

2012-2013シーズンに大阪府で認められたノロウイルス流行

入谷展弘、改田 厚、阿部仁一郎、山元誠司、久保英幸、平井有紀、後藤 薫、長谷 篤

Epidemic of norovirus in Osaka City, Japan during the 2012-2013 season

Nobuhiro IRITANI, Atsushi KAIDA, Niichiro ABE, Seiji P YAMAMOTO,
Hideyuki KUBO, Yuki HIRAI, Kaoru GOTO, Atsushi HASE

Abstract

In 2012-2013 season, norovirus (NV) infections remarkably increased in Japan including Osaka City. From the genotyping of NV strains in Osaka City, between April 2012 and March 2013, GII.4 genotype strains were detected in 89.0% of NV-positive outbreaks. Furthermore, these GII.4 strains were classified into three subtypes (Den_Haag_2006b, New_Orleans_2009, and Sydney_2012). GII.4 Sydney_2012 was predominant in 2012-2013 season and genetically different from past epidemic GII.4 strains.

Keywords: Norovirus, Outbreak, GII.4 Sydney_2012, 2012-2013 season

I 緒言

ノロウイルス(NV)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。NV胃腸炎は年間を通じて認められ、毎年秋から冬に大きく流行している。ゲノムの遺伝子配列の解析から、ヒトNVは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いる[3]。

当研究所では、大阪府におけるNV流行実態を把握するために検出されたNV株の遺伝子型別を行い、流行解析を実施している[4-6]。最近では、GII.4型に分類されるNV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た[7]。特に2006年秋から2007年冬には、GII.4型の新しい変異株(Den_Haag_2006b)が世界的に大きく流行し、大阪府を含めて日本においても記録的な大流行となった[6,8,9]。

2012年11月から12月の期間に大阪府においてNVによる胃腸炎事例が多発した。全国的にも同様であり、2012-2013シーズンはNVが大きく流行したシーズンとなった。今回、2012-2013シーズンに大阪府で検出されたNV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

2012年4月～2013年3月までの期間に大阪府立環境科学研究所に搬入された非細菌性胃腸炎166事例(患者糞便650検体)を対象とした。

2) NV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。NV遺伝子の検出は、リアルタイムRT-PCR法を用いてABI PRISM7700 (Life Technologies)で行った[5, 11]。

リアルタイムRT-PCR法で陽性となった検体は、既報[12]のプライマーペアを用いて、GeneAmp PCRシステム9700 (Life Technologies)でCapsid N/S領域の遺伝子を増幅した。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 ジェネティックアナライザ (Life Technologies)を用いて、塩基配列を決定した。NVの遺伝子型別は、既報[5, 8]に従って分類し、遺伝子型番号はKageyamaら[3]に従った。検出されたGII.4型NVの亜型は、Norovirus Genotyping Tool Version 1.0

(<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool#/>)を用いて分類した。

Ⅲ 結果

NVは、166事例中118事例(71.1%)、患者糞便材料650検体中377検体(58.0%)から検出された。9月から翌年8月までの期間を1シーズンとしてNV事例発生数を比較したところ、2012-2013シーズン(2012年9月～2013年3月)の発生数は107事例であり、過去最多であった(図1)。NVが検出された胃腸炎事例の発生は9月を除くすべての月で認められた(図2)。2012-2013シーズンのNV流行は、10月から始まり、11月(51事例)および12月(22事例)に集中していた。NV陽性事例のうち、ヒトからヒトへ感染が疑われた(PP)事例は、少なく

とも94事例(79.7%)認められ、主な原因施設は保育園、小学校、高齢者施設、社会福祉施設などであった。カキなどの二枚貝以外の食品が原因であった事例は12事例(10.2%)であった。二枚貝の喫食が関連していた事例は4事例(3.4%)であった。

検出されたNVの遺伝子型は、少なくとも7種類(GI: 2種類、GII: 5種類)認められた。GII.4型が最も多く、複数の遺伝子型が検出された3事例を含めて合計105事例(89.0%)であった(表1)。さらにGII.4型NV株は、3種類の亜型(Den_Haag_2006b、New_Orleans_2009、Sydney_2012)に分類され、95事例(90.5%)から検出されたGII.4 Sydney_2012が最も多かった(表2)。Capsid N/S領域の塩基配列(338塩基)の比較から、大阪市で検出されたGII.4 Sydney_2012株は、98.8%以上の

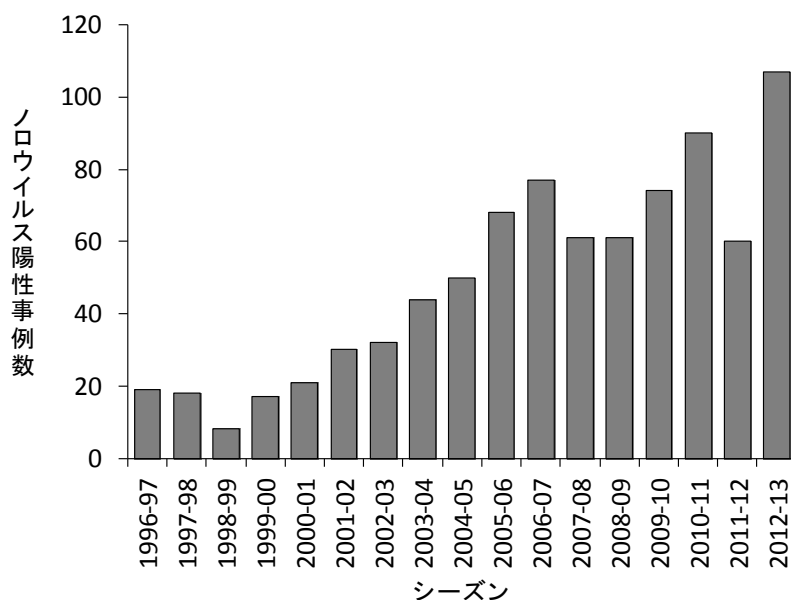


図1 シーズン別ノロウイルス陽性事例数

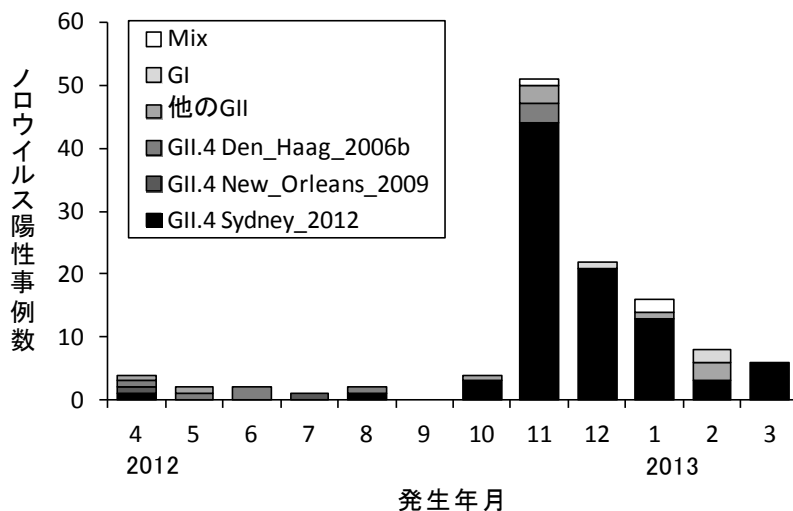


図2 月別ノロウイルス陽性事例数

表1 大阪市で検出されたノロウイルスの遺伝子型
(2012年4月～2013年3月)

Genogroup	遺伝子型	事例数
GI	GI.4	2
	GI.6	1
GII	GII.2	3
	GII.4	102
	GII.6	4
	GII.12	1
	GII.13	1
	GII.NA*	1
Mix**	GI.6/GII.4	3
合計		118

*: NA, not assigned

**：複数の遺伝子型が検出された事例

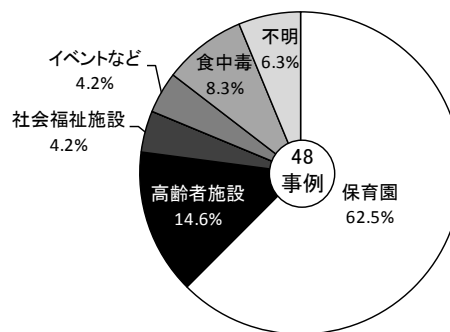
表2 大阪市で検出された GII.4 型ノロウイルス株の亜型
(2012年4月～2013年3月)

GII.4 亜型	事例数(%)
Sydney_2012	95 (90.5)
Den_Haag_2006b	8 (7.6)
New_Orleans_2009	2 (1.9)
合計	105

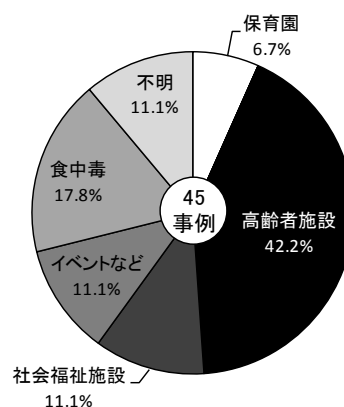
相同性があり、非常に近縁であった。本株による事例は2012年11月に急増し(45事例)、12月以降に発生したGII.4型NV事例のすべてがSydney_2012であった(図2)。また、GII.4 Sydney_2012陽性事例はPP事例が75事例(78.9%)と多く、2012年10月～11月の期間には保育所(62.5%)で主に発生していたが(図3A)、2012年12月以降は成人が関連している高齢者施設(42.2%)や社会福祉施設(11.1%)などでの発生が多くなった(図3B)。

IV 考察

2012年大阪府の定点あたりの感染性胃腸炎患者数は第42週から第46週にかけて急増しており、第51週まで定点あたりの患者報告数が10を超えていた(<http://www.iph.pref.osaka.jp/infection/noro/noro.html#head3>)。この第46週までの患者発生状況は、ノロウイルスが大流行した2006年の患者発生状況とほぼ同じであった。全国的にも第49週をピークとした患者発生状況は2006年に次ぐものであった(<http://www.nih.go.jp/niid/ja/idwr-dl.html>)。厚生労働省の全国食中毒統計(<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html>)から、



A (2012年10月～11月)



B (2012年12月～2013年3月)

図3 GII.4 Sydney_2012 が検出された事例の発生施設

2012年の病因物質別食中毒発生件数において、NVは416事例であり、2006年の499事例に次いで多い報告数であった。病原微生物検出情報・NV検出速報(2013年5月9日現在報告数)(<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-noro.html>)によると、2012-2013シーズンは感染性胃腸炎患者および集団胃腸炎事例から検出されたウイルスの中でNVの報告数が最も多く、報告された遺伝子型の中ではGII.4型が最も多かった。以上のことから、2012-2013シーズンは大阪市だけでなく全国的にGII.4型NVが大きく流行したシーズンであったといえる。さらに今回の調査結果および田村らの報告[13]から、本シーズンに日本で流行していた主なGII.4型NVは、遺伝的に非常に近縁であり、過去のGII.4流行株とは異なる新しい亜型(GII.4 Sydney_2012)であったことが明らかになった。

GII.4型NVは、これまで遺伝子の変異を起こしながら世界的に流行してきたことが報告されている[7]。2012-2013シーズンに大阪市で検出されたGII.4 Sydney_2012株は、日本の他の地域だけでなく、オーストラリア、アメリカ、ヨーロッパなど世界の多くの国々から検出されており[14]、過去のGII.4変異株と同様に、同

時期に世界中で流行していたと考えられた。また、2011年に上海(9月)[15]、イタリア(11月)[16]、バングラデシュ(12月)[17]において、散発性胃腸炎患者から検出されており、2011年9月～12月にはGII.4 Sydney_2012株が世界各地に存在していたことが判明している。

大阪市において本流行株による集団事例が初めて確認されたのは2012年1月であり[13]、北海道においても1月に確認されていることから[13]、本流行株の日本への侵入時期は2012年1月以前であったと考えられた。その後、日本の各地域で散発的に発生が認められ、10月に入ってから検出地域が急増した[13]。大阪市における本流行株の事例発生は、2012年1月に社会福祉施設で最初に認められ、4月および8月に1事例ずつ保育所で認められた。事例が急増した10月から11月は主に保育所での発生が続き、その後は高齢者施設や社会福祉施設など成人の関連した施設へと変わっていった。これは、本流行株の感染年齢層が、乳幼児から高齢者へと時間と共に変化したことを示している。

今回流行したGII.4 Sydney_2012株は、NVのCapsidタンパクをコードするOpen reading frame 2に存在する可変領域アミノ酸配列の比較から、エピトープにおけるアミノ酸変異が確認されている[13,14]。これは、本流行株の抗原性が変異していることを示唆しており、大きく流行した原因の一つであると考えられた。今のところ、本流行株の感染が全国や世界中に拡大した経路や要因などは明らかにされておらず、今後のより詳細な調査・解析が必要である。また、当研究所で実施しているNV株の遺伝子型別と、その結果に基づいた詳細な遺伝子解析は、NV流行状況の把握に非常に有用であった。大阪市におけるNV胃腸炎事例の発生は依然として多く、継続した流行の監視と遺伝子型別による解析が必要であると考えられた。

V まとめ

- ・2012-2013シーズンは、大阪市だけでなく全国的にGII.4型NVの大きな流行が認められ、特に2012年11月～12月の期間にNV胃腸炎事例の発生が集中していた。
- ・大阪市および他の地域で主に流行していたGII.4株は、遺伝的に非常に近縁であった。また、過去に報告されていたGII.4型NV流行株とは異なる新しい亜型に分類された。
- ・検出されたNV株の遺伝子型別および遺伝子解析は、NV流行の解析に有用であった。

謝辞 本研究に御協力いただいた健康局生活衛生課、保健所感染症対策課および食品衛生監視員の方々に深謝いたします。

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) Kageyama T, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, Kojima S, et al. Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2988-2995.
- 4) 入谷展弘, 久保英幸, 勢戸祥介, 春木孝祐, 西尾治, 武田直和, 他. 平成14年度に大阪市で検出されたノーウォークウイルスの遺伝子型別. *大阪市環科研所報 調査・研究年報* 2003; 65: 29-37.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 入谷展弘, 久保英幸, 改田厚, 阿部仁一郎, 後藤薫, 石井啓次. 2006年度に大阪市で認められたノロウイルス流行. *大阪市環科研所報 調査・研究年報* 2007; 69: 7-12.
- 9) 国立感染症研究所 感染症疫学センター. ノロウイルスの流行2006/2007シーズン. *病原微生物検出情報 (IASR)* 2007; 28: 277-278.
- 10) Iritani N, Seto Y, Haruki K, Kimura M, Ayata M, and Ogura H. Major change in the predominant type of “Norwalk-like viruses” in outbreaks of acute nonbacterial gastroenteritis in Osaka City, Japan, between April 1996 and March 1999. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 2649-2654.
- 11) 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.
- 12) 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). 大阪市環科研所報 調査・研究年報 2010; 72: 7-12.
 - 13) 田村務, 渡邊香奈子, 田澤崇, 渡部香, 広川智香, 吉澄志磨, 他. ノロウイルスGII/4の新しい変異株の遺伝子解析と全国における検出状況. 病原微生物検出情報 月報 2012; 33: 333-334.
 - 14) van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, Eden JS, Fonager J, Hewitt J, et al. Identifications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012. *Euro Surveill* 2013;18(1):pii=20345.
 - 15) Shen Z, Qian F, Li Y, Hu Y, Yuan Z, Zhang J. Novel norovirus GII.4 variant, Shanghai, China, 2012. *Emerg Infect Dis* 2013; 19: 1337-1339.
 - 16) Giammanco GM, De Grazia S, Tummolo F, Bonura F, Calderaro A, Buonavoglia A, et al. Norovirus GII.4/Sydney/2012 in Italy, winter 2012-2013. *Emerg Infect Dis* 2013; 19: 1348-1349.
 - 17) Rahman M, Nahar S, Afrad MH, Faruque ASG, Azim T. Norovirus variant GII.4/Sydney/2012, Bangladesh. *Emerg Infect Dis* 2013; 19: 1347-1348.