

2012.25012A・B

厚生労働省科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究

平成 22～24 年度 総合研究報告書

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 竹田 誠

平成 25(2013)年 3 月

厚生労働省科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 竹田 誠

平成 25(2013)年 3 月

目次

| | |
|--|-----|
| I. 総括研究報告 | 1 |
| 早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究 | 3 |
| 竹田 誠(国立感染症研究所 ウイルス第三部) | |
| II. 分担研究報告 | 49 |
| 麻疹ウイルスの抗原性に関する研究 | 51 |
| 竹田 誠、田原舞乃(国立感染症研究所 ウイルス第三部) | |
| 麻疹ウイルス野生株の鑑別に関する研究 | 69 |
| 駒瀬勝啓(国立感染症研究所 ウイルス第三部) | |
| 麻疹検査技術の標準化、並びに検体輸送体制の強化に関する研究 | 77 |
| 駒瀬勝啓(国立感染症研究所 ウイルス第三部)ら | |
| 2012年の北海道における麻疹・風疹について | 87 |
| 長野秀樹(北海道立衛生研究所)ら | |
| 2012年東北・新潟ブロックの麻疹・風疹検査状況 | 93 |
| 青木洋子(山形県衛生研究所) | |
| 千葉県の麻疹・風疹の現状と北関東ブロックにおける麻疹・風疹検査状況 | 97 |
| 小川知子(千葉県衛生研究所)ら | |
| 南関東・甲信静ブロックにおける麻疹検査診断(平成24年) | 103 |
| 七種美和子(横浜市衛生研究所)ら | |
| 北陸地区における麻疹ウイルス検査実施状況 | 109 |
| 児玉洋江(石川県保健環境センター)ら | |
| 麻疹の鑑別診断における風疹遺伝子検査法の改良と実地評価 | 113 |
| 皆川洋子(愛知県衛生研究所)ら | |
| ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討 2010-2012年、近畿 ブロック麻疹検査状況 | 119 |
| 加瀬哲男(大阪府立公衆衛生研究所)ら | |
| 中国四国地区における麻疹の流行と麻疹検査体制の把握 | 125 |
| 灘岡修二(山口県環境保健センター)ら | |
| 九州における麻疹検査の現状 | 131 |
| 世良暢之(福岡県保健環境研究所)ら | |

| | |
|---|-----|
| 沖縄県における麻疹発生ゼロの検証(2010-2012年)----- | 137 |
| 平良勝也(沖縄県衛生環境研究所)ら | |
| 麻疹しん疑い症例から風疹ウイルス検出状況----- | 143 |
| 田中智之(堺市衛生研究所)ら | |
| 麻疹の実験室診断法:血清診断、ウイルス分離、遺伝子診断----- | 149 |
| 庵原俊昭(国立病院機構三重病院小児科)ら | |
| 全国自治体の麻疹診断における連携強化に関する研究----- | 153 |
| 小澤邦壽(群馬県衛生環境研究所)ら | |
| 山口県における麻疹排除状態に関する考察----- | 159 |
| 調 恒明(山口県環境保健センター)ら | |
| 発疹性疾患の鑑別実験診断法に関する研究----- | 165 |
| 森 嘉生(国立感染症研究所ウイルス第三部) | |
| 早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究----- | 169 |
| 柳 雄介(九州大学大学院医学研究院) | |
| 麻疹ウイルスの抗原エピトープの構造解析と効果的なワクチン維持のための研究----- | 173 |
| 前仲勝実(北海道大学大学院薬学研究院) | |
| 麻疹ウイルスの流行解析法に関する研究----- | 177 |
| 木村博一(国立感染症研究所感染症情報センター)ら | |
| III. 研究成果の刊行に関する一覧----- | 183 |

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金
平成 23 年度新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業
総括報告書

早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究

研究代表者

竹田 誠 国立感染症研究所ウイルス第三部

研究分担者

小澤邦壽 群馬県衛生環境研究所

調 恒明 山口県環境保健センター

駒瀬勝啓 国立感染症研究所ウイルス第三部

森 嘉生 国立感染症研究所ウイルス第三部

木村博一 国立感染症研究所感染症情報センター

柳 雄介 九州大学大学院医学研究院

前仲勝実 北海道大学大学院薬学研究院

協力研究者

長野秀樹、駒込理佳、三好正浩、岡野素彦 北海道立衛生研究所

菊地正幸、佐藤寛子、伊藤はるみ 札幌市衛生研究所

青木洋子、水田克巳 山形県衛生研究所

齋藤美香、横田陽子、塚越博之 群馬県衛生環境研究所

小川知子、堀田千恵美、涌井 拓、仁和岳史、小倉惇
千葉県衛生研究所

渡邊美樹 茨城県衛生研究所

大金映子 栃木県保健環境センター

池ヶ谷美穂、長島 史子 宇都宮市衛生環境試験所

鈴木典子 埼玉県衛生研究所

大泉佐奈江 さいたま市健康科学研究センター

横井 一 千葉市環境保健研究所

住友眞佐美、灘岡陽子、早田紀子、長谷川道弥 東京都健康安全研究センター

七種美和子、小澤広規、熊崎真琴、川上千春、宇宿秀三、畔上栄治、上原早苗、船山和志

森田昌弘 横浜市衛生研究所

里見真希、小野範子、椎葉桂子、岩田眞美 横浜市健康福祉局健康安全部

鈴木理恵子 神奈川県衛生研究所

| | |
|--|-----------------|
| 清水英明 | 川崎衛生研究所 |
| 竹内恵美 | 横須賀市健康安全科学センター |
| 望月響子 | 相模原市衛生研究所 |
| 大沼正行 | 山梨県衛生公害研究所 |
| 内山友里恵 | 長野県環境保全研究所 |
| 長岡宏美 | 静岡県環境衛生科学研究所 |
| 柴原乃奈 | 静岡市環境保健研究所 |
| 鈴木幸恵 | 浜松市保健環境研究所 |
| 児玉洋江 | 石川県保健環境センター |
| 堀元栄詞 | 富山県衛生研究所 |
| 小和田和誠 | 福井県衛生環境研究センター |
| 皆川洋子、安井善宏、小林慎一、平松礼司、小栗 | 信、広瀬かおる、山下照夫 |
| 倉田貴子、上林大起、加瀬哲男 | 愛知県衛生研究所 |
| 近畿ブロック内地方衛生研究所麻しん担当者 | 大阪府立公衆衛生研究所 |
| 濱岡修二、村田祥子、岡本(中川)玲子、戸田昌一、富田正章 | |
| | 山口県環境保健センター |
| 石橋哲也、吉富秀亮、中村朋史、世良暢之 | 福岡県保健環境研究所 |
| 平良勝也、仁平 稔、岡野 祥、喜屋武向子 | 沖縄県衛生環境研究所 |
| 田中智之、内野清子 | 堺市衛生研究所 |
| 庵原俊昭、浅田和豊、菅 秀 | 国立病院機構三重病院小児科 |
| 二井立恵、伊佐地真知子 | 白子クリニック小児科 |
| 伊藤正寛 | 京都市公衆衛生研究所 |
| 赤地重宏、大熊和行 | 三重県保健環境研究所 |
| 岡崎薫 | 香川小児病院 |
| 染谷健二、關 文緒、酒井宏治、田原舞乃、中津祐一郎、藤井薫、大槻紀之、岡本貴世子 | |
| 坂田真史、安楽正輝、永井美智 | 国立感染症研究所ウイルス第三部 |
| 竹内史比古、関塚剛史 | 国立感染症研究所 |
| | 病原体ゲノム解析研究センター |
| 島田智恵、大日康史、加納和彦、野田雅博 | 国立感染症研究所 |
| | 感染症情報センター |

研究要旨

麻疹は、伝染力と病原性が非常に強い急性ウイルス感染症である。世界保健機関(WHO)が中心となって、ワクチン接種を徹底することにより地球規模で麻疹を排除する計画が進められている。我が国でも平成19年12月「麻疹に関する特定感染症予防指針」(以下、特定指針)が告示され、平成24年度までに麻疹を排除し、その後排除状態を維持する目標が出された。具体的には、麻疹を全数届出疾患とし、臨床診断だけでなく実験室診断を含めた報告を求め、中高生に2回目の追加接種機会を与える等の施策を促した。国立感染症研究所(以下、感染研)は、WHO から、自国の対策のみならず、西太平洋地域全体のレファレンス実験室機能及び、世界全体の麻疹対策のための特別実験室としての機能を持つように指定を受けている。日本の麻疹対策は先進国の中でのみならず、一部の途上国と比較しても遅れていたが、「特定指針」後の取り組みにより、ワクチン接種率も非常に高く維持され、大幅に患者数が減少した。2008年に11,015例あった報告数が、2009年には93%減の741例、2010年は457例、2011年は434例、2012年は293例になった。平成22年度、平成23年度までに、本研究班を通じて国内の麻疹診断ネットワークの構築の重要性を提言し、診断技術の向上、検体輸送法の検討、全国地方衛生研究所との連携を強めることにより、サーベイランスの柱となる検査体制基盤を構築してきた。また、麻疹の検査診断についての厚労省通知が平成22年11月11日に発出され、流行株の解析がさらに進み、全国の自治体、地方衛生研究所、感染研、ならびに本班の活動の連携のもとで、現在わが国で発生する麻疹患者のほとんどが外国の株による輸入症例であることを明らかにした。本班では本年度も、実験室診断の活動を継続し、また、強化することにより、麻疹届出全症例の約25%の症例においてウイルス遺伝子のデータを収集し、すでに土着の株によるウイルスの流行が遮断された状態であることを示唆する結果を得た。また、多くの麻疹疑い症例に対して実験室検査を実施することにより、麻疹と届出されている症例の中にも他の多くの発疹性疾患がまぎれこんでいる可能性を明らかにした。以上の結果を検討して、本研究班では、WHO が求める排除証明のための判断基準には、さらなる検査診断の強化が必要ではあるが、わが国が実質的な麻疹排除状態に至ったと判断して妥当であると結論した。2013年4月1日には、「特定指針」の一部改正が行われるが、ほとんどの自治体あるいは地研で麻疹検査体制が構築されている。今後も麻疹排除に向けて、地研、保健所、そして医療機関の連携を一層強化することが重要である。今後の重点課題は、現在の高いワクチン接種率の維持、検査診断体制の維持、ならびにWHO が求める排除証明のための判断基準に合致するサーベイランス体制の樹立である。

A. 研究目的

麻疹は、世界中で市中で流行が見られる感染症としては、現在、最も致死率の高い感染症である。先進国としては、わが国の対策は遅れていたが、平成 19 年(2007 年)12 月「麻しんに関する特定感染症予防指針」(以下、特定指針)が告示され、平成 24 年度までに国内から麻しんを排除し、その後排除状態を維持するという目標が出された。(2006 年から実施の始まった)2 回接種に加えて、2008 年からの 5 年間は、10 代を対象とした第 3 期、第 4 期接種が実施されることになり、また、麻疹症例数は定点把握から、全数把握へと強化された。平成 22 年(2010 年)11 月に、麻しん疑いの患者の検体を可能な限り確保し、RT-PCR 法による麻疹診断を推進するように「麻しんの検査診断について」の通知が出され、全国の地方衛生研究所(以下、地研)にて、より一層の検査診断が推進されるようになった。本研究は、「麻疹排除」という目標達成に必要な調査研究、基礎研究等を通じて、わが国からの麻疹排除の達成を促進、そして実現させることを目的としている。

B. 研究方法

(1)麻疹ウイルスの遺伝子解析(遺伝子型解析)を通じた流行調査研究

平成 22 年(2010 年)11 月の「麻しんの検査診断について」の通知に記載されているように、各自治体に、保健所や地研と連携して、麻しん患者の、発症早期の検体(咽頭拭い液、血液、尿)を可能な限り確保し、RT-PCR 法を用いた遺伝子検査を実施するよう依頼する。国立感染症研究所(以下、感染研)が、RT-PCR 法検査に必要な試験プロトコール、陽性コントロール、必要に応じて試験キットを用意して、各地研や全国

の 10 カ所の麻疹風疹レファレンスセンター(以下、レファレンスセンター)へ配布する。10 カ所のレファレンスセンターは、それぞれの地域のデータを取りまとめ、実験結果の評価や解析を実施する。RT-PCR 法は、麻疹ウイルスの検出(診断)のみを行うのではなく、麻疹ウイルスが検出された場合には、遺伝子型解析のために必要な領域の塩基配列を決定し、わが国ならびに世界の流行株との比較解析を行うことによって、流行経路を解明することに努める。感染研では、遺伝子型解析のためのプロトコールを準備するとともに、世界の流行株についての情報収集に努め、それらの情報をレファレンスセンター、分担研究者、ならびにその他の地研の担当者と共に共有するように努める。また、レファレンスセンターと感染研は、必要に応じてその他の地研への技術支援や試験法の精度管理を実施する。ウイルスの遺伝子型解析だけで、流行経路を把握することは困難であるので、各自治体との連携を強化して、疫学情報の収集に努める。

(2)診断技術ならびに診断精度向上のための研究

麻疹排除の達成のためには、偽陽性や偽陰性率の非常に低い検査診断技術を確立するとともに、全国の地研において、同等の精度にて試験が実施できる体制を作ることが必要である。現在、実施している nested RT-PCR 法の改良を行うとともに、リアルタイム PCR 法を用いたより簡便かつ診断ミスの起こりにくい試験法を開発を目指す。また、血清診断法(麻疹 IgM ELISA)とウイルス検出法の偽陽性や偽陰性率の比較解析を行い、感染時期による適切な診断法を明らかにする。また、市販されている IgM 検出キット(麻疹 IgM ELISA)の性能比較を行うとともに、

その結果をもとに、わが国の現状に合った実験室診断法を確立する。レファレンスセンターでは、IgM ELISA 法と RT-PCR 法との比較解析を実施し、実験結果を総合的に判断するためのデータを収集する。感染研は、WHO とも連携して、レファレンスセンターで実施される IgM ELISA 法の精度管理を担当し、世界のデータとの比較を行うとともに、WHO への情報提供を担当する。

(3) 流行ルートの効果的な把握法の開発研究

全国で検出・分離された麻疹ウイルスの H 遺伝子や N 遺伝子の網羅解析を行い、流行に関連したウイルスの塩基及びアミノ酸変異を明らかにして、感染拡大経路を把握するとともに、麻疹の流行抑制対策の策定に役立てる。

(4) 麻疹ウイルスの分離法の研究や病態解明に関する研究

麻疹ウイルス分離用細胞(Vero/hSLAM 細胞)の改良や、麻疹ウイルスの受容体との相互作用を、マイクロアレイ、蛋白質化学、発現クローニング、動物実験などを駆使して明らかにすることを通じて、ウイルス分離技術の向上や病態解明に役立て、流行株の性質調査に利用する。

(5) 抗原性変化の追跡調査、及びワクチン効果を維持するための研究。

ワクチンが効果を持つことは、ウイルス側の抗原性に変化が起こらないということが前提であり、世界的な麻疹排除(ひいては根絶)の実現性を考える上では、麻疹ウイルスの抗原性決定の分子基盤、単一血清型の分子基盤を解明しておく必要がある。具体的には、麻疹ウイルスの抗原性を決める主要ウイルス抗原は H タンパク質

であり、H タンパク質に対する7種のモノクローナル抗体とHタンパク質を組換えた異なる20数種の組換え麻疹ウイルス(感染を定量するためルシフェラーゼを発現する)、ならびに異なる麻疹ウイルス受容体(SLAM、ネクチン4)をもつ細胞株2種を用いた詳細な中和解析、ならびにウイルスの表現型や生化学的解析、加えて構造生物学的検討を実施して、上記課題の解明を目指す。

C. 研究結果

(1) 平成 22 年(2010 年)11 月の「麻しんの検査診断について」の通知以降、地研に送られる臨床検体数が、増加し、平成 23 年度に引き続き、平成 24 年度も、実験室診断が精力的に実施されていることが明らかになった。

(2) 麻疹患者報告数は、2008 年に 11,015 例あった報告数が、2009 年には 93%減の 741 例、2010 年は 457 例、2011 年は 434 例、2012 年は 293 例と確実に減少していることが明らかになった。また、一部の地域では、すでに麻疹の発生がみられないことが明らかになった。

(3) 輸入症例やワクチンの副反応例を RT-PCR 検査にて的確に捉えることができ、平成 23 年度に引き続き、平成 24 年度においても、わが国で検出される麻疹ウイルスが、ほとんど外国からの輸入株であることが明らかになった。各遺伝子型のウイルス毎に、月毎、都道府県毎の表を作成して解析することにより、同じ株の流行がもはやわが国では持続していない(すなわち排除状態である)状況が強く示唆された。

(4) 2010 年以降の 1,162 名の患者のうち、2 名

以上の流行(全部で 16 回)の患者数の分布、流行期間の分布から、Gay ら(JID, 2004)の手法を用いて基本再生産数(R0)を推定した。その結果、R0 値は、信頼区間を考慮しても 1 未満(0.7365 [0.6836, 0.7894])であり、麻疹の伝播は持続しない状況(排除状態)であることが示唆された。

(5)臨床診断された麻疹症例の中に、多くの風疹症例の紛れ込みがあることが示された。また、多くの麻疹疑い症例に対して実験室検査を実施することにより、麻疹と届けられている症例の中にも他の発疹性疾患が多くまぎれこんでいる可能性が明らかになった。

(6)2013 年 4 月 1 日には、「特定指針」の一部改正が行われるが、ほとんどの自治体あるいは地研で麻疹検査体制が構築されており、一部の機関では、指針の改正をもとに前向きに検討されていることが明らかになった。今後も麻疹排除に向けて、地研、保健所、そして医療機関の連携を一層強化することが重要である。

以下に、各研究分担者、研究協力者の結果報告の要点を示す。

(1)2010 年以降に検出されたウイルスの遺伝子情報を用いて、N 遺伝子 450 塩基の配列の解析で、同一遺伝子型内のウイルスの鑑別が可能なのかを検討した。その結果、異なる場所からの輸入ウイルスでも 450 塩基の解析だけでは鑑別ができないことがあることが明らかになった。今後もウイルスの鑑別が困難な場合も予想されることから、より丁寧な疫学調査の実施や、より詳細なウイルス

の解析を可能にするウイルス分離が重要と考えられた。

(2)2012 年において本研究班で把握された、地研で実施された PCR による検査症例数は、1835 症例であった(一部の地研の情報は含まれていない)。2009 年の検査症例数は 232 症例であったことから 3 年間で 5 倍以上増加したことになる。また 50~65%の症例では、咽頭拭い液、尿、血液の 3 検体(3 点セット)がそろって搬入された。

(3)1835 症例のうち、RT-PCR で麻疹ゲノムが検出された症例は 85 症例(遺伝子型 A、未確定を含む)であった。愛知県、岐阜県(D8 型)、千葉県(D8 型)、岡山県(D9 型)、福島県(H1 型)、宮崎県(D8 型)において海外から持ち込まれた麻疹ウイルスが原因と考えられるアウトブレイクがあった。その他の検出例の多くは弧発例であった。

(4)麻疹 PCR 陰性例から、風疹ウイルス、パルボウイルス B19、HHPV6、HHPV7、E 型肝炎ウイルス、B 型インフルエンザウイルス、EB ウイルス、コックスサッキーウイルス9型、サイトメガロウイルス、パラインフルエンザウイルス、エンテロウイルス 71 型ライノウイルス、アデノウイルス 3 型、ヒトパレコウイルス 1 型等が検出された。これらの診断は麻疹症例の否定に有用であった。

(5)風疹の流行に伴い、麻疹疑い例の検体から風疹ウイルスゲノムが検出された例が多く報告された。検出された風疹ウイルスの遺伝子型は 2B, 1E, 1j であった。風疹も麻疹と同様、WHO が排除・根絶を目指す疾患である。麻疹

陰性例を対象に風疹の検査を実施するのは有効であると考えられた。

(6) 麻疹と同時に実施可能な風疹の遺伝子検査法を検討し、従来法と同等以上の感度をもつ改良法を確立した。この方法は各遺伝子型標準株の NS 遺伝子を従来法と同等に検出し、また近年の臨床検体からは従来法より高率に遺伝子型決定部位を増幅した。

(7) 風疹においては、発症直後の咽頭拭い液、尿、血液検体からは高頻度に風疹ウイルスゲノムが検出されるが、検体採取時期がおくると血液からの検出率は下がる傾向にあった。

(8) 沖縄県においては 2010～2012 年の 3 年間、“麻疹報告数ゼロ”を維持し、また麻疹サーベイランス体制も WHO の示す 4 つの指標を満たしていることから、麻疹排除状態にあると判断した。

(9) 新生児の麻疹・風疹の移行抗体は母体の 1.5 倍に濃縮され、ともに 90%以上が抗体陽性であったが、抗体の半減期(1.5 ヶ月)から生後 6 ヶ月では、麻疹では 87%、風疹では 88%が抗体陰性になると推定され、麻疹・風疹流行時には 6 ヶ月からの MR ワクチン接種が必要と考えられた。また MR ワクチン 4 期接種対象者の抗体価を測定したところ、接種回数とともに抗体陽転者率が増加し、4 期接種は麻疹、風疹ともに流行抑制に効果的な対策であったことが示された。

(10) 2013 年 4 月 1 日には、「特定指針」の一部改正が行われる。この改正が適用されるに辺り、

「地研における麻しん検査体制に関する実態調査」として、現状と改正適用後の対応についてアンケートを実施した。その結果、ほとんどの自治体あるいは地研で麻しん検査体制が構築されており、一部の機関では、指針の改正をもとに前向きに検討する内容であった。これより、指針の一部改正により、各自治体及び各地研の麻しん検査体制の強化あるいは見直しの機会を得られたと示唆される。届出患者 1 例 1 例については地研での確実な遺伝子検査診断を行うためには、今後も麻疹排除に向けて、地研、保健所、そして医療機関の連携を一層強化することが重要である。

(11) 山口県における麻疹の排除状況を検証し、また、WHO の排除基準に我が国として如何に答えるかについて考察した。山口県における検査否定例数は、WHO の基準を満たすに至っていない。しかし、日本においては、医療機関と民間検査機関による膨大な基盤的サーベイランスが機能していると考えられ、また、地方衛生研究所による全数に近い遺伝子検査が行われることとなり、麻疹疑い患者の検査が行われないケースは極めて考えにくい。「WHO の認める熟練した実験室での検査」については、感染研は WHO の精度管理を受けており、地研が感染研の精度管理下にあると考えればこの事はクリアされそうである。しかし、当面、麻疹・風疹レファレンスセンターによるブロックごとの PCR の精度管理を行う必要がある。予防接種に関しては、人口密度が高くなく、通勤、移動手段が自家用車である事から山口県における感染伝搬の危険は他地域よりも低い可能性もあるが、安全を見込んで 95%以上の接種率を達成、維持することを目標とすべきであろう。

(12) 風疹遺伝子検査の整備を目的に、風疹ウイルス検出 RT-PCR 法および遺伝子型決定用 RT-PCR 法について、使用する試薬および参照 RNA の至適濃度の検討を行った。その結果、これらの RT-PCR において、麻疹検査マニュアル記載の試薬を使用した方法が高感度検出に適していることが明らかとなった。また、参照 RNA は 1000 コピー/5 μ L で使用するのが適当であることが示された。加えて既報の風疹ウイルス遺伝子検出 Real-time RT-PCR について、すべての遺伝子型の参照ウイルス株を検出可能であることを明らかにした。

(13) 受容体に結合後、F 蛋白質の構造変化を誘導して膜融合を起こすためには、麻疹ウイルス H 蛋白質 4 量体の配向変化が重要であることが、H 蛋白質 4 量体を形成する 2 量体同士の界面に変異を導入する実験から示唆された。また、麻疹の病態に関して、麻疹ウイルス F 蛋白質の変異により融合能が亢進すると、SLAM や nectin 4 のような特異的な受容体がなくても F 蛋白質が活性化され、細胞融合を起こしてウイルスが伝播しうることが示された。

(14) 麻疹ウイルス H 蛋白質と SLAM との複合体の結晶構造解析に成功し、効果的な中和抗体産生に H 蛋白質に付加される糖鎖が重要であるモデルを提唱した。最近発表された H 蛋白質と Nectin4 受容体との複合体の結晶構造も、そのモデルをサポートするものであった。麻疹ウイルスの近縁にあたるイヌジステンパーウイルス(CDV) が近年サルに感染することが報告されている。昨年度取り組んだ複数種の SLAM 分子に対する結合活性評価から発展させ、今年

度は、Nectin4 に着目し、MV-H および CDV-H に対して SLAM と同様に結合活性評価系を確立し、その結果を基に感染宿主拡大の可能性について考察した。

(15) 麻疹ウイルスの詳細な分子疫学解析を行うため、Bayesian Markov Chain Monte Carlo method (MCMC 法)による D3, D5, D9, H1 遺伝子型の H 遺伝子に関する時系列系統解析を行った。また、H 遺伝子の変異が中和抗体のエピトープに反映するか否かに関する解析も行った。さらに、positive pressure 解析も行った。その結果、アジアで主流を引き起こす MeV の各遺伝子型は約 50 年間の進化過程を経ており、また H 遺伝子の保存性は極めて高いことが示唆された。

(16) 麻疹ウイルスの主要表面抗原 H タンパク質に対する 7 種のモノクローナル抗体と H タンパク質を組換えた異なる 20 数種の組換え麻疹ウイルス、ならびに異なる麻疹ウイルス受容体 (SLAM、ネクチン 4) をもつ細胞株 2 種を用いた詳細な中和解析、ならびにウイルスの表現型や生化学的解析、加えて構造生物学的検討を行った。その結果、H タンパク質上に少なくとも 7 種の抗原 (中和) エピトープが存在することが示された。そのうちの保存エピトープの構造を変化させると麻疹ウイルスは、受容体が使えなくなる、あるいは増殖能力が低下するなどの障害が発生し、エピトープ変異が非常に困難なウイルスであることが示された。以上の結果から、麻疹ウイルスワクチンは、今後も全ての株に対して高い中和能を維持できるであろうことが科学的に示された。

D. 考察 ならびに E. 結論

わが国においても麻疹対策が強化され、2008年以降、順調に患者数が減少した。2012年は、年間わずか293例の報告しかなかった。しかも、平成23年度に引き続き、平成24年度においても、わが国で検出される麻疹ウイルスが、ほとんど外国からの輸入株であることが明らかになった。各遺伝子型のウイルス毎に、月毎、都道府県毎の表を作成し、解析することにより、同じ株の流行がもはやわが国では持続していない(すなわち排除状態である)状況が強く示唆され、加えて推定した基本再生産数(R0)は、信頼区間を考慮しても1未満(0.7365 [0.6836, 0.7894])であり、麻疹の伝播は持続しない状況(排除状態)であることが示唆された。さらに、麻疹と届出されている症例の中にも他の多くの発疹性疾患がまぎれこんでいる可能性が明らかになった。これらのデータは全て、わが国が、麻疹排除状態(土着の株によるウイルス伝播のない状態)に至ったことを示唆している。ただ、実際に「土着の株によるウイルス伝播のない」ことを証明するためには、麻疹症例のほぼ全例からウイルス株を検出し、遺伝子型の解析を行うか、あるいは、麻疹症例の全例について疫学情報を的確に収集し、流行経路を解明する必要があり、WHOもそれを求めている。しかしながら、以上の結果を十分に検討した上で、本研究班では、WHOが求める排除証明のための判断基準には、さらなる検査診断の強化が必要ではあるものの、わが国が実質的な麻疹排除状態に至ったと判断して妥当であると結論した。

本研究班は、麻疹に関する「特定指針」(平成19年12月)が掲げた目標(平成24年度までに国内から麻疹を排除し、その後排除状態を維持する)を達成のための克服すべき課題を

見つけ出し、主には実験室診断を担う側の立場の視点から、問題点の解決を図ることにあった。研究班活動を通じて、わが国が実質的な排除状態に至ったことを示唆する結果を示せたことの意義は非常に大きいと考えている。麻疹に関する「特定指針」は改正され、改正指針が平成25年4月1日から施行される。その改正案では、2015年度までに麻疹排除を達成し、WHOの認定を受けることを目標としている。そのためには、今後も継続して現在の高いワクチン接種率を維持し、WHOが求める排除証明のための判断基準に合致する(80%以上の麻疹症例においてウイルス遺伝子検査が可能な)サーベイランス体制を樹立し、実行しなければならない(平成24年の検査率は約25%である)。本活動については、本研究班の活動を引き継いだ来年度以降の新規課題の最重要項目のひとつとして掲げ、わが国の麻疹排除WHO認定に貢献したいと考えている。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

1. Yoko Aoki, Akiko Abe, Tatsuya Ikeda, Chieko Abiko, Katsumi Mizuta, Ichiro Yamaguchi, and Tadayuki Ahiko : An OutBreak of Exanthematous Disease Due to Coxsackievirus A9 in a Nursery in Yamagata, Japan, from February to March 2012, *Jpn. J. Infect. Dis.* , 65, 367-369, 2012
2. Arakawa M, Okamoto-Nakagawa R, Toda S, Tsukagoshi H, Kobayashi M, Ryo A,

- Mizuta K, Hasegawa S, Hirano R, Wakiguchi H, Kudo K, Tanaka R, Morita Y, Noda M, Kozawa K, Ichiyama T, Shirabe K, Kimura H. Molecular epidemiological study of human rhinovirus species ABCs from patients with acute respiratory illnesses in Japan. *J Med Microbiol*. 2011 in press
3. Brindley MA, Takeda M, Plattet P, Plemper R. (2012) Triggering the measles virus membrane fusion machinery. *Proc Natl Acad Sci USA*. 109:E3018-27.
 4. Hasegawa S, Hirano R, Okamoto-Nakagawa R, Ichiyama T, Shirabe K. Enterovirus 68 infection in children with asthma attacks: Virus-induced asthma in Japanese children. *Allergy* 2011; 66(12) 1618-1620
 5. Hasegawa S, Matsushige T, Inoue H, Shirabe K, Fukano R, Ichiyama T. Serum and cerebrospinal fluid cytokine profile of patients with 2009 pandemic H1N1 influenza virus-associated encephalopathy. *Cytokine*. 2011 ;54(2):167-72.
 6. Hasegawa S, Hirano R, Hashimoto K, Haneda Y, Shirabe K, Ichiyama T. Characteristics of atopic children with pandemic H1N1 influenza viral infection: pandemic H1N1 influenza reveals 'occult' asthma of childhood. *Pediatr Allergy Immunol*. 2011 ;22, 119-23.
 7. Hashiguchi T, Ose T, Kubota M, Maita N, Kamishikiro J, Maenaka K, Yanagi Y. Crystallization Strategy for the Glycoprotein-receptor Complex Between Measles Virus Hemagglutinin and its Cellular Receptor SLAM. *Protein & Peptide Letters* 19:468-473, 2012
 8. Maenaka K, Hashiguchi T, Yanagi Y. Structural basis for measles virus-receptor recognition and its functional implications for viral entry and vaccination. *Nihon Rinsho*. 2012 Apr;70(4):695-703.
 9. Mitsuki YY, Terahara K, Shibusawa K, Yamamoto T, Tsuchiya T, Mizukoshi F, Ishige M, Okada S, Kobayashi K, Morikawa Y, Nakayama T, Takeda M, Yanagi Y, Tsunetsugu-Yokota Y. (2012) HIV-1 Infection Ex Vivo Accelerates Measles Virus Infection by Upregulating Signaling Lymphocytic Activation Molecule (SLAM) in CD4+ T Cells. *J Virol*. 86. 7227-34.
 10. Miyoshi M, Komagome R, Nagano H, (他 12 名), Okano M. An isolated incidence of rubella outbreak at a workplace in Hokkaido, Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 65(1): 94-97, 2012.
 11. Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Iwasaki M, Yanagi Y, Komase K, Takeda M. Intracellular transport of the measles virus RNP complex is mediated by Rab11A-positive recycling endosomes and drives virus release from the apical membrane of polarized epithelial cells. *J Virol*. 2013 Feb 13. [Epub ahead of print]
 12. Nakayama T, Sawada A, Kubo H, Kaida A, Tanaka T, Shigemoto N, Komase K, Takeda M. Simple method to differentiate measles vaccine from wild-type strains

- using loop – mediated isothermal amplification (LAMP). *Microbiol Immunol* (2013) Jan 22 [Epub ahead of print]
13. Ohkura T, Kikuchi Y, Kono N, Itamura S, Komase K, Momose F, Morikawa Y. Epitope mapping of neutralizing monoclonal antibody in avian influenza A H5N1 virus hemagglutinin. *Biochem Biophys Res Commun.* 3; 418(1): 38–43, 2012
 14. Otsuki N, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kubota T, Nakatsu Y, Chen S, Fukuhara H, Maenaka K, Yamaguchi R, Kuroda M, Takeda M. (2013) Canine Distemper Virus with the Intact C Protein Has the Potential to Replicate in Human Epithelial Cells by Using Human Nectin4 as a Receptor. *Virology.* 435:485–92.
 15. Pratakipriya W, Seki F, Otsuki N, Sakai K, Fukuhara H, Katamoto H, Hirai T, Maenaka K, Techangamsuwan S, Lan NT, Takeda M, Yamaguchi R. (2012) Nectin4 is an epithelial cell receptor for canine distemper virus and involved in the neurovirulence. *J Virol.* 86. 10207–10.
 16. Saitoh M, Takeda M, Gotoh K, Takeuchi F, Sekizuka T, Kuroda M, Mizuta K, Ryo A, Tanaka R, Ishii H, Takada H, Kozawa K, Yoshida A, Noda M, Okabe N, Kimura H. (2012) Molecular evolution of hemagglutinin (H) gene in measles virus genotypes D3, D5, D9, and H1. *PLoS One.* 7:e50660.
 17. Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzaki Y, Iwata–Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T, Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M, Morikawa S. (2013) Lethal Canine Distemper Virus Outbreak in Cynomolgus Monkeys in Japan in 2008. *J. Virol.* 87:1105–14.
 18. Shirogane Y, Watanabe S, Yanagi Y. Cooperation between different RNA virus genomes produces a new phenotype. *Nature Communications* 3:1235, 2012
 19. Tahara M, Ito Y, Brindley M, Ma X, He J, Xu S, Fukuhara H, Sakai K, Komase K, Rota P, Plemper R, Maenaka K, Takeda M. (2013) Functional and structural characterization of neutralizing epitopes of measles virus hemagglutinin protein. *J. Virol.* 87:666–75.
 20. Tahara M, Ohno S, Sakai K, Ito Y, Fukuhara H, Komase K, Brindley MA, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, Takeda M. The Receptor–binding Site of the Measles Virus Hemagglutinin Protein Itself Constitutes a Conserved Neutralizing Epitope. *J Virol.* 2013 Jan 2. [Epub ahead of print]
 21. Tran DN, Pham NT, Tran TT, Khamrin P, Thongprachum A, Komase K, Hayakawa Y, Mizuguchi M, Ushijima H. Phylogenetic analysis of rubella viruses in Viet Nam during 2009–2010. *J Med Virol.* 84(4):705–10, 2012
 22. Watanabe K, Watanabe K, Tazawa T, Kon M, Tamara T, Komase K. Imported cases of measles in Niigata, Japan in 2011. *Jpn J*

- Infect Dis. 65(3) 268-70,2012
23. Watanabe S, Shirogane Y, Suzuki SO, Ikegame S, Koga R, Yanagi Y. Mutant fusion proteins with enhanced fusion activity promote measles virus spread in both human neuronal cells and brains of suckling hamsters. *Journal of Virology* (in press)
 24. 駒瀬勝啓、竹田誠、(2012) ヨーロッパの麻疹の状況と今後の日本の課題、病原微生物検出情報、33、29-30。
 25. 駒瀬勝啓、竹田誠 (2012) ウイルス感染症検査診断の新しい展開、麻疹、風疹、ムンプスの検査診断の現状、臨床と微生物、39、656-62。
 26. 駒瀬勝啓 Q&A 麻疹検査診断法 日本医事新報 2012 4605: 57-59.
 27. 駒瀬勝啓 麻疹ワクチン、風疹ワクチンの品質管理 臨床とウイルス 2012 40(5):334-341.
 28. 關文緒、竹田誠 (2012)、麻疹のウイルス型、日本医事新報、4613、58-59
 29. 關文緒、竹田誠 (2013) モルビリウイルス：麻疹ウイルス、イヌジステンパーウイルスなど、ウイルス、(印刷中)。
 30. 長野秀樹、岡野素彦. ウイルス抗体検査：目的、方法、検査の解釈. *小児科*. 53(9): 1225-1231, 2012.
 31. 安井善宏、小林慎一、山下照夫、平松礼司、皆川洋子、森嘉生:麻疹疑い症例からの風疹ウイルス検出と遺伝子型解析—愛知県、病原微生物検出情報 33(6):167-168, 2012.
 32. 内野清子、岡山文香、三好龍也、西口智子、吉田永祥、田中智之、沼田富三、麻しん疑い症例検体から分離された風疹ウイルス— 堺市 -, *IASR* 32, 257-258, 2011
 33. 庵原俊昭:麻疹ウイルス. 日本小児感染症学会編、小児感染症マニュアル2012. 東京医学社、東京、283-295、201
 34. 庵原俊昭:ウイルス感染症の診断. 臨床と微生物39:649-655, 2012
 35. 浅田和豊、一見良司、大矢和伸、谷田寿志、田中孝明、菅 秀、庵原俊昭:フィリピンからの輸入麻疹患者の発生と臨床ウイルス学的考察. *日本小児科学会雑誌* 116:78-83, 2012
- ## 2.学会発表
1. Abe M, Kato A, Sakai K, Kanou K, Mizuta K, Shirato K, Matsuyama S, Takeda M. (2012 July 21-25. Madison, WI, USA) Proteolytic activation of the fusion protein of human and murine parainfluenza viruses by the type II transmembrane serine protease Tmprss2. 31st Annual Meeting for American Society for Virology.
 2. Abe M, Kato A, Tahara M, Sakai K, Kanou K, Shirato K, Noda M, Kimura H, Ami Y, Matsuyama S, Mizuta K, Takeda M. (2012 September 11-14. Awaji Island, Hyogo, Japan) Importance of the P3 glutamine residue for proteolytic activation of the fusion protein of parainfluenza viruses by Tmprss2. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity.
 3. Esumi M, Nakajima S, Yamaguchi H, Tai Y, Takeda M, Wakita T. (2012 October 5-9. Venice, Italy) Cell surface serine protease is involved in the hepatitis C virus

- infection. 19th International Symposium on Hepatitis C virus and Related Viruses.
4. Khamla Lerdsaway, K. Thammavongsa, P. Ounnaphone, B. Khamphaphongphanh, V. Somoulay, P. Vongphrachanh, K. Komase, K. Yamamoto, S. Archkhawong, P. Ketmayoon, M. Phengxay, T. Chanthapaseuth, K. Feldon, J. Denny, H. Lewis, Rubella Susceptibility Study among Women of Child-bearing Age – Vientiane Capital, Lao PDR, 2010, 15th International Congress on Infectious Diseases, Bangkok, 2012年6月13日～16日
 5. Mori Y, Sakata M, Okamoto K, Otsuki N, Takeda M. (2012 October 16–19. Sapporo, Hokkaido) Rubella virus undergoes genome synthesis at the plasma membrane with induction of filopodia. The 34th Naito Conference: Infection, Immunity and their Control for Health: Mucosal Barrier, Pathogen and Vaccine. Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Iwasaki M, Yanagi Y, Komase K, Takeda M. (2012 July 21–25. Madison, WI, USA) Measles virus utilizes the cellular microtubule network and specific endosomes for transport of the RNP complex, matrix protein and H glycoprotein. 31st Annual Meeting for American Society for Virology.
 6. Otsuki N, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kubota T, Nakatsu N, Chen S, Fukuhara H, Maenaka K, Yamaguchi R, Kuroda M, Takeda M. (2012 September 11–14. Awaji Island, Hyogo, Japan) Canine distemper virus possesses an ability to use human nectin4 as a receptor. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity.
 7. Kouji Sakai, Fumio Seki, Maino Tahara, Noriyuki Otsuki, Yasushi Ami, Masayuki Saijo, Ryoji Yamaguchi, Katsuhiko Komase, Makoto Takeda and Shigeru Morikawa, Canine distemper virus intrinsically uses monkey receptors and readily adapts to use human receptors as well, 15th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) Singapore 2013年3月11日～13日
 8. Sakata M, Okamoto K, Otsuki N, Anraku M, Takeda M, Mori Y. (2012 September 11–14. Awaji Island, Hyogo, Japan) N-terminal hydrophobic amino acid residues of the capsid protein are critical for the co-localization with the p150 protein and production of rubella virus. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity.
 9. Tahara M, Miura Y, Kurita R, Ryo A, Tani K, Takeda M. (2012 June 13–16. Yokohama, Japan) Generation of a novel non-transmissible and cytosol-replicating RNA virus vector that encodes five iPS cell-inducing genes and a reporter gene. International Society for Stem Cell Research (ISSCR) 11th Annual Meeting.
 10. Tahara M, Miura Y, Kurita R, Ryo A, Tani K, Takeda M. (2012 July 21–25. Madison, WI, USA) A novel non-transmissible measles virus vector with five iPS cell-inducing genes and a reporter gene.

- 31st Annual Meeting for American Society for Virology.
11. Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma XM, He JL, Xu ST, Fukuhara H, Sakai K, Ohno S, Komase K, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, Takeda M. (2012 September 11-14. Awaji Island, Hyogo, Japan) A structural and biochemical basis for the single serotype nature of measles virus. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity.
 12. Takeda M, Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Fukuhara H, Komase K, Yanagi Y, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K. (2012 October 16-19. Sapporo, Hokkaido) Structural and Functional Constraints on the Measles Virus Hemagglutinin Protein Prevent Escape from Neutralization. The 34th Naito Conference: Infection, Immunity and their Control for Health: Mucosal Barrier, Pathogen and Vaccine.
 13. Takeda M. The virological, biochemical, and structural evidence for sustainability of the single serotype nature of measles virus. Osong, Korea, 2012 September 25-26. 2nd Osong Symposium on Infectious Diseases (OSID2012).
 14. 竹田誠、麻疹の流行状況について、ウイルス学的側面、メディア情報交換会、国立感染症研究所戸山庁舎、2012年2月27日
 15. 竹田誠、麻疹制圧、麻疹ウイルス研究の今、第5回小児感染症専門医育成フォーラム 都市センターホテル(東京)、2012年7月28日
 16. 竹田誠、麻疹対策の現状と課題(日本)、中華人民共和国「国家級公衆衛生政策計画管理プロジェクト」予防接種事業セミナー、北京、中国、2012年8月15-16日
 17. 竹田誠、わが国の麻疹風疹対策-麻疹風疹検査診断と注意点:世界の麻疹風疹事情と日本の取り組み、栃木県小児科医会、小山地区医師会講演会、栃木県小山市、2013年2月19日
 18. 竹田誠、麻疹の国内、世界最新事情:流行、ワクチン、研究、第33回広島小児アレルギー研究会、広島市、2013年2月21日
 19. 駒瀬 勝啓、高崎智彦、竹田誠 デング熱患者における麻疹IgM抗体の検出、第86回日本感染症学会学術講演会 長崎 2012年4月24日~25日
 20. 駒瀬勝啓、秋吉京子、伊藤正寛、麻疹IgM抗体価測定による麻疹検査診断-偽陽性と感度の関係-、第53回日本臨床ウイルス学会、堺 2012年6月16日~17日
 21. 駒瀬勝啓、麻疹、風疹ウイルスと検査診断について、第26回公衆衛生情報研究協議会、研究会 沖縄 2013年1月24日~25日
 22. 駒瀬勝啓、麻疹の疫学、実験室検査診断、衛生微生物技術協議会第33回研究会 横浜 2012年6月28日~29日
 23. 駒瀬勝啓、麻疹、風疹発生状況、ウイルス検査の概要と精度管理、平成24年度地方衛生研究所東海、北陸ブロック微生物部門専門家会議 名古屋 2012年10月18日~19日
 24. 田原 舞乃、Melinda A. Brindley、福原秀雄、酒井 宏治、大野 真治、駒瀬 勝

- 啓、Paul A. Rota、Richard K. Plumper、前仲 勝実、竹田 誠、麻疹ウイルス単一血清型決定の分子基盤：第60回ウイルス学会学会学術集会 大阪、2012年11月13日～15日
25. 田原舞乃、駒瀬勝啓、竹田誠、麻疹ウイルス H 蛋白質全エピトープの詳細な解析、第16回日本ワクチン学会学術集会 横浜 2012年11月17日～18日
26. 酒井宏治、關文緒、網康至、田原舞乃、中津祐一郎、大槻紀之、福原英雄、福士秀悦、吉川智城、西條政幸、森川茂、前仲勝美、山口良二、駒瀬勝啓、竹田誠、カイクイザルで致死感染症を起こしたジステンパーウイルスのサルレセプターの効率的な利用：ジステンパーウイルスはヒトへの脅威となり得るのか？ 第60回日本獣医学会 岩手 2012年9月14日～16日
27. 酒井宏治、關文緒、網康至、田原舞乃、大槻紀之、福原秀雄、西條政幸、森川茂、前仲勝実、山口良二、駒瀬勝啓、竹田誠、犬ジステンパーウイルスの霊長類レセプターの利用について。2nd Negative strand virus-Japan symposium、沖縄、2013年1月
28. 酒井 宏治、關 文緒、網 康至、田原舞乃、中津 祐一郎、大槻 紀之、福原秀雄、福士 秀悦、吉河 智城、西條 政幸、森川 茂、前仲 勝実、山口 良二、駒瀬 勝啓、竹田 誠、カイクイザルで致死感染症を起こしたジステンパーウイルスのサルレセプターの効率的な利用：ジステンパーウイルスはヒトへの脅威となり得るのか？：第60回ウイルス学会学術集会 大阪、2012年11月13日～15日
29. 中津 祐一郎、鈴木 忠樹、駒瀬 勝啓、竹田 誠、極性上皮細胞におけるリサイクリングエンドソーム経路を利用した麻疹ウイルスRNP複合体の細胞膜への輸送と感染性ウイルス粒子の産生：第60回ウイルス学会学術集会 大阪、2012年11月13日～15日
30. 安部昌子、田原舞乃、酒井宏治、加納和彦、白戸憲也、野田雅博、木村博一、松山州徳、水田克巳、網康至、加藤篤、竹田誠、呼吸器感染症ウイルス増殖におけるTMPRSS2の役割ならびに膜融合タンパク P3 位保存グルタミンの重要性について。2nd Negative strand virus-Japan symposium、沖縄、2013年1月
31. 中山哲夫、改田厚、駒瀬勝啓、麻疹ウイルス野生流行株とワクチン株との鑑別、第53回日本臨床ウイルス学会、堺 2012年6月16日～17日
32. 渡辺正博、駒瀬勝啓、庵原俊昭：点状出血で発症したパルボウイルス感染症の臨床とウイルス学的検討～麻疹 IgM 抗体との交叉反応について～、第53回日本臨床ウイルス学会、堺 2012年6月16日～17日
33. 内野清子、三好龍也、田中智之、麻疹疑い症例から検出された風疹、ウイルス検出状況、第53回日本臨床ウイルス学会 大阪(堺市)、2012
34. 内野清子、三好龍也、森 嘉生、駒瀬勝啓、田中智之、いわゆる臨床三点セットを用いた風疹ウイルス検出状況、第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012
35. 児玉洋江：北陸地区麻疹・風疹レファレン