

平成 29 年度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」  
研究協力報告

## 宮城県における感染性胃腸炎の流行状況と過去 7 シーズンとの比較

研究協力者	植木 洋	宮城県保健環境センター
研究協力者	小泉 光	宮城県保健環境センター
研究分担者	野田 衛	国立医薬品食品衛生研究所

### 研究要旨

2010/11 シーズンから 2017/18 シーズンに宮城県内で検出されたノロウイルス (NoV) について、遺伝子型を比較した結果、シーズンを通じて GII.4 が最も多く検出された。一方、シーズンによっては GII.2, GII.3, GII.17 による流行も確認された。また、2016 年 7 月から 2017 年 12 月に採取された流入下水 78 検体を対象に NoV およびサポウイルス (SaV) 遺伝子を定量的に検出した結果、NoV, SaV とともに遺伝子は通年検出され、特に SaV は年間を通して昨シーズンよりも高い濃度で検出された。

### A. 研究目的

2010/11 シーズンから 2017/18 シーズンに宮城県内で検出されたノロウイルス (NoV) の遺伝子型の特徴を把握するとともに今シーズンの感染性胃腸炎の流行状況について昨シーズンと比較した。

あわせて、流入下水の調査において NoV に加えてサポウイルス (SaV) もモニタリング対象とし、感染性胃腸炎流行の早期察知の可能性について検討を行った。

### B. 研究方法

#### 1. 材料

1) 感染性胃腸炎患者の報告数および検体  
2016/17 シーズンと 2017/18 シーズンの感染性胃腸炎の流行状況の把握は宮城県結核・感染症発生動向調査（以下、発

生動向調査）の感染性胃腸炎患者報告数を用いた。一方、遺伝子型の比較は、2010/11 シーズンから 2017/18 シーズンの期間に県内で発生した感染性胃腸炎集団発生事例 283 事例から検出された NoV 遺伝子を分子疫学的に解析した。

#### 2) 下水試料

県内の都市部に所在する下水処理場の流入下水を 2016 年 7 月から 2017 年 12 月の毎週 1 回採水し、計 78 検体を試料とした。

#### 2. 検体処理

##### 1) 感染性胃腸炎の糞便検体

通知法に準じて糞便を滅菌蒸留水で 10%乳剤とし、9, 100×g で 10 分間冷却遠心後、上清を RNA 抽出用試料とした。

##### 2) 下水試料

流入下水を混和後 25mL 測り取りポリエチレングリコールおよびNaClを終濃度がそれぞれ 0.08g/mL, 0.021g/mLとなるように加え、4°Cで1晩攪拌した後、9,100×*g*で20分間冷却遠心した。上清をアスピレーターで吸引除去し、沈渣に滅菌蒸留水を加え、5.0mLのクライオチューブに洗い込み、下水濃縮液とした。

### 3. ウイルス遺伝子の抽出と各ウイルス遺伝子の検出

糞便乳剤の遠心上清および下水濃縮液各々140 μLについて QIAamp Viral RNA mini kit (QIAGEN) を用いてウイルス RNA を抽出した。

逆転写反応および各ウイルス遺伝子の検出は図 1 に示した方法で行った。

NoV および SaV 遺伝子の検出は real-time PCR 法により行い、検量線は国立感染症研究所より分与された既知濃度の陽性コントロールを用いて作成した。下水試料については試料中のコピー数を算出し、下水 1L 当たりのコピー数に換算して示した。

また、糞便検体から NoV 遺伝子が検出された場合はダイレクトシーケンスを行い、MEGA6 でアライメント後、Blast または Norovirus typing tool を用いて遺伝子型を決定した。

#### (倫理面への配慮)

本研究では、特定の研究対象者は存在せず、倫理面への配慮は不要である。

## C. 研究結果

### 1. 県内における感染性胃腸炎の流行状況

国立感染症研究所の病原微生物検出情報によると、2016/17 シーズンは全国的に NoV GII.2 による感染性胃腸炎が大流行した。県内での感染性胃腸炎の患者報告数は、2016 年第 48 週に定点医療機関当たり 45.7 人となり、過去 10 年間で最多であった。一方、2017 年は第 20 週、第 25 週、第 50 週に小さなピークが見られるものの患者報告数は 9.3 人、9.9 人、8.6 人となっており、2016 年と比較すると流行期の患者報告数が著しく少なかった(図 2)。また、2017 年 1 月から 12 月に県内で発生した感染性胃腸炎の集団発生は 18 事例で、昨年同時期には 116 事例の発生があったことから、2017 年の流行が 2016 年よりも少なかったことが示された。2017 年の 18 事例について検出されたウイルス別に見てみると NoV が 13 事例、SaV とアストロウイルスが各 2 事例、ロタウイルスが 1 事例であった(図 3)。

NoV が関与した 13 事例から検出された NoV の遺伝子群は全て GII 群であり、遺伝子型は GII.2 が 1 月の 2 事例で検出され、それ以降の事例では全て GII.4 が検出された(図 4)。今シーズンに検出された遺伝子型を過去 7 シーズンと比較すると、2010/11 シーズンは多種類の遺伝子型が検出されているが GII.2 と GII.3 の占める割合が大きく、2011/12 シーズンから 2015/16 シーズンは GII.4 が流行の主

体で遺伝子型が決定できた株の 36% から 66% を占めていた。また、2014/15 シーズンと 2015/16 シーズンには G II.17 Kawasaki 株近縁株もそれぞれ 27% と 40% 確認された。2016/17 シーズンは G II.2 が検出された遺伝子型の 90% 以上を占めていた。今シーズンに検出された株は全て G II.4 で、全シーズンを通じて最も多く検出された (図 5)。

G II.4 の亜型についてシーズン毎に比較すると、2010/11 シーズンと 2011/12 シーズンに同定できたものは全て 2006.b で、2012/13 シーズンは 2006.b に替わって Sydney\_2012 が流行の主体となり、以降のシーズンに検出されたのは全て Sydney\_2012 であった (図 6)。

## 2. 流入下水中のウイルス遺伝子検出状況

### 1) NoV の検出状況 (図 7)

NoV は調査期間中の全検体から検出された。G I 群は  $0 \sim 1.4 \times 10^6$  copies/L, G II 群は  $0 \sim 5.2 \times 10^7$  copies/L で、G I 群と比較し全体的に G II 群が高い濃度で検出された。発生動向調査で感染性胃腸炎の患者報告数が急増した 2016 年の第 42 週以降は流入下水中の G II 群遺伝子濃度が急激に上昇し、第 49 週に採取した検体から最も多く検出された。

一方、2017 年は第 20 週と第 25 週に感染性胃腸炎患者報告数の小さなピークが見られるが、その時期の流入下水中の NoV 遺伝子濃度に

はほとんど変動がなかった。また、感染性胃腸炎の流行期である 11 月以降も昨シーズンほどの患者報告数や下水中の NoV 遺伝子濃度の増加は見られなかったが、第 50 週に患者報告数の小さなピークがあり、下水中の NoV 遺伝子濃度も第 49 週から増加した。

### 2) SaV の検出状況 (図 8)

SaV 遺伝子も通年流入下水中から検出され、2017 年は 2016 年と比較して年間を通して高濃度で検出された。特に 2017 年第 19 週から第 26 週、第 46 週から第 48 週にかけて下水中の SaV 遺伝子濃度が急増し、第 24 週に採取した検体からは  $2.8 \times 10^7$  copies/L の SaV 遺伝子が検出され、調査期間中で最も高い値となった。この期間は感染性胃腸炎の患者報告数の推移と SaV 遺伝子濃度の推移がほぼ一致していた。

## D. 考察

2017/18 シーズンは昨シーズンよりも感染性胃腸炎流行期の患者報告数や集団発生事例数が著しく少なかった。2016/17 シーズンに大流行した NoVG II.2 は 2010/11 シーズンに流行して以来、ほとんど検出されておらず、この遺伝子型に免疫のない年齢層が流行の中心であった。一方、2017/18 シーズンに検出頻度が高かった G II.4\_Sydney\_2012 は 2012/13 シーズンから毎年検出されており、G II.4\_Sydney\_2012 に対する免疫を有する人が多いため、流行が拡大しなかったと推測された。

下水処理施設の流入下水からは NoV の G I 群, G II 群ともに通年検出されているが, G II 群の濃度が高い傾向が認められ, G II 群感染者の存在割合が高いことが考えられた。

このことは調査期間中の発生動向調査での胃腸炎患者や集団発生事例から検出された NoV が全て G II 群だったことから強く推察された。また, G I 群は流入下水中の濃度上昇が見られることがあるが, 患者からの検出がないことから, 不顕性感染者が多いことが示唆された。

SaV も NoV と同様に通年検出されており, 2016 年と比較して 2017 年は全体的に高い濃度で検出された。特に高濃度で検出された週の前後では発生動向調査での胃腸炎患者からは SaV 遺伝子の検出割合が増え, 集団発生事例も確認された。一方, 2017 年第 18 週から第 29 週にかけて確認された感染性胃腸炎患者報告数の小さな二峰性のピーク時に流入下水から検出された SaV 遺伝子数は他の時期より多いものの, 2016 年第 42 週から第 48 週にかけて認められた感染性胃腸炎の大流行期に流入下水から検出された NoVG II 群遺伝子数とほぼ同じオーダーであることを考えると, SaV による感染性胃腸炎は NoVG II 群と比較すると不顕性感染が多いことが示唆された。

## E. 結論

2010/11 シーズンから 2017/2018 シーズンに県内で検出された NoV の遺伝子型について比較した。その結果, G II. 4 がシ

ーズンを通じて最も多く検出された。一方, シーズンによっては G II. 2, G II. 3, G II. 17 による流行も確認できた。

また, 2016 年 7 月から 2017 年 12 月にかけて流入下水中を対象に NoV および SaV 遺伝子を定量的に検出した結果, 流入下水中の NoV は通年検出され, 特に NoVG II 群濃度は感染性胃腸炎の流行を反映していた。加えて, SaV も NoV と同様に通年検出され, 2017 年は NoV よりも高濃度で検出された。本調査より流入下水中の NoV をモニタリングすることで感染性胃腸炎流行の早期察知は可能と考えられた。一方, SaV は不顕性感染も多いことから流入下水による流行の早期察知の指標に関してはさらなる検討が必要である。

## F. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表：なし

## G. 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
3. その他：なし



図1 ウイルス遺伝子の検出方法

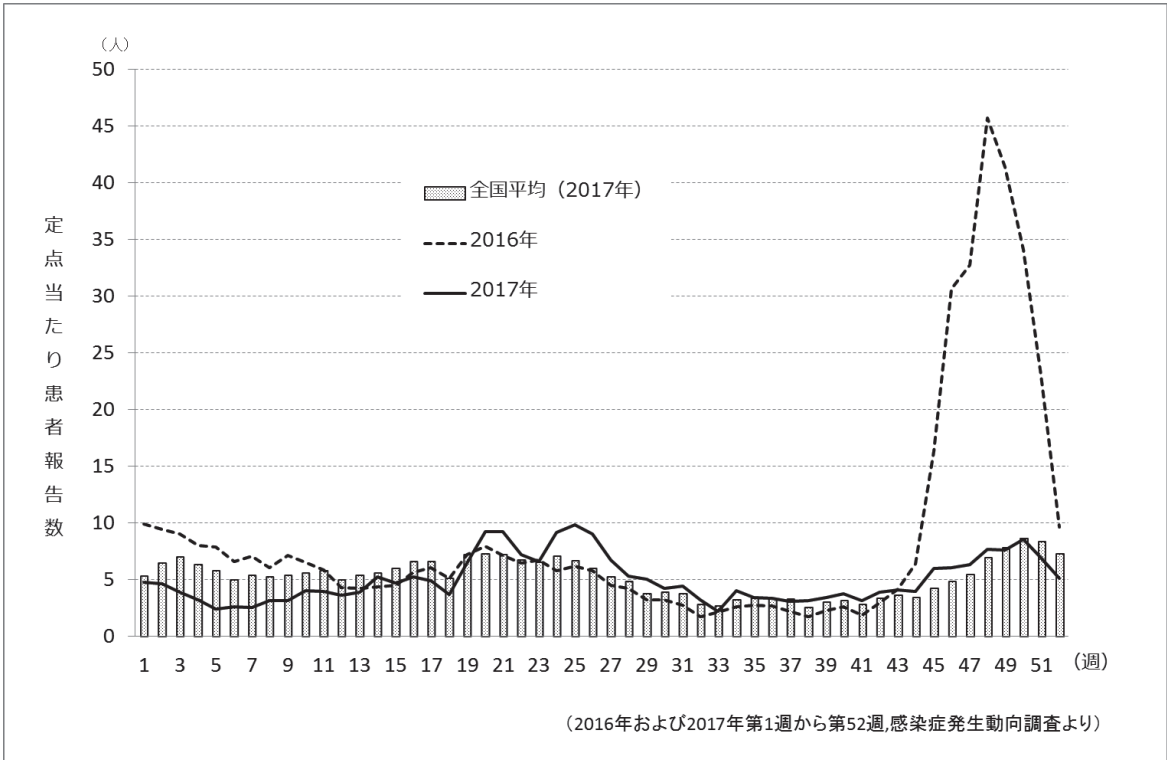


図2 感染性胃腸炎の発生動向

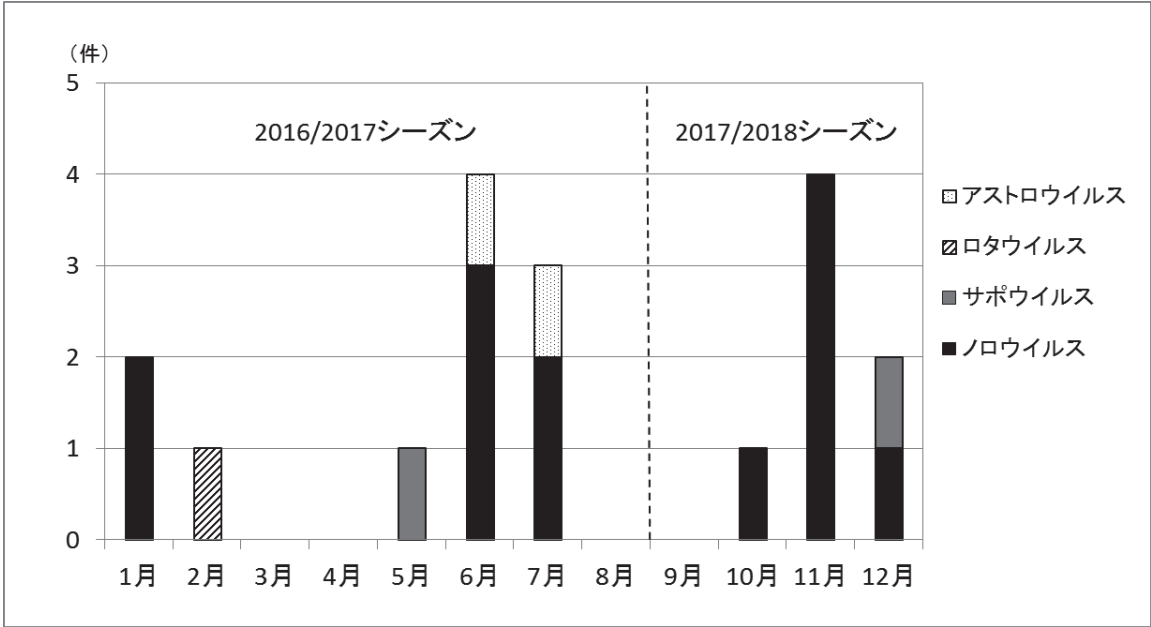


図3 感染性胃腸炎発生事例数

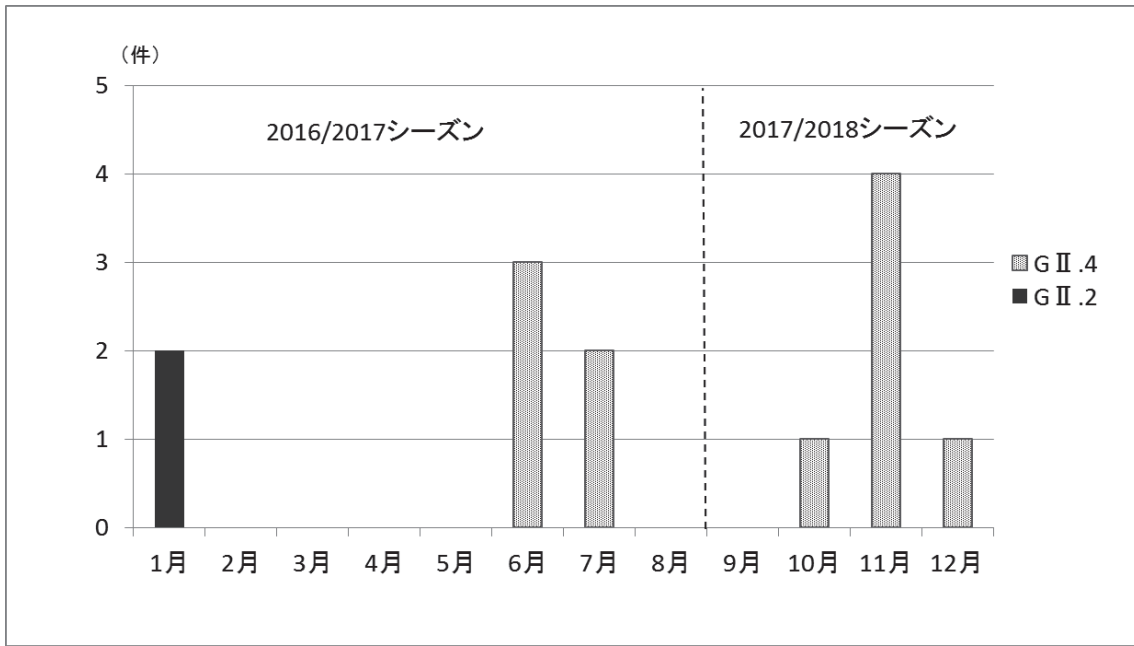


図 4 NoV による感染性胃腸炎集団発生事例数

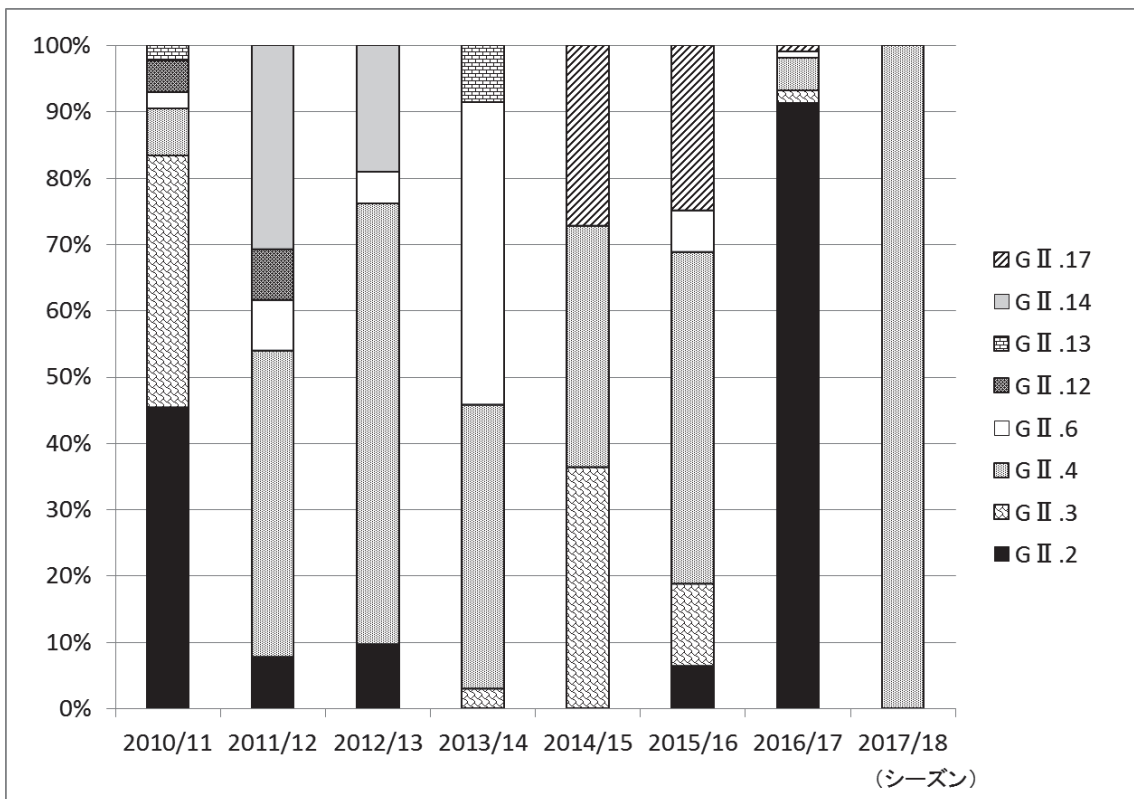


図 5 今シーズンと過去 7 シーズンに検出された NoVG II 群の遺伝子型

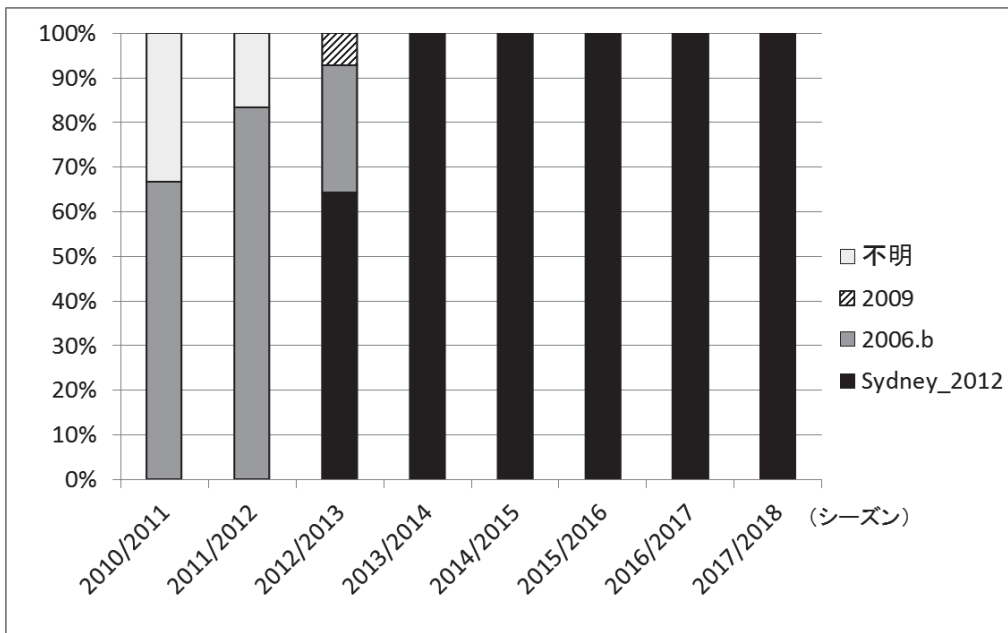


図6 今シーズンと過去7シーズンに検出されたGII.4亜型

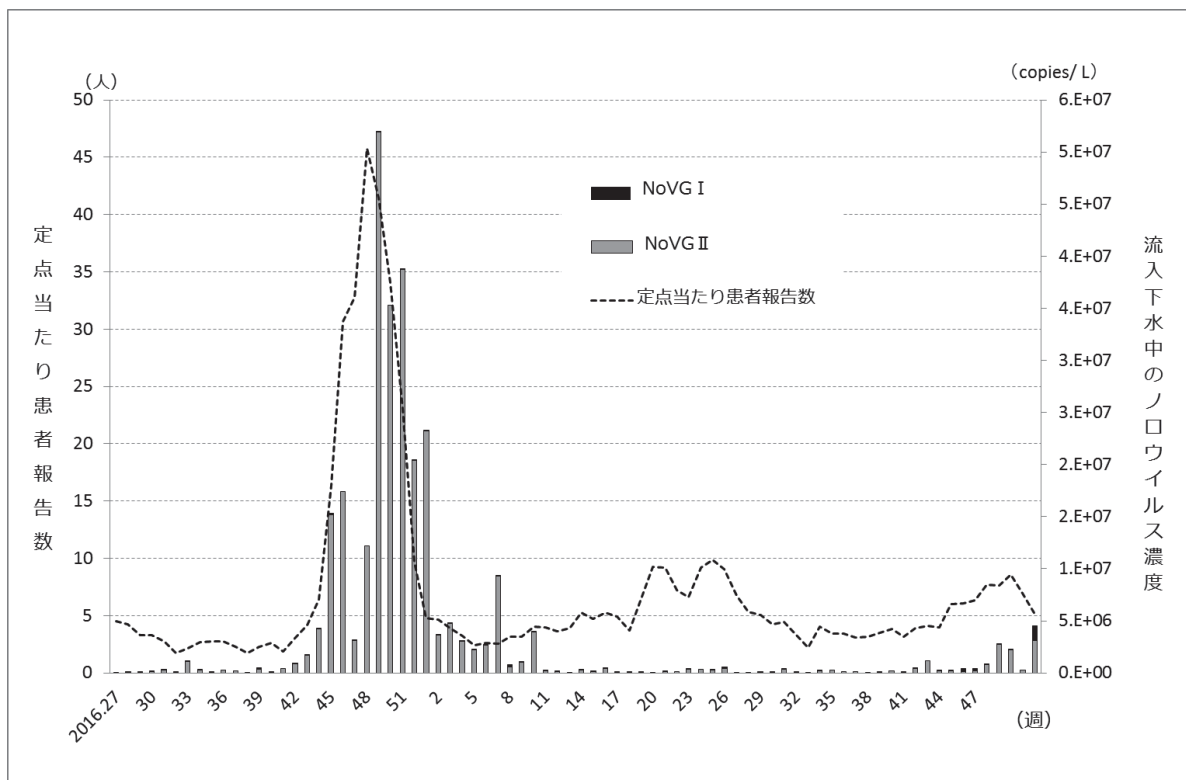


図7 感染性胃腸炎患者報告数と流入下水中のNoV濃度推移



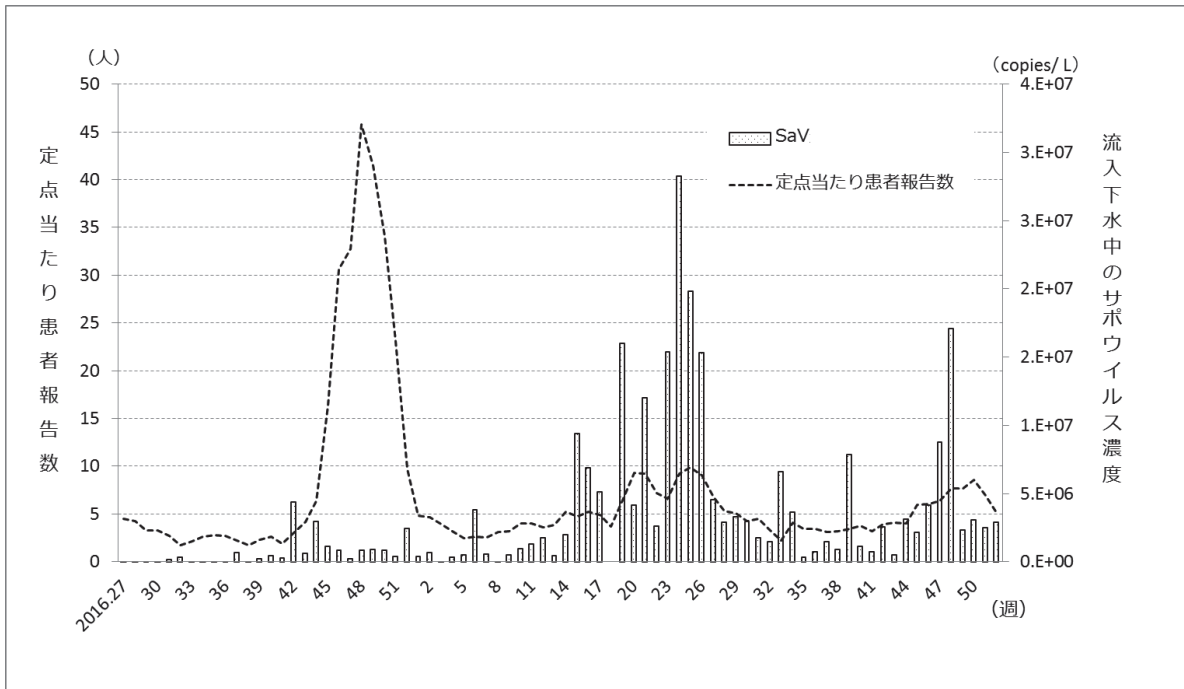


図8 感染性胃腸炎患者報告数と流入下水中のSaV濃度推移