

# 2008 及び 2009 年度に京都府内で検出された ノロウイルスの遺伝子型に関するクラスター分析

鳥居 潤 塚本 智子 木上 照子 石崎 徹

## Cluster Analysis on the Genotypes of Noroviruses detected in Kyoto Prefecture from 2008 to 2009

Jun TORII Tomoko TSUKAMOTO Teruko KIGAMI Tohru ISHIZAKI

### Abstract

This study was carried out on a survey of the molecular epidemiology of the case's infectious gastroenteritis due to the norovirus confirmed between January 2008 and April 2009. Those genotypes were determined by base sequence of the gene had been obtained with the participation of genetic analysis project and phylogenetic tree analysis. As the result, about 88% of the genotype of the norovirus was G II /4 and the strains and 2006b mutant strains showed high homology. In the respect of to the present examination, it is important in the epidemiology for us to continue the gene analysis of the mutating norovirus.

キーワード：ノロウイルス、系統樹、遺伝子型、感染性胃腸炎

key words : Norovirus , Phylogenetic tree , Genotype , Infectious gastroenteritis

### はじめに

カリシウイルス科ノロウイルス (NV) は、幼児から高齢者まで幅広い年齢層で冬季を中心に嘔吐や下痢を主な症状とする感染性胃腸炎を引き起こす。NV は、遺伝子解析から G I 及び G II の 2 つの遺伝子群に分類されている。また、遺伝子型として G I で 14 種、G II で 17 種またはそれ以上が知られている (国立感染症研究所 感染症情報センター; [http://idsc.nih.go.jp/idwr/kansen/k04/k04\\_11/k04\\_11.html](http://idsc.nih.go.jp/idwr/kansen/k04/k04_11/k04_11.html))。今回、衛生微生物協議会ノロウイルスレファレンス委員会遺伝子解析事業に参画し、2008 年 1 月から 2009 年 4 月までに検出された NV 株の系統樹による遺伝子解析を実施し、京都府における NV 株の流行遺伝子型について報告する。

### 2. NV の遺伝子型解析方法

検査方法は常法<sup>1)</sup>に準じて行った。塩基配列は、PCR 増幅産物を NV 遺伝子解析事業へ委託し、ダイレクトシーケンス法によりオートシーケンサーを用いて決定した。決定された塩基配列のアライメントは ClustalX を用いて行い、Kimura-2 パラメーター法を用いて遺伝子距離を推定し、それに基づき近隣結合法を用いて分子系統樹を作成した<sup>2,3)</sup>。なお、ClustalX を用いて系統樹の内部枝の統計的支持値をブートストラップ法 (1000 回の反復) により求めた<sup>4)</sup>。参考株はウイルス性下痢症研究会の「Caliciweb」(Viral Gastroenteritis Study Group/Japan; <http://teine.cc.sapmed.ac.jp/calici/modules/news/>) 及び国立遺伝学研究所の日本 DNA データバンク (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/index-j.html>) より取得した塩基配列を用いた。

### 材料及び方法

#### 1. 検査試料と NV 遺伝子群の診断方法

2008 年 1 月から 2009 年 4 月までの感染症発生動向調査において、京都府内 6 定点の医療機関のうち、公立南丹病院で感染性胃腸炎と診断され、NV 陽性と判定された 17 検体の糞便を材料とした。NV の検査診断は、G I プライマー G1-SKF/G1-SKR 及び G II プライマー G2-SKF/G2-SKR を用い、逆転写 PCR 法またはリアルタイム PCR 法で判定した。

(平成22年9月1日受理)

### 結果

2008 年 1 月から 2009 年 4 月までの感染症発生動向調査で感染性胃腸炎疑いの原因が NV であった 17 検体で検出された遺伝子群は全て G II 群であった。それらの株と参考株による系統樹を図 1 に示した。その結果、検出された遺伝子型は G II /3、G II /4 及び G II /6 型の 3 種類であった。その中でも G II /4 型は、全体の約 88% を占めた。G II /4 型の検出株は、2006 年初頭からヨーロッパをはじめとする世界各地で流行<sup>5)</sup>した DenHaag89/NL 株及び Kobe034/JP (2006b 株) に類似し、キャプシド領域における塩基配列で 92 ~ 99% の相同性が認められ、1

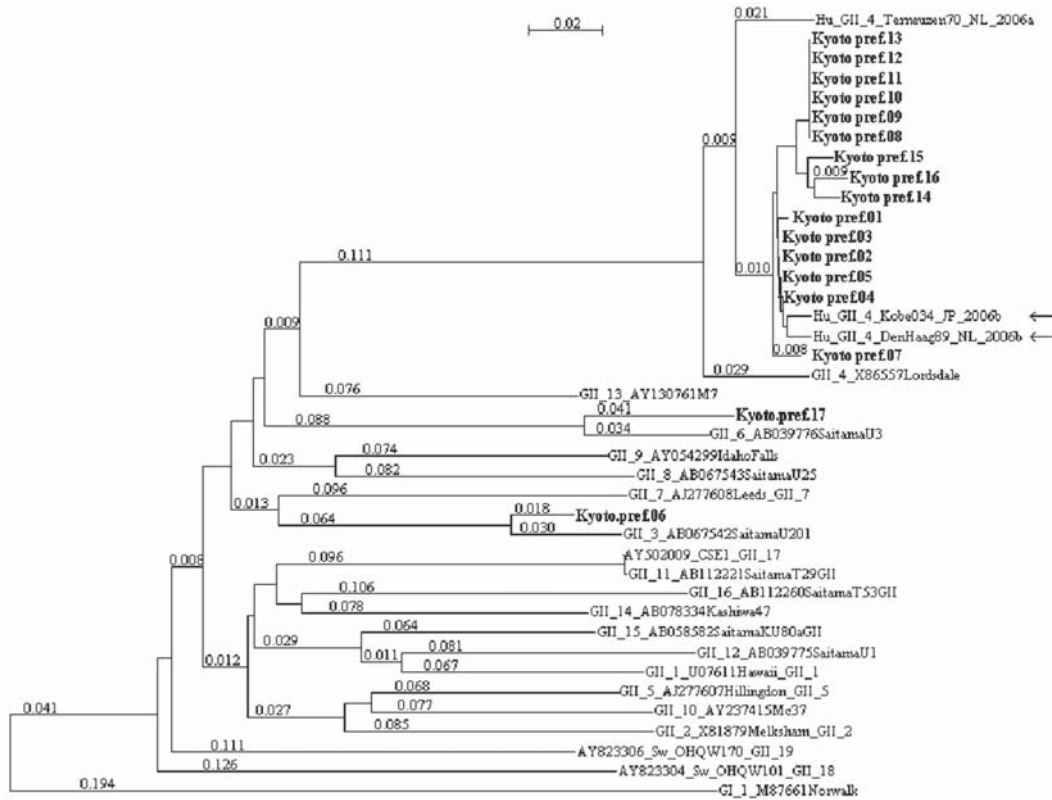


図1 2008及び2009年度に検出されたG II /4型ノロウイルス (NV) 株の系統樹

分子系統樹はキャプシドタンパク VP1 コード領域の塩基配列に基づき、近隣結合法で作成した。ブーストラップ値は、クラスターを支持する枝にそれぞれ数字で示した。0.02 で示すスケールは進化距離を表し、枝長の長さは置換塩基数の割合で示した。Kyoto.pref. で始まる太字は京都府内で検出された G II /4 型 NV 株、矢印で示す株は 2006b 代表株、その他は NV G II 参考株を示す。G I -Norwork 株は系統樹解析における郡外対照として用いた。遺伝子型以下のアルファベット及び数字は、日本 DNA バンクにおける登録番号を示す。

つのクラスターに集約された。

### 考察

G II /4 型の NV は、2002/2003、2004/2005 及び 2006/2007 シーズンと 2 年ごとに変異を繰り返し、流行していることが報告されている<sup>6-8)</sup>。本報告における遺伝子解析の結果、2008 及び 2009 年度の主流株は 2006b 株であり、前年度まで変異を繰り返しながら流行してきた G II /4 型の株とは異なることが判明した。今後、G II /4 型の変異株や異種類の株が発生、流行、消滅を繰り返すことは予測されることであり、今回の結果を端緒として、今後も継続した NV の遺伝子解析を行うことは、流行状況の詳細な把握を可能とし、疫学的にも重要と思われる。また、NV 遺伝子解析事業に参画したことにより、広域における遺伝子型の調査が可能となり、流行状況等を予測する上でさらに有効であると考えられる。

### 謝辞

本調査は、衛生微生物技術協議会ノロレファレンス委員会の遺伝子解析事業に参画し、とりまとめたものであ

る。御指導いただきました関係者の皆様及び検体採取に御協力いただきました公立南丹病院の諸先生方、保健所関係者の皆様に深謝いたします。

### 引用文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知 (食安監発第 1105001 号平成 15 年 11 月 5 日。最終改訂食安監発第 0514004 号平成 19 年 5 月 14 日)。2007. ノロウイルスの検出法について。
- 2) Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., Higgins D.G., ClustalW. 2007. Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*. 23, 2947-2948.
- 3) Kageyama T., Shinohara M., Uchida K., Fukushi S., Hoshino F. B., Kojima S., Takai R., Oka T., Takeda N., Katayama K. 2004. Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to norovirus in Japan. *Journal of Clinical Microbiology*. 42, 2988-2995.
- 4) Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*. 39, 783-791.
- 5) Kroneman A., Vennema H., Harris J., Reuter G., von Bonsdorff C.H., Hedlund K.O., Vainio K., Jackson V., Pothier P., Koch J., Schreier E., Bottiger B., Koopmans M. 2006. Increase in norovirus activity reported in Europe. *Eurosurveillance*. 11 (50),

- 3093.
- 6) Loopman B., Vennema H., Kohli E., Pother P., Sanchez A., Negredo A., Buesa J., Schreier E., Reacher M., Brown D., Gray J., Iturriza M., Gallimore C., Bottiger B., Hedlund K.O., Torvén M., von Bonsdorff C.H., Maunula L., Poljsak-Prijatelj M., Zimsek J., Reuter G., Szücs G., Melegh B., Svernlund L., van Duynhoven Y., Koopmans M. 2004. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *The Lancet*. 363, 682-688.
  - 7) Bull RA., Tu Elise T. V., McIver C.J., Rawlinson W.D., White P.A. 2006. Emergence of a New Norovirus Genotype II.4 Variant Associated with Global Outbreaks of Gastroenteritis. *Journal of Clinical Microbiology*. 44, 327-333.
  - 8) Noel J.S., Fankhauser R.L., Ando T., Monroe S.S., Glass R. I. 1999. Identification of a distinct common strain of "Norwalk-like viruses" having a global distribution. *The Journal of Infectious Diseases*. 179, 1334-1344.