

表1. 先天性風疹感染症候群(CRS)例

検体採取日	検体	ov v	リアルタイム ム v	od値	ov	ov	備考
7/2	咽頭ぬぐい液	+	+	28.5			母:3~4週で発熱・発疹
	血液	+	+	36.9	6.72		児:死亡
	尿	+	+	29.3			
	胃液	+	+	24.4			遺伝子型 2B
7/4	心臓	+	+	33.8			剖検材料
	直腸ぬぐい液	+	+				

2013年6月27日出生

剖検材料:心筋組織
風疹ウイルスは確認できず、心筋炎を疑う所見も認められなかった。

図1.先天性風疹感染(CRI)児の経過

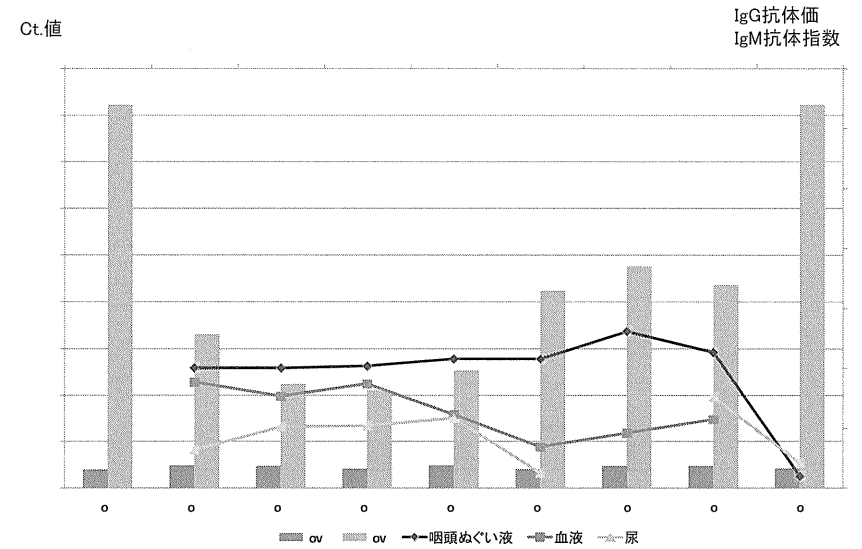


図2. ウイルス抗体EIA「生研」ルベラIgM-EIAにおける発疹症疾患の抗体指数

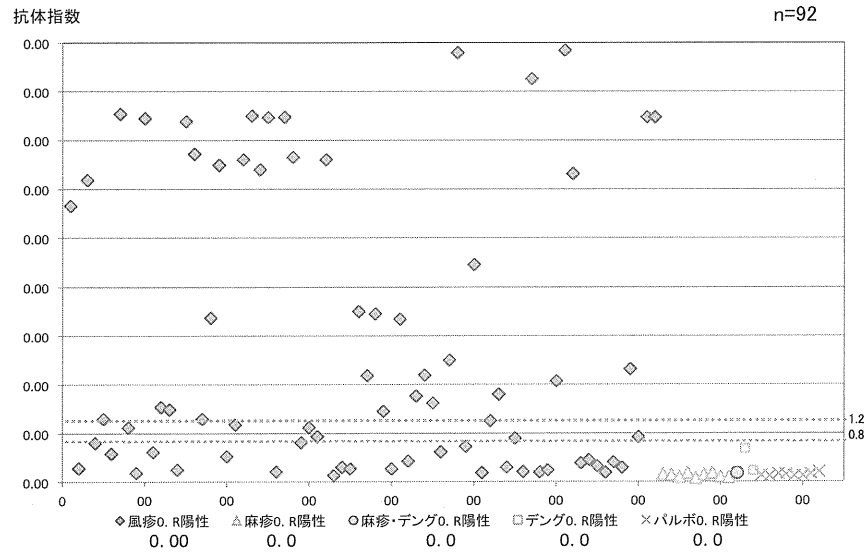


図3.風疹IgM抗体の判定と血清採取時期の関係(遺伝子検査陽性検体について)

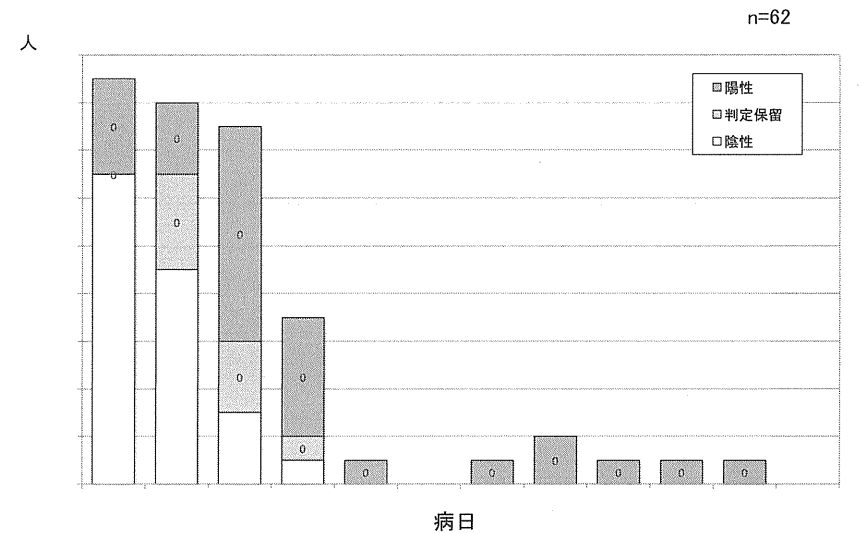


図4. 風疹IgM抗体指数と血清採取時期の関係(遺伝子検査陽性検体について)

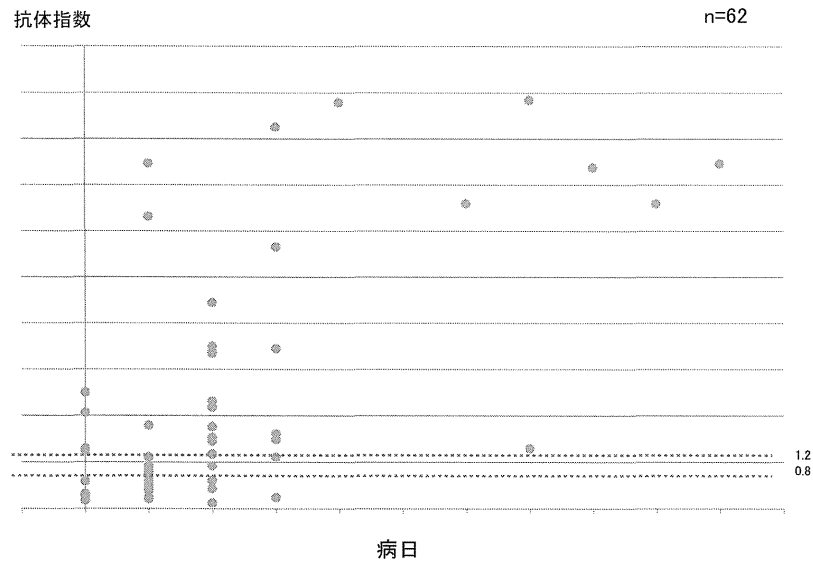


表2. 2013年 北関東ブロックにおける麻疹検査状況(検体別)

麻疹	検査症例数	陽性数
	1122	13
検査検体数	1830	14
咽頭ぬぐい液	1039	12
血液	438	2
尿	353	0

表3. 2013年 北関東ブロックにおける風疹検査状況(検体別)

風疹 (CRSを除く)	検査症例数	陽性数
	1108	411
検査検体数	1854	619
咽頭ぬぐい液	1070	375
血液	454	131
尿	330	113

CRS	検査症例数	陽性数
	36	19
検査検体数	56	25
咽頭ぬぐい液	29	15
血液	13	3
尿	14	7

表4. 北関東ブロックにおける麻疹・風疹検査状況(年別)

麻疹		
年	検査症例数	陽性数
2010	259	5
2011	815	85
2012	788	26
2013	1122	13

風疹		
年	検査症例数	陽性数
2010	63	0
2011	203(1)	14(1)
2012	695(1)	180(1)
2013	1144(36)	430(19)

(うち CRS数)

早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究
研究報告書

研究分担者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所

南関東・甲信静ブロックにおける麻疹検査診断（平成 25 年）

研究協力者 七種美和子、小澤広規、熊崎真琴、川上千春、宇宿秀三、
高井麻美、畔上栄治、上原早苗、船山和志、森田昌弘（横浜市衛生研究所）
小野範子、一村美恵子、高木大輔、鈴木祐子、羽布津昌子、岩田眞美
（横浜市健康福祉局健康安全部）

南関東・甲信性ブロック担当者

鈴木理恵子（神奈川県衛生研究所）
清水英明（川崎市健康安全研究所）
山口純子（横須賀市健康安全科学センター）
望月響子（相模原市衛生試験所）
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）
池ヶ谷朝香（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）
神保達也（浜松市保健環境研究所）

研究要旨

平成 25 年の南関東・甲信静ブロックにおける麻疹および風疹遺伝子検査状況を調査した。麻疹の遺伝子検査は 226 例 521 検体について実施され、7 例 14 検体からウイルス遺伝子が検出された。遺伝子型の解析結果から、7 例中 5 例は海外流行株、2 例はワクチン株に起因する症例と判明した。風疹の遺伝子検査は 226 例 517 検体について実施され、98 例 197 検体からウイルス遺伝子が検出された。また、CRS 症例の検査は 3 例について実施され、1 例 3 検体からウイルス遺伝子が検出された。横浜市においては、麻疹疑い例 59 例について検査を実施し、麻疹ウイルスは不検出であった。33 例から風疹ウイルス、2 例から enterovirus、1 例から human herpesvirus 6 が検出され、風疹、エンテロウイルス感染症、突発性発疹症例の紛れ込みが確認された。また、咽頭ぬぐい液、血液、尿の 3 点セットで検体が採取された 46 例の風疹 IgM 抗体価を 2 種類のキットを用いて測定し、遺伝子検査の成績と比較した。IgM 抗体検査のみ陽性は 5 例あったが、2 種類のキットの成績が一致していたことから、遺伝子検査の偽陰性例であると考えられた。検体採取日別では、発疹出現後 2 日目までに検体が採取された症例の多くは遺伝子検査のみ陽性であったが、3 日目以降に検体が採取された症例は、遺伝子検査と IgM 抗体検査の両方、あるいは IgM 抗体検査のみ陽性であった。これらの結果から、風疹症例の正確な把握のためには、遺伝子検査と IgM 抗体検査を併用することが有用と考えられる。

A. 研究目的

平成 21 年 1 月に、全国の自治体に対して麻疹患者の検査診断体制の整備が依頼された（平成 21 年 1 月 15 日付け厚生労働省健康局結核感染症課事務連絡）。このことを受け、国立

感染症研究所を中心とした地方衛生研究所のネットワークでは、遺伝子検査による麻疹の検査診断体制を整備し、麻疹疑い例の検査を進めてきた。麻疹排除の科学的な証明のためには、検査によって診断を確定し、さらに、その症例

が輸入例か否かを判断するために、検出された株の遺伝子解析を実施することが極めて重要である。また、鑑別診断の実施も麻疹症例の正確な診断の一助となる。

本研究では、平成 25 年の南関東・甲信静ブロックにおける麻疹および風疹遺伝子検査の実施状況の把握を目的とした。併せて、横浜市で実施した、麻疹、風疹以外のウイルス検査と、風疹 IgM 抗体検査の結果について報告する。

B. 研究方法

1. 南関東・甲信静ブロックにおける麻疹および風疹遺伝子検査実績の調査

ブロック内の 7 施設の衛生研究所(神奈川県、横須賀市、山梨県、長野県、静岡県、静岡市、横浜市)より提供を受けたデータに基づいて、平成 25 年に実施された麻疹および風疹遺伝子検査症例数および検体数を集計し、前年度の実績と比較検討した。

2. 横浜市における麻疹疑い例の原因ウイルス調査

麻疹が疑われた 59 例から採取された咽頭ぬぐい液 53 検体、血液 55 検体、尿 50 検体を試料として、病原体検出マニュアル(国立感染症研究所)に従い、麻疹および風疹ウイルス遺伝子の検出および検出された株の遺伝子型別を実施した。麻疹、風疹のいずれのウイルスも不検出であった症例については、血漿検体を試料として、Real-time PCR pathogen detection kit (Filgen) を使用して、リアルタイム PCR 法で human parvovirus B19 (B19)、human herpesvirus 6、7 (HHV-6、HHV-7)、cytomegalovirus (CMV)、Epstein-Barr virus (EBV) を検出した。また、咽頭ぬぐい液を試料として、Seeplex® RV 15 OneStep ACE Detection (Seegene) を使用して、マルチプレックス PCR 法で adenovirus、human coronavirus、parainfluenzavirus type 1~4、rhinovirus、respiratory syncytial virus (RSV)、influenzavirus type A、B、human bocavirus、human metapneumovirus (hMPV)、enterovirus を検出した。

3. 風疹 IgM 抗体価の測定

咽頭ぬぐい液、血液および尿の 3 点セットで検体が採取され、かつ、発疹出現日が判明している 46 症例(2012 年; 31 例、2013 年; 15 例)について、2 種類の風疹 IgM 抗体測定キット(ウイルス抗体「生研」風疹 IgM、以下、デンカ生研社キット; デンカ生研、および、エンザイグノスト風疹/IgM、以下、シーメンス社キット;

シーメンス)を用いて、血漿中の風疹 IgM 抗体価を測定した。

C. 研究結果

1. 南関東・甲信静ブロックにおける麻疹および風疹遺伝子検査実施状況

平成 25 年の 1 年間に、麻疹ウイルス遺伝子検査が実施されたのは 226 例であった(表 1)。このうち 7 例から遺伝子が検出され、遺伝子型は D8 型(3 例)、B3 型(2 例)、A 型(2 例)であった。遺伝子検査による麻疹否定例は 219 例であった。検査を実施した検体数は 521 検体で、検体種別では咽頭ぬぐい液が 202 検体と最も多く、次いで血液 166 検体、尿 153 検体の順であった。このうち遺伝子が検出されたのは 14 検体で、検体種別では、咽頭ぬぐい液 5 検体、血液 5 検体、尿 4 検体であった。

一方、風疹ウイルスの遺伝子検査は 226 例について実施され、98 例から遺伝子が検出された(表 1)。検査を実施した検体数は 517 検体で、検体種別では咽頭ぬぐい液が 201 検体と最も多く、次いで血液 165 検体、尿 151 検体の順であった。このうち遺伝子が検出されたのは 197 検体で、検体種別では、咽頭ぬぐい液 82 検体、血液 54 検体、尿 61 検体であった。CRS 症例の検査は 3 例について実施され、1 例 3 検体からウイルスが検出された。

3. 横浜市における麻疹疑い例からのウイルス遺伝子検出成績

検査を実施した 59 例は、いずれも麻疹ウイルスは不検出であった。一方、33 例から風疹ウイルス、2 例から enterovirus、1 例から HHV-6 が検出された(表 2)。風疹ウイルスの遺伝子型は、2B が 26 例、1E が 1 例であり、6 例は E1 領域の増幅がみられず解析不能であった。

4. 風疹 IgM 抗体検査成績

表 3-1、3-2 に、風疹 IgM 抗体検査と遺伝子検査の成績を比較して示した。解析した 46 例は、デンカ生研社キットでは陽性 18 例、判定保留 3 例、陰性 25 例と判定された。一方、シーメンス社キットでは、陽性 14 例、判定保留 1 例、陰性 31 例と判定された。5 例はいずれのキットでも IgM 抗体検査陽性/遺伝子検査陰性であった。

図 1 に、遺伝子検査と、デンカ生研社キットによる IgM 抗体検査の両方、あるいはいずれか一方の方法で風疹陽性となった 33 例の検体採取日別の検査成績を示した。発疹出現日を 0 日とすると、2 日目までに検体が採取された 21 例

中 15 例 (71%) は遺伝子検査のみ陽性であった。一方、3 日目以降に採取された 12 例中 8 例は遺伝子検査と IgM 抗体検査の両方で陽性であり、4 例は IgM 抗体検査のみ陽性であった。

D. 考察

平成 24 年 12 月に麻疹に関する特定感染症予防指針の一部改正が公示され、平成 25 年 4 月 1 日より適用になった。新たな指針では、「平成 27 年度までに麻疹の排除を達成し、WHO による麻疹の排除の認定を受け、かつ、その後も麻疹の排除の状態を維持すること」を新たな目標と定め、原則として麻疹が疑われた全例に血清抗体価の測定およびウイルス遺伝子検査を実施することとされている。

平成 25 年の 1 年間に、南関東・甲信静ブロックの 7 施設の衛生研究所では、麻疹疑いの 226 例 521 検体について遺伝子検査が実施され、7 例が麻疹と確定診断された。検出されたウイルスの遺伝子型は、D8 型 (3 例)、B3 型 (2 例)、A 型 (2 例) であった。D8 型が検出された 3 例中 2 例は家族内感染例、1 例は散发例で、いずれも渡航歴はなかった。なお、これらの症例は、国立感染症研究所感染症疫学センターの解析により、潜在的な疫学リンクが疑われた麻疹広域散发事例であることが示されている。一方、B3 型が検出された 2 例は、フィリピンあるいはグアムへの渡航歴があった。

遺伝子検査による麻疹否定例は 219 例であった。WHO は、質の高いサーベイランスが実施されていることを証明するための指標の一つとして症例報告率を挙げており、人口 10 万人あたり 2 例以上の検査による麻疹否定例という基準が示されている。現在、遺伝子検査による麻疹否定例を全例把握できるシステムはないが、麻疹に関する特定感染症予防指針の一部改正によって、麻疹症例の届出と検査がより充実したこと、さらに、臨床経過や検査結果から麻疹が否定された場合に届出の取り下げを求めるとされたことで、今後は NESID での把握が可能になると考えられる。

麻疹の遺伝子検査の大部分は、麻疹疑い例を対象として実施されたものであり、麻疹が疑われた症例を対象としたものはごくわずかであった。平成 25 年は検査が実施された 226 例中 98 例が麻疹と確定診断され、昨年と同様に、麻疹疑い例の中に多数の麻疹症例の紛れ込みが

あったことが判明した。

横浜市では麻疹疑いの 59 例についてウイルス遺伝子検査を実施したが、麻疹ウイルスが検出された症例はなかった。33 例から麻疹ウイルス、2 例から enterovirus、1 例から HHV-6 が検出され、麻疹、エンテロウイルス感染症および突発性発疹症例の紛れ込みが確認された。平成 23 年以前の検査成績と比較すると、平成 24 年以降は麻疹ウイルスの検出症例が増加し、一方で麻疹以外のウイルスはほとんど検出されていないが、これは、検査を実施した症例の多くが、麻疹流行の中心となっている成人男性の症例であったためと考えられる。

麻疹 IgM 抗体検査については、2 種類のキットでの測定結果から、麻疹 IgM 抗体検査でみられたような偽陽性例は認められなかった。また、検体採取日別の検査成績は、発疹出現日を 0 日として、2 日目までに検体が採取された症例の多くは遺伝子検査のみ陽性であったが、3 日目以降に採取された症例は、遺伝子検査と IgM 抗体検査の両方、あるいは IgM 抗体検査のみ陽性であった。これらの結果から、麻疹症例の正確な把握のためには、遺伝子検査と IgM 抗体検査を併用することが有用と考えられる。今後、さらに症例数を増やして検討したい。

麻疹については、「早期に先天性風しん症候群の発生をなくすとともに、平成 32 年度までに風しんの排除を達成すること」を目標とする特定感染症予防指針案がとりまとめられ、平成 26 年 4 月 1 日より適用される予定である。患者数が一定数以下となった段階で全数検査の実施が想定されていることから、麻疹のみならず、麻疹についても質の高いサーベイランス体制を構築することが今後の課題である。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. 麻疹および風疹遺伝子検査実績

	麻疹	風疹※	CRS
検査実施症例数	226	226	3
検査実施検体数	521	517	8
(内訳)			
咽頭ぬぐい液	202	201	3
血液	166	165	2
尿	153	151	3
遺伝子検出症例数	7	98	1
遺伝子検出検体数	14	197	3
(内訳)			
咽頭ぬぐい液	5	82	1
血液	5	54	1
尿	4	61	1
遺伝子不検出検体数	1	40	0
(内訳)			
咽頭ぬぐい液	0	6	0
血液	0	25	0
尿	1	9	0
遺伝子不検出症例数	219	128	2
遺伝子不検出検体数	506	280	5
(内訳)			
咽頭ぬぐい液	197	113	2
血液	161	86	1
尿	148	81	2

※ CRS を除く

表 2. 麻疹疑い例のウイルス検査成績 (横浜市)

ウイルス	陽性症例数	内 訳			
		2010 年	2011 年	2012 年	2013 年
Measles virus	3	1	2		
Rubella virus	80	5	11	31	33
B19	10	4	5	1	
HHV6	8	5	2		1
HHV7	4	2	2		
EBV	3	1	1	1	
CMV	2	1	1		
RSV	4		2	2	
Parainfluenzavirus type 3	4	2	2		
Enterovirus	3			1	2
Influenzavirus type A	2		1	1	
Parainfluenzavirus type 1	1	1			
Parainfluenzavirus type 2	1	1			
Parainfluenzavirus type 4	1	1			
hMPV	1	1			
Rhinovirus	1		1		

表 3-1. IgM 抗体検査と遺伝子検査の成績の比較（ウイルス抗体「生研」風疹 IgM キット）

		遺伝子検査		合 計
		陽 性	陰 性	
IgM 抗体検査	陽 性	13	5	18
	判定保留	3	0	3
	陰 性	12	13	25
合 計		28	18	46

表 3-2. IgM 抗体検査と遺伝子検査の成績の比較（エンザイグノスト風疹/IgM キット）

		遺伝子検査		合 計
		陽 性	陰 性	
IgM 抗体検査	陽 性	9	5	14
	判定保留	1	0	1
	陰 性	18	13	31
合 計		28	18	46

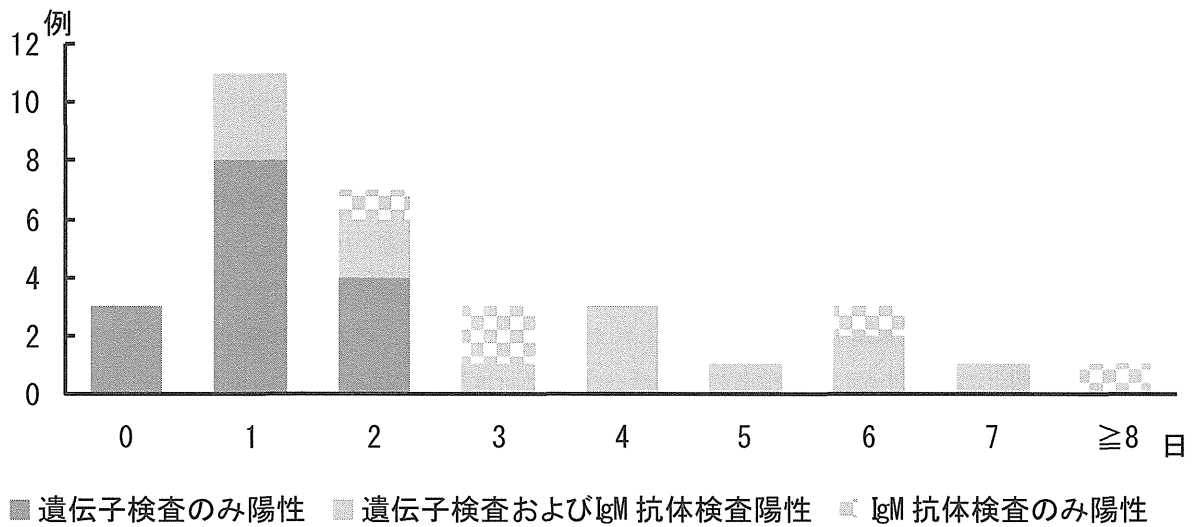


図 1. 検体採取日別検査成績

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）

麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための
実験室検査に関する研究
研究報告書

研究分担者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所ウイルス第3部第1室

北陸ブロックにおける麻疹ならびに風疹の現状（2013年）

研究協力者： 児玉 洋江、成相 絵里、崎川 曜子（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（福井県衛生環境研究センター）

研究要旨

北陸ブロックにおける麻疹および風疹の現状ならびに課題を把握することを目的に、2008年から2013年の患者報告数および、2013年に地方衛生研究所（以下、地衛研）で実施した麻疹および風疹を疑う症例の検査状況を調査した。麻疹患者報告は2008年以降年々減少し、2013年には患者報告はなかった。地衛研では麻疹を疑う16症例から採取された46検体（咽頭ぬぐい液：16検体、血液：15検体、尿：15検体）について検査が実施された。いずれの検体からも、麻疹ウイルスは検出されなかったことから、北陸ブロックは実質的な麻疹排除状態であると考えられた。今後もこの状態を維持するためには、引き続き、関係機関との連携を密にし、精度の高いサーベイランス体制を維持することが重要である。一方、上記16症例のうち、12症例（75.0%）について、発熱、発疹性疾患を起こすウイルスの検索が実施され、3症例から風疹ウイルスが検出された。2013年の風疹患者報告数は、2008年以降最も多い64例であったが、風疹を疑う症例について地衛研で検査が実施されたのは3症例のみであり、これらの症例からは風疹ウイルスは検出されていない。抗体検出による検査診断および臨床診断では、風疹の診断は困難な場合があり、風疹排除に向けた対策を講じるためには、地衛研における検査実施状況を把握するとともに、迅速かつ正確な診断体制の整備を実施する必要がある。

A. 研究目的

麻疹排除を目的に、地衛研では麻疹を疑う全ての症例を対象に麻疹遺伝子検査を実施するための検査診断体制を整備してきた。世界保健機関西太平洋地域事務局による麻疹排除の定義は、「適切なサーベイランス制度の下、土着株による感染が1年以上確認されないこと」であり、サーベイランス制度を検証するためには、地衛研での検査実績を正確に把握し、患者報告数とあわせて解析する必要がある。

一方、風疹は2012年に世界保健機関から排除目標が提示されており、排除に向けた対策を講じるためには、診断体制も含めた現状を把握することが重要である。

本研究では、北陸ブロックにおける麻疹および風疹の現状ならびに課題を明らかにすることを目的に、麻疹および風疹の患者報告数ならびに地衛研での検査実施状況を調査した。

B. 研究方法

2008年から2013年の麻疹および風疹患者報告数は、感染症発生動向調査により把握した。

北陸ブロックにおける麻疹および風疹を疑う症例の検査実施状況は、北陸ブロックの地衛研3機関からの報告に基づき集計した。なお、調査対象期間は2013年1月から12月とした。

C. 研究結果

1. 麻疹を疑う症例

北陸ブロックにおける2008年から2013年の麻疹患者数を表1に示す。北陸ブロックにおける麻疹患者数は、全数把握対象疾病となった2008年以降減少傾向にあり、2013年には麻疹患者の報告はなかった。

北陸ブロックの地衛研において、麻疹を疑う16症例から採取した46検体（咽頭ぬぐい液：16検体、血液：15検体、尿：15検体）について麻疹ウイルス検査が実施された（表2）。このうち、血液、咽頭ぬぐい液および尿の3種類が提出されたのは14症例（87.5%）であった。検査を実施した全ての検体からは麻疹ウイルスは検出されなかった。このうち、12症例（75.0%）について、発熱、発疹性疾患の原因となるウイルスの検査が実施され、7症例（58.3%）からウイルスが分離・検出された。分離・検出されたウイルスの内訳とその症例数は、麻疹ウイルスが3症例、パルボウイルスB19が2症例、HHV6が1症例、エコーウイルス9型とライノウイルスの同時検出が1症例であった。麻疹ウイルスが検出された3症例の詳細を表3に示す。各症例の年齢および性別は、20歳代の男性が1症例、40歳代の男性および女性が各1症例であった。麻疹ワクチンの接種歴は、無い、または不明であった。検査を実施した8検体（咽頭ぬぐい液3検体、血液2検体、尿3検体）全てから麻疹ウイルスが検出された。このうち、2症例に関して、病原体検査マニュアル 風疹 第2版（国立感染症研究所）に基づき、遺伝子型の同定を実施した結果、いずれも2Bであった。2症例でIgM抗体測定結果の報告があり、それぞれ2.69お

よび0.36であった。

2. 風疹を疑う症例

北陸ブロックにおける2008年から2013年の風疹患者数を表4に示す。2013年の患者報告数は64例であり、全数把握が開始された2008年以降、最も多かった。

2013年に北陸ブロックの地衛研にて風疹を疑う患者についての検査は、1地衛研において実施された3症例（咽頭ぬぐい液：3検体、血液：3検体、尿：3検体）のみであり、いずれの検体からも風疹ウイルスは検出されなかった（表5）。発熱、発疹性疾患を起こすウイルスの検索により、1症例から麻疹ウイルス 遺伝子型A型が検出された。本患者は発症する17日前にMRワクチンを接種しており、このため麻疹ウイルスが検出されたと考えられた。

D. 考察

麻疹排除を目標に実施された様々な対策により、麻疹患者報告数は減少した。2013年には北陸ブロックにおける麻疹患者報告はなく、実質的な排除状態にあると考えられた。この状態を維持するためには、海外からの輸入麻疹に対する対策を含め、関係機関と連携を密にし、引き続き精度の高い麻疹サーベイランス体制の維持に努める必要がある。

風疹の感染症法に基づく届出の基準は、病原体または抗体の検出による検査診断および臨床診断である。北陸ブロックでは2013年の風疹患者報告数は2008年以降最も多かった。このうち、病原体の検出による患者報告は、麻疹を疑い地衛研で遺伝子検査等を実施した3症例のみであり、大部分が、抗体検出による検査診断または臨床診断であったと考えられる。風疹は、発症早期にはIgM抗体は低いことが知られている。地衛研で風疹ウイルスが検出された症例のうち、1症例はIgM抗体が陰性を示した。また、一般的に三主徴（発熱、発疹、リンパ節腫脹）の全てが揃わない症例も多く、このような場合は迅速かつ正確な診断が困難である。今後、風疹の排除に向けた対策を講

じるためには、引き続き地衛研における検査実施状況を把握するとともに、迅速かつ正確な診断体制の整備が必要であると考え。

E. 結論

北陸ブロックでは、2013年には麻疹患者報告がないことから、実質的な排除状態にあると考えられた。一方、風疹患者報告が増加しており、排除に向けた対策を講じるためには、今後、診断体制の整備が必要である。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会等発表

- 1) 児玉洋江, 成相絵里: 麻しんを疑う症例からの風しんウイルス遺伝子検出事例について, 第41回北陸公衆衛生学会(富山県), 2013年11月
- 2) 児玉洋江, 成相絵里, 崎川曜子: 北陸地区麻疹・風疹レファレンスセンター報告, 地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部微生物部会(富山県), 2014年3月

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 北陸ブロックにおける麻疹患者報告数

	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年
富山県	8	2	0	0	1	0
石川県	6	1	0	0	0	0
福井県	17	4	8	1	0	0
合計	31	7	8	1	1	0

表2 北陸ブロックの地方衛生研究所における麻疹を疑う症例の検査実施状況(2013年)

	症例数	年齢 (歳)	性別		検体数	検体種別			麻疹 ウイルス 陽性数	発熱発疹性疾患原因ウイルス (症例数)
			男	女		咽頭 ぬぐい液	血液	尿		
富山県	6	0~40	3	3	17	6	6	5	0	・パルボウイルス B19(2) ・風疹ウイルス (1) ・エコーウイルス 9型+ライノウイルス (1)
石川県	6	1~77	2	4	17	6	5	6	0	・風疹ウイルス (2) ・HHV6(1)
福井県	4	9~29	4	0	12	4	4	4	0	

表3 麻疹を疑い搬入された検体から風疹ウイルスが検出された症例（2013年）

症例 No.	年齢 (歳)	性別	臨床症状	検体採取 に要した 日数	風疹 ワクチン 接種歴	風疹遺伝子検査結果			風疹 ウイルス 遺伝子型	風疹 IgM
						咽頭 ぬぐい液	血液	尿		
1	43	女	発熱(37.1℃)、結膜炎 上気道炎、発疹	2	不明	+	+	+	2B	2.69
2	22	男	発熱(37.6℃)、紅斑 コプリック斑	1	無	+	+	+	N.T.	0.36
3	45	男	発熱(37.8℃)、発疹 コプリック斑	6	不明	+	N.T.	+	2B	不明

N.T. : 実施せず

表4 北陸ブロックにおける風疹患者報告数

	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年
富山県	3	1	1	2	2	18
石川県	0	1	0	1	0	26
福井県	0	0	0	2	8	20
合計	3	2	1	5	10	64

表5 北陸ブロックの地方衛生研究所における風疹を疑う症例の検査実施状況(2013年)

症例数	年齢 (歳)	性別		検体数	検体種別			風疹 ウイルス 陽性数	発熱発疹性疾患原因ウイルス (症例数)	
		男	女		咽頭 ぬぐい液	血液	尿			
石川県	3	0~77	1	2	9	3	3	3	0	麻疹ウイルス A 型(1)

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
(麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための
実験室検査に関する研究)

分担研究者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所

愛知県における2013年麻疹・風しんの発生状況、麻疹集団発生経験、
及び麻疹・風疹疑同時検査による麻疹及び風疹遺伝子検出の実地評価
研究協力者 皆川 洋子、安井 善宏、小林 慎一、小栗 信、広瀬かおる、山下 照夫
愛知県衛生研究所

研究要旨

愛知県(人口740万)における2013年麻疹発生報告は25例、風しん375例、先天性風しん症候群2例であった。麻疹は輸入麻疹の散発に加えて2013年8月から9月にかけて2010/11年、2011/2012年に続いて県内で医療機関を接点とする集団発生・地域流行がみられた。全国で風しんが流行し、当所が担当した麻疹疑い症例検体においても風疹ウイルス陽性例が2割を占めた。麻疹・風疹ウイルス同時検査法を当所に搬入される麻疹及び風疹疑い症例に適用し、検査結果還元に要する時間を短縮できた。風しんの全国的な流行に麻疹の集団発生が重なって連日検査依頼が集中した時期に、同時検査は特に有用であった。

さらに県内で検出された麻疹ウイルス及び風疹ウイルスの分子疫学解析を行った。上記麻疹集団発生14例中13例から遺伝子型B3の麻疹ウイルスを検出した。輸入麻疹症例は2013年2-3月に中国(遺伝子型H1)、12月以降フィリピン等から遺伝子型B3の流入が続いている。風疹ウイルスの遺伝子型は、1例(1E)を除いて2B型であった。

A. 研究目的

麻疹及び風しんは世界保健機関(WHO)により排除が進められているウイルス感染症である。WHOは2012年の世界麻疹風疹対策計画において2020年までにWHOの6地域のうち5地域で麻疹・風しん排除の達成を目標に掲げている。日本も2013年4月に改正した麻疹に関する特定感染症予防指針において2015年麻疹排除を目標とした。麻疹及び風しんの排除達成に不可欠な症例数の正確な把握には、麻疹と風しんのみならず、伝染性紅斑、突発性発疹、手足口病をはじめとする発疹症の正確な病原診断が必要となる。

報告者らは先行研究において、麻疹ウイルス(MeV)と風疹ウイルス(RUBV)遺伝子検出を1台の増幅機器で同時に実施可能となるよう風疹ウイルス遺伝子検査の改良法を開発した。2013年は風しんの全国的流行に中国・フィリピンからの輸入麻疹疑い事例や麻疹集団発生が重なり、

MeV・RUBV同時検査の必要性の高い検体が多数を占めたため、同時検査の実地評価を行った。更に検出されたウイルス遺伝子の解析を行い、本県における麻疹及び風しん流行状況を考察した。

B. 研究方法

2013年1月～12月に当所に搬入された検体のうち、麻疹及び風しん疑い症例より採取された検体を対象とした。MeV遺伝子の検出は病原体検出マニュアル第2版、RUBV遺伝子の検出は病原体検出マニュアル第2版の方法で行った。同時検出には、ブロックごとに異なる温度設定が可能なサーマルサイクラー(ABI: Veriti)を用いた。MeVはN遺伝子のPCR産物、RUBV NS遺伝子陽性検体にはさらにE1遺伝子のE1(2)及び(3)領域を増幅し、PCR産物のダイレクトシーケンスで得られた塩基配列データに基づいて系統樹解析を行った。また、MeV及びRUBV遺伝子陽性検体

について、さらに hSLAM-Vero 細胞 (MeV) 及び RK-13 細胞 (RUBV) を用いてウイルス分離を行った。MeV の同定は細胞変性効果 (CPE) を確認後中和法により行ったが、特有な CPE の確認が困難であった RUBV については 2 若しくは 3 継代後に培養上清から RNA を抽出し、RT-PCR により NS 遺伝子を検出した。

(倫理面への配慮)

本研究で使用する臨床検体及び患者情報は、「疫学研究における倫理指針」に基づき、材料提供者および家族の個人の尊厳及び人権の尊重、個人情報保護の保護に配慮して実施する。症例の分析においては、個々の症例が特定できないよう配慮して行う。

C. 研究結果

(1) 2013 年愛知県における麻疹、風しん、先天性風しん症候群発生報告状況

2013 年愛知県の麻疹患者報告数は 25 例、うち独自の衛生研究所を設置する名古屋市管内発生は 1 例 (オーストラリアからの輸入麻疹 遺伝子型 B3) のみで、当所には 24 例中遺伝子検査陽性患者と疫学的リンクの明らかな 1 例を除く 23 例 (うち 1 例は 2 回にわたり検体搬入があり 1 度目は陰性) の検体が搬入された。このうち 14 例は 8 月から 9 月にかけての集団発生・地域流行事例である。23 例中 19 例が MeV 陽性であった。陰性 4 例についても遺伝子型が判明した症例との疫学リンク (同居家族、患者と同日に医療機関受診等の接触歴) や地域流行情報から遺伝子型が明らかな症例との関連事例と考えられた。

2013 年愛知県の風しん患者報告は 375 例と 2012 年 (98 例) の約 4 倍に達するとともに、2 例の先天性風しん症候群 (CRS) 発生報告があった。

※因みに 2014 年は、2 月 20 日現在 9 名の届け出があり、このうち MeV 陽性例は既に 7 例 (県衛研 6 例 名古屋市衛研 1 例) に達している。このうちフィリピンから輸入麻疹 (B3 型) は 3 例。

(2) 2013 年愛知県衛生研究所における麻疹・風疹ウイルス検出状況

2013 年 1 月から 12 月の間に当所に搬入された麻疹及び風疹疑い症例は 103 例にのぼるとともに、CRS 疑い症例も 2 例依頼があり、うち 1 例から RUBV を検出した (表 1)。麻疹若しくは風しん疑い症例中 19 例から MeV 遺伝子を、22 例から RUBV 遺伝子を検出した。その他のウイルス検出状況を表 2 に示す。

上記 MeV 陽性 19 例中 18 例より N 遺伝子が増幅され、H1 型 2 例、D9 型 2 例、B3 型 14 例に型別できた。発症前後の渡航歴より H1 型 2 例は中国、B3 型 1 例はフィリピンからの輸入麻疹と判断された。

8-9 月の集団発生・地域流行及び 12 月フィリピンからの輸入麻疹患者検体より検出された B3 型 (Mvs/Aichi. JPN/52.13) の系統樹解析結果を図 1 に示す。

図 2 には風疹ウイルス E1 遺伝子解析結果を示す。RUBV 陽性 22 症例中 19 例の E1 遺伝子解析が可能であったが、1 例が 1E 型、18 例が 2B 型に型別された (図 2)。

MeV 及び RUBV 遺伝子陽性検体から、それぞれ hSLAM-Vero 細胞及び RK-13 細胞を用いてウイルス分離を試みたところ、MeV 遺伝子陽性 19 例中 10 例の検体から MeV を分離し、RUBV 遺伝子陽性 22 症例中 15 症例の検体から RUBV を分離した。ウイルス分離陽性となった検体の種類は MeV が咽頭ぬぐい液 8 件、尿 9 件と血液 3 件、RUBV が咽頭ぬぐい液 13 件、尿 12 件と血液 1 件で (表 3)、MeV 及び RUBV とも、咽頭ぬぐい液検体と尿検体の分離効率が高かった。

D. 考察

愛知県において 2013 年 1~12 月に 103 件の麻疹及び風疹遺伝子検査を実施し、19 件から MeV 遺伝子を、22 件から RUBV 遺伝子を検出した。2013 年に愛知県では麻疹の集団発生・地域流行と風しんの全国的な流行が重なったこともあって麻疹疑い症例の 22% から RUBV 遺伝子を検出しており、同時検査の導入により検査時間の短縮及び省力化を図ることができた。

麻疹風疹以外の発疹性疾患流行の影響として、2011年の伝染性紅斑流行時には、麻疹疑い症例62症例中14件(23%)からヒトパルボウイルスB19(B19V)遺伝子を検出している。2013年夏には全国と同様愛知県でも2011年を上回る手足口病の流行がみられ、当所に麻疹・風疹疑いとして搬入された検体からもA群コクサッキー(Cox. A)ウイルスが合計3件検出された(表2)。

2013年愛知県の風疹患者報告数は375例にのぼったが、遺伝子検査実施例は名古屋市衛生研究所分を合わせても40例程度である。375例全て(及び周辺の疑い症例)の遺伝子診断を名古屋市衛研と当所の2機関のみで対応することは非現実的であった。現在風疹の実験室診断は、血清学(IgM検出若しくはペア血清による有意な抗体価上昇)が主体となっているが、今後風疹排除達成には、輸入例や疫学リンクを判断するうえで有用な情報を含む遺伝子検出が必要と考えられる。2014年4月に特定感染症予防指針施行も予定されており、今回の流行終息後には風疹疑い症例についても麻疹と同様1例目から遺伝子診断の実施が望ましい。

2010年以降、愛知県では麻疹の集団発生から地域流行への拡大を繰り返し経験しているが、遺伝子型はそれぞれD9型(2010-2011年)、D8型(2012年)、B3型(2013年)と異なっていた。本県においてMeVが土着化しているのではなく、何れも直前に海外から侵入した新しい遺伝子型の感染拡大と推測される。麻疹疫学調査における地方衛生研究所が担当するウイルス遺伝子検査と分子疫学解析の重要性が再認識された。

検出された22件のRUBV遺伝子のうち、型別可能な19件の系統樹解析の結果、1E型1件、2B型18件であった。検出された2B型は東南アジアで流行が報告されている株と塩基配列が類似していた。因みに2013年に発生した先天性風疹症候群(CRS)2例のうち検体搬入のあった1例も2B型であった。また、2013年に検出された2B型からは、2012年に検出された2B型の2つのク

ラスターの塩基配列と異なる塩基配列も認められ、2013年の流行時には2012年とは異なる新たなウイルス株が侵入していたことが考えられた。

E. 結論

麻疹は予防接種やサーベイランスの強化によりわが国も排除状態に近づいており、報告数の減少に伴い発疹性疾患の鑑別診断の重要性が増している。風疹についても平成26年4月に特定感染症予防指針施行が予定されており、今後麻疹と同様に排除に向けてサーベイランス強化がなされる。本研究では行政検査検体を用いてMeV・RUBV同時検査法の実地評価を行った。

2013年に本県で発生した医療機関を接点とする麻疹の集団発生・地域流行においては、遺伝子検査陽性例からB3型が検出されたが、B3は2013年に初めて国内で検出された遺伝子型である。輸入麻疹及び散发事例を含め、2013年に検出された遺伝子型はD9, H1, B3のみで、全て輸入関連が疑われた。

全国的に流行した風疹は本県においても流行し、遺伝子検査陽性例の遺伝子型は主に2Bであった。これは他都府県の状況と同様に東南アジアからの輸入が示唆される。

F. 研究発表

1. 論文等発表

安井善宏、伊藤雅、安達啓一、尾内彩乃、中村範子、小林慎一、山下照夫、皆川洋子、氏木里衣子、山下敬介、伴友輪、鈴木英子、福永玲奈、飯田篤、吉兼美智枝、成瀬善巳、服部悟、土屋啓三、深瀬文昭、望月真吾、片岡泉、大寫雄二、片岡博喜：渡航歴の無い麻疹集団発生からのB3型麻疹ウイルス検出－愛知県、病原微生物検出情報34(11):345-346, 2013.

2. 学会等発表

安井善宏、小林慎一、山下照夫、皆川洋子：発疹症検体における麻疹・風疹ウイルス遺伝子同時検査の試み、第54回日本臨床ウイルス学会学術集会、2013年6月8-9日、倉敷市

皆川洋子:平成 25 年度東海地区麻疹・風疹レファレンスセンター報告、平成 25 年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部微生物部会、高岡市、2014 年 3 月 7 日

3. ウェブページからの情報提供

麻疹患者調査事業における麻疹患者報告状況(2013 年)(2014 年)

http://www.pref.aichi.jp/eiseiken/2f/msl/msl_8.html

http://www.pref.aichi.jp/eiseiken/2f/msl/msl_2014.html (政令市を含む愛知県内医療機関から届出の翌開庁日中に掲載・更新)

4. マスメディアへの情報提供

・愛知県における風疹の流行状況、予防接種、ウイルスと PM2.5 の比較について

名古屋テレビ「ドデスカ！」クエスチョン枠内
2013 年 4 月 1 日放送

・「東海にも風疹じわり」中日新聞
2013 年 4 月 5 日付朝刊

・風疹の流行状況、予防法等について
東海テレビ放送 スーパーニュース枠内
2013 年 4 月 8 日放送

・風疹の流行状況、予防接種対象等について
CBC 中部日本放送 「イッポウ！」枠内
2013 年 4 月 10 日放送

・風疹の流行状況、予防接種助成について。
NHK 名古屋報道部
2013 年 5 月 30 日放送

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

表1 麻疹ウイルス(MeV)・風疹ウイルス(RUBV)遺伝子検査実績 (2013年 愛知県)

検査依頼概要	検査数	MeV 陽性件数	RUBV 陽性件数
麻疹 (風疹疑い含む)	103	19	22
先天性風疹症候群疑い	2	0	1
合計	105	19	23

表2 MeV・RUBV 遺伝子検査対応 103 事例のウイルス検出結果 (2013年 愛知県)

臨床診断 (最終)	麻疹※	麻疹以外			計
		風疹 (RUBV)	伝染性紅斑(B19V)等 病原体検出 (検査実施せず)	他 (陰性)	
MeV PCR 陽性	19	0	(検査実施せず)	0	19 (18.4%)
MeV PCR 陰性	5 うち FluB+ 1例	22	12 内訳： B19V (1), RSV (2), FluB (1), HSV-2 (1), Ad-2 (3), Ad-3 (1), Cox. A6 (1), Cox. A9 (1), Cox. A16 (1)	45	84 (81.6%)
合計	24 (23.3%)	22 (21.4%)	12 (11.7%)	45 (43.7%)	103 (100%)

表3 MeV 及び RUBV 分離成績 (2013年 愛知県衛生研究所)

	咽頭ぬぐい液	尿	血液
MeV 分離検体数	8	9	3
RUBV 分離検体数	13	12	1

図1. 愛知県で検出された B3 型麻疹 N 遺伝子 (456 塩基) の系統樹解析 (愛知県分は太字)

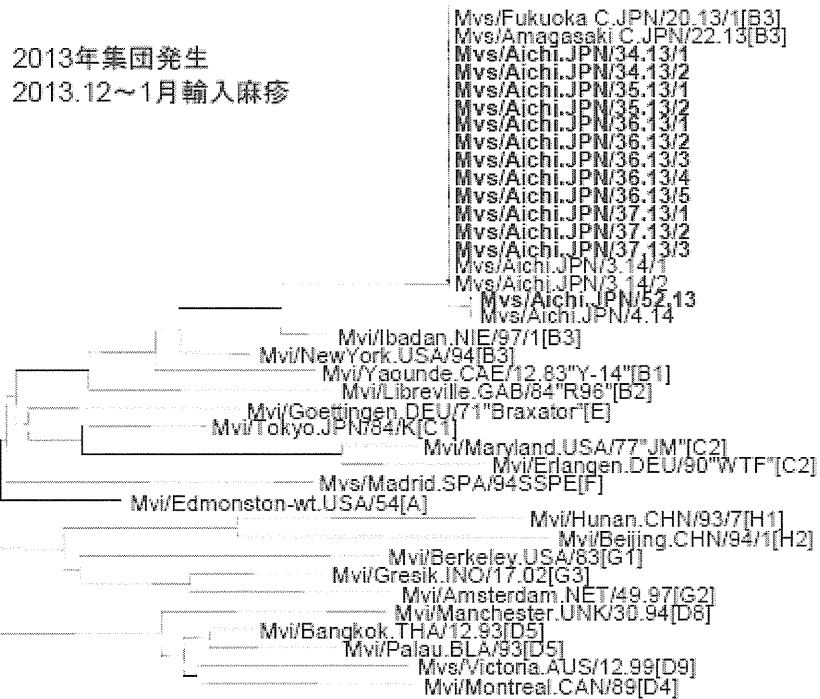
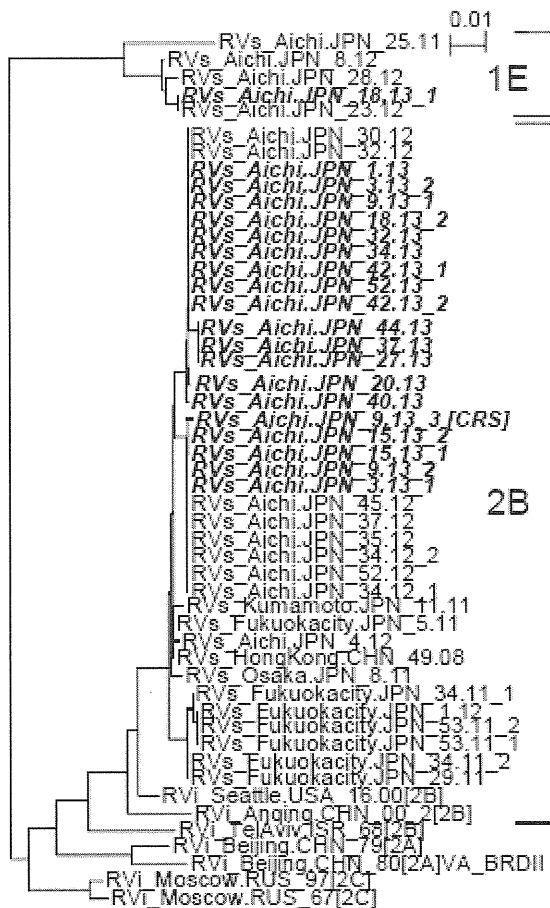


図2 愛知県で検出された風疹 E1 遺伝子 (739 塩基) の系統樹解析 (愛知県分は斜字体)



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

「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための
実験室検査に関する研究」

研究分担者 駒瀬 勝啓 国立感染症研究所

研究報告書

中国四国地区における麻しん及び風しんの検査状況について

研究協力者	村田祥子	山口県環境保健センター
	國吉香織	山口県環境保健センター
	岡本（中川）玲子	山口県環境保健センター
	戸田昌一	山口県環境保健センター
	富田正章	山口県環境保健センター
	調 恒明	山口県環境保健センター

研究要旨

2013年4月から2014年1月に中四国ブロック内の各地方衛生研究所(以下、地衛研)で実施された麻しんウイルス及び風しんウイルス検査状況について調査した。

麻しんについて、中四国ブロックでの発生届出数は9例あり、そのうち7例については地衛研での麻しんウイルス遺伝子検査が実施された。それらから検出されたウイルスの遺伝子型はB3型が6例、D8型が1例であった(その他A型3例)。中四国ブロックでの麻しん発生の場合はウイルス検出や遺伝子型決定が積極的に実施され、質の高い麻しん検査診断が実施されている。

風しんについては全国的な流行があったこともあり、中四国ブロックでも342例の発生届出があった。しかしながら、そのうち地衛研で風しんウイルス遺伝子検査が行われた件数は148例と届出の半数以下で、全く実施されていない県もみられた。また、検査を実施している地衛研においてもRT-PCR検査によるバンドの確認のみで、遺伝子型の確認までは実施していない県が大部分であった。

麻しんは特定指針のもと、排除に近い状態にあり各地衛研においても検査体制が整備されている。一方、風しんについては、特定指針等の検査のための法的根拠に乏しい事が各県における検査に対する取り組み方の格差の一因となっていると考えられる。

A. 研究目的

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年度までの麻し

ん排除を目的とした活動により日本は排除状態に大きく近づいた。この特定指針の改正も進められ、「平成 27 年度までの麻しんの排除達成」、「世界保健機関による麻しんの排除の認定」且つ「その後も麻しんの排除状態を維持すること」というあらたな目標が掲げられている。また、風しんについても世界的に排除への対策が取られつつあり、日本でも「風しんに関する特定感染症予防指針」が平成 26 年 4 月に施行される予定である。麻しん、風しんの排除推進のためには地衛所におけるウイルス遺伝子検出、ならびに遺伝子型決定が重要である。

これらのことから本研究では、中四国ブロック各地衛研における麻しん、風しんの検査状況を調査し、現状を把握する事を目的とし検査体制のあり方について検討した。

B. 研究方法

中国四国ブロック内の 10 地衛研に麻しん、風しんの検査状況に関するアンケートを送付し、情報を集計した。また一部の患者情報、病原体情報については感染症サーベイランスシステム (NESID) の情報を活用した。

(倫理面への配慮)

本研究では特定の研究対象者は存在せず、倫理面での配慮は不要である。

C. 研究結果

1. 麻しん検査体制について

中四国ブロック各県の 2013 年 4 月-2014 年 1 月までの麻しん発生届出数は 9 例であった。

一方、各地衛研では 79 例の麻しん

又は麻しん疑いに関する依頼検査を実施していた (表 1)。また検体の内訳については咽頭拭い液、血液、尿の 3 点セットで採られているところが大部分であった。検査方法は、検査実績の無い 1 地衛研を除くと従来の RT-PCR 法のみで実施している地衛研が 6 カ所、Realtime-PCR 法の実施が 1 カ所、RT-PCR 法と Realtime-PCR 法の併用が 2 カ所であった。さらに麻しんウイルスが検出されたものについては全て遺伝子型の決定が実施されていた (表 1)。

2. 風しん検査体制について

全国的に風しんの流行が起こったことに伴い、中四国ブロックでも 2013 年 4 月-2014 年 1 月に 342 例の発生届があった。各地衛研における風しんの検査状況を示した (表 2)。

風しんの場合は、届出数に対して地衛研で遺伝子検査が実施された件数は非常に少なく 148 例であった。検体の内訳については咽頭拭い液、血液、尿の 3 点セットで検査依頼されている場合が多かった。検査方法については検査実績の無い 2 地衛研を除くと、従来の RT-PCR 法のみで実施している地衛研が 5 カ所、Realtime-PCR 法の実施が 1 カ所、RT-PCR 法と Realtime-PCR 法の併用が 2 カ所であった。風しんウイルス陽性例は 52 例あったがそのうち遺伝子型解析を行い、遺伝子型が決定したものは 19 例にとどまった。

D. 考察

中四国ブロック内の各地衛研での麻しんウイルス遺伝子検査は、届出数

を大きく上回る数の依頼検査を実施していた。また、検体は咽頭拭い液、血液、尿の3点セットで採取され、検査依頼されていた。また、ウイルス遺伝子が陽性の場合には全数が遺伝子型決定まで実施されていた。陰性の事例については発生届出が取り下げられていた。このことから麻しんの遺伝子検査については適切な検査体制が整備され、維持されていると考えられた。

一方、風しんについては2012年-2013年の全国的な流行に伴い、中四国ブロック内でも患者が多く発生した。しかしながら麻しんと異なり、地衛研での風しんウイルス遺伝子検査依頼数は届出数を大きく下回った。このことは麻しんの遺伝子検査には特定指針のような検査に係る明確な法的根拠があるが、風しんの遺伝子検査については同様のものがないためであり、各自治体における風しん遺伝子検査に対する取り組み方に温度差が生じている一因であると考えられた。しかし、風しんウイルス遺伝子検査を実施している地衛研では麻しん検査と同様に検体の採取は咽頭拭い液、血液、尿の3点が採取されているところが多く、RT-PCR法又はRealtime-PCR法及びその両者によりウイルス検出

が行われている。これらのことは、風しん検査において、今後、麻しんと同様の積極的なウイルス遺伝子検査の実施が求められるようになった場合においても、適切な検査対応が可能であることを示している。

平成26年4月1日から、「風しんに関する特定感染症予防指針」が施行される。このことにより、風しん検査に対する法的根拠が強化されることから、今後、各自治体において医療機関への検体採取の協力要請や風しん検査に対する予算措置等がなされ、風しんについても麻しんと同様の検査体制が整備されることが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし