

カキを用いたサポウイルスの環境調査

Environmental survey of Sapovirus employing oyster

植木 洋 高橋 由理 阿部 美和
佐藤 由紀 菅原 優子 沖村 容子
岡智 一郎*1 片山 和彦*1 野田 衛*2
真砂 佳史*3 大村 達夫*3

You UEKI, Yuri TAKAHASHI, Miwa ABE
Yuki SATO, Yuko SUGAWARA, Yoko OKIMURA
Tomoichiro OKA, Kazuhiko KATAYAMA, Mamoru NODA
Yoshihumi MASAGO, Tatsuo OMURA

過去3ヶ年の冬季に県内の下水処理場処理水受容河川にカキを吊しサポウイルス(SaV)の検出調査を行った結果、2007年シーズンは16個体中3個体(18.8%)、2008年シーズンは67個体中2個体(3.0%)からSaV遺伝子が検出されたが2009年シーズンは検出されなかった。一方2007年シーズンと2008年シーズンに県内産食用市販カキを対象とした調査では、19年度に48個体中1個体からSaV遺伝子が検出された。さらに、今回検出されたSaV株と胃腸炎事例で患者から検出された株を分子疫学的に解析した結果、100%一致する例が確認された。

キーワード：サポウイルス(SaV)；市販カキ；垂下カキ；系統解析

Key words : human sapovirus ; commercial oyster ; dipped oyster ; phylogenetic analysis

1 はじめに

近年、サポウイルス(SaV)を原因とする食中毒が増加している。SaV感染者はノロウイルス感染者と同様にウイルス粒子を糞便中に排泄するため、SaVの環境や食品への混入が危惧される。SaVの環境や食品への混入の状況を調べることは、SaVによる食中毒の予防対策を講ずる上で重要である。そこで、ろ過性生物であるカキを用いて環境水中のサポウイルス調査を行い、疫学的解析への応用を試みた。

2 対象および検査方法

2.1 材料

宮城県内の下水処理場の処理水受容河川にカキを吊し(以下垂下カキ)、2007年シーズンは10月下旬に垂下開始し同年12月に採取したカキ16個体、2008年シーズンは11月初旬から垂下し12月と2009年1月に採取したカキ合計67個体、2009年シーズンは10月初旬から垂下し10月、11月、12月及び2010年1月に採取したカキ合計65個体を対象にSaV遺伝子検出検査を行った。

この下水処理場の処理区内人口は約64万人で処理は標準活性汚泥法で行われており処理水量は約21万m³/日であった。さらに、2007年、2008年及び2009年

の12月に県内で市販されていた県内産食用カキ(以下市販カキ)それぞれ16パックについても同様に調査を行った。なお、市販カキは1パックにつき任意に3個体取り出し1個体ずつ個別に検査した。

2.2 方法

2.2.1 カキからのSaV遺伝子検出

垂下カキ、市販カキともに検査室に搬入後直ちに中腸腺を無菌的に取り出し、細胞破砕法¹⁾でウイルスの抽出を行った。ウイルスRNAはQIAamp Viral RNA mini kitを用いて抽出・精製しDNase処理後、Randomプライマーを用いた逆転写反応よりcDNAを作成した。SaV遺伝子検出用のRT-PCRはOkadaらの方法²⁾に従った。すなわち、SV-F13/SV-R13、SV-F14/SV-R14プライマーを用いて1st PCRを行い、その後、SV-F22/SV-R2プライマーを用いてnested PCRを行った。PCR産物はアガロースゲルで電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色し紫外線照射下で確認を行った。

2.2.2 SaV遺伝子解析

増幅産物はカラム精製後シーケンス用PCRを行いABI310でシーケンスを行った。塩基配列決定後Blastで検索し、Clustal Xを用いて木村の2パラメータ法によりアライメントを行い、NJ法により分子系統樹を製作した。boot strap法によって信頼性を検証した。

* 1 現 国立感染症研究所

* 2 現 国立医薬品食品衛生研究所

* 3 現 東北大学大学院工学研究科

表1 カキからの SaV 遺伝子検出結果

	垂下カキ			市販カキ		
	2007年シーズン	2008年シーズン	2009年シーズン	2007年シーズン	2008年シーズン	2009年シーズン
陽性数/検体数	3/16	2/67	0/65	1/48	0/48	0/48
検出率(%)	18.8	3.0	0.0	2.1	0.0	0.0

3 結果

表1にカキからの SaV 遺伝子検出結果を示す。2007年シーズンは垂下カキ 16 個体中 3 個体(18.8%)，市販カキ 48 個体中 1 個体(2.1%)から SaV 遺伝子が検出された。2008年シーズンは市販カキからは SaV 遺伝子は検出されなかったが，垂下カキからは 67 個体中 2 個体(3.0%)から遺伝子が検出された。一方，2009年シーズンは垂下カキと市販カキから SaV 遺伝子は検出されなかった。また，SaV 遺伝子の capsid 領域アミノ末端側 321 残基の塩基配列を対象とした分子系統解析の結果を，図1に示す。2007年シーズンに市販カキと垂下カキから検出された SaV 遺伝子と同年に胃腸炎患者から検出された SaV 株はすべて GIV/1 のクラスターに分類され，株間で 99.7%以上の相同性が認められ，中には 100%塩基配列が一致する例も確認された。一方，2008年シーズンに垂下カキから検出された 2 件はそれぞれ GI/1 と GI/3 近縁株であった。

4 考察

これまで市販国内産シジミ³⁾やカキが原因食品と推定される食中毒事例⁴⁾からの SaV 遺伝子の検出報告はあるが，市販カキから SaV 遺伝子を検出した事例は国内外で初めてである。

2007年とは県内で発生した SaV が原因と考えられる感染性胃腸炎事例で，患者から検出した GIV/1 近縁株と同年に垂下カキや市販カキから検出された GIV/1 近縁株の capsid 領域アミノ末端側 321 残基の塩基配列が，100%一致する例も確認され⁵⁾，ヒト糞便に由来する SaV が環境水などを經由してカキに取り込まれていることが示唆された。

今回の結果より SaV のヒトでの流行を把握するために，ろ過性生物であるカキを用いた SaV のモニタリングは有効であると考えられた。

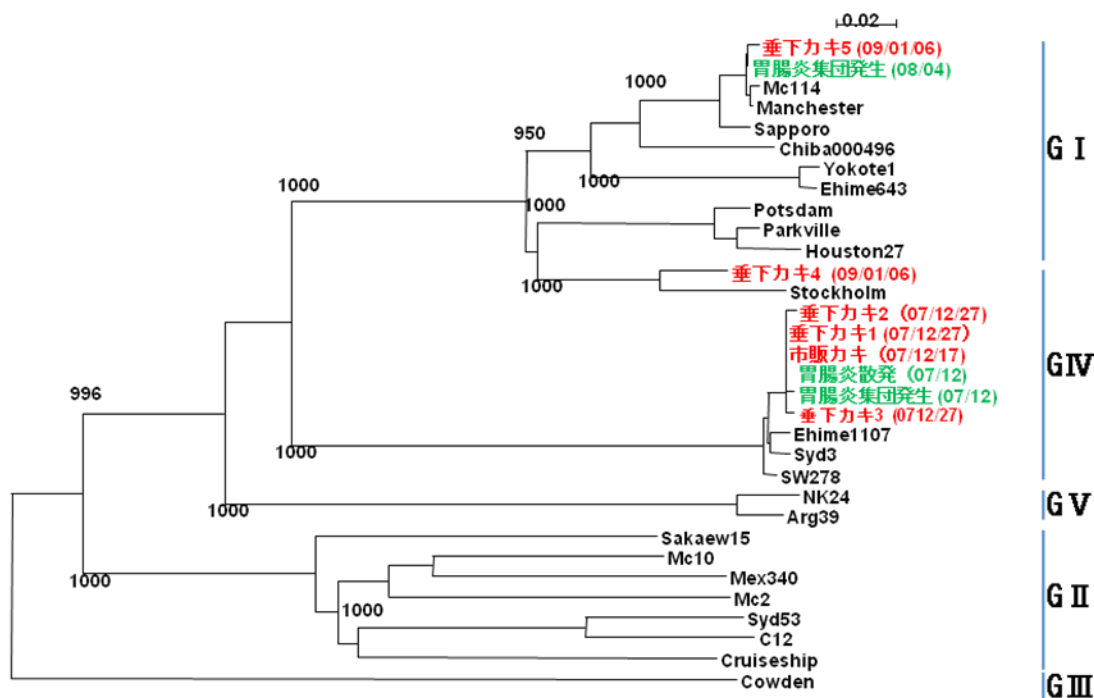


図1 SaV 遺伝子の capsid 領域アミノ末端側 321 残基の塩基配列に基づく系統樹 (NJ法)

5 参考文献

- 1) Ueki Y., Sano D., Watanabe T., Akiyama K., Omura T: *Water Res*, **39(18)**, 4271–4280(2005)
- 2) Okada M., Yamashita Y., Oseto M., Shinozaki K: *Arch Virol*, **151(12)**, 2503–2509(2006)
- 3) Hansman G.S., Sano D., Ueki Y., Imai T., Oka T., Katayama K., Takeda N., Omura T: *Emerg Infect Dis*, **13(1)**, 133–135(2007)
- 4) Nakagawa-Okamoto R., Arita-Nishida T., Toda S., Kato H., Iwata H., Akiyama M., Nishio O., Kimura H., Noda M., Takeda N., Oka T: *Jpn J Infect Dis*, **62**, 63–66(2009)
- 5) 植木 洋, 庄司美加, 山本美和子, 阿部勝彦, 伊藤文明, 池田義文, 西尾 治, 岡 智一郎, 片山和彦, 武田直和, 野田 衛: カキを用いたサポウイルスの環境調査 第56回日本ウイルス学会学術集会抄録, 281(2008)