

## 愛媛県で分離されたムンプスウイルスの遺伝子解析 — 2001 年流行性耳下腺炎の流行を中心として —

吉田紀美 加藤 篤\*<sup>1</sup> 山下育孝 近藤玲子 大瀬戸光明 浅井忠男 井上博雄

### The Phylogenetic Analysis of Mumps Virus In Ehime Prefecture — An Epidemic of Mumps in 2001 —

Kimi YOSHIDA, Atushi KATO, Yasutaka YAMASHITA, Reiko KONDO,  
Mitsuaki OSETO, Tadao ASAI, Hiroo INOUYE

In Ehime Prefecture mumps epidemics have been observed every 3 or 5 years since 1987. The epidemic in 2001-2002 was second greatest epidemics in the past fifteen years, which was especially prevalent in Yawatahama-Ozu area. During the epidemic, mumps virus (MV) were isolated from cerebrospinal fluids or throat swabs from patients of mumps, aseptic meningitis, upper respiratory infection and other.

Seventy isolates of MV from 1987 to 2001 were analyzed by sequencing of the small hydrophobic (SH) gene. By phylogenetic analysis those isolates could be grouped into three genotypes (B, G, J). All MV strains before 1996 were classified in genotype B, but after 1997 MV isolated were strains of genotype G, J and B. In 2001 twenty-five isolates of MV were tested, in which sixteen strains were grouped in genotype G, so it was suggested that MV strains of genotype G were major cause of the epidemic in 2001 and a few strains of genotype B and J were co-circulated in Ehime Prefecture.

**Keywords :** mumps, mumps virus (MV), SH gene

#### はじめに

愛媛県において、2001年から2002年にかけて流行性耳下腺炎(ムンプス)の流行がみられた。愛媛県感染症発生動向調査によると、その流行規模は1989年に次ぐ患者発生となった。

ムンプスウイルス(MV)はパラミクソウイルス科 Rublavirus 属に属し、遺伝子として一本鎖(-)RNA をもっている。近年、MVの産生するエンベロープ蛋白のうち、small hydrophobic (SH) 蛋白をコードする遺伝子の解析により遺伝子型別の結果が報告されている<sup>1-3)</sup>。

今回の愛媛県におけるムンプス流行期間中に分離されたMVについてSH遺伝子の塩基配列を決定し、分子疫学的解析を行った。

また併せて1987年から2000年に分離されたMVの遺伝子解析を行い、愛媛県における過去15年間の遺伝子型の推移についても検討したので報告する。

#### 対象と方法

##### 1) ムンプス患者の発生状況

愛媛県感染症発生動向調査事業における小児科定点からのムンプス患者報告数を集計した。

##### 2) ウイルス分離

愛媛県感染症発生動向調査事業小児科定点等からムンプス、無菌性髄膜炎をはじめ上気道炎、不明熱患者等の咽頭ぬぐい液、髄液を採取し、ウイルス分離を試みた。FL, RD-18s, Veroの各細胞を使用した培養細胞法により、33°C14日間回転培養の後、Vero細胞にMV特有の細胞融合を示したCPEの発現をもって分離陽性とした。分離ウイルスは国立感染症研究所分与抗MV血清を用いた中和試験により同定した。また、一部蛍光抗体法による同定も実施した。

##### 3) MVの遺伝子解析

ウイルス株：愛媛県における2001年分離株に加えて、1987年、1989年、1992年～2001年に分離されたMV計70株を用いた。これらの株の由来は無菌性髄膜炎37例、ムンプス27例、不明熱3例、上気道炎2例、手足口病1例であった。

シークエンス解析：MV分離株のRT-PCR法と塩基

愛媛県立衛生環境研究所 松山市三番町8丁目234番地

\*1 国立感染症研究所 武蔵村山市学園4-7-1

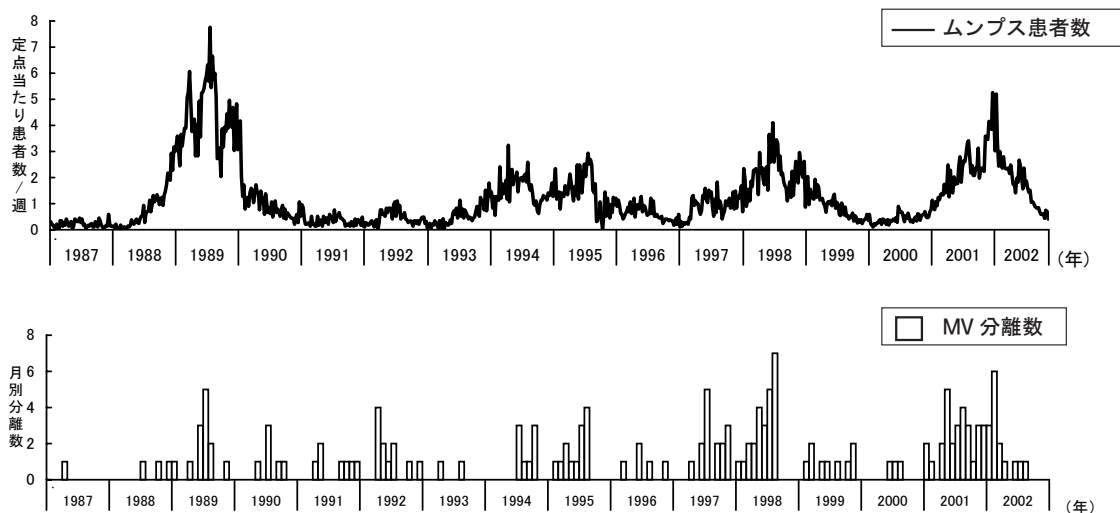


図1 愛媛県における流行性耳下腺炎発生状況とムンプスウイルス分離状況

配列の決定および遺伝子解析は国立感染症研究所ウイルス製剤部ムンプスウイルス室で実施した。ムンプスウイルス感染症診断マニュアル(案)に基づき、SH 遺伝子の塩基配列 316bp を用い、UPGMA 法により遺伝子系統樹を作成した。

## 結 果

### 1) 愛媛県におけるムンプス患者発生状況

1987 年以降のムンプス発生動向を図1上に示す。過去15年間に4度のムンプスの流行がみられた。すなわち1988～1990年、1993～1995年、1997～1999年、そして2001～2002年の流行である。今回のムンプスの流行は2001年第1週頃から始まり、その後1年を通して増減を繰り返しながら、第51週にはピークとなり、定点あたり5.26人の患者発生を示した。その後、減少に転じたものの2002年後半まで患者発生は続いた。

今次流行の医療圏域別患者届出状況を図2に示す。医療圏域別にみると、流行の初期は宇和島圏域と宇摩圏域から始まり、第20週頃から八幡浜・大洲圏域と松山圏域で患者が増加した。第30週を過ぎて松山圏域は減少

に転じたが、八幡浜・大洲圏域は継続して患者発生が続き、2002年第2週には定点あたり10人/週のピークとなった。その後も八幡浜・大洲圏域は第15週頃まで他の圏域を上回る患者発生状況であった。

### 2) ウイルス分離状況と遺伝子型別

愛媛県において1987年以降15年間に150株のMVが分離されている(図1下)。MVの分離状況はムンプスの患者発生とよく一致していた。また、2001年流行期間中のウイルス分離の結果、ムンプス15例、無菌性髄膜炎7例、上気道炎2例、手足口病1例から計25株のMVが分離された。無菌性髄膜炎のうち4件が髄液由来株で、その他は全て咽頭ぬぐい液由来であった。1987年以降分離されたMVのうちワクチン関連以外の70株について、これまでに報告された遺伝子型(A～J)の各参照株等とともに、系統樹解析を行った。その結果、愛媛の分離株(図3中二桁番号/西暦下二桁で表示)は、B、G、Jの各遺伝子型参照株とそれぞれ同じクラスターを形成した。

2001年の医療圏域別遺伝子型分離状況を表1に示す。25株のうち、G型が県内3地域(今治、松山、八幡浜・

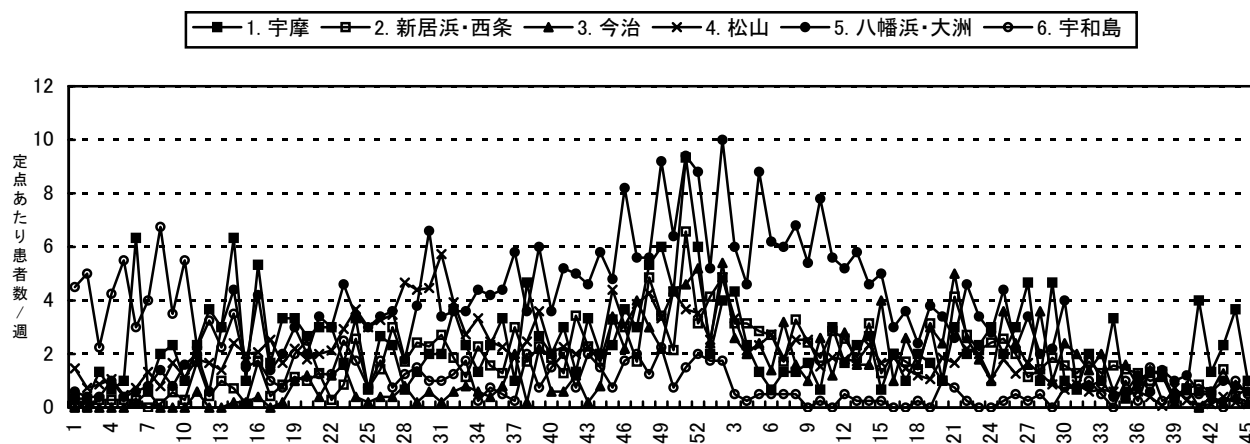


図2 医療圏域別流行性耳下腺炎患者発生状況(2001～2002年)

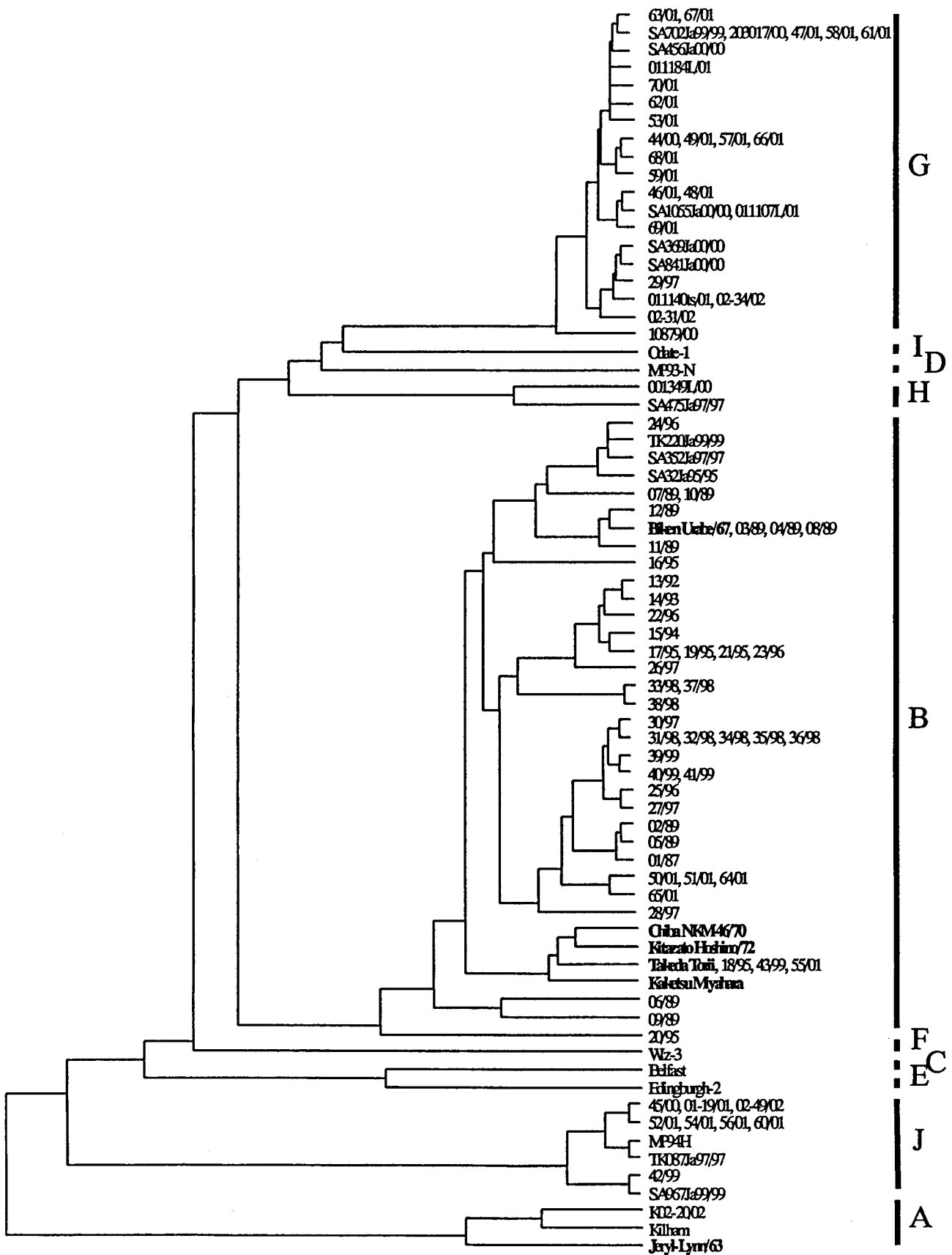


図3 ムンプスウイルスの遺伝子解析 (UPGMA 法)

表1 医療圏域別遺伝子型分離状況 (2001年)

医療圏域名	遺伝子型				計
	B	Torii	G	J	
宇摩				1	1
今治	2	1	2	2	7
松山	2		12	1	15
八幡浜・大洲			2		2
計	4	1	16	4	25

大洲)で16件(64%)から分離された。特に松山圏域では15件中12件がG型であった。県内で最も患者数の多かった八幡浜・大洲圏域もG型であった。このことから、愛媛県における2001年の流行はG型によるものであることが推察された。一方、J型は宇摩、今治、松山の各圏域で、またB型が今治、松山圏域で分離された。

次に、1987年以降の遺伝子型別の年次推移をみると(表2)、1999年まではB型が主流であったが、1997年にG型が1999年にJ型が分離されてからは、2000年以降これらの型が連続して分離されるようになった。特に2001年には3種の遺伝子型のなかでG型が最も優勢となった。

臨床症状と遺伝子型別の関連をみたところ(表3)、無菌性髄膜炎からワクチン株のUrabe株やTorii株と同一塩基配列の株各1株を含めたB型が高率に検出されたのに比べて、G型、J型はその割合が低かった。

## 考 察

愛媛県においてムンプスは1987年以降15年間に4度の流行をみたが、いずれも2~3年にわたる複数年の流行であった。今回は1989年に次ぐ規模の流行となり、

経年的にみると1994年、1998年、2001年と徐々に流行規模が大きくなっている。これは1993年のMMRワクチン中止後、単味ワクチンの任意接種に移行したための影響が現われているものと思われる。

2001年の流行状況を医療圏域別にみると、初期は宇和島と宇摩圏域で始まったが、続いて八幡浜・大洲地域では継続して患者発生が続き、2002年4月頃まで他の圏域を上回っていた。このように今回の流行は特に八幡浜・大洲圏域において顕著であった。

ムンプスの流行期間中、県内各医療圏域の小児科定点等で採取された咽頭ぬぐい液・髄液のウイルス分離培養の結果、25株のMVが分離された。感染症法による感染症発生動向調査事業が推進されるに従い、県下広範囲にわたる病原体定点等から検体が搬入され、県内のウイルス分布状況を推測することが可能になっている。2001年愛媛県においては無菌性髄膜炎14例のうち7例からMVが分離され、コクサッキーウイルスB群3型、同2型、エコーウイルス11型(E11)などのエンテロウイルスを抑えて、この年の無菌性髄膜炎の主原因となっていた。これは全国においてもほぼ同様の状況で<sup>4)</sup>、2001年の無菌性髄膜炎由来ウイルスのうちMVは19.5%を占めており、E11に次いで多く分離されていた(<http://idsc.nih.gov/jp/iasr/virus/graph/asmn9702.gif>)。

MVの遺伝子解析は、特にSH遺伝子領域が株間の相違を反映し、より明確な遺伝子型別が可能なることから汎用されている<sup>1-3)</sup>。今回愛媛県で過去15年間に分離されたMVの遺伝子解析を試みたところ、時間的経過と共に遺伝子型が変化していることが確認された。

すなわち、1988~1990年および1993~1995年は明らかにB型による流行であり、続く1997~1999年の流行時にもB型が優先的に分離されたことから、B型は10年以上の長期間に渡って3度の流行を繰り返していたことが確認された。一方、1997年、1999年にはそれぞれ

表2 MVの遺伝子型年次推移

遺伝子型\年	1987	1989	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	総計
B	1	8	1	1	1	5	4	4	8	3		4	40
Urabe		3											3
Torii						1				1		1	3
G								1			1	16	18
J										1	1	4	6
総計	1	11	1	1	1	6	4	5	8	5	2	25	70

表3 臨床診断名別遺伝子型分布状況

遺伝子型	臨床診断名					計
	無菌性髄膜炎	ムンプス	不明熱	上気道炎	手足口病	
B	28	10	2			40
Urabe	1	2				3
Torii	1	1	1			3
G	7	9		2		18
J		5			1	6
総計	37	27	3	2	1	70

G, J等の新型が散発的に出現し始めた。そして2001年には県内各地域でG型が優先的に分離され、愛媛県で初めてのG型によるムンプスの流行となった。

G型はJinら<sup>2)</sup>が1996～1998年の英国分離株について提唱した遺伝子型であり、またUchidaら<sup>1)</sup>は埼玉県において1999～2000年に国内で初めてG型を分離したと報告している。愛媛県における2001年分離株は埼玉県における分離株<sup>1)</sup>SA702/Ja99, SA456/Ja00, SA1055/Ja00等と相同性の高いMVであったことから、1～2年の間に両県で同型のMVが侵淫していたことが示唆された。

また、2001年にはG型に加えて従来のB型と新型のJ型が分離された。J型はUchidaら<sup>1)</sup>がTK087/Ja97, SA967/Ja97の遺伝子解析から提唱した遺伝子型であるが、1999年以降毎年愛媛県においても同型が検出されていた。さらに2001年に分離数が増加していることから、今後J型による流行の増大も予想される。しかし、02-49新潟(J型)とUrabe株(ワクチン株)との間で中和に関する抗原性に変化は認められないため<sup>3)</sup>、J型に対してもワクチンによって獲得した免疫で防御できると考えられる。

一方、愛媛県を含む国内7県(市)の分離株について遺伝子を解析した結果、1990年代にはそれまでのB型に加え、G, H, I, J型が散見され始め、2000年にはG, J型が主流となり、さらにA型も分離されたと報告している<sup>3)</sup>。本県においても全国と同様G, J型の散発例に続くG型の流行が確認されたが、15年前から侵淫しているB型も依然として分離されていることから、今回の流行における特徴は、新型への完全なウイルス交替ではなく、新型の主流行株と複数の遺伝子型が混在した状況であると考えられた。

最後に、臨床症状と遺伝子型別の関連について、斉藤らはODATE株(I型)と無菌性髄膜炎との関連性につ

いて報告している<sup>5)</sup>。今回、無菌性髄膜炎からの分離率は、B型が高率であったのに比べてG型とJ型はその割合が低く、軽症化の傾向がみられた。今後、愛媛県におけるMV野生株についてその動向に注目するとともに、臨床所見との関連性について検討していきたい。

## ま と め

1. 2001年愛媛県におけるムンプスの流行は1989年以來の大きな流行であり、特に八幡浜・大洲地区を中心としたものであった。
2. 県内3地域における分離株のSH遺伝子を解析した結果、2001年の流行は主としてG型に起因するものであり、さらにB, Jなど複数の遺伝子型が混在していたことが示された。
3. 過去15年間に分離された株の遺伝子解析の結果、1996年まではB型のみであったが、1997年以降G, J型などが散発的に出現し始め、2001年にはG型が優先型となった。

終わりに、本研究の検体採取等にご協力いただきました、医療法人石丸小児科医院石丸啓郎先生、中野省三先生他県内各医療機関の諸先生方に深謝いたします。

## 文 献

- 1) Uchida K. et al : Microbiol. Immunol., 45, 851～855 (2001)
- 2) Jin L. et al : J. Infect. Dis., 180, 829～833(1999)
- 3) 加藤篤ほか：第43回日本臨床ウイルス学会プログラム抄録集
- 4) 国立感染症研究所感染症情報センター：病原微生物検出情報, 23, 193～194 (2002)
- 5) Saito H. et al : Microbiol. Immunol., 40, 271～275 (1996)