

東京都における麻疹ウイルスの検出状況について (2014年)

鈴木 愛^a, 長谷川 道弥^a, 角田 徳子^b, 岡崎 輝江^a, 村内 このみ^a, 柴崎 澄枝^a,
千葉 隆司^a, 秋場 哲哉^a, 貞升 健志^a

東京都では2010年から積極的疫学調査事業として麻疹の全数検査を実施しており、麻疹と診断された患者検体は可能な限り確保し遺伝子検査を実施することとしている。2011年にはD4型とD9型を中心とした麻疹が流行し、その後も様々な型の麻疹ウイルスの検出が続いている。今回、都内における2014年の麻疹ウイルスの検出状況について解析した結果、遺伝子検査で麻疹ウイルスが検出された89件のうち、型別についてはB3型が最多39件(43.8%)であり、以下D8型21件(23.6%)、D9型14件(15.7%)、H1型1件(1.1%)であった。検出された麻疹ウイルスについて分子系統樹解析を行った結果、B3型とD9型については多型が認められなかったが、D8型は複数のサブクラスターに分かれた。

キーワード: 麻疹, 遺伝子型別, B3, D8, D9, H1, 輸入感染例, 分子系統樹解析, 2014年

はじめに

麻疹は、飛沫感染により発疹、発熱や上気道炎、カタル症状などが見られる感染症で、肺炎や小児における亜急性硬化性全脳炎(SSPE)などの合併症を引き起こすことがある¹⁾。麻疹ウイルスはA~Hの8クレード、24の遺伝子型に分類されており²⁾、世界各地で異なる遺伝子型による感染が見られることから、遺伝子型の分類は流行状況の把握に用いられている。

東京都内における麻疹の流行は、2001年に輸入例と思われるH1型、2007年に国内型であるD5型、直近の2011年においては輸入例と思われるD4型とD9型によるものであった。2012年、2013年には大規模な流行は見られなかったが、2014年1月、都内で初となるB3型の患者が発生、ついでD9型、D8型による患者が発生した。

このような流行傾向を踏まえ、2014年における麻疹ウイルスの検出状況について遺伝子解析結果を用い検討を行った。

解析方法

1. 材料

2014年1月から12月の1年間で、都の積極的疫学調査として搬入された検体264件および発生動向調査として搬入され、発疹を主訴とする検体336件の計600検体(咽頭ぬぐい液565件、尿15件、鼻汁5件、血液3件、髄液2件、水泡内容物2件、吐物1件、検体種記載なし7件)を対象とした。搬入された検体のうち、麻疹ウイルス陽性だったものについて、発症時期やワクチン接種歴、海外渡航歴、周囲での麻疹流行状況を含む患者情報を併せて検討した。

2. 遺伝子検査方法

1) リアルタイムPCRによる麻疹ウイルスの検出

セパジーンRV-R(エーディア)を用いてRNAの抽出を行った後、QuantiTect Probe RT-PCR Kit(QIAGEN)を用いて田部井らの方法³⁾に従いリアルタイムPCRを行った。

2) ダイレクトシーケンス法による塩基配列の決定

麻疹ウイルスの塩基配列の決定は、「病原体検出マニュアル 麻疹(第2版および第3版)」⁴⁾に従い行った。リアルタイムPCRで麻疹ウイルスが検出された検体については、逆転写酵素にAMV Reverse Transcriptase(Life Science)を用いて56°C1分、41°C60分、94°C5分の条件で逆転写反応と不活化を行いcDNAを得た。これを用いて、N遺伝子領域533bpを対象にしたNested PCRを行った。得られたPCR産物について電気泳動を行い、目的部分のゲルを切り出した後、QIAquick PCR purification Kit(QIAGEN)を用いて精製した。次いでBigDye® v1.1 Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems)にてシーケンス反応を行い、ABI PRISM3130 Genetic Analyzer(Applied Biosystems)を用いて塩基配列を決定した。

3) 遺伝子型別の確認と分子系統樹解析

麻疹ウイルスの型別は、取得した塩基配列の型別判定部分(N遺伝子領域450塩基)について、公共の遺伝子データベース(Genbank)(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)を利用したBLAST解析により行った。また、分子系統樹解析では「病原体検出マニュアル 麻疹⁴⁾」に記載されたレファレンスデータに、2012年・2013年の都内発生麻疹検出株データを合わせ、MEGA^{5,6)}による近隣結合(Neighbor-joining: NJ)法を用いた。樹形の信頼性に関してはブートストラップ法を用いて確認を行った。

^a 東京都健康安全研究センター微生物部
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部

結 果

1. 麻疹ウイルスの検出と遺伝子型

600検体中89検体（14.8%）から麻疹ウイルスの遺伝子を検出した。依頼別では積極的疫学調査264件中82件（31.1%）、発生動向調査336件中7件（2.1%）で麻疹ウイルスが検出された。検出された麻疹ウイルスの型別はB3型が39件（43.8%）と最多であり、以下D8型21件（23.6%）、D9型14件（15.7%）、H1型1件（1.1%）で、A型（ワクチンタイプ）は6件（6.7%）、型別不明は8件（8.9%）あった（図1）。

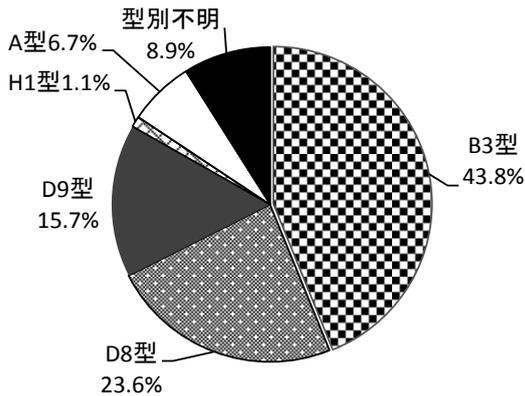


図1 麻疹ウイルス型別検出率（2014年）

2. 検出時期

ワクチンタイプを除いた2014年の麻疹ウイルスの検出は、3週から26週まで続いた。その後、35週から51週までは10件の散發事例が確認された。検出数のピークは13週であった（図2）。

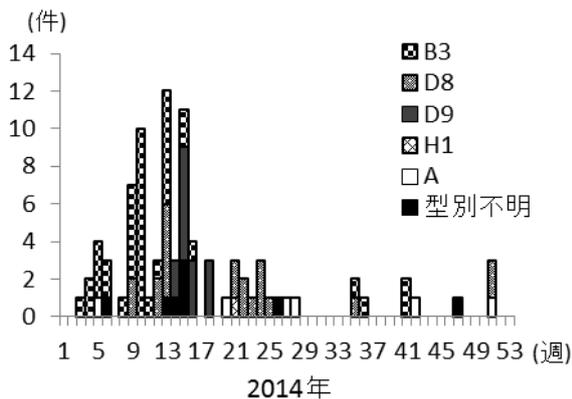


図2 麻疹ウイルス型別検出数（週別）

3. 遺伝子型別と感染地域の解析

検出された麻疹ウイルスについて解析を行った結果、B3型については、海外感染と推定された患者が12例（フィリピン9例、スリランカ、ソロモン諸島、グアム島各1例）であった。家庭内感染は4事例、また集団感染が2事例認められた。集団感染事例の初発と疑われる患者は海外渡航歴を持つものと持たないものの両方が存在

していた。3週にフィリピン渡航歴のある患者から初めて検出された後、4から5週に続けて3例の海外渡航歴を持つ患者が発生し、9週目になって大幅に増加、以後16週まで検出された（図3a）。

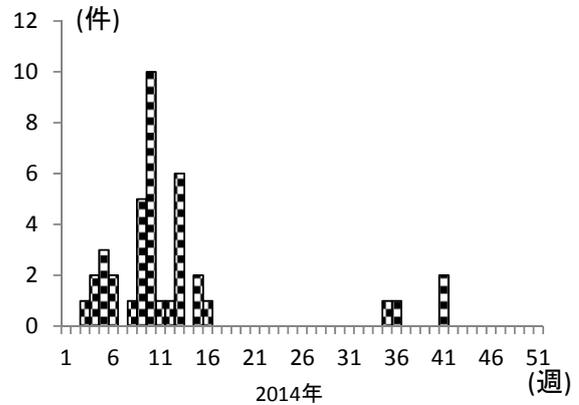


図3a 麻疹ウイルスB3型検出数（週別）

D8型については海外感染と推定された患者は5例（インドネシア3例、カザフスタン、ベトナム各1例）であった。家庭内感染は3事例認められたが、そのうち2事例は国内感染によるものと推定された。患者数については9週に2例の海外感染例が認められた後、12から13週にかけて顕著な増加が認められた。この流行はいったん終息しかけたが、21週から再び増加する二峰性の流行を示した（図3b）。

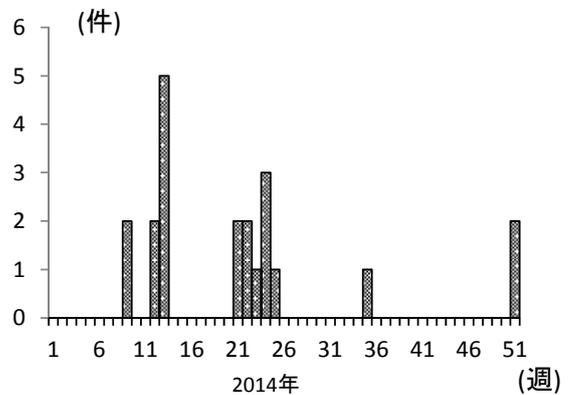


図3b 麻疹ウイルスD8型検出数（週別）

D9型については、患者の発生は14週から16、18週に認められた（図3c）。検出された13例中11例が同一地区内における発生であり、2例は海外渡航歴のない散發事例であった。11例はそれぞれ4つの家庭で発生した家庭内感染と推定され、うち2家庭については接触が認められた。

H1型については21週に1件認められ、患者には中国への渡航歴があることが確認された。

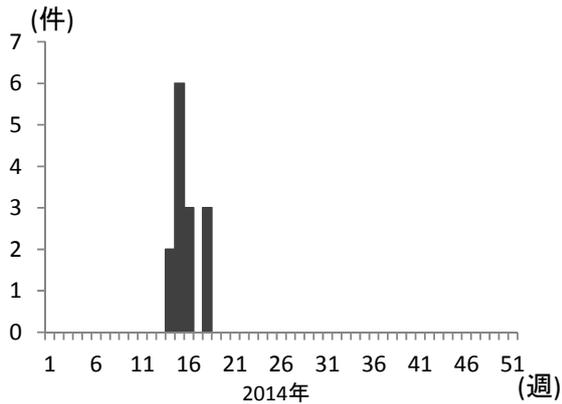


図3c 麻疹ウイルスD9型検出数 (週別)

4. 分子系統樹の解析

麻疹ウイルスのN遺伝子領域での分子系統樹を解析した結果、最多の検出数となったB3型は系統樹上の多型が認められず、推定感染経路や発症時期が異なってもほぼすべてが同一クラスターに収束した。また、D9型は同一地区内の感染事例だけでなく散発事例についても同一クラスターに帰属した。一方、D8型については、他の2型に比べて系統樹上で多型性が認められた (図4)。

5. ワクチン接種率

麻疹ウイルス陽性患者89例のワクチン接種歴は、1回接種が患者の19%、2回接種3%、接種無し45%、接種歴不明33%であった。

考 察

搬入された600検体についてリアルタイムPCRによる麻疹ウイルス検査を実施した結果、陽性は89例 (14.8%)、そのうち82例が積極的疫学調査により採取した検体であった (92.1%)。一方、発生動向調査として搬入された検体からは7例検出されている (7.9%)。東京都では麻疹の全数検査を実施しており、麻疹と診断された患者検体を可能な限り確保している。2014年の麻疹患者報告数94例のうち、当センターに検体が搬入されたのは93.3%であった。流行期如何に関わらず、今後も継続して検体を確保し検査を実施することが麻疹の流行状況把握のために重要と考えられる。

現在、麻疹ウイルスの型別には一般的にN遺伝子領域が用いられており⁷⁾、ウイルスの伝播ルートや感染場所の推定に有用とされている。2014年に東京都において検出された麻疹ウイルスはB3型、D8型、D9型およびH1型であった。最多検出数となったB3型は、わが国では2013年5月に福岡市において、輸入例として初めて報告され⁸⁾、同年8月には愛知県において海外渡航歴のない患者のB3型集団感染例が報告されている⁹⁾。都内では2014年1月に初めてB3型海外感染例が検出されてから4月まで、多数の患者が発生したが、海外渡航歴を持つ患者の渡航先としてはフィリピンが最多であった。フィリピン

では2014年に大規模な麻疹のアウトブレイクが報告されている^{10,11)}。またH1型の検出は1件のみであったが、この患者の渡航先である中国では、2013年に土着型であるH1型と、輸入型であるD8型の流行が報告されていた¹²⁾。

分子系統樹解析を行ったところ、D8型については詳細な感染経路推定に利用できる可能性が考えられた。一方、B3型とD9型については多型が少なく単一のクラスターを形成したため詳細な感染経路推定は難しく、一見明らかな疫学的リンクがなくても実際は同一株が流行していた可能性も否定できない。いずれにしても、これらを論じるには東京都の2014年のデータのみでは不十分であり、全国規模での比較や海外株の情報を視野に入れていかなければならない。そのためには、過去のデータも含め、各検査機関が積極的に麻疹ウイルスの遺伝子データを発信、共有していくことが重要であると考えられる。

わが国は2015年3月に麻疹排除認定を受け、今後は海外からの輸入感染やその接触による感染拡大が想定される。実際に、わが国同様認定を受けたアメリカでは、2014年末から大規模な麻疹の流行が見られた¹³⁾。麻疹ウイルスは非常に強い感染力を持つが、ワクチンによる予防が可能である。東京都の平成25年度の都内区市町村における麻疹ワクチン接種率は第1期が96.2%、第2期が89.8%であるが¹⁴⁾、麻疹の発生予防に有効とされる、定期の予防接種対象者の95%以上が2回の接種を完了する¹⁵⁾目標に到達できていない。また2011年の長谷川らの報告では都内で麻疹を発症した患者のワクチン接種率は18.3%であったとされている¹⁶⁾。今回の調査においても麻疹患者のうち、80%近くがワクチン接種無しあるいは接種歴不明であった。現在の状況では輸入感染事例を発端とする大規模な麻疹の流行がいつでも起こりうると考えられる。

麻疹患者が一人でも発生すれば、保健所等関係者は直ちに疫学的調査を開始し、新たな感染防止のために速やかに対応していかなければならない。我々検査機関においては迅速に検査を実施し、常に最新のデータを提供することで麻疹の発生予防・感染拡大防止に貢献していきたい。

ま と め

2014年の都内における麻疹ウイルスの検出状況について遺伝子解析結果を用いて検討した。麻疹ウイルスが検出された89件のうち、型別についてはB3型が最多39件 (43.8%)であり、以下D8型21件 (23.6%)、D9型14件 (15.7%)、H1型1件 (1.1%)であった。検出された麻疹ウイルスについて分子系統樹解析を行った結果、B3型とD9型については多型が認められなかったが、D8型は複数のサブクラスターに分かれた。

文 献

1) 岡田 淳, 設楽政次, 伊藤 武, 他: 新訂 臨床検査

- 講座22 微生物学／臨床微生物学, 304, 2000, 医歯薬出版株式会社, 東京.
- 2) 国立感染症研究所感染症情報センター：病原体微生物検出情報, **36**, 57-58, 2015.
 - 3) 田部井由紀子, 菅野このみ, 長谷川道弥, 他：東京都健安研七年报, **62**, 43-48, 2011.
 - 4) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル 麻疹 (第2版および第3版)
 - 5) Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., et al.: *Mol. Biol. Evol.*, **28**(10), 2731-2739, 2011.
 - 6) Hall, B., G.: *Mol. Biol. Evol.*, **30**(5), 1229-1235, 2013.
 - 7) 駒瀬勝啓：モダンメディア, **61**(4), 81-90, 2015.
 - 8) 国立感染症研究所感染症情報センター：病原微生物検出情報, **34**, 201-202, 2013.
 - 9) 国立感染症研究所感染症情報センター：＜速報＞渡航歴のない麻疹集団発生からのB3型麻疹ウイルス検出—愛知県, <http://www.nih.go.jp/niid/ja/measles-m/measles-iasrs/3991-pr4052.html> (2015年7月31日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
 - 10) World Health Organization Western Pacific Region: http://www.wpro.who.int/immunization/documents/measles_country_profile_sep2014_phl.pdf (2015年7月31日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
 - 11) 厚生労働省検疫所：
<http://www.forth.go.jp/topics/2014/03191525.html>
(2015年7月31日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
 - 12) Chen, M., Zhang, Y., Haung, Yan., et al.: *Emerging Infectious Diseases*, **21**(3), 477-479, 2015.
 - 13) Clemmons, S.N., Gastanaduy, A.P., Fiebelkorn, P.A., et al.: *MMWR*, **64**(14), 373-376, 2015.
 - 14) 東京都福祉保健局：
<http://www.fukushihoken.metro.tokyo.jp/iryo/kansen/measles-rubella/mr.files/h25.pdf> (2015年7月31日現在, なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
 - 15) 厚生労働省：「麻しんに関する特定感染症予防指針」平成25年4月1日適用
 - 16) 長谷川道弥, 田部井由紀子, 岡崎輝江, 他：東京都健安研七年报, **62**, 71-76, 2011.

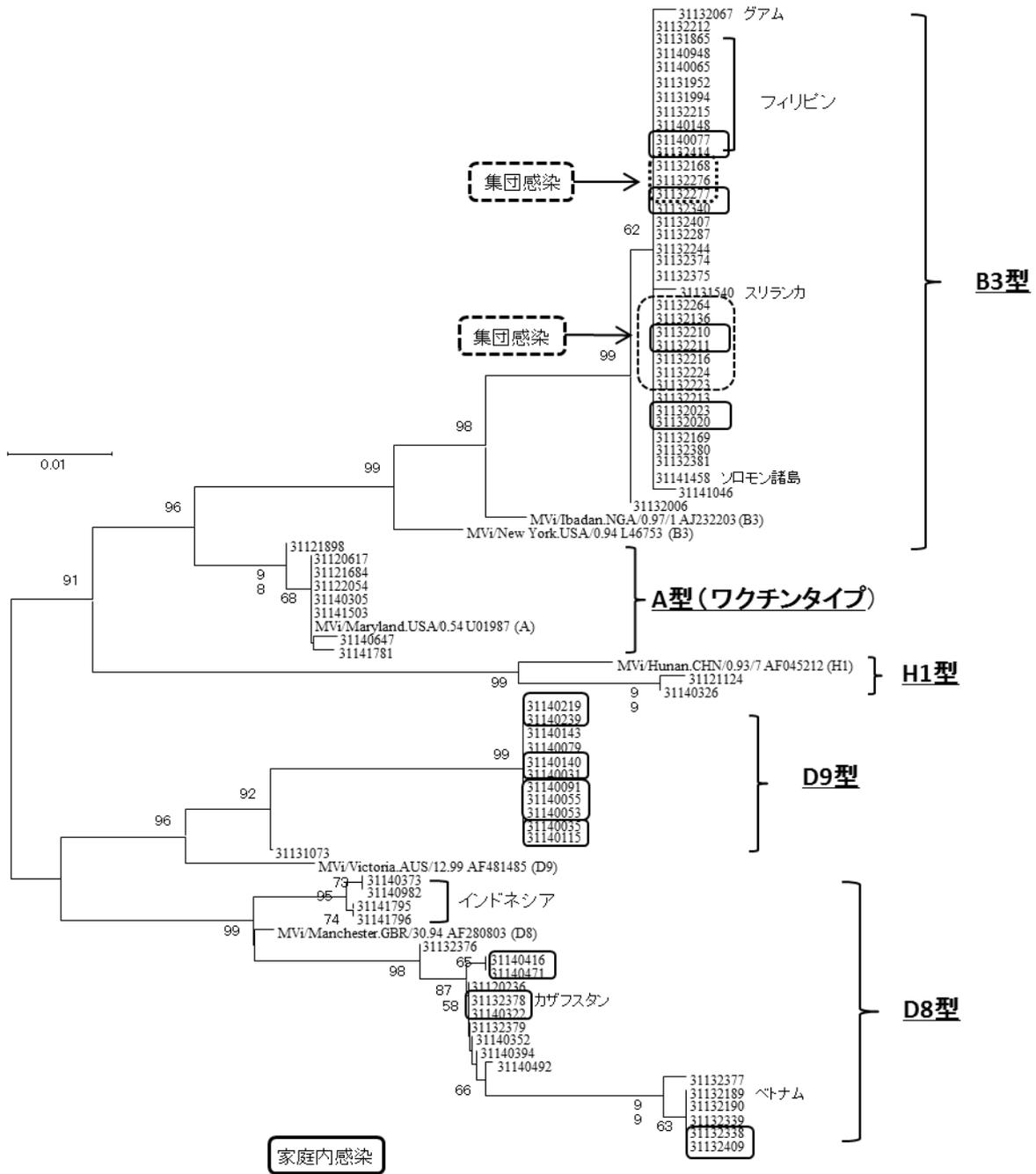


図4 東京都において検出された麻疹ウイルスのNJ法による分子系統樹解析 (2014年)

**Current status of measles virus detection in Tokyo
(January–December 2014)**

Ai SUZUKI^a, Michiya HASEGAWA^a, Tokuko TSUNODA^a, Terue OKAZAKI^a, Konomi MURAUCHI^a, Sumie SHIBASAKI^a,
Takashi CHIBA^a, Tetsuya AKIBA^a, and Kenji SADAMASU^a

The Tokyo Metropolitan Government has monitored all cases of measles virus (MeV) since 2010 as part of its epidemiological study initiatives, and genetic analysis is conducted whenever possible if patient samples have positive diagnoses for MeV. In 2011, an outbreak of mostly D4 and D9 MeV genotypes occurred, and various genotype cases continue to be diagnosed. According to the genotyping analysis of 89 measles cases detected in 2014 within the Tokyo Metropolitan area, 39 (43.8%) were B3, 21 (23.6%) were D8, 14 (15.7%) were D9, and one (1.1%) was H1. After conducting phylogenetic tree analysis, there was no variation in the B3 and D9 genotypes, and D8 was split into several subgrades.

Keywords: measles, genetic analysis, B3, D8, D9, H1, imported case, phylogenetic tree analysis

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan