

資料

2004/05年シーズンにノロウイルス集団 発生事例から検出した遺伝子型GII/4

福田 伸治, 高尾 信一, 桑山 勝, 島津 幸枝, 宮崎 佳都夫

Norovirus genotype GII/4 associated with gastroenteritis outbreaks in 2004/05 season

SHINJI FUKUDA, SHINICHI TAKAO, MASARU KUWAYAMA, YUKIE SHIMAZU and KAZUO MIYAZAKI

(Received Sep. 29, 2005)

2004/05年シーズンにノロウイルス集団胃腸炎事例から検出した遺伝子グループIIの遺伝子型GII/4の特徴について検討した。カプシッド領域の遺伝子231bpを詳細に検討したところ、同じ塩基配列を示すノロウイルスが検出された事例は3つのクラスターに分けられた。クラスター1の事例は瀬戸内海沿岸の南部を中心に、クラスター3の事例は北部で発生しており、地域により流行株に若干の違いが認められた。アミノ酸配列では1事例から検出したノロウイルスを除き、同じ配列であったが、レファレンス株であるLordsdale/93/UK (GenBankアクセッション番号X86557) とは1ヶ所の変異 (アラニン→スレオニン) が認められた。広島県内ではLordsdale/93/UKとは異なった、同じ系統のGII/4が流行していることが示唆された。

キーワード：ノロウイルス, 遺伝子型, Lordsdale

はじめに

ノロウイルス (NoV) は1968年10月に米国オハイオ州ノーウォーク市の小学校で発生した急性集団感染事例で初めて確認されたウイルス[1]で、カリシウイルス科に属している。現在NoVには遺伝子グループIで14型、遺伝子グループIIで17型の遺伝子型の存在が確認されている[2]。これらの中で、遺伝子グループIIの遺伝子型GII/4 (Lordsdaleタイプ) は世界的な流行型となっている[3-7]。本県においても2004/05年シーズンには多くの集団感染事例が届けられ、GII/4が最も多く検出された型であったことから、2004/05年シーズンに流行した遺伝子型GII/4の特徴について検討した。

材料および方法

2004/05年シーズンに発生し、GII/4に属するNoVが検出された12事例およびその対照として2001/02年、2003/04年シーズンに発生したGII/4による3事例の計15事例 (事例19, 42, 44) を用いた。

NoVの検出は10%糞便乳剤からQIAamp viral RNA mini kit (キアゲン) によりRNAを抽出し、厚生労働省の平成15年11月5日付け食安監発第1105001号「ノロウイルスの検査法について」に準じてReverse transcription-PCR

法により行った。そして、open reading frame (ORF) 2のカプシッド領域を増幅したPCR産物からダイレクトシーケンスにより231bpの塩基配列 (アミノ酸配列77残基) を決定し、Clustalwプログラム (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/search/clustalw-j.html>) を用いてアラインメントと系統解析を行った。

結 果

1 GII/4を原因とする集団感染事例の発生状況

2004/05年シーズンにGII/4が検出された原因施設は飲食店3事例、特別養護老人ホーム4事例、老人保健施設1事例、知的障害者授産施設2事例、保育所1事例および病院1事例であった。また、対照とした2001/02年および2003/04年シーズンの3事例は学校1事例、家庭1事例および特別養護老人ホーム1事例であった (表1)。事例42, 46, 48および59は食中毒と考えられる事例であり、複数の遺伝子型が同時に検出された事例42, 48および59は二枚貝が提供された事例であった。その他11事例はヒト→ヒト感染が疑われる事例であった。

2 塩基配列の解析

2004/05年シーズンおよび2001/02年、2003/04年シーズンの15事例から検出したNoV遺伝子型GII/4の塩基配

表1 GII/4を原因とするノロウイルス集団感染事例の概要

事例	発生年月日	有症者数/対象者数	原因施設	遺伝子型
19	01.12.9	16/ 58	学 校	GII/4
42	04. 3. 4	9/ 16	家 庭	G1/14, GII/4
44	04. 4. 8	25/ 51	特 養	GII/4
46	04.12.18	47/110	飲食店	GII/4
47	04.12.17	24/150	特 養	GII/4
48	04.12.26	11/ 56	飲食店	G1//1, GII/4, GII/12
49	04.12.28	28/ 86	特 養	GII/4
50	05. 1. 6	16/ 97	老 保	GII/4
53	05. 1. 4	25/ 80	知 障	GII/4
55	05. 1. 5	25/265	特 養	GII/4
56	05. 1.10	11/170	知 障	GII/4
57	05. 1.12	11/ 62	保育所	GII/4
571	05. 1.17	5/ 98	特 養	GII/4
58	05. 1.21	16/ 97	病 院	GII/4
59	05. 1.27	4/ 7	飲食店	GII/4, GII/6

特養：特別養護老人ホーム，老保：老人保健施設，知障：知的障害者施設，児養：児童養護施設

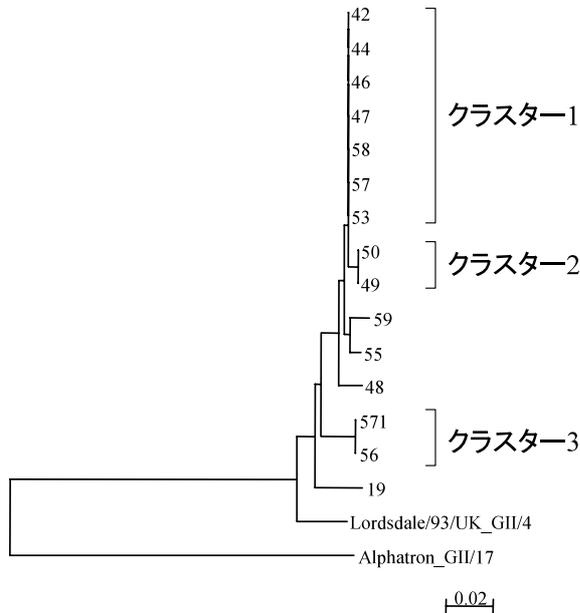


図1 塩基配列に基づく系統樹

GenBankアクセッション番号：
Lordsdale/93/UK, X86557；Alphanon98/NE, AF195847

列から作成した系統樹を図1に示した。同じ塩基配列を示す事例は3つのクラスター分けられた。2001/02年シーズンの事例19と同じ配列を示す事例は認められなかった。クラスター1は7事例（事例42, 44, 46, 47, 53, 57および58）が同じ塩基配列を示し最も多く、その内2事例（42および44）は2003/04年シーズンの事例であった。クラスター2は2事例（49および50）、クラスター3は2事例（56および571）がそれぞれ同じ塩基配列を示した。クラスター1と2、1と3、2と3の相同性はそれぞれ99.5、97.4、96.9%であった。

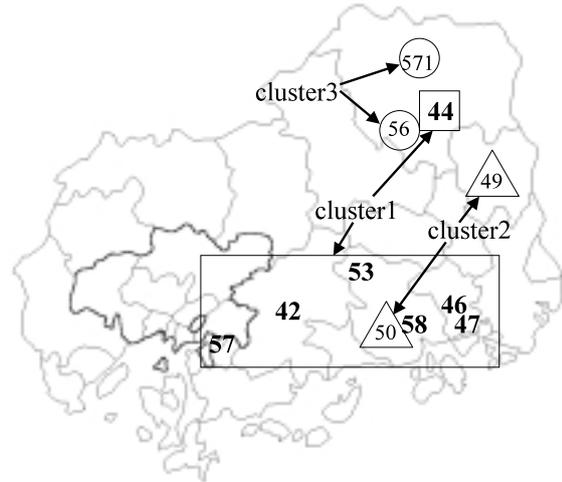


図2 GII/4を原因とするノロウイルス集団感染事例の地理的分布

3 塩基配列に基づく集団感染事例の地理的分布

3クラスターの実例の発生場所を地図上に示した（図2）。クラスター1の6事例は瀬戸内海沿岸の南部に認められ、その内1事例は2003/04年シーズンの事例であった。また、クラスター3の2事例は北部で発生した事例であった。

4 アミノ酸配列の解析

図3にアミノ酸のシーケンスに基づくアラインメントを示した。事例48を除く14事例はすべて同じ配列であった。事例48はレファレンス株であるLordsdale/93/UK（GenBankアクセッション番号X86557）と同じ配列で

Lordsdale/93/UK_GII/4	PSDGSAAANLVPEVNNEVMALEPVVGAIIAAPVAGQQNVIDPWIRNNFVQAPGGFTVSPR
19T.....
42T.....
44T.....
46T.....
47T.....
48T.....
49T.....
50T.....
53T.....
55T.....
56T.....
57T.....
571T.....
58T.....
59T.....
Lordsdale/93/UK_GII/4	NAPGEILWSAPLGPDLN
19
42
44
46
47
49
50
53
56
57
571
58
59

図3 アミノ酸のシーケンスに基づくアラインメント

あった。事例48とその他14事例の配列の違いは1ヶ所のみ認められ、事例48は6番目がA（アラニン）であったのに対し、その他の14事例はT（スレオニン）であった。

考 察

2004/05シーズンに広島県内で発生したNoV集団感染事例は遺伝子型GII/4が主流であり、世界的な状況[3-7]と同じ傾向であった。世界的に広く流行するGII/4には変異株（2002年型および2004年型）が存在することが報告されている[8, 9]。変異はORF1のRNA依存RNAポリメラーゼ領域で起きており、わが国でも2004年型は特別養護老人ホームでの集団発生の多くから検出されている[10]。今回RNA依存RNAポリメラーゼ領域の遺伝子配列は検討していないが、2004/05シーズンに老人関係施設で発生した集団感染事例は5事例あり、2004年型のGII/4であった可能性が高いと考えられる。

塩基配列の解析から、クラスター1に属する7事例から検出したNoVは瀬戸内海沿岸の南部を中心に検出され、クラスター3に属する2事例から検出したNoVは北部で検出された。それぞれの塩基配列の相同性は高く、

細かく分類するのは適当でないかもしれないが、地域による流行株に若干の違いがあったことも示唆される。一方、アミノ酸配列では事例48を除き全く同一であることから、同じ系統のGII/4が流行していたと考えられる。事例48はLordsdale/93/UKと同一のアミノ酸配列であったが、その他の14事例から検出したNoVは6番目のA（アラニン）がT（スレオニン）に変異しており、広島県ではLordsdale/93/UKとは異なったGII/4が流行していると考えられる。

GII/4は世界的に流行が見られるが、病原性および感染力が強くなっているのではないかとされている変異株[8]による流行も世界的に拡大する恐れがあり[9]、遺伝子型GII/4による感染性胃腸炎事例の発生動向については注視する必要がある。NoVには効果の高い薬剤などは無く、病原性が強いGII/4変異株が流行すれば抵抗力の低い乳幼児あるいは高齢者でのリスクが増大することが懸念される。

文 献

[1] Kapikian A. Z., Wyatt R. G., Dolin R., Thornhill T. S., Kalica A. R. and Chanock R. M.: Visualization by

- immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J. Virol.*, 10, 1075-1081, 1972.
- [2] Kageyama T., Shinohara M., Uchida K., Fukushi S., Hoshino F. B., Kojima S., Takai, R., Oka T., Takeda N. and Katayama K.: Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to *Norovirus* in Japan. *J. Clin. Microbiol.*, 42, 2988-2995, 2004.
- [3] Fankhauser R. L., Monroe S. S., Noel J. S., Humphrey C. D., Bresee J. S., Parashar, U. D., Ando T. and Glass R. I.: Epidemiologic and molecular trends of "Norwalk-like viruses" associated with outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J. Infect. Dis.*, 186, 1-7, 2002.
- [4] Dingle K. E.: Mutation in a Lordsdale norovirus epidemic strain as a potential indicator of transmission routes. *J. Clin. Microbiol.*, 42, 3590-3957, 2004.
- [5] Hansman G. S., Doan L. T. P., K Nguyen T. A., Okitsu S., Katayama K., Ogawa S., Natori K., Takeda N., Kato Y., Nishio O., Noda M. and Ushijima H.: Detection of norovirus and sapovirus infection among children with gastroenteritis in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Arch. Virol.*, 149, 1673-1688, 2004.
- [6] Guntapong R., Hansman G. S., Oka T., Ogawa S., Kageyama T., Pongsuwanna Y. and Katayama K.: Norovirus and sapovirus infection in Thailand. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 57, 276-278, 2004.
- [7] 吉澄志摩, 三好正浩, 石田勢津子, 奥井登代: ノロウイルスによる胃腸炎集団発生について—北海道, 2003/04シーズン—. *道衛研所報*, 54, 37-42, 2004.
- [8] Lopman B., Vennema H., Kohli E., Pothier P., Sanchez A., Negredo A., Buesa J., Schreier E., Reacher M., Brown D., Gray J., Iturriza M., Gallimore C., Bottiger B., Hedlund K. O., Torven M., von Bonsdorff C. H., Maunula L., Poljsak-Prijatelj M., Zimsek J., Reuter G., Szucs G., Melegh B., Svennson L., van Duynhoven Y. and Koopmans M.: Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet*, 363, 682-688, 2004.
- [9] Kroneman H., Vennema Y., van Duynhoven Y., Duizer E., Koopmans M.: High number of norovirus outbreaks associated with a GG II.4 variant in the Netherlands and elsewhere: Dose this herald a worldwide increase?. *Eurosurveillance*, 10, 51-52, 2005.
- [10] 西尾治, 秋山美穂, 愛木智香子, 杉枝正明, 福田伸治, 西田知子, 植木 洋, 入谷展弘, 篠原美千代, 木下博一: ノロウイルスによる食中毒. *食衛誌*, 46, 235-245, 2005.