

# 香川県におけるA群ロタウイルス胃腸炎の血清型からみた流行疫学

Epidemiology of Group A Rota viruses Infections in Kagawa Prefecture

山西 重機                      亀山 妙子                      三木 一男                      \*長谷川斐子  
Shigeki YAMANISHI      Taeko KAMEYAMA      Kazuo MIKI      Ayako HASEGAWA

## 要 旨

1985～01年に分離したA群ロタウイルス988株についてRNA泳動型別で、L型819株、S型84株、L+S型1株、また1987～00年の779株について亜群別で 群66株、 群692株、 + 群1株、さらに1987～01年の803株についてG血清型別でG1型612株、G2型69株、G3型15株、G4型46株、G1+2型3株、G1+3型1株、G1+4型2株がそれぞれ区分確認された。

各シーズンとも亜群 群、RNA泳動型L型が大部分を占め、ヒトの主要G血清型といわれるなかでG1型が主流株となり、それに追従する他の型もしくはG1単独型の流行で、型間における分布比率も最小であった。他の地域のように主流型の変動はみられず、G1型の定着常存化が示唆された。

キーワード：A群ロタウイルス、G血清型、RNA泳動型、乳幼児下痢症、香川県

## はじめに

冬期間におけるウイルス性胃腸炎の一つである乳児嘔吐下痢症の主要な起因ウイルスであるロタウイルスは、毎年同一パターンでもって流行<sup>1)</sup>を繰り返している。

ロタウイルスによる乳児嘔吐下痢症は、現在なお乳幼児期における重要な疾患の一つである。

ロタウイルスは、遺伝学的違いによってA群からF群までの6種類に分類<sup>2)</sup>されるが、このうちヒトに病原性をもち感染が確認され、国内に存在するのはA、C群で、このうちA群ロタウイルスが分離ウイルスの大部分を占め、流行を起こしている。C群ロタウイルスは地域散発的であり、また集団発生<sup>3)</sup>で稀にみられる。

このA群ロタウイルスの抗原的な分類は、粒子の内殻蛋白による亜群別で 群と外殻蛋白に基づく血清型(G血清型)別のG1～G14血清型に、また、ポリアクリルアミド電気泳動法(PAGE)に

よってRNA泳動型L、S型に区分<sup>4)</sup>できる。

我々は、香川県内で発生したA群ロタウイルスの流行を抗原疫学的に解析するために、1985～2001年の各シーズンの分離ロタウイルス株について電気泳動型、また1987～2001年に血清型、更には1987～2000年に亜群による区分を行い、各シーズン、地域における群型の分布、群型の相互の関係などについて検討し、若干の知見を得たのでその概要について報告する。

## 方 法

### 1 ロタウイルス群型別検査材料

香川県下の感染症発生動向調査小児科定点を受診した急性胃腸炎患者から採取した糞便を検査材料とし、電子顕微鏡観察法もしくは酵素抗体法でもってロタウイルス陽性と同定された糞便を用いた。

なお、糞便からのウイルス粒子の抽出精製、

\*国立感染症研究所

電子顕微鏡による形態学的同定法<sup>5)</sup>、また、酵素抗体法についてはさきに報告した方法<sup>6)</sup>によった。

## 2 ロタウイルスのRNA泳動型別による区分

糞便からのRNAの抽出は、長谷川らの方法<sup>7)</sup>によって、さきに報告した10%ポリアクリルアミドSDSスラブゲル電気泳動(10mA, 17時間)を行った後、銀染色を経て、RNA各分節の移動度を観察した。

第10, 11分節の移動距離の違いによるL型(long), S型(short)パターンによる分類を用いた。

## 3 ロタウイルスのG血清型, 亜群別による区分

ロタウイルス陽性糞便10%乳剤上清を抗原として用いた。G血清型, サブグループの亜群別は、主要なG1~G4血清型および亜群, に特異的なモノクローナル抗体を用い、赤谷ら<sup>8)</sup>の酵素抗体法を先に報告したように一部改変<sup>9)</sup>して行った。

# 結 果

## 1 1985~2001年の各16シーズンにおけるRNA泳動型による分類

表1に示したように、その大部分はL型タイプであり、S型タイプについては、1986~1987年は11株(17.2%)、1989~1990年は15株(18.8%)、1992~1993年は13株(19.1%)、2000~2001年は10株(16.9%)などのシーズンでそれぞれ分離されたが、1985~1986年、1988~1989年、1996~1997年の各シーズンでは分離できなかった。また1994~2000年のシーズンでは、0~2株と低率であった。さらに、1993~1994年のシーズンでは同一糞便からL型、S型タイプが同時に分離された事例が確認された。

調査を始めて以降、16シーズンについて香川県下では、L型タイプが流行の主流を占め、S型タイプは散発的であった。

表1 各シーズンにおけるA群ロタウイルスのRNA泳動型による分類

各流行年	検体数	電気泳動型別による区分			判定不能の数
		L型	S型	L+S型	
2000 - 01	63	49	10		4
1999 - 00	32	30	1		1
1998 - 99	43	38	1		4
1997 - 98	43	37	1		5
1996 - 97	29	28			1
1995 - 96	56	51	1		4
1994 - 95	69	63	2		4
1993 - 94	107	86	7	1	13
1992 - 93	77	55	13		9
1991 - 92	76	68	6		2
1990 - 91	60	46	6		8
1989 - 90	94	65	15		14
1988 - 89	49	44			5
1987 - 88	76	65	10		1
1986 - 87	68	53	11		4
1985 - 86	46	41			5

判定不能株は、A群ロタウイルスではあるが泳動パターンから第10, 11分節の移動距離が確認できず判定できなかった事例である。

## 2 1987~2000年の各13シーズンにおける亜群による分類

表2に示したように、群タイプが大部分を占め、群タイプは1988~1989年、1996~1997年のシーズンでは確認できなかった。しかし、1987~1988年では11株(13.2%)、1989~1990年では13株(16.0%)、1992~1993年13株(17.8%)と比較的多く分離された。

また、1993~1994年のシーズンでは、同一糞便から群, 群タイプが同時に分離された事例が確認された。

判定不能株は、A群ロタウイルスであるがウイルス粒子数または抗原欠損などの影響で酵素抗体法による亜群の判定ができなかった事例である。

表2 各シーズンにおけるA群ロタウイルスの亜群による分類

各流行年	検体数	亜群による区分			判定不能の数
		群	群	+群	
1999 - 00	31	3	28		
1998 - 99	37	2	32		3
1997 - 98	42	1	40		1
1996 - 97	29		28		1
1995 - 96	60	1	57		2
1994 - 95	69	3	63		3
1993 - 94	99	8	85	1	5
1992 - 93	74	13	60		1
1991 - 92	72	5	66		1
1990 - 91	57	6	50		1
1989 - 90	81	13	68		
1988 - 89	45		43		2
1987 - 88	83	11	72		

3 1987～2001年の各14シーズンにおけるG血清型別による分類

表3に示したように、ヒトA群ロタウイルスで主要G血清型といわれるG1, 2, 3, 4型タイプが確認された。このシーズン中、大部分はG1型タイプで1988～1989年は43株(100%)、1991～1992年は61株(95.3%)、1996～1997年は23株(92.0%)など高率であった。また1989～1990年は39株(55.7%)で主流行型ではあるが低率となっている。

G2型タイプは、1992～1993年15株(23.1%)、1989～1990年12株(17.1%)、1990～1991年9株(16.7%)などであった。また、1988～1989年は確認できず、1995～2001年シーズンは0～1株で希少分離の頻度となっている。

G3型タイプは、確認されたG血清型中、最も低率で少ない分離数で、1987年以降1989～1990年は3株(4.2%)であったが、1995～1996年の6株(10.7%)まで確認することができなかった。また、それ以降も毎年頻少分離の0～2株と推移した。

G4型タイプは、1989～1990年は15株(21.4%)、1994～1995年は12株(16.2%)、2000～2001年は6株(18.8%)などであったが、8シーズンでは確認できなかった。

表3 各シーズンにおけるA群ロタウイルスのG血清型別による分類

各流行年	検体数	血清型別による区分							判定不能の数
		1	2	3	4	1+2	1+3	1+4	
2000 - 01	32	25	1		6				
1999 - 00	32	28		2				1	1
1998 - 99	41	33		2	3				3
1997 - 98	34	30	1	2				1	
1996 - 97	27	23	1				1		2
1995 - 96	57	49	1	6					1
1994 - 95	72	48	4		12				8
1993 - 94	105	81	12		1	1			10
1992 - 93	65	50	15						
1991 - 92	70	61	3						6
1990 - 91	59	44	9			1			5
1989 - 90	78	39	12	3	15	1			8
1988 - 89	49	43							6
1987 - 88	82	58	10		9				5

この期間中、同一糞便から複数血清型ウイルスの同時分離事例が確認された。G1型とG2型タイプが3事例、G1型とG3型タイプが1事例、G1型とG4型タイプが2事例であった。判定不能株は、A群ロタウイルスであるが、酵素抗体法でG血清型による分類ができなかった事例である。

考 察

本邦におけるロタウイルス感染症のほとんどは、冬期間に集中して発生し、冬期下痢症の大きな部分を占め、毎年の如くその流行を繰り返している。ロタウイルスは、内殻蛋白の抗原性によって、動物も含めて、A～F群の6種類<sup>2)</sup>に分類することができ、その大部分はA群ロタウイルスによる流行で、一部、散発的また、集団給食などの施設でC群ロタウイルスが確認<sup>3)</sup>されているが、その他の群については、今までのところヒトにおける国内の報告はない。

ヒトA群ロタウイルスは、内殻蛋白の抗原的な違いによってサブグループの亜群とに区別することができる。また外殻蛋白にはそれぞれ別個の血清型を規定するGタイプとPタイプの中和抗原があり、このうちGタイプが一般的に用いられ、現在までにこの抗原性によってG血清型はG1～G14の14種類

が知られており、この中で国内で頻発する主要血清型といわれるのは、G 1 ~ G 4 血清型タイプである<sup>4)</sup>。

更に、PAGE (ポリアクリルアミド電気泳動法) によって、ロタウイルス 2 本鎖 RNA の 11 分節中、第 10、11 分節の移動距離の違いによって L 型 (ロング) タイプ、S 型 (ショート) タイプのパターンに分類される。

この抗原性の違いによる A 群ロタウイルスの細分類化法を用いて、各シーズン、地域の流行分離株を比較分析することで、香川県内の A 群ロタウイルス感染症を流行疫学的に解析した。

香川県では 1985 年から 2001 年における泳動型は、L 型タイプ 819 株 (90.6%)、S 型タイプ 84 株 (9.3%)、L + S 型混在タイプ 1 株 (0.1%) であり、各シーズン中、同傾向の推移であった。また 1987 年から 2000 年におけるサブグループの亜群別では、亜群タイプ 66 株 (8.7%)、タイプ 692 株 (91.2%)、+ 混在タイプ 1 株 (0.1%) であった。更に 1987 年から 2001 年における G 血清型別では、G 1 型タイプ 612 株 (81.8%)、G 2 型タイプ 69 株 (9.2%)、G 3 型タイプ 15 株 (2.0%)、G 4 型タイプ 46 株 (6.2%)、G 1 + 2 型混在タイプ 3 株 (0.4%)、G 1 + 3 型混在タイプ 1 株 (0.1%)、G 1 + 4 型混在タイプ 2 株 (0.3%) の分布で主要 G 血清型といわれる以外のタイプについては確認できなかった。

各シーズンともに主流となったそれぞれの分類型は、RNA 泳動型では L 型タイプ、サブグループでは亜群タイプ、G 血清型では G 1 型タイプであった。

しかし、詳細にみると 1987 ~ 88 年には G 3 型タイプが分離されず、1987 ~ 88 年は G 1 型タイプのみが分離され、1989 ~ 90 年では G 1 ~ 4 型タイプ全てが検出され、1992 ~ 94 年では G 2 型タイプの比率が高くなり、1994 ~ 95 年でも G 4 型タイプが同様になっている。各シーズンをとおして G 3 型タイプ、G 4 型タイプが確認できないシーズンが多くみられた。

他の地域と比べると、Zhou ら<sup>10)</sup>は 1984 年から 1997 年における札幌、東京、舞鶴、大阪、香川、久留米、佐賀の地域別の G 血清型をみているが、我々の調査

とはほぼ同様に G 1 型タイプが主流で、各シーズンで優位を占めた。稀ではあるが、地域あるいは流行年によっては G 2 型、G 3 型、G 4 型タイプが優位となって追隨している。1985 ~ 86 年の札幌では G 4 型タイプ、1986 ~ 87 年の東京では G 4 型タイプ、舞鶴では G 3 型タイプ、1990 ~ 91 年東京では 3 型タイプ、1991 ~ 92 年の舞鶴、大阪、佐賀で 2 型タイプが主流株となった。また 1986 ~ 87 年の大阪の G 3 型タイプ、1987 ~ 88 年の大阪の G 2 型、G 3 型タイプ、1992 ~ 93 年の佐賀の G 2 型タイプなどが G 1 型タイプにつづいて多く分離され、各地域、各シーズンによって、主要な流行血清型や型分布が大きく相違していることを報告している。また、同様に Ushijima ら<sup>11)</sup>も東京における 1990 ~ 93 年における G 血清型別で G 1 型タイプは 3 シーズン全てで確認でき、G 2 型タイプは 1992 ~ 93 年のみで、G 3 型タイプは 1990 ~ 91 年に高い比率で分離され、G 4 型タイプは確認されなかったと報告している。

今村ら<sup>12)</sup>は、1986 ~ 91 年の久留米での一小児科定点を受診した冬期下痢症患者について調査し、G 1 型タイプ 58%、G 3 型タイプ 22%、G 2 型タイプ 6%、G 4 型タイプ 14% の分布であったと報告している。

藤田ら<sup>13)</sup>も、1988 ~ 91 年の埼玉県の調査で G 1 型タイプは全シーズンで高率に分離され、1989 ~ 90 年には G 2 型タイプが多く、1990 ~ 91 年には G 3 型タイプが多かったことを報告している。

また、飯塚ら<sup>14)</sup>も同様に、島根県内で 1998 ~ 99 年における状況を、G 1 型が大部分で一部 G 3 型が分離されたことを報告している。

国外では、A. Cunliffe ら<sup>15)</sup>が 1997 ~ 98 年のマラウエイの小児下痢症患者における G 血清型別分布を G 8 型タイプ 51%、G 3 型タイプ 38%、G 4 型タイプ 5%、G 9 型タイプ 3% であり、日本国内での主流である G 1 型、G 2 型タイプは確認されなかったことを報告している。

また、Nakata ら<sup>16)</sup>は 1991 ~ 94 年のケニアにおける調査で亜群タイプ 63.1%、タイプ 25.9%、G 血清型では G 1 型タイプ 23.7%、G 2 型タイプ 16.7%、G 3 型タイプ 0.6%、G 4 型タイプ 42.3%、RNA 泳動型 S 型タイプ 20.5%、L 型タイプ 59.0% であった

ことを報告している。

さらに、Woodsら<sup>17)</sup>は、1978～89年における各地域の調査で米国、ペルー、中国、韓国、イスラエルでは、我々調査と同様にG 1型タイプを主流とするものであったが、メキシコ、南アフリカではG 3型タイプ、コスタリカG 4型タイプなどであったと報告している。

香川県内における流行型推移をみると1987年以降14回のシーズンの観察で、各シーズンともG 1型タイプを主流とするものであったが、詳細にみると主流型のG 1型タイプにつづいてG 2型タイプが多く分離された1987～88年、1989～90年、1992～93年、1993～94年など、またG 4型タイプが多くみられた1989～90年、1994～95年など、さらには1988～89年には他型は分離されずG 1型タイプのみであった。

このように報告されている各地域においては、主流の血清型のほかに1～3種類の血清型が混在追隨して検出される流行パターンを示し、その比率には多様性のあることがわかった。

分離A群ロタウイルスのRNA泳動型、亜群、G血清型との関係では、RNA泳動L型タイプは、亜群タイプで、G血清型G 1、3、4型タイプに一致し、RNA泳動型S型タイプは亜群タイプでG血清型G 2型タイプに対応するという報告にほぼ一致しているが、reassortant株の出現で異型のものもみられる。県内では、1989～90年のG血清型G 1型、亜群、RNA泳動S型タイプの抗原性を示した1株が分離された。ロタウイルスは11分節のRNAを持つため、自然界でもreassortant株をつくり易くしていると考えられる<sup>18)</sup>。

また、この調査期間中、同一患者糞便から複数血清型が分離される事例が、G 1とG 2型タイプ3例、G 1型とG 3型タイプ1例、G 1型とG 4型タイプ2例みられた。さらに亜群、RNA泳動型で確認できたのはそれぞれ1例であった<sup>19)</sup>。

これらは同時分離例ではあるが、抗体価推移などみていないため同時感染とはいえない。

一地域における14シーズンの長期にわたるA群ロタウイルスのG血清型別、また16シーズンのRNA泳動型別など他に類を見ない調査であるといえる。各シーズンともG血清型G 1型タイプが主流で分離

株の大部分を占め、他の地域のような主流G血清型、また追隨するG血清型の変動はみられなかったが、国内では、どの地域でも、主流型の比率に変化があっても必ず検出され、常在化しているものと考えられる。

## まとめ

- 1 1985～01年におけるRNA泳動型はL型タイプ819株(90.6%)、S型タイプ84株(9.3%)であった。
- 2 1987～00年における亜群別では、群タイプ66株(8.7%)、群タイプ692株(91.2%)であった。
- 3 1987～01年におけるG血清型は、G 1型タイプ612株(81.8%)、G 2型タイプ69株(9.2%)、G 3型タイプ15株(2.0%)、G 4型タイプ46株(6.2%)の分布であった。
- 4 同一糞便材料中からの各G血清型株の混在検出例では、G 1と2型タイプが3事例、G 1と3型タイプが1事例、G 1と4型タイプが2事例確認できた。
- 5 1993～94年の各型混在検出事例では、1株でG血清型、亜群、RNA泳動型の全ての型間で確認できた。
- 6 1989～90年にG血清型1型、亜群、RNA泳動型S型タイプの1株が確認できた。

## 文 献

- 1) 荒木和子、祭長海、佐藤賢子、藤田靖子、篠崎立彦、阿部敏明：アジアにおけるロタウイルス感染症の流行疫学、感染症学雑誌、70(3)、239 - 246、(1996)
- 2) 小林宣道、浦澤正三：胃腸炎ウイルス、ロタウイルス、ウイルス、50(2)、157 - 172、(2000)
- 3) 関根整治、林志直、安東民衛、太田建爾、柳川義勢、楠淳、甲斐明美：東京都で発生したC群ロタウイルス下痢症の集団発生例、感染症学雑誌、67(1)、110 - 115、(1993)
- 4) 谷口孝喜、前野芳正：ロタウイルスとロタウイ

- ルスワクチン，臨床とウイルス，27(4)，271 - 282，(1999)
- 5) 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(8)，747 - 783，(1984)
- 6) 山西重機，三木一男，山本忠雄：ELISAによるヒト及びブタノタウウイルスの抗原検出とブタ，ウシ及びヒトノタウウイルスの抗体測定，香川県衛生研究所報，15，15 - 19 (1986)
- 7) Hasegawa A, Mukoyama A, Suzuki H, Inouye S, Chearskul S, Thongkrajai P, Supawadee J, Pongprot B, Yamazi Y : Rota virus infection of Thai infants : antigen detection, RNA electrophoresis And virus cultivation, J Diar Dis Res, 5 ( 1 ) , 165 - 170 , ( 1987 )
- 8) 赤谷薫，池上信子：モノクローナル抗体を用いた酵素免疫固相法 (ELISA) による糞便中ノタウウイルス抗原タイピング，臨床とウイルス，15(1)，61 - 68，(1987)
- 9) 山西重機，藤井康三，三木一男，長谷川斐子：香川県におけるA群ノタウウイルスの血清型とその流行，臨床とウイルス，20(1)，53 - 58，(1992)
- 10) Yumei Zhou, Miyuki Nakayama, Ayako Hasegawa, Bosu Kim, Shuichi Nishimura, Shunzo Chiba, Shuji Nakata, Tadafumi Nishimura, Shigeki Yamanishi, Sadayuki Funatsumaru, Takashi Motohiro, Kunio Kaneshi, Yuichi Ueda, Shigekazu Nakaya Osamu Nishio and Hiroshi Ushijima : Serotypes of human Rotaviruses in 7 Regions of Japan from 1984 to 1997, 感染症学雑誌，73(1)，35 - 42，(1999)
- 11) Hiroshi Ushijima, Atsushi Mukoyama, Ayako Hasegawa, Shuichi Nishimura, Kyoko Konishi, and Kim Bosu : Serotyping of Human Rotaviruses in the Tokyo Area (1990 ~ 1993) by Enzyme Immunoassay With Monoclonal Antibodies and by Reverse Transcription and Polym Virease Chain Reaction Amplification, J. Med. ol, 44, 162 - 165, (1994)
- 12) 今村宣寛，浜田信之，長井孝之，新宮正人：久留米市一定点における過去5カ年のヒトノタウウイルス血清型推移，感染症学雑誌，66(10)，1404 - 1410，(1992)
- 13) 藤田靖子，山田尚，荒木和子，田島剛，阿部敏明，篠崎立彦：埼玉県の一病院におけるノタウウイルス感染症の血清型とRNA泳動型 - 3年間の成績 - ，感染症学雑誌，66(6)，721 - 728，(1992)
- 14) 飯塚節子，松田裕明，武田積代，亀葉優子，板垣朝夫：下痢症関連疾患のウイルス学的検索 (1998 / 1999年)，島根県衛生公害研究所報，41，59 - 60，(1999)
- 15) Nigel A. Cunliffe, Jailosi S. Gondwe, Robin L. Broadhead, Malcolm E. Molyneux, Patricia A. Woods, Joseph S. Bresee, Roger I. Glass, Jon R. Gentsch, and C. Anthony Hart : Rotavirus G and P Types in Children With Acute Diarrhea in Blantyre, Malawi, From 1997 to 1998, J. Med. Virol, 57, 308 - 312, (1999)
- 16) Shuji Nakata, Zippora Gatheru, Susumu Ukae, Noriaki Adachi, Nobumichi Kobayashi, Shinjiro Honma, Joseph Muli, Peter Ogaja, James Nyangao, Esau Kiplagat, Peter M. Tukei, And Shunzo Chiba : Epidemiological Study of the G Serotype Distribution of Group A Rotaviruses in Kenya From 1991 to 1994, J. Med. Virol, 58, 295 - 303, (1999)
- 17) Patricia A. Woods, Jon Gentsch, Vera Gouvea, Leonardo Mata, Alberto Simhon, Mathuram Santosham, Zhi-sheng Bai, Shozo Urasawa, and Rogeri I. Glass : Distribution of Serotypes of Human Rotavirus in Different Populations, J. Clin. Microbiol., 30(4), 781 - 785, (1992)
- 18) 谷口孝喜：ノタウウイルスの遺伝子とたん白質，ウイルス，48(2)，137 - 151，(1998)
- 19) 山西重機，山中康代，藤井康三，亀山妙子，三木一男：A群ノタウウイルス複数型同時の感染例について，香川県衛生研究所報，22，26 - 27，(1994)