

福島県内におけるノロウイルスの検出状況について

富田望 北川和寛 鈴木理恵 柏木佳子 金成篤子 風間秀元
微生物課

要 旨

2014/15 シーズン（2014 年 9 月～2015 年 8 月）、及び 2015/16 シーズン（2015 年 9 月～2016 年 8 月）に当所において散発事例と食中毒事例から検出されたノロウイルスについて、遺伝子型解析を実施した。

多く検出された型は、いずれのシーズンにおいても、散発事例では G II.4 と G II.3, 食中毒事例では G II.17 であった。なお、G II.17 は散発事例で増加傾向が認められた。

このため、昨今注目されている G II.17 について、キャプシド及びポリメラーゼ領域の塩基配列を用いて系統樹解析を行ったところ、新規遺伝子型の Kawasaki308 (LC037415) と類似するものが多く検出され、福島県内においても流行していたことが認められた。

キーワード：ノロウイルス、遺伝子型解析、ノロウイルス G II.17

はじめに

ノロウイルスはヒトに対して嘔吐、下痢などを起こす感染性胃腸炎や食中毒の原因ウイルスとして知られており、冬季を中心に流行する。ヒトに感染するノロウイルスの遺伝子群は主に Genogroup I（以下、“G I”とする。）と Genogroup II（以下、“G II”とする。）に分類され、さらに、遺伝子型として少なくとも G I は 9 種類（G I.1～9）、G II は 22 種類（G II.1～22）が存在することが知られている¹⁾。

川崎市において 2014 年 3 月の検体から G II.17 に分類されるが、これまでのものとは塩基配列が大きく異なる新規遺伝子型ウイルス（G II.P17-G II.17）が検出された²⁾。これは構造蛋白質であるキャプシド（VP1 領域）だけでなく、非構造蛋白質の RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ（RdRp）領域もこれまで報告されている基準株のものと異なっていた。これまで、中国のアウトブレイク等、アジア諸国を中心に世界中から検出報告がされており、大規模な患者の増加が懸念されている³⁾。また、2015 年 9 月には G II.17 が今後、国内での主要な流行株となる可能性があるとの報告があった²⁾。

このことから、2014/15 シーズン（2014 年 9 月～2015 年 8 月）から 2015/16 シーズン（2015 年 9 月～2016 年 8 月）の疑い事例を含む食中毒事例（以下、“食中毒事例”とする。）及び感染症発生動向調査事業（以下“散発事例”とする。）から検出されたノロウイルス遺伝子について詳細な解析を行い、当所におけるノロウイルス遺伝子型の検出状況を調査したので報告する。

材 料

2014/2015 シーズン及び 2015/2016 シーズンに検査依頼のあった食中毒事例の 11 事例の検体及び散発事例 178 検体を用いた。

方 法

ノロウイルスの検出法⁴⁾に準じて核酸を抽出し、コンベンショナル RT-PCR を実施した。得られた増幅産物を精製しダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、NoroNet の Genotyping Tool⁵⁾を用いて遺伝子型の同定を行った。さらに、G II.17 と判定したのものについては NJ 法による系統樹解析による分子疫学的解析を行った。

表 1 月別遺伝子型検出結果 (2014/15シーズン)

遺伝子型	年 月	2014年						2015年						総計
		9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	
GI.2	食中毒							1※						1
GII.3	散発					1	2		1	15	10	1	1	31
GII.4	散発				2	36	13	4			1			56
	食中毒				1			1※						2
GII.6	散発								1					1
GII.13	散発					4			1					5
GII.17	散発							1		2	2			5
	食中毒						2	2※	1					5
総計	散発				2	41	15	5	3	17	13	1	1	98
	食中毒				1		2	4	1					8

※：同一食中毒事例から複数型検出

表 2 月別遺伝子型検出結果 (2015/16シーズン)

遺伝子型	年 月	2015年						2016年						総計
		9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	
GI.3	食中毒							1※1						1
GII.2	散発					1								1
GII.3	散発		3	6	4	2	1				1			17
	食中毒				1									1
GII.4	散発				6	25	3	3	1	8	2	2		50
	食中毒							1※1						1
GII.7	食中毒												1	1
GII.17	散発				2	4	1	5						12
	食中毒						1	2※1, ※2						3
総計	散発		3	6	12	32	5	8	1	8	3	2		80
	食中毒				1		1	4					1	7

※ 1, ※ 2：同一食中毒事例から複数型検出

結果及び考察

1 月別検出状況

各シーズンの月別遺伝子型検出結果を表 1, 2 に示す。

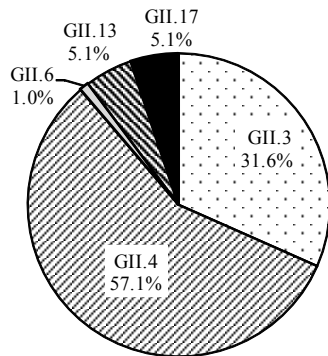
散発事例について、ノロウイルスは 2014/15 シーズンには 12 月から 8 月まで、2015/16 シーズンは 10 月から 7 月まで検出され、いずれも検出数のピークは 1 月であり、全体の検出数の約 4 割を占めた。2 シーズンともに最も検出の多かった G II.4 は、2014/15 シーズンは感染性胃腸炎の流行期である 12 月から 3 月に検出され、2015/16 シーズンは 12 月

から 7 月までの長期にわたって検出された。

また、ノロウイルス全体の傾向と同様に検出数のピークは、2 シーズンともに 1 月であり、G II.4 の検出数のうちの半数以上を占めた。G II.4 に次いで検出数の多かった G II.3 は 2015 年 1 月から 2016 年 2 月にかけて、2015 年 3 月と 9 月を除き、シーズンをまたぎ長期にわたって検出が認められた。

食中毒事例では、2014/15 シーズンは 12 月から 4 月、2015/16 シーズンは 12 月から 3 月にかけてノロウイルスが検出されたが、いずれも 1 月は検出されなかった。

2014/15 シーズン (n=98)



2015/16 シーズン (n=80)

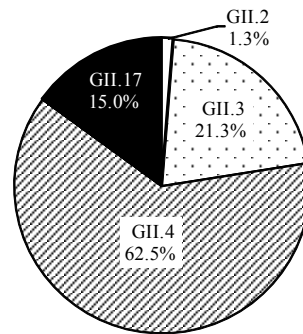
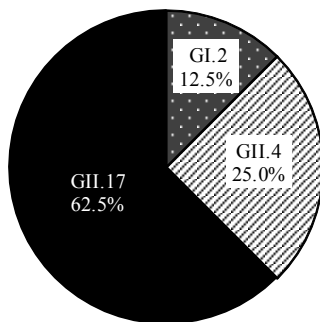


図 1 遺伝子型別検出割合 (散発事例)

2014/15 シーズン (n=8)



2015/16 シーズン (n=7)

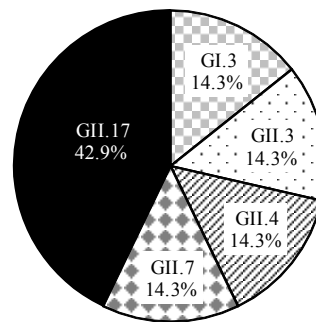


図 2 遺伝子型別検出割合 (食中毒事例)

2 事例別検出状況

散発事例と食中毒事例に分けてシーズン毎の検出型の割合を図 1, 2 に示す。

2 シーズンとも G I は散発事例からの検出はなく、食中毒 2 事例からそれぞれ 2014/2015 シーズンには G I.2, 2015/2016 シーズンには G I.3 が検出された。G II は 2014/15 シーズンに G II.4, G II.17 の 2 種類が食中毒事例と散発事例の両方から検出され、さらに G II.3, G II.6, G II.13 が散発事例から検出された。2015/16 シーズンは G II.3, G II.4, G II.17 の 3 種類が食中毒事例と散発事例の両方から検出され、さらに G II.7 が食中毒事例から、G II.2 が散発事例から検出された。

散発事例 (図 1) では、2 シーズンともに G II.4, 次いで G II.3 の検出が多く、合わせるといずれも全体の約 8 割を占めた。

食中毒事例 (図 2) では、G II.17 が 2 シーズンともに最も多く検出された。検出割合は 2014/15 シーズンが 62.5 %, 2015/16 シー

ズンは 42.9 % であった。

G II.17 は、散発事例では 2014/15 シーズンの 5.1 % から 2015/16 シーズン 15.0 % と増加傾向が認めれた。

散発事例と食中毒事例で遺伝子型が異なった理由としては、遺伝子型による感受性の違いが関与していると推測される。G II.4 はノロウイルスの中で主流な型であり、最も感受性者が多く、また、感染力が強いウイルスとされている⁵⁾。したがって G II.4 が小児の検体が多い散発事例では最も多く検出されたと考えられる。一方、成人の検体が多い食中毒事例では、過去に G II.4 に罹患している場合が比較的多いと考えられる。よってこのことが両者で遺伝子型の検出割合が異なった要因の一つであると推測される。

3 地域 (保健所) 別検出状況

各シーズンの保健所別遺伝子型検出結果を表 3, 4 に示す。検出数の多かった G II.3 及

表 3 保健所別遺伝子型検出結果 (2014/15シーズン)

遺伝子型		県北	県中	県南	会津	南会津	相双	郡山市	いわき市	総計
GI.2	食中毒						1※			1
GII.3	散発	2			6		21	2		31
GII.4	散発	2	18		6		26	2	2	56
	食中毒	1					1※			2
GII.6	散発						1			1
GII.13	散発				1		4			5
GII.17	散発						5			5
	食中毒		1		1	2	1※			5
総計	散発	4	18		13		57	4	2	98
	食中毒	1	1		1	2	3			8

※ 1, ※ 2 : それぞれ同一食中毒事例から複数型検出

食中毒事例について、郡山市といわき市は各市で検査を実施しているため計上していない。

表 4 保健所別遺伝子型検出結果 (2015/16シーズン)

遺伝子型		県北	県中	県南	会津	南会津	相双	郡山市	いわき市	総計
GI.3	食中毒	1※1								1
GII.2	散発				1					1
GII.3	散発	2			4		4		7	17
	食中毒		1							1
GII.4	散発	5			15		25	5		50
	食中毒		1※2							1
GII.7	食中毒					1				1
GII.17	散発				2		5	4	1	12
	食中毒	1※1	1※2			1				3
総計	散発	7			22		34	9	8	80
	食中毒	2	3			2				7

※ 1, ※ 2 : 同一事例から食中毒複数型検出

食中毒事例について、郡山市といわき市は各市で検査を実施しているため計上していない。

び G II.4 は 2 シーズンともに半数以上の保健所管内から検出されており、広範囲にわたってウイルスが拡散している可能性が示唆された。なお、保健所管内によって検出された遺伝子型の種類に偏りはみられなかった。

食中毒事例においても、最も検出数の多かった G II.17 は複数の保健所管内から検出された。

4 G II.17の遺伝子解析

G II.17 が今後国内での主要な流行株となる可能性があるとの報告があり²⁾、2015 年 1 2 月のシーズン初期段階で散発事例からも G II.17 が検出された。このことから県内でも G II.17 の大きな流行が危惧されたが、2015/16 シーズンも 2014/15 シーズンと同様に G II.3 及び G II.4 が主要な流行株であった。しかし、G II.17 は 2 シーズン間で比較する

と散発事例において検出数、検出割合がともに増加していることが示された（表 1, 2 及び図 1）。また、2014/15 シーズンでは 1 つの保健所管内からのみの検出であったが（表 3）、2015/16 シーズンでは 4 つの保健所管内から検出されたことから（表 4）、県内の広範囲に蔓延している可能性が示唆された。

G II.17 については既知の基準株と塩基配列が異なる新規遺伝子型が報告されていることから、さらに詳細な遺伝子解析を行い県内で検出された検体のウイルス性状の確認を行った。

キャプシド（VP1 領域）の系統樹解析結果について図 3 に示す。解析に用いた 19 検体中 14 検体は新規遺伝子型として報告されている Kawasaki308（LC037415）と類似するクラスターに分類され、Kawasaki308（LC037415）以前に関東圏等（埼玉県、長野県、川崎市等）から検出されている検体とは異なるクラスターであった。

次にポリメラーゼ領域（RdRp）の系統樹解析結果を図 4 に示す。解析に用いた 15 検体中 14 検体が Kawasaki308（LC037415）及び中国（KR020503）、香港（KP998539）で検出されたものと類似し、その他の関東圏等（埼玉県、長野県、川崎市等）から検出されている検体とは異なるクラスターに分類された。

2 つの領域の分子疫学的解析の結果から、当所で検出された G II.17 の多くはウイルス性状が Kawasaki308（LC037415）と類似するものであった。シーズン間で大きな塩基配列の差は認められなかった。また、散発事例の衛研 No.565, 26-2, 食中毒事例 No.2609 は同一ウイルス性状であった。

まとめ

ノロウイルスについて、遺伝子解析を行い型別の検出状況を分析した結果、2 シーズンともに県内の広範囲において G II.3, G II.4, G II.17 の流行が見られた。2014/2015 シーズン及び 2015/2016 シーズンで流行株の傾向に大きさ差は認められなかった。

また、G II.17 について当所で検出されたウイルス性状は Kawasaki308（LC037415）と

類似していた。ノロウイルスは進化スピードが早く、変異を繰り返すことで遺伝子組み換えウイルスも頻発し、感染力も常に変化することから、今後も構造蛋白質及び非構造蛋白質のウイルス性状について注視していきたい。

謝 辞

本調査を行うにあたり、検体採取にご協力いただきました県民の皆様並びに各医療機関、各保健所の皆様に深謝いたします。

引用文献

- 1) 国立感染症研究所 ノーウォークウイルス（ノロウイルス）の遺伝子型（2015 年改訂版） <http://www.nih.go.jp/niid/ja/id/778-disease-based/na/norovirus/idsc/iasr-news/5913-pr4274.html> 2016/10/15
- 2) 新規遺伝子型ノロウイルス G II.P17-G II.17 の流行。病原微生物検出情報。2015 ; 36 (9) : 175-178.
- 3) Jing Lu, Limei Sun, Lin Fang, et al. Gastroenteritis Outbreaks Caused by Norovirus G II.17, Guangdong, Province, China, 2014-2015. Emerging infectious Diseases 2015 ; 21 (7) : 1240-1242.
- 4) 平成 15 年 11 月 5 日付け食安監第 1105001 号別添（最終改正：平成 25 年 10 月 22 日付け食安監発 1022 第 1 号） 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課通知 ノロウイルスの検出法について
- 5) 国立医薬品食品衛生研究所 ノロウイルス遺伝子型 G II/4 の発生動向 <http://www.nihs.go.jp/fhm/fhm4/fhm4-nov015.html> 2017/3/9

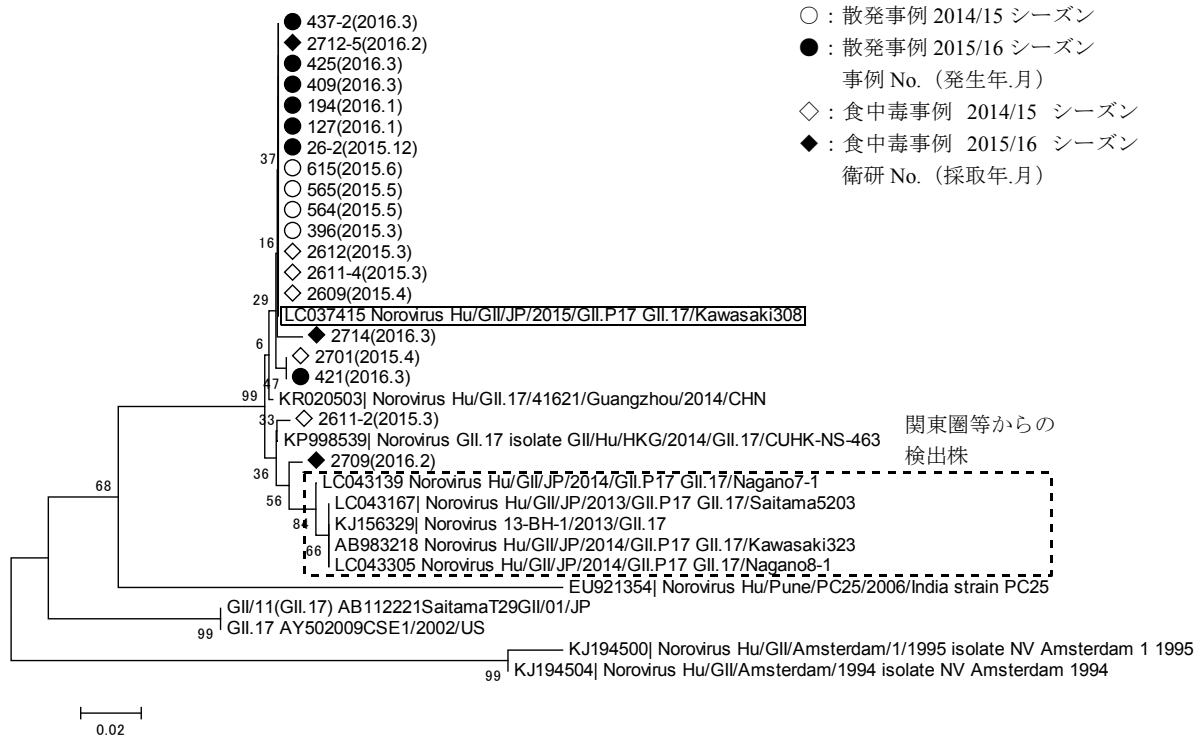


図3 GII.17 キャプシド (VP1領域) 系統樹解析

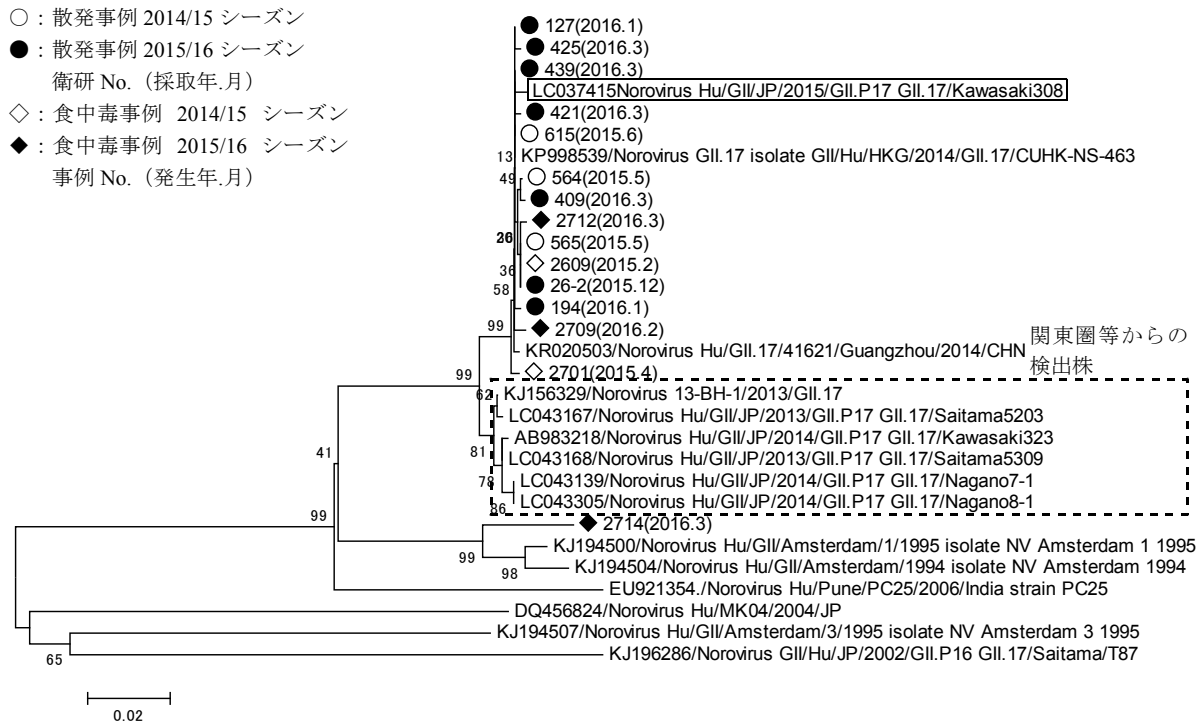


図4 GII.17 ポリメラーゼ (RdRp) 領域系統樹解析