

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例について (2021年度)

稲崎 倫子 頼成 明奈¹ 五十嵐笑子 矢澤 俊輔
佐賀由美子 板持 雅恵 長谷川澄代 谷 英樹

Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2021

Noriko INASAKI, Akina RAIJOU, Emiko IGARASHI, Shunsuke YAZAWA,
Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI, Sumiyo HASEGAWA, 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元に行われてきた。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 $10^3 \sim 10^6$ 個、糞便には 10^9 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 [13-26]、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

2021 年 4 月～2022 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

2021 年 4 月～2022 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) が実施した。

3. ウイルスの検出

病原体検出マニュアル [27] 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、Kimura ら [28] の nested PCR 法により RdRp 領域の一部から VP1

1. 富山市保健所

表 1. NoV のPCR 法およびシーケンスに用いたプライマー

プライマー	塩基配列 (5'→3')	Polarity	Position		出典
			GI (M87661)	GII (X86557)	
1421f	ATACCACTATGATGCAGAYTA	+	4554-4572	4281-4299	[28]
NV2oR	GTRAACGCRTTYCCMGC	-		5428-5412	[28]
G1-SKR	CCAACCCARCCATTRTACA	-	5671-5653		[27]
1364f	YTCYTTCTATGGYGATGATGA	+	4858-4878	4585-4605	[28]
G2-SKR	CCRCCNGCATRHCCRTTTRACAT	-		5389-5367	[27]
COG1F	CGYTGGATGCGNTTYCATGA	+	5291-5310		[27]
COG1R	CTTAGACGCCATCATCATTYAC	-	5375-5354		[27]
G2-SKF	CNTGGGAGGGCGATCGCAA	+		5046-5067	[27]
RIGHT184	ATTCGACGCCATCTTCATTC	-		5103-5083	

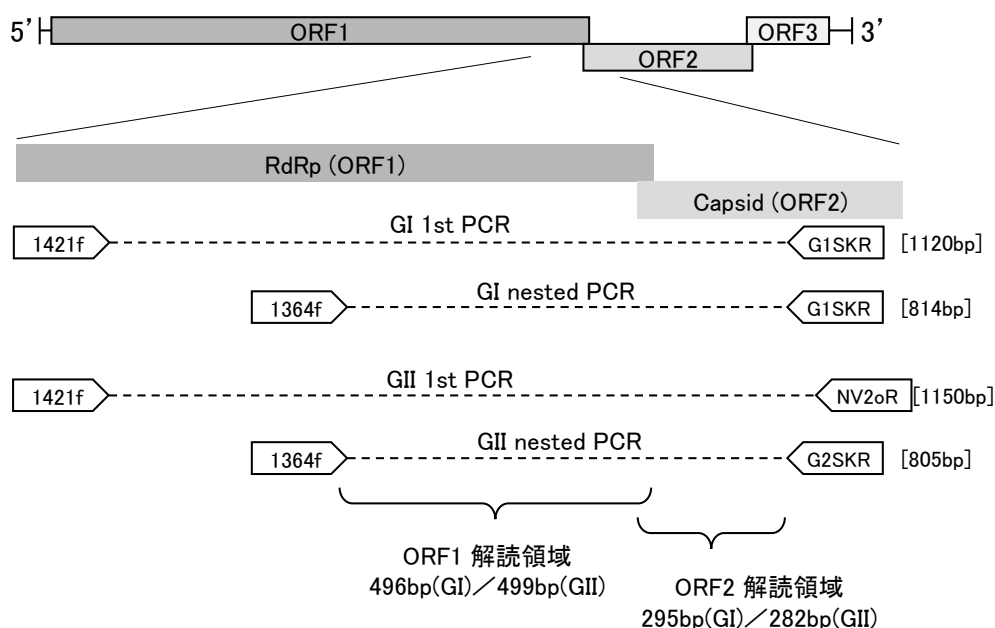


図 1. NoV のnested PCR 法に用いたプライマーの位置

表 2. 2021 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.	発生日	発生/原因施設	患者数	推定原因ウイルス	推定感染源
1	2021年 6月	保育所	12	NoV GII.2[P16]	ヒト-ヒト
2	2022年 1月	飲食店(仕出し弁当)	10	NoV GII.2[P16]	不明

表 3. 2015-2021 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
発生 年度	2015年度	1			1	1		8	3			14	3	2
	2016年度		1							1		13		
	2017年度	1										2		
	2018年度	1	1	1			2	8			1	14	2	1
	2019年度							12	4			2	1	
	2020年度											1		
	2021年度							3				3		
計		3	2	1	1	1	2	31	8	1	1	50	5	1

(数値：集団発生事例数と小児散発例症例数の合計)

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（図 1）。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（表 1）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。加えて、2015～2020 年度に県内で採取された NoV 陽性検体についても、同様に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 dual typing 法により行った。遺伝子型番号は、Norovirus Genotyping Tool の分類 [29] に従い、VP1 領域タイプ [RdRp 領域タイプ] の形式で表記した。また、RdRp 領域およびカプシド N/S 領域の塩基配列について、近隣結合法による系統樹解析を行った。

結果および考察：

1. 集団発生事例の概要

2021 年度に当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生 9 事例のうち、2 事例からウイルスが検出された（表 2）。富山市保健所においては、ウイルス陽性事例は確認されなかった。2 事例の検出ウイルスは NoV GII であり、遺伝子型はいずれも GII.2[P16] であった。事例 No.1 は感染者の吐物や糞便で汚染された手指等を介してウイルスが伝播した可能性が考えられた。仕出し弁当店の利用者内で発生した事例 No.2 については調理従事者 1

名からも患者と同一遺伝子型のウイルスが検出されたものの、食中毒とは断定されず、感染経路は不明であった。

2. 月別発生事例数（図 2）

NoV 陽性事例の発生時期は 6 月および 1 月であり、事例数が少ないため流行時期については不明であった。1 年間の発生数は、過去 5 年間の発生数と比較すると、2016～2019 年度（年 9～16 件）と比べて大幅に少なく、2020 年度（1 件）と同程度であった。このことから、2020 年 3 月以降の COVID-19 県内流行に伴う県民の感染症対策への意識の向上や、集団胃腸炎発生事例の主な発生施設の 1 つである飲食店の利用機会の減少などの要因による NoV の集団発生事例数の減少傾向が継続していると考えられた。

3. 散発例からの遺伝子型別

2021 年度に受け付けた感染性胃腸炎の小児散発例 15 例のうち、4 例から NoV が検出された。なお、その他の検出ウイルスの詳細については別途示す [30]。検出された NoV の遺伝子型は、4 月に採取された 1 例は GII.2[P16]、1 月および 3 月に採取された 3 例は GII.4[P31] であった。

4. NoV の遺伝子解析（図 3,4）

集団事例 2 例においては、いずれも複数の患者から NoV が検出されており、NoV の塩基配列は事例内で 100% 一致していたことから、2 事例ともに患者は同じ感染源から感染したと考えられた。事例 No. 2 においては発生施設の従業員から NoV が検出されており、検出株の塩基配列は、カプシ

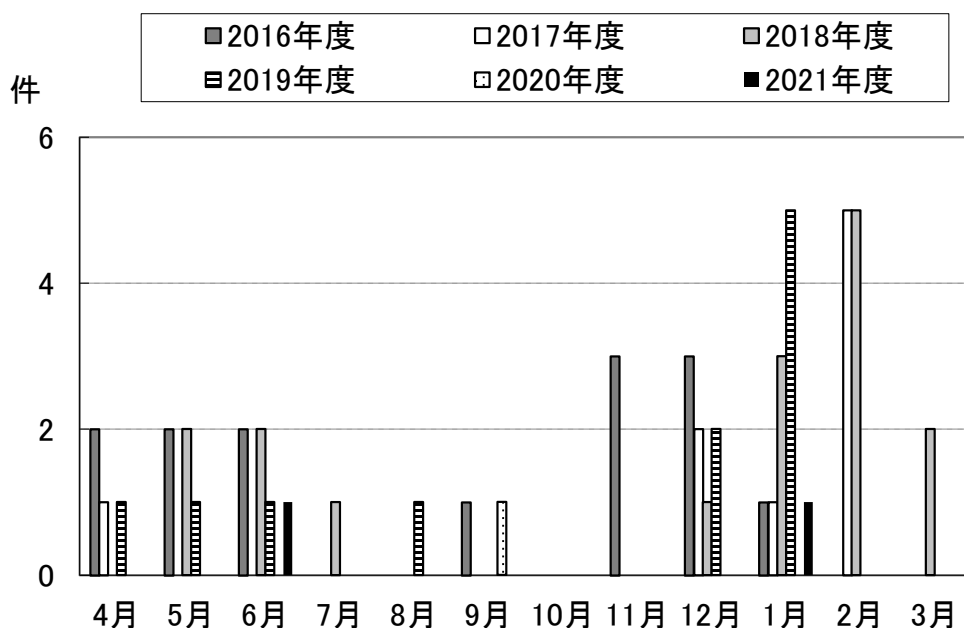


図 2. 年度ごとの月別事例発生数

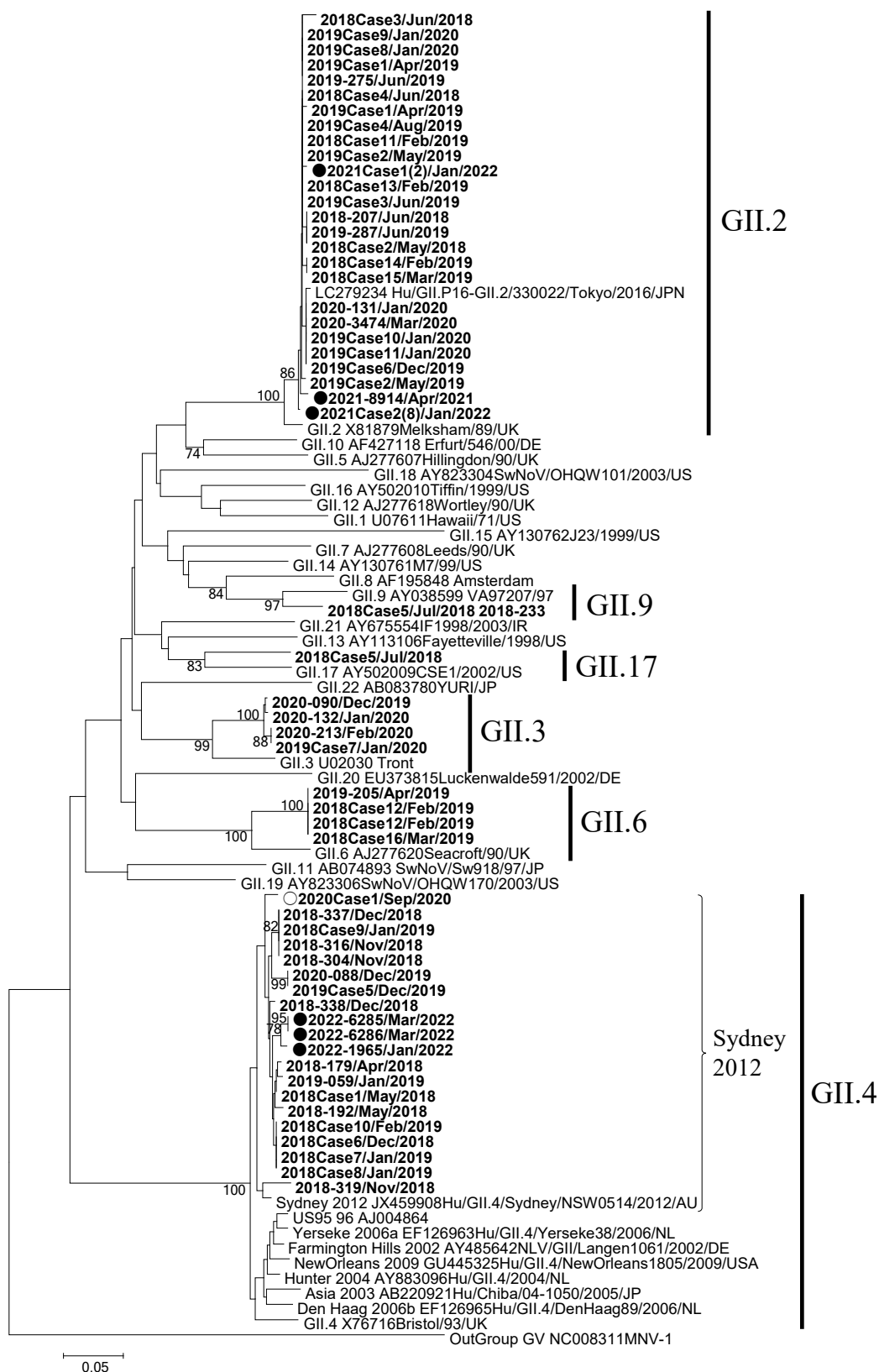


図 3. 2021 年度に得られたノロウイルス GII のカプシド N/S 領域 (282 塩基) における系統樹

分岐上の数値は、ブートストラップ値 (1000 回試行) の 70% 以上の値を示す。太字のうち●は 2021 年度検体を、○は 2020 年度検体を、その他は 2018-2019 年度検体を示す。集団発生事例の検体は「年度 - 事例番号 (2021 年度検体は検体数) / 発生月 / 年」、散发例の検体は「検体番号 / 発生月 / 年」で示す。参照株については「遺伝子型 accession no. 株名」で示す。GII.4 亜型の参照株については「亜型名 accession no. 株名」で示す。

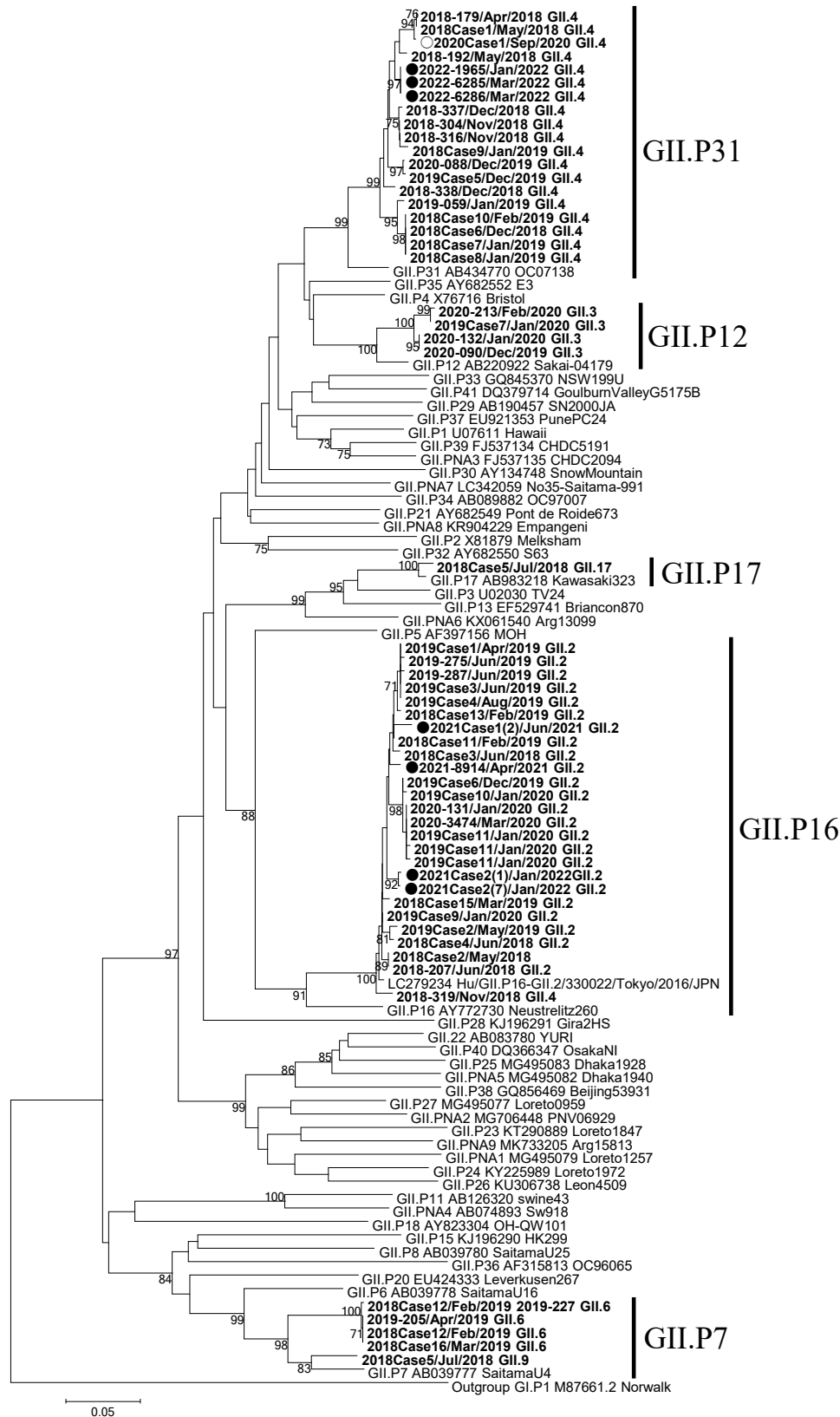


図 4. 2021 年度に得られたノロウイルス GII の RdRp 領域 (499 塩基) における系統樹

分岐上の数値は、ブートストラップ値 (1000 回試行) の 70% 以上の値を示す。太字のうち●は 2021 年度検体を、○は 2020 年度検体を、その他は 2018-2019 年度検体を示す。集団発生事例の検体は「年度 - 事例番号 (2021 年度検体は検体数) / 発生月 / 年 カプシド N/S 領域の遺伝子型」、散发例の検体は「検体番号 / 発生月 / 年 カプシド N/S 領域の遺伝子型」で示す。参照株については「遺伝子型 accession no. 株名」で示す。GII.4 亜型の参照株については「亜型名 accession no. 株名」で示す。

ド N/S 領域 (282bp) は患者株と一致したものの、RdRp 領域 (499bp) において1塩基異なっていた。このことから、従業員が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、従業員が事例の感染源であったか同一感染源から感染しており、腸内でNoV がわずかに変異した可能性も考えられた。

GII.2[P16] 株の塩基配列は、RdRp 領域、カプシド N/S 領域ともに2016/17 年冬季に国内外で流行したGII.2 変異株 (参考株: Hu/GII.2-P16-GII.2/330022/Tokyo/2016/JPN, accession no. LC279234) [31] と近縁であった。GII.4[P31] 株のカプシド N/S 領域は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、2021 年度は2013 ~ 2020 年度 [18-26] 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。

2015 ~ 2020 年度に採取された胃腸炎集団事例および小児散発例から得られたNoV 陽性検体について dual typing 法による遺伝子型分類を行ったところ、NoV GI は6種類、NoV GII は8種類の遺伝子型が確認された (表3)。このうちカプシド N/S 領域の遺伝子型がGI.3 およびGII.4 Sydney 2012 の株についてはRdRp 領域の遺伝子型が複数確認され、これはウイルス間での遺伝子組み換えによるものと考えられた。2021 年度に確認された遺伝子型 GII.2[P16] およびGII.4[P31] は、いずれも2015 ~ 2020 年度の流行遺伝子型であり、新たな遺伝子組み換え株の流行は確認されなかった。

2021 年度に採取されたGII 株について、2018 ~ 2020 年度の県内株と共に系統樹解析を行った。その結果、2022 年1月および3月に小児散発例3症例から検出されたGII.4[P31] 株は、カプシド N/S 領域およびRdRp 領域ともに独立したクラスターを形成していたことから、この期間には小児の間でこのクラスターに属する株が流行していた可能性が考えられた。これに対して、集団事例および散発例から検出されたGII.2[P16] 株はそれぞれ異なるクラスターに分類されたことから、これらの事例の間に関連は認められなかった。

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、健康対策室、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_iryou/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, 寫田嵩久, 他. (2019). 富山衛研年報, 42, 33-38
 25. 稲崎倫子, 頼成明奈, 寫田嵩久, 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. 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)
 28. Nakamura K, Iwai M, Jie Zhang, et al. (2009). Jpn J Infect Dis 62 (5) : 394-398
 29. Chhabra P, de Graaf M, Parra GI, et al. (2019). J Gen Virol, 100, 1393-1406
 30. 板持雅恵, 稲崎倫子, 五十嵐笑子, 他. (2022). 富山衛研年報, 45, 46-48
 31. Somura Y, Mizukoshi F, Nagasawa K, et al. (2018). Jpn J Infect Dis., 71 (2) , 172-173
 32. van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, et al. (2013). Euro Surveill., 18 (1) , 8-9