

ウイルス性下痢症研究会 第28回学術集会プログラム

2016年10月22日(土) 開場 12:30 開始 13:05

平成28年度 総会 13:05 - 13:15

司会：勢戸祥介（大阪府立大学）、片山和彦（北里大学）

トピックス 13:15 - 14:15

座長：勢戸祥介（大阪府立大学）

1. 臨床ウイルス学会

高梨さやか（東京大学）

2. 国際食品・環境ウイルス学会

原本英司（山梨大学大学院）

3. 国際カリシ学会

岡智一郎（国立感染症研究所）

4. ロタウイルスの新知見

藤井克樹（国立感染症研究所）

話題提供 14:15 - 14:50

座長：片山和彦（北里大学）

「マウスノロウイルスレセプターの発見」

芳賀 慧（国立感染症研究所）

休憩 14:50 - 15:10

特別企画 15:10 - 16:30

座長：依田知子（大阪府立公衆衛生研究所）

「下痢症ウイルスの流行予測を考える」

1. 動物ロタウイルスの流行動向

鈴木亨（農研機構動物衛生研究部門）

2. 都市型洪水時の下痢症リスク

：地球温暖化と都市化の影響

真砂佳史（国際連合大学）

3. 日本のノロウイルスシーズンにおける遺伝子型組成の予測

鈴木善幸（名古屋市立大学）

4. 病原体メタゲノムデータベース構築と疫学への利用

：デング熱を例にして

黒田誠（国立感染症研究所）

特別講演 16:30-17:30

座長：佐々木潤（藤田保健衛生大学）

「下痢症ウイルス研究と共に40年」

谷口孝喜（藤田保健衛生大学）

閉会の挨拶 17:30 - 17:35

代表幹事：勢戸祥介

第 57 回日本臨床ウイルス学会報告

高梨さやか

東京大学大学院医学系研究科発達医科学教室

第 57 回日本臨床ウイルス学会は、2016 年 6 月 18 日と 19 日の 2 日間にわたって福島県立医科大学医学部小児科学講座 細矢光亮会長の下、福島県郡山市のホテル華の湯にて「ウイルス感染と免疫研究のこれから」をテーマに開催された。

一般演題 38 題、若手奨励賞候補演題 9 題のうち、ウイルス性下痢症関連のものは 7 題の演題が発表された。そのうち、ノロウイルスに関するものが 3 題、ロタウイルスが 2 題、ピコルナウイルス、エンテロウイルスが 1 題ずつであった。ノロウイルス GII. P17-GII. 17 に再感染した事例の免疫応答、人畜共通感染症としてのロタウイルス、消毒処理がノロウイルスの遺伝的多様性に与える影響、各ウイルス分子疫学検討等、多岐に渡った領域の演題があり、いくつか興味深かったものを紹介したい。

ランチョンセミナー 4 では「環境水サーベイランスとは」と題して、吉田弘先生（国立感染症研究所）が講演された。わが国でも 2012 年 9 月より経口生ポリオワクチンに替えて不活化ポリオワクチンが導入され、野生型ポリオウイルスの侵入が危惧されている。これらを効率よく監視するために、2013 年より開始された感染症流行予測調査事業感染源調査としての、流入下水を対象とした環境水サーベイランスについて紹介がなされた。

シンポジウム 1 は「ウイルス分野における次世代シーケンサーの有用性」というタイトルで行われた。黒田誠先生（国立感染症研究所）が講演した「公衆衛生および感染症診断に貢献する次世代シーケンス技術」では、急性脳炎・脳症の診療・診断体制の充実に向けた厚生労働科学研究班の活動の紹介と、網羅的病原体検索の一環で、病原性について議論のあった MLB1 アストロウイルスによる免疫不全児の急性脳症が見出された旨が報告された。

トピックス2

第5回国際食品・環境ウイルス学会 (ISFEV2016) 報告

原本 英司

山梨大学大学院総合研究部附属国際流域環境研究センター

2016年9月13～16日にホテル櫻井（群馬県吾妻郡草津町）において、国際食品・環境ウイルス学会（International Society for Food and Environmental Virology, ISFEV）の主催による国際会議「第5回国際食品・環境ウイルス学会（ISFEV2016）」が開催された。

本学会は、ノロウイルスをはじめとした食品や水を介して伝播するウイルスに特化し、そのウイルス学的性質、汚染事例および最新の検出技術等に関する情報を共有・発信することを目的としており、5回目にして初めてEU圏外での開催となった。

国内外100名を超える専門家が参加した今回の学会では、「Public Health Impacts of Foodborne and Waterborne Viruses」や「Analytical Methods in Food and Environmental Virology」等の8つのセッションにて54件の口頭発表が行われた他、ポスター発表（44件）やランチョンセミナーでの講演（2件）、さらにはノロウイルスに関する特別ワークショップも企画され、いずれも活発な議論が交わされていた。本発表では、これらの発表の中からいくつかを抜粋してその内容を紹介するとともに、草津温泉ならではの学会の盛り上がりについてもその雰囲気をお伝えしたい。

なお、参加者による投票の結果、次回2018年の学会は米国アリゾナ州にて開催されることとなった。今回に続いて多くの日本人研究者の参加を期待したい。

第6回国際カリシウイルス学会の報告

岡 智一郎

国立感染症研究所 ウイルス第二部

国際カリシウイルス学会は2004年以降3年ごとに開催されており、今回は2016年10月9～13日の間、アメリカ、ジョージア州、サバンナで開催される(<https://www.faingroup.com/Calicivirus/home.asp>)。現時点で250名が登録し、約70の口頭発表と100以上のポスター発表があると書かれている。

上記 website の scientific program から、以下の10項目のセッションについて口頭発表者の所属、演題名がダウンロード可能である。

Novel models to culture human noroviruses
Virus structure, entry and replication
Pathogenesis and immunity
Glycans and novel approaches to study caliciviruses
Molecular epidemiology and evolution
Burden of disease
Epidemiology
Animal caliciviruses: Pathogenesis and host factors
Food safety and environmental distribution
Control and prevention

当日は、国際カリシウイルス学会で発表された内容の中から、いくつかを選び概要を紹介する。

ロタウイルスの新知見 2016

藤井 克樹

国立感染症研究所 ウイルス第二部

ロタウイルスに関する研究について、昨年のウイルス性下痢症研究会以降に公表された論文の中から、代表的なものを抜粋して以下に記載した。発表では、この中から主な論文を取り上げて要点を解説する。

1. Global, Regional, and National Estimates of Rotavirus Mortality in Children <5 Years of Age, 2000-2013. Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Parashar UD; World Health Organization, Coordinated Global Rotavirus Surveillance Network. Clin Infect Dis. 2016 May 1;62 Suppl 2:S96-S105.

WHO が定期的に報告している疫学データ。ロタウイルスによる死者数は減少傾向。

2. Detection of the emerging rotavirus G12P[8] genotype at high frequency in Brazil in 2014: Successive replacement of predominant strains after vaccine introduction. Luchs A, Cilli A, Morillo SG, de Souza Gregorio D, Farias de Souza KA, Vieira HR, de Mira Fernandes A, de Cassia Compagnoli Carmona R, Timenetsky MD. Acta Trop. 2016 Apr;156:87-94.

ブラジルで G12 が増加中。

3. Rotavirus Strain Trends during the Post-Licensure Vaccine Era: United States, 2008-2013. Bowen MD, Mijatovic-Rustempasic S, Esona MD, Teel EN, Gautam R, Sturgeon M, Azimi PH, Baker CJ, Bernstein DI, Boom JA, Chappell J, Donauer S, Edwards KM, Englund JA, Halasa NB, Harrison CJ, Johnston SH, Klein EJ, McNeal MM, Moffatt ME, Rench MA, Sahni LC, Selvarangan R, Staat MA, Szilagyi PG, Weinberg GA, Wikswold ME, Parashar UD, Payne DC. J Infect Dis. 2016 Sep 1;214(5):732-8.

アメリカでも G12 が急増中。

4. Epidemiologic Association Between FUT2 Secretor Status and Severe Rotavirus Gastroenteritis in Children in the United States. Payne DC, Currier RL, Staat MA, Sahni LC, Selvarangan R, Halasa NB, Englund JA, Weinberg GA, Boom JA, Szilagyi PG, Klein EJ, Chappell J, Harrison CJ, Davidson BS, Mijatovic-Rustempasic S, Moffatt MD, McNeal M, Wikswold M, Bowen MD, Morrow AL, Parashar UD. JAMA Pediatr. 2015 Nov;169(11):1040-5.

Nonsecretor (inactivated *FUT2*) はロタウイルスへの感染率が低い。

5. Evaluation of Effectiveness of Mixed Rotavirus Vaccine Course for Rotavirus Gastroenteritis. Payne DC, Sulemana I, Parashar UD; New Vaccine Surveillance Network. *JAMA Pediatr.* 2016 Jul 1;170(7):708-10.

2種のロタウイルスワクチンを接種する場合は、計3回接種するのが適当。

6. Rotavirus vaccination and infection induce VP6-specific IgA responses. Lappalainen S, Blazevic V, Malm M, Vesikari T. *J Med Virol.* 2016 Jul 19. doi: 10.1002/jmv.24636.

ロタテック接種によりヒトVP6に対するIgA抗体も誘導される。

7. Evaluating the Impact of Breastfeeding on Rotavirus Antigenemia and Disease Severity in Indian Children. Das S, Sahoo GC, Das P, Singh UK, Jaiswal AK, Singh P, Kumar R, Kumar R. *PLoS One.* 2016 Feb 1;11(2):e0146243.

母乳で育てた方がロタウイルスに罹りにくい。

8. Thermal inactivation of enteric viruses and bioaccumulation of enteric foodborne viruses in live oysters (*Crassostrea virginica*). Araud E, DiCaprio E, Ma Y, Lou F, Gao Y, Kingsley D, Hughes JH, Li J. *Appl Environ Microbiol.* 2016 Jan 29;82(7):2086-99

牡蠣はノロウイルスだけでなくロタウイルスやA型肝炎ウイルスも体内に蓄積する。

9. Human Intestinal Enteroids: A New Model to Study Human Rotavirus Infection, Host Restriction and Pathophysiology. Saxena K, Blutt SE, Ettayebi K, Zeng XL, Broughman JR, Crawford SE, Karandikar U, Sastri NP, Conner ME, Opekun A, Graham DY, Qureshi W, Sherman V, Foulke-Abel J, In J, Kovbasnjuk O, Zachos NC, Donowitz M, Estes MK. *J Virol.* 2015 Oct 7;90(1):43-56.

エンテロイドを用いたロタウイルス感染モデル（ヒト）を確立。

10. Modeling rotavirus infection and antiviral therapy using primary intestinal organoids. Yin Y, Bijvelds M, Dang W, Xu L, van der Eijk AA, Knipping K, Tuysuz N, Dekkers JF, Wang Y, de Jonge J, Sprengers D, van der Laan LJ, Beekman JM, Ten Berge D, Metselaar HJ, de Jonge H, Koopmans MP, Peppelenbosch MP, Pan Q. *Antiviral Res.* 2015 Nov;123:120-31.

エンテロイドを用いたロタウイルス感染モデル（ヒト、マウス）を確立。

話題提供

マウスノロウイルスレセプターの発見

芳賀 慧*、藤本 陽**

*北里生命科学研究所・北里大学感染症制御科学府ウイルス感染制御学Ⅰ、国立感染症研究所ウイルス第二部、**AMED リサーチレジデント

マウスノロウイルス (MNV) は、培養系の確立されていないヒトノロウイルス (HuNoV) の代わりに、多くのノロウイルス研究に使用されてきた。しかしながら、ウイルスの細胞内への取り込み機構についてはレセプターを含め未解明であった。これまで、MNV の感染にはシアル酸、HuNoV の感染には血液型を決定する糖鎖 (組織血液型抗原: HBGA) など、糖鎖がレセプターの役割を果たすと考えられてきた。しかしながら、これらの分子を細胞表面に発現させてもノロウイルスが細胞に感染することはできなかった。

我々は、MNV に感受性の RAW264.7 細胞に CRISPER/Cas9 ゲノムワイドノックアウトシステムを導入し、種々の遺伝子をノックアウトしてから、MNV を感染させた。通常、RAW264.7 細胞は MNV を感染させると細胞変性効果 (CPE) が起こり細胞は死んでしまう。しかし、感染に寄与する遺伝子がノックアウトされた細胞には、MNV の感染は成立せず、細胞は生き残るであろうと予想した。結果として、細胞表面上に発現している CD3001f という分子がレセプターとして機能している可能性が示された。

次に、この CD3001f がレセプターとして機能しているかどうか確かめるために、本来 MNV に非感受性の細胞に CD3001f を発現させ、感受性になるかどうか検討した。その結果、本来ネズミ以外の動物には感染しない MNV が、この CD3001f を発現させた、ヒト、サル、ハムスター、ネコ由来の細胞にも感染し、増殖できるようになるということ明らかにした。また、同じ CD300 ファミリーに属する CD3001d も同様にレセプターとして機能することも見出した。この発見により、ノロウイルスの細胞への侵入機構に関するタンパク性の因子が明らかになった。またこれらの結果から、HuNoV に対しても、CD3001f のようなタンパク性のレセプターの存在が予想されるので、今後明らかにしていきたい。

動物ロタウイルスの流行動向

鈴木 亨

農研機構 動物衛生研究部門

ロタウイルスは主に幼若期に急性下痢を引き起こす代表的なウイルスであり、世界中に広く分布している。ロタウイルスは内郭タンパク質である VP6 の抗原性に基づいて、現在ロタウイルス A-I の 9 種類に分類されている。中でも、ロタウイルス A-C、また最近では H を含む 4 種類のウイルスにおいては、いずれもヒトと動物でそれぞれウイルスが検出されていることに加え、ヒト・動物間の種間伝播、さらにこれら異種動物由来ウイルス間の遺伝子組換え体（リアソータント）が見つかったことから公衆衛生上からも注目されている。

ロタウイルス A に関しては、従来より乳幼児下痢症の主要原因であったことから、これらロタウイルスの中でも最も研究が進んでおり、現在では 11 本の遺伝子分節それぞれに基づく遺伝子型別が確立されているため、新たに得られたウイルス株についてはそれらの遺伝学的位置付けを明確にすることが可能となっている。これまでにロタウイルス A は複数種の様々な宿主から幅広く検出されており、特に VP7、VP4 の両遺伝子に関して、現在までにそれぞれの 27 種類、37 種類の遺伝子型が存在することが明らかとなっている。

一方、ロタウイルス B、C、さらに H はいずれも新興感染症であるため、ウイルスが検出される宿主（主にヒト、ウシ、ブタ）が限られていることや全 11 本の遺伝子分節を解読することが困難であることなどからそれらウイルスの遺伝子型別は不十分であった。しかしながら最近になって、発表者を含む複数の研究グループが主にブタを中心に、特にロタウイルス B および C の全 11 本の遺伝子分節の解読を精力的に行い、ようやくそれらウイルスにおいても遺伝子型別が実施できる環境が整ってきた。

そこで今回の発表では、それらウイルスの遺伝子型別に基づく動物ロタウイルスの流行動向について紹介・考察する。

都市型洪水時の下痢症リスク：地球温暖化と都市化の影響

真砂 佳史

国際連合大学サステイナビリティ高等研究所 (UNU-IAS) リサーチフェロー

洪水や地震などの大規模災害が発生すると、家屋の浸水や避難所での生活など通常とは異なる生活を余儀なくされることがある。そのような環境は通常的生活状況と比較して衛生面で劣ることが多く、下痢症を含む感染症の拡大がしばしば問題となる。例えば東南アジアの都市域では都市型洪水（都市域において下水道や雨水排除施設などの能力を超える降雨により発生する洪水）が頻繁に発生しているが、氾濫水が下水の溢水などにより病原微生物により汚染されることで、事後に感染症の集団発生がおこることが報告されている。このような災害を防ぐために下水道や洪水対策施設などのインフラ整備が様々なドナーの協力のもと進められているが、その際対象都市の将来の状況を十分に勘案することが大切である。

途上国でのインフラ整備にあたり重要な因子として、急激な人口増が考えられる。アジアにある人口1,000万人以上の都市は2030年には2000年時（9都市）の3倍近い24都市になると予想されている。このような都市では水インフラの整備が人口増に比べて遅れており、都市内河川の下水による汚染は今後さらに深刻になると考えられる。また、温暖化ガスの排出等による地球規模の気候変動は、気温上昇だけでなく降水量にも影響を及ぼし、極端な降雨（豪雨や渇水）の頻度が増加する可能性が高いと予想されている。これらは、ともに洪水時の下痢症リスクを押し上げる要因となる。

このような将来の下痢症リスクの増加に対応するための工学的アプローチとして、筆者が属するグループではシミュレーションによる将来予測モデルを構築している。都市内河川の衛生学的水質の予測モデル、都市型洪水の予測モデル、洪水時の下痢症リスク評価モデル等を組み合わせることで、著しい発展が続く途上国都市域における持続可能なインフラ整備策の提案を目指した研究を進めている。本発表では、その中でジャカルタ（インドネシア）における研究をとりあげ、土木・衛生工学者の視点での感染症対策について紹介する。

日本のノロウイルスシーズンにおける遺伝子型組成の予測

鈴木 善幸
名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科

ノロウイルスは急性胃腸炎の原因ウイルスであり、多数の遺伝子型に分類されている。日本において、ノロウイルスは毎年冬季に流行する。毎シーズン複数の遺伝子型が組成を変化させながら流行するため、有効なワクチンを開発するにあたっては、つぎのシーズンにおもに流行するであろう遺伝子型の組合せを予測できることがのぞましい。インフルエンザウイルスの研究において、あるシーズンに流行した株 i の頻度とヘマグルチニンのアミノ酸配列のデータを、そのシーズンまでに流行した株の頻度とヘマグルチニンのアミノ酸配列のデータと比較して株 i の適応度を定義し、つぎのシーズンにおける株 i の頻度を推定するための、いわゆる適応度モデルが提唱された。本研究では、この適応度モデルを日本のノロウイルスの流行に適用した。ノロウイルスに対する集団免疫の効果を取りいれて適応度を定義し、日本におけるノロウイルスの過去のシーズンの遺伝子型頻度データと VP1 タンパク質のアミノ酸配列データを統合することにより、つぎのシーズンにおける遺伝子型頻度を予測できるシステム NOROCAST を開発した。遺伝子型頻度を正確に予測することはまだ難しいが、それぞれの遺伝子型の頻度があるシーズンからつぎのシーズンにかけて増えるのか減るのかについては比較的正確に予測できるようになった。NOROCAST によると、2015-2016 シーズンには GII.3 と GII.4 が減少して GII.17 が増加すると予測された。

特別企画「下痢症ウイルスの流行予測を考える」-4

病原体メタゲノムデータベース構築と疫学への利用；デング熱を例にして

黒田 誠

国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター・センター長

makokuro@niid.go.jp

感染症のグローバルな伝播を把握するためには当該病原体の遺伝型 (Genotype) 特定は先決であり、感染症対策を迅速に立案することにも貢献する。海外からの来訪者が増えつつある日本において、2014 年夏のデングウイルスの国内症例を経験した今、病原体の由来特定は重要になってきている。危機管理対応として被害を最小限に留めるためにはアウトブレイクの汚染源の特定は必須である。それ故、出来る限り検出された病原体の遺伝型特定は行なっておきたい。そこで我々はデングウイルス配列 (1944 -2016 年) を公開データベース NCBI から収集し、分離国・血清型・遺伝型としてデータベース化し Google Maps 上で表現できるよう Dengue Genograph Viewer (DGV) を公開している (<https://gph.niid.go.jp/geograph/dengue/content/genomemap>)。遺伝型 (Genotype) を図示化 (Graph) し、俯瞰的に状況を把握しやすくする手法である。東南アジア地域ではある固有の遺伝型が特徴的な分布を示し、蚊媒介性感染症であるがゆえ中間宿主の生息域に制限されることが主因として推測される。

世界的に重要な感染症の発生動向および関連情報を包括的に地図化しているツール HealthMap も紹介したい (<http://www.healthmap.org/en/>)。個別の病原体および感染症の発生状況や関連情報を入手することができ、地図を閲覧しながら俯瞰的に状況把握することができる。ジカ熱感染症が世界規模の問題となりつつあるが、アメリカ大陸全般で報告が多いことやベクター蚊の生息域との比較、近隣諸国での報告事例の検索にも有用なサイトである。

New York の地下鉄の拭き取り調査により得られた検体のメタゲノム DNA 解析し、多種多様な生物種を同定し、地図上にマップする試みが行われている (<http://graphics.wsj.com/patho-map/?sel=bact>)。世界的な取組としてコーネル大学 Mason 博士の主催の元、Metagenomics & Metadesign of Subways & Urban Biomes (MetaSUB) プロジェクトが進行中で、都市における感染リスクをゲノミクスを駆使して評価しており、環境保全等の基盤データとして有効かも知れない。

特別講演

下痢症ウイルス研究とともに 40 年

谷口孝喜

藤田保健衛生大学医学部ウイルス・寄生虫学講座

下痢症ウイルス研究を始めて、約 40 年にもなる。ノロウイルスについては、当時、直径 35-40nm のウイルス様粒子としての音更因子を電子顕微鏡、免疫電子顕微鏡観察からスタートした。ロタウイルスについても、開業医の先生方の診療所を訪ねて、下痢便を集めて、電子顕微鏡観察による検出が主な研究手段であった。それから、40 年。ロタウイルスについては、すでに、ワクチンが開発され、その顕著な効果が示される時代となった。

その間に、いろいろな実験をさせていただいた。ロタウイルスについては、1)モノクロン抗体の調製と ELISA によるタイピング、2) PCR によるタイピング、3)新たな G タイプ、P タイプ、H 群ロタウイルスの遺伝子解析、4)タイプ特異的、交叉性中和エピトープの解析、5) 各種動物（ウシ、ウマ、ブタ）ロタウイルスの遺伝子解析、6) 開発途上国におけるロタウイルスの分離とゲノム解析、7)リアレンジメント、リアソートメントの解析、8)抗原血症の解析、9)人工空粒子を用いた免疫応答の解析、10)ヒト型モノクロン抗体の調製、11)MiSeq によるゲノム解析、そして 12)リバーシジェネティクス系の開発など。

得られた研究成果を紹介させていただきながら、下痢症ウイルス学の歴史を見つめてみたい。そして、本研究会による今後の下痢症ウイルス研究の発展を期待したい。