750
L284F	494	1,750
L296F	494	1,750
G302R	494	<27

^a Neutralizing titers for 1 mg/ml of Ig. (-), parental virus.

図4

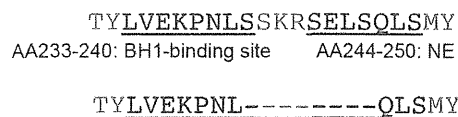


FIG 5 Amino acid sequence of epitope *iv*. The amino acid residues at positions 231 to 252 are shown. The residues known to constitute part of the epitope are shown in blue characters (top). The amino acid residues represented in the crystal structures are shown. Missing residues are indicated by dashes.

表8

TABLE 7 Competitive binding of anti-H protein MAbs against SLAM^a

Ab	Antigenic site	Competitive activity ^a
B5	<i>I</i>	++
E81	<i>I</i>	+
E128	<i>II</i>	++
E103	<i>vi</i>	-

^a ++, Complete inhibition; +, weak inhibition; -, no inhibition.

表9

TABLE 3 Competitive binding of anti-H protein MAbs against SLAM^a

MAB	Antigenic site	Competitive activity ^b
2F4	<i>vii</i>	++
B5	<i>I</i>	++
E128	<i>II</i>	++
E103	<i>vi</i>	-

^a The detailed procedure has been previously reported (12).

^b ++, complete inhibition; -, no inhibition.

5

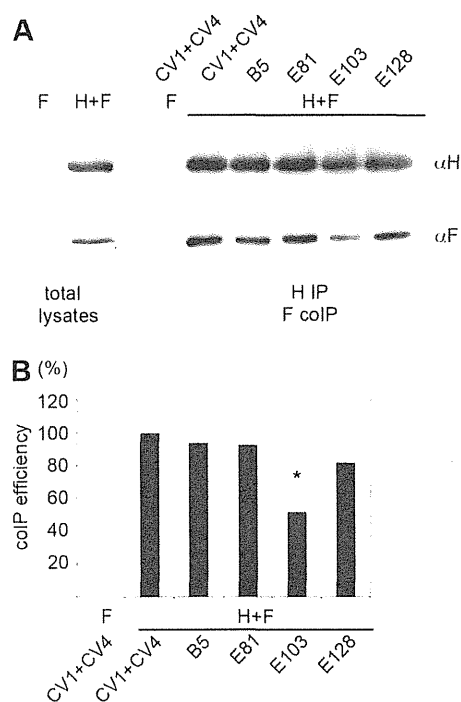


FIG 6 MV H and F protein coimmunoprecipitation. MAb E103 shows reduced immunoprecipitation efficiency for H/F hetero-oligomers. (A) Vero cells transiently transfected with expression plasmids encoding MV H_{Flag} and F_{HA}, or F_{HA} only as a control, were immunoprecipitated with specific MAbs directed against the MV H protein ectodomain (CV1/CV4, B5, E81, E103, or E128 as indicated). Precipitated H_{Flag} material was labeled with an anti-Flag M2 antibody, and the coprecipitated F_{HA} was detected with an anti-HA 16b12 antibody. (B) For densitometric quantification, the ratio of F_{HA} to H_{Flag} signals was determined for each MAb, followed by normalization to the coimmunoprecipitation ratio obtained with the CV1/CV4 reference MAb mixture. Data represent the means \pm standard errors of the means (SEM) of results from three experiments. The asterisk indicates that, in F densitometry, a *t* test returned *P* values of <0.05 for the difference in coimmunoprecipitation (CoIP) efficiency, with E103 relative to the CV1+CV4 reference.

表10

TABLE 4 Neutralizing titers against recombinant MVs possessing the IC-H protein with various amino acid substitutions

Cell line	Mutation	Infectivity	Neutralizing titer ^a			
			B5 (I)	E81 (I)	E103 (vi)	2F4 (vii)
B95a	Wild type (-)	+	7,536	1,727	10,231	22,141
	F483A	+	3,768	1,727	10,231	<346
	Y543S	+	1,884	1,727	2,558	692
	D505S	-	NA	NA	NA	NA
	R533A	-	NA	NA	NA	NA
II-18	Wild type (-)	+	3,764	27,631	20,462	11,070
	F483A	-	NA	NA	NA	NA
	Y543A	-	NA	NA	NA	NA
	D505S	+	1,884	13,815	20,462	<5
	R533A	+	1,884	27,631	20,462	173

^a Data represent neutralizing titers for 1 mg/ml of immunoglobulin. NA, not applicable.

图6

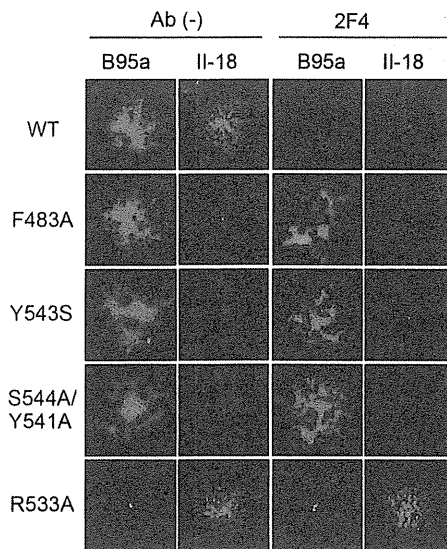


FIG 2 Effects of specific substitutions on virus infectivity and MAb neutralization. EGFP autofluorescence in MV-infected SLAM⁺ B95a cells and nectin4⁺ II-18 cells is shown. B95a and II-18 cells were infected with rMV containing F483A, Y543S, S544A/Y541S, and R533A substitutions in the presence or absence of MAb 2F4. The panels show representative images observed using a fluorescence microscope.

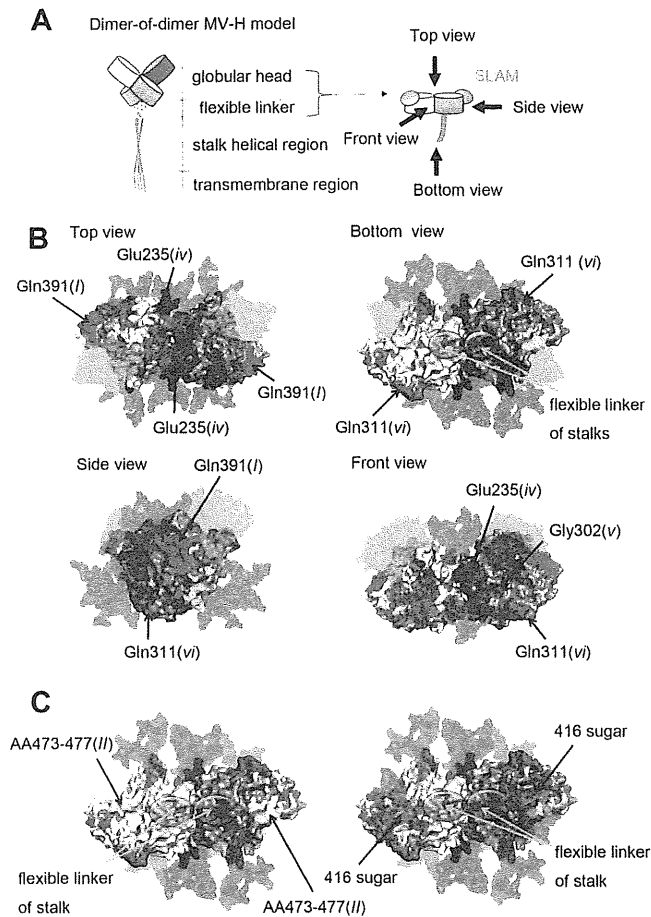


FIG 1 Locations of epitopes on the H protein dimeric structure. (A) Diagrams of a dimer of H protein dimers. The four H protein molecules are shown in gray, light gray, purple, and light purple. SLAM is shown in cyan. (B) Locations of epitopes *I*, *iv*, and *vi*. SLAM and predicted *N*-linked sugars are shown in translucent cyan and magenta, respectively. The amino acid residues demonstrated or suggested to constitute a portion of an epitope are shown in colors: residues on β -sheets 1, 2, 3, 4, 5, and 6 (18) are shown in blue, green, light green, yellow, orange, and red, respectively. (C) Location of epitope *II*. H protein dimers without (left) and with (right) the *N*-linked sugar at position 416 are shown. The figures were produced using PyMOL (Schrödinger; <http://www.pymol.org>).

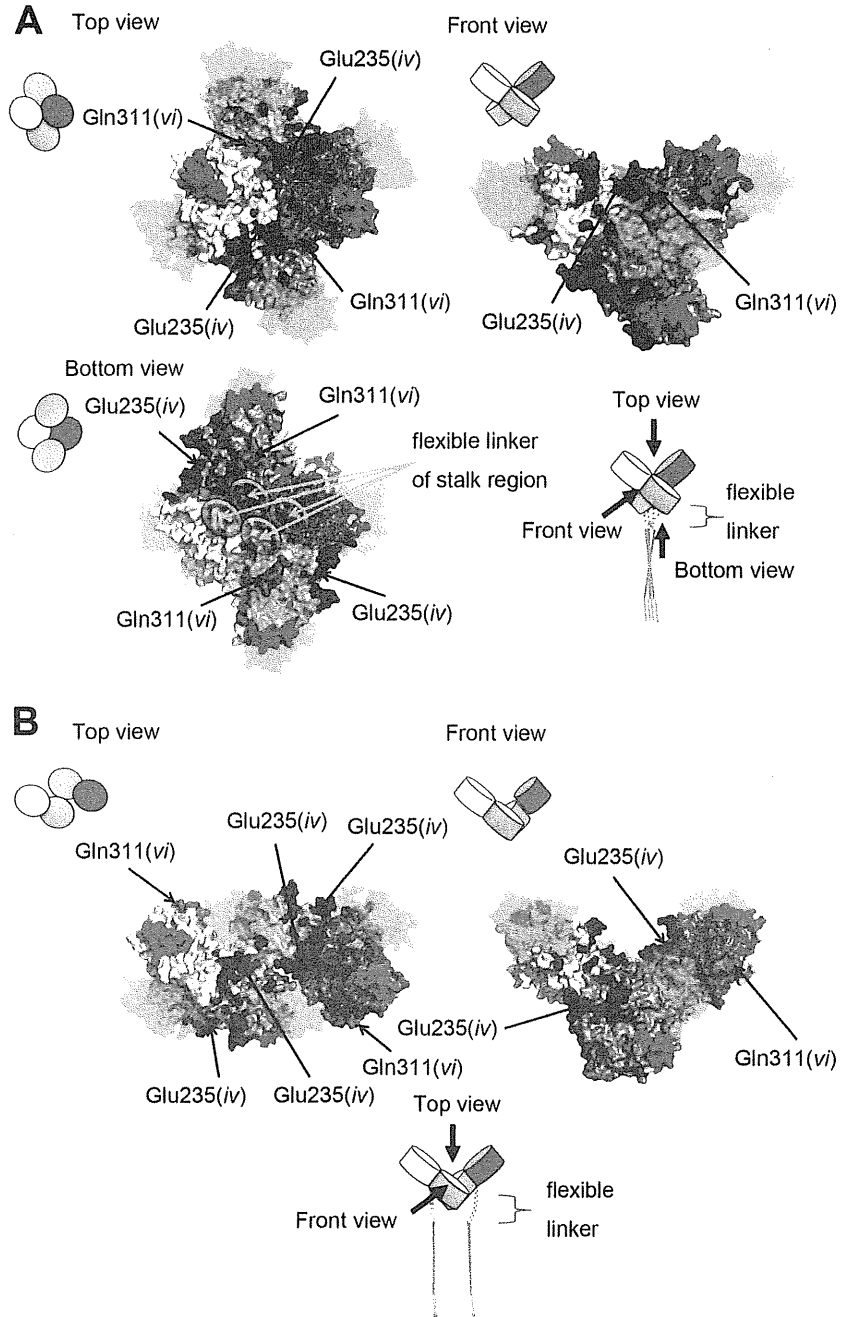


FIG 7 Locations of epitopes *iv* and *vi* on the H protein tetrameric structure. The four H protein molecules are shown in gray, light gray, purple, and light purple. SLAM is shown in translucent cyan. The amino acid residues demonstrated or suggested to constitute a portion of an epitope are shown in colors: residues on β -sheets 1, 2, 3, 4, 5, and 6 (18) are shown in blue, green, light green, yellow, orange, and red, respectively. (A) A tetrameric structure in form I (18). (B) A tetrameric structure in form II (18).

☒9

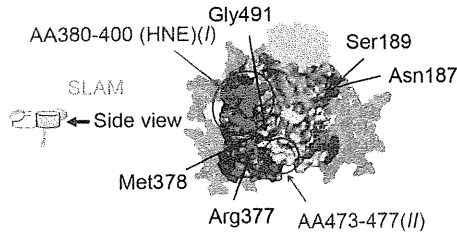


FIG 8 A major epitope region covering a large area containing epitopes I and II. A side view of a dimer is shown. SLAM and predicted sugars are shown in translucent cyan and magenta, respectively. The amino acid residues demonstrated or suggested to constitute a portion of an epitope are shown in colors: residues on β -sheet 1, 2, 3, 4, 5, and 6 (18) are shown in blue, green, light green, yellow, orange, and red, respectively.

☒10

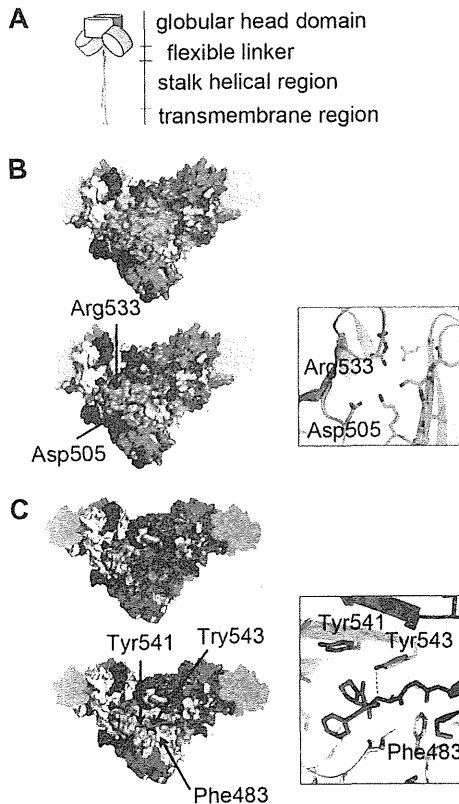


FIG 1 Location of epitope *vii* on the H protein tetrameric structure. (A) Diagram of an H protein tetramer (a dimer of H protein dimers). The four H protein molecules are shown in dark gray, light gray, dark purple, and light purple. (B) Location of SLAM-interacting residues, which constitute epitope *vii* on the tetrameric H protein structure in complex with SLAM (19). SLAM is shown in translucent cyan. SLAM interacting with the gray H protein is deleted in the structure shown at the bottom. A detailed view in a ribbon and stick diagram is shown in the box. SLAM is shown in cyan, and H protein is shown in orange or yellow. (C) Location of nectin4-interacting residues, which constitute epitope *vii*. The tetrameric structure was reconstructed using data by Hashiguchi et al. (19) and Zhang et al. (18). Nectin4 is shown in translucent magenta. Nectin4 interacting with the gray H protein is deleted in the structure shown at the bottom. A detailed view in a ribbon and stick diagram is shown in the box. Nectin4 is shown in magenta, and H protein is shown in orange or yellow. (B and C) The figures were produced using PyMOL (Schrödinger; <http://www.pymol.org>). The amino acid residues demonstrated or suggested to constitute portions of epitopes are shown in colors as follows: residues on beta-sheets 1, 2, 3, 4, 5, and 6 (19) are shown in blue, dark green, light green, yellow, orange, and red, respectively.

表11

TABLE 4 Relation between epitopes and Abs^a

Epitope name		Region or amino acids which constitute an epitope	Ab which recognizes the epitope	
Present study	Previous papers		Present study	Previous papers
		126-135		MAb48
		185-195		I-44
<i>iv</i>	NE	233-240	E185	BH1
		244-250		BH47, BH59, BH129
<i>v</i>		302	E39	
<i>vi</i>		309-318	E103	I-29, BH38
<i>I</i>	HNE	380-400	E81, B5	BH6, BH21, BH216
		377		BH171
		378		BH168
<i>II</i>		473-477	E128	
		491		16-CD-11
		505-506		80-II-B2
		552		I-41
		587-596		MAb18

^a Relation between epitopes and Abs in the present and previous studies (10, 41, 42, 47, 51, 53).

「麻疹ウイルス野生株の鑑別に関する研究」

研究分担者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所ウイルス第 3 部

研究要旨

麻疹排除は「優れたサーベイランスが整った下で、常在性の麻疹ウイルスによる麻疹症例が 12 ヶ月間以上ない事」と定義されている。国内の定着株と考えられていた遺伝子型 D5 のウイルスの検出は 2 年以上なく、海外からの輸入株と考えられる遺伝子型 D4、D9、D8、G3、H1 のウイルスが、近年、検出されている。これらのウイルスが今後 1 年間以上継続して検出されれば、新たな定着株とされ、日本の状況は麻疹排除の定義から外れる事になる。今後、同一の遺伝子型ウイルスが検出された場合には、それが過去の検出されたウイルスに由来するのか、あるいは新たに侵入してきたウイルスなのかの鑑別が必要になってくる場合も考えられる。本研究では 2010 年以降に検出されたウイルスの遺伝子情報を用いて、現在 WHO が遺伝子型別用に指定している N 遺伝子 450 塩基の配列の解析で、同一遺伝子型内のウイルスの鑑別が可能なのかを検討した。その結果、少なくとも D4 型、D9 型では異なる時期、異なる場所からの輸入ウイルスでも 450 塩基の解析だけでは鑑別ができない事がある事が明らかになった。さらに分離されたウイルスを用いて N 遺伝子、H 遺伝子の全塩基配列を解析し、それらのウイルスを比較すると、D4 型のウイルスにおいては鑑別ができない場合もあった。これらより、今後もウイルスの鑑別が困難な場合も予想されることから、ウイルス学的な解析だけでなく、より丁寧な疫学調査の実施が求められると考えられた。またより詳細なウイルスの解析を可能にするウイルス分離も重要性も増してくるだろう。

A. 研究目的

麻疹は WHO が排除、根絶を目指す感染症で、日本が所属する WHO 西太平洋地域(WPR)では 2012 年までに排除を達成する事を目指している。日本においては 2006-2008 年に 10-20 代を中心とした流行があったことから、2007 年末に「麻疹に関する特定感染症予防指針」を告示し、補足的麻疹風疹ワクチン接種を導入して感受性を減少させるとともに、麻疹、風疹を全数届出疾病としサーベイランス体制の強化に努めた。これら施策の成果もあり、2012 年の麻疹報告数は 300 例を下回り麻疹

排除は現実のものになりつつある。麻疹排除は「優れたサーベイランスが整った下で、常在性の麻疹ウイルスによる麻疹症例が 12 ヶ月間以上ない事」と定義され、麻疹報告数だけでなく、検出された麻疹ウイルスの由来、起源の情報が必要となっている。現在、日本の定着株とされている遺伝子型 D5(バンコク型)ウイルスは、2010 年 5 月以降、約 2 年半にわたり検出されておらず、このことから現状が麻疹排除に近い状態であることが強く示唆されている。一方、近年海外に由来すると考えられる遺伝子型 D9、D4、D8、G3、

H1型のウイルスがたびたび検出されている。新たに出現したこれらのウイルスが1年以上継続して検出されると新たな定着株と定義される事から、今後これらのウイルスにおいて、それが以前持ち込まれたウイルスが継続して日本で伝播しているのか、新たに海外から持ち込まれたウイルスであるのかを疫学的、あるいはウイルス学的に解明していく必要がある。本研究は、WHOが遺伝子型別に推奨するN遺伝子450塩基の解析で遺伝子型以上のウイルスの鑑別が可能なのかを検討すること、また、分離ウイルスを用いたより詳細な遺伝子解析によってウイルスの鑑別が可能なのかを検討した。

B. 研究方法

- 1) 系統樹解析：地方衛生研究所が解析したWHOが定めるN遺伝子C末部位450塩基の塩基配列情報を収集し、NJ法で系統樹解析を行い、遺伝子型を決定した。
- 2) 分離麻疹ウイルスのN遺伝子、H遺伝子の解析：地方衛生研究所により分与を受けた麻疹ウイルスをVero/SLAM細胞で培養後、その培養上清からRNAを抽出し、適当なPCR用プライマーを設定しウイルスのN遺伝子、H遺伝子を増幅した。増幅されたN遺伝子、H遺伝子はダイレクトシーケンシングで塩基配列を決定した。

倫理面への配慮

臨床材料は疫学研究における倫理指針に基づき個人情報の保護等に配慮して行われた。

C. 研究結果

1) 麻疹ウイルスの系統樹解析
表1に示した2010年～2012年に検出、解析された麻疹ウイルスN遺伝子450塩基配列の情報からNJ法で系統樹解析を行った。D4型ウイルス61株はさらに6つのウイルス群に分類され、D9型ウイルス75株は13群に、

D8型ウイルスは5群に、H1型ウイルスは3群に、G3型ウイルスは2群に分類された。

2) 海外由来確定株による麻疹ウイルスの解析

疫学調査から麻疹発症前に渡航歴があり、ウイルスの遺伝子解析からも海外での感染が考えられる麻疹症例のみを抽出し、その塩基配列情報から系統樹解析を行った。遺伝子型D4型ウイルスではヨーロッパ由来、パキスタン由来、ニュージーランド由来、インド由来の4つのウイルス群に分類された(図1)。2011年～2012年にヨーロッパからの持ち込まれた少なくとも8種の麻疹ウイルスは患者の感染地域、感染場所が異なってもN遺伝子450塩基の配列は同一であり、WHOの推奨する遺伝子型別用配列の解析ではウイルスの由来の違いを検出できなかった。また、同様に海外での感染例と考えられた19株の遺伝子型D9ウイルスを解析したところ、13群に分類された。フィリピンに関連する3群以外は独立していた。フィリピンに関連する群内では検体の採取時期(患者の発症時期)が1年半以上はなれていた症例から検出された麻疹ウイルスでも同一の遺伝子配列を持っていた(図2)。

3) 全長N遺伝子、H遺伝子によるウイルス鑑別法の検討

2008年から2011年に分離された麻疹ウイルスからPCR法でN遺伝子(コーディング部位1578bp)、H遺伝子(全遺伝子1958bp)の塩基配列を解析し、WHOの遺伝子型別法では鑑別ができなかったD4型、D9型ウイルス間での鑑別が可能かを検討した。D4型ではともにフランスからの輸入株であるMvi/OsakaC. JPN/9.11[D4]とMvi/Kobe. JPN/17.11.110064[D4]で比較し、D9型では明らかな輸入株同士での比較はできなかったが、MVi/Mie. JPN/33.10[D9](フィリピン由来株)と同じくフィリピン由来のMVs/Aichi. JPN/26.10[D9]株の関連株と考え

られた MVi/Aichi. JPN/31.10 [D9] で比較した。H 遺伝子による解析では D9 型の 2 株、D4 型の 2 株の鑑別はできなかったが、N 遺伝子の解析では D9 型の 2 株間には 2 塩基の相違が見いだされ鑑別は可能であった。一方、D4 型 2 株間の塩基配列は同一であり、鑑別はできなかった (図 3, 4)。

D. 考察

WHO は麻疹排除の定義を「優れたサーベイランスが整った下で、常在性の麻疹ウイルスによる麻疹症例が 12 ヶ月間以上ない事」としており、麻疹症例の疫学的、ウイルス学的な解析が麻疹排除の認定を受けるには求められている。今回の結果から、D4 型、D9 型麻疹ウイルスでは感染した時期、感染した場所が異なっても WHO の推奨する 450 塩基の解析ではウイルスの鑑別ができない可能性がある事が明らかになった。また、N 遺伝子タンパク質コード部位、全 H 遺伝子と 1500 塩基以上に解析 window を広げても必ずしもウイルスの鑑別ができない場合がある事も明らかになった。2009-2011 年にかけてヨーロッパ広域 (D4 型ウイルス)、フィリピン (D9 型ウイルス) による大規模の麻疹の流行があり比較的短期間に広範囲にウイルスが拡散したことが多くの同一の遺伝子を持つ株が検出された事と関連していると考察された。現在、まだワクチン接種率が十分でない国も多く、今後もある周期において麻疹の流行が再興する可能性は否定できない。短期間に麻疹が拡大する場合には今回と同様にウイルスの鑑別が困難である可能性が考えられた。

今回の結果からウイルス学的解析だけで麻疹ウイルスを鑑別する事は容易ではない事が示された。今後は、疫学調査を強化し、ウイルス学的解析との相互補完によりウイルスの由来を同定していく事が求められるだろう。また、ウイルスのより詳細な解析を可能にするウイルス分離が重要性を増

すだろう。

F 結論

異なる時期、地域からの輸入株でも WHO の推奨する遺伝子型分類法では鑑別できない事が明らかになり、また 1500 塩基以上の解析 window を用いても鑑別が困難なケースもあることが判明した。麻疹排除は「優れたサーベイランスが整った下で、常在性の麻疹ウイルスによる麻疹症例が 12 ヶ月間以上ない事」と定義されていることから、今後は各症例を疫学的、ウイルス学的により丁寧に調査、解析していく事が必要であろう。またより詳細な解析を可能にするウイルス分離が期待される。

謝辞

麻疹ウイルスの遺伝子情報を提供して下さったすべての地方衛生研究所、麻疹検査担当者の方に深謝いたします。また麻疹ウイルスを分与していただいた平良勝也先生 (沖縄県環境衛生研究所)、赤池重宏先生 (三重県保健環境研究所)、田中俊光先生 (千葉市環境保健研究所)、長野秀樹先生 (北海道立衛生研究所)、青木洋子先生 (山形県衛生研究所)、久保英幸先生、改田厚先生 (大阪市立環境科学研究所)、重本直樹先生 (広島県立総合科学研究所、保健環境センター)、秋吉京子先生 (神戸市環境保健研究所)、皆川洋子先生 (愛知県衛生研究所)、斉藤隆行先生 (神奈川県衛生研究所) に感謝いたします。

F. 健康危機情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Watanabe K, Watanabe K, Tazawa T, Kon M, Tamara T, Komase K. Imported

- cases of measles in Niigata, Japan in 2011. *Jpn J Infect Dis.* 65(3) 268-70, 2012
- 2) Tran DN, Pham NT, Tran TT, Khamrin P, Thongprachum A, Komase K, Hayakawa Y, Mizuguchi M, Ushijima H. Phylogenetic analysis of rubella viruses in Viet Nam during 2009-2010. *J Med Virol.* 84(4):705-10, 2012
 - 3) Ohkura T, Kikuchi Y, Kono N, Itamura S, Komase K, Momose F, Morikawa Y. Epitope mapping of neutralizing monoclonal antibody in avian influenza A H5N1 virus hemagglutinin. *Biochem Biophys Res Commun.* 3; 418(1): 38-43, 2012
 - 4) Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma X, He J, Xu S, Fukuhara H, Sakai K, Komase K, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, Takeda M. Functional and structural characterization of neutralizing epitopes of measles virus hemagglutinin protein. *J Virol.* 87(1): 666-75, 2012
 - 5) Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzaki Y, Iwata N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T, Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M, Morikawa S. Lethal canine distemper virus outbreak in cynomolgus monkeys in Japan in 2008. *J Virol.* 87(2):1105-14, 2013.
 - 6) Nakayama T, Sawada A, Kubo H, Kaida A, Tanaka T, Shigemoto N, Komase K, Takeda M. Simple method to differentiate measles vaccine from wild-type strains using loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Microbiol Immunol* (2013) Jan 22 [Epub ahead of print]
 - 7) Tahara M, Ohno S, Sakai K, Ito Y, Fukuhara H, Komase K, Brindley MA, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, Takeda M. The receptor-binding site of the measles virus hemagglutinin protein itself constitutes a conserved neutralizing epitope. *J Virol* (2013) Jan 2 [Epub ahead of print]
 - 8) 駒瀬勝啓 Q&A 麻疹検査診断法 日本医事新報 2012 4605: 57-59.
 - 9) 駒瀬勝啓、竹田誠 麻疹、風疹、ムンプスの検査診断の現状、臨床と微生物 2012 39(6): 656-662.
 - 10) 駒瀬勝啓 麻疹ワクチン、風疹ワクチンの品質管理 臨床とウイルス 2012 40(5):334-341.
- ## 2. 学会発表
- 1) 駒瀬 勝啓、高崎智彦、竹田誠 デング熱患者における麻疹 IgM 抗体の検出、第 86 回日本感染症学会学術講演会 長崎 2012 年 4 月 24 日～25 日
 - 2) Khamla Lerdsaway, K. Thammavongsa, P. Ounnaphone, B. Khamphongphanh, V. Somoulay, P. Vongphrachanh, K. Komase, K. Yamamoto, S. Archkhawong, P. Ketmayoon, M. Phengxay, T. Chanthapaseuth, K. Feldon, J. Denny, H. Lewis、Rubella Susceptibility Study among Women of Child-bearing Age - Vientiane Capital, Lao PDR, 2010, 15th International Congress on Infectious Diseases, Bangkok, 2012 年 6 月 13 日～16 日
 - 3) 中山哲夫、改田厚、駒瀬勝啓、麻疹ウイルス野生流行株とワクチン株との鑑別、第 53 回日本臨床ウイルス学会、堺 2012 年 6 月 16 日～17 日
 - 4) 駒瀬勝啓、秋吉京子、伊藤正寛、麻疹 IgM 抗体価測定による麻疹検査診断-偽陽性と感度の関係-、第 53 回日本臨床ウイルス学会、堺 2012 年 6 月 16 日～17 日
 - 5) 点状出血で発症したパルボウイルス感染症の臨床とウイルス学的検討～麻疹 IgM 抗体との交叉反応について～、第 53 回日本臨床ウイルス学会、堺 2012

年 6 月 16 日～17 日

- 6) 酒井宏治、關文緒、網康至、田原舞乃、中津祐一郎、大槻紀之、福原英雄、福士秀悦、吉川智城、西條政幸、森川茂、前仲勝美、山口良二、駒瀬勝啓、竹田誠、カニクイザルで致死的感染症を起こしたジステンパーウイルスのサルレセプターの効率的な利用：ジステンパーウイルスはヒトへの脅威となり得るのか？ 第 60 回日本獣医学会 岩手 2012 年 9 月 14 日～16 日
- 7) 中津 祐一郎、鈴木 忠樹、駒瀬 勝啓、竹田 誠、極性上皮細胞におけるリサイクリングエンドソーム経路を利用した麻疹ウイルス RNP 複合体の細胞膜への輸送と感染性ウイルス粒子の産生：第 60 回ウイルス学会学術集会 大阪、2012 年 11 月 13 日～15 日
- 8) 田原 舞乃、Melinda A. Brindley、福原 秀雄、酒井 宏治、大野 真治、駒瀬 勝啓、Paul A. Rota、Richard K. Plemper、前仲 勝実、竹田 誠、麻疹ウイルス単一血清型決定の分子基盤：第 60 回ウイルス学会学術集会 大阪、2012 年 11 月 13 日～15 日
- 9) 酒井 宏治、關 文緒、網 康至、田原 舞乃、中津 祐一郎、大槻 紀之、福原 秀雄、福士 秀悦、吉河 智城、西條 政幸、森川 茂、前仲 勝実、山口 良二、駒瀬 勝啓、竹田 誠、カニクイザルで致死的感染症を起こしたジステンパーウイルスのサルレセプターの効率的な利用：ジステンパーウイルスはヒトへの脅威となり得るのか？：第 60 回ウイルス学会学術集会 大阪、2012 年 11 月 13 日～15 日
- 10) 内野 清子、三好 龍也、森 嘉生、駒瀬 勝啓、田中 智之、いわゆる臨床検体三点セットを用いた風疹ウイルス検出状況：第 60 回ウイルス学会学術集会 大阪、2012 年 11 月 13 日～15 日
- 11) 田原舞乃、駒瀬勝啓、竹田誠、麻疹ウイルス H 蛋白質全エピトープの詳細な解析、第 16 回日本ワクチン学会学術集会 横浜 2012 年 11 月 17 日～18 日
- 12) Kouji Sakai, Fumio Seki, Maino Tahara, Noriyuki Otsuki, Yasushi Ami, Masayuki Saijo, Ryoji Yamaguchi, Katsuhiko Komase, Makoto Takeda and Shigeru Morikawa, Canine distemper virus intrinsically uses monkey receptors and readily adapts to use human receptors as well, 15th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) Singapore 2013 年 3 月 11 日～13 日
- 13) シンポジウム 駒瀬勝啓、麻疹の疫学、実験室検査診断、衛生微生物技術協議会第 33 回研究会 横浜 2012 年 6 月 28 日～29 日
- 14) シンポジウム 駒瀬勝啓、麻疹、風疹ウイルスと検査診断について、第 26 回公衆衛生情報研究協議会、研究会 沖縄 2013 年 1 月 24 日～25 日
- 15) 講演 駒瀬勝啓、麻疹、風疹発生状況、ウイルス検査の概要と精度管理、平成 24 年度地方衛生研究所東海、北陸ブロック微生物部門専門家会議 名古屋 2012 年 10 月 18 日～19 日

表1. N 遺伝子配列(450塩基)

Year/genotype	D4	D8	D9	G3	H1
2010	1	1	17	0	2
2011	58	5	52	2	0
2012	2	11	6	0	5

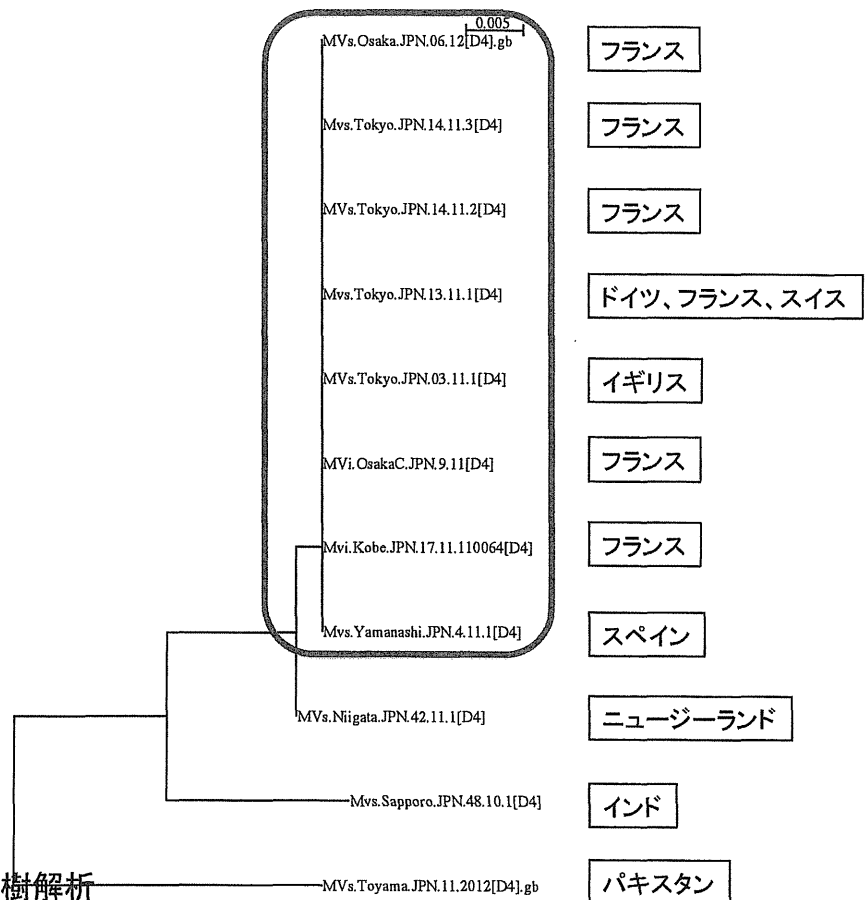


図1. D4型ウイルスの系統樹解析 (WHO 遺伝子型別法)

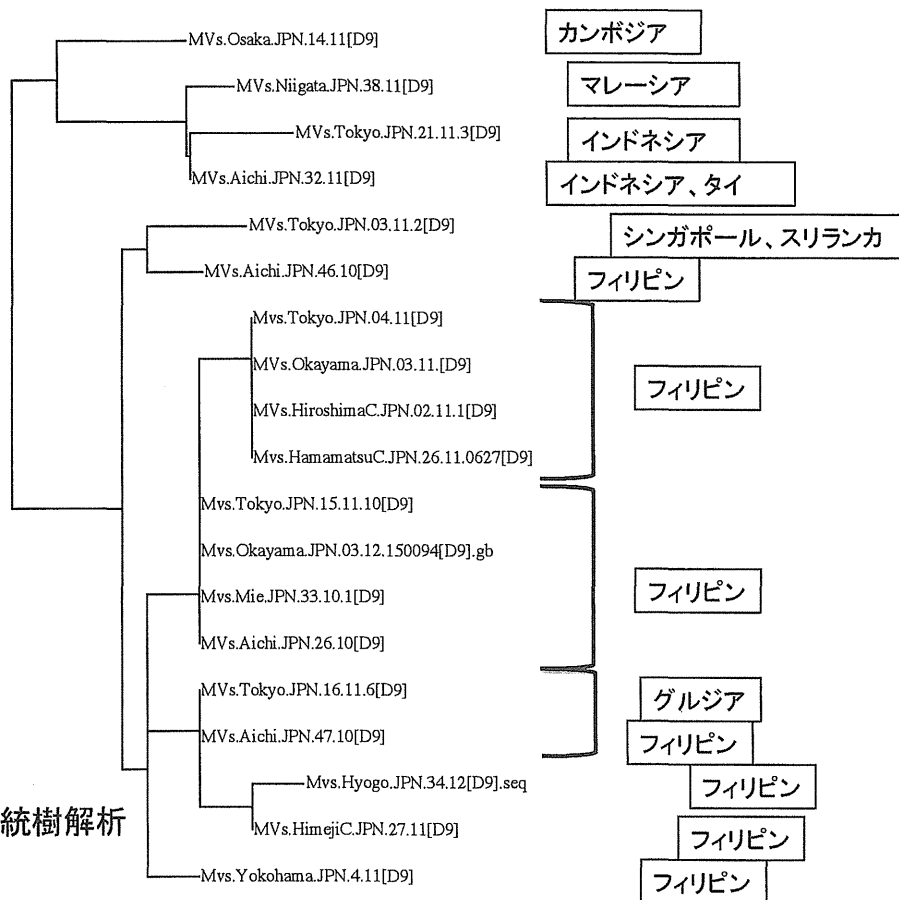


図2. D9型ウイルスの系統樹解析 (WHO 遺伝子型別法)

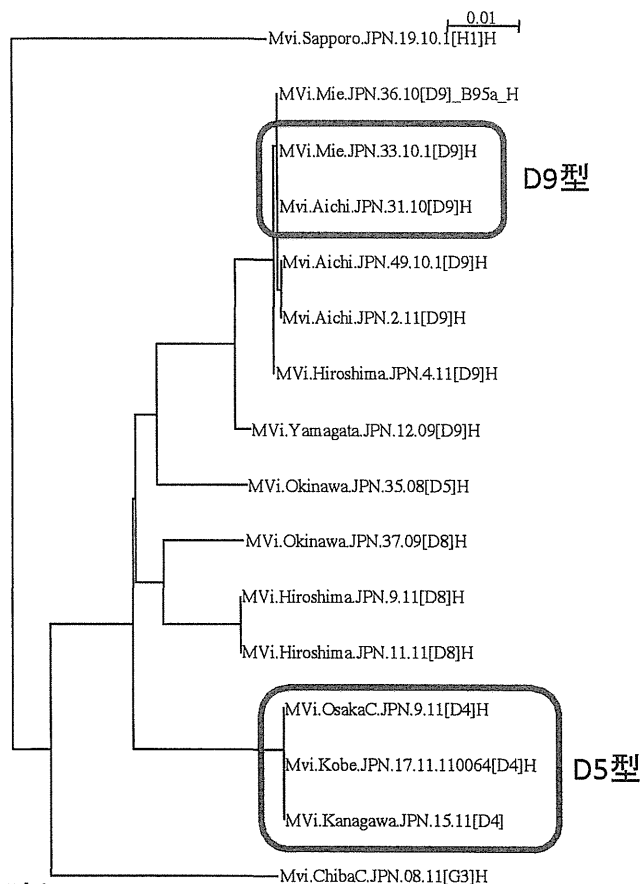


図3. 全長H 遺伝子による系統樹解析

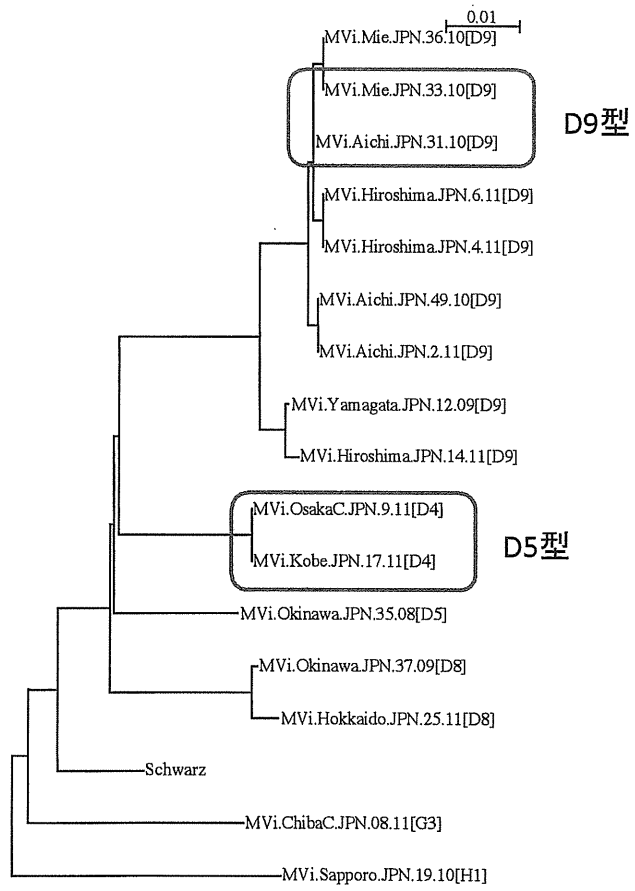


図4. N遺伝子による系統樹解析

平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)
「早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究」
分担研究報告書

「麻疹検査技術の標準化、並びに検体輸送体制の強化に関する研究」

研究分担者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所

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	山形県衛生研究所
小川知子、堀田千恵美、涌井拓、仁和岳史、小倉惇	千葉県衛生研究所
渡邊 美樹	茨城県衛生研究所
大金 映子	栃木県保健環境センター
池ヶ谷美穂、長島 史子	宇都宮市衛生環境試験所
塚越 博之	群馬県衛生環境研究所
鈴木 典子	埼玉県衛生研究所
大泉佐奈江	さいたま市健康科学研究センター
横井 一	千葉市環境保健研究所
長谷川道弥	東京都健康安全研究センター
七種美和子、小澤広規、熊崎真琴、川上千春、宇宿秀三、畔上栄治、上原早苗、船山和志、森田昌弘	横浜市衛生研究所
里見真希、小野範子、椎葉桂子、岩田眞美	横浜市健康福祉局健康安全部
鈴木理恵子	神奈川県衛生研究所
清水英明	川崎市衛生研究所
竹内恵美	横須賀市健康安全科学センター
望月響子	相模原市衛生研究所
大沼正行	山梨県衛生公害研究所
内山友里恵	長野県環境保全研究所
長岡宏美	静岡県環境衛生科学研究所
柴原乃奈	静岡市環境保健研究所
鈴木幸恵	浜松市保健環境研究所
児玉洋江	石川県保健環境センター
堀本栄詞	富山県衛生研究所
小和田和誠	福井県衛生環境研究センター
皆川洋子、安井善宏、小林慎一、平松礼司、小栗信、広瀬かおる、山下照夫	愛知県衛生研究所
森嘉生	国立感染症研究所
倉田貴子、上林大起、加瀬哲男	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	
濱岡修二、村田祥子、岡本(中川)玲子、戸田昌一、富田正章、調恒明	

石橋哲也、吉富秀亮、中村朋史、世良暢之
平良勝也、仁平稔、岡野祥、喜屋武向子
田中智之、内野清子
庵原俊昭、浅田和豊、菅 秀
二井立恵、伊佐地真知子
伊藤正寛
赤地重宏、大熊和行

山口県環境保健センター
福岡県保健環境研究所
沖縄県衛生環境研究所
堺市衛生研究所
国立病院機構三重病院小児科
白子クリニック小児科
京都市公衆衛生研究所
三重県保健環境研究所

研究要旨

世界保健機関(WHO)は麻疹の排除/根絶を目標としている。また、麻疹排除は「質の高いサーベイランス体制の下で12ヶ月間以上、その地域で流行していた麻疹ウイルスによる感染の伝播がない事」と定義している。WHOの求める「質の高いサーベイランス」の要件の一つとして、WHOにより認定されたNational Laboratory (NL:日本においては国立感染症研究所)、あるいはNLにより精度管理された組織による検査診断に基づいたサーベイランス体制を求めている。本小班では、WHOの要件に満たすサーベイランス体制の確立をめざし、医療機関、保健所、地方衛生研究所、感染研間の連携による検査診断体制を構築し、かつそれを効率的に運営できる環境をつくることを目的としている。また、検査によってえられたデータ、経験から、より正確に麻疹を診断するための情報を収集、共有する事も目的としている。本年の成果は以下である。

- 1) 2012年において本研究班で把握された、地方衛生研究所で実施されたPCRによる検査症例数は、1835症例であった(一部の地衛研の情報は含まれていない)。2009年の検査症例数は232症例であったことから3年間で5倍以上増加したことになる。また50~65%の症例では、咽頭拭い液、尿、血液の3検体(3点セット)がそろって搬入された。
- 2) 1835症例のうち、RT-PCRで麻疹ゲノムが検出された症例は85症例(遺伝子型A、未確定を含む)であった。愛知県、岐阜県(D8型)、千葉県(D8型)、岡山県(D9型)、福島県(H1型)、宮崎県(D8型)において海外から持ち込まれた麻疹ウイルスが原因と考えられるアウトブレイクがあった。その他の検出例の多くは孤発例であった。
- 3) 麻疹ウイルス遺伝子型決定領域の解析では、疫学的に由来が異なっている事が確認されている麻疹ウイルスを鑑別できない事があった。また、日本に侵入した時期が明らかに異なるウイルスにおいて、H遺伝子、N遺伝子全領域を解析しても鑑別できない場合もあった。丁寧な疫学調査とウイルス分離が今後、ウイルスの由来を特定するために必要になろう。
- 4) 麻疹PCR陰性例から、風疹ウイルス、パルボウイルスB19、HHPV6、HHPV7、E型肝炎ウイルス、B型インフルエンザウイルス、EBウイルス、コックスサッキーウイルス9型、サイトメガロウイルス、パラインフルエンザウイルス、エンテロウイルス71型ライノウイルス、アデノウイルス3型、ヒトパレコウイルス1型等が検出された。これらの診断は麻疹症例の否定に有用であった。
- 5) 風疹の流行に伴い、麻疹疑い例の検体から風疹ウイルスゲノムが検出された例が多く報告された。検出された風疹ウイルスの遺伝子型は2B、1E、1jであった。風疹も麻