

〔資料〕

## 石川県で検出されたノロウイルスの遺伝子型

— 2019/20, 2020/21シーズン —

中澤 柁哉・木村 恵梨子・中野 未来・  
石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部 小橋 奈緒・成相 絵里・中村 幸子・  
倉本 早苗

### 〔和文要旨〕

2019/20, 2020/21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35検体について、RdRp領域、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、過去のシーズンと比較すると事例数は少なかったが、集団事例ではGII.P16\_GII.2の検出割合が6割と最も多く検出され、次いでGII.P31\_GII.4が検出された。また、小児散発事例ではGII.P31\_GII.4の検出割合が約8割と最も多く検出された。これまでのカプシド領域による遺伝子解析に加え、RdRp領域を含めた解析を行うことによって、より詳細な系統樹解析が可能であった。

キーワード：ノロウイルス、遺伝子型、感染性胃腸炎、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～GXの10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、遺伝学的に多様であり遺伝子型分類にはまだ流動的な部分が残っているが、2020年時点では少なくともGIには9、GIIには27の遺伝子型が存在する<sup>1)</sup>。ノロウイルスのゲノムには、3つのタンパク質コード領域（open reading frame:ORF）が存在しており、ORF1はRdRp（RNA-dependent RNA polymerase）領域を含む非構造蛋白質、ORF2は構造蛋白質1（カプシド蛋白質：VP1）、ORF3は構造蛋白質2（VP2）をコードしている。

VP1（カプシド）遺伝子は抗原性に深く関与している<sup>2)</sup>ため、従来よりこの部位の塩基配列によって遺伝

子型が決定されていた。しかし、近年、RdRp領域とVP1（カプシド）領域間でゲノムの組み換え（リコンビネーション）が顕著に認められ、VP1遺伝子とRdRp遺伝子の組み合わせの変化がウイルスの流行に影響することが示唆されている<sup>3) 4)</sup>。そのため、従来のカプシド領域における遺伝子型の解析に加えRdRp領域の遺伝子型を含んだ分子疫学解析を行うことで、県内のノロウイルス株の流行状況の把握や、新たな分子疫学情報の蓄積が期待される。

我々は、これまで、石川県（以下、本県）で検出されたノロウイルスについて遺伝子解析を行い、検出ウイルスのカプシド領域における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>5) - 9)</sup>。今回、2019/20, 2020/21シーズン（以下、2シーズン）に検出されたノロウイルスについて、これまでのカプシド領域における遺伝子型に加えRdRp領域の遺伝子型を含んだ分子疫学解析を行っ

---

Genotype of Norovirus Detected in the Stool Specimens in Ishikawa Prefecture during the 2019/20 and 2020/21 Seasons. by NAKAZAWA Masaya, KIMURA Eriko, NAKANO Mikuru, KOBASHI Nao, 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, Outbreak Cases, Sporadic Cases in Children

たので、その結果について報告する。

## 2 材料と方法

### 2.1 対象

#### (1) 集団事例

2019/20シーズン（2019年第36週（9月）～2020年第35週（8月））、2020/21シーズン（2020年第36週（9月）～2021年第35週（8月））の2シーズンに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<sup>10)</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22検体（5事例、1事例あたり2～7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<sup>11)</sup>によりノロウイルス遺伝子が検出された患者13人（0～6歳）の糞便13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<sup>®</sup>RT reagent Kit（Perfect Real Time）（タカラバイオ社製）、プライマーはRdRp領域の一部とカプシド領域の一部を含む遺伝子領域を検出するMON432/G1-SKRとMON431/G2-SKRを用いてRT-PCR法<sup>12)</sup>を実施した（図1）。電気泳動で

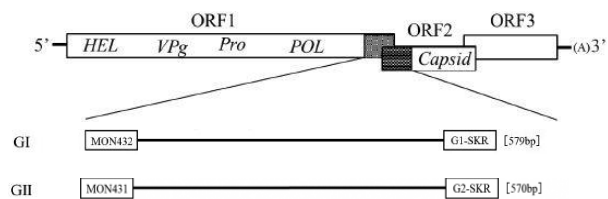


図1 ノロウイルス検査に使用するプライマーの位置

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約600bp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。型別表記は Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping<sup>13)</sup> の推奨表記法に準じ、遺伝子群.RdRp遺伝子型(P)\_遺伝子群.VP1(カプシド)遺伝子型のように記載した。また、RdRp領域およびカプシド領域それぞれについて、遺伝子解析ソフトウエ

アMEGA Xを用いて近隣結合法により系統樹解析を行った。

## 3 結果

### 3.1 集団事例について

#### (1) 遺伝子型検出状況

5事例の22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。2シーズンに検出

表1 ノロウイルス遺伝子解析結果（集団事例）

| 事例番号 | シーズン    | 発生年月日      | 発生・原因施設 | 遺伝子型（検体数）                     |
|------|---------|------------|---------|-------------------------------|
| 1    | 2019/20 | 2019.12.22 | 飲食店     | GII.P16_GII.2 (2)             |
| 2    | 2019/20 | 2020. 1. 4 | 飲食店     | GII.P31_GII.4 (2)             |
| 3    | 2019/20 | 2.17       | 飲食店     | GII.P16_GII.2 (5), GII型不明 (2) |
| 4    | 2020/21 | 2021. 2.12 | 保育園     | GII.P31_GII.4 (5)             |
| 5    | 2020/21 | 3.12       | 飲食店     | GII.P16_GII.2 (6)             |
| 計    |         |            |         | (検体数：22)                      |

された遺伝子群はすべてGIIの事例であり、GII.P16\_GII.2が3事例（60.0%）、GII.P31\_GII.4が2事例（40.0%）であった。シーズンごとにもみると、2019/20シーズンでは、3事例のうち、GII.P16\_GII.2が2事例（事例番号1, 3）、GII.P31\_GII.4が1事例（事例番号2）であり、2020/21シーズンでは、2事例のうち、GII.P31\_GII.4が1事例（事例番号4）、GII.P16\_GII.2が1事例（事例番号5）であった。なお、1事例において、複数の遺伝子型が検出された事例はなかった。表中のGII型不明（事例番号3）の2検体は、リアルタイムPCR法ではGII陽性と判定できたものの、ダイレクトシーケンスによる遺伝子型別は不能であった。

#### (2) 系統樹解析結果

RdRp領域の系統樹解析の結果、GII.P16（3事例の13検体）のうち、事例番号1, 3の7検体は2016/17シーズンに本県も含め川崎など全国で検出されたHu/JP/2016/GII.P16\_GII.2/Kawasaki121株<sup>14)</sup>に類似していたが、事例番号5の6検体は若干遺伝的グループが異なる株であった（図2）。また、GII.P31（事例番号2, 4の7検体）は、いずれもRdRp領域がGII.P31に分類される、GII.4 Sydney\_2012類似株であった（図2）。

一方、カプシド領域の系統樹解析の結果、GII.2（事例番号1, 3, 5の13検体）は、いずれもHu/JP/2016/GII.P16\_GII.2/Kawasaki121類似株であった（図3）。また、GII.4（事例番号2, 4の7検体）は、いずれもGII.4 Sydney\_2012類似株であった（図3）。

### 3.2 小児散発事例について

#### (1) 遺伝子型検出状況

ノロウイルスが検出された13検体についての遺伝子

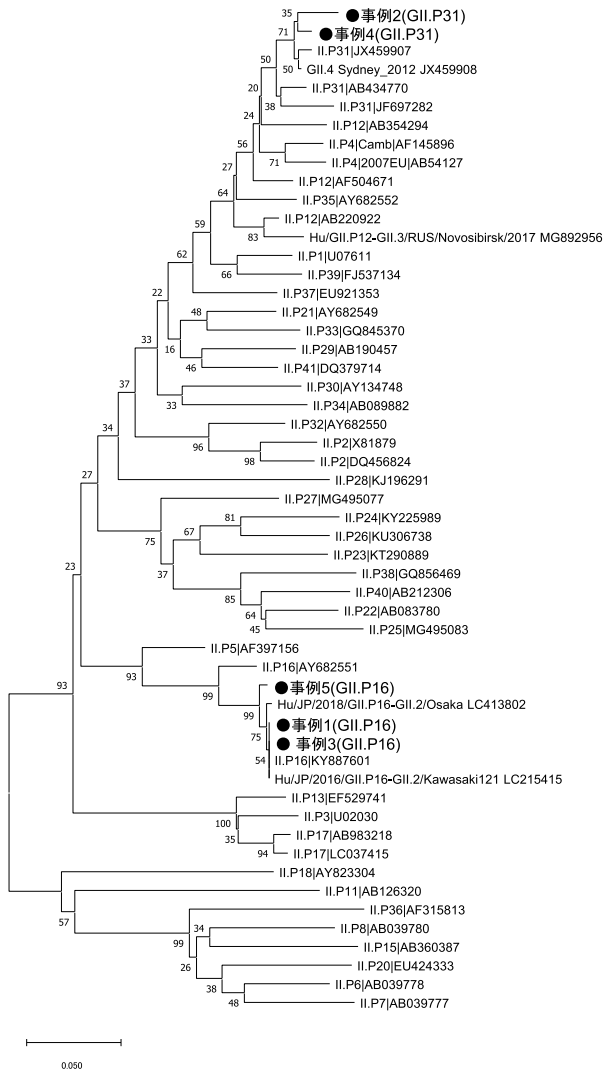


図2 集団事例ノロウイルスGII系統樹 (RdRp領域)

型を表2に示した。2シーズンに検出された遺伝子群はすべてGIIであり、GII.P31\_GII.4が10検体 (76.9%)、GII.P16\_GII.2が2検体 (15.4%)、GII.P12\_GII.3が1検体 (7.7%)であった。シーズンごとにみると、2019/20シーズンでは、5検体のうちGII.P31\_GII.4が3検体、GII.P16\_GII.2が1検体、またGII.P12\_GII.3が1検体であった。2020/21シーズンでは、8検体のうちGII.P31\_GII.4が7検体、GII.P16\_GII.2が1検体であった。

(2) 系統樹解析結果

RdRp領域の系統樹解析の結果、GII.P31 (10検体)はいずれもGII.P31に分類されるGII.4 Sydney\_2012類似株であったが、3検体 (検体番号3, 4, 5)と7検体 (検体番号6, 7, 8, 9, 10, 11, 12)で若干遺伝的グループが異なっていた (図4)。また、GII.P16 (2検体)はいずれも、Hu/JP/2016/GII.P16\_GII.2/Kawasaki121類似株とは若干遺伝的グループが異なる株であった (図4)。

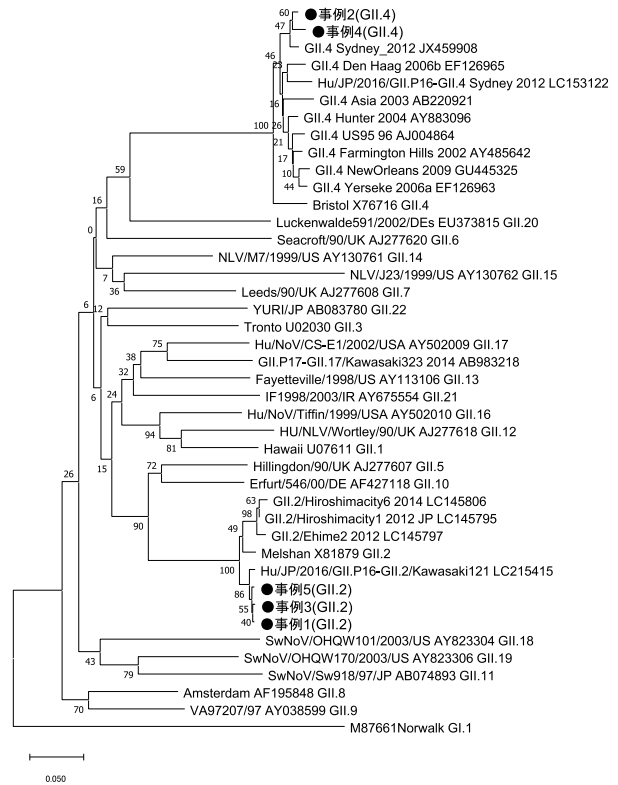


図3 集団事例ノロウイルスGII系統樹 (カプシド領域)

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 | シーズン    | 検体採取日      | 年齢 (歳) | 遺伝子型          |
|------|---------|------------|--------|---------------|
| 1    | 2019/20 | 2019.11.29 | 2      | GII.P12_GII.3 |
| 2    | 2019/20 | 12.29      | 6      | GII.P16_GII.2 |
| 3    | 2019/20 | 2020.1.8   | 1      | GII.P31_GII.4 |
| 4    | 2019/20 | 1.8        | 3      | GII.P31_GII.4 |
| 5    | 2019/20 | 2.6        | 5      | GII.P31_GII.4 |
| 6    | 2020/21 | 2021.2.26  | 1      | GII.P31_GII.4 |
| 7    | 2020/21 | 3.6        | 1      | GII.P31_GII.4 |
| 8    | 2020/21 | 3.10       | 2      | GII.P31_GII.4 |
| 9    | 2020/21 | 3.23       | 1      | GII.P31_GII.4 |
| 10   | 2020/21 | 4.9        | 1      | GII.P31_GII.4 |
| 11   | 2020/21 | 4.28       | 1      | GII.P31_GII.4 |
| 12   | 2020/21 | 5.13       | 0      | GII.P31_GII.4 |
| 13   | 2020/21 | 5.15       | 1      | GII.P16_GII.2 |

カプシド領域の系統樹解析の結果、GII.4 (10検体)はいずれもGII.4 Sydney\_2012類似株であり、GII.2 (2検体)は、いずれもHu/JP/2016/GII.P16\_GII.2/Kawasaki121類似株であった (図5)。

4 考 察

2シーズンにノロウイルスが検出された事例数は、集団事例が5事例22検体、小児散発事例が13検体であっ

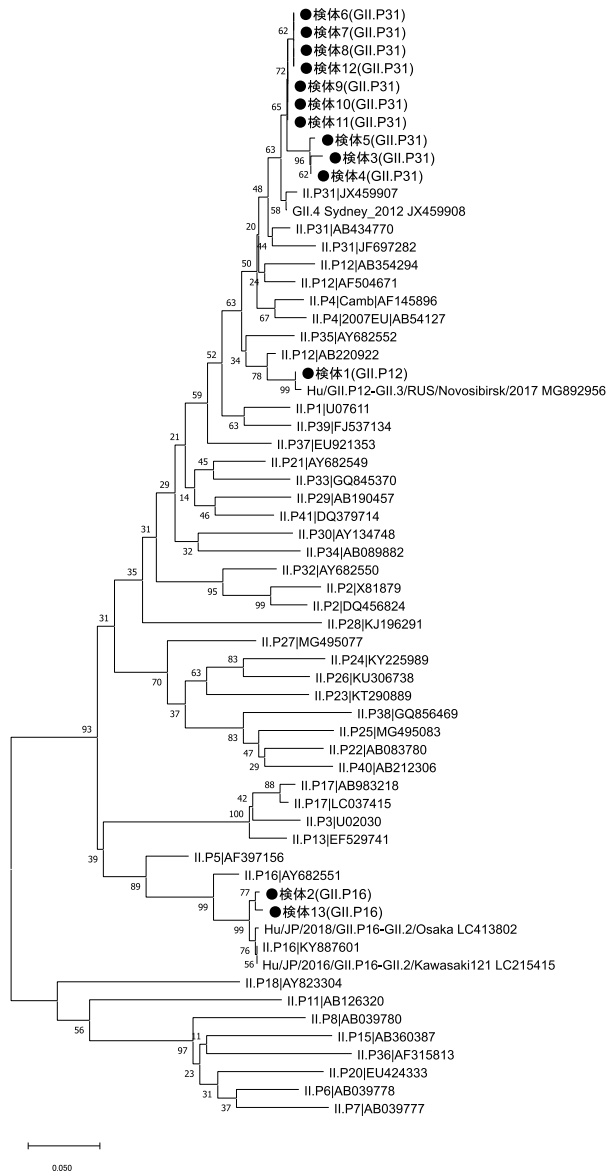


図4 小児散発事例ノロウイルスGII系統樹 (RdRp領域)

た。2018/19シーズンでは集団事例が15事例52検体、小児散発事例が20検体であったことから<sup>9)</sup>、事例数は過去のシーズンと比較し少ない状況であった。特に、2020年第10週(3月)～2021年第4週(1月)の期間については、集団事例、小児散発事例ともにノロウイルスの検出事例はなかった。その一因としては、新型コロナウイルスの流行拡大によって、手洗いの励行や生活様式の変化などによる影響があったのではないかとと思われる。

全国の遺伝子型検出状況では、カプシド領域の遺伝子型についてのみであるが、2019/20シーズンはGII.2、GII.4が比較的多く検出され、2020/21シーズンは検出報告数が少なく傾向は不明であった<sup>15)</sup>。一方、本県の2019/20シーズンは、集団事例、小児散発事例ともにGII.P16\_GII.2、GII.P31\_GII.4が検出されており、全国と

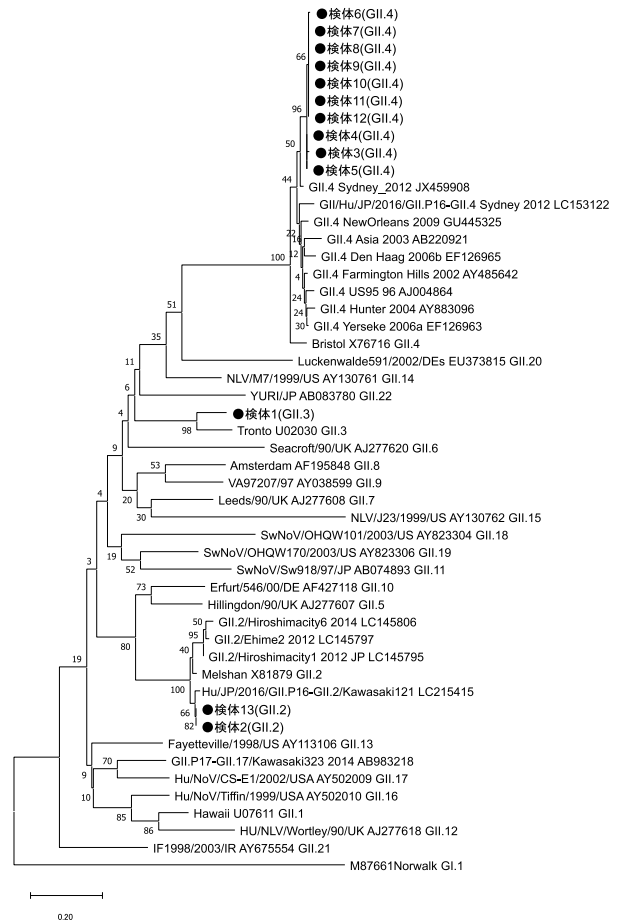


図5 小児散発事例ノロウイルス系統樹 (カプシド領域)

同様の傾向がみられた。

2シーズンに検出された遺伝子型のRdRp領域、カプシド領域の系統樹解析の結果、集団事例では、GII.P16\_GII.2の3事例は、カプシド領域ではいずれもHu/JP/2016/GII.P16\_GII.2/Kawasaki121類似株であったが、RdRp領域ではHu/JP/2016/GII.P16\_GII.2/Kawasaki121類似株であった事例番号1、3と比べて、事例番号5で、若干遺伝的グループに違いがみられた。事例数が少なく明確には検証できないが、少なくともRdRp領域の遺伝的グループが異なるGII.P16\_GII.2が流行していたと考えられる。また、GII.P31\_GII.4の2事例(事例番号2、4)はRdRp領域、カプシド領域ともに、2012/13シーズンから本県も含め全国で流行したGII.4 Sydney\_2012株<sup>16)</sup>に類似しており、依然としてその影響が残っていると考えられた。

一方、小児散発事例では、GII.P31\_GII.4の10検体は、RdRp領域、カプシド領域ともに、GII.4 Sydney\_2012類似株であったが、RdRp領域について検体番号3～5の3検体と検体番号6～12の7検体では若干遺伝的グループが異なっていた。この検体番号3～5は2019/20シーズンの事例であり、検体番号6～12は2020/21シ

ズンの事例であったことから、シーズンにより若干の遺伝的グループの違いがあると考えられた。

今回から、カプシド領域と RdRp 領域の遺伝子型の系統樹解析を行ったが、事例数が少ないながらも各領域における遺伝的グループに若干の違いがみられた事例もあった。従来のカプシド領域のみの解析では得られなかった差異であることから、今後も引き続き RdRp 領域も含めた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。

## 5 ま と め

- (1) 2シーズンに検出された事例数は、過去のシーズンと比較して少ない状況であった。
- (2) 遺伝子型の検出状況は、集団事例では GII.P16\_GII.2, GII.P31\_GII.4 が検出され、小児散发事例では GII.P31\_GII.4 が約 8割検出された。
- (3) カプシド領域に加え、RdRp 領域を含めた解析を行うことによって、より詳細な系統樹解析が可能であった。

## 文 献

- 1) 片山和彦：1. ウイルス ノロウイルス総説 2020, ウイルス, **70** (2), 117-128 (2020)
- 2) 木村博一他：ノロウイルスの主要抗原遺伝子 (VP1 gene) の分子進化, 病原微生物検出情報月報, **35** (7), 170-171, (2014)
- 3) de Graaf M, van Beek J, Koopmans MP. Human norovirus transmission and evolution in a changing world. *Nat Rev Microbiol*, **14** (7), 421-33 (2016)
- 4) Public Library of Science, The emerging GII.P16-GII.4 Sydney\_2012 norovirus lineage is circulating worldwide, arose by late-2014 and contains polymerase changes that may increase virus transmission, <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0179572> (2021年9月3日)
- 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) 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)
- 7) 中澤 証哉, 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)
- 8) 成相絵里, 中澤 証哉, 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**, 52-54 (2018)
- 9) 中澤 証哉, 成相絵里, 中村幸子, 倉本早苗：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研究報告書, **56**, 55-58 (2019)
- 10) 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)」
- 11) 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)
- 12) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアルノロウイルス (第1版), 8-9 (2019)
- 13) Kroneman A, Vega E, Vennema H, et al.: Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Arch Virol*, **10**, 2059-2068, (2013)
- 14) 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)
- 15) 国立感染症研究所：ノロウイルス等検出状況 2020/21 シーズン, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/id/2082-diseasebased/na/norovirus/idsc/iasr-noro/5701-iasrnoro-150529.html> (2021年9月3日)
- 16) 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)