

【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（2015/2016シーズン）－

Epidemiological Studies on Viruses Causing Non-bacterial Gastroenteritis in Okayama

－Surveillance of Rotavirus A from Sporadic Gastroenteritis in Okayama Prefecture (2015-2016)－

梶原香代子, 濱野雅子, 木田浩司, 谷川徳行, 磯田美穂子, 松岡保博,
為房園実*, 井上勝**, 濃野信***, 金谷誠久**** (ウイルス科)

*岡山県感染症情報センター, **岡山赤十字病院小児科, ***のうの小児科,
****国立病院岡山医療センター小児科

Kayoko Kajihara, Masako Hamano, Kouji Kida, Noriyuki Tanikawa, Mihoko Isoda,
Yasuhiro Matsuoka, Sonomi Tamefusa*, Masaru Inoue**, Shin Nouno***, Tomohisa Kanadani****
(Virology Section)

*Okayama Prefectural Infectious Disease Surveillance Center,

**Department of Pediatrics, Okayama Red-Cross Hospital,

***Nouno Pediatric Clinic,

****Department of Pediatrics, National Hospital Organization Okayama Medical Center

要 旨

2015/2016シーズン（2015年9月～2016年8月）の散発胃腸炎患者ふん便662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63件について、VP7遺伝子及びVP4遺伝子を標的とした二系統の逆転写PCR法によりロタウイルスAの遺伝子検索を実施した結果、62件で遺伝子が確認された。この62件について、G遺伝子型別及びP遺伝子型別を実施したところ、G2P[4]が60件、G1P[8]及びG9P[8]がそれぞれ1件であった。2005/2006シーズン～2015/2016シーズンの11シーズンにおけるロタウイルスA遺伝子検出率、G遺伝子型の主流型及び感染性胃腸炎患者数を比較したところ、ワクチン導入後からロタウイルスA遺伝子検出率の低下及び感染性胃腸炎患者数の減少が見られた一方で、主流型となるG遺伝子型はシーズン毎に変化しており、特定の遺伝子型の継続的な流行は確認されなかった。これらのことから、現時点においては、ワクチンは効果的に機能しているものと推察された。

[キーワード：ロタウイルスA, 胃腸炎, 逆転写PCR, ワクチン]

[Key words : Rotavirus A, Gastroenteritis, Reverse-transcription PCR, 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、本ウイルスの感染制御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]）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）及びウシRVAにヒト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）が知られており、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

れ製造承認され導入が開始された。

2種類のワクチンに含まれるG遺伝子型は、それぞれRotarix[®]がG1, RotaTeq[®]がG1～G4のみと限られているため、ワクチンによる抑制を免れた遺伝子型が新たに流行する可能性が考えられた。そこで我々は、県内におけるRVA流行状況及び感染性胃腸炎患者数を継続的に調査し^{5)～10)}、2011/2012シーズンを境とするワクチン導入前後のRVA遺伝子検出率、G遺伝子型及び感染性胃腸炎患者数を比較解析することで、ワクチンの効果及び流行型への影響を把握してきた。2011/2012シーズンにはG1の遺伝子再集合体RVAの侵入が県内で初めて確認され¹¹⁾、2013/2014シーズンに主流型となったため⁹⁾、ワクチンの抑制効果が低いRVAが出現した可能性が危惧されたが、この流行は2014/2015シーズンにはほぼ終息した¹⁰⁾。一方、2014/2015シーズンに主流型となったG9¹⁰⁾は、ワクチンに含まれていないため、今後も流行が継続することが懸念された。

そこで2015/2016シーズンも、引き続き散発胃腸炎患者からのRVA遺伝子検出及び遺伝子型別を行い、県内の流行状況についてワクチンの影響等を解析した。また、G1の遺伝子再集合体RVAについても、存在の有無を確認した。

2 対象と方法

2.1 対象

2015年9月～2016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～92歳）ふん便662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、ふん便乳剤から市販キット（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¹²⁾の方法による逆転写PCR（以下「RT-PCR」という。）法でG遺伝子の検出及び型別を、Wuら¹³⁾の方法によるRT-PCR法でP遺伝子の検出及び型別を実施した。また、RVA遺伝子検出率、G遺伝子型の検出状況及び岡山県感染症発生動向調査に基づく定点医療機関あたり（以下「定点あたり」という。）の感染性胃腸炎患者数の推移について、11シーズン（2005/2006シーズン～2015/2016シーズン）で比較解析した。さらにG1P[8]と判定された株については、2011/2012シーズンに県内侵入が確認された遺伝子再集合体由来株である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法を実施し、産物サイズを比較した¹¹⁾。

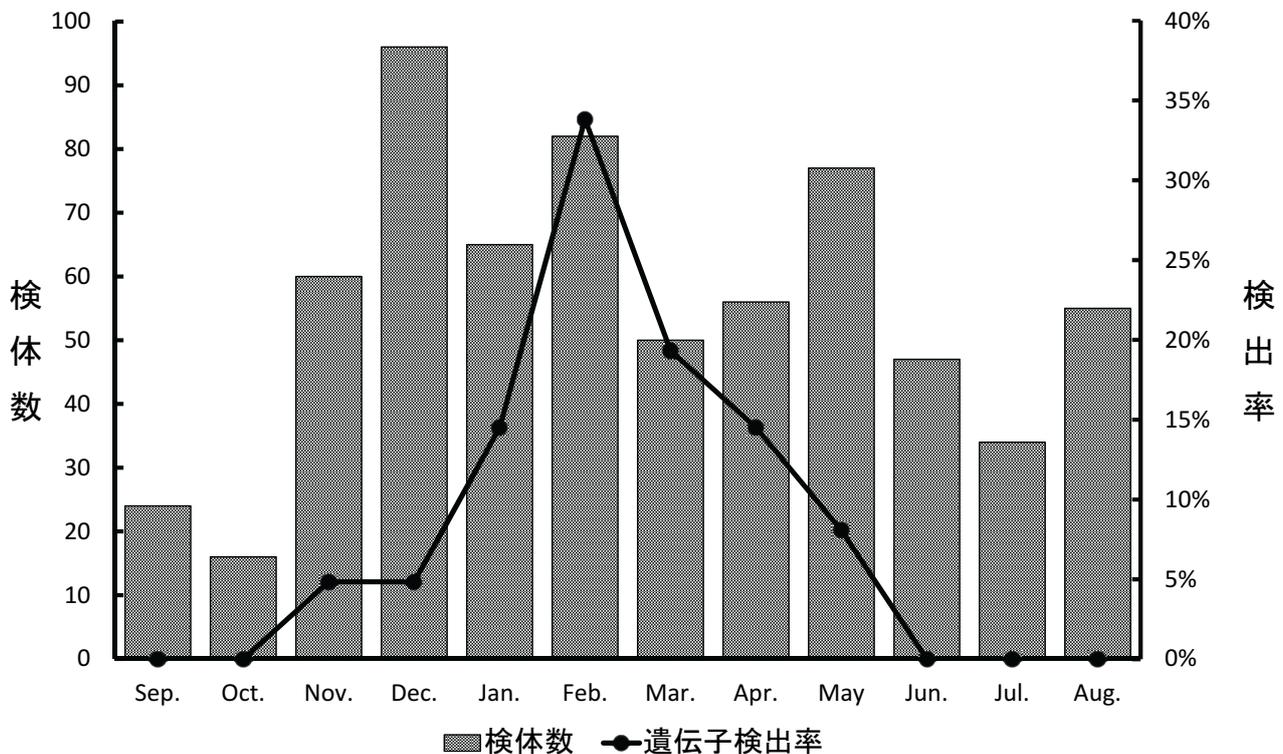


図1 月別RVA検出状況 (2015/2016シーズン)

3 結果

3.1 ウイルス検出状況

市販キットによるRVAのスクリーニングを行った患者ふん便662件のうち、陽性となった63件についてRT-PCR法による遺伝子検索を行ったところ、62件（総検体数の9.4%）からRVA遺伝子が検出された。

月別の検査検体数とRVA遺伝子の検出率を図1に示す。RVA遺伝子は11月～5月に検出され、検出率のピークは2月の33.9%（21/62件）であった。

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62件すべてで、G遺伝子型及びP遺伝子型が判定可能であった。G遺伝子型の内訳は、G2が60件（96.8%）と最も多く、G2以外ではG1及びG9が各1件（1.6%）であった。

P遺伝子型の内訳は、P[4]が60件（96.8%）、P[8]が2件（3.2%）であった。G遺伝子型及びP遺伝子型の組み合わせの内訳は、G2P[4]が60件（96.8%）で最も多く、G1P[8]及びG9P[8]が各1件（1.6%）であった。

3.3 RVA遺伝子検出率の推移（2005/2006シーズン～2015/2016シーズン）

11シーズン（2005/2006シーズン～2015/2016シーズン）のRVA遺伝子検出率の推移を図2に示す。RVA遺伝子検出率は、ワクチン導入前の6シーズン（2005/2006シーズン～2010/2011シーズン）は20.4%～30.1%で変動していた^{6)・7)}のに対し、ワクチン導入後の5シーズン（2011/2012シーズン～2015/2016シーズン）は6.8%～20.9%^{8)～10)}と顕著な減少傾向を示した。

3.4 G遺伝子型の検出状況（2005/2006シーズン～2015/2016シーズン）

11シーズンのG遺伝子型検出状況の比較を図3に示す。主流行となるG遺伝子型は、ワクチン導入前の2005/2006シーズンはG9⁶⁾、2006/2007シーズンはG1⁶⁾、2007/2008シーズンはG9⁶⁾、2008/2009シーズン～2010/2011シーズンはG3^{6)・7)}、導入後の2011/2012シーズンはG3⁷⁾、2012/2013シーズン及び2013/2014シーズンはG1^{8)・9)}、2014/2015シーズンはG9¹⁰⁾、2015/2016シーズンはG2と、ワクチン導入の前後とも、シーズン毎に変化が見られた。

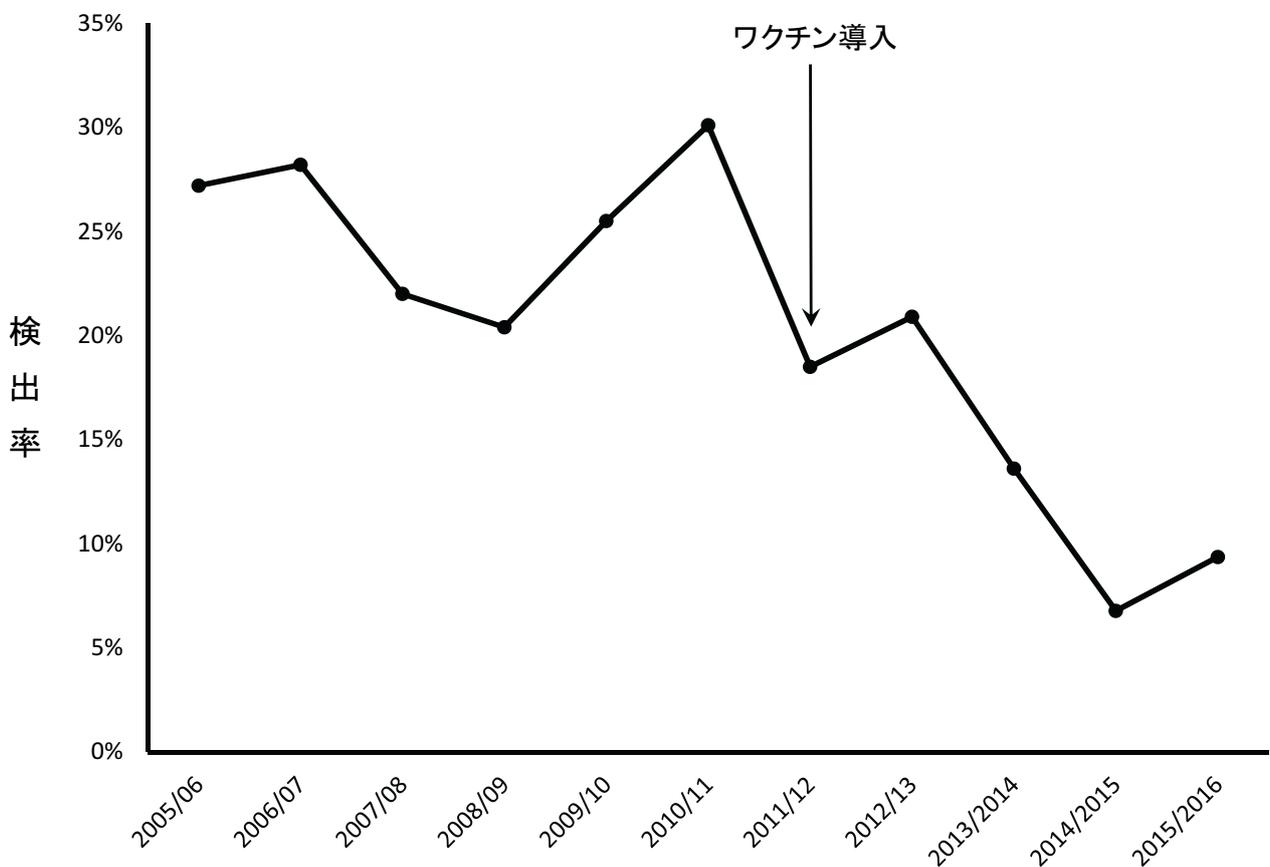


図2 RVA遺伝子検出率の推移（2005/2006シーズン～2015/2016シーズン）

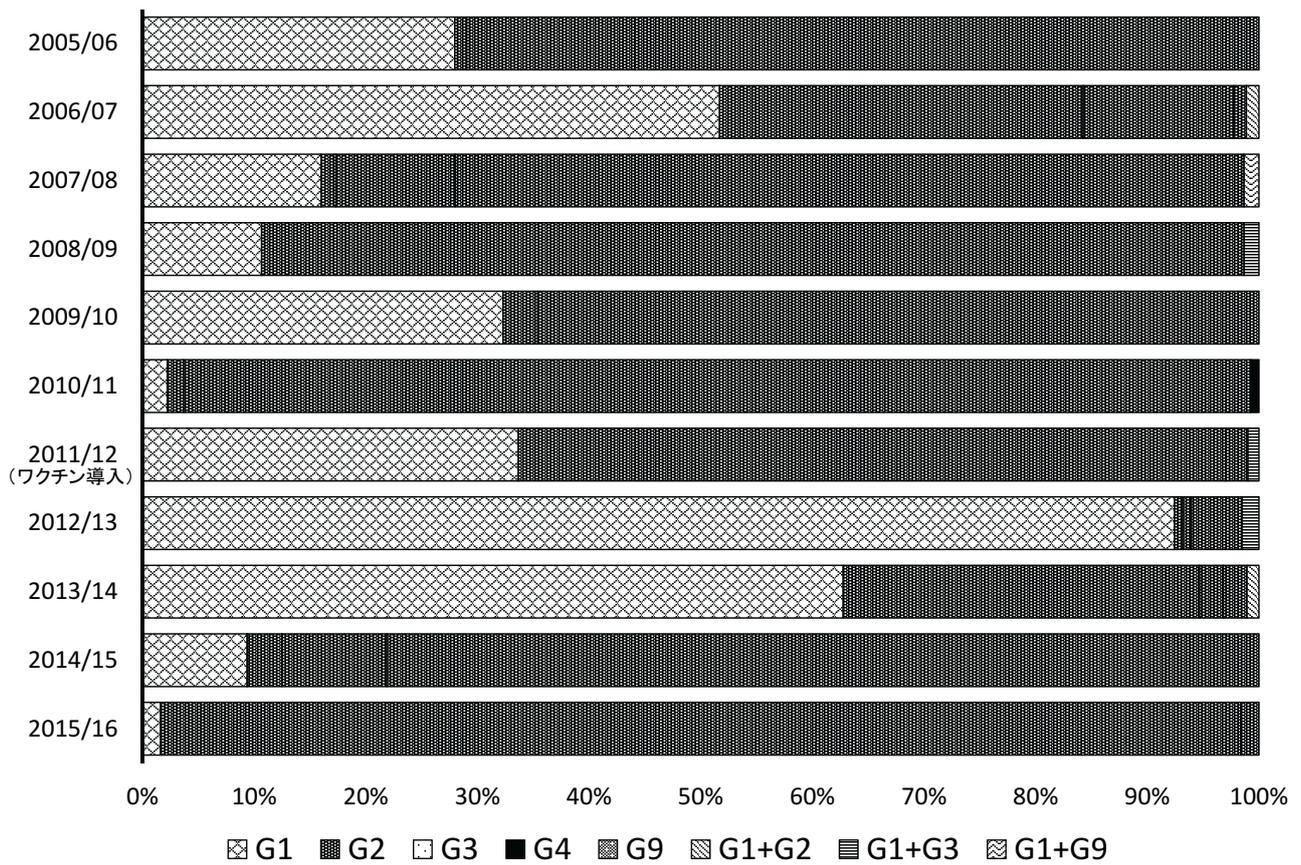


図3 G遺伝子型の検出状況 (2005/2006シーズン～2015/2016シーズン)

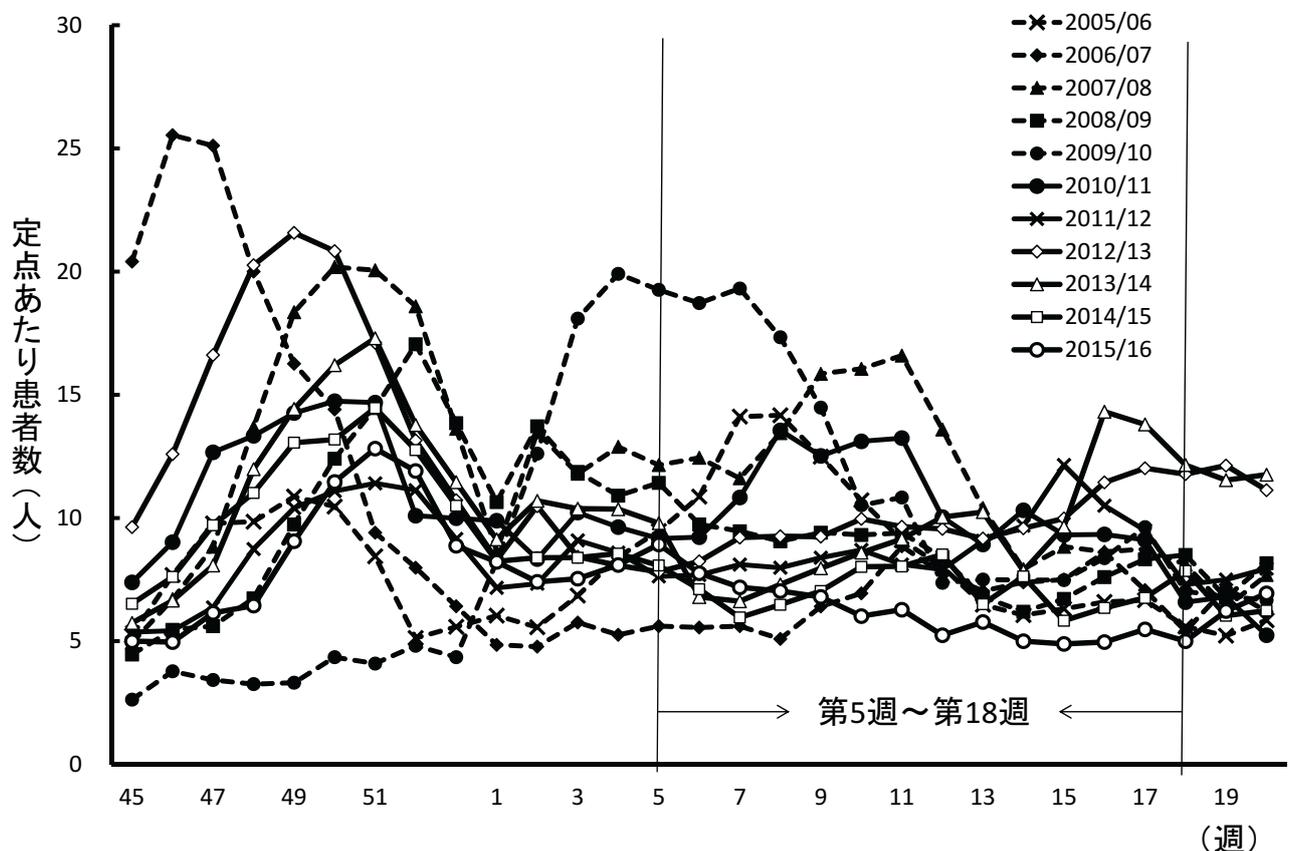


図4 感染性胃腸炎患者数 (2005/2006シーズン～2015/2016シーズン)

3.5 感染性胃腸炎患者数の推移 (2005/2006シーズン～2015/2016シーズン)

11シーズンの定点あたりの感染性胃腸炎患者数の推移を図4に示す。シーズン毎で流行のピークとなる時期は異なるが、全シーズンを通して多数の患者が発生していた。例年RVAの流行が認められる第5週～第18週(2月～5月)頃に着目すると、ワクチン導入前の2010/2011シーズン以前では、2006/2007シーズン及び2008/2009シーズンは例外的に患者数が少なかったものの、その他のシーズンは多くの患者が発生していた。しかし、ワクチン導入後の2011/2012シーズン以降は、患者数は顕著な減少を示した。

3.6 G1P[8]の遺伝子再集合体由来株解析

G1P[8]と同定された1件について、NSP4及びNSP5/6遺伝子のPCR産物サイズの比較を行ったところ、遺伝子再集合体由来株ではないと推定された。

4 考察

ワクチン導入後のRVA遺伝子の検出率は、導入前と比較して顕著な低下傾向を示していた。また、例年RVAの流行が認められる第5週～第18週(2月～5月)頃の定点あたりの感染性胃腸炎患者数も、ワクチン導入後は導入前と比較して明らかに減少していた。このことから、ワクチンの導入は、RVAの流行抑制に一定の効果があつたと考えられた。

我が国で使用されている2種類のワクチンは、含まれるG遺伝子型が限られているため、導入当初は抑制を免れた特定のG遺伝子型の流行が懸念された。しかし、ワクチンが導入された2011/2012シーズン以降において主流型となったG遺伝子型は、2011/2012シーズンはG3、2012/2013シーズン及び2013/2014シーズンはG1、2014/2015シーズンはG9、2015/2016シーズンはG2と、ワクチン導入前と同様にシーズン毎に変化が見られ、ワクチンによる抑制を免れた特定の遺伝子型の継続的な流行は確認されていない。また、2種類のワクチンは、異なる遺伝子型でも十分な異型免疫を誘導することが確認されており^{14), 15)}、我々の結果はこれを裏付けるものであつた。これらのことから、現時点においては、ワクチンは、効果的に機能しているものと推察された。

しかしながら、これまでの調査は、主にG遺伝子型に着目したものであり、ワクチンの導入以降に流行しているRVAが、何らかの変異によってワクチンから免れる機能を獲得している可能性は否定できない。従って、ワクチン導入前後におけるRVAについて詳細に比較解析する必要があり、今後の課題である。

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. *et al.*: Uniformity of rotavirus Classification Working Group (RCWG), *Arch. Virol.*, 156, 1397-1413, 2011
- 3) Santos, N., Hoshino, Y.: Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine, *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, 金谷誠久ら: 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, 岸本壽男ら: 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, 葛谷光隆ら: 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) 濱野雅子, 藤井理津志, 木田浩司, 葛谷光隆, 榎原幸二ら: 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
- 9) 藤原香代子, 藤井理津志, 濱野雅子, 磯田美穂子, 松岡保博ら: 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), *岡山県環境保健センター年報*, 39, 119-123, 2015
- 10) 藤原香代子, 藤井理津志, 濱野雅子, 磯田美穂子, 松岡保博ら: 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(2014/2015シーズン), *岡山県環境保健センター年報*, 40, 63-67, 2016
- 11) Kuzuya, M., Fujii, R., Hamano, M., Kida, K., Mizoguchi, Y. *et al.*: Prevalence and molecular characterization of G1P[8] human rotaviruses

- possessing DS-1-like VP6, NSP4, and NSP5/6 in Japan, *Med. Virol.*, 86 (6) , 1056-64, 2014
- 12) Gouvea, V., Glass, R. I., Woods, P., Taniguchi, K., Clark, H. F. *et al.* : Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens, *J. Clin. Microbiol.*, 28, 276-282, 1990
 - 13) Wu, H., Taniguchi, K., Wakasugi, F., Ukae, S., Chiba, S. *et al.* : Survey on the diistribution of the gene 4 alleles of human rotaviruses by polymerase chain reaction, *Epidemiol. Infect.*, 112, 615-622, 1994
 - 14) Correia, JB., Patel, MM., Nakagomi, O., Montenegro, FM., Germano, EM. *et al.* : 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
 - 15) Payne, DC., Boom, JA., Staat, MA., Edwards, KM., Szilagyi, PG. *et al.* : Effectiveness of pentavalent and monovalent rotavirus vaccine in concurrent use among US children <5 years of age, 2009-2011, *Clin. Infect. Dis.*, 57 (1) , 13-20, 2013