

## 9. 千葉県内で検出された下痢症ウイルスの遺伝子学的解析およびその動向

○堀田 千恵美 (千葉県衛生研究所)、小倉 惇 (千葉県衛生研究所)、  
仁和 岳史 (千葉県衛生研究所)、小川 知子 (千葉県衛生研究所)、  
江口 弘久 (旧所属 千葉県衛生研究所 現所属 千葉縣市川保健所)

### 【はじめに】

下痢症ウイルス (ノロウイルス、サポウイルス、A 群ロタウイルスなど) は、毎年 11 月から 4 月にかけて感染性胃腸炎の流行を引き起こしている。千葉県内においても、同時期に胃腸炎の集団事例が多発しており、対象施設はもちろん、行政においても拡大予防対策に追われている。

これらのウイルスは、多くの遺伝子型を保有することが知られ<sup>1,2,3)</sup>、特にノロウイルスは流行する遺伝子型が変わると、患者数や患者の年齢層に影響することが知られている。遺伝子型の変化を把握することは、感染拡大防止の観点からも非常に重要である。

一方、県内の感染性胃腸炎のウイルス検査には、集団発生例の検体は集まりやすいが、散发例の検体を入手することが難しいのが現状である。そのため、集団発生例の背景にあると思われる市井の状況を把握することが困難な状況が続いている。

本調査では、県内小児科医療機関の協力によって散发例の検体を積極的に確保し、集団発生例の検体と併せて、ノロウイルス (NoV)、A 群ロタウイルス (ARV)、サポウイルス (SaV)、アストロウイルス (AstV) が検出された事例の遺伝子型を解析し、県内の流行状況をみた。さらに、2008 年 9 月以降の散发例ならびに集団発生例から検出されたウイルスならびにその遺伝子型の動向について考察を行った。

また、ARV については、2011 年にワクチンが導入されたことによる流行への影響についても検討を行った。

### 【材料および方法】

感染症発生動向調査事業ならびに協力医療機関において 2008 年 9 月から 2013 年 8 月までに採取され、NoV、ARV、SaV、AstV が検出された 255 例 (以下、散发例)、ならびに 2008 年 9 月から 2013 年 8 月までに県内で発生し、NoV、ARV、SaV、AstV が検出された集団発生例 650 例を対象とした。

NoV、SaV、AstV の検出は、リアルタイム PCR<sup>4,5,6)</sup>を実施した。ARV の検出は、EIA 法またはリアルタイム PCR<sup>7)</sup>によって行った。遺伝子型の同定は、NoV は Kobayashi ら<sup>8)</sup>ならびに Okada ら<sup>9)</sup>、ARV は Gouvea ら<sup>2)</sup>、SaV は Okada ら<sup>10)</sup>、AstV は岡田 (未発表) の方法に従い RT-PCR を行い、得られた DNA 増幅産物を用い、ダイレクトシーケンスで塩基配列を決定し、系統樹解析にて遺伝子型を決定した。

表 1 各ウイルスの検出数（散发例）

ウイルス	2008/2009	2009/2010	2010/2011	2011/2012	2012/2013
ノロウイルス	12	7	11	16	82
A群ロタウイルス	5	5	4	5	44
サポウイルス	1	2	3	7	21
アストロウイルス		1	1	3	24

表 2 各ウイルスの検出数（集団発生例）

ウイルス	2008/2009	2009/2010	2010/2011	2011/2012	2012/2013
ノロウイルス	109	98	130	132	149
A群ロタウイルス	1	5	4	4	12
サポウイルス	3	4	6	4	14
アストロウイルス			1*		2

\*重複検出例（サポウイルスが主に検出された）

### 【結果および考察】

9月から翌8月までを1シーズンとして、2008年9月から2013年8月までの5シーズンについて検討した。特に、2012/2013シーズンは、散发例を確保する目的で協力医療機関から229検体の検査を実施し、うち129検体からNoV、ARV、SaV、AstVいずれかのウイルスが検出された。

#### 1) 各ウイルスの検出状況

各シーズンの検出状況は、散发例ならびに集団発生例それぞれ表1、2のとおりであった（重複検出例を複数含む）。

いずれのシーズンにおいてもNoVによる検出が最も多かった。また、散发例、集団発生例ともにNoVによるものが最も多く、それぞれ128例、618例であり、特に集団発生例において顕著であった。乳幼児における下痢症からはNoV以外のウイルスも検出されたが、成人や高齢者を含む集団発生例からはNoVの検出が多かった。集団発生例におけるNoVの検出が顕著に多かった原因として、散发例が小児科を対象に検体を採取しているのに対し、集団発生例は乳幼児から高齢者までの全年齢層を対象としていること、NoV自体が乳幼児に限らず高齢者においても感染性胃腸炎を起こしやすいことが考えられた。

ARVとSaVは、2012/2013シーズンで検出数の増加がみられた。散发例については、2012/2013シーズンで検体を積極的に集めたため、その影響は否定できない。一方、集団発生例での検出増加は、発生数自体が多かったためと考えられ、前シーズンまでとは異なる流行状況だったことがうかがえた。このことから、散发例においても、検体数の増加の影響だけでなく、発生数も多かったと推測される。

AstVは、検出報告が少ないウイルスであり、千葉県においても散发例から1シーズンに1例前後の検出であったが、2012/2013シーズンは検出例が増加した。また、集団発生例においても、2012/2013シーズンに県内で初めてAstVを原因とする事例が2例発生し

た。2012/2013 シーズンの検出状況は、散发例の検体数が増加した影響も否定できないが、市井において AstV が循環していたことを示唆し、下水からの報告<sup>11)</sup>も、環境における AstV の循環を支持するものとする。また、検出事例が多い年があるとの報告もあることから<sup>12)</sup>、千葉県において、2012/2013 シーズンが検出事例の多かったシーズンなのか、それとも常態化しているのかを確認するためにも、今後も検討を重ねたい。

## 2) 各ウイルスの遺伝子型

遺伝子型の決定が行えた数を表 3、4 に示した。遺伝子型を決定できた数があまり多くなかったが、各シーズン、散发例と集団発生例で検出の主流となった遺伝子型には、ほぼ重なりが見られた。集団発生例からのみ検出された遺伝子型もあったことから、集団内で広がりやすい遺伝子型が各ウイルスに存在する可能性があると考えている。併せて、散发例は小児対象であるのに対し、集団発生例は、乳幼児から高齢者までが対象であることから、年齢層によっても広がりやすい遺伝子型が存在することが考えられた。一方、集団発生例に比べて、散发例の検体数そのものが少ないことから、流行状況を反映しきれていない部分もあると考えている。

表 3 各ウイルスの決定された遺伝子型と数（散发例）

遺伝子型	2008/2009	2009/2010	2010/2011	2011/2012	2012/2013
ノロウイルス					
GI/6					2
GII/2			4		2
GII/3			7		
GII/4			5		37
GII/13			2		4
GII/14					1
A群ロタウイルス					
G1		2	4	6	28
G3		2			1
G9				1	2
サポウイルス					
GI.1			1	1	
GI.2			1	1	6
GII				1	6
GIV					1
GV					1
アストロウイルス					
1				2	16
3		1			
8			1		
4					7

### 3) A 群ロタウイルスのワクチン導入の影響

2011 年 11 月に ARV のワクチンが国内にも導入され、その影響が懸念されているところである。千葉県における 2011/2012 シーズンの ARV の集団発生例は、遺伝子型を決定できたすべての事例で G2 が検出されたが、散发例においては検出されなかった。翌 2012/2013 シーズンは G1 の検出が散发例、集団発生例ともに目立った。ワクチン導入後に検出が目立った G1 は、県内はもちろん国内においても優勢な遺伝子型であり、今回の結果から、ワクチンの影響がどの程度あったのかを把握することは難しい。しかし、ワクチンが生ワクチンであることは、今後の発生状況に少なからず影響を及ぼすと考える。今後は P 型の同定、塩基配列の比較など詳細な解析も進めていきたい。

表 4 各ウイルスの決定された遺伝子型と数 (集団発生例)

遺伝子型	2008/2009	2009/2010	2010/2011	2011/2012	2012/2013
ノロウイルス					
GI/2		2			1
GI/3					1
GI/4	3	6			1
GI/6					6
GI/7	1		3		
GI/8	1	2	2	1	
GI/9			1		
GI/11		1	2		
GI/14				3	
GII/1				1	
GII/2	3	11	44	6	11
GII/3	3	3	46		3
GII/4	35	47	18	79	116
GII/5				2	
GII/6	9			6	
GII/7			1	5	
GII/11					1
GII/12	1	1	4	4	2
GII/13	1	3	9	20	6
A群ロタウイルス					
G1		1	1		5
G2			1	4	1
G3		5	2		1
G4		1			
サポウイルス					
GI				4	
GI.2			1		10
GI.3					1
GII	1				
アストロウイルス					
4					1
5					1

## 【まとめ】

本報告において、散発例と集団発生例の検出遺伝子型に相関が改めて確認され、散発例の把握が集団発生例の対策に重要であることが示唆された。公衆衛生上、ウイルス性胃腸炎の集団発生の予防対策は非常に重要な課題である。散発例の発生状況の把握は、集団発生の傾向を把握する上で有効な手段であり、早期に解析を行うことで、検出ウイルスの動向や流行状況などが注視可能であると考えられる。今後も速やかな解析とともに、ウイルスの動向の蓄積を継続し、流行の変化を解析、把握することに努めたい。

## 【謝辞】

本調査にあたり、検体採取にご協力いただいた外房こどもクリニック 黒木春郎先生、東京女子医科大学八千代医療センター小児科 濱田洋通先生、あべこどもクリニック 阿部啓次郎先生ならびに各協力医療機関スタッフのみなさま、集団発生例の検体採取ならびにノロウイルスの検出を行った千葉県各健康福祉センターのみなさまに深謝申し上げます。

## 【参考文献】

- 1) Zheng DP, et al : Virology, 346, 312-322 (2006).
- 2) Gouvea V, et al : J.Clin. Microb., 28, 276-282 (1990).
- 3) Farkas T, et al : Arch, Virol., 149, 1309-1323 (2004).
- 4) Kageyama T, et al : J.Clin. Microb., 41, 1548-1557 (2003).
- 5) Oka T, et al : J. Med. Virol., 78, 1347-1353 (2006).
- 6) 横井一, 他 : 感染症誌, 83, 120-126 (2009).
- 7) Logan C, et al : J.Clin. Microb., 44, 3189-3195 (2006).
- 8) Kobayashi K, et al : Microbiol. Immunol., 44, 687-693 (2000).
- 9) Okada M, et al : J.Clin. Microb., 43, 4391-4401 (2005).
- 10) Okada M, et al : Arch, Virol., 151, 2503-2509 (2006).
- 11) 横井一, 他 : 感染症誌, 75, 263-269 (2001).
- 12) 山下育孝, 他 : IASR, 20,192-193(1999).

## 【経費使途明細】

使途	金額
3130 POP-7 ×2	124,000 円
PrimeScript RT reagent Kit(Perfect Real Time) ×1	111,835 円
THUNDERBIRD Probe qPCR Mix ×2	49,480 円
消費税	14,265 円
支払手数料	420 円
合計	300,000 円

なお、利息 19 円 発生