

原著

過去3シーズンに検出されたノロウイルスの遺伝子型について

江藤良樹（現病理細菌課），世良暢之，石橋哲也，千々和勝己（ウイルス課）

福岡県内でのノロウイルスの各遺伝子型の流行状況を把握するために，我々は2004年10月から2007年3月までに検出されたノロウイルスの遺伝型を決定した．491件の検体は感染症発生動向調査，食中毒（疑いを含む）事例，高齢者福祉施設での感染症事例から採取した．その結果，genogroup I では4種類の合計17件，genogroup II では7種類の合計145件の遺伝子型が決定された．genogroup II genotype 4 (GII/4)は遺伝子型別が可能であったノロウイルスの162件中124件(76.5%)を占め，ノロウイルスによる集団発生事例では30事例中21事例(70.0%)から検出された．また，GII/4は2004/2005年シーズンと2006/2007年シーズンの主な遺伝子型であり，同時期に散发事例と集団発生事例から検出された塩基配列は非常に近縁であった．これらのことから，感染症として地域流行していた GI/4と集団発生事例の関連性が示唆された．

〔キーワード：ノロウイルス，GII/4，感染症発生動向調査，食中毒，高齢者福祉施設〕

1 はじめに

ノロウイルスは，冬季における感染性胃腸炎の主な原因とされる病原体である（図1）．嘔吐，下痢，微熱を主症状とし，毎年，流行を繰り返している．

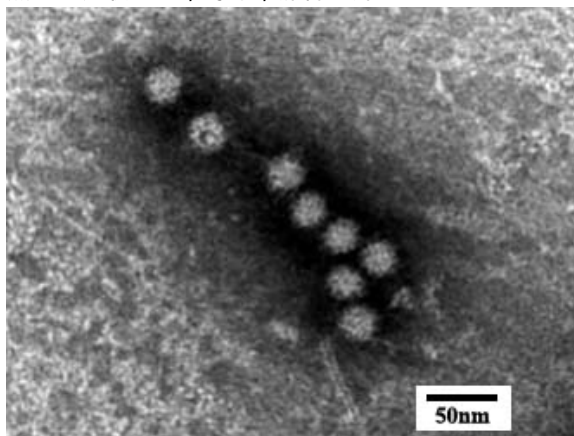


図1 ノロウイルスの電子顕微鏡写真

透過型電子顕微鏡（80KV，4万倍）で撮影した．

主な感染経路は糞口感染であるが，吐物を介した感染事例も報告されている^{1,2)}．また，ノロウイルスに感染した調理従事者が食品を汚染することで，食中毒の原因となることも知られている．ノロウイルスによる食中毒は事例当たりの患者数が多い傾向があり，本邦では2003年11月に修学旅行先で訪れたレストランが原因と推定された食中毒事例が発生し，790名が発症するという大規模な事例も報告されている³⁾．また，2005年1月上旬には，全国の高齢者福祉施設で，

ノロウイルスが原因と考えられる感染性胃腸炎の集団発生が多発し，その中で吐物の誤嚥による数例の死亡例があり，各メディアで大々的に報道された．この事例を境に社会的に注目されるようになり，ノロウイルスに対する感染予防や食中毒防止の取り組みが盛んに行われるようになった．

ノロウイルスは，Genogroup I (GI)，Genogroup II (GII)の二つの遺伝子グループに分かれ，さらに，GIには14種の，GIIには17種の遺伝子型(genotype)があることが知られている．我々は福岡県内でのノロウイルスの各遺伝子型の流行状況を把握し，感染予防や食中毒防止の基礎資料とするために，2004年から2007年までの3シーズンの感染症発生動向調査，食中毒事例（疑いを含む），高齢者福祉施設事例などから検出されたノロウイルスの遺伝子解析を行った．

2 方法

2・1 検査材料

検査期間は2004年10月から2007年3月までとし，491件を検査の対象とした．内訳は，散发事例として感染症発生動向調査で感染性胃腸炎と診断された患者より採取された糞便140件と吐物1件，また，集団発生として，食中毒（疑いを含む）事例，及び，感染症の集団発生事例の患者，喫食者，従事者から採取された糞便344件と吐物6件である．

2・2 検査方法

検査材料からのノロウイルス遺伝子の検出，及び，電子顕微鏡の撮影は，ウイルス性下痢症検査マニユ

アル（国立感染症研究所，第3版，平成9年11月）に準拠して行った．検査の概略を示すと，検体から PBS を用いて10%乳剤を作成し，RNA 抽出（Viral RNA mini kit，QIAGEN）を行った．抽出した RNA の DNase 処理を行った後，RTSuper Script III（Invitrogen）を用いて逆転写反応を行った．得られた cDNA から，GI には G1SKF，G1SKR のプライマーを，GII には G2SKF，G2SKR のプライマーを用い，PCR でノロウイルスのキャプシッド領域の N 端部分の遺伝子を増幅した．電気泳動で PCR 産物を確認した後に，ABI PRISM 377 DNA Sequencer を用いてダイレクトシーケンスを行った．得られた塩基配列より片山らの方法⁴⁾に従い遺伝子型の決定を行った．決定された塩基配列は比較する領域と長さを揃えた後に，既知の GI の14種，GII の17種の各遺伝子型のリファレンス株の塩基配列と共に ClustalW にて系統樹の作成を行い，属した枝の遺伝子型を検出されたノロウイルスの遺伝子型とした．また，遺伝子型番号については Green⁵⁾に従った．さらに，本文中では遺伝子型は，例えば genogroup I genotype6 の場合，GI/6のように略して表記をすることとする．また，GII/4は the Foodborne viruses in Europe network（FBVE Network）の quicktypingRegion C 280b（<https://hypocrates.rivm.nl/bnwww/Divine-Event/index.html>）を用いて型別を行った．

3 結果及び考察

感染症発生動向調査で採取された散発事例の141件の検体からノロウイルス GI が45件，GII が4件の計49件が検出された．このうち，塩基配列の決定が行えた45件の遺伝子型は，GII/4 39件（86.7%），GI/3 3件（6.7%），GII/3 2件（4.4%），GII/6 1件（2.2%）であった．また，採取日または発病日が明らかな検体に

対して，これらの遺伝子型の月毎の推移をまとめたところ，図2のような結果が得られた．過去3シーズンで最も多く検出された遺伝子型は GI/4であり，2004/2005年シーズンと，2006/2007年シーズンに多く検出された．

ノロウイルスが原因と疑われた食中毒（疑いを含む）事例，及び，高齢者福祉施設などの感染症事例は，2004/2005年シーズンに15事例，2005/2006年シーズンに5事例，2006/2007年シーズンに17事例を対象に調査を行った．採取された検体350件（37事例）からは，ノロウイルス GI 108件，GII 15件の計123件が検出された．このうち，塩基配列が決定されたのは117件で，遺伝子型別では，GII/4 85件（72.6%），GII/2 9件（7.7%），GI/8 8件（6.8%），GII/5 4件（3.4%），GI/3 3件（2.6%），GII/6 2件（1.7%），GI/1 2件（1.7%），GII/7 2件（1.7%），GI/4 1件（0.8%），GII/12 1件（0.8%）であった．ノロウイルスの検査を実施した37事例中30事例よりウイルスが検出された（表1）．過去の3シーズンでのノロウイルスによる集団発生事例の21事例（70.0%）が，GII/4によるものであることが明らかとなった．

散発事例と集団発生事例の両方をあわせると，491検体のうち，172検体（35.0%）からノロウイルスが検出され，遺伝子型別ができたのは162件であった．GII/4は162件中124件（76.5%）を占め，次いで GI/2 9件（5.6%），GI/8 8件（4.9%），GI/3 6件（3.7%），GII/5 4件（2.5%），GII/6 3件（1.9%），GII/3 2件（1.2%），GI/1 2件（1.2%），GII/7 2件（1.2%），GI/4 1件（0.6%），GII/12 1件（0.6%）であった．

過去3シーズンに検出された代表的な GI/4を系統樹解析したところ，4つのクラスターに分かれた（図3）．さらに，FBVE Network の quicktyping Region C 280b

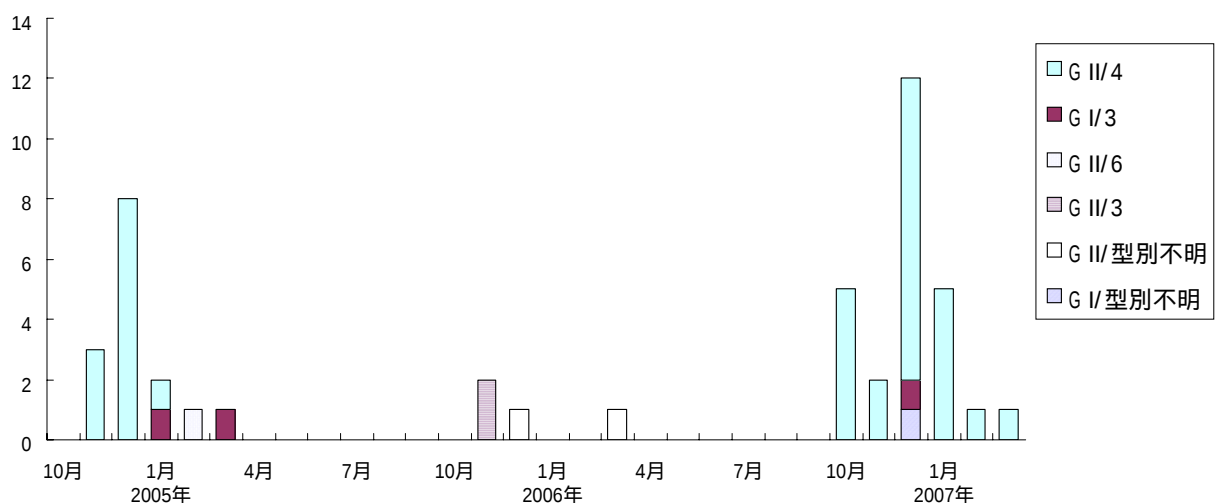


図2 福岡県における感染性胃腸炎の散発事例で検出されたノロウイルスの遺伝子型の推移

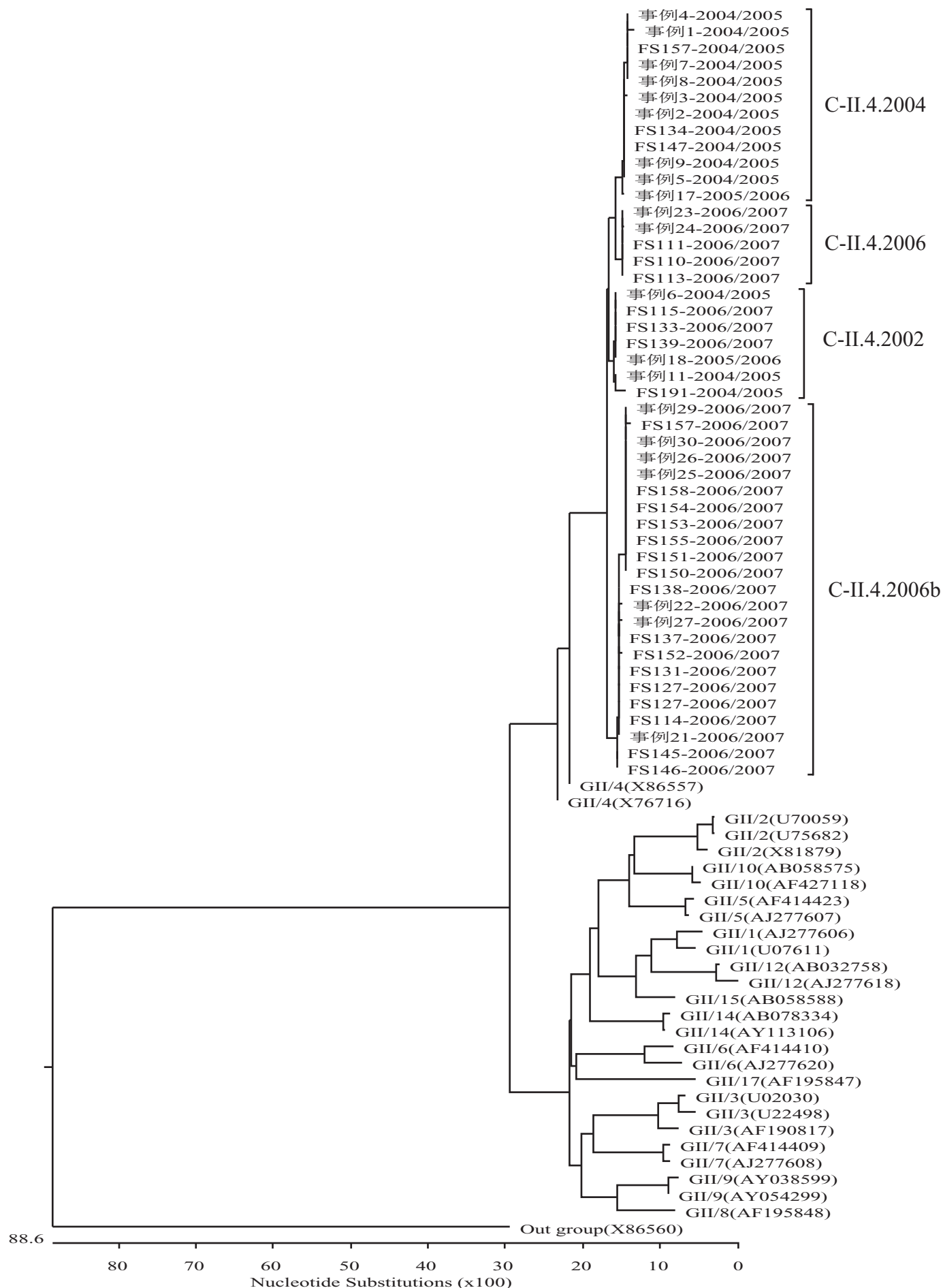


図3 福岡県における感染性胃腸炎の散発事例、及び、集団発生事例で検出されたノロウイルスのGII/4型の系統樹

散発事例の塩基配列は「FS」で始まるように、集団発生の代表する塩基配列には「事例」で始まるように命名した。集団発生の概要は表1を参照のこと。ハイフン（-）以降には検出されたシーズンを表記した。また、参照配列は括弧内にAccession numberを示した。また、各クラスターの名称は、FEVE Networkのquicktyping Region C 280bの型別による。

表1 福岡県における過去3シーズンのノロウイルスによる集団発生事例と遺伝子型

事 例	年 月	発生施設	患者数	検体数	推定原因	遺伝子型
1	2004年 12月	結婚式場	47	29	子供の吐物	GII/4
2	12月	飲食店	30	14	不明	GII/4
3	2005年 1月	飲食店	3	7	不明	GII/4
4	1月	高齢者福祉施設	33	10	施設内感染	GII/4
5	1月	高齢者福祉施設	10	4	施設内感染	GII/4
6	1月	高齢者福祉施設	10	4	施設内感染	GII/4
7	1月	高齢者福祉施設	15	6	施設内感染	GII/4
8	1月	高齢者福祉施設	44	3	施設内感染	GII/4
9	1月	高齢者福祉施設	30	6	施設内感染	GII/4
10	1月	飲食店	16	3	食事*	GI/3
11	1月	不明(修学旅行)	9	1	不明	GII/4
12	1月	飲食店	7	12	食事*	GI/1、GII/6、GII/12、GII/4
13	2月	飲食店	4	8	食事*	GI/4
14	2月	飲食店	3	4	食事*	GI/3、(GII/5)**
15	3月	飲食店	9	1	不明	GII/6
16	11月	飲食店	7	3	感染症疑い	GII/7
17	11月	飲食店	16	23	不明	GII/4
18	2006年 1月	飲食店	23	7	食事	GII/4
19	2月	飲食店	127	18	食事	GI/8
20	2月	宿泊施設	31	12	感染症疑い	GII/5
21	10月	障害者福祉施設	28	23	感染症疑い	GII/4
22	10月	飲食店	4	3	不明	GII/4
23	11月	飲食店	8	15	不明	GII/4
24	11月	宿泊施設	不明	3	不明	GII/4
25	11月	飲食店	15	3	仕出し弁当	GII/4
26	12月	高齢者福祉施設	35	17	食事	GII/4
27	2007年 1月	病院	29	15	院内感染	GII/4
28	1月	飲食店	4	24	食事	GII/2、(GII/4)**
29	1月	結婚式場	147	8	子供の吐物	GII/4
30	3月	病院	9	13	不明	GII/4

* カキの喫食歴があった事例

** ()内は事例とは関連性が無いと判断された遺伝子型

で代表株を型別したところ、それぞれ、C-II. 4. 2004, C-II. 4. 2006, C-II. 4. 2002, C-II. 4. 2006b に分類された。C-II. 4. 2004は、2004年にオーストラリア、EU 諸国、米国等で大きく流行した系統であり⁶⁾、また、C-II. 4. 2006b は、C-II. 4. 2006a と共に2005/2006シーズンにEU 諸国で出現し、2006年の夏に EU 諸国で主な流行株となった⁷⁾。今回、福岡県で検出された GII/4の系統樹解析により、2004/2005シーズンの流行株は C-II. 4. 2004系統であることと、2006/2007シーズンの流行株が C-II. 4. 2006b 系統であることが明らかとなった。

2004/2005年シーズンは、感染症発生動向調査の結果から、2004年11月頃より GII/4型による感染性胃腸炎が流行していたことが明らかとなった。また、2005年1月には、高齢者福祉施設感染症事例の6事例(表1, 事例4-9)で GII/4が検出された。同一事例での塩基配列は100%一致しており、また、それぞれの事例間で

塩基配列を比較したところ、95.6%以上の相同性が確認された。さらに、高齢者福祉施設感染症事例より検出された GII/4と、同時期の感染症発生動向調査で検出された GII/4の塩基配列を比較すると、100%一致するものがあったことから、2ヶ月ほど前から地域流行していたノロウイルスが施設の職員や訪問者を介して施設に持ち込まれた事が集団発生の引き金となったと推測された。一方、2004/2005年シーズンには食中毒疑いの事例でも GII/4が検出される事例が多数あった。これらの事例において検出された GII/4も、感染症発生動向調査で検出された GII/4と塩基配列が100%一致していたものがあったことから、高齢者福祉施設の事例と同じく、地域流行していたノロウイルスが原因であると考えられる。このシーズンにはノロウイルスに感染した調理従事者が食品を汚染したことが原因であると断定された事例はなく、飲食店内等での吐物や糞

便を介した感染症であったと推測される事例が主であった。また、カキの喫食歴がある4事例（表1, 事例10, 12, 13, 14）の全てでGIの遺伝子型が検出され、表1の事例12では複数の遺伝子型が複数の患者から同時に検出された。これらはカキの喫食歴のある食中毒事例に特徴的なパターンであると考えられる。

2005/2006年シーズンでは、ノロウイルスによる散发事例及び集団発生事例は少なく、前シーズンに大きな流行を引き起こしたGII/4は、食中毒の2事例（表1, 事例17, 18）から検出されたのみであった。散发事例では、2005年11月にGII/3型が2件確認され、集団発生事例では、GII/4, GII/5, GII/7, GI/8が検出された。散发例と集団発生事例の両方で検出された遺伝子型は無く、これらの間に関連性は見られなかった。2006/2007年シーズンになると、再びGII/4型が多く検出された。2006年10月にGII/4が検出され始め、12月に最も多く検出された。また、集団発生事例ではGII/4が全ての事例で検出された。ただし、1事例（表1, 事例28）では、有症者1人、喫食者2人、調理従事者6人からGII/2が検出され、GII/2に感染した調理従事者による食品汚染が原因であると推測されたが、有症者の1人からはGII/4のみが検出された。これは、食中毒の原因と断定されたGII/2とは遺伝子型が異なることから、GII/4は集団発生とは無関係であると考えられた。また、このシーズンも、2004/2005年シーズンと同様に、GII/4が集団発生と散发例の両方で検出された。散发例と集団発生事例で検出されたGII/4の塩基配列間に高い相同性があるものが多数見られることから（図3）、感染症として地域流行していたGII/4の株が多くの集団感染事例を引き起こしたと考えることができる。

過去3シーズンのGII/4が検出された食中毒（疑いを含む）事例では、原因不明であったものが大半であった。また、これらの事例の中には糞便や吐物を介したヒト-ヒト感染が疑われる事例が数例あった。このヒト-ヒト感染が、飲食店等での食中毒の原因究明において大きな問題となる。ノロウイルスによる感染症事例が多発している時期には、食品を直接の原因としない集団発生が起きる可能性が高く、飲食店等の施設で起こったヒト-ヒト感染を食中毒として誤認識してしまう恐れがある。このことから、疫学調査による感染経路の究明が、食中毒と感染症の鑑別に重要となる。特に、感染症の可能性を十分に考慮し、初期の疫学調査から食品以外の感染源（吐物、以前から症状があった者の有無など）を確実に調査しておく必要があると考えられる。

4 まとめ

散发事例及び集団発生事例で検出されたノロウイルスの塩基配列を決定することで、多くの情報を得られた。特に、2004/2005年シーズンと2006/2007年シーズンで検出されたGII/4型は、それぞれのシーズンに流行していた散发事例と集団発生事例の塩基配列が非常に近縁であり、散发事例と集団発生事例は同一の株もしくは非常に近縁な株によって引き起こされたものだったと推測された。また、これらの株は、同時期に世界中で流行した株と同じ系統であったことが明らかとなった。

今回の調査より、冬季の初めに散发事例でGII/4型が検出された年には集団発生が多く発生する恐れがあることから、手洗い等による感染予防を行うように一層の啓発活動を行う必要があると考えられる。特に、集団感染対策上重要である調理従事者、高齢者福祉施設、病院、学校への情報提供を行い注意を促すことで、未然に食中毒や集団感染を予防することができるであろう。このことから、感染症発生動向調査で検出されたノロウイルスの遺伝子型を継続的に監視することは、公衆衛生上、大きく貢献できるものと思われる。

文献

- 1) Sawyer LA et al. : Am J Epidemiol, 127, 1261-71, 1988.
- 2) Marks PJ et al. : Epidemiol Infect, 124, 481-487, 2000.
- 3) 飯田國洋ら：病原体検出情報, 25(8), 209-210, 2004.
- 4) Katayama K et al. : Virology, 299(2), 225-239, 2002.
- 5) Green KY, Chanock RM, Kapikan AZ : Human calicivirus. 1n : Fields virology. Volume 1. 4th ed. (Knipe DM, Howley PM ed.), 3087 p. (pp841-874); Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins Pub., 2001.
- 6) Kroneman et al. : High number of norovirus outbreaks associated with a GGII. 4 variant in the Netherlands and elsewhere. Eurosurveillance Weekly, 8(52), 2004
<http://www.eurosurveillance.org/ew/2006/061214.asp#1>
- 7) Kroneman et al. : Increase in norovirus activity reported in Europe. Eurosurveillance Weekly, 11(12), 2006
<http://www.eurosurveillance.org/ew/2006/061214.asp#1>

(英文要旨)

The genotype of norovirus detected at these three seasons

Yoshiki ETOH, Nobuyuki SERA, Tetsuya ISHIBASHI and Katsumi CHIJIWA

*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,
Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan*

To obtain information about the epidemics involving norovirus of each genotype in Fukuoka prefecture, we determined the genotype of noroviruses detected between October 2004 and March 2007. There were 491 samples collected during infectious disease surveillance, and from outbreaks in nursing homes and hospitals and food borne diseases. As a result, we determined four different genotypes in genogroup I from 17 samples, and 11 different genotypes in genogroup II from 145 samples. Genogroup II genotype 4 (GII/4) were dominant, 123 of 162 (76%) samples that could be typed, and were detected in 21 of 30 cases (70.0%) of outbreaks caused by norovirus. Most genotype of GII/4 were detected at 2004/2005 and 2006/2007. In addition, the sequences of GII/4 detected from sporadic cases and outbreaks during the same season were very similar. In conclusion, it was suggested that there was some relationship between sporadic cases and outbreaks caused by genotype GII/4.

[Key words; Norovirus, GII/4, Infectious Disease Surveillance, nursing home, Food Poisoning]