

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、江原栞、渡邊裕子、永木英徳¹、鈴木尚子²

(¹現県南健康福祉センター) (²現医薬・生活衛生課)

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; Ad) などがあるが、原因病原体のほとんどを NoV が占めている。

NoV は、RNA ウイルスであることから遺伝子の変異をおこしやすい。また、*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、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) に分類されており、多様な遺伝子型が存在する¹⁾。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が発生することがある。これらの理由から病原性が変化した NoV が出現し、大流行を引き起こすことがあるため、検出された NoV の遺伝子型の推移や遺伝子の変異を把握することは非常に重要である。

昨年度の年報において、2009/2010 シーズン以降の栃木県における NoV の流行は、GII.4 Den Haag 株、GII.4 Sydney 株などの GII.4 変異株が置き変わるようにして数年おきに出現したこと、GII.17 や GII.2 などの GII.4 以外の遺伝子型も度々出現したことを示した²⁾。

本研究では最新のデータを追加し、検出された NoV の遺伝子型の推移を詳細に把握した。また、2023/2024 シーズンおよび 2024/2025 シーズンに多く検出された NoV GII.4[P16] について、*RdRp* および *VPI* 全領域の系統樹解析を行ったのでその結果を報告する。

2 材料と方法

2.1 材料

2009/2010 から 2024/2025 シーズン (2025 年 3 月 31 日まで) の 16 シーズンに、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 493 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 の検出は厚生労働省通知³⁾に記載の real-time 定量 PCR により実施し、SaV の検出は real-time 定量 PCR および RT-PCR^{4,5)}、その他の胃腸炎ウイルスの検出は RT-PCR およびイムノクロマト法により実施した。ウイルスが検出された場合、ダイレクトシーケンス法でウイルスを同定し、遺伝子型を決定した。NoV が検出された事例については、得られた塩基配列をもとに、Norovirus Genotyping Tool Version 2.0 (<https://mpf.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus/>) で遺伝子型及び亜型を決定した。

2.3 系統樹解析

NoV GII.4[P16] *RdRp* 領域の全長 (7 事例) および *VPI* 領域の全長 (8 事例) を Primer walking 法により塩基配列を解読し、最尤法により系統樹解析を行った。

3 結果

3.1 2009/2010~2024/2025 (16 シーズン) における胃腸炎ウイルス検出状況

2009/2010 から 2024/2025 シーズン 16 シーズンに検出された胃腸炎ウイルス 493 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 21 事例 (4.3 %)、NoV GII 群が 420 事例 (85.2 %)、SaV が 33 事例 (6.7 %)、RoV が 14 事例 (2.8 %)、HAstV が 2 事例 (0.4 %)、その他 Ad など (other と表示) が 3 事例 (0.6 %) 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、NoV GII.4 は亜型

別で示した。NoV の検出状況は、2022/2023 シーズンは GII. 4 (亜型は決定できず:other と表示) が多く検出された。2023/2024 シーズンも 2022/2023 シーズンと同じタイプの GII. 4 が検出され、その他 GII. 2、GII. 7 も多かった。2024/2025 シーズンは GII. 17 が多く検出された。

表 1 シーズン毎の検出事例数

	NoV GI群	NoV GII群	SaV	RoV	HAstV	other	総計
2009/2010		28 (100.0)					28
2010/2011	1 (5.9)	13 (76.5)	2 (11.8)	1 (5.9)			17
2011/2012	2 (10.5)	11 (57.9)	4 (21.1)			2 (10.5)	19
2012/2013	4 (7.1)	48 (85.7)	4 (7.1)				56
2013/2014	1 (3.1)	31 (96.9)					32
2014/2015	3 (12.0)	21 (84.0)	1 (4.0)				25
2015/2016	1 (3.6)	25 (89.3)	2 (7.1)				28
2016/2017		55 (91.7)	1 (1.7)	4 (6.7)			60
2017/2018		25 (92.6)	1 (3.7)			1 (3.7)	27
2018/2019	2 (4.4)	37 (82.2)		6 (13.3)			45
2019/2020	2 (16.7)	10 (83.3)					12
2020/2021	1 (5.6)	16 (88.9)	1 (5.6)				18
2021/2022		16 (72.7)	5 (22.7)	1			22
2022/2023		24 (70.6)	7 (20.6)	1 (2.9)	2 (5.9)		34
2023/2024	2 (4.2)	44 (91.7)	2 (4.2)				48
2024/2025	2 (9.1)	16 (72.7)	3 (13.6)	1 (4.5)			22
計	21 (4.3)	420 (85.2)	33 (6.7)	14 (2.8)	2 (0.4)	3 (0.6)	493

() 内の数字はシーズンにおける検出割合を示す

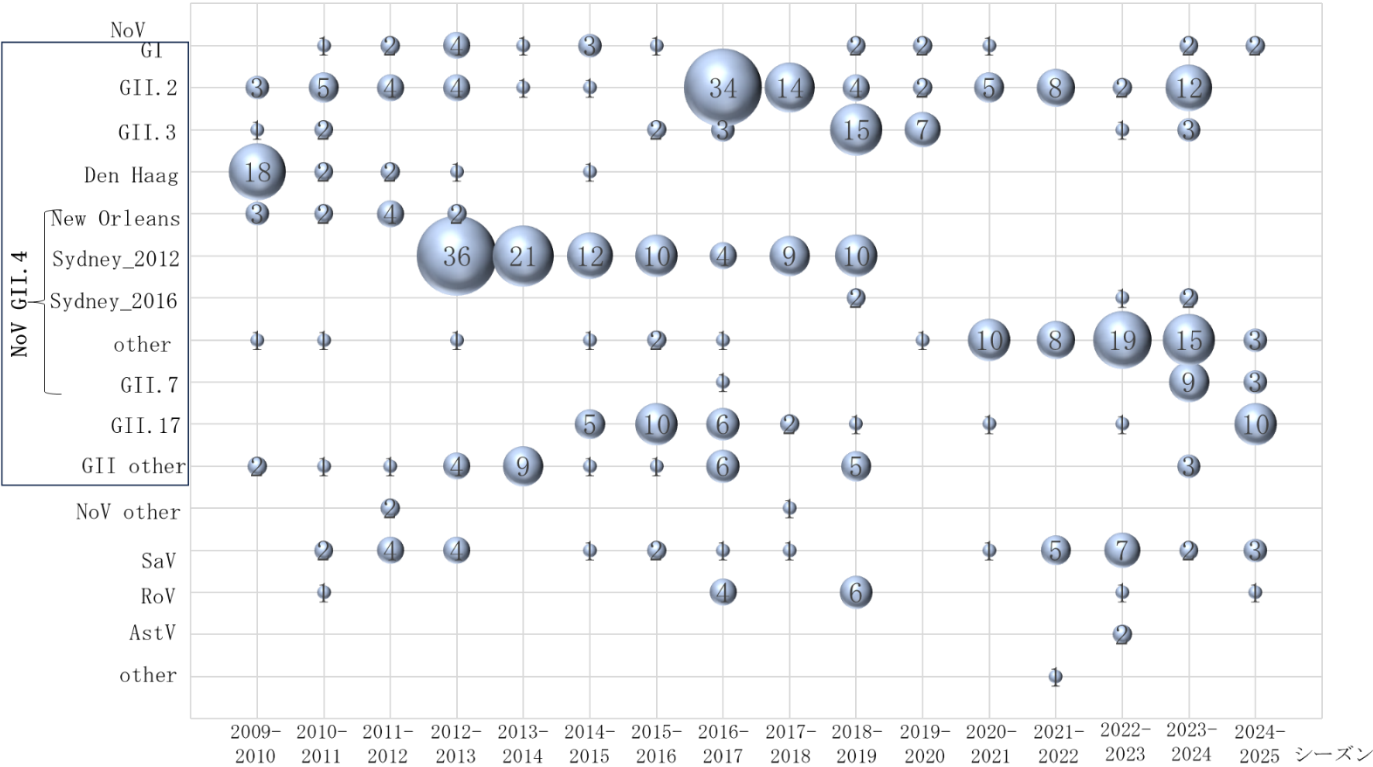


図 1 シーズン毎の検出状況 (丸の中の数字は検出事例数を表す)

3.2 2018/2019～2024/2025 に検出された NoV の dual typing による遺伝子型の内訳

2018/2019～2024/2025 (7 シーズン) に NoV が検出された事例のうち、dual typing による型別が可能であった 163 事例について、シーズン毎の遺伝子型の内訳を図 2 に示した。VPI 領域が GII. 4 で RdRp 領域が P31 の場合、GII. 4[P31]と表記した。

2018/2019 シーズン及び 2019/2020 シーズンは GII. 3[P12]が多く検出され、2020/2021 シーズン、2021/2022

シーズンは GII. 4[P31] が多く検出された。2022/2023 シーズンは GII. 4[P16]、2023/2024 シーズンは GII. 4[P16]、GII. 2[P16]、GII. 7[P7] が多く検出された。2024/2025 シーズンは GII. 17[P17] が多く検出された。

2022/2023～2024/2025 シーズン（3 シーズン）の NoV 85 事例について、食中毒疑い事例（食中毒疑い）、保育所・幼稚園・小学校における集団感染性胃腸炎事例（小児）、介護施設および福祉施設、老人ホームで発生した集団感染性胃腸炎事例（老人ホーム等）の事例別で図3に示した。

2022/2023 シーズンは、全ての事例で GII. 4[P16] が多く検出され、小児のみ GII. 2[P16]、GII. 3[P12] が検出された。2023/2024 シーズンは、全ての事例で GII. 4[P16] が検出されたが、小児の事例では GII. 2[P16] が多く検出され、老人ホーム等では GII. 4[P16] が多く検出された。また、食中毒疑いと小児から GII. 7[P7] が多く検出された。2024/2025 シーズンでは、食中毒疑いおよび老人ホーム等で GII. 17[P17] が検出され、その他に事例数は少なかったものの、小児では GII. 7[P7] が検出された。

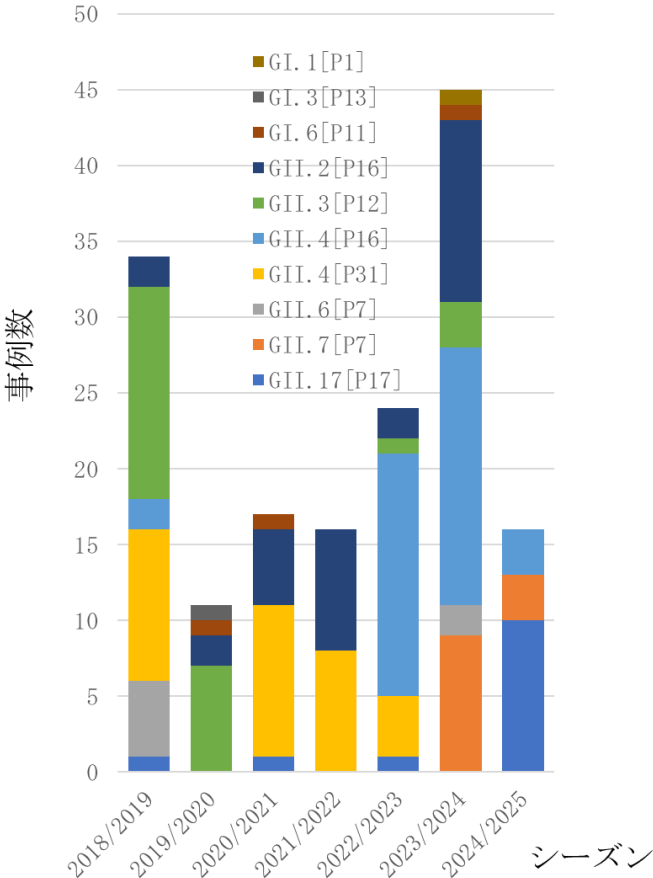


図2 NoV 遺伝子型の内訳
(2018/2019～2024/2025 シーズン)

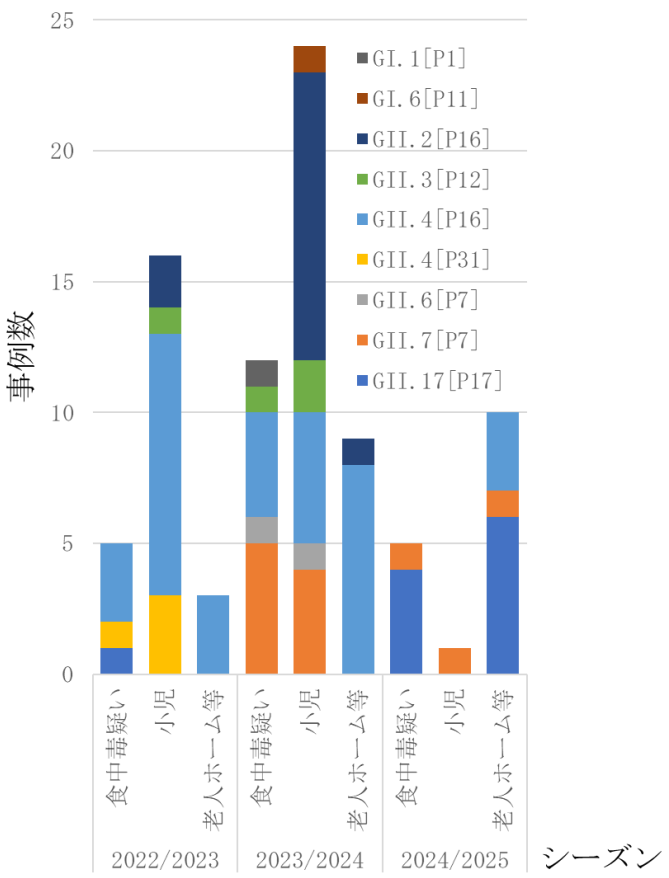


図3 事例別 NoV 遺伝子型の内訳
(2022/2023～2024/2025 シーズン)

3.3 2022/2023 シーズンおよび 2023/2024 シーズンに検出された NoV GII. 4[P16] の系統樹解析

2022/2023 シーズン、2023/2024 シーズンに発生した GII. 4[P16] の RdRp 全領域（7 事例）及び VP1 全領域（8 事例）の系統樹解析結果をそれぞれ図 4-1、図 4-2 に示した。

RdRp 全領域の系統樹では、2022/2023 シーズンの 2 事例は同一クラスターに位置したが、2023/2024 シーズンは 2022/2023 シーズンとは異なる複数のクラスターに位置した。VP1 領域の系統樹も同様の結果となった。

4 考察

過去 7 シーズンにおける NoV の dual typing では、シーズンにより検出されたタイプとその割合が異なっ

ていた。2023/2024 シーズンは GII. 4 [P16]、GII. 2 [P16]、GII. 7 [P7] が多く、これらは小児の感染症と食中毒疑いから検出された。GII. 7 [P7] は近年検出されていないタイプであり検出事例数の増加が懸念されたが、2024/2025 シーズンは GII. 7 [P7] の検出は少なく、1 シーズンのみの流行であった。2024/2025 シーズンは、過去 6 シーズンにほとんど検出されていなかった GII. 17 [P17] が多く検出された。このタイプは介護施設等の感染症と、食中毒疑いから多く検出された。GII. 17 [P17] は 2014 年に川崎市において世界で初めて探知され、2014 年に日本を含むアジア各地で流行したタイプであり^{6),7)}、今後、GII. 17 [P17] が数年ぶりに流行した理由を検証する必要がある。2024/2025 シーズンは小児の事例数が少なく、また、小児からは GII. 17 [P17] は検出されなかった。ヒトは幼少期から様々な遺伝子型の NoV の曝露を受けることで NoV に対する免疫を獲得し、年齢とともに獲得免疫が増強されること、そしてその免疫を回避するように抗原性が変化した遺伝子型が成人を中心に新たな流行を引き起こすことがわかっている⁸⁾。図 1 に示されるように、2009/2010 シーズン以降、GII. 4 は変異によって様々な亜型を出現させ、流行を繰り返してきた。2024/2025 シーズンに GII. 17 [P17] が多く検出された原因は、GII. 4 のように成人において感染性を増大させるアミノ酸変異が起こり、感染が拡大した可能性が考えられる。今後、GII. 17 [P17] の感染が小児に拡大し、集団感染性胃腸炎が増加する可能性があるため注意が必要である。

NoV の RdRp 全領域及び VP1 全領域の系統樹解析の結果、2023/2024 シーズンの事例は 2022/2023 シーズンの事例とは異なる複数のクラスターに位置した。シーズンにより遺伝子に変異し、さらに、2023/2024 シーズンは多様なタイプが同時に流行したことが示された。

16 シーズンという長期間にわたる検出状況をまとめた結果、栃木県内では 2～3 年おきに新たに出現する GII. 4 変異株と、数年おきに流行を繰り返す GII. 4 以外の遺伝子型によって NoV の流行が繰り返されてきたこと、同一の遺伝子型であってもシーズンが異なると遺伝子に変異していることが分かった。そのため、NoV の流行状況の解析には NoV を検出するだけでなく、dual typing を行い、さらには系統樹解析により遺伝子の変異を詳細に解析することが重要であり、今後も継続して調査を実施していく必要がある。

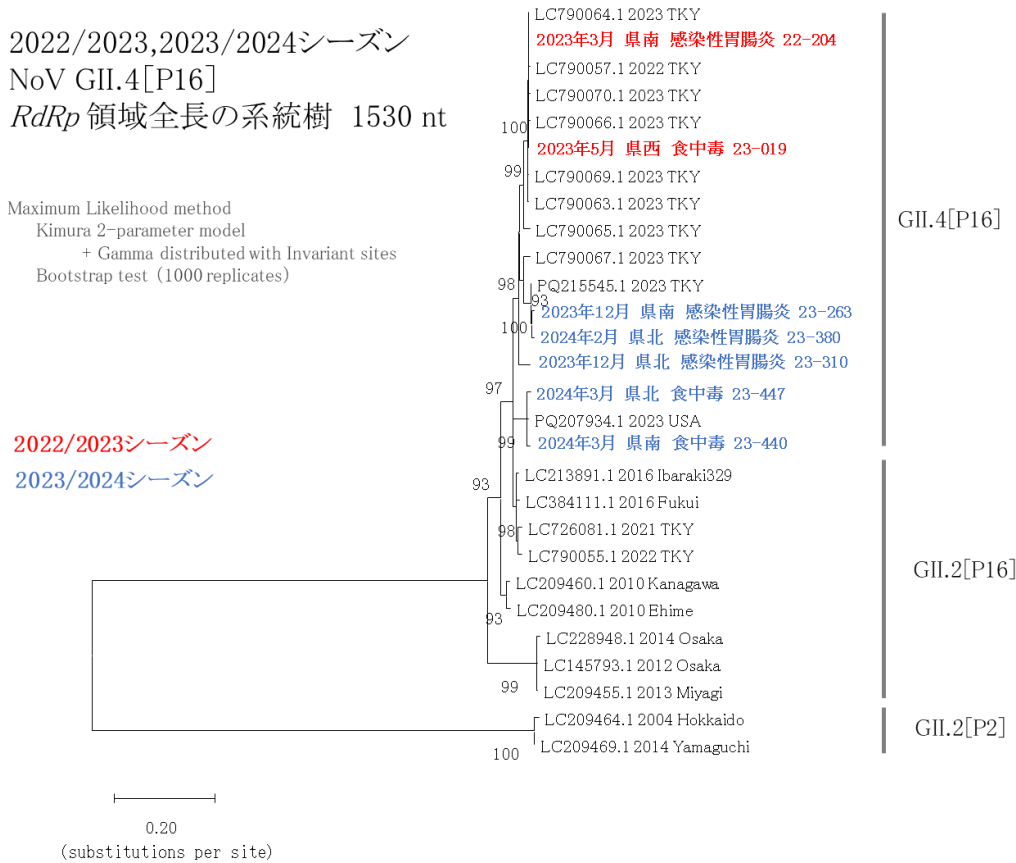


図 4-1 NoV の RdRp 全領域の最尤法による系統樹解析結果

2022/2023,2023/2024シーズン
NoV GII.4[P16]
VP1領域全長の系統樹 1623 nt

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

2022/2023シーズン
2023/2024シーズン

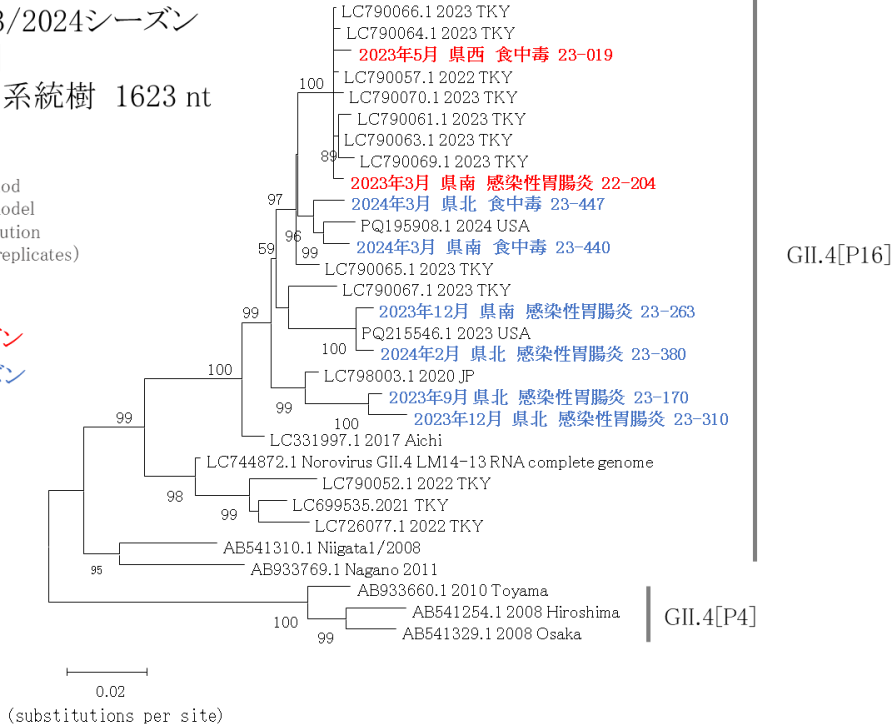


図 4-2 NoV の VP1 全領域の最尤法による系統樹解析結果

文献

- 1) Preeti Chhabra et al., Updated classification of norovirus genogroups and genotypes, J Gen Virol, 2019 Oct;100(10), 1393-1406.
- 2) 齋藤明日美他、栃木県内で検出された胃腸炎ウイルスの分子疫学解析、栃木県保健環境センター年報 第 29 号、27-32、2023
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知、平成 15 (2003) 年 11 月 5 日食安監発第 1105001 号
- 4) Oka T, et al., Detection of human sapovirus by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction, Med Virol 78, 1347-1353, 2006
- 5) Okada M, et al., The detection of human sapoviruses with universal and genogroup-specific primers, Arch Virol 151, 2503-2509, 2006
- 6) Matsushima Y, et al., Genetic analyses 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 Jul 2;20(26),21173.
- 7) 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
- 8) 左近直美他、ノロウイルスの流行と集団免疫、IASR Vol. 38、10-11、2017