

# 平成 29 年度に福井県の集団発生事例から検出された ノロウイルスの遺伝子解析

酒井妙子・佐藤かおり・五十嵐映子・東方美保

Genetic Analysis of Noroviruses Detected from Outbreaks in Fukui Prefecture in 2017/2018

Taeko SAKAI, Kaori SATO, Eiko IGARASHI, Miho TOHO

## 1. はじめに

ノロウイルス（以下 NoV）は、カリシウイルス科に属し、ノーウォークウイルス種を唯一の種として持つ<sup>1)</sup>エンベロープを持たない約 7,600 塩基のプラス 1 本鎖 RNA ウイルスである<sup>2)</sup>。また、NoV は主に糞口感染により、嘔吐、下痢、腹痛および発熱等を発症する。さらに、感染経路が多種多様で、汚染食品の喫食や、調理従事者を介した食中毒およびヒト-ヒト感染による感染症の集団発生原因となることが知られている<sup>3),4)</sup>。

NoV には 5 つ（I～V）の Genogroup があり、その中の Genogroup I（以下 GI）、Genogroup II（以下 GII）および Genogroup IV がヒトを宿主とすることが知られているが、GI、GII による感染が主である<sup>3)</sup>。さらに、GI は 9、GII は 22 の遺伝子型が報告されている<sup>5),6)</sup>。中でも遺伝子型 GII.4 の検出率は、世界的に高いことが報告されており、胃腸炎の大流行に関与することがある<sup>7),9)</sup>。過去に胃腸炎が大流行した平成 18 年度冬期（平成 18 年 10 月～19 年 1 月）および平成 24 年度冬期（平成 24 年 10 月～25 年 1 月）には GII.4 の変異株が出現しており、その関連性が指摘されている<sup>10),11)</sup>。福井県においても、GII.4 変異株出現時には胃腸炎が大流行した<sup>12),13)</sup>。一方、平成 26 年 12 月には神奈川県川崎市において GII.17 におけるキメラウイルスが検出され<sup>14)</sup>、それ以降全国的に検出されるようになった<sup>15)</sup>。このように、NoV の流行動態の把握は、公衆衛生において非常に重要であり、これまでも NoV の検査および遺伝子解析を実施してきた<sup>12),13)</sup>。

本報では、平成 29 年度に福井県内で発生した集団発生事例および県外での関連調査事例を含め当センターにおいて検査を実施した事例から検出された NoV について報告する。

## 2. 方法

### 2.1 検査材料

平成 29 年度（平成 29 年 4 月～30 年 3 月）に当センターへ行政検査依頼があった急性胃腸炎集団発生 11 事例 126 検体を対象とした。検体の種類は、有症者由来の糞便または吐物 52 検体、調理従事者および施設職員等由来糞便 41 検体、ふきとり 20 検体、食品 5 検体であった。

### 2.2 検査方法

糞便および吐物は滅菌水で 10%乳剤とし、8,500×g、10 分間冷却遠心後の上清を試料とした。ふきとり検体に

ついてはふきとりした綿棒を滅菌水 1mL で洗い出し、8,500×g、10 分間冷却遠心後の上清を試料とした。前処理後の試料から厚生労働省通知<sup>16)</sup>に準じ、RNA 抽出、DNase 処理および逆転写反応を実施し、cDNA を合成した。その後、糞便・吐物はリアルタイム PCR 法で、ふきとりは PCR 産物を用いた nested リアルタイム PCR 法を実施した。食品については厚生労働省通知<sup>16)</sup>に準じパンソレントラップ法を実施した。リアルタイム PCR 装置は、Step One Plus Real-Time PCR System（Applied Biosystems）を使用した。

NoV 陽性と判定した検体については、Kojima ら<sup>17)</sup>の方法に準じダイレクトシーケンス法により Capsid 領域（GI：295nt、GII：282nt）の塩基配列を決定し、相同性解析および系統解析を実施した。シーケンス装置は、ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer（Applied Biosystems）を使用した。データの解析は、MEGA（Molecular Evolutionary Gene Analysis）ver. 6.0 プログラム<sup>18)</sup>を使用し、最尤法（ML 法）により系統樹を作成した。系統樹評価のため 1,000 回のブートストラップを実施した。各遺伝子型の標準株は、ノロウイルスサイエンティフィックコミッティー（以下 NoV S.C.）が推奨する株を使用した<sup>5),6)</sup>。

## 3. 結果

調査対象の集団発生 11 事例 126 検体のうち、表 1 のとおり 9 事例 42 検体（有症者 37 検体、従事者 5 検体）で GI または GII が検出された。また、ふきとり 20 検体、食品 5 検体からは NoV は検出されなかった。

Capsid 領域の遺伝子解析において、検出塩基配列を比較したところ、各事例ごとに 99.3～100%の相同性を示した。福井県内に発生施設があり食中毒事件となった事例番号 22902 では、有症者と調理従事者由来の配列が 99%以上一致していた。発生施設は飲食店（3 事例）が最も多く、次いで学生・子供食堂（2 事例）が多かった（表 1）。

検出された NoV の塩基配列について、各事例の代表株を用いて系統樹解析を実施したところ、GI.3、GII.4 および GII.17 の 3 種類の遺伝子型が確認された（図 1、2）。遺伝子型別の検出頻度を比較すると、GII.17 が 5 事例（55.6%）で最も多く、次いで GII.4 が 3 事例（33.3%）であった（図 1）。

平成 29 年度に複数回検出された遺伝子型の Capsid 領域における塩基配列の相同性は、GII.4 は 98.6%、GII.17 は 97.5%であり、非常に高い相同性を示した（図 2）。

表 1 NoV が陽性となった事例

事例番号	初発患者 発生日	発生地域	発生施設	推定感染経路	有症者	調理従事者等	食品	ふきとりその他	検出した 遺伝子型	代表株名
					陽性数/検査数	陽性数/検査数	陽性数/検査数	陽性数/検査数		
22902	2017.5.4	福井	飲食店	従業員を介する 食中毒 (事件報告)	5 / 6	4 / 8	/	0 / 11	G II.17	Fukui/22902F12/H29-5
22904	2017.6.11	福井	飲食店	不明	1 / 3	/	/	/	G II.17	Fukui/22904F3/H29-6
22905	2017.8.22	丹南	不明	ヒト-ヒト感染	3 / 3	/	/	/	G II.17	Fukui/22905T1/H29-8
22906	2017.12.10	福井	量販店	不明	3 / 3	/	/	/	GI.3	Fukui/22906F1/H29-10
22907	2017.12.	県外	学生食堂	従業員を介する 食中毒 (事件報告)	1 / 1	/	/	/	G II.4	Fukui/22907S1/H29-12
22908	2017.12.30	坂井	旅館	ヒト-ヒト感染	5 / 7	0 / 26	/	0 / 2	G II.4	Fukui/22908S3/H29-12
22909	2018.1.10	福井	子供食堂	ヒト-ヒト感染	5 / 6	/	/	/	G II.4	Fukui/22909F1/H30-1
22910	2018.1.24	二州	保育園	ヒト-ヒト感染	13 / 14	1 / 5	0 / 5	0 / 7	G II.17	Fukui/22910N1/H30-1
22911	2018.2.16	県外	飲食店	不明	1 / 1	/	/	/	G II.17	Fukui/22911S1/H30-2

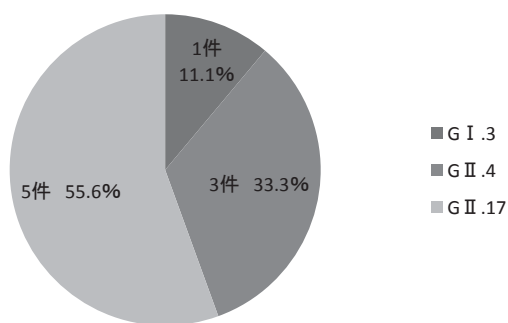


図 1 検出された NoV の遺伝子型

発生月別では、12月（3事例）が最も多く、1月（2事例）など NoV 流行期にあたる冬季に多かった（表 1、図 3）。  
 遺伝子型別にみると、平成 29 年 5 月から 6 月には平成 28 年 3 月に引き続き 2 事例から G II.17 が検出されたが、G II.2 は検出されなかった。平成 29 年 12 月には 1 事例から G I.3、2 事例から G II.4、平成 30 年 1 月には G II.4 と G II.17 がそれぞれ 1 事例、2 月には G II.17 が 1 事例から検出された。  
 平成 28 年 12 月から平成 29 年 3 月に流行の主流であった G II.2 は平成 29 年度には検出されなかった。

#### 4. 考察

NoV の感染経路は多種多様であり、集団発生の原因になることも報告されている<sup>3),4)</sup>。集団発生事例として検査依頼のあった 11 事例のうち 9 事例から NoV が検出され、そのうちの 2 事例が食中毒事件となった（事例番号:22902、22907）。その他の胃腸炎ウイルスが検出された事例として、平成 29 年度には A 群ロタウイルスによる食中毒事例が 1 件発生した。

また、食中毒事件にはならなかったが、ヒト-ヒト感染が感染経路と推定された事例も 4 事例あり、NoV の予防対策は重要であると考えられる。

Capsid 領域における遺伝子解析の結果、平成 29 年度は G I.3、G II.4 および G II.17 の 3 種類の遺伝子型が検出された。

G I.3 は、平成 29 年 12 月に検出された。福井県において集団発生事例からの G I の検出は平成 27 年 3 月以来 2 年ぶりであった。福井県内の散発事例において平成 29 年度に G I は検出されず、小児における流行は見られなかった。

G II.4 は、平成 29 年 12 月から平成 30 年 1 月にかけて 3 事例から検出された。胃腸炎の小児散発例において G II.4 は常に主要な遺伝子型であり<sup>19)</sup>、本県でも 2017/18 シーズンにおける小児散発例からの NoV 検出割合は G II.4 が最も多かった<sup>20)</sup>。事例番号 22909 では、子供食堂参加者が通う小学校の児童が先行発症していたとの情報もあり、小児感染事例との関連も考えられる。

G II.17 は、平成 29 年 5 月から 8 月までの 3 事例と平成 30 年 1 月から 2 月にかけての 2 事例で検出された。福井県内において G II.17 は平成 29 年 3 月から集団発生事例において検出が続いた<sup>21)</sup>。

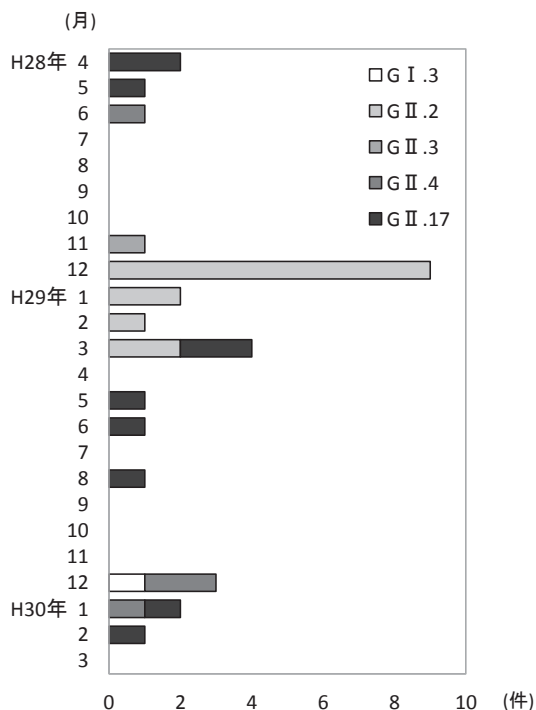


図 3 発生月別 NoV 検出事例数

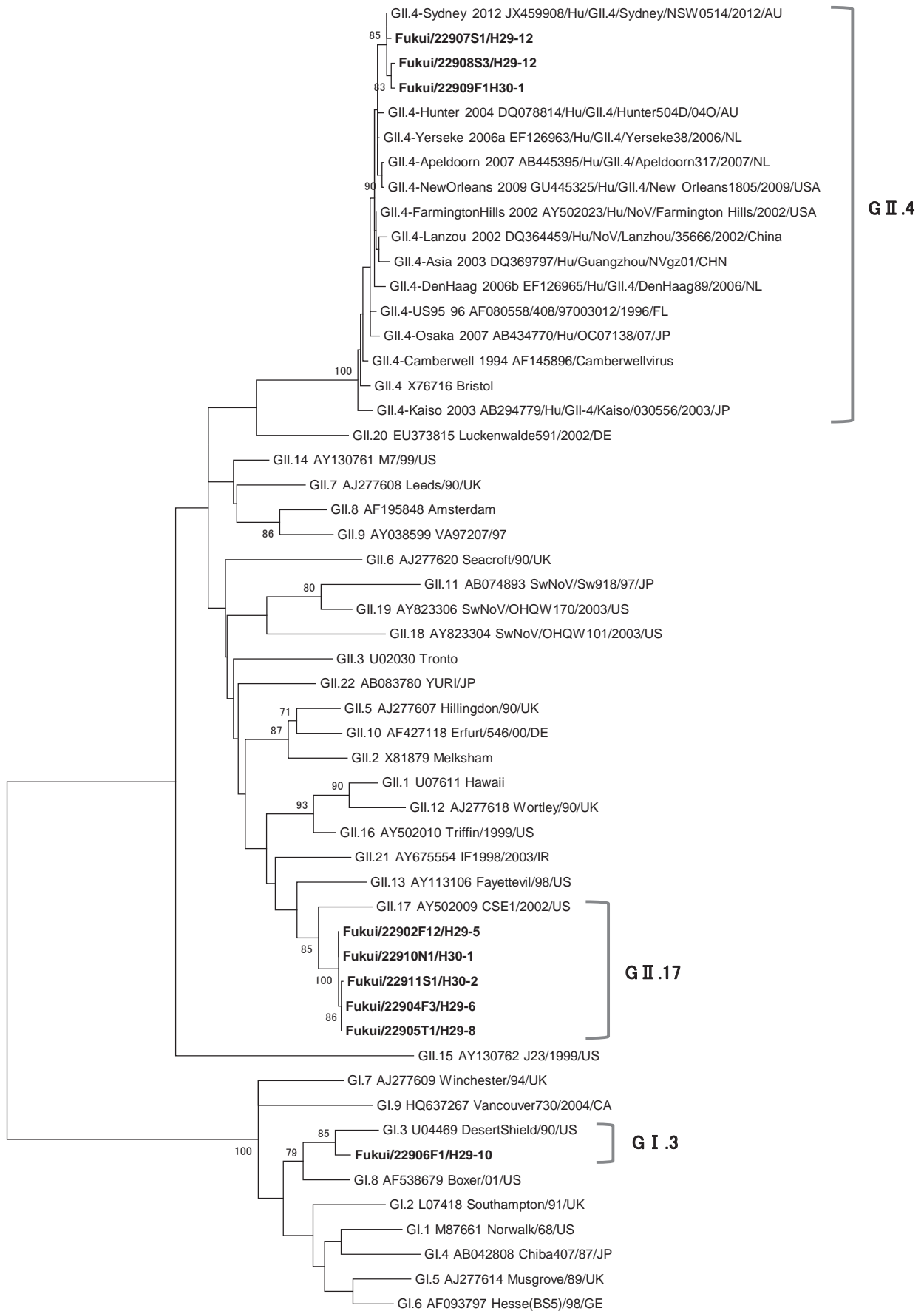


図2 Genogroup I、Genogroup II の系統樹解析

## 5. まとめ

平成 29 年度に検査した急性胃腸炎集団発生 11 事例 126 検体のうち、9 事例 42 検体から NoV を検出した。遺伝子解析を実施したところ、3 種類の遺伝子型 (G I .3、G II .4、G II .17) が検出され、遺伝子型の変遷が見られた。

NoV に対する防御反応は遺伝子型特異的であるため<sup>22)</sup>、今後も NoV の遺伝子型の変遷に注視する必要があると考えられる。

## 謝辞

疫学等の情報収集および検体の搬入を御担当された健康福祉センター、福井県健康福祉部医薬食品・衛生課、健康増進課の関係各位に深謝いたします。

## 参考文献

- 1) 武田直和 他：カリシウイルスの命名変更について、IASR., **24**, 311-312(2003)
- 2) 片山和彦：胃腸炎関連カリシウイルス（ノロウイルス、サポウイルス）総論、IASR., **24**, 312-314(2003)
- 3) 田代真人 他：ウイルス感染症の検査・診断スタンダード、羊土社（2011）
- 4) 丸山務 他：つけない・うつさない・持ち込まない ノロウイルス現場対策 その感染症と食中毒、幸書房（2006）
- 5) 片山和彦：ノーウォークウイルス（ノロウイルス）の遺伝子型 2014 年版., IASR., **35**, 173-175(2014)
- 6) Kroneman A. et al. : Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping., Arch. Virol., **158**, 2059-2068(2013)
- 7) Siebenga J.J. et al. : Epochal Evolution of GGII.4 Norovirus Capsid Proteins from 1995 to 2006., J. Virol., **81**, 9932-9941(2007)
- 8) Vega E. et al. : Novel surveillance network for norovirus gastroenteritis outbreaks, United States., Emerg. Infect. Dis., **17**, 1389-1395(2011).
- 9) J. van Beek et al. : Indications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012., Eurosurveillance., **18**, 03 Jan(2013).
- 10) 本村和嗣 他：ノロウイルスのゲノム解析と流行発生のしくみ、感染症誌, **86**, 563-568(2012)
- 11) 田村務 他：ノロウイルス G II /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, IASR., **33**, 333-334(2012)
- 12) 東方美保 他：平成 14～18 年度に福井県で検出されたノロウイルスの遺伝子解析, 福井県衛生環境研究センター年報, **5**, 60-72(2006)
- 13) 小和田和誠 他：平成 22～24 年度に福井県の集団発生事例から検出されたノロウイルスの遺伝子解析, 福井県衛生環境研究センター年報, **11**, 58-62(2012)
- 14) Matsushima Y. et al. : Genetic analyses of G II.17 norovirus strains in diarrheal disease outbreaks from December 2014 to March 2015 in Japan reveal a novel polymerase sequence and amino acid substitutions in the capsid region., Eurosurveillance, **20**, 02 Jul (2015).
- 15) 国立感染症研究所感染症疫学センター：都道府県別ノロウイルス G II 遺伝子型検出状況報告 2015/16&2016 /17 シーズン  
[https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/160920/noro201617\\_170126.gif](https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/160920/noro201617_170126.gif)
- 16) 厚生労働省医薬局食品安全部監視安全課長通知：「ノロウイルスの検出法について」の一部改正について, 食安監発第 1022 第 1 号, 平成 25 年 10 月 22 日
- 17) Kojima S. et al. : Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses, J. Virol. Methods., **100**, 107-114(2002)
- 18) Tamura K. et al. : Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0., Mol. Biol. Evol. **30**, 2725-2729 (2013)
- 19) 左近直美 他：ノロウイルスの流行と遺伝子型, 日本食品微生物学会雑誌, **33**, 97-106(2016)
- 20) 国立感染症研究所感染症疫学センター：都道府県別ノロウイルス G II 遺伝子型検出状況報告 2016/17&2017 /18 シーズン(6 月 13 日現在)  
[https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/160920/norogm1617\\_180613.gif](https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/160920/norogm1617_180613.gif)
- 21) 酒井妙子 他：平成 28 年度に福井県の集団発生事例から検出されたノロウイルスの遺伝子解析, 福井県衛生環境研究センター年報, **15**, 63-67(2016)
- 22) Ryder R. W. et al. : Evidence of immunity induced by naturally acquired rotavirus and Norwalk virus infection on two remote Panamanian islands., J. Infect. Dis., **151**, 99-105(1985)