

栃木県内で検出された胃腸炎ウイルスの分子疫学解析

微生物部

齋藤明日美、関川麻実、若林勇輝、渡邊裕子¹、永木英徳

(¹前保健環境センター)

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)、ヒトアストロウイルス (human Astrovirus ; HAstV)、ロタウイルス (Rotavirus ; RoV)、アデノウイルス (Adenovirus ; AdV) などがある。

感染性胃腸炎から検出される病原体はNoVが多くを占めている¹⁾。また、食中毒統計資料²⁾によると、令和5年度の病因物質別食中毒発生状況では、NoVはアニサキス、カンピロバクターの次に多い。NoVは、*VPI* (viral protein 1) 遺伝子の系統解析から2つの遺伝子群 (genogroup) としてGI群及びGII群に分類されている。これら2つの遺伝子群は、GI群では9種類の遺伝子型 (GI.1~GI.9)、GII群では27種類の遺伝子型 (GII.1~GII.27) に分類されている³⁾。さらには *RdRp* 遺伝子と *VPI* 遺伝子の組替えによるキメラウイルスを発生させるため、大流行を引き起こすことがある。

一方SaVは、NoVと同じカリシウイルス属のウイルスでNoVと類似した構造をもち、*VPI* 遺伝子の系統解析から、5つの遺伝子群としてGI群~GV群に分類され、GI群とGII群ではそれぞれ7つの遺伝子型 (GI.1~GI.7、GII.1~GII.7) に細分類されている⁴⁾。SaV感染症の症状はNoVによる症状とよく似ており、病原体を特定するためには遺伝子学的検査が不可欠である。この他に、HAstVなどのウイルスによる胃腸炎も流行しており食中毒を引き起こすが、これらのウイルスについては詳細な解析事例が少なく、地方衛生研究所などで解析することが求められている。

そこで本研究では、2009/2010~2023/2024シーズンの過去15シーズンにわたり、栃木県内で検出された胃腸炎ウイルスの流行状況を解析し、SaV、HAstVについては、詳細な分子疫学解析を行ったので報告する。

2 材料と方法

2.1 材料

2009/2010シーズンから2023/2024シーズン (2024年3月31日まで) に、集団感染性胃腸炎及び食中毒疑い事例で搬入された検体から検出されたNoV、SaV、HAstV、RoV等の胃腸炎ウイルスによる478事例を対象とした。なお、ウイルス性胃腸炎の流行時期は冬季であるため、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の検出は、リアルタイム定量PCR、またはRT-PCRによって実施した。ウイルスが検出された事例について、ダイレクトシーケンス法により、ORF1の*RdRp*領域とORF2の*VPI*領域の塩基配列を解読し*VPI*タイプと*P*タイプを決定した (dual typing)。得られた塩基配列をもとに、Norovirus Genotyping Tool Version 2.0で遺伝子型及び亜型を決定した。AdV及びRoVの検出はイムノクロマト法またはRT-PCRにより行った。HAstVの検出はRT-PCRにより行い、ウイルスが検出された事例はダイレクトシーケンス法で*Capsid*領域の塩基配列を解読し、BLAST検索により血清型を決定した。さらに、SaVの一部については、*VPI*領域全長をPrimer walkingにより解読し、HAstVについては*Capsid*領域の一部分を解読した。得られた配列から最尤法の系統樹を作成した。

3 結果

3.1 2009/2010~2023/2024 (15シーズン) における胃腸炎ウイルス検出状況

過去15シーズンに検出された胃腸炎ウイルス478事例のシーズン毎の検出事例数を表1に示した。検出された胃腸炎ウイルスの内訳は、NoV GI群が17事例 (3.6%)、NoV GII群が399事例 (83.5%)、SaVが35事例 (7.3%)、RoVが17事例 (3.6%)、HAstVが2事例 (0.4%) であった。いずれのシーズンもNoV GII群が多くを占めた。

シーズン毎の検出状況を図1に示した。NoVは*VPI*領域の解析による遺伝子型別で示した。NoVの検出状況は、2009/2010シーズンはGII.4 Den Haag株が主流であり、2013/2014シーズンを除き、2014/2015シーズ

ンまで検出された。2012/2013 シーズンは、GII. 4 Sydney 2012 株が主に検出され、以降、2018/2019 シーズンまで検出された。2014/2015 シーズンには突如 GII. 17 株が検出され、2016/2017 シーズンは GII. 2 株が主流となった。2018/2019 シーズン、2022/2023 シーズン及び 2023/2024 シーズンには、GII. 4 Sydney 2016 株が検出された。また、2020/2021 シーズン以降、Den Haag 株、Sydney 株、New Orleans 株に分類されない GII. 4 株 (GII. 4 other と表示) が多く検出された。

SaV は、ほぼ全てのシーズンで検出され、NoV、SaV 以外のウイルス (other と表示) は 15 シーズン中、7 シーズンにおいて検出された。

表 1 シーズン毎の検出事例数

シーズン	小計	ウイルスの内訳											
		NoV GI群	(%)	NoV GII群	(%)	SaV	(%)	RoV	(%)	HAstV	(%)	other	(%)
2009/2010	28	0	0.0	28	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
2010/2011	17	1	5.9	13	76.5	2	11.8	1	5.9	0	0.0	0	0.0
2011/2012	19	2	10.5	11	57.9	4	21.1	0	0.0	0	0.0	2	10.5
2012/2013	56	4	7.1	48	85.7	4	7.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0
2013/2014	32	1	3.1	31	96.9	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
2014/2015	27	3	11.1	21	77.8	1	3.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0
2015/2016	28	1	3.6	25	89.3	2	7.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0
2016/2017	67	0	0.0	55	82.1	1	1.5	9	13.4	0	0.0	2	3.0
2017/2018	29	0	0.0	25	86.2	3	10.3	0	0.0	0	0.0	1	3.4
2018/2019	48	2	4.2	37	77.1	3	6.3	6	12.5	0	0.0	0	0.0
2019/2020	12	2	16.7	10	83.3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
2020/2021	18	1	5.6	16	88.9	1	5.6	0	0.0	0	0.0	0	0.0
2021/2022	22	0	0.0	16	72.7	5	22.7	0	0.0	0	0.0	1	4.5
2022/2023	34	0	0.0	24	70.6	7	20.6	1	2.9	2	5.9	0	0.0
2023/2024	41	0	0.0	39	95.1	2	4.9	0	0.0	0	0.0	0	0.0
合計	478	17	3.6	399	83.5	35	7.3	17	3.6	2	0.4	6	1.3

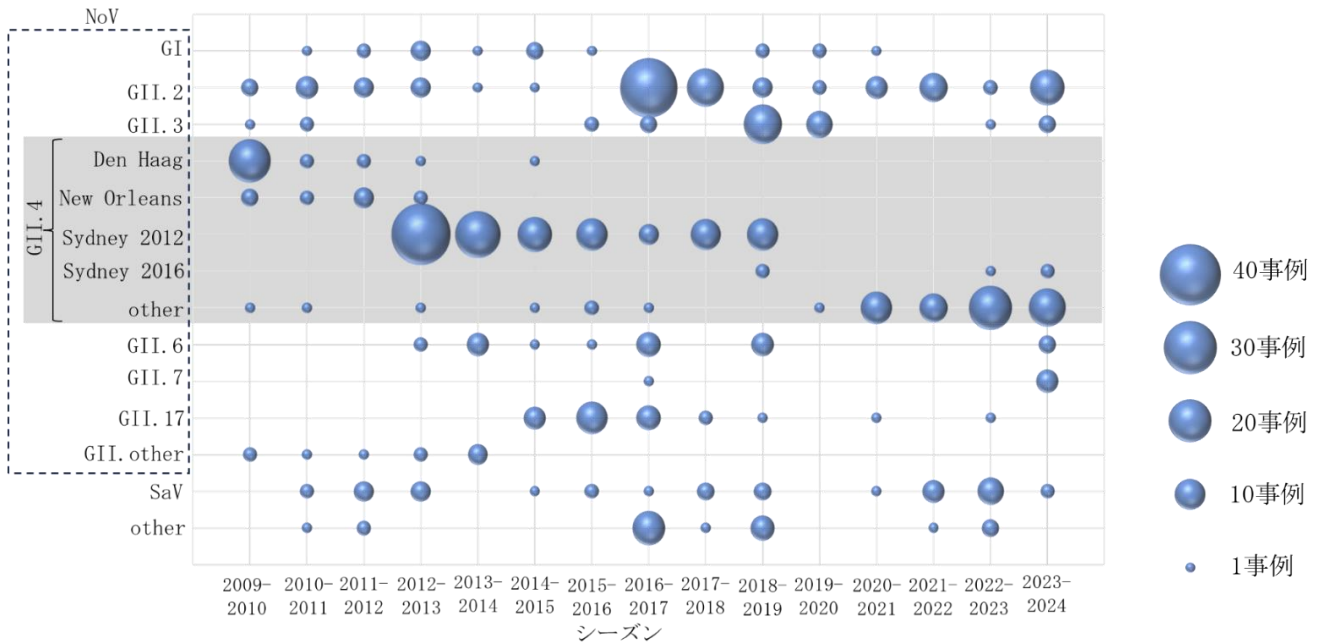


図 1 シーズン毎の検出状況 (丸の大きさは検出事例数の程度を表す)

3.2 2017/2018~2023/2024 (7 シーズン) の胃腸炎ウイルス検出状況

過去 7 シーズン 204 事例の検出状況を図 2 に示した。NoV は dual typing の結果で表示した。NoV GII. 2[P16] (21.1 %) と NoV GII. 4[P31] (20.1 %) が多く検出され、次いで NoV GII. 4[P16] (16.7 %) が検出された。

その他 NoV GII.3[P12] (12.3%)、SaV (10.3%) などが検出された。

3.3 2017/2018~2022/2023 (7シーズン) の事例別の胃腸炎ウイルス検出状況

過去7シーズンの事例別の検出状況を図3に示した。食中毒疑い事例の41事例では、NoV GII.4[P31] (22.0%) が最も多く検出されたのに対し、集団感染性胃腸炎の163事例ではNoV GII.2[P16] (23.3%) が最も多く検出された。

NoV 以外では、食中毒疑い事例ではSaV、RoVが検出された。2023年3月にはRoVが検出され、栃木県初のRoVによる食中毒事件であった。集団感染性胃腸炎事例ではSaV、RoV、HAstV、AdV (otherに含む) が検出された。HAstVは2023年5月及び6月に1事例ずつ検出され、その血清型はそれぞれ4型、1型であった。栃木県内で集団感染性胃腸炎からHAstVが検出されたのは5月の事例が初めてであった。

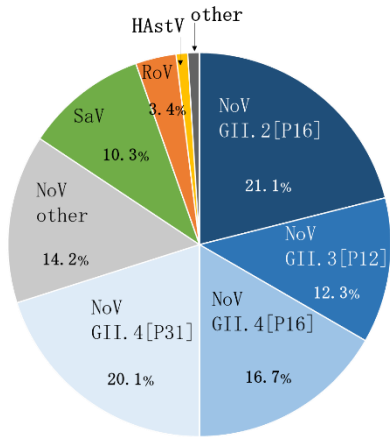


図2. 過去7シーズン 204 事例の検出状況

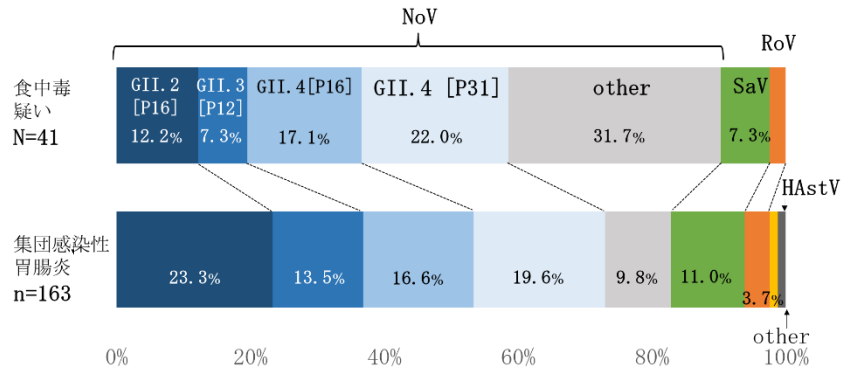


図3. 過去7シーズンの事例別の検出状況

3.4 2009/2010~2023/2024 (15シーズン) における SaV の検出状況と遺伝子型の内訳

過去15シーズンのSaVの検出状況と遺伝子型の内訳を図4に示した。2022/2023シーズンが最多で7事例検出され、2021/2022シーズンには5事例検出された。

遺伝子型の内訳は、2018/2019、2021/2022シーズンはGI.1、2010/2011~2012/2013シーズンはGI.2が主に検出され、2022/2023シーズンに検出されたのはすべてGII.3であった。

3.5 SaV VP1 全領域の系統樹解析

2018/2019シーズン、2021/2022シーズンに検出されたSaV GI.1の代表株(計4株)のVP1全領域による系統樹解析を図5に示した。2021/2022シーズンに検出された3株は、2018/2019シーズンに検出された株と異なったクラスターを形成し、国内の2020年検出株と同一クラスターに位置した。

3.6 HAstV Capsid 領域の系統樹解析

2023年5月及び6月に検出されたHAstVのCapsid領域(一部分)による系統樹解析を図6に示した。5月に検出された血清型4はlineage 4cに分類され、2021年及び2022年に中国で検出された株などと同じクラスターに位置した。また、6月に検出された血清型1はlineage 1aに分類され、2020年及び2021年の東京検出株、2018年フランス検出株などと同じクラスターに位置した。

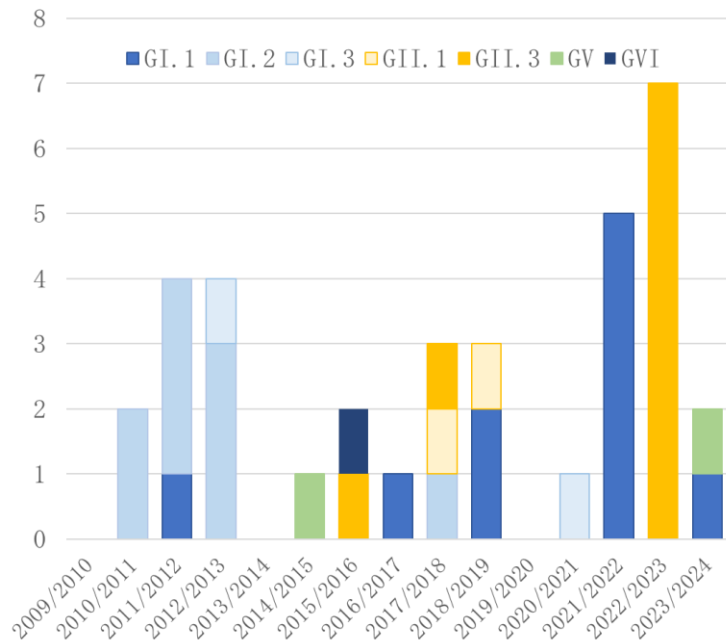


図4. SaV の検出状況と遺伝子型の内訳

4 考察

NoV GII.4 は約2~3年ごとに新たな変異株が出現し、置き代わるように流行してきた⁵⁾。2006年にはGII.4 Den Haag株、2009年にはGII.4 New Orleans株、2012年にはGII.4 Sydney株、2014年にはGII.17変異株(Kawasaki株)が日本を含む世界中で大流行を引き起こした⁶⁾。本研究から、栃木県でも、同様の流行状況であることが示された。

過去7シーズンにおけるNoVのdual typingによる遺伝子型の分類では、食中毒疑い事例ではGII.4[P31]の割合が多かった一方、集団感染性胃腸炎事例ではGII.2[P16]が多かった。集団感染性胃腸炎事例には保育園や小学校などの小児を中心とした事例や、高齢者施設における事例が多く、食中毒事例は成人から採取された検体が搬入されることが多い。今後、検出される遺伝子型の違いについて年齢層の違いなどを詳細に解析する必要がある。

今回の解析では、ほとんどのシーズンからSaVが検出され、食中毒疑い事例からもSaVが検出された。他の自治体においてもSaVの食中毒が発生している⁷⁾。シーズンにより検出されたSaVの遺伝子型は異なっていたが、その中でもGI.1とGI.2が多かった。全国でもGI群が多く検出されているが、その他の遺伝子群も検出されている¹⁾。しかし、全国的にSaVは検出数が少なく、流行状況には不明な点が多いため、今後も継続してデータを蓄積していく必要がある。

県内では過去に食中毒疑い事例からRoVを検出したことがあったが⁸⁾、2023年1月にはRoVによる食中毒事件が発生した。さらには2023年6月にHAstVによる集団感染性胃腸炎が2事例発生した。本研究によりNoV以外の多様なウイルスによる集団感染性胃腸炎及び食中毒疑い事例が発生することが示された。食中毒には調理従事者により汚染した食品を介する事例が多いことから、NoV以外にも食中毒の原因となる。そのため、食中毒事例だけでなく、集団感染や散発の事例について原因ウイルスの詳細な分子疫学的情報を解析してフィードバックすることは、食中毒の予防や実地疫学調査などに重要である。

文献

- 1) 国立感染症研究所 ノロウイルス等検出速報 (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-noro.html>)
- 2) 厚生労働省 食中毒統計資料
(https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html)
- 3) Preeti Chhabra et al., Updated classification of norovirus genogroups and genotypes, J Gen Virol, 2019 Oct;100(10):1393-1406.
- 4) Tomoichiro Oka et al., Comprehensive Review of Human Sapoviruses, Clin Microbiol Rev. 2015 Jan;28(1):32-53.
- 5) Vinjé J et al., Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus, J Clin Microbiol, 53, 373-381, 2015.
- 6) Kumazaki M et al., 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, e0142568, 2015.
- 7) Shuzo Usuku et al., An Outbreak of Food-Borne Gastroenteritis Due to Sapovirus among Junior High School Students, Jpn. j Infect. Dis., 61, 438-441, 2008
- 8) Fuminori Mizukoshi et al., A food-borne outbreak of gastroenteritis due to genotype G1P[8] rotavirus among adolescents in Japan, Microbiol Immunol. 2014 Sep;58(9):536-9

Sapovirus GI.1

VP1 Gene (1683 nt : Complete)

Maximum Likelihood method
Kimura 2-parameter model
+ Gamma distribution
Bootstrap test (1000 replicates)

青字 : 今回解析株

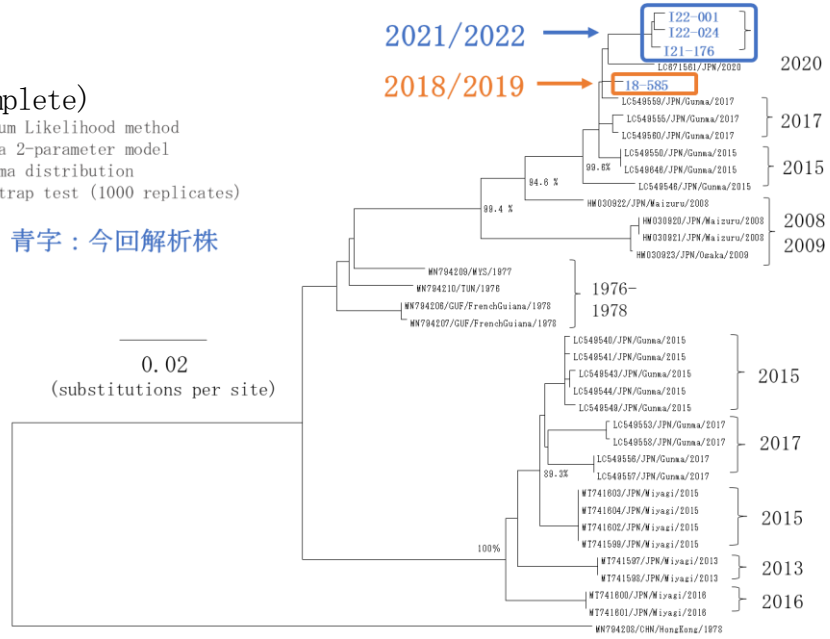


図5. 2018/2019、2021/2022 シーズンに検出された SaV GI.1 の系統樹解析

HAstV 4 (2023年5月)

Capsid Gene (532nt:4338-4869)

Maximum Likelihood method
Kimura 2-parameter model
+ Gamma distribution
Bootstrap test (1000 replicates)

今回解析株

