

集団胃腸炎から検出されたノロウイルスの遺伝子解析

浅川洋美 三橋加世子 山上隆也*¹

Genotype analysis of *Norovirus* Detected from Gastroenteritis Outbreak in Yamanashi Prefecture

Hiroyoshi ASAKAWA, Kayoko MITUHASHI, Takaya YAMAGAMI

キーワード: ノロウイルス, 遺伝子型, 集団胃腸

ノロウイルス(Norovirus: NV)は嘔吐, 下痢を主徴とする感染性胃腸炎を引き起こし, 食中毒等の集団感染発生の主要な原因ウイルスとして知られている。多くの遺伝子型があり, Genogroup (G₁)とGenogroup (G₂)の遺伝子群に分類される。さらに2つの群にはそれぞれ14と17の遺伝子型(genotype)がみだされている。本県では平成18年度以降, 高齢者福祉施設等でNVを原因とする集団感染症が多発しており, その感染防止対策は急務となっている。そこで本県におけるNVの流行把握と, 感染予防の基礎資料とするため平成19年度から平成20年度に検出されたNVについて遺伝子解析を行った。

材料および方法

1. 調査対象

平成19年4月から平成21年3月までに, 山梨県内で発生したNVによる集団胃腸炎感染71事例のうち66事例を対象とした。

2. ノロウイルスの検出

NVの検出は「ノロウイルスの検出法について(平成15年11月5日付け食安監発第1105001号)」に基づき実施した。ふん便材料を10%乳剤とし, QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN社製)によりRNAを抽出した。抽出RNAからcDNAを作成し, リアルタイムPCR法でNVを検出した。プライマーおよびプローブはG₁はCOG1F/COG1R, RING1-TP(a), RING1-TP(b), G₂はCOG2F/COG2R, ALPF, RING2AL-TPを用いた。

3. ノロウイルス遺伝子の塩基配列の決定

リアルタイムPCRで陽性になった検体の一部について, 構造蛋白(Capsid)領域のプライマーG₁: COG1F/G1-SKR, G₂: COG2F/G2-SKRを用いてRT-PCR法で増幅後, 電気泳動し MinElute Gel Extraction Kit(QIAGEN社製)で精製した。BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequence kit(ABI社製)を用いてサイクルシーケンス反応を行った。反応産物はAutoSeq G-50 Dye Terminator Removal Kit(GE healthcare社製)により精製し, ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer(ABI社製)により塩基配列を決定した。遺伝子解析はGENETYX ver.8を用いて行った。

結果および考察

1. 集団胃腸炎からのノロウイルス検出状況

過去2年間の集団胃腸炎の施設別検出状況を表1に示した。内訳は検出71事例のうち高齢者福祉施設22事例, 保育所・幼稚園21事例, 医療機関10事例, 小学校8事例, 障害者福祉施設6事例, 飲食店・旅館4事例の順であった。年度別では平成19年度は高齢者福祉施設での発生が17事例と多かったが, 平成20年度は保育所・幼稚園での発生が14事例と増加したが, 高齢者福祉施設で

の発生は減少した。食中毒事例は, 飲食店・宿泊施設の4事例と保育所の1事例のみであとの事例はヒト-ヒト感染事例であった。本県では依然としてNVによる集団感染が多発している。全国的にもNVの集団感染事例は平成18年から急増しており, ヒト

*1: 衛生監視指導センター

表 1 集団胃腸炎からのノロウイルス検出状況 H19.4～H21.3

年度	高齢者福祉施設	障害者福祉施設	小学校	保育所・幼稚園	飲食・宿泊施設	医療機関	計
19	17(378)	3(108)		7(190)	1(7)	6(165)	34(848)
20	5(79)	3(54)	8(139)	14(339)	3(66)	4(71)	37(748)
計	22(457)	6(162)	8(139)	21(529)	4(73)	10(236)	71(1,596)

- ヒト感染の場合、老人ホーム等の高齢者施設や小学校・保育園での集団発生が多く^{1,2)}、NV 感染防止のためには常日頃からの健康観察、手洗いなどの励行、吐物の適正な処理等が重要と考えられる。

2. ノロウイルスの遺伝子解析

検出 NV の遺伝子型を表 2 に示した。平成 19 年度は、33 事例中 26 事例(78.3%)から G /4 型検出され、大部分を占めた。平成 20 年度は、33 事例中 G /4 型は 16 事例(48.5%)から検出され約半数を占めたものの減少し、G /6 型 7 事例、G /3 型 4 事例、G /13 型 3 事例など他の遺伝子が増加した。2 年間の合計では、66 事例中 42 事例(63.6%)から検出され、主流を占めた。また、検出された G /4 型は 42 事例中 41 事例(97.6%)が世界的に流行している G /4 型 2006EUb^{2,3)}類似株であった。本県においても 2006EUb 類似株が確認され、NV 感染症の増加はこの株の浸潤・拡散によるものと考えられた。平成 20 年度には 2006EUb 類似株が減少し、いくつかの遺伝子型の増加がみられた。今

表 2 検出ノロウイルスの遺伝子型

遺伝子型	H19	H20	計
G /2		2	2
/3	1	4	5
/4	26	16	42
/6		7	7
/10		1	1
/13	1	3	4
/16	1		1
/17	1	1	2
NT		1	1
G /2	1		1
/3	1		1
/4	1	2	3
NT	2		2
計	35	37	72

(H19,20 とも 33 事例いずれも重複感染を含む)

後も遺伝子解析を継続することで新たな流行株を把握するが、NV 感染症発生動向の解析の一助になると考えられた。

一方、食品からの NV の検出が困難であること、ヒト-ヒト感染による集団発生の初発患者感染経路が不明な場合が多いなどから NV 感染の原因究明がなされない場合が多い。今後も食品からの NV の検出の試み、詳細な疫学調査と遺伝子解析などを実施し、NV 感染の原因究明に努めていきたい。

ま と め

1. 過去 2 年間における検出ノロウイルスの主流遺伝子型は G /4 型であった。
2. G /4 型のほとんどは世界的に流行した 2006EUb 類似株であったことから本県におけるノロウイルス下痢症の増加は 2006EUb 類似株の浸潤によるものと確認された。
3. 平成 20 年度には、2006EUb 類似株は減少し、G /4 型以外の遺伝子型の増加が確認された。今後も遺伝子型の動向に注意が必要である。
4. 遺伝子解析はノロウイルスの流行把握に有効な手段であり、継続的な監視の重要性が確認された。

文 献

- 1) 国立感染症研究所：ノロウイルス感染集団発生 2003 年 9 月～2005 年 10 月、病原体微生物検出情報(月報), **26**, 323～338(2005)
- 2) 国立感染症研究所：ノロウイルスの流行 2006/2007 シーズン、病原体微生物検出情報(月報), **28**, 277～285(2007)
- 3) SiebengaJJ, et al., J Virol **81**:9932～9941(2007)