〔短　報〕

石川県における過去５シーズンのノロウイルス遺伝子型について
－2012/13～2016/17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　柾 哉・成 相　絵 里・児 玉　洋 江
倉 本　早 苗

〔和文要旨〕

2012/13～2016/17シーズンに石川県で発生した感染性胃腸炎でノロウイルス遺伝子が検出された集団事例64事例，小児散発事例66事例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い，５シーズンの遺伝子型等の動向を比較した。その結果，GII.4はいずれのシーズンにおいても主体の遺伝子型であったが，近年全国で流行しているGII.2の変異型やGII.17は集団事例と小児散発事例とでシーズンごとの検出割合に差がみられた。石川県では全国と比較し，新しいノロウイルスの流行の伝播が遅い可能性が示唆された。

キーワード：ノロウイルス，遺伝子型，GII.2，GII.4，GII.17，集団事例，小児散発事例

本稿は，第45回北陸公衆衛生学会（平成29年11月10日 福井市）において発表した。

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，食中毒や感染症発生動向調査事業等における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おり，既報[2)-6)]にて各シーズンの結果を報告している。

本報では，2012/13～2016/17シーズンの５年間についてのノロウイルスの遺伝子型等の動向を比較し，その経年的な特徴等について若干の知見を得たので報告する。

2　材料と方法

2・1　対　象

(1) 集団事例

2012/13～2016/17シーズン（以下，５シーズン）の2012年第36週（９月）～2017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[7)]またはRT-LAMP法[8)]によりノロウイルス遺伝子が検出された64事例の患者あるいは調理従事者（無症状）の糞便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，当センターにてRT-PCR法[7)]または蛍光-RTマルチプレックスPCR法[9)]によりノロウイルス遺伝子が検出された66事例の患者の糞便検体を

Genotype of Norovirus Detected in the Stool Specimens in Ishikawa Prefecture during the 2012/13-2016/17 Seasons. *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, Genotype, GII.2, GII.4, GII.17, Group Case, Sporadic Case in Children

対象とし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[7]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クエ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）[10]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い国内外のそれぞれの同型と比較した。

2・3　遺伝子型の解析結果の比較

5シーズンの遺伝子型の解析結果について，遺伝子型別，検出時期別等で比較し，動向を検証した。

3　成　　績

3・1　集団事例

5シーズンの64事例について，検出された遺伝子型をシーズンごとに表1に示した。遺伝子型の内訳は，GIが7事例に対しGIIが49事例と圧倒的に多く，複数の遺伝子型の関与がみられた8事例全てからもGIIが検出されていた。また，5シーズンで最も多く検出された遺伝子型はGII.4で，GII.4のみの27事例，複数検出事例の6事例を合わせ33事例であった。

表1　ノロウイルス遺伝子解析結果（集団事例）

遺伝子型	検出事例数					計
	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17	
GI遺伝子群(7事例)						
GI.2			2	1		3
GI.3				2		2
GI.5			1			1
GI.6					1	1
小　計			3	3	1	7
GII遺伝子群(49事例)						
GII.2					4	4
GII.3			1	1		2
GII.4	12	7	2	4	2	27
GII.6		3			2	5
GII.13	2					2
GII.17			2	5	1	8
GII型不明					1	1
小　計	14	10	5	10	10	49
複数検出事例*1(8事例)						
GI.4，GII.4	1					1
GII.4，GII.13		2				2
GI.14＋GII.4*2 GII.4，GII.14		1				1
GII.4，GII.13		1				1
GI.2，GII.6		1				1
GII.4，GII.5			1			1
GII.2，GII.17					1	1
小　計	1	5	1		1	8
計	15	15	9	13	12	64

＊1　1事例において複数の遺伝子型が検出
＊2　同一人においてGI.14，GII.4が検出

また，各シーズンにおいて検出されたGI，GIIの遺伝子型の内訳をそれぞれ表2，表3に示した。なお，複数検出事例については1つの遺伝子型ごとに1株としてカウントした。

その結果，GIについては事例数が少なく遺伝子型の特徴をつかむには至らなかったが，GI.2が5シーズンで4株と比較的多く検出された（表2）。

表2　ノロウイルスGIの遺伝子型の検出株数（集団事例）*1

遺伝子型	検出株数（%）					計
	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17	
GI.2		1(50.0)	2(66.7)	1(33.3)		4
GI.3				2(66.7)		2
GI.4	1(100.0)					1
GI.5			1(33.3)			1
GI.6					1(100.0)	1
GI.14		1(50.0)				1
計	1	2	3	3	1	10

＊1　複数検出事例については，1つの遺伝子型ごとに1株としてカウント

GIIについては各シーズンで検出割合が高い遺伝子型が異なっていた。2012/13～2015/16はいずれもGII.4が高い割合で検出されており，その割合は2012/13では86.7%（13株/15株），2013/14では55.0%（11株/20株），2014/15では42.9%（3株/7株），2015/16では40.0%（4株/10株）であった。また，近年全国で流行した新規遺伝子型のGII.17[11]，GII.2の変異型[12,13]については，2015/16にGII.17が50.0%（5株/10株），2016/17にGII.2が41.6%（5株/12株）と高い割合で検出された（表3）。

表3　ノロウイルスGIIの遺伝子型の検出株数（集団事例）*1

遺伝子型	検出株数(%)					計
	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17	
GII.2					5(41.6)	5
GII.3			1(14.3)	1(10.0)		2
GII.4	13(86.7)	11(55.0)	3(42.9)	4(40.0)	2(16.7)	33
GII.5			1(14.3)			1
GII.6		4(20.0)			2(16.7)	6
GII.13	2(13.3)	3(15.0)				5
GII.14		1(5.0)				1
GII.17			2(28.5)	5(50.0)	2(16.7)	9
GII型不明		1(5.0)			1(8.3)	2
計	15	20	7	10	12	64

＊1　複数検出事例については，1つの遺伝子型ごとに1株としてカウント

5シーズンの64事例と，このうちGII.2およびGII.17の13事例における発生施設別割合を図1に示した。64事例の内訳は，飲食店関係26事例（40.6%），ホテル・旅館18事例（28.1%），小学校・保育所12事例（18.8%），イベント3事例（4.7%），その他（障害施設，社員寮，研修施設）3事例（4.7%），不明2事例（3.1%）であった。一方，GII.2，GII.17の13事例については，飲食店関係9事例（69.2%），ホテル・旅館3事例（23.1%），イベ

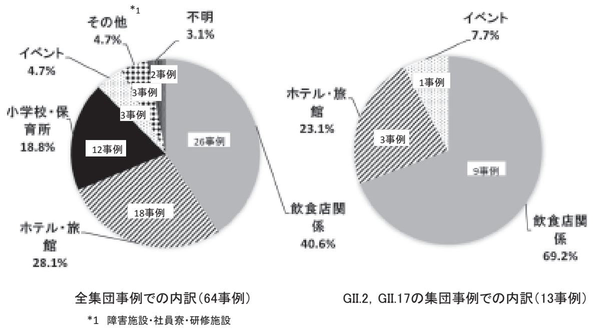

図1 2012/13～2016/17シーズンの集団事例での発生施設の内訳

ント1事例（7.7%）であり，小学校・保育所などの小児関連施設はなかった。

3・2 小児散発事例

小児散発事例について検出された遺伝子型と検出割合をシーズンごとに表4に示した。小児散発事例では集団事例と異なり，複数の遺伝子型が検出された事例はなかった。遺伝子群の内訳は，GIが3事例に対しGIIが63事例と圧倒的に多かった。

表4 ノロウイルス遺伝子解析結果（小児散発事例）

遺伝子型	検出事例・株数(%)					計
	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17	
GI遺伝子群(3事例)						
GI.3				1(100.0)		1
GI.4	1(100.0)					1
GI.6		1(100.0)				1
小　計	1	1		1		3
GII遺伝子群(63事例)						
GII.2					1(10.0)	1
GII.3			3(60.0)	4(21.1)		7
GII.4	15(100.0)	8(57.1)	2(40.0)	13(68.4)	7(70.0)	45
GII.6		6(42.9)			2(20.0)	8
GII.17				2(10.5)		2
小　計	15	14	5	19	10	63
計	16	15	5	20	10	66

GIについては，事例数が少なく遺伝子型の特徴をつかむには至らなかった。

GIIについては，5シーズンいずれにおいてもGII.4が高い割合で検出されており，2012/13では100%（15株/15株），2013/14では57.1%（8株/14株），2014/15では40.0%（2株/5株），2015/16では68.4%（13株/19株），2016/17では70.0%（7株/10株）であった。また，集団事例で2015/16～2016/17に比較的検出割合の高かったGII.2，GII.17については，GII.2は2016/17に10.0%（1株/10株），GII.17は2015/16に10.5%（2株/19株）検出された。

3・3 遺伝子群ごとの月別検出状況

集団事例，小児散発事例を合わせて，検出された遺伝子群ごとの月別株数を図2に示した。その結果，GII（127株）については，11月～3月の冬季に多くほぼ1年を通じて検出されていたが，GI（13株）は，少ないものの検出されたのは1月～5月のみであった。

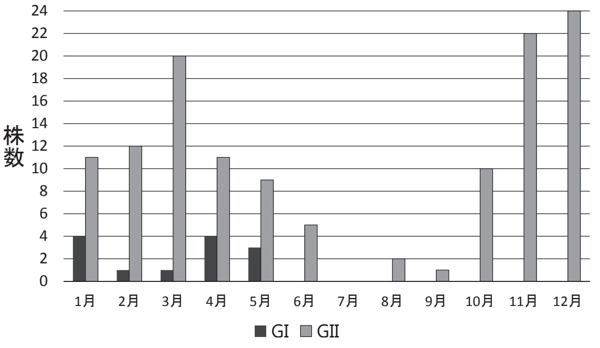

図2 2012/13～2016/17シーズンのノロウイルスGI，GIIの月別株数（GI：13株，GII：127株）

3・4 検出遺伝子型の系統樹解析結果について

検出遺伝子型のうち，常に優位を占めたGII.4，近年全国各地で流行した遺伝子型であるGII.2[12)13)]ならびにGII.17[11)]について系統樹解析の結果を図3～5に示す。集団事例と小児散発事例共に主体の遺伝子型であったGII.4については，2012/13では2006/07に全国で流行したDenHaag89/2006/NL類似株[14)]と，2012/13に全

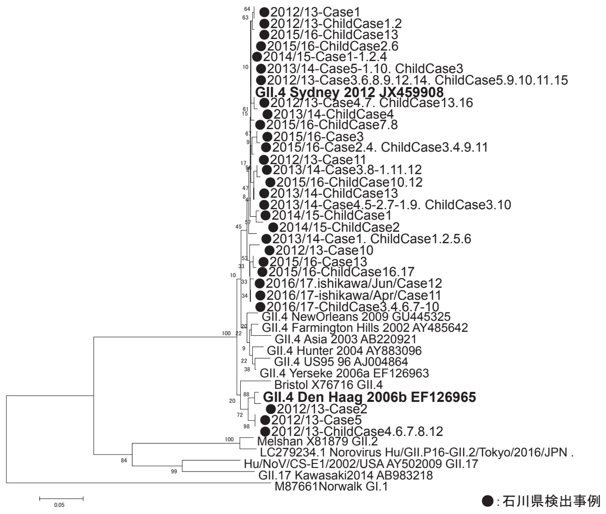

図3 ノロウイルスGII.4系統樹（カプシド領域）

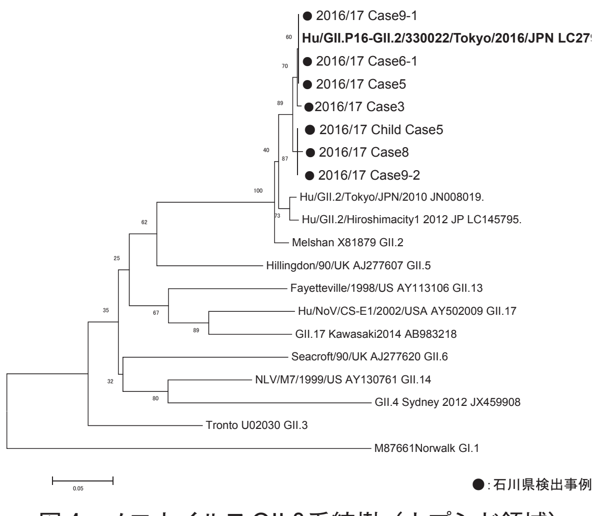

図4 ノロウイルスGII.2系統樹（カプシド領域）

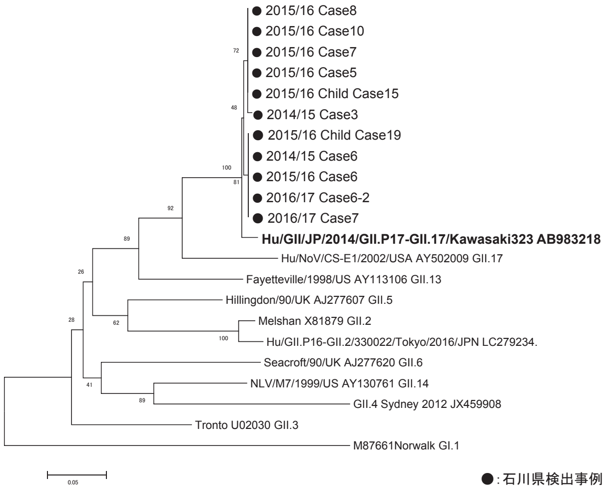

図 5　ノロウイルスGII.17系統樹（カプシド領域）

国で流行したSydney/NSW0514/2012/AU類似株[15]の2つのクラスターに分かれたのに対し，2013/14以降はいずれもSydney/NSW0514/2012/AU類似株であった（図 3）。

GII.2については，いずれも2016/17に全国各地で流行したGII.2変異型のGII.P16-GII.2/330022/Tokyo/2016類似株[12) 13)]であった（図 4）。GII.17については，いずれも2014/15～2015/16に川崎市をはじめ全国各地で流行したHU/GII/JP/2014/GII.P17_ GII.17/Kawasaki 323類似株[11)]であった（図 5）。

4　考　　察

（1）5 シーズンの遺伝子型の動向

5 シーズンの，遺伝子型を解析した結果，集団事例，小児散発事例共にいずれのシーズンにおいてもGII.4が主体の遺伝子型であった。また，その遺伝子型の解析結果は，2013/14を境に 2 つのクラスターから 1 つのクラスターのみとなった。この傾向は全国も同様で，以前から流行しているDenHaag89/2006/NL類似株が2012/13以降新たに流行したSydney/NSW0514/2012/AU類似株に徐々に置き換わったことによると思われる。

一方，GII.2，GII.17においては，シーズン毎で集団事例と小児散発事例とで検出割合に差がみられた。また，遺伝子型解析結果は，GII.2，GII.17いずれも全て全国の流行株の類似株であった。

なお，GIでは，小児散発事例，集団事例共に検出数が少なく遺伝子型の特徴をつかむには至らなかったが，月ごとの検出状況では，GIは全て 1 ～ 5 月に検出されており，春季に検出される傾向があった。

（2）集団事例と小児散発事例の検出割合の違い

GII.2，GII.17において集団事例と小児散発事例で検出割合に違いがみられたことについては，比較する事例数が少なく明確には検証できないが，全集団事例64事例の発生施設のうち保育所等の小児関連施設が約 2 割であったのに対し，GII.2，GII.17に関しては全て小学校や保育所以外の施設が原因であり患者の多くは成人であることから，年齢層の違いが要因の 1 つと考えられた。すなわち，成人については過去に暴露した遺伝子型に対する免疫がある程度得られていたために，GII.2やGII.17のような新規の遺伝子型に罹患する機会が相対的に増えたことが推測された。また，これら新規の遺伝子型の事例のうち，特に初期の事例（2014/15の GII.17 2 事例，2016/17のGII.2 2 事例）は，県外の施設が原因の集団事例であった（表 5）。このように，集団事例の場合には県外から持ち込まれる遺伝子型があり，このことも，新しい遺伝子型が小児散発事例に比べ集団事例で多い要因の一つであると考えられる。

表 5　ノロウイルスGII.2，GII.7における事例

シーズン	遺伝子型	発生年月日	事例	発生施設	備考
2014/15	GII.17	2015. 3.13	集団事例	旅館	神奈川県関連
	GII.17	2015. 3.26	集団事例	飲食店	兵庫県関連
2015/16	GII.17	2016. 1.31	集団事例	イベント会場	
	GII.17	2016. 2. 4	小児散発事例	-	
	GII.17	2016. 3. 7	集団事例	旅館	
	GII.17	2016. 3.18	集団事例	飲食店	
	GII.17	2016. 3.20	集団事例	飲食店	
	GII.17	2016. 4.16	集団事例	飲食店	
	GII.17	2016. 6.13	小児散発事例	-	
2016/17	GII.2	2016.11.20	集団事例	弁当屋	東京都関連
	GII.2	2016.12.13	集団事例	飲食店	大阪府関連
	GII.2, GII.17	2016.12.27	集団事例	旅館	＊1
	GII.17	2017. 1.28	集団事例	飲食店	
	GII.2	2017. 3.26	集団事例	飲食店	
	GII.2	2017. 4. 4	集団事例	飲食店	
	GII.2	2017. 4.12	小児散発事例	-	

＊1　従業員と患者からGII.17検出。GII.2は従業員 1 人からのみ検出

（3）全国の流行時期との比較

全国におけるこの間のGIIの流行の特徴は，GII.4はSydney類似株の流行により2012年秋頃から増加し[15)]，以降主体の遺伝子型となっている。またGII.2は2016/17の特に2016年11月頃[16)]に，GII.17は2014/15以降に流行している[11)]。これに対し本県の今回の解析では，GII.4については全国の流行と同様であったが，GII.2，GII.17については，県外関連の事例を考慮すると，GII.2は2017年 3 月以降，GII.17は2016年 1 月以降に侵淫，流行したと推測され，全国と比較して新しいノロウイルスの流行が若干遅いことが示唆された。

5　ま と め

（1）ノロウイルスGII.4はいずれのシーズンからも検出され，主体の遺伝子型であった。

（2）本県では全国に比べノロウイルスGII.17やGII.2など新しいノロウイルスの流行の伝播が遅い可能性が示唆された。

（3）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）国立感染症研究所：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，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）
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－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）
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）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）
6）中澤柾哉，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－2016/2017シーズン－，石川県保健環境センター研究報告書，**54**，83-85（2017）
7）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）」
8）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, No12, e63 (2000)
9）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）
10）オランダ国立公衆衛生環境研究所：ノロウイルス遺伝子型分類ツール（2018年10月29日）
http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool
11）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）
12）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）
13）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）
14）国立感染症研究所：病原微生物検出情報月報，28（10），277－278（2007）
15）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）
16）国立感染症研究所：ノロウイルス等検出速報（2018年8月23日）
https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-noro.html