



福岡県医発第2854号(地)
令和2年2月6日

各 医 師 会 長 殿

福 岡 県 医 師 会
会 長 松 田 峻一良
(公 印 省 略)

「病原微生物検出情報(2019年12月号)」の送付について

標記の件につきまして、日本医師会感染症危機管理対策室より、別紙のとおり情報提供がありましたのでお知らせいたします。

また、本病原微生物検出情報は、下記の国立感染症研究所のホームページに掲載されておりますので、ご参照ください。

記

国立感染症研究所ホームページ

URL : <http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr.html>

小郡三井医師会より

感染症対策担当理事 田中泰之
会長 島田昇二郎

(特集つづき)

は年900例前後に増加し、2013/14～2018/19シーズンは年500～800例前後の間に周期的に増加している（次ページ表1，図2）。A群がそのほとんどを占め、C群の報告は2005/06シーズン、2008/09シーズンに全体の6%を占めたのを最高に、2012/13シーズン以降は0.2%未満で推移している。日本ではB群の報告はされていない。

2004年9月～2019年8月にA群ロタウイルスが検出された10,770例の年齢分布は、1歳（34%）、2歳（17%）、0歳（16%）の順に多く、0～2歳で全体の約3分の2を占めた（年齢不詳を除く）（次ページ図3）。0歳児では月齢6か月以上が多かった。この傾向はG1、G3、G8それぞれの遺伝子型に限った場合でも同様の傾向であった。G2型、G8型の検出例はやや少ないが、1歳に次いで、2歳および5～9歳の割合が多く、他の型とはやや異なる分布を示した。一方、C群が検出された150例では、5～9歳が最も多く約3分の2を占め、次いで10～14歳が約20%であった。

A群ロタウイルス遺伝子型別

A群ロタウイルスは、11分節からなる2本鎖RNAのゲノムを有している。その中でも中和抗原を有する2種類のタンパク質、VP7（外殻タンパク質、G型）およびVP4（スパイクタンパク質、P型）の遺伝子型が血清型を反映していることから、これら2つの遺伝子型別調査が従来から重視されてきた。わが国においては、一部の地衛研でG型別検査を行い、報告している（次ページ表1，図2）。また、複数の研究グループが、国内外の流行株の調査を行っている（本号4ページ）。ヒトから検出されるA群ロタウイルスの主要な流行遺伝子型は、ワクチン導入以前はG1P[8]、G2P[4]、G3P[8]、G4P[8]、G9P[8]の5種類とされていた。しかし、近年は、これまで稀だった遺伝子型（G8）や、動物ロタウイルス由来と考えられる遺伝子を持つ株（ウシ様G8およびウマ様G3）、新しい遺伝子型構成を持つ株（DS-1-like G1P[8]、DS-1-like G3P[8]、およびG9P[8]-E2）の流行が国内外で認められるようになってきた（本号7&8ページ）。国立感染症研究所ウイルス第二部では、近年流行しているG遺伝子型を正確に検出するための新たなプライマーセットを設計し、対応を行っている（本号5ページ）。

合併症例

感染症発生動向調査にて2013年10月14日以降、基幹定点から報告されたロタウイルス胃腸炎は26,716例であり（2019年12月4日時点）、15歳未満の小児例が26,073例と大半（98%）を占めたが、20歳以上の成人例も602例（2%）が報告された。同じく感染症発生動向調査より2007年第1週～2019年第43週に報告された急性脳炎症例6,018例のうち、原因病原体・検出病原体としてロタウイルス（他の病原体を含む）が記載されていた症例（ロタウイルス脳症）は160例であった（2019年11月

6日時点）。ロタウイルス脳症は3～5月に報告が多く、ロタウイルス胃腸炎の報告時期と一致した（本号10ページ）。

集団発生

ロタウイルスによる集団発生がみられる場所の多くは保育所や幼稚園であるが、小学校、中学校、老人ホーム、福祉施設などでも集団発生がみられる（次ページ表2）。集団発生病原体票により地衛研から報告された2004～2018年のロタウイルスによる胃腸炎集団発生は、A群254事例、C群35事例であった（表2）。

予防

ロタウイルスは環境中で安定しており、また感染力が非常に強く、感染者の下痢便1g中には 10^{10} 個ものウイルスが排出されるため、衛生状態が改善されている先進国でもロタウイルスの感染予防はきわめて難しい。

ロタウイルスワクチンは、最も重症化しやすい初感染前にワクチンによって免疫を獲得させ、胃腸炎の重症化予防を図ることを目的としている。

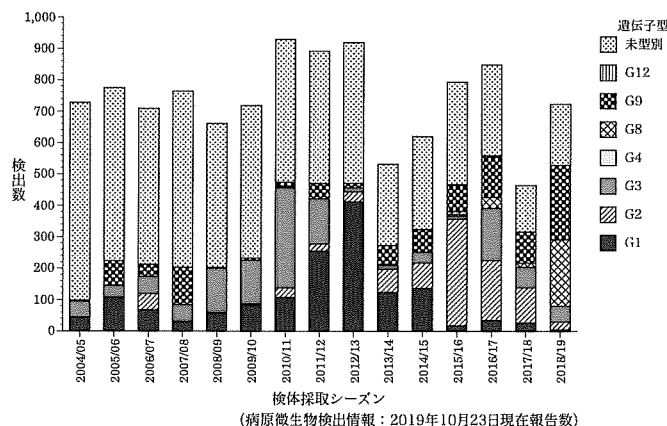
現在、単価（G1P[8]）と5価（G1、G2、G3、G4、P[8]）の2種類の経口弱毒生ロタウイルスワクチンがあり、既に80カ国以上で定期接種化されている。世界保健機関（WHO）は現在のロタウイルスワクチンは初回投与後7日以内の腸重積症のわずかな上昇（1-2/100,000人の増加）を認める以外には安全であり、重症胃腸炎や関連死亡を防ぐベネフィットは腸重積症の増加リスクをはるかに上回るという見解を示している（https://www.who.int/vaccine_safety/committee/topics/rotavirus/rotarix_and_rotateq/dec_2017/en/）。わが国でも、2011年11月と2012年7月からそれぞれ任意接種となっている。国内各地で、疫学的な分析による5歳未満児でのロタウイルスによる感染症での入院例に対する高いワクチン効果（Vaccine effectiveness）や、入院率の減少効果などを認めてきた（本号12ページ）。

今後の課題

わが国においても2020年10月1日から、ロタウイルスワクチンを定期接種の対象とすることが厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会で決定された。国内においてワクチンを導入した際の有効性や安全性を監視することが今後の主な課題である。すなわち、1) ワクチン導入前後の、重症例を中心としたロタウイルスによる感染症の発生動向を的確に把握することが必要である。2) 安全性に関しては、ワクチン導入後の腸重積症の推移を注意深くモニタリングする重要性が強調される（本号13ページ）。3) ワクチンの選択圧等による野生株のウイルス学的な変化についても監視する体制の整備強化等が必要である。

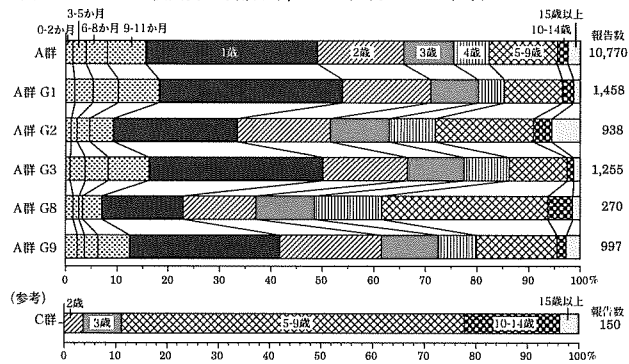
(特集つづき) (THE TOPIC OF THIS MONTH-Continued)

図2. A群ロタウイルス遺伝子型別検出状況, 2004/05～2018/19シーズン



(病原微生物検出情報: 2019年10月23日現在報告数)

図3. ロタウイルス検出例の年齢分布, 2004年9月～2019年8月



(病原微生物検出情報: 2019年10月23日現在報告数)

表1. 検体採取シーズン別ロタウイルス検出状況, 2004/05～2018/19シーズン

群・遺伝子型	検体採取シーズン*															
	2004/05	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17	2017/18	2018/19	
群不明	3	4	1	1	-	6	4	-	1	-	3	-	-	2	1	
A群	727	774	709	764	661	718	929	891	919	532	620	794	849	464	723	
遺伝子型不明	628	550	496	561	458	485	454	420	447	258	295	327	290	147	193	
G1	44	107	68	30	57	83	108	255	412	124	137	18	35	27	6	
G2	-	2	52	2	4	5	30	23	32	73	81	339	191	112	24	
G3	50	35	54	52	138	138	318	144	13	13	33	11	166	66	51	
G4	4	-	-	-	-	-	4	1	-	1	-	5	-	-	-	
G8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	2	1	9	35	13	210	
G9	1	79	39	119	4	7	15	47	15	61	72	85	130	99	239	
G12	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	2	-	-	
C群	8	57	5	7	44	1	6	19	1	1	1	1	-	4	1	
合計	738	835	715	772	705	725	939	910	921	533	624	795	849	470	725	

*9月～翌8月

(病原微生物検出情報: 2019年10月23日現在報告数)

表2. ロタウイルスによる集団発生事例*, 2004～2018年

推定感染場所	発生時期（年）																合計
	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018		
不明	-	-	-	-	-	-	-	-	4	2	-	-	-	-	-	6	
ホテル・旅館 （宴会場を除く）	-	-	1(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(1)	
飲食店	-	-	1	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	1	4	
保育所	-	2	3(1)	2	6	3	16	12	24	7	9	3	10	10	2	109(1)	
幼稚園	3	2	1	-	1	1	-	1	4	-	1	-	2	-	1	15	
小学校	1	3(2)	10(10)	-	10(6)	5(5)	1	6	9(1)	3(1)	2	3	4	3	2	62(25)	
中学校	-	-	-	-	-	1(1)	-	-	2	-	-	-	-	-	-	3(1)	
高校	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	2	
宿舎・寮	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	
病院	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	
老人ホーム （介護施設を含む）	1	4	2	2	-	1	1	1	1	1	-	-	4	1	2	21	
福祉・養護施設	1(1)	-	5(1)	-	2(2)	-	1	4	-	-	3	-	1	2(1)	2	21(5)	
その他	-	-	1	1	-	1(1)	-	1(1)	-	-	-	-	-	2	2	8(2)	
合計	6(1)	11(2)	24(13)	5	19(8)	12(7)	19	25(1)	48(1)	13(1)	16	7	21	18(1)	12	254(35)	

*地方衛生研究所からの「集団発生病原体票」による

(病原微生物検出情報: 2019年10月23日現在報告数)

()はC群ロタウイルスによる事例 (再掲)

<特集関連情報>

ロタウイルスワクチン導入後の流行株の変化

背景

A群ロタウイルス (Rotavirus A: RVA) は、乳幼児の感染性胃腸炎の主な原因ウイルスである。衛生環境によらず世界中に広く分布しているウイルスであり、5歳までにほぼ100%のヒトがRVAに一度は感染すると考えられている。世界では、5歳未満児のRVA感染による死亡者数は、2013年の時点で年間215,000人と推計されているが、その大半はアフリカや東南アジア等の開発途上国で占められている¹⁾。世界で広く利用されているRVAワクチンとしては、単価のRotarix® (GSK) と5価のRotaTeq® (MSD) があり、いずれも経口の弱毒生ウイルスワクチンである。これらのワクチンの導入により、5歳未満児の死亡者数は年々減少傾向にある。わが国でも2011年11月にRotarix®, 2012年7月にRotaTeq®が導入されて以降、ロタウイルス胃腸炎の患者数は大幅に減少しつつある²⁻⁴⁾。

RVAの遺伝子型

RVAのゲノムは11本の遺伝子分節からなる2本鎖RNAであり、6種類の構造タンパク質 (VP) と6種類の非構造タンパク質 (NSP) がコードされている。各遺伝子分節には20以上の遺伝子型が存在しているため (表), その遺伝子型の組み合わせは多岐にわたる。その中でも中和抗原を有する2種類のタンパク質, VP7 (外殻タンパク質, G型) およびVP4 (スパイクタンパク質, P型) の遺伝子型が血清型を反映していることから、これら2つの遺伝子型別調査が従来から重視されてきた。ワクチン導入以前は、世界的にG1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8]の5種類がヒトRVA流行株の大半を占めることが知られていた⁵⁾。しかし、RVAは分節型のゲノムを持つため、複数のウイルス株が同一個体に重複感染した際に遺伝子再集合 (リアソートメント) が起こり、新しい遺伝子型構成のウイルスが発生することがある。そこで、このような遺伝子再集合体 (リアソータント) を区別するため、2008年にRotavirus Classification Working Group (RCWG) により全遺伝子型の表記法が提案された。それによると、各遺伝子型をVP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5の順に、Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx (xは型番号) のように羅列表記する。この表記方法が普及した結果、ヒトRVA流行株のほとんどは、Wa遺伝子群 (G1-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1), DS-1遺伝子群 (G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2), AU-1遺伝子群 (G3-P[9]-I3-R3-C3-M3-A3-N3-T3-E3-H3) のいずれかの典型的な遺伝子型構成を有することが示されている。実際には、G1P[8], G3P[8], G4P[8], G9P[8]のほとんどがWa遺伝子群の遺伝子型構成を有するため、ワクチン導入

前のヒトRVA流行株の大半はWa遺伝子群のウイルスであったと考えられている。G2P[4]はDS-1遺伝子群であるが、ワクチン導入前に検出されていた割合は全体の約12%であった⁵⁾。

近年発生した新しいRVA流行株

近年は、遺伝子解析技術の向上により、フルゲノム解析による流行株の調査が行われることも多くなってきている。その結果、わが国にワクチンが導入された直後に当たる2012年に、非典型的な遺伝子型構成を持つDS-1-like G1P[8]株 (G1-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2) が初めて検出され、わが国をはじめ世界各国で流行を引き起こしていることが明らかとなった⁶⁻⁹⁾。この株は、典型的なWa-like G1P[8]株とDS-1-like G2P[4]株との間で、VP7およびVP4遺伝子の2つがリアソートメントを起こした結果、生まれたウイルスであると考えられる。この株は2015年頃までは、わが国でも流行していたが、現在は後述のDS-1-like G3P[8]株に置き換わり、検出は稀となっている。

2014年には、北海道においてG8P[8]株 (G8-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2) の流行がみられた。G8型は、以前は主にアフリカ大陸において散発的に流行が確認されていたが、北海道で検出されたG8P[8]株は遺伝的にこれとは異なり、ウシRVAのG8型に近い配列 (bovine-like G8) を持つウイルスであった。現在も日本を含め東南アジアを中心に流行が広がっている¹⁰⁻¹²⁾。

2015年頃からは、前述のDS-1-like G1P[8]株のVP7遺伝子のみが、ウマRVAに近いG3型に組み換わったDS-1-like G3P[8]株 (equine-like G3P[8]株) (G3-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2) の流行が、ヨーロッパ、オーストラリア、東南アジア等でほぼ同時に確認され、わが国においても主に2016年頃から広く流行が認められるようになってきている¹²⁻¹⁵⁾。

2018年には、G9P[8]株のNSP4遺伝子のみがE2型に組み換わったモノリアソータント株 (G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1) が、東京および大阪で検出されている。このウイルスは現在のところ国内のみの

表. 現在までに報告されているRVAの遺伝子型

遺伝子分節	型	種類	タンパク質の機能、型名の由来
VP7	G	36	Glycosylated
VP4	P	51	Protease-sensitive
VP6	I	26	Inner capsid
VP1	R	22	RNA-dependent RNA polymerase
VP2	C	20	Core protein
VP3	M	20	Methyltransferase
NSP1	A	31	Antagonist to interferon
NSP2	N	22	NTPase
NSP3	T	22	Translation enhancer
NSP4	E	27	Enterotoxin
NSP5	H	22	Phosphoprotein (NSP5 and NSP6)

報告であるが、今後の動向に注視が必要である^{12, 16)}。

現在のところ国内での報告は稀だが、海外では、以前までマイナーだったG12株 (G12-[6]/P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1) による大規模な流行が報告されており、わが国への侵入も懸念される¹⁷⁻¹⁹⁾。

まとめ

RVAの遺伝子型分布はシーズン間および地域間の差が大きいため、流行株の傾向を把握することは容易ではなく、幅広い地域での継続的な調査が求められる。近年新しく流行がみられたウイルス株のうち、DS-1-like G1P[8]株、G8P[8]株、DS-1-like G3P[8]株はいずれもDS-1遺伝子群に属するウイルスである。また、ワクチン導入後に検出割合が上がっているG2P[4]株も典型的なDS-1遺伝子群である^{9, 12, 20)}。これらはワクチン導入前に主流と考えられていたWa遺伝子群とは遺伝子型構成が大きく異なるが、この流行遺伝子型の大幅な変化に、ワクチン導入による選択圧の影響があったのか否かは定かではない。また、上記のうち、G8P[8]株とDS-1-like G3P[8]株は、動物のRVA由来と考えられる遺伝子を含んでいる点も軽視できない。現在のG9型流行株 (lineage 6) も、ブタRVAと共通祖先を持つことが知られており²¹⁾、今後も、同様に動物RVAの遺伝子の一部がヒトRVAとリアソートメントを起こすことにより、新しい流行株が発生する可能性はある。現行ワクチンは、開発当時に主要な流行株であったG1, G2, G3, G4, G9型の5種類のG型に対する防御効果が認められている。ワクチン接種や野生株への感染によって得られる免疫応答は幅広い交差反応性を示すことが知られているが、それらの研究は限定的であり、近年の流行株との交差反応性の検証は今後の課題である。

参考文献

- 1) Tate JE, *et al.*, Clin Infect Dis 62 Suppl 2: S96-S105, 2016
- 2) Asada K, *et al.*, Western Pac Surveill Response J 7 (4): 28-36, 2016
- 3) Fujii Y, *et al.*, BMC Pediatr 17 (1): 156, 2017
- 4) Araki K, *et al.*, Vaccine 36 (34): 5187-5193, 2018
- 5) Santos N, *et al.*, Rev Med Virol 15 (1): 29-56, 2005
- 6) Fujii Y, *et al.*, Infect Genet Evol 28: 426-433, 2014
- 7) Komoto S, *et al.*, PLoS One 10 (11): e0141739, 2015
- 8) Luchs A, *et al.*, Sci Rep 9 (1): 2210, 2019
- 9) Fujii Y, *et al.*, Front Microbiol 10: 38, 2019
- 10) Kondo K, *et al.*, Emerg Infect Dis 23 (6): 968-972, 2017
- 11) Tacharoenmuang R, *et al.*, PLoS One 11 (11): e0165826, 2016
- 12) Fujii Y, *et al.*, Jpn J Infect Dis 2019 (in press)
- 13) Komoto S, *et al.*, J Med Virol 90 (5): 890-898, 2018
- 14) Utsumi T, *et al.*, Infect Genet Evol 61: 224-228, 2018
- 15) Cowley D, *et al.*, J Gen Virol 97 (2): 403-410
- 16) 左近直美ら, IASR 40: 109, 2019
- 17) Bowen MD, *et al.*, J Infect Dis 214 (5): 732-738, 2016
- 18) Dhital S, *et al.*, BMC Pediatr 17 (1): 101, 2017
- 19) Motayo BO, *et al.*, Heliyon 5 (10): e02680, 2019
- 20) IASRシーズン別ウイルス検出状況 (胃腸炎ウイルス) (<https://nesid4g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data96j.pdf>)
- 21) Phan TG, *et al.*, Infect Genet Evol 7 (5): 656-663, 2007

国立感染症研究所ウイルス第二部 藤井克樹

<特集関連情報>

マルチプレックスPCRによるロタウイルスのVP7遺伝子型判定法

背景

A群ロタウイルス (Rotavirus A: RVA) は乳幼児の感染性胃腸炎の主な原因ウイルスである。ワクチンは、2011年11月 (Rotarix®) および2012年7月 (RotaTeq®) から任意接種ワクチンとして導入されているが、2020年10月からは定期接種化される予定である。RVAのゲノムは2本鎖RNAから成る11本の遺伝子分節で構成されており、その中でも、ウイルス粒子の外殻タンパク質を構成するVP7の遺伝子型 (G型) が、そのウイルスの抗原性を把握する上で重要である。前記事「ロタウイルスワクチン導入後の流行株の変化」でも述べた通り、RVAの主要な流行遺伝子型は、ワクチン導入以前はG1, G2, G3, G4, G9型の5種類とされていたが、ワクチン導入後は、非典型的な遺伝子型構成を持つDS-1-like G1やDS-1-like G3 (equine-like G3)、以前はマイナーだったG8 (bovine-like G8) など、新規の流行株が続々と出現し、わが国においても広く流行が認められている¹⁻³⁾。海外では既に広く流行しているG12型が⁴⁻⁶⁾、わが国に侵入して流行を引き起こす可能性も否定できない。このような状況から、RVAの検査体制の重要性はますます高まっている。VP7遺伝子型の判定法としては、マルチプレックスPCR法 (semi-nested multiplex-PCR) が従来から行われている。この方法は、シーケンスを解析することなく遺伝子型を調べることができるため、簡便かつ非常に有用な検査方法である。ただし、IASR 2017年8月号にて指摘した通り⁷⁾、従来まで使用されていたプライマーセット (Gouvea's primer set) は、近年の流行株では誤判定となる例が多数見受けられる。そこで、我々は、

表. VP7 genotypingのための新規プライマーセット

	Primer	5'- Sequence -3'	position	Product Size (bp)
1st PCR	VP7 C-040F	CTCCTTTTAATGTATGGTATTGAATATACC	40-69	902
	VP7 C-941R	GTATAAANACTTGCCACCATTTTTTCCA	913-941	
2nd PCR	VP7 C-0932R	ACTTGCCACCATTTTTTCCA	913-932	636 532 124 176 455 754 327 264
	G1-297F	GTATTATCCAACCTGAAGCAAGTAC	297-320	
	G2-401F	TTAAAGACTACAATGATATTACTACATT	401-428	
	G3-809F	CAAGGGAAAACGTRGCAGTTA	809-829	
	G3e-757F	CTAGATGTTACTACGGCTAC	757-776	
	G4-478F	TTCGCTTCTGGTGAGGAGTTG	478-498	
	G8-179F	TTACRCCATTGTAAATTCACAG	179-201	
	G9-606F	GATGGGACARTCTTGTACCATA	606-627	
	G12-669F	TACRACAACCGACGTCACA	669-687	

bp, 最大で754 bp) となるように設計されており, 一般的なアガロースゲル電気泳動で容易に判定できるように設計した。詳細な方法については, 2019年6月に改訂した病原体検出マニュアル (第2版) に記載されている (<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Rotavirus20190619.pdf>)。また, 同内容については既に論文⁸⁾でも報告されているので, 参考にしていただきたい。

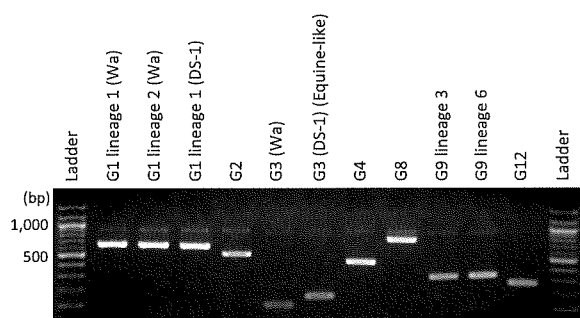


図. 新規プライマーセットによるPCR増幅産物のアガロース電気泳動結果

おわりに

今回新たに設計したプライマーセットは, 現在ヒトの間で流行している RVA 株のほとんどをカバーできると考えられる。しかし, RVA の流行株は近年, 非常に多彩であり, これまでに流行していなかった遺伝子型が突然出現し, 流行し始める可能性も十分考えられる。今後も RVA の流行株について継続的な調査を行い, どのような遺伝子型が流行しているかを把握し, 検査方法やプライマーの配列も流行株に合わせて適宜

変更していくことが求められる。

謝辞

本研究は, 日本医療研究開発機構 (AMED) 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業「下痢症ウイルスの病原性発現機構の解明及び新規治療薬・ワクチン等の開発に向けた研究」(研究代表者: 染谷雄一, 課題管理番号: 18fk0108034j0202) および「ワクチン導入後のロタウイルスのフルゲノム解析に基づく分子疫学研究」(研究代表者: 藤井克樹, 課題管理番号: 18fk0108078j0001) の研究活動の一環として実施された。

参考文献

- 1) Fujii Y, *et al.*, Front Microbiol 10: 38, 2019
- 2) Komoto S, *et al.*, J Med Virol 90 (5): 890-898, 2018
- 3) Kondo K, *et al.*, Emerg Infect Dis 23 (6): 968-972, 2017
- 4) Bowen MD, *et al.*, J Infect Dis 214 (5): 732-738, 2016
- 5) Dhital S, *et al.*, BMC Pediatr 17 (1): 101, 2017
- 6) Motayo BO, *et al.*, Heliyon 5 (10): e02680, 2019
- 7) 藤井克樹, IASR 38: 172-174, 2017
- 8) Fujii Y, *et al.*, Front Microbiol 10:647, 2019

国立感染症研究所ウイルス第二部 藤井克樹

近年の流行株に対応した新しいプライマーセットを開発したので, ここに紹介する。

新規プライマーセットによる VP7 遺伝子型判定法

我々が新たに設計したプライマーセットを表に示す。まず, RNA 検体について 65°C, 5 分間の熱変性を行った後, 保存性の高い領域に設計した 1st PCR 用共通プライマー (VP7 C-040F (30) および VP7 C-941R (29), 終濃度各 0.4 μ M) で RT-PCR を行う。この 1st PCR 産物を滅菌蒸留水で 50 倍に希釈し, 2nd PCR 用共通リバースプライマー (VP7 C-0932R (20)) および各遺伝子型特異的フォワードプライマー (G1-297F, G2-401F, G3-809F, G3e-757F, G4-478F, G8-179F, G9-606F, G12-669F, 終濃度各 0.2 μ M) を混合したプライマーセットで 2nd PCR (マルチプレックス PCR) を行う。この 2nd PCR 産物について, 1.5% アガロースゲル電気泳動でサイズを確認し, G 型の判定を行う。その結果例を図に示す。このプライマーセットにより, G1 型, G2 型, G3 型 (従来のヒト G3), equine-like G3 (ウマ様 G3 (G3e)), G4 型, G8 型, G9 型, G12 型の 8 種類を区別して判定することが可能である。G3 型に関しては, 従来から流行しているヒト G3 (lineage 3) と, 近年流行し始めたウマ様 G3 (lineage 1) の塩基配列が大きく異なっており (塩基配列の相同性は 82% 程度), 1つのプライマーで両者を検出することは困難であると考えられたため, プライマーは個別に設計し, 区別して検出できるように配慮した。また, 各遺伝子型間のサイズの差はおおむね 100 bp 程度 (最小で 124

<特集関連情報>

静岡市における2018/19シーズンのA群ロタウイルスG8P[8]の流行について

概 要

静岡市では、2015/16シーズンに、こども園を中心としたA群ロタウイルス(RVA)の小流行が発生して以降、地域の小児科医と連携し、ロタウイルス胃腸炎患者検体の収集・解析を行っている。2018/19シーズンにおいて、これまで国内でもほとんど検出されていなかったRVA G8P[8]の流行を経験したので報告する。

方 法

国立感染症研究所病原体検出マニュアルに従って、VP7 (G型) 遺伝子についてRT-PCR法で増幅し、シーケンス解析を行った。遺伝子型の判定はBLASTおよびRotaCを用いて行った。さらに、遺伝子型G8のウイルスが検出された検体についてVP4 (P型)、VP6 (I型)およびNSP5/6 (H型) 遺伝子についても同様に解析を行った。

結果・考察

2018/19シーズンでは、2検体からG2, 64検体からG8, 5検体からG9が検出された(表1)。RVAは11本の分節ゲノムを有し、その遺伝子型の組み合わせはGx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx (xは数字)と表記される。多くのRVAはWa-like遺伝子群、DS-1-like遺伝子群に分類され、それらの遺伝子型構成は、それぞれG1/3/4/9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1, G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2と表記される。過去にほとんど検出されていないG8が多数検出されたため、検出されたG8がどの遺伝子群であるの

か調べる目的で、分節遺伝子のうちVP4, VP6, NSP5/6の各遺伝子について解析を行った。解析できた39例はすべてG8-P[8]-I2-H2であり、DS-1-like遺伝子群である可能性が高いことが分かった。また、断片的に解析できた事例においても矛盾するものはなかった。

G8は病原微生物検出情報によると2013/14シーズン以降1シーズン当たり数例から数十例程度の報告しかないマイナーな型であるが、2014年に北海道¹⁾、2017年に静岡県中部²⁾でアウトブレイクが報告されている。これらの報告によると、アウトブレイクを起こしたG8は当所で検出されたものと同様のDS-1-likeのG8P[8]であることが示唆されている。2018/19シーズンの検体のVP7遺伝子の塩基配列について1検体を抜き出して比較したところ、2017年の検体との相同性は99.67%、2014年北海道の検体との相同性は99.56%だった。以上の結果から、本市で流行したG8については2013/14シーズン前後から国内で広がっていったものである可能性が高いと考えられる。また拡大したと考えられる時期はロタウイルスワクチン導入後に当たり、ワクチン接種が影響した可能性も否定できない。

また、静岡県中部におけるアウトブレイクの報告では、G8感染患者において、ロタウイルスワクチン接種者では症状が穏やかになるとの報告がされている。当所で検出されたG8感染患者でも同様の傾向があるかどうか調べる目的で、ロタウイルスワクチン(Rotarix®およびRotaTeq®)導入後の患者である7歳未満のG8感染患者41人を抜き出し、ワクチン接種歴あり(18人: Rotarix®12人・RotaTeq®6人)、なし(23人)で分類し、重症度の指標である変法Vesikariスコア³⁾表2を比較した。ワクチン接種歴なし群(10.8±3.4)より、ワクチン接種歴あり群(8.6±2.6)の平均Vesikariスコアが低く(P<0.05)、報告と矛盾しない結果となった。ただし、他の遺伝子型(G2, G1)のRVAと比べると、ワクチンによる症状の抑え方が異なる傾向があり、現在継続して調査・研究を行っているところである。

謝辞

検体提供等に多大なるご協力をいただきました「キッズクリニックさの」佐野正先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) Kondo, *et al.*, Emerging infectious diseases 236: 968, 2017
 - 2) Hoque, *et al.*, Vaccine 361: 43-49, 2018
 - 3) Ruuska, *et al.*, Scandinavian journal of infectious diseases 223: 259-267, 1990
- 静岡市環境保健研究所
前畑高明 岡村 創 浅沼理子 丸山幸男

表1. 静岡市におけるシーズン別G型別の結果 (2015/16~2018/19)

遺伝子型 (G型)	シーズン			
	2015/16	2016/17	2017/18	2018/19
G1	—	—	1	—
G2	9	13	27	2
G3	—	2	5	—
G8	—	5	—	64
G9	1	11	1	5
NT	1	—	1	6
計	11	31	35	77

表2. 変法Vesikariスコア (※が改変部分)

スコア	0	1	2	3
24時間当たり最高嘔吐回数	0	1	2-4	5≤
嘔吐継続日数	0	1	2	3≤
24時間当たり最高下痢回数	0	1-3	3-5	6≤
下痢継続日数	0	1-4	5	6≤
最高体温	<37	<38.5	<39	39≤
脱水継続日数※	0	1-2	3-4	5≤
点滴継続日数※	0	1-2	3≤, 入院	

＜特集関連情報＞

大阪府におけるロタウイルス検出状況

ロタウイルスによる胃腸炎の流行状況は5類感染症として全国では約500の基幹定点病院にてロタウイルスと診断された感染性胃腸炎（ロタウイルス胃腸炎）の患者報告数によって推察することができる。基幹病院における対象患者は入院例が多くを占めると考えられるが、病院によっては外来患者を含めてカウントされている場合がある。大阪府において報告される小児科定点医療機関（小児科定点数197：2019年第44週現在）から報告される感染性胃腸炎患者報告数と、基幹病院（基幹病院定点数17：2019年10月17日現在）からのロタウイルス胃腸炎患者報告数について2017年第1週～2019年第44週までを抽出した（図1）。その結果、基幹病院において報告されたロタウイルス胃腸炎患者報告数は2017年237人、2018年239人、2019年（第44週まで）376人であり、2019年には増加していたことが分かった。年齢構成は1歳をピークとして年齢とともに減少していく傾向があり、2019年は相対的にすべての年齢区分で増加していた。そこで2015～2019年度（9月まで）の5年間について、感染症発生動向調査に基づき検査された感染性胃腸炎の患者から検出されたロタウイルスについて遺伝的解析を実施した（大阪市、堺市除く）。VP7に基づく遺伝子型別（G typing）において主要な遺伝子型が毎年入れ替わっていることが分かる（次ページ図2）。2019年は過去5年間で検出数が最も多く、G9が28件（80%）検出され、本年の主要な遺伝子型となっていた。2019年には入院症例が10件含まれており、そのうち6件からG9、2件からG8が検出された。2017年に初めて検出されたG8も2019年は7件と増加していた。

我々は、2018年3月の新生児集中治療室（NICU）における集団発生の原因がG9であり、11分節の型別はNSP4遺伝子がE2であるG9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1のモノリアソータントであったことを報

告した¹⁾。そこで、2019年のG9について注目し、4月以降に検出した20株についてVP7-VP4-VP6-NSP4の遺伝子型別を実施した。3株（15%）はG9-P[8]-I1-E1であったが、17株（85%）はG9-P[8]-I1-E2であった。さらに、5年間に検出されたG9 44株のうち37株についてLineageを決定したところ^{2,3)}、1株を除きすべてLineage 6 (L6) に分類された。L6に属さなかった1株はG9-P[8]-I1-E1であり、L3に分類された。つまり、このモノリアソータントウイルスは、G9のうちL6に属するウイルスのNSP4遺伝子がE1からE2に組み換わったものであり、2018～2019年にかけて広まったことが明らかとなった。また、2018年の東京都においてもG9のモノリアソータントの流行が報告されており⁴⁾、これらは同じウイルスであると考えられる。NSP4は病原性に関連する因子の1つと考えられていることや、ワクチン株由来の重症例報告においてもNSP4に変異を検出した⁵⁾ことから、NSP4の遺伝的な変化が今般のG9流行の一要因であったかもしれない。

以上の結果より、2019年は基幹病院から報告されるロタウイルス胃腸炎数および感染性胃腸炎検体からの検出数も増加し、ロタウイルスの流行が過去2年に比べて大きいことが明らかとなった。流行の主要な流行株はG9であり、モノリアソータント株であることが考えられた。

なお、5年間に105株のロタウイルスを検出したが、ワクチン歴が記載され、ロタウイルス胃腸炎を発症した症例は13件あった。そのうち、12件のG typingの結果はG2、G3がそれぞれ4件、G9が3件、G8が1件であり、特定のG typeへの偏りはないと考えられた。残りの1件はRotarix®投与2日後に発症し、患者からワクチン株が検出された事例であった。

今回明らかとなったモノリアソータントウイルスの流行事例から、ロタウイルスサーベイランスに当たっては、11分節の型別を実施する必要があると考えられた。

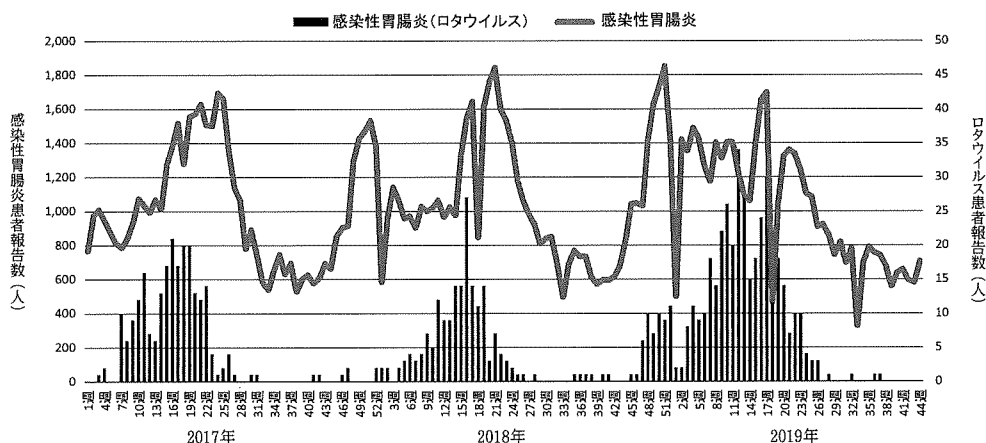


図1. 小児科定点からの感染性胃腸炎患者報告数と基幹定点からのロタウイルス患者報告数（大阪府）

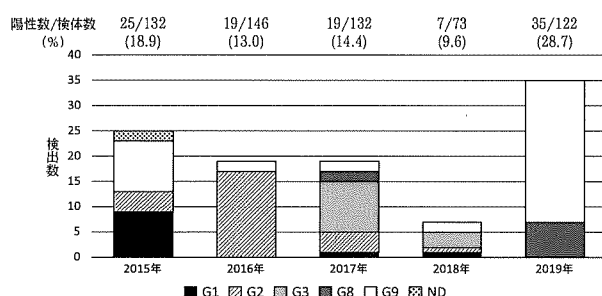


図2. 過去5年間のロタウイルス検出数とG type

参考文献

- 1) 左近直美ら, IASR 40: 109, 2019
- 2) Phan TG, *et al.*, Infect Genet Evol 7: 656-663, 2007
- 3) Fujii Y, *et al.*, Front Microbiol 10: 38, 2019
- 4) Fujii Y, *et al.*, Jpn J Infect Dis, <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2019.211> (Epub ahead of print)
- 5) Sakon N, *et al.*, Eur J Pediatr 176: 1275-1278, 2017

大阪府健康安全基盤研究所 ウイルス課
 左近直美 白井達哉 本村和嗣
 大阪府感染症情報センター 西尾孝之
 大阪府 健康医療部 医療対策課 田邊雅章
 大阪市保健所 吉田英樹
 堺市衛生研究所 山本 憲

<特集関連情報>

ロタウイルス感染症の臨床

臨床的特徴

ロタウイルスは糞便を介して経口感染し、小腸上皮細胞で増殖する。通常48時間未満の潜伏期間を経て、軽微な発熱、嘔吐で発症し、24～48時間後から最長14日間（通常3～7日間）の水様性下痢を伴う¹⁻⁴⁾。

時に脱水症やけいれん、脳炎・脳症などの重篤な合併症がみられることがある。ロタウイルス胃腸炎との関連が示唆された合併症を次ページ表に示す⁵⁾。わが国における急性脳炎・脳症の調査（2007～2016年）によると、5歳未満児1,893例の原因病原体はインフルエンザ（18.6%）、HHV-6/7（9.7%）に続き、ロタウイルス（4%）は3番目に多かった⁶⁾。他の調査（2009～2011年）では、ロタウイルス関連の急性脳炎・脳症症例は年間44例と推定され、後遺症および死亡の頻度はそれぞれ25.9%、12.1%であった⁷⁾。合併症の一つである胃腸炎関連けいれんは、急性胃腸炎の発症から1～6日（平均2.3日）に生じ、30秒から3分間の全身性けいれんが1～7回群発する特徴を有する。通常、発熱や脱水、電解質異常を伴わない。カルバマゼピンが有効であり、予後良好である⁸⁾。

乳幼児はロタウイルス感染症の罹患リスクが高いが、重症例は生後6か月～2歳児の初感染時に多い。終生免疫は得られずに反復感染するが、再感染ごとに臨床症状は徐々に軽症化する。免疫不全宿主は重症化および遷延化のリスク因子である¹⁻⁴⁾。

検査所見

通常、血液検査所見に異常を認めないが、重症度により血清電解質異常、BUN上昇、低血糖、代謝性アシドーシスなどを伴うことがある。臨床現場での病原診断は、便の迅速抗原検査を用いることが多く、検査の感度・特異度は高い^{3,4)}。

治療

ロタウイルス感染症に特異的な治療はなく、合併症に対する対症療法を行う¹⁻⁴⁾。中等度以下の脱水を伴う急性ウイルス性胃腸炎の初期治療として経口補水液による経口補水療法が、また重度の脱水では経静脈輸液療法を優先することが推奨されている。脱水の補正後はミルクや年齢相応の食事を早期に開始しても良い。整腸薬プロバイオティクスは下痢の期間を短縮する可能性がある⁹⁾。

予防

ロタウイルスワクチン

接種後の腸重積症発症の懸念から、初回接種は生後14週6日までに行うことが推奨されている。しかし、新生児集中治療室（NICU）に長期入院した早産児などにおいて、入院中の接種における院内感染上の安全性および退院後に接種を開始した場合の安全性が課題となっている。早産児はロタウイルス感染症の重症化リスクが高いため^{10,11)}、接種機会を逃さないよう対応策の検討が必要とされる。なお、ワクチンの一般的事項、有効性、安全性は他項を参照していただきたい。

ワクチン以外の予防策

ロタウイルスが感染伝播する期間は、発症2日前～発症後10日後までであり、20分未満のウイルス曝露で感染が成立すると言われている¹⁾。また、ロタウイルスは環境中で安定しており、数週間～数カ月間生存し続ける可能性が示唆されている^{1,2,4)}。したがって、流水による手洗いの徹底やオムツなどの適切な処理、次亜塩素酸ナトリウムによる環境消毒、患者の隔離が感染拡大防止の基本となるが、実際には完全な感染予防は困難である⁹⁾。

症例提示（実際の症例をベースにした架空の例）

以下に臨床現場で遭遇するロタウイルス胃腸炎の典型例を提示する。

【症例】1歳2か月 女児

【主訴】嘔吐、水様性下痢、意識障害

【現病歴】20XX年2月、受診の2日前に微熱および数回の嘔吐、前日から10回以上の酸臭を伴う白色水様下痢を認め、経口摂取も不良となったため受診した

【周産期歴・既往歴】特記事項なし

表. ロタウイルス胃腸炎との関連が示唆された合併症

中枢神経系	胃腸炎関連けいれん、熱性けいれん、髄膜炎、脳炎・脳症、ギラン・バレー症候群、ライ症候群、出血性ショック脳症症候群
消化器系	腸重積症、胆道閉鎖症、壊死性腸炎、肝障害、消化管出血・潰瘍、急性肝炎、蛋白漏出性胃腸症
腎・尿路系	急性腎不全、高尿酸血症、尿管結石、溶血性尿毒症症候群、ネフローゼ症候群
呼吸器系	間質性肺炎
血液系	血球貪食症候群、播種性血管内凝固症候群
筋系	横紋筋融解症、筋炎
その他	低カルシウム血症、I型糖尿病、乳児突然死症候群

5)より引用改変

【予防接種歴】ロタウイルスワクチン未接種

【入院時現症】体重8.4kg (10%減少), 意識レベル痛み刺激で開眼, 体温38℃台, 脈拍数188回/分, 収縮期血圧70mmHg (触診法), 呼吸数45回/分, SpO₂ 92% (room air), 末梢性チアノーゼ, 毛細血管再充満時間4秒, 皮膚・粘膜乾燥, ツルゴール低下, 眼周囲陥凹, 胸部異常所見なし, 腹部腸蠕動音亢進, 髄膜刺激症状なし

【検査所見】

・血液検査: WBC 14,000/ μ L (Neu88.1%, Lym10.5%), Hb 15.1g/dL, CRP 1.2mg/dL, ALT 50IU/L, BUN 26mg/dL, Cr 0.8mg/dL, Na 150mEq/L, Cl 112mEq/L, 血糖 188mg/dL, pH 7.222, pCO₂ 31.1mmHg, HCO₃ -12.3mEq/L

・尿検査: 比重>1.030, ケトン体 (3+)

・便検査: 潜血 (3+), 膿球 (一), ロタウイルス迅速抗原検査 (+)

・血液培養: 陰性

・便培養: 病原細菌の検出なし

【臨床経過】来院時, 意識障害および低血圧性ショックを認め, 救急外来で輸液蘇生 (細胞外液ボラス投与を3回), 酸素投与を行った結果, 意識レベルは改善し, ショックから離脱した。ロタウイルス胃腸炎および循環血液量減少性ショックの加療目的で入院とし, 経静脈輸液療法を開始した。以後, 水様性下痢は持続していたものの経口摂取は良好となり, 入院4日目に後遺症なく軽快退院となった。

まとめ

ロタウイルス感染症は, 外来受診や入院, 重篤な合併症により身体的, 時間的, 経済的な疾病負担が大きい。さらに, 感染力は非常に強く, 家族内や集団生活施設内, 病院内において, しばしば患者から周囲の者への感染伝播も問題となっている。ロタウイルスワクチンの定期接種化により, これらの負担軽減が期待される。

参考文献

- 1) Center for Disease Control and Prevention: Chapter 19; Rotavirus. "The Pink Book 13th ed."

CDC, Atlanta, 311-324, 2015

- 2) Committee on Infectious Diseases, American Academy of Pediatrics: Rotavirus. Red Book 2018-2021: Report of the Committee on Infectious Diseases 31st ed, Kimberlin DW, *et al.*, ed. Amer Academy of Pediatrics, Itasca, 700-704, 2018

- 3) O'Ryan MG, Matson DO: Clinical manifestations and diagnosis of rotavirus infection. Edwards MS, ed. UpToDate. Waltham, MA: UpToDate Inc. <https://www.uptodate.com> (2019年11月21日アクセス)

- 4) Prasad P, Fedorowicz Z: Rotavirus Gastroenteritis. Last updated [2018 Dec 03]. DynaMed. <http://www.DynamicMedical.com> (2019年11月21日アクセス)

- 5) 津川毅ら, ロタウイルス胃腸炎. 臨床と微生物, 40 (2), 149-154, 2013

- 6) 奥野英雄ら, 臨床とウイルス, 45 (5), 220-229, 2017

- 7) Kawamura Y, Brain Dev 36 (7): 601-607, 2014

- 8) Uemura N, *et al.*, Brain Dev 24 (8): 745-749, 2002

- 9) 小児急性胃腸炎診療ガイドライン ワーキンググループ: 小児急性胃腸炎診療ガイドライン 2017年版. 日本小児救急医学会診療ガイドライン作成委員会編, 東京, 1-40, 2017

- 10) Sharma R, *et al.*, Pediatr Infect Dis J 21 (12): 1099-1105, 2002

- 11) Newman RD, *et al.*, Pediatrics 103 (1): E3, 1999

川崎医科大学小児科学教室
田中孝明 中野貴司

<特集関連情報>

急性脳炎として感染症発生動向調査に届出されたロタウイルス脳症の疫学

背景

感染症に伴う急性脳炎は病原体が頭蓋内で直接炎症をおこしているもの, 急性脳症は感染を契機とした生体反応による中枢神経の機能障害と区別されることが多い¹⁾。小児においてロタウイルス感染症とけいれんとの関連は従来より指摘されており, 意識障害が持続する症例でロタウイルス脳症と診断される症例もあるが, 発生機序については明らかになっていない^{2,3)}。意識障害の持続はロタウイルス感染症の神経系合併症の

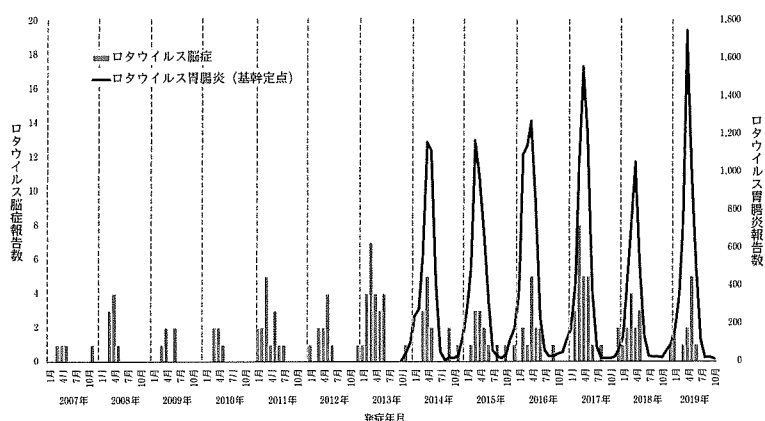


図1. ロタウイルス脳症および基幹定点医療機関からのロタウイルス胃腸炎の報告数 (2019年11月6日時点)

表. ロタウイルス脳症報告例の特性 (2007年第1週～2019年第43週、n=160)

	中央値	範囲
年齢 (歳)	3	0～12
性別		
男性	77	48
症状および検査所見* (重複を含む)		
発熱	134	84
けいれん	111	69
嘔吐	83	52
髄液細胞数増多	11	7
死亡例 (届出時点)	11	7

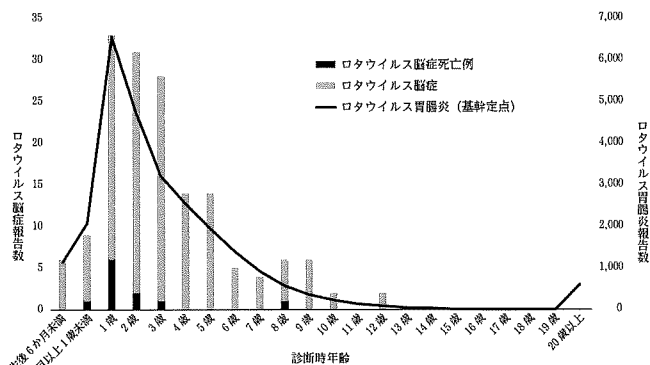


図2. 死亡の有無別のロタウイルス脳症およびロタウイルス胃腸炎報告例の年齢分布

一つであり、2020年10月からの定期接種化が予定されているロタウイルスワクチンによる効果を評価する上でもこれらの症例の疫学を把握する事は重要と考えられる。本稿では、急性脳炎として感染症発生動向調査に届出されたロタウイルス脳症症例の疫学についてまとめた。

方法

5類感染症全数把握疾患である急性脳炎は、ウエストナイル脳炎、西部ウマ脳炎、ダニ媒介脳炎、東部ウマ脳炎、日本脳炎、ベネズエラウマ脳炎およびリフトバレー熱を除く急性脳炎・脳症 (以下、急性脳炎) が届出対象である。本稿におけるロタウイルス脳症は、感染症発生動向調査に2007年第1週～2019年第43週に報

告された急性脳炎症例のうち、原因病原体・検出病原体としてロタウイルスが記載されているものとした。ロタウイルスを含む複数の病原体が記載されているものも症例に含めた。

一方、感染性胃腸炎 (病原体がロタウイルスであるものに限る) (以下、ロタウイルス胃腸炎) は、5類感染症基幹定点把握疾患として2013年第42週からサーベイランスが始まっており、2019年第43週までに報告された症例を集計した。

結果

急性脳炎は集計期間に6,018例が報告され、そのうちロタウイルス脳症は160例であった (他の病原体検出が記載されている14症例を含む、2019年11月6日時点)。ロタウイルス脳症は各年3～5月に報告が多く、ロタウイルス胃腸炎の報告時期と一致した (図1)。

ロタウイルス脳症報告例の年齢中央値は3歳、範囲は0～12歳で、全症例が15歳未満の小児であり、1歳の報告が最も多かった (表、図2)。基幹定点から報告されたロタウイルス胃腸炎は、小児例が大半を占めたが20歳以上の成人例も601例 (10%) が報告された。

届出票に記載されている症状・検査所見のうち、発熱を認めたものは134例 (84%)、けいれんは111例 (69%)、嘔吐は83例 (52%)、髄液細胞数増多は11例 (7%) であった (表)。

ロタウイルス脳症と診断した根拠となる病原体診断の方法は、便を検体として迅速診断キットでロタウイルスが検出された症例が14例 (9%)、PCR法

でロタウイルスゲノムが検出された症例が11例 (7%) あったが、検査法やロタウイルスが検出された検体の記載がなかった症例が多かった (n=133, 83%)。

届出時点で死亡と報告された症例は11例であり、1歳が最多で6例、最も年長の報告例は8歳であった (図2)。発症月は4月が最も多く4例、次いで5月が3例、1月が2例、2月と3月がそれぞれ1例であった。移植治療後の症例も含まれていた。

まとめ

感染症発生動向調査で急性脳炎として報告された症例のうち、病原体がロタウイルスと報告された症例は毎年報告されており、ロタウイルス胃腸炎の報告時期と一致して春期に多かった。届出時点で既に死亡と報

告された症例が7%含まれていた。重症化予防を期待して、2020年10月からロタウイルスワクチンの定期接種化が予定されているが、定期接種化に伴ってロタウイルス脳症の疫学の変化を継続して評価していく事が重要と考えられた。

制 約

感染症発生動向調査に基づく急性脳炎の届出において原因病原体の記載は必須ではなく、病原体不明として報告された症例にロタウイルス脳症が含まれている可能性がある。また届出後に死亡した症例の転帰を把握できないため、前述の死亡報告数は実際より少ない可能性がある。

謝辞

平素より感染症発生動向調査にご協力いただいている関係者の皆様に深謝いたします。

参考文献

- 1) 日本小児神経学会, 急性脳症の概念と疫学
- 2) Park SH, *et al.*, Brain Dev 37 (6): 625-630, 2015
- 3) Rath BA, *et al.*, Clin Pediatr (Phila) 52 (3): 260-264, 2013

国立感染症研究所感染症疫学センター

<特集関連情報>

日本におけるロタウイルスワクチンの効果

1. はじめに

2006年より現行のロタウイルスワクチン (RV1: Rotarix®, RV5: RotaTeq®) が開始された米国・ヨーロッパなどではその後速やかに、ワクチンが劇的に死亡や重症下痢症の数を減少させることが示された。2009年、世界保健機関 (WHO) はロタウイルスワクチンを各国の定期接種に導入する事を推奨した。さらに2013年には「現在のワクチンは腸重積症のわずかな上昇が認められる (初回接種後1-2/100,000人の増加) 以外には安全で忍容性は良好であること、両ワクチンの腸重積症リスクはRotaShield®の1/5-1/10であり、重症胃腸炎や死亡を防ぐベネフィットは、腸重積症の増加リスクをはるかに上回る」という見解を表明した。以後、現在では80カ国以上がワクチンを定期予防接種プログラムに導入し、世界的にもロタウイルス感染による死亡や重症下痢症は減少している。

日本でも2011年11月、2012年7月にRV1, RV5がそれぞれ市販されてから8年近くが経過する。本稿ではこれまでの国内でのロタウイルスワクチンの効果について述べる。

2. ワクチン導入前のロタウイルス疾病負担

ロタウイルスワクチン導入前の日本における5歳未満児のロタウイルス胃腸炎入院率の調査は各地域で実施され、4.1-5.3人/1,000人年 (2008-10年京都)¹⁾、2.8-4.7人/1,000人年 (2007-09年三重)²⁾、13.7人/1,000

人年 (2001-11年秋田)³⁾、5.59人/1,000人年 (2007-13年愛知)⁴⁾と報告されている。これらは地域や年度によるばらつきがあるが (秋田県では常に高い入院率が示されてはいたものの)、米国や英国などの海外諸国と比べても同程度の入院率であった。いくつかの疫学データ上、国内では年間80万人が医療機関を受診し、うち26,000-78,000人が入院加療を要し、数-10名が死亡するという疾病負担を有していた^{5, 6)}。

3. 臨床試験

ワクチンが市販される前の国内臨床試験は双方ともランダム化比較試験で行われた。このときの重症下痢症に対するVaccine efficacyはRV1で91.6% (95%CI: 6.4-99.1%), RV5で100%, すべての下痢症に対してはRV1で79.3% (95%CI: 60.5-87.8%), RV5で74.5% (95%CI: 39.9-90.6%) と、とりわけ重症下痢症に対してはより高い効果があることが示された^{7, 8)}。

4. 市販後のVaccine effectiveness (VE)

日本での実地臨床におけるVEについては、これまで佐賀や秋田から報告されている。両地域でのCase-control studyによると5歳未満児のロタウイルス感染入院に対するVEは、76.8% (95%CI: 51-89%, 秋田県由利本荘地域)⁹⁾、86.6% (95%CI: 55.9-96.0%, 佐賀県)¹⁰⁾であった。Arakiらはさらに重症度別、ワクチン種別でも検討し、すべての下痢症に対してはRV1で80.6%, RV5で80.4%であるが重症下痢症では臨床試験同様に97.3% (95%CI: 88.8-99.3%) と高い値であったことを示している¹¹⁾。

これらには若干の差異はあるが両者の95% CIはオーバーラップしており、また臨床試験の際のVEともおおそ合致しているものである。加えて諸外国のVEと比較しても同様である。

5. 入院率の変化

ワクチン導入前後での、5歳未満児のロタウイルス胃腸炎による入院率の解析を紹介する。東日本大震災後の2012年から助成を開始した岩手県気仙沼地域では、2013年には接種率95%の状況下で5歳未満児の84%の入院率の減少を認めた¹²⁾。その後全国的にも助成を行う自治体の増加やワクチンの認知度の広まりから徐々に接種率は上がり、現在国内の接種率は60%を超えている。

さらには、Asadaらが三重県津市で行った調査においてワクチン導入直後の2011-13年の入院率は3.0-5.5人/1,000人年であったが、2013-15年は0.6-0.8人/1,000人年と、85.7%の入院率の減少¹³⁾が認められた。またYoshikawaらの名古屋市における調査では導入前 (2007-11年) 5.59人/1,000人年から導入後 (2012-16年) 3.65人/1,000人年 (95%CI: 3.13-4.23人/1,000人年) となり、すなわち入院率は76%の減少を呈している⁴⁾。その後も保険診療記録を基にした大規模調査が報告されており^{14, 15)}、いずれもほぼ同等の入院率減

少効果が示されている。

前述のVE studyを行った秋田県由利本荘地域においてもワクチン導入後2シーズンを過ぎた頃から入院率の減少を認めるようになった。ワクチン開始前10年間(2001~10年)の入院率は平均13.7人/1,000人年であったが、2014~17年の3シーズンの平均入院率は3.3人/1,000人年と76%の減少をみた。この地域では助成が行われ昨年では接種率90%以上であるが、ワクチンの有効性が入院率に十分反映されているといえる。

6. 年長児への効果

Kobayashiらは、2014年のシーズンにはワクチン接種対象ではなかった3~5歳児においてもロタウイルス入院率が65%減少したことを述べている¹⁴⁾。すなわち、ワクチンによる集団免疫効果が有効に作用していることを示唆しており、諸外国でも同様の現象が報告されている。一方でAsadaらは、2007~11年と2011~15年の比較において0~3歳未満の入院率は有意に減少したが、3歳以上5歳未満児では入院率に有意差がなかったと記している¹³⁾。加えて、Kobayashiらの追加報告では2009~17年において5~10歳のロタウイルス入院率には明らかな低下がなかったことを述べている¹⁶⁾。まだ評価が分かれるところではあるが、今後の接種率の向上により集団免疫効果が明確になる可能性は高いと考えられる。加えて、ワクチンの有効性が示され、かつ接種率が上昇した現況においては、接種数年後すなわちワクチン効果が下がってくる年長児世代の臨床病態や入院率の変化の有無についても今後のフォローアップが必要である。

7. リスクとベネフィット

腸重積症のリスクと感染予防のベネフィットの観点から、Ledentは国内のRV1の評価において、ワクチンにより惹起される腸重積症入院または死亡1に対し、350(95%CI: 69-2510)のロタウイルス感染による入院、366(95%CI: 59-3271)の死亡が防げると述べている¹⁷⁾。ワクチン評価に関する小委員会での評価でも、腸重積症が1例生じる間に480例のロタウイルス胃腸炎入院例が予防されると推計されており、以上から国内でも海外諸国と同等にベネフィットがリスクを十分に上回ると考えられる。

8. 最後に

2019年10月2日、ロタウイルスワクチンを新たに定期接種の対象とすることが厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会で決定された。2020年10月1日から開始され、同年8月生まれ以降の乳児が対象となる。定期化による接種率の向上が日本でどのようなベネフィットとリスクをもたらすのかについて、加えて医療経済効果やgenotypeの変遷などについても引き続き幅広い観察と評価が望まれる。

参考文献

1) Ito H, *et al.*, Vaccine 29: 7807-7810, 2011

- 2) Kamiya H, *et al.*, Jpn J Infect Dis 64: 482-487, 2011
- 3) Kinoshita S, *et al.*, Jpn J Infect Dis 67: 464-468, 2014
- 4) Yoshikawa T, *et al.*, Vaccine 36: 527-534, 2018
- 5) Nakagomi T, *et al.*, J Infect Dis 192 Suppl 1: S106-10, 2005
- 6) Nakagomi T, *et al.*, Vaccine 27 Suppl 5: F93-6, 2009
- 7) Kawamura N, *et al.*, Vaccine 29: 6335-6341, 2011
- 8) Iwata S, *et al.*, Hum Vaccin Immunother 9: 1626-1633, 2013
- 9) Fujii Y, *et al.*, BMC Pediatr 17: 156, 2017
- 10) Araki K, *et al.*, J Epidemiol 29: 282-287, 2019
- 11) Araki K, *et al.*, Vaccine 36: 5187-5193, 2018
- 12) 瀧向透ら, 日本小児科学会誌 119: 1087-1094, 2015
- 13) Asada K, *et al.*, WPSAR 7: 28-36, 2016
- 14) Kobayashi M, *et al.*, Vaccine 36: 2727-2731, 2018
- 15) Kimura T, *et al.*, J Infect Chemother 25: 175-181, 2019
- 16) Kobayashi M, *et al.*, Hum Vaccin Immunother 1-6, 2019
- 17) Ledent E, *et al.*, Drug Saf 39: 219-230, 2016

秋田大学大学院医学系研究科小児科学 野口篤子

<特集関連情報>

腸重積症サーベイランスのアップデート

ロタウイルスは小児の重篤な下痢症の最大の原因病原体であり、主に乳幼児に急性胃腸炎を引き起こす。ロタウイルスは非常に強い感染力を持ち、ごくわずかなウイルス粒子が体内に入り込むだけで感染が成立すると言われている。従って衛生状態をいかに改善しても、すべての小児が5歳までに罹患すると考えられている。ロタウイルス感染性胃腸炎の予防は非常に困難であるため、古くからロタウイルスワクチンの開発に力が注がれ、現在では日本国内でも2種類のロタウイルスワクチン(Rotarix®, RotaTeq®)が接種可能となっている。これらのワクチンは国内外からの報告によると、ロタウイルス胃腸炎、特に重篤な入院例の予防に高い効果を認めている。

一方で、ロタウイルスワクチンは、以前に使用されていたロタウイルスワクチン(RotaShield®)の経験から、副反応として腸重積症が知られている。1998年に世界で初めて実用化されたRotaShield®は、世界各国で接種され、重症下痢症に対して70-100%、下痢症全体としても48-68%の有効性を認めたが、ワクチン接種後に10,000-12,000ワクチン接種あたり1例の割合で腸重積症が出現したため、1999年市場から撤退した。

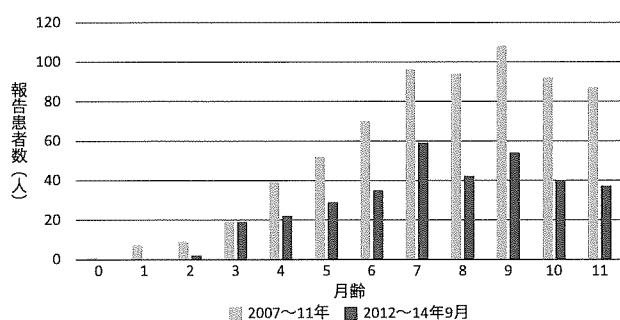


図8. 腸重積症サーベイランスに報告された患者の月齢分布

RotaShield®と腸重積症の明確な因果関係は解明されていないが、この経験からロタウイルスワクチンと腸重積症の関連性が示唆され、新しいワクチンでもワクチン接種後の腸重積症の増加が懸念されたため、ロタウイルスワクチンを定期接種として導入している国々は市販後調査で腸重積症の推移を注意深く見守っている。世界保健機関（WHO）は、現在使用されているワクチンはRotaShield®接種後の腸重積症発症リスクを下回っており、また、各国のロタウイルス胃腸炎の疾病負荷を考慮に入れるとワクチンの重症例、例えば合併症発症例を含む入院例、死亡例などの予防効果のメリットの方が腸重積症発症のリスクをはるかに上回るため、引き続きロタウイルスワクチン接種を推奨する、と結論付けている。

諸外国では前述のとおり、ロタウイルスワクチン接種後の腸重積症の発症に関するリスクに関して、ワクチンによる重症胃腸炎予防のベネフィットと合わせ、総合的に評価している。2011年よりロタウイルスワクチンが認可され、接種が始まった日本国内においても同様に腸重積症の発生リスクについてリスクとベネフィットを検討する必要があるため、全国9道県の小児科入院施設のある医療施設のご協力のもと、ワクチン導入前後の1歳未満の腸重積症による入院例の調査（腸重積症サーベイランス）を開始した。

方法は協力医療施設において、あらかじめ決められた症例定義（腸重積症に合致した臨床症状を呈し、かつ画像検査で腸重積症の特徴的所見を認める）を満たした1歳未満の腸重積症による入院患者を認めた場合に、本サーベイランス用に構築したウェブサイトを用いて患者情報、ロタウイルスワクチン接種情報、腸重積症情報を担当医に入力していただき情報を収集するシステムを用いた。ロタウイルスワクチンの腸重積症発症への影響を確認することが目的であるため、調査そのものは2012年から開始したが、調査期間はワクチンが導入される前の2007～2011年を後ろ向き調査、2012～2014年9月までを前向きに調査した。

ワクチン導入前2,352例、導入後1,072例の計3,424例が解析対象となった。ワクチン導入前5年間の年間報告例では全体の6.3%が、ワクチン導入後では7.5%が6か月未満児であった。1歳未満の月齢分布（図）をワ

クチン導入前後で比較すると、観察期間、報告数が異なるので、単純な比較はできないが、ともに月齢3か月児頃より報告数が増え始める傾向が認められた。人口当たりの1歳未満の発症率はワクチン導入前が10万人・年当たり92.2例、導入後が83.4例となっている。ワクチン導入前後の発症率を月齢別に比較すると、月齢3、4か月児でリスク比がそれぞれ1.67、1.21と高くなっていた。しかし、95%信頼区間を考慮するとこれらの増加は統計的に有意な増加とは今の段階では結論付けられない。

また、ワクチン導入前の報告例の92.5%が非観血的整復で治療をされ、観血的整復例は120例（5.1%）であり、3例（0.1%）の死亡報告があった。一方ワクチン導入後は、報告例の92.9%が非観血的整復で治療をされ、観血的整復例は54例または5.8%であった。96.1%の症例が合併症を認めず回復しており、死亡例の報告はなかった。

以上の結果より、ロタウイルスワクチン導入前後での腸重積症の国内の疫学は、今のところ大きな違いは認められない。ただし、ワクチン導入後の方が月齢3か月児の報告症例が統計的に有意ではないが増加していた。本来ならこの月齢はロタウイルスワクチン1回目、2回目の接種時期と重なることから、ワクチン接種日、回数ごとの患者の状況を評価すべきところであるが、能動的サーベイランスであるため、ワクチン接種日と腸重積症発症日両方の情報を得られた報告例が23例（ワクチン導入後の報告例の2%）のみであったため、正確な因果関係の解析には至っていない。今後ロタウイルスワクチンが定期接種化されるに当たり、本サーベイランスを継続し腸重積症の有意な増加の有無についてモニタリングするとともに、より質の高いサーベイランスの実施が求められる。

ロタウイルスは生後3か月頃より感染者数が増加し、初感染時が最も重症化しやすい。従って、ロタウイルスワクチンの目的である、ロタウイルス初感染時の重症化予防達成のためには、それ以前にワクチンを接種する必要がある。また、本サーベイランスにより生後3か月頃より腸重積症の発症が増えるため、紛れ込み例を少なくするだけでなく、最大限ワクチンの効果を引き出すためにも、ロタウイルスワクチン接種時期は厳守すること、ロタウイルスワクチンを接種する際には、ワクチンの効果だけでなく、副反応として腸重積症がごくまれに起こること、さらに腸重積症の症状をしっかりと説明し、接種後疑わしい症状が見受けられれば、すぐ医療機関を受診する旨を付添いの方に伝えることが重要であると考えられる。

謝辞

本研究は平成24年度厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業）「ワクチン戦略による麻疹および先天性風疹症候群の排除、

およびワクチンで予防可能疾患の疫学並びにワクチンの有用性に関する基礎的臨床的研究」(研究代表者: 岡部信彦), 平成27年度厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)「ワクチンにより予防可能な疾患-に対する予防接種の科学的根拠の確立及び対策の向上に関する研究(研究代表者: 大石和徳)の研究活動の一環として実施された。

参考文献

- 1) WHO, WER No. 5 88: 49-64, 2013
- 2) Murphy TV, *et al.*, N Engl J Med 344: 564-572, 2001
- 3) Patel MM, *et al.*, N Engl J Med 364 (24): 2283-2292, 2011

国立感染症研究所感染症疫学センター

<速報>

宇和島保健所管内のD病院におけるインフルエンザA型の集団発生に伴う抗インフルエンザウイルス薬剤耐性株の検出について

1. 発生の状況

2019年8月12日, 愛媛県宇和島保健所に管内のD病院(入院患者数240名, 職員数393名)から, 職員と入院患者合わせて10名がインフルエンザAと診断されたと連絡があった。直ちに保健所職員が聞き取り調査を行ったところ, 図1に示すように, 初発患者は, 8月6日に発症したA病棟職員1名で, 8日にはA病棟入院患者と外来患者が1名ずつ発症し, さらに9日にはA病棟入院患者1名, 外来職員5名, 外来患者2名の計8名が発症した。

A・B・C病棟で発生した患者10名(A病棟: 7名, B病棟: 2名, C病棟: 1名)の経時的な症状, 検査結果および治療の状況について次ページ図2に示した。A病棟入院患者は, 原疾患治療のため免疫抑制剤による治療を受けており主治医の判断により抗インフルエンザ薬とその投与量が決定された。そのうち3名について以下に示す。

入院患者(No. 2)は, 8月8日から発熱, 咳を認め, 次ページ図2に示すような経過を辿り, 同28日, 咽頭ぬぐい液を採取し, 同29日, 衛生環境研究所で実施し

た遺伝子検査でインフルエンザウイルスAH1pdm09型が検出され, 9月6日, H275Y株と判明したため, 同7日ラニナミビル1回2キットに薬剤を変更した。しかし, 同10日, 迅速検査にてインフルエンザA型が検出されたため, バロキサビル1錠/1日に薬剤を変更した。同13日, 迅速検査にてインフルエンザ陰性が確認され, 同日夜, 遺伝子検査により陰性も確認された。

入院患者(No. 6, 7)は, 8月12日からオセルタミビル1錠/隔日を5日間の予防投与がされていたが, 発熱などの症状が出現したため, 迅速検査を実施しインフルエンザA型が検出された。ラニナミビル1回2キットを投与したが改善が認められず, 同26日から再びオセルタミビルによる内服を開始した。薬剤変更するも症状の改善が乏しいことから, 咽頭ぬぐい液を採取し, インフルエンザウイルスAH1pdm09型が検出された(H275Y)。No. 6は, 迅速検査で陰性を確認したが, No. 7は都合により迅速検査の陰性を確認していなかった。

2. 保健所での対応

8月12日, 病院からの第1報を受けて直ちに聞き取り調査を実施し, 健康調査票の毎日の提出, 患者の増加や重症例が出現した場合の早急な報告, 感染対策の徹底について指導した。さらに, 翌日患者数が増加したため, 積極的な予防投与の実施を勧告した。しかし, 予防投与を行った患者が再び症状を呈し, インフルエンザ迅速検査でA型が検出された患者がいるとの連絡を受けた。同27日, 立ち入り調査を行ったところ病棟において, マスクの着用, 手洗いの徹底, デイルームの使用禁止, 外出・外泊制限, 院内清掃の回数を増やすなどの措置がとられていた。聞き取りから今回罹患した患者は, 喉の違和感・咳に始まり, 遅れて38度くらいの発熱で発症するケースが多く, 通常のインフルエンザと比べると比較的軽症であったとの情報を得た。そのため, 原因ウイルスとして薬剤耐性インフルエンザウイルスを強く疑い, 遺伝子検査が必要と判断した。県庁健康増進課と衛生環境研究所とも協議し, 保健所長の判断により行政検査としてインフルエンザウイルスの分離, 遺伝子検査を実施した。同28日, D病院に対し協力依頼書, 入院患者(No. 2, 6, 7)に協力依頼書と同意書を交わし, 咽頭ぬぐい液を採取し

た。上述のように遺伝子検査を実施し, インフルエンザウイルスAH1pdm09型が検出され, H275Y耐性株と判明した。終息の見極めについて, 保健所内で協議したが稀な事例であるため, 国立感染症研究所に助言を仰ぎ, 終息の判断は, 遺伝子検査で陰性を確認することとした。9月13日, 入院患者(No. 2)が迅速検査で陰性を確認したとの連絡があったことから, 再び, 同意書を交わし, 咽頭ぬぐい液を採取した。衛生環境研究所における遺伝子

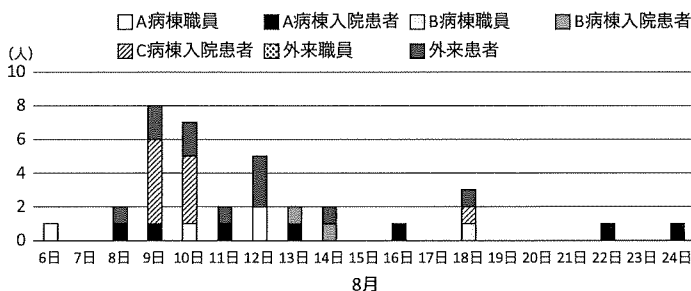


図1. 新規患者発生の推移

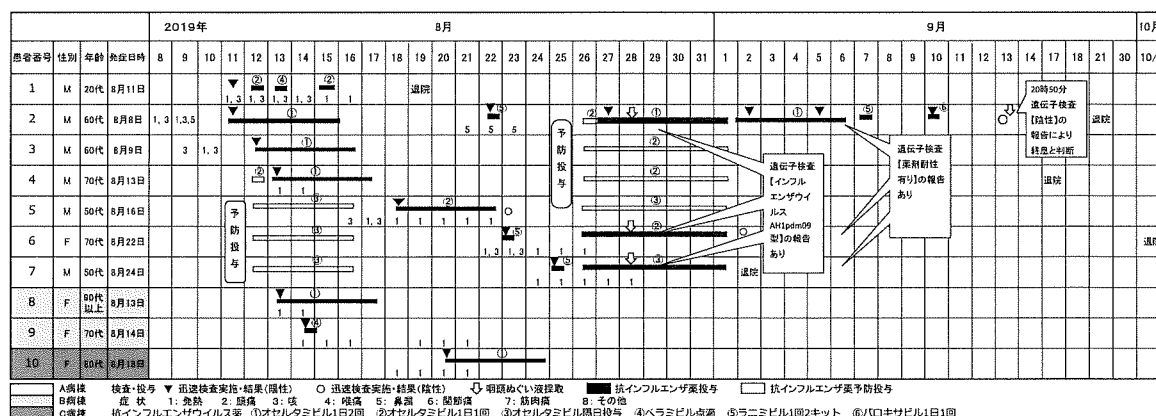


図2. インフルエンザ感染入院患者の症状・検査結果および抗インフルエンザの治療の状況

検査で陰性となったことから終息と判断した。

発生から終息までが39日間と長期化し、総患者数35名に上ったもののD病院の外部への感染拡大がなかったことは感染対策・防止策が有効に機能したことを示唆する。その要因として、D病院からの早期通報、保健所職員による早急な立ち入り調査の実施と科学的根拠に基づいた指導、25回以上にもおよぶ病院からの相談に迅速に対応したことが考えられる。その背景には普段からお互いに顔の見える関係の構築があった。

3. 本事例における原因インフルエンザウイルスの特徴

国立感染症研究所で実施されたシーケンスデータを元に解析を行うと、NA蛋白のアミノ酸配列において、H275Y変異に加え、V241I, N369K, N386Kの3カ所の変異も確認された。この株は、2014年札幌市¹⁾で初めて検出され、国内でも散発的に報告^{2,3)}されているウイルスで、近年はV241I, N369K, N386Kの3カ所の変異は国内のほとんどの株で確認されており、改めてこれらのウイルスが国内に浸淫していることが確認できた。

本事例は公衆衛生上、極めて重要な事例であり、今後インフルエンザ病原体定点により提出される検体によって、モニタリングの強化に努めたい。

参考文献

- 1) 高下恵美ら, IASR 35: 42-43, 2014
- 2) 高下恵美ら, IASR 35: 76-78, 2014
- 3) 矢野拓弥ら, IASR 35: 43-45, 2014

愛媛県宇和島保健所

菅 美樹 小玉将慶 林 美紀
影山康彦 倉田朋子 富田直明

愛媛県立衛生環境研究所

岩城洋己 山下まゆみ 豊嶋千俊
山下育孝 四宮博人

国立感染症研究所

高下恵美 永田志保 森田博子
藤崎誠一郎 三浦秀佳 渡邊真治
砂川富正 長谷川秀樹

<速報>

2019/20シーズン初め(2019年9月上旬)に分離されたA(H1N1)pdm09 ウイルス, AH3亜型インフルエンザウイルスおよびB型インフルエンザウイルス(ビクトリア系統)の性状——三重県

2019年9月上旬(第36週以降)に三重県北勢地域、中勢地域および伊勢志摩地域でA型インフルエンザウイルスの集団発生事例やB型インフルエンザウイルスの地域流行(北勢地域)が県内医療機関より情報提供され早期流行の兆しがみられた。すなわち、第40週にいったんは患者報告数が1.08人となったが、その後、減少した^{1,2)}。2019年9月上旬に三重県感染症発生動向調査事業において、インフルエンザ集団発生事例および散発例の患者から分離・検出された季節性インフルエンザウイルス株〔A(H1N1)pdm09 ウイルス, AH3亜型インフルエンザウイルス, B型インフルエンザウイルス(ビクトリア系統)〕について以下の性状を調査したので報告する。

1. インフルエンザウイルス分離および赤血球凝集(HA)試験

2019年9月(第36週～第38週)に採取された9検体を用いてMDCK細胞によるウイルス分離を試みたところ、9検体中8検体において初代から2代培養までに細胞変性が認められた。これらのウイルス培養上清液に対して0.75%モルモット赤血球を用いた赤血球凝集(Hemagglutination: HA)試験を行ったところ、すべてからHA活性が認められた。

2. 赤血球凝集抑制(HI)試験およびHA遺伝子系統解析

HA活性が認められたウイルス培養上清液について国立感染症研究所より配布された2019/20シーズンの同定試験用抗インフルエンザウイルス血清と、0.75%モルモット赤血球を用いて赤血球凝集抑制(Hemagglutination inhibition: HI)試験を行ったところ、今回分離されたインフルエンザウイルスの亜型は、A(H1N1)pdm09 ウイルス3株, AH3亜型インフルエ

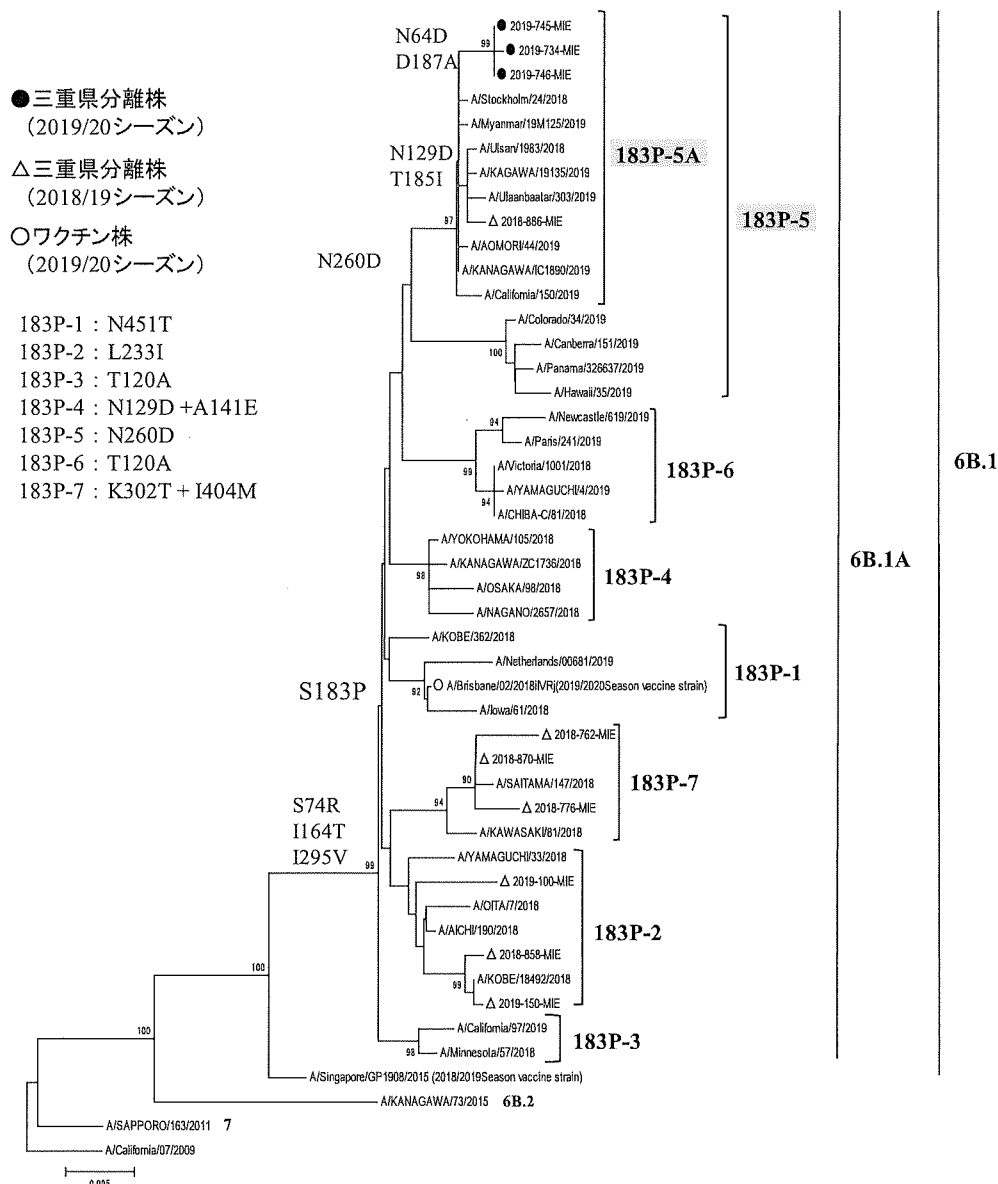


図1. AH1pdm09ウイルスHA遺伝子系統樹解析

ンザウイルス3株, B型インフルエンザウイルス (ビクトリア系統) 2株であった。

これらの分離株についてHA遺伝子のアミノ酸配列を決定し, HA遺伝子系統樹解析を実施した。なお, 国内外のA(H1N1)pdm09ウイルス株, AH3亜型インフルエンザウイルス株およびB型インフルエンザウイルス株 (ビクトリア系統) はGlobal Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID) EpiFlu database (<http://platform.gisaid.org>) からHA遺伝子の配列情報を入手した。

A(H1N1)pdm09ウイルス

HA試験によりHA価 (16–64) を示した3株 (2019-734-MIE, 2019-745-MIE, 2019-746-MIE) の分離株は, 2019/20シーズンのワクチンの親株であるA(H1N1)pdm09ウイルスの抗血清 (A/Brisbane/02/2018) に対してHI

価1,280 (ホモ価2,560) を示し, A(H1N1)pdm09ウイルスと亜型同定した。

なお, A/Kansas/14/2017(H3N2) の抗血清 (ホモ価2,560), B/Phuket/3073/2013(山形系統) の抗血清 (同80), B/Maryland/15/2016(Victoria系統) の抗血清 (同80) に対するHI価は10未満であった。

HI試験に用いた上記のA(H1N1)pdm09ウイルス3株についてHA遺伝子系統樹解析を実施した結果, A/Brisbane/02/2018(IVR-190)(H1N1)pdm09(ワクチン株) と同じHA遺伝子系統樹上のクレード6B.1A (HAアミノ酸置換; S74R, I164T, I295V) に属していた。さらに6B.1A内は, 近年, HAアミノ酸置換 (S183P) を含む複数の群 (183P-1–183P-7) に分類され多様化がみられる。今回, 解析した3株は183P-5(N260D) に属し, さらに同群のアミノ酸置換 (N64D, N129D,

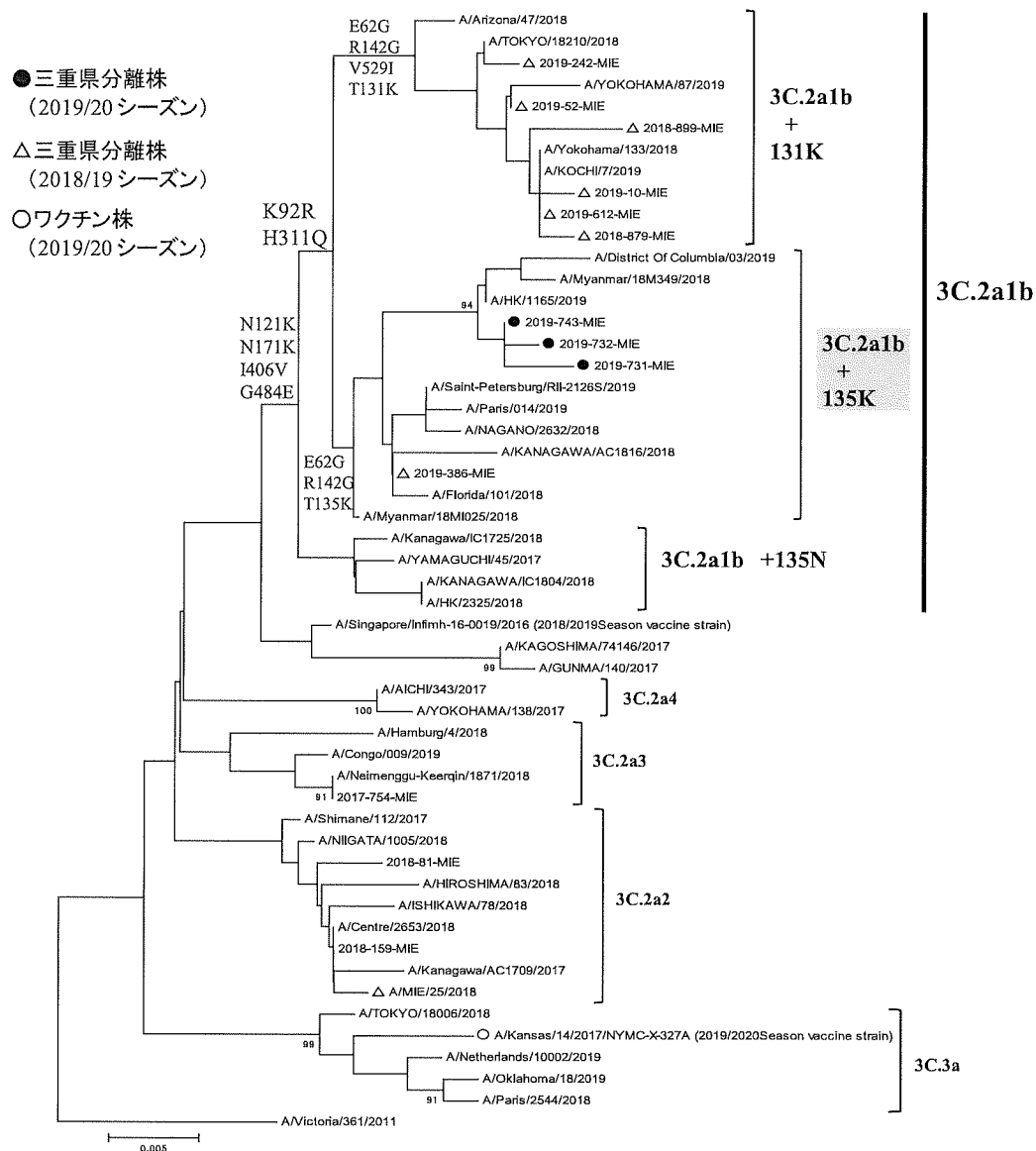


図2. AH3亜型インフルエンザウイルスHA遺伝子系統樹解析

T185I, D187A) を有する183P-5Aに分類された(前ページ図1)。

AH3亜型インフルエンザウイルス

HA価(8~16)を示した3株(2019-731-MIE, 2019-732-MIE, 2019-743-MIE)の分離株は、2019/20シーズンのワクチン親株の抗血清(A/Kansas/14/2017)に対してHI価80(ホモ価2,560)を示し、AH3亜型インフルエンザウイルスと同定した。

なお、A/Brisbane/02/2018(A(H1N1)pdm09)の抗血清(ホモ価2,560)、B/Phuket/3073/2013(山形系統)の抗血清(同80)、B/Maryland/15/2016(Victoria系統)の抗血清(同80)に対するHI価は10未満であった。

これらのAH3亜型インフルエンザウイルス(3株)は、今シーズンのワクチン株のA/Kansas/14/2017(X-327)(H3N2)が属するサブクレード3C.3aとは異なる3C.2a1(HAアミノ酸置換; N121K, N171K, I406V,

G484E)に分類された。このサブクレード3C.2a1は、3C.2a1aおよび3C.2a1bに細分化されるが、今回、解析に用いた3株は、サブクレード3C.2a1b(K92R, H311Q)に属し、さらにT135Kのアミノ酸置換を有する群(E62G, R142G, T135K)に分類された(図2)。

B型インフルエンザウイルス(ビクトリア系統)

2株(2019-757-MIE, 2019-758-MIE)の分離株(HA価8~16)は今シーズンのワクチン親株の抗血清(B/Maryland/15/2016(Victoria系統))に対してHI価40(ホモ価80)を示し、B型インフルエンザウイルス(ビクトリア系統)と同定された。なおA/Brisbane/02/2018(A(H1N1)pdm09)の抗血清(ホモ価2,560)、A/Kansas/14/2017(H3N2)の抗血清(同2,560)、B/Phuket/3073/2013(山形系統)の抗血清(同80)に対するHI価は10未満であった。

B型インフルエンザウイルス(ビクトリア系統)の

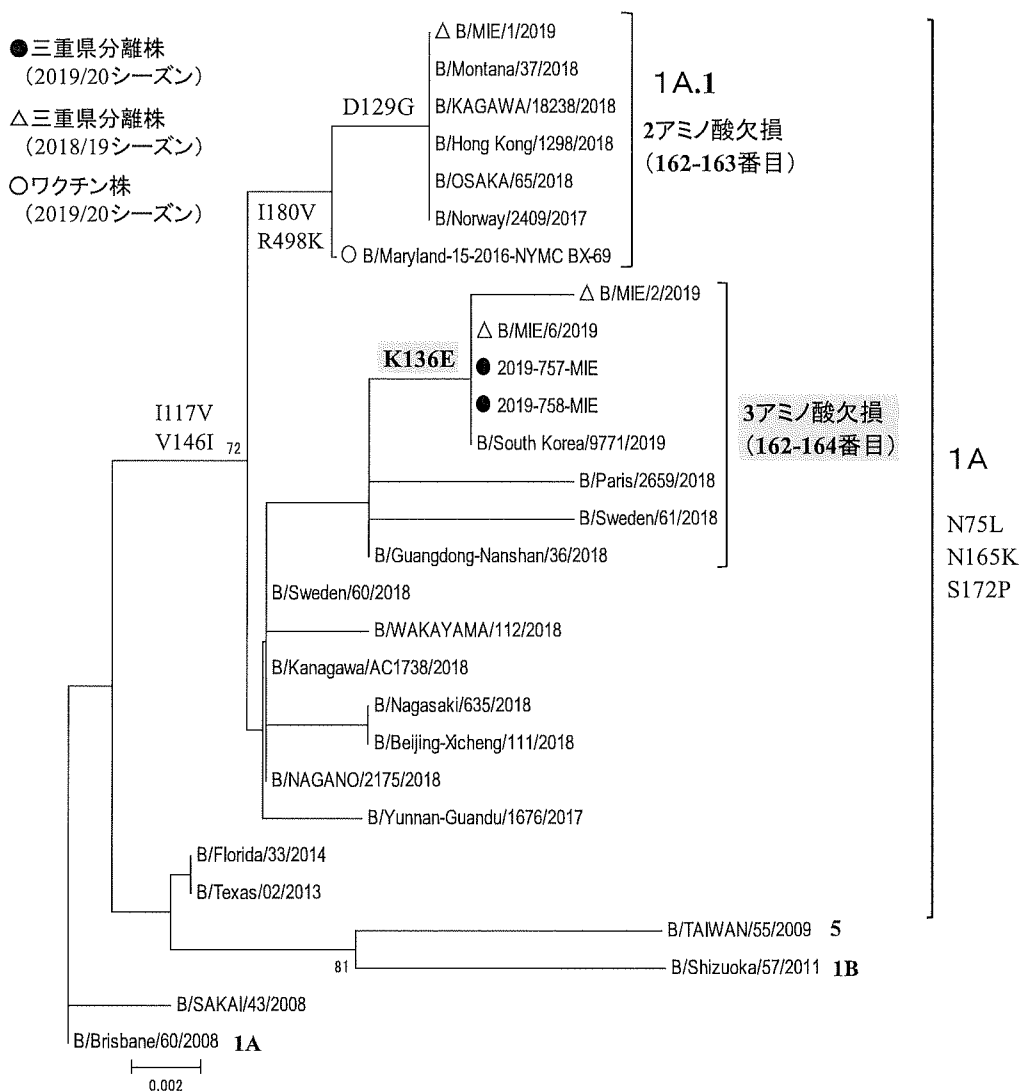


図3. B型インフルエンザウイルス(ビクトリア系統)HA遺伝子系統樹解析

B/Maryland/15/2016(NYMC BX-69A) (ワクチン株) はクレード 1A (HA アミノ酸置換 ; N75L, N165K, S172P) に属する。さらに、分岐した HA アミノ酸置換 (I117V, D129G, I180V, V146I, R498K) を有し、2つの HA アミノ酸 (162-163番目) の欠損がみられる群に属している。今回、分離された上記の2株はクレード 1A に属し、HA アミノ酸置換 (K136E) を有し、3つの HA アミノ酸 (162-164番目) の欠損を有するウイルスであった (図3)。

3. オセルタミビルおよびバロキサビル薬剤耐性変異の検出結果

A(H1N1)pdm09 ウイルス (2019-734-MIE, 2019-745-MIE, 2019-746-MIE) についてオセルタミビル耐性マーカーである Neuraminidase (NA) 遺伝子内の H275Y 耐性変異を調べたところ、H275Y 耐性変異は検出されなかった。

Polymerase acidic subunit (PA) 遺伝子内のバロキサビル耐性変異 (I38T, I38M, I38F) の検索では

H275Y 耐性変異を調べた上記の A (H1N1)pdm09 ウイルスに加え、AH3 亜型インフルエンザウイルス (2019-731-MIE, 2019-732-MIE, 2019-743-MIE) について調べたところ、バロキサビル耐性変異を有するウイルスは確認されなかった。

現在のところ、国内では A(H1N1)pdm09 ウイルスが流行の主流³⁾であるが、近年、本ウイルスは HA 遺伝子の多様化傾向がみられており、早期流行との関連性や抗原性の変化に関心がもたれる。今回、インフルエンザシーズン初期に分離・検出された季節性インフルエンザウイルスと今後の国内における流行ウイルス株との相同性や薬剤耐性株の動向に注視し、今後のインフルエンザ感染予防対策のためにも、迅速な情報提供を行うことが重要であり動向監視の強化が必要であると思われる。

謝辞

本報告を行うにあたり、貴重なご意見をいただきました国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究セ

ンターの藤崎誠一郎先生、中村一哉先生、岸田典子先生にお礼申し上げます。

参考文献

- 1) インフルエンザの発生状況について（インフルエンザ定点当たり報告数・都道府県別）（2019/20シーズン 第36週）

<https://www.mhlw.go.jp/content/000549785.pdf>

- 2) 三重県感染症情報センター，三重県のインフルエンザ定点当たりの患者届出数（2019/20シーズン）

<http://www.kenkou.pref.mie.jp/topic3/influ2.htm>

- 3) 週別インフルエンザウイルス分離・検出報告数，2019年第35週～2019年第41週（全国）

https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/inf3/2019_36w/sinin1_191020.gif

三重県保健環境研究所

矢野拓弥 赤地重宏 松村義晴

さかとく小児科 酒徳浩之

ふじざとこどもクリニック 梨田裕志

まつだ小児科クリニック 松田 正

落合小児科医院 落合 仁

伊勢保健所

平松 茜 上桐幸子 前田弓子

水谷加奈子 出口理恵 中村昌司

鈴木まき

桑名保健所

井ノ口裕子 稲垣美香 野口昌靖

加藤ひろみ 喜田明美 升田加奈

浅井隆治 長坂祐二

鈴鹿保健所

宇佐美真由 西岡美晴 井上恵理

宮下哲雄 水野正宏 土屋英俊

独立行政法人国立病院機構 三重病院

谷口清州 菅 秀

<国内情報>

腸管凝集付着性大腸菌耐熱性毒素遺伝子(*astA*)単独保有大腸菌 O166:H15 が原因と考えられた食中毒事例について — 姫路市

事例概要

平成28(2016)年9月28日，市内医療機関より「9月22日に同じ職場のグループが仕出し弁当等を喫食した後，複数名が下痢および腹痛等の症状を呈している。」と本市保健所衛生課に連絡があり，探知した。

喫食者数は69名，有症者数は28名であった。共通喫食物は9月22日に提供された仕出し弁当で，メニューは煮物（高野豆腐，南瓜，蒟蒻，人参，筍および，おくら），揚げ物（エビフライおよび唐揚げ），刺身三種，切り干し大根の酢の物，焼き鮭，中華和え，ししゃも子の和え物，オレンジおよび，ご飯であった。主な症状

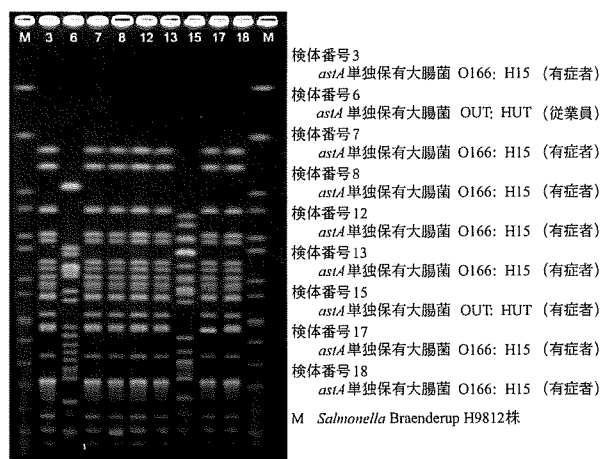


図. PFGE解析結果

は下痢，腹痛および発熱等であり，発症までの時間は5.5～79.5時間（平均31.3時間）であった。

材料，方法および結果

当所へは有症者16名および従業員3名の合計19検体の便が搬入された。検査依頼項目は，黄色ブドウ球菌，セレウス菌，ウェルシュ菌，サルモネラ属菌，カンピロバクター，腸炎ビブリオ，下痢原性大腸菌，ノロウイルス，エルシニアおよび緑膿菌の合計10項目であった。原因食品と推定される仕出し弁当については保存食がなかったため，当所への検査依頼はなかった。

下痢原性大腸菌検査は，DHL寒天培地上に発育したコロニーをsweepし，アルカリ熱抽出法にてDNAを抽出後，*LT*，*STp* (*ST1a*)，*STh* (*ST1b*)，*stx1*，*stx2*，*stx2f*，*eae*，*invE*，*afaD*，*aggR*および*astA*の11種類の病原遺伝子についてマルチプレックスPCR法を用いて探索し，何らかの病原遺伝子が検出された検体については，DHL寒天培地上から菌を単離し，生化学的性状試験，当該病原遺伝子検査および血清型別試験を実施した。

検査の結果，黄色ブドウ球菌，セレウス菌，ウェルシュ菌，カンピロバクター，腸炎ビブリオ，ノロウイルス，エルシニアおよび緑膿菌は19名すべてにおいて検出されなかった。サルモネラ属菌は19名中有症者1名から検出され，その血清型はO7:e,h:kであった。下痢原性大腸菌は19名中有症者8名および従業員1名の合計9名から*astA*を保有した大腸菌を検出した。それら9名中有症者7名から分離した当該菌の血清型はO166:H15であったが，残りの有症者1名および従業員1名についてはOUT:HUT (O抗原:H型別不能)であった。なお，他の10種類の病原遺伝子については，19名すべてにおいて検出されなかった。

分離した*astA*単独保有大腸菌O166:H15(7株)および*astA*単独保有大腸菌OUT:HUT(2株)について，制限酵素*Xba*Iを使用したPFGE解析および16S薬剤(ABPC, TC, SM, KM, NA, NFLX, CFFX, CP,

CET, CPZ, CTX, CAZ, CEZ, CFX, ST および FOM) を用いた薬剤感受性試験を実施した結果、当該菌 O166: H15 (7 株) は、ほぼ同一の PFGE 泳動パターン (前ページ図) および感受性結果 (ABPC, TC, SM, KM, NA, CPF, CET, CEZ および ST に耐性または中間耐性) を示した。

まとめ

本事例について、有症者に共通する食事は当該施設が調製した弁当以外にないこと、有症者便からノロウイルスが検出されず感染症を疑わせるエピソードの報告がなかったことおよび有症者 7 名から *astA* 単独保有大腸菌 O166: H15 が検出されたことより、当該仕出し弁当を調製した施設を原因とする食中毒と断定した。

astA 単独保有大腸菌の下痢の発症機序等については知見が少なく不明な部分が多いが、他の自治体でも当該菌による食中毒事例が発生し¹⁻⁶⁾、それらの有症者の 91~100% が下痢を呈したと報告されている。本事例においても、有症者の 100% が下痢を呈した。検便を実施した 7 名から *astA* 単独保有大腸菌 O166: H15 が検出され、この血清型は過去の 2 事例^{5,6)}と同一であった。その後の解析で、当該菌の PFGE 解析および薬剤感受性試験の結果がほぼ一致していたため、これらは同一由来株である可能性が高く、当該菌が本事例と深く関与していることを裏付けることができた。

謝辞

本事例で分離した *astA* 単独保有大腸菌 O166: H15 の検査を実施するにあたり、H 型別の検査方法について御指導および御協力いただいた国立感染症研究所細菌第一部の伊豫田淳先生および宮崎大学の井口純先生に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Zhou Z, *et al.*, Epidemiol. Infect 128: 363-371, 2002
- 2) 石村勝之ら, IASR 23: 229-230, 2002
- 3) 緒方喜久代ら, IASR 25: 101-102, 2004
- 4) 石畝 忠ら, IASR 25: 262-263, 2004
- 5) 杉谷和加奈ら: *astA* 保有大腸菌が原因と考えられた食中毒事例. 熊本市ホームページ
https://www.city.kumamoto.jp/common/UploadFileDsp.aspx?c_id=5&id=1240&sub_id=1&flid=5400

(2019年10月29日確認)

- 6) 中村寛海ら, IASR 36: 89-90, 2015

姫路市環境衛生研究所

新免香織 横田隼一郎 黒田久美子

小西和子 熊谷幸江

姫路市保健所衛生課

友永裕輔 (現 食肉衛生検査センター)

今井真司 (現 食肉衛生検査センター)

<国内情報>

2019年に手足口病等から検出されたコクサッキーウイルス A6 について — 仙台市

2019年の仙台市における手足口病の定点当たりの患者報告数は、第25週から増加し始め、第31週でピークに達した後減少に転じた。ピーク時の患者報告数は36.37人/定点で、過去10年間で最も大きな流行となった (図1)。

エンテロウイルスの検出は、病原体定点小児科で診断された発症者、あるいは定点小児科を訪れた発症者の咽頭ぬぐい液から市販のキットを用いて RNA を抽出し、CODEHOP PCR法¹⁾により VP1 領域の遺伝子を増幅して行った。増幅産物を精製後、ダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定し、Enterovirus Genotyping Tool (<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/enterovirus/>) により血清型の同定を行った。

手足口病等の発症者の検体 (咽頭ぬぐい液) の搬入は、7月から始まり、10月までに18検体搬入された。18検体中17検体でエンテロウイルスの増幅産物が確認され、遺伝子解析の結果、CA6の遺伝子が15検体、CA16の遺伝子が1検体検出された。1検体は型別不明であった。また、CA6が検出された15検体については、国立感染症研究所病原体検出マニュアルに準じた RT-PCR 法により VP4-VP2 領域の遺伝子を増幅したところ、11検体で増幅産物が確認され、遺伝子解析の結果 VP4-VP2 領域も CA6 の遺伝子であることが確認された。

2019年に検出された CA6 の VP1 領域の系統樹解析の結果、2011年と2013年に手足口病が流行した際とは別の、2つの新しいクラスターに分類された (次ページ図2)。2011年に国内で CA6 による手足口病が流行した際、仙台市内で検出された CA6 は 2011 Japan A のクラスター、2013年に流行した CA6 は 3 検体が増本らが報告²⁾した 2011 Japan B、15 検体が清田ら³⁾が報告した 2013-Kumamoto のクラスターに属していた⁴⁾。

2019年に検出された CA6 の VP1 領域は、2011年および2013年検出株と各々 5.1~8.4% の塩基配列の違いを有する株で、今シーズンの2つのクラスターの間にも 7.6% の遺伝子に違いが認められた。

VP4-VP2 領域の系統樹解析の結果も VP1 領域の系

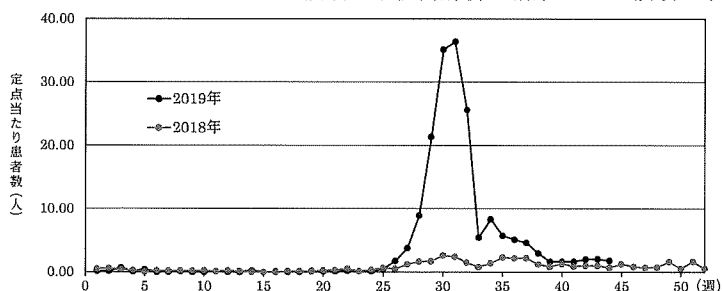


図1. 仙台市における手足口病の発生状況

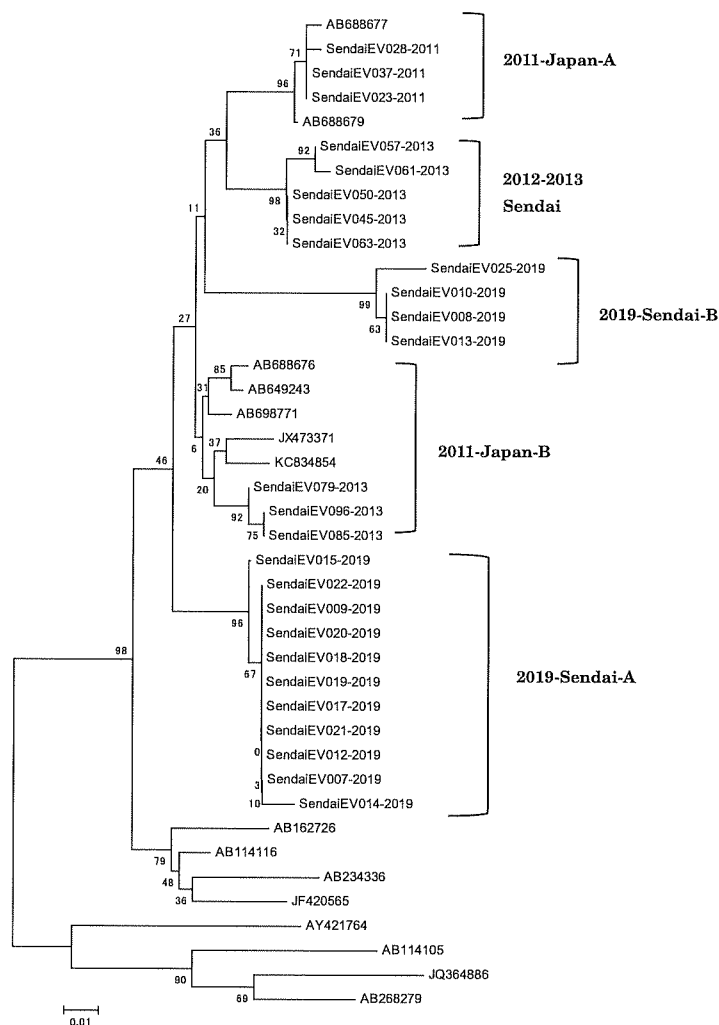


図2. 手足口病等の発症者から検出されたウイルスの系統樹解析 (CVA6VP1領域)

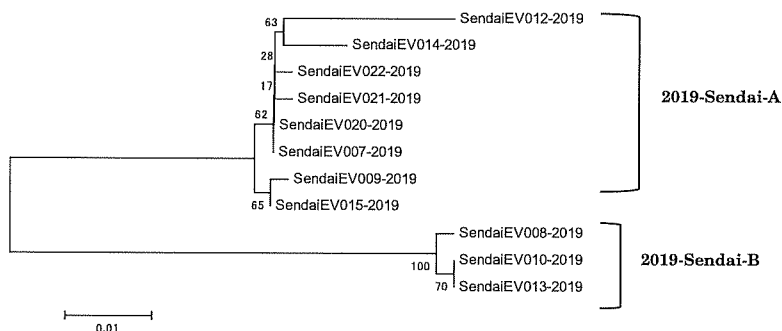


図3. 手足口病等の発症者から検出されたウイルスの系統樹解析 (CVA6VP4-VP2領域)

統樹解析の結果同様、2つのクラスターに分類され (図3)、6.7%の遺伝子に違いが認められた。

よって、今シーズンの手足口病の流行の拡大は、2つの遺伝子性状の異なるCA6によるものと考えられる。今後は、非流行期も含め、手足口病から検出される病原体の動向に注意する必要があると考える。

参考文献

- 1) Allan W, *et al.*, J Clin Microbiol 44: 2698-2704, 2006

- 2) 増本久人ら, IASR 33: 60-61, 2012
- 3) 清田直子ら, IASR 34: 233, 2013
- 4) 千田恭子ら, IASR 35: 49-50, 2014

仙台市衛生研究所

田村志帆 川村健太郎 成田美奈子

菅野敦子 松原弘明 勝見正道

相原健二

長谷川小児科医院 長谷川純男

かやば小児科医院 萱場 潤