

# 県下におけるA群ロタウイルスの流行とその血清型

山西重機・藤井康三・三木一男

## I はじめに

冬期間における乳幼児の主要感染症である急性胃腸炎の主起因ウイルスとして、ロタウイルスは例年の毎く季節的な影響をうけて変動し、発生ピークを形成し繰り返して流行<sup>1)</sup>している。このことから疫学的に分析する場合、単一ウイルス流行としてみるより抗原的に細分化し各流行型を把握する必要がある。これらロタウイルスは群抗原<sup>2)</sup>によってA～G群に群別できるが、国内における大部分の流行は、A群ロタウイルスであり、一部地域でC群ロタウイルス<sup>3)</sup>が検出されているが他の群については確認されていない。

県下でも1988年C群ロタウイルスが認められたがウイルス性下痢症を開始した1979年以降その大部分はA群ロタウイルスの流行であった。

このA群ロタウイルスは更に亜群抗原<sup>2)</sup>によってI群、II群に分かれ、またポリアクリルアミド電気泳動法(PAGE)によってもS型(I群)、L型(II群)に大別できる。併せて、血清型に特異な中和抗原<sup>3)</sup>をもつことから血清型別が可能で、現在、動物ロタウイルスも含めて12型まで知られ、細分類ができることとなった。

今回我々は、抗原的差異を利用した型別方法で県下のA群ロタウイルスを1985年以降、PAGEによる群、亜群分類、またモノクローナル抗体を用いた酵素抗体法(ELISA)による血清型別をおこなった。

これら結果によってロタウイルスの年度による型別分布、地域間動向などについて検討したのでその概要について報告する。

## II 材料と方法

1. ウイルス分離材料の糞便は、感染症サーベイランス小児科定点を受診した下痢症患者から採取したものを検査材料とした。糞便からのウイルス粒子の抽出精製はさきに報告した方法<sup>4)</sup>によった。

### 2. ロタウイルスのRNA電気泳動法

RNAの抽出は、Espejoらの変法<sup>5)</sup>によっておこない、10%ポリアクリルアミドSDSスラブゲルで、Laemmli法<sup>6)</sup>により10mA17時間泳動後、銀染色をおこない、ゲル乾燥をおこなった。

3. A群ロタウイルスの血清型別は、糞便から抽出したロタウイルス抗原を血清型特異的抗原エピトープを認識するモノクローナル抗体を用いたELISA<sup>7) 8)</sup>でおこない、国立予防衛生研究所 長谷川博士に依頼した。

## III 調査結果

1. 1989～90年の血清型別等からみたロタウイルスの流行  
電子顕微鏡観察等での陽性、106株の血清型でみると、1型36株(53.7%)、4型15株(22.4%)、2型14株(20.9%)、3型2株(3.0%)が分類可能で、1型から4型までのいわゆる主要血清型全てが確認できた。また亜群分類では、I型13株(16.1%)、II型68株(83.9%)

表1 1989～1990流行期ロタウイルスの血清型等による分類

血清型	亜群	泳動型	数	備考
1	II	L	31	1型36株
		S	1	
	(-)	判定不能	1	
		(-)	2	
2	I	S	9	2型14株
		判定不能	1	
	II	L	2	
	(-)	判定不能	1	
		(-)	1	
3	II	L	1	3型2株
		判定不能	1	
4	II	L	10	4型15株
		判定不能	3	
	(-)	L	2	
1+2	II	L	2	1+2型2株
判定不能	II	L	4	判定不能血清型9株
		S	1	
	(I)	L	1	
		判定不能	1	
	(-)	判定不能	2	
		(-)	2	
(I)	II	L	8	非反応血清型28株
		判定不能	4	
		(-)	2	
	I	S	2	
		L	3	
	(-)	S	2	
		判定不能	2	
		(-)	5	

%)であり、RNA-PAGEでは、S型15株(18.8%)、L型65株(81.2%)であった。各群、型間における相互の関係は表1に示した。このなかで血清型1型で泳動型S型が1株、血清型2型で亜群II型、泳動型L型が2株存在した。

また分離血清型を月別に期間で分類すると表2のように流行初期では1型、2型が大部分であるが、2月になると1~4の各血清型が確認され、終息期に近い5月では4型の占める比率が高くなった。

表2 1989~90流行期の月別ロタウイルス血清型

月	1 型	2 型	3 型	4 型
11	1			
12	1			
1	10	2		
2	12	6	1	9
3	8	3		2
4	3	2	1	2
5	1	1		2
合 計	36	14	2	15

2. 1988~89年の血清型別等からみたロタウイルスの流行  
ロタウイルス陽性50株について検討した。1型が43株で他の血清型は確認できなかった。亜群はII型が43株、泳動型はL型が44株であり、全ての型別法で単一型であった。

血清型と群型との相互の関係は、表3に示した。

表3 1988~1989流行期ロタウイルスの血清型等による分類

血清型	亜 群	泳動型	数	備 考
1	II	L	42	1型43株
	(-)		1	
2			0	
3			0	
4			0	
判定不能	II	L	1	判定不能血清型6株
			判定不能	
	判定不能	3		
( - )	判定不能	判定不能	1	非反応血清型1株
			( - )	

3. 1987~88年の血清型別等からみたロタウイルスの流行  
ロタウイルス陽性84株のうち、血清型別ができたのは、1型58株(75.3%)、2型10株(13.0%)、4型9株(11.7%)で、3型は確認できなかった。

亜群分類では、I型11株(13.3%)、II型72株(86.7%)であり、泳動型は、L型65株(86.7%)、S型10株(13.3%)であった。

血清型と群型との相互の関係は、表4に示した。

これら血清型を月別に分類すると、表5のように全流

表4 1987~1988流行期ロタウイルスの血清型等による分類

血清型	亜群	泳動型	数	備 考
1	II	L	55	1型58株
		判定不能	3	
2	I	S	10	2型10株
3			0	
4	II	L	9	4型9株
判定不能	II	L	1	判定不能血清型5株
		判定不能	3	
		( - )	1	
( - )	I	判定不能	1	非反応血清型2株
			( - )	

表5 1987~88流行期の月別ロタウイルス血清型

月	1 型	2 型	3 型	4 型
1	21	5		2
2	22	3		6
3	15	2		1
合 計	58	10	0	9

行期間をとおして、1型が大部分を占めているが、初期段階では1型について2型も多く確認でき、2月になって4型が増加した。

4. 1985~87年の泳動型別からみたロタウイルスの流行  
表6に示したように、1986~87年でロタウイルス陽性68株についてみると型別できたのは、L型53株(82.8%)、S型11株(17.2%)であった。また1985~86年は、46株について検討した。型別できたのはL型41株で、S型は確認できなかった。

表6 ロタウイルスの電気泳動型による分類

電気泳動型	1985~86流行期 数(%)	1986~87流行期 数(%)
L 型	41(89.1)	53(77.9)
S 型	0(0)	11(16.2)
判 定 不 能	5(10.9)	4(5.9)
合 計	46	68

## IV 考 察

ロタウイルスは冬期間に集中し、例年の毎く単一パターンでくりかえし流行し、その大部分はA群ロタウイルスに属するものであり、また一部地域で年度によってC群ロタウイルス<sup>3)</sup>が検出され、これ以外の非定型ロタウイルス群は現在わが国では確認されていない。これらA群ロタウイルスは、更に亜群抗原によってI型II型に分類され、またウイルスの外殻蛋白VP7を基として、血清型別が可能であり動物ロタウイルスも含めて1~12型まで確認されている。しかしヒトにとって、いわゆる主要な血清型は、1、2、3、4型である。またロタウイル

スはRNA-PAGEによって11分節に分類されるが、この移動度によるパターンの違いは、頻繁に分離株間にみられ、第3と第4分節、第7、8、9分節が接近または離れているものなど分離年度、地域また感染した個々によっても相違点があり、とくに第10、11分節の泳動距離によってL型 (Long) とS型 (Short) パターンとに2大別して、Espejoら<sup>9)</sup>は区別している。このような抗原性の差異によって多くに分類することが可能であり、これらの手法を用いて、単一パターンとみられるA群ロタウイルスの流行を地域性、流行年、季節性また他の機関との比較によって県下のロタウイルス疫学をおこなった。

RNA-PAGEによる泳動型が多様なパターンをとることはさきの県下における調査<sup>10)</sup>によって判明したが移動度の差でもって分離株間における抗原性で型別することは、より細分類化で繁雑化することになる。そこで今回はS型、L型でもって検討した。県下では1985~86年は、L型のみであり、1986~87年では、L型53株 (82.8%)、S型11株 (17.2%)、1987~88年はL型65株 (86.4%)、S型10株 (13.3%)、1988~89年はL型のみであり、1989~90年はL型65株 (81.2%)、S型15株 (18.8%)であった。S型は流行年によって確認できない期間があるがこのL型とS型の違いは亜群の抗原性の差異との関連性もあり、以降は同一に考え、亜群分類を含めて検討した。

糞便材料中のA群ロタウイルスの血清型別は特異モノクローナル抗体を用いたELISA法<sup>8)</sup>によったが、県内における地域性は、材料採取の定点病院の大部分が高松市内に限定されるため、分離される血清型に差は認められないが、赤谷ら<sup>11)</sup>によると血清型とRNA泳動型パターンの違いの頻度は地域的に近接した場所でも大きく異なり流行株の地域局在性が強いことを述べている。

県下では、1987~88年1型58株 (69.0%)、2型10株 (11.9%)、4型 (10.7%)であったが、浦沢ら<sup>12)</sup>の各地域での血清型別と比較すると、札幌では、2型52株 (69.3%)、1型15株 (20.0%)、4型1株 (1.3%)であり、主流とする血清型が異なっている。富山では、1型38株 (63.3%)、3型2株 (3.3%)、2型1株 (1.7%)であった。なお、隣接の松山では、1型17株 (34.0%)、2型17株 (34.0%)、3型2株 (4.0%)であり、この期間の主流とする血清型は、1型と2型同規模で、3型が分離され4型が確認されなかった。また川本ら<sup>13)</sup>は岐阜における調査で1986~87年3型26株 (50%)、4型1株 (1.9%)で県下で最も少ない血清型の3型が主流であり、1987~88年では、4型9株 (39.1%)、2型3株 (13.0%)、1型2株 (8.7%)と報告し、県下での1型を主流とした流行とは大きく異なっていた。このことは、牛島ら<sup>14)</sup>の東京地域でのロタウイルスの流行調

査でも血清型の変動が年度、地域で認められることとも一致する。

またこの血清型の変動が県下でも年度による差が1987年以降3回の流行期の観察によって認めることができた。1987~88年では1型を主流として3型は分離されなかったが、1988~89年では1型のみが分離されて他の血清型は確認されず単一型の流行であったことが推察できた。この期間、我々ロタウイルス研究班の1988~89年における調査でも東京で1型201株 (85.5%)、3型20株 (8.5%)、2型10株 (4.3%)、4型4株 (1.7%)であり、久留米では、1型77株 (92.7%)、2型6株 (7.3%)でまた、金沢、名古屋では1型のみであり、秋田では、1型46株 (97.9%)、2型1株 (2.1%)、福井で1型49株 (96.1%)、2型2株 (3.9%)で全国的にも1型のみ流行もしくは、大部分が1型を占める流行であった。

1989~90年では、1型36株 (53.7%)で主流であるものの、2株 (2.9%)と少数であるが3型が認められ、この期間では1~4型全てが検出された。県下では、3流行期中全ての期間で主流は1型が占めているが、他の血清型については、比率を変化させながら流行をくりかえしている。中込ら<sup>15)</sup>の山形での同一地域で4年間を連続調査した結果では、血清1型は3期は優位主流を占めたものの、のこり1期は低位であり、1型が流行株の多くを占めるものの、地域性また流行年によって大きく変動することを報告している。

これらのことからA群ロタウイルスの血清型は、例年また各地域において1型が流行の主流を占めるパターンが多いものの、ロタウイルスは各血清型の順位をかえながら、くりかえしている。しかし県下では3回の流行期で全て1型が主流であったが、なぜ例年主流を占めるのか、また亜群と血清型または泳動型に合致しない型が検出されたことなど今後の検討課題である。

## 文 献

- 1) 国立予防衛生研究所：検出ウイルスの月別集計，病原微生物検出情報，**12**，(1991)。
- 2) 池上信子はか：ウイルス性下痢症，臨床病理，**XXXII**：7，715~725 (1984)。
- 3) 大瀬戸光明はか：ポリアクリルアミド電気泳動法による非定型ロタウイルスの検出，医学のあゆみ，**136**，223~224 (1986)。
- 4) 山西重機：香川県下におけるウイルス性下痢症とその疫学，感染症学雑誌，**58**，774~783 (1984)。
- 5) Espejo, RT, et al: Distinct reovirus-like agent associated with acute infantile gastroenteritis, J.Clin. Microbiol., **6**，502~506 (1977)。

- 6) Laemmli, UK : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, **227**, 680 ~ 685 (1970).
- 7) 赤谷 薫, ほか : モノクローナル抗体を用いた酵素免疫固相法 (ELISA) による糞便中ロタウイルス抗原のタイピング, *臨床とウイルス*, **15**, 61~68 (1987).
- 8) 赤谷 薫ほか : 乳児下痢症のウイルス学的研究 (第4報) ヒトおよびウシロタウイルスに対するモノクローナル抗体の作製, *大阪府立公衛研究所報公衆衛生編*, **20**, 83~89(1982)
- 9) Espejo, RT, et al : Presence of two distinct types of rotavirus in infants and young children hospitalized with acute gastroenteritis in Mexico City, 1977. *J. Infect Dis*, **139**, 474 ~ 477 (1979).
- 10) 山西重機ほか : RNA電気泳動型からみたロタウイルスの流行について, *香川県衛生研究所報*, **16**, 23~26 (1987)
- 11) 赤谷 薫ほか : ロタウイルス流行株の地域的局在性とその伝播, *第36回日本ウイルス学会総会抄録*, 228 (1988).
- 12) 浦沢正三ほか : 本邦7地域における下痢症患者便中ヒトロタウイルスの血清型別試験成績, *臨床とウイルス*, **17**, 132 ~ 136 (1989).
- 13) 川本尋義ほか : 岐阜における小児冬季胃腸炎下痢症に関連したA群ヒトロタウイルス流行と血清型疫学, **42**, 79~84 (1989).
- 14) 牛島廣治ほか : 東京地域のロタウイルスの流行疫学とその他の地域の流行疫学との比較, *第38回日本ウイルス学会総会抄録*, 243 (1990).
- 15) 中込 治ほか : ロタウイルスの血清型の変遷について : 山形市での4日間の観察, *第38回日本ウイルス学会抄録*, 195, (1990).