

長野県におけるノロウイルス胃腸炎集団発生事例 (平成23～27年度)

水澤哲也¹・粕尾しず子²・高畠乃利子³・西澤佳奈子⁴・
藤井ますみ⁴・竹内道子⁴・中沢春幸⁴

キーワード：ノロウイルス，集団発生，遺伝子型，変異株，GII.4，GII.17

1 はじめに

ノロウイルス（以下，NoV）は，例年冬季に流行し，下痢，嘔吐を主徴とする急性胃腸炎を引き起こす¹⁾。食中毒としてはカキをはじめとする2枚貝が原因食品として注目されている^{2) 3)}が，近年，感染者により食品や調理器具が汚染され発生する食中毒事例も多発している^{1) 4)}。また食中毒以外にも，当該ウイルスの強い感染力からヒト-ヒト感染を起し集団感染となる事例も認められる¹⁾。

NoVは，カリシウイルス科に属する1本鎖RNAウイルスで，5つの遺伝子群（GenogroupI～V）に分けられる。その内，ヒトに感染するのはGenogroupI（以下，GI），GenogroupII（以下，GII），GenogroupIVで，特にGIとGIIは集団感染事例の原因ウイルスとなることが多い。さらに，GIは9種類（GI.1～9），GIIは22種類（GII.1～22）の遺伝子型に分類され，それぞれの遺伝子型ごとに抗原性が異なることが報告されている^{5) 6)}。またNoVは遺伝子の変異速度が非常に速く⁷⁾，従来の株とは抗原性が異なる変異株がしばしば出現することが流行状況を左右する原因にもなっている⁸⁾。このため，毎年継続してNoVを検査・解析することは重要である。

そこで，本稿では平成23～27年度の5年間に長野県内で発生した集団感染事例の検査結果を集計，解析したので報告する。

2 材料および方法

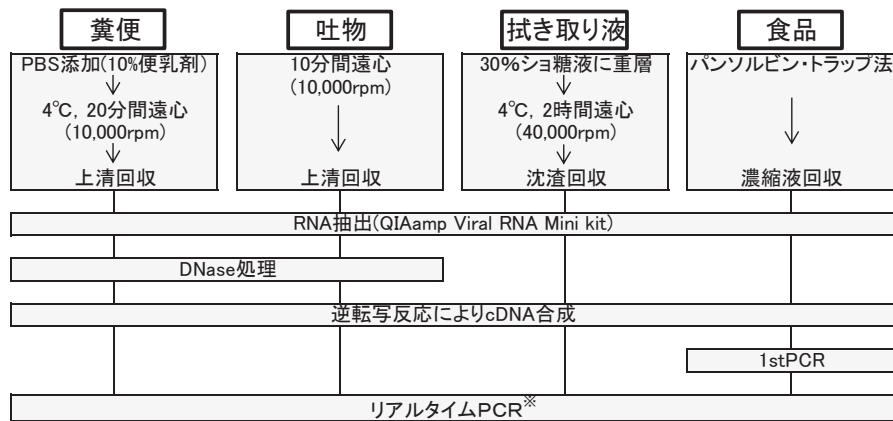
2.1 検査材料

平成23～27年度に長野県内（長野市を除く）で集団発生した急性胃腸炎事例のうち，ウイルス性食中毒が疑われ当所で検査を実施し，複数の患者からNoVが検出された64事例1,084検体を対象とした。検体の内訳は糞便980検体（従業員589検体，患者391検体），吐物16検体，食品23検体，その他（拭き取り液等）65検体であった。

2.2 NoVの検出と遺伝子型別

NoVの検出は厚生労働省通知⁹⁾に準じて実施した(図1)。NoVが検出された検体の一部については，Capsid領域に特異性のあるプライマー（GI:COG1F/G1-SKR，GII:COG2F/G2-SKR）でVeriti200（ABI社）を用いてRT-PCR法で増幅後，電気泳動により特異バンド（GI:381bp，GII:387bp）を確認した。得られた増幅産物はQIAquick PCR Purification Kit（QIAGEN社）を用いて精製後，ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer（ABI社）を使用してダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定した。得られた塩基配列からNorovirus Genotyping Tool (<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>)により遺伝子型別を行い，MEGA6プログラム¹⁰⁾を用いて近隣結合法（NJ法）による系統樹解析を実施した。

1 長野県環境保全研究所 感染症部 〒380-0944 長野市安茂里米村 1978
(現：長野県上田保健福祉事務所 〒386-8555 上田市材木町 1-2-6)
2 長野県環境保全研究所 感染症部 〒380-0944 長野市安茂里米村 1978
(現：長野県長野保健福祉事務所 〒380-0936 長野市中御所岡田 98-1)
3 長野県環境保全研究所 感染症部 〒380-0944 長野市安茂里米村 1978 (2017年3月退職)
4 長野県環境保全研究所 感染症部 〒380-0944 長野市安茂里米村 1978



※ 食品検体については、1stPCR産物を用いたnestedリアルタイムPCR法を実施

図1 ノロウイルス検出方法

表1 年度別遺伝子型検出数

遺伝子型 ^{※1}	検出事例数					合計
	H23	H24	H25	H26	H27	
GI	GI.2	1				1
	GI.3				2	2
	GI.6			1		1
GII	GII.2	1				1
	GII.3			1	2	3
	GII.4	8	14	10	5	3
	GII.5		1			1
	GII.6	1		2	1	4
	GII.12	1				1
	GII.17				4	4
GI+GII ^{※2}	GI.NT+GII.12	1				1
	GI.2+GII.17				1	1
合計	12	16	14	11	11	64

※1 遺伝子型別ができなかった事例についてはGI.NTとした

※2 複数の遺伝子型が検出された事例

3 結果および考察

3.1 Genogroup 別の検出状況

調査を行った64事例におけるGenogroup別検出結果は、GIは4事例(6.3%)、GIIは58事例(90.6%)から検出され、同一事例からGIとGIIが検出されたのは2事例(3.1%)であった(表1)。

64事例中、疫学調査の結果から保健所により食中毒と判断されたのは37事例で、そのうち同一事例からGIとGIIが検出された2事例は、喫食調査からカキが感染源であると推定された。吉澄ら³⁾によると、カキによるNoV感染事例では、当県での事例の様に同一事例、同一検体から複数の遺伝子型のNoVが検出されることが多い傾向にある。

NoVが検出された64事例を施設別に分類すると、

飲食店(弁当・仕出し含む)30事例(46.9%)、旅館25事例(39.1%)、福祉施設3事例(4.7%)、学校・保育園3事例(4.7%)、医療機関1事例(1.6%)、魚介類販売業1事例(1.6%)、公共施設1事例(1.6%)となり、飲食店と旅館の事例数で全体の85.9%を占めた(表2)。

また食中毒と判断された37事例の施設別内訳は飲食店18事例、旅館15事例、学校・保育園2事例、医療機関1事例、魚介類販売業1事例となり、飲食店と旅館の事例数で89.2%を占めた。全国におけるNoV食中毒の施設別発生状況^{11)・12)}(平成23~27年)は、飲食店で最も発生事例数が多く、次いで旅館の順であり、今回の調査と同様であった。しかし、旅館での発生割合は全国統計では9.1%であるのに対し、当県では40.5%と高い傾向が認められた。当

県は県内外から観光などで多くの人が訪れ¹³⁾、全国の都道府県の中で最も宿泊施設数（ホテル、旅館、簡易宿所を含む旅館業施設）が多く¹⁴⁾、それが旅館での発生割合が高い要因の一つになっているものと考えられた。

検査を行った1,084検体のうちNoVが検出されたのは524検体で、検体種類別では糞便500検体（従業員149検体、患者351検体）、吐物15検体、食品0検体、その他9検体であった。検体ごとのGenogroup別検出状況は、GIが34検体（糞便30検体、吐物4検体）、GIIが483検体（糞便463検体、吐物11検体、その他9検体）で、同一検体からGIとGIIが共に検出されたのは7検体で全て糞便検体であった。

3.2 遺伝子型別の検出状況

Capsid領域の塩基配列を用いた遺伝子型別の結果、GIが検出された4事例の内訳はGI.3が2事例、GI.2とGI.6が1事例であった。GIIが検出された58事例の内訳はGII.4が40事例、GII.17が8事例、GII.6が4事例、GII.3が3事例、GII.2、GII.5、GII.12が1事例であった。なお、GIとGIIが共に検出された2事例のうち、1事例のGIは検体からの検出量が少ないため型別不能となった（表1）。

年度ごとの遺伝子型の検出状況は、GII.4が平成23～27年度まで毎年検出され、特に平成23～25年度の3年間は検出事例数が多かった。平成26、27年度はGII.4と共にGII.17が検出されるようになり2つの遺伝子型による検出事例数は同程度であった。その他の遺伝子型では、GII.6は平成

23、25、26年度、GI.2は平成24、26年度、GII.3は平成25、27年度に検出され、GI.3、GI.6、GII.2、GII.5、GII.12の検出は単年度のみであった。

検出事例数では、複数の遺伝子型が検出された事例を除きGIIは93.5%（62事例中58事例）で、GIに比べGIIが集団感染を起し易い遺伝子群であることが推察された。なかでもGII.4はGIIの69.0%（58事例中40事例）と半分以上を占め、次いでGII.17が13.8%（8事例）となり、GIIでも特定の遺伝子型で多発する傾向にあった。同様の傾向が全国でも認められ地域特異性はなく、既存の報告^{4) 8) 12)}のとおり、これらの遺伝子型が広域流行を引き起こすことが裏付けられた。

施設別の検出遺伝子型は、飲食店ではGIIが6遺伝子型、旅館ではGIが3遺伝子型、GIIが3遺伝子型で、特にこの2つの業種で多くの遺伝子型が検出された（表2）。これは、旅館や飲食店は年齢、性別を問わず様々な地域からの不特定多数が利用し、取り扱う食材も豊富なことから、複数の遺伝子型に暴露する機会が多いためと考えられた。また学校・保育園での発生は3事例で、遺伝子型は事例ごとに相違（GII.2、GII.6、GII.17）していた。左近ら⁴⁾によると、3-14歳年齢層による集団発生事例の主要な遺伝子型は、GII.4流行シーズンであっても他の遺伝子型が検出されることがあり、シーズンごとに多様性に富んでいることを報告しており、この多様性が各事例の発生状況に反映している可能性が推察された。

なお、食中毒と判断された37事例における事例ごとの遺伝子型は、GII.4が22事例、GII.17が6事

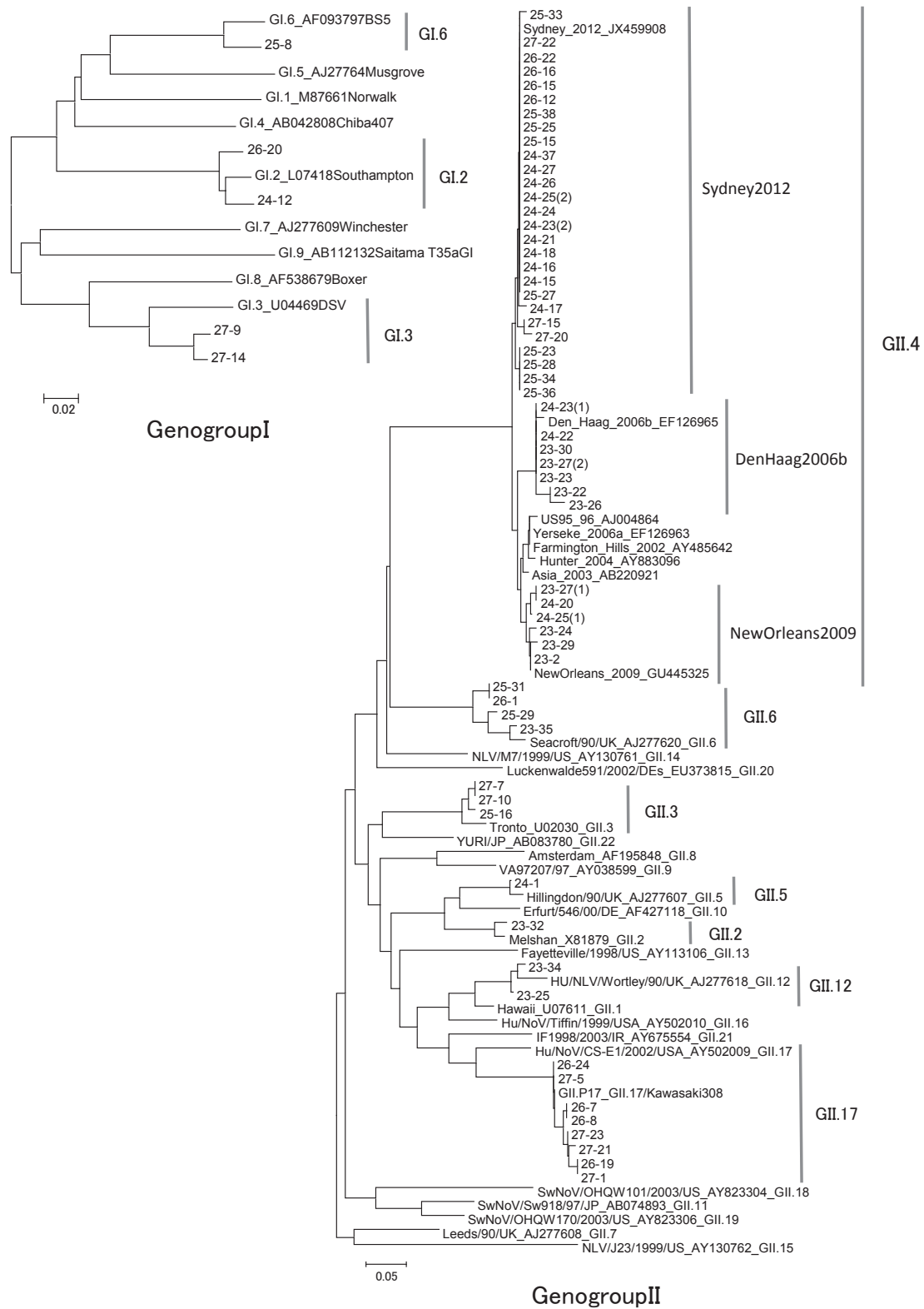
表2 施設別遺伝子型検出数

遺伝子型 ^{※1}	検出事例数							合計	
	飲食店 ^{※2}	旅館	福祉施設	学校・保育園	医療機関	魚介類販売	公共施設		
GI	GI.2		1					1	4
	GI.3		1	1				2	
	GI.6		1					1	
GII	GII.2	1						1	58
	GII.3	1	1		1			3	
	GII.4	21	15	2			1	40	
	GII.5					1		1	
	GII.6	3			1			4	
	GII.12	1						1	
GII.17	1	6		1			8		
GI+GII ^{※3}	GI.NT+GII.12	1						1	2
	GI.2+GII.17	1						1	
合計	30	25	3	3	1	1	1	64	

※1 遺伝子型別ができなかった事例についてはGI.NTとした

※2 弁当・仕出しを含む

※3 複数の遺伝子型が検出された事例



※ 長野県内検出株名(検出年度-事例No)

図2 Genogroup I, II の系統樹解析

例, GII.6 が 2 事例, GI.3, GI.6, GII.3, GII.5, GII.12 がそれぞれ 1 事例, カキ由来と推定された GI と GII の混合検出が 2 事例であった。

3.3 系統樹解析

Capsid 領域の塩基配列を用いて, Genogroup ごとに系統樹解析を実施した (図 2)。

その結果, GI ではそれぞれの遺伝子型の標準株⁵⁾ と同一クラスターに属しており, 特に同一年度に発生した GI.3 の 2 事例は相同性が高かった。

GII において, GII.4 は大きく 3 つのクラスターを形成し, GII.4 変異株である DenHaag2006b 類似株 (以下, 2006b) に 5 事例, NewOrleans2009 類似株 (以下, 2009) に 4 事例, Sydney2012 類似株 (以下, 2012) に 28 事例が分類された。年度ごとの各類似株検出状況は, 平成 23 年度は 2006b と 2009, 平成 24 年度には 2006b, 2009 と 2012 が混在して検出され (図 3), 同一事例に異なる変異株が検出されたものが 3 事例 (平成 23 年度 1 事例 (2006b + 2009), 平成 24 年度 2 事例 (2006b + 2012, 2009 + 2012)) 確認された。平成 25 年度以降に検出された GII.4 は全て 2012 であった。また, 平成 26, 27 年度に検出された GII.17 は全て GII.17 変異株である Kawasaki308 と同一クラスターを形成した。GII.17 変異株は平成 26 年度に長野県を含む関東近隣で

確認され, その後全国で検出されている^{12), 15), 16)}。 GII.17 変異株は従来の株とは抗原性が異なり, 免疫を持つヒトが少ないため大流行する可能性が懸念されていたが, GII.4 の 2012 変異株が初めて流行した平成 24 年度に比べ, GII.17 が検出された平成 26, 27 年度の事例数は少なく, 全国における感染性胃腸炎の発生状況も平年並みであった¹²⁾。 NoV サーベイランスと集団感染事例を基に検討した齋藤ら¹⁷⁾によると, GII.17 は環境中に広く蔓延しているが, 弱毒で症状が軽いため流行として顕在化しにくいと推察しており, このため当県でも集団感染事例が多発しなかった可能性が考えられる。

4 まとめ

左近ら⁴⁾の報告では, ノロウイルスの遺伝子型特異的免疫は約 2 年間持続すると推察されている。しかし, 再感染してもウイルスは既に抗原性の変異を伴っており, 特に世界的流行を起している GII.4 は数年おきに抗原性の変異を伴う変異株が出現している。このため, 獲得免疫は遺伝子型特異的ではなくウイルス株特異的と認識されている。2006b, 2009 は平成 23 年度流行の主流であり, シーズンを重ねるごとに変異を蓄積してきたが, 平成 24 年度に出現した 2012 に主流が移行した。2012 も同様に変異

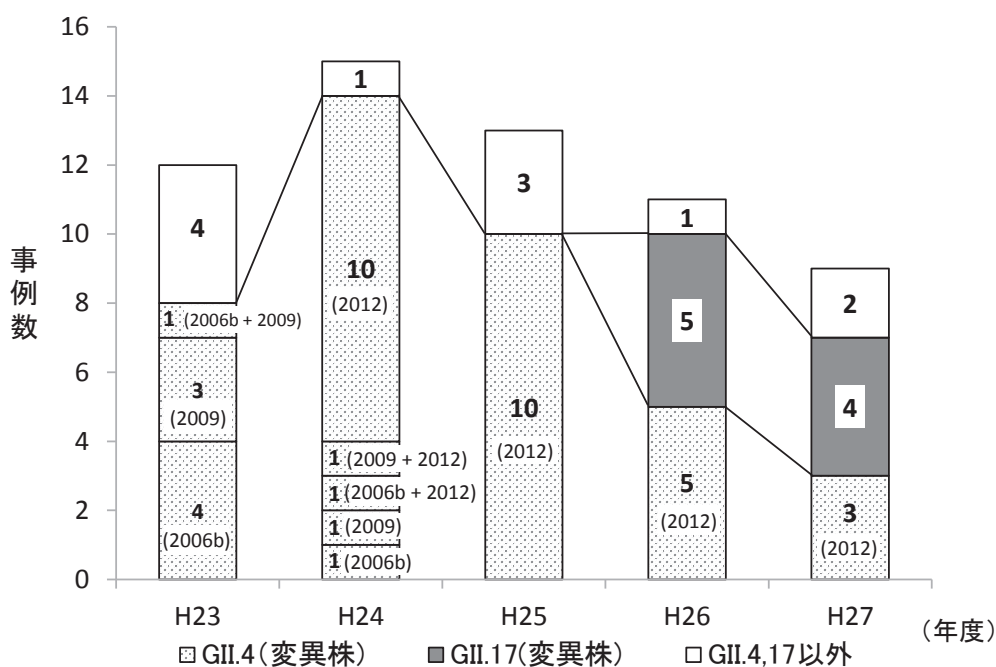


図 3 県内で検出されたノロウイルス GII の遺伝子型別事例数

を繰り返すものと思われるが、これまでの経緯から新たな変異株の出現も想定される。さらに平成 26, 27 年度には従来の株とは抗原性が異なる GII.17 変異株が検出されるなど、NoV の流行状況はそのシーズンに蔓延する流行株の特性に依存している。このため、今後も NoV の検出と遺伝子解析を実施し、流行株の動向を監視することが重要と思われる。

文 献

- 1) Ozawa K, Oka T, Takeda N, Hansman GS. : Norovirus infections in symptomatic and asymptomatic food handlers in Japan. *J Clin Microbiol*, 45 (12), 3996-4005 (2007)
- 2) 西田知子 他：国内産食用カキのノロウイルス汚染状況, *IASR*, Vol. 26, 335-337 (2005)
- 3) 吉澄志磨 他：二枚貝関連の食中毒疑い事例における各種胃腸炎ウイルスの関与—北海道, *IASR*, Vol. 32, 361-363 (2011)
- 4) 左近直美 他：ノロウイルスの流行と遺伝子型, *食微誌*, 33 (3), 97-106 (2016)
- 5) 片山和彦, 木村博一：ノーウォークウイルス (ノロウイルス) の遺伝子型 (2015 年改訂版), *IASR*, 2015 : <http://www.nih.go.jp/niid/ja/norovirus-m/norovirus-iasrs/5913-pr4274.html>
- 6) Kroneman A, et al. : Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Arch Virol*, 158 (10), 2059-68 (2013)
- 7) 木村博一 他：ノロウイルス主要抗原遺伝子 (VP1 gene) の分子進化, *IASR*, Vol.35, 170-171 (2014)
- 8) 本村和嗣 他：ノロウイルスのゲノム解析と流行発生のしくみ, *感染症誌*, 86, 563-568 (2012)
- 9) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知：ノロウイルスの検出法について, 食安監発第 1105001 号, 平成 15 年 11 月 5 日
- 10) Tamura K, et al. : MEGA6 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0, *Mol. Biol. Evol.*, 30 (12), 2725-2729 (2013)
- 11) 厚生労働省 平成 27 年食中毒発生状況 原因施設別ノロウイルス事件数の年次推移 (2 人以上の事例) : <http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11121000-Iyakushokuhinkyoku-Soumuka/0000116566.pdf> (平成 28 年 12 月確認)
- 12) 国立感染症研究所 感染症疫学センター, ノロウイルス等検出状況 (2011/12 ~ 2015/16 シーズン) : <http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-noro.html> (平成 28 年 12 月確認)
- 13) 国土交通省観光庁 統計情報・白書 共通基準による観光入込客統計 (平成 27 年年間値) : <http://www.mlit.go.jp/kankochou/siryou/toukei/irikomi.html> (平成 28 年 12 月確認)
- 14) 厚生労働省 衛生行政報告例：結果の概要 (平成 27 年度衛生行政報告例の概況) 統計表 : <http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/36-19a.html> (平成 28 年 12 月確認)
- 15) 松島勇紀 他：新規遺伝子型ノロウイルス GII.P17-GII.17 の流行, *IASR*, Vol. 36, 175-178 (2015)
- 16) 古川英臣 他：福岡市におけるノロウイルス (NoV) GII.17 の検出状況, *IASR*, 2016 : <http://www.nih.go.jp/niid/ja/norovirus-m/norovirus-iasrs/6911-443p02.html>
- 17) 斎藤博之 他：疫学的視点から見たノロウイルス GII.P17-GII.17 型の病原性に関する一考察, 第 112 回日本食品衛生学会学術講演会 講演要旨集 A-8 (2016)

Outbreaks of gastroenteritis caused by Norovirus in Nagano Prefecture (April, 2011 – March, 2016)

Tetsuya MIZUSAWA¹, Shizuko KASUO¹, Noriko TAKABATAKE¹, Kanako NISHIZAWA¹,
Masumi FUJII¹, Michiko TAKEUCHI¹ and Haruyuki NAKAZAWA¹

1 Infectious Disease Division, Nagano Environmental Conservation Research Institute,
1978 Komemura Amori, Nagano 380-0944, Japan