

〔資 料〕

# 石川県で検出されたノロウイルスの遺伝子型

— 2021/22～2023/24 シーズン —

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部

城 座 美 夏・木 村 恵 梨 子・成 相 絵 里  
小 橋 奈 緒・児 玉 洋 江

## 〔和文要旨〕

2021/22シーズンから2023/24シーズンに当センターで検査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88検体についてVP1領域およびRdRp領域の遺伝子解析を行った。集団事例数は2023/24シーズンに増加し、人の活動が新型コロナウイルス感染症流行前の水準に戻ったことが影響したと推測された。検出された遺伝子型の傾向は全国と同様であり、シーズンにより優位な遺伝子型が変化していた。また、集団事例、小児散発事例ともに過去の流行株と遺伝的に異なる株が増加していることが示唆された。今回の解析ではゲノムの組み換えが起こった新規の遺伝子型は検出されなかったが、今後も組み換えの有無を注視していく必要がある。

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、現在少なくとも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、RdRp (RNA-dependent RNA polymerase) 領域を含む非構造蛋白質はORF1、構造蛋白質1 (カプシド蛋白質: VP1) はORF2、構造蛋白質2 (VP2) はORF3にコードされている。そのうちVP1 (カプシド) 遺伝子は抗原性に深く関与しており<sup>2)</sup>、従来よりVP1領域

の塩基配列によって遺伝子型が決定されていた。近年、RdRp領域とVP1領域間でゲノムの組み換え (リコンビネーション) が起き、この組み合わせの変化で新たに出現した株が流行を引き起こすことが示唆されている<sup>3,4)</sup>。このことを踏まえて本県では、従来より行っていたVP1領域における遺伝子型解析に加え、RdRp領域の遺伝子型を含めた遺伝子解析を2019年より実施している<sup>5)</sup>。

今回、2021/22シーズンから2023/24シーズン (以下、3シーズン) の間にノロウイルスが検出された感染性胃腸炎の集団事例等において、VP1領域とRdRp領域における遺伝子型の分子疫学解析を行ったのでその結果について報告する。なお、本報ではシーズンの区切りを国立感染症研究所 (以下、感染研) にあわせ、第36週から翌年の35週までとした<sup>6)</sup>。

---

Genotype of Norovirus Detected in the Stool Specimens in Ishikawa Prefecture during the 2021/22-2023/24 Seasons. by SHIROZA Mika, KIMURA Eriko, NARIAI Eri, KOBASHI Nao and KODAMA Hiroe (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

## 2 材料と方法

### 2.1 材料

#### (1) 集団事例

3シーズンの間に、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、当センターにてリアルタイムPCR法<sup>7)</sup>により遺伝子検査を行った結果、ノロウイルス遺伝子が検出された患者または無症状病原体保有者（調理従事者等）の糞便63検体（17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)と同時期に、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>8)</sup>またはリアルタイムPCR法<sup>7)</sup>によりノロウイルス遺伝子が検出された患者25人（0～11歳）の25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VP1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>9)</sup>を実施した（図1）。

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 (<http://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus/>) を用いて遺伝子型を決定した。型別表記はChhabraらの報

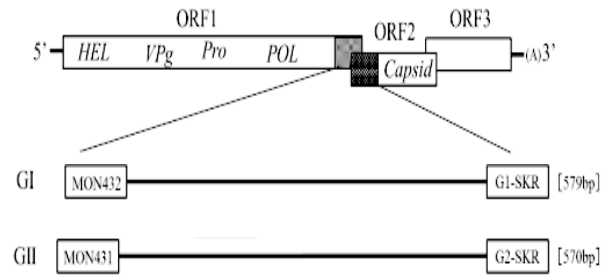


図1 ノロウイルス検査に使用するプライマーの位置

告<sup>10)</sup>に準じ、「VP1 遺伝子型 [RdRp 遺伝子型 (P)]」のように記載した。さらに、1事例につき1検体を用いて、RdRp領域、VP1領域それぞれについて、遺伝子解析ソフトウェアMEGA Xを用いて近隣結合法により系統樹解析を行った。なお、同期間に国内で検出された株（以下、同期間国内株）についても同様に解析した。また、検出数が多かった遺伝子型については、過去の国内・外で流行した株<sup>11)~15)</sup>（以下、過去流行株）も併せて解析を行った（表1）。

表1 解析に用いた過去流行株

遺伝子型	Accession No.	株名	検出年	文献
GII.2[P16]	LC215415.1	Kawasaki121	2016	11
GII.4[P16]	MK762638.1	Miami0181	2017	12
GII.4[P31]	JX459908.1	NSW0514	2012	13, 14
GII.17[P17]	AB983218.1	Kawasaki323	2014	15

## 3 結果

### 3.1 集団事例について

#### (1) 遺伝子型検出状況

17事例の63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2に示した。事例ごとの遺伝子

表2 ノロウイルス遺伝子解析結果（集団事例）

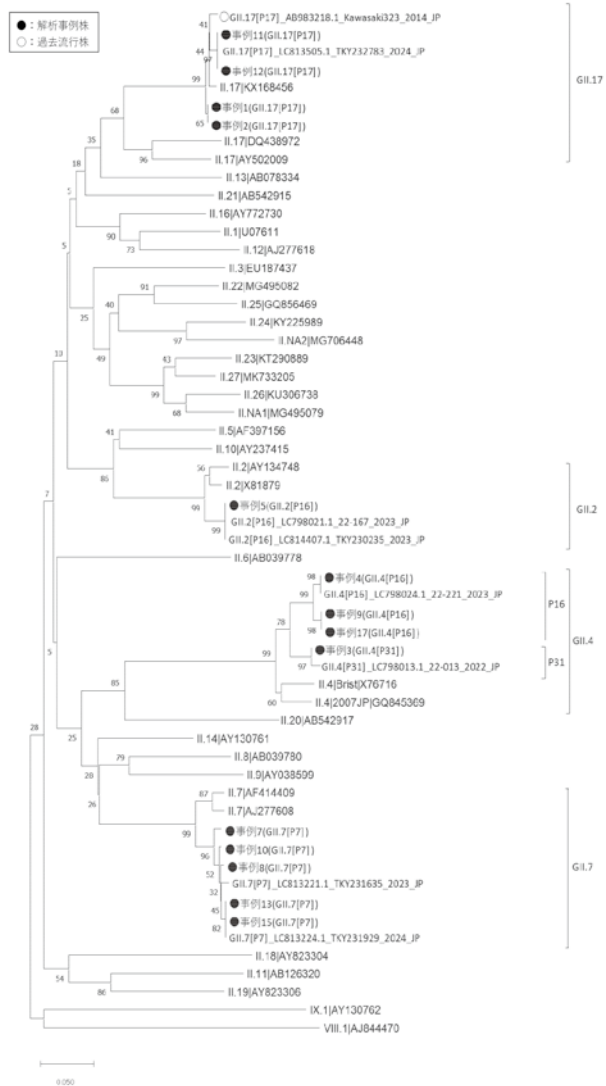
事例番号	シーズン	発生年月日	発生・原因施設	検体数	遺伝子型別検出検体数								
					GI		GII				GI + GII		
					GI.1 [P1]	型別不能	GII.2 [P16]	GII.4 [P16]	GII.4 [P31]	GII.7 [P7]	GII.17 [P17]	型別不能	GI.1 [P1] + GII.17 [P17]
1	2021/22	2021.12.26	飲食店	3							3		
2		2022.1.6	飲食店	11							11		
3		2022.5.16	結婚式場	2				1			1		
4	2022/23	2023.1.31	飲食店	2			1				1		
5		2023.2.8	飲食店	2		2							
6		2023.2.11	飲食店	2							2		
7		2023.11.17	飲食店（県外）	2						2			
8	2023/24	2023.12.8	飲食店	2					2				
9		2024.1.11	飲食店	5			5						
10		2024.2.21	宿泊施設	6					6				
11*		2024.2.23	飲食店	2						1		1	
12*		2024.2.24	宿泊施設	4	1					1	1	1	
13		2024.2.27	不明（県外）	3					3				
14		2024.3.23	飲食店	1		1							
15		2024.3.24	飲食店	8					7		1		
16		2024.3.28	飲食店	5	5								
17		2024.4.22	飲食店	3			3						
合計				63	6	1	2	9	1	20	16	6	2

\*同一事例内に複数の遺伝子型検出あり（型別不能株を除く）

群の内訳は、GIのみが2事例、GIIのみが13事例、GIとGIIがともに検出された事例が2事例であった。3シーズンで多く検出された遺伝子型はGII.7[P7]が5事例(うち2事例は県外で発生)、GII.17[P17]が4事例、GII.4[P16]が3事例であった。なお、表中のGI型別不能の1検体およびGII型別不能の6検体は、リアルタイムPCR法ではGI陽性または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。また、今回の解析では、ゲノムの組み換えが起こった新規の遺伝子型は検出されなかった。

シーズン別で最も多く検出された遺伝子型は、2021/22シーズンは3事例中2事例(66.7%)でGII.17[P17]が検出され、2022/23シーズンは3事例中GII.2[P16],GII.4[P16]がそれぞれ1事例,2023/24シーズンは11事例中5事例(45.5%)でGII.7[P7]が検出された。

(2) 系統樹解析結果



配列名の表記は、「VP1遺伝子型[RdRp遺伝子型(P)]\_Accession No.\_株名\_検出年\_検出国」とした。

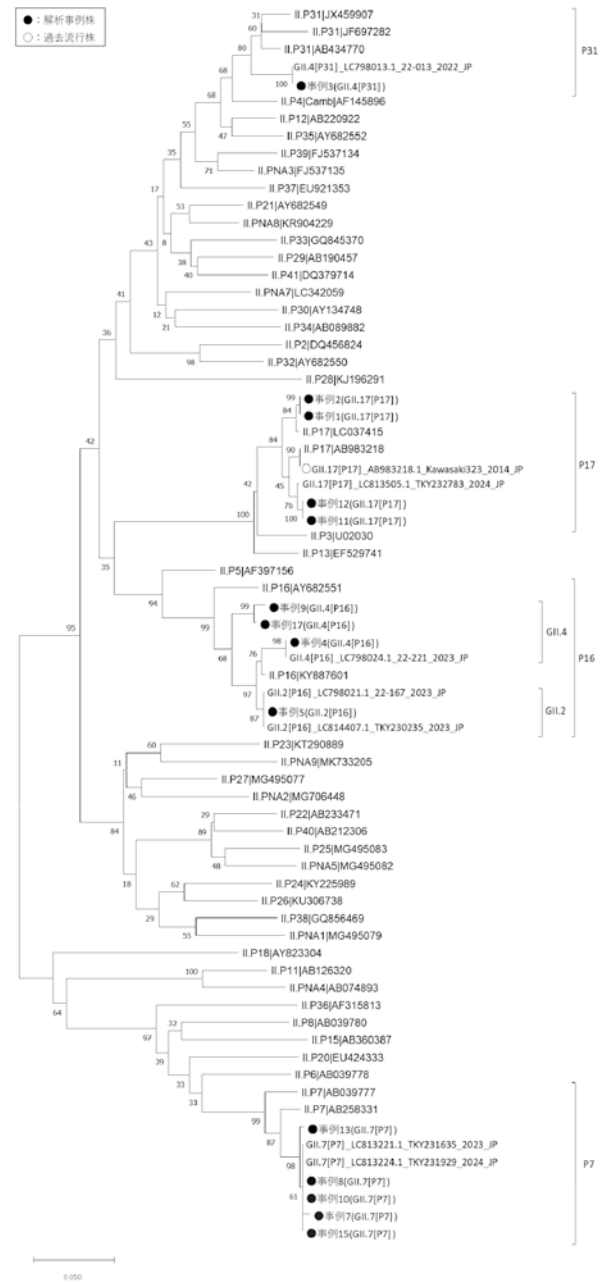
図2 集団事例ノロウイルスGII系統樹 (VP1領域)

VP1領域およびRdRp領域の系統樹を図2、図3にそれぞれ示した。遺伝子型が同じ検体に関しては、最も多く検出されたGII.7[P7]を含め、ほとんどがVP1領域、RdRp領域ともに類似していた。一方、GII.17[P17]に関しては、両領域ともに2021/22シーズン(事例番号1, 2)と2023/24シーズン(事例番号11, 12)で別のグループに属し、いずれも過去流行株とも遺伝的グループが異なっていた。

なお、今回解析を実施した検体の大多数は、VP1領域、RdRp領域ともに同期間国内株と類似していた。

3・2 小児散発事例について

(1) 遺伝子型検出状況



配列名の表記は、「VP1遺伝子型[RdRp遺伝子型(P)]\_Accession No.\_株名\_検出年\_検出国」とした。

図3 集団事例ノロウイルスGII系統樹 (RdRp領域)

表3 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	2021/22	2021.9.11	1	GII.2[P16]
2		11.29	1	GII.4[P31]
3		12.18	1	GII.4[P31]
4		2022.1.9	1	GII.4[P31]
5		1.22	11	GII.17[P17]
6		1.22	3	GII.4[P31]
7		1.26	1	GII.4[P31]
8		1.31	3	GII.4[P31]
9		8.3	3	GII.4[P31]
10	2022/23	12.16	6	GII.4[P16]
11		2023.1.13	1	GII.4[P31]
12		1.16	8	GII.2[P16]
13		1.18	3	GII.4[P31]
14		1.20	3	GII.2[P16]
15		2.4	1	GII.4[P31]
16		2.14	1	GII.2[P16]
17		4.3	7	GII.2[P16]
18		4.14	5	GII.2[P16]
19		4.19	2	GII.2[P16]
20		4.25	1	GII.2[P16]
21		5.17	0	GII.2[P16]
22	2023/24	12.26	1	GII.7[P7]
23		2024.1.12	3	GII 型別不能
24		2.20	2	GII.4[P16]
25		6.26	2	GII.4[P16]

ノロウイルスが検出された25検体についての遺伝子型を表3に、検体採取年月別検出状況を図4に示した。3シーズンで検出された遺伝子群はすべてGIIで、GII.4 [P31] が10検体 (40.0%)、GII.2 [P16] が9検体 (36.0%)、GII.4 [P16] が3検体 (12.0%)、GII.7 [P7]、GII.17 [P17] およびGII型別不能が各1検体 (4.0%) であった。また、今回の解析では、ゲノムの組み換えが起こった新規の遺伝子型は検出されなかった。

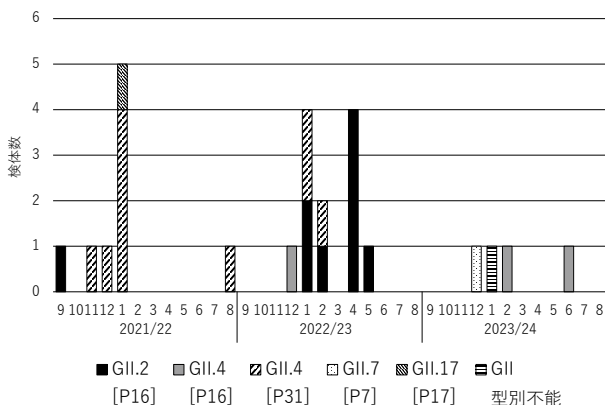


図4 月別ノロウイルス遺伝子解析結果 (小児散発事例)

シーズン別で最も多く検出された遺伝子型は、2021/22シーズンは9検体中7検体 (77.8%) でGII.4 [P31] が検出され、2022/23シーズンは12検体中8検体 (66.7%) でGII.2 [P16] が、2023/24シーズンでは4検体中2検体 (50.0%) でGII.4 [P16] が検出された。

(2) 系統樹解析結果

VP1 領域およびRdRp 領域の系統樹を図5、図6にそれぞれ示した。遺伝子型が同じ検体に関しては、多くはVP1 領域、RdRp 領域ともに類似し、同期間国内株とも類似していた。さらに、GII.4 [P31]、GII.2 [P16]、一部のGII.4 [P16] の株は両領域ともに過去流行株と遺伝的グループが異なった。

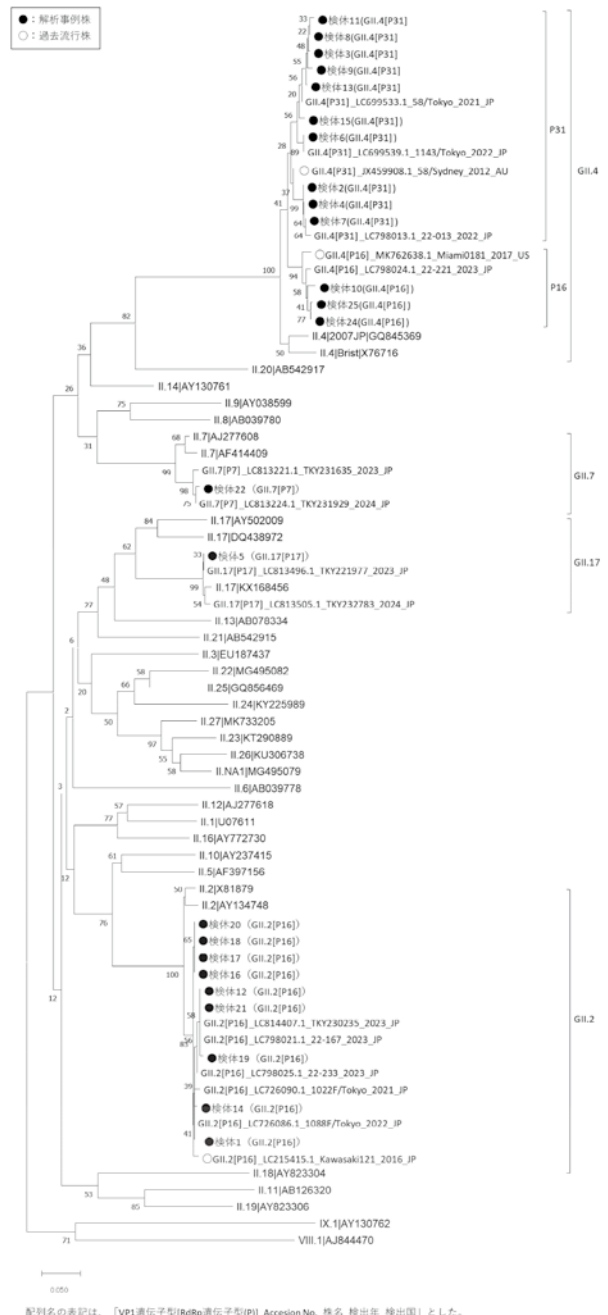


図5 小児散発事例ノロウイルスGII系統樹 (VP1 領域)

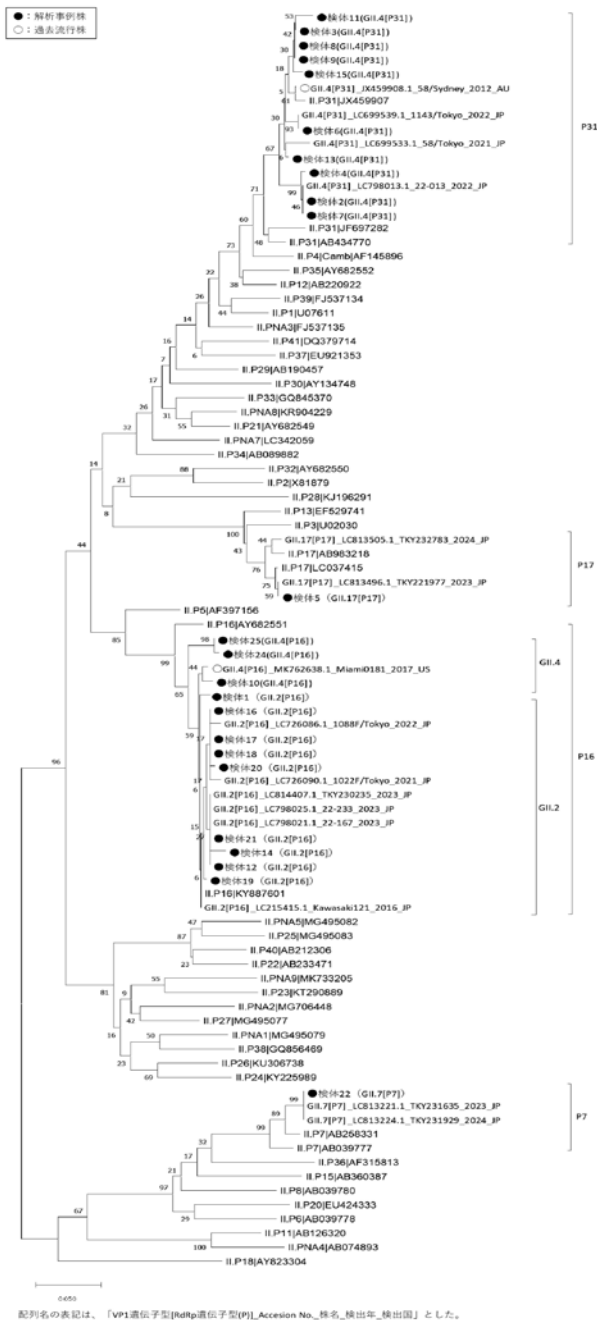


図 6 小児散発事例ノロウイルス系統樹 (RdRp 領域)

### 4 考 察

本県における感染性胃腸炎の集団事例数は、2019/20シーズン以降 2～3 事例と、それ以前の水準<sup>5)</sup>を大きく下回り推移していたが、2023/24シーズンは11事例と増加した。このことは、2019/20～2022/23シーズンは新型コロナウイルス感染症に対する社会的行動制限等の影響で事例数が少なくなっていたが、2023年5月に定点把握感染症へ移行したことにより、人の活動が流行前の水準に戻ったことによると推測された。

本県では、食中毒等の集団事例において、2023/24シーズンには、これまで検出数が少なかったGII.7が最も多

く検出された。また小児散発事例においては、3シーズンにかけてGII.4が多く検出されていた。感染研による全国の解析結果<sup>6)</sup>では3シーズンを通してGII.4が多く、2023/24シーズンには、GII.4に次いでGII.7が多く検出されており、本県と同様の傾向であった。

集団事例および小児散発事例ともに、シーズンにより優位に検出される遺伝子型が変化していた。また系統樹解析において、集団事例ではGII.7[P7]の5事例(うち2事例県外発生)は同期間国内株に類似していたことから、遺伝的に近い株が全国でも広がっている可能性が示唆された。また、GII.17[P17]の4事例はシーズンごとに別のグループに属し、いずれも過去流行株とはグループが異なっていた。さらに小児散発事例においても、GII.4[P31]、GII.2[P16]、一部のGII.4[P16]の株は過去流行株と遺伝的に異なり、少しずつ変異を繰り返し、過去流行株とは異なる株が増加していることが示唆され、今後も注目していきたい。

また今回の解析では、集団事例と小児散発事例ともに遺伝子組み換えが起こった新規の遺伝子型は検出されなかった。過去には他県において遺伝子組み換えが起こったキメラウイルスが地域流行をおこした事例もあることから<sup>16)</sup>、今後も組み換えの有無を注視していく必要がある。

### 5 ま と め

- (1) 集団事例数は2019/20シーズン以降、それ以前の水準を大きく下回り推移していたが、2023/24シーズンに増加し、人の活動が新型コロナウイルス感染症流行前の水準に戻ったことが影響したと推測された。
- (2) 集団事例において、GII.7が2023/24シーズンに最も多く検出されていた。また小児散発事例において、GII.4が3シーズンにかけて多く検出されており、全国と同様の傾向がみられた。
- (3) 集団事例および小児散発事例ともに、シーズンにより優位に検出される遺伝子型が変化しており、過去流行株とは遺伝的に異なる株が増加していることが示唆された。
- (4) 集団事例と小児散発事例ともにゲノムの組み換えが起こった新規の遺伝子型は検出されなかった。過去には遺伝子組み換えが起こったキメラウイルスが地域流行をおこした事例もあることから、今後も組み換えの有無を注視していく必要がある。

### 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, M. P.: Human norovirus transmission and evolution in a changing world, *Nature Reviews Microbiology*, **14**(7), 421-433 (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, <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0179572> (2024年8月30日)
  - 5) 中澤 柁哉, 木村 恵梨子, 中野 未来, 小橋 奈緒, 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 - 2019/20, 2020/21 シーズン -, 石川県保健環境センター研究報告書, **58**, 67-71 (2021)
  - 6) 国立感染症研究所, ノロウイルス等検出速報 シーズン別ウイルス検出状況, <https://kansens-levelmap.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data96j.pdf> (2024年8月30日)
  - 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)」
  - 8) 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)
  - 9) 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)
  - 10) Chhabra, P., De Graaf, M., Parra, G. I., et al.: Updated classification of norovirus genogroups and genotypes, *Journal of General Virology*, **100**(10), 1393-1406 (2019)
  - 11) 松島 勇紀他: 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)
  - 12) 田村 務他: 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)
  - 13) Lun, J. H., Hewitt, J., Yan, G. J. H., et al.: Recombinant GII.P16/GII.4 Sydney 2012 Was the Dominant Norovirus Identified in Australia and New Zealand in 2017, *Viruses*, **10**(10), 548 (2018)
  - 14) Hasing, M. E., Lee, B. E., Qiu, Y., et al.: Changes in norovirus genotype diversity in gastroenteritis outbreaks in Alberta, Canada: 2012-2018, *BMC Infectious Diseases*, **19**(1), 177 (2019)
  - 15) 松島 勇紀他: 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)
  - 16) 山下 育孝他: 愛媛県における地域流行から検出された新規キメラウイルス GII.P21-GII.1 について, 病原微生物検出情報月報, **38**(1), 9-10 (2017)