千葉市環境保健研究所年報　第 30 号、74-77（2023）

感染性胃腸炎の集団発生事例から検出されたサポウイルスの遺伝子解析

瀬野　智史、清水　幸恵、神谷　美里、水村　綾乃、
近藤　文、三枝　真奈美、横井　一、西村　正樹
（環境保健研究所 健康科学課）

要　旨　2018 年から 2022 年までの 5 年間に、保健所から搬入された感染性胃腸炎の集団発生 69 事例の糞便 306 検体についてウイルス遺伝子の検出を実施したところ、60 検体（19 事例）からサポウイルス（SaV）が検出された。さらに、SaV が検出された各事例の 1 または 2 検体について、塩基配列を決定し、近隣結合法による系統樹解析を行った。その結果、13 事例が GI.1、5 事例が GII.3 の遺伝子型に分類され、1 事例が型別不能となった。また、各事例から検出された SaV と既知の SaV との相同性を BLAST によって検索したところ、2018 年から 2022 年の 5 年間に市内で 7 種類の SaV 株が流行していたことが明らかとなった。

Key Words : **サポウイルス、感染性胃腸炎集団発生、遺伝子解析**

1. はじめに

ヒトから検出されるサポウイルス（Spovirus : SaV）は、カリシウイルス科に属する一本鎖 RNA ウイルスであり、4 つの遺伝子群 genogroup I（GI）、genogroup II（GII）、genogroup IV（GIV）、genogroup V（GV）に大別され、それぞれの遺伝子群はさらに複数の遺伝子型に分類可能である。ヒトからは GI.1～7、GII.1～8、GII.NA1、GIV.1、GV.1～2 が検出されている [1),2)]。

SaV の感染経路は糞口感染であり、潜伏期間は 1～2 日と短い。嘔吐、嘔気、下痢を主症状とするが、発熱、頭痛、腹痛、悪寒、筋痛、咽頭痛および倦怠感などを伴うこともある [3)]。SaV による感染性胃腸炎の流行は乳幼児に多く認められている。

今回、本市における SaV の流行状況を把握するため、感染性胃腸炎の集団発生事例から検出された SaV の遺伝子解析を行ったので、その概要について報告する。

2. 材料と方法

2018 年 1 月から 2022 年 12 月までの 5 年間に、市内における感染性胃腸炎の集団発生 69 事例の原因究明のために、保健所から当所に搬入された糞便 306 検体（各事例の発症者 3 名から 5 名）についてウイルス遺伝子の検出を実施した。糞便の 10％乳剤から、High Pure Viral RNA Kit（Roche）を使用してウイルス RNA を抽出した。SuperScriptIII（Invitrogen）を用いて抽出 RNA から cDNA を作製した後、リアルタイム RT-PCR 法 [4)]により SaV 遺伝子の検出を行った。

SaV が検出された各事例のうち 1 または 2 検体を選び、1245Rfwd/SV-R2 プライマー[5),6)]によるコンベンショナル RT-PCR を実施した。得られた PCR 産物（約 430bp）を High Pure PCR Product Purification Kit（Roche）で精製し、Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit v3.1（Applied Biosystems）を用いてサイクルシークエンス反応を行った後、ABI Genetic Analyzer 3500（Applied Biosystems）により塩基配列を決定した。得られた塩基配列の解析は、Molecular Evolutionary Genetics Analysis software Version 11（MEGA11）[7)]を使用して行った。すなわち、Clustal W による塩基配列のアライメント後、近隣結合法による系統樹解析（Capsid 領域の約 330bp）を行った。また、National Center for Biotechnology Information（NCBI）の Basic Local Alignment Search Tool（BLAST）検索を行い、既知の株との相同性を確認した。

3. 結果

当所に搬入された検体数は306検体（感染性胃腸炎の集団発生69事例）であり、これらのうち、60検体（19.6%）からSaVが検出された。年別のSaV検出数は、2018年が0検体（0.0%）、2019年が1検体（2.9%）、2020年が0検体（0.0%）、2021年が0検体（0.0%）、2022年が59検体（33.9%）であった（**表１**）。また、データとして示していないが、月別のSaV検出数は、2019年の7月に1検体、2022年の1月が1検体、同年3月が11検体、4月が2検体、5月が35検体、12月が10検体であった。なお、2022年の2月、6月、8月、9月10月および11月にSaVは、検出されなかった。2018年から2022年の5年間に市内で発生したヒトーヒト伝播（疑い）による感染性胃腸炎の集団発生事例は、69事例であり、これらのうち、19事例（27.5%）からSaVが検出された。

表1 SaVの年別検出数

年	SaV	搬入検体数	検出率%
2018年	0(0)	21(5)	0.0(0.0)
2019年	1(1)	35(11)	2.9(9.1)
2020年	0(0)	28(7)	0.0(0.0)
2021年	0(0)	48(10)	0.0(0.0)
2022年	59(18)	174(36)	33.9(50.0)
合計	60(19)	306(69)	19.6(27.5)

※( )内の数値は、感染性胃腸炎の集団発生事例数を示す。

19事例の発生施設は、保育所が17事例、幼稚園が1事例、小学校が1事例であった。中でも保育所における感染性胃腸炎の集団発生事例は、市内の全6区にわたって認められ、19事例のうち11事例（57.9%）が2022年5月に集中していた。また、19事例のうち、3事例はノロウイルスとの混合感染であった。（**表２**）。

SaVのCapsid領域（約330bp）の系統樹解析により、13事例がGI.1、5事例がGII.3の遺伝子型に分類された（**図１**）。遺伝子型GI.1は、2019年7月の1事例、2022年3月の2事例、同年4月の1事例、同年5月の9事例から検出された。一方、遺伝子型GII.3は、2022年1月の1事例、3月の1事例、5月の1事例、12月の2事例から検出された。なお、2022年5月の1事例については、ウイルス量が少なかったため、型別不能となった（**表２**）。

各事例において検出されたSaVの塩基配列について、BLAST検索を行い、既知のSaVとの相同性を比較した。その結果、2019年の7月の事例から検出されたSaVはLC577821、2022年の1月の事例ではMW245617、同年3月の事例ではMK111629とMH018131、同年4月の事例ではMK111629、同年5月の事例ではMK111629、LC549646、MG012435およびMW245617、同年12月の事例ではMH018131とMN164982に高い相同性（97.6%～100.0%）を示した（**表２**）。

4. 考察

2018年から2022年の5年間にわたり、市内における感染性胃腸炎の集団発生事例について、ウイルス遺伝子の検出を実施した。その結果、69事例のうち19事例（27.5%）からSaV遺伝子が検出された。SaVの検出事例が最も多かったのは2022年で、19事例のうち11事例（57.9%）が2022年の5月に集中していた。このことは、地域社会における新型コロナウイルスの流行抑制に係る行動の緩和と新型コロナウイルスの流行によって、ヒトーヒト伝播の機会が減少し、胃腸炎ウイルス感受性者の蓄積が一因となった可能性が考えられた。また、感染性胃腸炎の集団発生事例の殆どが保育所であったことは、感染性胃腸炎の流行が乳幼児に多く認められるSaVの特徴に合致していた。一方、2018年、2020年および2021年は、SaVが検出されず、2019年は、SaVによる感染性胃腸炎の集団発生事例が1事例のみであった。中でも2020年は、4月に新型コロナウイルスの流行抑制のために緊急事態宣言が出され、休校や在宅勤務の推奨、マスクの着用、換気、アルコール消毒などの徹底および軽い感冒症状があった場合に登園を控えるなど、行動意識の変化によってヒトーヒト伝播の機会が減少し、感染性胃腸炎の集団発生事例の減少につながった可能性が考えられた。また、新型コロナウイルスの流行によって感染性胃腸炎だけでなく、呼吸器ウイルス感染症の流行も抑制されたことが報告されている[8), 9)]。

月別のSaV検出数は、3月、5月、12月に多いことから、市内におけるSaVによる感染性胃腸炎は、主に冬期から春期にかけて発生していたことが明らかとなった。また、SaVの遺伝子型別の結果、GI.1は2019年の7月および2022年の3月から5月にかけて検出され、GII.3は2022年の1月と3月、2022年の12月に検出された。このことは、時期によって優位となる遺伝子型が異なっていたことを示唆しており、全国でもほぼ同様の傾向を示している[10)]。

各事例から検出されたSaVと既知のSaVとの相同性をBLASTによって検索した結果、2018年から2022年の5年間に7種類のSaV株が流行していたことが明らかとなった。2019年7月に検出された株（GI.1）と2022年に検出された株（GI.1）は異なっており、2019

表2 SaVによる感染性胃腸炎の集団発生事例と遺伝子解析

発生年	発生月	事例 No.	発生施設	発生地区	遺伝子型	BLAST検索		
						Strain	Accession No.	相同性(%)
2019	7	1907-122-O-K05003	小学校	緑区	GI.1	Hu/ Miyagi/ 8/ 2018/ JP	LC577821	100.0
2022	1	2201-122-O-K12003	保育所	中央区	GII.3	Sewage/ CHN/ 2017	MW245617	99.0
	3	2203-122-O-K19002	保育所	中央区	GI.1	Hu/ Guangzhou/ GZ2013-L030/ CHN/ 2013	MK111629	100.0
	3	2203-122-O-K20002	保育所	中央区	GI.1	Hu/ Guangzhou/ GZ2013-L030/ CHN/ 2013	MK111629	100.0
	3	2203-122-O-K21004	保育所	若葉区	GII.3	Hu/ GII.3/ Novosibirsk/ NS18-KhE/ 2018/ RUS	MH018131	97.6
	4	2204-122-O-K02005※	保育所	緑区	GI.1	Hu/ Guangzhou/ GZ2013-L030/ CHN/ 2013	MK111629	100.0
	5	2205-122-O-K06002	保育所	花見川区	GI.1	Hu/ Guangzhou/ GZ2013-L030/ CHN/ 2013	MK111629	100.0
	5	2205-122-O-K07005	保育所	美浜区	GI.1	Hu/ 14106/ JPN/ 2015	LC549646	100.0
	5	2205-122-O-K08004	保育所	中央区	GI.1	Hu/ 14106/ JPN/ 2015	LC549646	100.0
	5	2205-122-O-K10005	保育所	中央区	GI.1	Hu/ US/ 2013/ GI.1/ Nashville9691-1	MG012435	100.0
	5	2205-122-O-K12004	保育所	花見川区	GI.1	Hu/ 14106/ JPN/ 2015	LC549646	100.0
	5	2205-122-O-K13005	保育所	中央区	GI.1	Hu/ US/ 2013/ GI.1/ Nashville9691-1	MG012435	99.7
	5	2205-122-O-K14003	幼稚園	中央区	GI.1	Hu/ 14106/ JPN/ 2015	LC549646	100.0
	5	2205-122-O-K15004	保育所	中央区	GI.1	Hu/ Guangzhou/ GZ2013-L030/ CHN/ 2013	MK111629	100.0
	5	2205-122-O-K16003※	保育所	緑区	型別不能	−	−	−
	5	2205-122-O-K17005	保育所	花見川区	GI.1	Hu/ US/ 2013/ GI.1/ Nashville9691-1	MG012435	100.0
	5	2205-122-O-K18002	保育所	美浜区	GII.3	Sewage/ CHN/ 2017	MW245617	98.9
	12	2212-122-O-K20002※	保育所	美浜区	GII.3	Hu/ GII.3/ Novosibirsk/ NS18-KhE/ 2018/ RUS	MH018131	98.2
	12	2212-122-O-K21001	保育所	稲毛区	GII.3	Hu/ DE/ 2016/ GII.3/ Leipzig105	MN164982	99.0

※ノロウイルスとの混合感染

年 8 月以降は検出されなかった。2022 年 1 月～5 月にかけて 5 種類の SaV 株が検出された。2022 年の 1 月に中央区で検出された株（GII.3）に相同性の高い株（MW245617）が同年の 5 月に美浜区で検出された。また、2022 年の 3 月に中央区で検出された株（GI.1）と相同性の高い株（MK111629）が同年の 4 月に緑区、5 月に花見川区と中央区で検出された。さらに、2022 年の 3 月に若葉区で検出された株（GII.3）に相同性の高い株（MH018131）が同年の 12 月に美浜区で検出された。このことから、少なくとも 3 種類の SaV 株が中央区または若葉区から他区へ伝播し、流行していた可能性が示唆された。

今回、SaV の流行状況を把握するために、感染性胃腸炎の集団発生事例から検出されたサポウイルスの遺伝子解析を行った結果、様々な SaV 株が市内で流行していたことが明らかとなった。今後も SaV の遺伝子解析を継続し、SaV による感染性胃腸炎の発生動向（遺伝子型など）を監視することによって、集団発生事例の原因究明および感染拡大の防止に貢献できるものと考えられた。

文　献

1) Diez-Valcarce M *et al.* : Near-Complete Human Sapovirus Genome Sequences from Kenya, Microbiol Resour Announc, 8, 2019

2) Oka T *et al.*: Polymerase chain reaction primer sets for the detection of genetically diverse human sapoviruses, Arch Virol, 165, 2020, pp2335-2340.

3) Oka T *et al.*: Comprehensive review of human sapoviruses, Clin Microbiol Rev, 28, 2015, pp32-53

4) Oka T *et al.*: Detection of human sapovirus by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction, J. Med. Virol, 78, 2006, pp1347-1353

5) Kitajima M *et al.*: Detection and Genetic Analysis of Human Sapoviruses in River Water in Japan, Appl. Environ.Microbiol, 76, 2010, pp2461-2467

6) Okada M *et al.*:Molecular epidemiology and phylogenetic analysis of Sapporo-like viruses, Arch Virol, 147, 2002, pp1445-1451

7) Tamura K *et al.:* MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11, Mol. Biol. Evol, 38, 2021, pp3022-3027

8) Fukuda Y *et al.*: Surveillance in hospitalized children with infectious diseases in Japan: Pre- and post-coronavirus disease 2019, J Infect Chemother, 27, 2021, pp1639-1647

9) Fukuda Y *et al*: Changing Patterns of Infectious Diseases Among Hospitalized Children in Hokkaido, Japan, in the Post-COVID-19 Era, July 2019 to June 2022, Pediatr Infect Dis J, 42, 2023, pp766-773

10） IASR, 月別サポウイルス遺伝子群別検出報告数
https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/noro/230410/sapogm_230802.gif（2023.12.18 アクセス）

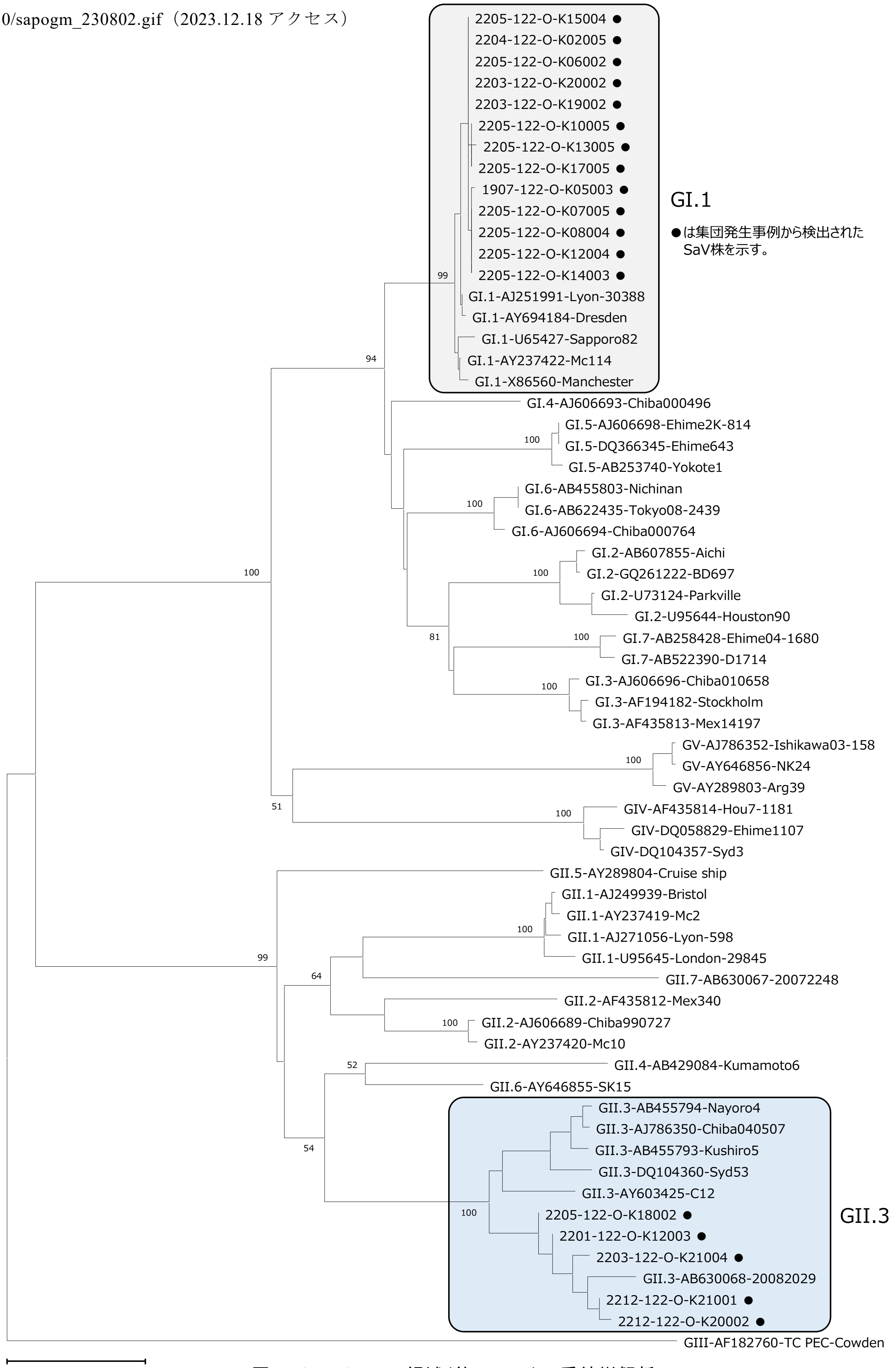

図 1 SaV Capsid 領域（約 330bp）の系統樹解析