

ローニングに適用し、11本の dsRNA に対応する PCR 産物を得た。NSP1 遺伝子のクローニングを行い全塩基配列を決定したところ、1,652 塩基で、493 アミノ酸をコードしていた。これまで報告されている NSP1 遺伝子との相同性はきわめて低かった。系統図を作成したところ、T152 由来 NSP1 遺伝子は、他のヒトロタウイルス由来 NSP1 遺伝子とは大きくかけ離れていることが判明した。

#### 【考察】

本法は、末端配列の決定に 5' Race 法や 3' Race 法を別々に行う必要がなく、また、分節 RNA ごとに増幅を行う必要もない。本法は、A 群のみならず、B 群や C 群ロタウイルス、さらに、2本の dsRNA をゲノムとして有するピコビルナウイルスのゲノム解析にも応用でき、きわめて有用と思われる。

研究協力者：和久田光毅、長嶋茂雄、佐々木 潤（藤田保健衛生大学医学部ウイルス・寄生虫学）、實方 剛（鳥取大学農学部家畜微生物学）

#### 5) 研究発表

##### 論文発表

Sasaki J, Taniguchi K

The 5'-end sequence of the genome of Aichi virus, a Picornavirus, contains an element critical for viral RNA encapsidation.

J Virol 77 (6) : 3542-3548, 2003

Nagashima S, Sasaki J, Taniguchi K

Functional analysis of the stem-loop structures at the 5' end of the Aichi virus genome.

Virology 39 (11) : 3969-3975, 2003

Sasaki J, Nagashima S, Taniguchi K

The Aichi virus leader protein is involved in viral RNA replication and

encapsidation.

J Virol 77 (11) : 10799 - 10807, 2003

Adah MI, Nagashima S, Wakuda M, Taniguchi K

Close relationship between G8 bovine and human rotaviruses isolated in Nigeria.

J Clin Microbiol 41 (8) : 3945-3950, 2003

Wakuda M, Nagashima S, Pongsuwanna Y, Guntapong R, Chiwakul M, Tacharoenmuang R, Onvimala N, Kobayashi N, Taniguchi K  
Serological and genomic characterization of a G12 human rotavirus in Thailand.

J Clin Microbiol 41 (12) : 5764-5769, 2003

Sanekata T, Ahmed MU, Kader A, Taniguchi K, Kobayashi

Human group B rotavirus infections cause severe diarrhea in children and adults in Bangladesh.

J Clin Microbiol 41 (5) : 2187-2190, 2003

Kohmoto S, Tsuji S, Ibrahim MS, Li Y, Warachit J, Taniguchi K, Ikuta K

The Vpu protein of human immunodeficiency virus type 1 plays a protective role against virus-induced apoptosis in primary CD4+ T lymphocytes.

J Virol 77 (19) : 10304-10413, 2003

Ahmed UA, Kobayashi N, Wakuda M, Sanekata T, Taniguchi K, Kader A, Niak TN, Ishino M, Alam MM, Kojima K, Mise K, Sumi A  
Genetic analysis of group B human rotaviruses detected in Bangladesh in 2000 and 2001.

J Med Virol 72 (1) : 149-155, 2004

Higo-Moriguchi K, Akahori Y, Iba Y, Kurosawa Y, Taniguchi K

Isolation of human monoclonal antibodies neutralizing human rotaviruses.

J Virol 78 (4) : 2004 (in press)

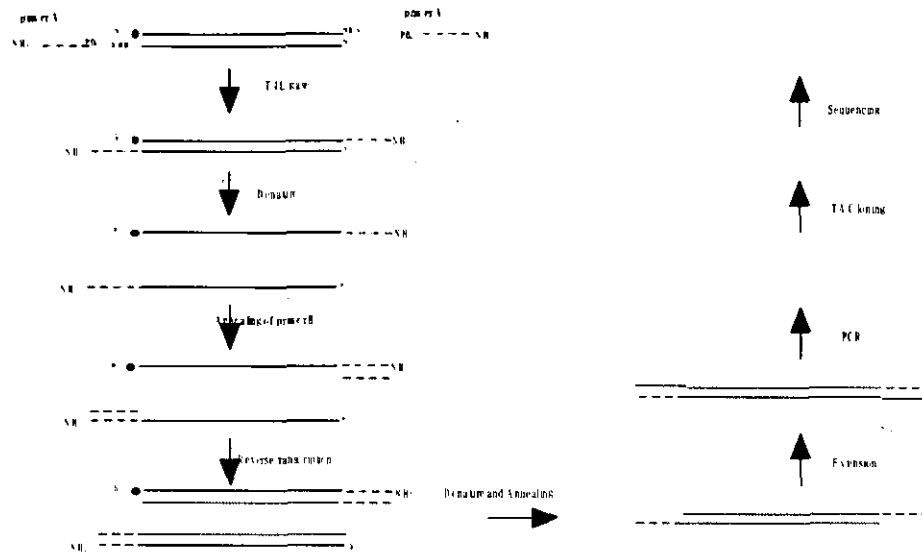


図1 単一プライマーによるPCRとその後のクローニングの原理図

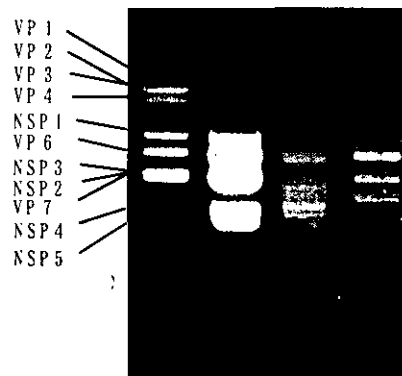
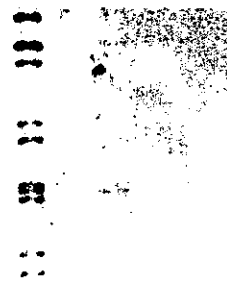
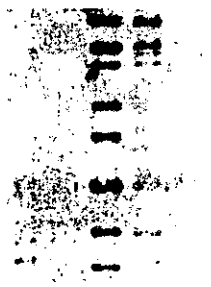
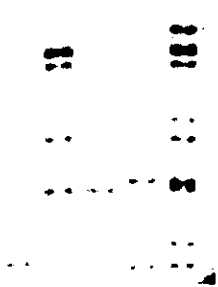
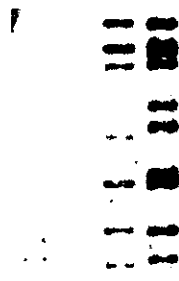
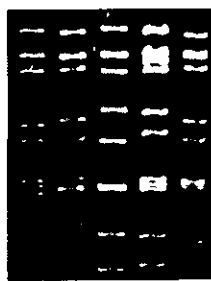
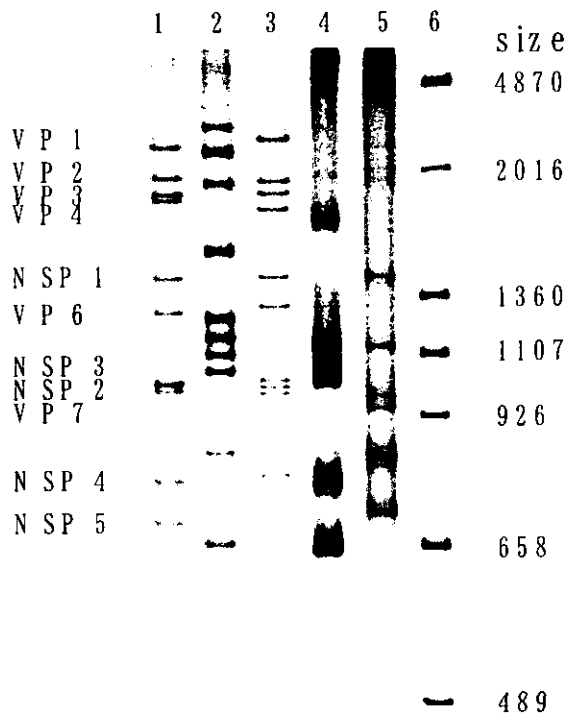


図2 単一プライマーを用いて得られたPCR産物のアガロースゲルにおける泳動パターン  
Lane 1, SA 11 ; lane 2, T 152 ; lane 3, SKA-1 ; lane 4, pH Y m aker



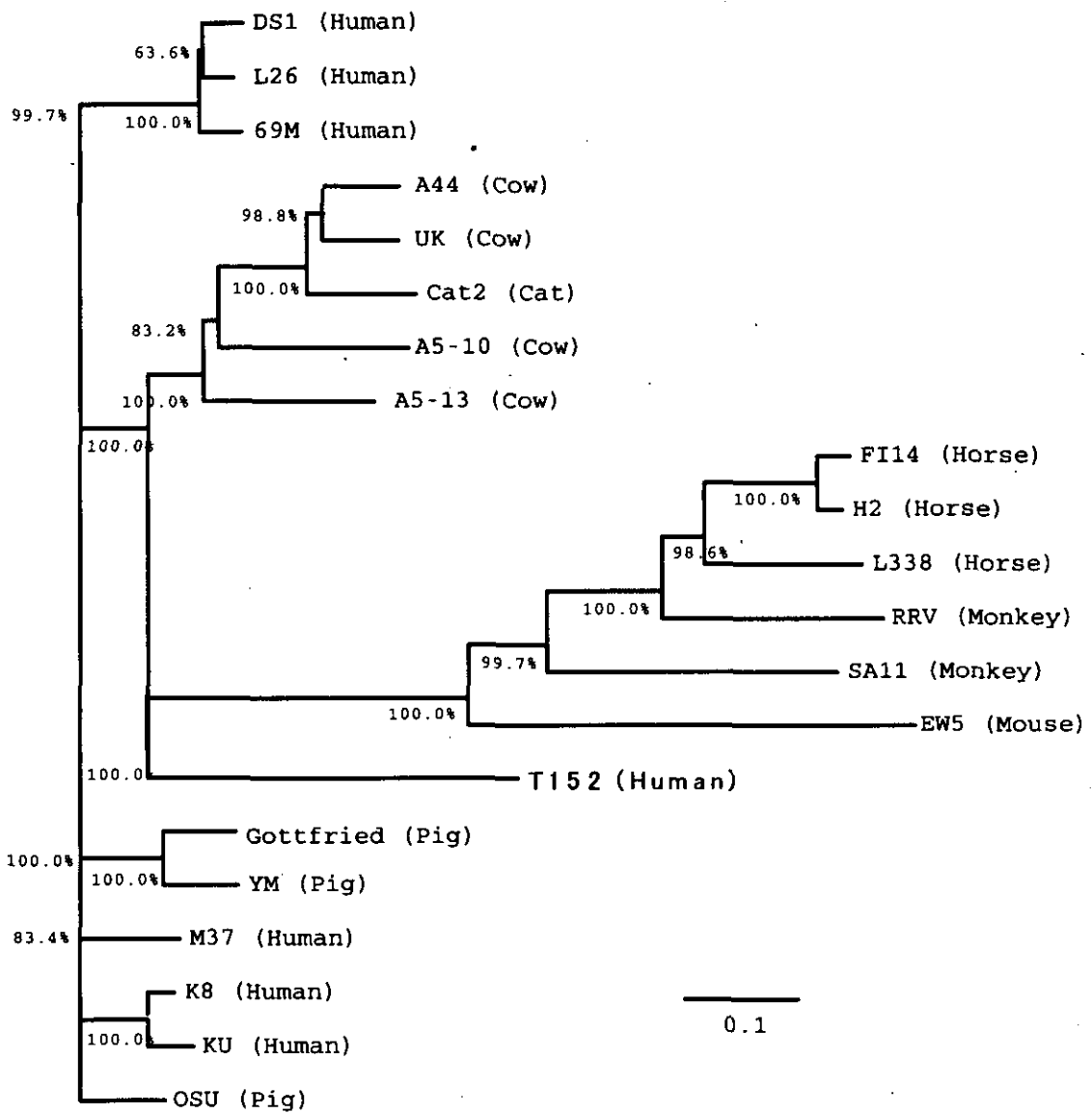


図5 NSP1 遺伝子の系統図

T152株のNSP1遺伝子は、他のヒトタウウイルスNSP1遺伝子とは、かなりかけ離れている。

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

下水中のアイチウイルスの消長と新たな遺伝子型の検出

分担研究者 榮 賢司（愛知県衛生研究所 微生物部部長）  
協力研究者 山下照夫、伊藤 雅、椛島由佳、藤浦 明  
（愛知県衛生研究所 微生物部）

研究要旨

アイチウイルス（AiV）は人の胃腸炎患者から分離され、ピコルナウイルス科コブウイルス属に属する。不顕性感染が多いと考えられ流行時期は不明である。そこで、年間を通して下水中のウイルス遺伝子の検出を試み、その消長を調べたところ流入下水 98 件中 82 件（83.7%）から AiV 遺伝子が検出された。12 月から 5 月には 45 件全てからウイルス遺伝子が検出された。6 月から 11 月では 53 件中 37 件（69.8%）が陽性であった。本ウイルスの流行は冬期にあると思われた。また、PCR 産物の塩基配列を調べたところ、AiV との相同性が 83% で、既知の遺伝子型とは明らかに異なる遺伝子が存在した。この値は、エンテロウイルスの血清型の異なる株間の相同性に匹敵する。このことから、AiV にも血清型の異なる株が存在することが示唆された。

A. 研究目的

アイチウイルス（AiV）はピコルナウイルス科コブウイルス属に属する人の胃腸炎由来のウイルスである。カキを喫食した人から分離されるが、小児の胃腸炎患者からの検出例は少なく、5 歳未満の抗体保有率も 5% と低い。その後年齢の上昇とともに保有率も上昇し 30 歳以上では 80% に達する。このことから不顕性感染が多いと考えられ流行時期は不明である。そこで、年間を通して下水中のウイルス遺伝子の検出を試み、その消長を調べた。また、PCR 産物の塩基配列を調べたところ、一部に新しい遺伝子型が検出された。

B. 研究方法

1 材料

愛知県内の広域下水処理場 1 カ所の流入および処理下水を平成 13 年 5 月から平成 15 年 3 月まで毎週 1 回採水し各 98 件を調べた。

2 方法

流入下水は 10,000 x g、20 分遠心分離し、上清 10ml を材料とした。処理下水は 20L を限外濾過法で濃縮しその遠心上精 10ml を材料とした。ダイナル社の Dynabeads Protein A の使用説明書に基づき AiV 抗血清を吸着させた磁気ビーズを下水 10ml と 37℃、1 時間反応後回収し、トリゾールにてウイルス RNA を抽出し水 20  $\mu$ l に浮遊させた。その 5  $\mu$ l から

プロメガ社製 One-step RT-PCR を用いて AiV 遺伝子の増幅を試みた。PCR に用いたのプライマーは AiV (A846/88 株) とウシ由来のコブウイルス (U-1 株) に共通な配列が存在した 3D 領域に設定した (+, 5'-GAT GCT CCT CGG TGG TCT CA -3'; -, 5'-GTC GGG GTC CAT CAC AGG GT -3')。アガロースゲル電気泳動で 631bp の PCR 産物を確認後、Bio-Rad 社のスピンカラムにて精製し、プロメガ社の pGEM-T vector に組み込んだ。各陽性検体につき 3 クローンずつ選択し、その塩基配列を調べた。

また、平成 14 年 3 月からの 1 年間の流入下水 (55 件) については、遠心上精 0.1ml 中から直接ウイルス遺伝子の検出も試みた。

#### C. 研究結果

流入下水 98 件中 82 件 (83.7%) から AiV 遺伝子が検出された。12 月から 5 月には 45 件全てからウイルス遺伝子が検出された。6 月から 11 月の検体では 53 件中 16 件 (30.2%) が陰性であった。処理下水 98 件は全例陰性であった。0.1ml 中にウイルス遺伝子が検出されたのは 12 月から 5 月に検査した 26 件中 15 件 (57.7%) で、6 月から 11 月の 29 件からは検出されなかった (図 1)。

PCR 産物の塩基配列を調べたところ、82 件中 81 件 (98.8%) からは A 型、1 件 (1.2%) からは B 型の遺伝子が検出された。さらに、5 件 (6.1%) からは標準株との相同性が 83% で、いずれの型にも属さない新型の遺伝子が検出された (図 2)。

#### D. 考察

ピコルナウイルス科のウイルスでも、エンテロウイルスは春から夏に流行し、A 型肝炎ウイルスは冬に流行することが知られている。今回の AiV 遺伝子の検出成績から、本ウイルスの流行は冬期にあると思われた。冬季に流行しカキ等の食品を介して感染を繰り返し人の抗体保有率も上昇して行くものと考えられる。

AiV は同一の血清型ウイルスでも塩基配列の差 (3CD 領域で 10%) により A 型と B 型に分けられる。我が国の分離株はほとんどが A 型に属する。一方 B 型は東南アジアでの感染例から分離されたものが属する。今回検出された遺伝子は殆どが A 型であり、我が国の流行ウイルスが A 型であることが確認された。海外感染例から検出される B 型は、98 件中 1 件のみであり、わが国ではほとんど流行していないと思われた。

AB どちらの型にも属さない新型の遺伝子は標準株との相同性が 83% であった。この値は、同じピコルナウイルス科の仲間エンテロウイルス属のポリオウイルス 1 型とコクサッキーウイルス 21 型の 3D 領域の違いに匹敵するが、コクサッキーウイルス B 3 型やエコーウイルス 30 型など種の異なるウイルスほどの違いはない (図 3)。これらのことから、新たに検出された遺伝子は AiV と種は同じながら、エンテロウイルス等中和反応の基づく血清型による分類との比較では、型の異なる株由来である可能性が高い。

本遺伝子の検出率が 6% と低い事から B 型と同じく海外で流行している株である可能性もある。わが国では大きな流行

には至っていないものと考えられた。  
諸々の性状や抗体保有状況などを知るためにも、ウイルスの分離が待たれる。

#### E. 結論

アイチウイルスは毎年冬季に流行し、下水中から高率に検出される。

アイチウイルスには従来知られていない血清型が存在する可能性がある。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究業績

##### 1. 論文発表

1) T. Yamashita, M. Ito, Y. Kabashima, H. Tsuzuki, A. Fujiura and K. Sakae. Isolation and characterization of a new species of kobuvirus associated with cattle. *J. Gen. Virol* ; 84: 3069-3077, 2003

2) M. Ito, T. Yamashita, H. Tsuzuki, N. Takeda, and K. Sakae. Isolation and identification of a novel human parechovirus. (*J. Gen. Virol.* 85: 391-398, 2004)

3) Shinichi Kobayashi, Katsuro Natori, Naokazu Takeda and Kenji Sakae. Immunomagnetic Capture RT-PCR for Detection of Norovirus from Foods Implicated in a Foodborne Outbreak. in press (*Microbiol. Immunol* Vol.48, No.3, 2004)

4) 榮 賢司、小林慎一 ノロウイルス抗原検出用 ELISA キット「NV」試薬の評価。医学と薬学 2003. 50; 715-719

##### 2. 著書

1) T. Yamashita and K. Sakae. Molecular biology and epidemiology of Aichi virus and

other diarrhoeogenic enteroviruses. pp 645-657, in U. Dessenberger & J. Gray eds. *Perspectives In Medical Virology, 9. Viral Gastroenteritis.*, Elsevier Science B.V., Amsterdam, 2003

##### 3. 学会発表

1) 山下 照夫、藤浦 明、椛島由佳、伊藤 雅、榮 賢司 下水中のアイチウイルスの消長と新たな遺伝子型の検出 第51回日本ウイルス学会学術集会、京都市、2003年10月。

2) 小林慎一、山下 照夫、藤浦 明、榮 賢司 平成14年度の愛知県におけるノロウイルスの検出状況 第51回日本ウイルス学会学術集会、京都市、2003年10月。

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

■ : アイチウイルス遺伝子陽性

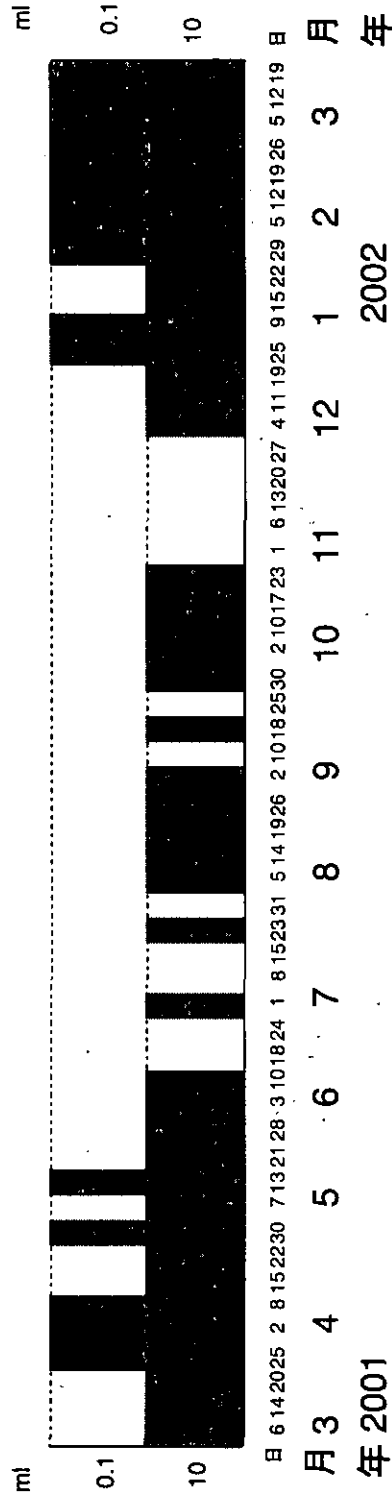


図1、流入下水10mlと0.1mlからのアイチウイルス遺伝子の検出成績

(2001年3月～2002年3月までの53検体)



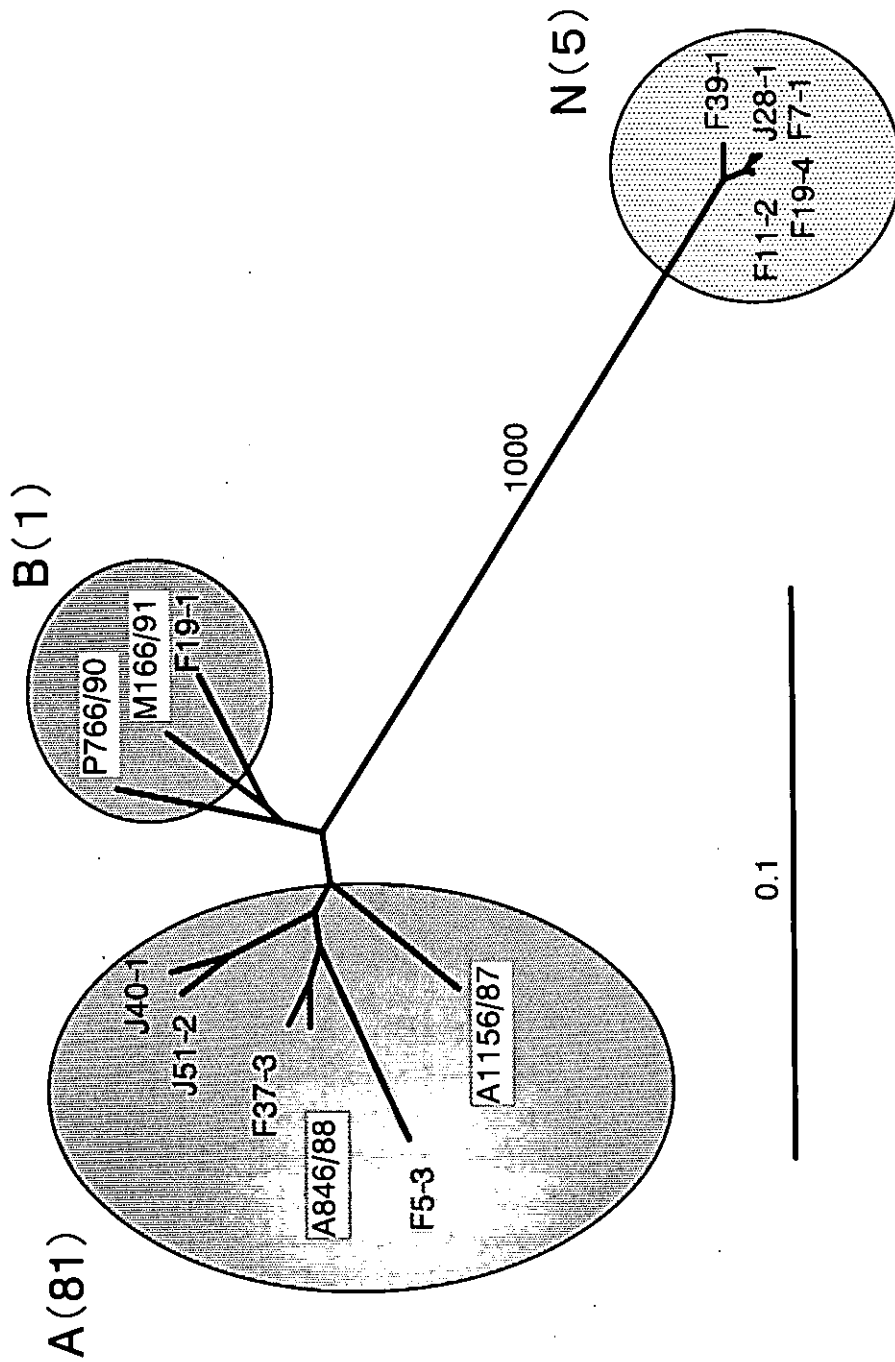


図2、下水から検出されたアイチウイルス遺伝子の系統樹解析(NJ法)

括弧内の数字は検出件数。下水由来のA型遺伝子は代表例のみ示した。胃腸炎患者由来の分離株を白抜きにした。

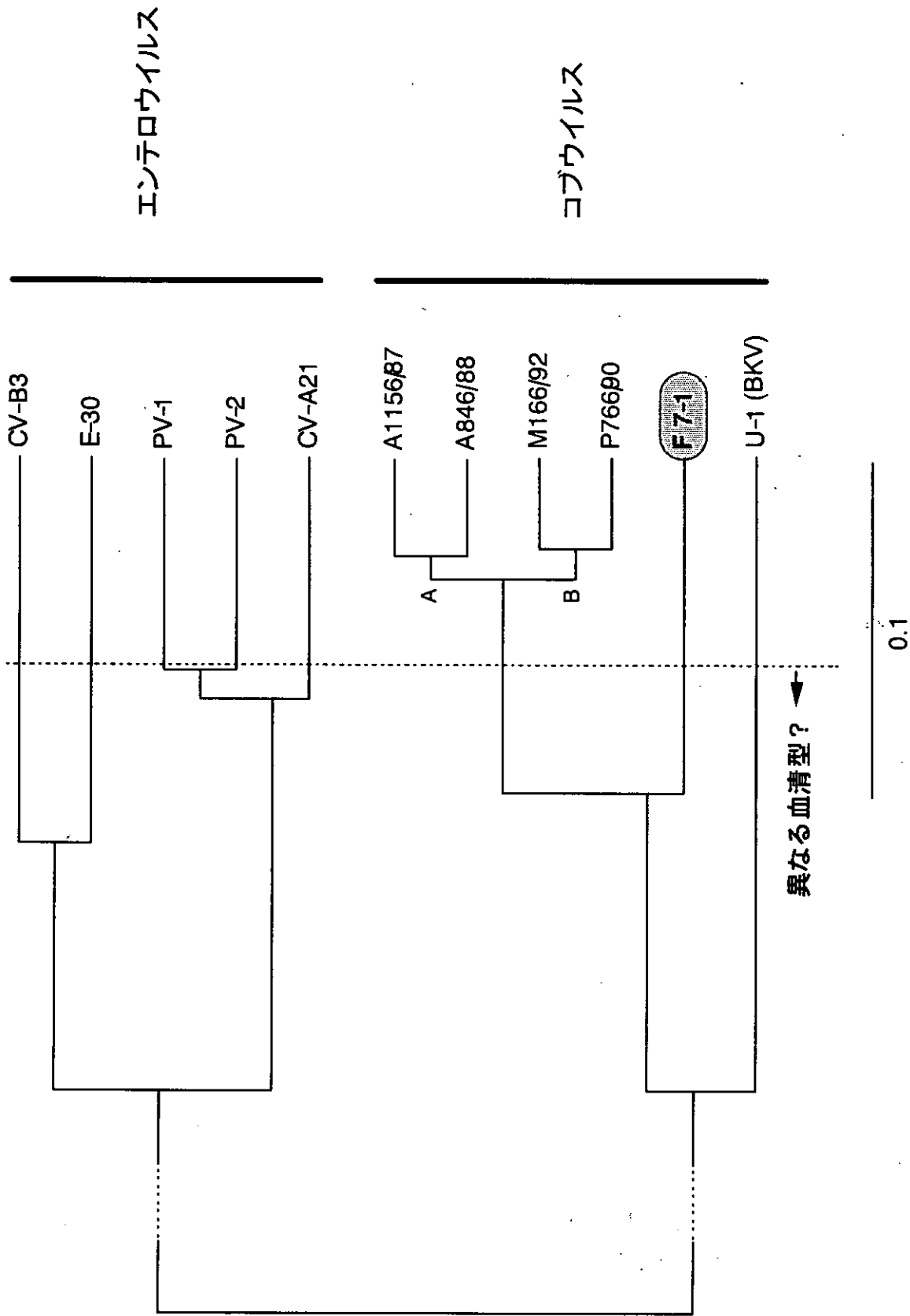


図3、下水中から検出された新型アイチウイルス遺伝子(F7-1)の既知のコボおよびエンテロウイルスとの系統樹解析による比較(UPGMA法)

平成15年度厚生労働科学研究費補助金（新興再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

急性胃腸炎からのノロウイルス及びサポウイルス検出頻度の  
推移に関する研究

分担研究者 大瀬戸光明（愛媛県立衛生環境研究所）

協力研究者 近藤玲子、山下育孝、豊嶋千俊（同上）

**研究要旨：**ウイルス性食中毒の制御には、食中毒発生の背景である地域社会における胃腸炎起因ウイルスの流行実態の把握が必要である。2003年愛媛県の散発性胃腸炎からは、例年と同様春季にロタウイルス、秋から冬季にかけてノロウイルスの流行が認められた。集団発生からのノロウイルスと同時期の散発性胃腸炎のノロウイルスは極めて類似しており、相互の関連性が伺われた。また、サポウイルスの増加傾向がみられ、約7%の検出率を示した。さらに、本年は幼稚園においてサポウイルス胃腸炎が集団発生し、サポウイルスの胃腸炎起因ウイルスとしての重要性が示された。

A. 研究目的

近年、ウイルスによる食中毒や施設内での胃腸炎集団発生の報告が増加傾向にある。ヒトに急性胃腸炎をおこすウイルスは、ノロウイルス(NV)、サポウイルス(SV)、ロタウイルス、腸管アデノウイルス、アストロウイルス等がよく知られているが、ウイルス性食中毒の9割以上はNVが原因であるとされており、衛生行政上はNVが最も重要視されている。しかし、近年SVの増加傾向がみられ始めており、その動向を監視するとともに、SVの検査法の開発が重要性を持ってきた。

食品媒介性ウイルスによる胃腸炎集団発生の制御には、地域における下痢症ウイルスの流行動向を把握しておくことが重要であると考えられる。愛媛県において長期継続的に急性胃腸炎患者の原因ウイルス検索を行ったので、その結果を報告する。

B. 研究方法

**材料：**糞便材料は、2003年1月から12月の間に、感染症発生動向調査病原体検査定点で主に小児の感染性胃腸炎患者から採取した452検体及び胃腸炎集団発生の患者糞便を用いた。

**方法：**糞便からのウイルス検索は、電子顕微鏡法(EM)及びRT-PCRで行った。EMは常法により粗精製した糞便材料を、2%PTA染色後4万倍で観察し、下痢症ウイルスの検索を行った。NV遺伝子の検出は、影山らのCOGF/R系プライマーとRING TaqManプローブを用いたリアルタイムPCRを行った。NV陽性例の一部はCOG2F/G2SKRプライマーを用いてRT-PCRを行い、ABI Genetic analyzer 310によるPCR産物のダイレクトシーケンシング法で塩基配列を決定した。

SV遺伝子の検出は、岡田らの方法に準じ、カプシド領域を増幅するSV系プライマー

(1st SV-F1/R1, nested SV-F2/R2) を用いた nested PCR を行った。SV の遺伝子解析は千葉県衛生研究所 (岡田博士) に依頼し、ABI Genetic analyzer 310 による PCR 産物のダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。系統樹解析は約 400 塩基長のカプシド領域部分の塩基配列について近隣結合法を用いて行った。

## C. 研究結果

### 1. 感染性胃腸炎患者発生動向

2003 年の愛媛県感染症発生動向調査における感染性胃腸炎の患者発生報告数 (定点あたり/週) の消長を示した (図 1)。感染性胃腸炎患者発生は、冬季に 2 峰性のピークを示し、2003 年は 1 月から 4 月まで 10 人/週をこえる比較的平坦なピークがみられ、9 月下旬から 11 月下旬にかけての急峻な患者発生ピークがみられた。

### 2. 散発性急性胃腸炎患者からのウイルス検出状況

2003 年の散発性急性胃腸炎から EM 及び PCR で検出したウイルス数を表 1、図 2 に示した。NV は 78 例 (検出率 17.0%) 検出され最も多かった。次いでロタウイルスが 56 例 (検出率 12.2%) 検出された。SV は 31 例 (検出率 6.7%) で、昨年度の SV 検出数 11 例と比べると著しい増加が注目された。その他の下痢症起因ウイルスはアデノウイルスが 15 例、アストロウイルスが 16 例検出された。EM で SRSV が陽性で、PCR で増幅されない未同定ウイルスは 2 例で、NV 検出用のリアルタイム PCR 及び SV 検出用の岡田らの方法がともに広く NV や SV を検出する優れた方法であることが示された。

ロタウイルスは 1 月から 5 月の間と 12 月に多く検出された。ロタウイルス陽性の 56 例中 38 例はイムノクロマト法で A 群と同定され、13 例は RPHA 法 (デンカ生研製) により C 群ロタウイルスと同定された。ほとんどの C 群ロタウイルスは 4 月と 5 月に集中して検出された。

NV は 1 月から 6 月にかけて比較的多く検出

されつづけ、5 月を除いて夏季の間も毎月少数例ながら検出された。2003 年冬の NV は流行の始まりが遅く、11 月下旬から検出され始めた。一方、SV は 5~6 月を中心に夏場に多く検出され、次いで 11~12 月に比較的多く検出された。NV の遺伝子型別は Genogroup I (GI) が 7 株に対して、GII が 71 株であった。GII が年間を通じて検出されていたのに比べ、GI が 2 月から 4 月に集中していたことは注目される。

本年はアストロウイルスが 16 株と比較的多かったが、季節的には春に集中して検出された。また、アデノウイルスも春に多く検出されたが、ほぼ年中検出され明らかな季節的消長がみられなかった。

### 3. 愛媛県における食中毒等集団発生事例

表 2 には 2003 年 1 月から 2004 年 2 月の間に発生した食中毒事例及び原因食品が不明であった急性胃腸炎集団発生事例を示した。

7 事例のうち 3 事例 (No. 1、2、7) は食中毒事例と断定されたが、他の 4 事例は患者発生状況から必ずしも食中毒とはいえ胃腸炎集団発生事例として取り扱われた。7 事例のうち明らかにカキが関与した事例は 1 事例 (No. 1) のみで、患者からは GI と GII の両方の遺伝子型株が混在して検出された。No. 2 の事例は会席料理が原因とされ、No. 8 は給食が原因とされたが、両事例とも調理従事者から患者とほぼ同じ NV 遺伝子が検出された。

No. 3 と No. 6 の事例は、ヒト-ヒト感染が疑われ、特に No. 6 は院内感染の可能性があった。

No. 5 は幼稚園で発生した集団発生で、EM で SRSV が検出されたが、NV 遺伝子検出用のリアルタイム PCR が陰性であったため、SV 遺伝子の検出を試み、高率に SV の検出に成功したので、SV による急性胃腸炎集団発生であったことが判明した事例である。SV による胃腸炎の集団発生については、後に詳述する。

本調査期間にはカキが関与した食中毒事例が少なかったためか、7 事例の患者 73 名から GI が 3 例、GII が 49 例検出され、散発性胃腸

炎患者からの遺伝子型別検出率と同様に GII が圧倒的に多く検出された。

#### 4. SV による胃腸炎集団発生

2003 年 12 月中旬に松山市の幼稚園において、嘔吐や下痢、腹痛を主徴とする急性胃腸炎の集団発生が届出された。118 名の園児のうち 53 名（発症率 44.9%）が発症し、11 名の職員のうち 2 名が罹患した。患者の日別発生状況は図 3 に示したように、12 月 8 日、9 日には各 1 名であったが、10 日に 39 名、11 日に 14 名であった。この一峰性の患者発生パターンから食中毒のような単一暴露が疑われた。また、クラス別の患者発生数を図 4 に示したが、学年別及びクラス別の発症率にほとんど差異が認められなかった。これらのことから食中毒のような単一暴露が示唆された。食中毒とすると 12 月 8 日か 9 日の給食が原因と疑われたが、この幼稚園に提供されたものと同時に調理された給食を食べた他の 2 小学校と 1 中学校では胃腸炎の患者発生がなかったため、給食を原因食品とする食中毒とは断定できなかった。患者糞便及び保存食の細菌検査では病原細菌は検出されなかったため、EM 検査及び NV 検出用のリアルタイム PCR によるウイルス検査が行われた。その結果を表 3 に示した。園児の糞便 11 検体、調理従事者 14 名の糞便の EM 検査で、8 名の園児から SRSV が検出され、そのうち 1 名からは同時にアデノウイルスも検出された。しかし、NV 検出リアルタイムは全例陰性であった。そこで、SV 検出用の nested PCR を行ったところ 11 検体の園児糞便のうち 10 検体から SV が検出され、今回の幼稚園における胃腸炎集団発生が、SV を原因物質とする集団発生であったことが明らかとなった。

SV による胃腸炎集団発生における症状の発現頻度を図 5 に示した。嘔吐、嘔気は約 80%、腹痛 40%、下痢 30%、発熱 20% で、嘔吐、嘔気以外は NV による胃腸炎に比べ発現率が低く、SV による胃腸炎の症状が軽症であったことが示唆された。

#### 5. SV の分子系統樹解析

2003 年には多くの SV 株が検出され、カプシド領域の約 400 塩基長の分子系統樹解析を行った。SV の遺伝的多様性を代表する参照株と愛媛県で今までに検出された SV 流行株と共に 2003 年株を解析した結果を図 6 に示した。SV の検出年をウイルス株番号の最初の 2 桁に表している。03- で示されている 2003 年検出株は、5 つのグループに分かれた。流行時期が同じものは、ほぼ同じグループに属す傾向がみられ、SV においても経時的に流行株が変遷しているものと考えられた。

また、2003 年 12 月に幼稚園の集団発生から検出された SV (03-815~03-1837) と同時期に散発性胃腸炎患者から検出された SV との塩基配列相同性は 100% 一致していた。

#### D. 考 察

感染性胃腸炎は毎年冬季を中心に流行し、我が国においても他の先進諸国と同様その患者数の多さから公衆衛生上重要な疾患として認識されている。主に冬季に流行する感染性胃腸炎にはロタウイルス、NV、SV、アストロウイルス、腸管アデノウイルス等の多彩なウイルスが関与している。これらの原因ウイルスのうち、特に NV は、しばしば食中毒の原因として、また、学校や施設において胃腸炎集団発生を引き起こすことから衛生行政上の課題となっている。食中毒や集団発生の制御のためには、地域におけるこれらのウイルスの流行動向を把握しておくことが重要である。

NV の検出には、影山らの方法に準じたリアルタイム PCR を用いたことにより、従来法と比べて著しく迅速性が向上し、また、NV 検出感度も高く、1 反応チューブに NV の目的遺伝子の cDNA が 1 コピーあれば検出可能である。それと並行して SV 検出のために、岡田らの方法に準じた nested PCR を用いた。その結果、2003 年は EM で検出された SRSV 或いはいわゆるサッポロウイルス様粒子は全て、NV 又は SV と同定された。このことは、我々が用いている 2 法が、散発性、集団発生を問わず現在流行しているカリシウイルスの検出に優れてい

ることを示している。

集団発生から検出された NV についてカブシド領域の遺伝子塩基配列の解析を行った結果、事例 No.2 は Amsterdam 株、No.3、No.7 は Lordsdale 株、No.6 は Mexico 株に近縁のウイルス株であった。No.2 と No.7 は調理中の食品の 2 次汚染による食中毒事例、No.3 と No.6 はヒト-ヒト感染による集団発生と考えられている事例であった。これらの集団発生に関連して検出された Amsterdam 株、Lordsdale 株、Mexico 株に近縁の株は、それぞれ集団発生の時期の前後に県内の散発性患者からも検出されており、集団からの検出株と散発例からの検出株の遺伝子塩基配列の相同性は極めて高かった。このことは地域で流行している NV が、食中毒事件やヒト-ヒト感染による集団発生の原因として重要であることを示唆している。

ウイルス性胃腸炎における SV の重要性が益々高まってきている。2003 年の散発性胃腸炎からの NV と SV の検出数は、それぞれ 78 株と 31 株で、SV 占める割合が増加した。さらに、2003 年には幼稚園において SV による胃腸炎が集団発生した。今後、SV の動向を監視するとともに、より精度が高く、幅広く SV を検出できる方法の開発が期待される。

#### E. 結論

1) 2003 年 1 月から 2002 年 12 月に小児の散発性急性胃腸炎から EM および RT-PCR、リアルタイム PCR で NV が 78 例(検出率 17.0%)、ロタウイルスが 56 例 (12.2%)、SV が 31 例 (6.7%) 検出された。アデノウイルス、アストロウイルスはそれぞれ 15 例 (3.3%)、16 例 (3.5%) 検出された。SV の検出数の増加が注目された。

2) 集団発生の原因として Amsterdam 株、Lordsdale 株、Mexico 株に近縁の株がそれぞれ検出された。また、集団発生の前後の時期に地域社会において塩基配列相同性の極めて高い株がそれぞれ流行していたことが示された。

3) 2003 年 12 月には、SV による幼稚園における胃腸炎集団発生が起こり、同時期に散発性患者からも同一株が検出された。

4) SV による胃腸炎の症状は、NV に比べ軽い傾向がみられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

大瀬戸光明、山下育孝、近藤玲子、豊嶋千俊、井上博雄：ELISA 法による *Norovirus* 抗原検出キットの性能評価. 医学と薬学, 50:721-726 (2003)

##### 2. 学会発表

1) 西田知子、野田衛、三上稔之、篠原美代子、春木孝祐、大瀬戸光明、秋山美穂、西尾治：市販生食用カキのノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルス汚染状況. 第 51 回日本ウイルス学会、京都市、2003 年 10 月。

2) 杉枝正明、古屋由美子、大瀬戸光明、藤本嗣人、田中俊光、山口卓、長谷川斐子、西尾治：輸入生鮮魚介類におけるウイルス汚染状況について. 第 51 回日本ウイルス学会、京都市、2003 年 10 月。

#### G. 知的財産権の出願、登録状況

なし

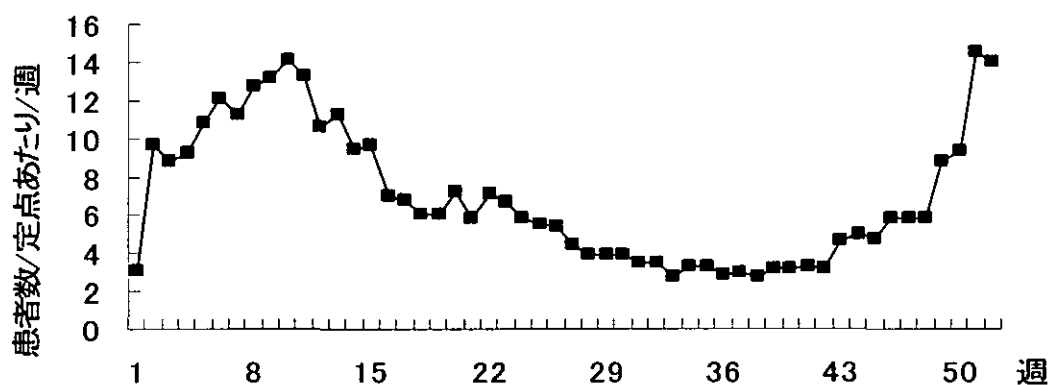


図1 愛媛県の感染性胃腸炎週別患者報告数(2003年)

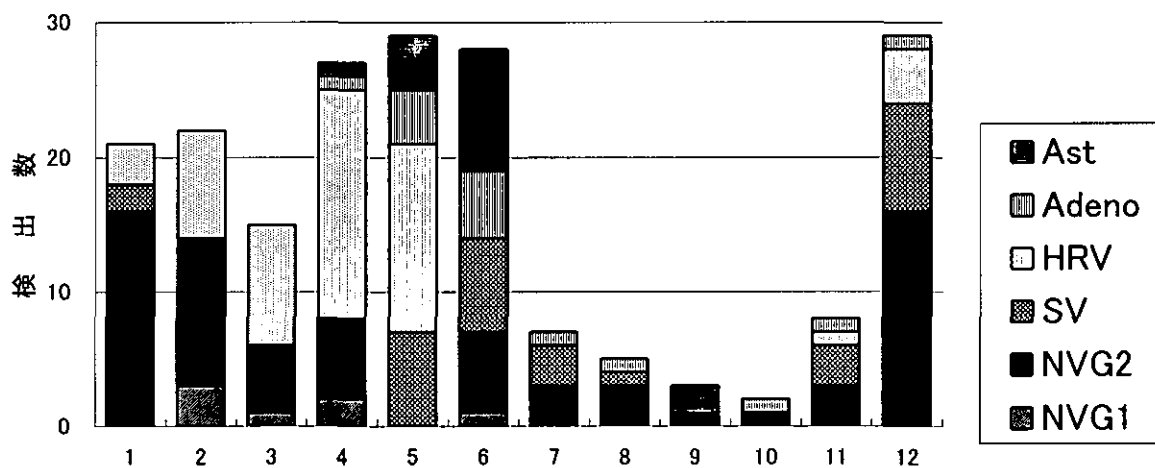


図2 散発性の急性胃腸炎からのウイルス検出状況(2003年)

表1 感染性胃腸炎患者からのウイルス検出状況(2003年)

月別	検査数	NV		SV	ロタウイルス			アデノウイルス	アストロウイルス
		G1	G2		A群	C群	NT		
1月	34		16	2	3				
2月	40	3	11		7		1		
3月	36	1	5		8	1			
4月	39	2	6		10	5	2	1	1
5月	37			7	6	7	1	4	4
6月	50	1	6	7				5	9
7月	53		3	3				1	
8月	42		3	1				1	
9月	37		1						2
10月	24		1					1	
11月	30		3	3	1			1	
12月	38		16	8	3		1	1	
計	460	7	71	31	38	13	5	15	16
検出率(%)		17.0		6.7	12.2			3.3	3.5

表2 急性胃腸炎集団発生事例からのウイルス検出状況

事例No.	発生日	発生場所	原因食品	発病者数	摂食者数 (在籍者数)	区分	検査数	NV陽性 /PCR	SV陽性 /PCR	Genogroup
1	H15.1.11	飲食店	会席料理 酢力キ	23	27	患者	11	7		GII:7, GI:3
						従業員	4	0		
2	H15.2.9	旅館	会席料理	70	156	患者	19	16		GII:16 (Amsterdam:2)
						従業員	8	4		GII:4 (Amsterdam:2)
3	H15.4.4	スポーツ 合宿	不明	102	(689)	患者	7	4		GII:4 (Lordsdale:1)
4	H15.12.7	飲食店	不明	5	16	患者	2	2		GII:2
						従業員	2	0		
5	H15.12.10	幼稚園	不明	57	129	患者	11	0	10	
						従業員	14	0	0	
6	H15.12.10	病院	不明	23	?	患者	14	10		GII:10 (Mexico:3)
7	H16.2.6	保健施設	給食	29	97	患者	9	8		GII:8 (Lordsdale:8)
						従業員	5	3		GII:3 (Lordsdale:3)
計				309		患者	73	47	10	GI:3 GII:47
						従業員	33	7	0	GII:7

図3 M幼稚園における経時的患者発生状況

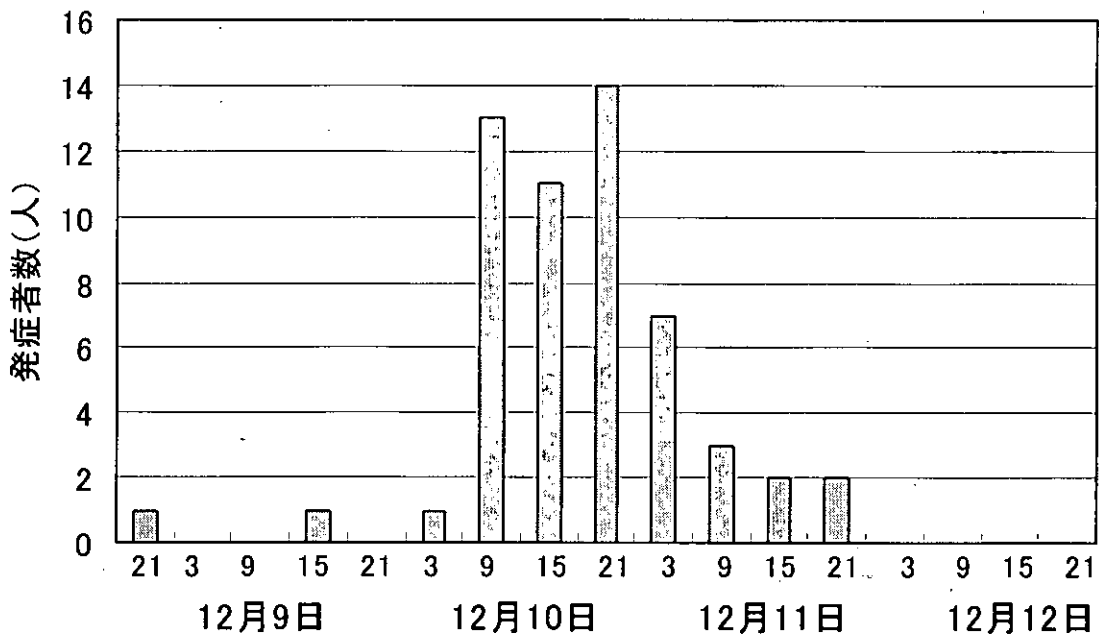




図4 クラス別発症率の比較

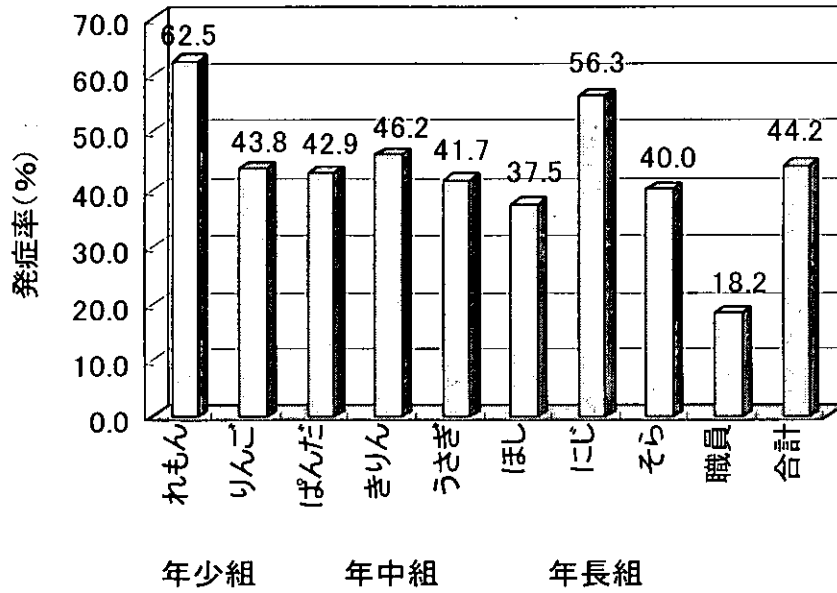
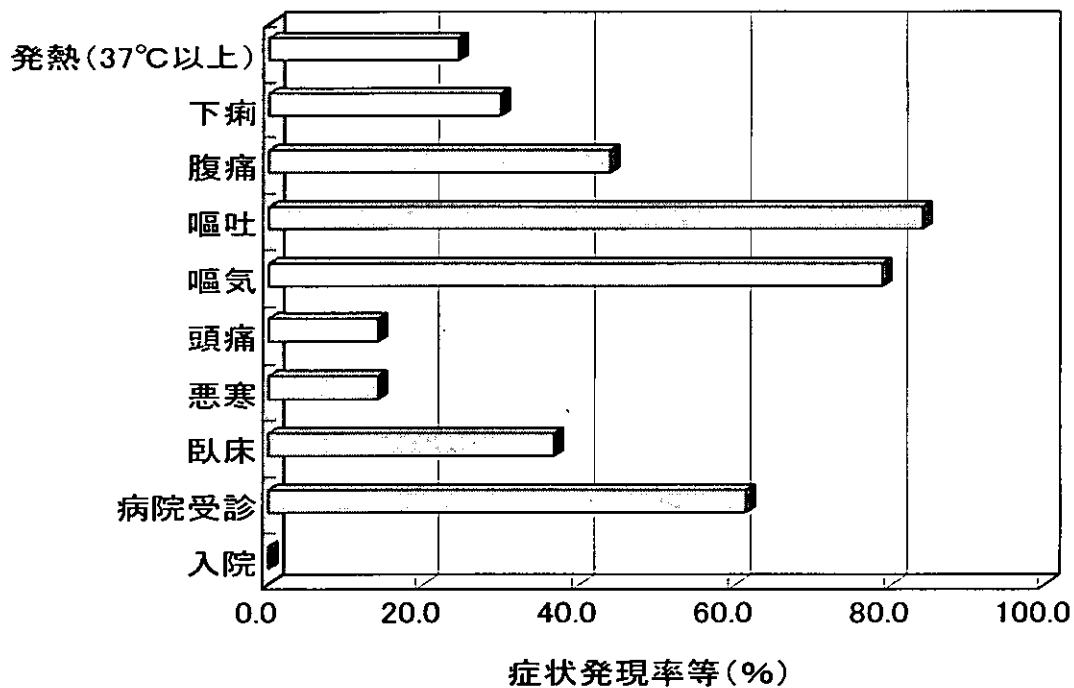


表3 M幼稚園のウイルス検査結果

検体区分	検査数	EM	PCR結果	
			NV	SV
患儿	11	SRSV 8例陽性 Adeno 1例陽性	0	10
調理従事者	14	0	0	0

図5 SVによる胃腸炎患者の症状(n=57)



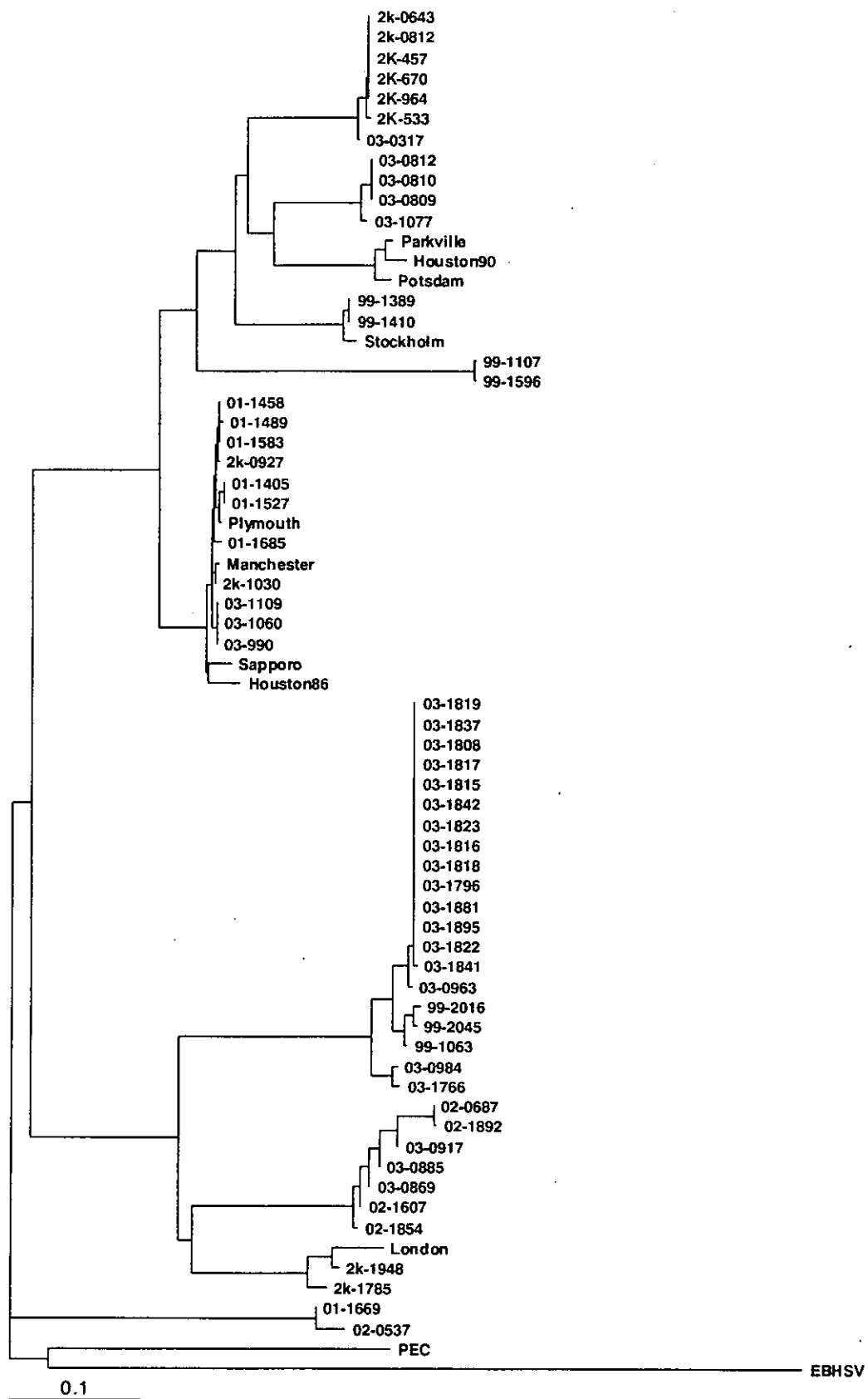


図6 愛媛県のSV遺伝子塩基配列の系統樹解析

平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金（新興再興感染症研究事業）

分 担 研 究 報 告 書

Norovirus の施設内の集団発生について

分担研究者 篠崎邦子 千葉県衛生研究所主席研究員  
協力研究者 岡田峰幸 千葉県衛生研究所研究員

研究要旨:2003 年 4 月から 2004 年 1 月までに千葉県内で Norovirus (NV) 集団発生事例が 19 事例あった。発生場所は、社会福祉施設、保育所、学校、病院など集団生活の場での発生が 13 事例 (62%) と多かった。社会福祉施設、保育所での集団発生事例 8 事例についてその感染経路を検討した。1 事例は食中毒を疑った事例であったが、7 事例は、患者発生のピークがなだらかで、ピークの数日前から患者がみられ、さらに職員にも発症者がみられるという特徴から、人-人感染による集団発生であることが推定された。また、1 事例は入所者 10 名と職員 1 名から検出した NV の塩基配列が一致した。

A. 研究目的

Norovirus (NV) は、近年検査法の進歩とともに非細菌性食中毒や急性胃腸炎の集団発生の主要な原因ウイルスであることが明らかになり、公衆衛生上重要性が増してきている。NV の感染経路は、汚染した食品や水によって引き起こされるものと、人-人感染によるものがあると考えられている。特に、学校や老人ホーム、保育所などの施設に患者が発生すると、人-人感染によって感染が拡大することが報告されている<sup>1,2)</sup>。今年度、施設内での集団発生事例が数多くみられたのでウイルス検索を行い、疫学調査と併せて感染経路について検討を試みた。

B. 研究方法

2003 年 4 月から 2004 年 1 月までに

千葉県内で発生し当所に行政検査の依頼のあった非細菌性食中毒事例および感染性胃腸炎集団発生事例 24 事例について患者便、患者吐物、調理従事者便等を採取し検査材料とした。

ウイルス検査は RT-PCR 法と電子顕微鏡法 (EM) を行い、A 群ロタウイルス、アデノウイルスの検出は EIA を行った。NV の RT-PCR は、EM の検体処理でウイルスを超遠心により濃縮した後、High Pure Viral RNA Kit (Roche 社製) により核酸を抽出した。逆転写反応は oligo (dT) で行い、PCR のプライマーは構造蛋白領域に設定した武田らの Genogroup I (GI)、Genogroup II (G II) に特異的なものと、Alphatron、Amsterdam 検出用に G II プライマーを別途設定したものをを用いた。PCR 陽性

検体は、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し系統解析を行った。

## C. 研究結果

### 1. NV 事例の発生状況

2003年4月から2004年1月までに当所に行行政検査の依頼のあった非細菌性食中毒事例および感染性胃腸炎の集団発生24事例のウイルス検査の結果、NV事例は19事例、A群ロタウイルス、アデノウイルスが各1事例であった。

NV事例の発生場所と感染経路を表1に示した。発生場所は、社会福祉施設、保育所、学校、病院など集団生活の場での発生が13事例(62%)あった。これらのうち、食中毒が疑われたが感染経路不明に終わった2事例以外は疫学調査から人一人感染と推定される事例であった。飲食店、事業所、旅館など6か所で食中毒の発生がみられたが、カキ喫食事例は1事例のみで、他の事例は仕出し弁当、旅館の食事、宴会料理等によるものであった。NV事例の発生は、食中毒、人一人感染とも11~1月の冬季に多かった。特に1月は人一人感染が5事例と多くみられた。(図1)。

### 2. NV 事例の遺伝子型発生状況

検出したNVはGIが3事例、GIIが15事例、GI・GII混合が1事例であった。月別の遺伝子型発生状況を図2に示した。GIの遺伝子型はShindlesham (Shindlesham/95/UK)、SOV (Southampton/91/UK)、Norwalk (Norwalk /68/US)で6月と12月に検

出した。GIIの遺伝子型は、LV (Lordsdale/93/UK)、MXV (Mexico/89/MX)、Leeds (Leeds/90/UK)、Miami (Miami/292/94/US)であった。Leedsはこれまで検出が稀な遺伝子型であったが、11月に3事例から検出した。LVは9事例と最も多く検出し、1月は6事例全てLVであった。これらの事例の発生地域は県南部から北東部にわたっていた。また、12月下旬から1月に千葉市内の小児急性胃腸炎患者から検出したNV7株は全てLVであった。これらの状況から県内でLVが流行していたと思われた。

### 3. 施設におけるNV 事例

社会福祉施設および保育所での集団発生事例が多くみられたので、疫学調査結果の入手できた8事例についてその概要を表2に示した。1月中旬に5事例が相次いで発生し、その発生場所は老人保健施設、身体障害者施設、精神障害者施設であった。事例5と事例8は関連施設で、事例5の施設の発症者を事例8の施設に移動させたことによって感染を広めたことが推定された。発生期間は、事例6が4日間、事例2が7日間と短い、それ以外は概ね2週間近く続いた。発病率は、保育所で約50%、老人保健施設30~70%と高率であった。ほとんどの事例で職員に発症者がみられた。

ウイルス検査の結果、全ての事例で高率にNVが検出され、遺伝子型はLVが6事例、MXV、Leedsが各1事例であった。

事例4の患者発生状況を図3に示し