

福岡市におけるノロウイルスの遺伝子型解析

川本大輔・若月紀代子・香月隆延・武田昭

福岡市保健環境研究所保健科学部門

Genotype analysis of *Norovirus* isolated in Fukuoka City

Daisuke KAWAMOTO, Kiyoko WAKATSUKI, Takanobu KATSUKI,
and Akira TAKEDA

Health Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

要約

2001年1月から2006年4月までに感染症発生動向調査及び食中毒・感染性胃腸炎疑い等の事例から検出された *Norovirus*(以下 NV)についてダイレクトシーケンスを実施した。同定可能であった97事例より得られた塩基配列により系統樹の作成を行った結果、G1/4が41事例と最も多く、2004年には福岡市内で比較的大きな流行があったと推測された。次いでG2/3が22事例から検出され、6年間を通じこの2種類の遺伝子型が主に流行していたと考えられた。

Key Words : ノロウイルス属 *Norovirus* , シーケンス sequence , 遺伝子型 genotype ,
福岡市 Fukuoka City

はじめに

カリシウイルス科 NV は冬季を中心に、感染性胃腸炎を引き起こし、食中毒等集団発生の原因ウイルスとして知られている。NV は遺伝子解析から Genogroup 1 (以下 G1) と Genogroup 2 (以下 G2) に分類されており、G1 には14種類以上、G2 には17種類以上の遺伝子型が知られている。^{1,2)}

そこで今回、当所で同定された NV の遺伝子型解析を行い、系統樹の作成を行ったところ若干の知見を得たので報告する。

材料および方法

1.材料

2001年1月から2006年4月までの感染症発生動向調査で NV 陽性となった28事例(28検体)及び食中毒・感染性胃腸炎疑いの事例で NV 陽性となった75事例(169検体)、計103事例(197検体)のふん便を材料と

した。ふん便の処理及び RT-PCR 法については国立感染症研究所の示した方法³⁾に従った。

ふん便材料を10%乳剤として処理を行い、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN社製)により RNA を抽出した。抽出した RNA から cDNA を作製し、PCR 法により遺伝子増幅を行った。プライマーは G1 については COG1F/G1-SKR, G2 については COG2F/G2-SKR を用いた。

2.ダイレクトシーケンス

PCR 増幅産物を、QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN社製)を使って精製後、BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit(ABI社製)による反応、Centri-Sep スピカラム(ABI社製)による精製及び ABI PRISM310 Genetic Analyzer(ABI社製)を用いたダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。

3. 系統樹の作成

ダイレクトシーケンスにより得られた塩基配列は ClustalW にてアライメントを行った。さらに NJ 法を用い系統樹を作成した。参考株は Caliciweb(<http://teine.ccs.sapmed.ac.jp/~calici/>)よりダウンロードした塩基配列を用いた。

結果および考察

1. 感染症発生動向調査事例

感染症発生動向調査検体 28 事例中、同定可能であった 27 事例の遺伝子型別 NV 検出状況を表 1 に示した。また、27 事例の株と参考株による系統樹を図 1 に示した。検出された NV は年-事例番号で表記した。0.1 で示

すスケールは進化距離を表し、枝長の長さは置換塩基数の割合で示した。検出された遺伝子型は G / 3, 4, 5 の 3 種類であった。最も多かった 2004 年の 14 事例は全て G / 4 で、そのうち 2004-175, 177, 178, 179, 181, 183, 190, 193, 202 の 9 事例間と 2004-197, 198, 199 の 3 事例間の塩基配列が 100% 一致した。これらは 11 月下旬から 12 月下旬の短期間に同一医療機関の患者から採取されており、両株間も 1 塩基差であったことから、福岡市内での G / 4 流行もしくは施設内感染の疑いが考えられた。2005 年、2006 年には G / 3 が最も多く、流行株の遷移が見られた。また G / 3 が検出された 11 事例中 2005-128, 151, 2006-1, 25, 65 の 5 事例で塩基配列が 100% 一致し、5 事例間にはおよそ 6 ヶ月の隔たりがあったことから、この株が福岡市内に定着した可能性が示唆された。

表 1 感染症発生動向調査事例の遺伝子型別 NV 検出状況

遺伝子型	01年	02年	03年	04年	05年	06年	計
G / 3	1		1		5	4	11
G / 4		1		14			15
G / 5						1	1

年 - 事例番号を示す

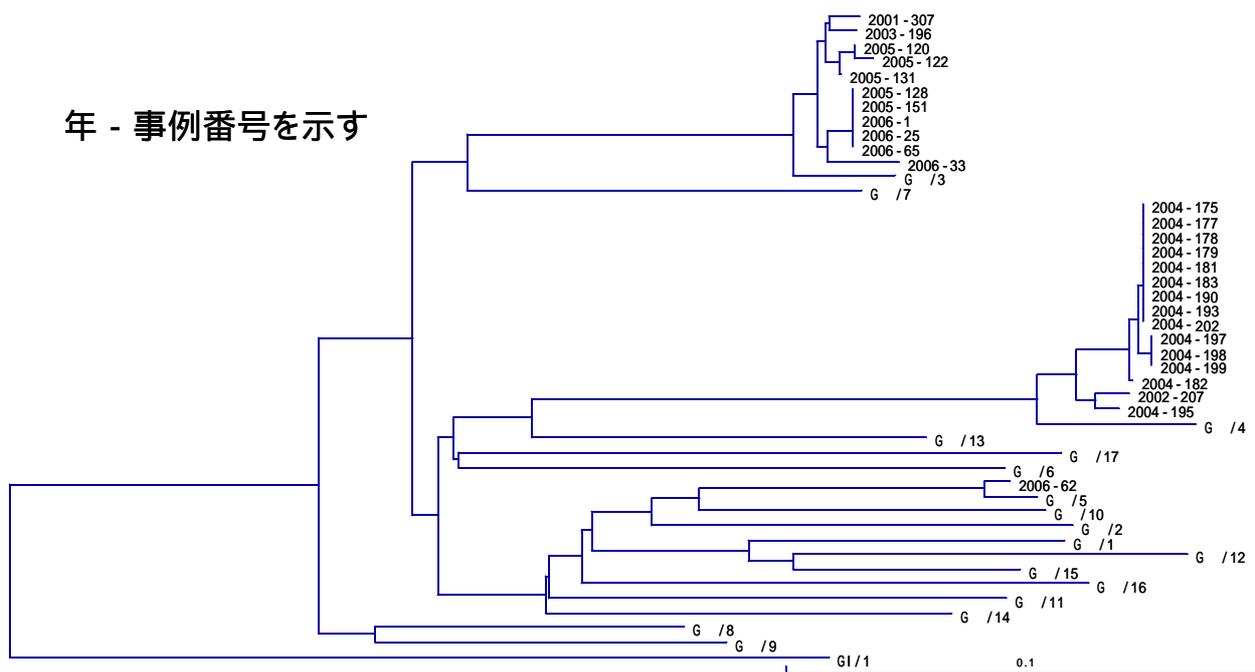


図 1 感染症発生動向調査事例の NV 系統樹

2. 食中毒・感染性胃腸炎疑い等事例

食中毒・感染性胃腸炎疑い等事例全 75 事例 (169 検体) 中、同定可能であった 70 事例 (154 検体) の遺伝子型別 NV 検出状況を表 2 に示した。なお、同事例から 2 種類の遺伝子型が検出された 3 事例、及び 3 種類の遺伝子型が検出された 1 事例については重複して記載し、同

定総数は 75 となった。

検出された遺伝子型は G / 1, 2, 4, 7, 8, 11, 12, 14 及び G / 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14 の 17 種類であった。

最も検出された遺伝子型は G / 4 の 26 事例で 2004 年に 14 事例が関与していたことから、2004 年に福岡市

内で G / 4 による比較的大きな流行があったと推測された。次いで G / 3 が 11 事例と多く、6 年間を通じて G / 4, G / 3 が比較的頻繁に検出されており、感染症発生動向調査事例の結果からもこの 2 種類の遺伝子型が福岡市内で主に流行していたと考えられた。

次に、70 事例の株と参考株による系統樹を図 2 及び図 3 に示した。検出された NV は年-事例番号で表記し、同事例中で異なる配列が得られた 5 事例 7 株については枝番を付し、同定総数は 77 となった。また他県を起因として発生した 8 事例については四角で囲った。

増幅部位で塩基配列が 100 % 一致した事例については G / 4 の 2004-3, 6, 8, 9, 11, 15-1 及び 2005-5-2 の 7 事例があり、このうち 5 事例が 2004 年 1 月から 3 月の短期間に発生していた。このことから、同時期の福岡市内において同一株による散発的流行があったものと思わ

れた。その後ほぼ一年間に同株による 2 事例の発生をみたことから、この株が福岡市内に定着した可能性も考えられた。同様に G / 4 の 2004-18, 22, 25, 26-1 及び 2005-1, 6 の 6 事例も塩基配列が一致しており、2004 年 11 月から翌年 1 月までに発生していた。これらは同時期に発生した感染症発生動向調査の 2004-175, 177, 178, 179, 181, 183, 190, 193, 202 の 9 事例とも塩基配列が 100 % 一致しており、福岡市内においてこの株が 2004 年の冬に大流行していたことが示唆された。

この他にも 2 ~ 3 事例間で塩基配列が 100 % 一致した事例が見られ、同一株による散発的な流行が考えられた。

また大分県を起因とする G / 3 の 2002-10, 長崎県を起因とする G / 3 の 2003-24, また北海道を起因とする G / 4 の 2006-1 は、福岡市内の同定株と塩基配列が 100 % 一致しており、同一株による広域的流行が示唆された。

表 2 食中毒・感染性胃腸炎疑い等事例の遺伝子型別 NV 検出状況

遺伝子型	01年	02年	03年	04年	05年	06年	計
G / 1				2		1	3
G / 2			1				1
G / 4	1		2				3
G / 7		1	1				2
G / 8	1		1		1	1	4
G / 11					1		1
G / 12				1	1		2
G / 14	1						1
G / 2			1	1	1		3
G / 3	2	2	4	2		1	11
G / 4		4		14	5	3	26
G / 5				1		2	3
G / 6		1			3	3	7
G / 8		1	2				3
G / 10	1						1
G / 12		1	1			1	3
G / 14		1					1

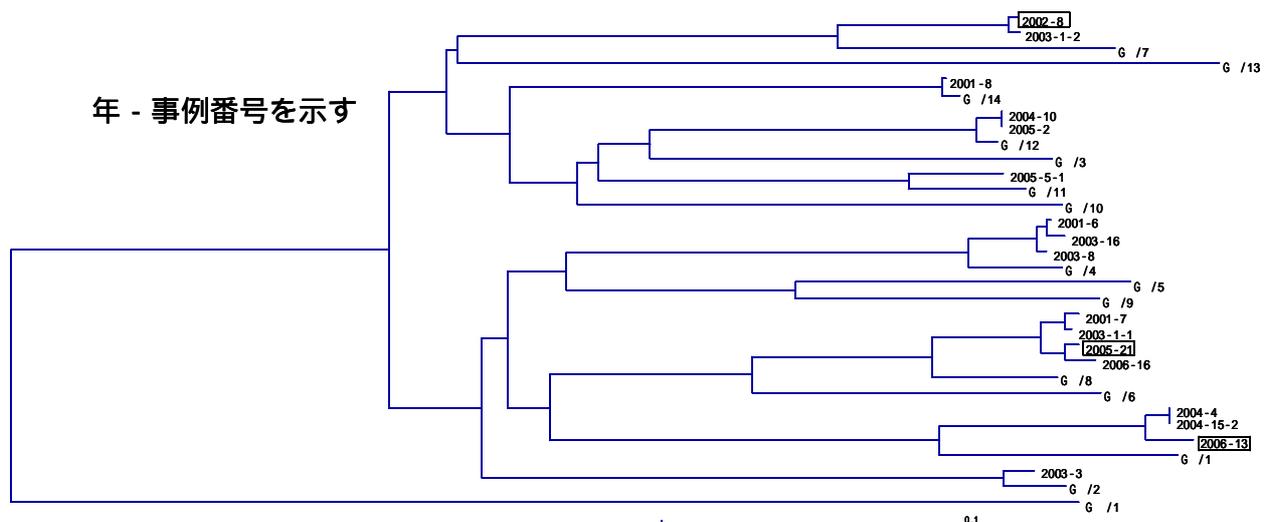


図 2 食中毒・感染性胃腸炎疑い等事例の G の系統樹

年 - 事例番号を示す

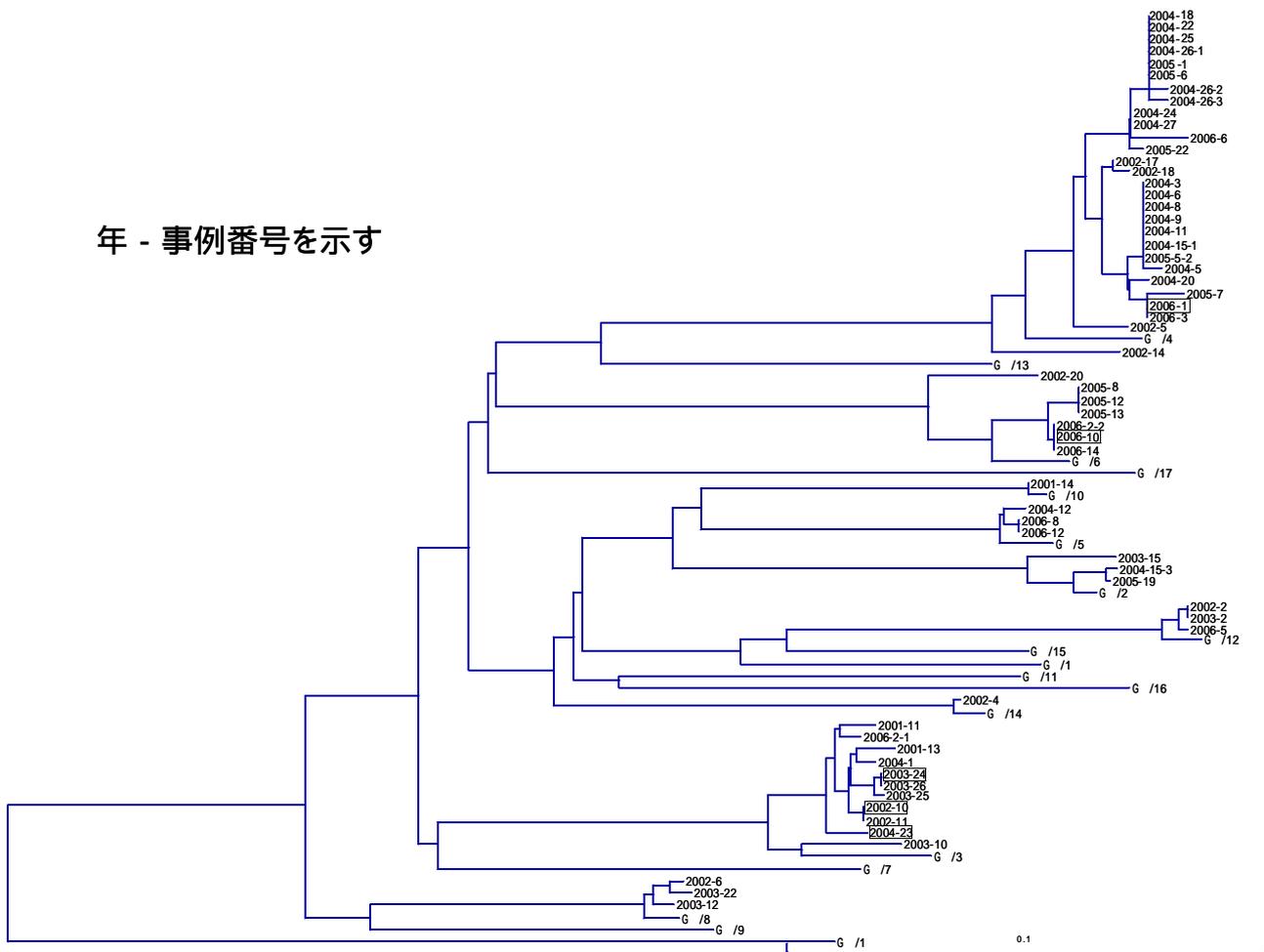


図3 食中毒・感染性胃腸炎疑い等事例の G の系統樹

2003年から2005年に大分県⁴⁾、熊本市⁵⁾、佐賀県3地域で得られたNVの遺伝子型の報告によると、これら地域ではG /1, 8, 11, G /2, 3, 4, 5が共通に検出され最もG /4が多い。今回の結果から福岡市においてもほぼ同様の傾向がみられた。

今回の調査から、G /4が多数検出され、2004年には福岡市内で流行していたことも明らかになった。また、6年間を通じてG /3, 4が福岡市内で発生したNVの主な遺伝子型であることが判明した。今回解析した領域において、別事例で塩基配列が100%一致することがあり、遺伝子型解析からNVの感染源及び感染経過の特定を行うには限界があると考えられた。同様に、他県で発生した事例で、福岡市内で発生した事例と塩基配列が一致する場合があることから、市内だけでなく広域の流行株を明らかにするため他県の自治体と連携してNVの遺伝子型を調査することも必要であると思われた。

文献

- 1) IDWR 2004年第11週 第6巻 第11号 14-19
- 2) Okada, M., Ogawa, T., Kaiho, I. and Shinozaki, K.: Genetic Analysis of Noroviruses in Chiba Prefecture, Japan, between 1999 and 2004, J. Clin. Microbiol., 43(9), 4391-4401, 2005
- 3) ウイルス性下痢症診断マニュアル(第3版)
- 4) 田代潔子, 小河正雄, 吉用省三: 大分県衛生環境研究センター年報 第32号, 33-35, 2004
- 5) 松岡由美子, 平野敬之, 小河正雄, 愛木智香子, 秋山美穂, 西尾治: 国立感染症研究所 病原微生物検出情報 Vol.26 No.12, 7-8, 2005