

## 26. ムンプスウイルス流行株とワクチン株の抗原性解析

○山中 靖貴 (地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所)  
中田 恵子 (地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所)

### 【研究目的】

ムンプスはムンプスウイルスの感染により唾液腺（主に耳下腺）の有痛性腫脹を引き起こす疾患で、「流行性耳下腺炎」または「おたふくかぜ」として知られている<sup>1)</sup>。ムンプスの予防にはワクチン接種が有効であるが、ワクチンによる無菌性髄膜炎の発症が懸念され、我が国では任意接種となっている。そのため接種率は約 30～40%と低迷し、3～5 年毎に全国規模の流行を繰り返している。一方、ワクチン接種が義務付けられている諸外国でのアウトブレイクや、日本国内でもワクチン接種者における患者の発症が認められている<sup>2)-4)</sup>。そこで、本研究ではムンプスウイルスがワクチンによる免疫から回避する原因の一つとして、流行株とワクチン株の遺伝系統学的乖離に伴う抗原性の変化に着目し、ムンプスウイルスの抗原性に関連する領域についてゲノム解析を行い、ワクチン効果減弱の要因を探ることを目的とする。

### 【研究の必要性】

ムンプスに感染すると、無菌性髄膜炎、脳炎、精巣炎、睪炎、卵巣炎、甲状腺炎、感音性難聴など様々な合併症が発生し、重篤な後遺症を残す場合がある。唯一の予防手段であるムンプスワクチンは、麻疹・風疹との混合ワクチンである MMR ワクチンとして、1986 年から定期接種化されたが、副反応による無菌性髄膜炎の発症が社会問題化し、1993 年に定期接種が中止された。現在、ムンプスは周期的な流行を繰り返しており、国内では直近で 2015-16 年度にムンプスの流行が認められ、合併症として最も頻度の高い無菌性髄膜炎も多数報告された。流行の主体はムンプスに対する抗体を保有しないワクチン非接種者であるが、国内外でワクチン接種者の感染も少なからず報告されている。大阪府においても、2015-16 年度のムンプス流行時に感染症発生動向調査で搬入された検体のうち、流行性耳下腺炎あるいは無菌性髄膜炎の患者でムンプスウイルスが検出された患者 78 人中 18 人 (23%) ではワクチンを 1 回以上接種していた。ムンプスに対する抗体を保有しながら発症してしまう原因の一つとして、ワクチン株の遺伝子型（我が国は B 型；星野株と鳥居株の 2 種類）と流行株（G 型）との遺伝系統的乖離や体内の免疫圧によるウイルス抗原性の変化による免疫からの回避が考えられる。ムンプスウイルスの血清型は 1 つであるとされているが、近年、中和抗体エピトープが集積する領域は遺伝子型による多様性が高い領域と重複することが明らかとなってきた。ワクチン接種の真の有効性を担保するためには流行株とワクチン株の抗原性の一致が必須であり、流行株の抗原性に関係する領域のゲノム解



次に、流行株 11 株（G 型）とワクチン株 2 株（星野株と鳥居株、共に B 型）について F および HN 領域のアミノ酸配列を比較した（図 2）<sup>7)</sup>。F 領域のアミノ酸解析の結果、11 株全てにおいて膜融合促進および神経毒性に関連するとされる 91 番目の残基がワクチン株（鳥居株）と異なり、また膜融合促進に関連する 383 番目の残基がワクチン株（星野株）とは異なっていた。さらに、開裂部位である 100 番目の残基が 4 株でワクチン株の双方と異なっていた（図 2 上）。HN 領域では、N-結合型糖鎖の付加と関連する部位である 12 番目；9 株、13 番目；4 株でワクチン株の双方とアミノ酸残基が異なっていた。また、抗体結合部位である B 細胞エピトープとして報告されている領域の中で 113、121、122、375、399、403 番目のアミノ酸残基が 11 株全てで双方のワクチン株と、119、351、396、533 番目のアミノ酸残基で双方または一方のワクチン株と複数の株で異なっていた（図 2 下）。

株	ワクチン接種有無	F領域: 1617塩基、538アミノ酸																											
		大阪府外の流行株またはワクチン株と異なるアミノ酸の位置と種類																											
		3	4	8	14	16	18	60	77	89	91	95	100	151	194	269	307	355	383	449	479	480	483	488					
MuVii/Osaka.JPN/6	x	V	S	C	F	F	A	P	S	N	A	P	Q	V	T	M	D	A	L	Q	I	N	I	I					
MuVii/Osaka.JPN/9	x	V	S	C	F	F	A	P	S	N	A	P	Q	V	T	M	D	A	L	Q	I	N	I	I					
MuVii/Osaka.JPN/11	x	V	S	C	F	F	A	P	S	N	A	P	Q	V	T	M	D	A	L	Q	I	N	I	I					
MuVii/Osaka.JPN/1	OA型	V	S	C	F	F	T	T	S	N	A	P	H	V	A	M	D	A	L	Q	I	N	I	I					
MuVii/Osaka.JPN/4	OB型	V	S	C	F	F	T	P	S	N	A	P	Q	V	T	M	D	A	L	Q	I	N	I	I					
MuVii/Osaka.JPN/5	OB型	V	S	C	F	F	T	T	S	N	A	P	H	V	T	T	D	A	L	Q	I	N	T	I					
MuVii/Osaka.JPN/7	OB型	V	S	C	F	F	T	T	S	N	A	P	H	V	T	M	E	A	L	Q	I	N	I	I					
MuVii/Osaka.JPN/8	OB型	V	S	C	F	F	T	T	S	N	A	P	H	I	T	M	D	A	L	Q	I	Y	T	I					
MuVii/Osaka.JPN/10	OB型	V	S	C	F	F	T	T	S	N	A	P	H	V	T	I	D	A	L	Q	I	Y	T	I					
MuVii/Osaka.JPN/2	不明	V	S	C	F	F	T	A	S	K	A	P	H	V	T	M	D	A	L	Q	I	N	I	I					
MuVii/Osaka.JPN/3	不明	V	S	C	F	F	T	T	G	N	A	P	H	V	T	M	D	A	L	K	I	N	I	I					
MuV/Hoshino vaccine (B型)		A	F	Y	L	S	V	T	S	N	A	S	H	V	T	M	D	A	L	Q	V	N	I	V					
MuV/Torii vaccine (B型)		A	F	C	F	S	V	T	S	N	T	S	H	V	T	M	D	A	L	Q	V	N	I	V					

株	ワクチン接種有無	HN領域: 1749塩基、582アミノ酸																													
		大阪府外の流行株またはワクチン株と異なるアミノ酸の位置と種類																													
		6	9	12	13	21	36	49	65	72	76	113	119	121	122	171	212	227	295	326	351	375	396	399	403	410	444	492	533		
MuVii/Osaka.JPN/6	x	F	I	S	A	I	L	I	S	T	R	A	C	S	Q	T	V	F	S	I	S	I	V	G	M	V	P	H	T		
MuVii/Osaka.JPN/9	x	F	I	S	A	I	L	I	S	T	R	A	C	S	Q	T	V	F	S	I	S	I	V	G	M	V	P	H	T		
MuVii/Osaka.JPN/11	x	F	I	S	A	I	M	I	S	T	K	A	C	S	Q	T	V	F	S	V	S	I	I	S	M	V	P	Q	T		
MuVii/Osaka.JPN/1	A型O	F	I	S	T	I	L	I	N	T	R	A	C	S	Q	T	V	F	S	V	A	I	V	S	M	V	P	Q	T		
MuVii/Osaka.JPN/4	B型O	F	I	N	A	I	M	T	S	T	R	A	C	S	Q	T	V	F	S	V	S	I	V	S	M	V	P	Q	T		
MuVii/Osaka.JPN/5	B型O	F	I	S	T	I	L	I	N	T	R	A	C	S	Q	T	V	F	S	V	A	I	V	S	M	V	P	Q	T		
MuVii/Osaka.JPN/7	B型O	F	I	S	A	I	M	I	S	T	R	A	C	S	Q	S	V	F	S	V	S	I	V	S	M	V	P	Q	T		
MuVii/Osaka.JPN/8	B型O	F	I	S	A	I	L	I	S	T	R	A	C	S	Q	T	V	F	S	I	S	I	V	G	M	V	P	H	T		
MuVii/Osaka.JPN/10	B型O	F	I	N	A	I	M	I	S	T	R	A	C	S	Q	T	V	L	S	V	S	I	V	S	M	V	P	Q	T		
MuVii/Osaka.JPN/2	不明	F	I	S	T	I	L	I	N	T	R	A	C	S	Q	T	V	F	S	V	A	I	V	S	M	V	P	Q	T		
MuVii/Osaka.JPN/3	不明	F	I	S	T	I	L	I	N	T	R	A	C	S	Q	T	V	L	S	V	A	I	V	S	M	V	P	Q	T		
MuV/Hoshino vaccine (B型)		L	M	N	A	V	L	I	S	A	R	S	R	G	K	T	I	F	T	V	S	V	V	N	L	V	Q	Q	N		
MuV/Torii vaccine (B型)		L	M	N	A	V	L	I	S	A	R	S	C	G	K	T	I	F	T	V	S	V	V	N	L	I	Q	Q	T		

図 2 各株間のアミノ酸配列差異 F 領域（上）HN 領域（下）

アミノ酸番号；赤字は膜融合促進および神経毒性関連部位 青字は開裂部位  
 緑字は膜融合促進関連部位  
 橙字は N-結合型糖鎖付加関連部位 紫字はエピトープ部位

【考察と今後の課題】

SH 領域は最も遺伝的多様性が高いことから、ウイルスの分類・同定に用いられる。SH 領域の系統樹解析により、本研究で用いた大阪における G 型流行株 11 株は 1 つのクラスターを形成し、近縁であることが示された。

流行株とワクチン株について F 領域および HN 領域のアミノ酸配列を比較したところ、F 領域では宿主細胞への侵入時に機能する膜融合促進部位、開裂部位に関連するアミノ酸残基が、HN 領域では糖鎖結合部位、抗体と結合する領域である B 細胞エピトープ領域のアミノ酸残基がワクチン株の双方あるいは一方とは異なっていた。これらの結果より、流行株は宿主との相互関係や抗原性に関して、ワクチン株とは異なる可能性が示唆された。

近年、HN タンパク質の立体構造が解明され、報告されている中和抗体のエピトープマッピングにより、その多くが受容体結合部位の近傍に集中していることが明らかになっている<sup>8)</sup>。本研究で認められた HN 領域のワクチン株との違いは既報の B 細胞エピトープと一致しており<sup>7)</sup>、中和抗体エピトープが含まれている可能性がある。

このエピトープが集中する領域のアミノ酸配列は遺伝子型間で多様性が高いことがわかっている。そのため、遺伝子型が異なるムンプスウイルスに対する抗体では宿主細胞への侵入を完全には防御できない可能性が示唆されている。本研究におけるワクチン接種者のムンプス発症についても、B 型ワクチン株で得られた免疫では G 型流行株による発症を予防できなかったことが原因の一つであると考えられた。

一方、今回の解析では、ワクチン接種者と非接種者の間でワクチン株とのアミノ酸残基の違いに特徴的な傾向は認められなかった。ワクチン接種による免疫の介在がウイルスの中和抗体エピトープのアミノ酸に影響を及ぼす可能性を評価するためには、より多くのワクチン接種者と非接種者から得られたムンプスウイルス遺伝子を解析する必要がある。本研究と同様のアプローチで、流行期に採取されたより多くの患者検体を用いて、流行株ウイルスでのワクチンによる免疫圧の影響を引き続き調査する。

さらに、ムンプスワクチンの定期接種化に向け、現在日本で使用されている B 型ワクチンの異なる遺伝子型ウイルスに対する真の有効性を評価する必要がある。そのためには、宿主側からのアプローチも必要となる。「遺伝子型特異的に産生される中和抗体が他の遺伝子型をどの程度中和できるのか」を明らかにするためには、血清学的な調査が必須であると考えられた。

## 【参考文献】

- 1) Rubin S. *et al.*, Molecular biology, pathogenesis and pathology of mumps virus. J Pathol 2015; 235:242-252
- 2) CDC (USA) , MMWR. 1995, 44 (SS-3)
- 3) CDC (USA) , MMWR. 2006 55: 175-7
- 4) Yoshida N. *et al.*, Mumps virus reinfection is not a rare event confirmed by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. J. Med. Virol, 2008 80:517-523

- 5) Kashiwagi Y. *et al.*, Sequence analysis of F, SH, and HN genes among mumps virus strains in Japan. Arch. Virol 1999; 144:593-599
- 6) Gouma S. *et al.*, Two major mumps genotype G variants dominated recent mumps outbreaks in the Netherlands (2009-2012). Journal of General Virology 2014, 95:1074-1082
- 7) Gouma S. *et al.*, Differences in antigenic sites and other functional regions between genotype A and G mumps virus surface proteins. SCIENTIFIC REPORTS 2018, 8:13337
- 8) Kubota M. *et al.*, Trisaccharide containing alpha2,3-linked sialic acid is a receptor for mumps virus. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016, 113 (41) : 11579-11584

**【経費使途明細】**

使 途	金 額
オリゴDNAプライマー(11~30mer)	62,122 円
TE	8,910 円
PCR 酵素	23,188 円
エタノール	1,749 円
アガロース	23,870 円
TAE	5,940 円
DNA 精製キット	26,950 円
シークエンス関連試薬	118,558 円
チップ	19,470 円
ラック	3,960 円
振込手数料	4,070 円
合 計	298,787 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円