

資料

福岡県におけるA群ロタウイルスの遺伝子型別結果

石橋哲也・吉富秀亮・前田詠里子・田上四郎・世良暢之・千々和勝己

平成22年度、23年度に感染症発生动向調査事業で搬入された感染性胃腸炎検体87検体および県内の6地域の医療機関で採取された便検体とA群ロタウイルス抗原検出簡易キット（以下：簡易キット）を合わせた92検体からA群ロタウイルスの遺伝子型別を行った。A群ロタウイルス遺伝子は、感染症発生动向調査で搬入された検体から15件が検出され、県内の6地域の医療機関で採取された検体からは89件検出された。遺伝子型別の結果、G1P[8]型、G2P[4]型、G9P[8]型、G3P[8]型が主な流行遺伝子型であった。

[キーワード：感染性胃腸炎、A群ロタウイルス、遺伝子型別]

1 はじめに

感染性胃腸炎の原因ウイルスには、ノロウイルス、ロタウイルス、アデノウイルス、パレコウイルスなど様々なウイルスが知られている。しかし、県内における感染症発生动向調査事業において感染性胃腸炎と診断された検体の原因ウイルス検出率は5割程度であり、そのほとんどがノロウイルスであるために、ノロウイルス以外の胃腸炎原因ウイルスについて詳細な遺伝子解析の調査はほとんど行われてこなかった。そこで、県内におけるA群ロタウイルスの流行形態を明らかにすることを目的に、A群ロタウイルスの遺伝子型別を行った。

2 方法

検査材料は、平成22年度、23年度に感染症発生动向調査事業で感染性胃腸炎と診断され搬入された便検体それぞれ87検体（22年度：33検体、23年度：54検体）、および平成23年3月-5月に県内6医療機関より搬入された便検体及び簡易キット計92検体を用いた。便検体は、PBSで約10%乳剤とした後、10,000rpm、20分遠心分離した上清を検査材料とした。簡易キットは、陽性バンドを切り取ったメンブランを検査材料とした。検査材料を用いて、抽出キット（QIAGEN, QIAamp Viral RNA Mini Kit）によりRNA抽出を行った。得られたRNAをもとに逆転写反応を行いcDNAを作成した。PCR反応に用いるプライマーセットは表1に示す<sup>1)</sup>。PCR反応後、電気泳動によりバンドの有無を確認し、目的のバンドが得られたPCR産物についてダイレクトシーケンセスを行い、得られた塩基配列を用いてClustalW解析を行い、近隣接合法（NJ法）を用いてレファレンス（例：

EU024633）と比較して系統樹解析を行った。Bootstrap回数は1000回とした。

表1 プライマーセット

A群ロタウイルス VP7(G)遺伝子型別プライマー			
	プライマー	5'-3' 塩基配列	サイズ (塩基)
1st PCR	VP7-F	ATGTATGGTATTGAATATACCAC	884
	VP7-R	ACTTGCCACCATTTTTTCC	
2nd PCR	VP7-R	ACTTGCCACCATTTTTTCC	619
	G1	CAAGTACTVAAATCAATGATGG	
	G2	CTACAATGATATTACTACATTTTCT	
	G3	ACGAACTCAACACGAGAGG	
	G4	CGTTTCTGGTGAGGAGTTG	
	G8	GTCACACCATTTGTAAATTCG	
	G9	CTTGATGTGACTACAAATAC	
	G12	CCGATGGACGTAACGTTGTA	
A群ロタウイルス VP4(P)遺伝子型別プライマー			
	プライマー	5'-3' 塩基配列	サイズ (塩基)
1st PCR	VP4-F	TGGCTTCGCTCATTATAGACA	882
	VP4-R	ATTCGGACCATTATAACC	
2nd PCR	VP4-F	TGGCTTCGCTCATTATAGACA	503
	P[4]	GCATCCCTACAAGTCTATTACT	
	P[6]	TGTTGATTAGTTGGATTCAA	
	P[8]	CTATCTACTGGRTYRACGTG	
	P[9]	AGGCGTCAATTTAATGAATAATA	
		443	

3 結果及び考察

平成22年度、23年度に感染症発生动向調査事業で搬入された感染性胃腸炎検体87検体について検査を行った結果、15検体からA群ロタウイルス遺伝子が検出された。遺伝子型別の結果、G3P[8]が7検体、G9P[8]型が5検体、G1P[8]型が1検体、G2P[4]型が1検体、その他が1検体であった。また、平成23年3月～5月に県内6医療機関からA群ロタウイルス陽性検体を収集し検査を行った結果を表2に示した。92検体中89検体からVP7領域、VP4領域の両方またはいずれかのA群ロタウイルス遺伝子が

表2 地域別 A 群ロタウイルス遺伝子型別結果

地域	型別	G1P[8]	G2P[4]	G3P[8]	G9P[8]	その他
福津市		3	2			
古賀市		2	5		1	5
福岡市		13	3	3	3	
筑紫野市		2	11	1	13	3
飯塚市		4	3	1		
うきは市				7	4	
合計		24	24	12	21	8

検出された。型別結果は、G1P[8]型および G2P[4]型が最も多くそれぞれ 24 検体、ついで G9P[8]型 21 検体、G3P[8]型 12 検体、G2P[8]2 検体 G3P[4]1 検体であった。

A 群ロタウイルスは、内部に 11 本の分節 2 本鎖 RNA を有していて、その内、ウイルス表面の蛋白質をコードしている VP7 と VP4 の違いによって G 遺伝子型と P 遺伝子型に型別されている。二つの遺伝子型はそれぞれ G1～G27、P[1]～P[35]と多数の型が現在までに知られている。A 群ロタウイルスの主流株の遺伝子型は、国・地域によって異なり、また、年によって変化することがわかっているが、世界中で検出されている野外株の大部分は、G1P[8]、G2P[4]、G3P[8]、G4P[8]、G9P[8]の主要な 5 種類で占められている<sup>2)</sup>。今回検出された主な型も G1P[8]型、G2P[4]型、G3P[8]型、G9P[8]型の 4 種類であり、これらは主要 5 種類に含まれていた。

我が国においてロタウイルス感染症の総患者数は年間 80 万人で感染者の 15 人に 1 人が入院していると推定されている<sup>2)</sup>。しかし、これまでは、補液などによる対症療法のみで特異的な治療法が導入されてこなかった。平成 23 年に我が国でもロタウイルスワクチンが認可された。今後ワクチンの普及に伴い A 群ロタウイルスの流行型が変化していくことが予想される。今後も、ワクチンによる影響も含めた A 群ロタウイルス流行型の変化を知るために、継続して A 群ロタウイルス流行状況の調査を行っていく予定である。

#### 4 まとめ

平成22年度、23年度に、県内で採取された感染性胃腸炎患者の便検体と簡易キット陽性バンドから検出されたA群ロタウイルス遺伝子について型別を行った結果、G1P[8]、G2P[4]、G3P[8]、G9P[8]の4種類が主要な流行型であることが判明した。

#### 文献

- 1) M. Iturriza-Gomara *et al.*: Rotavirus genotyping: keeping up with an evolving population of human rotavirus. *J.Clin.Virol.*, 31, 259-265, 2004.
- 2) 感染症情報センター:病原微生物検出情報月報, 373, 1-6, 2011.