

2012.25012A・B

厚生労働省科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究

平成 22～24 年度 総合研究報告書

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 竹田 誠

平成 25(2013)年 3 月

厚生労働省科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究

平成 22～24 年度 総合研究報告書

研究代表者 竹田 誠

平成 25(2013)年 3 月

## 目次

I. 総合研究報告	1
早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究	3
竹田 誠(国立感染症研究所 ウイルス第三部)	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	31
III. 研究成果の刊行物・別刷 2013 年	43
研究成果の刊行物・別刷 2012 年	121
研究成果の刊行物・別刷 2011 年	255
研究成果の刊行物・別刷 2010 年	475

# I. 総合研究報告

厚生労働科学研究費補助金

平成 23 年度新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究

平成 22 年度～平成 24 年度 総合研究報告書

研究代表者

竹田 誠

国立感染症研究所ウイルス第三部

研究分担者

小澤邦壽

群馬県衛生環境研究所

調 恒明

山口県環境保健センター

駒瀬勝啓

国立感染症研究所ウイルス第三部

森 嘉生

国立感染症研究所ウイルス第三部

木村博一

国立感染症研究所感染症情報センター

柳 雄介

九州大学大学院医学研究院

前仲勝実

北海道大学大学院薬学研究院

協力研究者

長野秀樹、駒込理佳、三好正浩、工藤伸一、岡野素彦

北海道立衛生研究所

菊地正幸、佐藤寛子、村椿絵美、伊藤はるみ

札幌市衛生研究所

青木洋子、水田克巳

山形県衛生研究所

齋藤美香、横田陽子、塚越博之

群馬県衛生環境研究所

永田紀子、渡邊美樹

茨城県衛生研究所

小川知子、堀田千恵美、涌井 拓、仁和岳史、小倉惇、照屋富夫、福島得忍

千葉県衛生研究所

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

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

住友眞佐美、瀨岡陽子、早田紀子、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、  
高井麻美、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、末永麻由美  
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  
板持(岩井)雅恵 富山県衛生研究所  
児玉洋江、谷村睦美 石川県保健環境センター  
堀元栄詞 富山県衛生研究所  
小和田和誠、中村雅子 福井県衛生環境研究センター  
皆川洋子、安井善宏、伊藤雅、小林慎一、安達啓一、續木雅子、平松礼司、小栗 信、  
広瀬かおる、廣瀬絵美、藤原範子、山下照夫 愛知県衛生研究所  
倉田貴子、上林大起、宮川広実、井澤恭子、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、渡邊宜朗、富田正章  
山口県環境保健センター  
石橋哲也、吉富秀亮、中村朋史、田上四郎、前田詠里子、世良暢之  
福岡県保健環境研究所  
平良勝也、仁平 稔、岡野 祥、喜屋武向子、糸数清正  
沖縄県衛生環境研究所  
田中智之、内野清子、狩山雅代、三好龍也、岡山文香、沼田富三、吉田永祥  
堺市衛生研究所  
庵原俊昭、浅田和豊、菅 秀 国立病院機構三重病院小児科  
二井立恵、伊佐地真知子 白子クリニック小児科

伊藤正寛	京都市公衆衛生研究所
赤地重宏、田沼正路、大熊和行	三重県保健環境研究所
渡辺正博	すずかこどもクリニック
秋吉京子	神戸市環境保健研究所
岡崎薫	香川小児病院
染谷健二、關 文緒、酒井宏治、田原舞乃、中津祐一郎、藤井薫、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、安楽正輝、永井美智	国立感染症研究所ウイルス第三部
竹内史比古、関塚剛史	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター
島田智恵、大日康史、加納和彦、野田雅博	国立感染症研究所 感染症情報センター

## 研究要旨

麻疹は、伝染力と病原性が非常に強い急性ウイルス感染症である。効果的なワクチンがあるにもかかわらず 2005 年の時点で、世界の 5 歳未満の小児の全死亡のうち 4% が麻疹によるものであった。世界保健機関(WHO)が中心となって、ワクチン接種を徹底することにより地球規模で麻疹を排除する計画が進められている。我が国でも平成 19 年 12 月「麻しんに関する特定感染症予防指針」(以下、特定指針)が告示され、平成 24 年度までに麻しんを排除し、その後排除状態を維持する目標が出された。日本の麻疹対策は他の先進国と比較して大きく遅れていたが、「特定指針」後の取り組みにより、患者数が大きく減少した。本研究班は、主に実験室診断に携わる側の視点から、わが国が麻疹の排除を達成するための科学的、技術的、そして政策的な問題点を明らかにし、解決することを目的に開始された。初年度(平成 22 年度)に本研究班で掲げた研究課題は、(1)臨床検体の効果的な輸送法、輸送連携システムの開発研究、(2)診断技術の向上(感度の向上、偽陽性や偽陰性の回避等)、(3)流行ルートの効果的な解析法の開発研究、(4)抗原性変化の解析、及びワクチン効果を維持するための研究である。結果、全国の地方衛生研究所(以下、地研)では、麻疹の実験室診断検査(RT-PCR)を行うに十分な技術レベルを達成し、早速、平成 22 年～23 年にかけての輸入症例やワクチンの副反応例を的確に捉えるという成果に現れた。しかしながら、当時、検体を地研へ輸送するための行政的なシステムは、充分には備わっていないことが顕在化した。麻疹患者の報告数は、2008 年(平成 20 年)に 11,015 例あった報告数が、2009 年(平成 21 年)は 741 例、2010 年(平成 22 年)は 457 例になった。2011 年(平成 23 年)に世界では大きな麻疹の流行があったにもかかわらず、わが国では度重なる海外からの輸入例の発生にもかかわらず、前年度同様年間約 450 例程度の症例数に維持された。わが国が、高い免疫保有率に達していることが示され

た。平成 23 年度は、初年度の研究課題を継続、発展させ、また、麻疹の検査診断についての厚労省通知が平成 22 年 11 月 11 日に発出されたこともあり、地研に送られる臨床検体数も徐々に増加し、多くの流行経路を的確に捉えることができた。そして、わが国の麻疹症例のほとんどが、外国からの輸入例に置き換わったことを明らかにした。同時に、麻疹と診断された症例の中に多数の別疾患（風疹、伝染性紅斑、突発性発疹など）が紛れ込んでいるという問題点を明らかにした。そして、このような事態が発生する原因のひとつは、現在、汎用されている IgM ELISA 法キットが、麻疹以外の多くの発熱発疹疾患で偽陽性が出ることであることを示した。2012 年（平成 24 年）には、患者報告数はさらに減少し、わずか 293 例になった。本研究班では最終年度（平成 24 年度）も、当初の研究課題を継続、発展させ、麻疹届出全症例の約 25% の症例においてウイルス遺伝子のデータを収集し解析することによって、すでに土着の株によるウイルスの流行が遮断された状態であることを強く示唆する結果を得た。また、基礎研究においても、麻疹ウイルスの主要抗原の立体構造解明ならびに、そのデータを基礎にして麻疹ウイルスの単一血清型維持の分子基盤を解明し、麻疹排除の実現性ならびに現行ワクチンに依存して排除状態を維持することが可能であることを科学的に証明した。最終年度にこれまでの結果を検討した結果、本研究班では、WHO が求める排除証明のための判断基準には、さらなる検査診断の強化が必要ではあるが、わが国が実質的な麻疹排除状態に至ったと判断して妥当であろうと結論した。以上、本研究班は、当初目標を十分に達成したと考えている。今後の課題は、現在の高いワクチン接種率の維持、検査診断体制の維持、ならびに WHO が求める排除証明のための判断基準に合致するサーベイランス体制の樹立である。

#### A. 研究目的

麻疹は、世界中で市中で流行が見られる感染症としては、現在、最も致死率の高い感染症である。先進国としては、わが国の対策は遅れていたが、平成 19 年（2007 年）12 月「麻しんに関する特定感染症予防指針」（以下、特定指針）が告示され、平成 24 年度までに国内から麻しんを排除し、その後排除状態を維持するという目標が出された。（2006 年から実施の始まった）2 回接種に加えて、2008 年からの 5 年間は、10 代を対象とした第 3 期、第 4 期接種が実施され

ることになり、また、麻疹症例数は定点把握から、全数把握へと強化された。本研究班は、主に実験室診断に携わる側の視点から、わが国が麻疹の排除を達成するための科学的、技術的、そして政策的な問題点を明らかにし、解決することを目的に開始された。

#### B. 研究方法

初年度（平成 22 年度には以下の（1）～（4）の研究を実施した。



#### (1)臨床検体の効果的な輸送法、輸送連携システムの開発研究

感染研、地研、保健所、医療機関を結ぶ、麻疹検査ネットワークを構築する。全国10カ所の麻疹風疹レファレンスセンターは感染研とともに地区内の地研への技術支援等を行い、検査用試薬、キット等を配布する。また、レファレンスセンターでは地区内の血液検体の麻疹IgM抗体価を測定する。感染研は、検査技術の確立、改良、地研への研修を行うとともに、検査技術の標準化のための標準品を作製し、精度管理法を検討し実施する。また標準検査法としてreal-time PCR法の導入を検討していく。一方、医療現場へは検査診断の必要性を十分に伝えて、保健所とともに麻疹疑い例の大部分の検体を採取、検査する体制を作っていく。特に全国約600カ所の保健所と連携し、必要に応じて検体採取用容器、輸送容器等を配布し、検体を地研へ円滑に搬送する体制を作る。H23年度以降はネットワークを活用した実験室検査体制を検証し、より質の高い検査ができるように、検討、改良を加えていく。

#### (2)診断技術の向上

麻疹排除の達成のためには、偽陽性や偽陰性率の非常に低い検査診断技術を確立することが必要である。H23年度までの計画として、ウイルスゲノム検出法(real-time PCR法)について、偽陽性や偽陰性率をさらに減少させる方法を開発する。加えてH24年度までに血清診断法(麻疹IgM抗体価)とウイルス検出法の偽陽性や偽陰性率の比較解析を行い、感染時期による適切な診断法を明らかにする。

#### (3)流行ルートの効果的な把握法の開発研究

地研や感染研とで連携して、ウイルスの分離や塩基配列決定を積極的に推進する。その上で、H22～24年度にかけて、全国で検出・分離された麻疹ウイルスの主要遺伝子(特にN、F及びH遺伝子)の網羅解析を行い、流行に関連したウイルスの塩基及びアミノ酸変異を明らかにするとともに、その変異が流行解析における特異的なバイオマーカーとなりうるか否かに関する研究を行う。全国の分子疫学情報を分析することにより感染拡大経路を把握し、麻疹の流行抑制に役立てる。麻疹ウイルス分離用細胞(Vero/hSLAM細胞)の改良や、麻疹ウイルスの受容体との相互作用を、マイクロアレー、蛋白質化学、発現クローニング、動物実験などを駆使して明らかにすることを通じて(H22～24年度)、ウイルス分離技術の向上や病態解明に役立て、上記の調査の促進につなげる。

#### (4)抗原性変化の追跡調査、及びワクチン効果を維持するための研究。

麻疹ウイルス抗原(H蛋白質)特異的モノクローナル抗体のパネルを作成し、流行株の抗原性変化を中和活性を指標に解析する。抗原の結晶構造解析のデータと組換えウイルス技術を用いて抗原性変化を引き起こしたアミノ酸変異を同定し、流行株の今後の抗原性変化を予測する。H蛋白質と受容体あるいは中和抗体との相互作用解析、結晶化、構造解析を進め、ワクチンによる麻疹ウイルスに対する高い中和活性効果の分子基盤を明らかにする。

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

かう。

平成 23 年度には、初年度の研究を継続、発展させつつ以下の(5)～(9)の研究を推進した。

(5) 麻疹ウイルスの遺伝子解析(遺伝子型解析)を通じた流行調査研究

平成 22 年(2010 年)11 月の「麻しんの検査診断について」の通知に記載されているように、各自治体に、保健所や地研と連携して、麻しん患者の、発症早期の検体(咽頭拭い液、血液、尿)を可能な限り確保し、RT-PCR 法を用いた遺伝子検査を実施するよう依頼する。感染研(研究代表者:竹田誠、研究分担者:駒瀬勝啓)が、RT-PCR 法検査に必要な試験プロトコール、陽性コントロール、必要に応じて試験キットを用意して、各地研や全国の 10 カ所の麻疹風疹レファレンスセンター(以下、レファレンスセンター)(本研究班協力研究者)へ配布する。10 カ所のレファレンスセンター(本研究班協力研究者)は、それぞれの地域のデータを取りまとめ、実験結果の評価や解析を実施する。RT-PCR 法は、麻疹ウイルスの検出(診断)のみを行うのではなく、麻疹ウイルスが検出された場合には、遺伝子型解析のために必要な領域の塩基配列を決定し、わが国ならびに世界の流行株との比較解析を行うことによって、流行経路を解明することに努める。感染研(研究代表者:竹田誠、研究分担者:駒瀬勝啓)では、遺伝子型解析のためのプロトコールを準備するとともに、世界の流行株についての情報収集に努め、それらの情報をレファレンスセンター(本研究班協力研究者)、分担研究者、ならびにその他の地研の担当者と共に共有するように努める。また、レファレンスセンターと感染研は、必要に応じてその他の地研への技

術支援や試験法の精度管理を実施する。ウイルスの遺伝子型解析だけで、流行経路を把握することは困難であるので、各自治体との連携を強化して、疫学情報の収集に努める。

(6) 診断技術ならびに診断精度向上のための研究

麻疹排除の達成のためには、偽陽性や偽陰性率の非常に低い検査診断技術を確立するとともに、全国の地研において、同等の精度にて試験が実施できる体制を作ることが必要である。現在、実施している nested RT-PCR 法の改良を行うとともに、リアルタイム PCR 法を用いたより簡便かつ診断ミスの起こりにくい試験法を開発する。また、血清診断法(麻疹 IgM ELISA)とウイルス検出法の偽陽性や偽陰性率の比較解析を行い、感染時期による適切な診断法を明らかにする。また、市販されている IgM 検出キット(麻疹 IgM ELISA)の性能比較を行うとともに、その結果をもとに、わが国の現状に合った実験室診断法を確立する。レファレンスセンターでは、IgM ELISA 法と RT-PCR 法との比較解析を実施し、実験結果を総合的に判断するためのデータを収集する。感染研は、WHO とも連携して、レファレンスセンターで実施される IgM ELISA 法の精度管理を担当し、世界のデータとの比較を行うとともに、WHO への情報提供を担当する。

(7) 流行ルートの効果的な把握法の開発研究

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

(8) 麻疹ウイルスの分離法の研究や病態解明に関する研究

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

(9) 抗原性変化の追跡調査、及びワクチン効果を維持するための研究。

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

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

かう。

最終年度(平成24年度)には、初年度、平成23年度の研究を継続、発展させ、以下の(10)～(14)の研究に取り組んだ。

(10) 麻疹ウイルスの遺伝子解析(遺伝子型解析)を通じた流行調査研究

平成22年(2010年)11月の「麻しんの検査診断について」の通知に記載されているように、各自治体に、保健所や地研と連携して、麻しん患者の、発症早期の検体(咽頭拭い液、血液、尿)を可能な限り確保し、RT-PCR法を用いた遺伝子検査を実施するよう依頼する。国立感染症研究所(以下、感染研)が、RT-PCR法検査に必要な試験プロトコール、陽性コントロール、必要に応じて試験キットを用意して、各地研や全国の10カ所の麻疹風疹レファレンスセンター(以下、レファレンスセンター)へ配布する。10カ所のレファレンスセンターは、それぞれの地域のデータを取りまとめ、実験結果の評価や解析を実施する。RT-PCR法は、麻疹ウイルスの検出(診断)のみを行うのではなく、麻疹ウイルスが検出された場合には、遺伝子型解析のために必要な領域の塩基配列を決定し、わが国ならびに世界の流行株との比較解析を行うことによって、流行経路を解明することに努める。感染研では、遺伝子型解析のためのプロトコールを準備するとともに、世界の流行株についての情報収集に努め、それらの情報をレファレンスセンター、分担研究者、ならびにその他の地研の担当者と共有するように努める。また、レファレンスセンターと感染研は、必要に応じてその他の地研への技術支援や試験法の精度管理を実施する。ウイルスの遺伝子型解析だけで、流行経路を把握

することは困難であるので、各自治体との連携を強化して、疫学情報の収集に努める。

#### (11) 診断技術ならびに診断精度向上のための研究

麻疹排除の達成のためには、偽陽性や偽陰性率の非常に低い検査診断技術を確立するとともに、全国の地研において、同等の精度にて試験が実施できる体制を作ることが必要である。現在、実施している nested RT-PCR 法の改良を行うとともに、リアルタイム PCR 法を用いたより簡便かつ診断ミスが起こりにくい試験法を開発を目指す。また、血清診断法(麻疹 IgM ELISA)とウイルス検出法の偽陽性や偽陰性率の比較解析を行い、感染時期による適切な診断法を明らかにする。また、市販されている IgM 検出キット(麻疹 IgM ELISA)の性能比較を行うとともに、その結果をもとに、わが国の現状に合った実験室診断法を確立する。レファレンスセンターでは、IgM ELISA 法と RT-PCR 法との比較解析を実施し、実験結果を総合的に判断するためのデータを収集する。感染研は、WHO とも連携して、レファレンスセンターで実施される IgM ELISA 法の精度管理を担当し、世界のデータとの比較を行うとともに、WHO への情報提供を担当する。

#### (12) 流行ルートの効果的な把握法の開発研究

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

#### (13) 麻疹ウイルスの分離法の研究や病態解明

に関する研究

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

#### (14) 抗原性変化の追跡調査、及びワクチン効果を維持するための研究。

ワクチンが効果を持つことは、ウイルス側の抗原性に変化が起こらないということが前提であり、世界的な麻疹排除(ひいては根絶)の実現性を考える上では、麻疹ウイルスの抗原性決定の分子基盤、単一血清型の分子基盤を解明しておく必要がある。具体的には、麻疹ウイルスの抗原性を決める主要ウイルス抗原は H タンパク質であり、H タンパク質に対する7種のモノクローナル抗体とHタンパク質を組換えた異なる20数種の組換え麻疹ウイルス(感染を定量するためルンフェラーゼを発現する)、ならびに異なる麻疹ウイルス受容体(SLAM、ネクチン4)をもつ細胞株2種を用いた詳細な中和解析、ならびにウイルスの表現型や生化学的解析、加えて構造生物学的検討を実施して、上記課題の解明を目指す。

#### C. 研究結果

初年度(平成 22 年度)には以下(1)～(9)の成果を得た。

(1) 全国の地研では、麻疹の実験室診断検査(RT-PCR)を行うに十分な技術レベルを達成していることが明らかになった。

(2)麻疹患者報告数は、2008年 11,015例、2009年 739例、2010年 450例と大幅に減少した。患者数が減少してきた現在、輸入麻疹症例の比率が、2008年の約 0.2%から 2010年の約 4.8%へと増加していることが明らかになった。

(3)平成 22年～23年にかけての輸入症例やワクチンの副反応例を RT-PCR 検査にて的確に捉えることができた。

(4)主に民間の検査センターで実施される麻疹診断のための IgM ELISA 検査において、相当数の偽陽性例が生じていることが明らかになった。しかしながら、このことは、検査キットの問題や、民間検査センターの技術や精度管理の問題ではなく、感染者の生体反応の本質的な問題であることが明らかになった。偽陽性を生じる、わが国における主な感染症は、突発性発疹や伝染性紅斑であることが明らかになった。

(5)地研で実施可能な RT-PCR 検査をより積極的に推進し、IgM ELISA の検査成績との総合的判断によって、より実験室診断精度を上げる必要性が明らかになった。

(6)検体を地研へ輸送するためのシステムは、制度的にも充分には完備されていないことが顕在化し、今後、病原体を効率的かつ恒常的に収集・検出できる機構を盛り込んだ新たなシステムを構築することが、わが国の国内感染症対策、加えて感染症における国際貢献の上でも最も重要な課題であると考えられた。

(7)流行株の H 遺伝子を用いた新しい系統解

析法を開発し、各流行株の分岐時期を示しデータを得た。

(8)麻疹ウイルスや関連ウイルスの受容体結合タンパク質ならびに受容体との複合体の立体構造解明に成功し、麻疹ウイルスの抗原性が単一であることの科学的基盤となるデータを得た。

(9)麻疹ウイルスの単一血清型を決定すると考えられるエピトープを認識する抗体の選別に成功した。

平成 23年度には以下(10)～(17)の成果を得た。

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

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

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

(13)主に民間の検査センターで実施される麻

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

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

(15) 全国の地研のウイルス検査の結果、わが国の麻疹の発生状況の詳細が判明する一方、麻疹の診断根拠および届出に付随する新たな問題点も浮き彫りにされた。届出や地研へのウイルス検査の依頼について、各医療機関により区画であり、検体採取の遅れが明らかとなった。麻疹に対する理解を詳細かつ明瞭にしていくに、今後も全国の地研が、全例にウイルス検査を行う取り組みを続けることが必要であると考えられた。

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

(17) 麻疹ウイルスや関連ウイルスの受容体結合タンパク質ならびに受容体との複合体の立体構造解明に成功し、麻疹ウイルスの抗原性が

単一であることの科学的基盤となるデータを得るとともに、そのデータを基盤にして、麻疹ウイルスの単一血清型を決定すると考えられる主要エピトープを同定した。結果、麻疹ウイルスは、今後も大幅な抗原性変化を起こさないこと、現在のワクチンが今後も高い効果を発揮し続けることを科学的に証明した。

最終年度(平成 24 年度)には以下(18)～(22)の成果を得た。

(18) 平成 22 年(2010 年)11 月の「麻しんの検査診断について」の通知以降、地研に送られる臨床検体数が、増加し、平成 23 年度に引き続き、平成 24 年度も、実験室診断が精力的に実施されていることが明らかになった。

(19) 麻疹患者報告数は、2008 年に 11,015 例あった報告数が、2009 年には 93%減の 741 例、2010 年は 457 例、2011 年は 434 例、2012 年は 293 例と確実に減少していることが明らかになった。また、一部の地域では、すでに麻疹の発生がみられないことが明らかになった。

(20) 輸入症例やワクチンの副反応例を RT-PCR 検査にて的確に捉えることができ、平成 23 年度に引き続き、平成 24 年度においても、わが国で検出される麻疹ウイルスが、ほとんど外国からの輸入株であることが明らかになった。各遺伝子型のウイルス毎に、月毎、都道府県毎の表を作成して解析することにより、同じ株の流行がもはやわが国では持続していない(すなわち排除状態である)状況が強く示唆された。

(21) 2010 年以降の 1,162 名の患者のうち、2

名以上の流行(全部で 16 回)の患者数の分布、流行期間の分布から、Gay ら(JID, 2004)の手法を用いて基本再生産数( $R_0$ )を推定した。その結果、 $R_0$  値は、信頼区間を考慮しても 1 未満(0.7365 [0.6836, 0.7894])であり、麻疹の伝播は持続しない状況(排除状態)であることが示唆された。

(22) 臨床診断された麻疹症例の中に、多くの風疹症例の紛れ込みがあることが示された。また、多くの麻疹疑い症例に対して実験室検査を実施することにより、麻疹と届けられている症例の中にも他の発疹性疾患が多くまぎれこんでいる可能性が明らかになった。

(23) 2013 年 4 月 1 日には、「特定指針」の一部改正が行われるが、ほとんどの自治体あるいは地研で麻しん検査体制が構築されており、一部の機関では、指針の改正をもとに前向きに検討されていることが明らかになった。今後も麻疹排除に向けて、地研、保健所、そして医療機関の連携を一層強化することが重要である。

#### D. 考察 ならびに E. 結論

麻疹は、伝染力と病原性が非常に強い急性ウイルス感染症である。効果的なワクチンがあるにもかかわらず 2005 年の時点で、世界の 5 歳未満の小児の全死亡のうちの 4%が麻疹が原因であった。2000 年の国連総会で採択されたミレニアム開発目標を発端に、WHO が中心となって、ワクチン接種を徹底することにより地球規模で麻疹を排除する計画が開始された。我が国でも平成 19 年 12 月「特定指針」が告示され、平成 24 年度までに麻しんを排除し、その後排除状態を維持する目標が出された。本研究班

の調査によって全国の地研では、麻疹の実験室診断検査(RT-PCR)を行うに十分な技術レベルを達成し、適切に検査が推進されていることが示され、麻疹患者数の大幅な減少、検査対応の行政的な裏付けの改善などを伴って、多くの流行において、麻疹の発生や流行経路を適切に捉えるという成果を出した。その後、わが国では度重なる海外からの輸入例の発生にもかかわらず、感染の拡大は常に阻止され、わが国が高い免疫保有率に達していることが示された。実際に、わが国の麻疹症例のほとんどが、外国からの輸入例に置き換わったことを明らかにし、加えて、麻疹と診断された症例の中には、実は多数の別疾患(風疹、伝染性紅斑、突発性発疹など)が紛れ込んでいるという問題点を明らかにすることができた。本研究班の最終年度である 2012 年(平成 24 年)には、患者報告数はわずか 293 例になった。そのうちの約 25%の症例においては、ウイルスの遺伝子の解析も行われ、各遺伝子型のウイルス毎に、月毎、都道府県毎の表を作成し、解析することにより、同じ株の流行がもはやわが国では持続していない(すなわち排除状態である)状況が強く示唆され、加えて推定した基本再生産数( $R_0$ )は、信頼区間を考慮しても 1 未満(0.7365 [0.6836, 0.7894])であり、麻疹の伝播は持続しない状況(排除状態)であることが示唆された。ただ、実際に「土着の株によるウイルス伝播のない」ことを証明するためには、麻疹症例のほぼ全例からウイルス株を検出し、遺伝子型の解析を行うか、あるいは、麻疹症例の全例について疫学情報を的確に収集し、流行経路を解明する必要があり、WHO もそれを求めている。しかしながら、すなわち、WHO が求める排除証明のための判断基準には、さらなる検査診断の強化が必要ではあ

るものの、わが国が実質的な麻疹排除状態に至ったと判断して妥当であろうことを示すことができた。以上、本研究班は、当初目標を十分に達成したと考えている。今後の課題は、現在の高いワクチン接種率の維持、検査診断体制の維持、ならびに WHO が求める排除証明のための判断基準に合致するサーベイランス体制の樹立であり、これらの活動については、本研究班の活動を引き継いだ来年度以降の新規課題の最重要項目のひとつとして掲げ、わが国の麻疹排除 WHO 認定に貢献したいと考えている。

#### F. 健康危機情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

##### 2013年

1. Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Iwasaki M, Yanagi Y, Komase K, Takeda M. Intracellular transport of the measles virus RNP complex is mediated by Rab11A-positive recycling endosomes and drives virus release from the apical membrane of polarized epithelial cells. *J Virol*. 2013 Feb 13. [Epub ahead of print]
2. 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]
3. Otsuki N, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kubota T, Nakatsu Y, Chen S, Fukuhara H, Maenaka K, Yamaguchi R, Kuroda M, Takeda M. (2013) Canine Distemper Virus with the Intact C Protein Has the Potential to Replicate in Human Epithelial Cells by Using Human Nectin4 as a Receptor. *Virology*. 435:485-92.
4. Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzaki Y, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushima S, Mizutani T, Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M, Morikawa S. (2013) Lethal Canine Distemper Virus Outbreak in Cynomolgus Monkeys in Japan in 2008. *J. Virol*. 87:1105-14.
5. Tahara M, Ito Y, Brindley M, Ma X, He J, Xu S, Fukuhara H, Sakai K, Komase K, Rota P, Plemper R, Maenaka K, Takeda M. (2013) Functional and structural characterization of neutralizing epitopes of measles virus hemagglutinin protein. *J. Virol*. 87:666-75.
6. 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]
7. Watanabe S, Shirogane Y, Suzuki SO, Ikegame S, Koga R, Yanagi Y. Mutant fusion proteins with enhanced fusion activity promote measles virus spread in both human neuronal cells and brains of



- suckling hamsters. *Journal of Virology* (in press)
- 2012年
8. Yoko Aoki, Akiko Abe, Tatsuya Ikeda, Chieko Abiko, Katsumi Mizuta, Ichiro Yamaguchi, and Tadayuki Ahiko : An OutBreak of Exanthematous Disease Due to Coxsackievirus A9 in a Nursery in Yamagata, Japan, from February to March 2012, *Jpn. J. Infect. Dis.* , 65, 367-369, 2012
  9. Brindley MA, Takeda M, Plattet P, Plemper R. (2012) Triggering the measles virus membrane fusion machinery. *Proc Natl Acad Sci USA*. 109:E3018-27.
  10. Hashiguchi T, Ose T, Kubota M, Maita N, Kamishikiryo J, Maenaka K, Yanagi Y. Crystallization Strategy for the Glycoprotein-receptor Complex Between Measles Virus Hemagglutinin and its Cellular Receptor SLAM. *Protein & Peptide Letters* 19:468-473, 2012
  11. Komune N, Ohashi M, Matsumoto N, Kimitsuki T, Komune S, Yanagi Y. No evidence for an association between persistent measles virus infection and otosclerosis among patients with otosclerosis in Japan. *J Clin Microbiol.* (in press)
  12. Maenaka K, Hashiguchi T, Yanagi Y. Structural basis for measles virus-receptor recognition and its functional implications for viral entry and vaccination. *Nihon Rinsho*. 2012 Apr;70(4):695-703.
  13. Mitsuki YY, Terahara K, Shibusawa K, Yamamoto T, Tsuchiya T, Mizukoshi F, Ishige M, Okada S, Kobayashi K, Morikawa Y, Nakayama T, Takeda M, Yanagi Y, Tsunetsugu-Yokota Y. (2012) HIV-1 Infection Ex Vivo Accelerates Measles Virus Infection by Upregulating Signaling Lymphocytic Activation Molecule (SLAM) in CD4+ T Cells. *J Virol*. 86. 7227-34.
  14. Miyoshi M, Yoshizumi S, Ishida S, Komagome R, Nagano H, Kudo S, Okano M. Usefulness of the rapid determination system of viral genome sequences in human stool specimens. *J. Virol. Methods*, 179: 256-260, 2012.
  15. Miyoshi M, Komagome R, Nagano H, (他 12名), Okano M. An isolated incidence of rubella outbreak at a workplace in Hokkaido, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 65(1): 94-97, 2012.
  16. 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
  17. Pratakipiriya W, Seki F, Otsuki N, Sakai K, Fukuhara H, Katamoto H, Hirai T, Maenaka K, Techangamsuwan S, Lan NT, Takeda M, Yamaguchi R. (2012) Nectin4 is an epithelial cell receptor for canine distemper virus and involved in the neurovirulence. *J Virol*. 86. 10207-10.

18. Saitoh M, Takeda M, Gotoh K, Takeuchi F, Sekizuka T, Kuroda M, Mizuta K, Ryo A, Tanaka R, Ishii H, Takada H, Kozawa K, Yoshida A, Noda M, Okabe N, Kimura H. (2012) Molecular evolution of hemagglutinin (H) gene in measles virus genotypes D3, D5, D9, and H1. PLoS One. 7:e50660.
19. Shirogane Y, Watanabe S, Yanagi Y. Cooperation between different RNA virus genomes produces a new phenotype. Nature Communications 3:1235, 2012
20. 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
21. 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
22. 浅田和豊、一見良司、大矢和伸、谷田寿志、田中孝明、菅 秀、庵原俊昭:フィリピンからの輸入麻疹患者の発生と臨床ウイルス学的考察. 日本小児科学会雑誌 116:78–83, 2012
23. 庵原俊昭:麻疹ウイルス. 日本小児感染症学会編、小児感染症マニュアル2012. 東京医学社、東京、283–295、201
24. 庵原俊昭:ウイルス感染症の診断. 臨床と微生物39:649–655, 2012
25. 駒瀬勝啓、竹田誠 ヨーロッパの麻疹の状況と今後の日本の課題、病原微生物検出情報 33(2); 29–30 (2012)
26. 駒瀬勝啓、竹田誠 (2012) ウイルス感染症検査診断の新しい展開、麻疹、風疹、ムンプスの検査診断の現状、臨床と微生物、39、656–62。
27. 駒瀬勝啓 Q&A 麻疹検査診断法 日本医事新報 2012 4605: 57–59.
28. 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.
29. 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.
30. 駒瀬勝啓 麻疹排除の進捗と麻疹輸入例の増加 -麻疹排除に向けた今後の課題- 小児科 金原出版 53 (1):105–112 (2012)
31. 關文緒、竹田誠 (2012)、麻疹のウイルス型、日本医事新報、4613、58–59
32. 關文緒、竹田誠(2012)モルビリウイルス:麻疹ウイルス、イヌジステンパーウイルスなど、ウイルス、(印刷中)。
33. 長野秀樹、岡野素彦. ウイルス抗体検査:目的、方法、検査の解釈. 小児科. 53(9): 1225–1231, 2012.
34. 安井善宏、小林慎一、山下照夫、平松礼司、皆川洋子、森嘉生:麻疹疑い症例からの風疹ウイルス検出と遺伝子型解析—愛知県、病原微生物検出情報 33(6):167–168, 2012.
35. 安井善宏、伊藤雅、安達啓一、廣瀬絵美、藤原範子、小林慎一、山下照夫、平松礼司、皆川洋子、高木崇光、池田晃一、多和田光紀、加藤勝子、竹内清美:<速報>渡航歴の無い小児および家族内感染者からの D8 型麻疹ウイルス検出—愛知県. 病原微生物検出情報(印刷中 2012

年 2 月 20 日掲載)

2011年

36. Abernathy ES, Hübschen JM, Muller CP, Jin L, Brown D, Komase K, Mori Y, Xu W, Zhu Z, Siqueira MM, Shulga S, Tikhonova N, Pattamadilok S, Incomserb P, Smit SB, Akoua-Koffi C, Bwogi J, Lim WW, Woo GK, Triki H, Jee Y, Mulders MN, de Filippis AM, Ahmed H, Ramamurty N, Featherstone D, Icenogle JP. Status of global virologic surveillance for rubella viruses. *J Infect Dis.* 2011 Jul;204 Suppl 1:S524-32.
37. Arakawa M, Okamoto-Nakagawa R, Toda S, Tsukagoshi H, Kobayashi M, Ryo A, Mizuta K, Hasegawa S, Hirano R, Wakiguchi H, Kudo K, Tanaka R, Morita Y, Noda M, Kozawa K, Ichiyama T, Shirabe K, Kimura H. Molecular epidemiological study of human rhinovirus species ABCs from patients with acute respiratory illnesses in Japan. *J Med Microbiol.* 2011 in press
38. Bankamp B, Takeda M, Zhang Y, Xu W, Rota PA. (2011) Genetic characterization of measles vaccine strains. *J Infect Dis.* 204. S533-48.
39. Featherstone DA, Rota PA, Icenogle J, Mulders MN, Jee Y, Ahmed H, de Filippis AM, Ramamurty N, Gavrillin E, Byabamazima C, Dosseh A, Xu W, Komase K, Tashiro M, Brown D, Bellini WJ, Strebel P. Expansion of the global measles and rubella laboratory network 2005-09. *J Infect Dis.* 2011 Jul;204 Suppl 1:S491-8.
40. Hasegawa S, Hirano R, Okamoto-Nakagawa R, Ichiyama T, Shirabe K. Enterovirus 68 infection in children with asthma attacks: Virus-induced asthma in Japanese children. *Allergy* 2011; 66(12) 1618-1620
41. Hasegawa S, Matsushige T, Inoue H, Shirabe K, Fukano R, Ichiyama T. Serum and cerebrospinal fluid cytokine profile of patients with 2009 pandemic H1N1 influenza virus-associated encephalopathy. *Cytokine.* 2011 ;54(2):167-72.
42. Hasegawa S, Hirano R, Hashimoto K, Haneda Y, Shirabe K, Ichiyama T. Characteristics of atopic children with pandemic H1N1 influenza viral infection: pandemic H1N1 influenza reveals 'occult' asthma of childhood. *Pediatr Allergy Immunol.* 2011 ;22, 119-23.
43. Hashiguchi T, Maenaka K, Yanagi Y. Measles virus hemagglutinin: structural insights into cell entry and measles vaccine. *Front Microbiol.* 2:247, 2011
44. Hashiguchi T, Ose T, Kubota M, Maita N, Kamishikiryo J, Maenaka K, Yanagi Y. Crystallization Strategy for the Glycoprotein-receptor Complex Between Measles Virus Hemagglutinin and its Cellular Receptor SLAM. *Protein Pept Lett.* 2011 in press.
45. Hashiguchi T, Ose T, Kubota M, Maita N, Kamishikiryo J, Maenaka K, Yanagi Y. Structure of the measles virus

- hemagglutinin bound to its cellular receptor SLAM. *Nat Struct. Mol. Biol* 18:135–141, 2011
46. Kamishikiryo J, Fukuhara H, Okabe Y, Kuroki K, Maenaka K. Molecular basis for LLT1 protein recognition by human CD161 protein (NKRPA/KLRB1). *J Biol Chem.* 2011 Jul 8;286(27):23823–30.
  47. Kojima R, Kajikawa M, Shiroishi M, Kuroki K, Maenaka K. Molecular basis for herpesvirus entry mediator recognition by the human immune inhibitory receptor CD160 and its relationship to the cosignaling molecules BTLA and LIGHT. *J Mol Biol.* 2011 Nov 4;413(4):762–72.
  48. Komune N, Ichinohe T, Ito M, Yanagi Y. Measles virus V protein inhibits NLRP3 inflammasome-mediated interleukin-1 beta secretion. *J Virol.* 85:13019–13026, 2011
  49. Matsushita H, Endo S, Kobayashi E, Sakamoto Y, Kobayashi K, Kitaguchi K, Kuroki K, Söderhäll A, Maenaka K, Nakamura A, Strittmatter SM, Takai T. Differential but competitive binding of Nogo protein and class I major histocompatibility complex (MHCI) to the PIR-B ectodomain provides an inhibition of cells. *J Biol Chem.* 2011 Jul 22;286(29):25739–47.
  50. Nagano H, Jinushi M, Komagome R, Miyoshi M, Kikuchi M, Muratsubaki E, Ito H, Inoue M, Okano M. Progress towards Measles Elimination between 2008 and 2010 in Hokkaido District, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.,* 64(5): 445–447, 2011.
  51. 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 phenotypes. *Vaccine* (in press)
  52. Rota PA, Brown K, Mankertz A, Santibanez S, Shulga S, Muller CP, Hübschen JM, Siqueira M, Beirnes J, Ahmed H, Triki H, Al-Busaidy S, Dosseh A, Byabamazima C, Smit S, Akoua-Koffi C, Bwogi J, Bukenya H, Wairagkar N, Ramamurty N, Incomserb P, Pattamadilok S, Jee Y, Lim W, Xu W, Komase K, Takeda M, Tran T, Castillo-Solorzano C, Chenoweth P, Brown D, Mulders MN, Bellini WJ, Featherstone D. Global distribution of measles genotypes and measles molecular epidemiology. *J Infect Dis.* 2011 Jul; 204. Suppl 1: S514–23.
  53. Sakamoto S, Pongkitwitoon B, Sasaki-Tabata K, Putalun W, Maenaka K, Tanaka H, Morimoto S. A fluorescent single domain antibody against plumbagin expressed in silkworm larvae for fluorescence-linked immunosorbent assay (FLISA). *Analyst.* 2011 May 21;136(10):2056–63.
  54. Sakamoto S, Pongkitwitoon B, Nakamura S, Sasaki-Tabata K, Tanizaki Y, Maenaka K, Tanaka H, Morimoto S. Construction, Expression, and Characterization of a Single-Chain Variable Fragment Antibody