

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例から検出された ノロウイルスの遺伝子型について(2022年度)

稲崎 倫子 高田 嵩久 頼成 明奈¹ 山崎 笑子
矢澤 俊輔 佐賀由美子 板持 雅恵 谷 英樹

Genotypes of Noroviruses Detected in Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2022

Noriko INASAKI, Takahisa SHIMADA, Akina RAIJOU, Emiko YAMAZAKI,
Shunsuke YAZAWA, Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI, and Hideki TANI

目的：ウイルス性の感染性胃腸炎や食中毒の集団発生は、冬季を中心に多発し、ノロウイルス(NoV)、ロタウイルス、サポウイルス、アデノウイルスなどが原因ウイルスとなる。この中でも発生が多いのはNoVで、厚生労働省の食中毒統計[1]では、患者数が最も多い。

NoVは、冬季に散発および集団発生する感染性胃腸炎の主たる原因ウイルスであり、乳幼児から高齢者までの全年齢層に経口感染する[2]。ヒトに感染するNoVは主にGenogroup I (GI) と Genogroup II (GII) に分けられる。さらに、それぞれが複数の遺伝子型に分類される[3-6]。

NoVのゲノムには3つの蛋白質コード領域(open reading frame; ORF)が存在しており、ORF1は非構造蛋白質、ORF2は構造蛋白質(VP1, カプシド)、ORF3は構造蛋白質(VP2)をコードしている。従来の遺伝子型判別は、主にVP1のカプシドN/S領域における塩基配列をもとに行われてきた。しかし、NoVはORF1の最下流に存在するRNA依存性RNAポリメラーゼ(RdRp)をコードする領域とVP1領域の境界(ORF1-2ジャンクション領域)を起点とするゲノムの組み換えが多発することから、RdRp領域およびVP1領域のそれぞれの遺伝子型を決定するdual typing法による遺伝子型分類法が提唱されている[7]。

NoVはヒトの小腸で増殖し、吐物や糞便中に排泄される。吐物には1 gあたり103～106個、糞便には109個ものNoVが含まれている[8]。NoVは、感染者から2週間以上にわたり排泄され[9,10]、環境中でも長期間感染性を維持するとされ

る。100個以下で感染・発病させるといわれている[11]ため、調理従事者が感染すると、その手指を介して食品がNoVで汚染され、集団食中毒を引き起こすことがある。また、ヒトから排泄されたNoVは、海に入り、カキなどの二枚貝の中腸腺に蓄積されるため[12]、二枚貝を生あるいは不十分な加熱で喫食することによって食中毒を起こすことがある。一方、NoVは食中毒のみならず、ヒトからヒトへ手指等を介して感染し、散発例、集団発生なども引き起こしている。

近年、本県ではウイルス性胃腸炎の集団発生のほとんどがNoVによるものであるため[13-27]、主にNoVを対象としたウイルス性胃腸炎の集団発生事例および散発例の調査を実施した。

材料と方法：

1. 集団発生事例

2022年4月～2023年3月までに当所および富山市保健所で受け付けた集団発生事例の検体を対象とした。検体採取と疫学調査は各事例の管轄厚生センター、富山市保健所で実施した。

2. 散発例

2022年4月～2023年3月までに当所で受け付けた小児散発例の検体を対象とした。検体採取は感染症発生動向調査病原体定点医療機関、管轄厚生センターおよび調査に協力の得られたしんたにこどもクリニック(富山市)およびむらかみ小児科アレルギークリニック(富山市)が実施した。

3. ウイルスの検出

病原体検出マニュアル[28]に準じ、糞便からのRNA抽出、逆転写反応を行い、リアルタイム

1. 富山市保健所

PCR 法によるNoV GIおよびGIIの検出を行った。陽性検体のcDNAについては、Nakamuraら[29]のnested PCR法によりRdRp領域の一部からVP1領域の一部(カプシドN/S領域)にまたがる領域の遺伝子を増幅した。シーケンス用プライマーには、PCRに用いたプライマーに加えて、GI:COG1F, COG1R, GII:G2-SKF, RIGHT184 [26]を用いて、ダイレクトシーケンスにより塩基配列(GI:774bp, GII:761bp)を決定した。このnested PCR法において陰性であった検体については、厚生労働省通知[30]に準じたnested PCR法によりGI:G1-SKF/G1-SKR, GII:G2-SKF/G2-SKR領域の遺伝子を増幅し、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。

遺伝子型および亜型の判定は、Norovirus Genotyping Tool Version 2.0 (<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus/>)を用いて行った。遺伝子型番号は、Norovirus Genotyping Toolの分類[31]に従い、VP1領域タイプ[RdRp領域タイプ]の形式で表記した。

結果および考察:

1. 集団発生事例の概要

2022年度に当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生14事例のうち、5事例からノロウイルスが検出された。これに富山市保健所で検査した事例を加えた計6事例の概要を表1に示す。原因ウイルスの内訳はいずれもNoV GIIであった。NoVの遺伝子型は、GII.4[P16]が3事例、GII.2[P16]が1事例、GII.4[P31]が1事例、GII.3[P12]が1事例であり、県内ではこれまで散発事例から1例のみ確認されていたGII.4[P16]が2023年1月に初めて集団事例から確認された[27]。カキの喫食に関連した事例は確認されなかった。その他の食品が原因と疑われた食中毒事例は3件(No.3, 4, 6)あり、感染者により食品が汚染されることによって発生したと考えられた。

2. 月別ウイルス性胃腸炎集団発生事例数(図1)

NoV陽性事例の発生時期は5月および1~2月であり、例年と同様に冬季に流行があったと考えられた。1年間の発生数は、過去5年間の発生数と比較すると、2017~2019年度(年9~16件)と比べて少なく、2020~2021年度(1~2件)より多かった。このことから、2020年3月以降の新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の流行に伴う行動制限の緩和により、集団胃腸炎事例の主な発生施設の1つである飲食店等の利用機会が

増加したことなどにより、NoVの流行がCOVID-19流行以前の水準に戻りつつあると推測された。

3. 散発例における遺伝子型別(表2)

2022年度に受け付けた感染性胃腸炎の小児散発例104例のうち、13例からNoVが検出された。検出されたNoVの遺伝子型は、6例がGII.4[P31]、5例がGII.4[P16]、1例がGII.2[P16]、1例がGII.4(RdRp未解析)であり、GII.4[P16]は集団事例と同様に2023年1月以降に確認された。

4. NoVの遺伝子解析

単一の遺伝子型が原因と考えられた集団発生事例のうち、複数の検体からNoVが得られた事例は5件あり、そのうちNoVの塩基配列が100%一致していた事例は4件(事例No.2, 3, 4, 6)であった。これらは同じ感染源から感染したと考えられた。事例No.1では患者のうち1名の検出株が他の患者株とカプシドN/S領域(282bp)において1塩基異なっていた。この患者が他の患者と異なる感染源から感染した可能性も否定できないが、患者の腸内でNoVがわずかに変異した可能性も考えられた。事例No.4, 6においては発生施設の従業員(順に1名, 2名)からNoVが検出されており、検出株の塩基配列はいずれも患者株と一致した。このことから、これらの従業員から食品が汚染されたか、従業員が患者と同一の感染源から感染したと考えられた。事例No.1においては、従業員1名からNoVが検出されたものの、遺伝子型は患者と異なりGII.4であったことから、この従業員は集団発生には関与していないと考えられた。

NoV GII.4株のカプシドN/S領域は、GII.4[P16]、GII.4[P31]株ともにSydney 2012亜型(標準株:Sydney/NSW0514/2012/AU, accession no. JX459908に近縁の株)[32]に分類されたことから、2022年度は2013~2021年度[18-27]に引き続きこの亜型がGII.4の流行の中心であったと推測された。

NoV GII.4[P16]は2016年に大阪市で初めて確認されたGII.4の遺伝子組み換え株であり[33]、富山県内ではこれまで大きな流行は確認されていなかった。今回の調査において2023年1月以降に集団事例、散発例ともに検出数が増加したことから、この組み換え株が新たな主流株となり、大きな流行を引き起こす可能性があるため、今後の検出状況を注視していく必要があると考えられた。

遺伝子解析により、各遺伝子型や亜型の流行状況が明らかとなった。集団発生事例では、複数の

検体で遺伝子配列が一致すれば、単一暴露と推測できると考えられる。このように、遺伝子解析は、流行状況の把握、集団発生事例の原因究明などに有効であると考えられた。

謝 辞

本調査の実施にあたり、検体採取等にご協力いただきました厚生センター、富山市保健所、感染症対策課、生活衛生課、感染症発生動向調査定点医療機関の関係各位ならびにしんたにこどもクリニックの新谷尚久先生、むらかみ小児科アレクシークリニックの村上美也子先生に深謝いたします。

文 献

1. 厚生労働省：食中毒統計資料. https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html (2022年6月28日アクセス可能)
2. 食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究班：国立予防衛生研究所 (1995).
3. Ando T, Noel JS, Fankhauser RL. (2000). *J. Infect. Dis.*, 181, S336-348
4. Vinjé J, Green J, Lewis DC, et al. (2000). *Arch. Virol.*, 145, 223-241
5. Kawamoto H, Yamazaki K, Utagawa E, et al. (2001). *J. Med. Virol.*, 64, 569-576
6. Katayama K, Sirato-Horikoshi H, Kojima S, et al. (2002). *Virology*, 299, 225-223
7. 片山和彦, 木村博一. ノーウォークウイルス (ノロウイルス) の遺伝子型 (2015年改訂版). 2015. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/id/778-disease-based/na/norovirus/idsc/iasr-news/5913-pr4274.html> (2022年5月18日アクセス可能)
8. 西尾 治, 新川奈緒美 (2002). *日本医事新報*, 4105, 6-9
9. 杉枝正明, 新川奈緒美, 大瀬戸光明, 他. (2004). *臨床とウイルス*, 32, 189-194
10. Obara M, Hasegawa, S, Iwai M, et al. (2008). *J. Clin. Microbiol.*, 46, 3397-3403
11. Glass RI, Noel J, Ando T, et al. (2000). *J. Infect. Dis.*, 181, S254-261
12. 染谷雄一 (2000). *ウイルス*, 50, 173-184
13. 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 他. (2008). *富山衛研年報*, 31, 104-110
14. 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 他. (2009). *富山衛研年報*, 32, 90-96
15. 小原真弓, 長谷川澄代, 森岡誠二, 他. (2010). *富山衛研年報*, 33, 97-102
16. 小原真弓, 森岡誠二, 小渕正次, 他. (2011). *富山衛研年報*, 34, 74-79
17. 名古屋 (小原) 真弓, 森岡誠二, 堀元栄詞, 他. (2012). *富山衛研年報*, 35, 74-79
18. 名古屋真弓, 稲崎倫子, 石田 徹, 他. (2013). *富山衛研年報*, 36, 51-57
19. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 石田 徹, 他. (2014). *富山衛研年報*, 37, 53-59
20. 稲崎倫子, 森岡誠二, 稲畑 良, 他. (2015). *富山衛研年報*, 38, 49-54
21. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 森岡誠二, 他. (2016). *富山衛研年報*, 39, 47-52
22. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 森岡誠二, 他. (2017). *富山衛研年報*, 40, 49-54
23. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 森岡誠二, 他. (2018). *富山衛研年報*, 41, 27-31
24. 稲崎倫子, 森岡誠二, 嵩田嵩久, 他. (2019). *富山衛研年報*, 42, 33-38
25. 稲崎倫子, 頼成明奈, 嵩田嵩久, 他. (2020). *富山衛研年報*, 43, 37-42
26. 稲崎倫子, 頼成明奈, 五十嵐笑子, 他. (2021). *富山衛研年報*, 44, 83-86
27. 稲崎倫子, 頼成明奈, 五十嵐笑子, 他. (2022). *富山衛研年報*, 45, 49-55
28. 木村博一, 片山和彦, 大森亮介, 他. 病原体検出マニュアル ノロウイルス (第1版). <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Norovirus20190611.pdf> (2022年5月18日アクセス可能)
29. Nakamura K, Iwai M, Jie Zhang, et al. (2009). *Jpn J Infect Dis* 62(5): 394-398
30. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長 (2003) 食安監初 115001 号.
31. Chhabra P, de Graaf M, Parra GI, et al. (2019). *J Gen Virol.*, 100, 1393-1406
32. van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, et al. (2013). *Euro Surveill.*, 18(1), 8-9
33. 入谷展弘, 上林大起, 改田 厚, 他. (2016). *IASR*, 37, 136-138

表 1. 2022 年度に受け付けたウイルス性胃腸炎集団発生事例

事例No.	発生月	発生／原因施設	患者数	推定原因ウイルス	推定感染源	
1	2022年 5月	ホテル宴会場	27	NoV GII.2[P16]	不明	**
2	2022年 5月	飲食店	県外 不明	NoV GII.4[P31]	不明	
3	2023年 1月	ホテル	県外 15	NoV GII.4[P16]	食品	
4	2023年 1月	飲食店	11	NoV GII.4[P16]	食品	
5	2023年 1月	ケアハウス	13	NoV GII.4[P16]	不明	*
6	2023年 2月	飲食店(仕出し弁当)	13	NoV GII.3[P12]	食品	**

* 富山市保健所にて検査

** 当所及び富山市保健所にて検査

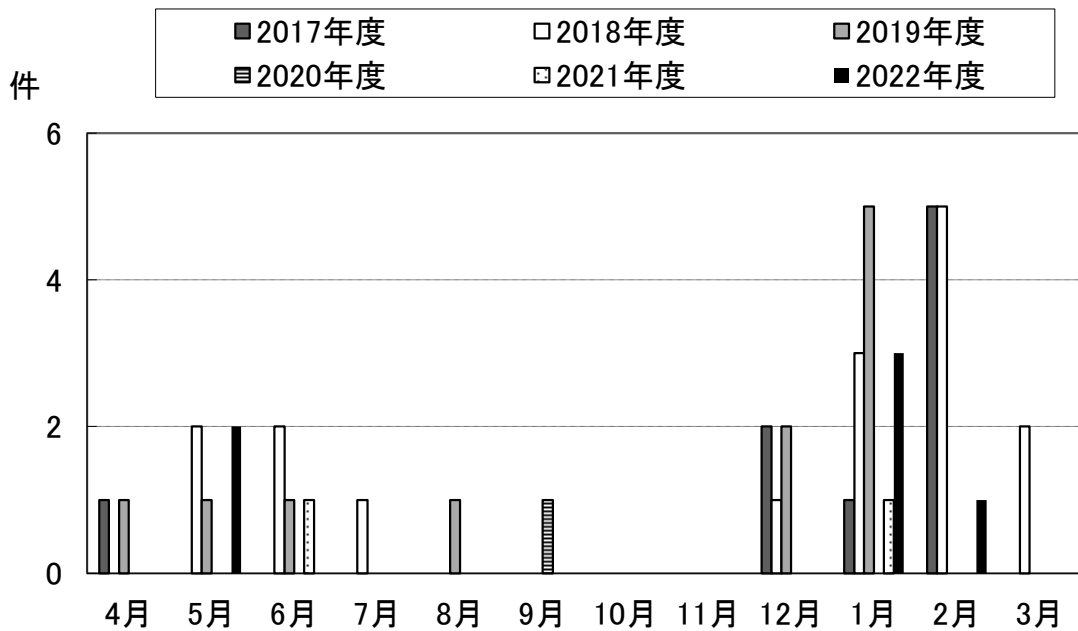


図 1. 年度ごとの月別ウイルス性胃腸炎集団発生事例数

表 2. 2015-2022 年度に県内で採取された NoV の dual typing 法による遺伝子型別検出状況

遺伝子群		Genogroup I						Genogroup II							
遺伝子型	カプシドN/S領域	GI.2	GI.3		GI.4	GI.6	GI.7	GII.2	GII.3	GII.4 Sydney 2012			GII.6	GII.9	GII.17
	RdRp領域	GI.P2	GI.P3	GI.P13	GI.P4	GI.P11	GI.P7	GII.P16	GII.P12	GII.P12	GII.P16	GII.P31	GII.P7	GII.P7	GII.P17
発生 年度	2015年度	1				1				1		14			8
	2016年度		1			1		8	3			3	2		2
	2017年度	1								1		13			4
	2018年度	1	1	1			2	8			1	14	2	1	1
	2019年度							12	4			2	1		
	2020年度											1			
	2021年度							3				3			
	2022年度							2	1		8	7			
計		3	2	1	1	1	2	33	9	1	9	57	5	1	15

(数値：集団発生事例数と小児散発例症例数の合計)