

2006年に沖縄県で検出された麻疹ウイルスの解析結果

平良勝也 仁平稔 岡野祥 糸数清正 大野惇 久高潤 賀数保明
 田盛広三¹⁾ 糸数公²⁾ 長浜久美子²⁾ 野村直哉³⁾ 古謝由紀子⁴⁾ 崎濱壽賀子⁵⁾

- 1) 沖縄県福祉保健部健康増進課 2) 沖縄県北部福祉保健所 3) 沖縄県中部福祉保健所
 4) 沖縄県南部福祉保健所 5) 沖縄県中央保健所

要旨：2006年、麻疹全数把握制度において医療機関から報告された麻疹疑い患者59例のうち、当研究所に提出された57例の臨床検体について、RT-PCR法により麻疹ウイルスのNP遺伝子検出を実施した。その結果18例がPCR陽性を示し、麻疹が確定した。このうち12例は本島北部地域で限局して発生、5例は東京都や埼玉県の高校生が修学旅行中に発生、1例は本島南部地域での散発的な発生であった。検出されたNP遺伝子の遺伝子型はすべてD5に分類され、ウイルス株間における塩基配列の相同性は、99.9～100%一致した。分子系統樹解析の結果、2002～03年に本県で検出されたD5とは異なるクラスターに分かれた。

I はじめに

沖縄県では、1998～99年、2000～01年に麻疹が流行し、乳幼児を中心とする9名の命が失われた。この経験を踏まえ、本県では“麻疹発生ゼロ”を目指し、本県独自の麻疹サーベイランスシステムとして「沖縄県麻疹発生全数把握実施要領」を策定、2003年1月より実施している¹⁾。

この要領は、従来の感染症発生動向調査を強化し、麻疹発生の迅速把握及び効果的対応を目的としており、医療機関、公衆衛生機関の連携のもと、迅速な情報共有・防疫対策の実施に加え、当研究所におけるウイルス学的検査の実施を主眼にしている。

このシステム導入後の麻疹確定症例は、2003年20例、2004年15例であったが、2005年には確定症例はなく、“麻疹発生ゼロ”が達成された²⁾。しかし、2006年9～12月に再び麻疹患者が18例発生した。今回、これら18例の患者情報及び検出された麻疹ウイルスの解析結果を報告する。

II 材料及び方法

1. 患者情報の解析

医療機関より保健所に届出のあった患者情報については、県健康増進課が集計し解析した。また、麻疹が確定した場合は、保健所により積極的疫学調査が実施された。

2. 検査材料

医療機関で患者から採取された咽頭拭い液及び血液を検査材料とし、RT-PCR法による麻疹ウイルスNP遺伝子の検出及びウイルス分離を実施した。

3. 検査方法

(1)RNAの抽出

QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)を用い、添付のプロトコルに従って行った。

(2)RT-PCR

プライマー及びRT-PCRの反応条件は、国立感染症研究所の病原体検出マニュアルに基づいた。RT反応には、SuperScript II逆転写酵素(Invitrogen)を用い、1stPCR反応及びNested PCR反応にはTaq DNA Polymerase(宝酒造社)を用いた。Nested PCRによって得られた増幅産物を3%アガロースゲルで35分間電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色し、UV下で533bpの増幅産物の有無を確認した。

(3)塩基配列の決定

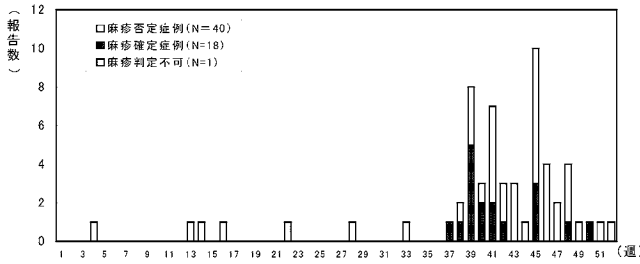
RT-PCRで遺伝子が検出された検体は、ダイレクトシーケンシング法によりPCR産物の塩基配列(NP遺伝子3'末端領域456塩基)を決定し、そのうちの385塩基について相同性検索及び近隣結合法による分子系統樹解析を行った。

(4)ウイルス分離

ウイルス分離は、咽頭拭い液を3,000rpmで20分遠心後、上清500μlをVero/hSLAM細胞(25×25cm² フラスコ)に接種後、35℃で培養し1週間観察した。

III 結果

全数把握制度における2006年の麻疹発生状況を図1に示した。全報告数は59例で、そのうち定点からの報告が31例、定点以外からの報告が28例であった。このうち、検体が提出された57例でPCR検査及びウイルス分離が行われ、麻疹が確定した症例が18例、否定された症例が39例であった。検体の提出がなかった残り2例は、医療機関においてIgMの検査が実施されたが、その結果1例は否定され、もう1例は結果の数値が±の値



で判定不可であった。

図1. 2006年全数把握制度における麻疹患者報告数

最初の麻疹確定患者は、第37週に本島北部地域で発生し、これを起点に同地域では第42週までに計12例発生した。また、これとは別に第45週に東京都からの修

学旅行の高校生で4例、第48週に埼玉県からの修学旅行の高校生で1例、第50週に県内の南部地域の高学年で1例発生した。

麻疹が確定した18例の患者情報及び病原体検査結果を表1に示した。

年齢別では、0～4歳5例、5～9歳2例、10～14歳1例、15～19歳7例、20～29歳3例であった。ワクチン接種歴は、未接種13例、接種済み4例、不明1例であった。臨床症状は、発熱(38.5～40.5℃)と発疹が18例すべてで認められ、上気道炎7例(39%)、リンパ節の腫脹およびコプリック斑各5例(28%)であった。脳炎・肺炎・中耳炎等の合併症を併発した症例はなかった。また、入院したのは高校生5例で、入院期間は4～8日であった。

症例No	年齢	性別	発病日	検体採取日	臨床症状	遺伝子検出(PCR)		ウイルス分離		遺伝子型	ワクチン接種歴	発生の状況
						咽拭い液	血液	咽拭い液	血液			
1	17歳9か月	男	9/6	9/12	発熱(40.5℃)、発疹、コプリック斑、リンパ節腫脹、結膜充血	+	-	+	-	D5	なし	北部地域
2	10歳3か月	男	9/17	9/22	発熱(39.5℃)、発疹、コプリック斑	+	+	+	-	D5	なし	北部地域
3	28歳	女	9/23	9/27	発熱(39.5℃)、発疹、上気道炎、下気道炎	+	+	+	NT	D5	不明	北部地域
4	25歳	男	9/27	9/27	発熱(39.2℃)、発疹、口内炎	+	+	+	NT	D5	有	北部地域
5	1歳6か月	男	9/24	9/28	発熱(39.0℃)、発疹、上気道炎、下気道炎	+	+	+	NT	D5	なし	北部地域
6	20歳	男	9/21	9/28	発熱(39.1℃)、発疹、上記道炎、リンパ節腫脹	+	+	-	NT	D5	なし	北部地域
7	1歳1か月	女	9/27	10/1	発熱(40.0℃)、発疹、上気道炎、眼脂	+	+	+	NT	D5	なし	北部地域
8	6歳11か月	男	10/1	10/5	発熱(39.6℃)、発疹、上気道炎、口内炎、リンパ節腫脹、結	+	+	+	NT	D5	有	北部地域
9	1歳1か月	男	10/6	10/6	発熱(38.5℃)、発疹、上気道炎	+	-	+	NT	D5	なし	北部地域
10	0歳6か月	女	10/9	10/10	発熱(39.0℃)、発疹	+	+	+	NT	D5	なし	北部地域
11	2歳10か月	男	10/6	10/10	発熱(39.0℃)、発疹	+	-	+	NT	D5	なし	北部地域
12	8歳	女	10/20	10/20	発熱(39.0℃)、発疹	+	+	+	NT	D5	なし	北部地域
13	17歳3か月	男	11/7	11/7	発熱(40.2℃)、発疹、上気道炎、コプリック斑、リンパ節腫脹	+	-	+	NT	D5	なし	修学旅行中
14	16歳9か月	男	11/6	11/7	発熱(40.2℃)、発疹、コプリック斑、リンパ節腫脹	+	-	+	NT	D5	なし	修学旅行中
15	16歳7か月	男	11/4	11/7	発熱(40.2℃)、発疹、上気道炎	+	+	+	NT	D5	なし	修学旅行中
16	16歳11か月	女	11/8	11/8	発熱(39.0℃)、発疹	+	x	-	x	D5	有	修学旅行中
17	16歳11か月	女	11/20	12/2	発熱(40.0℃)、発疹、コプリック斑	+	+	+	NT	D5	なし	修学旅行中
18	16歳4か月	女	12/11	12/15	発熱(38.7℃)、発疹、咳	+	+	+	NT	D5	有	南部地域

NT:検査実施せず x:検体なし

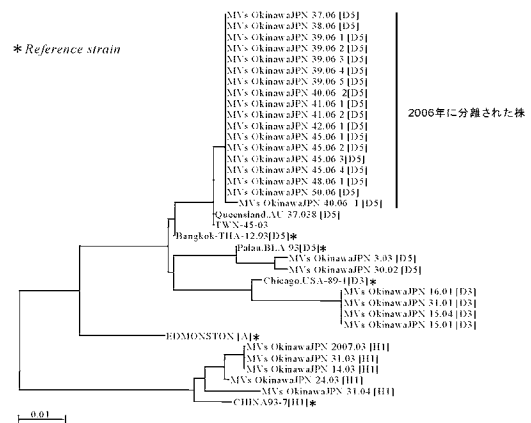
表1. 各症例及び検査結果

病原体検査を実施した57例のうち、PCR陽性は18例、このうち16例でウイルスが分離された。PCR陽性例についてNP遺伝子の塩基配列を株間で比較した結果、18例のうち1例は塩基置換が1カ所認められたが、それ以外の17例の塩基配列はすべて一致し、相同性は99.7～100%であった。また、2002～03年に分離されたD5型との相同性は96.4%であった。さらに、GenBankに登録されている株との相同性検索では、台湾、カンボジア、オーストラリアで分離された遺伝子型D5の株との相同性が99.2～99.7%であった。

分子系統樹解析では、18例すべてが遺伝子型D5に分

類されたが、2002～03年に本県で分離された遺伝子型D5の株とは、異なるクラスターに分かれた(図2)。

図2. 麻疹ウイルスNP遺伝子の分子系統樹解析



IV 考察

2006年は麻疹確定患者が18例報告され、このうち15歳以上の成人麻疹が全体の55.6% (10/18)を占め、2003年の31.5% (6/19)、2004年の12.5% (2/16)と比べて増加した。特に今回高校生の患者が7例と多く、この年齢層には感受性者が多く潜んでいる可能性が示唆された。

北部地域での初発の患者は高校生で、8月末に東京を旅行し、帰省後本県に帰った後、9月6日に発病した。この患者が発生するまで、本県の麻疹全数把握における確定症例の報告は1年以上なかった。麻疹の潜伏期間は、10～12日であることから、本症例は旅行中に感染したことが考えられた。

同地域では、その後第42週までに11例の発生が報告された。疫学調査により今回の流行は、初発患者を起点として医療機関内、あるいは家族内で感染が広がったと推測された。11例のうち、7例は医療機関内での感染が疑われ、4例は家庭内での接触が原因と考えられた。

一方、第45週と第48週に東京都および埼玉県からの修学旅行の高校生で発生した計5例は、すべて本県到着後1～2日以内に発症していたことから、旅行に来る以前には既に感染していたと考えられた。また、県内の南部で発生した散発例は、埼玉県からの修学旅行生が発病時に利用した県内のモノレールを同じ日に利用していたことから、同一車両内で感染した可能性が考えられた。

検出された麻疹ウイルスのNP遺伝子は、18例全てが遺伝子型D5に分類された。D5の麻疹ウイルスは2006年の4月から千葉県で流行していることが報告されている³⁾。今回本県において東京都や埼玉県からの移入例が6例発生し、これらの株間におけるNP遺伝子の塩基配列の一部が100%一致していることから考えると、関東地方において同一株の麻疹ウイルスが蔓延している可能性が示唆された。

現在、世界の麻疹ウイルスの遺伝子型は、23種類報告されており⁴⁾、このうち遺伝子型D5は、日本、タイ、カンボジア、ベトナムでの分布が報告されている⁵⁾。わが国においてD5は1990年から報告されるようになり⁶⁾主要な流行株となっている。本県では、D5は2002～2003年に分離されている。

2006年のD5型は、GenBankに登録されている株との相同性検索で、台湾、カンボジア、オーストラリアの株と高い相同性を示し、系統樹上では2002～03年までのD5型とは異なるクラスターに分かれ、外国の分離株と同じクラスターに属していた。この結果から、2006年のD5は、国内に土着していたD5の変異が蓄積したと考えられるよりも、国外から持ち込まれた可能性が考えられた。

V 参考文献

- 1) 知念正雄(2004) 沖縄県はしか"0"プロジェクトの進捗状況. 病原微生物検出情報, 25(3): 64-66
- 2) 知念正雄(2006) 沖縄県における麻疹全数把握事業の成果. 病原微生物検出情報, 27(4): 87-88
- 3) 横井一ら(2006) 麻しんの地域流行—千葉県市, 27(9): 224-225
- 4) WHO (2005) New genotype of measles virus and update on global distribution of measles genotypes, Wkly Epidemiol Rec 80 (40): 347-350
- 5) WHO (2006) Global distribution of measles and rubella genotypes—update, Wkly Epidemiol Rec 81 (51/52): 472-479
- 6) 中山哲夫(2004) 何故、今麻疹の撲滅なのか. モダンメディア, 50(11): 247-251