

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

食品由来のウイルス性感染症の検出法の高度化、実用化に関する研究

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 武田 直和

平成 18 (2006) 年 4 月

目 次

I. 総括研究報告書

- 食品由来のウイルス性感染症の検出法の高度化、
実用化に関する研究 …………… 武田 直和 ……………1

II. 分担研究報告書

1. ノロウイルス感染迅速イムノクロマトキットの開発（続報）
……………田中 智之……………11
2. ヒトロタウイルス感染における抗原血症の解析と
血清を利用した検査法の検討 …………… 谷口 孝喜……………21
3. 愛知県民のノロウイルスに対する抗体保有状況……………榮 賢司……………25
4. 集団発生及び散发性胃腸炎から検出されたノロウイルス、
サポウイルスの遺伝子型多様性……………大瀬戸光明……………31
5. 集団発生および散发例から検出したサポウイルスについて
……………篠崎 邦子……………43
6. 食品由来のウイルス性感染症の検出法の高度化、
実用化に関する研究……………斎藤 博之……………49
7. 九州3地研で検出されたノロウイルス（NV）の
遺伝子型別について……………松岡由美子……………55
8. 大阪市で検出されたノロウイルスの遺伝子型の多様性について
（1999年4月～2005年3月）……………勢戸 祥介 ……………67

9. ノロウイルスの Mexico 株類似リコンビナント株の 国内での検出状況	西尾 治	73
10. 哺乳動物細胞を用いたサポウイルス様中空粒子の発現	岡 智一郎	81
11. ノロウイルスと血液型抗原との結合に関する研究	白土 東子	87
III. 研究成果の刊行に関する一覧		91
IV. 研究成果の刊行物・別冊		95

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

食品由来のウイルス性感染症の検出法の高度化、実用化に関する研究

平成 17 年度 総括研究報告書

主任研究者 武田 直和

平成 18 (2006) 年 4 月

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
総括研究報告書

食品由来のウイルス性感染症の検出法の高度化、実用化に関する研究

主任研究者 武田 直和 国立感染症研究所 ウイルス第二部第一室長

研究要旨 ノロウイルス（NoV）ジェノグループ I（GI）で 6 株、GII で 20 株、合計 26 株の抗原および抗血清が作製できた。血清学的には GI で 6 種、GII で 12 種、計 18 種である。NoV 抗原検出 ELISA が実用の域に達し、診断薬として承認された。VLPs と抗血清の成績を基に、迅速かつ簡便なノロウイルス診断 IC キットを構築した。分子疫学研究から、GII が流行の主役であること、わが国でも GII/4 に遺伝子の変化が起こっていることが示された。NoV を多数解析するうえでの SSCP の有効性を明らかにし、井戸水に起因する食中毒事例を解析した。NoV の結合には型物質が重要であるが、型物質以外の因子を必要とする NoV もあることを示した。動物細胞を用いて SaV VLPs を効率よく作製する方法を確立した。ELISA によるロタウイルス抗原検出法を確立した。

分担研究者		山下 育孝	愛媛県立衛生環境研究所
田中 智之	堺市衛生研究所	近藤 玲子	同上
谷口 孝喜	藤田保健衛生大学	豊嶋 千俊	同上
栄 賢司	愛知県衛生研究所	岡田 峰幸	千葉県衛生研究所
大瀬戸光明	愛媛県立衛生環境研究所	東方 美保	福井県衛生環境研究センター
篠崎 邦子	千葉県衛生研究所	飯塚 節子	島根県保健環境科学研究所
斎藤 博之	秋田県衛生科学研究所	新屋 拓郎	熊本市環境総合研究所
松岡由美子	熊本市環境総合研究所	森田 美加	同上
勢戸 祥介	大阪府立大学	平野 敬之	佐賀県衛生薬業センター
西尾 治	国立感染症研究所	小河 正雄	大分県衛生環境研究センター
岡 智一郎	同上	入谷 展弘	大阪市立環境科学研究所
白土 東子	同上	久保 英幸	同上
		改田 厚	同上
協力研究者		阿部仁一郎	同上
内野 清子	堺市衛生研究所	秋山 美穂	国立感染症研究所
三好 龍也	同上	愛木 智香子	同上
池田 芳春	同上	名取 克郎	同上
吉田 永祥	同上	岡部 信彦	同上
北元 憲利	姫路工業大学	杉枝 正明	静岡県環境衛生科学研究所
和久田光毅	藤田保健衛生大学	吉澄 志磨	北海道立衛生研究所
浅野 喜造	同上	西田 知子	山口県環境保健研究センター
吉川 哲史	同上	田中 俊光	千葉市環境保健研究所
小林 慎一	愛知県衛生研究所	中込 治	長崎大学医学部

A. 研究目的

食品由来ウイルス感染症は国民の食生活にとり益々脅威となってきた。ノロウイルス (NoV) による集団食中毒や A 型肝炎ウイルスによる集団急性肝炎など、ウイルスに汚染された食品が原因となった疾病が的確に捉えられるようになり、事件数や患者数も正確に把握されるようになってきた。発生状況をつぶさに把握し、その結果を国民、行政機関、および医療関係者に迅速かつ的確に提供することは、本感染症を制圧する上で重要な施策のひとつである。本感染症の制御を困難にしている最大の理由は、現在ある検出法の検出限界を超えた、極めて微量のウイルス量で感染が成立することである。このため、二枚貝と NoV、二枚貝と A 型肝炎ウイルスの組合せ以外は原因食品や原因物質を特定できるに至っていない。さらに、関与するウイルスが極めて多彩であるため、ターゲットが絞りにくい点も理由にあげられる。食品由来ウイルス感染症からは、上記の二つのウイルスのほか、サポウイルス (SaV)、ロタウイルス、アイチウイルス、アストロウイルスが検出される。いずれも RNA を遺伝子にもつウイルスであるが、これらを効率よく、かつ厳密に区別する必要がある。また、本感染症の制圧には、原因となった食品が汚染されるまでのウイルスの伝播経路を明らかにする必要がある。

本研究では、(1) 患者の便や血清の抗原検出に免疫学的手法を導入し、迅速性と簡便性の向上を計る、(2) 原因食品からの抗原検出では遺伝子増幅による定量法を確立するとともに、免疫学的手法を用いた濃縮法を導入し、検出効率の向上を目指す、(3) 環境からの抗原検出には生化学、電気化学的手法で濃縮を行うと共に、各種膜分離技術を応用して効率の向上を計る、(4) 個々のウイルスについてその検査材料別に検査法を把握しその検出限界を明らかにする、ことを目的とした。

最近、特別養護老人ホームや老人ホームで、これまで食品由来ウイルス感染症と考えられてきた NoV 感染症で多数の死者が出るという事

態が発生した。NoV の診断には、標準法となっている電子顕微鏡や RT-PCR、また、我々が本研究班で確立した抗原検出 ELISA があるが、いずれもベッドサイドでの検査法とはいえない。15 分で診断が可能であるイムノクロマトによる抗原検出系を確立し、NoV ベッドサイド迅速診断法を確立することも目的とした。

B. 研究方法

(1) 組換えバキュロウイルスを用いた NoV 中空粒子 (VLPs) の作製

構造蛋白領域 (ORF2) の 5' 末端から約 300 塩基の解析によって VLPs 発現候補株を選出した。候補株について ORF2 の約 1650bp、あるいは ORF2 から 3' 末端のポリ A までの約 2300bp を増幅してクローニング後、組換えバキュロウイルスを作出した。Tn5 細胞に感染後、電気泳動による 58K 蛋白の確認と電子顕微鏡による中空ウイルス粒子の観察によって VLPs の発現を調べた。VLPs が発現できた株については濃縮・精製後ウサギで抗血清を作製した。

(2) 単クローン抗体およびポリクローン抗体を用いた NoV 抗原検出 ELISA

GI NoV を特異的に認識する単クローン抗体 #3912 と GII NoV を特異的かつ広範囲に認識する単クローン抗体 #NS14 を抗原捕獲抗体として混合し、マイクロプレート上の 1 穴に固相した。検出抗体として NoV23 を用いた。VLPs を免疫源としてウサギに接種し、免疫血清を作製した。得られたウサギ抗 NoV 抗体を捕捉抗体およびビオチン化 NoV 抗体を検出用抗体とした NoV 抗原検出 ELISA を構築した。

(3) IC kit の構築

GI、GII を特異的に認識する単クローン抗体、#3912 および #NS14 を用い捕獲抗体および金標識検出抗体として IC キットを構築した。

(4) ロタウイルス抗原の検出

粒子中のもっとも多量に存在する内層タンパク質 VP6 の共通抗原に反応する単クローン抗体を固相した 96 穴プレートを用いた ELISA にて被検血清中の VP6 抗原量を測定した。また、同

様に VP7 ないし VP4 に特異的な中和単クローン抗体を用いた ELISA により、VP7 抗原、VP4 抗原の検出も試みた。

(5) NoV の血清疫学

GI/1、GI/4、GII/2、GII/3、GII/4、GII/10、GII/12、GII/15、計 8 株の VLPs を抗原として抗 NoV 抗体を ELISA で測定した。

(6) NoV の一本鎖高次構造多型解析 (Single Strand Conformation Polymorphism: SSCP 解析)

ビオチン化プライマーを用い RT-PCR を行なった。増幅産物を SSCP バッファで希釈して熱変性後、SSCP ゲルにアプライし、ゲル温度を 24°C に保ちながら泳動した。電気泳動終了後、ゲル中の PCR 産物をナイロン膜へ転写し、ビオチン化学発光検出キットを用いて SSCP パターンを検出した。

(7) NoV の遺伝子増幅と遺伝子解析

井戸水からのウイルス濃縮は、①超遠心法のみ濃縮と、②「ウォーターコンセル・ビルコン」キットで濃縮後、超遠心法で濃縮する方法で行った。ウイルス性下痢症検査マニュアル (第 3 版) の術式にある GI と GII に特異的なプライマーに加え、Alphatron 株、Amsterdam 株の検出用にプライマーを別途設定した。PCR 陽性検体は、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し系統解析を行った。

(8) 動物細胞による SaV VLPs の作製

COS7 細胞、293T 細胞で SaV GII Mc10 株の構造遺伝子を定法に従って発現した。

(9) NoV と血液型抗原との結合

4 種類の合成糖鎖、A、B、Le^a、Le^b 型抗原と VLPs との結合を ELISA-based Carbohydrate-VLP binding assay にて検出した。

(倫理面への配慮)

唾液の使用は、国立感染症研究所医学研究倫理審査委員会での承認、提供者からのインフォームド・コンセントを得た上で行った。

C. 研究結果

[1] 患者の便や血清の抗原検出に免疫学的手法

を導入し、迅速性と簡便性の向上を計る研究

(1) NoV 中空粒子の発現と高力価免疫血清の作製

本年度に発現できた株を加え、GI で 6 株、GII で 20 株、合計 26 株の抗原および抗血清が作製できた。血清学的には GI で 6 種、GII で 12 種、計 18 種である。VLPs と抗血清の成績を基に、迅速かつ簡便な NoV 診断 IC キットを構築した。

(2) NoV 抗原検出 ELISA

NoV (NoV) 抗原検出 ELISA が実用の域に達し、診断薬として承認された。

(3) IC キットの評価

感度は ELISA 法とほぼ同程度であったが、RT-PCR 法との一致率および特異性は ELISA 法と比べると低かった。今後、感度、特異性についてデータを集め、実用化を目指す。

(4) ヒトロタウイルス感染における抗原血症

の解析と血清を利用した検査法の検討

ヒト RV 感染において抗原血症がほぼ普遍的に起きていること、微量の血清 (血液) 中のロタウイルス抗原 VP6 を検出することにより、ヒトロタウイルス感染の診断に使用可能であることが示された。

[2] 検出系の確立に向けた基礎研究

(1) SSCP 解析を活用した NoV の同定

NoV の流行、あるいは集団感染などの危機管理において行政対応に直接役立つ情報を素早く把握する手法として種々の事例について SSCP 解析を検討した。複数の機関で行った SSCP 解析データをネットワーク上で照合するシミュレーションを行うとともに、実際の流行局面での実用試験を行った。後者については、食中毒や施設等での集団発生に加えて、簡易水道にウイルスが混入した場合の迅速な対応が可能であった。

(2) SaV VLPs の作製

SaV ORF1 を動物細胞で発現することによって、昆虫細胞では作製が困難であった GII SaV の VLPs 作製に初めて成功した。SaV 高感度抗原抗体検出系の確立のために極めて有用な材料を手に入れることができた。

(3) NoV の血清疫学

GII の 6 株中 4 株で保有率の上昇が認められ、最近の GII の流行を反映する結果が得られた。

[3] 培養系の確立に向けた基礎研究

(1) NoV と血液型物質との結合

同じジェノグループに属する株には結合パターンに共通項があること、糖鎖のわずかな構造の違いがウイルスの結合量を左右していることが明らかになった。

[4] NoV、SaV の分子疫学および遺伝子解析に関する研究

堺市内の河川からの NoV 検出、千葉県集団発生および散発例から検出した SaV、愛媛県集団発生及び散発性胃腸炎における NoV、SaV の関与、九州 3 地研で検出された NoV の遺伝子型の解析、大阪市で検出された NoV の遺伝子型の多様性、リコンビナント株の国内での検出状況から、GII NoV の遺伝子の変化と、老人施設、障害者施設、病院での集団発生の増加との関連性の可能性が推測された。ウイルスの病原性に関連した変異であるか否か、今後さらに詳細な解析を行い明らかにしてゆく。

D. 考察

[1] 患者の便や血清の抗原検出に免疫学的手法を導入し、迅速性と簡便性の向上を計る研究

最近、様々な病院内、特別養護老人ホームにおける NoV 集団感染事例が頻発し、NoV の簡便かつ迅速な診断方法が求められている。診断の確立は感染拡大の予防や重症化予防に大きな貢献ができる。NoV 感染診断には、いくつかの方法が開発されているが、いずれも一長一短がある。中でも、今回の研究主眼である IC キットはその簡便性では他法に比べ大きな長所となっている。昨年度に比し、一致率、感度は上昇したが、特異性は低下した。糞便中の非特異的反応の原因となる夾雑物、検体採取時期、多数の genotype との反応性を高める抗体の選択など、新たな研究課題が浮き彫りされた。

改良 ELISA は、感度、特異性それに RT-PCR 法との一致率は、一昨年度、昨年度の方法に比

べ、著しく向上した。感染性胃腸炎の散発事例においても、食中毒の流行事例においても、十分対応できる診断方法と考える。これまでも強調してきているが、ウイルス性食中毒と細菌性食中毒の鑑別は、極めて重要で、予後対応は大きく異なってくる。さらに、その鑑別に要する費用は大きい。今回の ELISA 法は、初期に搬入される検査検体が多ければ多いほど鑑別診断は容易で且つ経済性を示し、diffuse outbreak の感染事例に十分対応できる測定キットと考える。感度をより向上させるため、また、広範囲な感染原のウイルス株を検出するためにも、現有の単クローン抗体に加えて、他の抗原決定基を認識する抗体の作製が必要であると考えている。

NoV を免疫学的手法で検出する上でその基礎は高力価血清の作製であるが、そのためには中空粒子の作製が不可欠である。NoV の遺伝子系統解析によれば現在までに GI は 14、GII は 17 のクラスターに分類されると考えられ、そして各クラスターは血清学的にも異なると思われる。GI で 6 株、GII で 20 株の抗原および抗血清が作製できたことになり、血清学的には GI で 6 種、GII で 12 種、計 18 種である。これらの抗原、抗血清の保持によって NoV の血清学的関係が次第に明らかになり、さらに患者材料からの簡便な検出法である抗原検出 ELISA 法の改良の進展が期待される。

ヒト RV 感染の急性期において、かなり普遍的に抗原血症が起きていることが明らかとなった。RV と胃腸炎以外の疾患との関連の可能性は、より濃厚となってきた。また、RV 感染においては、きわめて微量（約 $4\mu\text{l}$ ）の血清で RV 抗原が検出可能であることが、判明し、血清を用いた迅速診断も可能であることを示唆した。

[2] 検出系の確立に向けた基礎研究

愛知県民の抗体保有状況を比較検討した結果、11 年度と比べて 16 年度では、GI の 2 株に対する保有率は低下していたが、GII の 6 株中 4 株で保有率の上昇が認められ、最近の GII 型 NOV の流行を反映する結果と考えられた。抗体

保有率と流行株との関連性を継続調査することにより、今後の流行株の予測、また感染症や食中毒の防疫対策のための基礎資料となることが期待される。NoV の解析はシーケンスを決定して比較する方法が一般的であるが、数週間～数ヶ月を要するため行政側との時間軸のずれが大きく、個々の局面で有効な情報を提供するという目的には向いていない。遺伝子解析が必要となるような事例は検体数も多いのが普通であるから、行政対応に役立てるためには多くのNoVの遺伝子の異同をシーケンスせずに短期間に比較する手法の導入が必要になる。行政判断で重要なのは複数のNoV 遺伝子が「同じかどうか」であり、その情報を迅速に把握する手法としてSSCP 解析を用いることは意義があるものと考えられた。また、あらかじめ対照試料を配布しておくことで異なる機関で行ったSSCP 解析のデータをネットワーク上で照合できるようになるため、広域にわたる事例であっても対応可能になる可能性が開けた。昆虫細胞でまったくVLPs の形成ができなかったSaV GII Mc10 株について検討を行い、VLPs 発現に成功した。今後、昆虫細胞で発現したものの、発現量が著しく低かったGII C12 株や、その他のgenogroupに属する株についても本発現系が有用か検討を行い、昆虫細胞発現系で作製したVLPs とともに、SaV のgenogroup 間、genotype 間の抗原性の違いを検討していくことが可能になった。

[3] 培養系の確立に向けた基礎研究

NoV は遺伝学的、血清学的に多様であるため、ワクチンによる予防は困難であるが、レセプターへの結合を阻害する薬剤による予防は効果が期待できる。今回、GI 4 株、GII 10 株のNoV VLPs を用いたCarbohydrate-VLPs binding assayにより、1) 同じジェノグループに属する株には血液型抗原認識パターンに共通項があること、2) 血液型抗原のわずかな構造の違いがウイルスの結合量を左右していることが明らかになった。今後、さらに詳細な解析を行い、血液型抗原上のNoV 結合部位を明らかにするこ

とにより、血液型抗原への結合を阻害する薬剤の開発を目指したい。

[4] 下痢症ウイルスの分子疫学および遺伝子解析に関する研究

愛媛県における集団発生及び散発性胃腸炎の調査から、散発例でのSaV の関連する割合が比較的高いこと、逆に、食中毒や施設内集団発生事例では、原因はほとんどNoV であり、SaV の関与は少ないことが明らかとなった。地域社会でのNoV の流行が食中毒や胃腸炎集団発生と密接な関連を持っていることが示唆された。また、現在NoV の検出に国内で最も汎用されているプライマーは、少なくとも国内で流行しているNoV を広く検出していることが推測された。今回、成人の知的障害者厚生施設においてSaV の集団発生がみられた。感染経路は明らかでないが、施設の特異性から汚物により環境が汚染され施設内に広まったと推測され、成人においてもヒト-ヒト感染を起こすことが示唆された。今後SV の動向を監視することが必要である。2005年3月GI 1/3が佐賀県、熊本市で初めて検出された遺伝子型であるため、よくシーズンに流行株と予測したが、現在まで大きな流行は発生していない。これらの事から流行型の予測はいまだ困難であると考えられた。大阪市では毎年、11~16 種類の遺伝子型の多様なNoV が検出されるが、ヒトからヒトへ感染が拡がった事例については、カキ関連事例と比べて、検出された遺伝子型の種類が少なく、1種類の遺伝子型(GII/4) が特に優勢で、患者の年齢層(主に子供と老人)や感染経路(ヒトからヒト)などが食中毒事例と比べて特徴的であった。ヒトからヒトへの感染事例は、保育園、小学校、老人施設などの施設内において平成16年度から急激に増加しているため、今後の動向に注意し、監視を続ける必要がある。

最近の小児の散発性胃腸炎患者、食中毒事件、集団発生(感染症)由来のキャプシド領域がMX株のポリメラーゼ領域について分子遺伝学的検討を行ったところ、国内においてもMX株類似リコンビナント株が高率に認められた。MX

株類似リコンビナント株は、ポリメラーゼ領域でGGⅡb型とLordsdale型の2種類が検出され、共に小児で高率に、GGⅡb型は患者数が多い傾向が見られ、本邦でもMX株類似リコンビナント株が小児散発例や大規模集団発生の起因ウイルスとなり得ることが予測された。

E. 結論

迅速かつ簡便なNoV診断ICキットの構築を行ったが、感度、特異性の向上を図る必要がある。より広範に感度よくNoV抗原を検出するELISAを構築するために、更なるVLPsと単クローン抗体研究を推進する必要がある。分子疫学研究から、GII/4の遺伝子の変化と、老人施設、障害者施設、病院での集団発生の増加との関連性の可能性が推測された。また、地域で散発的に流行するNoVが集団発生の原因と関連していることも示唆された。さらに詳細な解析が必要である。環境からのNoVによる感染症・食中毒が急増している。井戸水などの原水が汚染される可能性があることを啓発していく必要がある。NoVの結合には型物質が重要であるが、型物質以外の因子を必要とするNoVもある。NoVを多数解析するうえでのSSCPが有効である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nagashima, S., Sasaki, J., Taniguchi, K.: The 5' Ω terminal region of the Aichi virus genome encodes *cis*-acting replication elements required for positive- and negative-strand RNA synthesis. *J. Virol.* 79(11): 6918-6931, 2005.

Wakuda, M., Pongsuwanna, Y., Taniguchi, K.: Complete nucleotide sequences of two RNA segments of human

picobirnavirus. *J. Virol. Methods* 126:165-169, 2005.

Komoto, S., Tsuji, S., Lee, B. J., Iwabu, Y., Kojima, Y., Otake, T., Taniguchi, K., Ikuta, K.: Higher frequency of premature stop codon mutations at *vpu* gene of human immunodeficiency virus type 1 CRF01_AE compared with that of other subtypes. *Microbes Infect.* 7(2):139-147, 2005.

Kamata, K., Shinozaki, K., Okada, M., Seto, Y., Kobayashi, S., Sakae, K., Oseto, M., Natori, K., Shirato-Horikoshi, H., Katayama, K., Tanaka, T., Takeda, N., Taniguchi, K.: Expression and antigenicity of virus-like particles of Norovirus and their application for detection of Noroviruses in stool samples. *J. Med. Virol.* 76:129-136, 2005.

Rahman, M., Banik, S., Faruque, A. S. G., Taniguchi, K., Sack, D. A., Ranst, M. V., Azim, T.: Detection and characterization of human group C rotaviruses in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 43(9):4460-4465, 2005.

Monnier N, Higo-Moriguchi K, Sun ZY, Prasad BV, Taniguchi K, Dormitzer PR: High-resolution molecular and antigen structure of the VP8* core of a sialic acid-independent human rotavirus strain. *J. Virol.* 80(3):1513-1523, 2006

Komoto, S., Sasaki, J., Taniguchi, K.: Reverse genetics system for introduction of site-specific mutations into the double-stranded RNA genome of infectious rotavirus. *Proc.*

- Natl. Acad. Sci. USA (in press)
- Okada M et al.: Genetic analysis of noroviruses in Chiba Prefecture, Japan, between 1999 and 2004. *J. Clin. Microbiol.* 2005;43:4391-4401
- Seto Y, Iritani N, Kubo H, Kaida A, Murakami T, Haruki K, Nishio O, Ayata M, and Ogura T: Genotyping of norovirus strains detected in outbreaks between April 2002 and March 2003 in Osaka City, Japan, *Microbiology and Immunology*, 49, 275-283 (2005)
- Hirakata Y, Arisawa K, Nishio O, Nakagomi O. Multifunctional spread of gastroenteritis outbreaks attributable to a single genogroup II norovirus strain from a tourist restaurant in Nagasaki, Japan. *J Clin Microbiol.* 43:1093-1098, 2005.
- Phan TG, Okame M, Nguyen TA, Nishio O, Okitsu S, Ushijima H. Genetic of Sapovirus in fecal specimens from infants and children with acute gastroenteritis in Pakistan. *Arch Virol.* 150:371-377, 2005.
- Oka T., Katayama K., Ogawa S., Hansman GS., Kageyama T., Ushijima H., Miyamura T., and Takeda N. Proteolytic Processing of Sapovirus ORF1 Polyprotein. *Journal of Virology.* 79 (12) :7283-90, 2005.
- Hansman GS., Matsubara N., Oka T., Ogawa S., Natori K., Takeda N., and Katayama K. Deletion analysis of the Sapovirus VP1 gene for the assembly of virus-like particles. *Archives of Virology.* 150 (12) : 2529-2538, 2005.
- Oka T., Katayama K., Ogawa S., Hansman GS., Kageyama T., Miyamura T., and Naokazu Takeda. Cleavage activity of the Sapovirus 3C-like protease in *Escherichia coli*. *Archives of Virology.* 150 (12) : 2539-2548, 2005.
- Hansman GS., Takeda N., Oka T., Oseto M., Hedlund KO., and Katayama K. Intergenogroup recombination in sapoviruses. *Emerging Infectious Diseases.* 11 (12) :1916-1920, 2005.
- Oka T., Hansman GS., Katayama K., Ogawa S., Nagata N., Miyamura T., Takeda N. Expression of sapovirus virus-like particles in mammalian cells. *Archives of Virology.* 151(2) : 399-404, 2006.
- Wu FT., Oka T., Katayama K., Wu HS., Donald Jiang DS., Miyamura T., Takeda N., and Hansman GS. Genetic diversity of noroviruses in Taiwan between November 2004 and March 2005. *Archives of Virology.* In press
- Hansman GS., Natori K., Shirato-Horikoshi H., Ogawa S., Oka T., Katayama K., Tanaka T., Miyoshi T., Sakae K., Kobayashi S., Shinohara M., Uchida K., Sakurai N., Shinozaki K., Okada M., Seto Y., Kamata K., Miyamura T. and Takeda N. Genetic and antigenic diversity among noroviruses. *Journal of General Virology.* 2006: 87, 909-919.
- Katayama K., Hansman GS., Oka T., Ogawa S., Takeda N. Investigation of Norovirus replication in a human cell line. *Archives of Virology.* In press
- Tracy Dewese Parker, Noritoshi Kitamoto, Tomoyuki Tanaka, Anne M. Hutson and Mary K. Estes. Identification of

- Genogroup I and Genogroup II Broadly Reactive Epitopes on the Norovirus Capsid. *J. Virol.* 2005;79:7402-7409
- Tatsuya Miyoshi, Kiyoko Uchino, Mitsuko Matsuo, Yoshiharu Ikeda, Hisayoshi Yoshida, Hisako Sibata, Fumitoshi Fujii, Tomoyuki Tanaka. *Laboratory and Epidemiology Communications: The Characteristics of Norovirus Outbreaks at Non-epidemic Season.* 2006: JJID (in press)
- M. Okada, T. Tanaka, M. Oseto, N. Takeda and K. Shinozaki. Genetic analysis of noroviruses associated with fatalities in healthcare facilities. *Archiv. Virol.* Published online: 9 March 2006
- 田中智之 「ノロウイルス感染症の迅速診断」*臨床とウイルス* 2005: 33 (3) ;126-130
- 田中智之、三好龍也、内野聖子、武田直和。新興・再興感染症の感染制御の実際 ノロウイルス。*治療学* 2006. 40 (2), 79-82
- 椛島由佳、伊藤 雅、山下照夫、藤浦 明、榮賢司: *臨床とウイルス.* 33: 228-233, 2005
- 山下育孝、近藤玲子、豊嶋千俊、大瀬戸光明、井上博雄、愛木智香子、秋山美穂、西尾 治。散発性胃腸炎と胃腸炎集団発生からのノロウイルス検出状況—愛媛県、病原微生物検出情報, 26 : 327-329, 2005
- 山下育孝、近藤玲子、豊嶋千俊、大瀬戸光明、井上博雄、杉枝正明、古屋由美子、愛木智香子、秋山美穂、西尾 治。輸入生鮮魚介類からのノロウイルス検出状況とその遺伝子型、病原微生物検出情報, 26 : 337-338, 2005
- 斎藤博之 他、簡易水道が原因と考えられたノロウイルスの流行、病原微生物検出情報、Vol. 26、No. 6、14-15、(2005)
- 斎藤博之 他、エンテロウイルスの血清型別同定における一本鎖高次構造多型 (SSCP) 解析の応用、*臨床とウイルス* 33、No. 4、220-227 (2005)
- 斎藤博之、ノロウイルス胃腸炎の疫学調査における一本鎖高次構造多型 (SSCP) 解析の利用、*食中毒検査と診療の落とし穴*、第 2 章、中山書店 (2006)
- 斎藤博之、ノロウイルス胃腸炎の流行拡大防止、*食中毒検査と診療の落とし穴*、第 5 章、中山書店 (2006)
- 久保英幸、改田 厚、入谷展弘、村上 司: 2000-2002 年に世界的流行の認められたエコーウイルス 13 型の大阪市での分離株を含む遺伝子系統樹解析, *生活衛生*, 49, 144-151 (2005)
- 入谷展弘、勢戸祥介、春木孝祐、西尾 治、久保英幸、改田 厚、村上 司、綾田 稔、小倉 壽: 市販生カキからのノロウイルスおよび A 型肝炎ウイルスの検出, *生活衛生*, 49, 279-287 (2005)
- 西尾治、古屋由美子、大瀬戸光明。ウイルス性食中毒の予防—ノロウイルス、A 型肝炎ウイルス—。食品衛生研究. 55 (4) :19-24, 2005.
- 西尾治。ノロウイルスの感染と遺伝子迅速検査の現状と期待。The Medical Journal. 915:11, 2005.
- 西尾治。ノロウイルスによる感染症と食中毒。日本医事新報. 4221:105, 2005.
- 西田知子、岡本玲子、中尾利器、松村健道、大瀬戸光明、西尾治。山口県内におけるノロウイルス胃腸炎集団発生事例および市販生食カキの汚染状況。獣医公衆衛生研究. 7:24-25, 2005.
- 西尾治。広範囲 血液・尿化学検査免疫学的検査—その数値をどう読むか—ノロウイルス。日本臨床. 63 巻増刊号 7 :332-333, 2005.
- 西尾治、山下育孝、宇宿秀三。ノロウイルスによる食中毒、感染症。食品衛生研究. 55 (10) :7-16, 2005.
- 西尾治、秋山美穂、愛木智香子、杉枝正明、福田伸治、西田知子、植木洋、入谷展弘、篠原美千代、木村博一。ノロウイルスによる食中

- 毒について. 食品衛生学雑誌. 46:235-245, 2005.
- 白土(堀越)東子, 岡 智一郎, 片山和彦, 武田直和: ノロウイルス研究の最近の動向. 感染・炎症・免疫 35(2): 106-117, 2005. 医薬の門社
- 白土(堀越)東子: 誰もが感染の危機!! ノロウイルス. 食と健康 49(11): 53-57, 2005. 社会法人 日本食品衛生協会
- 米山徹夫, 李天成, 白土(堀越)東子, 武田直和: 食品産業従事者のためのウイルス基礎知識. ジャパンフードサイエンス 印刷中
2. 学会発表
- T. Tanaka, MU. Ahmed, T. Miyoshi, K. Uchino, Y. Ikeda, M. Yoshida N. Kitamoto and N. Takeda. Prevalence of norovirus infection in Bangladesh. Japan-Bangladesh Joint International Conference on Microbiology Education & the Prospect of Japanese Collaboration in Education & Research. Dhaka, Bangladesh, 2005. 12. 26-28
- T. Tanaka, MU. Ahmed, T. Miyoshi, K. Uchino, MM. Alam, Y. Ikeda, M. Yoshida, N. Kitamoto and N. Takeda. Prevalence of norovirus infection in Mymensingh, Bangladesh. 11th Asian Conference on Diarrhoeal Diseases and Nutrition(11th ASCODD 2006) Bangkok, Thailand, 2006. 3. 8-10
- Iritani N, Seto Y, Kubo H, Kaida A, and Ogura H: Molecular epidemiology of noroviruses detected in Osaka City Japan, German-Japanese symposium on emerging and reemerging viruses, Toyama Japan (2005. 5. 14-17)
- 内野清子, 三好龍也, 田中智之: ノロウイルス感染状況から見た環境汚染と流行予測の可能性. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会, パシフィコ横浜 2005. 11. 20-22
- 小林慎一, 小原真弓, 長谷川澄代, 大矢英紀, 尾西 一, 東方美保, 猿渡正子, 青木 聡, 田中保和, 柴田伸一郎, 中野陽子, 杉山 明, 榮 賢司: 平成 16 年度の東海・北陸地域におけるノロウイルスの検出状況と遺伝子解析. 第 53 回日本ウイルス学会総会, 横浜, 2005
- 山下照夫, 伊藤 雅, 谷口晶子, 藤浦 明, 榮賢司: 新型アイチウイルス(2型)のVP1 遺伝子の検出. 第 53 回日本ウイルス学会総会, 横浜, 2005
- 伊藤 雅, 山下照夫, 谷口晶子, 榮 賢司: 臨床検体からの Human parechovirus (HPeV) 属の検出. 第 53 回日本ウイルス学会総会, 横浜, 2005
- 山下育孝, 近藤玲子, 豊嶋千俊, 大瀬戸光明, 杉枝正明, 古屋由美子, 田中俊光, 愛木智香子, 秋山美穂, 西尾 治. 輸入生鮮魚介類及び急性胃腸炎患者から検出されたノロウイルス(NV)の分子疫学的解析, 第 53 回日本ウイルス学会, 2005 年 11 月(横浜市)
- 斎藤博之, 他 簡易水道が原因と考えられたノロウイルスの流行 第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 東京, (2005)
- 松岡 由美子, 平野 敬之, 小河 正雄: 熊本市, 佐賀県, 大分県で検出されたノロウイルス(NV)の分子疫学, 第 46 回日本臨床ウイルス学会 (2005. 6)
- 松岡由美子, 平野敬之, 小河正雄, 愛木智香子, 秋山美穂, 西尾治: 熊本市, 佐賀県, 大分県で検出されたノロウイルス(NV)の分子疫学について, 第 53 回日本ウイルス学会学術集会 (2005. 11)
- 西田知子, 野田 衛, 福田伸治, 三上稔之, 篠原美千代, 大瀬戸光明, 入谷展弘, 植木 洋, 秋山美穂, 愛木千香子, 西尾 治: 国内産食用カキのノロウイルス汚染状況, 衛生微生物協議会第 26 回研究会 (2005. 7. 7-8)
- 秋山美穂, 愛木千香子, 杉枝正明, 入谷展弘, 吉澄志磨, 西田知子, 田中俊光, 岡部信彦, 西尾 治: ノロウイルスの Mexico 株類似リコンビナント株の国内での検出状況, 第 53 回日本ウイルス学会 (2005. 11. 20-22)

西尾治：食品を介するノロウイルスによる食中毒の現状と対策、第46回日本臨床ウイルス学会、福岡市、2005年6月3-4日

杉枝正明、愛木智香子、秋山美穂、西尾治：*Norovirus*による集団発生事例について、第46回日本臨床ウイルス学会、福岡市、2005年6月3-4日

杉枝正明、稲吉恵、足立聡、三輪好伸、増田高志、愛木智香子、秋山美穂、西尾治：*Norovirus*による集団発生事例について、平成17年度地方衛生研究所全国協議会 第20回関東甲信静支部ウイルス研究部会、前橋市、2005年9月29-30日

原俊吉、大石陽子、山上隆也、小澤茂、西尾治：2004年度冬季に山梨県内の高齢者施設で発生したノロウイルス急性胃腸炎集団事例、平成17年度地方衛生研究所全国協議会 第20回関東甲信静支部ウイルス研究部会、前橋市、2005年9月29-30日

秋山美穂、愛木智香子、西尾治、山下育孝、大瀬戸光明、杉枝正明、古屋由美子、田中俊光、宇宿秀三：輸入食品のノロウイルス汚染状況について、日本食品衛生学会第90回学術講演会、さいたま市、2005年10月20-21日

西尾治：ノロウイルスによる感染症、食中毒の現状と予防、平成17年度獣医公衆衛生講習会、山口市、2005年11月5日

岡智一郎、片山和彦、小川智子、Hansman Grant、影山努、宮村達男、武田直和：*sapovirus* ORF1の切断部位の決定、第125回日本薬学会学術集会、東京、2005年3月30日。

岡智一郎、片山和彦、Hansman S. Grant、武田直和。ノロウイルス、サポウイルスに関する新知見

第17回ウイルス性下痢症研究会、東京、2005年11月19日

宮下佳奈、Hansman Grant、片山和彦、岡智一

郎、濱野國勝、宮村達男、武田直和。ノロウイルス粒子形成に必須なアミノ酸残基の同定第53回日本ウイルス学会、横浜、2005年11月20日。

高井聡、Hansman Grant、岡智一郎、濱野國勝、宮村達男、武田直和、片山和彦。ノロウイルス様中空粒子の形成に影響を与えるアミノ酸残基の解析 第53回日本ウイルス学会、横浜、2005年11月20日。

Hansman Grant、岡智一郎、片山和彦、武田直和。Formation of sapovirus small virus-like particles. 第53回日本ウイルス学会、横浜、2005年11月20日。

岡智一郎、山本真民、片山和彦、Hansman Grant、小川智子、宮村達男、武田直和。サポウイルス ORF1 の切断点の解析。第53回日本ウイルス学会、横浜、2005年11月20日。

山本真民、岡智一郎、小川智子、片山和彦、Hansman Grant、濱野國勝、宮村達男、武田直和。サポウイルスプロテアーゼの性状解析。第53回日本ウイルス学会、横浜、2005年11月20日。

岡智一郎、Hansman Grant、片山和彦、小川智子、永田典代、宮村達男、武田直和。哺乳動物細胞を用いたサポウイルス様中空粒子の発現。第53回日本ウイルス学会、横浜、2005年11月20日。

白土（堀越）東子、小川智子、鎌田公仁夫、影山 努、片山和彦、宮村達男、武田直和「ノロウイルスの最近の動向」衛生微生物技術協議会第26回研究会、2005年7月7-8日、福井

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業

食品由来のウイルス性感染症の検出法の高度化、実用化に関する研究

平成 17 年度 分担研究報告書

田中 智之
谷口 孝喜
柴 賢司
大瀬戸光明
篠崎 邦子
斎藤 博之
松岡由美子
勢戸 祥介
西尾 治
岡 智一郎
白土 東子

平成 18 (2006) 年 4 月

平成 17 年度 厚生労働省新興再興感染研究事業
「食品由来のウイルス性感染症の検出方法の高度化、実用化に関する研究」
分担研究報告書

ノロウイルス感染迅速イムノクロマトキットの開発(続報)

分担研究者	田中智之 (堺市衛生研究所)
共同研究者	内野清子、三好龍也、池田芳春、吉田永祥 (堺市衛生研究所)
共同研究者	北元憲利 (兵庫県立大学環境人間学部)
共同研究者	大瀬戸光明 (愛媛県立衛生環境研究所)
共同研究者	榮 賢司 (愛知県衛生研究所)
共同研究者	入谷展弘 (大阪市立環境科学研究所)
共同研究者	篠崎邦子 (千葉県衛生研究所)
共同研究者	松岡由美子 (熊本市環境科学研究センター)
共同研究者	名取克郎、武田直和 (国立感染症研究所ウイルスⅡ部)

研究概要:

昨年度に引き続き、ノロウイルスの迅速かつ簡便な診断方法、イムノクロマト・キット、IC kit、の開発と精度向上を試みた。このキットは 2.5% 糞便材料 100ul をノロウイルス GI/GII それぞれの IC キットに滴下し 15 分に結果が得られる簡便な測定方法である。ノロウイルス散発性食中毒事例で得た便検体を用いた結果は、RT-PCR 法との一致率 68%、感度 75%、特異性 55%であった。昨年度に比し、一致率、感度は上昇したが、特異性は低下した。糞便中の非特異的反応の原因となる夾雑物、検体採取時期、多数の genotype との反応性を高める抗体の選択など、新たな研究課題が浮き彫りされた。

A: 研究目的

これまでこの研究班のひとつの課題であった簡便、経済的かつ多検体が同時測定できるノロウイルス抗原検出 ELISA 法は、平成 17 年 11 月 21 日、厚生労働省よりノロウイルス体外診断キットとして承認された。ノロウイルス検査方法の一つである RT-PCR 法

を golden standard method として比較した場合、ELISA 法の一致率は 81%、感度 62%、特異性 99%である。

しかし、本邦では特別養護老人ホームなどにおけるノロウイルスの集団感染事例が相次いで報告され、昨年当初に見られた多数の死亡患者に匹敵する位の数の死亡例が、散発的ではあ

るが、本年当初に報告されている。ノロウイルス感染の拡大防止や患者への速やかな初期対応に求められるものは、迅速且つ簡便、正確な診断である。上述の ELISA 法は、この目的を達成する方法の一つである。しかし、測定には三時間弱が必要で、分光光度計などの機器の常備が必要である点など、真に迅速な検査対応とは云いがたい。

昨年度、迅速且つ簡便なイムノクロマトキット (IC kit) の開発を試みたが、感度、特異性に尚改良すべき点が多々見られた。これらの問題点の解析と更なる感度・特異性の向上を目指した IC kit の開発を、前年度に引き続き研究課題とした。

また、環境中のノロウイルスの動向を知る目的で、前年度に引き続き、河川水中のノロウイルス遺伝子検出を主眼にノロウイルス食中毒事例やノロウイルス感染性胃腸炎との遺伝子学的相同性について調査研究を行った。

B: 研究方法

1] ノロウイルス抗原検出 ELISA 法

1) 材料および方法:

これまで報告してきた方法に準じて ELISA 法を開発した。基本的には、ノロウイルスの genogroup I (GI), genogroup II (GII) それぞれを特異的且つ広範囲に認識するモノクローナル抗体を固層抗体とし、検出抗体にはバキュロウイルス発現ウイルス様粒子 (VLPs) に対する免疫家兎血清を GI

には 4 種を、GII には 10 種を用いた。愛媛県立衛生環境研究所、愛知県衛生研究所および堺市衛生研究所で食中毒事例、感染症事例から得られた糞便 690 検体を用いて評価した。

2] IC kit の構築

1) 材料および方法:

前年の度報告書に準じて、すなわち、GI, GII を特異的に認識するモノクローナル抗体、#3912 および#NS14、をそれぞれ固層抗体および gold-labeled した検出抗体として IC kit を構築に用いた。これらは、モノクローナル抗体—モノクローナル抗体の検出系である。Kit は、GI, GII を個別に検出する。共同研究者施設 (熊本市環境科学研究センター、愛媛県立衛生環境研究所、愛知県衛生研究所、大阪市立環境科学研究センター、千葉県衛生研究所) 実施を含めて、糞便 238 検体の 2.5% 便乳剤 を作製し遠心後、その上清 100ul を GI, GII それぞれの IC kit に滴下し 15 分後に判定した。反応生成物の判定は目視あるいは chromat reader (CR) で数値化した。本法の大きな特徴は目視での判定が可能な点にある。目視を (-), (±), (+), (++)、(+++) と設定し CR との相関性について検討した。また、特異性の検討にはノロウイルスのコピー数と CR について検討し非特異性の解析に用いた。検体中のノロウイルス遺伝子は real time RT-PCR 法にて行いコピー数にて表記した。

C: 結果

1] ノロウイルス抗原検出 ELISA 法
糞便 690 検体を用い RT-PCR 法を
golden standard とした場合その
一致率は 81 %、感受性 62 %、特異
性 99 %であった。全測定時間は 3 時間
弱である。

2] IC kit の構築

図 1 に示すように、RT-PCR 法を
golden standard method とした場合、
IC kit の RT-PCR 法との一致率は 68 %、
感度 75 %、特異性 55 %であった。昨
年度の成績に比較して、感度は向上し
たものの特異性の低下が強く認めら
れた。これらの原因の解析に NV のコ
ピー数を加味して検討した。

先ず、RT-PCR と IC kit 両者の成績
が一致した検体について、反応性生物
の数値化 (CR) と目視を検討すると両
者は良い相関であった (図 2)。しかし、
NV GII、GI 各々の陽性検体についてみ
ると必ずしも一致した相関は得られ
なかった (図 3)。さらに、コピー数に
ついて NV GII 陽性検体と CR の相関を
みても良い相関は得られなかった (図
4)。また、コピー数 0 の検体、すなわ
ち NV 陰性検体について GI、GII 両キ
ットとの反応性を図 5 に示した。この
結果は IC kit の非特異的反応を示す
もので、NV GII の方が GI に比べより
強く非特異的反応の出る傾向のある
ことが判明した。

3] 環境中ノロウイルス遺伝子の検出 と感染事例との相関性について

1) 材料

集団・散発発生から得られた 115
株臨床検体を用いた。その内訳は、
2002 年 10 月から 2005 年 5 月にか
けて、市内の集団発生例から得られた
RT-PCR 法陽性の 27 株、感染症発生
動向調査および小児科から得られた
臨床検体 88 株である。一方、環
境検体には 2002 年 10 月から 2005
年 5 月の期間に市内の河川 9 定点か
ら、ほぼ 2 ヶ月毎に採水した 135 検
体と下水処理場塩素処理前と処理
後の採取水 18 検体、合計 153 検体
を用いた。

2) 方法

集団・散発発生検体の NV Capsid
領域の塩基配列を決定し、系統樹解
析により遺伝子型を判定した。環境
検体は採取水を粗遠心後、上清
1, 000ml を HA フィルター (0.45 μ m)
でウイルスを吸着濾過後、2.0ml に
濃縮してサンプルとした。RNA 抽出
後、影山らの方法に従って、GI お
よび GII をリアルタイム PCR 法にて
測定し、河川水 1ml 当たりのコピー
数を算出した。また、NV Capsid 領
域を増幅し、TA クローニングベク
ターに挿入し、NV 遺伝子型別を行
った。

3) 結果と考察

(1) 2002 年 10 月から 2005 年 5 月
にかけて、堺市内の NV 感染は殆どが
GII 感染であった。多様な NV 遺伝子
型の関与が認められたが、集団、散
発生共に GII.4 の検出が多数を占め、
流行の主流であることが推測され
た (図. 6)。

(2) 河川水中 NV リアルタイム PCR の

測定値は、市内での NV 流行期とほぼ一致して変動がみられ、流行状況を反映していた(図. 7)。

(3) 2005 年 2 月の環境水のクローニング結果では、河川および下水からは同時期の臨床検体と同じ NV 遺伝子型が検出されていたが、それ以外の多様な遺伝子型も検出され、地域社会においては多様な NV の浸淫があったことが推測された(図. 8)。

以上の NV 遺伝子解析から、環境汚染と感染症には密接な関連性があることが示唆された。河川水中の NV 遺伝子解析は、上流での NV 感染の時期・規模、採水のタイミング、クローニングの効率など様々なバイアス要因が考えられるが、地域社会における感染状況を反映していると考えられる。

今後、これらの関連性をより把握するためには調査の継続・長期に亘る解析が必要である。

D: 考察

昨年度のみならず本年初頭においても、本邦の様々な病院内、特別養護老人ホームにおけるノロウイルス集団感染事例が報告され、死亡例の報告は後を絶たない。ノロウイルス感染は self-limited disease の急性感染症で回復率の高い感染症である事は周知しているが、それでも初期対応の遅れがこのような事態を招いているものと考えられる。

ノロウイルス集団感染事例で求められるのは、迅速な診断と感染初期対

応である。これが感染拡大の予防や重症化予防につながると考えられている。

昨年度に着手したノロウイルス迅速診断のひとつである IC kit は RT-PCR 法との一致率 67%、感度 71%、特異性 61%であった。この成績は、迅速診断方法の一つとして、厚生労働省から認可されたノロウイルス対外診断法の ELISA 法に比べてもその精度、とくに特異性は低い。

この点を改良することが、今年度の研究課題であったが、結果的には大きな成果は得られなかった。検出精度に影響する要因として、(1) 検体の採取時期、(2) 糞便中の非特異的反応物の除去もしくは抑制、そして(3) モノクローナル抗体の反応性が考えられる。(1)に関しては、今後各方面と連携して、出来るだけウイルス量の多い初期検体の搬入を心掛けなければならないだろう。(2)については、kit の構成成分に抗マウス IgG 抗体が固相されているため、ELISA 法に用いたように正常マウス血清を前処理として添加することは不能である。現在、BSA fraction V の添加・前処理による非特異反応に影響を検討している。(3)は昨年、新たにこれらと反応するモノクローナル抗体を作製しその反応性について検討した。#8、#14(NS14)、#20(NSFG20)、#28(NSFG28)、#55(NSFG55)、#120、#941 がその候補であったが、現時点では反応性の向上には繋がっていない。今後は、免疫血清などを用いる方法を検討しなければ

ばならない。IC kit の精度の向上が今後も大きな研究課題である。

河川水中のノロウイルス調査を今後も継続し、地域定着性の検討や感染拡大予測などのノロウイルス感染による健康危機管理に対策に寄与したいと考える。

E: 結 語

迅速かつ簡便なノロウイルス診断 IC キットの構築を昨年度に引き続き行った。現時点では RT-PCR 法との一致率は 68%、感度 75%、特異性 55%であった。昨年度に比し、一致率、感度ともに多少は上昇したが、特異性は低下した。今後の一層の改良を図る予定である。

F: 研究危機情報

なし

G: 研究業績

1. 論文発表

- (1) Kunio Kamata, Kuniko Shonozaki, Mineyuki Okada, Yoshiyuki Seto, Shinichi Kobayashi, Kenji Sakae, Mitsuaki Oseto, Katsuro Natori, Haruko Shirato-Horikoshi, Kazuhiko Katayama, Tomoyuki Tanaka, Naokazu Takeda and Koki Taniguchi. Expression and Antigenicity of Viral-Like Particles of Norovirus and Their Application for Detection of Noroviruses in Stool Samples. J. Med. Virol. 2005: 76:129-136
- (2) 田中智之 「ノロウイルス感染症の迅速診断」 臨床とウイルス 2005: 33 (3) ;126-130
- (3) Tracy Dewese Parker, Noritoshi Kitamoto, Tomoyuki Tanaka, Anne M. Hutson and Mary K. Estes. Identification of Genogroup I and Genogroup II Broadly Reactive Epitopes on the Norovirus Capsid. 2005: 79 (12), 7402-7409
- (4) Tatsuya Miyoshi, Kiyoko Uchino, Mitsuko Matsuo, Yoshiharu Ikeda, Hisayoshi Yoshida, Hisako Sibata, Fumitoshi Fujii, Tomoyuki Tanaka Laboratory and Epidemiology Communications : The Characteristics of Norovirus Outbreaks at Non-epidemic Season. 2006: JJID (under publishment)
- (5) 田中智之、三好龍也、内野聖子、武田直和。新興・再興感染症の感染制御の実際 ノロウイルス。治療学 2006. 40 (2), 79-82
- (6) Grant S. Hansman, Katsuro Natori, Haruko Shirato-Horikoshi, Satoko Ogawa, Tomoichiro Oka, Kazuhiko Katayama, Tomoyuki Tanaka, Tatsuya Miyoshi, Kenji Sakae, Shinichi Kobayashi,