

平成 20～24 年度 調査研究の概要

課題名	【6】胃腸炎ウイルスの疫学的研究
担当科名	保健科学部 ウイルス科

研究概要	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 冬季を中心に流行するウイルス性胃腸炎は、幼児や高齢者では重篤な症状となることも多く、集団発生も起こりやすいことが公衆衛生上の問題となっている。 ➤ 胃腸炎ウイルス（ロタウイルス、アデノウイルス、ノロウイルス、サポウイルス、アストロウイルス）について流行状況を調査し、感染症や食中毒対策の一助とする。 ➤ 胃腸炎ウイルスの流行状況調査 <ul style="list-style-type: none"> ◇ A 群ロタウイルスについて、遺伝子検査法及び酵素抗体法等を用いて、血清型別調査を行う。 ◇ 胃腸炎ウイルスについて、電子顕微鏡観察と遺伝子検査法を用いて流行状況を調査するとともに、新型・変異ウイルスの出現を監視する。 ➤ 胃腸炎ウイルスの検査法の検討 <ul style="list-style-type: none"> ◇ A 群ロタウイルスに特異的なモノクローナル抗体を用いたウイルスの検査法の開発を行う。 ◇ C 群ロタウイルスについて、正確な検査法などの検討を行う。 ◇ 遺伝子検査法で同定が不可能な小型球形ウイルスについては、その検査方法を検討する。 							
	研究成果	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 胃腸炎ウイルスの流行状況調査では、A 型ロタウイルスや胃腸炎ウイルスの流行状況を明らかにした。 ➤ A 群ロタウイルス G3 型に特異的なモノクローナル抗体を用いた検査法（蛍光抗体法）を開発した。 ➤ C 群ロタウイルスの検査法（リアルタイム PCR 法）を開発し、下水中に含まれる同ウイルスの調査を可能とした。 ➤ 低速遠心法によるウイルス粒子精製法を用いて、電子顕微鏡観察を実施し、遺伝子検査法では同定不可能な小型球形ウイルスが存在する可能性が示唆された。 						
	今後の課題	<ul style="list-style-type: none"> ➤ ロタウイルスワクチン開始後における流行状況を調査し比較することにより、ワクチンの影響を検討する必要がある。 ➤ A 群ロタウイルス G3 型と誤判定される G9 型変異株について、国内への進入を検討する必要がある。 ➤ 同定が不可能な小型球形ウイルスについて、新たな検査法の開発が必要である。 						
実施内容	実施内容	年度	H20	H21	H22	H23	H24	
	新型・変異ウイルス監視		—————					
	検査法開発		—————					
	流行予測		—————					
	計画事業費		1,470	735	735	662	662	単位： 千円
	一般財源		1,470	735	735	662	662	
外部資金等								
人件費		5,600	6,400	6,400	6,400	6,400		
総事業コスト		7,070	7,135	7,135	7,062	7,062		

調査研究概要【胃腸炎ウイルスの疫学的研究】

センター年報掲載	H20	胃腸炎ウイルスの研究（2008年度）	
	H21	ノロウイルス検査における抽出コントロールとしてのエコーウイルス 9 型 Hill 株の Real-time RT-PCR 法による検出	
	H21	胃腸炎ウイルスの研究 －電子顕微鏡を用いた胃腸炎ウイルスの検出(2009年度)－	
	H21	胃腸炎ウイルスの研究 －ノロウイルス迅速検査キットの評価と食中毒原因究明調査における利用の可能性－	
	H21	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－	
	H22	胃腸炎ウイルスの研究 岡山県の散発性胃腸炎患者におけるノロウイルス、サポウイルスおよびアストロウイルスの流行疫学（2008/2009 シーズン～2009/2010 シーズン）	
	H22	胃腸炎ウイルスの研究 電子顕微鏡を用いた胃腸炎ウイルスの検出（2005/06～2009/10 シーズン）－	
	H22	胃腸炎ウイルスの研究 －Real-time RT-PCR 法によるヒト C 群ロタウイルス検査法の開発－	
	H23	胃腸炎ウイルスの疫学的研究 －下水を用いたヒト C 群ロタウイルスサーベイランスの有効性－	
	H23	胃腸炎ウイルスの疫学的研究 －電子顕微鏡を用いた胃腸炎ウイルスの検出（2010/11 シーズン）－	
	H24	胃腸炎ウイルスの疫学的研究 －岡山県で検出された G2 型ヒトロタウイルスの分子疫学的解析－ <投稿中>	
	H24	胃腸炎ウイルスの疫学的研究 －電子顕微鏡を用いた胃腸炎ウイルスの検出（2011/12 シーズン）－ <投稿中>	
学会発表	H20	Molecular Epidemiology of Group C Rotavirus in Japan over the Last Two Decades	日米医学協力計画・第 42 回日米合同ウイルス性疾患専門部会会議
	H20	岡山県で流行した A 群ロタウイルスの P 遺伝子型について	第 49 回 日本臨床ウイルス学会
	H20	岡山県内の看護学校における A 群ロタウイルスの集団発生事例	第 78 回日本感染症学会西日本地方会
	H20	岡山県における Astrovirus 胃腸炎の流行疫学（2004-2007 年度）	第 78 回日本感染症学会西日本地方会総会
	H20	G II/4 を中心とした岡山県における散発事例および集団事例由来 Norovirus の解析（2004-2007 年度）	平成 20 年度日本獣医師会獣医公衆衛生学会年次大会
	H21	岡山県における G9 型 A 群ロタウイルスの流行状況について	第 57 回日本ウイルス学会学術集会
	H21	食中毒原因究明調査における Norovirus 迅速検査キット利用の可能性	平成 21 年度日本獣医師会獣医公衆衛生学会年次大会
	H22	岡山県におけるイヌの A 群ロタウイルス保有状況と性状解析	平成 22 年度獣医公衆衛生学会中国地区学会

調査研究概要【胃腸炎ウイルスの疫学的研究】

学会発表	H22	岡山県における P[8]サブタイプ b 型 A 群ロタウイルスの流行状況について	第 58 回日本ウイルス学会学術集会
	H23	岡山県における G2 型 A 群ロタウイルスの流行状況について	第 52 回日本臨床ウイルス学会
	H23	小型球形ウイルス：正体不明の小型球形ウイルス	衛生微生物技術協議会 第 32 回研究会
	H23	ふきとり検体からのノロウイルス検出法に関する検討	第 32 回日本食品微生物学会学術総会
	H23	岡山県内の成人におけるロタウイルス集団発生事例について	平成 23 年度保健所検査業務研究会発表会
	H24	生カキを原因とするノロウイルス食中毒事件の疫学調査と遺伝子解析	第 33 回日本食品微生物学会学術総会
	H24	患者糞便及び下水調査に基づく C 群ロタウイルス流行実態の解明	第 60 回日本ウイルス学会学術集会
学会誌掲載	H20	ロタウイルス胃腸炎の現状	化学療法の領域、Vol. 24、No.10、1488-1497、2008
	H20	ロタウイルスに感染に関連した急性脳症の 1 例	日大医学雑誌、Vol67、No.5、304-308、2008
	H21	Detection of rotavirus RNA and antigens in serum and cerebrospinal fluid samples from diarrheic children with seizures	Japanese Journal of Infectious Diseases, Vol. 62, No.4, 279-283, 2009
	H21	Rotavirus antigenemia and genomia in children with rotavirus gastroenteritis	Japanese Journal of Infectious Diseases, Vol. 63, No.2, 83-86, 2010
	H23	Outbreak of Salmonella Braenderup Infection Originating in Boxed Lunches in Japan in 2008	Acta Medica Okayama, Vol. 65, No.2, pp.63-69, 2011
	H23	Molecular Characterization of OP354-Like P[8] (P[8]b Subtype) Human Rotaviruses A Species Isolated in Japan	The Journal of Medical Virology, Vol.84, 697-704, 2012
	H24	ロタウイルス胃腸炎の集団発生について	臨床とウイルス、Vol.41、No.1、69-80、2013
	H24	Prevalence and molecular characterization of G1P[8] human rotaviruses possessing DS-1-like VP6,NSP4, and NSP5/6 in Japan < 投稿中 >	The Journal of Medical Virology,

胃腸炎ウイルスの疫学的研究

岡山県の散発性胃腸炎患者におけるノロウイルス，サポウイルスおよびアストロウイルスの流行疫学（2008/2009 シーズン～2009/2010 シーズン）

濱野雅子，藤井理津志，葛谷光隆，木田浩司（ウイルス科），檜原幸二（岡山赤十字病院小児科），濃野 信（のうの小児科），金谷誠久（国立病院機構岡山医療センター小児科）

要 旨

感染性胃腸炎におけるノロウイルス（NoV），サポウイルス（SaV）及びアストロウイルス（AstV）のトータルな流行状況を明らかにするため，2008/2009 年シーズンおよび 2009/2010 年シーズン（2008 年 9 月～2010 年 8 月）の散発性胃腸炎患者糞便 1,024 件のうち，電子顕微鏡検索（EM）法で小型球形ウイルス（SRSV）様粒子が観察された 84 件について，逆転写 PCR 法により NoV，SaV 及び AstV を検索した。また，EM 法でロタウイルス（RV）様粒子またはアデノウイルス（ADV）様粒子が観察された 196 件について，それぞれ，酵素抗体（ELISA）法による A 群ロタウイルス（ARV）と C 群ロタウイルス検索，イムノクロマト（IC）法による ADV の検索を実施した。その結果，NoV が 41 件，SaV が 11 件，AstV が 10 件，ARV が 182 件，ADV が 14 件から検出された。シーズンごとの検出数では，ARV，ADV は変化がなかったのに対して，NoV，SaV，AstV は，ともに，2009/2010 年シーズンは 2008/2009 年シーズンの 1/2 ～ 1/4 にとどまった。また，検出時期についても NoV，SaV，AstV ともに 2009/2010 年シーズンは前シーズンに比べて遅くなる傾向が見られた。検出ウイルスの一部について遺伝子解析を行ったところ，NoV では GII/4 が大部分を占め，GII/3，GII/6 も検出された。検出された GII/4 株は，両シーズンともに GII/4 2006b 類似株であった。一方 AstV では，1 型が主流であったが，3 型，4 型も検出された。

1 はじめに

ウイルス性胃腸炎の主要な原因の 1 つである小型球形ウイルス（SRSV）は，細胞・実験動物により人工的に増殖させる技術が確立されていないウイルス群であるが，このうち Calicivirus 科に属する Norovirus 属の Norwalkvirus（以下 NoV），Sapovirus 属の Sapporovirus（以下 SaV），Astrovirus 科の Astorovirus（以下 AstV）についてはその遺伝子情報に基づいた逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（以下逆転写 PCR）法での検出が可能となった。

これに伴い，感染症対策と食品衛生対策の両面で最も行政ニーズの高い NoV については，①ヒト由来の NoV は，大きく 2 つの遺伝子群 Genogroup I：GI と Genogroup II：GII に分かれ，ウイルス表面蛋白をコードする capsid 領域の遺伝子配列により，GI，GII ともに多数の遺伝子型：genotype に分かれることや②同一検体中に複数の遺伝子型の NoV が存在する可能性があること，③異なる 2 つの遺伝子型の遺伝子が部分的に組みかわったと考えられる「キメラ株」や，同一の遺伝子型内で遺伝子が部分的に大きく変異した「同一遺伝子型内変異株」が存在すること等が明らかになってきた。このように NoV はきわめて多様であるため，その流行状況を予測して対策をとるためには，継続的な監視と事例解析が不可欠である。また，NoV 以外の SRSV である SaV，AstV についても，SaV は 5 つの遺伝子群 GI（以下 SaV_GI）～GV（SaV_GV），AstV は 8 血清型（以下 AstV_1～ AstV_8）に分かれ，それぞれの血清型に対応する遺伝子型が存在する 11）等 NoV 同様多様なウイルスの存在が明らかになっているが，その流行疫学については不明な点が多く，解明していく必要がある。

2010 年度は，感染性胃腸炎における NoV，SaV および AstV のトータルな流行状況をあきらかにするため，2008/2009 と 2009/2010 の 2 シーズンの散発胃腸炎患者検体でウイルス検索を行い，検出状況を総合的に解析するとともに，検出された NoV，SaV および AstV について遺伝子解析を行った。

2 結果

2.1 ウイルス検出状況

EM法でウイルス様粒子が観察された検体の内訳は、SRSV様粒子が84件、RV様粒子が182件、ADV様粒子が14件であった。

SRSV様粒子が観察された84件から、NoVが41株、SaVが11株、AstVが10株検出された。このうち、同一検体からNoVとSaVが検出された例が2件みられた。また、NoV、SaV、AstVいずれのPCRでも陰性であった「その他のSRSV」が24株みられた。RV様粒子が観察された182件は、すべてARVと同定された。また、ADV様粒子が観察された14件は、すべてADVであることが確認された（表1）。

表1 ウイルスの検出状況

ウイルス		NoV	SaV	AstV	その他の SRSV*	RotaA	ADV	総計
2008/2009 シーズン	9月						1	1
	10月							0
	11月	1			3			4
	12月	21	2**		7	5		35
	1月	8	3		1	5	3	20
	2月	1	3	1	2	22	2	31
	3月	2		2	2	28		34
	4月			3		19		22
	5月			2		8		10
	6月				1			1
	7月							0
8月							0	
	小計	33	8	8	16	87	6	158
2009/2010 シーズン	9月				3			3
	10月				2			2
	11月							0
	12月				1		1	2
	1月	5	1		1	5	1	13
	2月	2	1**			13		16
	3月	1				24	1	26
	4月					28	2	30
	5月		1		1	18	2	22
	6月			1		7		8
	7月						1	1
8月			1				1	
	小計	8	3	2	8	95	8	124
総計		41	11	10	24	182	14	282

* NoV,SaV,AstVのPCRがいずれも陰性であったもの

** NoVと同一検体からの検出 1件 を含む

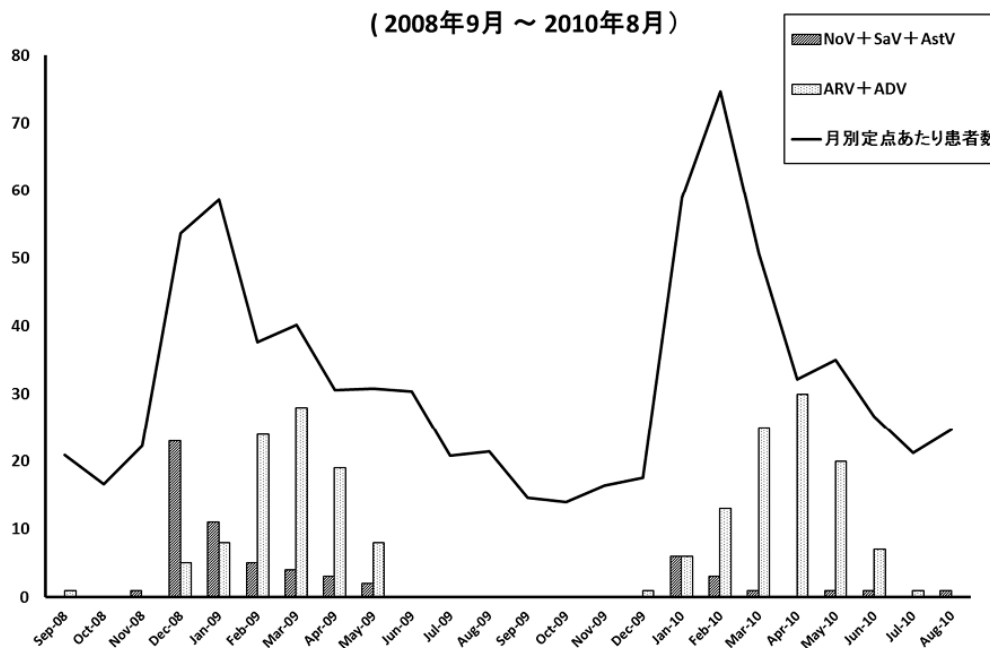
シーズンごとのウイルス検出数を比較すると、NoV、SaV、AstVでは、2008/2009年シーズンがそれぞれ33株、8株、8株であったのに対して、2009/2010年シーズンは8株、3株、2株で、前シーズンの1/2～1/4にとどまった。一方、ARVとADVについては、2008/2009年シーズンがそれぞれ87株、6株、2009/2010年シーズンは95株、8株と大きな変化はみられなかった。検出時期についても、NoV、SaV、AstVでは、2008/2009年シーズンがそれぞれ11月～3月、12月～2月、2月～5月であったのに対して、2009/2010年シーズンは1月～3月、1月～5月、6月～8月と、前シーズンより遅くなる傾向が見られた。

感染症発生動向調査における感染性胃腸炎の患者数を表2に、定点あたり患者数とウイルス検出状況を図1に示す。ウイルス性胃腸炎の主流行期である11月～3月の定点あたり患者数は、2008/2009年シーズンが22.3～58.6人、ピークが12月から1月であったのに対して、2009/2010年シーズンは16.4人～74.6人、ピークが2月で、NoV、SaV、AstVにおける2009/2010年シーズンの検出数の減少と検出時期の遅れは、同シーズンの患者数の推移とよく一致していた。

表 2 感染性胃腸炎の月別患者数

		9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月
2008/2009 シーズン	患者数(人)	1131	898	1203	2898	3163	2034	2172	1651	1664	1640	1122	1160
	定点あたり 患者数(人)	20.9	16.6	22.3	53.7	58.6	37.7	40.2	30.6	30.8	30.4	20.8	21.5
2009/2010 シーズン	患者数(人)	792	754	885	951	3178	4030	2738	1737	1889	1443	1145	1336
	定点あたり 患者数(人)	14.7	14.0	16.4	17.6	58.9	74.6	50.7	32.2	35.0	26.7	21.2	24.7

図 1 感染性胃腸炎月別定点あたり患者数とウイルス検出状況
(2008年9月～2010年8月)



2.2 NoV, SaV および AstV の遺伝子解析

NoV19 株についての遺伝子解析の結果、すべて GII に属しており、GII/3 : 2 株、GII/4 : 15 株、GII/6 : 2 株であった(図 2)。GII/3 および GII/4 は両シーズンにわたって検出されたが、遺伝的に大きな隔たりはみられなかった。これに対して GII/6 は 2008/2009 年シーズンにのみ検出されたが、OH 2159 株がレファレンス株である GII/6 SaitamaU3 株 や GII/6 Seacroft 株と同一クラスターを形成したのに対し、OH 2261 株は別のレファレンス株である GII/6 SaitamaU16 とクラスターを形成し、遺伝的にやや異なる株であった。GII/4 に属する 15 株と遺伝子型内レファレンス株の系統樹を、図 3 に示す。遺伝子型内変異株が知られている GII/4 については、15 株すべてが 2006b タイプであった。

SaV は 2009 年 1 月に採取された OH 2196 株 1 株の塩基配列が決定され、SaV-GI/1 であった。

8 株の AstV についての遺伝子解析の結果、1 型 : 6 株、3 型 : 1 株、4 型 : 1 株であった(図 4)。1 型は両シーズンとも検出されたが、2008/2009 年シーズン検出株 5 株がレファレンス株である Dresden 株と同一クラスターを形成したのに対し、2009/2010 年シーズンに検出された OH 2817 株 (2010 年 8 月採取) は、Dresden 株と相同性が 89.8% で、別のレファレンス株である Oxford 株 (相同性 96.0%) とクラスターを形成し、遺伝的にやや異なる株であった。

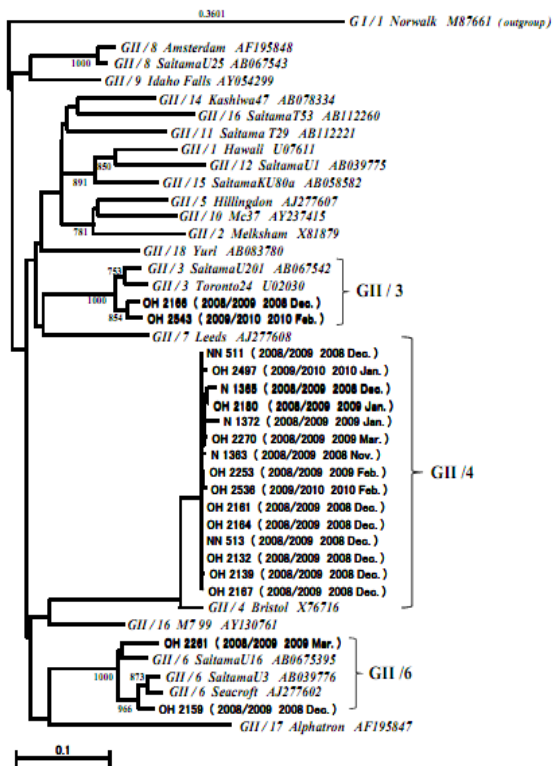


図2 検出 NoV の polymerase/capsid junction 領域の系統樹

Lordsdale 株 5102-5366 相違の 265 bp, NJ法, Bootstrap 1000 回。
 斜字: レファレンス株, 末尾に Accession No. を記載

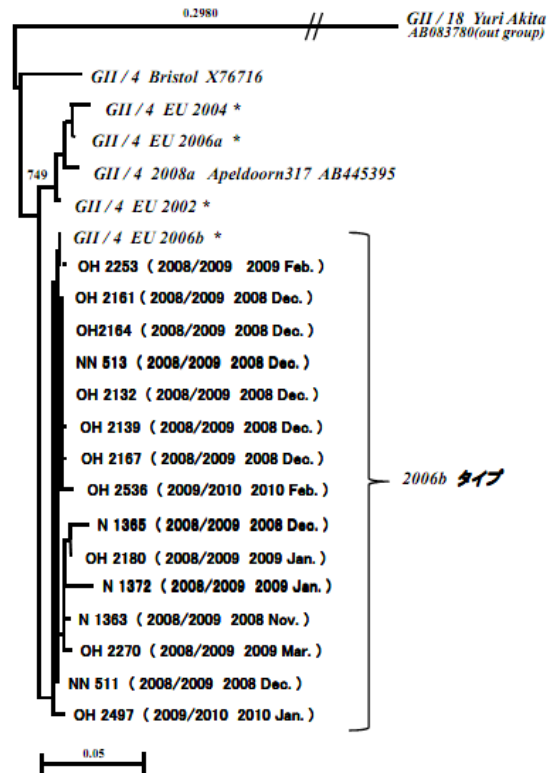


図3 検出 NoV GII/4 の polymerase/capsid junction 領域の系統樹

Lordsdale 株 5102-5366 相違の 265 bp, NJ法, Bootstrap 1000 回。
 斜字: レファレンス株, 末尾に Accession No. を記載, *: Eurosurveillance database より引用

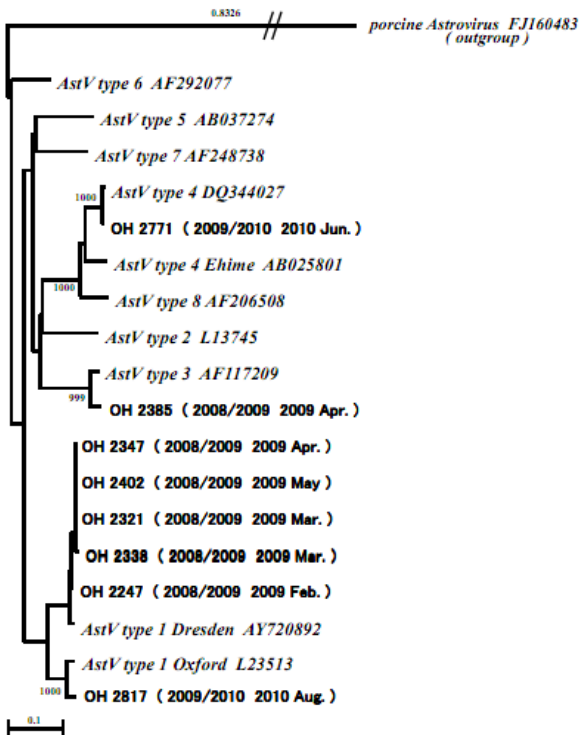


図4 検出 AstV の ORF2 の部分領域の系統樹

AstV type 2 レファレンス株 4561-4933 相違の 373 bp, NJ法, Bootstrap 1000 回。
 斜字: レファレンス株, 末尾に Accession No. を記載

3 考 察

2008/2009 年シーズンおよび 2009/2010 年シーズンの散発胃腸炎患者からのウイルス検出状況は、シーズンにより NoV, SaV および AstV の検出数と検出時期が大きく異なっており、2009/2010 年シーズンは、ともに前シーズンに比べて検出数が減少し、検出時期も遅くなる傾向であった。

われわれは、2007 年度の報告で、各ウイルスの検出時期に関する解析から、NoV, SaV, AstV がそれぞれ時期をずらして流行していると推定したが、検出時期の遅れは、この推定を裏付けると考えられる。

また、特に 11 月から 12 月にかけての NoV の検出数減少と患者数の減少から、同時期の感染性胃腸炎の原因ウイルスは NoV であることが改めて明らかになった。2009/2010 シーズンは、新型インフルエンザの流行したシーズンであり、とくに 10 月～12 月にかけてはもっとも患者が多発した時期であった。したがって手洗い等の感染防止策がきわめて長期間にわたって通常より厳重に実践されていたと考えられ、こうした社会的状況が NoV の検出数減少に関与した可能性がある。

検出された NoV の遺伝子型は、両シーズンとも GII/4 2006b 類似株が大部分を占めた。GII/4 は、2006/2007 シーズン以降、全国の地方衛生研究所からの病原体検出報告でも常に最も多く報告されており、このシーズン以降全国的に胃腸炎の多発を引き起こした GII/4 2006b の流行は、2009/2010 シーズンまで継続していたものと推察され、4 シーズンにわたって県内の主流型であったことになり、こうした長期にわたる流行による感受性者の減少が検出数の減少につながった可能性も考えられた。なお、2008 年 11 月以降国内で流行している GII/4 2008a は、今回は確認されなかった。

また、GII/4 のほかに GII/3 と GII/6 も検出された。これらの遺伝子型は、2008 年 4 月～2009 年 3 月の集団事例でみられた株と同じであり、GII/6 が 2 系統流行していた点も一致していた。AstV は、検出時期が 3 月～6 月に集中しており、1 型が大部分を占める点は以前の報告²⁰⁾と同様であったが、2010 年 8 月に採取された 1 株が Oxford 類似株で、同じ 1 型ながら前シーズンまでの Dresden 類似株とかなり異なっており、今後この系統のウイルスが主流となるのか、今後とも監視していく必要があると考えられる。

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－

葛谷光隆，濱野雅子，木田浩司，藤井理津志（ウイルス科），
金谷誠久（国立病院機構岡山医療センター小児科）

要 旨

岡山県における血清型 G9 型（G9 型）A 群ロタウイルス（ARV）の流行状況を明らかにするため、2000 年 9 月～ 2008 年 8 月の 8 シーズンに県内で採取された ARV 陽性の胃腸炎患者糞便 553 検体について G 型別調査を実施した。その結果、126 検体（22.8 %）が G9 型と同定され、G1 型（33.1 %）及び G3 型（31.1 %）に次ぐ値であることが明らかになった。調査 8 シーズン中 5 シーズンで G9 型が検出され、ARV 全体に占める割合は 2001/02 シーズンが 28.8 %，2002/03 シーズンが 4.7 %，2005/06 シーズンが 55.4 %，2006/07 シーズンが 1.1 %，2007/08 シーズンが 72 %であり、特に 2005 年以降は隔年で大きな流行を起こしていた。さらに G9 型陽性例の外殻スパイク蛋白の遺伝子型はすべて P [8] 型であり、また遺伝子解析の結果、検出された株の外殻糖蛋白及び外殻スパイク蛋白遺伝子は高度に（相同性 98.5 %以上）保存されていることがわかった。このような G9 型流行の背景について、G9 型は近年新たに出現した型のため住民の抗体保有率が全体として低かったことが基本にあり、さらに 2001/02 シーズンに県内へ侵入したウイルスが県下全域へと広がるのに数年間を要したこと、その後は G9 型に対する抗体を保有しない 2 歳以下の乳幼児がある程度蓄積する必要があったために、隔年で流行を繰り返したのではないかと考えられた。

1 はじめに

A 群ロタウイルス（ARV）は、外殻糖蛋白（VP7）の抗原性により 20 の血清型に分類されているが、そのうちヒトから検出される頻度が高いことがわかっているのは G1 ～ G4 型である。しかしながら、近年になってヒトの間に出現した G9 型によって世界的な流行が確認されるなど、G1 ～ G4 型以外の流行動向が注目されている。一方、近年になり複数のメーカーにより作成された第 2 世代 ARV ワクチンの導入が世界的に進められており、我が国でも将来的に採用される可能性が考えられる。

しかしながら、これらのワクチンには G9 型は含まれていないことから、ワクチンの有効性を予測する上でも、本型の流行状況を事前に把握しておくことは非常に重要であると思われる。そこで、岡山県における G9 型 ARV の流行状況を把握するため、2000 年～ 2008 年に採取された胃腸炎患者糞便について調査を行った。

2 結 果

2.1 G9 型 ARV 検出状況

G 型別の結果、553 検体すべてが型別可能であった（表 1）。G9 型についてみると、単独で検出されたのが 124 検体、G1 型及び G3 型との混合検出が各 1 検体の、計 126 検体（22.8%）から検出された。なお、シーズン別の検出状況では、調査 8 シーズン中 2001/02 シーズン、2002/03 シーズン、2005/06 シーズン、2006/07 シーズン、2007/08 シーズンの計 5 シーズンで G9 型が検出された。各シーズンごとの G 型別検出割合を図 1 に示した。2001/02 シーズンにはじめて G9 型が検出され、しかもその割合が全体の 28.8%と G 型の中では最も多くを占めていた。翌シーズンにもわずかながら検出されたが、その後 2 シーズンは全く検出されなくなった。しかしながら、2005/06 シーズン及び 2007/08 シーズンには、G9 型が ARV 全体のそれぞれ 55.9%及び 72%を占めるといふ広範な流行が確認された。以上のことから、G9 型の流行は年々その間隔が短くなると同時に、規模も拡大する傾向にあることがわかった。

表1 ARVのG型別成績(2000/01～2007/08シーズン)

G型	流行シーズン								合計(%)
	2000/01	2001/02	2002/03	2003/04	2004/05	2005/06	2006/07	2007/08	
G1	8	8	35	20	29	26	46	11	183(33.1)
G2	9	7	0	0	0	1	29	1	47(8.5)
G3	2	12	33	60	31	14	12	8	172(31.1)
G4	0	6	14	0	2	0	0	0	22(4.0)
G9	0	14	4	0	0	52	1	53	124(22.4)
G12	0	1	0	0	0	0	0	0	1(0.2)
G1&G2	0	0	0	0	0	0	1	0	1(0.2)
G1&G9	0	0	0	0	0	0	0	1	1(0.2)
G2&G3	0	1	0	0	0	0	0	0	1(0.2)
G3&G9	0	1	0	0	0	0	0	0	1(0.2)
合計	19	50	86	80	62	93	89	74	553

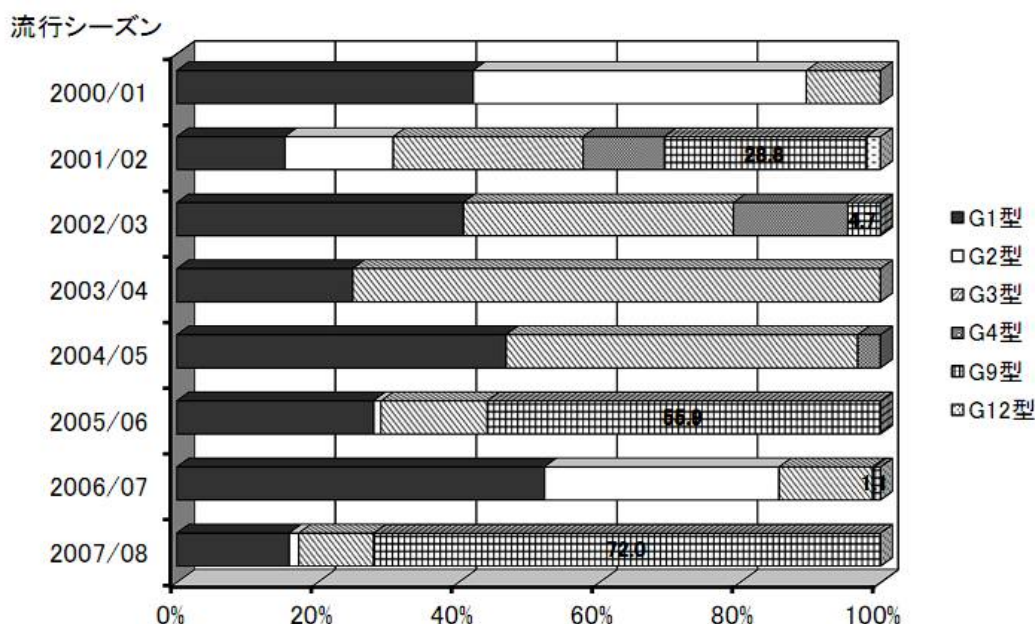


図1 シーズン別のG型別分布割合

次に、ARV 陽性例について検体採取週の中央値を算出したところ、G9型は第12週（3月中旬～下旬）となり、G1～G4型の値（G1型：第13週、G2型：第14週、G3型：第12週、G4型：第13週）に比べると検出時期が早い部類に属するものの、他の型に比べて大きな差は認められなかった。また年齢別検出状況を調べたところ、特定の年齢層からG9型が検出されるといった傾向は認められず、他のG型と同様に1歳をピークとする検出パターンが認められた（データを示さず）。

2.2 感染性胃腸炎患者数の推移

2000年～2008年の冬季（前年第45週～翌年第20週）における、岡山県感染症発生動向調査に基づく定点医療機関あたり（定点あたり）の感染性胃腸炎患者数の推移を図2に示した。例年ARVの流行が認められる第5週～第18週頃に注目すると、G9型の割合が50%を超えた2005/06シーズン及び2007/08シーズンにおいては、いずれも定点あたり患者数が他シーズンの値を上回っており、G9型の流行により県下全域で多数の患者が発生していたものと推察された。さらにピーク時の患者数についても、2005/06シーズンが13.9人及び2007/08シーズンが16.6人と増加傾向にあることもわかった。

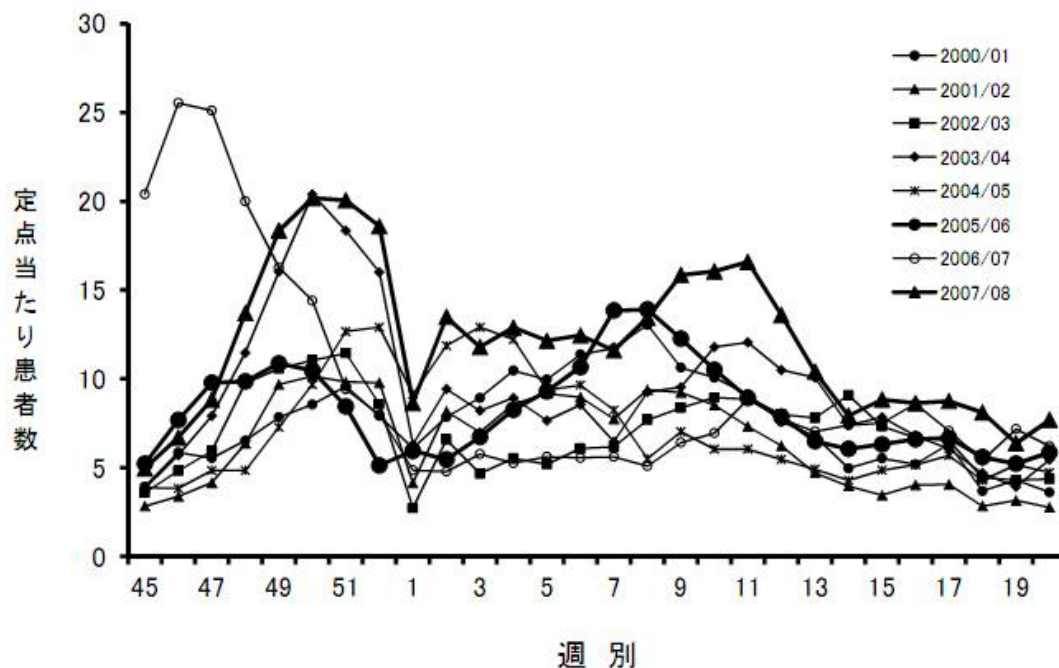


図2 2000～2008年の8シーズンにおける感染性胃腸炎患者数
2000年～2008年の冬季(前年第45週～翌年第20週)における、岡山県感
染症発生動向調査に基づく定点医療機関あたりの感染性胃腸炎患者数の

2.3 G9 型株の P 遺伝子型別結果

G9 型と同定された 124 検体（混合感染の 2 例を除く）について、P 型の同定を試みたところ、すべて P[8]型であることがわかった。

2.4 VP7 遺伝子解析結果

G9 型代表株として 2001/02 シーズンの 4 株，2005/06 シーズンの 6 株，及び 2007/08 シーズンの 5 株について，VP7 遺伝子の塩基配列及び予測アミノ酸配列について相互に比較を行った（表 2）。その結果，15 株の VP7 は遺伝子（nt）及びアミノ酸（aa）配列とも 98.8%以上という高い相同性を有していることがわかった。詳しくみると，同一シーズンの株間では，nt レベルで 99.6%以上，aa レベルで 99.4%以上という極めて高い相同性が認められたが，異なるシーズンの株間では nt で 98.8～99.6%，aa で 98.8～99.4%であり，シーズン間で VP7 遺伝子に若干の違いが認められた。

表 2 VP7 遺伝子及びアミノ酸配列相同性

G9型株(解析数)	相同性値(%)		
	2001/02株	2005/06株	2007/08株
2001/02 シーズン株 (4)	99.8～100* (100**)	99.0～99.3 (99.1～99.4)	98.8～99.1 (99.1)
2005/06 シーズン株 (6)		99.8～100 (99.4～100)	99.4～99.6 (98.8～99.1)
2007/08 シーズン株 (5)			99.6～100 (100)

*遺伝子配列相同性値 **アミノ酸配列相同性値

次に県内で検出された株と、これまでに世界各地で検出された G9 型株の遺伝的関連性をみるため、2001/02 シーズン、2005/06 シーズン及び 2007/08 シーズン代表株それぞれ 2 株ずつ計 6 株の VP7 遺伝子について、近隣結合法による系統解析を実施した。結果は図 3 に示すように、県内検出株はいずれも系統樹上の比較的近い部分に位置付けられ、大きくみると、1995 年以降に日本をはじめオーストラリア、ブラジル、アメリカ、中国など世界各地で検出された G9 型株と同じ系統に属することがわかった。

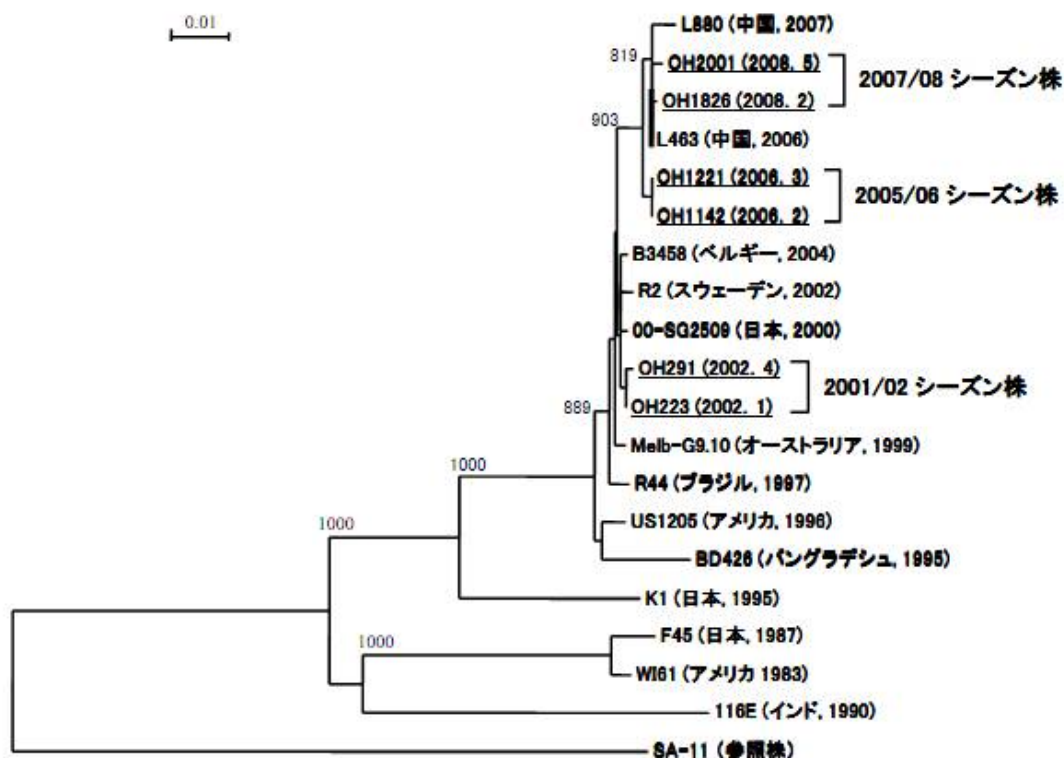


図3 VP7遺伝子配列の系統解析結果

サルARVのSA-11株(G3型)を参照株として、近隣結合法により系統解析を実施した(1,000回のブートストラップを行い、800以上の数値を系統樹上に示す)。県内で検出された株はアンダーラインで示し、括弧内に検出年月を記した。既知のG9型株については、その由来国及び分離年を括弧内に示す。なお、遺伝的距離(サイトあたりの塩基期待置換数)をスケールバーで示した。

2.5 VP4 遺伝子解析結果

VP7 の比較を行った 15 株について VP4 遺伝子配列を決定し、遺伝子及びアミノ酸配列の相同性を相互に比較した(表 3)。その結果、15 株の VP4 遺伝子は nt 配列で 98.7%以上、aa 配列で 98.5%以上という高い相同性を有していることがわかった。詳しくみると、同一シーズンの株間の比較、もしくは 2005/06 シーズン株と 2007/08 シーズン株の比較では、nt レベルで 99.3%以上、aa レベルで 99.4%以上という極めて高い相同性が認められたが、2001/02 シーズン株と他シーズン株との比較では、nt 配列で 98.7~99.9%、aa 配列で 98.5~99.1%とやや相同性値が低く、時間の経過とともに VP4 遺伝子に若干の変異が生じていることがわかった。

表3 VP4遺伝子及びアミノ酸配列相同性

G9型株(解析数)	相同性値(%)		
	2001/02株	2005/06株	2007/08株
2001/02 シーズン株 (4)	99.9~100* (99.7~100**)	98.9~99.9 (98.5~98.8)	98.7~99.1 (98.5~99.1)
2005/06 シーズン株 (6)		99.9~100 (100)	99.3~99.9 (99.4~99.7)
2007/08 シーズン株 (5)			99.4~100 (99.4~100)

*遺伝子配列相同性値 **アミノ酸配列相同性値

次に VP7 遺伝子の場合と同様に、各シーズン代表 2 株の VP4 遺伝子についても系統解析を実施した(図 4)。その結果、県内検出株は系統樹上のほぼ同様な部分にそれぞれ位置づけられ、大きくみると 2004~2005 年にヨーロッパやアジアなどで検出された G9P[8]型株の VP4 遺伝子と密接に関連していることが明らかになった。

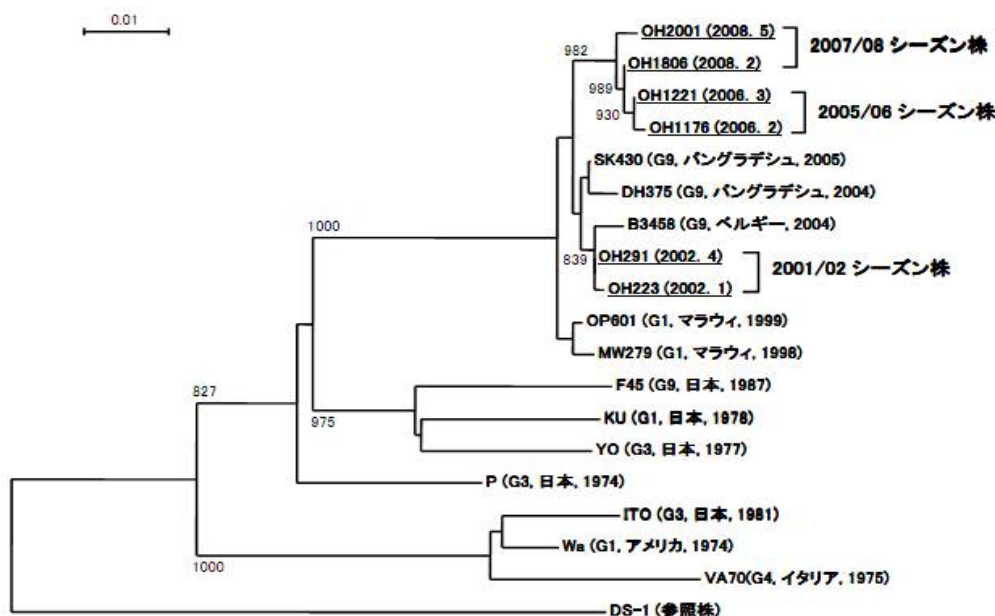


図4 VP4遺伝子配列の系統解析結果

ヒトARVのDS-1株(P[4]型)を参照株として、近隣結合法により系統解析を実施した(1,000回のブートストラップを行い、800以上の数値を系統樹上に示す)。県内で検出された株はアンダーラインで示し、括弧内に検出年月を記した。既知のP[8]型株については、そのG型、由来国及び分離年を括弧内に示した。なお、遺伝的距離(サイトあたりの塩基期待置換数)をスケールバーで示した。

3 考察

今回の調査により、8シーズン中5シーズンでG9型ARVが検出され、また検出数でも全体の22.8%とG1型(33.1%)及びG3型(31.1%)に次ぐ割合を占めるなど、県内において本ウイルスが広く流行していることが明らかになった。G9型は1983年にアメリカではじめて検出され、その後1988年にかけて日本やユーゴスラビアでも確認されたが、その時点ではヒトからごく稀に検出されるのみであった。ところが1990年代半ば頃から、世界各地でG9型の検出報告が相次ぐようになり、現在では従来からヒトの間で流行しているG1~G4型に次ぐ第5のG型として注目されている。日本においても、Zhouらが全国5カ所の病院(北海道、東京、舞鶴、大阪、佐賀)において1998年頃からG9

型の陽性例がしだいに増加したことを報告している。特に、G9 型の割合が 1998/99 シーズンの東京で 52.9%、及び 1999/2000 シーズンの佐賀で 78.4%に達したことは注目に値する。さらに Zhou らは、1996 年以降に我が国で検出された計 58 株の G9 型についてその P 型を調べ、57 株が P[8]型であったと報告している。今回の調査で、岡山県においても 2001/02 シーズンに G9 型がはじめて確認され、しかも県内で検出された株の VP4 がいずれも P[8]型であったことから、1990 年代後半頃から始まった全国的な G9 型流行が、2001/02 シーズンには岡山県にも波及し、その後県下に広まったものと考えられた。

2001/02 シーズンに県内に侵入した G9 型が、当該シーズンには ARV 全体の 28.8%を占めるという比較的大きな流行を起こした。翌シーズンにもわずかながら G9 型が検出されたものの、その後 2 シーズンは全く検出されなくなった。しかしながら、2005/06 及び 2007/08 シーズンには G9 型が ARV 全体のそれぞれ 55.4%及び 72%を占めるなど、年を経るごとに流行間隔が短くなるとともに、規模も拡大する傾向にあることが明らかになった。また、G9 型が高率に検出された 2005/06 及び 2007/08 シーズンの ARV 流行時期における、感染性胃腸炎患者数がいずれも例年を上回っていたことなどから、県下全域で当該ウイルスが流行していたことが強く示唆された。その一方で、今回検出された G9 型株はいずれも P 型が P[8]であり、さらに VP7 及び VP4 遺伝子解析結果から、今回の株が遺伝的にも極めて近縁であることがわかった。これらのことは、ほぼ類似した性状のウイルスが繰り返し流行していたことを示している。G9 型がこのような流行形態を取るに至った背景について明確なことはわからないものの、G9 型は近年新たに出現した型のため住民の抗体保有率が全体として低かったことが基本にあり、さらに 2001/02 シーズンに県内へ侵入したウイルスが県下全域へと広がるのに数年間を要したこと、その後は G9 型に対する抗体を保有しない 2 歳以下の乳幼児がある程度蓄積する必要があったために、隔年で流行を繰り返したのではないかと考えられた。今後、ARV の病原性に関与すると考えられている非構造蛋白 NSP4 の比較を行うなど、さらに詳しい解析により流行拡大要因について明らかにする必要がある。

現在、第 2 世代 ARV ワクチンの導入が世界的に進められており、我が国でも将来的に導入される可能性がある。第 2 世代ワクチンのうち世界的に最も導入が進んでいるのは GlaxoSmithKline 社が開発した Rotarix[®]と、Merck 社が開発した RotaTeq[®]である。これらのワクチンは、いずれも弱毒生ワクチンであるが、Rotarix[®]はヒト ARV の 89-12 株 (G1P[8]) のみを用いた単価ワクチンであり、一方の RotaTeq[®]は、ウシ ARV の WC3 株に G1～G4 型の VP7 遺伝子と P[8]型の VP4 遺伝子を組み込んだ遺伝子分節組換え体ワクチンである。しかしながら、いずれのワクチンにも G9 型は含まれていないため、本ウイルスに対する有効性については未知数である。ただし、両ワクチンとも P[8]型を含んでいるため、VP4 を介した免疫により G9P[8]型 ARV に対して感染防御が期待できるものの、2005/06 及び 2007/08 シーズンのように G9P[8]型が ARV の過半数を占めるような流行において、ワクチンがどの程度有効性を示すのかは、今後の検討課題であると思われる。また、ワクチン導入にともなって G1～G4 型の感染が抑制された場合に、G9 型などそれ以外の型の ARV がどのような流行動向を示すかについても注意深く監視する必要があるだろう。