

## 麻しん疑い症例からの発疹性ウイルスの検出状況

坂本 美砂子、西川 和佳子

(環境保健研究所 健康科学課)

**要旨** 2015～2017年に麻しん疑い症例として163症例443検体の遺伝子検査を実施し、そのうち1症例から麻疹ウイルス（ワクチン由来株）が検出された。一方、麻疹ウイルスが検出されなかった症例のうち、28症例から発疹性ウイルス（風疹ウイルス、ヒトパルボウイルスB19、エンテロウイルス、ヒトヘルペスウイルス6型、ヒトヘルペスウイルス7型）が検出された。このことから、麻疹ウイルス以外の発疹性ウイルスの紛れ込みを除外できる麻疹ウイルスの遺伝子検査が、麻しんの確定診断に重要であることを再認識した。

**Key Words** : 麻しん, 遺伝子検査

### 1. はじめに

麻しんは、麻疹ウイルス（MV）による発熱、発疹、カタル症状を伴う急性呼吸器感染症である。厚生労働省は麻しんに関する「特定感染症予防指針（平成19年12月28日厚生労働省告示第442号）」に基づき、麻しん排除に向けた取り組みを進めた。その結果、麻しんの患者報告数は減少し、12ヶ月間以上にわたりMVの地域的流行株が認められないことから、2015年3月に世界保健機関西大西洋地域麻しん排除認証委員会より、日本は麻しん排除の状態にあると認定され、現在もその状態を維持している<sup>1)</sup>。

麻しん排除に向けた取り組みの一つとして、地方衛生研究所による麻しんの確定診断が推進された<sup>2)</sup>。本市でも、2010年から麻しんを疑う症例についてMVの遺伝子検査<sup>3)</sup>を実施している。2015年から2017年の3年間では、443検体の検査を実施して1検体からMV（ワクチン由来株）が検出された。一方、MVが検出されなかった症例については、麻しん以外の発熱、発疹を主症状とする発疹性ウイルスによる症例が紛れ込んでいる可能性が考えられた。

そこで、麻しんの診断の一助として、麻しん疑い症例について風しん、伝染性紅斑、突発性発疹および手足口病等の病原体検索を実施したので、その結果を報告する。

### 2. 麻しん疑い患者の概要

2015年1月から2017年12月に発症し、当所でMV遺伝子検査を実施した麻しん疑い症例は163例（男性80例、女性83例）であった。年齢幅は0～71歳で1歳が最も多く19例、次いで3歳が9例、2歳が8例であり、0～4歳が全体の26.4%（43例）を占めた（図1）。

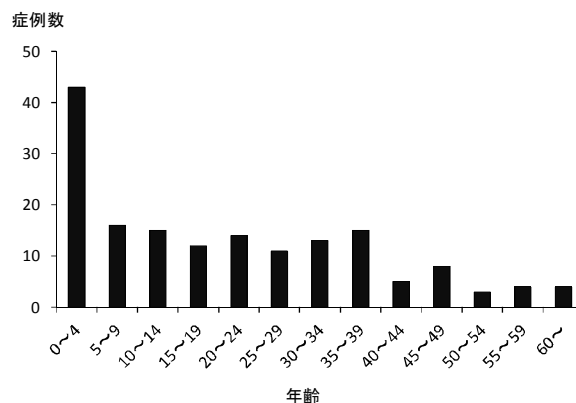


図1 麻しん疑い症例の年齢分布

麻しんワクチンの接種歴は、接種歴ありが89例（54.6%）、接種歴不明が65例（39.9%）、接種歴なしが9例（5.5%）であった（図2）。接種歴ありの内訳は、1回が30例、2回が14例、回数不明が45例であった。

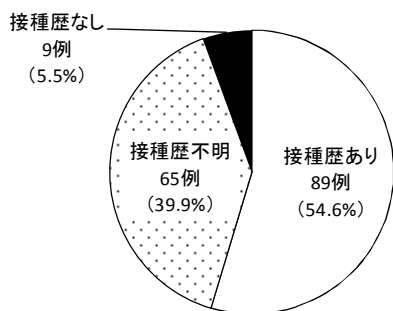


図 2 麻疹疑い症例のワクチン接種歴

### 3. 検査材料と方法

#### 3.1 検索対象ウイルス

発疹性ウイルスとして、麻疹の病原体である風疹ウイルス (RV)、伝染性紅斑の病原体であるヒトパルボウイルス B19 (B19)、手足口病等の発疹性疾患の病原体であるエンテロウイルス (EV)、突発性発疹の病原体であるヒトヘルペスウイルス 6 型 (HHV-6) およびヒトヘルペスウイルス 7 型 (HHV-7) を検索対象とした。

#### 3.2 臨床検体

麻疹疑い症例 163 例から採取された臨床材料 443 検体 (血液 152 検体、尿 132 検体、咽頭ぬぐい液 159 検体) から発疹性ウイルスの遺伝子検出を実施した。

RV は、443 検体全てについて検査を実施した。B19 および EV は、発症後 7 日以内に採取された咽頭ぬぐい液 138 検体について検査を実施した。HHV-6 および HHV-7 は、突発性発疹の症例が多い 2 歳以下の患者の血液 19 検体 (発症後 7 日以内) を対象とした。なお、血液は 1300rpm、20 分間で遠心分離後、血漿を分取して検体とした。

#### 3.3 ウイルス核酸の抽出

検体 200  $\mu$ L から High Pure Viral RNA Kit (Roche 社製) を用いてウイルス核酸を抽出した。ウイルス核酸の一部については DNaseI 処理後、Super Script III (Invitrogen 社製) にて cDNA を作成し、ウイルス遺伝子の検出に供した。

#### 3.4 ウイルス遺伝子の検出

RV<sup>4)</sup>については Real-time RT-PCR 法、B19<sup>5)</sup>、HHV-6<sup>6)</sup>および HHV-7<sup>6)</sup>については Real-time PCR 法を実施した。EV<sup>7)</sup>については、cDNA を用いた Conventional RT-PCR 法を実施した。なお、Real-time RT-PCR 法で RV が陽性となった検体については、cDNA を用いた Conventional RT-PCR 法を行った。

### 3.5 シーケンスと塩基配列の解析

Conventional RT-PCR 法で得られた EV および RV の PCR 産物について、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。EV については、得られた VP4/VP2 領域の塩基配列を NCBI-Blast で検索し、既知のウイルス株との相同性を確認した。RV については MEGA6 を使用し、得られた E1 遺伝子の塩基配列 739bp を ClustalW でアライメント後、近隣結合法による系統樹解析を実施して遺伝子型を決定した。

## 4. 結果

検査を実施した 443 検体のうち 28 検体から発疹性ウイルスが検出された。検出されたウイルスは RV が 1 件、B19 が最多で 11 件、コクサッキーウイルス A9 (CA9) が 3 件、エコーウイルス 7 型 (E7) が 1 件、エコーウイルス 9 型 (E9) が 1 件、HHV-6 が 9 件、HHV-7 が 2 件であった (表 1)。

RV は、咽頭ぬぐい液 1 検体から検出された。患者の年齢は 49 歳であり、遺伝子型は 2B であった。

B19 は、咽頭ぬぐい液 11 検体から検出された。患者の年齢幅は 5~55 歳であった。

EV は咽頭ぬぐい液 5 検体から検出され、CA9 が 3 件、E7 が 1 件、E9 が 1 件であった。患者の年齢幅は 1~44 歳であった。

HHV-6 は血液 9 検体、HHV-7 は血液 2 検体から検出された。患者の年齢幅は 0~1 歳であった。

これらの発疹性ウイルスが検出された 28 例の臨床症状として、発疹が 26 例、発熱が 24 例、コプリック斑が 3 例に認められた (表 1)。

## 5. 考察

麻疹疑い症例から MV 以外の発疹性ウイルス (RV、B19、EV、HHV-6 および HHV-7) が検出されたことから、発疹性ウイルス感染症の紛れ込みが示唆され、麻疹の臨床診断の難しさが改めて示された。

咽頭ぬぐい液からは B19 が最も多く検出され、B19 感染症と麻疹の鑑別診断が困難であることが推察された。HHV-6 および HHV-7 は、1 歳以下の患者 11 例から検出された。血漿中からウイルス遺伝子が検出されたことから、初感染か再活性化のいずれかの状態であると考えられた<sup>8)</sup>。一方、同じウイルスが検出された症例でも発熱、発疹以外にさまざまな症状が認められた (表 1)。このことから、発疹性ウイルス感染症の臨床診断が容易ではなく、遺伝子検査による実験室診断は有用であると考えられた。

表 1 麻しん疑い症例における発疹性ウイルスの検出状況

No.	年齢 (歳)	臨床 検体	発症日から の採取期間	臨床症状			ワクチン 接種歴	検出 ウイルス
				発疹	発熱	その他		
1	49	T	0日	+	37.9	咽頭痛、結膜充血	不明	RV
2	5	T	1日	+			1回	B19
3	7	T	2日	+	38.0		2回	B19
4	7	T	5日	+	38.3		2回	B19
5	8	T	5日	+	38.5	鼻汁、結膜充血	2回	B19
6	9	T	2日	+	39.2	鼻汁、咳	2回	B19
7	23	T	4日	+	38.4	鼻汁、咽頭炎、咳	不明	B19
8	32	T	5日	+	37.1	筋肉痛、関節痛、腹痛	不明	B19
9	35	T	1日	+		咳	不明	B19
10	36	T	6日	+	38.0		1回	B19
11	45	T	5日	+	38.0	倦怠感	不明	B19
12	55	T	4日	+	39.0	咳	不明	B19
13	1	T	2日	+	38.5	コプリック斑	1回	CA9
14	7	T	0日		37.0	咽頭痛	1回	CA9
15	44	T	3日	+	39.3	咳、胃痛、軟便	2回	CA9
16	3	T	3日	+	40.8	咽頭痛、咽頭炎、結膜充血、眼脂	1回	E7
17	7	T	5日	+	38.2	鼻閉、咳	2回	E9
18	0	P	5日	+	40.0	鼻汁、咳、眼脂、腸炎	なし	HHV-6
19	0	P	5日	+	37.6	鼻汁	なし	HHV-6
20	1	P	6日	+	40.0	鼻汁、咳	なし	HHV-6
21	1	P	4日	+	38.0	結膜充血	1回	HHV-6
22	1	P	7日	+	40.0	咳、気管支炎、眼脂	1回	HHV-6
23	1	P	5日	+			2回	HHV-6
24	1	P	7日	+		鼻汁	なし	HHV-6
25	1	P	2日	+	38.5	コプリック斑	1回	HHV-6
26	1	P	6日	+	38.5	鼻汁、咳	1回	HHV-6
27	1	P	1日		39.1	咽頭痛、結膜充血、コプリック斑	1回	HHV-7
28	1	P	2日	+	37.3	下痢	1回	HHV-7

T: 咽頭ぬぐい液、P: 血漿

麻しん症例は 2015 年以降、全国で 35~187 例で推移している<sup>9)</sup>。また、ワクチンが普及し、発熱、発疹、カタル症状の一部しか示さない修飾麻しんの割合が増加している。麻しん症例の減少とそれに占める修飾麻しんの増加により、麻しんの臨床診断は一層困難になっている。さらに、血清学的診断である麻しん IgM 抗体検査では、発疹性ウイルス感染者が偽陽性になるケースが報告されている<sup>9)</sup>。このような状況から、MV 以外の発疹性ウイルスによる症例の紛れ込みを除外できる MV 遺伝子検査が、麻しんの確定診断として重要であることを再認識した。

MV の感染力は強く、現在でも海外の多くの国で流行しており、海外からの MV 持ち込みはこの先も続くことが予想される。また、麻しんあるいは修飾麻しんの発症予防の目安とされるゼラチン粒子凝集 (PA) 抗体価は、1:128 以上であるが、PA 抗体価 1:128 未満の者が全ての年齢層に存在する<sup>10)</sup>。このため、国内でも輸入症例を起点とした麻しんのアウトブレイクが発生している。これらの MV の由来や伝播状況の解明は、麻しん排除状態の維持に欠かせないものであり、遺伝子検査の重要な役割であると考えられる。

MV 遺伝子検査には、発症後 1 週間以内の適切な時期に採取された検体を使用すること<sup>11)</sup>が重要である。

発症後 8 日以上に採取された検体を用いた遺伝子検査では、麻しん症例であっても MV 陰性になる場合が考えられる。当所でも発症後 8 日以上に採取された検体が 58 検体 (16 症例) あり、これらが麻しん症例であった可能性は否定できない。正確な遺伝子検査のためには、検体を採取する医療機関の協力が不可欠であり、今後も各関係機関と連携し、迅速に麻しん症例を確定し、国内での感染拡大を防止することによって、麻しん排除状態を維持することが重要である。

## 文 献

- 1) <特集> 麻疹 2018 年 2 月現在, 病原微生物検出情報月報 Vol39, No4, 1-3
- 2) 厚生労働省健康局結核感染症課, 麻しんの診断について, 平成 22 年 11 月 11 日, 健感発 1111 第 2 号
- 3) 田部井由紀子 他: リアルタイム PCR 法による麻しんウイルス検出法の開発, 東京都健康安全研究センター研究年報 第 62 号, 2011, 43-48
- 4) 国立感染症研究所: 風疹 第 3.2 版, 病原体検出マニュアル, 平成 29 年 8 月

- 5) Claudia Aberham et al. : A quantitative, internally controlled real-time PCR Assay for the detection of parvovirus B19 DNA, J Virol Method 92, 2001, 183 - 191
- 6) Kaoru Wada et al. : Multiplex real-time PCR for the simultaneous detection of herpes simplex virus, human herpesvirus 6, and human herpesvirus 7, Microbiol Immunol, 2009, 22 - 29
- 7) 石古博昭 他 : 遺伝子系統解析によるエンテロウイルスの同定, 臨床とウイルス 27, 1999, 283-286
- 8) 国立感染症研究所 : 突発性発疹, 病原体検査マニュアル, 2015
- 9) Wood CR. : False-Positive Results for Immunoglobulin M Serologic Results: Explanations and Examples , J Ped Infect Dis Soc, 2013, 87-90
- 10) 多谷馨子 他 : 麻疹の抗体保有状況 - 平成 29 (2017)年度感染症流行予測事業(暫定結果), 病原微生物検出情報月報 Vol139.No4, 13-14
- 11) 国立感染症研究所 : 麻疹 (第 3.4 版), 病原体検出マニュアル, 平成 29 年