

【調査研究】

感染症流行予測調査（平成23年度ポリオ感染源調査）

Epidemiological Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases
Surveillance of Poliovirus in Okayama Prefecture (2011-2012)

溝口嘉範, 木田浩司, 濱野雅子, 藤井理津志, 葛谷光隆, 羽原 誠* (ウイルス科)
*保健福祉部健康推進課

Yoshinori Mizoguchi, Koji Kida, Masako Hamano, Ritsushi Fujii, Mitsutaka Kuzuya,
Makoto Habara* (Department of Virology)

*Public Health Policy Division, Department of Health and Social Welfare, Okayama prefectural Government

要 旨

麻痺性ポリオは、ポリオウイルス感染によってまれに発症し、筋力低下、筋緊張低下、筋肉萎縮等の後遺症が残る重篤な感染症である。我が国では、昭和39年から生ポリオワクチンによる定期接種が開始され、平成12年にポリオの根絶をWHOに報告した。しかし、野生株の侵入及びワクチン株が変異したワクチン由来ポリオウイルス（VDPV）によるポリオ流行の可能性が依然として存在する。このため、厚生労働省委託事業である感染症流行予測調査の一環として、ポリオウイルス野生株の侵入監視を目的とした感染源調査を実施した。調査は平成23年8月に岡山市の健康な保育園児60名を対象に、糞便検体を採取し、ポリオウイルスの分離を試みた。その結果、1検体からポリオウイルス3型が分離されたが、詳細な解析の結果ワクチン株と判明し、野生株の国内侵入及びVDPVの伝播は認められなかった。

[キーワード：感染症, サーベイランス, ポリオウイルス]

[Key words : Infectious disease, Surveillance, Poliovirus]

1 はじめに

ポリオは急性灰白髄炎とも呼ばれ、エンテロウイルス属のポリオウイルスによって引き起こされる感染症である。ポリオウイルスには1型, 2型及び3型という3種類の血清型が存在する。免疫を持たないヒトがポリオウイルスに感染すると、多くは風邪様症状を呈した後に回復するが、まれに麻痺性ポリオを発症する。ポリオウイルスは運動神経細胞で増殖し細胞を破壊することにより、感染した神経細胞支配下の筋肉に恒久的な麻痺をもたらす¹⁾。現在のところ、ポリオに対する特異的な治療薬は存在しないため、流行制御の基本はワクチンによる予防接種である。我が国では生ポリオワクチンの導入後、患者数は激減し、野生株によるポリオ患者は昭和55年を最後に発生していない。しかし、海外との交易によりポリオ流行地域からポリオウイルス野生株が国内に侵入する可能性があることから継続的な監視が必要である。また、生ポリオワクチン株が変異し毒性を回復したことでポリオを引き起こす可能性があるワクチン由来ポリオウイルス（Vaccine-Derived Poliovirus : 以下「VDPV」という。）の監視も継続的に行う必要がある。VDPVはワクチン株がヒトの間で感染を繰り返すうちにカプシドVP1領域の塩基配列が1.0%～15%変異したポリ

オウイルスと定義され、諸外国ではVDPVによるアウトブレイクも数多く報告されている^{2)～5)}。

厚生労働省委託事業である感染症流行予測調査は、予防接種が実施されているさまざまな感染症に対する集団免疫の把握（感受性調査）及び病原体の検索等の調査（感染源調査）を行うことで、総合的に感染症の流行を予測するとともに、予防接種事業の効果的な運用を図ることを目的としている。ポリオウイルス感染源調査（以下「感染源調査」という。）はその一環であり、ポリオ流行地域からのポリオウイルス野生株の輸入及びVDPVの伝播を監視することを目的にしている。本県では昭和55年から感染源調査を継続的に実施しているが、平成23年度についても引き続き調査を行った。

2 材料及び方法

2.1 検査対象

岡山市内のM保育園の健康な園児60人（男性：30人、女性：30人、0～1歳20人、2～3歳20人、4～6歳20人）を対象に、生ポリオワクチン接種時期（4月から5月）から2ヶ月以上経過した平成23年8月2日～8月11日の期間に糞便を採取し、試験に供した。

2.2 ウイルス分離試験

感染症流行予測調査実施要領（平成23年度）及び伝染病流行予測検査術式（平成7年度）⁶⁾に従い、FL細胞及びRD18S細胞を使用した。24穴培養プレートに単層培養した各細胞について維持培養液に交換後、10%糞便上清を100 μ L接種し、35℃で7日間観察した。7日間観察しても細胞変性効果（cytopathic effect：以下「CPE」という。）が現れない時は、凍結融解後、培養上清100 μ Lを新しい細胞に継代し、さらに7日間観察した。計14日間観察してCPEが現れない場合はウイルス分離陰性とした。観察期間中にCPEが出現した検体についてウイルス分離陽性とし、同定試験に供した。

2.3 ウイルス同定試験

分離されたウイルスの同定は中和試験により行った。抗血清はエンテロウイルスNT試薬「生研」（デンカ生研）、エコーウイルス中和用プール血清（EP-95）（国立感染症研究所分与）及びアデノウイルスNT試薬「生研」（デンカ生研）を用いた。

中和試験によって同定されたポリオウイルスについては国立感染症研究所に型内鑑別試験を依頼した。

中和試験で同定できなかった分離株のうち、CPEの形態からエンテロウイルス属であると推測されたものは、病原体検出マニュアル⁷⁾の「ヘルパンギーナ」の項に従い、VP4-VP2部分領域を逆転写PCRにより増幅した。また、アデノウイルス属と推測されたものは、病原体検出マニュアル⁷⁾の「アデノウイルス性結膜炎」の項に従い、ヘキソン蛋白をコードする遺伝子のHVR4、HVR5及びHVR7部分領域を逆転写PCRにより増幅した。次に、Applied Biosystems 3500 ジェネティックアナライザ（life technologies社）を用いたダイレクトシークエンス法で塩基配列を決定し、DNA Data Bank of Japan (DDBJ) のBLAST検索により型の同定を行った。

3 結果

表1に今回の感染源調査で分離されたウイルスを年齢別に示した。1歳の男児からポリオウイルス3型が分離された。検出されたポリオウイルスのカプシドVP1全領域の塩基配列についてワクチン株（Sabin株）遺伝子との相同性解析を行った。その結果、ポリオウイルス3型ワクチン株と99.6%の相同性であったため、ポリオウイルス3型ワクチン株と最終判定された。その他のウイルスとしてコクサッキーウイルスA10型（以下「CA10」という。）4株（0歳児1人、1歳児1人、2歳児2人）、コクサッキーウイルスB1型（以下「CB1」という。）9株（1歳児2人、3歳児2人、4歳児3人、5歳児2人）、アデノウイルス1型（以下「AD1」という。）2株（4歳児2人）、アデノウイルス5型（以下「AD5」という。）2株（1歳児2人）が分離された。

4 考察

感染源調査はポリオ流行地域からのポリオウイルス野生株の輸入及びVDPV伝播の可能性を調査する病原体サーベイランスとして毎年実施されている。本県では昭和55年から感染源調査を実施しているが、今回初めてポリオウイルスを検出した。国立感染症研究所による型内鑑別試験の結果、検出されたポリオウイルスはワクチン株であり、野生株の侵入及びVDPVの伝播は認められなかった。

当該ウイルスが検出された1歳男児は過去に生ポリオワクチンの予防接種を受けておらず、予防接種受診者の腸管内で増殖したワクチン株から感染したと考えられる。生ポリオワクチンは弱毒化されたものであるが、腸管内で感染を繰り返すうちに元の毒性を回復し、VDPVに変異することが指摘されている²⁾。今回の感染源調査ではワクチン接種時期から2ヶ月後に採便を行っていたため、当該児からVDPVが検出されることが危惧された。しかし、今回検出されたポリオウイルスはワクチン株と比較して1.0%未満の変異であり、VDPVではなかった。保育園のような集団生活を送る0歳児、1歳児においては糞口感染が繰り返し起

表1 年齢別ポリオウイルス及びその他のウイルス分離成績

年齢 (歳)	検体数	ポリオウイルス			コクサッキーウイルス		アデノウイルス		合計
		1型	2型	3型	A10型	B1型	1型	5型	
0	4	—	—	—	1	—	—	—	1
1	16	—	—	1	1	2	—	2	6
2	10	—	—	—	2	—	—	—	2
3	10	—	—	—	—	2	—	—	2
4	11	—	—	—	—	3	2	—	5
5	8	—	—	—	—	2	—	—	2
6	1	—	—	—	—	—	—	—	0
合計	60	0	0	1	4	9	2	2	18

こりやすく、ワクチン株がVDPVに変異し、その感染によりポリオを発症する可能性がある。したがって、集団生活に入る前の乳幼児に対しポリオの予防接種を徹底することが極めて重要である。

ポリオウイルス以外にコクサッキーウイルスではCA10が4株、CB1が9株検出された。CA10は県内の感染症発生動向調査においても8月に8株分離されていることから、CA10の広範な浸淫があった可能性が高いと考えられる。一方、CB1は今回の感染源調査で最も多く分離されたにもかかわらず、県内の感染症発生動向調査においては全く分離されていなかった。一般にエンテロウイルスは不顕性感染が多く、感染者の多くは医療機関を受診しないと考えられる。感染症発生動向調査が医療機関受診者を対象とするのに対し、感染源調査は基本的に健康者を対象にしていることが一因として考えられる。全国的にはCB1はコクサッキーウイルスB群では最も報告数が多かったこと⁸⁾を勘案すると、本県にもCB1の広範な浸淫があった可能性が高いと考えられる。

また、アデノウイルスではAD1及びAD5が2株ずつ検出された。AD1は県内の感染症発生動向調査でも8月に2株検出されていることから、AD1の広範な浸淫があった可能性が高いと考えられる。一方、AD5は岡山県内の感染症発生動向調査においては全く分離されていなかった。しかし、全国的には通年で検出され、アデノウイルスの中では4番目に報告数が多かったこと⁸⁾を勘案すると、本県にも年度を通じたAD5の広範な浸淫があった可能性が高いと考えられる。

感染源調査は健常児を対象にしており、患者を対象とする感染症発生動向調査では掴みきれないウイルスの浸淫状況を推察できる点で意義深く、今後も継続的な調査が必要である。

また、平成24年秋には不活化ポリオワクチンの導入が予定されているため、生ポリオワクチンの接種控えによる接種率の低下が問題となっている。実際に全国の生ポリオワクチンの予防接種率は平成22年度（春：99.4%、秋：90.8%）に比べ平成23年度（春：83.5%、秋：75.6%）は大きく低下しており⁹⁾、平成24年春の接種率はさらに低下すると予想される。接種率の低下によって集団免疫の維持が困難になると、未接種者が野生株又はVDPVに感染することが危惧される。このため、平成24年度のポリオウイルス感染源調査において検出動向の把握が例年以上に重要となる。

文 献

- 1) 清水博之, 吉田弘, 宮村達男: 野生株ポリオウイルスの実験室封じ込めに関するWHO世界的行動計画第2版, ウイルス, 55, 1, 161-178, 2005
- 2) Kew OMV, Morris-Glasgow M, Landaverde C, Burns J, Shaw Z, et al. : Outbreak of poliomyelitis in Hispaniola associated with circulating type 1 vaccinederived poliovirus, Science, 296 (5566), 356-9, 2002
- 3) Estivariz CF, Watkins MA, Handoko D, Rusipah R, Deshpande J, et al. : A large vaccine-derived poliovirus outbreak on Madura Island-Indonesia, 2005, J Infect Dis, 197, 3, 347-54, 2008
- 4) Liang X, Zhang Y, Xu W, Wen N, Zuo S, et al. : An outbreak of poliomyelitis caused by type 1 vaccine-derived poliovirus in China, J Infect Dis, 194, 5, 545-51, 2006
- 5) Aylward B and Yamada T : The polio endgame, N Engl J Med, 364, 2273-2275, 2011
- 6) 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課・国立予防衛生研究所流行予測事業委員会: 伝染病流行予測検査術式, 1995
- 7) 国立感染症研究所他: 病原体検出マニュアル
- 8) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課: 病原微生物検出情報, Vol.33, No.3, 81, 2012
- 9) 厚生労働省健康局結核感染症課: ポリオ（急性灰白髄炎）の予防接種の状況調査結果, ポリオワクチンに関する広報及び急性弛緩性麻痺患者の正確な診断に係る周知について, 平成24年3月15日, 事務連絡, 2012