

〔短 報〕

2015年から2016年に石川県で流行した流行性耳下腺炎について - 患者発生状況および検出ウイルスの分子疫学的解析結果 -

石川県保健環境センター 健康食品安全科学部

児玉 洋江・中澤 柁哉・成相 絵里
倉本 早苗

〔和文要旨〕

2015年から2016年の感染症発生動向調査事業における流行性耳下腺炎患者の報告状況は、2010年を中心とした流行時とほぼ同様であったが、6歳未満の患者の割合は年々減少する傾向にあった。病原体定点で採取された検体を検査した結果、ワクチン接種歴が無い患者検体は、接種歴が有る患者検体に比べ、遺伝子検出率および遺伝子が検出された検体からの分離率は有意に高かった。また、遺伝子が検出された患者のワクチン接種歴の有無と年齢分布には有意差がみられた。分子疫学的解析の結果、2015年から2016年に検出されたムンプスウイルスの大部分はGwに属した。

キーワード：流行性耳下腺炎，ムンプスウイルス，ムンプスワクチン

本稿は病原微生物検出情報(平成28年10月)および平成28年度日臨技中部圏支部医学検査学会(平成28年12月11日 金沢市)において発表した。

1 はじめに

流行性耳下腺炎(以下、ムンプス)は、パラミクソウイルス科ルブラウイルス属のムンプスウイルス(以下、MuV)による小児の代表的な感染症である。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(以下、感染症法)で5類感染症(小児科定点把握)に指定されており、患者発生状況の把握のほか、病原体検査としてムンプスと診断された患者の検体からMuVの遺伝子検出、分離・同定の検査を実施している。

本県において、2015年から2016年に、2010年以来約5年ぶりにムンプスの流行が認められた。2010年を中心とした流行時には病原体検査の実施はわずかであったが、今般の流行では医療機関の協力により多くの検査が可能であったことから、今回、2015年から2016年のムンプス患者発生状況ならびに病原体検査により検出および分離されたMuVについて解析した結果を報告する。

2 材料と方法

2・1 患者発生状況

感染症発生動向調査事業に基づき、県内29ヶ所の小児科定点医療機関からの週単位の患者報告により、患者の発生状況および年齢を把握した。なお、解析期間は2009年1月から2016年12月とした。

2・2 ウイルス検査

(1) 対象

2009年1月から2016年12月に、感染症発生動向調査事業に基づき、県内3カ所の小児科病原体定点医療機関(以下、病原体定点)を受診したムンプスと診断された患者から採取された咽頭ぬぐい液または唾液腺開口部ぬぐい液(以下、検体)を対象とした。

(2) MuV検査方法

ア 遺伝子検出および分子疫学的解析

ムンプスウイルス病原体検査マニュアル¹⁾(以下、マニュアル)に準じて、MuVの特異遺伝子であるSH遺伝子領域の検出を実施した。すなわち、検体からQIAamp

Prevalence of Mumps in Ishikawa Prefecture in 2015–2016. by KODAMA Hiroe, NAKAZAWA Masaya, NARIAI Eri, KURAMOTO Sanae (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Mumps, Mumps virus, Mumps vaccine

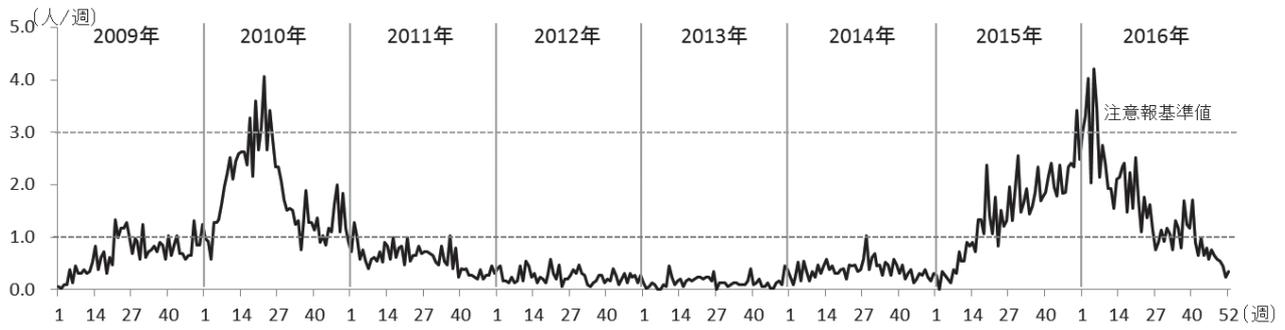


図1 ムンプス患者報告数の推移 (2009年第1週～2016年第52週)

Viral RNA Mini Kit (QIAGEN社) を用いてRNAの抽出を行った後、SH遺伝子領域を標的としたRT-PCR法によるウイルス遺伝子の検出を行った。得られたPCR増幅産物についてQIAquick PCR Purification kit (QIAGEN社) で精製した後、BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequence Kit (Life Technologies社 以下、LT社製) を用いてサイクルシーケンス反応を行った。なお、RT-PCR法、サイクルシーケンス反応はともにGeneAmp PCR System 9700またはVeriti (LT社製) を用いた。その後、反応産物をBigDye XTerminator (LT社製) で精製し、Applied Biosystems 3500 ジェネティックアナライザ (LT社製) により塩基配列を決定し、Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) 6を用いて、マニュアルに基づきWHOが提示する参照ウイルス株の塩基配列とともに近隣結合法により系統樹解析を実施した。

イ 分離培養及び同定

マニュアルに準じて、検体からのMuVの分離培養検査を実施した。なお、細胞は国立感染症研究所から分与を受けたVero/E6を用い、細胞変性がみられた培養上清については、アと同様にRT-PCR法を用いた遺伝子検出により同定を行った。

(3) 統計学的解析

検体とともに提出された感染症発生动向調査事業に基づく検査票にて患者のワクチン接種歴および年齢を抽出し、ウイルス検査結果と併せて統計学的解析を行った。

なお、ワクチン接種歴とMuV遺伝子検出および分離結果については、カイ二乗検定による解析を行い、遺伝子検出の有無とワクチン接種歴別患者年齢分布については、平均値の差の検定による解析を行った。いずれも有意水準は5%とした。

3 成 績

3・1 患者発生状況

(1) 患者報告数

当県の2015年から2016年におけるムンプスの流行は、2015年初めから患者報告数が増加し、第15週(4

月6日～12日)に定点あたり患者報告数が1.0を超えた。その後も徐々に増加し、同年第50週(12月7日～13日)に注意報基準値である3.0に達し、2016年第4週(1月25日～31日)にピークとなり(定点あたり患者報告数4.21)、その後減少し、第40週(10月3日～9日)以降は定点あたり患者報告数が1.0を下回った(図1)。

一方、2010年を中心としたムンプスの流行は、患者報告数の増加は2009年1月中旬からみられ、2010年第22週(5月31日～6月6日)にピークとなり(定点あたり患者報告数4.07)、2011年第2週(1月10日～16日)には定点あたり患者報告数が1.0以下となった。

なお、いずれの流行においても、注意報基準値を超えたのは5週間であった。また、これら2つの流行の間の2011年から2014年は、定点あたり患者報告数はほぼ1.0以下で推移し、流行は認められなかった。

(2) 患者年齢分布の推移

2009年第1週(2008年12月29日～2009年1月4日)から2016年第52週に報告のあった患者の年齢分布の年別推移を図2に示す。6歳未満の患者の割合は2009年の73.0%から2016年の53.6%と減少傾向にあったが、6歳から9歳は23.0%から36.8%、10歳以上は、4.0%から9.6%と増加傾向がみられた。

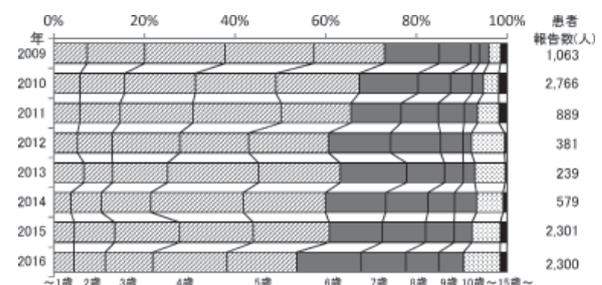


図2 ムンプス患者年齢分布の年別推移 (2009～2016年)

3・2 ウイルス検査結果

(1) 遺伝子検出および分離状況

2009年から2016年に検査を実施した検体数およびウイルス検査結果を表1に示す。2015年から2016年に採取された136検体のうち、99検体(72.8%)からMuV遺伝子が検出され、31検体(22.8%)からMuVが分離

された。同様にムンプスの流行が認められた2010年を中心とした流行時には2010年に2検体が採取されたのみであり、このうち1検体(50.0%)からMuV遺伝子が検出および分離された。また、流行が認められなかった2011年から2014年には21検体が採取されており、5検体(23.8%)からMuV遺伝子が検出されたが、MuVは分離されなかった。

また、いずれにおいてもMuVが分離された検体はすべてMuV遺伝子が検出された。

表 1 検査検体数およびMuV検査結果(2009~2016年)

	2009年 ~2010年	2011年 ~2014年	2015年 ~2016年	合計
検査検体数	2	21	136	159
遺伝子検出数 (%)	1 (50.0)	5 (23.8)	99 (72.8)	105 (66.0)
分離陽性数 (%)	1 (50.0)	-	31 (22.8)	32 (20.1)

(2) 分子疫学的解析

2010年から2016年に検出されたMuV 105例について系統樹解析を行った結果、遺伝子型はすべてGであり、2015年に検出された1例(303/2015.03)のGeを除き、104例すべてGwであった(図3)。

Gw 104例のうち、2015年から2016年に検出されたGw 98例は、1例(306/2015.09)を除きすべて同一クレードに属し、このうち86例についてはすべて同一塩基配列(2015/16mainでまとめて表記)であり、残りの11例も大部分は2015/16mainと数塩基違いであった。

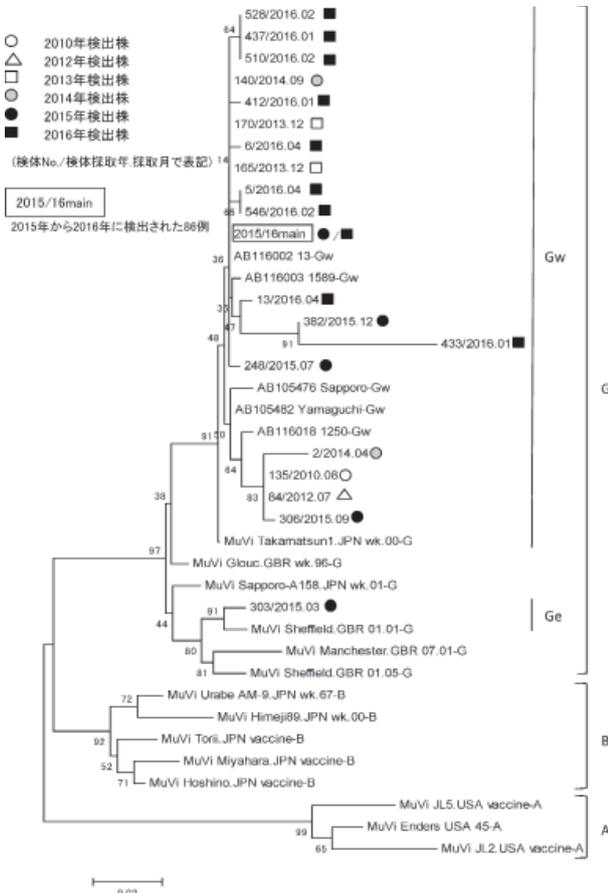


図 3 MuVのSH遺伝子領域(316塩基)に基づく系統樹解析

一方、2010年、2012年、2014年に検出された3例(135/2010.08, 84/2012.07, 2/2014.04)は306/2015.09と同一クレードに属し、2013年と2014年に検出された3例(165/2013.12, 170/2013.12, 140/2014.09)は2015/16mainと同じ塩基配列であった。

3・3 統計学的解析結果

(1) ワクチン接種歴と遺伝子検出および分離結果

2015年から2016年に提出された136検体のうち、ワクチン接種歴が不明である2検体を除いた134検体について、ワクチン接種歴の有無とMuV遺伝子検出および分離結果について解析を行った。

ワクチン接種歴が有る患者から採取されたのは134検体中51検体(38.1%)であり、このうちMuV遺伝子が検出されたのは29検体(56.9%)であった。一方、ワクチン接種歴が無い患者から採取されたのは83検体(61.9%)であり、このうちMuV遺伝子が検出されたのは69検体(83.1%)であった(表2)。ワクチン接種歴の有無と遺伝子検出結果について解析を行った結果、ワクチン接種歴が無い患者検体からのMuV遺伝子検出率は有意に高かった($P<0.01$)。

表 2 ワクチン接種歴別MuV遺伝子検出結果(2015~2016年)

	ワクチン 接種歴	有	MuV 遺伝子		P値
			検出 (%)	不検出 (%)	
合計	有	51	29 (56.9)	22 (43.1)	P<0.01
	無	83	69 (83.1)	14 (16.9)	
合計		134	98	36	

一方、MuV遺伝子が検出された98検体におけるワクチン接種歴の有無と、MuV分離結果について解析を行ったところ、ワクチン接種歴が有る患者から採取された29検体のうち、MuVが分離されたのは4検体(13.8%)であった。一方、ワクチン接種歴が無い患者から採取された69検体のうちMuVが分離されたのは27検体(39.1%)であり、ワクチン接種歴が無い患者検体からのMuVの分離が有意に高かった($P<0.05$)(表3)。

表 3 MuV遺伝子が検出された患者のワクチン接種歴別分離結果(2015~2016年)

	ワクチン 接種歴	有	MuV 分離		P値
			陽性 (%)	陰性 (%)	
合計	有	29	4 (13.8)	25 (86.2)	P<0.05
	無	69	27 (39.1)	42 (60.9)	
合計		98	31	67	

(2) 遺伝子検出の有無とワクチン接種歴別患者年齢分布
MuV 遺伝子が検出されなかった患者については、ワクチン接種歴の有無と患者年齢分布はほぼ同様であり、有意差は認められなかった。

一方、MuV 遺伝子が検出された患者については、ワクチン接種歴が有る患者は7歳、8歳（平均年齢7.0歳）、ワクチン接種歴が無い患者は3から5歳（平均年齢5.5歳）が多く、特に6歳未満の患者数の割合が両者で大きく異なり、ワクチン接種歴の有無とMuV 遺伝子が検出された患者の年齢分布には明らかな有意差がみられた ($P < 0.05$) (図4)。

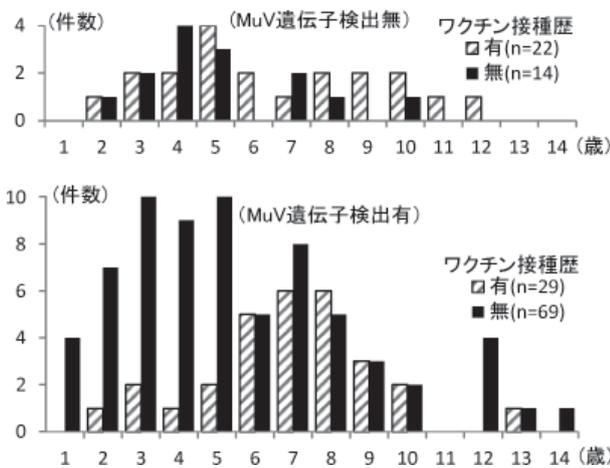


図4 MuV 遺伝子検出の有無と患者のワクチン接種歴別年齢分布 (2015～2016年)

4 考 察

ムンプスワクチンは任意接種であり、病原微生物検出情報 (IASR) によると2～3歳の接種率は40%程度、抗体保有率は70%程度²⁾と報告されている。一般的に、流行を抑制するために必要な集団免疫率は8割程度といわれており、抗体保有率がこれに達していないため4～5年ごとの全国流行を繰り返している²⁾。当県においても、今般、2010年以来約5年ぶりとなるムンプスの流行が認められた。感染症発生動向調査事業に基づくムンプス患者報告において、全国では流行毎のピーク時の定点あたり患者報告数が徐々に減ってきているが²⁾、当県では、2つの流行の比較ではあるが、今般と2010年を中心とした流行において、ピーク時の定点あたり患者報告数および注意報基準値を超えた週数はほぼ同様であった。

ムンプスワクチンの標準的接種年齢は1歳と5、6歳であり、本ワクチンには高い発症阻止効果が確認されている²⁾。このため、MuV 遺伝子が検出された患者のうち、特に6歳未満はワクチン接種歴の無い患者が多かったと考えられる。また、ワクチンの生産実績が増加している

ことから、接種者が徐々に増加傾向であることが示唆されており³⁾、当県でも同様にワクチン接種者が増加傾向にあると推測される。これらが起因し、今回の解析において当県における6歳未満の患者報告数の割合に減少傾向がみられたと考えられる。

ムンプスとMuV以外の原因による耳下腺炎（以下、非ムンプス）との鑑別は容易ではなく⁴⁾、ムンプス患者が減少すれば相対的に非ムンプスが増加すると考えられている²⁾。今回の解析において、ムンプスの流行がみられた2015年から2016年の検体からのMuV検出率は約7割であったのに対し、検体数が少ないが流行が認められなかった2011年から2014年の検体からのMuV検出率は約2割と低い傾向がみられた。この点については、今後症例を重ね検証する必要がある。

ワクチンの接種歴が有る患者検体は、接種歴の無い患者検体に比較し、遺伝子検出率が低く、また、遺伝子が検出された検体からの分離率も有意に低かった。この理由の1つとして、ワクチン接種により体内でのウイルス増殖が抑制され、検体中のウイルス量が検出感度に至らなかった可能性が考えられた。ムンプスには様々な合併症が比較的高頻度に生じることが知られており、また小児期以降に罹患した場合は重症となることが多い²⁾ことから、抗体保有率をあげるためにも、一刻も早いワクチンの定期接種化が待たれる。

国内で検出されたMuVは、2000年から遺伝子型Gの独占的流行が続いており、2012年以降Gwが大半を占め、Geが低い傾向にある²⁾。当県においても2010年以降は少なくとも2系統のGwが主に流行しており、このうち2013年以降に主流となった1系統のMuVにより、今般大きな流行が発生したと考えられる。

2015/16mainと同じ配列をもつ株は2001年に愛媛県、2011年に三重県でも分離されており²⁾、国内で長期にわたり検出されていることが分かった。病原体検査の実施により地域におけるMuV流行状況の把握が可能となることから、今後も引き続き実験室診断および分子疫学的解析を含めた継続的なサーベイランスを実施し、患者発生状況およびMuVの動向に注視していく必要があると思われる。

5 ま と め

(1) 2015年から2016年における感染症発生動向調査事業によるムンプスの流行は、ピーク時の定点あたり患者報告数および注意報基準値を超えた週数は、2010年を中心とした流行とほぼ同様であった。一方、2009年から2016年に報告のあった患者の年齢分布をみると6歳未満の患者の割合は年々減少する傾向にあった。

- (2) ワクチン接種歴が無い患者検体からの MuV 遺伝子検出率および遺伝子が検出された検体からの分離率は、いずれもワクチン接種歴が有る患者検体に比較し、有意に高かった。
- (3) MuV 遺伝子が検出された患者については、ワクチン接種歴が有る患者は 7 歳、8 歳、ワクチン接種歴が無い患者は 3 から 5 歳に多く、特に 6 歳未満の患者数の割合が大きく異なり、ワクチン接種歴の有無と MuV 遺伝子が検出された患者の年齢分布には明らかな有意差がみられた。
- (4) 2009 年から 2016 年に採取された検体から検出された MuV 105 例の遺伝子型はすべて G であり、Ge の 1

例を除くすべてが Gw であり、さらに 1 例を除くすべてが同一系統に属していた。

文 献

- 1) 国立感染症研究所：ムンプスウイルス病原体検査マニュアル (2015)
- 2) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報, **37**, 185-204 (2016)
- 3) 一般社団法人：ワクチンの基礎, 54-61 (2016)
- 4) 加藤篤：ウイルス感染症の検査・診断スタンダード, 71-75 (2011)