

2016 - 2017 シーズンに大阪市で認められたノロウイルス流行

入谷展弘¹⁾、上林大起^{1),2)}、改田厚¹⁾、阿部仁一郎¹⁾、
山元誠司¹⁾、久保英幸¹⁾、平井有紀¹⁾、野田衛³⁾、小笠原準¹⁾

Epidemic of noroviruses in Osaka City, Japan during 2016 - 2017 season

Nobuhiro IRITANI¹⁾, Daiki KANBAYASHI^{1),2)}, Atsushi KAIDA¹⁾, Niichiro ABE¹⁾,
Seiji P. YAMAMOTO¹⁾, Hideyuki KUBO¹⁾, Yuki HIRAI¹⁾, Mamoru NODA³⁾ and Jun OGASAWARA¹⁾

Abstract

During the period from September 2016 to June 2017 (2016 - 2017 season), norovirus was detected as the cause of 125 gastroenteritis outbreaks (83.9 %) in Osaka City, Japan. The most common genotype in that season was GII.2 (87 outbreaks, 69.6 %), followed by GII.17 (13 outbreaks, 10.4 %) and GII.4 (9 outbreaks, 7.2 %). The GII.2 outbreaks peaked in November - December 2016. Of the 87 GII.2 outbreaks, 76 (87.4 %) were attributed person-to-person contact and the places were mainly in nursery and primary schools (74 outbreaks), indicating that GII.2 strains were prevalent in children during 2016 - 2017 season.

Key words: Norovirus, Outbreak, GII.2, 2016 - 2017 season

I 緒 言

ノロウイルス(NoV)は乳幼児から高齢者まで幅広い年齢層のヒトに感染し、急性胃腸炎を引き起こす。NoV による胃腸炎は一年を通して発生し、秋から冬に大きく流行する。ヒト NoV はゲノム遺伝子配列の解析から Genogroup I (GI), GII および GIV の 3 種類の遺伝子グループに分類され、GI および GII が毎年流行している[1,2]。GI と GII には、さらに複数の遺伝子型が存在しており[3]、GII.4 に分類される NoV の新しい亜型が世界的な感染拡大と流行を周期的に起こしていることが明らかにされている[4]。2014 - 2015 シーズンには日本や中国などアジアを中心に、非常に稀な遺伝子型であった GII.17 の流行が認められた[5-8]。一方で、他の遺伝子型が流行することも報告されている[9-12]。

このように多くの種類の遺伝子型の NoV が流行している現状を踏まえ、当研究所では、大阪市における NoV 流行実態を把握するために検出された NoV 株の遺伝子型別を行い、流行解析を実施している[9,10]。今回、2016 - 2017 シーズンに大阪市で検出された NoV 株について分子疫学的解析を実施した。

II 材料と方法

1) 検査材料

2016 年 9 月～2017 年 6 月までの期間(2016 - 2017 シーズン)に大阪市立環境科学研究所(2017 年 4 月以降は大阪健康安全基盤研究所天王寺センター)に搬入された非細菌性胃腸炎 149 事例(患者糞便 545 検体)を対象とした。

2) NoV の検出および遺伝子型別

糞便材料の処理は既報の方法に準じて行った[10]。ウイルス RNA の抽出は QIAamp Viral RNA Mini kit (QIAGEN) を用いて QIAcube (QIAGEN) で行った。NoV 遺伝子の検出は、リアルタイム RT-PCR 法を用いて Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System (サーモフィッシャーサイエンティフィック)で行った[13,14]。

リアルタイム RT-PCR 法で陽性となった検体は、既報[15]のプライマーペアを用いて、GeneAmp PCR System 9700 (サーモフィッシャーサイエンティフィック)または Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler (サーモフィッシャーサイエンティフィック)で Capsid N/S 領域の遺伝子を

1) 地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所 天王寺センター
〒543-0026 大阪市天王寺区東上町 8-34
Osaka Institute of Public Health, 8-34 Tojo-cho, Tennoji-ku, Osaka 543-0026, Japan

2) 地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所 森ノ宮センター
〒537-0025 大阪市東成区中道 1-3-69
Osaka Institute of Public Health, 1-3-69 Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan

3) 国立医薬品食品衛生研究所
〒210-9501 神奈川県川崎市川崎区殿町 3-25-26
National Institute of Health Sciences, 3-25-26 Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa 210-9501, Japan

増幅した。特異的遺伝子断片の増幅が認められた検体はダイレクトシーケンス法により、Applied Biosystems 3130 または 3500 ジェネティックアナライザ（サーモフィッシャーサイエンティフィック）を用いて塩基配列を決定した。NoV の遺伝子型別は Norovirus Genotyping Tool Version 2.0 (<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool/#/>) を用いて行った。

III 結果

NoV は 149 事例中 125 事例 (83.9%)、患者糞便材料 545 検体中 391 検体 (71.7%) から検出され、NoV 事例の 71.2% は 11 月 (43 事例) および 12 月 (46 事例) に発生していた (図 1)。NoV 陽性 125 事例のうち、ヒト-ヒト感染が疑われた (PP) 事例は、少なくとも 97 事例 (77.6%) 認められた。主な原因施設は保育所 (69 事例) および小学校 (23 事例) であり、他は高齢者施設 (2 事例)、社会福祉施設 (1 事例)、その他 (2 事例) であった。カキ以外の食品が原因として疑われた事例は 12 事例 (9.6%) であった。カキの喫食が関連していた事例は 2 事例 (1.6%) あり、12 月および 1 月の発生であった。

検出された NoV の遺伝子型は少なくとも 9 種類 (GI: 3 種類、GII: 6 種類) に分類された。GII.2 (複数検出事例を含めて 87 事例、69.6%) が最も多く、次いで GII.17 (複数検出事例を含めて 13 事例、10.4%) であった (表 1)。GII.4 は 9 事例 (7.2%) と例年に比べて少なかった。

シーズンで最初の NoV GI.2 事例は 2016 年 10 月に保育所で発生した。その後、11 月 (34 事例) および 12 月 (37 事例) の 2 か月間に集中して発生し、3 月まで認められた。NoV GI.2 事例の中で、87.4% (76/87 事例)

が PP 事例であり、主に子どもが関連する施設 (保育所 53 事例、小学校 21 事例) において発生していた (図 2)。これらの発生施設は大阪市 24 区中 22 区にわたり、1 区あたり 1~8 施設の発生であり、地理的・時間的な偏りはなかった。疫学調査においても各事例間の関連性は認められなかった。また、NoV GI.2 事例のうち、カキ以外の食品が原因として疑われた事例は 4 事例、カキの喫食が関連していた事例は 2 事例であった。

Capsid N/S 領域の塩基配列 (282 塩基) の比較から、2016 - 2017 シーズンに検出された GI.2 株の中で、83 事例から検出された株は互いに非常に近縁であり (塩基配列相同性 97.1%)、同時期に国内他地域で検出された株 (GenBank 番号 LC279238) やドイツ (KY357454) [16]、中国 (KY421122) [17]、台湾 (KY477345) [18] で流行していた株とも非常に近縁であった (97.8%)。他の 4 事例から検出された GI.2 株は同じ塩基配列であり、83 事例の GI.2 株との塩基配列相同性は 95.7% ~ 97.1% とやや低かった。

IV 考察

2016 年は大阪府における定点あたりの感染性胃腸炎患者報告数は第 50 週 (21.25) でピークとなり、2006 年以来 10 年ぶりにピーク値が 20 を超えた [19]。全国的にも第 50 週 (20.96) をピークとした患者発生状況で定点あたり 20 を超え、過去 10 年間で 2006 年第 50 週 (22.81) に次ぐ高い値であった [20]。全国の感染性胃腸炎患者 (主に小児科定点) の病原体検出状況から、2016 年秋から冬に流行していたのは主に NoV GI.2 であり [21,22]、他の地域からも流行の報告がある [23,24]。

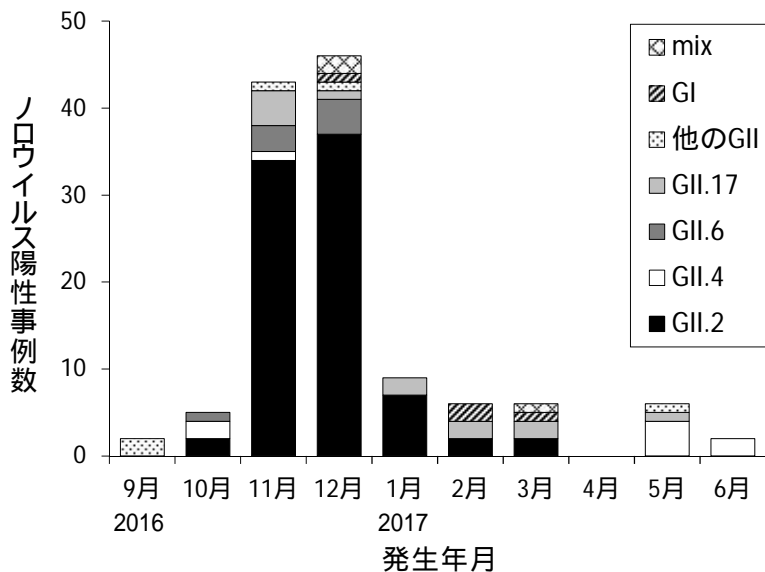


図1 月別ノロウイルス陽性事例数

表 1 2016 - 2017 シーズンに検出されたノロウイルスの遺伝子型(2016年9月~2017年6月)

Genogroup	遺伝子型	事例数
GI	GI.4	2
	GI.6	2
GII	GII.2	84
	GII.3	4
	GII.4	9
	GII.6	8
	GII.7	1
	GII.17	12
mix *		3
合計		125

*: 複数の遺伝子型が検出された事例
(GII.2/GII.17, GI.2/GII.2, GI.6/GII.2)

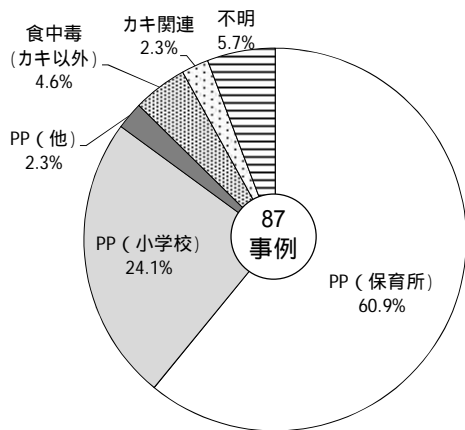


図 2 ノロウイルス GII.2 による事例の推定原因および発生施設

したがって、この NoV GII.2 流行は全国的なものであり、過去と比較しても大きな規模であったと考えられた。さらにアジア[17,18]やヨーロッパ[16]においても流行の報告があり、NoV GII.2 は同時期に海外でも広く流行していたことが確認されている。

各地域で検出された GII.2 株の遺伝子の相同性から、流行株は遺伝的に互いに非常に近縁なウイルスであった。また、流行株は GII.P16-GII.2 に分類されることが報告されており、過去に検出された GII.P16-GII.2 と遺伝的に異なることも明らかにされている[16-18,25]。これは流行株の抗原性や病原性が過去の株と異なっている可能性を示しており、感染が広がった原因の一つであると考えられた。大阪市内で検出された GII.2 株のうち、非常に近縁であった 83 事例から検出された株は、遺伝子の比較から GII.P16-GII.2 であったと推測された。

大阪市内では 2004 年春から NoV GII.2 の検出数が増加しており[9]、流行も確認されている[10,26]。しかしながら 2012 - 2013 シーズンから 2015 - 2016 シーズンまでの過去 4 シーズンについては、NoV GII.2 事例の発生数が 0~5 事例と非常に少なかった。感染の機会がほとんどなくなったことによって NoV GII.2 に対する免疫を持たない集団が低年齢層において増加していたと考えられ、今回低年齢層を中心に大きく流行した原因の一つであったことが示唆された。

最近の NoV 流行解析結果から GII.4 以外の遺伝子型であっても、GII.17 や GII.2 のように新たな変異株が出現すれば大きく流行することが示された。NoV の遺伝子型の変化や変異株の出現は流行の規模に大きく影響するため、NoV 感染症の流行予測と予防対策には継続した流行の監視と遺伝子型別による解析が重要である。

V まとめ

・2016 年 11 月および 12 月に大阪市内において NoV GII.2 による集団胃腸炎が低年齢層の施設を中心に多発した。

・2016 - 2017 シーズンの NoV GII.2 流行は大阪市内だけでなく全国的なものであり、海外においても認められた。

謝辞 本研究に御協力いただいた大阪市保健所感染症対策課、健康局生活衛生課、各区保健センターおよび食品衛生監視員の方々に深謝いたします。

(本研究の一部は厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業「ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の制御に関する研究」(平成 28 年度)において実施した。)

参考文献

- 1) Ando T, Noel JS, Fankhauser RL. Genetic classification of “Norwalk-like viruses”. *J Infect Dis* 2000; **181** (Suppl 2): 336-348.
- 2) Katayama K, Shirato-Horikoshi H, Kojima S, Kageyama T, Oka T, Hoshino FB, *et al.* Phylogenetic analysis of the complete genome of 18 Norwalk-like viruses. *Virology* 2002; **299**: 225-239.
- 3) 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). 病原微生物検出情報(IASR) 2015/9/8 掲載
(<http://www.nih.go.jp/niid/ja/id/778-disease-based/na/norovirus/idsc/iasr-news/5913-pr4274.html>)
- 4) Siebenga JJ, Vennema H, Zheng DP, Vinje J, Lee BE, Pang XL, *et al.* Norovirus illness is a global problem:

- Emergence and spread of norovirus GII.4 variants, 2001-2007. *J Infect Dis* 2009; **200**: 802-812.
- 5) Matsushima Y, Ishikawa M, Shimizu T, Komane A, Kasuo S, Shinohara M, *et al.* Genetic analysis 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; **20**(26): pii=21173.
 - 6) Lu J, Sun L, Fang L, Yang F, Mo Y, Lao J, *et al.* Gastroenteritis outbreaks caused by norovirus GII.17, Guangdong Province, China. *Emerg Infect Dis* 2015; **21**: 1240-1242.
 - 7) de Graaf M, van Beek J, Vennema H, Podkiz AT, Hewitt J, Bucardo F, *et al.* Emergence of a novel GII.17 norovirus-End of the GII.4 era? *Euro Surveill* 2015; **20** (26): pii=21178.
 - 8) 入谷展弘, 山元誠司, 改田厚, 上林大起, 久保英幸, 野田衛. 2014-2015 シーズンに流行したノロウイルス GII.17 について. *食品衛生研究* 2015; **65**: 7-15.
 - 9) Iritani N, Kaida A, Kubo H, Abe N, Goto K, Ogura H, *et al.* Molecular epidemiology of noroviruses detected in outbreaks of acute nonbacterial gastroenteritis in Osaka City, Japan, from 1996-1997 through 2008-2009. *J Med Virol* 2010; **82**: 2097-2105.
 - 10) Iritani N, Kaida A, Abe N, Sekiguchi J, Kubo H, Takakura K, *et al.* Increase of GII.2 norovirus infections during the 2009-2010 season in Osaka City, Japan. *J Med Virol* 2012; **84**: 517-525.
 - 11) Koopmans M, Vinjé J, de Wit M, Leenen I, van der Poel W, van Duynhoven Y. Molecular epidemiology of human enteric caliciviruses in The Netherlands. *J Infect Dis* 2000; **181** (Suppl 2): S262-269.
 - 12) Lewis DC, Hale A, Jiang X, Eglin R, Brown DW. Epidemiology of Mexico virus, a small round-structured virus in Yorkshire, United Kingdom, between January 1992 and March 1995. *J Infect Dis* 1997; **175**: 951-954.
 - 13) Seto Y, Iritani N, Kubo H, Kaida A, Murakami T, Haruki K, *et al.* Genotyping of Norovirus strains detected in outbreaks between April 2002 and March 2003 in Osaka City, Japan. *Microbiol Immunol* 2005; **49**: 275-283.
 - 14) Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, *et al.* Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol* 2003; **41**: 1548-1557.
 - 15) 入谷展弘, 改田厚, 久保英幸, 阿部仁一郎, 西尾治, 後藤薫, 他. 市販生食用カキにおけるノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルス汚染調査 (2006-2007 ~ 2009-2010 シーズン). *大阪市立環科研報告* 2010; **72**: 7-12.
 - 16) Niendorf S, Jacobsen S, Faber M, Eis-Hübinger AM, Hofma J, Zimmermann O, *et al.* Steep rise in norovirus cases and emergence of a new recombinant strain GII.P16-GII.2, Germany, winter 2016. *Euro Surveill* 2017; **22**(4): pii=30447.
 - 17) Ao Y, Wang J, Ling H, He Y, Dong X, Wang X, *et al.* Norovirus GII.P16/GII.2-associated gastroenteritis, China, 2016. *Emerg Infect Dis* 2017; **23**: 1172-1175.
 - 18) Liu LT, Kuo TY, Wu CY, Liao WT, Hall AJ, Wu FT. Recombinant GII.P16-GII.2 norovirus, Taiwan, 2016. *Emerg Infect Dis* 2017; **23**: 1180-1183.
 - 19) 大阪府感染症発生動向調査委員会. 感染症発生動向調査事業報告書 第 35 報 2016(平成 28)年版 (2017)
 - 20) 国立感染症研究所感染症疫学センター. 注目すべき感染症「感染性胃腸炎」. 感染症発生動向調査感染症週報 (IDWR) 2017; 19: 7-8.
 - 21) 国立感染症研究所. ノロウイルス等検出状況. 病原微生物検出情報 (IASR), https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/160920/noro1_170706.gif
 - 22) 国立感染症研究所. ノロウイルス等検出状況. 病原微生物検出情報 (IASR), https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/160920/norogm1617_170706.gif
 - 23) 植木洋, 小泉光, 菅原直子, 佐々木美江, 渡邊節. 宮城県内で流行しているノロウイルス (NoV) の遺伝子型について. *病原微生物検出情報 (IASR)* 2017; **38**: 17-18.
 - 24) 坂本美砂子, 山崎恵美, 西川和佳子, 三枝真奈美, 都竹豊茂, 山本一重. 2016 年 9 ~ 11 月のノロウイルス感染集団発生事例について - 千葉市. *病原微生物検出情報 (IASR)* 2017; **38**: 18-19.
 - 25) 松島勇紀, 石川真理子, 清水智美, 駒根綾子, 清水英明, 松尾千秋, 他. 茨城県と川崎における 2016/17 シーズンに検出されたヒトノロウイルス GII.P16-GII.2 の分子疫学. *病原微生物検出情報 (IASR)* 2017; **38**: 19-20.
 - 26) Iritani N, Kaida A, Kubo H, Abe N, Murakami T, Vennema H, *et al.* Epidemic of genotype GII.2 noroviruses during spring 2004 in Osaka City, Japan. *J Clin Microbiol* 2008; **46**: 2406-2409.
- (WEB サイトの内容は 2017 年 7 月 20 日に確認した)