

## 胃腸炎ウイルスの疫学的研究

—岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルスAの流行状況(2012/2013シーズン)—

濱野雅子, 藤井理津志, 木田浩司, 葛谷光隆\*, 檜原幸二\*\*, 井上 勝\*\*, 濃野 信\*\*\*,  
金谷誠久\*\*\*\* (ウイルス科)

\*岡山県食肉衛生検査所

\*\*岡山赤十字病院小児科, \*\*\*のうの小児科

\*\*\*\*国立病院岡山医療センター小児科

【調査研究】

## 胃腸炎ウイルスの疫学的研究

—岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルスAの流行状況(2012/2013シーズン)—  
Epidemiological Studies on Viruses Causing Non-bacterial Gastroenteritis in Okayama  
—Surveillance of Rotavirus A from Sporadic Gastroenteritis in Okayama Prefecture (2012-2013)—

濱野雅子, 藤井理津志, 木田浩司, 葛谷光隆\*, 梶原幸二\*\*, 井上 勝\*\*, 濃野 信\*\*\*,  
金谷誠久\*\*\*\* (ウイルス科)

\*岡山県食肉衛生検査所

\*\*岡山赤十字病院小児科, \*\*\*のうの小児科

\*\*\*\*国立病院岡山医療センター小児科

Masako Hamano, Ritsushi Fujii, Kouji Kida,

Mitsutaka Kuzuya, Kouji Narahara, Masaru Inoue, Shin Nouno, Tomohisa Kanadani  
(Department of Virology)

\* Okayama Prefectural Meat Sanitation Inspection Station

\*\* Department of Pediatrics, Okayama Red-Cross Hospital, \*\*\* Nouno Pediatric Clinic

\*\*\*\* Department of Pediatrics, National Hospital Organization Okayama Medical Center

### 要 旨

2012/2013年シーズン(2012年9月～2013年8月)の散発性胃腸炎患者ふん便630件について、イムノクロマト法または酵素抗体法によるロタウイルスA(以下「RVA」という)の検索を行い、陽性となった145件について、逆転写PCR法(以下「RT-PCR」という)によりG型別とP型別を実施した。その結果、132件でRT-PCRによりRAV遺伝子が確認された。RAVの検出時期は、2012年11月～2013年6月で、検出率のピークは3月～4月であった。年齢別で検出率が高かったのは1歳と2歳で、ともに30%を超えていたが、10歳以上での検出例も3件みられた。G型およびP型別は126件で可能であった。内訳は、G1P[8]が117件で最も多く、次いでG9P[8]が5件、G2P[4]とG3P[8]が各1件であった。また、G1P[8]とG3P[8]の混合感染例が2件みられた。もっとも多く見られたG1P[8]については、昨シーズン県内で遺伝子再集合体由来株の流行が確認されているため、簡易的に鑑別を行った結果、鑑別可能であった115件のうち36件(31.3%)が遺伝子再集合体由来株と推定された。

[キーワード: ロタウイルスA, 胃腸炎, 逆転写PCR法, 遺伝子再集合体]

[Key words: Rotavirus A, Gastroenteritis, Reverse-transcription PCR, Reassortant]

### 1 はじめに

ロタウイルスA(以下「RVA」という)は、レオウイルス科に属する2本鎖RNAをゲノムとして持つウイルスであり、外殻糖たん白(VP7)及び外殻スパイクたん白(VP4)をコードする遺伝子に基づき、それぞれG(Glycoproteinの略号)遺伝子型(G型)及びP(Protease sensitiveの略号)遺伝子型(P型)に分類される<sup>1)</sup>。これまでに、G型についてはG1～G27型、P型についてはP

[1]～P[35]型がそれぞれ確認されており<sup>2)</sup>、さらに両者の組み合わせによって多くの遺伝子型が存在しうるが、そのうちヒトから検出される頻度が高いのは、G1P[8]型、G2P[4]型、G3P[8]型、G4P[8]型、およびG9P[8]型である<sup>1),3)</sup>。

RVAは小児の急性胃腸炎の病原体としてきわめて重要視されていることから、本ウイルスの感染予防を目的とした生ワクチンが複数メーカーで開発され、その導入

が世界的に進められている<sup>4)</sup>。主なものとしては、ヒトRVA株(G1P[8]型)由来の単価ワクチンであるRotarix<sup>®</sup>(グラクソ・スミスクライン社製)、及びヒトRVAのG1～G4型のVP7遺伝子とP[8]型のVP4遺伝子を組み込んだ、ウシRVA遺伝子組み換え株に由来する5価ワクチンのRotaTeq<sup>®</sup>(メルク社製)が知られている。我が国においては、Rotarix<sup>®</sup>が2011年7月に、RotaTeq<sup>®</sup>が2012年1月にそれぞれ製造承認され導入が開始された。我々は、以前より岡山県内におけるRVA流行状況を継続的に調査し、特定の血清型の流行パターンの変遷<sup>5)</sup>や、新しい遺伝子再集合体RAVの県内侵入<sup>6)</sup>等を明らかにしてきた。2012～2013年も、引き続き散発胃腸炎患者からのウイルス検出と遺伝子型別を行い、県内のRVAの流行状況を調査した。

## 2 対象と方法

### 2.1 対象

2012年9月～2013年8月(毎年9月～翌年8月までを1シーズンとする)に県内の3医療機関で採取された散発胃腸炎患者(年齢0～28歳)ふん便630件を用いた。

### 2.2 方法

市販のRVA検出キット(イムノクロマト法または酵素抗体法)によりRVAのスクリーニングを行い、陽性となった検体について、ふん便乳剤から市販キット(QIAamp Viral RNA mini kit, 株式会社キアゲン)によりRNAを抽出した。このRNAを用いて、Gouveaら<sup>7)</sup>

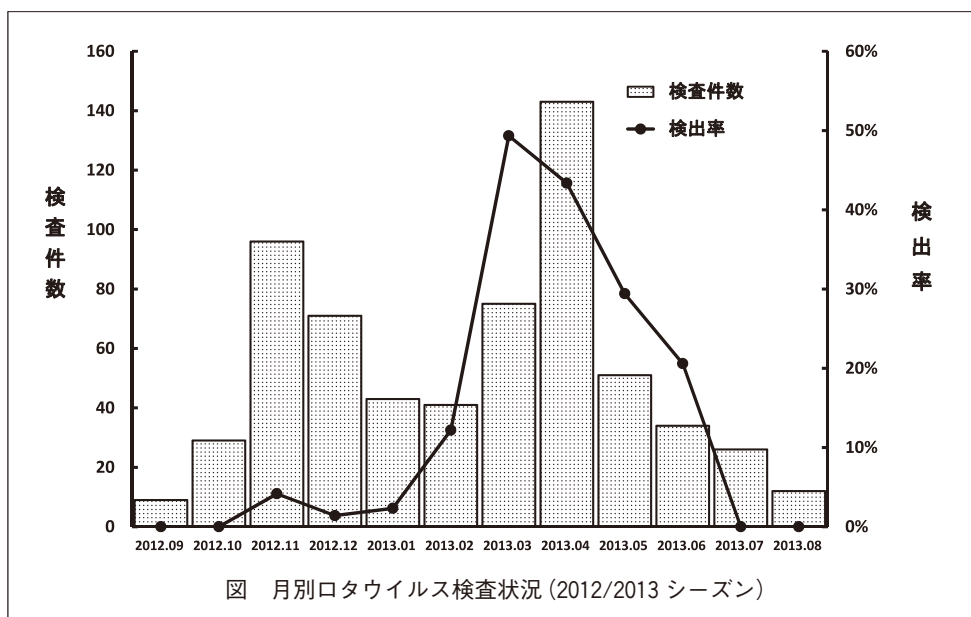
の報告した逆転写PCR(RT-PCR)法でG型別を、Wuら<sup>8)</sup>の方法によるRT-PCR法でP型別を実施した。G1P[8]と同定された株については、2011/2012シーズンに県内侵入が確認された異なるゲノグループ間(WaゲノグループとDS-1ゲノグループ)の遺伝子再集合体(リアソータント)に由来する株(VP7およびVP4遺伝子型はG1型プロトタイプのWa株と同じG1P[8]型であるが、VP6、NSP4およびNSP5/6遺伝子型はG2型プロトタイプのDS-1株と同一である株)か否かを簡易的に判別するため、NSP4遺伝子とNSP5/6遺伝子を増幅するRT-PCR法<sup>6)</sup>を実施した。これにより得られた産物サイズの比較を行い、NSP4産物>NSP5/6産物の株は、従来型(電気泳動像:Longパターン)株、NSP4産物<NSP5/6産物の株は、リアソータント由来型(電気泳動像:Shortパターン)株と推定した。

## 3 結果

### 3.1 ウイルス検出状況

ふん便検体630件のうち、スクリーニングで陽性となったのは145件(23.0%)、うちRT-PCRでウイルス遺伝子が確認されたのは132件(20.9%)であった。

月別の検査検体数とRAV検出率を図に示す。RAVは、2012年11月～2013年6月の間、毎月検出され、検出率が最も高かったのは、3月(49.3%:37/75)で4月(43.4%:62/143)とともに40%を超えるレベルで推移した後に漸減し、7月には検出されなくなった。



RAVが検出された患者の年齢は、0～28歳で、年齢別検出率では、1歳(34.7%：70/202)と2歳(30.4%：24/79)が30%を超えて最も高かったが、10歳、12歳および28歳でも各1例のRAV陽性例が見られ、10歳以上の比較的年齢の高い患者が、少数ながら存在することが確認された。

### 3.2 G遺伝子型およびP遺伝子型の解析

ウイルス遺伝子が確認された132件のうち、126件でG遺伝子型およびP遺伝子型が決定可能であった。各遺伝子型の月別検出状況を表1に示す。

G1P[8]が117件と最も多く、次いでG9P[8]が5件、G2P[4]とG3P[8]が各1件、G1P[8]とG3P[8]の混合感染例が2件であった。G1P[8]は全遺伝子型の92.8%を占めて3～5月を中心にほぼシーズンをとおして検出され、検出年齢は、0～3歳を中心に28歳にまで及んだ。

一方、G9P[8]は2～4月に0～2歳の患者から検出された。

### 3.3 G1P[8]のリアソータント由来株解析

G1P[8]と同定された117件のうち、115件でNSP4遺伝子とNSP5/6遺伝子のPCR産物が得られ、比較を行ったところ、79件(68.7%)が従来型株、36件(31.3%)がリアソータント由来型株と推定された。従来型株とリアソータント由来型株の月別検出状況を表2に、また、年齢別検出状況を表3に示す。

従来型株が2月以降6月までのシーズン後半に検出されたのに対し、リアソータント由来型株は11月～5月のより長期間にわたって検出された。検出年齢は、従来型株が0～2歳を中心に大部分が6歳までの比較的低位年齢の患者からの検出であったのに対して、リアソータント由来型株は7～28歳の患者からも検出された。

表1 各遺伝子型の月別検出状況

遺伝子型	採取月												計 (%)
	2012.09	2012.10	2012.11	2012.12	2013.01	2013.02	2013.03	2013.04	2013.05	2013.06	2013.07	2013.08	
G1P[8]			4		1	2	35	57	11	7			117 (92.8)
G2P[4]						1							1 (0.8)
G3P[8]				1									1 (0.8)
G9P[8]						2	1	2					5 (4.0)
G1&3P[8]								2					2 (1.6)
計	0	0	4	1	1	5	36	61	11	7	0	0	126

表2 G1P[8]型の月別検出状況

型別	採取月												計 (%)
	2012.09	2012.10	2012.11	2012.12	2013.01	2013.02	2013.03	2013.04	2013.05	2013.06	2013.07	2013.08	
従来株型						1	23	45	3	7			79 (68.7)
リアソータント株型			4		1	1	12	10	8				36 (31.3)
計	0	0	4	0	1	2	35	55	11	7	0	0	115

表3 G1P[8]型の年齢別検出状況

型別	年齢(歳)													計 (%)
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11～	不明	
従来株型	8	45	16	4	1	1	1					1	2	79 (68.7)
リアソータント株型	2	17	3	4	4		2	2			1	1		36 (31.3)
計	10	62	19	8	5	1	3	2	0	0	1	2	2	115

## 4 考察

2012/2013 シーズンの岡山県内におけるRAVの流行は、3、4月をピークとするG1P[8]を主流行型とするものであった。G1P[8]は、ヒトから最も高頻度に検出されるといわれるRAVの遺伝子型であるが、岡山県では2004/2005シーズン以降の8シーズンでは、2006/2007シーズンを除いてG1P[8]が主流行型となったことはなかった<sup>9), 10)</sup>。しかし、2011/2012シーズン後半から検出割合が増加し<sup>6)</sup>、6シーズンぶりに主流行型となった。2011/2012シーズン後半から検出されたG1P[8]は、その7割が異なるゲノグループ間(WaゲノグループとDS-1ゲノグループ)のリアソータント由来型株であり、これは県内では初めて確認されたものであった<sup>6)</sup>。今シーズン検出されたG1P[8]では、リアソータント由来型株の占める割合は昨シーズンより低下していたが、従来型株に比べてシーズン中の長期間、広い年齢層から検出されており、また、岡山県以外の地域でも多数検出されている<sup>11)</sup>事から、これまで遺伝的に不安定であると考えられてきたリアソータント由来型株が2シーズン連続で広範囲に流行しうることが明らかになった。また、リアソータント由来型株は少数ながら年齢の高い患者からも検出されており、従来型株と免疫学的に差があるのか、既に導入されているワクチンとの関係等、今後も注視していく必要があると考えられる。

## 文 献

- 1) 小林宣道, 浦沢正三: ロタウイルス, ウイルス, 50: 157-172, 2000
- 2) Matthijnssens, J., Ciarlet, M., McDonald, S. M., Attoui, H., Banyai, K., Brister, J. R., Buesa, J., Esona, M. D., Estes, M. K., Gentsch, J. R., Iturriza-Gómara, M., Johne, R., Kirkwood, C. D., Martella, V., Mertens, P. P., Nakagomi, O., Parreno, V., Rahman, M., Ruggeri, F. M., Saif, L. J., Santos, N., Steyer, A., Taniguchi, K., Patton, J. T., Desselberger, U., Van Ranst, M.: Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). *Arch. Virol.*, 156: 1397-1413, 2011
- 3) Santos, N. and Hoshino, Y.: Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication

for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. *Rev Med Virol.* 15: 29-56, 2005

- 4) 中込とよ子, 中込 治: ロタウイルスワクチンの現状と展望, 病原微生物検出情報, 26, 14-16, 2005
- 5) 葛谷光隆, 濱野雅子, 木田浩司, 藤井理津志, 金谷誠久: 胃腸炎ウイルスの研究—岡山県における血清型G9型A群ロタウイルスの流行状況について, 岡山県環境保健センター年報, 34, 85-89, 2010
- 6) Kuzuya M, Fujii R, Hamano M, Kida K, Mizoguchi Y, Kanadani T, Nishimura K, Kishimoto T.: Prevalence and molecular characterization of G1P[8] human rotaviruses possessing DS-1-like VP6, NSP4, and NSP5/6 in Japan. *Med Virol.* 2014 Jun;86(6):1056-64. doi: 10.1002/jmv.23746. Epub 2013 Sep 16
- 7) Gouvea, V., Glass, R. I., Woods, P., Taniguchi, K., Clark, H. F., Forrester, B. and Fang, Z. Y.: Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens, *J. Clin. Microbiol.*, 28: 276-282, 1990
- 8) Wu, H., Taniguchi, K., Wakasugi, F., Ukae, S., Chiba, S., Ohseto, M., Hasegawa, A., Urasawa, T., Urasawa, S.: Survey on the distribution of the gene 4 alleles of human rotaviruses by polymerase chain reaction., *Epidemiol. Infect.*, 112: 615-622, 1994
- 9) 葛谷光隆, 濱野雅子, 木田浩司, 藤井理津志, 岸本壽男, 金谷誠久, 西村恵子: 岡山県におけるA群ロタウイルス検出状況と血清型分布の最近の動向, 病原微生物検出情報, 32, 71-72, 2011
- 10) 濱野雅子, 木田浩司, 藤井理津志, 岸本壽男, 葛谷光隆, 金谷誠久, 福岡義久: 岡山県におけるA群ロタウイルスの検出状況(2010/11 ~ 2012/13シーズン), 病原微生物検出情報, 35, 68-69, 2014
- 11) 藤井克樹: 2012/2013年シーズンにおけるロタウイルス分子疫学解析, 平成25年度厚生労働省新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業「網羅的ロタウイルス分子疫学的基盤構築とワクチン評価」研究分担報告書, 53-56, 2014