

資料

## 患者糞便中に排泄されるノロウイルス遺伝子量の遺伝子型による 差異と吐物中に排泄される遺伝子量

福田 伸治, 重本 直樹, 谷澤 由枝, 妹尾 正登

### Fecal Viral Loads in Patients by Norovirus Genotypes and Norovirus Genomes Shedding in Vomitus

SHINJI FUKUDA, NAOKI SHIGEMOTO, YUKIE TANIZAWA and MASATO SENO

(Received Oct. 1, 2009)

患者糞便中に排泄されるノロウイルス遺伝子量は遺伝子型による差が認められた。最近のノロウイルス感染性胃腸炎の主要な原因である GII.4 は他の遺伝子型に比し、排泄量が多い傾向を示した。また、遺伝子グループ (G) 別では GII は GI に比し排泄量が多い傾向を示した。さらに、嘔吐物中の排泄量は糞便よりは少ないものの、感染性胃腸炎を発症させるのに十分なノロウイルスが排泄されていることが確認された。

Key words : ノロウイルス, 遺伝子グループ, 集団感染, コピー数

#### 緒 言

カリシウイルス科に属するノロウイルス (NoV) には 5 遺伝子グループ (GI, GII, GIII, GIV および GV) が存在し、そのうちヒトの感染性胃腸炎の原因となる NoV は GI, GII および GIV に属している [1]。さらに、これらの遺伝子グループには多くの遺伝子型が存在している。最近の感染性胃腸炎は遺伝子型 GII.4 が流行の主流を占めているが [2]、過去の NoV 集団感染性胃腸炎の原因となった遺伝子型はさまざまである [3]。

NoV は胃腸炎を主徴とし、糞便中にウイルスが排泄されることから、糞便中の NoV 遺伝子量の挙動に関する研究がいくつか見られる。これらの研究から、患者糞便中に排泄される NoV 遺伝子量は GI に比し GII が多いこと [4, 5]、集団感染事例における発症者および非発症者の糞便中に排泄される NoV 遺伝子量に違いがないこと [6]、食中毒事例における調理従事者は無症状であるにもかかわらず大量の NoV を糞便中に排泄していること [5]、発症後長期間にわたり NoV が排泄されること [7-11]、1 歳以下、特に 6 ヶ月以下の乳児は長期間にわたり糞便中に NoV を排泄し続けること [12]、近年 NoV の原因の多くを占める GII.4 はそれ以外の遺伝子型に比し排泄される NoV 量が多い傾向にあること [13] が明らかにされている。

しかしながら、糞便中に排泄される NoV 量を遺伝子型別に検討した報告は見られない。ここでは、集団感染事例の患者糞便中に排泄される遺伝子量を遺伝子型別に

検討するとともに、吐物中に排泄される NoV 遺伝子量について検討した。

#### 材料および方法

2004 年 2 月から 2009 年 3 月に発生した 31 集団感染事例 (10 遺伝子型) から得られた 131 糞便および 10 吐物を対象に、リアルタイム PCR 法により NoV 遺伝子量を測定した。先に報告 [14] したように、10%糞便乳剤 140 $\mu$ l から QIAamp viral RNA mini kit (キアゲン) を用いて RNA を抽出し、逆転写反応により得られた cDNA を用いて、TaqMan プローブ法により NoV 遺伝子量を測定した。遺伝子型別は Kageyama ら [3] およびノロウイルスの遺伝子型 (Capsid N/S region に基づく遺伝子型, <http://idsc.nih.gov/pathogen/refer/norokaisetu1.html>) に従って行った。

#### 結 果

31 集団感染事例の原因となった遺伝子型は GII.1, GI.4, GI.8, GII.1, GII.2, GII.3, GII.4, GII.6, GII.13 および GII.18 であった。全ての遺伝子型において  $10^7$ /g (中央値) 以上の遺伝子が糞便中に排泄されていることが確認されたが、糞便中に排泄される NoV 遺伝子量は遺伝子型により差が認められた (図 1, 表 1)。GII.18 の排泄量が最も多く、次いで GII.4 であった。GII.18 および GII.4 の排泄遺伝子量の中央値はそれぞれ  $8.0 \times 10^9$ /g および  $1.7 \times 10^9$ /g であったが、最大値は GII.18 が 1.7

$\times 10^{10}/g$ , GII.4が $1.2 \times 10^{12}/g$ であった(表1)。また, GII.1の糞便中に排泄される遺伝子量の最大値は $2.0 \times 10^{11}/g$ であり, GII.4および GII.1は患者によっては大量のNoV 遺伝子を排泄する傾向が認められた(図1)。遺伝子グループ別ではGIに比して, GIIの排泄遺伝子量が多い傾向が認められた。GIの糞便中に排泄される遺伝子量の中央値は $1.8 \times 10^7/g$ から $2.7 \times 10^8/g$ , GIIのそれは $4.1 \times 10^8/g$ から $8.0 \times 10^9/g$ であった(図1)。

表1 糞便中に排泄される遺伝子量 (/g)

遺伝子型	n	中央値	最小値	最大値
GI.1	7	$3.0 \times 10^7$	$4.0 \times 10^4$	$2.7 \times 10^9$
GI.4	16	$2.7 \times 10^8$	$4.6 \times 10^5$	$3.3 \times 10^{10}$
GI.8	11	$1.8 \times 10^7$	$3.8 \times 10^4$	$3.1 \times 10^9$
GI.1	3	$5.0 \times 10^8$	$1.9 \times 10^8$	$2.0 \times 10^{11}$
GI.2	8	$7.8 \times 10^8$	$4.6 \times 10^8$	$7.1 \times 10^9$
GI.3	17	$4.1 \times 10^8$	$2.5 \times 10^5$	$1.9 \times 10^{10}$
GI.4	50	$1.7 \times 10^9$	$1.9 \times 10^5$	$1.2 \times 10^{12}$
GI.6	4	$3.1 \times 10^8$	$1.8 \times 10^7$	$1.9 \times 10^7$
GI.13	12	$8.0 \times 10^8$	$4.0 \times 10^5$	$2.9 \times 10^{10}$
GI.18	3	$8.0 \times 10^9$	$2.1 \times 10^8$	$1.7 \times 10^{10}$

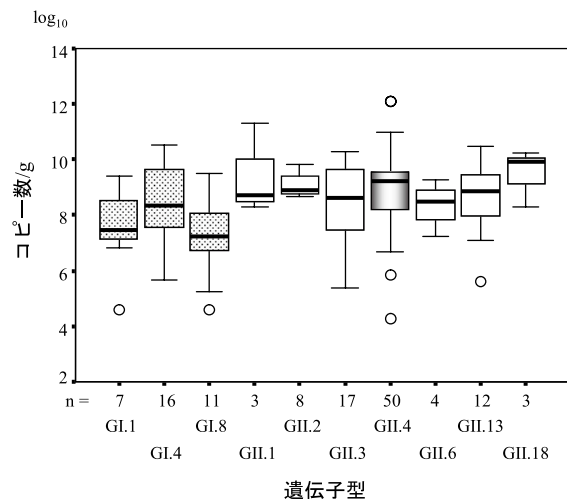


図1 遺伝子型別にみた糞便中に排泄される遺伝子量の比較(箱ひげ図)  
箱ひげ図はDr. SPSS II for Windows (エス・ピー・エス・エス)を用いて作図した。

10 吐物からはすべて GII.4 が検出され, GII.4 が検出された糞便とその排泄量を比較した。吐物中に排泄される NoV 遺伝子量は糞便中に排泄される遺伝子量に比し少ない傾向が認められた。吐物中に排泄される遺伝子量の中央値(最小値, 最大値)は $3.4 \times 10^8/g$  ( $8.8 \times 10^4/g$ ,  $8.0 \times 10^{10}/g$ )であり, 糞便に比較すると1オーダー程度少ないものの, 吐物中にも大量のNoV が排泄されていることが認められた(図2)。

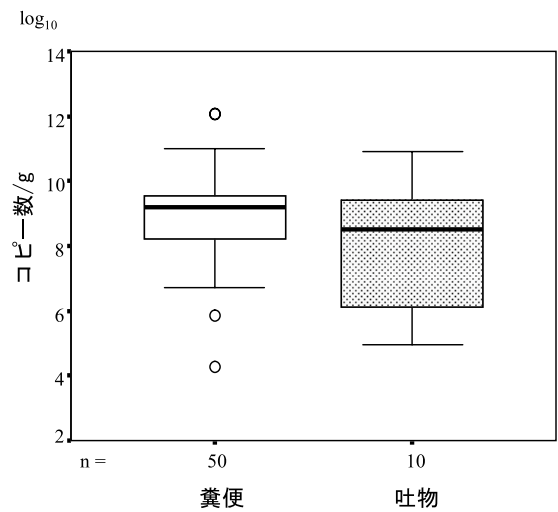


図2 糞便および吐物中に排泄される遺伝子量の比較(箱ひげ図)

### 考 察

NoV 集団感染事例は GII を原因とするものが大部分を占め, GI を原因とする事例は少ない。これは糞便中に排泄される GI 遺伝子量が GII の 1/100 程度と少ないこと [4] に起因しているのかもしれない。しかし, GI の排泄量は GII に比し少ないものの, NoV 胃腸炎を発症させるのに十分量 [15] が糞便中に認められる。また, 環境中からは GI も高率に検出されており [16, 17], 糞便中に排泄される GI ウイルス量が少ないことで, GI を原因とする胃腸炎が少ないことを説明するには不十分である。遺伝子グループによる差異に加え, 患者糞便中に排泄される NoV 遺伝子量には遺伝子型によるわずかな差異が観察された。今回, GII.18 が最も大量の NoV を排泄していることが認められたが, 供試された検体数が少なく今後の検討が必要である。一方, GII.4 は多くの検体数が確保されており, 他の遺伝子型に比し大量の NoV が排泄される傾向にあることが認められた。最近では GII.4 を原因とする NoV 感染性胃腸炎がその発生の大部分を占めている [2]。これは年代とともにヒト環境への遺伝子学的な適応順化が進み, 次々に GII.4 変異型出現し, 免疫回避が起こっていることがその流行の大きな要因であると考えられている [18]。また, GII.4 による発症率は他の遺伝子型に比し低い傾向があり [19], ウイルスの抗原変異と同時に患者のみならず不顕性感染者が糞便中に大量の NoV を排泄し, NoV を拡散させていることもその流行の一因となっているものと考えられる。

GI.4に限らず, 全ての遺伝子型で $10^7$ 個/g(中央値)以上の大量のウイルスが排泄されていることが明らかになった。明確な数値は存在しないが, 10-100個程度で感

染が成立すると言われている [15] ことから、用便後の手洗いが発生予防には重要である。特に、高齢者施設、保育園あるいは幼稚園では下痢を伴ったおむつの処理には十分な注意を払う必要がある。また、糞便に排泄される量よりは少ないものの、吐物にも大量のNoVが排泄されており、吐物も重要な感染源であることが確認された [20]。糞便のみならず吐物の適確な処理もNoV感染症の発生防止には重要であると考えられる。さらに、一度集団発生が起こると、NoV発症者、非発症者あるいは無症状の調理従事者に関わらず大量のNoVが長期間排泄されていることが確認され [5, 6, 10]、NoVと同様に集団感染事例の原因となるサポウイルスにおいても、無症状者が大量のウイルスを糞便中に排泄することが報告されている [21]。ウイルス性食中毒などの集団感染事例の予防に当ってはこのことをも念頭に置いた対策が必要であると考えられる。

## 文 献

- [1] Zheng D. P., T. Ando, R. L. Frankhauser, R. S. Beard, R. I. Glass, and S. S. Monroe (2006): Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology*, 346, 312-323.
- [2] Motomura K., T. Oka, M. Yokoyama, H. Nakamura, H. Mori, H. Ode, G. S. Hansman, K. Kaytayama, T. Kanda, T. Tanaka, N. Takeda, H. Sato, and the norovirus surveillance group of Japan (2008): 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.
- [3] Kageyama T., M. Shinohara, K. Uchida, S. Fukushi, F. B. Hoshino, S. Kojima, R. Takai, T. Oka, N. Takeda, and K. Katayama (2004): Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan. *J. Clin. Microbiol.*, 42, 2988-2995.
- [4] Chan M. C. W., J. J. Y. Sung, R. K. Y. Lam, P. K. S. Chan, N. L. S. Lee, R. W. M. Lai, and W. K. Leung (2006): Fecal viral load and norovirus-associated gastroenteritis. *Emerg. Infect. Dis.*, 12, 1278-1280.
- [5] Ozawa K., T. Oka, N. Takeda, and G. S. Hansman (2007): norovirus infections in symptomatic and asymptomatic food handlers in Japan. *J. Clin. Microbiol.*, 45, 3996-4005.
- [6] 森功次, 林志直, 佐々木由紀子, 野口やよい, 甲斐明美, 諸角聖 (2005): 発症者および非発症者糞便中に排泄される *Norovirus* 遺伝子量の比較. *感染症誌*, 79, 521-526.
- [7] 岩切章, 元明秀成, 山本正悟, 平崎勝之, 鈴木泉, 壹岐浩一, 丹生菜穂子, 春山優 (2004): ノロウイルス (NV) による食中毒事例における感染経路の究明と糞便中の NV の排泄期間. *宮崎県衛生環境研究所年報*, 16, 41-44.
- [8] 三好龍也, 内野清子, 吉田永沼祥, 田尻仁, 田中智之 (2006): ノロウイルス感染におけるウイルス排泄期間と排出量. *食品衛生研究*, 56(11), 9-15.
- [9] 杉枝正明, 佐原啓二, 長岡宏美, 三輪好伸, 宮本秀樹, 秋山真人, 新美洋, 樽林富雄, 石神勝幸, 漆畑健, 中澤美歌乃, 藤井正司, 池端昭男 (2000): 食中毒患者らにおける糞便中の SRSV の消長. *食品衛生研究*, 50(6), 113-118.
- [10] 杉枝正明, 新川奈緒美, 大瀬戸光明, 徳竹由美, 山口卓, 秋山美穂, 西尾治 (2004): Norovirus 感染により排泄されるウイルス量について. *臨床とウイルス*, 32, 189-194.
- [11] Tu E. T.-V., R. A. Bull, M.-J. Kim, C. J. McIver, L. Heron, W. D. Rawlinson, and P. A. White (2008): Norovirus excretion in an age-care setting. *J. Clin. Microbiol.*, 46, 2119-2121.
- [12] Murata T., N. Katsushima, K. Mizuta, Y. Muraki, S. Hongo, and Y. Matsuzaki (2007): Prolonged norovirus shedding in infant 6 months of age with gastroenteritis. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 26, 46-49.
- [13] Bucardo F., J. Nordgren, B. Carlsson, M. Paniagua, P.-E. Lindgren, F. Espinoza, and L. Svensson (2008): Pediatric norovirus diarrhea in Nicaragua. *J. Clin. Microbiol.*, 46, 2573-2580.
- [14] Fukuda S., S. Takao, M. Kuwayama, Y. Shimazu, and K. Miyazaki (2006): Rapid detection of norovirus from fecal specimens by real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay. *J. Clin. Microbiol.*, 44, 1376-1381.
- [15] Schaub S. A., R. K. Oshiro (2000): Public health concerns about caliciviruses as waterborne contaminants. *J. Infect. Dis.*, Suppl. 2, S374-380.
- [16] Nishida T., O. Nishio, M. Kato, T. Chuma, H. Kato, H. Iwata, and H. Kimura (2007): Genotyping and quantitation of noroviruses in oysters from two distinct sea areas in Japan. *Microbiol. Immunol.*, 51, 177-184.
- [17] Saitoh M., H. Kimura, K. Kozawa, O. Nishio,

- and A. Shoji (2007): Detection and phylogenetic analysis of norovirus in *Carbicula fluminea* in a freshwater river in Japan. *Microbiol. Immunol.*, 51, 815-822.
- [18] Siebenga J. J., H. Vennema, B. Renckens, E. de Bruin, B. van der Veer, R. J. Siezen, and M. Koopmans (2007): Epochal evolution of GGII.4 norovirus capsid proteins from 1995 to 2006. *J. Virol.*, 81, 9932-9941.
- [19] Noda M., S. Fukuda, and O. Nishio (2008): Statistical analysis of attack rate in norovirus foodborne outbreaks. *Int. J. Food Microbiol.*, 122, 216-220.
- [20] 新川奈緒美, 川元孝久, 秋山美穂, 加藤由美子, 西尾治 (2004): 吐物が感染源と推定されたノロウイルス集団胃腸炎事例について. *臨床とウイルス*, 32, 195-201.
- [21] Yoshida T., S. Kasuo, Y. Azegami, Y. Uchiyama, K. Satsumabayashi, T. Shiraishi, K. Katayama, T. Wakita, N. Takeda, and T. Oka (2009): Characterization of sapoviruses detected in gastroenteritis outbreaks and identification of asymptomatic adults with high viral load. *J. Clin. Virol.*, 45, 76-71.