感染性胃腸炎非流行期に得られた環境水由来ノロウイルスの遺伝的多様性

東北大学大学院 正会員○佐野大輔 宮城県保健環境センター 正会員 植木 洋 東北大学大学院 正会員 大村達夫

1. はじめに

水環境中から検出される病原ウイルス、いわゆる 水中病原ウイルスとしてはA型肝炎ウイルスや小児 麻痺ウイルス(ポリオウイルス)などピコルナウイ ルス科に属するウイルスの検出事例が多いが、その 他にも乳幼児下痢症を引き起こすロタウイルスやア ストロウイルス, プール熱を引き起こすアデノウイ ルス、及び非細菌性感染性胃腸炎の原因であるカリ シウイルスなどが含まれる. これらの水中病原ウイ ルスの中でもカリシウイルス科に属するノロウイル スは、その感染症事例が世界中で年々増加している ため、社会的な注目を集めつつある. ノロウイルス に関しては、組織細胞による培養が未だに確立され ていない等の理由から、ポリオウイルスやロタウイ ルス等と比べると水環境汚染に関する報告の蓄積は 少ない. 特に感染性胃腸炎非流行期である夏季にお ける水環境中のノロウイルス汚染実態はほとんど解 明されていないのが現状である. 非流行期における ノロウイルスの動態は、毎年冬季に必ずノロウイル ス感染症患者が増加するという流行の周期性の成り 立ちを解明する上で非常に重要である. 本稿では, 感染性胃腸炎患者からの検出報告数が多いノロウイ ルス GII 遺伝子について、夏季における水環境中か らの検出を試みた. さらに得られた遺伝子の配列を 解析する事で, 感染性胃腸炎非流行期におけるノロ ウイルスの動態について考察した.

2. 実験方法

2004年7,8,9月,及び2005年7,8月において,宮城県松島町内の下水処理場における流入下水500ml,下水汚泥500ml及び下水処理水1Lを月に1回採取した.同時に下水処理水を受容する河川において,下水処理水放流口の上下流合わせて4ポイントで河川水1Lを採取した.流入下水及び下水汚泥中のウイルス濃縮はSanoら(2003)¹⁾に従い,河川水及び下水処理水中のウイルス濃縮はUekiら(2005)²⁾に従った.また,海水からのノロウイルス濃縮はKatayamaら(2002)³⁾に従い,サンプル中

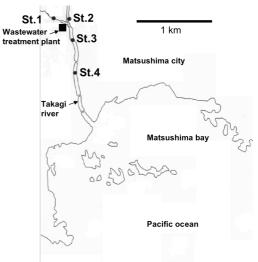


図1. 本調査におけるサンプル採取地点

の NV 遺伝子検出及び遺伝子配列解析は, Ueki ら (2005)²⁾ に従った.

3. 結果および考察

3. 1 ノロウイルス GII 遺伝子検出結果

表1には、感染性胃腸炎の非流行期である夏季におけるノロウイルス GII 遺伝子陽性率を示した.調査期間において当該地域からは感染性胃腸炎の発生報告は無かったものの、下水処理場への流入下水からのノロウイルス GII 遺伝子陽性率は60%(5サンプル中3サンプルが陽性)に達しており、散発的なノロウイルス感染症が当該地域において発生していたものと推測された.

下水汚泥及び下水処理水におけるノロウイルス GII 遺伝子陽性率は20%(5サンプル中1サンプル 陽性)であった. 感染性胃腸炎流行期(冬季)において同じ下水処理場で得られた下水汚泥及び下水処理水中のノロウイルス GII 遺伝子陽性率は90%であったことから²⁾,非流行期にはこれらのサンプル中のノロウイルス GII 遺伝子出現頻度が著しく低下するという結果であった. 流入下水の結果と合わせて考えると,夏季には下水処理場へ流れ込むノロウイルス量が減少するものの,散発的なノロウイルス

Key Words: ノロウイルス, 感染性胃腸炎, 非流行期, 下水処理, 河川水 〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-06, TEL: 022-795-7483 FAX: 022-795-7482 河川水

サンプル コード番号 陽性率(%) サンプル採取日 流入下水 60 (3/5) SW040727 2004年7月27日 SW040915 2004年9月15日 SW050803 2005年8月3日 下水汚泥 20 (1/5) SS040727 2004年7月27日 下水処理水 20 (1/5) TW050803 2005年8月3日

RW050720St11

RW050720St13

2005年7月20日

2005年7月20日

表1. 非流行期におけるノロウイルスGII遺伝子陽性率

感染症の患者が発生し、少量ながらも流入下水の中 に混入している状態であると推測された.

10 (2/20)

河川水からは、St.1 と St.3 において、2005 年 7 月のサンプルからノロウイルス GII 遺伝子が検出された。St.1 は下水処理水放流口の約 200m 上流に位置しており、これらは河川上流域の家庭に設置された浄化槽からの処理水を汚染源としていると考えられた。すなわちノロウイルス汚染源は下水処理水のみならず、下水道が普及していない地域における浄化槽等も含まれると推測される。

3. 2 ノロウイルス GII 遺伝子の系統解析

図2には、ノロウイルス感染症の非流行期に環境中から得られたノロウイルス GII 遺伝子の系統解析結果を示した。2005年に得られたノロウイルス GII 遺伝子はすべて GII.4型に属する Lordsdale virus の遺伝子と高い相同性を有していた。 Lordsdale virus とその近縁のウイルスで構成される GII.4型は世界中で感染症を引き起こしている遺伝子型であり、2003年から 2004年にかけての冬季にも当該地域から高頻度に検出されたことが確認されている ²⁾. これらの結果は、GII.4型に分類されるノロウイルスが、流行期のみならず非流行期においても感染症患者を発生させていることを示していると考えられる.

流入下水及び下水処理水から得られた2つのノロウイルス GII 遺伝子は、GII.3 型に属する Mexico virus と近縁であった。GII.3 型に属するノロウイルスは、GII.4型と比べると低頻度ではあるものの、以前にも流行期において当該地域で検出されており²⁾、GII.3 型も GII.4型と同様、広く人間社会に定着しているものと考えられた。

非流行期の流入下水から得られた1つのノロウイルス GII 遺伝子は、GII.2 型に分類された. この遺伝子型のノロウイルスは GII.3 型や GII.4 型と比べると検出報告数は少ないが、当該地域においては 2004年1月にも下水処理水から GII.2 型に属するノロウイルス遺伝子が検出されており 2、この遺伝子型の

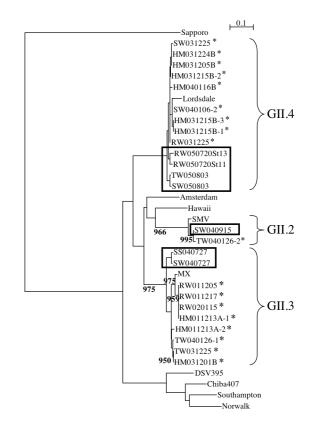


図 2. 水環境中から得られたノロウイルス GII 遺伝子の系統解析結果. 黒枠内は今回得られた遺伝子で,星印は感染性胃腸炎流行期に当該地域で得られた遺伝子を示している.

ノロウイルスも当該地域において、その存在量は少 ないものの定着しているものと推測された.

4. 結論

感染性胃腸炎の非流行期である夏季においても、存在量は減少しているものの、感染症患者に由来するノロウイルス遺伝子が水環境中に存在していた、特に多くの患者を発生させているGII.3型及びGII.4型のノロウイルス遺伝子が高頻度に検出されたが、GII.2型も当該地域に定着しているものと推測された。

参考文献

- 1) Sano, D.; Fukushi, K.; Yoshika, Y.; Omura, T., Detection of enteric viruses in municipal sewage sludge by a combination of the enzymatic virus elution method and RT-PCR, *Water Research*, **2003**, *37*, 3490-3498.
- 2) Ueki, Y.; Sano, D.; Watanabe, T.; Akiyama, K.; Omura, T., Norovirus pathway in water environment estimated by genetic analysis of strains from patients of gastroenteritis, sewage, treated wastewater, river water and oysters, *Water Research*, **2005**, *39*, 4271-4280.
- 3) Katayama H., Shimasaki, A. and Ohgaki S. (2002). Development of a virus concentration method and its application to detection of Enterovirus and Norwalk virus from coastal seawater. Appl. Environ. Microbiol., 68, 1033-1039.