

〔資料〕

石川県で検出されたノロウイルスの遺伝子型

— 2018/19 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・中村 幸子
倉本 早苗

〔和文要旨〕

2018/19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72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.2の検出割合が約5割と最も多く、次いでGII.4が多かった。一方、小児散発事例ではGII.4の検出割合が約7割と最も多く、次いでGII.2が多かった。ともにGII.2、GII.4が比較的多く検出されていたが、GII.4の系統樹解析では小児散発事例のみに検出された株があった。

キーワード：ノロウイルス、遺伝子型、感染性胃腸炎、GII.2、GII.4、集団事例、小児散発事例

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⁾。

2018/19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、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（2018年第36週（9月）～2019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等（無症状）の糞便52検体（15事例、事例あたり1～11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⁷⁾によりノロウイルス遺伝子が検出された患者20人（0～10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。

Genotype of Norovirus Detected in the Stool Specimens in Ishikawa Prefecture during the 2018-19 Season. by NAKAZAWA Masaya, NARIAI Eri, NAKAMURA Sachiko 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.4, Outbreak Cases, Sporadic Cases in Children

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 (<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus>)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。

3 結果と考察

3・1 集団事例について

15事例の52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。今シーズンに検出された遺伝子群はすべてGIIの事例であり、事例別にみるとGII.2が8事例(事例番号1, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14; 53.3%)から検出され、GII.4が5事例(事例番号2, 3, 4, 5, 6; 33.3%)から検出された。また、GII.6(事例番号15)並びにGII.17(事例番号10)がそれぞれ1事例(6.7%)から検出された。表中のGII型不明(事例番号14)の1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シスによる遺伝子型別が不能であった。全国の今シーズンは、GII.2, GII.4が比較的多く検出されている状況にあり⁸⁾、本県も同様の傾向がみられた。

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(検体数)
1	2018.10. 2	旅館	GII.2 (2)
2	12.17	飲食店	GII.4 (3)
3	12.27	旅館	GII.4 (1)
4	2019. 1. 2	飲食店	GII.4 (2)
5	1.28	飲食店	GII.4 (11)
6	2.12	イベント	GII.4 (1)
7	2.23	飲食店	GII.2 (4)
8	3.15	福祉施設	GII.2 (7)
9	3.31	飲食店	GII.2 (7)
10	4.17	旅館	GII.17 (1)
11	4.24	飲食店	GII.2 (1)
12	5.15	旅館	GII.2 (1)
13	5.16	飲食店	GII.2 (2)
14	6. 4	飲食店	GII.2 (6), GII型不明 (1)
15	6. 4	飲食店	GII.6 (2)
計			(検体数: 52)

また、今シーズンに検出された遺伝子型のうち、シーズン前半(9月~2月)、シーズン後半(3月~8月)

に分けると、シーズン前半ではGII.4が71.4%(5事例/7事例)であり、シーズン後半ではGII.2が75.0%(6事例/8事例)と優位な遺伝子型が変わっていた。

検出されたGII.2, GII.4の系統樹解析の結果、GII.2(8事例の30検体)は、全て2016/17シーズンに本県も含め川崎市⁹⁾や愛知県¹⁰⁾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株に類似しており、依然として2016/17シーズンからの全国的な影響が残っていると考えられた(図1)。また、GII.4(5事例の18検体)は、いずれも2012/13シーズンから本県も含め全国で流行したGII.4 Sydney2012類似株¹¹⁾であった(図1)。なお、GII.2, GII.4ともに全国の流行株と類似していた。

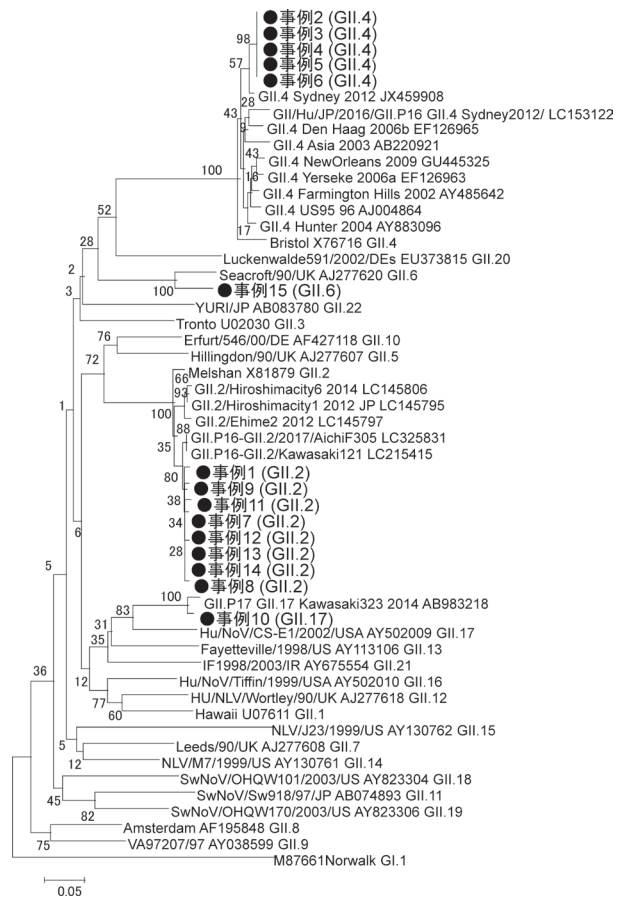


図1 集団事例ノロウイルスGII系統樹(カプシド領域)

3・2 小児散発事例について

ノロウイルスが検出された20検体は、全てGII遺伝子群であり、GII.4が14検体(70.0%)から、GII.2が6検体(30.0%)から検出された(表2)。集団事例とは優位を占める遺伝子型は異なっていたが、GII.2, GII.4が多く検出されており、全国とも同様の傾向であった。

また、今シーズンに検出された遺伝子型のうち、シーズン前半(9月~2月)、シーズン後半(3月~8月)に分けると、シーズン前半ではGII.4が85.7%(12検体

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	2018.11. 2	1	GII.2
2	2018.11.14	1	GII.4
3	2018.12.14	1	GII.4
4	2018.12.17	1	GII.4
5	2018.12.19	1	GII.4
6	2018.12.19	1	GII.4
7	2018.12.22	1	GII.4
8	2018.12.27	1	GII.4
9	2018.12.30	0	GII.4
10	2019. 1. 8	0	GII.4
11	2019. 1.18	1	GII.4
12	2019. 1.24	1	GII.2
13	2019. 1.24	3	GII.4
14	2019. 2.13	2	GII.4
15	2019. 3. 8	10	GII.2
16	2019. 3.16	3	GII.4
17	2019. 5.10	0	GII.4
18	2019. 5.31	1	GII.2
19	2019. 5.31	1	GII.2
20	2019. 6.24	1	GII.2

/14 検体) であり、シーズン後半ではGII.2が66.7% (4 検体/6 検体) と優位であった。集団事例も含め、本県では特にシーズンの前半にGII.4が、後半にGII.2が多く検出される傾向があった。

系統樹解析の結果、GII.2 (6 検体) は、集団事例と同じく、いずれもGII.P16-GII.2類似株であった (図 2)。GII.4 (14 検体) は、うち12検体 (検体番号3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 16, 17) が集団事例でも検出されたGII.4 Sydney2012類似株であったが、2検体 (事例番号2, 13) は、この類似株と若干遺伝学的グループが異なるGII/Hu/JP/2016/GII.P16 GII.4 Sydney2012類似株であった (図 2)。このGII.P16 GII.4 Sydney2012類似株は2015/16シーズンに大阪で初めて報告されたGII.4 Sydney2012であり、子供から成人まで幅広い年齢層に感染を起こしていた¹²⁾。本県では今シーズン初めて小児から検出されたが、今後小児以外からも検出される可能性もあることから、引き続き本株も含めてGII.4亜型の変化や遺伝子型の動向を注視していく必要があると思われる。

4 まとめ

今シーズンに検出された遺伝子型は、集団事例ではGII.2が最多であり、小児散発事例ではGII.4が最多であったが、ともにGII.2,GII.4が比較的多く検出されていた。また、小児散発事例では従来検出されていたGII.4 Sydney2012類似株と若干遺伝学的グループが異なるGII.P16 GII.4 Sydney2012類似株が検出された。

ノロウイルスの主要な遺伝子型はシーズンや年齢層によって違いがみられるため、今後も継続して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状況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) 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) 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) 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)
- 5) 成相絵里, 中澤柁哉, 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 - 2017/18シーズン -, 石川県保健環境センター研究報告書, **55**,



図 2 小児散発事例ノロウイルスGII系統樹 (カプシド領域)

- 52-54 (2018)
- 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) 国立感染症研究所: ノロウイルス等検出状況 2018/19シーズン (2019年9月3日)
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/id/2082-disease-based/na/norovirus/idsc/iasr-noro/5701-iasr-noro-150529.html>
 - 9) 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)
 - 10) HATA Mami, NAKAMURA Noriko, KOBAYASHI Shinichi, ONOUCHI Ayano, SAITO Tomochika, HIROSE Emi, ADACHI Hirokazu, SAITO Noriko, ITO Miyabi, YASUI Yoshihiro, MATSUMOTO Masakado, MINAGAWA Hiroko: 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)
 - 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) 入谷展弘: 集団胃腸炎事例からのノロウイルスGII.P16-GII.4 Sydney_2012の検出, 病原微生物検出情報月報, **37**(7), 136-138 (2016)