

1999～2006年に山梨県で検出された ヒトロタウイルスについて

山上隆也 大屋とし子* 小澤 茂 原 俊吉

Analysis of Human Rotaviruses Detected in Yamanashi Prefecture
from 1999 to 2006

Takaya YAMAGAMI, Toshiko OYA, Shigeru OZAWA and Shunkichi HARA

キーワード：A群ロタウイルス，C群ロタウイルス，G血清型，遺伝子解析

ヒトロタウイルスは下痢症の起因ウイルスとして知られ、大きくA～C群に分類される。わが国での検出例はほとんどがA群ロタウイルス（以下、ARV）であり、C群ロタウイルス（CRV）も散見されるがB群は検出されていない。ウイルス性下痢症は12～4月に多発し、その起因ウイルスは主にARVとノロウイルスである¹⁾。ARVは外殻糖蛋白（VP7）の抗原性により14種類のG血清型に分類され、なかでもG1が最も多く検出されているが²⁾、近年ではG1が減少するなど流行型が変化してきている。ARVの感染防御免疫はG血清型に特異的であり、ARVの流行型はシーズンや地域によって異なる^{2,3)}ことから、G血清型の推移を監視することは流行予防対策として重要である。

CRVはARVに比較すると検出報告数は少ないものの、学校などにおける集団下痢症の報告も散見される⁴⁾。最近ではCRVの検出報告数が増加してきており、今後の流行拡大が懸念されている。CRVはVP7領域を標識する遺伝子塩基配列から大きく3つのクラスターに分類され、特定のクラスターごとに数年単位で流行を繰り返している可能性が示唆されている⁵⁾。しかし、CRVの検出例はあまり多くはないことから、さらに多くの症例について詳細に解析することが必要である。

今回、筆者らは山梨県におけるARV、CRVの流行の実態を把握するため、2003年10月以降に採取された胃腸炎患者の糞便からARV、CRVを検索し、検出されたARVについてG血清型別を、CRVについては遺伝子塩基配列を決定した。本稿ではこれらの結果について、既に報告した1999年9月～2003年9月までの結

果^{6,7)}を含めて解析したので報告する。

対象と方法

1. 検査対象

1999年9月～2006年8月に採取された感染性胃腸炎患者の糞便303検体を対象とした。冬期を中心に9月～翌年8月までを1シーズンとして合計7シーズンの流行について解析した。

2. ARVの検出とG血清型別法

イムノクロマト法によるARV抗原検出キット「イムノカードSTロタウイルス」(TFB)もしくは「ラピッドテスト ロタ・アデノ」(第一化学薬品)により実施した。ARV抗原陽性検体については市販のモノクローナル抗体セット「ロタMA」(セロテック)を用いたELISA法⁸⁾でG1～4に型別した。型別不能例についてはGouveaら⁹⁾のRT-PCR法でARV遺伝子のVP7領域を増幅して、その増幅産物の大きさの違いからG1～4, 8, 9に型別した。

3. CRVの検出と遺伝子解析法

逆受身赤血球凝集(RPHA)法¹⁰⁾による市販試薬(デンカ生研)をもちいてCRV抗原を検出した。RPHA法は凝集価16倍以上を陽性としたが、16倍未満についてはウイルス量が少ないことも考えられるためRT-PCR法¹¹⁾による遺伝子検出を実施した。CRV抗原陽性検体についてはKuzuyaら¹¹⁾の方法によりRT-PCR法でCRV遺伝子のVP7領域を増幅した。得られたPCR産物約1,000bpの塩基配列を決定し、日本DNAデー

*：県立中央病院

タバンク (DDBJ) に公開された CRV の塩基配列と比較して解析した。解析には DDBJ ホームページから BLAST, CLUSTALW を使用した。

結 果

1. ARV の検出結果と G 血清型別結果

ARV は 99/00 シーズンに 18 件中 4 件, 00/01 シーズンに 8 件中 1 件, 01/02 シーズンに 93 件中 24 件, 02/03 シーズンに 80 件中 18 件, 03/04 シーズンに 39 件中 9 件, 04/05 シーズンに 35 件中 11 件, 05/06 シーズンに 30 件中 11 件, 合計 78 件検出された。検出時期は 3 月の 25 件が最も多く, 全体の 90% が 2 ~ 5 月に検出された (図 1)。

検出された ARV のうち, 検体量不足を除く 63 件についての G 血清型別結果を表に示した。G3 が 27 件と最も多く, 次いで G1 が 24 件であった。G2 は 3 件, G4 は 4 件, G9 は 1 件, 型別不能は 4 件であった。

2. CRV の検出結果と遺伝子解析結果

CRV は 2006 年 3 月に計 4 件検出された。検出された 4 件 (株名: OG01, OG03, OG07, OG08) の VP7

図 1 A 群ロタウイルスの月別検出数

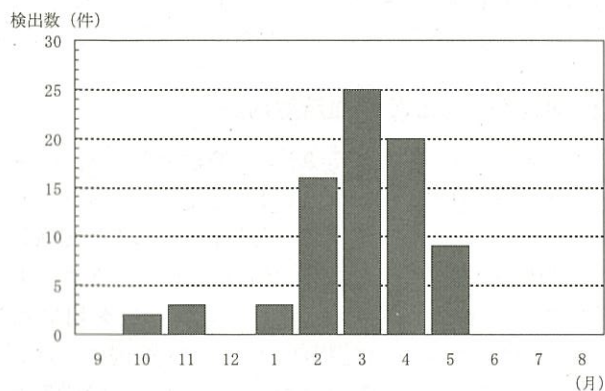


表 シーズン別 A 群ロタウイルス G 血清型の推移

シーズン	G血清型						計
	G1	G2	G3	G4	G9	型別不能	
99/00	1	2			1		4
00/01	1						1
01/02	4	1	10				15
02/03	9		6			1	16
03/04			5			2	7
04/05	3	1	1	4		1	9
05/06	6		5				11
計	24	3	27	4	1	4	63
(%)	(38.1)	(4.8)	(42.9)	(6.3)	(1.6)	(6.3)	

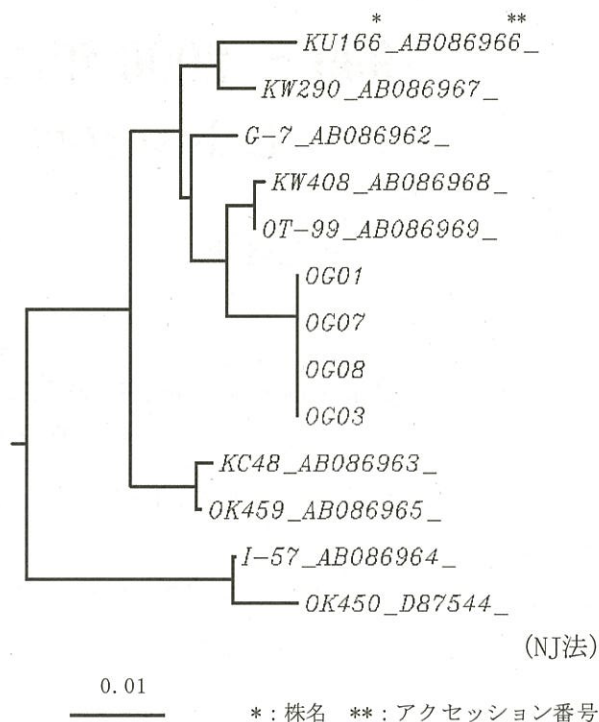


図 2 C 群ロタウイルスの遺伝子系統解析結果

領域の塩基配列相同性は 100% であり, 相同塩基配列を BLAST で検索した結果, 1999 年に岡山県で検出された OT-99 株 (アクセッション番号 AB 086969)¹²⁾ と最も近縁で, 塩基配列相同性は 99% であった (図 2)。

考 察

ARV の検出時期は 1979~84 年ごろまでは例年 1 月がピークであったが, その後は遅くなる傾向にあり, 99/00 シーズン以降は毎年 3 月がピークとなっている³⁾。今回も ARV の検出数は 3 月にピークを示し, 同様の結果であった。ARV の流行は平均気温の変動と関連していることが示唆されており¹³⁾, ARV の流行時期が後退してきていることは気候などの環境要因の変化が関与している可能性が推測された。

国内で検出された ARV の G 血清型別調査結果によると, 1990 年代には G1 が 80~90% を占めていたがその後急速に減少し, 2002 年以降は G3, G4 の検出報告数が増加してきている³⁾。今回の成績からも G3 の増加傾向がみられ, 近年の山梨県では G1 と G3 が主流型であったことが明らかとなった。99/00 シーズンには G2, G9 が検出されたが, 同時期に県内の老人施設で G2 の集団感染事例が発生している¹⁴⁾。近年では G2, G9 の大きな流行はみられていないことから抗体保有率は低いことが推察され, G2, G9 の流行拡大が懸念さ

れた。しかしその後は、01/02シーズンにG2が1件検出されたのみであり、検出数の増加はみられなかった。04/05シーズンにはG4が検出されたが、全国的に03/04シーズン以降G4の検出数が増加してきている。このように、近年ARVの流行型には変化がみられてきており、検出数の少なかった型が増加すれば大きな流行となることが予測される。今後も引き続きG血清型の動向を調査していくことが重要であると考えられた。

CRVは1988年に集団下痢症事例から検出⁴⁾されて以来、散発的な下痢症にも関与していることが明らかとなってきた。平成9年にRPHA法による検出試薬¹⁰⁾が市販されてからは検出報告数が増加してきている。当所でもRPHA法による検査を以前から実施してきたが、CRVの検出例は今回が初めてであった。05/06シーズンにはCRVの集団発生事例が各地から多数報告されてきており、2006年2月に島根県¹⁵⁾、岩手県¹⁶⁾、3月に大阪府¹⁷⁾で発生している。今後は集団下痢症発生時のウイルス検査にノロウイルス、ARVだけではなくCRVも検査項目に含めることが必要と考えられた。

今回検出されたCRVは1999年に検出されたOT-99株¹²⁾と最も近縁であったが、2005年に神奈川県¹⁸⁾、2006年に岩手県¹⁶⁾、大阪府¹⁷⁾で検出された株は1996年に検出されたKW 290株(AB 086967)と近縁であった。これらのことから、山梨県では他地域とは異なる遺伝子型が流行していたこと、過去の流行株が近年でも引き続いて流行していたことが示唆された。遺伝子のクラスター分類が流行年と関連しているという知見⁵⁾については、今回は検出数が少なく明らかな傾向は認められなかった。CRVの流行実態を把握するためには継続した調査が必要と思われ、今後も実施していく予定である。

文 献

- 1) 国立感染症研究所：小児のウイルス性胃腸炎 1993～1998, 病原微生物検出情報 (月報), **19**, 248～249 (1998)
- 2) Yumei, Z. et al. : Serotypes of Human Rotaviruses in 7 Regions of Japan from 1984 to 1997, *Kansenshogaku Zasshi*, **73**, 35～42 (1998)
- 3) 国立感染症研究所：ロタウイルス 2004年現在, 病原微生物検出情報 (月報), **26**, 1～3 (2005)
- 4) Matsumoto, K. et al. : An Outbreak of Gastroenteritis Associated with Acute Rotaviral Infection in Schoolchildren, *J. Infect. Dis.*, **160**, 611～615 (1989)
- 5) 葛谷光隆ら：集団および散発性胃腸炎由来ヒトC群ロタウイルス株の遺伝子解析, 岡山環境センター年報, **25**, 53～67 (2000)
- 6) 山上隆也ら：1999/2000年冬季に山梨県で発生したウイルス性胃腸炎について, 山梨衛公研年報, **43**, 38～41 (1999)
- 7) 山上隆也ら：最近2年間に小児から検出された下痢症ウイルスについて—A群ロタウイルスのG血清型別結果—, 山梨中病年報, **30**, 80～81 (2003)
- 8) Taniguchi, K. et al. : Direct Serotyping of Human Rotavirus in Stools by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using Serotype 1-, 2-, 3-, and 4-Specific Monoclonal Antibodies to VP7, *J. Infect. Dis.*, **155**, 1159～1166 (1987)
- 9) Gouvea, V. et al. : Polymerase Chain Reaction Amplification and Typing of Rotavirus Nucleic Acid from Stool Specimens, *J. Clin. Microbiol.*, **28**, 276～282 (1990)
- 10) Kuzuya, M. et al. : Rapid Detection of Human Group C Rotaviruses by Reverse Passive Hemagglutination and Latex Agglutination Tests Using Monoclonal Antibodies, *J. Clin. Microbiol.*, **31**, 1308～1311 (1993)
- 11) Kuzuya, M. et al. : Molecular Analysis of Outer Capsid Glycoprotein (VP7) Genes from Two Isolates of Human Group C Rotavirus with Different Genome Electropherotypes, *J. Clin. Microbiol.*, **34**, 3185～3189 (1996)
- 12) 葛谷光隆ら：岡山県内で初めて確認されたヒトC群ロタウイルスによる集団胃腸炎事例, 岡山環境センター年報, **24**, 55～59 (1999)
- 13) Kawamoto, H. et al. : Serotype Analysis of Group A Human Rotavirus Related to Acute Gastroenteritis in Winter in Gifu City, *Microbiol. Immunol.*, **34**, 675～681 (1990)
- 14) 浅川洋美ら：老人保健施設におけるA群ロタウイルス胃腸炎の集団発生, 山梨衛公研年報, **44**, 41～43 (2000)
- 15) 飯塚節子ら：小学校でのC群ロタウイルスによる集団感染事例—島根県, 病原微生物検出情報 (月報), **27**, 121～122 (2006)
- 16) 高橋朱実ら：C群ロタウイルスによる胃腸炎の集団発生事例—岩手県, 病原微生物検出情報 (月報), **27**, 153～154 (2006)
- 17) 左近直美ら：大阪府におけるC群ロタウイルスによる集団胃腸炎の発生—大阪府, 病原微生物検出情報 (月報), **27**, 154～155 (2006)
- 18) 宮原香代子ら：神奈川県で発生したヒトC群ロタウイルスによる集団事例胃腸炎事例, 感染症誌 (臨時増刊号), **80**, 241 (2006)