

兵庫県におけるムンプスウイルス検出状況と遺伝子解析（2015～2017年）

高井 伝仕* 萩 美貴 押部 智宏 近平 雅嗣 秋山 由美 稲田 忠明

Prevalence and Molecular Characterization of Mumps Viruses in Hyogo Prefecture between 2015 and 2017

Denshi TAKAI*, Miki OGI, Tomohiro OSHIBE, Masatsugu CHIKAHIRA,
Yumi AKIYAMA and Tadaaki INADA

Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health Science, 1819-14, Kanno, Kanno-cho, Kakogawa 675-0003, Japan

We investigated the incidence of mumps and molecular epidemiology of mumps viruses (MuVs) in Hyogo prefecture between 2015 and 2017. MuVs were detected from 18 (54.5%) of 33 infectious parotitis cases and 6 (21.4%) of 28 aseptic meningitis cases.

During this 3-year period, genotype G was the dominant strain in Hyogo prefecture, detected in 87.5% (21/24) of MuV-positive samples. Phylogenetic analysis revealed that all genotype G strains were classified into Gw. Furthermore, Gw strains were divided into four distinct clusters.

Continuous MuV surveillance by detailed genetic analysis is useful for understanding the genetic diversity of MuV strains and maintaining effective vaccine program.

I はじめに

流行性耳下腺炎は、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）によって起こる全身性ウイルス感染症である。感染症法では五類感染症（定点把握疾患）に指定されており、感染から2～3週間の潜伏期ののち耳下腺や顎下腺等の腫脹や疼痛、発熱等の症状を起し、一般的には予後良好な感染症である¹⁾。しかし、無菌性髄膜炎や、まれに脳炎、難聴等を併発する場合もあり、感音性難聴の予後は不良である。感染予防は弱毒生ワクチンの接種が効果的であるが、国内では定期接種対象となっておらず4～5年毎に流行を繰り返している。

MuVはエンベロープを持つマイナス一本鎖RNAウイルスで、2012年にWHOより提唱された分類法ではsmall hydrophobic (SH)遺伝子領域の塩基配列（316塩基）に基づき、E、Mを除いたA～Nの12遺伝子群に分類される²⁾。現在国内のワクチン株は、日本固有の株とされるB型が用いられているが、1999年に出現したG型が2000年以降国内における流行の主体となっている³⁾。

本県では2015年から2017年にかけて流行性耳下腺炎の患者数の増加傾向が認められており、本稿ではこれらの状況を踏まえ、兵庫県内における流行性耳下腺炎患者発生状況を把握するとともに、小児科病原体定点医療機関を受診したMuV感染が疑われた患者から採取された検体についてウイルス検出を行い、検出されたウイルス株について分子疫学的に解析した結果を報告する。

感染症部

*別刷請求先：

〒675-0003 加古川市神野町神野 1819-14

兵庫県立健康科学研究所 感染症部 高井 伝仕

II 材料と方法

1. 患者発生状況

兵庫県感染症発生動向調査における小児科定点医療機関からの週別患者報告により、流行性耳下腺炎患者の発生状況や年齢を把握した。調査期間は2013年第1週から2017年第52週とした。

2. ウイルス検出と遺伝子解析

2.1 調査対象

2015年から2017年までに、小児科病原体定点医療機関を受診したMuV感染が疑われた患者から採取された咽頭ぬぐい液、唾液ぬぐい液又は髄液を検査材料とした。

2.2 ムンプスウイルス遺伝子の検出とダイレクトシーケンス法による塩基配列の決定

検体からE.Z.N.A Viral RNA Kit (Omega Bio-tek)で抽出したウイルスRNAについて、ランダムプライマーを用いた逆転写反応によりcDNAを作成し、ムンプスウイルス病原体検査マニュアルに準じて⁴⁾、SH遺伝子領域を標的としたRT-PCR法を行った。MuV以外のウイルスについても病原体検査マニュアルに準じて検出した。PCR増幅産物は、QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN)又はExoSAP-IT Express PCR Product Cleanup Reagents (Thermo Fisher Scientific)で精製したのち、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific)によるサイクルシーケンス反応を行い、3500 ジェネティックアナライザ (Thermo Fisher Scientific)により塩基配列を解読した。

2.3 遺伝子型別と分子系統解析

得られたSH遺伝子領域の塩基配列は、遺伝子データベース (GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 上のBLASTによる同源性検索又は分子系統解析により遺伝子型を決定した。分子系統解析は、病原体検査マニュアルに記載された参照株やGenBankに登録された分離株の配列とともに、MEGA7ソフトウェアにより最尤 (Maximum Likelihood: ML) 法で分子系統樹を作成した。

III 結果及び考察

1. 県内の流行性耳下腺炎患者の発生状況

県内の2013年第1週から2017年第52週における定点あたり流行性耳下腺炎患者報告数の推移をFig. 1に示した。2013年から2015年中頃までの定点あたり患者数は0.5以下で推移していたが、2015年第43週(10月下旬)から増加傾向が続き、2016年第1週には1.0を超え



Fig.1 Weekly number of reported infectious parotitis cases in Hyogo Prefecture (2013-2017)

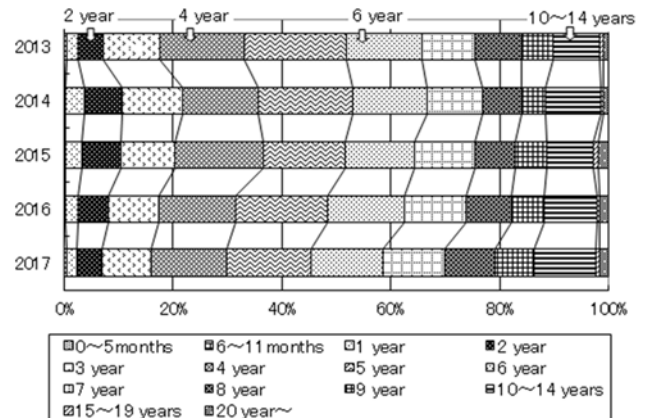


Fig.2 Age distribution of infectious parotitis cases reported from sentinel hospitals in Hyogo Prefecture (2013-2017)

た。その後も徐々に上昇し、2016年第42週(10月中旬)にピークに達した(定点あたり患者報告数1.98)。そののち減少に転じ、2017年第3週以降には1.0を下回った。

2013年から2017年における流行性耳下腺炎患者の年齢分布の年別推移をFig. 2に示した。各年における4歳の患者割合は13.9%~16.0%、5歳は15.1%~18.6%、6歳は12.8%~14.1%で推移しており、4~6歳の患者の割合が42.6%~48.0%といずれの年も全体の半数近くを占めた。また、7歳未満の患者の割合は、2013年の65.6%から2017年の58.5%と減少傾向にあり、一方、7歳から14歳の患者の割合は32.7%から39.2%と増加傾向がみられた。

2. ムンプスウイルス検出状況

2015年から2017年に検査を実施した症例数及びウイルス検出状況をTable 1に示した。MuVの感染が疑われた流行性耳下腺炎33症例及び無菌性髄膜炎28症例の合計61症例由来の検体について検査を実施し、流行性耳下腺炎18症例、無菌性髄膜炎6症例のあわせて24例からMuVが検出された。これら24例のうち、男性は14例(58.3%)、患者年齢の中央値は7歳1か月(範囲: 1

Table 1 Number of mumps viruses detected from clinical cases in Hyogo Prefecture

Year		Clinical diagnosis	
		Infectious parotitis	Aseptic meningitis
2015	No. of cases	5	8
	No. of MuV detected cases (%)	3 (60.0)	1 (12.5)
	No. of cases	21	13
2016	No. of MuV detected cases (%)	12 (57.1)	2 (15.4)
	No. of cases	7	7
	No. of MuV detected cases (%)	3 (42.9)	3 (42.9)
Total	No. of cases	33	28
	No. of MuV detected cases (%)	18	6

歳5か月～20歳6か月)であった。調査した3年間のうち、2016年が14例と最も多く検出され、4月から12月の間は毎月検出された。また、無菌性髄膜炎患者の28例中10例からMuV以外のウイルスが検出された。検出されたウイルスの内訳は、エコーウイルス3型が1例、エコーウイルス6型が2例、コクサッキーウイルスB1型が1例、コクサッキーウイルスB2型が1例、コクサッキーウイルスB5型が3例、ライノウイルスが2例であった。2017年の無菌性髄膜炎患者では、MuVの検出割合が50% (3/6例)を占めており、他の年に比べて高い割合で検出された。流行性耳下腺炎の流行期には無菌性髄膜炎の検出割合が増加するとの報告もあり⁵⁾、流行期においては無菌性髄膜炎を起こす主要な病原体として、動向を注視する必要があると考えられた。

3. ムンプスウイルスの遺伝子解析

検出されたMuVについて、遺伝子データベースを用いた相同性検索によりSH領域の遺伝子型を決定したところ、B、G、Hの3遺伝子型に分類された (Table 2)。24例中21例 (87.5%)がG型に分類され、2000年以降の全国的な検出状況と同様の傾向が見られた。B型に分類された2例の塩基配列は、それぞれが国内ワクチン株である星野株あるいは鳥居株の配列に100%一致していた。この2名の患者の臨床症状は耳下腺あるいは顎下腺

Table 2 Distribution of mumps virus genotypes detected from clinical cases in Hyogo prefecture (2015-2017)

Year	MuV-positive	Genotype (%)		
		B	G	H
2015	4		4 (100)	
2016	14	1 (7.1)	12 (85.7)	1 (7.1)
2017	6	1 (16.7)	5 (83.3)	
Total	24	2	21	1

腫脹等で、いずれも軽症であった。鳥居株を接種したと推定される症例のワクチン接種時期は不明であったが、星野株に起因したと思われる1例は、発症の約3週間前に本ワクチン株を接種していることから、ワクチン株による副反応の可能性が示唆された。

検出された24株の分子系統樹を Fig. 3に示した。G型はさらにGe及びGwの2系統に分けられるが、今回G型に分類された21株はすべてがGwであった。2015年以降に石川県において検出されたすべての株はGwであったことや⁶⁾、大阪府においてもGwが大部分を占めたことから⁷⁾、2015年以降の流行性耳下腺炎患者数増加は、Gwの流行が関与していた可能性が示唆された。21株のGwはさらに4つのグループに分類された。グループ1

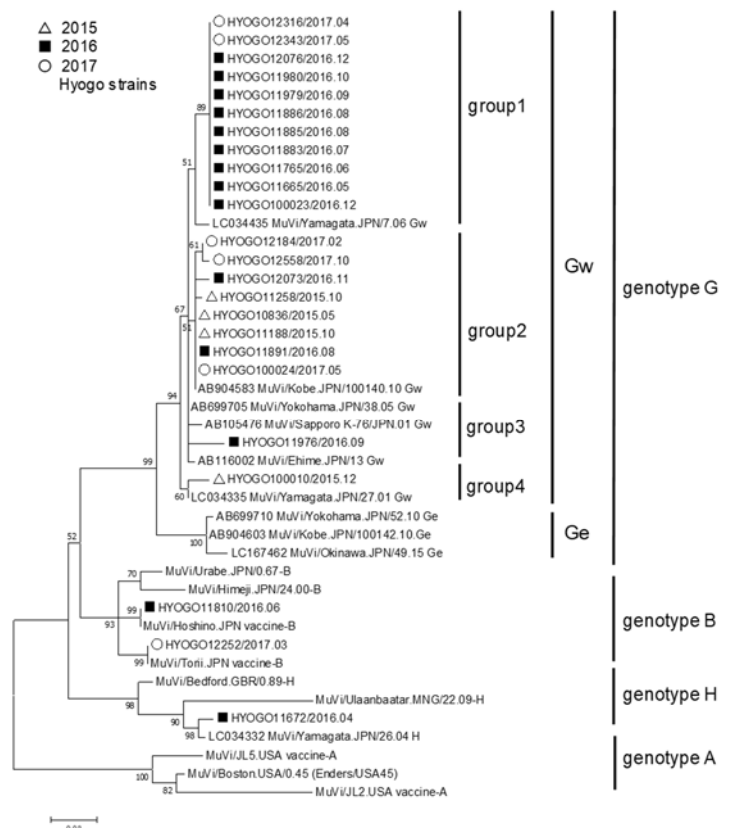


Fig.3 Phylogenetic analysis based on the 316 nucleotides of the mumps virus SH region by Maximum Likelihood method

には、2016年に検出された12株中9株及び2017年に検出された5株中2株が分類された。これらのグループ1に属するウイルス株は、今回解析したSH領域の塩基配列において100%一致しており、2016年5月から12月まで概ね毎月検出された。グループ2には2015年に検出された4株中3株、2016年に検出された12株中2株及び2017年に検出された5株中3株が分類された。また、グループ3には2016年に検出された1株、グループ4には2015年に検出された1株が分類された。これらのことから、2015年から2017年の県内におけるMuV流行には、Gwのうち少なくとも4つの系統のウイルス株が関与していたものと考えられた。また、グループ1及び2に分類されたウイルス株が21株中19株(90.4%)を占めており、この2つの系統が県内での流行の主体となっていた可能性が示唆された。国内では2000年以降G型による流行が続いており、今後もこの遺伝子型に属する多様な株が変異しながら流行を引き起こすことが考えられ、その動向を注視する必要があると思われる。

H型に分類された1株は、2004年に山形県で分離された株⁸⁾と99%の相同性を示した。この株が他地域や他国から県内へ持ち込まれたものか、県内で散発的な地域流行を起こしているのか詳細な感染経路は不明であるが、その動向も注視しながら継続的に分子疫学解析を行う必要があると考えられる。また、おたふくかぜワクチンの定期接種化に備えてMuV流行のモニタリング体制を整え、ワクチン株の影響による流行株の動向を調査することは公衆衛生上重要であり、今後も詳細なサーベイランスが必要と考えられた。

IV 結 論

2015年1月から2017年12月までに病原体定点医療機関で採取された流行性耳下腺炎33症例及び無菌性髄膜炎28症例の合計61症例由来の検体についてウイルス検査を実施し、流行性耳下腺炎18症例及び無菌性髄膜炎6症例からムンプスウイルスが検出された。検出された24例のうち21例が遺伝子型Gwに分類され、この遺

伝子型が2015年から2017年の県内流行の主体となっていたと考えられた。遺伝子型Gwのウイルス株はさらに4つの系統に分類されたことから、少なくともこれら4系統のウイルス株が県内流行に関与していたものと考えられた。

分子疫学解析により継続的にムンプスウイルスの流行状況を把握することは、感染症対策や今後のワクチン対策に有用な情報になると思われる。

謝 辞

感染症発生動向調査にご協力いただいた県疾病対策課及び検体採取にご協力いただいた関係機関の皆様方に感謝いたします。

文 献

- 1) 国立感染症研究所感染症疫学センター：IASR 病原微生物検出情報（月報），**37**(10)，185-186（2016）
- 2) World Health Organization：Wkly. Epidemiol. Rec., **87**, 217-224（2012）
- 3) 国立感染症研究所感染症疫学センター：IASR 病原微生物検出情報（月報），**34**(8)，224-225（2013）
- 4) 国立感染症研究所：ムンプスウイルス病原体検出マニュアル（2015）
- 5) 国立感染症研究所感染症疫学センター：IASR 病原微生物検出情報（月報），**39**(6)，89-90（2018）
- 6) 児玉洋江，中澤征哉，成相絵里，倉本早苗：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。石川県保健環境センター研究報告，54（2017）
- 7) 国立感染症研究所感染症疫学センター：IASR 病原微生物検出情報（月報），**37**(10)，189-191（2016）
- 8) Aoki, Y., Matoba, K., Tanaka, S., Mizuta, K.: Chronological changes of mumps virus genotypes in Japan between 1999-2013. Infect. Dis., **48**(7), 524-529（2016）

（平成31年1月23日受理）