

# ウイルス性下痢症研究会第29回学術集会プログラム

2017年10月23日 開場12:30 開始13:00

平成29年度 総会 13:00-13:15

司会：勢戸 祥介 (大阪府立大学)、岡 智一郎 (国立感染症研究所)

特別講演 13:15-14:35

座長：勢戸 祥介 (大阪府立大学)

1. 「ロタウイルスの種間伝播」 中込 治 先生 (長崎大学)
2. 「下痢症研究とものづくり、それは多くの人との出会いから始まった」  
北元 憲利 先生 (バイオアカデミア株式会社)

特別企画 14:35-15:35

座長：岡 智一郎 (国立感染症研究所)

「下痢症ウイルス研究における新技術とその課題」

1. 食品検査にデジタルPCRは利用できるか？ 上間 匡 先生 (国立医薬品食品衛生研究所)
2. 次世代シーケンサーの導入と運用 瀧澤 剛則 先生 (富山県衛生研究所)
3. 次世代シーケンサーを用いた解析の実例 本村 和嗣 先生 (大阪健康安全基盤研究所)
4. ハイスループットqPCR法による下水中のヒト消化器系ウイルスモニタリング  
三浦 尚之 先生 (国立保健医療科学院)

休憩 15:35-15:45

話題提供：15:45-16:45

座長：佐々木 潤 (藤田保健衛生大学)

1. 「ロタウイルスのリバースジェネティクス」 河本 聡志 先生 (藤田保健衛生大学)
2. 「ノロウイルスの培養系-その現状」 村上 耕介 先生 (国立感染症研究所)

トピックス：16:45-17:15

座長：上間 匡 (国立医薬品食品衛生研究所)

1. 第58回日本臨床ウイルス学会報告 金子 美穂 先生 (長崎大学)
2. 第19回健康関連水中微生物国際シンポジウム (WaterMicro2017) 佐野 大輔 先生 (東北大学)

閉会の挨拶 17:15-17:20

代表幹事：岡 智一郎 (国立感染症研究所)

# 抄録

## ロタウイルスの種間伝播

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・分子疫学分野

中込 治

分子疫学は、私が大学院生となった頃と時を同じくして開花した学問である。分子疫学は、ウイルスをゲノムのレベルで探究できるとともに、疫学であるので、その対象は基本的にウイルスの集団である。私が分子疫学の発展とともに取り組んできたロタウイルスの種間伝播についてお話しさせていただく。

ロタウイルスのゲノムの主要な進化機構は、①遺伝子分節内の点突然変異の連続的蓄積、②2つの野生株間におけるゲノム分節の交換（遺伝子再集合）、③異種ロタウイルスゲノムの一部または全部の獲得と馴化（種間伝播）の3つに要約できる。

ロタウイルスの種間伝播とは、さまざまな動物を自然宿主として生息している固有のロタウイルスが種の異なる別の動物に感染することである。動物ロタウイルスがヒトに感染し、病気を起こすのは、このような種間伝播の部分現象である。

種間伝播が起こるときは、ウイルス粒子全体が宿主の種の壁を超えて感染する。しかし、ゲノム全体がヒトという新しい宿主に適応して生き延びていくのはまれであり、ほとんどが感染環の確立に至らず終末感染となっている。一方、動物を宿主とするロタウイルスの遺伝子分節と思われるものがヒトロタウイルスの中で見出されることがある。これが種間伝播の後に遺伝子分節の交換を通して、ヒトロタウイルスのゲノムの中に入りこみ生き延びている動物ロタウイルスの姿である。分子疫学的にみると、ヒトロタウイルスでもっとも多いG1 VP7 遺伝子の起源はブタロタウイルスであり、遺伝子分節再集合体として生き延びている間に再びブタロタウイルスに戻ることなく、ヒトロタウイルスとして同化したものであろう。アフリカのG8 VP7 遺伝子の起源はウシロタウイルスであるが、同様の経過でヒトロタウイルスとして同化している。

ロタウイルスに進化に影響を与えるような種間伝播が同時代の現象として観察されることがある。2014年にベトナム中部で発生し、翌年に北部の首都ハノイに広がり、2016年現在も流行しているG8P[8]株がある。このG8P[8]株は、2012年ごろウシロタウイルスがヒトに伝播し、そのVP7 遺伝子分節がヒトロタウイルスに取り込まれたものである。これは、アフリカのG8株のようにヒトロタウイルスに同化する可能性を秘めている。その馴化過程の継続的観察と解析は、分子疫学者の課題である。



## 特別講演2

### 下痢症研究とものづくり、それは多くの人との出会いから始まった

バイオアカデミア株式会社 北元憲利

ウイルス性下痢症の研究は、1989年9月、米国テキサス州 Balor 医科大学 Mary K. Estes 博士のもとに留学した時から始まります。その機会を与えていただいたのが、田中智之先生でした。私は、もともと獣医学科（山口大学農学部獣医学科微生物学教室）出身で、学部・修士では細菌毒素の研究を行っていましたが、ある大先輩との出会いがきっかけで（出会い1）、大阪大学医学部大学院博士課程（大阪大学微生物病研究所）に進学することにしました。阪大微研では、加藤四郎先生のもとで（出会い2）ウイルスやがん免疫などを研究させていただきました。課程を修了するころ、阪大微研から和歌山県立医科大学の教授として赴任されていた宮本博行先生（出会い3）が（猫の手も借りたい？ので、と）私を呼ばれ、和歌山に行くことになりました。そこで田中先生（当時助教授）と運命の出会いをしたわけです（出会いその4）。和医大では、下痢症の研究とは異なり、宮本教授の長年やっておられたウイルス増殖機構を蛍光抗体法や酵素抗体法を用いて研究をしていました。その頃、単クローン抗体の作製技術が開発され、いろいろな分野で応用されるようになってきました。私達も、ウイルスの増殖機構の解明のため、使いがっつきのよいワクシニア（種痘）ウイルスに対する抗体づくりに着手することになりました。当時、周りをみても単クローン抗体を作製した知人はおらず、論文などを参考に抗体づくりが始まりました。1年近くの試行錯誤・悪戦苦闘の末、初めて単クローン抗体を得ることができました。まさに「苦労ーン！」抗体でした。もちろん当時としては、抗種痘ウイルスの単クローン抗体の樹立は世界で初めてであり、only one でもありました。そのときの感動は今でも忘れません。それ以降、抗体づくりが病みつきになりました（自称クローンハンター）。異なるウイルスタンパクに対する十数種の抗体を得て、多少なりともウイルス増殖機構の解明に役立つことができたかと思えます。その間、田中先生はA型肝炎やロタウイルスと「糞戦・糞闘」されており、Estes 博士のもとに留学されました（第21回学術集会抄録集参照）。田中先生の帰国のあと、入れ替わるように先生の紹介で私が Estes 研（出会い5）に留学させていただきました。ロタウイルスに対する抗体づくりで貢献できればと思っておりましたが、その時すでに田中先生らが作製されていましたし、また、これまでタンパクレベルでの研究しか知らなかったこともあり、遺伝子学的・分子生物学的な技術を身につけたいという希望を Estes 博士に伝えると、こころよく承諾していただきました。ロタウイルスを用いてPCR法やシーケンシングの技術を初めて体験することができました。数十のロタウイルス分離株（45株）の肝臓への感染性を *in vitro*、*in vivo*あるいは遺伝子レベルで検討することもできました。留学中（1990年）、何よりも幸運だったことは、Estes 研の Xi Jiang 博士が初めてノロウイルスの中空粒子(VLPs)を樹立した現場にいたことです。

帰国後（1993年）、上記（出会い1）で紹介した先輩の退官後の研究室のあとに運良く採用が決まり姫路時代（姫路工業大学～兵庫県立大学）が始まりました。赴任した当時は貧乏世帯でしたので、「お金がなくとも腕一本で何かできることはないか」と考えていたところ、再び田中先生からお声がかかりました。Estes 研からいただいた VLPs を使ってノロウイルス抗体づくりの共

同作業がはじまりました。今でもそうですが、決して南の和歌山の方角に足を向けて寝ることはできません。これまでの抗体づくりの腕？が生かされたのか、結構、沢山（百数十個）の抗体を得ることができました。得られた抗体を用いて、主に Balor 医科大学の院生やスタッフが利用してノロウイルスの解析を行なったり、また、田中リーダーのもと、国立感染研の武田直和先生、名取克郎先生およびデンカ生研の鎌田公仁夫博士ら（出会い6）とともに、ELISA 法やイムノクロマト法による検出用キットの開発に役立てることができました。その後、感染研の片山和彦先生、岡智一郎先生ら（出会い7）の作製したサポウイルスの VLPs を分与していただき、サポウイルスに対する抗体も作製することができました。現在も、デンカ生研の加藤大介博士らも含めてなお共同研究中です。退職後、のんびりするつもりでいたしましたが、そうもいかないようです。

講演では、特にノロウイルスやサポウイルスの抗体づくりとそれを用いた迅速簡便診断法の開発を中心にお話ししたいと思いますが、以下にこれまでに樹立した苦勞一抗体を紹介しておきます（以下、カッコ内の数字は得られたクローン数、そのあとの数字は其中で詳細な解析をしたクローン数です）。和歌山時代は、抗ワクシニアウイルス抗体（37クローン）、抗牛痘ウイルス抗体（13）、抗単純ヘルペスウイルスI型抗体（23）、抗麻疹ウイルス抗体（6、ただし、本抗体の作製では、田中先生に先を越されました！）、抗腎症候性出血熱ウイルス抗体（8）、抗ピロリ菌抗体（14、うち6）などです。姫路時代は、抗ノロウイルス抗体（152、うち33）、抗サポウイルス抗体（65、うち24）、抗E型肝炎ウイルス抗体（4）、抗ヒト型プリオン抗体（60、うち18）、抗コレクチン抗体（45、うち10）、抗バイオマーカー抗体（30、うち10）などです。このうちほとんどは世界に先駆けて作製された抗体ではないかと思っています。また、ありがたいことにいろいろな分野の多くの先生方の研究に利用していただくことができました。

最近では、兵庫県立大学の学生さんとともに、食中毒細菌に対する抗体、抗腸管出血性大腸菌（ベロ毒素）抗体（23、うち10）、抗黄色ブドウ球菌（エンテロトキシン）抗体（18、うち12）、抗セレウス菌抗体（15、うち10）、抗ウエルシュ菌抗体（12、うち10）、抗病原大腸菌抗体（19、うち10）、抗キャンピロバクター抗体（25、うち10）、抗サルモネラ（SE菌）抗体（24、うち9）、腸炎ビブリオ抗体（9、うち6）なども作製し、食中毒の迅速簡便な同時鑑別診断の開発に挑戦しました。

ウイルス性下痢症研究会においては、たいした貢献はできず、また、本講演においてもアカデミックなお話はできず恐縮しておりますが、私が今あるのは、研究会の多くの諸先生方との出会いがあったからだと深く感謝しております。私の座右の銘、「人との出会いを大切に！」、「人生（研究）の4K（健康に留意し、何事にも好奇心をもち、継続すれば、おのずから幸運がやってくる）」を今後も肝に銘じたいと思っています。これからもウイルス性下痢症研究会のますますの発展をお祈り申し上げます。

出会った（共同研究した）先生方（当時の所属で示しています）：堺市衛生研究所所長：田中智之先生、ベイラー医科大学：Mary K. Estes 先生および研究室の方々、国立感染症研究所：武田直和先生・名取克郎先生・片山和彦先生・岡智一郎先生、札幌医科大学：中田修二先生、国立医薬品食品衛生研究所：野田衛先生、デンカ生研：鎌田公仁夫博士・加藤大介博士、堺市衛生研究所：三好達也博士・内野清子博士・吉田永祥博士、地方衛生研究所諸先生方（以上、名前を挙げきれなかった先生方につきましては、お詫びとともに感謝申し上げます）、兵庫県立大学環境人間学部の学生諸君。

## 食品検査にデジタル PCR は利用できるか？

上間 匡

国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 第四室

デジタル PCR(dPCR)は検体に含まれるターゲット遺伝子を絶対定量できるほか、現在広く利用されているリアルタイム PCR(qPCR)の定量限界付近での定量が可能とされる。簡単に原理の比較をすると、PCR チューブ 1 本に含まれる反応液の蛍光強度と増幅サイクル数から、検体中のターゲット遺伝子の定量を行っている qPCR に対して、dPCR は PCR チューブ 1 本分の反応液を数万の微細な油滴やウェルに分画して PCR を行っている。分画方法は PCR 反応液に専用オイルを加えてチューブの中で微細な油滴(エマルジョン)を生成する方法(BIO-RAD 社)と、微細なウェルが配置された専用のチップに反応液をローディングする方法(サーモ社)などがある。分画された反応液には遺伝子が 1 コピー入ったもの、入っていないものが存在し、PCR を実施することでターゲットが入った分画が陽性としてカウントされる。PCR のエンドポイントで分画を陽性、陰性の数を測定して直接コピー数の定量を行っている。

このように qPCR と dPCR の最大の違いは PCR 反応時の反応液のボリュームであり、検体の前処理や、RNA 抽出、逆転写反応、PCR 条件やプライマー、プローブ等は基本的に両者同等となるため、dPCR が感度に大きく優れるとはいえないが、qPCR が苦手とする 1000 コピー、100 コピー未満の微量の定量をより正確に実施することが可能とされている。

定量可能な範囲を比較すると、qPCR は 10 コピーから  $10^7$  コピー程度のレンジで測定可能であるのに対して、dPCR の場合は測定時にカウントする分画数が 2 万程度となっているため、実際は  $10^4$  コピー程度までが測定可能範囲となる。低コピー数の検体からの定量を得意とすることから、検査現場では患者糞便などの高濃度汚染検体ではなく、食品検体への利用が期待されるが、上述のように検査感度自体は従来の qPCR と大きく変わらないと考えられる。今回は当所で dPCR を食品中のノロウイルス検査法の精度管理へ組み込むことを想定して利用を試みたので、使用しての実感や、ランニングコスト等について紹介したい。



## 次世代シーケンサーの導入と運用

富山県衛生研究所 滝澤剛則

平成 23 年に発生したユッケによる食中毒事件において多数の腸管出血性大腸菌が分離され、それらの詳細かつ迅速な解析が期待されて、同年、富山県衛生研究所（細菌部）に次世代シーケンサー（イルミナ社 MiSeq）が導入された。

同ウイルス部では、導入された次世代シーケンサーを用いて、病原体の特定されなかった感染性胃腸炎、無菌性髄膜炎、脳炎・脳症の原因ウイルスの検索や、複数のノロウイルス遺伝子型が検出された感染性胃腸炎事例の病因となる遺伝子型の特定等を行ってきた。これらの病原体検索は、主にメタゲノム解析により行った。

メタゲノム解析には、検体から抽出した総 RNA を用いたライブラリーの作成（ScriptSeq RNAseq Library preparation kit）と定量（KAPA Library Quantification Kits）、MiSeq 用シーケンスキット（MiSeq Reagent Kit v3 (150 Cycles)）を用いたライブラリーのシーケンス解析、解析ソフト（CLC Genomic Workbench、MEGAN）あるいはツール（MePIC pipeline）を用いたシーケンスデータからの病原体遺伝子の検索などが含まれる。

上述の解析に用いる各キットの価格は、1 キット当たり 10～20 万円前後である。データ解析ソフトを使用したり、ソフトをバージョンアップしたりするには、高性能なパーソナルコンピューターやインターネット接続が必要となる。MiSeq を用いた解析は行政検査ではないため、上述した費用を試験検査費（県費）等で賄うのは難しい。そのため、厚生科学研究費補助金、学術振興会科学研究費補助金、各種研究助成金など外部研究資金が必要となる。

一方、MiSeq の機能を維持するためには、使用時以外にも定期的に流路を洗浄するなど日常のメンテナンスが必要である。不具合が生じた場合は、メーカーとの交渉、改修費用の工面等も必要になる。したがって、円滑な運用には、機器の取り扱いに習熟した担当者が不可欠と思われる。

本演題では、ウイルス部で MiSeq を使用した経験を基に、運用に必要な経費などを具体的に紹介する。



## 次世代シーケンサーを用いた解析の実例

地独) 大阪健康安全基盤研究所 微生物部 ウイルス課・大阪府感染症情報センター

本村和嗣

2000年代半ばに、次世代シーケンサー（以下、NGS）が登場後、公共データベースに登録される総塩基数は飛躍的に増加している。NGSは、従来のサンガー法と比べ、様々な分子生物学研究の解析に応用され、幅広く使われている。発売当初のNGSは、library DNA作成まで煩雑で時間がかかり、ランニングコストも大変、高かった。しかし、現在では、library DNAの作成手順の簡便になり、シーケンスの受託サービスが廉価で提供され、NGSを取り巻く環境は、急速に変わりつつあり、user friendlyになってきている。

一番の問題は、核酸収集後の解析であり、必要に応じて、command-line user interfaceを使うことがある。また、NGSの核酸収集能力は、日進月歩で、格段に進歩し、発売開始後、約10年で取得核酸収集能力は10000倍になった。それを処理するための高い計算能力を持つPCやサーバーが必要になることがある。

微生物学分野、ウイルス研究では、主として、(1) 病原体の全ゲノム配列の決定する解析、(2) 環境中のメタゲノム解析、(3) 準種解析に使われている。従来のサンガー法に比べ、費用対効果、労力を考慮すると、NGSが大変、有用な解析機器である。しかし、(1) ウイルスの全ゲノム配列を解析する場合、ウイルス分離をせず、臨床検体を調べると、細菌や宿主側のゲノムが混入して、ウイルスゲノム配列を少量しか得ず、解析が困難である。また、キメラウイルスが新出しやすい一本鎖RNAウイルスの場合、編集一解析の段階で、人為的エラーによるキメラウイルスを作成される恐れがある。(2) 環境中のメタゲノム解析の場合、配列長が短いため、実際に存在しているかどうかの証明が必要になる。(3) 準種解析の場合は、解析が煩雑である。

NGSは、従来のサンガー法と比べて、情報収集能力に長け、大変、優れた解析装置であるが、編集一解析の部分は、まだ、律速要素である。本特別企画では、演者が経験したNGS解析の失敗例をもとに、課題を提示したい。



## ハイスループット qPCR 法による下水中のヒト消化器系ウイルスモニタリング

三浦尚之<sup>1</sup>，風間しのぶ<sup>2</sup>，真砂佳史<sup>3</sup>，今田義光<sup>4</sup>，大村達夫<sup>4</sup>

<sup>1</sup>国立保健医療科学院 生活環境研究部

(〒351-0197 和光市南 2-3-6, Email: miura.taa@niph.go.jp)

<sup>2</sup>お茶の水女子大学 シミュレーション科学・生命情報学教育研究センター

<sup>3</sup>国際連合大学 サステイナビリティ高等研究所

<sup>4</sup>東北大学 未来科学技術共同研究センター

**【背景と目的】** 下水中に含まれるウイルスの濃度や遺伝子型は、地域におけるヒト消化器系ウイルスの感染状況を反映すると考えられている。ヒト消化器系ウイルスには、胃腸炎を引き起こすノロウイルスやロタウイルス、肝炎の原因となる A 型・E 型肝炎ウイルスだけでなく、新生児や乳児において敗血症や髄膜脳炎などの重篤な症状を引き起こすことで注目されているヒトパレコウイルスなど、多数のウイルスが存在する。下水試料からのウイルス検出には、一般的にリアルタイム PCR 法が用いられているが、多数のウイルスを試験するには時間と労力を要するという課題がある。本研究では、Ishii ら (Appl Environ Microbiol., 2014, 80(24), 7505-7511.) が開発した 11 種類の消化器系ウイルスを一斉に定量検出できるハイスループット qPCR (HTqPCR) 法を改良し、新たにヒトパレコウイルスを検出対象に追加し、さらに E 型肝炎ウイルスのプライマーおよびプローブを選定し直した。そして、改良した HTqPCR 法を用いて、下水中のヒト消化器系ウイルスのモニタリングを 3 年間に渡り実施した。

**【方法】** 2013 年 4 月から 2016 年 3 月に掛けて、宮城県内の下水処理場において隔週で流入下水試料を収集した (N=72)。ポリエチレングリコール沈殿法でウイルスを濃縮し、ウイルス RNA/DNA を抽出した後に、逆転写反応を行った。作製した(c)DNA を本研究で改良した HTqPCR 法に供し、アデノウイルス (AdV)、アイチウイルス (AiV)、アストロウイルス (AstV)、エンテロウイルス (EV)、A 型肝炎ウイルス (HAV)、E 型肝炎ウイルス (HEV)、ヒトパレコウイルス (HPeV)、ノロウイルス GI (NoV GI)、ノロウイルス GII (NoV GII)、ノロウイルス GIV (NoV GIV)、ロタウイルス (RV)、およびサポウイルス (SaV) を定量検出した。HTqPCR 法で十分な検出感度が得られなかった AstV および SaV については、リアルタイム PCR 法で試験した。さらに、HPeV が検出された試料に対しては、nested-PCR 法によりカプシド VP1 領域の一部を増幅し、系統樹解析により遺伝子型を決定した。

**【結果と考察】** 試験した 12 種類のヒト消化器系ウイルスのうち、HEV を除く 11 種類のウイルスが下水試料から検出された。NoV GII が最も高い頻度で検出され (89%)，次に陽性率が高かった SaV (75%) とともに流行期である冬季に最大濃度 (5.3 log<sub>10</sub> copies/mL) が観測された。AiV は 3 年間の調査期間で明白な季節性は認められなかった

が、1～3月に高い濃度が観測される傾向が見られた。EVは流行期である夏季に濃度が最大となり(5.2 log<sub>10</sub> copies/mL)、冬季まで検出され続ける傾向が3シーズンで確認された。HAVは2014年1月の1検体のみ陽性であり、患者からのA型肝炎ウイルス分離報告数が低いこと(全国で1週間あたり0から数件程度)を反映していた。HEVは不検出であったが、検出系を選定し直したことで検出感度が10-100倍向上したことを確認した。

HTqPCR法でHPeVが陽性だった15の下水試料のうち8試料からVP1領域の塩基配列が得られた。系統樹解析の結果、7試料がHPeV1型、1試料がHPeV3型と分類され、同時期の宮城県および山形県で報告された患者の便検体から検出されたHPeV1型および3型と近縁であった。

本研究ではHTqPCR法を用いて、下水中に含まれる12種類のヒト消化器系ウイルスの濃度を3年間に渡って調査した。HTqPCR法を下水に適用することで、医療機関ベースのサーベイランスでは分離報告が少ないAiVやHPeVを含めて、地域における各ウイルスの感染状況が明らかになった。

## ロタウイルスのリバースジェネティクス

河本 聡志、福田 佐織、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

殆どの主要なウイルスにおいては、cDNA から感染性ウイルスを作製することを可能とするリバースジェネティクス系が開発され、ウイルスゲノムを任意に設計、改変することでウイルス増殖や病原性発現に関する基礎研究のみならず、ワクチンやウイルスベクター開発といった臨床応用においても多くの重要な成果が得られてきた。しかしながら、ロタウイルスでは、世界中で 10 余年もの間、精力的な開発の試みが行われたにもかかわらず、如何なる成功も報告されておらず、開発は困難を極めていた。こうした背景の中で、私たちは 2006 年にヘルパーウイルスを必要とする系ではあるが、リバースジェネティクス系の開発に世界に先駆けて成功した (Komoto et al., PNAS 2006)。その後、ヘルパーウイルスを必要としない完全なリバースジェネティクス系の開発にも取り組み、10 年かかったものの、大阪大学のグループとの共同研究により、ようやくその開発に成功した (Kanai et al., PNAS 2017)。この有力な系を利用した 1 例として、これまで全く手の出なかったセグメント 11 に改変を加えることで、非構造蛋白質 NSP6 が少なくとも *in vitro* におけるウイルス複製には必須でないことを明らかにした (Komoto et al., JVI 2017)。

現在、このリバースジェネティクス系を改良、高効率化させることで、ロタウイルス増殖、病原性発現機構の解析などの基礎的研究を展開するとともに、次世代ワクチンの開発、外来遺伝子の発現ベクターとしての利用といった臨床応用を目指した研究を進めている。



## ノロウイルスの培養系-その現状

国立感染症研究所 ウイルス第二部

村上 耕介

ヒトに感染するノロウイルス (human norovirus、HuNoV) は、冬季に流行する急性胃腸炎及び食中毒の主要原因である。HuNoV は、1968 年にオハイオ州ノーウォークで集団発生した急性胃腸炎患者の検体から検出され、1972 年に Kapikian 博士らによって電子顕微鏡で形態が観察された。その後、世界中で HuNoV の研究が進められ、遺伝子構造の解明及び遺伝子型 (血清型) の発見、ウイルス様中空粒子 (virus-like particle、VLP) の作製及びその構造の解明等の研究成果が得られた。

HuNoV の試験管内培養に関する研究も世界中で行われたが、HuNoV 感受性細胞が見つからない状況が長く続いた。そのため、培養細胞で増殖可能なネコカリシウイルス (feline calicivirus、FCV) やマウスノロウイルス (murine norovirus、MuNoV) が、HuNoV の代替ウイルスとして研究に供されてきた。その間にも HuNoV 感受性細胞の探索は進められ、その結果、培養小腸上皮細胞や B 細胞への HuNoV 感染が報告された。しかし、いずれの系も再現が難しいという問題を抱えていたことから、安定した HuNoV 培養増殖系が求められていた。

近年、腸陰窩から分離した幹細胞を特殊培地で培養すると、腸上皮と同様の形態・形質を持つ「エンテロイド/オルガノイド」が形成されることが報告された。本発表者は、米国ベイラー医科大学の Estes 教授の研究室において、エンテロイドへの HuNoV 感染に関する研究に従事し、複数の遺伝子型 HuNoV が感染可能な系の確立に携わった。本発表では、この HuNoV 培養増殖系の基礎研究データだけでなく、実際の運用方法やコストなどの技術的側面についても解説する。



## 第58回日本臨床ウイルス学会報告

金子 美穂

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 分子疫学分野

第58回日本臨床ウイルス学会は2017年5月27日と28日の2日間にわたって、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学分野 森内浩幸会長の下、長崎大学坂本キャンパスにて「国境を越えるウイルス、種を越えるウイルス、世代を越えるウイルス」をテーマに開催された。

一般演題40題、若手奨励賞候補演題8題のうち、ウイルス性下痢症に関連するものは13題であった。そのうち、ロタウイルスに関する演題は10題であり、ロタウイルスワクチンの有効性に関する報告、ロタウイルスワクチン接種者の体内におけるワクチン株の動態とその評価法の構築に関する報告、ロタウイルスワクチン導入前後の流行株の地域的・経年的な遺伝子型の変遷に関する報告、動物のロタウイルスに由来すると考えられる遺伝子分節をもつヒトロタウイルス株に関する報告があった。また、ノロウイルスに関する演題は1題であり、ノロウイルス感染者のウイルス排泄状況と血中・便中抗体価の推移に関する報告であった。さらに、ウイルス検査の精度に関する演題、感染性腸炎における腸内細菌叢の変化に関する演題がそれぞれ1題ずつあった。これらの中からいくつかその概要を紹介したい。

ランチョンセミナー3では「ロタウイルスワクチン導入前後のウイルス株の変遷と意義」と題して、片山和彦先生（北里大学北里生命科学研究所）が講演を行った。

また、ランチョンセミナー5は「ロタウイルスワクチンの軌跡と展望」と題するもので、「ロタウイルスワクチンの動態を探る：接種児体内およびコミュニティにて」の講演を高梨さやか先生（東京大学大学院）が、「ロタウイルスワクチンの過去、現在、未来」の講演を谷口孝喜先生（藤田保健衛生大学）が行った。

シンポジウム2は「種を越えるウイルス」というテーマで行われ、中込治先生（長崎大学大学院）が「ロタウイルスの種間伝播：その進化的意義」の講演を行った。



## トピックス 2

### 第19回健康関連水中微生物国際シンポジウム (WaterMicro2017)

2017年5月15日~19日  
University of North Carolina, Chapel Hill

東北大学大学院工学研究科・佐野大輔

第19回健康関連水中微生物国際シンポジウム (WaterMicro2017) が、米国・ノースカロライナ大学チャペルヒル校において、2017年5月15日から19日までの会期で行われた。本シンポジウムは、国際水協会 (International Water Association: IWA) 内の Health-related water microbiology (HRWM) specialist group によって運営されているものであり、ウイルス、細菌、原虫等の水中病原体の検出方法、検出事例、リスク評価および制御方法等に関する情報交換が行われている。今回はノースカロライナ大学で毎年行われている UNC Water Microbiology Conference との合同学会として開催された。

研究会では、ウイルス関連の発表から選んだ以下の内容について紹介する。

Maite Muniesa (University of Barcelona, Spain), A Fast Method for the Detection of Somatic Coliphages Used as Indicators of Viral Fecal Pollution in Water  
最短4時間で感染性ファージを検出可能な技術の紹介

Nikki Atanasova (University of Alberta, Canada), Free-Living Amoebae and Persistence of Internalized Human Enteroviruses  
アメーバによるヒトウイルス捕食の可能性を示すデータ

Nicolette Zhou (University of Washington, USA), Enhanced Detection of Poliovirus in Environmental Samples from Pakistan Using the Bag-Mediated Filtration System  
パキスタンにおけるポリオウイルスの環境サーベイランス結果

Albert Bosch (University of Barcelona, Spain), Characterization of a Norovirus Outbreak Caused by Bottled Mineral Water  
ボトル水を介したノロウイルス感染症アウトブレイクの詳細

Mats Leifels (Ruhr-University Bochum, Germany), From Lab to Lake: Evaluation of Current Molecular Methods for the Detection of Infectious Enteric Viruses in Complex Water Matrices  
EMA/PMA 前処理による感染性ウイルスの検出方法の適用

Qingxia Zhong (EPFL, Switzerland). The Mechanism-Specific Resistance of Echovirus 11

## Towards Common Disinfectants

### 複数の消毒剤に対するエコーウイルスの耐性

なお、学会会期中の全体会合において、日越大学・東京大学の片山浩之准教授が Chair に選出された。片山准教授は Chair を 2017 年から 2 年間務めた後、次の 2 年間は Post Chair に就任する。次回シンポジウムは 2019 年にオーストリア・ウィーンで開催される。