

2016/2017 シーズンに流行したノロウイルスの遺伝子型について

On genotype of Norovirus detected in infectious gastroenteritis between September 2016 and January 2017 in Miyagi prefecture

小泉 光 菅原 直子*¹ 佐々木 美江

植木 洋 渡邊 節

Hikari KOIZUMI, Naoko SUGAWARA, Mie SASAKI

Yo UEKI, Setsu WATANABE

2016/2017 シーズンは、全国的にノロウイルス（Norovirus:NoV）による感染性胃腸炎の大規模な流行が確認され、県内でも同じ傾向が認められた。ピーク時の定点医療機関当たりの患者報告数は第48週に45.75人で過去10年間で最多となった。そこで、流行の原因の解明を目的に、2016年9月から2017年1月の期間に県内で発生した感染性胃腸炎集団発生10

「@」2事例を対象に発生施設の調査や各事例で検出されたNoV遺伝子の分子疫学的解析を行った。その結果、幼稚園・保育所と小学校での発生が9割を占めていた。遺伝子型が決定できた98事例のうち94事例からGII.2が検出されたが、介護老人保健施設の患者からは同遺伝子型は検出されなかった。また、2016/2017シーズンに検出されたGII.2株と過去に県内で流行したGII.2株を併せて系統解析を行った結果、これらは異なるクラスターに分類された。

キーワード：ノロウイルス；感染性胃腸炎；分子疫学

key words : Norovirus ; gastroenteritis ; molecular epidemiology

1 はじめに

感染症発生動向調査によれば2016/2017シーズンの全国での感染性胃腸炎の定点医療機関当たりの患者報告数は、2016年第41週以降急速に増加し、報告数が最多の20.89人となった第50週は過去10年間のうち2006年第50週の22.81人に次いで高い値となった¹⁾。

県内の定点医療機関当たりの患者報告数も全国と同様に、2016年第41週を境に急増し、ピークとなった第48週に報告された45.75人は全国1位で、県内の過去10年間で最も多い報告数であった。県内の各保健所管内での感染性胃腸炎による定点医療機関当たりの患者報告数は、第48週から第50週にかけて、全ての地域で警報値を超えた。また、この期間のNoVによる感染性胃腸炎集団発生事例数を過去3シーズンの同時期と比較すると2014/2015シーズンは0事例、2015/2016シーズンは8事例に対し、2016/2017シーズンは98事例と劇的に増えており、NoVによる感染性胃腸炎の流行が確認された。

そこで流行の原因を解明するために、NoVによる感染性胃腸炎の2016/2017シーズンの発生状況、ならびに検出されたNoV遺伝子の分子疫学的解析を行い、過去のシーズンと比較したので報告する。

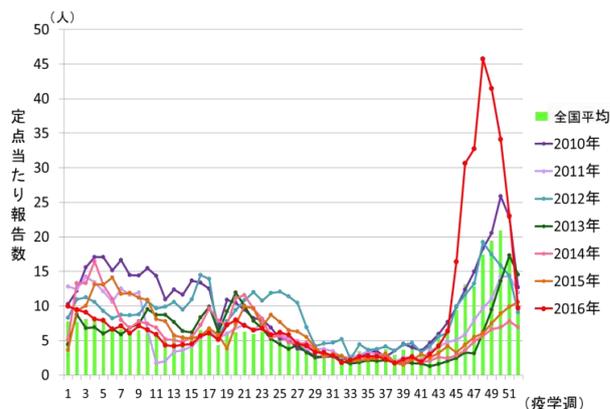


図1 感染性胃腸炎の定点医療機関当たりの患者報告数 (2016年の全国平均と県内の過去7年間の推移)

2 対象材料および方法

2.1 対象材料

2016年9月から2017年1月の期間に、県内で発生した感染性胃腸炎集団発生事例102事例から検出されたNoV遺伝子を調査対象とした。各事例につき1検体を選び分子疫学的解析を実施した。なお、系統解析には過去のシーズンの感染性胃腸炎集団発生事例で検出したNoV遺伝子のデータも使用した。

2.2 NoVの分子疫学的解析

Thermal Cycler Dice® Real Time System II (TaKaRa) を使用したリアルタイム RT-PCR 法で NoV 遺伝子陽性と判定された検体について、Capsid 領域の一部を増幅領域とする COG-2F²⁾/G2-SKR³⁾プライマーを

*1 現 東部下水道事務所

用いて RT-PCR を行った。また、RT-PCR で増幅が確認されない検体は G2-SKF³/G2-SKR³プライマーを用いた nested PCR を実施した。PCR 産物を Microspin™ S-300HR カラム (Amersham Bioscience) で精製後、BigDye® Terminator v1.1 Cycle sequencing Kit (Applied Biosystems) を用いてシーケンス用 PCR を行い、3130Genetic Analyzers (Applied Biosystems) でダイレクトシーケンスを実施し、塩基配列を決定した。得られた塩基配列について MEGA6 を用いてアライメントし、Neighbor-Joining Method⁴ (NJ 法) で系統樹を作成した。遺伝子型の決定には Norovirus Genotyping Tool Version 1.0 (http://rivm.nl/mpf/norovirus/typing_tool) を使用した。

3 結果

2016/2017シーズンの9月には感染性胃腸炎の集団発生はなかったが、それ以後に発生した102事例すべてからNoV GII.2遺伝子が検出された。施設別発生状況は幼稚園・保育所での発生が73事例、小学校が22事例、中学校・高校が6事例および介護老人保健施設での発生が1事例であり、低年齢層での感染が目立った (表1)。

表1 月別・施設別の感染性胃腸炎集団発生事例数

	9	10	11	12	1	計
	月	月	月	月	月	
幼稚園・保育所	0	4	35	34	0	73
小学校	0	0	6	14	2	22
中学校・高校	0	0	0	6	0	6
介護老人保健施設	0	0	1	0	0	1
計	0	4	42	54	2	102

塩基配列を決定し遺伝子型別を行った結果、遺伝子型を決定できたのは102事例中98事例で、そのうち94事例からGII.2が検出された。それ以外にはGII.3が2事例、GII.6とGII.17が各1事例検出された。発生施設別の遺伝子型検出状況は、GII.2が介護老人保健施設を除いた全ての施設から検出された。また、GII.3およびGII.6は幼稚園・保育所で発生した事例から、GII.17は介護老人保健施設で発生した事例から検出された (表2)。事例数が最も多かった幼稚園・保育所に着目すると73事例中69事例 (94.5%) がGII.2によるものであった。

2016/2017シーズンと過去6シーズンの感染性胃腸炎集団発生事例から検出されたGII.2の割合を比較したところ、2016/2017シーズンはGII.2が95.9% (98事例中94事例) と占める割合が最も大きく、次いで2010/2011シーズンが45.2% (42事例中19事例)、以下2012/2013シーズンが9.5% (21事例中2事例)、2011/2012シーズンが7.6% (13事例中1事例)、2015/2016シーズンが6.3% (16事

例中1事例) であった。なお、2013/2014シーズンおよび2014/2015シーズンにGII.2の検出はなかった (図2)

表2 発生施設別のNoV遺伝子型検出状況

	G	G	G	G	不
	II.2	II.3	II.6	II.17	明
幼稚園・保育所	69	2	1	0	1
小学校	21	0	0	0	1
中学校・高校	4	0	0	0	2
介護老人保健施設	0	0	0	1	0
計	94	2	1	1	4

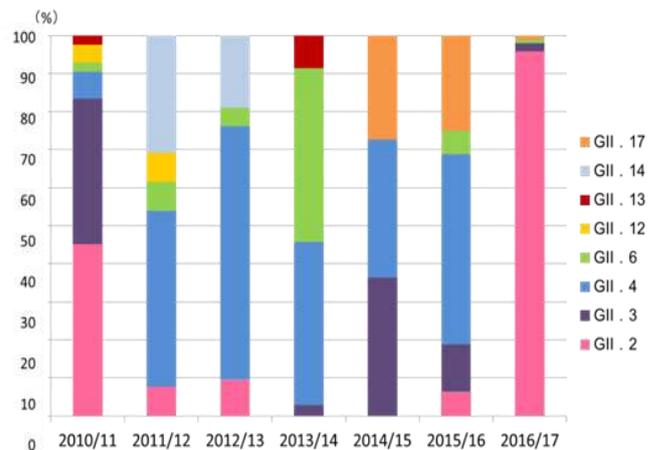


図2 県内で過去7シーズンに検出されたノロウイルスの遺伝子型の割合

2010/2011シーズンも全国的にNoVによる感染性胃腸炎の流行が認められたシーズンであり、県内でもGII.2による流行が確認されたため、同シーズンに検出した株と2016/2017シーズンに検出した株について系統解析を行った。

ウイルス遺伝子の Capsid 領域の一部 (227nt) について、NJ 法で解析を行った結果、2016/2017シーズンと2010/2011シーズンに検出されたGII.2株は大きく2つのクラスターに分類された (図3)。さらに2016/2017シーズンに検出された一部の株と2010/2011シーズンに検出された株は2つのサブクラスターに分類された (図4)。この結果から、2016/2017シーズンに流行しているGII.2株は、2010/2011シーズンに検出された同遺伝子型の流行株と系統が異なることが確認された。

4 考察・まとめ

2010/2011シーズン以降、県内においてGII.2を流行株とした感染性胃腸炎の流行は確認されていない。2010/2011シーズン以降に生まれた小児はGII.2の感受性者であるため、同遺伝子型を流行株とした感染性胃腸炎が低年齢層を中心として流行したのはこのことが大きな原因であったと考えられる。

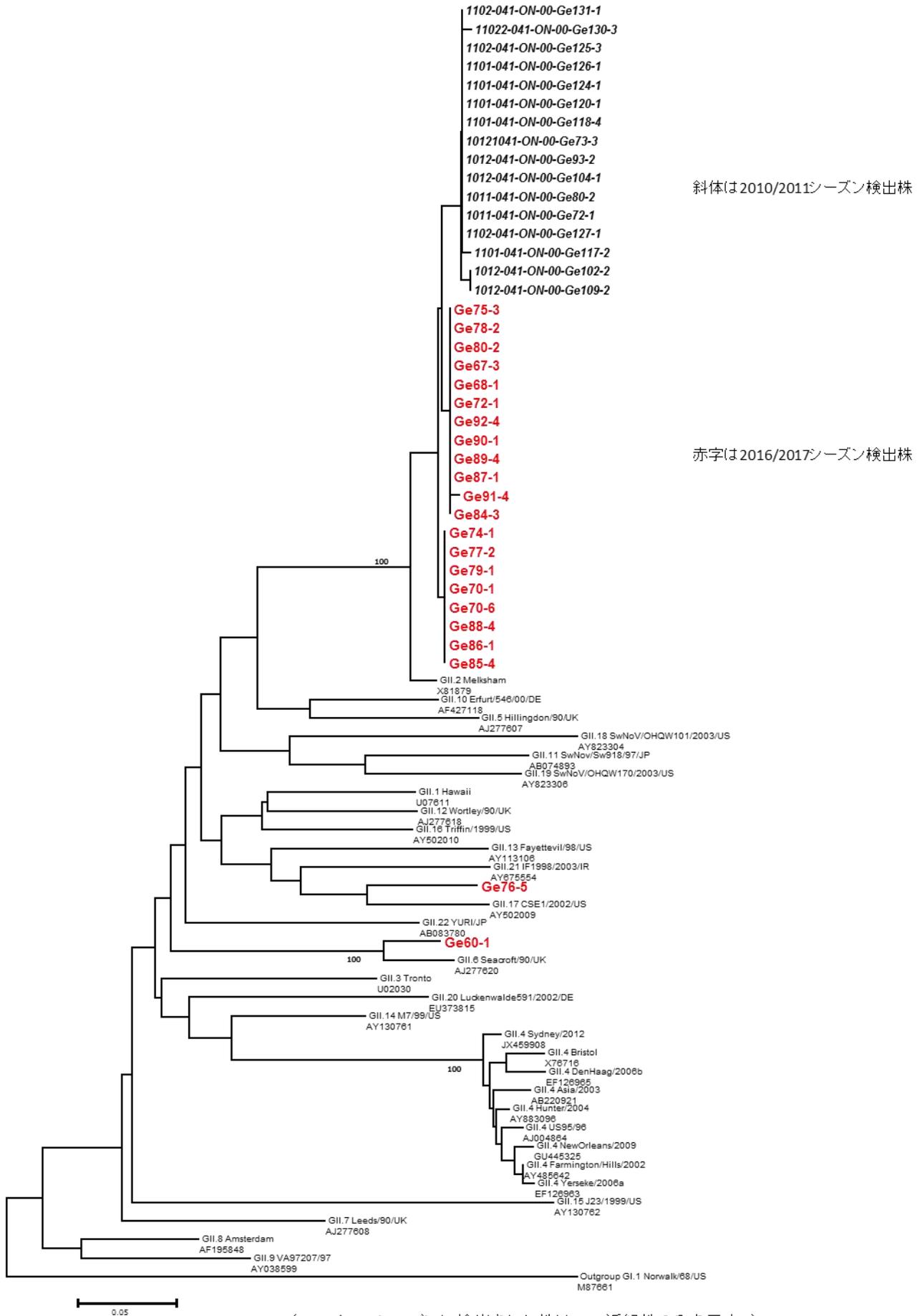


図3 県内で2016/2017シーズンと2010/2011シーズンに検出されたNoV Capsid遺伝子分子系統樹



図4 Capsidに基づくNoV GII.2近縁株の分子系統樹

さらに、2016/2017シーズンのGII.2が主要起因ウイルスと推定される感染性胃腸炎の流行は広域的に確認されている⁵⁾⁶⁾⁷⁾ことから、全国規模での詳細な分子疫学的解析が必要である。

また、幼稚園・保育所のような小児集団では同一遺伝子型が再流行するまでに2~3年を要したという報告⁸⁾やNoVの免疫が4~8年間持続することが示唆されたという報告⁹⁾があることから、2014/2015シーズンに発生したGII.17のような新規遺伝子型だけではなく、今回のGII.2のように変異して出現する遺伝子型の動向にも注意していくべきであると考えられる。

参考文献

1) 国立感染症研究所, IDWR 19(1),2017

- 2) Kageyama, T., Kojima, S., Shinohara, M., Uchida, K., Fukushi, S., Hoshino, F. B., Takeda, N., Katayama, K., 2003. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *Journal of clinical Microbiology* 41, 1548-1557
- 3) Kojima, S., Kageyama, T., Fukuda, S., Hoshino, FB., Shinohara, M., Uchida, K., Natori, K., Takeda, N., Kageyama, T., 2002. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. *J. Virol. Methods* 100, 107-114.
- 4) Saitou N. and Nei M. (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, vol.4, no.4, pp.406-425
- 5) 坂本美砂子, 山崎恵美, 西川和佳子, 三枝真奈美, 都竹豊茂, 山本一重: IASR 38:18-19, 2017
- 6) 松島勇紀, 石川真理子, 清水智美, 駒根綾子, 清水英明, 松尾千秋, 岡部信彦, 本谷匠, 永田紀子, 水越文徳, 鈴木尚子, 船渡川圭次, 調恒明, 四宮博人, 片山和彦, 長澤耕男, 木村博一: IASR 38:19-20, 2017
- 7) 藤井慶樹, 則常浩太, 八島加八, 山本美和子, 松室信宏, 石村勝之: IASR 38:38-39, 2017
- 8) Sakon N et al. *J Infect Dis* 2015 Mar 15; 211(6): 879-88
- 9) Simmons K, Gambhir M, Leon J, Lopman B. Duration of immunity to norovirus gastroenteritis. *Emerg Infect Dis*, 2013, vol.19(pg.1260-7)