2012/2013 シーズンに検出されたノロウイルスの遺伝子解析

Gene Analysis of the Detected Norovirus in the 2012/2013 Season

寺嶋 由佳理 Yukari TERAJIMA 薦田 博也* Hiroya KOMODA

要旨

2012/2013 シーズンは、全国でノロウイルスによる胃腸炎の患者数が増加し、香川県でも感染性胃腸炎の患者数が12月中旬頃には定点当たりで全国 2 位となるなど急激に増加した。また、全国の感染症事例や食中毒事例からノロウイルス G II/4 変異株が検出されたとの報告があった。

香川県内にノロウイルス GⅡ/4 変異株が浸淫しているかを確認するため、感染症発生動向調査事業で、感染性胃腸炎で搬入された検体からノロウイルス GⅡを検出した 24 検体について遺伝子解析を実施した。

キーワード: ノロウイルス 系統樹解析

I はじめに

ノロウイルスは冬季を中心に、感染性胃腸炎を引き起こし、食中毒等集団発生の原因ウイルスである。

2012/2013シーズンは、全国でノロウイルスによる胃腸炎の患者数が増加し、過去10年間で2番目に多い患者数となった。香川県でも感染性胃腸炎の患者数が12月中旬頃には定点当たりで全国2位となるなど急激に増加した(図1)。また、新潟県で胃腸炎の集団感染が発生し、従来とは異なるノロウイルスGII/4変異株が検出されたと報告後²⁾、全国の33都道府県の感染症事例や食中毒事例においても報告され、香川県内にもノロウイルスGII/4変異株が浸淫しているか確認をするため、遺伝子解析を行った。

Ⅱ 方法

1 検査材料

小児科定点医療機関から感染性胃腸炎で搬入された

検体で、ノロウイルス GII と確定した 2011/2012 シーズン及び 2012/2013 シーズンの各 12 検体を材料とした。

2 検査方法

国立感染症研究所のウイルス性下痢症診断マニュア ル¹⁾ に準じて実施した。

糞便材料を10%乳剤として処理を行い、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) によりRNA を抽出した。抽出したRNA からcDNA を作製し、PCR 法により遺伝子増幅を行った。

プライマーは、GIについてはCOG1F/G1-SKR、GIIについてはCOG2F/G2-SKR を用いて、PCRによりノロウイルス遺伝子の構造蛋白領域を増幅した。

PCR 増幅産物を、QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN)を使って精製を行い、精製物をシークエンス 反応後、ダイレクトシークエンス法により塩基配列を 決定した。読み取られた塩基配列データのアライメントを行い、系統樹を作成した。系統樹は、GII/1から

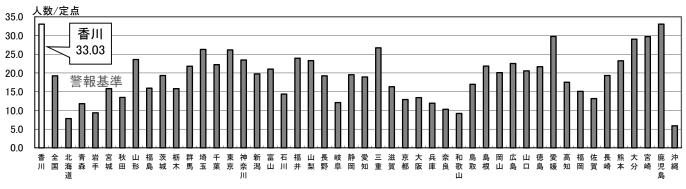


図 1 都道府県別発生状況(平成24年第50週)

^{*} 健康福祉総務課

G II /17 の標準株及び新潟県の初発事例由来株との BLAST 検索で最も近縁であった 2012 年 3 月にオースト ラリアで検出された Sydney 株を加え MEGA5 を用い近隣 結合法にて作成し、分子系統樹解析により遺伝子型を 決定した。

Ⅲ 結果

1 遺伝子解析

遺伝子型は、GII/4 が 15 例、GII/2 が 6 例、GII/13 が 2 例、GII/12 が 1 例であった(表 1)。

シーズン別では、2011/2012 シーズンは、GII/2 が 5 例、GII/4 が 5 例、GII/12 が 1 例、GII/13 が 1 例であり、2012/2013 シーズンは、GII/2 が 1 例、GII/4 が 10 例、GII/13 が 1 例であった。

表1 ノロウイルスの遺伝子型(シーズン別)

遺伝子型	G II /4	G I I/2	G II/12	GⅡ/13
2011/2012	5 例	5例	1例	1例
シーズン	ניקר ט	J 1911	ניקר ו	ניפו ו
2012/2013	10 例	1例	_	1例
シーズン	(変異株)			

2 系統樹解析

系統樹から 2012/2013 シーズンに検出された 12 検体中 10 例が、分岐パターンから GII/4 変異株に分類された。 2011/2012 シーズンの冬季に流行した GII/4 の 5 例は、GII/4 変異株とは枝分かれをして別のサブグループを構成し、Blast 検索の結果、従来型であることが確認

できた (図2)。

2011/2012 シーズンの 4 例と 2012/2013 シーズンの 1 例に検出された GII/2 の塩基配列が 100%一致し、その 5 ちの 3 例は食中毒事例の患者検体であった。

Ⅳ 考察

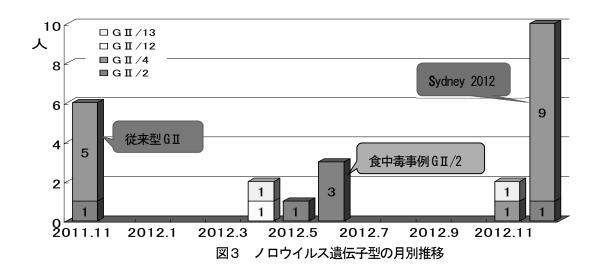
2011/2012 シーズン及び 2012/2013 シーズンに香川県内で検出された主流の遺伝子型はGII/4 であった。系統樹から、2011/2012 シーズンに検出されたGII/4 の 5 例は従来型の GII/4 であったが、2012/2013 シーズンに検出された GII/4 はすべて、全国で流行した GII/4 変異型 (Sydney 2012) であることがわかった。今回の調査で、香川県内にも Sydney 2012 が浸淫していたことが確認されたことから、2012/2013 シーズンの香川県での過去最大の流行は、従来のノロウイルスとは抗原性が異なる Sydney 2012 が流行したためではないかと推測された。

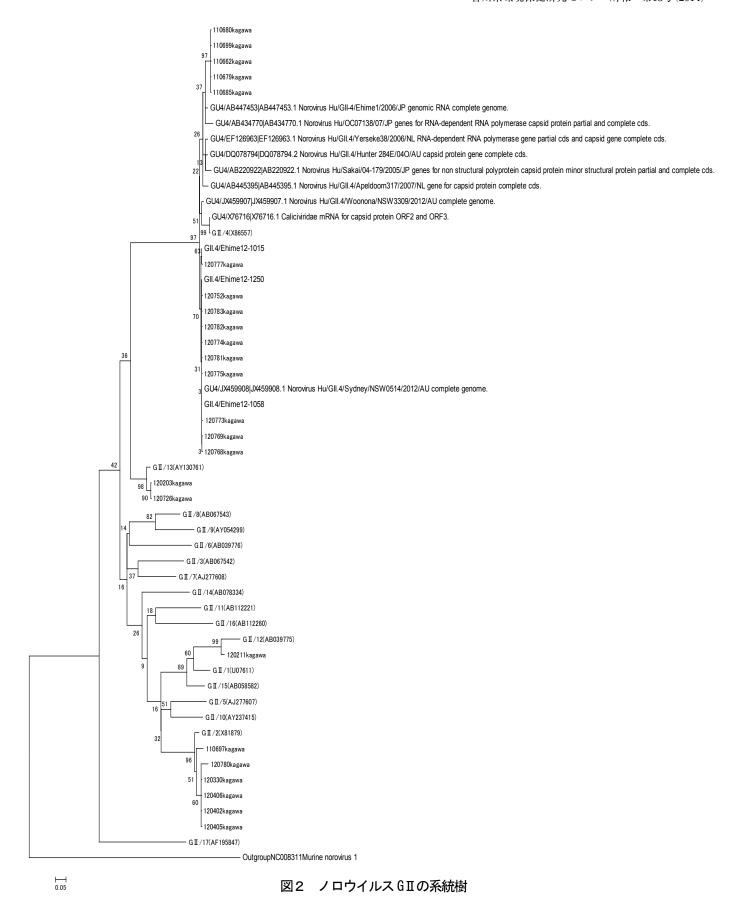
また、GII/2が、通常のノロウイルスの流行パターンと は異なり初夏から冬にかけて県内に小規模流行したので はないかと推察された(図3)。

ノロウイルスは感染性が高く、感染性胃腸炎の原因となっている。 ノロウイルスの流行株を特定することは、感染の拡大を防止するうえにおいても重要である。

Ⅴ まとめ

ノロウイルスの遺伝子解析により、流行株を把握することができた。今後も、ノロウイルスの遺伝子疫学解析を行うことで、感染症の流行状況が把握でき、より詳細な病態の調査も可能となるため、病原体検査を行うことの重要性が確認された。





対対

- 1) ウイルス性下痢症診断マニュアル (第3版)
- 2) 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: LASR Vol. 33p. 333-334;2012 年 12 月号

Abstract

The number of patients with gastroenteritis caused by the norovirus had increased across the country in the 2012-2013 season. The number of patients of Kagawa Prefecture with infectious gastroenteritis increased in second place in Japan in mid-December per sentinel.

In addition, the norovirus G II/4 mutant strain was reported to have been detected from infection cases and food poisoning cases nationwide.

In order to confirm whether or not the norovirus G II /4 mutant strain is spreading in Kagawa Prefecture, we performed a genetic analysis on 24 samples that detected the norovirus G II from the sample that has been carried in the surveying of infectious gastroenteritis infection.