

千葉県のノロウイルスによる胃腸炎集団発生事例

-2010/2011、2011/2012、2012/2013 シーズン-

堀田千恵美、小倉 惇、仁和岳史、涌井 拓、福嶋得忍、小川知子

Outbreaks of gastroenteritis caused by Norovirus in Chiba Prefecture.

-2010/2011, 2011/2012, 2012/2013 seasons-

Chiemi HOTTA, Atsushi OGURA, Takeshi NIWA, Taku WAKUI, Tokunin FUKUSHIMA, Tomoko OGAWA

Summary

Norovirus(NoV) is the major cause of the outbreaks of gastroenteritis in the cold season. A total of 397 outbreaks of NoV gastroenteritis from September 2010 to March 2013 in Chiba Prefecture was investigated. Of these, elementary schools(25%), nurseries/kindergartens(23%) and nursing homes(23%) were the most common outbreak settings, and person-to-person(89%) contact was the common mode of transmission. NoVs were detected by RT-PCR and were genetically analyzed. Of these, 94% was caused by genogroup II(GII), 5% was caused by genogroup I(GI) and 1% was caused by both genogroups. Genotypes were identified 8 types as GI and 12 types as GII. The major genotypes were GII/2 and GII/3 in 2010/2011 season, and GII/4 in 2011/2012 and 2012/2013 seasons. About GII/4 variants, the new GII/4 Sydney 2012 was dominant in the 2012/2013 season, while GII/4 2006b and 2009a were dominant in the 2011/2012 season. The most common genotype was GII/4 in nursing homes, however, the various genotypes were detected in nurseries/kindergartens and elementary schools. This study showed that the major genotypes in each season influenced the characteristics of outbreaks. NoV molecular surveillance is important for NoV infections control and prevention.

キーワード：ノロウイルス、集団発生、遺伝子型、GII/4

Key Words : Norovirus, Outbreak, Genotyping, GII/4

はじめに

ノロウイルス (NoV) は、冬季に流行するウイルス性胃腸炎の原因ウイルスとして最も多く検出され、しばしば食中毒や施設内での胃腸炎集団発生を多く引き起こすことが知られている。

NoV は 10 個から 100 個のウイルス量で感染成立することがわかっており¹⁾、また、環境中において長期生存すること²⁾も知られている。発症者の便中には 10⁹ 個/g 前後のウイルスが排泄され³⁾、吐物にも相当量のウイルスが存在する。そのため、発症者自身の手洗い不足によって周囲を汚染し、それに触れたヒトがさらに手指を介して汚染を拡大する。特に、乳幼児や老人の施設では、感染者の介助を行った介助者の手洗い不足などによって微量の便が周囲を汚染、さらには別の施設利用者に汚染した手指のまま介助を行うことで、容易に感染が広がり、集団発生が引き起こされる。また、吐物処理がうまく行われないと、乾いた吐物が粉塵となり、汚染源となって感染が拡大する。さらに、調理従事者の手指を介して汚染された食品が原因の食中毒やカキに NoV が蓄積する^{4,5)}ことが知られていることから、カキなどの二枚貝の生食が原因の食中毒も発生している。食中毒対策はもちろん、保育施設や老人施設などの

集団生活を行う施設において感染が容易に広がりやすいことからその対策が求められており、公衆衛生上も重要度の高いウイルスである。

ヒトに感染するノロウイルスは、主に Genogroup I (GI) と Genogroup II (GII) が知られており、さらにそれぞれが複数の遺伝子型に分類される^{6,7)}。近年の NoV による胃腸炎は、さまざまな遺伝子型が集団発生の原因となっているが、その中でも GII/4 が流行の主を占めている。また、GII/4 は多くの変異株が存在することが分かっており、新しい変異株の出現と流行規模の関係があるとも言われている^{8,9)}。

今回、千葉県内での 2010 年から 2013 年までの 3 シーズンにわたって発生した NoV による胃腸炎集団事例の発生状況と検出された NoV の遺伝子型の解析を行ったので報告する。

材料と方法

1. 対象事例

2010 年 9 月から 2013 年 3 月までに千葉県内 (千葉市、船橋市および柏市は除く) で発生し、県内 13 の健康福祉センターが施設内の集団発生事例または食中毒が疑われる事例として疫学調査を実施し、NoV が検出された胃腸炎集団発生事例 397 事例を対

象とした。

9月から翌8月まで（2013年は3月まで）を1シーズンとし、3シーズン（2010/2011シーズン、2011/2012シーズン、2012/2013シーズン）に分けて解析を行った。

発生施設は、幼稚園・保育園、小学校、中学校・高校、障害者福祉施設や児童養護施設などを含む福祉施設、特別養護老人ホームやデイケアセンターなどを含む老人施設、医療機関、飲食店・旅館、社員寮などを含むその他、不明、と区分した。

推定感染経路は、直接ヒトからヒトへ感染が広がったと考えられたヒト-ヒト感染、食品（二枚貝）、食品（二枚貝以外）、不明の4つに区分した。

2. NoVの検出および解析方法

県内7つの健康福祉センター検査課でRT-PCRを実施してNoVを検出した。当室において、その増幅産物を用いたダイレクトシークエンスを実施し塩基配列を決定、系統樹解析によって遺伝子型の分類を行った。遺伝子型の解析は、1事例あたり原則1~2検体、食品の関与が疑われた事例は全検体について行った。RT-PCR法では、NoVのORF2（キャプシド領域）を対象としたGIプライマー¹⁰⁾（岡田が一部改変、未発表）とGIIプライマー¹¹⁾を用いた。

結果

1. 月別発生状況

NoVが検出された胃腸炎集団発生事例ならびに食中毒事例は3シーズンで合計397事例（2010/2011シーズンが130事例、2011/2012シーズンが132事例、2012/2013事例が135事例）であった。月別発生状況は、3シーズンとも12月から1月に流行のピークがあり、2010/2011、2011/2012シーズンは、5月から6月にかけて小規模なピークが存在した（図1）。

2. 施設別発生状況

397事例のうち、小学校98事例と最も多く、次いで幼稚園・保育園93事例、老人施設92事例、飲食店・旅館51事例と多かった。幼稚園・保育園、小学校、老人施設の集団生活を行う施設で全発生状況の3/4を占めた（表1）。

これらをシーズンごとにみると、2010/2011シーズンは幼稚園・保育園の発生が29%、小学校の発生が35%だったのに対して、老人施設での発生は4%だった。2011/2012シーズンは幼稚園・保育園が16%、小学校が23%の発生だったが、老人施設の発生は29%であった。2012/2013シーズンは、幼稚園・保育園の発生割合は25%、小学校の発生が17%だったが、老人施設での発生は36%であった（図2）。

3. 施設別推定感染経路

397事例のうち、ヒト-ヒト感染によるものは353事例で全体の89%を占めた。食品（二枚貝）による事例は9事例、食品（二枚貝以外）による事例は10事例、不明が25事例であった（表2）。幼稚園・保育園、小学校や老人施設といった集団生活を行う施設においては感染経路不明の1例を除きヒト-ヒト感染による事例であった。一方、飲食店・旅館においては食品による事例が多かった。

表1 施設別発生状況

発生施設	事例数
幼稚園・保育園	93
小学校	98
中学校・高校	17
福祉施設	21
老人施設	92
医療機関	19
飲食店・旅館	51
その他	3
不明	3
総計	397

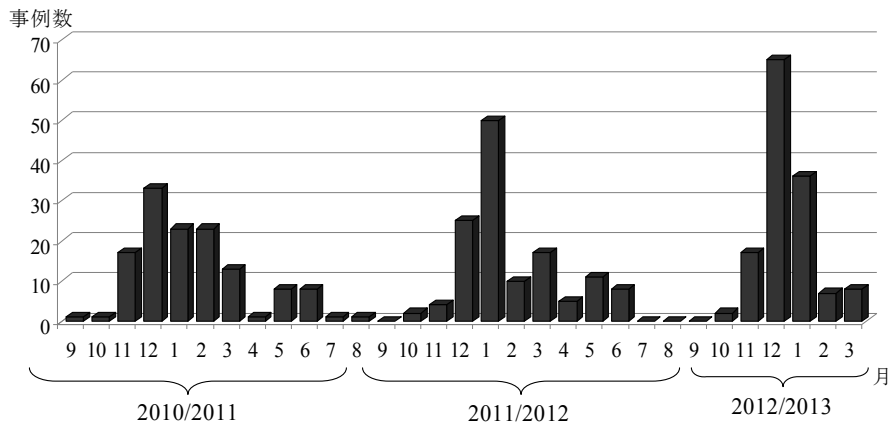


図1 月別発生状況

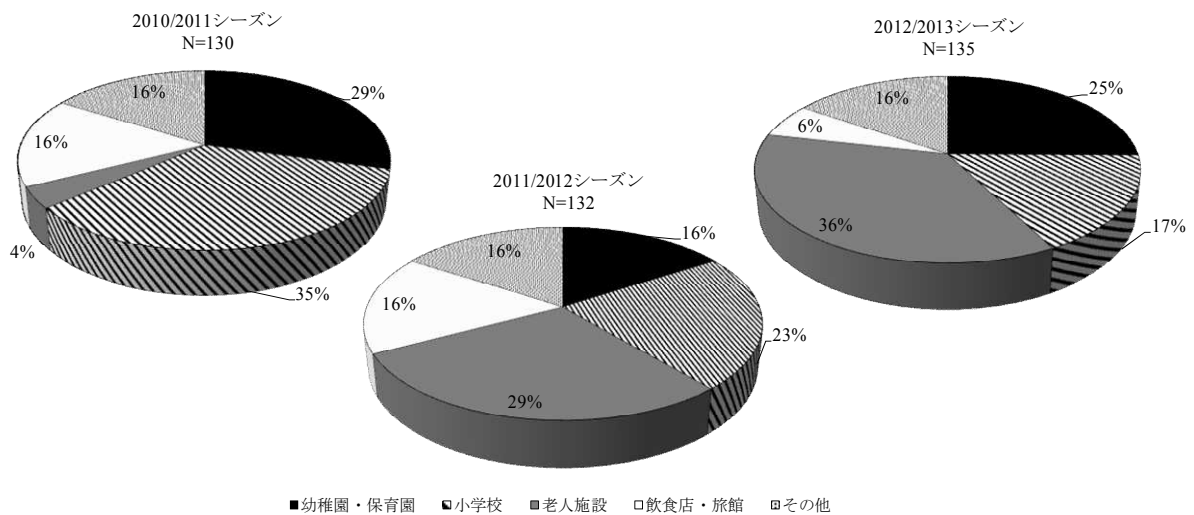


図2 シーズン別施設別発生割合

表2 施設別推定感染経路

推定感染経路	幼稚園・保育園	小学校	老人施設	飲食店・旅館	その他	総数
ヒト-ヒト	93	97	92	11	60	353
食品 (二枚貝)	0	0	0	9	0	9
食品 (二枚貝以外)	0	0	0	9	1	10
不明	0	1	0	22	2	25
総計	93	98	92	51	63	397

表3 検出された遺伝子型と数

遺伝子型	総計
GI/3	1
GI/4	2
GI/6	10
GI/7	3
GI/8	3
GI/9	2
GI/11	2
GI/14	3
GII/1	1
GII/2	64
GII/3	49
GII/4	209
GII/5	2
GII/6	7
GII/7	6
GII/11	1
GII/12	11
GII/13	33
GII/14	1
GII/15	1
総計	411

4. NoV遺伝子型の検出状況

397事例のうち、NoVGIが検出されたのが18事例(5%)、GIIが374事例(94%)、GIとGIIの両方が検出されたのが5事例(1%)であった。

表3に示したとおり、397事例から検出された遺伝子型は、のべ411個、GIは26個、GIIは385個検出され、GIは8種類、GIIは12種類に分類された。GIではGI/6が10個と最も多く、GIの中で39%を占めた。GIIは、GII/4が209個(53%)と最も多く検出され、次いでGII/2が64個(16%)、GII/3が49個(12%)、GII/13が33個(8%)検出された。3シーズンで、GII/4、GII/2、GII/3、GII/13の検出が全体の86%を占めた。

シーズンごとの検出状況は、2010/2011シーズンはGII/2が35%、GII/3が32%の検出となり、いずれの型もこのシーズンの主流であった。2011/2012シーズンはGII/4が59%と最も多く、次いでGII/13が15%の検出となった。2012/2013シーズンはGII/4の検出割合が最も高く、80%であった(図3)。

施設別では、GIは小学校で5種類、飲食店・旅館では7種類検出され、どちらもGI/6が最も多く検出された。GIIは、幼稚園・保育園で7種類、小学校で8種類、老人施設では2種類、飲食店・旅館で8種類検出された。幼稚園・保育園ではGII/4、GII/3、GII/13の順で多く検出され、小学校ではGII/2、GII/4、GII/3の順で多く検出された。飲食店・旅館ではGII/4、GII/2の順で多く検出された。これらの施設に対し、老人施設

ではGII/4の検出が98%を占めた(表4)。

5. GII/4の変異株

GII/4には多くの変異株が存在することから、変異株の検出状況をシーズンごとにみた(表5)。2010/2011シーズンは、GII/4が流行の主流ではなかったため検出数は多くなかったが、GII/4 2006bが最も多く検出された。2011/2012シーズンは、GII/4 2006bが最

も多く検出され、次いでGII/4 2009aが検出された。2012/2013シーズンでは検出された111個のうち、1個を除きGII/4 Sydney 2012であった。GII/4 Sydney 2012は、県内では2012年1月に検出されていたが、2012年の11月には主流となり、他の変異株の検出はみられなくなった。

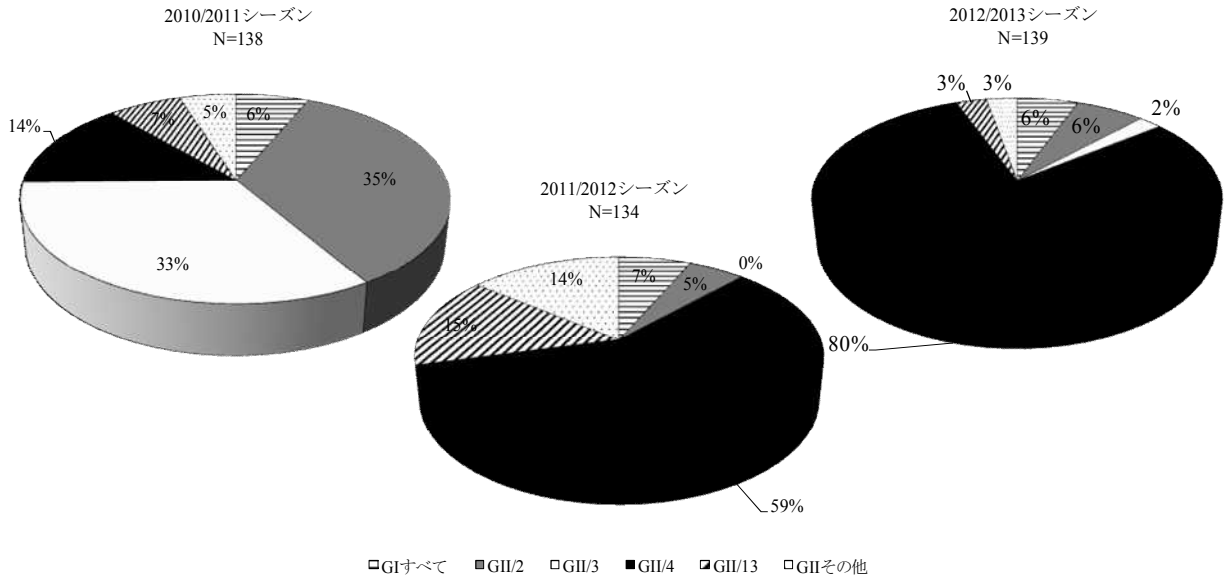


図3 シーズン別遺伝子型検出割合

表4 施設別遺伝子型検出数

遺伝子型	幼稚園・保育園	小学校	中学校・高校	福祉施設	老人施設	医療機関	飲食店・旅館	その他	不明
GI/3				1					
GI/4				1			1		
GI/6		7					3		
GI/7		2					1		
GI/8	1	1					1		
GI/9		1					1		
GI/11							2		
GI/14		1	1				1		
GII/1		1							
GII/2	13	28	4	5		1	10	1	2
GII/3	27	14		2		1	5		
GII/4	36	21	9	6	90	17	27	2	1
GII/5	1		1						
GII/6		4		1			2		
GII/7		3		1			2		
GII/11	1								
GII/12	1	4		4	2				
GII/13	14	13	2	2			2		
GII/14							1		
GII/15							1		
総計	94	100	17	23	92	19	60	3	3

表5 GII/4 変異株検出状況

GII/4 変異株	2010/2011								2011/2012								2012/2013														
	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
2006a				1																											
2006b				2	1	2			1	1			7	22	3	2															
2008a											2				4																
2008b					1								2	5	2																
2009a						1			1	1			2	7	13	3	3														
Sydney 2012															1	1	1			1						11	54	33	6	6	
その他				1	2	1	1						1	2	1		1													1	

考察

千葉県内で2010年9月から2013年3月までに発生したNoVによるウイルス性胃腸炎の集団発生事例397事例について、解析を行った。それぞれのシーズンの発生数は、2010/2011シーズンが130事例、2011/2012シーズンが132事例、2012/2013シーズンが135事例であった。3シーズンを比べると、発生数に差がないような印象だが、2012/2013シーズンは3月までの事例を対象としているため、4月以降の発生数が含まれていない。そのため、過去2シーズンで小さな発生ピークを認めた5月6月分を含む4月以降の発生数を含めると、2012/2013シーズンは他の2シーズンより発生数が多くなると推測された。

3シーズンを通して、発生ピークは12月から1月であり、これは全国的な傾向と同じである。また、2010/2011シーズンと2011/2012シーズンは5月から6月にかけて小規模なピークが存在した。2010/2011シーズンの小規模なピークは、カキや二枚貝による事例が多かったことが原因の一つと考える。同時期に全国的に岩カキによる食中毒事例が多発しており、これは、2011年3月に発生した東日本大震災の津波の影響により、被災地域の下水処理施設の破壊、海への還流による海水へのNoV汚染が原因として挙げられている¹²⁾。一方、2011/2012シーズンの5月6月の小規模ピークについては、原因が不明であった。2012/2013シーズンの4月以降の状況が不明なこともあり、2011/2012シーズンの5月6月の小規模ピークの発生が、このシーズンだけに特徴的なことなのか、それとも毎シーズン発生しているピークなのか、不明瞭である。今後、シーズンごとの比較を積み重ねることで、5月6月のピークの有無を明らかにし、原因を究明したいと考える。

施設別の発生状況では、幼稚園・保育園、小学校、老人施設を含む集団生活を行う施設における発生が多かった。推定感染経路別にみても、ヒト-ヒト感染事例が89%を占め、食品が原因と考えられる発生に比べ、はるかに多いことが改めてわかった。食品衛生上、NoVによる集団食中毒の防止は非常に重要なことだが、NoVの集団発生を抑止するためには、食中毒対策以上に施設におけるヒト-ヒト感染の防止

対策が非常に重要であることが示唆された。

今回、検出されたNoVの遺伝子型を解析し、3シーズンを通じてGIIの検出が圧倒的に多く、中でもGII/4がもっとも多く検出され、次いでGII/2、GII/3、GII/13の検出が多かった。各シーズン、流行した遺伝子型は異なったが、シーズンを通して主流となった遺伝子型が変化することはなかった。

2010/2011シーズンはGII/2やGII/3が流行し、発生施設も幼稚園・保育園や小学校といった低年齢層が利用する施設における発生が主であった。このシーズンは全国的にもGII/2の検出が多く、発生施設も低年齢層が利用する施設で目立ったとの報告^{13,14,15)}が多かったことから、この傾向は全国規模のものであったと考えられた。

2011/2012シーズンと2012/2013シーズンはGII/4が流行した。どちらのシーズンも老人施設における流行が主であった。GII/4は比較的高年齢層を中心として検出されるとの報告¹⁶⁾もあり、県内の発生状況も同様のものとなった。

GII/4には多くの変異株が存在することが知られ⁸⁾、2006/2007シーズンのNoVによる胃腸炎の大流行の際にはGII/4 2006bの出現が確認された¹⁷⁾。以降、日本においてGII/4の解析が全国的に進められるようになり、毎年のように新しい変異株が確認され、流行に関与していることが示されている⁹⁾。

今回の調査では、2011/2012シーズンと2012/2013シーズンで主流となった変異株が異なっていた。2011/2012シーズンは、GII/4 2006bやGII/4 2009aの検出が多く、すでに国内に存在した変異株の流行であった。これに対し、2012/2013シーズンは、2012年まで検出されたことのないGII/4 Sydney 2012が検出の主流となった。県内だけでなく、全国的、世界的に検出されている⁸⁾。GII/4 Sydney 2012の県内における最も早い出現は2012年1月の事例であるが、同時期に北海道などでも検出されていることが確認されており¹⁹⁾、この時期に国内に出現したものと推測される。

2012/2013シーズンは調査期間が過去2シーズンに比べ短いにもかかわらず、事例数は同数以上であったことから流行規模が大きかったことが推察さ

れた。

過去の GII/4 の変異株において、カプシド領域内の P2 ドメインを司る部分で変異が集中していたとの報告がある^{9, 20)}。P2 ドメインは、ウイルス粒子表面に露出していることから、ウイルスの抗原性に関与すると推測されている。そのため、この部分に多く変異を蓄積した株は既存の集団免疫を逃避し、社会に拡大しやすいと推察されている^{8, 17, 20)}。現時点で、GII/4 Sydney 2012 の変異がゲノム上のどの部分に起きたかは同定されていないが、この部分に変異があったことが推測される。GII/4 Sydney 2012 の出現は、ヒトの集団に対して免疫能が形成されていない新しい株であったことから、これまでの NoV に対する免疫能を保持している老人においても感染が拡大したことが本調査からも改めて示唆された。

NoV による冬季のウイルス性胃腸炎の集団発生は、集団発生が起きた施設だけの問題でなく、ノロウイルス自体の強い感染力から、大きな流行を引き起こす。そのため、NoV は公衆衛生上非常に重要なウイルスの一つである。遺伝子型の違いが流行年齢層の違いにつながることで、新しい GII/4 の変異株の出現が流行の大きさの違いにつながることで、分子疫学的解析により、流行状況を把握することは流行予測や感染拡大防止などの観点から重要である。

今回、散発例については本報告で解析をしていないが、同一地域内の散発例と集団発生事例から検出されたウイルスは、解析した遺伝子配列の領域内で 100%一致、またはほぼ一致し、地域流行株と集団発生事例由来ウイルスは関連性があるとの報告もある^{21, 22)}。夏場や流行初期の散発例の解析を随時行うことは、集団発生のリスクが高い施設や行政に対して、有意義な情報提供につながる可能性が高い。

また、流行期に可能な限り分子疫学的解析を実施することで、流行中のウイルスの動向の把握し、即時的な流行状況の把握につながると考えられる。

今後も流行株の検討、さらなる情報の集積に努め、適切な情報提供が重要であると考えられた。

本調査にあたり、検体採取ならびに NoV の検出を行った千葉県各健康福祉センター検査課のみならずならびに関係各位に深謝いたします。

また、本調査は大同生命厚生事業団「地域保健福祉研究助成」によって行われた研究成果の一部である。

参考文献

- 1) Glass, I. R., Noel, J., Ando, T., Fankhauser, R., Belliot, G., Mounts, A. :The epidemiology of enteric Caliciviruses from humans: A reassessment using new diagnostics, *J. Infect. Dis.*, 181, S254-S261(2000).
- 2) Doultree, J. C., Druce, J. D., Birch, C. J., Bowden, D. S., Marshall, J. A. :Inactivation of feline calicivirus, a Norwalk virus surrogate, *J. Hosp. Infect.*, 41, 51-57(1999).
- 3) Ozawa, K., Oka, T., Takeda, N., Hansman, G.S. :Norovirus infections in symptomatic and asymptomatic food handlers in Japan., *J. Clin. Microbiol.*, 45, 3996-4005(2007).
- 4) Maalouf, H., Zakhour, M., Le Pendu, J., Le Saux, J. C., Atmar, R. L., Le Gunder, F, S. :Distribution in tissue and seasonal variation of Norovirus genogroup I and II ligands in oysters, *Appl. Environ. Microbiol.*, 76, 5621-5630(2010).
- 5) Maalouf, H., Schaeffer, J., Parnaudeau, S., Le Pendu, J., Atmar, R. L., Crawford, S. E., et al. :Strain-dependent Norovirus bioaccumulation in oysters, *Appl. Environ. Microbiol.*, 77, 3189-3196(2011).
- 6) Zheng, D.P., Ando, T., Fankhauser, R.L., Beard, S.R., Glass, I.R., Monroe, S.S. :Norovirus classification and proposed strain nomenclature., *Virology*, 346, 312-322(2006).
- 7) Hansman, G.S., Natori, K., Shirato-Horikoshi, H., Ogawa, S., Oka, T., Katayama, K., et al. :Genetic and antigenic diversity among noroviruses., *J. Gen. Virol.*, 87, 909-010(2006).
- 8) Siebenga, J. J., Vennema, H., Renckens, B., de Bruin, E., van der Veer, B., Siezen, R. J., et al. :Epochal evolution of GGII.4 Norovirus capsid proteins from 1995 to 2006, *J. Virol.*, 81, 9932-9941(2007).
- 9) 本村和嗣, 横山勝, 岡智一郎, 片山和彦, 野田衛, 田中智之, 他 :ノロウイルスのゲノム解析と流行発生のしくみ, *感染症誌*, 86, 563-568(2012).
- 10) Kobayashi, S., Sakae, K., Suzuki, Y., Ishiko, H., Kamata, K., Suzuki, K., et al. :Expression of recombinant capsid proteins of Chitta virus, a genogroup II Norwalk virus, and development of an ELISA to detect the viral antigen, *Microbiol. Immunol.*, 44, 687-693(2000).
- 11) Okada, M., Ogawa, T., Kaiho, I., Shinozaki, K. :Genetic analysis of Noroviruses in Chiba Prefecture, Japan, between 1999 and 2004, *J. Clin. Microbiol.*, 43, 4391-4401(2005).
- 12) 野田衛, 上間匡, 片山和彦, 岡智一郎, 山下和予, 岡部信彦, 他 :食品媒介事例を中心としたノロウイルス、サポウイルスノ塩基配列情報および疫学情報の共有化の取り組み, 病原微生物

- 情報(IASR), 32, 354-355(2011).
- 13) 植木 洋, 高橋由理, 鈴木優子, 阿部美和, 佐藤由紀, 沖村容子 : 2010年度に県内で集団発生した感染性胃腸炎事例から検出されたノロウイルスの遺伝子型—宮城県, 病原微生物情報(IASR), 32, 173-174(2011).
 - 14) 吉澄志磨, 後藤明子, 石田勢津子 : ノロウイルスによる胃腸炎集団発生について—北海道, 2010/2011シーズン—, 北海道立衛生研究所報, 61, 29-37(2011).
 - 15) 米田正樹, 浦西洋輔, 井上ゆみ子, 岡山明子, 北堀吉映 : 奈良県におけるノロウイルス胃腸炎集団発生について—2005/2006~2010/2011シーズン—, 奈良県保健環境研究センター年報, 46, 65-67(2011).
 - 16) 吉澄志磨, 三好正浩, 池田徹也, 石田勢津子, 奥井澄代, 岡野素彦, 他 : 高齢者施設におけるノロウイルス集団感染事例の発生状況—北海道, 病原微生物情報(IASR), 26, 331-332(2005).
 - 17) Motmormura, K., Oka, T., Yokoyama, M., Nakamura, H., Mori, H., Ode, H., et al. : Identification of monomorphic and divergent haplotypes in the 2006-2007 Norovirus GII/4 epidemic population by genomewide tracing of evolutionary history, J. Virol., 82, 11247-11262(2008).
 - 18) van Beek, J., Ambert-Balay, K., Botteldoorn, N., Eden, J.S., Fonager, J., Hewitt, J., et al. : Indications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012, Eurosurveillance, 8-9(2013).
 - 19) 田村務, 渡邊香奈子, 田澤崇, 渡部香, 広川智香, 吉澄志磨, 他 : 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, 病原微生物情報(IASR), 33, 333-334(2012).
 - 20) Motmormura, K., Yokoyama, M., Ode, H., Nakamura, H., Mori, H., Kanda, T., et al. : Divergent evolution of Norovirus GII/4 by genome recombination from May 2006 to February 2009 in Japan, J. Virol., 84, 8085-8097(2010).
 - 21) 山下育孝, 豊嶋千俊, 近藤玲子, 大瀬戸光明, 井上博雄, 愛木智香子, 他 : 散発性胃腸炎と胃腸炎集団発生からのノロウイルス検出状況—愛媛県, 病原微生物情報(IASR), 26, 327-329(2005).
 - 22) 江藤良樹, 世良暢之, 石橋哲也, 千々和勝己 : 過去3シーズンに検出されたノロウイルスの遺伝子型について, 福岡県保健環境研究所年報, 34, 61-66(2007).