

山梨県における麻疹疑い例からのウイルス検出状況 (2012)

三橋 加世子

Detection of virus from suspected Measles cases in Yamanashi Prefecture(2012)

Kayoko MITSUHASHI

キーワード：麻疹、麻疹ウイルス、遺伝子型、風しん

麻疹は発疹・発熱を主症状とし、RNA系の麻疹ウイルスによって起こる疾患である。空気感染を感染経路とするため感染力が非常に強く、平成19・20年に10～20代を中心に大流行があった。

厚生労働省は平成19年12月に「麻疹に関する特定感染症予防指針」(以下、指針)を策定し、平成24年度までの麻疹排除を目標としていた。平成24年12月には再検討により指針の一部改正が行われた。それによると、平成27年度までに麻疹の排除を達成し、世界保健機関による麻疹の排除認定を受け、かつ、その後も麻疹の排除の状態を維持することを目標としている。

また、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」では第5類感染症に指定されており、検査診断例の届出は分離同定による病原体の検出、PCR法による病原体遺伝子の検出、麻疹IgM抗体の検出のいずれかを満たすものとしている。

麻疹のIgM抗体検査は、麻疹以外の発疹性ウイルス疾患に罹患している場合にも陽性になることがあり¹⁾、厚生労働省は麻疹の確定診断にはPCR法による検査診断の実施を勧めており(平成22年11月11日付け健感発1111第2号)、当所でもPCRによる検査診断を行っている。

また、麻疹ウイルスはウイルス遺伝子の塩基配列の違いにより23の遺伝子型に分類されている。遺伝子型の分布には地域的特徴があり、遺伝子型を決定することは伝播経路を明らかにするのに有用である。

本稿では平成24年に麻疹疑いで当所に搬入された検体から麻疹ウイルスの検出を行い、陰性であった検体についても今後の麻疹対策の基礎資料とするため他のウイルスの検出を実施したので、その検出状況を報告する。

材料および方法

平成24年1月から12月に県内医療機関から麻疹疑い例として採取された咽頭拭い液、血液、尿を検査材料とし、麻疹ウイルス特異的遺伝子の検出を国立感染症研究所・病原体検出マニュアル²⁾に従いPCR法により行った。すなわち、QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN社製)を用いRNAを抽出後、PrimeScript RT reagent kit(TaKaRa社製)で逆転写反応を行いcDNAを作成し、麻疹ウイルスのH及びN遺伝子領域を標的としたPCRを実施した。麻疹ウイルス遺伝子が検出された検体については、ダイターミネーター法によるN遺伝子領域の塩基配列を決定後、系統樹解析を行い遺伝子型を決定した。

麻疹ウイルス遺伝子が検出されなかった検体については、伝染性紅斑、突発性発疹、風しんの原因ウイルスであるパルボウイルスB19、ヒトヘルペスウイルス6型・7型(以下HHV6,HHV7)風疹ウイルスの遺伝子検査を国立感染症研究所・病原体検出マニュアルに従いPCR法により行った。パルボウイルスB19とHHV6・7はDNA系ウイルスだが、前記RNA抽出に用いたキットで得られる抽出物についてはDNAウイルスの遺伝子検査に用いることが可能である³⁾ことから、前記で抽出された遺伝子を用いPCRを実施した。さらにPCR陰性の検体については、4種の細胞(Hep-2, RD-18S, Vero, MDCK)を用い細胞培養法によるウイルス分離を実施した。

結果および考察

1 ウイルス検出状況

期間中に搬入された検体は16例であり、各検体の詳細を表1に示した。16例のうち4例で麻疹ウイルス特異的

表1 麻疹疑い例検査実施状況

症例	性別	年齢	発症日	採取病日 (発症日から)	検出ウイルス	麻疹ワクチン 接種歴	海外渡航歴
1	男	24	1/17	8	麻疹ウイルス D8型	不明	無
2	女	1歳4ヶ月	1/22	5	麻疹ウイルス D8型	無	無
3	女	1歳2ヶ月	2/19	11	麻疹ウイルス A型	有(2/10)	無
4	女	2歳7ヶ月	12/14	5	麻疹ウイルス D9型	無	インドネシア
5	女	6	1/30	3	HHV7		
6	女	24	2/8	1	(-)		
7	男	29	4/1	10	(-)		
8	男	1	4/21	24	(-)		
9	男	15	5/22	1	(-)		
10	男	48	5/28	8	風疹ウイルス		
11	男	10ヶ月	7/1	3	HHV6		
12	女	22	7/16	14	風疹ウイルス		
13	男	40	8/18	3	風疹ウイルス		
14	女	18	10/1	5	(-)		
15	女	18	10/6	1	風疹ウイルス		
16	男	1	10/7	10	アデノウイルス2型		

遺伝子が検出された。遺伝子型は、D8型が2例(症例1・2)、A型ワクチンタイプが1例(症例3)、D9型が1例(症例4)であった。D8型を検出した2例のN遺伝子増幅産物について塩基配列を比較したところ、領域内(477bp)で同一であった。症例3ではワクチンタイプのA型が検出された。この症例は2月10日に麻疹風疹混合ワクチンを接種し、9日後に発症した。検体採取は発症から11日が経過していたが、咽頭拭い液から麻疹ウイルス遺伝子が検出された。塩基配列を決定したところ、接種したワクチン株の塩基配列と同一であった。4例とも提出された検体種別は咽頭拭い、血液、尿の3点セットであり、症例1・2・4は3点から、症例3は咽頭拭いから麻疹ウイルス特異的遺伝子が検出された。遺伝子型D9型が検出された症例4は12月6日までインドネシアへの渡航歴があった。

麻疹ウイルス特異的遺伝子が検出されなかった検体12例中から、風疹ウイルスが4例、HHV6が1例、HHV7が1例、アデノウイルス2型が1例、計7例から麻疹ウイルス以外のウイルスが検出された。

2 遺伝子型D8型症例における全国データとの比較

平成23年12月や平成24年1月にはD8型の検出が本県の症例も含め全国で17例報告⁴⁾があり(図1)、DNA Date Bank of Japan (DDBJ)には千葉県からMvs/Chiba.JPN/52.11.(Accession No'AB699693)など各地衛研から株の塩基配列が登録されている。登録されている他県のD8型株の一部と本県2株(症例1:AB747647、症例2:AB747648)のN遺伝子領域(456bp)における塩基配列を比較したところ、全て同一であった(図2)。

4例から麻疹ウイルスが検出され、そのうち2例は1月に発生し、ともに遺伝子型D8型で比較領域内の塩基配列は同一であったが、疫学的リンクは確認されていない。また本県では、昨年D8型の検出はない。年を挟んだ12月から1月にかけて全国からD8型の検出が多く報告されており⁵⁾⁶⁾、それら株との塩基配列は一致していることから、全国で流行していた株由来からこの2症例が発生したと推察されたが、直接的に裏付ける情報は無かった。麻疹ウイルスは感染力が強いので、感染拡大及び重篤化を防ぐ観点から、迅速かつ正確に原因ウイルスを把握することが重要と考える。

麻疹ウイルスが陰性であった疑い例からは、麻疹ウイルス以外の発疹系ウイルスが多く検出された。臨床像からの麻疹の断定は難しいことが考えられ、麻疹排除

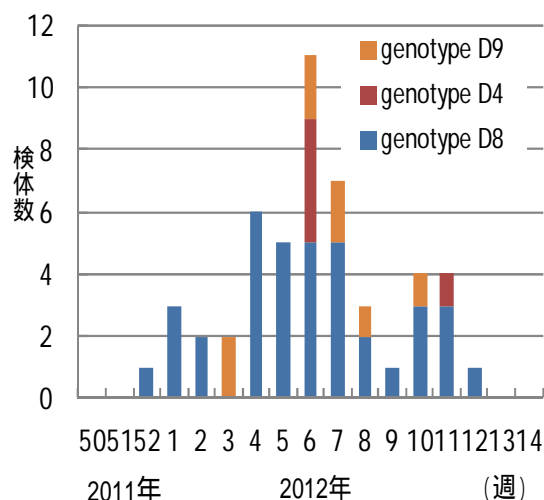


図1 遺伝子型検出状況(全国)

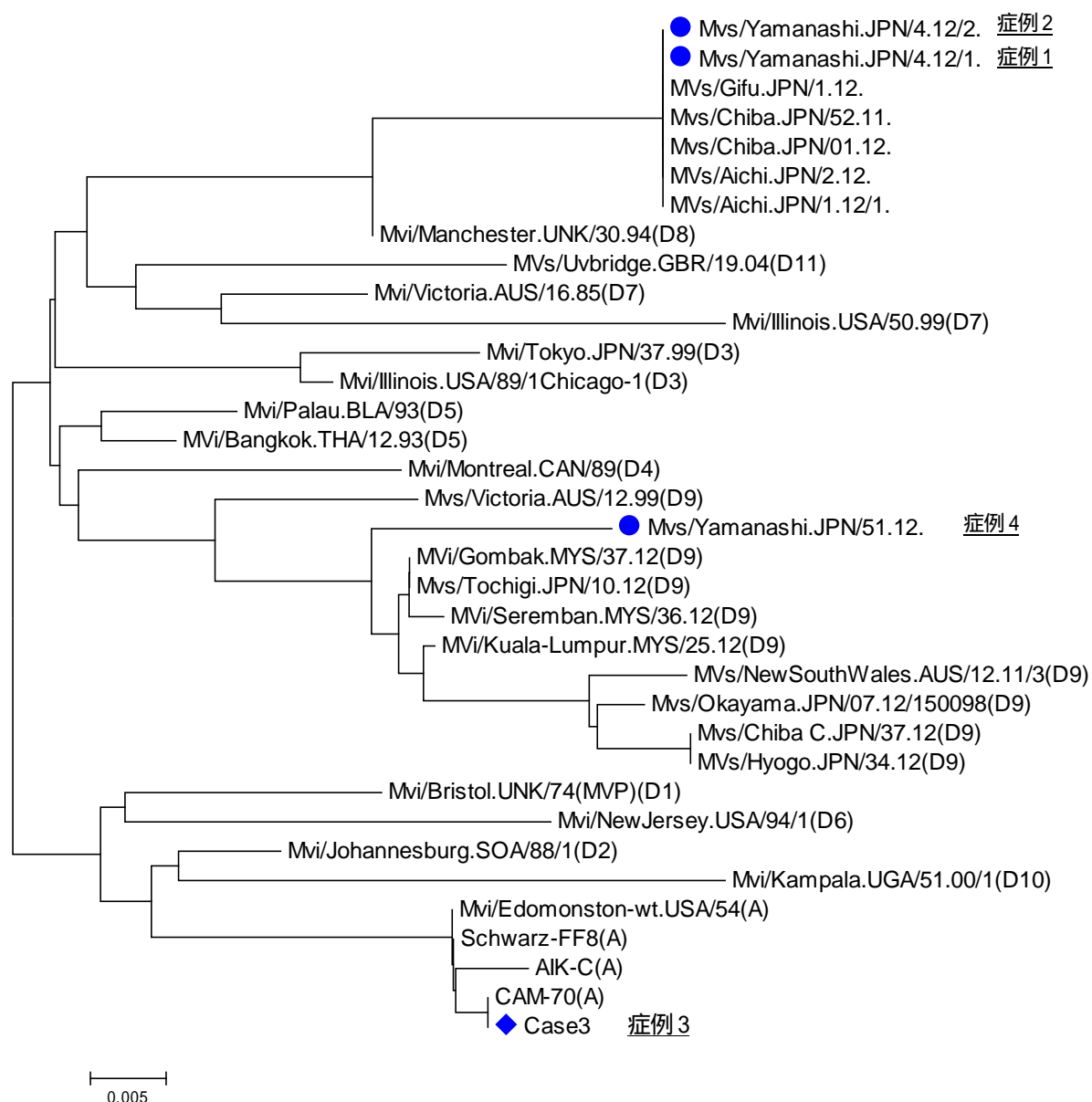


図2 N遺伝子領域(456bp)における分子系統樹

における検査診断の重要性が改めて示された。全国的には風しんの流行が続いており本県でも検出されたことから、県内に風疹ウイルスが存在していたことが分かった。風疹ウイルスは免疫のない妊婦が妊娠初期に感染すると、出生児の目や耳に先天性の障害が起きる先天性風疹症候群を引き起こすことがまれにある。麻疹ウイルス同様に風疹ウイルスの動向も把握しておく必要があると思われた。

検体が採取された時期は、発症後1~24日と幅があった。検体の採取時期が遅れると麻疹ウイルス陽性の症例でも「陰性」という結果をもたらすことになるので、検査をするにあたり検体採取時期は重要である。PCRによる検査診断が全国で進められており、麻疹

患者数も減少している。以前国内で流行していた遺伝子型D5型は2010年5月以降全国的に検出されてない。D9型が2011年国内各地において輸入例として検出されており、地域流行を起こしたウイルスとの関連性も指摘されている⁷⁾。平成25年4月には指針が改正され、ウイルス遺伝子検査を実施し遺伝子配列の解析を実施するよう明記された。PCRによる検査診断は、麻疹以外の発疹性ウイルス疾患に罹患している場合にも陽性になることがあると指摘されている抗体検査と異なり、ウイルスの遺伝子を直接検出することが出来、真の麻疹患者を特定できる。さらに塩基配列を解析することで遺伝子型が分かり、野生株かワクチン株かが判別でき有用である。また、臨床診断や抗体検査のみ

で麻しんと診断された場合、その後のワクチン接種を受けないことも考えられることから、麻疹ウイルス陰性者に対するワクチン接種の勧奨等麻しん排除に向けた対策の一助として活用できると考える。

麻しん排除には適切なサーベイランスの下、麻しん患者の有無、輸入例か否か等の遺伝子検査が重要となってくると思われるので、今後も各関係機関と協力していきたい。

参考文献

1) 永田紀子ら:病原微生物検出情報月報(IASR) 32(3) ,

80-81 , 2011

2) 国立感染症研究所:麻疹診断マニュアル(第2版) ,
平成20年7月

3) Neske F, *et al* . :J Clin Microbiol 5(7) ,2116-2122,
2007

4) 国立感染症研究所:感染症サーベイランスシステム
(NESID) ,病原体検出情報システム

5) 小川知子ら:病原微生物検出情報月報(IASR) 33(2) ,
32-33 , 2012

6) 安井善宏ら:病原微生物検出情報月報(IASR) 33(3) ,
66 , 2012

7) 長谷川道弥ら:東京健安研七年報 , 62 ,71-78,2011