

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班
分担研究報告書

麻疹検査診断ラボラトリーネットワークの維持、改善に関する研究

研究分担者 森 嘉生 国立感染症研究所 ウイルス第三部第二室長

研究協力者 關 文緒 国立感染症研究所 ウイルス第三部 主任研究官

研究要旨 麻疹および風疹は天然痘、ポリオに続きWHOが排除を目指している感染症であり、各症例数を一定数以下にする事とともに、検査診断によるサーベイランス体制の確立や検出されたウイルス株の鑑別が求められている。本研究では収集された麻疹風疹ウイルスの遺伝子配列の他の自治体への提供に関する検討を行った。その結果、多くの自治体において条件付きで開示を求める意見が多かったため、地方衛生研究所全国協議会ならびに厚生労働省結核感染症課の了承のもと麻疹ウイルス遺伝子配列の情報開示の運用を開始した。昨年度までに作成した麻疹、風疹遺伝子検査用の参照RNAについて評価を行い、使用に問題がないことを確認した。また、地方衛生研究所における2018年の検査状況を把握するため、アンケートにより検査実績を調査した。麻疹風疹検査数の総数が2017年から大幅に増加していたが、風しんに関する特定感染症予防指針の改定によるサーベイランス体制の強化と麻疹風疹の流行によるものと考えられる。

A．研究目的

麻疹および風疹はWHOが排除を目指している感染症である。麻疹および風疹の排除は「優れたサーベイランス体制が存在する特定の地域において、1年間以上継続して伝播した麻疹（風疹）ウイルスが存在しないこと」と定義されており、排除認定を受けるためには、各症例数を一定数以下にする事とともに、検査診断によるサーベイランス体制の確立や検出されたウイルス株の鑑別が求められている。日本ではこれに対応するために、麻疹については平成24年12月に「麻しんに関する特定感染症予防指針」を、風疹については平成29年12月に「風しんに関する特定感染症予防指針」を改定し、各疑い例に対し、原則として全例にIgM抗体検査等の血清学的検査の実施を求めると共に、地方衛生研究所においてウイルス遺伝子の検出による病原体検査の実施を求めようになった。麻疹については平成27年にWHO西太平洋地域から排除認定をうけることに、このことが大いに貢献した。地方衛生研究所からNESIDを介して国立感

染症研究所に麻疹および風疹ウイルス遺伝子配列情報が収集され、国内でのウイルスの伝播状況の解析が行われる。遺伝子型情報等は病原微生物検出情報（IASR）の速報、月報等で公開されるが、遺伝子配列情報については登録した自治体以外に公開されることはなかった。しかし、広域の流行状況を即座に把握するために、他の自治体が解析した遺伝子配列情報の提供を希望する声が増えてきた。そのため地方衛生研究所全国協議会感染症対策部会での検討を元に検討を行った。

これまでに地方衛生研究所における遺伝子検査に使用する参照RNAを整備し、配布を行っている。麻疹の参照RNAはコンベンショナルRT-PCRとリアルタイムRT-PCRで別々の参照RNAを用いなければならず、現場より改善の声が挙がっている。風疹の参照RNAは、遺伝子検出用コンベンショナルRT-PCR法の標的領域には外来の挿入配列があり、増幅産物のサイズで検体由来増幅産物と見分けることができ、参照RNAからのコンタミネーションの防止

に役立っている。しかし、遺伝子型決定領域の標的部位については挿入配列を加えておらず、参照RNAからのコンタミネーションの判別は遺伝子配列を確認するまで不可能である。そのため、新規参照RNAの開発ならびに配布準備を行った。

さらに検査診断体制の維持、改善する事を目的に、地衛研への検査実績の調査、遺伝子検査法の参照RNAの配布を行なった。

B . 研究方法

1. 収集された麻疹風疹ウイルスの遺伝子配列の他の自治体への提供に関する検討

地方衛生研究所全国協議会感染症対策部会において、収集された麻疹風疹ウイルスの遺伝子配列を感染研が他の自治体への提供を行うことについて、検討を行っていただき、その結果を踏まえて提供方法について検討を行った。

2. 麻疹および風疹ウイルス遺伝子検査に用いる参照 RNA の改良

麻疹ウイルス RT-PCR 用のプライマー、プローブの認識部位と重ならないように外来遺伝子を参照 RNA に挿入し、問題なく検出可能か検討した。また風疹ウイルス遺伝子型決定領域にプライマー認識部位と重ならないように外来遺伝子を挿入するように合成したプラスミド DNA から RNA を転写合成し、問題なく使用できるかを検討した。

3. 地方衛生研究所の麻疹および風疹ウイルス遺伝子検査実施状況

麻疹・風疹レファレンスセンターを通じて、全国 76 地衛研にアンケートを実施し、2018 年における麻疹・風疹ウイルス遺伝子検査の実施状況を調査した。調査内容は 検査症例数、遺伝子検査症例数、検査陽性症例数、遺伝子型解析の結果等である。

C . 研究結果

1. 収集された麻疹風疹ウイルスの遺伝子配列の他の自治体への提供に関する検討

地方衛生研究所全国協議会感染症対策部会において全国地方衛生研究所を対象に意見照会をおこなった。66%の地方衛生研究所が「広域の流行状況を即座に把握するために、他の自治体が解析した麻疹風疹ウイルス遺伝子配列情報の開示を希望」していることが明らかになった。他自治体に麻疹風疹ウイルス遺伝子配列情報を提供できるかについては67%が提供可能と回答し、「提供できない」とした地方衛生研究所はなかった。提供の条件案として提示した「他自治体からの共有情報は、貴自治体内で発生した麻疹・風疹の流行(伝播経路)調査・把握の目的のために貴自治体内でのみ使用できる。貴施設が、一般に公開されるウェブサイト、冊子(報告書)、学会・論文発表等に使用する場合には、情報提供元の自治体(地衛研)の承諾が必要である。」については、69%が同意した。これらの意見を踏まえ、感染研に収集された麻疹ウイルス遺伝子配列情報について、1)自治体内の使用に限りて使用する、2)一般公開する場合には遺伝子配列情報を提供した地衛研の承諾が必要であることを条件に、求めに応じてウイルス株の「遺伝子配列」、「検体採取日」、「検出自治体名」、「(依頼があれば)系統樹」を提供することとした。本件は厚生労働省結核感染症課の承諾を受けたのち、地方衛生研究所全国協議会感染症対策部会を通じて、全国の地方衛生研究所に連絡された。

2. 麻疹および風疹ウイルス遺伝子検査に用いる参照 RNA の改良

昨年度までにコンベンショナル RT-PCR とリアルタイム RT-PCR で両方に使用できる様な新規麻疹参照 RNA の構築をおこなった。これが問題なく使用できるかの検討を行い、リアル

タイム RT-PCR では既存参照 RNA と同等の増幅効率を示し、さらにコンベンショナル RT-PCR では増幅産物が野外株由来の増幅産物より大きくなることを確認できた。また、遺伝子検出用コンベンショナル RT-PCR 法による増幅産物が野外株由来の増幅産物より大きくなるような新規風疹参照 RNA についても昨年度までに構築できていたが、今年度はこれをリアルタイム RT-PCR と同等に測定できることを確認した。さらに既存風疹参照 RNA は全国配布の際、凍結状態で送付していたが、これを RNAstable 試薬により、乾燥状態で常温輸送が可能ないようにした。これを一部のレファレンスセンターに送付し、常温輸送による劣化が起きないことを確認した。これらのことから、麻疹風疹の新規参照 RNA がそれぞれ作成でき、配布可能な状況が整えることができた。

3. 地衛生研究所の麻疹および風疹ウイルス遺伝子検査実施状況

全国 76 の地衛研において、2018 年に麻疹の検査が行われた症例数は 6,251 症例であった。そのうち、麻疹検査が陽性であった症例数は 328 症例（5.2%）であった。269 症例で遺伝子型解析が試みられ、228 症例（84.8%）で遺伝子型の決定ができた。そのうち、遺伝子型 D4 の麻疹ウイルスが 26 症例から、遺伝子型 D8 の麻疹ウイルスが 119 症例から、遺伝子型 B3 の麻疹ウイルスが 32 症例から検出された。またワクチン株である遺伝子型 A が 52 症例から検出された（表 1）。同様に風疹の検査が行われた症例数は 6,110 症例であった。そのうち、風疹検査が陽性であった症例数は 1,859 症例（30.4%）であった。1,616 症例で遺伝子型解析が試みられ、1,339 症例（82.9%）で遺伝子型の決定ができた。そのうち、遺伝子型 2B の風疹ウイルスは 7 症例から、遺伝子型 1E の風疹ウイルスは 1,309 症例から

検出された。またワクチン株である遺伝子型 1a は 21 症例から検出された（表 2）。

2018 年の検査症例数は麻疹風疹ともに 2017 年の検査症例数（麻疹 1,516 症例、風疹 706 症例。ただし遺伝子検査のみを集計）より大幅に増加していた。

D. 考察

麻疹風疹症例が 1 例でも発生したら積極的疫学調査を行うことが各特定感染症予防指針において求められている。麻疹風疹は感染性が高く、しばしば複数の自治体に渡って流行が拡大することがある。ウイルスの遺伝子配列情報はウイルス伝播を追跡する上で非常に有用な情報であるが、これまで収集された情報の開示は行われてこなかった。今回の研究により、麻疹ウイルスの遺伝子情報を自治体間で共有する方法を構築でき、より迅速に麻疹の疫学調査が可能になったと考えられる。現在、麻疹についてのみ運用を開始しているが、今後は風疹にも拡大していきたい。

麻疹風疹ウイルス遺伝子検査において参照 RNA は品質管理を行う上で非常に重要である。今回作成した新規参照 RNA は利便性（麻疹）、クロスコンタミネーションの否定（風疹）、輸送性（風疹）の向上が図られた。今後地方衛生研究所からの求めに応じて配布を行っていきたい。

地方衛生研究所における検査の実態を把握するため、2018 年も 76 施設を対象に調査を行った。2018 年は 2017 年の調査と比較して麻疹、風疹共に検査数が大幅に増加していることが明らかとなった。風疹については特定感染症予防指針で地方衛生研究所において遺伝子検査を原則として全症例に実施することになったこと、ならびに大規模な風疹流行や局地的な麻疹流行が発生したことが原因と考えられる。検査症例数

の増大に対し、人的ならびに経済的に十分に対応できているか検討が必要かもしれない。ウイルス遺伝子が検出されたにも関わらず遺伝子配列の解析を試みられなかった症例が多くあったが、どのような症例で解析が行われなかったか今後調査していく必要があるものと考えられた。

E．結論

感染研に収集された麻疹風疹ウイルス遺伝子配列を条件付きで他の自治体に開示する方法を構築し、麻疹ウイルス遺伝子配列の開示について運用を始めた。麻疹ならびに風疹ウイルスの遺伝子検査法の新規参照RNAの検証を行い、配布準備を整えた。アンケート調査で、地方衛生研究所76か所における2018年の麻疹および風疹の検査実態について把握を行った。

F．健康危険情報 該当なし

G．研究発表 論文発表

1. 森嘉生、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、竹田誠、風疹の検査法、病原微生物検出情報 39:35-36, 2018
2. 金井瑞恵、砂川富正、神谷元、奥野英雄、多屋馨子、大石和徳、森嘉生、竹田誠、倉田貴子、上林大起、加瀬哲男、駒野淳、北島博之、2012-2014年に出生した先天性風疹症候群45例のフォローアップ調査結果報告、病原微生物検出情報 39:33-34, 2018
3. 佐藤弘、多屋馨子、大石和徳、森嘉生、竹田誠、2017年度風疹予防接種状況および抗体保有状況 2017年度感染症流行予測調査(暫定結果)、2017年度風疹感受性調査実施都道府県、病原微生物検出情報 39:40-41, 2018

学会発表

1. 該当なし

H．知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

表1 地方衛生研究所における麻しん検査実績（2018年）

ブロック	調査施設数	検査症例数	陽性症例数	Genotype				
				D4	D8	B3	A	未決定
北海道	2	70	1	0	1	0	0	0
東北新潟	9	221	22	6	0	9	4	3
北関東	11	2691	73	0	33	17	15	12
南関東 甲信静	11	673	39	20	10	1	6	2
中部	5	597	41	0	31	3	2	5
北陸	3	151	1	0	1	0	0	0
近畿	13	502	21	0	14	2	4	1
中四国	10	298	6	0	2	0	3	1
九州	11	410	25	0	11	0	4	12
沖縄	1	638	99	0	16	0	14	5
合計	76	6251	328	26	119	32	52	41

表2 地方衛生研究所における風しん検査実績（2018年）

ブロック	調査施設数	検査症例数	陽性症例数	Genotype			
				1E	2B	1a	未決定
北海道	2	74	21	11	0	0	0
東北新潟	9	215	41	34	0	3	4
北関東	11	2692	987	639	1	8	120
南関東 甲信静	11	922	345	292	0	2	30
中部	5	599	97	72	1	2	23
北陸	3	169	32	30	1	1	1
近畿	13	561	135	87	2	2	3
中四国	10	370	81	67	2	1	5
九州	11	424	108	70	0	2	25
沖縄	1	84	12	7	0	0	1
合計	76	6110	1859	1309	7	21	212