

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（2013/2014シーズン）—

藤原香代子, 藤井理津志, 濱野雅子, 磯田美穂子, 松岡保博, 井上 勝, 濃野 信, 金谷誠久

【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(2013/2014 シーズン)－
Epidemiological Studies on Viruses Causing Gastroenteritis in Okayama
－ Surveillance of Rotavirus A from Sporadic Gastroenteritis in Okayama Prefecture(2013-2014) －

藤原香代子, 藤井理津志, 濱野雅子, 磯田美穂子, 松岡保博, 井上 勝¹, 濃野 信²,
金谷誠久³ (ウイルス科)

¹岡山赤十字病院小児科, ²のうの小児科, ³国立病院岡山医療センター小児科
Kayoko Fujiwara, Ritsushi Fujii, Masako Hamano, Mihoko Isoda, Yasuhiro Matsuoka,
Masaru Inoue, Shin Nouno, Tomohisa Kanadani
(Virology Section)

¹Department of Pediatrics, Okayama Red-Cross Hospital,

²Nouno Pediatric Clinic,

³Department of Pediatrics, National Hospital Organization Okayama Medical Center

要 旨

2013/2014 シーズン(2013年9月～2014年8月)の散発胃腸炎患者ふん便 698 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 の検索を行い、陽性となった 95 件について、逆転写 PCR 法により G 型別と P 型別を実施した。その結果、95 件すべてでロタウイルス A 遺伝子が確認された。ロタウイルス A の検出時期は 2014 年 1 月～7 月で、検出のピークは 3 月～5 月であった。年齢別では、1 歳の 32 件(33.7%)が最も多かった。G 型別は 94 件で判定可能であり、内訳は G1 が 59 件、G2 が 30 件、G3 及び G9 が 2 件、G1 と G2 の混合感染が 1 件であった。P 型別は 66 件で判定可能であり、内訳は P[8] が 64 件、P[4] が 2 件であった。G1P[8] と判定された 59 件について、従来株であるか遺伝子再集合体由来株であるかについて簡易的な鑑別を行った結果、鑑別可能であった全株が遺伝子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, 遺伝子再集合体, ワクチン]

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

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、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)遺伝子型及び P(Protease sensitive の略号)遺伝子型に分類される¹⁾。現在までに、G 遺伝子型については G1～G27, P 遺伝子型については P[1]～P[35]がそれぞれ確認されており²⁾、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が、そのうちヒトから検出される頻度が高いのは、G1P[8], G2P[4], G3P[8],

G4P[8], 及び G9P[8]である^{1), 3)}。

RVA は小児のウイルス性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⁴⁾。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[®](グラクソ・スミスクライン社製)、及びヒト RVA の G1～G4 の VP7 遺伝子と P[8] 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 価ワクチンである RotaTeq[®](メルク社製)が知られている。我が国においては Rotarix[®]が 2011 年 7 月に、

RotaTeq[®]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、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推移^{5)~7)}や、遺伝子再集合体RVAの県内侵入⁸⁾等を明らかにしてきた。特に2011/2012シーズンに県内侵入が確認された遺伝子再集合体RVAは、異なるゲノムグループ間(G1型プロトタイプであるWaゲノムグループとG2型プロトタイプであるDS-1ゲノムグループ)の遺伝子再集合体由来の株であった。すなわちこの株は、VP7及びVP4遺伝子型はWa株と同じG1P[8]であるが、VP6、NSP4及びNSP5/6遺伝子型がDS-1株と同一であった。これまでの結果を踏まえて、2013/2014シーズン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流行状況についてワクチンの影響等を解析した。

2 対象と方法

2.1 対象

2013年9月～2014年8月(毎年9月～翌年8月を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歳～28歳)ふん便698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、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⁹⁾の方法による逆転写PCR(以下「RT-PCR」という。)法でG遺伝子型別を、Wuら¹⁰⁾の方法によるRT-PCR法でP遺伝子型別を実施した。さらにG1P[8]と判定された株については、遺伝子再集合体由来の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⁸⁾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、遺伝子再集合体由来型(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698件のうち、スクリーニングで陽性となった95件すべてで、RT-PCR法によりウイルス遺伝子が確認され、RVA検出率は、13.6%であった。

月別の検査検体数とRVA検出率を図1に示す。RVAは2014年1月～7月の間、毎月検出され、検出率は、3月(35.9%:33/92)、4月(28.9%:26/90)、5月(22.4%:22/98)の順で高かった。

RVA遺伝子が検出された95件のうち、年齢不明例を

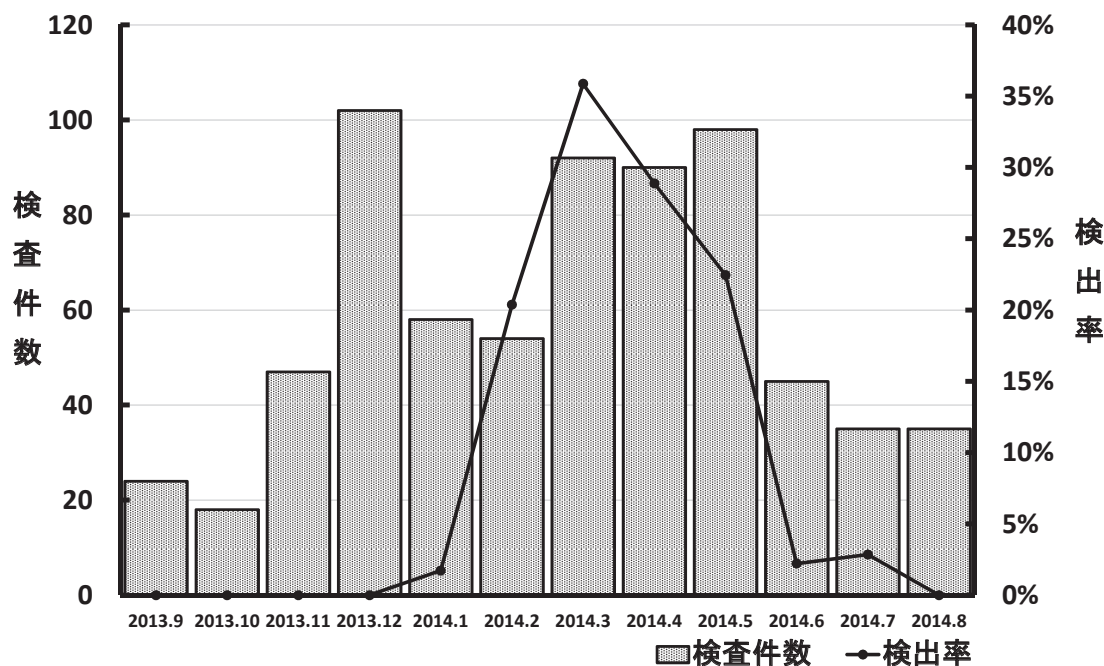


図1 月別ロタウイルス検査状況(2013/14シーズン)

除いた66件の患者年齢は0歳～10歳であり、1歳(32件:33.7%)が最も多く、3歳(11件:11.6%)、2歳(7件:7.4%)と続いた。

3.2 G 遺伝子型及び P 遺伝子型の解析

RVA 遺伝子が確認された95件のうち、94件でG遺伝子型が、66件でP遺伝子型が判定可能であった。各G遺伝子型の検出状況は、G1が59件(62.8%)と最も多く、次いでG2が30件(31.9%)、G3及びG9が各2件(2.1%)、G1とG2の混合感染例が1件(1.1%)であった。

各G遺伝子型の月別検出状況を表1に示す。G1は、2月～7月の間に検出され、3月～5月がピークであった。G2は、2月～5月の間に検出され、2月と3月がピークであった。

各G遺伝子型の年齢別検出状況を表2に示す。G1は、不明例を除く検出年齢は0歳～10歳で、特に1歳の検出が多かった。G2は、不明例を除く検出年齢は0歳～3歳及び8歳であった。

P 遺伝子型が判定可能であった66件の内訳は、P[8]

が64件(97.0%)、P[4]が2件(3.0%)であった。G 遺伝子型及びP 遺伝子型の両遺伝子型が検出された65件の内訳は、G1P[8]が59件(90.7%)と最も多く、G2P[4]、G3P[8]及びG9P[8]が各2件(3.1%)であった。

3.3 G1P[8] の遺伝子再集合体由来株解析

G1P[8]と同定された59件のうち、58件でNSP4及びNSP5/6 遺伝子のPCR産物が得られた。PCR産物サイズの比較を行ったところ、全てNSP4 < NSP5/6となり、G1P[8]と同定された全ての株が遺伝子再集合体由来株と推定された。

4 考察

2013/2014シーズンの岡山県内におけるRVAの流行は、3月～5月をピークとするG1P[8]を主流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遺伝子型であり、県内では2011/2012シーズン後半から検出割合が増加した⁸⁾。

RVA 検出率は、ワクチン導入前の7シーズン

表1 各G 遺伝子型の月別検出状況

遺伝子型	採取月											計 (%)	
	2013.09	2013.10	2013.11	2013.12	2014.01	2014.02	2014.03	2014.04	2014.05	2014.06	2014.07		2014.08
G1						3	19	20	15	1	1		59 (62.8)
G2						8	12	5	5				30 (31.9)
G3							2						2 (2.1)
G9					1				1				2 (2.1)
混合型								1					1 (1.1)
計					1	11	33	26	21	1	1		94

表2 各G 遺伝子型の年齢別検出状況

遺伝子型	年齢(歳)											計 (%)
	0	1	2	3	4	5	6	8	10	不明		
G1	4	21	2	6	4	1	2	1	1	17	59	
G2	1	8	5	5				1		10	30	
G3										2	2	
G9	1	1									2	
混合型			1								1	
計 (%)	6 (6.4)	31 (33.0)	7 (7.4)	11 (11.7)	4 (4.3)	1 (1.1)	2 (2.1)	2 (2.1)	1 (1.1)	29 (30.8)	94	

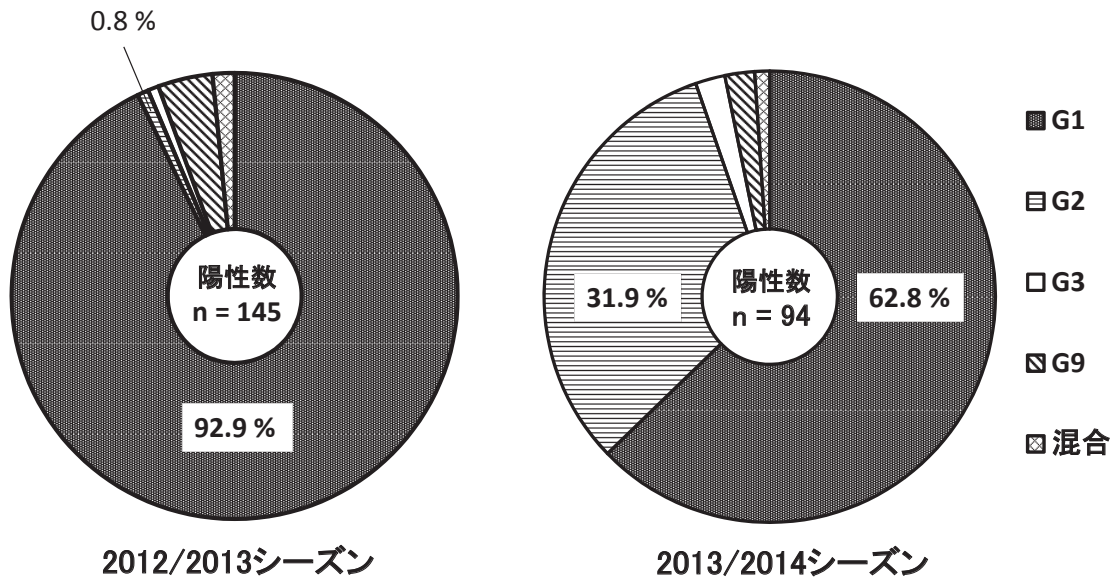


図2 G遺伝子型別検出状況の比較

(2004/2005 シーズン～2010/2011 シーズン)において20.4%～30.1%の範囲であり、いずれのシーズンも20%以上で推移していた^{6),7)}。これに対して、2013/2014シーズンの検出率は13.6%と低く、ワクチン導入による影響の可能性が考えられた。

2013/2014 シーズンと2012/2013 シーズンの各G遺伝子型検出状況の比較を図2に示す。主流行型は両シーズンともにG1であったが、2013/2014シーズンは、G1の割合が2012/2013シーズンと比較して低下した一方で、2012/2013シーズンにはほとんど検出されなかったG2の割合が大きく上昇した。既にワクチンを導入しているブラジル等においては、単価のワクチンによってG1が抑制された結果、血清型シフトが起こりG2の検出割合が上昇したと報告^{11), 12)}されており、県内でも同様の現象が発生した可能性が考えられた。一方、県内における過去のG2検出割合を見ると、2000/2001シーズンは最多の47.0%、2006/2007シーズンはG1に次ぐ32.6%と、他のシーズンと比べてG2検出割合が高いシーズンが存在し^{5), 6)}、2013/2014シーズンのG2の増加は自然変動の範囲内である可能性も考えられた。

G1P[8]の遺伝子再集合体由来株は、2011/2012シーズンに県内で初めて存在が確認されて以降⁸⁾、2012/2013シーズンはG1P[8]の3割を占めていた¹³⁾が、2013/2014シーズンでは検出されたすべての株が遺伝子再集合体由来株と推定された。これにより、従来遺伝的に不安定と

考えられてきた遺伝子再集合体由来株が3シーズン連続で流行したこととなり、新たな流行株として県内に定着した可能性が考えられた。

今後もワクチン導入によるRVA流行状況に対する影響を検証していくために、検出率の動向及び遺伝子再集合体由来株を含めたRVA流行株の推移について、長期的にわたる注意深いモニタリングが必要と考えられる。

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., 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 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) 中込治, 中込とよ子: ワクチンによるロタウイルスの感染制御, ウイルス, 60: 33-48, 2010
 - 5) 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志, 小倉肇, 金谷誠久, 実村信: 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, 26, 4-6, 2005
 - 6) 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 群ロタウイルスの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
 - 7) 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
 - 8) 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
 - 9) Gouvea V., Glass, R.L., 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
 - 10) 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
 - 11) Correia JB, Patel MM, Nakagomi O, Montenegro FM, Germano EM, Correia NB, Cuevas LE, Parashar UD, Cunliffe NA, Nakagomi T. Effectiveness of Monovalent Rotavirus Vaccine (Rotarix) against Severe Diarrhea Caused by Serotypically Unrelated G2P[4] Strains in Brazil. *J Infect Dis*. 201 : 363-369, 2010
 - 12) Nakagomi T, Cuevas LE, Gurgel RG, Elrokhsi SH, Belkhir YA, Abugalia M, Dove W, Montenegro FM, Correia JB, Nakagomi O, Cunliffe NA, Hart CA. Apparent extinction of non-G2 rotavirus strains from circulation in Recife, Brazil, after the introduction of rotavirus vaccine. *Arch Virol* 153 : 591-593, 2008
 - 13) 濱野雅子, 藤井理津志, 木田浩司, 葛谷光隆, 橋原幸二, 井上勝, 濃野信, 金谷誠久: 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), 岡山県環境保健センター年報, 38, 55-58, 2014

