

〔資料〕

石川県で検出されたノロウイルスの遺伝子型

— 2017/18 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・中澤 柁哉・児玉 洋江
倉本 早苗

〔和文要旨〕

2017/18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45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、集団事例ではGII.17の検出割合が約5割と最も多く、次いでGII.2が多かった。一方、小児散発事例では様々な遺伝子型が検出された。

キーワード：ノロウイルス，遺伝子型，感染性胃腸炎，GII.2，GII.17

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⁾⁻⁴⁾。

2017/18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（2017年第36週（9月）～2018年第35週（8月））に石川県（以下、本県）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⁵⁾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40検体（13事例，事例あたり1～10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

(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、蛍光RT-マルチプレックスPCR法⁶⁾によりノロウイルス遺伝子が検出された患者5人（0～3歳）の糞便5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⁵⁾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を

Genotype of Norovirus Detected in the Stool Specimens in Ishikawa Prefecture during the 2017-18 Season. by NARIAI Eri, NAKAZAWA Masaya, KODAMA Hiroe and KURAMOTO Sanae (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Norovirus, Genotype, Infectious Gastroenteritis, GII.2, GII.17

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

13事例の40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。今シーズンは2017年中には事例がなく、すべて2018年の事例であった。事例別にみると6事例(事例番号2, 3, 4, 6, 7, 8)からGII.17が、3事例(事例番号9, 10, 13)からGII.2が、2事例(事例番号1, 12)からGI.3が検出された。また、事例番号5ではGII.4が、事例番号8ではGI.7が、事例番号11ではGI.2が、検出された。事例番号8は複数の遺伝子型が検出された事例であった。表中のGII型不明の3検体はリアルタイムPCR法ではGII陽性と判定できたが、ダイレクトシーケンスによる遺伝子型別が不能であった。

表1 ノロウイルス遺伝子解析結果(集団事例)

| 事例番号 | 発生日月 | 発生・原因施設 | 遺伝子型()* |
|------|-----------|---------|--|
| 1 | 2018.1.13 | 旅館 | GI.3(4) |
| 2 | 2.15 | 旅館 | GII.17(1) |
| 3 | 2.16 | 飲食店 | GII.17(1) |
| 4 | 2.16 | 飲食店 | GII.17(1) |
| 5 | 2.17 | 飲食店 | GII.4(1) |
| 6 | 2.21 | 飲食店 | GII.17(10) |
| 7 | 2.23 | 飲食店 | GII.17(1) |
| 8 | 3. 4 | 飲食店 | GI.7(1), GII.17(1) GI.7 & GII型不明(1) |
| 9 | 5. 3 | 旅館 | GII.2(2) |
| 10 | 5.12 | 旅館 | GII.2(6), GII型不明(2) |
| 11 | 5.19 | 飲食店 | GI.2(3) |
| 12 | 5.21 | 飲食店 | GI.3(4) |
| 13 | 7.14 | 不明 | GII.2(1) |
| 計 | | | (検体数: 40) |

* 検出された遺伝子型と、()は検体数

遺伝子群別にみると、GIが検出された事例は30.8% (4事例/13事例)、GIIが検出された事例は76.9% (10事例/13事例)であった。また、検出された遺伝子型の割合は、GII.17が46.2% (6事例/13事例)、GII.2が23.1% (3事例/13事例)、GI.3が15.4% (2事例/13事例)、GI.2, GI.7およびGII.4がそれぞれ7.7% (1事例/13事例)であった。なお、検出されたGII.17 (6事例の15検体)は系統樹解析の結果、すべて2014/15シーズンから2015/16シーズンに本県も含め全国で流行したHu/GII.P17-GII.17/Kawasaki323/2014/JP (Kawasaki323株)類似株⁷⁾であった(図1)。また、GII.2 (3事例の9検体)は、2016/17シーズン(以下、前シーズン)に本県も含め川崎市⁸⁾や愛知県⁹⁾など全国で検出されRNA依存性RNAポリメラーゼ(RdRp)領域がGII.P16に分類されたGII.P16-GII.2株に類似していた(図1)。

3・2 小児散発事例について

集団事例と同様に、ノロウイルス遺伝子が検出された

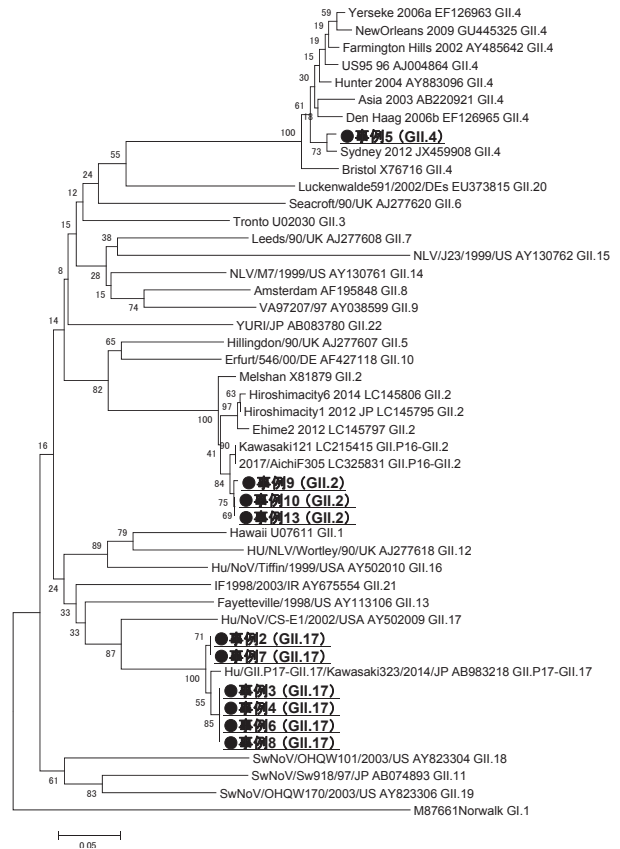


図1 集団事例ノロウイルスGII系統樹(カプシド領域)

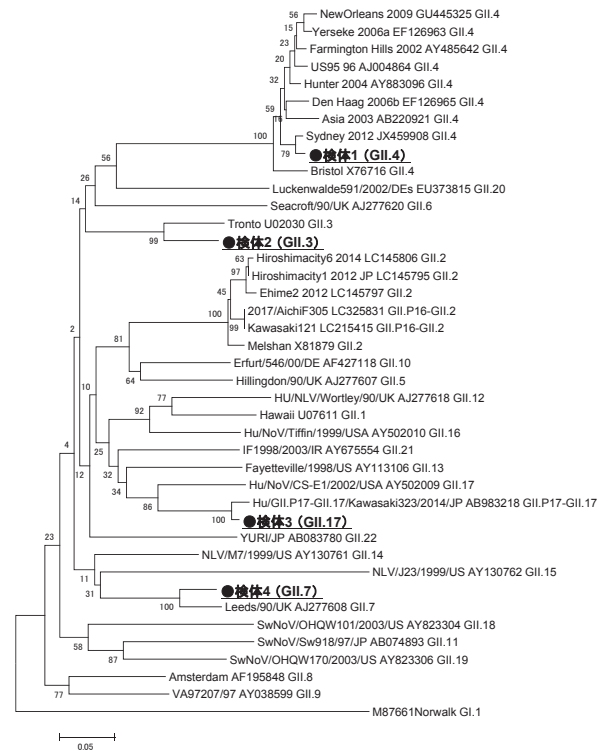


図2 小児散発事例ノロウイルスGII系統樹(カプシド領域)

5検体はすべて2018年に採取された検体であった。この5検体については、遺伝子型がすべて異なっており、GII.4, GII.3, GII.17, GII.7, GI.3が検出された(表2)。

GII.17は集団事例と同様にHu/GII.P17-GII.17/Kawasaki 323/2014/JP (Kawasaki323株) 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 | 2018.1. 5 | 1 | GII.4 |
| 2 | 1.17 | 3 | GII.3 |
| 3 | 3.26 | 0 | GII.17 |
| 4 | 4.27 | 0 | GII.7 |
| 5 | 7. 6 | 0 | GI.3 |

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.17が46.2%と最多であり、前シーズンの約17%(2事例/12事例)²⁾より大きく増加し、2015/16シーズン以来2シーズンぶりに³⁾主要な遺伝子型となった。また、系統樹解析の結果、Hu/GII.P17-GII.17/Kawasaki 323/2014/JP (Kawasaki323株) 類似株であった。集団事例でGII.17が検出された割合は、2014/15シーズンが約22%(2事例/9事例)⁴⁾、2015/16シーズンが約38%(5事例/13事例)³⁾、前シーズンが約17%、今シーズンが約46%であり、いずれのシーズンも検出されたGII.17は全て、Hu/GII.P17-GII.17/Kawasaki323/2014/JP (Kawasaki323株) 類似株であったことから、依然として、2014/15シーズンからの全国的なGII.17の流行⁷⁾の影響が残っていると考えられた。前シーズンに最多であったGII.2は、今シーズンは最多ではないものの23.1%とGII.17に次いで多かった。一方、小児散発事例では、今シーズンは検体数が少なく明確ではないが、遺伝子型がすべて異なっており、小児においては、様々な遺伝子型のウイルスが流行していたものと考えられた。

5 ま と め

今シーズン、集団事例で検出された遺伝子型は、2シーズンぶりにGII.17が最多となり、次いでGII.2が多かった。一方、小児散発事例では様々な遺伝子型が検出された。

このように、シーズンにより主要な遺伝子型が入れ替わるなど、流行する遺伝子型がシーズン毎に変化することから、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) 国立感染症研究所：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) 中澤 柁哉, 成相 絵里, 児玉 洋江, 倉本 早苗：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研究報告書, 54, 83-85 (2017)
- 3) 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)
- 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－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)
- 5) 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)」
- 6) 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)
- 7) 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)
- 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) MAMI Hata, et al.: Emergence of New Recombinant Noroviruses GII.P16-GII.2 and GII.P16-GII.4 in Aichi, Japan, during the 2016/17 Season, J. Infect. Dis., 71(4), 319-322 (2018)