

栃木県内で検出されたノロウイルス・サポウイルスの分子疫学 (2011/2012~2018/2019 シーズン)

微生物部

水越 文徳 中島 亜子 楢淵 泉美¹ 船渡川 圭次 桐谷 礼子
(¹ 現県東健康福祉センター)

1 はじめに

ウイルス性胃腸炎の原因として、ノロウイルス (Norovirus; NoV)、サポウイルス (Sapovirus; SaV)、ロタウイルス、アデノウイルスなどがある。特にNoVは冬季に流行し、毎年、社会的・経済的な損失を与えている。NoV感染症の症状は、下痢、嘔吐、発熱が主で、重症化して脱水症状等を引き起こす場合がある。このNoV感染症は効果的な治療薬やワクチンがなく、その対応は対症療法のみである。ゆえに正確な疫学情報や流行状況の把握を行い、周知することが予防対策の上で重要となる。特に、変異型はヒトの集団免疫から逃れるため、しばしば大流行の原因となっている。この変異株の出現や遺伝子型の推移の情報を臨床や感染症予防対策へフィードバックすることは地方衛生研究所の重要な役割の一つである。そこで、2011/2012~2018/2019の8シーズンに栃木県内で検出されたNoV、NoVと同じカリシウイルス科に属するSaVを対象とした分子疫学的解析を実施したので、その結果を報告する。

2 材料と方法

2.1 材料

栃木県保健環境センターに行政検査 (集団感染性胃腸炎事例、食中毒) として搬入された検体を用いた。期間は、2011年9月から2019年3月までとした。本研究では、ウイルス性胃腸炎の発生ピークが冬季であることから、1シーズンを9月から翌年8月までとした。

2.2 ウイルスの検出と分子疫学的解析

NoV、SaVを対象とし、RT-PCR 又はリアルタイム定量PCRによって実施した^{1)~3)}。ウイルスが検出された検体は、PCR増幅産物を用いたダイレクトシークエンス法で塩基配列を解読した^{1) 2) 4)}。遺伝子型及び亜型の決定は、ORF1の*RdRp*領域及びORF2の*VP1*領域の塩基配列をもとに、web toolのNorovirus Genotyping Tool Version 1.0で実施した^{5) 6)}。解析にあたり、同一事例内において同一の塩基配列のウイルスは1株と計上し、複数の株が検出された場合は別の株として計上した。

3 結果

3.1 各シーズンにおける事例数の推移

2011/2012~2018/2019の過去8シーズンにおいて、NoV、SaVが検出された事例の数を表1に示した。また、図1では、集団感染性胃腸炎を低年齢層施設 (保育園、幼稚園、小学校)、高年齢層施設 (老人・介護施設)、その他 (中学校、高校、福祉施設、等) に分類した。

2012/2013シーズンにはGII.4_Sydney_2012株^{7) 8)}が、2016/2017シーズンにはGII.P16-GII.2変異株^{6) 9) 10)}が大流行した。これらのシーズンにおいては、栃木県内でもウイルスによる集団胃腸炎事例が多く発生した。その発生施設はそれぞれ大流行期で傾向が異なり、2012/2013シーズンでは高年齢層施設、2016/2017シーズンでは低年齢層施設が多く占めた。食中毒として搬入された事例数は、大流行のあった2012/2013シーズンに顕著な増加はなかったが、2014/2015から2017/2018のシーズンにかけて14~16事例でウイルスが検出された。

表1 下痢症ウイルス (NoV、SaV) が検出された事例数の内訳

	2011 -2012	2012 -2013	2013 -2014	2014 -2015	2015 -2016	2016 -2017	2017 -2018	2018- 2019	Total
集団感染性胃腸炎	10	42	25	14	13	28	15	9	156
内訳									
保育園・幼稚園	0	3	3	2	2	17	9	6	42
学校 (小学校)	3	8	6	2	3	6	3	2	33
学校 (中学校)	0	0	0	0	0	2	0	1	3
学校 (高校)	0	0	0	1	0	1	0	0	2
福祉養護施設	3	7	2	3	2	1	2	0	20
老人・介護施設	4	24	14	3	6	1	1	0	53
その他	0	0	0	3	0	0	0	0	3
食中毒	9	6	8	15	14	16	14	7	89
合計	19	48	33	29	27	44	29	16	245

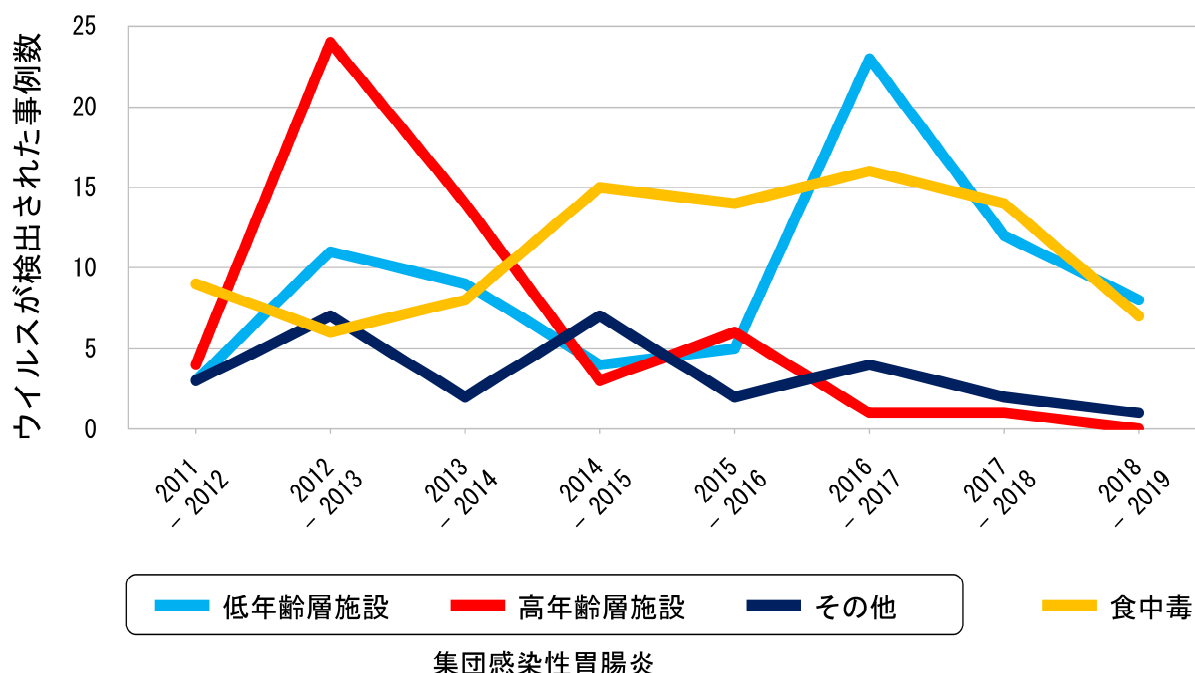


図1 2011/2012～2018/2019 シーズンにおける事例数の推移

3.2 各シーズンに検出されたウイルスにおける遺伝子群・遺伝子型の推移

各シーズンに検出された下痢症ウイルスについて、NoV GI 群、GII 群、SaV の内訳を図 2.A に示した。NoV GII 群に関しては、遺伝子型 (GII. 4 は亜型) で分類した。

いずれのシーズンも NoV GII 群が検出株の殆どを占めていた。GII. 4_Sydney_2012 株が大流行した 2012/2013 シーズンでは、その変異株は県内で検出された株の 64.3% (36/56) を占めた。2014/2015 シーズン以降は、GII. 17 が多く検出された。さらに、2016/2017 シーズンでは GII. P16-GII. 2 変異株が全国的に大流行し、同様に栃木県内でも GII. 2 の検出が 54.2% (26/48) を占めた。2018/2019 シーズンに関しては、事例数が 16 と少なく、特徴的な遺伝子型の検出はみられなかった。

NoV GI 群と同様に、SaV は少ないながらもほぼ毎シーズンで数株が検出されていた。

3.3 2012/2013 シーズンと 2016/2017 シーズンにおける流行型の発生施設の種類

大流行を起こした遺伝子型が検出された施設の種類を図 2.B で示した。2012/2013 シーズンの GII. 4_Sydney_2012 株のうち、高年齢層施設が 66.7% (24/36) を占めた。次いで、食中毒が 19.4% (7/36)、低年齢層施設が 11.1% (4/36) だった。2016/2017 シーズンの GII. 2 の検出事例内訳では、低年齢層施設が 65.3% (17/26)、食中毒が 26.9% (7/26) だった。大流行を引き起こした変異型は発生の多い年齢層が異なり、遺伝子

解析に加えて疫学情報を監視することは重要である。

4 考察

1995 年に GII. 4 US95_96 株のパンデミックが発生して以来、GII. 4 は主流の遺伝子型として検出されてきた¹¹⁾。さらに、この GII. 4 は約 2~3 年ごとに新たな変異株を出現させて、置き換わるように流行している^{11) 12)}。2006 年には GII. 4_Den Haag_2006b 株が、2009 年には GII. 4_NewOrleans_2009 株が、2012 年には GII. 4_Sydney_2012 株が、日本だけではなく、世界的な大流行を引き起こした^{7) 8)}。栃木県においても、2009/2010 シーズンは GII. 4_Den Haag_2006b 株、及び GII. 4_NewOrleans_2009 株が主流の検出株であった (data not shown)。一方、2012/2013 シーズン以降は、世界的な動向と同様に、GII. 4_Sydney_2012 株が主流となった。また、2014/2015 に突如として出現した GII. 17 Kawasaki 株は、新規遺伝子型 GII. P17 を有し、日本のみならず世界各地で流行した¹³⁾。栃木県内においては 2015 年 2 月に初めて GII. 17 Kawasaki 株が検出された。このように、NoV は様々な遺伝子型が大流行の原因となる可能性がある。

2016/2017 シーズンに大流行した GII. P16-GII. 2 変異株は、これまで検出されていた GII. 2 とは遺伝学的な性状が異なる変異株であることが明らか^{6) 9) 10)}、全国と同様に、栃木県でも集団発生や散発の事例の大半から検出された。NoV の変異株は、抗原性を乖離すること

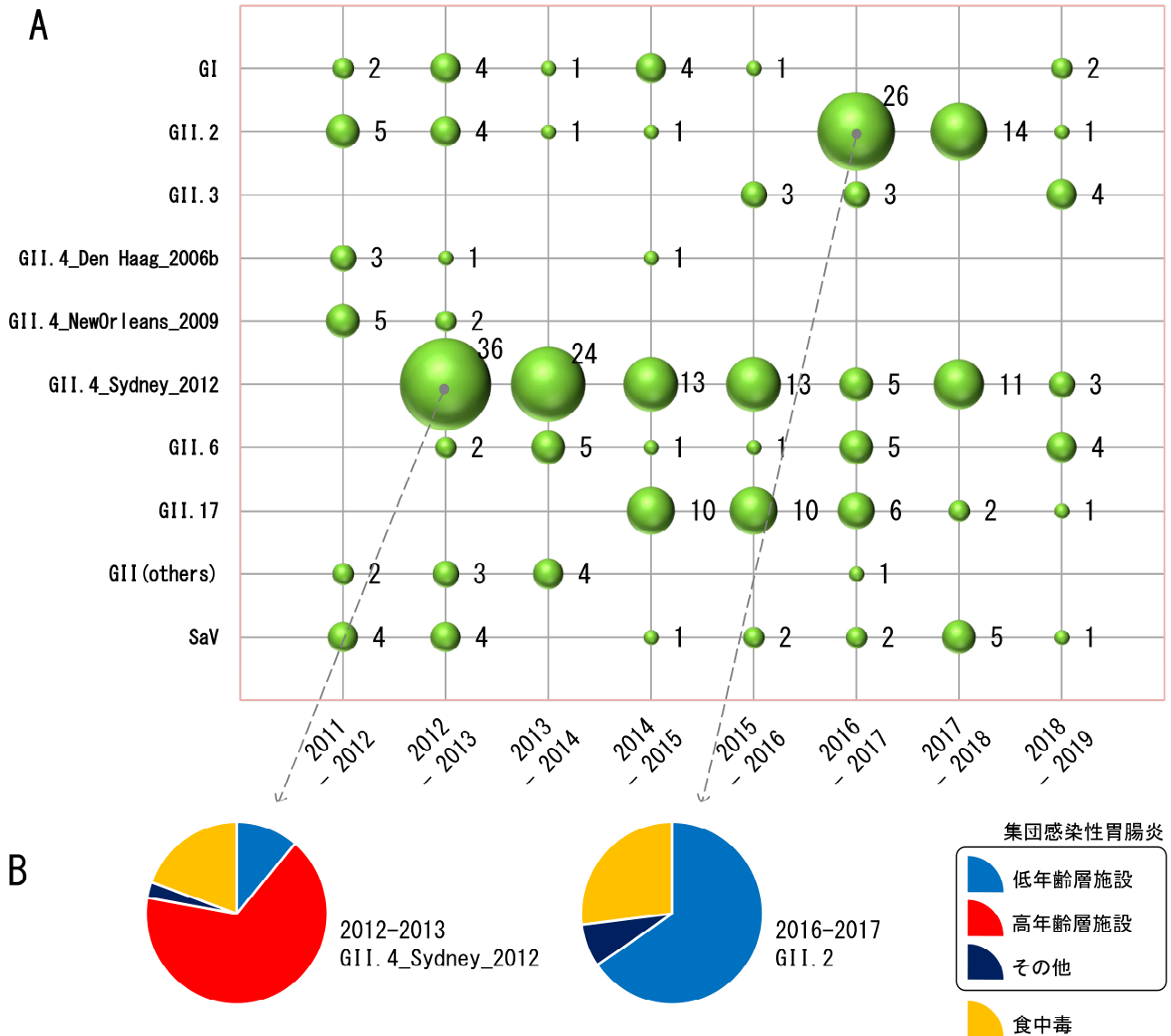


図2 2011/2012~2018/2019 シーズンにおける遺伝子型及び亜型の推移
 (A 丸の大きさが検出株数の程度を表し、グラフ内の数字が検出株数を示す)
 (B 大流行した変異株を検出した発生施設の内訳)

によりヒトの集団免疫を回避して感染を拡大させている可能性が示唆されている¹⁴⁾。このような変異株を探知して、大流行の兆候を探知することは、サーベイランスの重要な役割の一つである。

NoVは、ORF1/ORF2 ジャンクション領域で組換えを起こすことが知られている¹⁵⁾。そのため、一般的に用いられるORF2の塩基配列をベースとした遺伝子型の分類に加え、ORF1の遺伝子型の解読も求められるようになった。VPI領域の変異株であるGII.4_Sydney_2012株やGII.17 Kawasaki株も、ORF1の組換えを起こしたキメラウイルスであることが報告されている^{7) 8) 13)}。2016年以降、PolymeraseがGII.P16に組換わったGII.4_Sydney_2012株が世界各地で検出されている^{16)~18)}。栃木県内でも2018/2019シーズンに、散发例(感染症発生動向調査)

においてGII.P16-GII.4_Sydney_2012株が検出された(data not shown)。GII.P16のPolymeraseはVPI遺伝子の進化速度を促進してCapsidを変異させやすくしている可能性が示されており¹⁹⁾、新しいGII.4の変異型の出現を促進する可能性もある。このように、NoVの流行状況を正確に把握するためには、VPI領域の変異株だけでなく、組換えキメラウイルスも監視していく必要がある。

このようにNoVは遺伝子の組換え・変異を起こし、しばしば世界的な大流行を発生させている。NoVの遺伝子型を解読して、発生状況の詳細を解析し、分子疫学的情報をフィードバックすることは地方衛生研究所の重要な役割の一つである。本研究のような疫学研究の情報から大流行の兆候を探知することも可能である。したがって、

NoV 感染拡大を予防するためには、遺伝子型の解析等の詳細なサーベイランスを継続していくことが重要である。

5 参考文献

- 1) 国立感染症研究所、ウイルス下痢症診断マニュアル第3版 (平成15年7月)、2013.
- 2) Okada M, et al., The detection of human sapoviruses with universal and genogroup-specific primers, *Arch Virol*, 151, 2503-2509, 2006.
- 3) Oka T, et al., Detection of human sapovirus by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction, *J Med Virol*, 78, 1347-1353, 2006.
- 4) Nagasawa K, et al., Phylogeny and Immunoreactivity of Norovirus GII.P16-GII.2, Japan, Winter 2016-17, *Emerg Infect Dis*, 24, 144-148, 2018.
- 5) Norovirus Genotyping Tool Version 1.0 (<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>)
- 6) Kroneman A, et al., An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses, *J Clin Virol*, 51, 121-125, 2011.
- 7) Kumazaki M, Usuku S, Genetic Analysis of Norovirus GII.4 Variant Strains Detected in Outbreaks of Gastroenteritis in Yokohama, Japan, from the 2006-2007 to the 2013-2014 Seasons, *PLoS One*, 10(11):e0142568, 2015.
- 8) Motomura K, et al., Norovirus Surveillance Group of Japan. Divergent evolution of norovirus GII/4 by genome recombination from May 2006 to February 2009 in Japan, *J Virol*, 84, 8085-8097.
- 9) 国立感染症研究所、病原微生物検出情報 Infectious Agents Surveillance Report (IASR)、〈特集〉ノロウイルス感染症 2015/16 シーズン、38、1-4、2017. (<https://www0.niid.go.jp/niid/idsc/iasr/38/443.pdf>)
- 10) Nagasawa K, et al., Genetic Analysis of Human Norovirus Strains in Japan in 2016-2017, *Front Microbiol*, 18:9:1, 2018.
- 11) Vinjé J. Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus. *J Clin Microbiol*, 53, 373-381, 2015.
- 12) White PA, Evolution of norovirus, *Clin Microbiol Infect*, 20, 741-745, 2014.
- 13) Matsushima Y, et al., Genetic analyses of GII.17 norovirus strains in diarrheal disease outbreaks from December 2014 to March 2015 in Japan reveal a novel polymerase sequence and amino acid substitutions in the capsid region, *Euro Surveill*, 2;20(26), pii:21173, 2015.
- 14) Sakon N, et al., Impact of genotype-specific herd immunity on the circulatory dynamism of norovirus: a 10-year longitudinal study of viral acute gastroenteritis. *J Infect Dis*, 211, 879-888, 2015.
- 15) Bull RA, et al., Norovirus recombination in ORF1/ORF2 overlap, *Emerg Infect Dis*, 11, 1079-1085, 2005.
- 16) Matsushima Y, et al., Complete Genome Sequence of a Recombinant GII.P16-GII.4 Norovirus Detected in Kawasaki City, Japan, in 2016, *Genome Announc* 6;4(5), pii:e01099-16, 2016.
- 17) Bidalot M, et al., Emergence of new recombinant noroviruses GII.p16-GII.4 and GII.p16-GII.2, France, winter 2016 to 2017, *Euro Surveill*, 13;22(15), pii:30508, 2017.
- 18) Ruis C, et al., The emerging GII.P16-GII.4 Sydney 2012 norovirus lineage is circulating worldwide, arose by late-2014 and contains polymerase changes that may increase virus transmission, *PLoS One*, 29;12(6):e0179572, 2017.
- 19) Mizukoshi F, et al., Molecular Evolution of the RNA-Dependent RNA Polymerase and Capsid Genes of Human Norovirus Genotype GII.2 in Japan during 2004-2015, *Front Microbiol*, 25;8:705, 2017.