

大阪府内におけるノロウイルスの流行状況 (2010-2013)

上林大起^{*1,2} 左近直美^{*1} 入谷展弘^{*2} 三好龍也^{*3} 改田厚^{*2} 阿部仁一郎^{*2}
山元誠司^{*1,2} 久保英幸^{*2} 平井有紀^{*2} 内野清子^{*3} 吉田永祥^{*3} 岡山文香^{*3} 芝田有理^{*3}
塚田和宏^{*1} 駒野淳^{*1,4} 弓指孝博^{*1} 西尾孝之^{*2} 加瀬哲男^{*1} 田中智之^{*3,5} 高橋和郎^{*1,6}

2012年度に大阪府内で発生したノロウイルス (*Norovirus*: NoV) に起因する胃腸炎集団感染事例数は226事例と、前年度と比較し約 2.2 倍増加した。NoV に起因する胃腸炎集団感染事例の中で GII.4 の占める割合を年度別に算出すると、2011 年度 43.3% (45/104)、2012 年度 79.2% (179/226)であった。さらに、GII.4 亜型に焦点を当て解析すると、2011 年度は、Den_Haag_2006b (28.9%, 13/45)、New_Orleans_2009 (44.4%, 20/45)、2012 年度は Den_Haag_2006b (7.6%, 14/184)、New_Orleans_2009 (3.3%, 6/184)、Sydney_2012 (87.0%, 160/184)が検出された。2012 年度の NoV 流行は、Sydney_2012 の出現により引き起こされたと考えられた。

キーワード: ノロウイルス、感染性胃腸炎、集団感染、変異株

Key words: Norovirus, Gastroenteritis, Outbreak, Variant

諸言

ノロウイルス (*Norovirus*: NoV) は全ての年齢層における非細菌性急性胃腸炎の主な原因ウイルスであり、全世界の急性胃腸炎の 20%は NoV が原因と考えられる [1-2]。NoV は、感染したヒトの糞便や嘔吐物、カキなどの食品を通して感染する [3-6]。世界各地で高齢者施設、社会福祉施設、保育所などにおける集団感染事例が報告されており、毎年秋から冬にかけて報告数は増加する [7-8]。

NoV は、カリシウイルス科に分類される(+)センス

*¹ 大阪府立公衆衛生研究所感染症部ウイルス課

*² 大阪市立環境科学研究所微生物保健グループ

*³ 堺市衛生研究所ウイルス検査担当

*⁴ 国立病院機構名古屋医療センター

*⁵ 国保日高総合病院

*⁶ 国際医療福祉大学

Epidemic of Norovirus in Osaka (2010-2013) by Daiki Kanbayashi,
Naomi Sakon, Nobuhiro Iritani, Tatsuya Miyoshi, Atsushi Kaida, Niichiro
Abe, Seiji P Yamamoto, Hideyuki Kubo, Yuki Hirai, Kiyoko Uchino,
Hisayoshi Yoshida, Fumika Okayama, Yuri Shibata, Kazuhiro Tsukada,
Jun Komano, Takahiro Yumisashi, Takayuki Nishio, Tetsuo Kase,
Tomoyuki Tanaka and Kazuo Takahashi

の一本鎖 RNA ウイルスである。NoV のゲノムは約 7,500 塩基、3つの ORFs (Open Reading Frames)から構成されている [9]。NoV のゲノム塩基配列は多様性に富んでおり、カプシドの塩基配列の相同性に基づき Genogroup I-V の 5つの遺伝子グループに分類される [10]。

ヒトから主に検出される NoV は Genogroup I (GI)および Genogroup II (GII)であり、GI は 9、GII は 21 の遺伝子型に細分される [10]。世界各地で主に検出されているのは Genogroup II genotype 4 (GII.4)である。これまで NoV GII.4 は、ヒトの抗体によって認識されるカプシド領域に変異が入ることにより、新たな亜型を出現させ周期的に流行を引き起こしてきた。近年では、2006年に Den_Haag_2006b、2009年に New_Orleans_2009 という新たな亜型が出現し、日本国内を含めて世界的な NoV の流行が確認された [11]。

大阪府立公衆衛生研究所、大阪市立環境科学研究所、堺市衛生研究所では、共同研究「大阪府全域におけるノロウイルス流行調査」を実施し、行政区画の枠組みを超えて NoV の流行実態を解析している。本稿では、2010年12月から2013年3月までの28ヶ月にわたって大阪府内で発生した NoV に起因する胃腸炎集団感

染事例の遺伝子型別を実施し、発生時期と発生施設について流行解析を行ったので報告する。

調査方法

1. 検査材料

2010年12月1日から2013年3月31日までの期間に同一施設内において患者数10人以上の胃腸炎集団感染が疑われ、大阪府立公衆衛生研究所、大阪市立環境科学研究所、堺市衛生研究所で検査を実施した非細菌性胃腸炎集団感染433事例を対象とした。

2. 検体からのウイルスの検出及び遺伝子型別

糞便検体よりRNAを抽出し、リアルタイムRT-PCR法 [12] もしくは市販の検出キットを使用した RT-LAMP 法により NoV 遺伝子を検出した。NoV 遺伝子が検出された事例について、その中から 2-3 検体を選択後、カプシド領域の塩基配列をダイレクトシーケンス法にて決定し、NoV の遺伝子型別を行った [13]。遺伝子型については Kageyama らの報告に従った [14]。GII.4 亜型の分類は、Norovirus Genotyping Tool Version 1.0 (<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>) に従って行った [15]。その他の下痢症ウイルス (A 群ロタウイルス、C 群ロタウイルス、サポウイルス、アストロウイルス、腸管アデノウイルス) については ELISA、リアルタイム RT-PCR 法等を用いて検出した [16]。

結果

I. ノロウイルスの検出と遺伝子型別分類

2010年12月から2013年3月の期間に大阪府内で発生した胃腸炎集団感染事例から検出されたウイルスは、ノロウイルス 94.2% (408/433)、A 群ロタウイルス 3.5% (15/433)、サポウイルス 1.2% (5/433)、アストロウイルス 0.5% (2/433)、C 群ロタウイルス 0.2% (1/433)、腸管アデノウイルス 0.2% (1/433)、サポウイルスとアストロウイルスの混合事例 0.2% (1/433) であり、NoV が原因ウイルスとして最も高い割合を示した (表 1)。NoV に起因する胃腸炎集団感染事例数を年度別にわけて解析すると、2011年度は104事例であったのに対して、2012年度は226事例と NoV に起因する胃腸炎集団感染事例数の増加が確認された。

表1. 2010年12月から2013年3月までの間に大阪府内で発生した非細菌性感染性胃腸炎集団感染の原因ウイルス

	2010.12-2011.3	2011年度	2012年度	事例数
ノロウイルス	78 (92.9)	104 (99.0)	226 (92.6)	408 (94.2)
A群ロタウイルス	6 (7.1)	0 (0)	9 (3.7)	15 (3.5)
サポウイルス	0 (0)	1 (1.0)	4 (1.6)	5 (1.2)
アストロウイルス	0 (0)	0 (0)	2 (0.8)	2 (0.5)
C群ロタウイルス	0 (0)	0 (0)	1 (0.4)	1 (0.2)
アデノウイルス	0 (0)	0 (0)	1 (0.4)	1 (0.2)
サポウイルス/ アストロウイルス	0 (0)	0 (0)	1 (0.4)	1 (0.2)
合計	84	105	244	433

(%)

検出された NoV をカプシド領域の塩基配列に基づき分類すると、GI が 3.4% (14/408)、GII が 94.6% (386/408)、GI と GII 混合事例が 0.98% (4/408) であった。遺伝子型別においては、2010年12月から2013年3月の間に少なくともGIが4種類、GIIが8種類検出された。GIは、GI.3 (7.1%, 1/14)、GI.4 (21.4%, 3/14)、GI.6 (50.0%, 7/14)、GI.14 (7.1%, 1/14)、GI Not Typed (NT) (14.3%, 2/14)、GIIはGII.2 (12.4%, 48/386)、GII.3 (3.6%, 14/386)、GII.4 (66.6%, 257/386)、GII.6 (3.1%, 12/386)、GII.7 (0.5%, 2/386)、GII.11 (0.3%, 1/386)、GII.12 (2.6%, 10/386)、GII.13 (6.0%, 23/386)、GII NT (4.9%, 19/386) に分類される NoV が検出された。また、GII.2/GII.13、GI.14/GII.13、GII.2/GII.3 の混合事例がそれぞれ1事例、GI.6/GII.4、GII.3/GII.4 の混合事例がそれぞれ2事例、GII.4/GII.6/GI.4 の混合事例も1事例認められた。NoV による集団感染408事例中GII.4が63.0% (257/408) を占めていた (図1)。

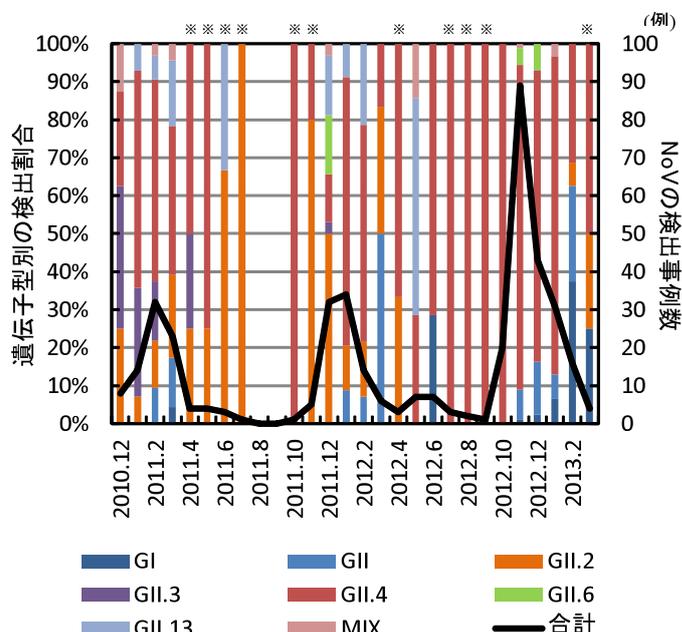


図1. 大阪府内におけるNoVの月別検出状況 ※は5事例未満を示す。

2011年度および2012年度における事例別遺伝子型別状況を図2A, Bに示した。GII.4の占める割合は混合事例を含めると2011年度43.3% (45/104)、2012年度79.2% (179/226)と、2012年度はGII.4の占める割合が急増した(図2A, B)。

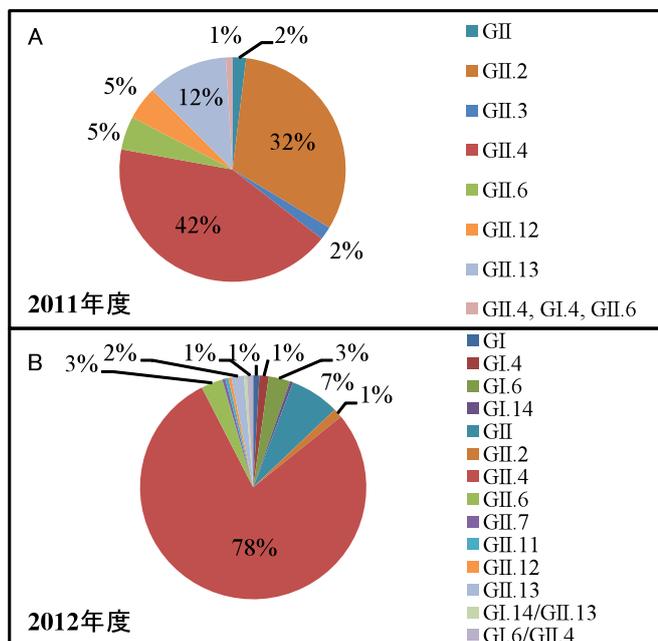


図2. 大阪府内における2011(A), 2012(B)年度のNoV型別検出状況

II. 新規ノロウイルス **GII.4** 亜型の同定

GII.4 亜型に焦点を当て解析すると、2011年度は、Den_Haag_2006b (28.9%, 13/45)、New_Oriens_2009 (44.4%, 20/45)、2012年度は Den_Haag_2006b (7.6%, 14/184)、New_Oriens_2009 (3.3%, 6/184)、Sydney_2012 (87.0%, 160/184)が検出された。亜型の推移を毎月に見ると、2012年7月までは Den_Haag_2006b や New_Oriens_2009 が流行の主体となっていたが、2012年8月以降、流行の主体が急速に Sydney_2012 に置き換わり始めた(図3)。2012年12月以降、従来主流であった Den_Haag_2006b や New_Oriens_2009 は検出されていない。

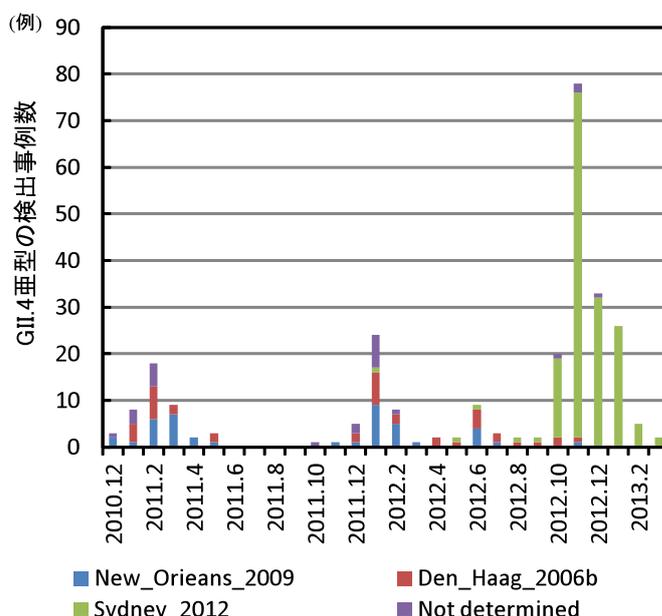


図3. 大阪府内におけるGII.4に起因する集団感染事例数の亜型別の月別推移

III. ノロウイルス **GII.4** の施設別検出状況

GII.4 に起因する集団感染事例を施設別に解析すると高齢者施設 48.5% (127/262)、幼稚園/保育所 34.4% (90/262)、社会福祉施設 5.7% (15/262)、小学校/中学校 4.6% (12/262)、医療機関 3.0% (8/262)、その他 3.8% (10/262)で発生していることが明らかになった。Sydney_2012 は、2012年1月に大阪府内で発生した社会福祉施設における集団感染事例から日本で初めて検出された。その後、4月に幼稚園、6月に小学校、8月から9月にかけて幼稚園における集団感染事例で検出された。10月以降、幼稚園や保育所を中心とした低年齢層で感染が拡大し、高齢者へと感染が拡大していった(図3, 図4)。

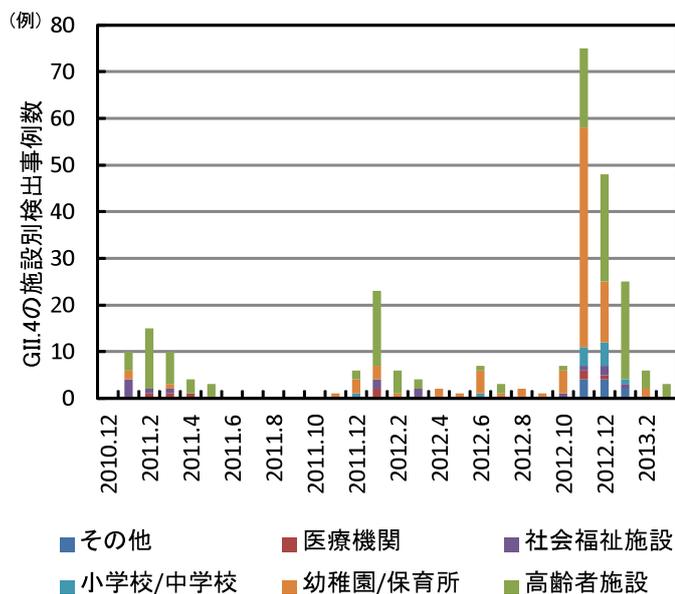


図4. 大阪府内におけるGII.4に起因する集団感染事例数の発生施設別の月別推移

次に高齢者施設と幼稚園/保育所における遺伝子型別の NoV 検出状況について解析した。2011 年度に遺伝子型が決定できたものの中で、高齢者施設では 1 種類、幼稚園/保育所では 7 種類(NT は除く)の遺伝子型の NoV が検出された(表 2)。高齢者施設においては GII.4 が 96.8% (30/31)と検出された NoV の殆どを占めているのに対して、幼稚園/保育所では 17.4% (8/46)であった(表 2)。また、2012 年度については、幼稚園/保育所において、8 種類(NT は除く)の遺伝子型の NoV が検出されていたが、GII.4 が 79.0% (79/100)を占めており、GII.4 による感染拡大が確認された(表 2)。

表2. 大阪府内における2011, 2012年度の施設別 NoV検出状況

遺伝子型	高齢者施設		幼稚園/保育所	
	2011年度	2012年度	2011年度	2012年度
NoV NT	0	8 (9.8)	0	5 (5)
GII NT	1 (3.2)	0	1 (2.2)	0
GII.2	0	0	16 (34.8)	1 (1)
GII.3	0	0	2 (4.3)	0
GII.4	30 (96.8)	72 (87.8)	8 (17.4)	79 (79)
GII.6	0	0	5 (10.9)	6 (6)
GII.7	0	0	0	0
GII.11	0	0	0	1 (1)
GII.12	0	0	3 (6.5)	0
GII.13	0	1 (1.2)	10 (21.7)	2 (2)
GI NT	0	0	0	1 (1)
GI.6	0	1 (1.2)	0	3 (3)
GI.3	0	0	0	0
GI.4	0	0	1 (2.2)	1 (1)
GI.14	0	0	0	1 (1)
合計	31	82	46	100

NT: Not Typed
(): %

考 察

感染性胃腸炎は発生頻度が高く公衆衛生上重要な感染症である。世界的に NoV に起因する集団感染事例の発生が頻繁に報告されている [1-2]。大阪府内において2010年12月から2013年3月に発生した非細菌性胃腸炎集団感染433事例中、NoVに起因するものが94.2%を占め、NoVによる集団感染408事例中、GII.4が257事例(63.0%)を占めていた。2003年以降 GII.4 の検出が増加してきたが、当時は流行株の一部に過ぎなかった。しかし、2006年の Den_Haag_2006b の出現とともに世界各国に感染が拡大し、急速に日本に伝播し大流行を起こした [18]。それ以降、抗原性に重要なカプシドタンパクの可変領域アミノ酸配列に変異が入ることにより、GII.4 型 NoV は世界各地で周期的に流行を引き起こしてきた [17]。

2012年度についても流行する GII.4 の亜型に変化が確認された。新しい亜型の Sydney_2012 は、2011年に上海 [19]、イタリア [20]、バングラディッシュ [21] などで散発性胃腸炎患者から検出されはじめた。日本国内では、2012年1月に大阪府内の社会福祉施設における集団感染事例で初めて検出された [22-23]。その後、2010年度および2011年度の流行の主体となった Den_Haag_2006b や New_Oriens_2009 が Sydney_2012 に急速に置き換わり、2012年度の流行の主体となった。

Sydney_2012 は、アメリカ、ヨーロッパ、オーストラリア、アジアなどの地域でも時を同じくして流行が確認され [24]、大阪府内においても同じ現象が確認された。今回の大阪府全域における流行解析により、低年齢層から高齢者層へと感染が拡大したことが明らかになった。

Sydney_2012 については、カプシドタンパクの可変領域アミノ酸配列の変異が確認されており [17]、抗原性の乖離により集団免疫を回避して感染が拡大した可能性が指摘されている [25]。今回の我々の疫学データもその可能性を強く示唆している。

左近らは大阪府内における長期間に渡る NoV 遺伝子型の解析結果から、小児における集団感染では様々な遺伝子型の NoV が検出されると報告している [26]。しかし、2012 年度は Sydney_2012 が小児における集団感染の主体となり、Den_Haag_2006b が流行した 2006 年度と同様の傾向であった [26]。NoV に対する免疫は 4-8 年持続すると報告されているが [27]、Sydney_2012 は小児の集団免疫を回避する変異を獲得した可能性が示唆される。

NoV に起因する散发性胃腸炎や集団感染事例は依然として多い。NoV の変異と流行の関係は完全には明らかにされていないため、今後も適切なサーベイランスによる流行状況の把握、並びに遺伝子型別による流行株の解析を行う必要がある。今後さらに、カプシドタンパクのエピトープの変異と流行との関連性を明らかにし、流行抑止やワクチン開発に繋がる知見を蓄積していく必要があると考えられる。

謝辞 本研究に御協力頂いた大阪府健康医療部保健医療室医療対策課、大阪府保健所検査課、大阪市保健所、堺市保健所の方々に深謝いたします。

文 献

- 1) Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, Verhoef L, Premkumar P, Parashar UD, Koopmans M, Lopman BA. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases* 27: 725-730 (2014)
- 2) Patel MM, Hall AJ, Vinjé J, Parashar UD. Noroviruses: a comprehensive review. *Journal of Clinical Virology* 44:1-8 (2009)
- 3) Lopman BA, Reacher MH, Vipond IB, Sarangi J, Brown DW. Clinical manifestation of norovirus gastroenteritis in health care settings. *Clinical Infectious Diseases* 39:318-324(2004)
- 4) Beller M, Ellis A, Lee SH, Drebot MA, Jenkerson SA, Funk E, Sobsey MD, Simmons OD. Outbreak of viral gastroenteritis due to a contaminated well: international consequences. *The Journal of the American Medical Association* 278:563-568 (1997)
- 5) Teunis PF, Moe CL, Liu P, Miller SE, Lindesmith L, Baric RS, Le Pendu J, Calderon RL. "Norwalk virus: how infectious is it?" *Journal of Medical Virology* 80:1468-1476 (2008)
- 6) U. Parashar, E. S. Quiroz, A. W. Mounts et al., "Norwalk-like viruses". *Public health consequences and outbreak management. MMWR - Recommendations and Reports* 50: 1-17 (2001)
- 7) Lopman BA, Adak GK, Reacher MH, Brown DW. Two epidemiologic patterns of norovirus outbreaks: surveillance in England and Wales, 1992-2000. *Emerging Infectious Diseases* 9: 71-77 (2003)
- 8) Mounts AW, Ando T, Koopmans M, Bresee JS, Noel J, et al. Cold weather seasonality of gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses. *Journal of Infectious Disease* 181: 284-287 (2000)
- 9) Jiang X, Wang M, Graham DY, Estes MK. Expression, self-assembly, and antigenicity of the Norwalk virus capsid protein. *Journal of Virology* 66: 6527-6532 (1992)
- 10) Kroneman A, Vega E, Vennema H, Vinjé J, White PA, Hansman G, Green K, Martella V, Katayama K, Koopmans M. Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Archives of Virology* 158: 2059-2068 (2013)
- 11) Motomura K, Oka T, Yokoyama M,

- Nakamura H, Mori H, Ode H, Hansman GS, Katayama K, Kanda T, Tanaka T, Takeda N, Sato H; Norovirus Surveillance Group of Japan. Identification of monomorphic and divergent haplotypes in the 2006-2007 norovirus GII/4 epidemic population by genomewide tracing of evolutionary history. *Journal of Virology* 82: 11247–11262 (2008)
- 12) Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, Takeda N, Katayama K. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 41: 1548–1557 (2003)
- 13) Katayama K, Shirato-Horikoshi H, Kojima S, Kageyama T, Oka T, Hoshino F, Fukushi S, Shinohara M, Uchida K, Suzuki Y, Gojobori T, Takeda N. Phylogenetic analysis of the complete genome of 18 Norwalk-like viruses. *Virology* 299: 225–239 (2002)
- 14) Kageyama T, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, Kojima S, Takai R, Oka T, Takeda N, Katayama K. Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan. *Journal of Clinical Microbiology* 42: 2988–2995 (2004)
- 15) Kroneman A, Vennema H, Deforche K, v d Avoort H, Peñaranda S, Oberste MS, Vinjé J, Koopmans M. An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses. *Journal of Clinical Microbiology* 51: 121-125 (2011)
- 16) ウイルス性下痢症検査マニュアル (第3版)
- 17) Thongprachum A, Chan-it W, Khamrin P, Saparpakorn P, Okitsu S, Takashi S, Mizuguchi M, Hayakawa S, Maneekarn N, Ushijima H. Molecular epidemiology of norovirus associated with gastroenteritis and emergence of norovirus GII.4 variant 2012 in Japanese pediatric patients. *Infection, Genetics and Evolution* 23: 65-73 (2014)
- 18) 国立感染症研究所 感染症疫学センター. ノロウイルスの流行 2006/2007 シーズン. 病原微生物検出情報 28 :277-278 (2007)
- 19) Shen Z, Qian F, Li Y, Hu Y, Yuan Z, Zhang J. Novel norovirus GII.4 variant, Shanghai, China, 2012. *Emerging Infectious Diseases* 19: 1337–1339 (2013)
- 20) Giammanco GM, De Grazia S, Tummolo F, Bonura F, Calderaro A, Buonavoglia A, Martella V, Medici MC. Norovirus GII.4/Sydney/2012 in Italy, winter 2012–2013. *Emerging Infectious Diseases* 19:1348–1349 (2013)
- 21) Rahman M, Nahar S, Afrad MH, Faruque ASG, Azim T. Norovirus variant GII.4/Sydney/2012, Bangladesh. *Emerging Infectious Diseases* 19: 1347–1348 (2013)
- 22) 田村務, 渡邊香奈子, 田澤崇, 渡部香, 広川智香 他. ノロウイルス GII/4 の新しい変異株の遺伝子解析と全国における検出状況. 病原微生物検出情報 33: 333-334(2012)
- 23) 入谷展弘, 改田厚, 阿部仁一郎, 山元誠司, 久保英幸, 平井有紀, 後藤薫, 長谷 篤. 2012-2013 シーズンに大阪市で認められたノロウイルス流行. 大阪市立環境科学研究所所報 調査・研究年報 75:18-22(2013)
- 24) van Beek J+, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, Eden JS, Fonager J, Hewitt J, Iritani N, Kroneman A, Vennema H, Vinjé J, White PA, Koopmans M; NoroNet. Identifications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012. *Euro Surveillance* 18 (2013)
- 25) Debbink K, Lindesmith LC, Donaldson EF, Costantini V, Beltramello M, Corti D, Swanstrom J, Lanzavecchia A, Vinjé J, Baric RS. Emergence of new pandemic GII.4 Sydney norovirus strain correlates with escape from herd immunity. *Journal of Infectious Disease* 208:1877–87 (2013)
- 26) Sakon N, Yamazaki K, Nakata K, Kanbayashi D, Yoda T, Mantani M, Kase T, Takahashi K, Komano J.

Impact of genotype-specific herd immunity on the circulatory dynamism of norovirus: a 10-year longitudinal study of viral acute gastroenteritis. *Journal of Infectious Disease* 211:879-888 (2015)

27) Simmons K, Gambhir M, Leon J, Lopman

B. Duration of immunity to norovirus gastroenteritis. *Emerging Infectious Diseases* 19:1260–1267 (2013)