

〔資料〕

# 石川県で検出されたノロウイルスの遺伝子型

— 2015/2016シーズン —

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部 成相 絵里・児玉 洋江・崎川 曜子

## 〔和文要旨〕

2015/2016シーズンに石川県で発生した感染性胃腸炎の集団事例および小児散発事例でノロウイルス遺伝子が検出された77検体についてカプシド領域の塩基配列による遺伝子解析を行った。その結果、検出割合が最多であった遺伝子型は、集団事例ではGII.17、小児散発事例ではGII.4と異なっていた。また、GIは前シーズンと同様に主に春季に検出される傾向がみられた。

キーワード：ノロウイルス、GII.17、GII.4

## 1 はじめに

ノロウイルスは主に冬季における感染性胃腸炎や集団食中毒の原因となるウイルスであり、その種類は動物のノロウイルスを含めGI～GVの遺伝子群に分けられている。このうちヒトに感染するノロウイルスは大部分がGIやGIIであるが、遺伝学的に多様であり、少なくともGIには9、GIIには22の遺伝子型が存在する<sup>1)</sup>。

我々は、ノロウイルスの検査において検体中のウイルスの有無を迅速に判定するとともに、検出されたノロウイルスについては、遺伝子解析を行い検出ウイルスの遺伝子型を明らかにし、地域におけるノロウイルスの流行や遺伝子型の動向の把握を行ってきた<sup>2)</sup>。

2015/2016（以下、2015/16）シーズンのノロウイルスの遺伝子解析の結果、主に流行した遺伝子型に関する知見を得たので、本報ではこれについて報告する。

## 2 材料と方法

### 2・1 対象

#### (1) 集団事例

2015/16シーズン（2015年第36週・9月～2016年第35週・8月）に石川県で発生した感染性胃腸炎の集団事例（食中毒および感染症）のうち、糞便からRT-LAMP法<sup>3)</sup>

または、リアルタイムPCR法<sup>4)</sup>によりノロウイルス遺伝子が検出された患者あるいは調理従事者等（無症状）の糞便57検体（13事例、事例あたり1～13検体）を対象としウイルス遺伝子解析を実施した。

#### (2) 小児散発事例

前記（1）と同期間に感染症発生動向調査事業における小児科病原体定点医療機関を受診した感染性胃腸炎患者から採取された糞便のうち、RT-PCR法<sup>4)</sup>によりノロウイルス遺伝子が検出された患者20人（0～16歳）の糞便20検体を対象にウイルス遺伝子解析を実施した。

### 2・2 ウイルス遺伝子解析の方法

検体をPBS（-）で10%乳剤とし、RNA抽出はQIAamp Viral RNA Miniキット（Qiagen社製）を用いて行った。逆転写反応はPrimeScript® RT reagent Kit（Perfect Real Time）（タカラバイオ社製）、プライマーはカプシド領域を検出するG1-SKF/G1-SKRとG2-SKF/G2-SKRを用いてRT-PCR法<sup>4)</sup>を実施した。電気泳動で目的の大きさのバンドが確認された検体についてダイレクトシーケンスによりカプシド領域約300bpの塩基配列を決定し、ノロウイルス遺伝子型分類ツール（<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>）を用いて遺伝子型を決定した。また、遺伝子解析ソフトウェア；MEGA6を用いて近隣結合法により系統樹解析を行った。

Genotype of Norovirus Detected in Ishikawa Prefecture in 2015–2016 Season. by NARIAI Eri, KODAMA Hiroe and SAKIKAWA Yoko (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Norovirus, GII.17, GII.4

### 3 成 績

#### 3・1 集団事例について

13事例の57検体について、検出された遺伝子型とその検体数を事例ごとに表1に示した。事例別にみると5事例（事例番号5, 6, 7, 8, 10）からGII.17が、4事例

表1 ノロウイルス遺伝子解析結果（集団事例）

| 事例番号 | 発生年月日      | 発生・原因施設 | 遺伝子型 ( )*   |
|------|------------|---------|-------------|
| 1    | 2015.10.30 | 小学校     | GII.3 (4)   |
| 2    | 12.18      | 保育園     | GII.4 (2)   |
| 3    | 12.19      | 飲食店     | GII.4 (6)   |
| 4    | 2016.1.10  | 旅館      | GII.4 (3)   |
| 5    | 1.31       | イベント会場  | GII.17 (3)  |
| 6    | 3.7        | 旅館      | GII.17 (13) |
| 7    | 3.18       | 飲食店     | GII.17 (3)  |
| 8    | 3.20       | 飲食店     | GII.17 (8)  |
| 9    | 3.23       | 飲食店     | GI.3 (10)   |
| 10   | 4.16       | 飲食店     | GII.17 (1)  |
| 11   | 4.30       | 旅館      | GI.3 (1)    |
| 12   | 5.8        | 飲食店     | GI.2 (2)    |
| 13   | 8.3        | 旅館      | GII.4 (1)   |

\*検出された遺伝子型と、( )は検体数

(事例番号2, 3, 4, 13) からGII.4が、2事例（事例番号9, 11）からGI.3が検出された。また、事例番号1ではGII.3が、事例番号12ではGI.2が検出された。複数の遺伝子型が検出された事例はなかった。検出された遺伝子型の事例の割合は、GII.17が38.5%（5事例/13事例）、GII.4が30.8%、GI.3が15.4%、GII.3およびGI.2が7.7%であった。なお、検出されたGII.17（5事例の28検体）は系統樹解析の結果すべて2014/2015（以下、2014/15）シーズンに川崎市をはじめ全国で流行したHu/GII/JP/2014/GII.P17\_GII.17/Kawasaki 323類似株<sup>5)</sup>であった。また、GII.4（4事例の12検体）は、いずれも2012/2013（以下、2012/13）シーズンに流行したSydney/NSW0514/2012/AU類似株<sup>6)</sup>であった（図1）。

#### 3・2 小児散発事例について

ノロウイルス遺伝子が検出された20検体について、13検体からGII.4が、4検体からGII.3が、2検体からGII.17が、1検体からGI.3が検出された（表2）。検出された遺伝子型の割合は、GII.4が65.0%（13検体/20検体）、GII.3が20.0%、GII.17が10.0%、GI.3が5.0%であった。なお、検出されたGII.4（13検体）はすべてSydney/NSW0514/2012/AU類似株であった。また、GII.17（2

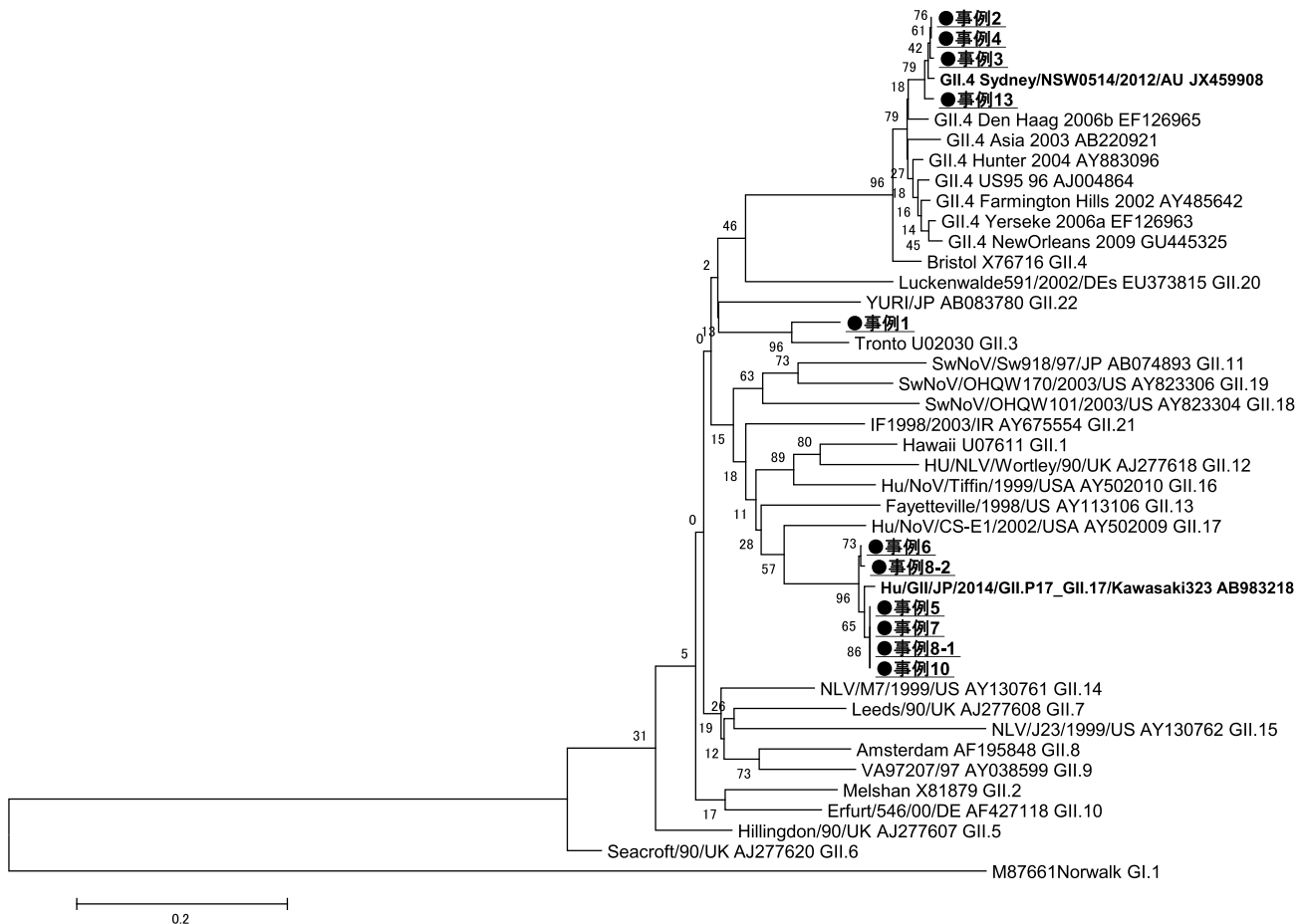


図1 集団事例ノロウイルスGII系統樹（カプシド領域）

検体) はいずれもHu/GII/JP/2014/GII.P17\_GII.17/Kawasaki 323類似株であった。(図2)。

### 4 考 察

2015/16シーズンにノロウイルス遺伝子が検出された77検体について、カプシド領域の遺伝子を解析した結果、集団事例ではGII.17が38.5% (5事例/13事例)と最多であり、検出割合は前シーズンの約22% (2事例/9事例)<sup>2)</sup>より大きく増加した。これらのGII.17はすべて2014/15シーズンから全国的に流行したHu/GII/JP/2014/GII.P17\_GII.17/Kawasaki 323類似株であり、前シーズンから引き続き流行していたと考えられた。一方、小児散発事例では、GII.4が65.0% (13検体/20検体)と最多であり、依然として、2012/13シーズンからの全国的なGII.4 (Sydney/NSW0514/2012/AU類似株) 流行の影響が残っていると考えられた。

検出割合が最も高かった遺伝子型が集団事例と小児散発事例で異なっていた。

また、GIが検出された集団事例3事例 (23.1%)はすべて2016年3月以降に発生しており、前シーズンと同様にGIは主に春季に検出される傾向であった。

表2 ノロウイルス遺伝子解析結果 (小児散発事例)

| 検体番号 | 検体採取日        | 年齢 (歳) | 遺伝子型    |
|------|--------------|--------|---------|
| 1    | 2015. 10. 28 | 0      | GII. 3  |
| 2    | 11. 24       | 0      | GII. 4  |
| 3    | 12. 4        | 1      | GII. 4  |
| 4    | 12. 4        | 0      | GII. 4  |
| 5    | 12. 5        | 0      | GII. 3  |
| 6    | 12. 7        | 1      | GII. 4  |
| 7    | 12. 11       | 1      | GII. 4  |
| 8    | 12. 14       | 0      | GII. 4  |
| 9    | 12. 15       | 1      | GII. 4  |
| 10   | 12. 15       | 1      | GII. 4  |
| 11   | 12. 26       | 1      | GII. 4  |
| 12   | 12. 28       | 1      | GII. 4  |
| 13   | 2016. 1. 19  | 2      | GII. 4  |
| 14   | 1. 21        | 6      | GI. 3   |
| 15   | 2. 4         | 16     | GII. 17 |
| 16   | 5. 28        | 1      | GII. 4  |
| 17   | 5. 31        | 2      | GII. 4  |
| 18   | 6. 5         | 1      | GII. 3  |
| 19   | 6. 13        | 7      | GII. 17 |
| 20   | 6. 17        | 0      | GII. 3  |

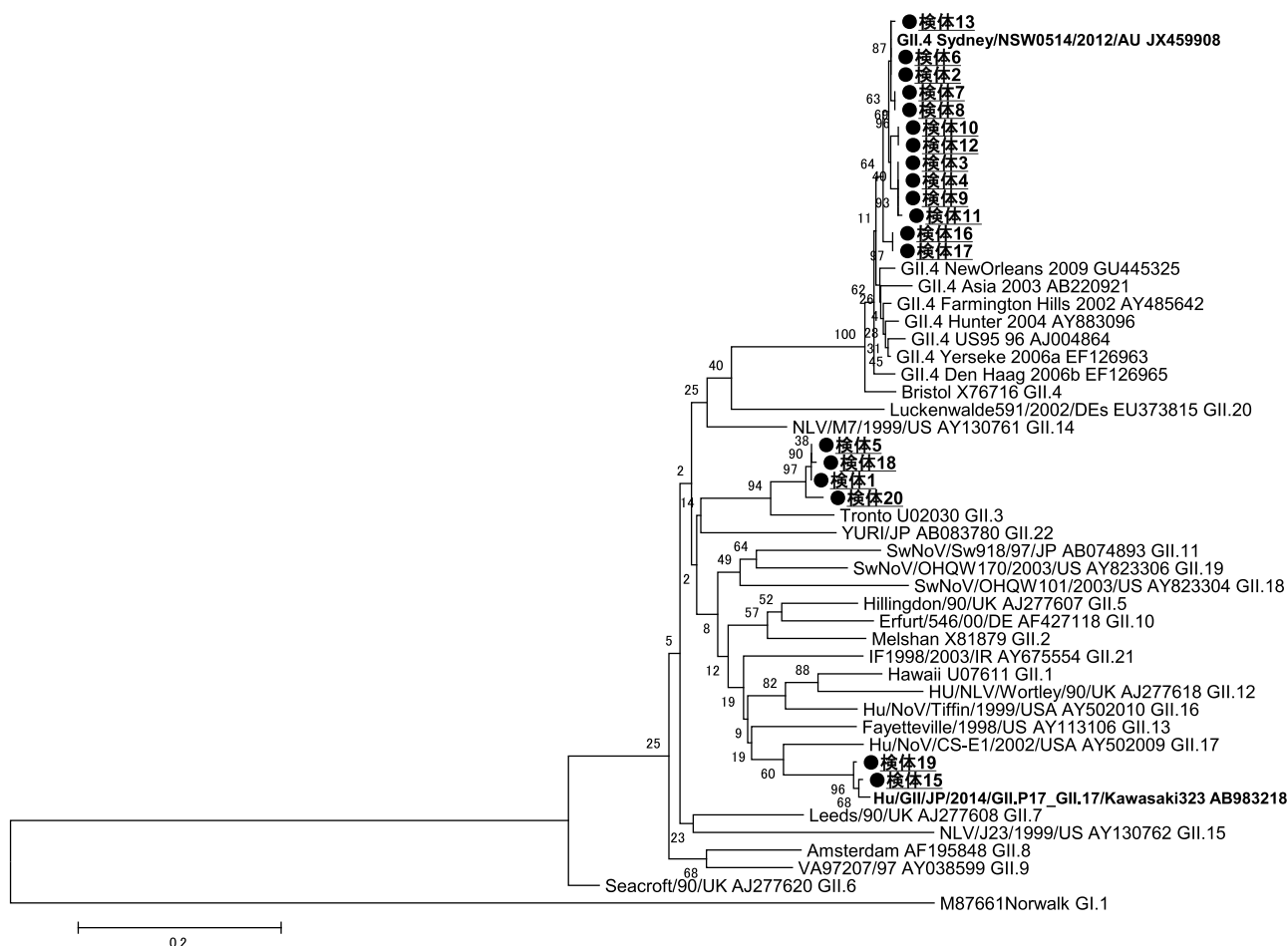


図2 小児散発事例ノロウイルスGII系統樹 (カプシド領域)

## 5 ま と め

2015/16シーズンは前シーズンから検出されるようになったGII.17の検出割合が増加し、集団事例においては最多であったが、小児散発事例ではGII.4が依然として高い割合で検出されていた。このように主要な遺伝子型の違いが見られたことから、今後も継続してノロウイルス遺伝子の詳細な解析を行い、地域におけるノロウイルスの流行や遺伝子型の動向に注目したい。

## 文 献

- 1) ノロウイルスの流行2010/11～2013/14シーズン：病原微生物検出情報月報, **35** (7), 161-163 (2014)
- 2) 成相絵里, 児玉洋江, 崎川曜子：石川県で検出されたノロウイルスの遺伝子型－2014/2015シーズン－, 石川県保健環境センター研究報告書, **52**, 59-61 (2015)
- 3) NOTOMI Tsugunori, OKAYAMA Hiroto, MASUBUCHI Harumi, YONEKAWA Toshihiro, WATANABE Keiko, AMINO Nobuyuki and HASE Tetsu : Loop-mediated isothermal amplification of DNA, *Nucleic Acids Research*, **28**, No.12, e63(2000)
- 4) 厚生労働省通知「ノロウイルスの検出法について(平成15年11月5日食安監発第1105001号)(最終改正平成25年10月22日食安監発第1022第1号)」
- 5) 松島勇紀：新規遺伝子型ノロウイルスGII. P17-GII.17の流行, 病原微生物検出情報月報, **36** (9), 175-178 (2015)
- 6) 田村務：ノロウイルスGII/4の新しい変異株の遺伝子解析と全国における検出状況, 病原微生物検出情報月報, **33** (12), 333-334 (2012)