

GII 9 種類) の遺伝子型に分類された。

- ・ 検出された NV は GII/4 が全体の 37.5% であった。この他に、GII/6 が 8.6% と検出が増えてきていた。
- ・ GII/3 は 2003 年 11 月～2004 年 2 月までは検出されていたが、その後検出されなかった。しかし、2004 年 3 月及び 2005 年 10-12 月の間に検出が見られた。
- ・ 2003 年 11 月から増加してきた GII/4 については、SM82/G2SKR プライマーによる増幅産物の得られた 35 株について検討したが 2 つのクラスターに分類され、DQ078801 Hu/GII.4/Hunter 532D/040/AU DQ095875 Hu/GII/Nagano/2004/H/JP 類似のものであった。

G 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

○松岡 由美子、平野 敬之、小河 正雄：
熊本市、佐賀県、大分県で検出されたノロウイルス (NV) の分子疫学、第 46 回日本臨床ウイルス学会 (2005. 6)

○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：熊本市、佐賀県、大分県で検出されたノロウイルス (NV) の分子疫学について、第 53 回日本ウイルス学会学術集会 (2005. 11)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

なし

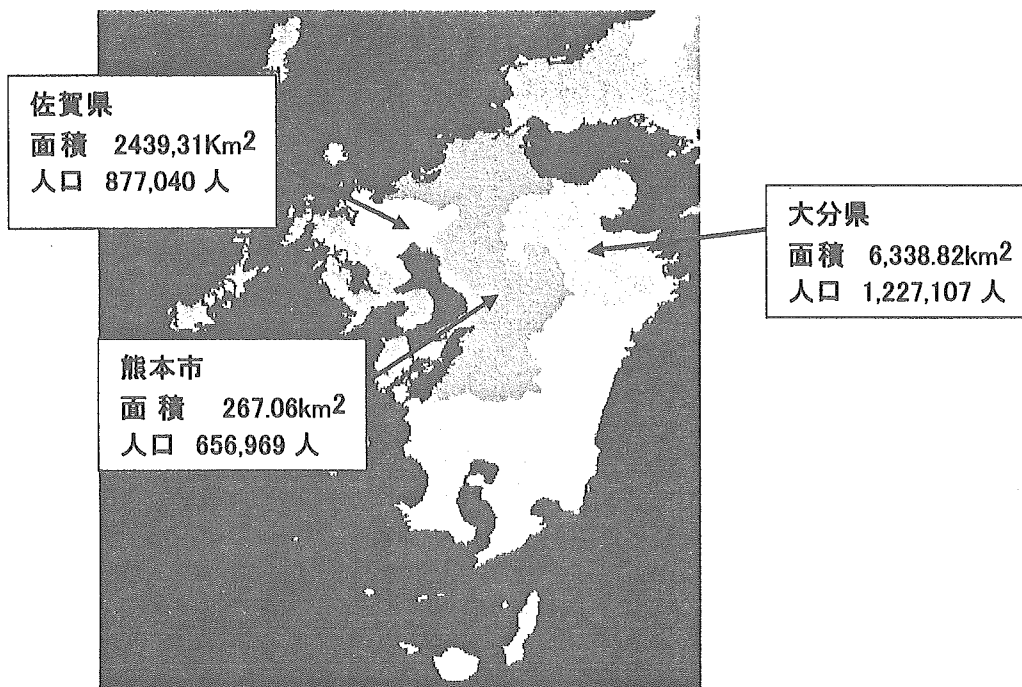


図1 3地方位置と面積人口

表1 検体内訳 計232株

	採取時期	集団発生事例	散发事例	食品
熊本市	H15.1	22事例	9検体	11検体
	~ H18.1	43株	9株	13株
佐賀県	H15.3	36事例	32検体	2検体 (食中毒由来)
	~ H17.12	41株	32株	2株
大分県	H15.1	46事例	28検体	9検体 (食中毒由来2検体)
	~ H18.1	54株	28株	10株

表 2 検出された遺伝子型

G1	集団	散発	食品	計	G2	集団	散発	食品	計
G1/1	12	0	4	16	G2/1	4	0	0	4
G1/3	3	1	0	4	G2/2	13	3	2	18
G1/4	1	0	0	1	G2/3	16	14	4	34
G1/5	1	0	0	1	G2/4	49	28	10	87
G1/7	1	0	0	1	G2/5	6	1	0	7
G1/8	5	3	1	9	G2/6	7	12	1	20
G1/11	3	1	0	4	G2/8	4	0	0	4
G1/12	1	3	0	4	G2/12	2	1	0	3
G1/13	1	0	0	1	G2/14	2	0	0	2
G1/14	1	0	2	3	G2 不明	2	2	0	4
G1/17	1	0	0	1	計	105	61	17	183
G1 不明	3	0	1	4					
計	33	8	8	49					

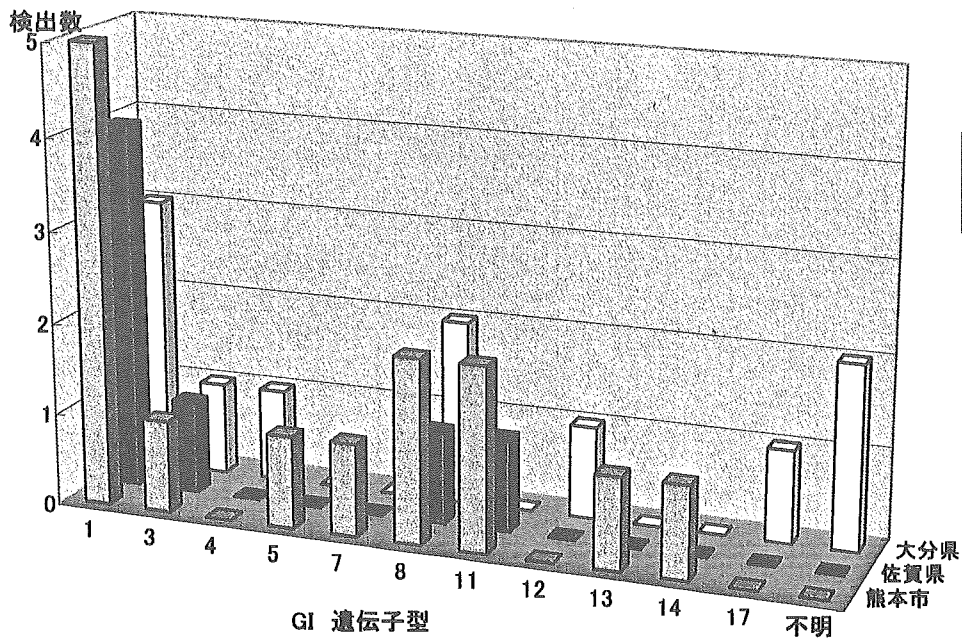
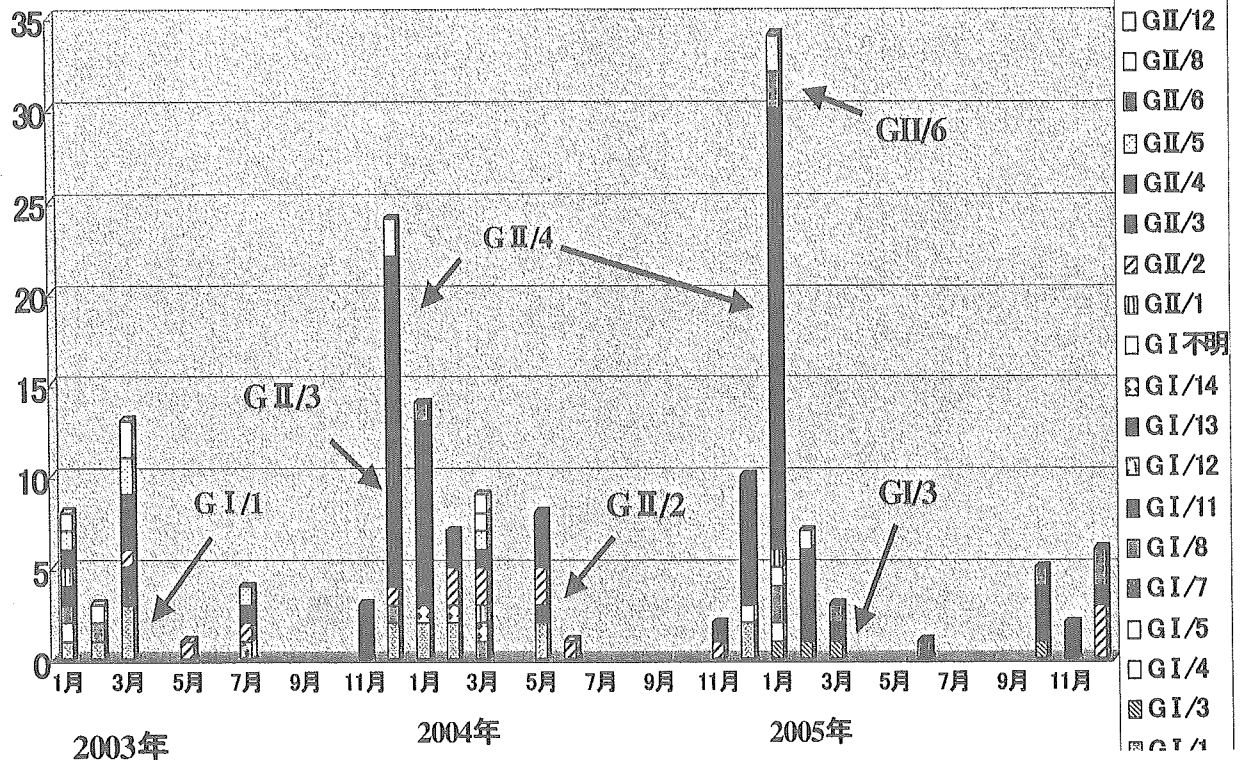


図 2 集団事例から検出された遺伝子型比較

事例数 表 3

IV月別検出状況(集团発生事例数)



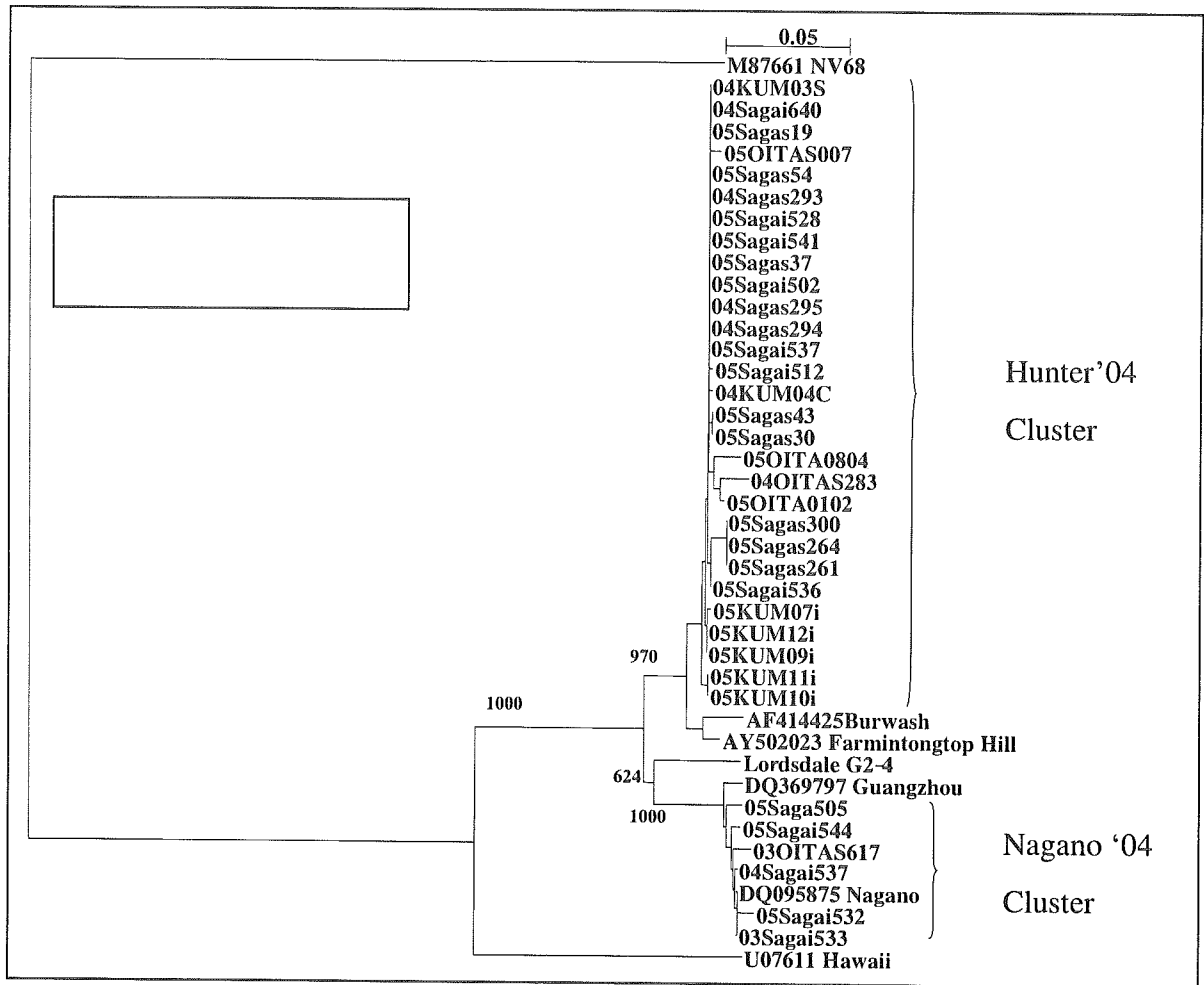


図 4 G II / 4 SM82/G II SKR 増幅産物系統樹

検体番号は年、県または市名、検体番号の順に示してある。

H17年シーズン熊本市で
検出されたNV

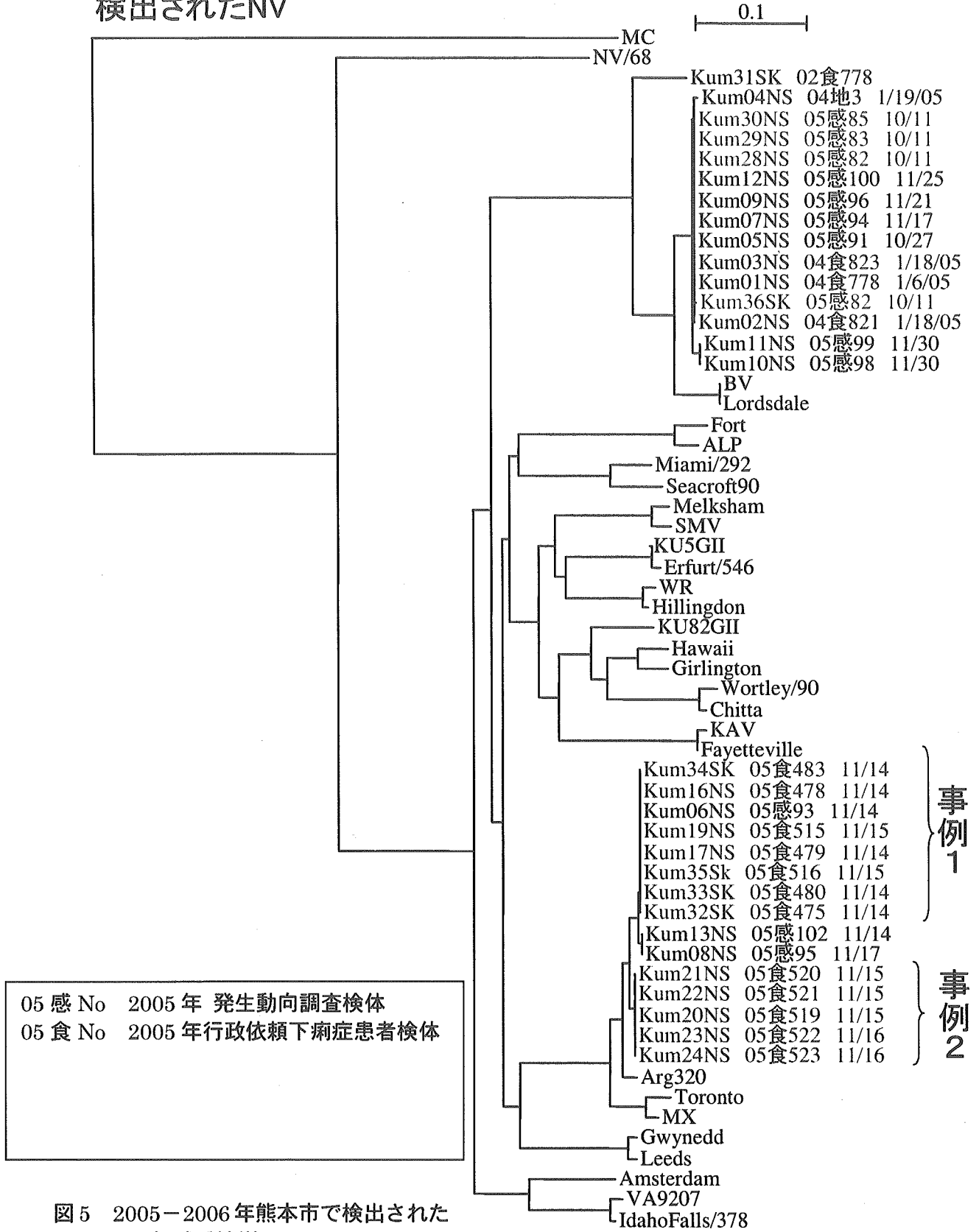


図5 2005-2006年熊本市で検出されたNV N/S領域系統樹

表 4 感染性胃腸炎定点あたり患者数

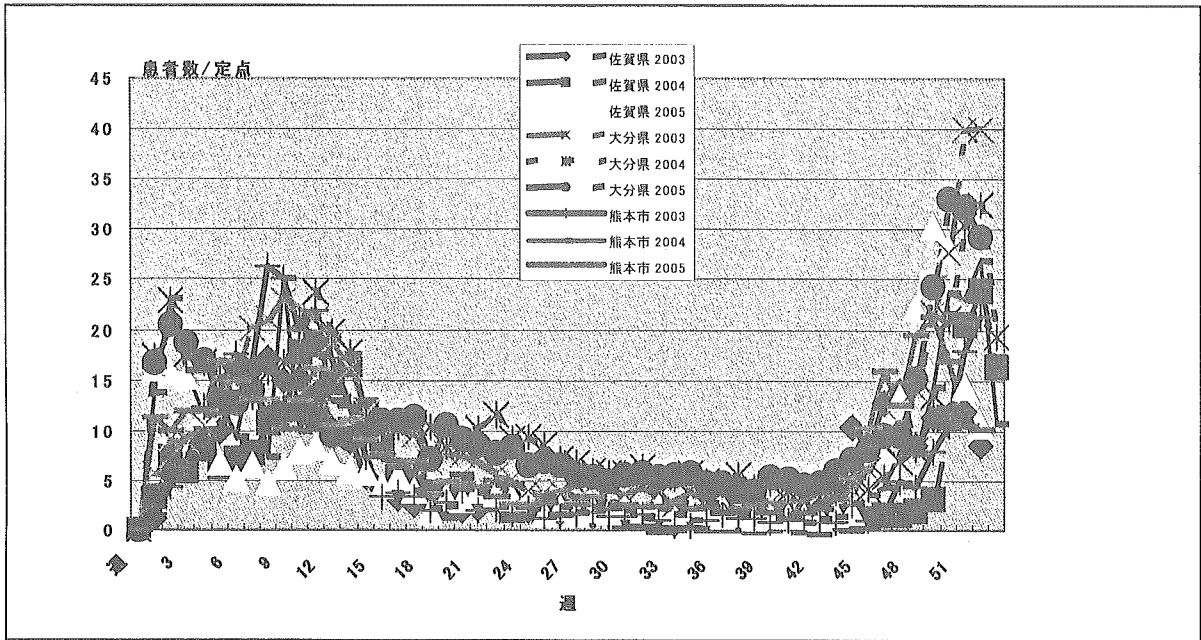


表 5 感染性胃腸炎患者数

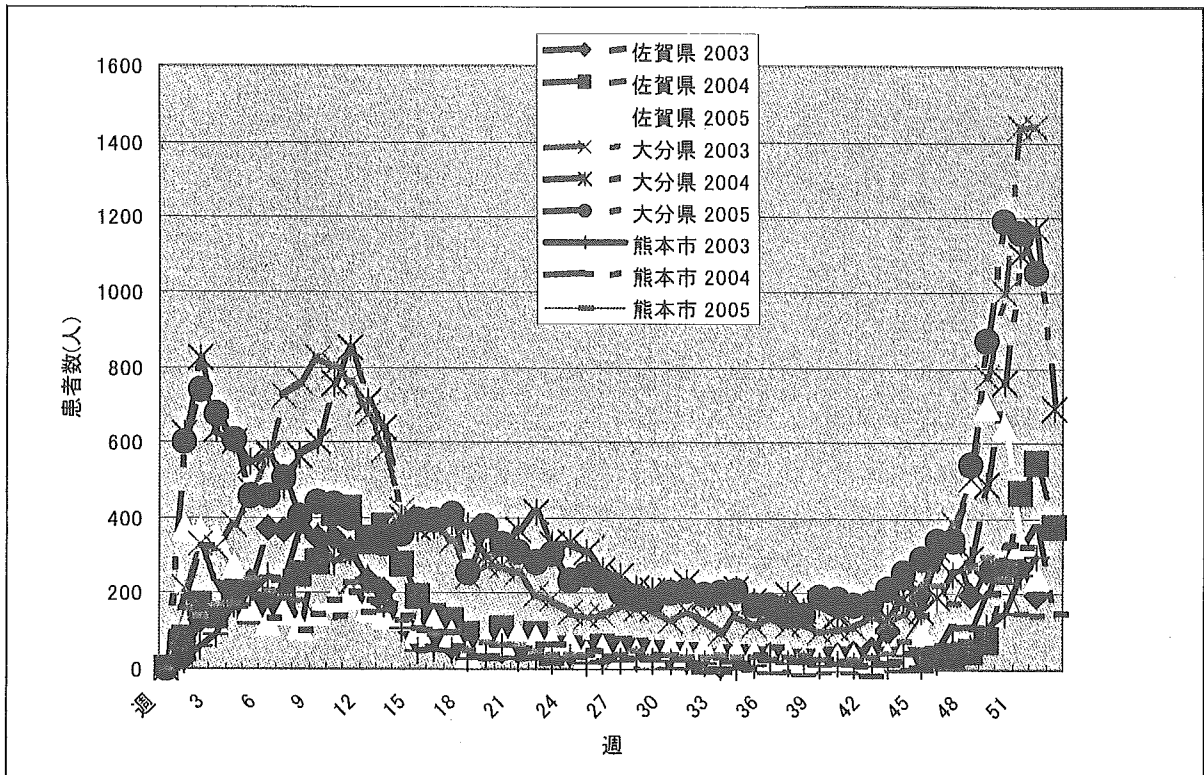


表6 食中毒事例

熊本市	2003年1月	38	21	生カキ	飲食店	GI/1,5,8,11.GII/1,3,5,12
佐賀県	2004年6月	36	28	不明	給食施設	GII/2
大分県	2003年1月	8	6	酢カキ(推定)	飲食店	GII/4
大分県	2003年12月	86	47	弁当	飲食店	GII/4
大分県	2003年12月	152	56	チキンカツ	給食施設	GII/4
大分県	2003年12月	7	5	牡蠣鍋のカキ	家庭	GI/8、GII/3
大分県	2004年12月	92	55	不明	飲食店	GI/8
大分県	2004年12月	33	22	和食会席料理	旅館	GII/4
大分県	2004年12月	58	9	不明(弁当)	飲食店	GII/4

平成 17 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）
「食品由来のウイルス性感染症の検出法の高度化、実用化に関する研究」
分担研究報告書

大阪市で検出されたノロウイルスの遺伝子型の多様性について
(1999 年 4 月～2005 年 3 月)

分担研究者

勢戸 祥介（大阪府立大学大学院生命環境科学研究科 獣医微生物学）

協力研究者

入谷 展弘、久保 英幸、改田 厚、阿部 仁一郎
(大阪市立環境科学研究所 微生物保健課)

研究要旨

1999 年 4 月から 2005 年 3 月の 6 年間に大阪市で検出されたノロウイルス (NV) について遺伝子型別し、分子疫学的解析を行った。遺伝子型別の結果、NV は 24 種類 (GI:9 種類、GII:15 種類) に分類された。また毎年、11～16 種類 (GI:3～6 種類、GII:7～13 種類) の遺伝子型の NV が検出され、特に優勢となる遺伝子型は認められなかった。3 種類 (GII/3、GII/4 および GII/12) の遺伝子型が毎年検出され、Bristol 株に代表される GII/4 型 NV が 6 年間で最も多く検出された。

A. 研究目的

最近、ノロウイルス (NV) には多くの遺伝子型が存在することが報告されている。流行する NV 株について、正確に型別を行い、把握しておくことは、今後の検査法開発に必要であると考えられる。また遺伝子型別から NV の流行実態を詳細に解析することは、食中毒などの NV 胃腸炎事例の原因究明や予防対策に重要である。今回、過去 6 年間に大阪市で集団胃腸炎事例から検出された NV について遺伝子型別し、分子

疫学的解析を行った。

B. 研究方法

1) 検査材料

1999 年 4 月～2005 年 3 月の期間に NV が検出された非細菌性集団胃腸炎 191 事例を対象に遺伝子型別を行った。

2) NV の遺伝子型別

NV の遺伝子型別は Katayama らの方法 (Virology 299, 225-239, 2002) に基づいて Capsid N terminal/Shell

domain (N/S) 領域を対象にした。遺伝子型番号は Kageyama ら (JCM 42, 2988-2995, 2004) に従った。集団胃腸炎事例で複数の NV 陽性検体が認められた場合については、少なくとも陽性 2 検体以上について遺伝子型別を行った。

C. 研究結果

NV が検出された 191 事例の中で、1 種類の遺伝子型の NV が検出されたのは 142 事例であり、そのうち Genogroup I (GI) NV は 22 事例、Genogroup II (GII) NV は 120 事例であった。複数の遺伝子型が検出されたのは 49 事例であった。

NV の遺伝子型別年次推移は表 1 および 2 に示した。GI NV においては、少なくとも 9 種類の遺伝子型に分類され、GI/4 (Chiba) が最も多く検出された。年によって 3~6 種類の遺伝子型が認められ、毎年検出された遺伝子型はなかった。検出数の多かった GI/1 (Norwalk68)、GI/3 (DesertShield) および GI/4 の 3 種類は、検出頻度も高かった。また最近 (平成 15・16 年度) になって GI/11 (SaitamaKU8GI) および GI/12 (SaitamaKU19aGI) の 2 種類の遺伝子型が検出されるようになった。GII NV においては、少なくとも 15 種類の遺伝子型に分類された。GII/4 (Bristol) が最も多く、次いで GII/3 (Mexico) および GII/5 (Hillingdon) が多く検出された。検出される遺伝子型の種類は、年によって 7~13 種類認められ、GII/3、GII/4 および GII/12 (Chitta) が毎年検出された。また他に検出頻度が高い遺伝子型として、GII/1 (Hawaii)、GII/6 (Seacroft)、

GII/8 (Amsterdam) および GII/14 (Fayetteville) の 4 種類が認められた。平成 11 年度から 15 年度において最も多く検出された遺伝子型は、GII/3、GII/4、GII/5 および GII/12 の 4 種類の中で年によって変化していたが、特に 1 種類の遺伝子型が優勢となる場合は認められなかった。しかし、2004 年 3 月~5 月に認められた GII/2 (Melksham) の流行および 2004 年 12 月~2005 年 2 月に認められた GII/4 型の流行のように、大阪市では一定の期間に 1 種類の遺伝子型が大きく流行する場合は認められた (図)。これらの流行は、保育園、小学校、老人施設などの施設内でヒトからヒトへ感染が拡がった事例であった。

カキの喫食が疑われた事例は、60 事例あり、31 事例 (51.7%) から複数種類の遺伝子型の NV が検出された。最も多く検出された遺伝子型は GII/3 (17 事例、28.3%) であり、合計 22 種類の遺伝子型が認められた。検出される遺伝子型は年によって変化し、毎年検出された遺伝子型は認められなかった。

ヒトからヒトへ感染が拡がったと考えられた事例は、33 事例あり、それぞれから 1 種類の遺伝子型の NV が検出された。最も多く検出された遺伝子型は GII/4 (18 事例、54.5%) であり、合計 8 種類の遺伝子型が認められた。

D. 考察

今回解析した 6 年間に大阪市で検出された NV の遺伝子型は、合計 24 種類 (GI:9 種類、GII:15 種類) であった。また毎年 11~16 種類の遺伝子型が検出されたことで、大阪市において流行

している NV の遺伝子型の多様性が示された。特にカキ関連事例は、複数の遺伝子型が検出された 49 事例中 31 事例 (63.3%) をしめ、22 種類もの遺伝子型が認められた。年によって検出される NV の遺伝子型も変化しており、カキ関連事例において、より多様性が強くなることが示された。

ヒトからヒトへ感染が広がった事例については、カキ関連事例と比べて、検出された遺伝子型の種類が少なく、1 種類の遺伝子型 (GII/4) が特に優勢であった。これらの事例は、患者の年齢層 (主に子供と老人) や感染経路 (ヒトからヒト) などが食中毒事例と比べて特徴的であった。ヒトからヒトへの感染事例は、保育園、小学校、老人施設などの施設内において平成 16 年度から急激に増加しているため、今後の動向に注意し、監視を続ける必要がある。

E. 結論

- 1999 年 4 月～2005 年 3 月の期間において大阪府で検出された NV は 24 種類の遺伝子型 (GI:9 種類、GII:15 種類) に分類された。
- 集団胃腸炎事例から毎年検出された NV の遺伝子型は GII/3、GII/4、GII/12 であり、GII/4 が最も多く検出された。
- カキが関連した事例からは検出される NV の遺伝子型は多様であり、年によって変化していた。ヒトからヒトへ感染が広がった事例では、GII/4 型が最も多く検出された。

F 研究発表

1) 論文発表

○Seto Y, Iritani N, Kubo H, Kaida A, Murakami T, Haruki K, Nishio O, Ayata M, and Ogura T: Genotyping of norovirus strains detected in outbreaks between April 2002 and March 2003 in Osaka City, Japan, *Microbiology and Immunology*, 49, 275-283 (2005)

○久保英幸, 改田 厚, 入谷展弘, 村上 司: 2000-2002 年に世界的流行の認められたエコーウイルス 13 型の大阪市での分離株を含む遺伝子系統樹解析, *生活衛生*, 49, 144-151 (2005)

○入谷展弘, 勢戸祥介, 春木孝祐, 西尾 治, 久保英幸, 改田 厚, 村上 司, 綾田 稔, 小倉 壽: 市販生カキからのノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルスの検出, *生活衛生*, 49, 279-287 (2005)

2) 学会発表

○Iritani N, Seto Y, Kubo H, Kaida A, and Ogura H: Molecular epidemiology of noroviruses detected in Osaka City Japan, German-Japanese symposium on emerging and reemerging viruses, Toyama Japan (2005. 5. 14-17)

○西田知子, 野田 衛, 福田伸治, 三上稔之, 篠原美千代, 大瀬戸光明, 入谷展弘, 植木 洋, 秋山美穂, 愛木千香子, 西尾 治: 国内産食用カキのノロウイルス汚染状況, *衛生微生物協*

議会第 26 回研究会 (2005. 7. 7-8)

ルスの Mexico 株類似リコンビナント株の国内での検出状況, 第 53 回日本ウイルス学会 (2005. 11. 20-22)

○秋山美穂, 愛木千香子, 杉枝正明, 入谷展弘, 吉澄志磨, 西田知子, 田中俊光, 岡部信彦, 西尾 治: ノロウイ

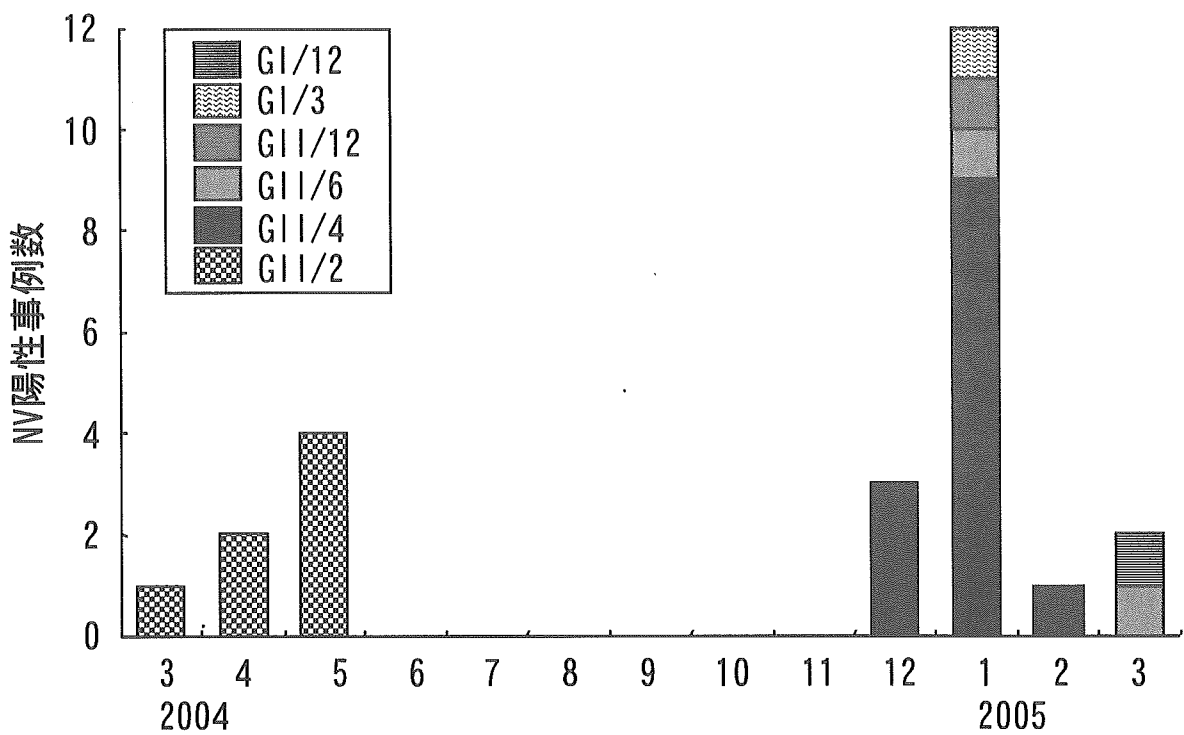


図 ヒト-ヒト感染事例からの月別 NV 検出状況 (2004 年 3 月~2005 年 3 月)

表 1. Genogroup I NV の遺伝子型別年次推移

Genotype	H11 年度			H12 年度			H13 年度			H14 年度			H15 年度			H16 年度			合計
	T	0	PP	T	0	PP	T	0	PP	T	0	PP	T	0	PP	T	0	PP	
GI/1				1	[1]					1			5	[2]		3	[2]		10
GI/2	1						1			1	[1]								3
GI/3	1			2	[2]		4	[2]								5	[1]	[1]	12
GI/4	2	[1]		4	[3]		1	[1]		4	[3]		3	[1]					14
GI/5																			0
GI/6																			0
GI/7										6	[5]								6
GI/8										1	[1]								1
GI/9										1									1
GI/10																			0
GI/11																2	[2]		2
GI/12													1	[1]		2		[1]	3
GI/13																			0
GI/14																			0

T: 総事例数 (複数の遺伝子型が検出された事例を含む)

0: カキ関連事例数

PP: ヒト-ヒト感染事例数

太字: Genogroup I で最も多く検出された遺伝子型

表 2. Genogroup II NV の遺伝子型別年次推移

Genotype	H11 年度			H12 年度			H13 年度			H14 年度			H15 年度			H16 年度			合計
	T	O	PP	T	O	PP	T	O	PP	T	O	PP	T	O	PP	T	O	PP	
GII/1	1	[1]		1			3	[1]		1	[1]		1						7
GII/2							3	[1]					5		[1]	9	[1]	[6]	17
GII/3	5	[4]		6	[2]		4	[3]		8	[7]		7	[1]	[1]	4		[1]	34
GII/4	5			3	[1]		5	[2]		2			13	[3]	[2]	31	[2]	[16]	59
GII/5	6	[3]		2			5		[1]	10	[9]		5	[1]					28
GII/6	4	[4]					2			3			2	[1]		8	[3]	[2]	19
GII/7							3	[2]											3
GII/8				2	[2]		4			4			1	[1]		1	[1]		12
GII/9																			0
GII/10							1												1
GII/11				2	[1]		1	[1]											3
GII/12	1	[1]		4	[3]		5	[2]		2			1			2	[1]	[1]	15
GII/13							1	[1]											1
GII/14	2	[1]		1	[1]		2			1	[1]					1			7
GII/15				1	[1]					3	[3]								4
GII/16																			0
GII/17	2	[1]		5	[4]														7

T: 総事例数（複数の遺伝子型が検出された事例を含む）

O: カキ関連事例数

PP: ヒト-ヒト感染事例数

太字: Genogroup II で最も多く検出された遺伝子型

□: 毎年検出された遺伝子型

平成 17 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

ノロウイルスの Mexico 株類似リコンビナント株の国内での検出状況

分担研究者 西尾 治（国立感染症研究所 感染症情報センター）
研究協力者 秋山美穂、愛木智香子、岡部信彦（国立感染症研究所 感染症情報センター）
杉枝正明（静岡県環境衛生科学研究所）
入谷展弘（大阪市立環境科学研究所）
吉澄志磨（北海道立衛生研究所）
西田知子（山口県環境保健研究センター）
田中俊光（千葉市環境保健研究所）
中込 治（長崎大学医学部）

研究要旨

2000 年以降、ヨーロッパでノロウイルス (NoV) の Mexico (MX) 株類似リコンビナント株が流行しており、国内では、2003 年 11 月に長崎市で発生した大規模食中毒事件の原因ウイルスが MX 株類似リコンビナント株であった。MX 株類似リコンビナント株の国内での浸淫状況を把握する目的で、2003 年から 2005 年の小児の散発性胃腸炎患者、食中毒事件、集団発生（感染症）由来のキャプシド領域が MX 株のポリメラーゼ領域について分子遺伝学的検討を行ったところ、国内においても MX 株類似リコンビナント株が高率に認められた。

MX 株類似リコンビナント株は、ポリメラーゼ領域で GG II b 型と Lordsdale 型の 2 種類が検出され、共に小児で高率に、GG II b 型は患者数が多い傾向が見られ、本邦でも MX 株類似リコンビナント株が小児散発例や大規模集団発生の起因ウイルスとなり得ることが予測された。

A. 研究目的

2000 年以降、ヨーロッパで NoV の MX 株類似リコンビナント株が流行している。国内では、2003 年 11 月に長崎市で発生した 1,477 名中 790 名が発症の大規模食中毒事件の原因ウイルスが MX 株類似リコンビナント株であった。わが国で、今後も MX 株類似リコンビナント株により大規模な集団発生

を引き起こす可能性が考えられることから、MX 株類似リコンビナント株の国内での浸淫状況を把握する目的で、2003 年から 2005 年の小児の散発性胃腸炎患者、食中毒事件、集団発生（感染症）由来のキャプシド領域が MX 類似株のポリメラーゼ領域について分子遺伝学的検討を行った。

B. 研究方法

2003年から2005年の間に発生したNoV起因胃腸炎発生事件のうち、患者ふん便から検出されたNoVがキャプシド領域でMX型であった食中毒事件3事件、集団発生4事例、小児散発例10件の計17事例から各1検体の患者便について検査を行った(表1)。

RT-PCRにはポリメラーゼ領域MR3/MR4、キャプシド領域G2-SKF/G2-SKRプライマーを用いた。

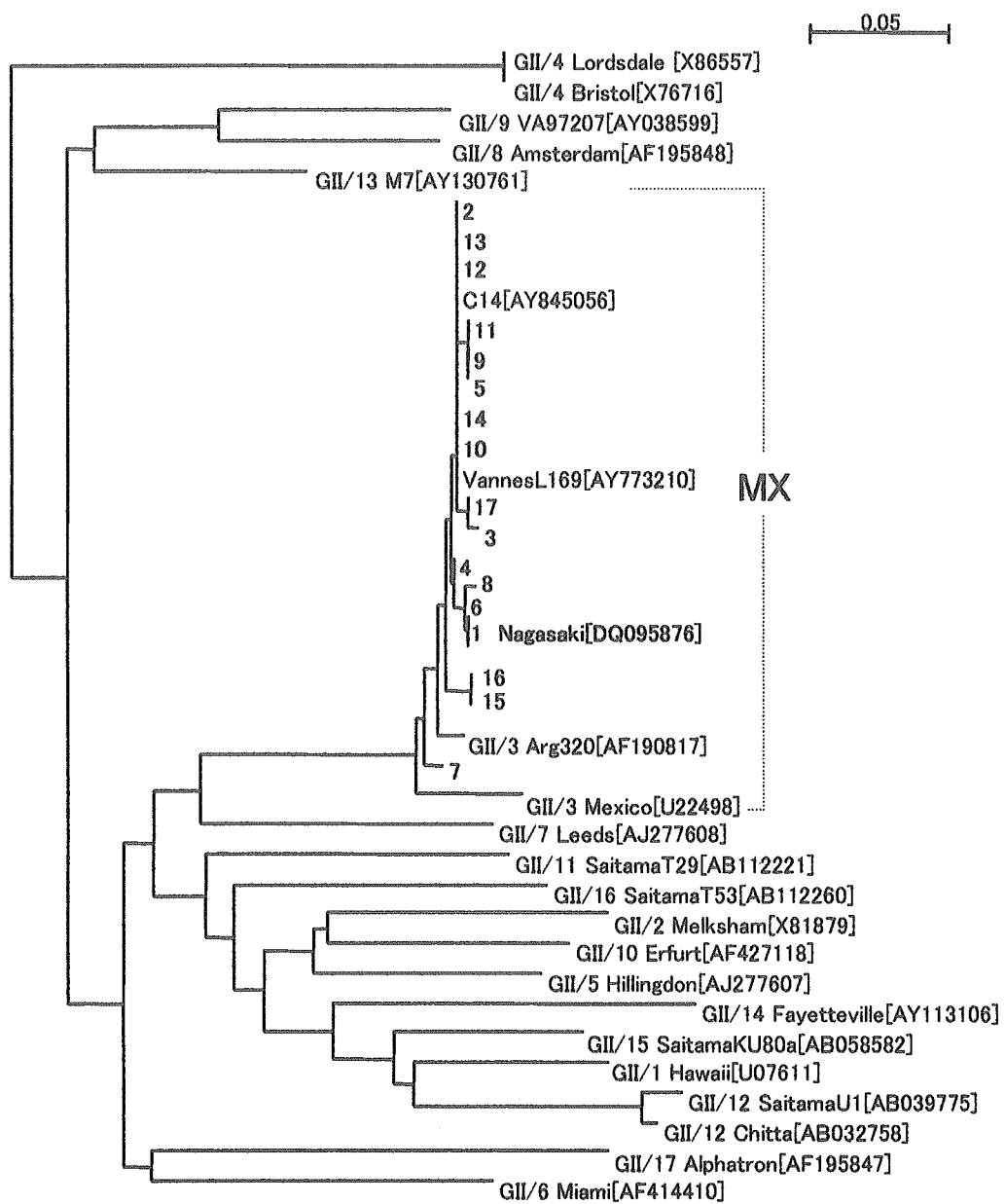
PCRで増幅された遺伝子は、ダイターミネーター法によりダイレクトシーケンスを行い、塩基配列を決定し、系統解析を行った。

C. 研究結果

キャプシド領域がMexico/89/MX [U22498]株と94%以上同一であったMX類似株17件(図1)のうち、ポリメラーゼ領域もMX類似株であったもの(MX型)は17件中2件(12%)で、リコンビナント株は15件(88%)に認められた。検出されたリコンビナント株は、Nagasaki/2004/H/Hokkaido/JP[DQ095876]株類似のヨーロッパで流行したGGIIb型とLordsdale株に近いSaitama U1 [AB039775]株類似のLordsdale型の二種類が認められた(図2)。

表1 調査事例

番号	発生年/月	由来	患者数	年齢	感染様式 (原因食品)	原因施設
1	2003/11	集団発生	790	6-18歳	食中毒(不明)	飲食店
2	2004/ 1	集団発生	2	成人	食中毒(カキ)	飲食店
3	2005/ 2	集団発生	28	成人	食中毒(給食)	病院
4	2003/ 3	集団発生	81	6-11歳	ヒト-ヒト感染症	小学校
5	2003/12	集団発生	26	16-18歳	ヒト-ヒト感染症	高校
6	2004/ 5	集団発生	25	6-11歳	ヒト-ヒト感染症	小学校
7	2005/ 1	集団発生	25	成人	ヒト-ヒト感染症	障害者施設
8	2003/12	散発		7ヶ月	ヒト-ヒト感染症	家庭
9	2004/ 1	散発		4ヶ月	ヒト-ヒト感染症	家庭
10	2004/ 1	散発		11ヶ月	ヒト-ヒト感染症	家庭
11	2004/ 1	散発		1歳	ヒト-ヒト感染症	家庭
12	2004/ 1	散発		11ヶ月	ヒト-ヒト感染症	家庭
13	2004/ 1	散発		4ヶ月	ヒト-ヒト感染症	家庭
14	2004/ 1	散発		2ヶ月	ヒト-ヒト感染症	家庭
15	2004/11	散発		4歳	ヒト-ヒト感染症	家庭
16	2005/ 1	散発		小児	ヒト-ヒト感染症	家庭
17	2005/ 1	散発		2歳	ヒト-ヒト感染症	家庭



(G2-SKF/G2-SKR 増幅領域 : 278bp)

図1 キャプシド領域系統樹

ポリメラーゼ領域の遺伝子型別の検出数を図3に示した。GG II b型が最も多く17事例中9件(53%)から検出され、食中毒事件が2件、集団発生が3件、小児散発例が4件であった。Lordsdale型は6件(35%)から検出され、食中毒事件が1件、小児散発例5件であった。MX型は2件(12%)と少なく、集団発生事例と小児散発例が各1件であった。

ポリメラーゼ領域の遺伝子型のシーズン別検出数は、2002/03シーズンは調査事例数が1件で、GG II b型であった。2003/04シーズンは調査事例数11件中GG II b型が6件、Lordsdale型が5件であった。2004/05シーズンは調査事例数5件中MX型およびGG II b

型が2件でLordsdale型は1件であった。

リコンビナント株の検出傾向について、小児由来と成人(高校生を含む)由来の事例別の検出率を検討してみたところ、GG II b型9件では小児が6件(67%)、成人は3件(33%)から、Lordsdale型6件では小児が5件(83%)、成人は1件(17%)から検出された。

リコンビナント株について、遺伝子型別の患者数を図4に示した。GG II b型9件中では、散発例で4件、患者数20名以上で5件が見られた。Lordsdale型6件中では、散発例で5件、患者数10名未満で1件が見られた。

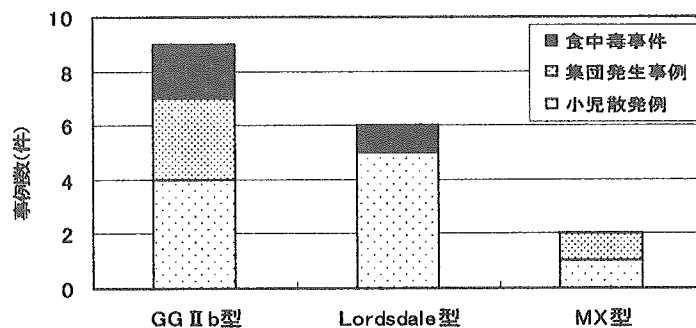


図3 ポリメラーゼ領域の遺伝子型別検出件数

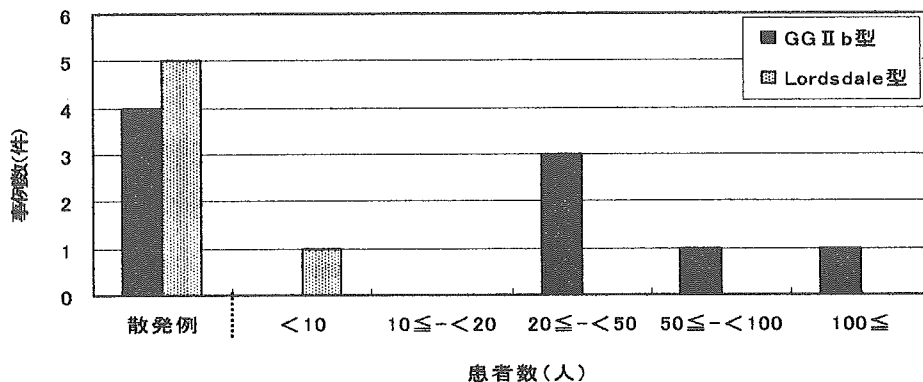


図4 リコンビナント株の遺伝子型別患者数分布

D. 考察

2003年から2005年の間、国内においてもMX株類似リコンビナント株が高率に認められ、ポリメラーゼ領域でGGⅡb型とLordsdale型の2種類が見られた。特に2003/04シーズンでは、GGⅡb型とLordsdale型の両方が多く認められた。

リコンビナント株の年齢層別遺伝子型検出率では、GGⅡb型およびLordsdale型共に小児で高率に感染していることが示唆された。

また、遺伝子型別の患者数の分布では、散发例でGGⅡb型とLordsdale型が同程度の検出数であったことに対し、集団発生の患者数が20名以上の事例では、GGⅡb型のみが見られ、GGⅡb型は、長崎事件の他に小学校、高等学校での集団発生および食中毒事件から検出され、またヨーロッパで学校や介護施設の集団発生の原因ウイルスとして流行しており、本邦でも大規模な集団発生の起因ウイルスとなり得ることが示唆された。

今後もキャプシド領域のみならず、ポリメラーゼ領域についても解析を行い、リコンビナントの有無について明らかにする必要があると考えられた。

E. 結論

2003年から2005年の間、国内においてもMX株類似リコンビナント株が高率に認められ、ポリメラーゼ領域でGGⅡb型とLordsdale型の2種類が見られた。

MX株類似リコンビナント株は小児で高率に、GGⅡb型は患者数が多い傾向が見られ、本邦でもMX株類似リコンビナント株が小児散发例や大規模集団発生の起因ウイルス

となり得ることが予測された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Hirakata Y, Arisawa K, Nishio O, Nakagomi O. Multifunctional spread of gastroenteritis outbreaks attributable to a single genogroup II norovirus strain from a tourist restaurant in Nagasaki, Japan. *J Clin Microbiol.* 43:1093-1098, 2005.

Phan TG, Okame M, Nguyen TA, Nishio O, Okitsu S, Ushijima H. Genetic of Sapovirus in fecal specimens from infants and children with acute gastroenteritis in Pakistan. *Arch Virol.* 150:371-377, 2005.

Seto Y, Iritani N, Kudo H, Kaida A, Murakami T, Haruki K, Nishio O, Ayata M, Ogura H. Genotyping of norovirus strains detected in outbreaks between April 2002 and March 2003 in Osaka City, Japan. *Microbiol Immunol.* 49:275-283, 2005.

入谷展弘, 勢戸祥介, 春木孝祐, 西尾治, 久保英幸, 改田厚, 村上司, 綾田稔, 小倉壽. 市販生カキからのノロウイルスおよびA型肝炎ウイルスの検出. *生活衛生.* 49:279-287, 2005.

西尾治, 古屋由美子, 大瀬戸光明. ウイルス性食中毒の予防—ノロウイルス, A型肝炎ウイルス—. *食品衛生研究.*