

麻疹ウイルス分離株の分子疫学および抗体保有調査に関する研究
 - 2004年度～2006年度における地域別抗体保有状況 -

三川正秀 菱沼郁美 金成篤子 広瀬昌子 水澤丈子^{*1)} 慶野昌明^{*2)} 大竹俊秀
 微生物グループ ^{*1)}: 試験検査グループ ^{*2)}: 食肉衛生検査所

要 旨

2004年度、2005年度および2006年度における感染症流行予測調査事業（インフルエンザ感受性調査）に併せ、3地区（会津地区、相双地区、県南地区）在住の方々に、調査及び抗体価測定に同意の得られた計303人を対象に、麻疹ワクチン接種歴、麻疹の罹患歴についての調査および麻疹抗体価測定を実施した。その結果、16倍以上の抗体保有状況は、会津地区87.0%、相双地区83.0%、県南地区92.2%であった。また、年齢区分では0～1歳の層で3地区とも約50%と低かった。ワクチン未接種者における16倍未満の割合は、60～85.7%であり、接種者における16倍未満の割合が5%未満であるのに対し、高い値を呈した。なお、麻疹ウイルス分離株における遺伝子型では、2001年がD5型、2003年がH1型、2004年D9、2007年がD5型と、分離された年次ごとに遺伝子型が異なっていた。

キーワード：麻疹、ワクチン、抗体価、プライマー、遺伝子型

はじめに

麻疹はワクチンによる防御効果が高い疾患とされており、近年、国内、本県ともに患者報告数は激減状態にある。しかし、2006年茨城県や千葉県における集団感染¹⁾および2007年5月首都圏の大学生を中心とした流行が認められたように、ワクチン対策などを積極的に進めなければ、いつ本県においても集団発生するか分からない状況にある。

本県では、2004年度から感染症流行予測調査事業（インフルエンザ感受性調査）に併せ、同意の得られた県民の麻疹抗体調査を実施しており、2006年度までの3年度について、ワクチン接種歴および抗体保有状況について報告する。また、麻疹ウイルス株について、過去の分離株も併せて遺伝子解析を行ったので報告する。

材料および方法

1 抗体保有調査

1) 調査期間

2004年9月10日～10月14日、2005年8月9日～9月17日および2006年9月11日～10月11日。

2) 調査地域および例数

- (1) 2004年度インフルエンザ感受性調査用血清、会津地区（100例）。
- (2) 2005年度インフルエンザ感受性調査用血清、相双地区（100例）。
- (3) 2006年度インフルエンザ感受性調査用血清、県南地区（103例）。
- (4) 対象年齢

20歳未満（年齢区分および例数を表1に示す）。なお、年齢区分については、厚生労働省健康局結核感染症課作成の平成18年度感染症流行予測調査実施要領（麻疹）に準じた。

表1 年齢区分および例数

年齢区分 (歳)	2004年度 (会津地区)	2005年度 (相双地区)	2006年度 (県南地区)
0～1	17	14	11
2～3	12	10	17
4～6	16	25	17
7～9	12	17	19
10～14	18	21	30
15～19	25	13	9
計	100	100	103

3) 調査内容

(1) 抗体価測定方法

ゼラチン粒子凝集法：セロディア麻疹(P.A法：以下 P.A とする)．富士レビオ社製．

(2) 個人調査項目

年齢，性別，居住地（市町村），予防接種歴，罹患歴の 5 項目．

2. ウイルスの遺伝子検査

麻疹ウイルス分離陽性の培養細胞上清液 6 検体と臨床材料（咽頭ぬぐい液）1 検体の計 7 例（表 6 参照）をシーケンス解析に供した．ウイルス分離には Vero 細胞および B95a 細胞を用いた．

市販キット（QIAmp Viral-RNA Mini Kit：QIAGEN）を用いて検体から RNA を抽出し試料とした．試料 RNA から RT 反応により cDNA を作成後，NP 遺伝子領域の 660bp をフラグメントを増幅する Santibanez ら²⁾の primer pair MV5（5' -GCCATGGGAGTAGGAG TGGAAC）と MV6（5' -CTGGCGGCTGTGTGG ACCTG）を用いて first-round PCR を行った．また，second-round PCR は 544bp フラグメントを増幅する primer pair MV1（5' -ATTAGGG CAAGAGATGGTAAGG）と MV2（5' -TATAAC AATGATGGAGGG）により 1st PCR 増幅産物を鋳型として実施した．電気泳動により増幅産物から DNA を抽出精製した．市販シーケンスキット（Applied Biosystems 社）を用いたサイクルシーケンス反応後，反応物を精製し，ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した．NP 遺伝子 C 末端の 450bp 塩基配列について BLAST search を実施し，データベースに登録されているシーケンスとの相同性を検索した後 CLUSTAL W

（Neighbor Joining Method：N-J 法）を用い系統樹を作成した．

結果および考察

1 年度・地域別におけるワクチン接種歴および罹患歴について

調査した 3 地区のワクチン接種歴および罹患歴を表 2 にまとめた．

1) 2004 年度：会津地区

対象者 100 例のうち，接種ありは 73 例，接種なしが 22 例であった．また，ワクチン接種ありのうち罹患歴ありと回答したのは 2 例（2/73），2.7%であったが，ワクチン接種なしでは 7 例（7/22），31.8%と高かった．なお，麻疹の発症ゼロを目指すには接種率が 95%程度必要と言われているが³⁾，今回の結果では 70%台に留まっており，麻疹コントロール対策が望まれる．

2) 2005 年度：相双地区

対象者 100 例のうち，接種ありは 74 例，接種なしが 22 例であった．また，ワクチン接種ありのうち罹患歴ありと回答したのは 1 例（1/74），1.4%であったが，ワクチン接種なしでは 8 例（8/22），36.4%と高かった．ワクチン接種状況と罹患歴との関係は，会津地区と同様の傾向が伺えた．

3) 2006 年度：県南地区

対象者 103 例のうち，接種ありは 81 例，接種なしが 19 例であり，会津地区，相双地区と比べて接種率が高い傾向がみられた．また，ワクチン接種ありのうち罹患歴ありと回答したのは 2 例（2/81），2.5%であったが，接種なしでは 8 例（8/19），42.1%であり，他の 2 地区と同様に接種なしの罹患率は接種ありより高い値を示した．

表 2 地域別麻疹ワクチン接種歴および罹患歴状況

		会津地区 (2004年度)		相双地区 (2005年度)		県南地区 (2006年度)	
ワクチン歴	例数	罹患歴	例数 (%)	ワクチン歴	例数	罹患歴	例数 (%)
接種	73	有	2 (2.7)	接種	74	有	1 (1.4)
		無	70 (95.9)			無	71 (95.9)
		不明	1 (1.4)			不明	2 (2.7)
未接種	22	有	7 (31.8)	未接種	22	有	8 (36.4)
		無	15 (68.2)			無	14 (63.6)
		不明	-			不明	-
不明	5	-	5	不明	4	-	4
不明	3	-	3	不明	3	-	3

2 年齢区分による麻疹P.A抗体保有状況

1) 会津地区抗体保有状況

会津地区における20歳未満(100例)の抗体保有状況を示した(図1)。本測定法で抗体ありとされる16倍(血清希釈率)以上の保有割合は87.0%であった。また、年齢区分による保有状況を見ると0~1歳で52.9%と半数程度の保有に留まっているが、年齢区分が上昇するに従って保有割合は増加し、4~6歳以上の層からは、90%以上もしくはそれに近い保有状態にあった。更に、感染防御に有効とされている256倍以上³⁾の保有は全体で71.0%であり、年齢区分による保有状況では、4~6歳の94.8%をピークに、その年齢層から離れるに伴い低下傾向を示し、10~14歳で61.1%、0~1歳では41.2%であった。

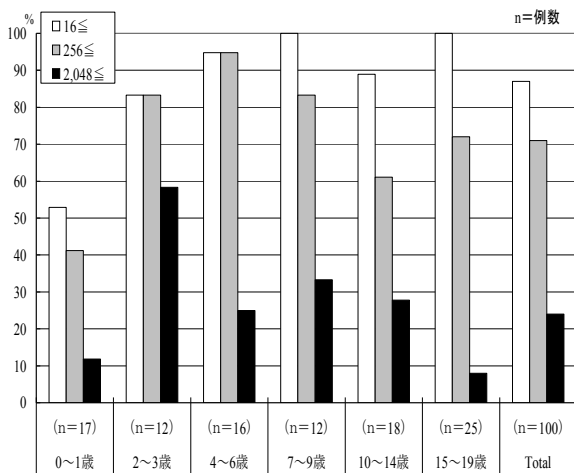


図1 2004年度会津地区抗体保有状況

2) 相双地区抗体保有状況

相双地区における20歳未満(100例)の抗体保有状況を示した(図2)。16倍以上の保有割合は83.0%であり、会津地区における割合と近似していた。また、年齢区分による保有状況を見ると0~1歳で42.9%と半数を下回っており、年齢区分が上昇するにつれて割合は増加傾向を示していたが、4~6歳層では76.0%と落ち込んでいた。次に、256倍以上の保有は全体で74.0%と会津地区と同程度であり、年齢区分による保有状況では、16倍以上の保有状態と類似した傾向を示していた。0~1歳では35.7%と特に低い状態

にあるため、接種対象者への積極的なワクチン接種など感受性者対策が必要と考えられる。

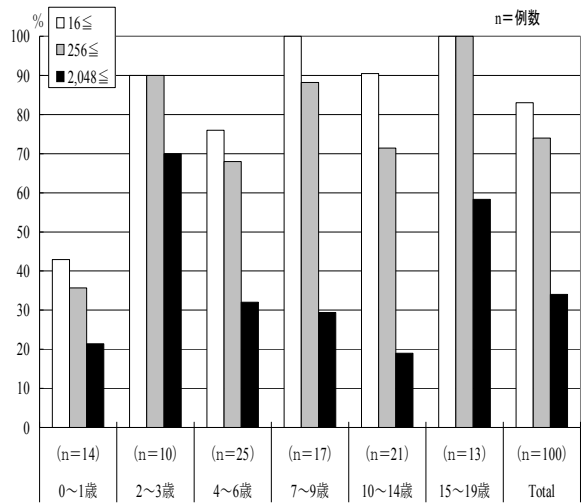


図2 2005年度相双地区抗体保有状況

3) 県南地区抗体保有状況

県南地区における20歳未満(103例)の抗体保有状況を示した(図3)。16倍以上の保有割合は92.2%であった。また、年齢区分による保有状況を見ると0~1歳で45.5%と半数程度の保有に留まっていた。しかし、年齢区分の2~3歳層以上は94%以上の保有状態にあった。なお、256倍以上の保有状況は全体で85.4%であり、3地区で最も高い割合を示した。更に、年齢区分による保有状況でも、0~1歳の層を除けば90%近い値を示した。

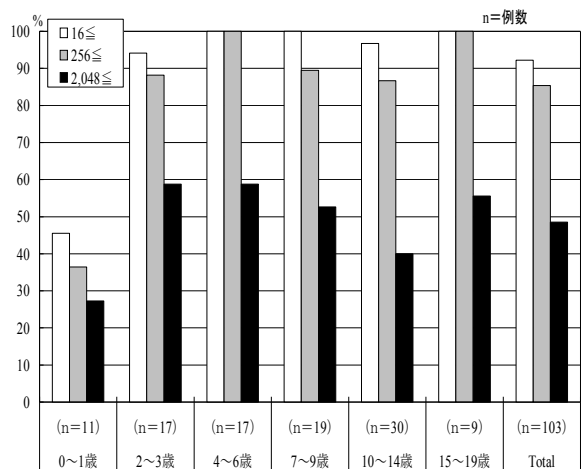


図3 2006年度県南津地区抗体保有状況

3 ワクチン接種の有無と抗体保有状況について

調査票により、地区別にワクチン接種の有無（罹患歴なし）による抗体保有状態について表3～5にまとめた（ワクチン歴不明を除く）。

1) 会津地区抗体価（2004年度）

罹患歴のなかったワクチン接種者 70 例および未接種者 15 例の計 85 例（表 3）について、抗体価の状態を見ると、16 倍未満の割合が、ワクチン接種者では 3/70 例（4.3%）であるのに対し、未接種者では 9/15 例（60.0%）と高かった。

また、256 倍以上の抗体価を保有している者は、接種者は 56/70 例（80.0%）と高い割合であった。しかし、ワクチン接種者であるにもかかわらず、抗体価が 16 倍未満と免疫を獲得できなかったと思われる例が 3/70 例

（4.3%）見られており、注意が必要である。抗体価 16 倍未満の 12 例中 10 例は 6 歳以下であった。

2) 相双地区抗体価（2005年度）

罹患歴のなかったワクチン接種者 71 例、未接種者 14 例の計 85 例（表 4）の抗体価の状態を見ると、ワクチン接種者での 16 倍未満の割合は、3/71 例（4.2%）であるのに対し、未接種者では 12/14 例（85.7%）とそのほとんどを占めた。また 256 倍以上の抗体価を保有している者は⁴⁾、接種者では 59/71 例（83.1%）と高い割合であったが、未接種者では 2/14 例（14.3%）と低かった。なお、本地区の調査でも、ワクチン接種者であるにもかかわらず、抗体価が 16 倍未満の例が 3/71 例（4.2%）見られた。抗体価 16 倍未満の 15 例は全て 6 歳以下であった。

表 3 ワクチン歴の有無による年齢区分P. A抗体法保有状況（会津地区）

年齢区分 (歳)	ワクチン歴	P. A抗体価				例数 (%)
		<16	16~128	256~1,024	2,048≧	
0~1 (n=16)	接種	1 (1.4)	-	4(26.7)	2 (2.9)	7 (10.0)
	未接種	6 (40.0)	2 (13.3)	1 (6.7)	-	9 (60.0)
2~3 (n=11)	接種	-	-	3 (4.3)	6 (8.6)	9 (12.9)
	未接種	2 (13.3)	-	-	-	2 (13.3)
4~6 (n=15)	接種	-	-	10(14.3)	4(26.7)	14 (20.0)
	未接種	1 (6.7)	-	-	-	1 (6.7)
7~9 (n=11)	接種	-	2 (2.9)	5 (7.1)	3 (4.3)	10 (14.3)
	未接種	-	-	1 (6.7)	-	1 (6.7)
10~14 (n=16)	接種	2 (2.9)	5 (7.1)	5 (7.1)	4(26.7)	16 (22.8)
	未接種	-	-	-	-	-
15~19 (n=16)	接種	-	4(26.7)	9 (12.9)	1 (1.4)	14 (20.0)
	未接種	-	1 (6.7)	1 (6.7)	-	2 (13.3)
計 (n=85)	接種	3 (4.3)	11(15.7)	36(51.4)	20(28.6)	70 (100)
	未接種	9 (60.0)	3(20.0)	3(20.0)	-	15 (100)

表 4 ワクチン歴の有無による年齢区分P. A抗体法保有状況（相双地区）

年齢区分 (歳)	ワクチン歴	P. A抗体価				例数 (%)
		<16	16~128	256~1,024	2,048≧	
0~1 (n=14)	接種	-	1 (1.4)	2 (2.8)	2 (2.8)	5 (10.0)
	未接種	8(57.1)	-	-	1 (7.1)	9 (60.0)
2~3 (n=10)	接種	-	-	2 (2.8)	7 (9.9)	9 (12.9)
	未接種	1 (7.1)	-	-	-	1 (13.3)
4~6 (n=25)	接種	3 (4.2)	2 (2.8)	9 (12.7)	8 (11.3)	22 (20.0)
	未接種	3 (21.4)	-	-	-	3 (6.7)
7~9 (n=12)	接種	-	2 (2.8)	8 (11.3)	1 (1.4)	11 (14.3)
	未接種	-	-	1 (7.1)	-	1 (6.7)
10~14 (n=15)	接種	-	4 (5.6)	8 (11.3)	3 (4.2)	15 (22.8)
	未接種	-	-	-	-	-
15~19 (n=9)	接種	-	-	5 (7.0)	4 (5.6)	9 (20.0)
	未接種	-	-	-	-	-
計 (n=85)	接種	3 (4.2)	9(12.7)	34 (47.9)	25 (35.2)	71 (100)
	未接種	12 (85.7)	-	1 (7.1)	1 (7.1)	14 (100)

表5 ワクチン歴の有無による年齢区分P. A抗体価保有状況（県南地区）

年齢区分 (歳)	ワクチン歴	P. A抗体価				例数 (%)
		<16	16~128	256~1,024	2,048≧	
0~1 (n=11)	接種	1(1.3)	1(1.3)	1(1.3)	2(2.6)	5(6.6)
	未接種	5(45.5)	-	-	1(9.1)	6(54.5)
2~3 (n=16)	接種	-	1(1.3)	6(7.7)	7(9.2)	14(18.4)
	未接種	1(9.1)	-	1(9.1)	-	2(18.2)
4~6 (n=14)	接種	-	-	7(9.2)	7(9.2)	14(18.4)
	未接種	-	-	-	-	-
7~9 (n=16)	接種	-	2(2.6)	8(10.5)	5(6.6)	15(19.7)
	未接種	-	-	-	1(9.1)	1(9.1)
10~14 (n=22)	接種	-	3(3.9)	12(15.8)	5(6.6)	20(26.4)
	未接種	2(18.2)	-	-	-	2(18.2)
15~19 (n=8)	接種	-	-	4(5.3)	4(5.3)	8(10.5)
	未接種	-	-	-	-	-
計 (n=87)	接種	1(1.3)	7(9.2)	38(50)	30(39.5)	76(100)
	未接種	8(72.7)	-	1(9.1)	2(18.2)	11(100)

3) 県南地区抗体価（2006年度）

罹患歴のなかったワクチン接種者 76 例、未接種者 11 例の計 87 例（表 3）の抗体価の状態を見ると、16 倍未満の割合が、ワクチン接種者では 1/76 例（1.3%）であるのに対し、未接種者では 8/11 例（72.7%）と高かった。また、256 倍以上の抗体価を保有している者は接種者では 68/76 例（89.5%）と 9 割近い割合であったが、ワクチン未接種者では 3/11 例（27.3%）であった。また、低い割合ではあるが県南地区の調査においても、ワクチン接種者であるにもかかわらず、抗体価が 16 倍未満の例が 1/76 例（1.3%）見られた。

4. 麻疹ウイルス株の遺伝子解析について

本県で分離された麻疹ウイルス株の遺伝子解析の結果を表 6 に示した。また、代表レファレンス株との比較を図 4 に示した。現在までのところ、麻疹ウイルスは 8 群（A～H）23 型に分類されている⁵⁾。2001 年 24 週に当所で分離された 1 株は遺伝子型が D5 に分類され、同年、首都圏（川崎市、東京都）で分離され注目された H1 遺伝子型⁶⁾とは異なっていた。また、相同性検索では、大阪市（2001 年 16 週）で分離されていた D5 型株と 99% のホモロジーにあった。

2003 年（13 週～20 週）に分離された 4 株はすべて H1 型に分類された。これらの症例は中通り地方在住者（県北 1 株、郡山市 1 株、県南 2 株）であった。なお、うち 3 株（県北 1

株、県南 2 株）の相同性は、2001 年 23 週以降、東京や川崎市で分離されていた H1 株に類似（98～99%）していた。しかし、残る 1 株（郡山市：14 週）は、上述 3 株との比較では少し変異が見られていた。

2004 年 8 月、相馬市の症例（33 週）から分離された 1 株は D9 型に分類された。D9 型の本邦における初めての報告は、2004 年 1 月～2 月に掛け、山形県内の中学校で発生した集団感染事例⁷⁾である。山形で分離された 5 株（3 週～7 週）とは、99% のホモロジーにあった。

2007 年 6 月（24 週）いわき市の症例から D5 の遺伝子を検出したが、2001 年に分離された D5 型とはクラスターを異にしていた。国立感染症研究所感染症情報センターの速報⁸⁾によると、2007 年 2 月から 8 月の間、麻疹ウイルスの遺伝子型別はほとんどが D5 型であった。

検討株数も少ないため早計には断定できないが、本県においても、分離（検出）年次ごとにウイルスの遺伝子型が変化していると推測された。WHO のレポート⁹⁾によると、野

外麻疹ウイルスの遺伝子型分布には、国により固有化の傾向が見て取れ、地球規模でグローバル化が進む中、いつ、新たな遺伝子型が侵入しても不思議ではないとされている。遺伝子レベルでの解析は、ウイルスの由来の推定（伝播経路）および動向等を知るうえでも意義あることと思われ、当所の役割の一つ

表6 麻疹ウイルス遺伝子型別 (2001年~2007年6月)

No	性別	年齢(歳)	検体種別	採取年月日	株名	遺伝子型	ワクチン歴	ウイルス分離	居住地
1	男	6	T.S	2001.6.13	MVi/Fukushima. JPN/24. 01/1	D5	不明	+	郡山市
2	女	0.7	T.S	2003.3.27	MVi/Fukushima. JPN/13. 03/1	H1	不明	+	棚倉町
3	男	2	T.S	2003.3.28	MVi/Fukushima. JPN/13. 03/2	H1	無	+	白河市
4	女	19	T.S	2003.4.4	MVi/Fukushima. JPN/14. 03/3	H1	無	+	郡山市
5	女	16	T.S	2003.5.16	MVi/Fukushima. JPN/20. 03/4	H1	不明	+	本宮町
6	男	4	T.S	2004.8.9	MVi/Fukushima. JPN/33. 04/1	D9	不明	+	相馬市
7	男	22	T.S	2007.6.15	MVs/Fukushima. JPN/24. 07/1	D5	有	-	いわき市

T.S:咽頭ぬぐい液

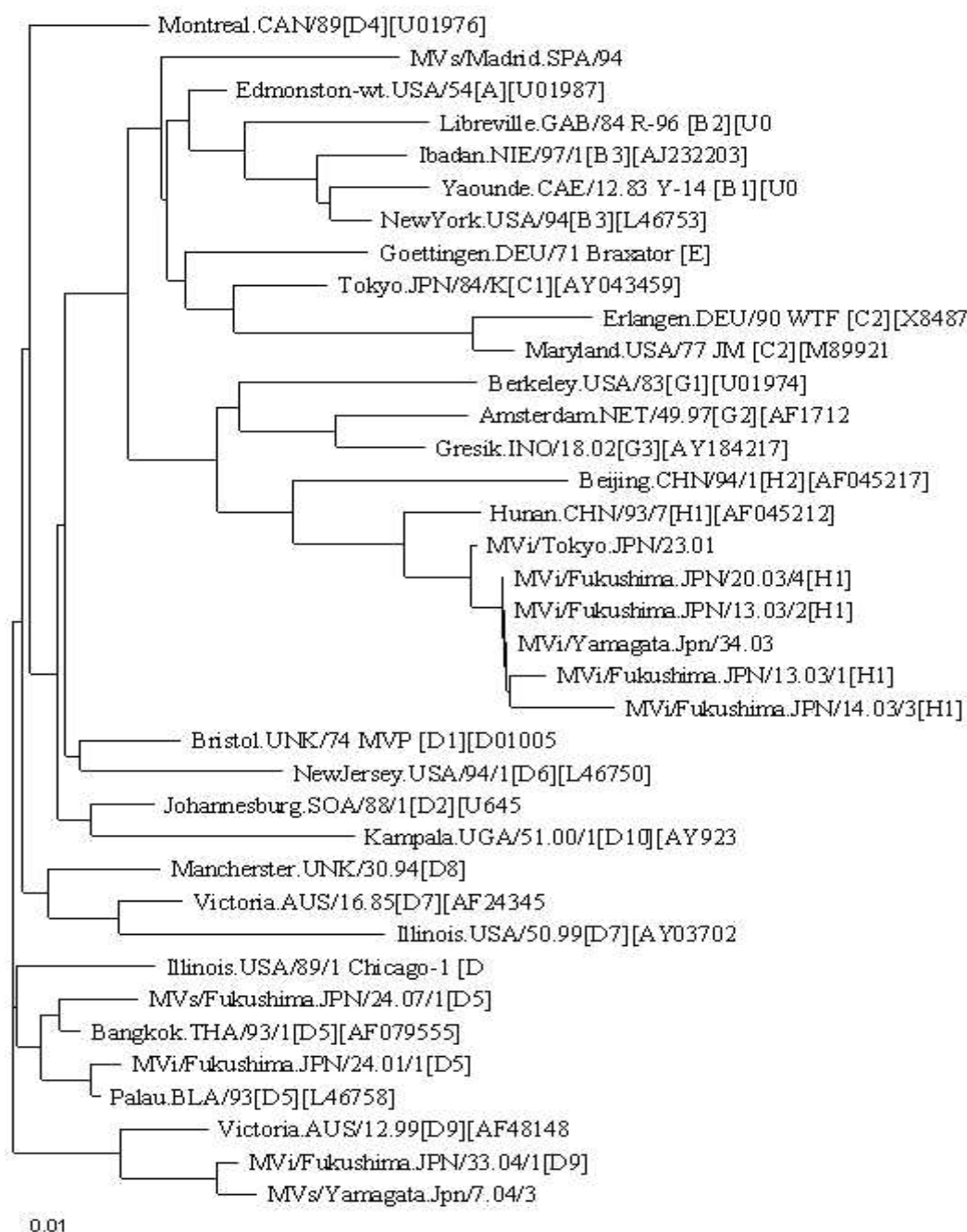


図4 県内より検出された麻疹ウイルス (NP遺伝子) の系統樹解析 (2001年~2007年6月)

と考える。

まとめ

- 1 2004～2006年度に会津，相双，県南の3地区で，麻疹の罹患歴とワクチン接種の有無についての調査および麻疹抗体価の測定を行った。
- 2 3地区ともワクチン接種ありでは罹患率が低く，なしでは高い傾向が認められた。
- 3 20歳未満における麻疹 P.A 抗体の保有状況は，3地区とも16倍以上を8割以上が保有しており，256倍以上を7割が保有していた。
- 4 年齢区分による16倍以上の抗体保有では，特に，0～1歳の層で50%と低かった。
- 5 ワクチン接種はあったが，免疫を獲得できなかった例が数%（1～4.3%）見られた。
- 6 3地区において10～14歳の層で抗体保有割合が低い値を示していた。
- 7 分子疫学的解析では，短年次でウイルスの遺伝子型が，D5，H1，D9，D5と変化していた。

引用文献

- 1) <速報> 2006年4～7月に流行した千葉市の麻疹について. 病原微生物検出情報, 2006 ; 27 : 226-228.
- 2) S,Santibanez, A,Tischer, A,Heider, et al. Rapid replacement of endemic measles virus genotypes.Journal of General Virology, 2002 ; 83 : 2699-2708.
- 3) <情報>北海道麻疹0作戦. 病原微生物検出情報 2001 ; 22 : 280.
- 4) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター. 平成16年度感染症流行予測調査報告書(2004年度) 2006 ; 150-153.
- 5) WHO,Weekly epidemiological record, 2005 ; No. 40, 80 : 341-352.
- 6) 病原微生物検出情報, 2001 ; (22). 11. 278-279.
- 7) K,Mizuta, C, Abiko, T, Murata, et al. An Outbreak of Measles Virus Infection due to a Genotype D9 at a Junior High School in Yamagata,Japan in 2004, Jpn.J.Infect.Dis 2005

; 58. 98-100.

- 8) <速報>麻疹ウイルス分離・検出状況 2007年(2007年8月21日現在報告数). 国立感染症感染症情報センター
- 9) WHO,Weekly epidemiological record. 2006 ; No.51/52, 81 : 469-480.