

# 令和元年度に福井県において検出された ノロウイルスの遺伝子解析

酒井妙子・高橋美帆・東方美保

Genetic analysis of noroviruses detected in Fukui Prefecture in 2019/2020

Taeko SAKAI, Miho TAKAHASHI, 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、当センターではこれまでも 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、令和元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

令和元年度（平成 31 年 4 月～令和 2 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 23 事例 213 検体、小児散発例 50 検体を対象とした。集団発生事例における検体の種類は、有症者由来の糞便または吐物 108 検体、調理従事者および施設職員等由来糞便 72 検体、ふきとり 33 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。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シング法により 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。シーケンシング装置は、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

### 3.1 集団発生事例

調査対象の集団発生 23 事例 213 検体のうち、表 1 のとおり 15 事例 91 検体（有症者 72 検体、従事者 16 検体、ふきとり 3 検体）で GII が検出された。

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、事例 11 については拭き取り 1 検体で配列が違うものがあつたが（図 1、集団発生事例 11-2）、他は事例ごとに 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 4、5、10、13 では有症者と調理従事者の配列が 100% 一致していた。発生施設は飲食店（8 事例）、仕出し屋（5 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、GII.2、GII.4、GII.6、GII.17 の 4 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.4 が 8 事例（53.3%）で最も多く、次いで GII.2 が 3 事例（20.0%）であった（図 2）。

令和元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.2 は 99.7%、GII.4 は 93.2%、GII.17 は 98.9% であり、高い相同性を示した（図 1）。

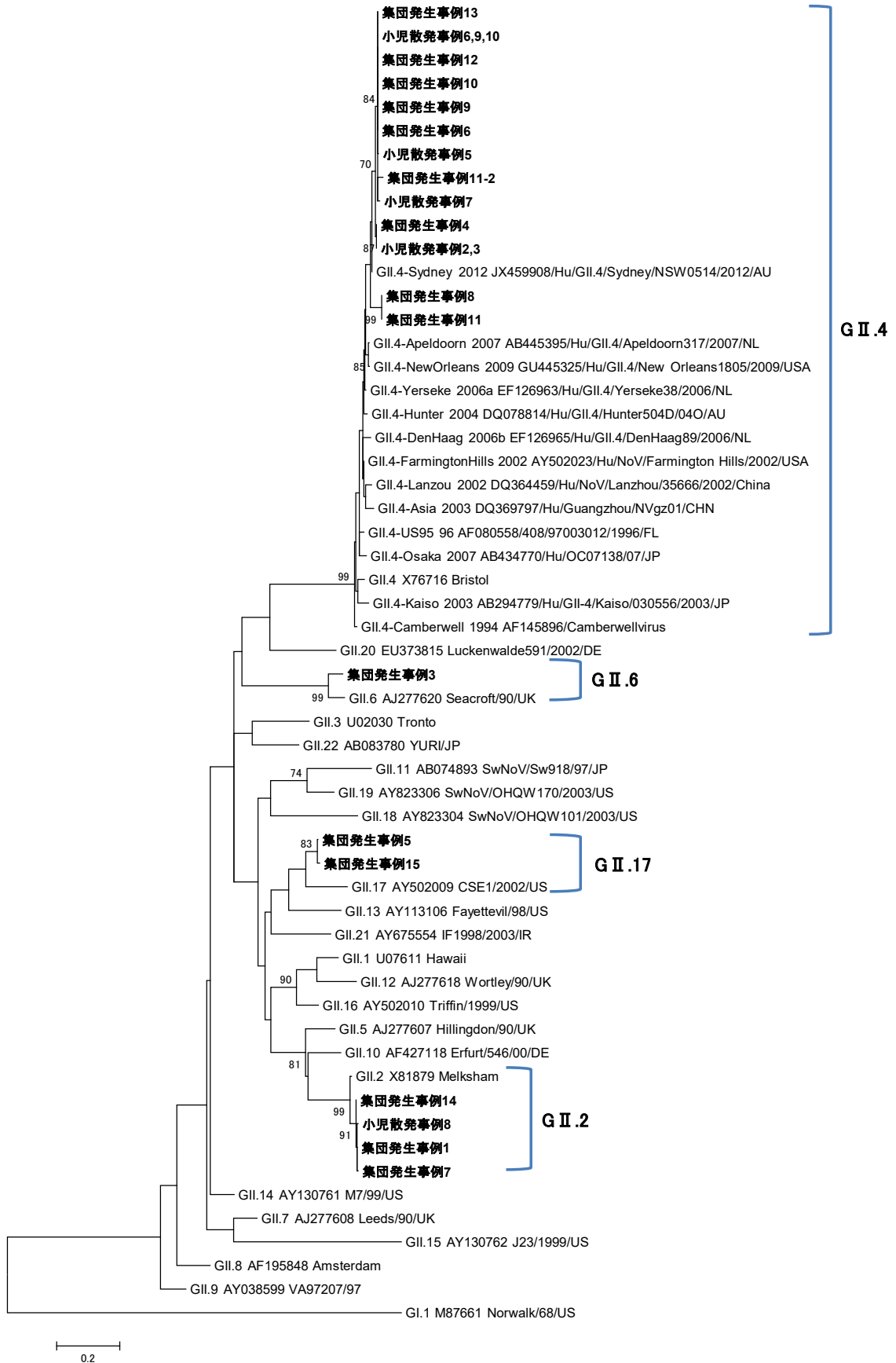


図1 Genogroup II の系統樹解析 (Capsid 領域 282nt、NJ 法)

表1 NoVが陽性となった事例

事例番号	初発患者 発生年月日	発生地域	発生施設	推定感染経路	有症者	調理従事者等	ふきとり	検出した 遺伝子型
					陽性数/検査数	陽性数/検査数	陽性数/検査数	
1	2019.3.31	県外	飲食店	不明	1 / 1	/	/	NV(GII.2)
2	2019.4.16	県外	飲食店	従業員を介する 食中毒 (事件報告)	1 / 1	/	/	NV(GII型別不能)
3	2019.6.4	県外	飲食店	ヒト-ヒト感染	3 / 3	/	/	NV(GII.6)
4	2019.6.19	福井市	飲食店	従業員を介する 食中毒 (事件報告)	4 / 4	2 / 3	0 / 9	NV(GII.4)
5	2019.11.23	奥越	仕出屋	従業員を介する 食中毒 (事件報告)	10 / 11	2 / 7	/	NV(GII.17)
6	2019.12.2	県外	飲食店	ヒト-ヒト感染	4 / 5	/	/	NV(GII.4)
7	2019.12.7	福井市	飲食店	不明	12 / 12	4 / 11	0 / 8	NV(GII.2)
8	2019.12.15	福井市	結婚式場	ヒト-ヒト感染	12 / 14	0 / 8	/	NV(GII.4)
9	2019.12.21	県外	飲食店	ヒト-ヒト感染	1 / 1	/	/	NV(GII.4)
10	2020.1.8	福井市	仕出屋	従業員を介する 食中毒 (事件報告)	2 / 3	5 / 6	0 / 10	NV(GII.4)
11	2020.1.13	坂井	仕出屋	不明	4 / 4	2 / 2	3 / 6	NV(GII.4)
12	2020.1.27	丹南	不明	ヒト-ヒト感染	2 / 2	/	/	NV(GII.4)
13	2020.2.10	丹南	仕出屋	従業員を介する 食中毒 (事件報告)	6 / 8	1 / 2	/	NV(GII.4)
14	2020.2.19	県外	飲食店	不明	7 / 7	/	/	NV(GII.2)
15	2020.2.17	丹南	仕出屋	不明	3 / 7	0 / 3	/	NV(GII.17)

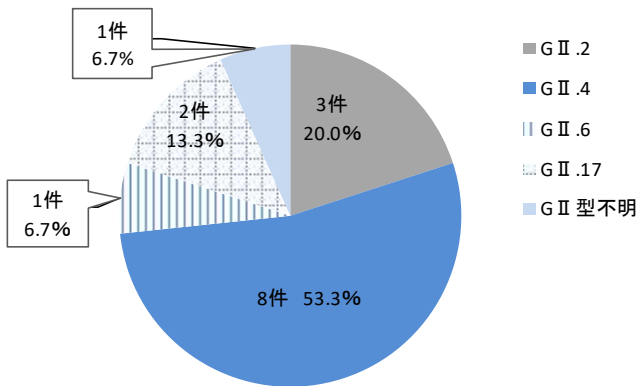


図2 集団発生事例において検出されたNoVの遺伝子型

発生月別では、12月(4事例)が最も多く、1、2月(それぞれ3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31年4月には平成31年3月に引き続き1事例からGII.2が検出された。しかし令和元年6月から令和2年2月にかけて7事例からGII.4が検出され、GII.2は令和元年12月、令和2年2月の2事例のみであった。またGII.17が令和元年11月、令和2年2月に2事例検出され、平成30年2月以来約2年ぶりの検出となった。

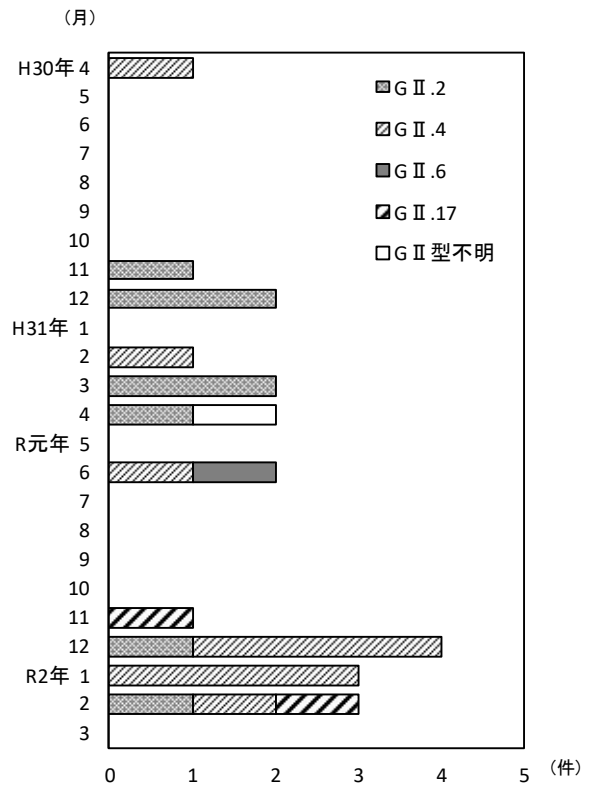


図3 集団発生事例の月別NoV検出事例数

### 3. 2 小児散発例

調査対象の小児散発例 50 検体のうち、表 2 のとおり 10 検体で GII が検出された。

表 2 小児散発例において NoV が陽性となった検体

検体番号	発病月	年齢	検出した遺伝子型
1	2019年4月	0	GII.4
2	2019年4月	3	GII.4
3	2019年6月	2	GII.4
4	2019年7月	1	GII.3
5	2019年12月	1	GII.4
6	2020年1月	1	GII.4
7	2020年1月	1	GII.4
8	2020年2月	2	GII.2
9	2020年2月	3	GII.4
10	2020年2月	1	GII.4

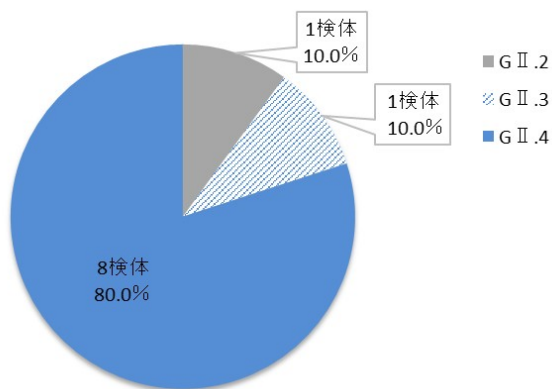


図 4 小児散発例において検出された NoV の遺伝子型

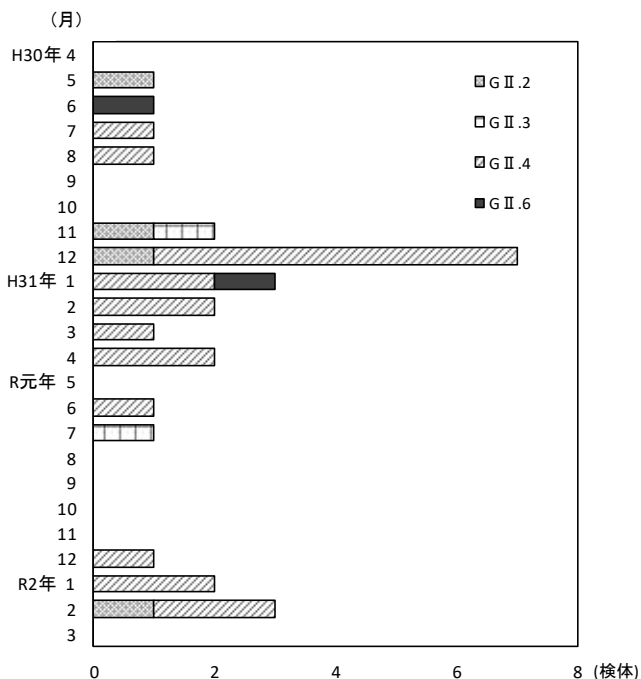


図 5 小児散発例の発病月別 NoV 検出数

検出された NoV のうち、系統樹解析が可能であったのは 8 検体で、GII.2、GII.3、GII.4 の 3 種類の遺伝子型が確認された (図 1、5)。遺伝子型別の検出頻度を比較すると、GII.4 が 8 検体 (80.0%) で最も多く、次いで GII.2、GII.3 がそれぞれ 1 検体 (それぞれ 10.0%) であった (図 4)。

令和元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 98.2% であり、高い相同性を示した (図 1)。

発生月別では、2 月 (3 検体) が最も多く、1 月 (2 検体) など NoV 流行期にあたる冬季に多かった (表 2、図 5)。

遺伝子型別にみると、平成 30 年に続き平成 31 年 4 月から令和 2 年 2 月まで GII.4 が 7 検体で検出された。その他の遺伝子型については GII.2、GII.3 が 1 検体ずつ検出された。

## 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 23 事例のうち 15 事例から NoV が検出され、そのうちの 5 事例が食中毒事件となった (事例 2、4、5、10、12)。

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 5 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 31 年度は集団発生事例において、GII.2、GII.4、GII.6、GII.17 の 4 種類の遺伝子型が検出された。また小児散発事例においては GII.2、GII.3、GII.4 の 3 種類の遺伝子型が検出された。

GII.2 は集団発生事例について平成 31 年 4 月から令和 2 年 2 月にかけて 3 事例から検出された。平成 28 年度において全国でも流行し<sup>19)</sup>、福井県においても最も多く検出された遺伝子型であり<sup>20)</sup>、平成 31 年 3 月から引き続き検出されていた。一方散発事例からは GII が検出された 10 検体のうち、令和 2 年 2 月に 1 検体から検出されたのみであった。

GII.4 は令和元年 6 月から令和 2 年 2 月にかけて集団発生事例について 7 事例、小児散発事例については 7 検体から検出された。胃腸炎の小児散発例において GII.4 は常に主要な遺伝子型であり<sup>21,22)</sup>、本県でも 2019/20 シーズンにおける小児散発例からの NoV 検出割合は GII.4 が最も多かった。よって令和元年度は GII.4 が集団発生事例、小児散発事例ともに主な流行型であったと考えられた。事例 4、6、8 では、家庭内において小児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。

GII.17 は集団発生事例について令和元年 11 月から令和 2 年 2 月までの 2 事例で検出された。福井県内において GII.17 は平成 30 年 2 月以来の検出であったが<sup>23)</sup>、小児散発事例では検出されなかった。

また、NoV は例年は 3 月にも検出される傾向であるが、令和 2 年 3 月には集団発生事例、小児散発例とも例年に比べ検査事例が少なく、検出されなかった。この理由は新型コロナウイルス感染症への感染予防対策が徹底された影響が考えられる。

## 5. まとめ

令和元年度に検査した急性胃腸炎集団発生 23 事例 213 検体のうち、15 事例 91 検体から NoV を検出した。遺伝子解析を実施したところ、4 種類の遺伝子型 (GII.2、GII.4、GII.6、GII.17) が検出され、遺伝子型の変遷が見られた。

また小児散発事例については 50 検体のうち、10 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 (GII.2、GII.3、GII.4) が検出された。

NoV に対する防御反応は遺伝子型特異的であるため<sup>24)</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、保健予防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 GI.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 GI.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 GI 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) 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 GI 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)
- 20) 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)
- 21) 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 GI 遺伝子型検出報告状況、2016/17-2019/20 シーズン(2 月 19 日現在)  
[https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/160920/norogm1617\\_200219.gif](https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/160920/norogm1617_200219.gif)
- 22) 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)
- 23) 酒井妙子 他：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，福井県衛生環境研究センター年報，**16**, 64-67(2017)
- 24) 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)