

7. 千葉県内で確認した麻疹再感染例における

ウイルス中和抗体の評価

○西嶋 陽奈 (千葉県衛生研究所 ウイルス・昆虫医科学研究室 研究員)

小川 知子 (千葉大学大学院医学研究院 分子ウイルス学 特任講師)

【研究目的】

麻疹ウイルスに対する感染防御免疫の最も直接的な指標は中和抗体価とされるが、市中流行株（遺伝子型 D8、B3、H1）に対する反応性は十分に報告されていない。麻疹が再興し、ワクチン接種者や既感染者からの感染例（再感染例）が存在することに鑑みて、本研究は再感染例に焦点をあて、2016～19年の千葉県内の麻疹例のうち、遺伝子検査陽性例と遺伝子検査陰性であった例を用いて、市中流行株と抗体の反応性を評価することを目的とした。

【研究の必要性】

麻疹は発熱、発疹、カタル症状を主徴とする麻疹ウイルス（以下、MeV）によって引き起こされる急性熱性発疹性感染症である¹⁾。MeVは24の遺伝子型に分類されるが、血清型は単一で、抗原変化はほとんど起こらない²⁾。その特性を生かし、安定的な生ワクチンが開発・接種され、以降世界的に感染者は減少している。しかし近年、排除国で麻疹が再興し、わが国でも、千葉県をはじめ国内各地で小流行が発生し³⁾、2016年はD8が、2018年はB3による小流行を経験している。2016年以降に千葉県で確認された麻疹遺伝子検査陽性例を対象に、抗体成熟度の指標であるIgG avidityを測定したところ、ワクチン緊急接種を除く54%の症例がhigh avidityであり、半数以上が再感染例とされるsecondary vaccine failure例または既感染例であることが明らかになった⁴⁾。このことから、ワクチン接種（または過去に感染）し免疫を獲得していても、抗体の量的または質的な点で感染を防御できない可能性が示唆された。

現在、世界的に流行している遺伝子型はD8、B3、H1が主であり、2010年頃に流行していたB2、C2、D3や、日本の土着株のD5は、現在検出されておらず、MeVの遺伝子型が変遷していることがわかるが、その理由は明らかになっていない。

再感染例の市中流行株（遺伝子型D8、B3、H1）と抗体の反応性を評価することは、再感染例の免疫能を把握し、さらに流行遺伝子型変遷の原因を解明する一助になるものと考え本検討を実施した。

【研究計画】

(1) 研究対象の選定

2016～19年に千葉県衛生研究所に検体搬入された麻疹疑い例のうち、遺伝子検査陽性の38例と遺伝子検査陰性の25例（無作為抽出）の血清を使用した。また麻疹遺伝子検査陽性例のうち、IgG avidity (EUROIMMUN) を測定し、relative avidity index 60%以上を再感染例の指標とし、High Avidity (HA)、Low Avidity (LA)の2群に区別した。

(2) 使用ウイルス株の分離と中和用ウイルスの使用希釈濃度の決定

標準ウイルス（ロット T-003 シュワルツ株、遺伝子型 A）は国立感染症研究所分与のものを使用し、滅菌蒸留水 0.7mL で溶解後、Vero/hSLAM 細胞で増殖させた。市中流行ウイルス株（遺伝子型 D8、B3、H1）は、麻疹ウイルス陽性の臨床検体（血液、咽頭ぬぐい液、尿）を用いて、Vero/hSLAM 細胞で分離した。

2×10^5 cells/mL に調製した細胞プレートを使用して、各ウイルス液の希釈系列を接種し、1well あたり 25 以上 35 未満 PFU/50 μ L を満たすウイルス希釈濃度を決定した。

(3) ウイルス株毎の中和抗体価の測定

ウイルス株毎の中和抗体価の測定は既報に従い行った⁵⁾。50%中和希釈率（ND50）はBehrens-Karber 法を用いて算出した。

なお、本研究は千葉県衛生研究所等疫学倫理審査委員会の承認を得て実施した（No. 77）。

【実施内容・結果】

(1) 使用ウイルス株の分離と中和用ウイルスの使用希釈濃度の決定

使用するウイルスは表 1 のとおりとした。また、各ウイルスは 25 以上 35 未満 PFU/50 μ L となるように希釈濃度を決定した。

表 1 使用ウイルス株

遺伝子型	ウイルス株名
A	Schwarz
D8	MVi/Chiba.JPN/30.16[D8]
B3	MVi/Chiba.JPN/41.18[B3]
H1	MVi/Chiba.JPN/35.03[H1]



図 1 ウイルス力価（25 以上 35 未満 PFU/50 μ L）

(2) 研究対象の分類

麻疹遺伝子検査陽性の内、High Avidity (HA) は 24 例、Low Avidity (LA) は 15 例であった。このことから、HA の 24 例は麻疹再感染が疑われる例、LA の 15 例は初感染を疑われる例であると考えられた。麻疹遺伝子検査陰性 (MeV(-)) 25 例は全例が High avidity であ

った。以上から、今回の検討では、HA 群 24 例、LA 群 15 例、MeV(-) 群 25 例の 3 群で各遺伝子型に対する ND50 を比較した。

(3) 中和抗体価の測定

各群における遺伝子株に対する中和抗体価を図 2 に示した。LA 群の ND50 幾何平均中和抗体価 (GMT) は、A 株で 319.3、D8 株で 1774.4、B3 株で 492.2、H1 株で 946.8 であった。HA 群の GMT は、A 株で 1886.3、D8 株で 6576.5、B3 株で 3517.4、H1 株で 7396.4 であった。MeV(-) 群の GMT は、A 株で 1745.0、D8 株で 1751.2、B3 株で 711.6878、H1 株で 2050.0 であった。

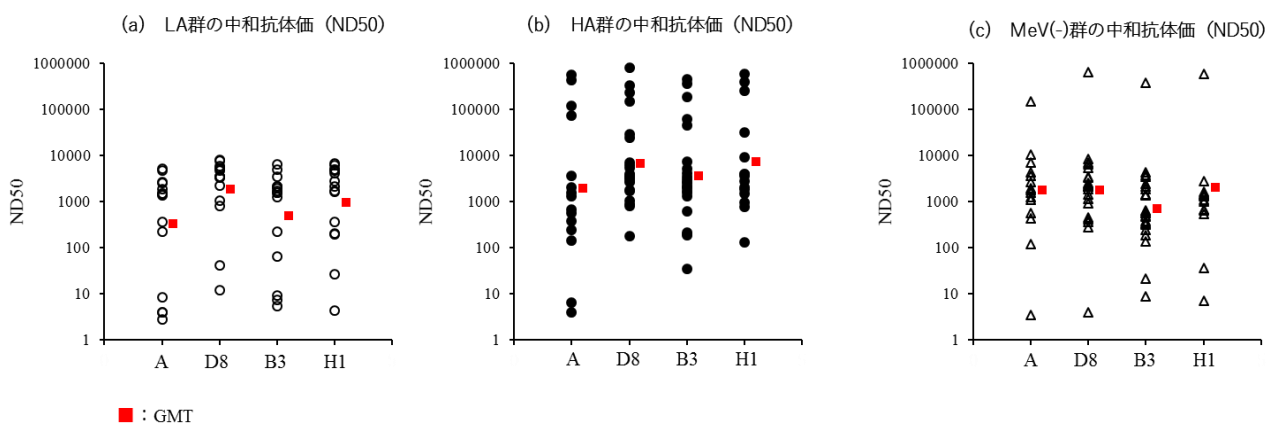


図 2 各群における遺伝子株に対する中和抗体価

(4) 遺伝子型 A に対する市中流行株の中和抗体価の相関性

各群における A 株に対する D8、B3、H1 株の相関性を図 3 に示した。相関係数 (r) が最も高かったのは HA 群における D8 株に対してであり ($r=0.9263$)、次いで HA 群における B3 株に対して ($r=0.9153$) であった (表 2)。各群における A 株に対する各遺伝子型の r は、 $0.6455 \sim 0.9263$ であり、いずれの遺伝子型に対しても高い相関性を認めた。

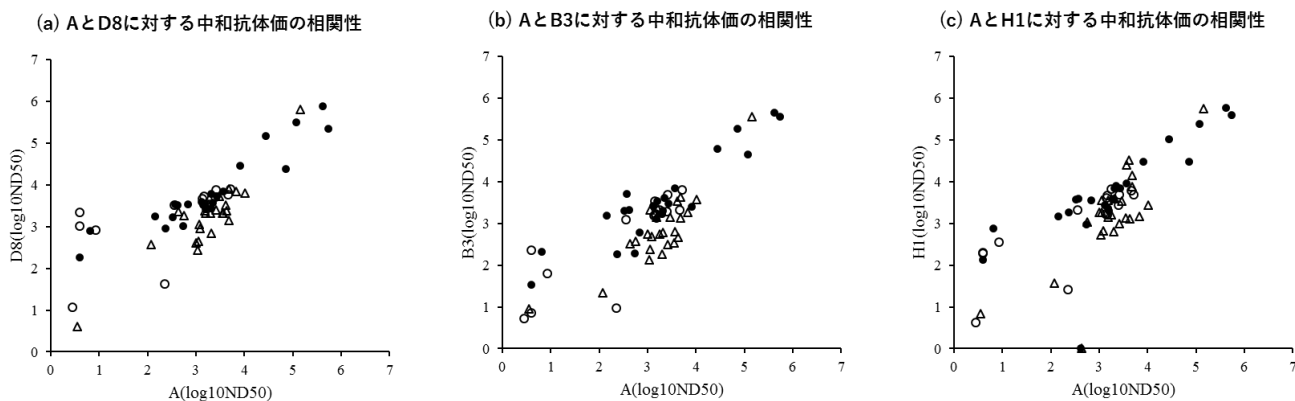


図 3 遺伝子型 A に対する市中流行株の中和抗体価の相関性

表 2 A 株に対する D8、B3、H1 株の相関係数

	D8	B3	H1
HA群	0.9263	0.9153	0.7691
LA群	0.6455	0.8436	0.8036
MeV(-)群	0.9048	0.8607	0.7906

【考察と今後の課題】

従来の麻疹に対する抗体価は、ワクチン株である遺伝子型 A を抗原とする方法が用いられており、近年に流行した遺伝子型 D8 や B3 に対する中和抗体価は測定されておらず、特に、麻疹再感染例に関しての市中流行株に対する中和能を評価した報告はほとんどなかった。結果、HA 群の各遺伝子型に対する GMT は、MeV(-)と同等もしくは 2 倍以上の高い抗体価を有しており、ワクチン株と市中流行株間での交差反応性が保たれていることが明らかとなった。特に D8 に対する中和抗体価が高いことが特記すべき点であった。2016～19 年で検出されたウイルスは遺伝子型 D8 が最も多くを占めており、流行株に暴露され、より強く D8 に対する中和能を誘導した可能性が示唆された。

今後の課題として、MeV のプラーク形成能は株間で異なることから、プラーク減少法で中和抗体価を厳密に比較するためには、試験系の最適化が重要であると考えられた。

また、今回の検討では細胞性免疫については検討していない。麻疹再感染例の複雑な免疫反応を理解するうえで、今後は細胞性免疫についても詳細に検討しておく必要があると考えられた。

【参考文献】

- 1) DE. G. Measles virus. *Fields Virol.* 5, 1551-85, 2007
- 2) Maino Tahara. et al. *Viruses.* 8, 216, 1-15, 2016
- 3) 西嶋 陽奈. et al. *臨床とウイルス.* 46 (1), 24-32, 2018
- 4) Haruna Nishijima. et al. (投稿中)
- 5) Bernard J. Cohen. et al. *Vaccine.* 26, 59-66, 2007

【経費使途明細】

使 途	金 額
消耗品費 (フィルター受器、細胞培養フラスコ、アスピレーティングピペット、培養プレート等)	149,437 円
試薬費 (Geneticin Selective Antibiotic Solution、Neutral Red Solution、Dulbecco's Modified Eagle's Medium-high glucose 等)	148,583 円
振り込み手数料	1,980 円
合 計	300,000 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円