

短報

福岡県におけるノロウイルスの検出状況

芦塚由紀・吉富秀亮・吉山千春・濱崎光宏・石橋哲也・堀川和美

2010年度から2013年度にかけて福岡県（福岡市、北九州市、久留米及び大牟田市を除く）の食中毒疑い事例の検査により検出されたノロウイルス遺伝子の塩基配列について解析を行った。その結果、2010年度はGII/13、2011、2012及び2013年度はGII/4の検出事例が最も多かった。ノロウイルスGII遺伝子の系統樹解析では、2012年3月以前の事例で検出された遺伝子型は、GII/4/Ehimeの近縁であったが、2012年3月の事例でGII/4/Sydney型（2012変異株）が最初に検出されており、その後の事例で検出されたGII/4型はすべて2012変異株であることがわかった。

[キーワード：ノロウイルス、系統樹解析、遺伝子型別]

1 はじめに

ノロウイルスはわが国において冬季を中心に流行する感染性胃腸炎の主要な原因ウイルスである。嘔吐、下痢などの急性胃腸炎症状を発症し、集団食中毒の原因ともなる。ノロウイルスはキャプシド遺伝子配列の類似性をもとに、GIからGVまでの遺伝子グループに分類されており¹⁾、その中で主に人に感染するのはGIとGIIである。さらにGIには15以上、GIIには19以上の遺伝子型が存在し、流行の主流を担っているのはGII/4と考えられている²⁾。

国内におけるノロウイルスの流行の特徴としては、2006年度におけるGII/4の大流行が挙げられる³⁾。また、2012年には新しいGII/4変異株（GII/4/Sydney/NSW0514）が出現し⁴⁾、2012年度は全国的にノロウイルスによる集団発生事例や食中毒事件が多発した⁵⁾。

ウイルス性食中毒事件の99%はノロウイルスによるものと報告されている⁶⁾。そのため、事件発生時における原因ウイルスや遺伝子型の解析は、集団発生における感染経路を特定し、健康被害の拡大を防止するために重要である。また、シーズン毎や地域別の流行傾向を把握することは、今後の食中毒の予防につながると考えられる。

今回は、2010年4月から2014年3月までの間に当所において検査し、検出されたノロウイルスの塩基配列について解析を行ったので報告する。

2 材料及び方法

2・1 調査材料

2010年4月から2014年3月の間に、福岡県（福岡市、北九州市、久留米市及び大牟田市を除く）でウイルス性食中毒が疑われた事例（93事例）において採取された患者便及び従事者便等の合計696検体を検査した。内訳は、2010年度が17事例171検体、2011年度が30事例222検体、2012年度が27事例178検体、2013年度

が19事例125検体であった。そのうちノロウイルスが検出されたのは47事例259検体であった。各事例において検出された主な遺伝子型の配列を整理し、解析を行った。

2・2 ノロウイルスの検査方法

検体をPBS(-)で約10%懸濁液とし、10,000rpmで20分間遠心分離した上清からQIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)を用いてウイルスRNAの抽出を行った。抽出したRNAはDNase処理をした後、Superscript III (Invitrogen)を用いて逆転写反応を行った。得られたcDNAを基にPCRによりノロウイルス遺伝子のキャプシド領域を増幅した。PCR増幅用のプライマーとして、ノロウイルスGIにはG1SKF/G1SKRをノロウイルスGIIにはG2SKF/G2SKRを用いた⁷⁾。PCRを行った後、アガロースゲル電気泳動により増幅バンドが確認されたものについてダイレクトシーケンスを行った。増幅されたキャプシド領域(282bp)から近隣結合法(NJ法)により系統樹を作成し、遺伝子型を決定した。系統樹解析には塩基配列解析ソフトウェアMolecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) version5を用いた。系統樹の検定はブートストラップ法(500回サンプリング)により行った。

3 結果

各年度において検出されたノロウイルス遺伝子型の検出状況を表1に示した。2010年度は、9事例のうちGIが3事例、GII/4以外のGIIが4事例あり、4年間の中ではGII/4の割合が少ない状況であった。2011年度はGII/4が13事例中4事例で最も多く、GII/2が3事例であった。2012年度は、GII/4が17事例中13事例で、GII/4の割合が極めて多い年であった。2013年度はGII/4が8事例中4事例で、前年に比べると減少しているものの、半数はGII/4であった。GIの事例はGIIに比べて少ないが、2010年度

表1 過去4年間の食中毒事例において検出されたノロウイルスの遺伝子型*

年度	検査事例	検出事例	遺伝子型															
			GI							GII								
			1	4	6	7	8	14	2	3	4	5	6	11	12	13	14	
2010	17	9				1	1	1			2					1	3	
2011	30	13	1	1					3	1	4	1					1	
2012	27	17			1			1	2		13						1	
2013	19	8		1						1	4		1	1				
計	93	47	1	2	1	1	1	2	5	2	23	1	1	1	1	1	4	1

* 複数の遺伝子型が検出された場合は主要な遺伝子型を示した。

は9事例中3事例あり、4年間の中では多い年であった。

図1に2010年度から2013年度の食中毒疑い事例で検出されたノロウイルスの塩基配列についての系統樹解析結果を示した。39事例から検出されたGIIのうち、23事例がGII/4で、GII/4の2012年変異株であるGII/4/Sydney型(2012変異株)と近縁のものは、18事例あった。最も早い時期の2012変異株は2012年3月の食中毒疑い事例で検出されており、2012年度以降に検出されたGII/4の遺伝子型はすべて2012変異株であった。2012年3月より以前の事例で検出されたGII/4は、GII/4/Ehime近縁株であった。

4 考察

2010年度から2013年度の福岡県における食中毒疑い事例の検査により検出されたノロウイルス塩基配列を解析した結果、2012及び2013年度はGII/4が主な遺伝子型であり、すべて2012変異株の近縁であった。GII/4の2012変異株は、2012年10月に新潟県の集団発生事例で検出され、その後の調査研究で、2011年度中にすでに全国の食中毒事例等から検出されていたことが確認されている⁴⁾。福岡県においても、2012年3月の事例に最初に検出されており、その後に検出されたGII/4型はすべて2012変異株に置き換わったと考えられた。ただし、ノロウイルスには遺伝子の組み替えが起こることが知られていることから⁵⁾、正確な遺伝子型を同定するためには、さらに広い領域の塩基配列を解析する必要がある。今後はより長い塩基配列データを蓄積し、詳細な検討を行いたいと考えている。

2006年度の全国的な大流行の際はGII/4の2006b変異株が主流であったと考えられており、GII/4に属するノロウイルスに数年おきに新しい変異株が出現して流行することにより、多くの集団発生を引き起こしていることが明らかとなっている⁵⁾。今後も、ノロウイルスの遺伝子型の解析により、変異株の出現やシーズン毎の流行の傾向等を監視していくことが、感染症や食中毒による健康被害の拡大防止のために重要であると考えられる。

文献

- 1) D. P. Zheng *et al.*: *Virology*, 346, 312-323, 2006.
- 2) 片山和彦: 病原微生物検出情報, <http://idsc.nih.gov/pathogen/refer/noro-kaisetu1.html>.
- 3) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報, 28, 277-278, 2007.
- 4) 田村 務: 病原微生物検出情報, <http://www.nih.gov/jp/niid/ja/norovirus-m/norovirus-iasrs/2957-pr3942.html>.
- 5) 国立医薬品食品衛生研究所: <http://www.nihs.gov.jp/fhm/fhm4/fhm4-nov015.html>.
- 6) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報, 32, 352-353, 2011.
- 7) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知: ノロウイルスの検出法について, 食安監発第1105001号, 2003.

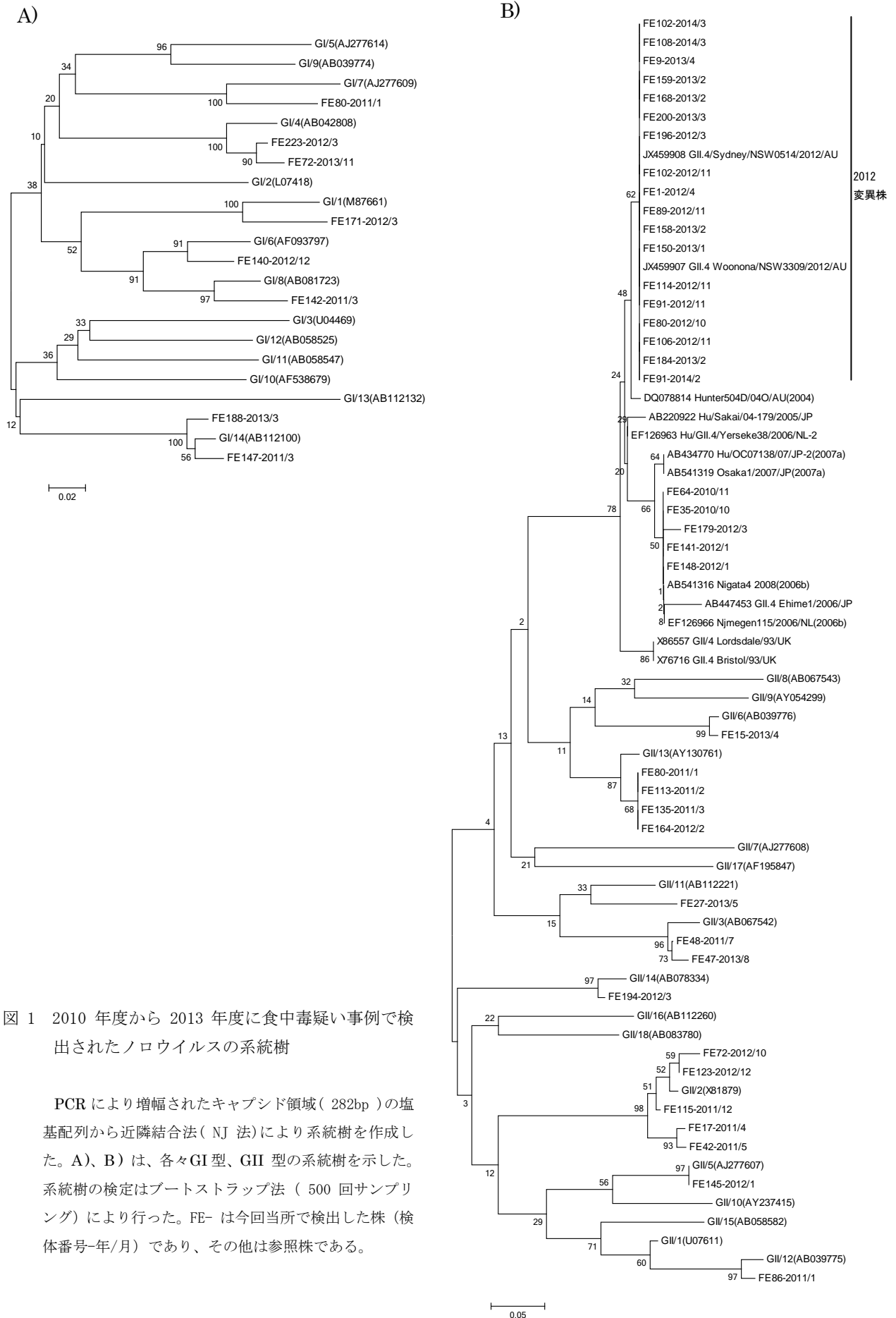


図 1 2010 年度から 2013 年度に食中毒疑い事例で検出されたノロウイルスの系統樹

PCR により増幅されたキャプシド領域 (282bp) の塩基配列から近隣結合法 (NJ 法) により系統樹を作成した。A)、B) は、各々GI 型、GII 型の系統樹を示した。系統樹の検定はブートストラップ法 (500 回サンプリング) により行った。FE- は今回当所で検出した株 (検体番号-年/月) であり、その他は参照株である。

(英文要旨)

Genotype of Norovirus Circulating in Fukuoka Prefecture

**Yuki ASHIZUKA, Hideaki YOSHITOMI, Chiharu YOSHIYAMA,
Mitsuhiro HAMASAKI, Tetsuya ISHIBASHI and Kazumi HORIKAWA**

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

Norovirus is the leading cause of acute gastroenteritis and foodborne disease in Japan. We examined fecal specimens collected during 2010-2014 in Fukuoka Prefecture. For analysis of norovirus, we performed sequence and genotype determination. Phylogenetic analysis showed that GII/4 was dominant in 2011/12, 2012/13, and 2013/14. The new strain of norovirus GII/4 was first detected in March 2012. Since then, GII/4 strains detected were all new subtypes.

[Key words; norovirus, genotype, PCR, Phylogenetic analysis]