ウイルス性下痢症研究会第 31 回学術集会プログラム

2019 年 10 月 28 日（月）　開場 12：30　開始 13：00

2019 年度　総会　13：00–13：15

司会：岡 智一郎（国立感染症研究所）、上間 匡 (国立医薬品食品衛生研究所)

「胃腸炎の話題」　13：15 — 15：25　座長：岡 智一郎（国立感染症研究所）

1.「電子顕微鏡観察をきっかけとして感染性胃腸炎患者検体から検出されたレオウイルス」

山元 誠司先生（大阪健康安全基盤研究所）

2 「ロタウイルスワクチン導入後の重症感染性胃腸炎の発生動向-公開集計データの現状と課題」

神谷 元先生（国立感染症研究所）

3.「ノロウイルスの発生動向の変遷と遺伝子解析」

松島 勇紀先生（川崎市健康安全研究所）

休憩

4.「最近のヒト由来ロタウイルスに見られる遺伝的特徴の変化」

藤井 克樹先生（国立感染症研究所）

5.「過去 5 年間のサポウイルスの発生動向」

坂上 亜希恵先生（宮城県保健環境センター）

6.「家畜における下痢症ウイルス検出状況と感染動態」

宮﨑 綾子先生（（国研）農研機構　動物衛生研究部門）

「環境中のウイルスの話題」　15：35　–　16：35　座長：上間 匡（国立医薬品食品衛生研究所）

1.「下水中のノロウイルスモニタリングによる胃腸炎監視システム」

風間 しのぶ先生（東京大学大学院）

2.「下水処理施設における流入水の腸管系ウイルス実態調査について」

小川 泰卓先生（埼玉県衛生研究所）

3.「カキのノロウイルス汚染対策の現状と課題」

今村 彩貴先生 (農林水産省　消費・安全局)

「国際学会の紹介」　16：45　–17：15　座長：森 功次（東京都健康安全研究センター）

1.「第 13 回国際 dsRNA ウイルス学会の紹介」

鈴木 享先生　（（国研）農研機構　動物衛生研究部門）

2.「第 7 回国際カリシウイルス会議」

村上 耕介先生（国立感染症研究所）

「トピック」　17：25　—　17：50　座長：左近 直美（大阪健康安全基盤研究所）

1.「ヒト iPS 細胞由来の腸管上皮細胞を用いたヒトノロウイルス増殖系の確立」

佐藤 慎太郎先生（大阪大学微生物病研究所）

閉会挨拶　17：50–17：55　代表幹事：岡 智一郎（国立感染症研究所）

抄録

電子顕微鏡観察をきっかけとして感染性胃腸炎患者検体から検出されたレオウイルス

大阪健康安全基盤研究所
山元誠司

迅速かつ特異度および感度の高いPCR法を用いた種々の検出系の出現により、下痢症ウイルスの検査法はPCR法が主流となっている。しかし、いくつの種類のウイルスを検査すれば『検査陰性』としていいのか、それらの検査陰性検体には本当にウイルスはいなかったのか、『検査陰性』を出すときはいつも考えさせられる。私の所属における感染性胃腸炎患者検体のウイルス検査では、ロタウイルスAと腸管アデノウイルスをELISAで、ノロウイルス、サポウイルス、アストロウイルス、パレコウイルスをリアルタイムPCRで検索して全てが陰性かつVeroおよびRD-18S細胞によるウイルス分離検査が陰性だったとき、電子顕微鏡観察でウイルス様粒子が確認できなかった最終結果を以て『検査陰性』とし、ウイルス様粒子が確認された場合は同定作業を継続する。

地方衛生研究所の検査においてはウイルス種の同定にとどまらず、血清型、遺伝子型、そして亜型の解析までもが要求される今日だが、電子顕微鏡ではウイルス粒子が見えたとしてもわかるのはせいぜい属くらいまでであろう。しかしながら、ウイルス粒子が見えさえすれば、観察者は「絶対にウイルスがいる」ことを確信する。この揺るぎない『確信』が、その後の同定作業に執念を燃やすうえでとても大切な動機となると思う。

今回は、上述した検査の流れの電子顕微鏡観察をきっかけとして同定したレオウイルスについて、より詳細に解析して得た知見を紹介したい。Mammalian orthoreovirus（MRV、通称”レオウイルス”）は、1950年代に分離・同定された最初の分節型の2本鎖RNAウイルスであり、様々な哺乳類に感染することから世界中に広く分布していると考えられている。非常にありふれたウイルスでありながら、宿主に病気を起こすことがあまりなく、臨床検体から検出されることが稀なウイルスの一つである。今回同定したレオウイルスは2型（MRV-2）に分類されるものの、系統樹解析の結果、ヒトから分離されたMRV-2としては新しいレオウイルス（novel human reovirus）と言えるのではないか、と考えられた。

共同研究者
大阪健康安全基盤研究所：江川和孝、平井有紀、改田 厚、久保英幸、本村和嗣、入谷展弘
大阪大学微生物病研究所：元岡大祐、中村昇太

ロタウイルスワクチン導入後の重症感染性胃腸炎の発生動向-公開集計データの現状と課題

国立感染症研究所感染症疫学センター
神谷　元

ロタウイルス感染性胃腸炎の疫学の把握、さらには定期接種として導入の期待が高まるロタウイルスワクチンの効果を評価するために、サーベイランスのデータは大変重要な役割を果たす。

ロタウイルスワクチン国内販売開始前は、全国約 3,000 箇所ある小児科定点医療機関のうち概ね 10%に当たる、約 300 箇所の医療機関が病原体定点に指定され、5 類感染症定点把握疾患である「感染性胃腸炎」の患者から採取された検体を地方衛生研究所（地衛研）に送付して病原体の検出が実施されてきた（病原体サーベイランス）。この結果により国内のロタウイルスの患者は年末から報告が始まり、春先にピークを迎え、夏から秋にかけてはほとんど報告されないという季節変動がはっきりしている。ただし、このサーベイランスは小児科定点、かつその一部の医療機関から提供を受けた便検体に基づいたデータであり、実際の患者数や患者の重症度などについての情報は得られない。また、理論上成人の患者についての情報はない。

2011 年の年末から国内でもロタウイルスワクチンが使用可能となったため、病原体サーベイランスと並行し、ロタウイルス胃腸炎の中でも特に重症が疑われる症例の報告数を検討するために、2013 年 10 月 14 日（第 42 週）から、5 類感染症定点把握疾患として全国約 500 箇所の基幹定点（ベッド数 300 床以上で、内科と外科の両方を標榜する医療機関）から、「感染性胃腸炎（病原体がロタウイルスであるものに限る）」の患者数が毎週届けられることになった。このサーベイランスでもロタウイルス胃腸炎のシーズンが 10 月中旬よりスタートし、3 月下旬から 5 月上旬にかけてピークを迎え、7 月末までにシーズンが終了する周期であることを示している。ただし、このサーベイランスの結果において気になる点として、国内全体としてのロタウイルスワクチンの接種率が上昇しているにもかかわらず、患者報告数に変化がない点である。国内の研究者の報告では一様にロタウイルスワクチン導入後のロタウイルス胃腸炎入院患者の減少が報告されており、サーベイランスのデータとの乖離について今後検討が必要であると考えている。

ロタウイルスワクチンの定期接種化の議論をさらに進めるうえで、ワクチンの効果を示すエビデンスは重要である。現在の国内のサーベイランスの現状と課題、今後の改善点などについてご紹介する。

ノロウイルスの発生動向の変遷と遺伝子解析

松島勇紀、若菜愛澄、駒根綾子、清水英明、岡部信彦

川崎市健康安全研究所
ウイルス・衛生動物検査担当

ノロウイルスは食中毒を含む感染性胃腸炎の主要な原因ウイルスであり、主に冬季に流行が見られるが一年を通して検出される。発展途上国を含めた 5 歳以下の子供の死亡例の約 10 % はノロウイルス感染症が原因であること、またすべての年齢層にノロウイルスが感染することから公衆衛生的に重要視しなければならない病原体である。

ノロウイルスは少ないウイルス量でヒトに感染し、抗原性の異なる多くの遺伝子型が存在するため感染拡大を防ぐことは容易ではない。長年の課題であったノロウイルス培養法も近年確立されたばかりであり、使用を認可されたワクチンならびに治療薬は現時点で存在しないことが感染を抑えることが難しい要因の一つとなっている。

ノロウイルスゲノムは (+) 鎖の一本鎖 RNA から構成されており、3 種類の ORF (ORF1-ORF3) を有する。ORF2 にコードされている主要構造遺伝子である VP1 の遺伝子系統学的解析からノロウイルスは GI から GVII の遺伝子群に分類されている。ヒトに感染する主要な遺伝子群である GI は 9 種類 (GI.1-GI.9)、GII は 22 種類 (GII.1-GII.22) の遺伝子型が存在するが、ORF1 と ORF2 間の保存領域を起点としたゲノム組換えが度々引き起こされることを考慮し、ORF1 の遺伝子型 (G○.P○) も含めて同定する dual typing をサーベイランスで実施することが推奨されている。ゲノム複製上のエラーや選択圧によって引き起こされる Genetic drift と比較して、組換えやリアソータントによって引き起こされる Genetic shift はゲノム上の広範囲にわたり塩基配列が一瞬にして置換されることからノロウイルスの感染性や病原性に大きな変化をもたらす可能性がある。したがって、dual typing によりノロウイルスの流行遺伝子型を詳細に把握し、非構造遺伝子ならびに構造遺伝子の双方における変異の特徴を理解することはノロウイルスの感染防止策を講じる上で重要である。本講演ではノロウイルスの検出遺伝子型の変遷とこれまで行ってきた種々の遺伝子解析の結果について紹介する。

胃腸炎の話題

最近のヒト由来ロタウイルスに見られる遺伝的特徴の変化

国立感染症研究所　ウイルス第二部
藤井克樹

わが国にロタウイルス（RV）ワクチンが導入されたのは 2011 年 11 月（ロタリックス、GSK）および 2012 年 7 月（ロタテック、MSD）であり、今年で 8 年が経過しようとしている。未だ任意接種ではあるが、接種率は 7 割超と推計されており、RV 胃腸炎の患者数はワクチン導入以前に比して大幅に減少しつつある。しかし、現行の RV ワクチンは経口弱毒生ウイルスワクチンであり、感染を予防するものではなく、重症化を予防するために接種するものである。従って、ワクチンを接種していたとしても、一部のヒトは野生型 RV に感染・発症することがある。また、RV には多くの血清型（遺伝子型）が存在しているため、ワクチン接種により一部の血清型の RV による発症を予防できたとしても、新たにワクチンエスケープ株が台頭してくる可能性を秘めている。そのため、RV をヒトの社会から完全に排除することは困難であろうと考えられる。

ワクチンの選択圧による流行株の変化を監視するためには、ワクチン導入の前後で流行株の詳細な調査を行う必要があるが、わが国ではあまり大規模な調査が行われて来なかったため、ワクチン導入以前の RV 流行株の傾向に関する知見は限られている。2011 年、ワクチン導入とほぼ同時期に、厚生労働科学研究費補助金による RV の疫学研究班（片山班）が発足し、網羅的な分子疫学調査が開始された。更に、次世代シーケンサーの利用により、分節型ゲノムを持つ RV でも多検体のフルゲノム解析が実施し易くなり、ワクチン導入以降は RV の流行株を詳細に把握することが可能になってきた。

RV の遺伝子型は、従来、主な中和抗原を有する VP7（G 型）と VP4（P 型）の組み合わせで分類され、ワクチン導入以前は世界的に G1P[8]、G2P[4]、G3P[8]、G4P[8]、G9P[8]の 5 種類がヒト RV の 9 割以上を占めることが知られていた。従って、現行のワクチンも、これら 5 種類の遺伝子型に対する予防効果をもって評価されている。2008 年に Rotavirus Classification Working Group（RCWG）により全遺伝子型の表記法が提案され、流行株の大部分は Wa 遺伝子群（G1-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1）、DS-1 遺伝子群（G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2）、AU-1 遺伝子群（G3-P[9]-I3-R3-C3-M3-A3-N3-T3-E3-H3）のいずれかに属することが示された。実際には G1P[8]、G3P[8]、G4P[8]、G9P[8]のほとんどが Wa 遺伝子群に属するため、ワクチン導入前のヒト RV 野生株の大半は Wa 遺伝子群のウイルスであったと考えられている。

ところが、ワクチン導入以降は、DS-1-like G1P[8] 株（G1-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2）、DS-1-like G3P[8] 株（G3-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2）、G8P[8] 株（G8-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2）など、DS-1 遺伝子群のウイルスが次々と発生

し、わが国を含め世界中で流行を起こしている。本講演では、このような近年の RV 流行株の変化について、主に遺伝子学的観点から概説したい。

過去5年間のサポウイルスの発生動向

〇坂上亜希恵，植木　洋
（宮城県保健環境センター）

背景

サポウイルスによる急性胃腸炎は、散発事例の他、近年集団感染事例を起こすことが世界的に報告されている（Okaら，Clin. Microbiol. Rev.，2015)。しかし、医療機関や地方衛生研究所などの行政検査機関におけるサポウイルスの検出はノロウイルスほど一般的には行われていないため、流行状況に関する情報は少ない。そこで今回、過去 5 年間に宮城県内で発生した感染性胃腸炎事例で検出したサポウイルスを対象に遺伝子解析を行ったので、その結果について報告する。

材料と方法

2014年1月から2019年3月に、仙台市を除く宮城県内で発生した急性胃腸炎患者（散発事例: 678 例、集団事例: 341 例）から検出されたサポウイルス 78 株（散発事例: 64 例、集団事例: 14 例）を対象とした。なお、サポウイルスの検査は散発事例については全例、集団事例についてはウイルス検査を行った 322 例中 53 例に対して実施した。遺伝子検出検査は、Okada らの RT-PCR 法（Arch. Virol.，2006)またはKitajimaらのRT-PCR法(Appl. Environ. Microbiol.，2010)を用いた。サポウイルスが検出された患者の年齢分布は 4 ヶ月～64 歳（中央値 4.5 歳）で、男女比は1:0.9であった。

遺伝子型の分類は、1st PCR に 124F/1F/5F, SV-R13/SV-R14、2nd PCR に 1245Rfwd, SV-R2 を用いた Kitajima らの RT-PCR 法（Appl. Environ. Microbiol.，2010）でサポウイルスのカプシドの一領域（430 bp）を増幅後、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、BLAST 検索（URL: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi）により行った。

結果と考察

本調査で解析の対象としたサポウイルス 78 株のうち、72 株(92.3%)がサポウイルス GI，GII，GIV，GV のいずれかの遺伝子グループに属する合計 7 の遺伝子型に分類され、特に GI 群が多くを占めていた（36/72，50.0%)。集団事例では、GI.1（8/13，61.5%）と GII.3（5/13，38.5%）のみが検出された一方、散発事例では GI.1（17/59，28.8%)、GI.3（10/59，16.9%)、GII.1（1/59，1.7%)、GII.2（1/59，1.7%)、GII.3(18/59，30.5%)、GIV.1(1/59，1.7%)、GV.1(10/59，16.9%)など様々な遺伝子型が検出された。病原体微生物検出情報による全国のサポウ

イルス検出状況においても、全てのシーズンでGI群が50%前後を占め、優勢であったことが確認されている（URL: https://nesid4g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data96j.pdf）。また、2003-2009 に実施された国内5カ所における調査ではGI.1が優勢であり、本県においても同様の傾向が確認された。感染性胃腸炎病因物質の検出においてはサポウイルスの可能性も念頭に置き、分子疫学的解析を加えた検査を行うことで、国内や地域における流行状況がより明らかになることが今後期待される。

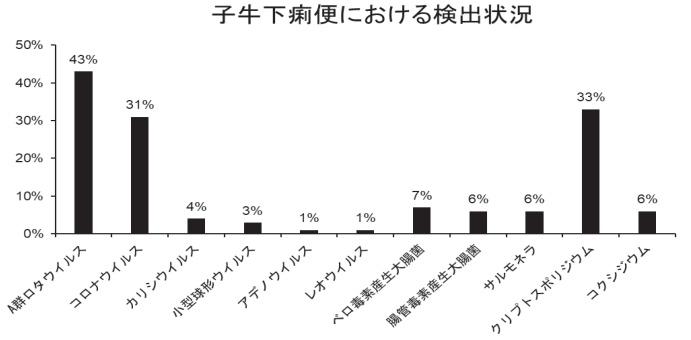
家畜における下痢症ウイルス検出状況と感染動態

農研機構　動物衛生研究部門　ウイルス・疫学研究領域
宮崎綾子

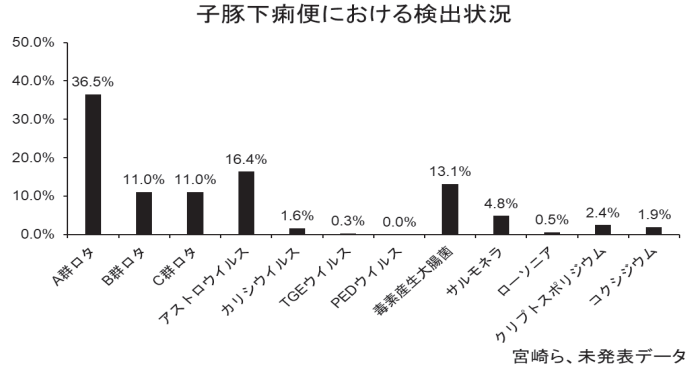
家畜において、下痢は農場で頻繁に認められる症状の一つであり、哺乳期では死亡原因として、離乳期以降では発育不良原因として安定的かつ効率的な畜産物生産を阻害し問題となる。下痢は様々な要因で発生するが、家畜では病原微生物の感染に起因するものが多いのが特徴である。今回、ウシとブタにおける下痢起因病原体の検出状況について紹介し、ブタの幼若期下痢の主原因であるブタ A 群ロタウイルスについて、農場内におけるウイルス感染動態について話題提供したい。

（1）ウシとブタにおける下痢起因病原体の検出状況

1993 年の村上らの子牛下痢便、そして 2005－2010 年にかけて我々が行った子豚下痢便における調査結果を下図に示す。下痢ウイルスではウシとブタで共通して A 群ロタウイルスが、次いでウシではコロナウイルス、ブタではアストロウイルスが高率に検出されている。



村上ら、第41回北海道家畜保健衛生所業績発表会（1993）



宮崎ら、未発表データ

（2）ブタA群ロタウイルスの農場内感染動態

では A 群ロタウイルスはどのようにして哺乳期下痢の原因となるのだろうか？国内の一養豚場で 1 年間に 4 回発生した A 群ロタウイルス感染症について分子疫学的解析を行った結果、発生毎に G 及び P 遺伝子型の組み合わせが変化しており、遺伝子再集合や新規株侵入によって流行株が変遷する可能性が示唆された。続いて行った様々な発育ステージの豚における横断的調査と個体追跡調査により、A群ロタウイルスは哺乳豚だけでなく、離乳豚、肥育豚、そして繁殖豚と幅広い日齢の豚から検出されること、豚舎毎に異なる遺伝型の組み合わせを持つウイルスが検出され豚の移動に伴い伝播すること、そして農場内ウイルス株間の遺伝子再集合が頻繁に発生し多様性が維持される可能性が明らかとなった。豚の移動や飼養管理により分娩舎へ持ち込まれるウイルス株のうち、宿主免疫を回避する株が哺乳豚での A 群ロタウイルス感染症発生原因となる可能性が示唆され、飼養衛生管理によるウイルス量低減や感染環遮断が発生対策に不可欠と考えられた。

下水中のノロウイルスモニタリングによる胃腸炎監視システム

風間しのぶ[1]，三浦尚之[2]，真砂佳史[3]，今田義光[4]，当广謙太郎[5]，真中太佳史[5]，劉暁芳[5]，
伊藤絵里香[6]，渡部徹[7]，植木洋[8]，甲野藤弘憲[9]，斉藤繭子[5]，押谷仁[5]，大村達夫[4]

[1]東京大学大学院工学系研究科（Email: kazama@env.t.u-tokyo.ac.jp），[2]国立保健医療科学院生活環境研究部，[3]国立環境研究所気候変動適応センター，[4]東北大学未来科学技術共同研究センター，[5]東北大学大学院医学系研究科，[6]岩手大学大学院連合農学研究科，[7]山形大学農学部，[8]宮城県保健環境センター，[9]仙台市建設局

１．はじめに

ノロウイルス（NoV）は感染性胃腸炎を引き起こす主な原因ウイルスであり，毎年その流行が報告されている。我が国の感染性胃腸炎の流行警報システムでは，小児科の定点医療機関の報告に基づくため，流行の顕在化後に警報が発せられるが，流行初期に流行の徴候を通知し，注意喚起することが感染拡大防止により効果的と考えられる。

下水処理場の流入下水には，処理区域内の感染者から排出された病原微生物が集約されることから，胃腸炎ウイルスの感染発生動向を反映していると考えられる。従って，流入下水中の胃腸炎ウイルス濃度を監視することで感染性胃腸炎の流行初期を察知できれば，これを流行の徴候通知に利用可能と考えられる。

そこで，下水中の胃腸炎ウイルス監視による胃腸炎発生動向調査の有用性を評価するため，下水中の NoV 遺伝子群 I および II（GI および GII）濃度を約３年半の間監視し，感染性胃腸炎患者数と相互相関分析（2 つの時系列データの類似度を評価）した。さらに，第 2 世代シーケンサー（2GS）を用いて検出した下水中 GI および GII の遺伝子型を患者検体からのそれらと比較した。

上記研究成果をもとに，感染性胃腸炎流行の徴候を地域住民等に情報を発信・通知する胃腸炎監視システムの運用を開始した。本発表では，システムの課題や今後の展望につても紹介する。

2．方法

2.1　下水中 NoV 監視による胃腸炎発生動向評価

2012 年 11 月から 2016 年 3 月に，宮城県内の下水処理場において週 1 度の頻度で流入下水試料を収集した（n＝246）。下水検体から，リアルタイム qPCR および 2GS にて NoV の濃度および遺伝子型を解析した[1,2]。また，同時期に，同処理区域内にある 2 ヶ所の外来医院において，胃腸炎患者便（n = 392）を収集し，NoV 陽性検体をスクリーニングした[1,2]。

2.1.1 下水中 NoV 濃度と感染性胃腸炎患者報告数の相互相関分析

上記下水検体のうち，ロタウイルス胃腸炎患者数が別途報告されるようになった 2013 年 10 月から，2016 年 3 月（126 週）の下水中 NoV 濃度（GI および GII）と，同期間に同処理区域を含む地域の保健所管内で報告された疫学週毎の感染性胃腸炎患者報告数の相互相関分析を行った[1,2]。

2.1.2 下水および患者検体中 NoV 遺伝子型比較

下水試料から 1 週間−2 ヶ月間隔で 1 検体を選択し（n = 40），2GS を用いて NoV の遺伝子型を決定した[1,2]。外来患者検体のうち NoV 陽性検体（n = 134）についてはサンガー法にてシーケンシングし，遺伝子型を決定した[1]。さらに，両検体から得た塩基配列について系統樹解析を行った[1,2]。

2.2 下水中ノロウイルス濃度情報発信システム

2.1 で得た結果をもとに，感染性胃腸炎流行初期の判断基準とする NoV 濃度を検討した。また，胃腸炎監視システム運用に向けて，地域の関係者や住民からの理解と協力を得るためにシンポジウムを開催し，仙台市建設局下水道事業部や健康福祉局保健所とともに情報発信方法を検討した。

３．結果と考察

下水中 GI あるいは GII 濃度と胃腸炎患者報告数（**図１**）の相互相関分析の結果，下水中 GII 濃度と感染性胃腸炎患者報告数に，-2 から+6 週の遅れにおいて有意な相関がみられ，0 週にて，相関係数が最大（R＝0.51）であったことから，患者数の増加と同時に下水中 GII 濃度が上昇したことが示された。

下水検体からは，患者検体よりも多くの遺伝子型が検出され，GII.15 および GII.21（患者数各 1 名）を除き，患者検体から検出された全ての遺伝子型が検出された（**表１**）。さらに，系統樹解析を行った結果，患者から検出された NoV 株は，同時期の下水から検出された株と近縁であったことから[1,2]，下水中 NoV は，地域の感染状況を反映していることが示された。

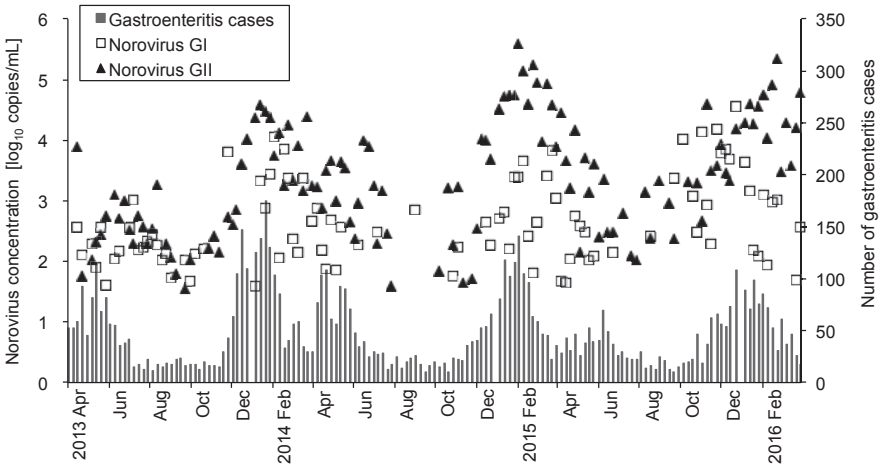


図１．下水中ノロウイルス濃度と感染性胃腸炎患者数の変動 [2)]

表 1. 下水および患者検体から検出された NoVGI および GII の遺伝子型 [2)]

	GI genotype							GII genotype													
	GI 1	GI 2	GI 3	GI 4	GI 6	GI 7	GI 9	GII 2	GII 3	GII 4 Den Haag 2006b	GII 4 New Orleans 2009	GII 4 Sydney 2012	GII 5	GII 6	GII 7	GII 8	GII 12	GII 13	GII 14	GII 15	GII 17	GII 21
2012-2013	○	○	○	○	●	○		○		●	●	●	○	●	○		○	○	●	◎	○	
2013-2014		●	○	●	○		○		●			●		●	○	○		●	●		○	
2014-2015		●	○				○	○	○	●		●		○				○	○		●	
2015-2016	○	●	●		●			○	○			●		○				●	○		●	◎

●：下水および患者検体から検出された遺伝子型，○：下水からのみ検出された遺伝子型，◎：患者検体からのみ検出された遺伝子型.

以上の結果をもとに，各シーズンにおける感染性胃腸炎の非流行期を 7 月から 10 月とし，非流行期の GII 幾何平均濃度に外れ値（同期間の GII 濃度標準偏差×2）を加算した値を，感染性胃腸炎流行初期の判断基準とする下水中NoV濃度として設定した。

システムの運用開始にあたっては，水産物の風評被害への配慮，既存の警報システムとの共存や各部局との調整等，多くの解決すべき課題があった。現在は，感染性胃腸炎拡大防止のための情報発信という位置づけで，「下水中ノロウイルス濃度情報発信サイト」(https://novinsewage.com/) を開設している。また，希望者には流行の徴候がみられたタイミングで，その旨，感染予防のための情報と共にニュースレターとしてメール配信している。また，地域の小学校で本システムの紹介やニュースレターへの登録方法の説明会を実施するなど，知名度の向上に努めている。

４．おわりに

本研究では，下水中 NoV 濃度と胃腸炎患者報告数の変動が有意に相関すること，２GS による下水中 NoV の検出で，地域における感染状況を遺伝子型レベルで経時的に把握可能であることを明らかにし，下水中 NoV 監視による胃腸炎発生動向調査の有用性を示した。今後は情報発信サイトの知名度を上げ，より多くの人々が感染症予防を講じ得る体制を作ること，また流行拡大抑制への本システムの有効性を評価することが課題である。

参考文献

1) Kazama et al., Temporal dynamics of norovirus determined through monitoring of municipal wastewater by pyrosequencing and virological surveillance of gastroenteritis cases. *Water Res.*, 2016.

2) Kazama et al., Environmental Surveillance of Norovirus Genogroups I and II for Sensitive Detection of Epidemic Variants, *Appl. Environ. Microbiol.*, 2017.

下水処理施設における流入水の腸管系ウイルス実態調査について

埼玉県衛生研究所　ウイルス担当
峯岸俊貴　○小川泰卓　宮下広大　篠原美千代
鈴木典子　青沼えり　内田和江　福島浩一　岸本剛

埼玉県民における腸管系ウイルスの流行状況把握のために、下水のウイルス検査が有用であるか探ることを目的として、下水中の腸管系ウイルス調査を行った。

【材料及び方法】

2017年8月から2018年7月の期間に、元荒川水循環センター下水流入地点（センター流入地点）及び中継ポンプ場等5か所の計6地点で下水1Lを採水し試料とした。センター流入地点は月2回、他の地点は月1回採水した。試料360mlを陰電荷膜法により濃縮後、リアルタイムRT-PCR法を用いて、ノロウイルス（NV）GI及びNVGII、サポウイルス（SaV）等の遺伝子コピー数を定量した。また、NV及びSaVが陽性だった試料については、それぞれのVP1領域の一部をPCRにより増幅後、次世代シーケンサーを用いて遺伝子型別を試みた。

【結果及び考察】

NVGIは、センター流入地点及び中継ポンプ場等2地点で散発的に検出され、季節性は見られなかった。NVGIIは、センター流入地点で2017年10月から2018年1月までと、2018年5月及び7月に検出され、2017年12月上旬にウイルス量はピーク（1.5×10^5コピー/L）に達した。SaVは年間を通じて検出されたが、ウイルス量は2017年11月から2018年1月と2018年4月から8月の二峰性を示した。ピーク時のウイルス量は2017年11月に6.9×10^5コピー/L、2018年7月に5.6×10^5コピー/Lであり、夏季においても冬季と同程度のウイルス量が検出された。アストロウイルス（Ast）もSaVと同様に冬季と夏季に検出され、2018年8月には全地点で検出された。

下水からNVGII、SaV及びAstの検出量が増加した2017年11月から2018年1月の間に、感染症発生動向調査で当所に搬入された感染性胃腸炎の患者検体は14検体で、このうちNVGIIが3検体から、SaVが2検体から検出されたが、Astは検出されなかった。また、SaV及びAstの検出量が増加した2018年4月から8月にかけては、患者検体20検体が搬入されSaV及びAstが1件ずつ検出された。

下水から検出されたNVGIIの遺伝子型はGII.2、GII.4及びGII.17で、患者検体からも多く検出された遺伝子型だった。SaVは患者検体からはGI.2及びGII.3の2種類のみが検出された。一方で下水からは、GI.1、GI.2、GI.3、GII.2、GII.3、GII.5、GII.8、GV.1の計8種類が検出された。特にGI.2は2018年1月を除いて通年で検出された。検出量のピークだった2017年11月には6種類の遺伝子型が検出され、複数の遺伝子型が同時流行していたことが推察された。

下水中の腸管系ウイルスを検査することで、胃腸炎患者から検出がない遺伝子型のウイルスの存在を把握でき、感染症発生動向調査では捉えられていないウイルスの流行を把握できる可能性が示唆された。本調査の試料採取地点、採取期間等を検討することにより、下水中のウイルスと人の間で流行しているウイルスの関係を推定するための有用な資料が得られることが示された。

カキのノロウイルス汚染対策の現状と課題

農林水産省　消費・安全局　食品安全政策課　今村　彩貴

ノロウイルスは、我が国の食中毒事件発生件数の約 2 割及び食中毒患者数の約 5 割の原因となっており、食品衛生上重要な危害要因である。ノロウイルス感染者はふん中にウイルスを排出し、そのウイルスが直接人から人へ感染、あるいはウイルスにより汚染された食品を介して間接的に感染する。

カキは、下水処理場等の排水中に含まれるノロウイルスを中腸線に蓄積するため、古くからノロウイルス食中毒のリスクを高める食品として知られている。カキのノロウイルス対策については、ウイルスによる汚染が少ない海域で生産することが基本であると国際的に認識されており、国内においても、下水の浄化処理、生産海域の区分、カキの出荷時検査等の対策が実施されている。一方、ノロウイルスについて実施されている検査の精度は必ずしも十分管理されておらず、各海域で生産されているカキが平常時にどの程度ノロウイルスを保有しているのか、食中毒流行時にはカキの汚染がどの程度変化するのか、さらには生産海域で実施されている各種の対策がノロウイルス汚染の低減にどの程度効果があるのかといった定量的な分析は、これまで行われていない。

同様の課題は海外においても共通であり、欧州 13 か国はカキのノロウイルス検査方法を統一し、欧州地域で生産されるカキのノロウイルスに係る平常時水準の情報を収集することを目的として、2016 年から調査を開始した。

日本においては、2018 年に食品安全委員会がノロウイルスに係る食品健康影響評価のリスクプロファイルを取りまとめた。この中で、カキを中心とした二枚貝のリスク低減措置の研究・開発とともに、養殖海域のモニタリングシステムの検討が課題であると指摘している。

農林水産省では、我が国で生産されるカキの平常時におけるノロウイルスの汚染水準を、精度管理された定量検査法により明らかにする取組を進めている。平常時の汚染水準を明らかにすることにより、食中毒の流行など異常時における汚染水準の上昇が客観的に検出可能となり、当該地域における衛生管理対策の必要性の有無を明確にできるほか、実施した対策の効果検証が可能となることで、生産海域における科学的・客観的な生産衛生管理対策の推進が期待される。

第 13 回国際 dsRNA ウイルス学会の紹介

農研機構　動物衛生研究部門
鈴木　亨

第 13 回国際 dsRNA ウイルス学会は 2018 年 9 月 24 日から 28 日にかけて、ベルギーのウッファリーズにあるヴァヤムンドホテルで行われました。オーガナイザーは Leuven 大学の Jelle Matthijnssens 博士, Cornell 大学の John Parker 博士, Indiana 大学の Pranav Danthi 博士, Antwerp 大学の Pierre Van Damme 博士の 4 名であり、世界 40 カ国以上から動植物を対象とした 200 人以上の dsRNA ウイルス研究者が集結し、参加者全員が同じホテルに宿泊して朝から晩まで時間を忘れて活発な議論が行われました。

ワークショップはウイルスの多様性、進化と疫学、分子ウイルス学、免疫と病原性、ウイルスの構造、宿主経路の利用、dsRNA の応用ウイルス学といった 7 つのテーマに、ロタウイルスワクチンを加えた（サテライトシンポジウム）計 8 つのテーマについて口頭発表が行われました。ワークショップ以外にも、ポスターセッション（2 日間）、さらにポスターセッションの一部から興味深い内容を選抜し、4 分間で研究内容を紹介するショットガンスピーチ、また本学会の功労者の 1 人である John Cohen 博士の死を追悼するレクチャー（Greenberg 博士が発表）や夕食時にキーパーソンを取り囲み彼らと熱心に談笑する Round Table など様々な催しが隙間なく行われ、参加者は飽きることなく 5 日間を満喫することができました。

今回の学会におけるトピックスの一つは 2017 年に発表されたロタウイルスのリバースジェネティクスであり、大阪大学微生物研究所の小林ラボ以外に世界中の幾らかのラボですでにロタウイルスのリバースジェネティクスが立ち上げられ、この技術を使った最新の知見が発表・議論されました。その他、生体細胞内における dsRNA 複製過程の可視化、cryo 電子顕微鏡を利用したウイルス粒子の構造解析や腫瘍溶解性療法におけるオルソレオウイルスの利用といった話題も参加者の関心を集めていました。

1982 年に米国で始まった本学会ですが、今回もベテランから若手まで多くの dsRNA ウイルス研究者が集った歴史ある学会の一つであります。これを機会に多くの皆様に本学会の存在を知っていただき、まだ未開催である日本での開催実現につながればと考えております。

第 7 回国際カリシウイルス会議

The 7th International Calicivirus Conference

2019 年 10 月 13-17 日

PARKROYAL Darling Harbour hotel (Sydney, Australia)

国立感染症研究所　ウイルス第二部
村上　耕介

第 7 回国際カリシウイルス会議が、2019 年 10 月 13 日から 17 日までの会期で、シドニーのパークロイヤル ダーリング ハーバー ホテルにおいて行われる。本会議は 3 年ごとに開催されており、カリシウイルス科のウイルスに関する基礎的、応用的、臨床的、環境的研究に携わる研究者等が世界中から参加する。今回の議長はオーストラリアのニューサウスウェスト大学の Peter White 教授で、基調講演はオランダのエラスムス医療センターの Marion Koopmans 教授によって行われる。

本会議で行われる講演、演題等から、本発表者が興味を持ったものを中心に発表内容を紹介させていただく。

（参考）過去の開催時期と開催地

- The 6th International Calicivirus Conference, Savannah, USA 2016
- The 5th International Calicivirus Conference, Beijing, China 2013
- The 4th International Calicivirus Conference, Santa Cruz, Chile 2010
- The 3rd International Calicivirus Conference, Cancun, Mexico 2007
- The 2nd International Calicivirus Conference, Dijon, France 2004
- The 1st International Calicivirus Conference, Atlanta, USA 1999.

ヒト iPS 細胞由来の腸管上皮細胞を用いたヒトノロウイルス増殖系の確立

大阪市立大学大学院医学研究科・ゲノム免疫学

大阪大学微生物病研究所・粘膜ワクチンプロジェクト

佐藤　慎太郎

ヒトノロウイルス（HuNoV）はヒトが唯一の感受性生物であるが、その感染様式や下痢を引き起こすに至るメカニズムはほとんどわかっておらず、ワクチンも存在しない。これは HuNoV の挙動を in vivo で解析できる感染モデル動物がいないことと、HuNoV の in vitro での感染・増殖系が確立されていないことが大きな障壁となっているためである。しかし、2016 年に米国ベイラー医科大学の Mary Estes らにより、生検検体由来の単層化したヒト腸管上皮細胞に胆汁を添加するだけで HuNoV の感染・増殖が認められることが報告された[1]。彼女らの報告では、HuNoV のうち少なくとも GI.1、GII.3、GII.4、GII.17 の亜型が吸収上皮細胞に感染、侵入し、そこで数十倍から千倍程度の増殖が起きているとしている。

我々はこれまでに、ヒト iPS 細胞から効率的に小腸様上皮細胞を誘導する方法や、より簡便にその細胞を維持する手法を報告している[2]。ヒト iPS 細胞由来の腸管上皮細胞（hiPSC-IEC）は、その使用に際して倫理的障壁がほとんどなく、広く産業応用が可能である。

本講演では、前述の先行論文に倣い、単層化させた hiPSC-IEC に HuNoV を感染させ、そ

の増殖が起こるかどうかを検討したので、本実験系の応用も含めて報告させて頂きたい。

References

1. Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR, Karandikar U, Tenge VR, Neill FH, Blutt SE, Zeng XL, Qu L, Kou B, Opekun AR, Burrin D, Graham DY, Ramani S, Atmar RL, Estes MK.

   Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids.

   Science. 35:1387-1393, 2016.

2. Takahashi Y, Sato S, Kurashima Y, Yamamoto T, Kurokawa S, Yuki Y, Takemura N, Uematsu S, Lai CY, Otsu M, Matsuno H, Osawa H, Mizushima T, Nishimura J, Hayashi M, Yamaguchi T, Kiyono H.

   A Refined Culture System for Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Intestinal Epithelial Organoids.

   Stem Cell Reports. 10:314-328, 2018.