

# 1. 乾燥濾紙血液を用いる麻疹ウイルス抗体測定と感受性者の疫学調査

福士 勝、吉永美和、藤倉かおり、花井潤師 矢野公一（札幌市衛生研究所）

## 【目的】

2006 年末からの麻疹の全国的な流行とともに、札幌市でも 2007 年 8 月から麻疹が流行し、学童ばかりでなく 20～30 歳台の成人での発症が報告され、1 歳未満のワクチン接種前の乳児での感染も問題となっている。麻疹排除にはワクチン接種率の向上による麻疹感受性者の低減が重要な対策であり、麻疹ワクチンの定期接種として、1 歳から 2 歳までと 5 歳から 7 歳未満の小学校就学前 1 年間の 1 期、2 期の 2 回接種が行われている。さらに、2008 年から 2012 年までは、第 3 期として中学 1 年生と第 4 期として高校 3 年生に相当する年齢群が追加され、2008 年度時点で 8 歳から 17 歳に属する世代の麻疹感受性者の低減が図られることになった。しかし、最近の成人麻疹の発症例の報告から、19 歳以上の世代においても麻疹感受性者が相当数いることが予想されことから、麻疹ワクチン第 3 期と第 4 期の対象群よりも上の世代における感受性者の割合を詳細に調査することにより、ワクチン接種歴と麻疹既往歴などからハイリスク者を特定しワクチン接種の勧奨を効果的に実施するための対策をたてることができる。さらに、生後 4～6 日の新生児期の母体からの移行抗体を調査することにより、妊娠可能世代の麻疹感受性率が間接的に明らかになり、ワクチン接種勧奨対策などの麻疹蔓延防止対策に寄与すると考えられる。

そこで、札幌市における麻疹感受性者の実態を、札幌市で行っている新生児の先天性代謝異常スクリーニングと妊婦甲状腺機能スクリーニングで得られる乾燥濾紙血液を用いて明らかにするため、乾燥濾紙血液を用いる麻疹抗体の測定法を確立し、新生児における母体からの麻疹移行抗体と 1960 年代から 1990 年代に出生した女性の麻疹抗体保有率を調査した。

## 【方法】

### 1) 麻疹抗体調査対象

2005 年度から 2007 年度に札幌市の妊婦甲状腺機能検査を受検した 1961 年から 1990 年生まれの妊婦で、検査終了後の検体の 5 年間保存と目的外使用の同意の得られた乾燥濾紙血液検体 2,753 件（2005 年度：1129 件、2006 年度：1073 件、2007 年度：551 件）、新生児では 2007 年度に札幌市の新生児マススクリーニングを受検した日齢 4 から 6 の新生児で、保護者から検査終了後の検体の 10 年間の保存と目的外使用の同意が得られた乾燥濾紙血液検体 500 件を調査の対象とした。なお、麻疹罹患歴及びワクチン接種歴は確認していない。

### 2) 麻疹抗体価の測定方法

麻疹抗体価測定には、ゼラチン粒子凝集法 (particle agglutination: PA 法) を原理とす

る麻疹ウイルス抗体キット「セロディア-麻疹」(富士レビオ社製)を用いた。

血清の測定は、96穴のU型マイクロプレートを用いて血清試料を2倍段階希釈し、等量の感作ゼラチン粒子を加えて攪拌混和後、室温で2時間静置して凝集を判定した。

### 3) 乾燥濾紙血液による麻疹抗体測定法の検討

乾燥濾紙血液を用いた麻疹抗体の測定を検討するため、成人 30 名の血液を採取し、乾燥濾紙血液と血清を同時に作成して、それぞれの麻疹抗体価の相関を検討した。マイクロプレートに直径 5mm の濾紙血液を 3 枚打ち抜き、キット添付希釈液 110  $\mu$ l を加え、室温で 2 時間溶出したものを血清 8 倍希釈液とした。マイクロプレートの第 3 穴以降に希釈溶液 25  $\mu$ l を分注し、第 1 穴から第 3 穴までに乾燥濾紙溶出液 25  $\mu$ l を加え、第 3 穴以降を 2 倍段階希釈した。第 1 穴に未感作粒子、第 2 穴以降に感作粒子を 25  $\mu$ l 滴下しプレートミキサーで混和後、室温で 2 時間静置して凝集を判定した。

### 4) データの解析

妊婦の乾燥ろ紙血液では、出生年群1961年から1990年までを5年毎に6群に分類して集計し、麻疹感受性者の割合を算出して統計学的に検討するとともに、新生児では母体からの移行抗体価について検討した。

### 5) 倫理上の配慮

使用した乾濾紙血液は、新生児マススクリーニング検体では検査終了後の検体の10年間の保存と目的外使用の同意が得られているもの、妊婦甲状腺機能検査検体では検査終了後の検体の5年間保存と目的外使用の同意の得られているものが対象であり本研究の開始に当たり、札幌市衛生研究所倫理審査委員会において本研究計画の承認を受けた。

## 【結果】

### 1) 血清と乾燥濾紙血液の麻疹抗体価の相関

同一の一般成人の血清と乾燥濾紙血液の抗体価は、 $y$  (乾燥濾紙血液) =  $0.988x$  (血清)、 $r = 0.959$  と良好な相関が得られた (図 1)。

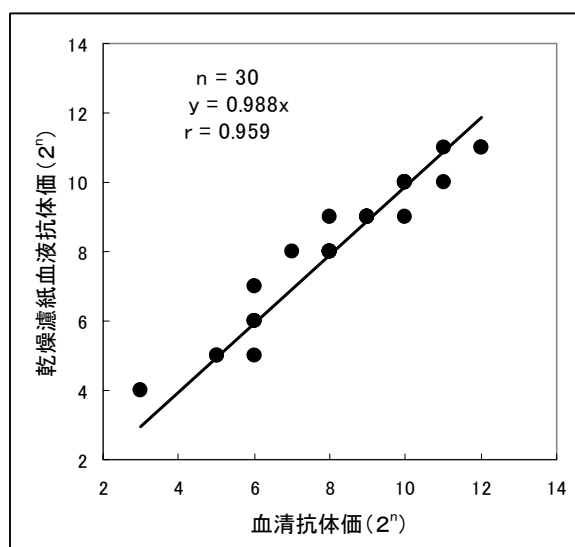


図 1 PA 法による血清と乾燥濾紙血液の麻疹抗体価の相関

## 2) 妊婦の麻疹抗体価

妊婦の出生年群別の麻疹抗体保有率を表1に示した。

1961年から1990年生まれの妊婦2,753人で、PA抗体価1:16以上は2,670人、97.0%であった。1961~1965年出生群では1:16以上の抗体保有率は98.6%であったのに対し、1976~1980年出生群では98.0%、1981~1985年出生群では96.2%、さらに2008年末で18~22歳の1986~1990年出生群の抗体保有率は92.8%と低値であった。

一方、PA抗体は1:128あるいは1:256以上の抗体価が発症予防レベルとされているが、妊婦全体で1:128および1:256以上の抗体保有率はそれぞれ88.4%、77.3%であった。1:128以上の抗体保有率は、1961~1965年出生群では89.7%であったのに対し、1981~1985年出生群では86.8%、1986~1990年出生群では81.7%と低値であった。1:256以上の抗体保有率も、1961~1965年出生群では80.1%であったのに対し、1981~1985年出生群では75.0%、1986~1990年出生群では67.5%と低値であった。

1986~1990年出生群は、それ以前の出生年群と比較すると、1:16以上、1:128以上、1:256以上の抗体保有率が全ての出生年群より有意に低値であった ( $P < 0.05$ )。

表1 出生年群別のPA麻疹抗体保有率

出生年群	検査数	麻疹PA抗体					
		>1:16		>1:128		>1:256	
		陽性数	%	陽性数	%	陽性数	%
1961-1965	282	278	98.6	253	89.7	226	80.1
1966-1970	500	493	98.6	454	90.8	400	80.0
1971-1975	500	491	98.2	452	90.4	414	82.8
1976-1980	500	490	98.0	455	91.0	396	79.2
1981-1985	500	481	96.2	434	86.8	375	75.0
1986-1990	471	437	92.2*	385	81.7*	318	67.5*
計	2753	2670	97.0	2433	88.4	2129	77.3

\*他出生年群と比較して有意差有 ( $P < 0.05$ )

## 3) 新生児における母体からの移行麻疹抗体

表2に2007年度出生の新生児500人と2006年度妊婦甲状腺機能検査受診の1,073人の麻疹抗体保有率を示した。

2007年度出生の新生児500名におけるPA抗体1:16以上の麻疹抗体保有率は97.4%であり、発症予防レベルとされている1:128あるいは1:256以上の抗体保有率はそれぞれ89.8%、80.4%であった。これは2006年度の妊婦1073名におけるPA抗体1:16以上の麻疹抗体保有率の97.6%、1:128あるいは1:256以上の抗体価の抗体保有率の88.4%、77.1%とほぼ一致する値であった。

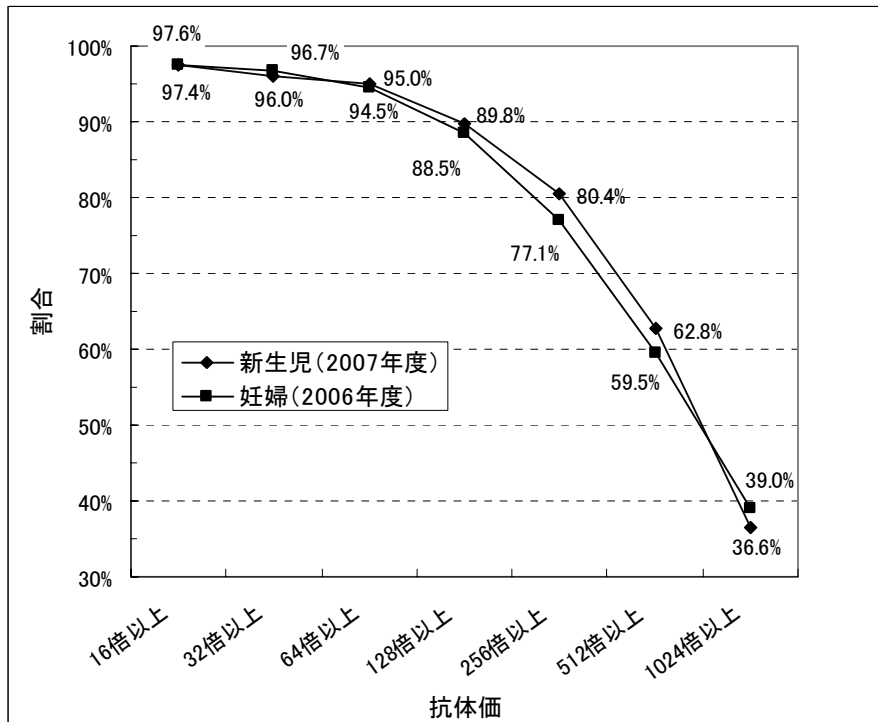


図2 新生児と妊婦の麻疹抗体保有率

【考察】

乾燥濾紙血液を用いる検査は、検体の採取や輸送が容易であり、血中のアミノ酸、ホルモン、蛋白等の保存安定性に優れており、新生児の先天性代謝異常症等のマス・スクリーニングに広く用いられている。私たちは既に、乾燥濾紙血液を用いる風疹、HTLV-1、HIV、サイトメガロウイルスなどの抗体の測定法を確立し、大規模な疫学調査に応用して母子間垂直感染の防止対策に大きな成果を上げてきた。

麻疹流行を防止する唯一の手段はワクチンの予防接種であり、効果的な予防接種事業を進めていく上で、健康人集団における感受性調査として、流行状況や予防接種の効果を継続的に調査することが重要である。そのためには一定の集団を対象とした抗体の保有状況の調査を定期的の実施する必要がある。

そこで、乾燥濾紙血液を用いる麻疹の PA 抗体測定法を検討した結果、血清を用いる方法と同じ結果が得ることができたことから、札幌市で実施している新生児スクリーニングや妊婦甲状腺機能スクリーニングで採血された乾燥濾紙血液検体を用いて麻疹感受性者の疫学調査を行った。1986年以降に出生した女性の抗体保有率は92.2%と、それ以前の出生群の96から98%と比較して明らかに低く、特に感染防御に効果があるとされる抗体価1:128以上で比較すると、1986年以降出生群では81.7%と有意に低く、20歳前後の若年層で麻疹感受性者が増加する傾向にあった。一方、日齢4から6の新生児の抗体保有率は、1:16以上で97.4%、1:128以上で89.8%であり、妊婦の97.6%及び88.4%とほぼ一致しており、確実に抗体が移行していることが確認できたことから、新生児期から乳児早期における麻疹の感染防止のためには、妊娠可能年齢群でのワクチン接種歴の有無や麻疹既往歴調査など

を積極的に実施し、麻疹感受性群に対してはワクチン接種を積極的に勧奨すべきであろう。

新生児スクリーニングや妊婦スクリーニングで得られる乾燥濾紙血液を用いる麻疹抗体価測定による感受性者の実態調査は、適切な麻疹流行対策の実施に有用な情報を提供できることから、今後も定期的実施すべきものとする。

【経費使途明細】

麻疹抗体測定試薬（セロディア PA 麻疹 36,000 円 × 14 箱） * 1.05	529,200 円
U 型マイクロプレート（14,400 円 × 1 箱） * 1.05	15,120 円
合 計	544,320 円