

32. 奈良県における新たな遺伝子型ノロウイルスの発生状況の把握に関する研究

○藤谷美沙子（奈良県保健研究センター）

【研究目的】

ノロウイルス（NV）は急性胃腸炎を引き起こす主要病原体のひとつであり、世界的に流行している¹⁾。NVには5つの遺伝子群が存在し、ヒトに感染するのは主にGIとGIIである。GIはGI.1～GI.9、GIIはGII.1～GII.22の遺伝子型に分類され、これまでNVの主流遺伝子型となっているのはGII.4である。GII.4は2006年、2012年に変異株が出現し、大流行を引き起こした。変異株は、それまでの株とは異なる株であるため、免疫を持つヒトが少なく大きな流行を引き起こしやすい。

研究テーマである新たな遺伝子型ノロウイルスGII.P17-GII.17は、従来のGII.17とは異なり、新規遺伝子型番号が付与されたウイルスである²⁾。GII.P17-GII.17は、国内だけでなく中国、タイなどでも流行していることが報告されている^{3,4)}。また過去のものとは異なるため、大流行を引き起こし、GII.4に変わり主流遺伝子型となって流行を拡大させることが懸念されている。

この新たな遺伝子型GII.P17-GII.17の解析を迅速に実施し、本県における発生状況や流行状況をまとめ、情報提供を行うことは予防対策に必要であり、本課題は地域の公衆衛生の一助となることを目的とする。

【材料と方法】

2014/15シーズン、2015/16シーズン（9月から翌年8月を1シーズンとする）に奈良県感染症発生動向調査で搬入された患者糞便検体のうち、NVが疑われる449例を検査材料とした。

10%糞便懸濁上清からウイルスRNAを抽出し、VP1のキャプシド領域を増殖するプライマーセット（COG2F/G2-SKR）を用いてRT-PCRを行い、ゲル電気泳動で増幅を確認した。得られた遺伝子増幅産物についてダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、Norovirus genotyping toolにより遺伝子型を分類した。GII.17に分類されたものについては、RNA依存性RNAポリメラーゼ（RdRp）領域を増幅するプライマーセット（Yuri22F/G2-SKR）を用い、RdRp領域の遺伝子型を確認した。またRdRp領域について、近隣結合（NJ）法により参照株を用いた系統樹解析を行った。GII.17の疫学的解析では、これまでの主流遺伝子型であるGII.4と比較し、患者情報については、奈良県感染症発生動向調査病原体検査票より収集した。

【結果】

1. 検出状況

2014/15 シーズンと 2015/16 シーズンに NV の検査を実施した 449 例のうち NVGⅡを検出したものは 202 例 (45.0%) であった。GⅡ.17 は 2014/15 シーズンに 4 例、2015/16 シーズンに 15 例の併せて 19 例 (9.4%) 検出した。19 例の RdRp 領域の遺伝子型は、すべてが GⅡ.P17 に分類された。なおその他の遺伝子型は、GⅡ.2 を 56 例 (27.7%)、GⅡ.3 を 32 例 (15.8%)、GⅡ.4 を 88 例 (43.6%)、GⅡ.6 を 3 例 (1.5%)、GⅡ.7 を 1 例 (0.5%)、GⅡ.13 を 3 例 (1.5%) 検出した。

2. 患者情報

GⅡ.17 を検出した検体情報を下表にまとめた。

表 GⅡ.17 を検出した検体情報

No.	発症月	RdRp領域 遺伝子型	性別	年齢	下痢 1日回数	発熱	嘔気 嘔吐	腹痛	その他	発生状況
1	2015.1	GⅡ.P17	女	13	1回以上	38.3		○		中学校流行
2	1	GⅡ.P17	男	12	3	38.2	○			中学校流行
3	2	GⅡ.P17	女	14	5		○			家族内発生
4	2	GⅡ.P17	女	10	1回以上		○			不明
5	11	GⅡ.P17	女	7	1		○	○		小学校流行
6	11	GⅡ.P17	男	8	2		○			散発
7	11	GⅡ.P17	女	0	8	38.2	○			家族内発生
8	2016.1	GⅡ.P17	男	5	6		○			幼稚園流行
9	1	GⅡ.P17	女	4	1		○	○		幼稚園流行
10	1	GⅡ.P17	女	6	8	38.0	○	○		幼稚園流行 家族内発生
11	1	GⅡ.P17	女	8	1回以上		○			家族内発生
12	1	GⅡ.P17	男	4	2		○	○		散発
13	2	GⅡ.P17	女	6	2	37.8	○			散発
14	2	GⅡ.P17	男	4	1	39.1	○	○		散発
15	2	GⅡ.P17	男	4	2	38.9	○	○		保育所流行
16	3	GⅡ.P17	女	5	1	37.8	○	○		散発
17	3	GⅡ.P17	男	5	5				頭痛	散発
18	3	GⅡ.P17	男	7	6	38.2	○	○		家族内発生
19	4	GⅡ.P17	女	10	10		○			家族内発生

1) 性別

GⅡ.P17-GⅡ.17 を検出した 19 例の性別は、男性 8 例 (42.1%)、女性 11 例 (57.9%) で、やや女性からの検出が多かった。GⅡ.4 は、男性 39 例 (44.3%)、女性 48 例 (54.6%)、不明 1 例 (1.1%) であった。

2) 症状

GⅡ.P17-GⅡ.17 は、下痢はすべての症例でみられ、1日平均回数は、3.5回 (記載のないものは1と計上) であった。嘔気・嘔吐は 17 例 (89.5%) で出現していた。発熱を呈し

た症例は9例（47.4%）で、37.5～37.9が2例、38.0～38.9は6例、39.0以上が1例であった。腹痛を呈したものは9例（47.4%）でおよそ半数であり、その他の症状としては頭痛を訴えた症例が1例（5.3%）あった。GⅡ.4は下痢のみられた症例が82例（93.2%）であり、1日平均回数は、2.3回（記載のないものは1と計上）であった。嘔気・嘔吐は74例（84.1%）、発熱は25例（28.4%）であり、37.5～37.9が12例、38.0～38.9が10例、39.0以上が3例であった。腹痛は10例（11.2%）あった。

3) 発生月及び年齢

2シーズン合計の発症月及び年齢を下図にまとめた。

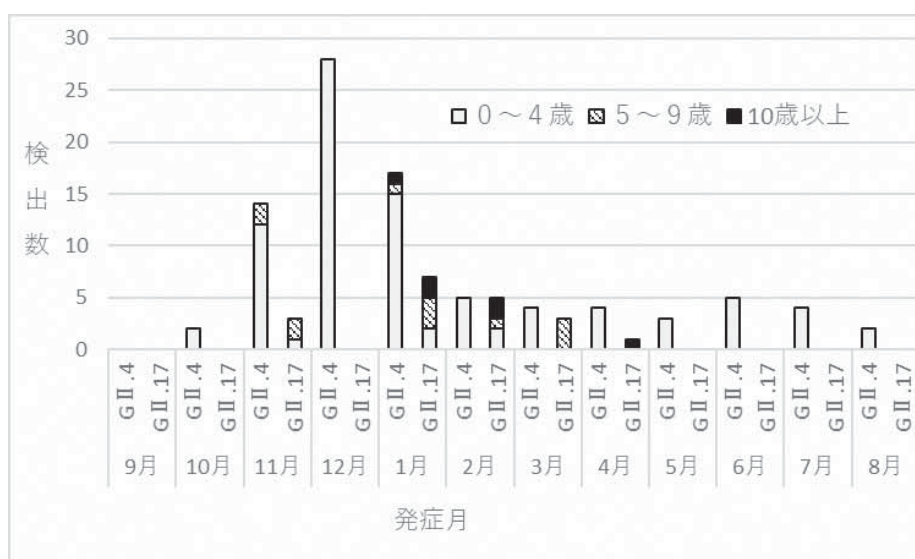


図 2シーズン合計のGⅡ.17及びGⅡ.4の発症月・年齢別検出数

GⅡ.P17-GⅡ.17の発症月は、11月3例（15.8%）、1月7例（36.8%）、2月5例（26.3%）、3月3例（15.8%）、4月1例（5.3%）であった。年齢は、0～4歳は5例（26.3%）、5～9歳は9例（47.4%）、10歳以上は5例（26.3%）であった。GⅡ.4の発症月は、10月2例（2.3%）、11月14例（15.9%）、12月28例（31.8%）、1月17例（19.3%）、2月5例（5.7%）、3月4例（4.5%）、4月4例（4.5%）、5月3例（3.4%）、6月5例（5.7%）、7月4例（4.5%）、8月2例（2.3%）であった。年齢は、0～4歳は84例（95.5%）、5～9歳は3例（3.4%）、10歳以上は1例（1.1%）であった。

3. 系統樹解析

RdRp領域の300bpについての系統樹解析の結果を下図に示す。検出したGⅡ.P17-GⅡ.17は、すべて国内で流行しているKawasaki308/2015/JPの近縁株であった。

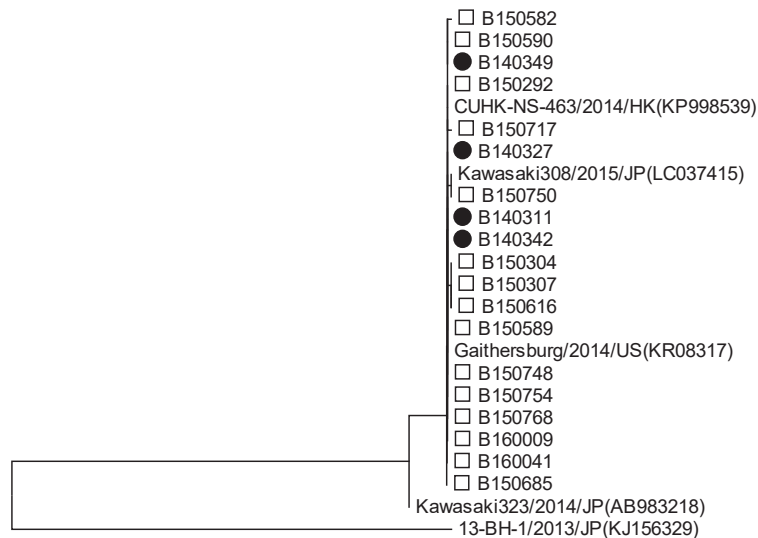


図 GII.P17 の RdRp 一部領域における系統樹

● : 2014/2015 シーズン検出、□ : 2015/2016 シーズン検出

【考察】

GII.P17-GII.17 は、懸念されていたほどの大流行とはならなかったが、2 シーズンを通して検出された。主流遺伝子型とはならなかったが、2 シーズン中に 19 例検出し、全体の 9.4% を占めた。

GII.P17-GII.17 を検出した検体の症状は、胃腸炎症状の下痢、嘔気・嘔吐がほぼすべての患者でみられた。発熱や腹痛はほぼ半数の患者で出現し、その他には頭痛をおこした例もあったが、GII.4 と同様の症状であり、GII.P17-GII.17 特有の症状はみられなかった。月別の検出では GII.P17-GII.17 は、11 月と 1 月から 4 月に検出があり、2 シーズンを通して 1 月以降の発生が多かった。一方 GII.4 は、11 月から 1 月がピークとなっており、1 月以降の検出もあるが数は少ない。GII.17 が GII.4 よりやや遅れて増加し始める点は、他県でも指摘されており⁵⁾、本県も同様の状況であった。年齢別では、0～4 歳、5 歳～9 歳、10 歳以上の三つの年齢層に分類したところ、GII.P17-GII.17 は 5～9 歳が 47.4% を占め、幼稚園から小学校にかけての年齢層で検出が多かった。一方 GII.4 は、0～4 歳が 95.5% を占め、GII.P17-GII.17 よりも年齢の小さい小児からの検出が多く、GII.P17-GII.17 は、GII.4 とは異なる年齢層で流行を拡大させる可能性がある。また他県では、GII.17 は小児施設以外や健康被害事例からの検出が多く、小児からの検出が少ないことが報告されている^{5,6)}。乳幼児は、成人で流行するウイルス株に影響を受けやすいこともあり⁷⁾、本県でも小児と小児以外の年齢からの GII.17 の検出を比較し、今後は成人での流行状況の把握、乳幼児での流行拡大防止にも努める必要があると考えている。

検出した GII.P17-GII.17 の RdRp 部分領域の系統樹解析の結果、すべてが国内で流行している Kawasaki308/2015/JP の近縁株であった。GII.P17-GII.17 は、2014 年 8 月までに検出されている株 (Kawasaki323/2014/JP) と 2014/15 シーズン冬季に検出された株である Kawasaki308/2015/JP の間で VP1 のアミノ酸配列に変異が見られており、他の遺伝子型と同様に GII.P17-GII.17 も速い速度で進化していると考えられているため²⁾、今後の動向には注意が必要である。

今回の研究により、GII.P17-GII.17 はこれまでの流行遺伝子型である GII.4 とは異なる年齢層で流行を拡大させる可能性や検出時期が異なるなどの特徴がみられた。また、現在は大きな流行とはなっていないが、進化を繰り返し、流行を拡大させていく可能性もある。今後も GII.P17-GII.17 について研究を継続し、データの蓄積を行い、傾向や発生状況を把握し、流行拡大の防止に貢献できるよう努めたい。

【引用文献】

- 1) Ahmed. S. M., Hall, A. J., Robinson, A. E., et al : Lancet Infect, 14, 725-730 (2014)
- 2) Y Matsushima, M Ishikawa, T Shimizu, et al : Euro Surveil, 20(26), pii=21173 (2015)
- 3) Fu J, Ai J, Jin M, et al: Euro Surveil, 20(24), pii=21157 (2015)
- 4) Khamrin P, Thongprachum A, Takahashi S, et al : Euro Surveil, 20(28), pii=21185 (2015)
- 5) 宗村佳子、木本佳那、小田真悠子、他 : IASR、38、5-6 (2017)
- 6) 楠本一、赤地重宏、小林隆司、他 : IASR、36、91-92 (2015)
- 7) Naomi Sakon, Kenji Yamazaki, Keiko Nakata, et al : J Infect Dis, 211(6), 879-888 (2015)

【謝辞】

本研究を実施するにあたり、検体の提供をいただきました奈良県感染症発生動向調査病原体定点医療機関の先生方、また研究助成をいただきました公益財団法人大同生命厚生事業団に心から深謝いたします。

【経費使途明細】

使途	金額
QIAamp Viral RNA Mini Kit (250)	130,680 円
BigDye Xterminator PurificationKit 100preps	27,540 円
BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit 100reactions	141,372 円
クリアブック<ノビータ>ピンク A4 サイズ ポケット数 20	408 円
合計	300,000 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円