

〔資料〕

石川県で検出されたノロウイルスの遺伝子型

— 2016/17 シーズン —

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部

中澤 柁哉・成相 絵里・児玉 洋江
倉本 早苗

〔和文要旨〕

2016/17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52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.2、小児散発事例ではGII.4と異なっていた。当県で検出されたGII.2は、同シーズンに全国各地で確認されたGII.2変異型と類似していた。

キーワード：ノロウイルス, GII.2, 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¹⁾。

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^{2)~5)}。

2016/17シーズン（以下、今シーズン）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

今シーズン（2016年第36週 [9月]～2017年第35週 [8月]）に石川県（以下、当県）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、当センター

にて糞便からリアルタイムPCR法⁶⁾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（無症状）の糞便42検体（12事例、事例あたり1～9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、当センターにてRT-PCR法⁶⁾または、蛍光-RTマルチプレックスPCR法⁷⁾によりノロウイルス遺伝子が検出された患者10人（0～9歳）の糞便10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⁶⁾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シング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

Genotype of Norovirus Detected in Ishikawa Prefecture during the 2016-17 Season. by NAKAZAWA Masaya, NARIAI Eri, KODAMA Hiroe and KURAMOTO Sanae (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Norovirus, GII.2, GII.4

を用いて近隣結合法により系統樹解析を行った。

3 成績

3・1 集団事例について

12事例42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、GII.2が5事例（事例番号3, 5, 6, 8, 9）から、GII.4（事例番号11, 12）、GII.6（事例番号2, 4）、およびGII.17（事例番号6, 7）がそれぞれ2事例から検出された。その他、GI.6が事例番号10から検出され、事例番号1の1検体はGII遺伝子群であったが、ダイレクトシーケンスによる型別が不能であった。また、複数の遺伝子型が検出された事例としては、事例番号6からGII.2とGII.17が検出されており、GII.2の1人は調理従事者であった。また、12事例のうち原因施設が保育所や幼稚園であった2事例は、いずれもGII.6であった。12事例における検出遺伝子型の割合は、GII.2が41.7%（5事例/12事例）、GII.4、GII.6、GII.17がそれぞれ16.7%（2事例/12事例）であり、GI.6（1事例/12事例）が8.3%であった。なお、検出されたGII.2（5事例の15検体）は系統解析の結果、全て今シーズンに全国各地で流行したGII.2の変異型^{8)~10)}であるGII.P16-GII.2/330022/Tokyo/2016類似株であった。

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
1	2016. 9.26	飲食店	GII.型不明 (1)
2	10.22	幼稚園	GII.6 (2)
3	11.20	弁当屋	GII.2 (2)
4	11.30	保育所	GII.6 (5)
5	12.13	飲食店	GII.2 (1)
6	12.27	旅館	GII.2 (1), GII.17 (5)
7	2017. 1.28	飲食店	GII.17 (2)
8	3.26	飲食店	GII.2 (9)
9	4. 4	飲食店	GII.2 (2) *2
10	4.22	飲食店	GI.6 (3)
11	5.20	研修施設	GII.4 (4)
12	6.13	飲食店	GII.4 (5)
計			(検体数: 42)

*1 検出された遺伝子型と、() は検体数

*2 どちらもGII.2であったが一部塩基配列の違いあり

また、GII.4（2事例の9検体）は、いずれも2012/13シーズンに全国で流行したSydney/NSW0514/2012/AU類似株¹¹⁾であり、GII.17（2事例の7検体）はいずれも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/Kawasaki323類似株¹²⁾であった（図1）。

3・2 小児散発事例について

ノロウイルスが検出された10検体は全てGIIの遺伝子型であり、GII.4が7検体から、GII.6が2検体から、GII.2が1検体から検出された（表2）。検出された遺伝

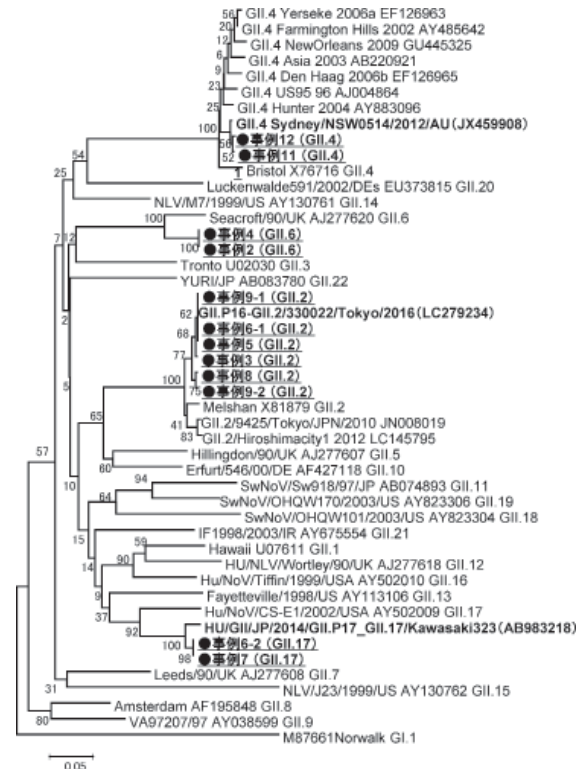


図1 集団事例ノロウイルスGII系統樹（カプシド領域）

子型の割合は、GII.4が70.0%（7検体/10検体）、GII.6が20.0%、GII.2が10.0%であった。なお、検出されたGII.4（7検体）ならびにGII.2（1検体）については、集団事例と同じくそれぞれ、GII.4Sydney/NSW0514/2012/AU類似株、GII.P16-GII.2/330022/Tokyo/2016類似株であった。（図2）

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	2016.11.15	2	GII.6
2	12.11	5	GII.6
3	2017. 3. 6	2	GII.4
4	3.18	1	GII.4
5	4.12	1	GII.2
6	4.19	0	GII.4
7	4.19	1	GII.4
8	4.22	1	GII.4
9	5. 6	1	GII.4
10	5.13	9	GII.4

4 考察

今シーズンにノロウイルス遺伝子が検出された事例について、カプシド領域の遺伝子を解析した結果、集団事例ではGII.2が41.7%と最多であったが、小児散発事例ではGII.4が70.0%と最多であり、検出割合が最も高かった遺伝子型がそれぞれ異なっていた。シーズン単位では、事例数が少なく明確なことは不明であるが、この傾向は昨シーズンも同様であり、集団事例の患者のほとんどが

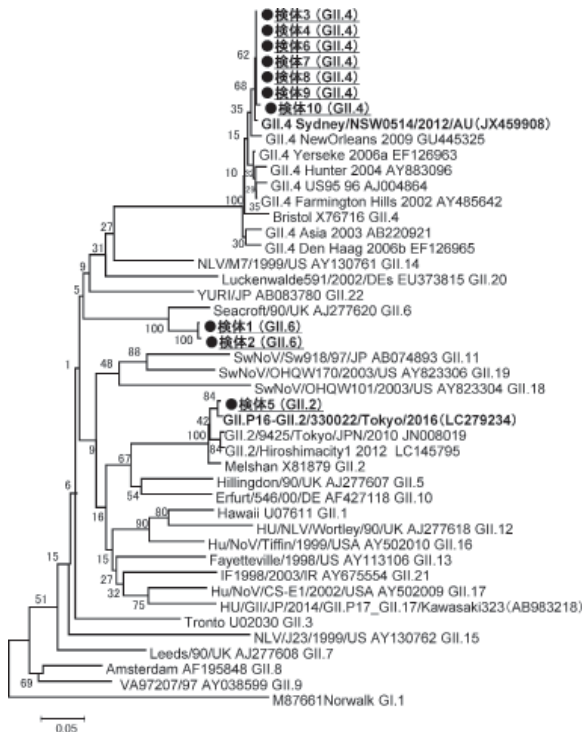


図 2 小児散発事例ノロウイルス GII.4 系統樹 (カプシド領域)

成人であると思われることから、検出割合の違いは年齢層の違いが 1 つの要因と考えられる。

検出された遺伝子型について、集団事例で最多であった GII.2 はすべて GII.P16-GII.2/330022/Tokyo/2016 類似株であり、全国各地と同様に当県でも新たな変異型である GII.P16-GII.2 による患者発生がみられたと考えられる。なお、当県の GII.2 の集団事例のうち事例 3 および 5 は原因施設が他県のものであり、この型が当県に本格的に侵入したのは 2017 年 3 月以降と推測された。全国では GII.2 事例が 2016 年 11 月頃から増加しており¹⁰⁾ 当県は全国と比較して流行の伝播が遅い可能性が示唆された。

小児散発事例で最多であった GII.4 は、すべて Sydney/NSW0514/2012/AU 類似株であり、依然として、2012/13 シーズンからの全国的な GII.4 流行の影響が残っていると考えられた²⁾⁻⁵⁾。

また、GII.6 においては、事例数は少ないが、集団事例、小児散発事例ともに幼少期の事例から検出された。その検出時期は 10 月から 12 月に集中しており、系統樹解析でも型が類似していたことから、この時期に小児を中心に GII.6 の小流行があった可能性が示唆された。

なお、GI はこれまで春季に検出される傾向があったが²⁾、今シーズンも集団事例 1 事例のみではあるが同じく春季に検出された。

5 まとめ

(1) 今シーズンは前シーズンにはみられなかった GII.2

が検出され、集団事例においては最多であった。

(2) 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。

(3) 集団事例、小児散発事例で検出された GII.2 は、いづれも全国各地で確認された変異型と類似していた。

(4) シーズンや事例によって主要な遺伝子型の違いがみられたことから、今後も継続してノロウイルス遺伝子型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) ノロウイルスの最新の分子疫学とワクチン開発：病原微生物検出情報月報, **38** (1), 15-17 (2017)
- 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 - 2015/2016 シーズン -, 石川県保健環境センター研究報告書, **53**, 40-43 (2016)
- 3) 成相絵里, 児玉洋江, 橋本喜代一：石川県におけるノロウイルスの流行状況 - 2012/2013 シーズン -, 石川県保健環境センター研究報告書, **50**, 51-53 (2013)
- 4) 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 - 2013/2014 シーズン -, 石川県保健環境センター研究報告書, **51**, 45-48 (2014)
- 5) 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)
- 6) 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 15 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)」
- 7) 成相絵里, 児玉洋江, 崎川曜子：蛍光 RT- マルチプレックス PCR 法を利用した胃腸炎ウイルス検出法の検討, 石川県保健環境センター研究報告書, **53**, 1-7 (2016)
- 8) 松島勇紀：茨城県と川崎市における 2016/17 シーズンに検出されたヒトノロウイルス GII.P16-GII.2 の分子疫学, 病原微生物検出情報月報, **38** (1), 19-20 (2017)
- 9) 植木洋：宮城県内で流行しているノロウイルス (Nov) の遺伝子型について, 病原微生物検出情報月報, **38** (1), 17-18 (2017)
- 10) 国立感染症研究所：ノロウイルス等検出状 (2016/17, 2015/16, 2014/15 シーズン), 2017 年 8 月 24 日
- 11) 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)
- 12) 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)