

2014-2015 シーズンに大阪府で認められたノロウイルス流行

入谷展弘¹、山元誠司^{1,2}、改田 厚¹、阿部仁一郎¹、久保英幸¹、
上林大起^{1,2}、平井有紀¹、後藤 薫¹、野田 衛³、西尾孝之¹

Epidemic of norovirus in Osaka City, Japan during the 2014-2015 season

Nobuhiro IRITANI, Seiji P. YAMAMOTO, Atsushi KAIDA, Niichiro ABE, Hideyuki KUBO,
Daiki KANBAYASHI, Yuki HIRAI, Kaoru GOTO, Mamoru NODA, Takayuki NISHIO

Abstract

During the period from September 2014 to June 2015 (2014-2015 season), norovirus was detected as the cause of 89 gastroenteritis outbreaks (76.1%) in Osaka City, Japan. The most common genotype in that season was GII.3 (44.9%), followed by GII.17 (30.3 %), which was rare genotype. The incidences of GII.3 outbreaks and GII.17 outbreaks were highest during September-December 2014, and January-March 2015, respectively.

Key words: Norovirus, outbreak, GII.3, GII.17, 2014-2015 season

I 緒言

ノロウイルス(NoV)はウイルス性胃腸炎の主な原因ウイルスであり、乳幼児から高齢者まで幅広い年齢層のヒトに感染する。NoV による胃腸炎は秋から冬に大きく流行し、食中毒や保育所、小学校、高齢者施設などの施設における集団胃腸炎事例も多発する。ゲノム遺伝子配列の解析から、ヒト NoV は Genogroup I (GI)、GII および GIV の 3 種類の遺伝子グループに分類され、GI および GII が毎年流行している[1, 2]。GI と GII には、さらに複数の遺伝子型が存在している[3]。最近では、GII.4 に分類される NoV の新しい亜型が世界的な感染拡大と流行を周期的に起こしていることが明らかにされた[4]。一方で、他の遺伝子型が流行することも報告されている[5-8]。

このように多くの種類の遺伝子型の NoV が流行している現状を踏まえ、当研究所では、大阪府における NoV 流行実態を把握するために検出された NoV 株の遺伝子型別を行い、流行解析を実施している[5, 9, 10]。今回、2014-2015 シーズンに大阪府で検出された NoV 株について分子疫学的解析を実施した。

II 材料と方法

1) 検査材料

2014 年 9 月~2015 年 6 月までの期間(2014-2015 シーズン)に大阪府立環境科学研究所に搬入された非細菌性胃腸炎 117 事例(患者糞便 470 検体)を対象とした。

2) NoV の検出および遺伝子型別

糞便材料の処理は既報の方法に準じて行った[11]。ウイルス RNA の抽出は QIAamp Viral RNA Mini kit (QIAGEN) を用いて QIAcube (QIAGEN) で行った。NoV 遺伝子の検出は、リアルタイム RT-PCR 法を用いて Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System (サーモフィッシャーサイエンティフィック)で行った [10, 12]。

リアルタイム RT-PCR 法で陽性となった検体は、既報[13]のプライマーペアを用いて、GeneAmp PCR System 9700 (サーモフィッシャーサイエンティフィック)または Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler (サーモフィッシャーサイエンティフィック)で Capsid N/S 領域の遺伝子を増幅した。特異的遺伝子断片の増幅が認められた検体は、ダイレクトシーケンス法により、Applied Biosystems 3130 ジェネティックアナライザ (サーモフィッシャーサイエンティフィック)を用いて、塩基配列を決定した。NoV の遺伝子型別および GII.4 の亜型は、

-
- 1) 大阪府立環境科学研究所
〒543-0026 大阪府天王寺区東上町 8-34
Osaka City Institute of Public Health and Environmental Sciences, 8-34 Tojo-cho, Tennoji-ku, Osaka 543-0026, Japan
- 2) 大阪府立公衆衛生研究所
〒537-0025 大阪府東成区中道 1-3-69
Osaka Prefectural Institute of Public Health, 1-3-69 Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan
- 3) 国立医薬品食品衛生研究所
〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1
National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

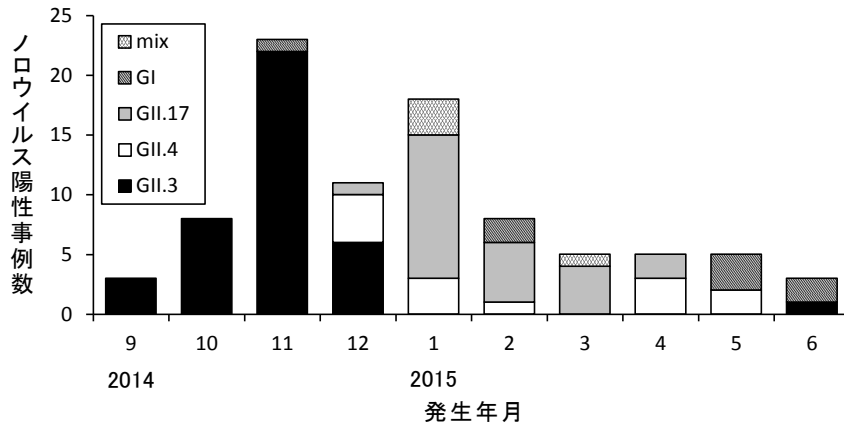


図1 月別ノロウイルス陽性事例数

Norovirus Genotyping Tool Version 1.0 (<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool/#/>)を用いて分類した。遺伝子型番号は、新しい表記法による番号を用いた[3]。

III 結果

NoVは117事例中89事例(76.1%)、患者糞便材料470検体中295検体(62.8%)から検出された。NoV事例は11月(23事例)に最も多く、次いで1月(18事例)に多く発生していた(図1)。NoV陽性89事例のうち、ヒトからヒトへ感染が疑われた(PP)事例は、少なくとも58事例(65.2%)認められた。主な原因施設は保育所(43事例)であり、他は高齢者施設(7事例)、小学校(7事例)、社会福祉施設(1事例)であった。カキ以外の食品が原因として疑われた事例は17事例(19.1%)であった、カキの喫食が関連していた事例は10事例(11.2%)あり、11月、1月~3月に発生し、特に1月(7事例)に集中していた。

検出されたNoVの遺伝子型は少なくとも8種類(GI: 4種類、GII: 4種類)認められた。GII.3(40事例、44.9%)が最も多く、次いでGII.17(複数検出事例を含めて27

事例、30.3%)、GII.4(複数検出事例を含めて15事例、16.9%)であった(表1)。

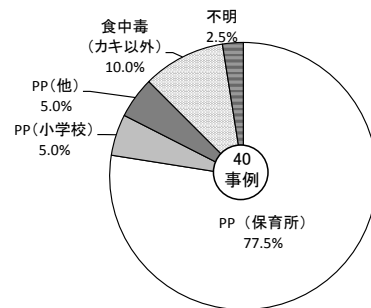
NoV GII.3による事例の97.5%(39/40事例)は2014年9月から12月の期間に集中して発生し、11月(22事例)が最も多かった。NoV GII.3による事例の中で、87.5%(35/40事例)がPP事例であり、保育所(31事例)、小学校(2事例)、中学校(1事例)、専門学校(1事例)における発生であった(図2)。発生施設は大阪市24区中17区にわたり、1区あたり1~4施設の発生であり、地理的・時間的な偏りはなかった。疫学調査においても各事例間の関連性は認められなかった。

GII.17については2014年12月にシーズンで最初の事例が市内高齢者施設で発生した。その後、NoV GII.17による事例は2015年1月から3月の期間に集

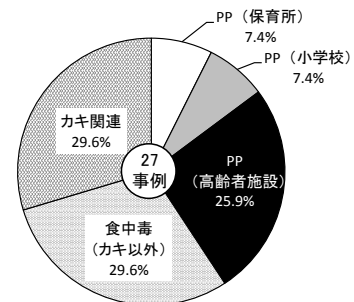
表1 大阪市で検出されたノロウイルスの遺伝子型(2014年9月~2015年6月)

Genogroup	遺伝子型	事例数
GI	GI.2	2
	GI.3	4
	GI.4	1
	GI未型別	1
GII	GII.3	40
	GII.4	13
	GII.17	24
Mix*		4
	合計	89

*: 複数の遺伝子型が検出された事例 (GI.3/GII.17、GII.4/GII.17、GII.13/GII.17、GI.7/GII.4)



A (NoV GII.3による事例)



B (NoV GII.17による事例)

図2 ノロウイルス GII.3(A)および GII.17(B)による事例の推定原因および発生施設

中して発生し(88.9%、24/27 事例)、1 月(12 事例)が最も多かった。NoV GII.17 による事例の中で、PP 事例が 11 事例、カキの喫食関連事例が 8 事例、カキ以外の食品疑い事例が 8 事例であった(図 2)。PP 事例の主な発生施設は市内の高齢者施設(7 事例)であった。

Capsid N/S 領域の塩基配列(282 塩基)の比較から、2014 年 9 月から 12 月に発生した 39 事例から検出された GII.3 株は互いに近縁であった(塩基配列相同性 \geq 98.9%)。また、今回検出されたすべての GII.17 株も互いに近縁であり(\geq 98.5%)、同時期に国内他地域で検出された株(Kawasaki308/JP/2015、GenBank 番号 LC037415) [14] や中国で流行していた株(14F1502/GZ/GD/CHN/2014、GenBank 番号 KP718638) [15]とも非常に近縁であった(\geq 98.5%)。GII.4 株は 2 種類の亜型(Den_Haag_2006b および Sydney_2012)に分類され、ほとんどが GII.4 Sydney_2012 であった(14/15 事例)。

IV 考察

大阪市では 2014 年春季に保育所や小学校で NoV GII.6 による集団胃腸炎事例が多発した[16]。2014 年 7 月から 8 月には事例発生はほとんどなくなったが、9 月に再び増加し始め、11 月に急増した。遺伝子型別の結果、秋季に流行した NoV は GII.3 であり、春季に流行したウイルスとは異なっていた。この流行株の変化が、春季に続いて秋季にも同じ低年齢層で大きく流行したことに関連している可能性がある[17]。

冬季に流行した NoV GII.17 は大阪市において過去にはほとんど検出されたことがなく、非常に稀な遺伝子型であった[5, 11]。大阪市では 2014 年 12 月にシーズンで最初の NoV GII.17 による事例が発生した後、1 月に急増した。国内の他地域においても同時期に同様の現象が認められており[14, 18]、NoV GII.17 は全国的に流行していたと考えられた。また、大阪市で認められた NoV GII.17 による事例の多くは食中毒や高齢者施設における集団事例であり、主に成人層における流行であった。他の地域からも成人での流行が報告されている[18]。

NoV GII.17 は 1978 年フランス領ギアナからの報告[19]が最も古く、以降、世界中で散発的に検出されていた[20]。しかし、大阪市での流行とほぼ同時期に中国、香港、台湾においても GII.17 の流行が認められた[15, 20, 21]。流行株の遺伝子を比較したところ、大阪市、国内他地域および中国の株は非常に近縁であったことから、本株は国内だけでなくアジアで広く流行していたことが示唆された。さらに、本株には Capsid の可変領域である P2 domain にアミノ酸変異が確認されている[14, 21, 22]。これは、本株の抗原性に変異していることを示唆しており、今回流行した原因の一つであると考えられ

た。今のところ、本株の感染が国内だけでなく国を越えて拡大した経路や要因などは明らかにされておらず、詳細な調査・解析が必要である。

NoV GII.4 は、これまで遺伝子の変異を起こしながら、世界的に流行しており[4]、新しい GII.4 亜型の出現は大きな流行の主な原因になる可能性が高い。大阪市では 2015 年 6 月までに検出された GII.4 はすべて既知の亜型に分類されている。しかし、最近出現した GII.4 亜型は 2012 年の Sydney_2012 株であり [23]、既に 3 年が経過しているため、新たな亜型の出現が危惧される。

2014-2015 シーズンの NoV 流行解析結果から、今後は新しい GII.4 亜型に加えて稀な遺伝子型の出現や流行する遺伝子型の変化についても早期に探知することが NoV 感染症の流行予測と予防対策に重要であると考えられた。継続した流行の監視と遺伝子型別による解析が必要である。

V 結論

- 2014-2015 シーズンは 2014 年 9 月~12 月に GII.3、2015 年 1 月~3 月に GII.17 が主に検出され、時期によって流行する NoV の遺伝子型が異なっていた。
- NoV GII.3 は主に低年齢層におけるヒトからヒトへの感染拡大であった。
- NoV GII.17 の流行は大阪市において初めて認められ、主に成人層で流行していた。

謝辞 本研究に御協力いただいた健康局生活衛生課、保健所感染症対策課、各保健センターおよび食品衛生監視員の方々に深謝いたします。

参考文献

- 1) Ando T, Noel JS, and Fankhauser RL. Genetic classification of “Norwalk-like viruses”. J Infect Dis. 2000; 181 (Suppl 2): 336-348.
- 2) Katayama K, Shirato-Horikoshi H, Kojima S, Kageyama T, Oka T, and Hoshino FB, et al. Phylogenetic analysis of the complete genome of 18 Norwalk-like viruses. Virology 2002; 299: 225-239.
- 3) 片山和彦. ノーウォークウイルス(ノロウイルス)の遺伝子型. 病原微生物検出情報 月報 2014; 35: 173-175.
- 4) Siebenga JJ, Vennema H, Zheng DP, Vinje J, Lee BE, and Pang XL, et al. Norovirus illness is a global problem: Emergence and spread of norovirus GII.4 variants, 2001-2007. J Infect Dis. 2009; 200: 802-812.
- 5) Iritani N, Kaida A, Kubo H, Abe N, Goto K, and Ogura H, et al. Molecular epidemiology of noroviruses detected in outbreaks of acute

- nonbacterial gastroenteritis in Osaka City, Japan, from 1996-1997 through 2008-2009. *J Med Virol.* 2010; 82: 2097-2105.
- 6) Iritani N, Seto Y, Haruki K, Kimura M, Ayata M, and Ogura H. Major change in the predominant type of “Norwalk-like viruses” in outbreaks of acute nonbacterial gastroenteritis in Osaka City, Japan, between April 1996 and March 1999. *J Clin Microbiol.* 2000; 38: 2649-2654.
 - 7) Koopmans M, Vinjé J, de Wit M, Leenen I, van der Poel W, and van Duynhoven Y. Molecular epidemiology of human enteric caliciviruses in The Netherlands. *J Infect Dis.* 2000; 181 (Suppl 2): S262-269.
 - 8) Lewis DC, Hale A, Jiang X, Eglin R, and Brown DW. Epidemiology of Mexico virus, a small round-structured virus in Yorkshire, United Kingdom, between January 1992 and March 1995. *J Infect Dis.* 1997; 175: 951-954.
 - 9) 入谷展弘, 久保英幸, 勢戸祥介, 春木孝祐, 西尾治, 武田直和, 他. 平成 14 年度に大阪市で検出されたノーウォークウイルスの遺伝子型別. 大阪市環科研所報 調査・研究年報 2003; 65: 29-37.
 - 10) Seto Y, Iritani N, Kubo H, Kaida A, Murakami T, and Haruki K, et al. Genotyping of Norovirus strains detected in outbreaks between April 2002 and March 2003 in Osaka City, Japan. *Microbiol Immunol.* 2005; 49: 275-283.
 - 11) Iritani N, Kaida A, Abe N, Sekiguchi J, Kubo H, and Takakura K, et al. Increase of GII.2 norovirus infections during the 2009-2010 season in Osaka City, Japan. *J Med Virol.* 2012; 84: 517-525.
 - 12) Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, and Hoshino FB, et al. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 1548-1557.
 - 13) 入谷展弘, 改田 厚, 久保英幸, 阿部仁一郎, 西尾治, 後藤 薫, 他. 市販生食用カキにおけるノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルス汚染調査(2006-2007~2009-2010 シーズン). 大阪市環科研所報 調査・研究年報 2010; 72: 7-12.
 - 14) Matsushima Y, Ishikawa M, Shimizu T, Komane A, Kasuo S, and Shinohara M, et al. Genetic analysis 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.* 2015; 20(26): pii=21173.
 - 15) Lu J, Sun L, Fang L, Yang F, Mo Y, and Lao J, et al. Gastroenteritis outbreaks caused by norovirus GII.17, Guangdong Province, China. *Emerg Infect Dis.* 2015; 21: 1240-1242.
 - 16) 入谷展弘, 山元誠司, 改田 厚, 阿部仁一郎, 久保英幸, 野田 衛. 2013/14 シーズンに大阪市において集団胃腸炎事例から検出されたノロウイルス GII.6 株の分子疫学的解析. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会プログラム・抄録集 2014: 316.
 - 17) 入谷展弘, 山元誠司, 改田 厚, 阿部仁一郎, 久保英幸, 西尾孝之, 他. 2014 年 9~11 月に発生したノロウイルスによる胃腸炎集団事例についてー大阪市. 病原微生物検出情報 月報 2015; 36: 26-27.
 - 18) 楠原 一, 赤地重宏, 小林隆司, 西中隆道, 小林真美, 山口江里, 他. ノロウイルス GII.17 型の流行とその特徴についてー三重県. 病原微生物検出情報 月報 2015; 36: 91-92.
 - 19) Rackoff LA, Bok K, Green KY, and Kapikian AZ. Epidemiology and evolution of rotaviruses and noroviruses from an archival WHO global study in children (1976-79) with implications for vaccine design. *PLoS One* 2013; 8(3): e59394.
 - 20) de Graaf M, va Beek J, Vennema H, Podkiz AT, Hewitt J, and Bucardo F, et al. Emergence of a novel GII.17 norovirus – End of the GII.4 era? *Euro Surveill.* 2015; 20(26): pii=21178.
 - 21) Fu J, Ai J, Jin M, Jiang C, Zhang J, and Shi C, et al. Emergence of a new GII.17 norovirus variant in patients with acute gastroenteritis in Jiangsu, China, September 2014 to March 2015. *Euro Surveill.* 2015; 20(24): pii=21157.
 - 22) Parra GI, and Green KY. Genome of emerging norovirus GII.17, United States, 2014. *Emerg Infect Dis.* 2015; 21: 1479-1479.
 - 23) van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, Eden JS, Fonager J, and Hewitt J, et al. Identifications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012. *Euro Surveill.* 2013; 18(1): pii=20345.