

の発生件数が多く、3シーズンともほぼ同様の動向を示したが、2008/09シーズンは7月まで発生が続いた(図20)。集団事例発生施設では、高齢者施設、福祉養護施設での発生が多いが、高齢者施設では年々減少し、福祉養護施設では2008/09シーズンの発生が大幅に減少した(図21)。

愛媛県において、2007年から2009年の間に散发例からNVが242例(検出率23.9%)、サポウイルスが91例(9.0%)検出され、散发例におけるサポウイルスの関与が比較的高いことが明らかとなった。また、ウイルス性の食中毒等集団発生は23事例あり、NVによるものが22事例、サポウイルスが原因とされたものが1事例あった。集団発生例から検出された株と塩基配列がほぼ100%一致する株が、同時期に地域内で流行していたことから、地域社会でのノロウイルスやサポウイルスの流行が食中毒や胃腸炎集団発生と密接な関係を持っていることが明らかとなった。集団発生事例より、サポウイルスが検出された患者糞便1g中のウイルス量はノロウイルスと同様 $10^6 \sim 10^{10}$ であり、無症状の調理従事者でも 10^6 、 10^9 と大量に糞便中にウイルスが排泄されていることが明らかとなった。

千葉県において、2008年9月から2010年1月の急性胃腸炎集団発生157事例のうち、NVは113事例(79.5%)から検出された。2008/2009シーズンは、最近の数シーズンと同様GII/4が主要な遺伝子であるが、その割合は低下した。老人施設でもGII/4以外の遺伝子型がみられるようになり、小児施設でのGII/4の割合は以前より減少し、GII/6、GII/3、GII/2が多

く検出された。2009/2010シーズンは、12月中旬まで集団発生がなく1月になって急増した。NV事例数は少ないがそのほとんどがGII/4であった。GII/4 79事例の系統解析では(表9)、2008年9月～2009年8月の62事例では59事例が2006b、2008aが1事例、2008bが2事例であった。2009年9月～2010年1月の17事例では11事例は2006bであったが、6事例は2008aの昨シーズンの株Hokkido5/2008/JPから少し離れてクラスターを形成した。

広島県による調査で、ノロウイルス集団感染の原因となった遺伝子型(流行型)は経年変化を伴っており、特に、近年主流の遺伝子型GII.4は約2-3年間隔で新しい変異型に変化していた(図22)。変異が比較的少ないとされるN/Sドメインに有意なアミノ酸変化(アミノ酸残基6, 9, 15 および 45 番目)を伴う部分があった(表10)。また、年代順の特徴的な遺伝子変化はウイルス粒子の表面のP2ドメインを中心(特に、アミノ酸残基296-298, 393-395, 412-414 番目)に存在した(表11)。これらの部分をモニターすることで、新たなGII.4変異型の流行を簡易に検出することが可能になった。糞便中に排泄されるノロウイルス遺伝子量は遺伝子型による差異が認められ、遺伝子型GII.4は他の遺伝子型に比し糞便中への排泄量が多かった(図23)。

愛知県において、GI型ノロウイルスは下水検体から調査期間を通じて高頻度に検出されたが、胃腸炎患者からの検出頻度は低いウイルスであった。一方、GII型ノロウイルスは下水検体からヒトの流

行時期に一致して検出され、ノロウイルスの遺伝子型で検出状況に差異があることを明らかにした。サポウイルスは下水検体からヒトの流行時期とほぼ一致して検出された。

富山県の調査では、集団発生事例からは主にノロウイルス GII/4 が検出されたが、それ以外の多種の遺伝子型も検出される傾向を示した。下水流入水からは、通年で多種のノロウイルス GI 及び GII の遺伝子型が検出された。調理従事者及び介護従事者からはほとんどノロウイルス、サポウイルスは検出されなかった。2 ヶ月に亘って便にノロウイルスを排出した 1 例では、カプシド領域にアミノ酸置換を伴う遺伝子変異が生じ、経過中にその変異が多数を占めるに至ったことが認められた。ノロウイルス GI/2 のポリメラーゼ領域と GI/6 のカプシド領域を持つ既報の GI 組換え変異体と、ノロウイルス GII/7 のポリメラーゼ領域と GII/13 のカプシド領域を持つ新たな GII 組換え変異体が下水流入水から検出された。

岩手県の調査では、下水道の流入水からは、NV は年間を通じて検出され、感染性胃腸炎患者報告数の少ない時期にも NV が流入水から検出された。下水道、漁業集落排水では NV は安定して除去されていたが、一部の NV が除去されずに放流される場合があることがわかった。合併浄化槽では、NV の除去は安定せず、下水道、漁業集落排水に比較して除去率は低い傾向にあり、放流水中に多く排出される場合があった。下水道未整備地区

の中規模の合併浄化槽の放流水に NV が検出され始めると、間をおかずに垂下カキからも NV が検出された。このことから、垂下カキからの NV 検出が、カキ養殖海域の汚染開始の指標として役に立つと考えられた。

新潟県の調査で、Apeldoorn317/2007/NL に近縁な GII.4 新変異株が 2008 年 11 月から 2009 年 4 月に散発的に集団胃腸炎事例 6 件と小児胃腸炎患者 4 名から検出された。(2010 年に集団胃腸炎、小児胃腸炎患者各 1 例からも検出)。本変異株は、Apeldoorn317/2007/NL 株と同じクラスターに属した(図 24)、VP1 領域の P2 ドメインのアミノ酸を分析したところ、抗原エピトープと推測される部位のアミノ酸に変異が見られ、過去の流行株と異なっていた。2008-09 シーズンに検出された新変異株と 2009-10 シーズンに検出された新変異株は、エピトープの 1 つと推定される 394 番のアミノ酸が、アスパラギン酸からアスパラギンに変異していた(表 12)。

大阪市において 2008/09 シーズンの NV 事例は、GII.4 が最も多く(34 事例、55.7%)、次いで GII.6 が多かった(15 事例、24.6%)。GII.6 事例は、13 事例(86.7%)が保育園および小学校での発生で、すべてヒト-ヒト感染が疑われた(図 25)。過去 12 シーズンの GII.6 検出例は小児散発例 22 例、集団事例 31 事例(図 26)で、集団事例の 54.8%(17 事例)はカキを含む食品関連、ヒト-ヒト感染疑い事例は 3 事例(9.7%)のみであり、2008/09 シーズンとは異なっていた。1996/97~2008/09 シーズンに大阪府で検出された GII.6 型 NV 株について

系統樹解析の結果 (図 27)。2008/09 シーズンの検出 GII.6 の多くは、過去の GII.6 とは異なるクラスターを形成した。

堺市における図 28 に示した採取地点の下水中の NV 定量結果では、GI および GII ともに、感染性胃腸炎流行にはほぼ呼応して増加がみられた。NV 遺伝子コピー数は、GI よりも GII が高かった。2009 年の NV 遺伝子量は 2008 年に比べ減少傾向を示した (図 29)。2007 年 4 月から 2010 年 1 月にかけて臨床検体から計 8 種類 (図 30)、環境から計 14 種類の NV 遺伝子型が検出された (表 13)、同市で少なくとも、GI 6 種類、GII 8 種類、計 14 種類の NV の浸入・暴露が確認された。臨床検体の約半数から、環境検体からも広範囲且つ高頻度で GII/4 が検出された。環境水の NV 遺伝子の塩基配列解析では、同時期に集団発生から検出された NV 遺伝子と相同性の高いウイルスが検出された (図 31)。

宮城県で 2009 年 12 月に発生したカキが原因と推定される食中毒事例 2 事例の 6 グループについて各グループ 1~2 検体、合計 8 検体についてダイレクトシーケンスにより capsid 領域の塩基配列を決定した結果、7 検体で塩基配列が 100% 一致した。1 検体は塩基配列が決定できない部分があったが、系統樹解析では同一クラスターを形成した。

3-9 健康者からのノロウイルス検出状況

千葉県の調査で、528 検体中 1 検体 (平成 19 年 3 月) から NV 遺伝子が検出され、検出率は 0.2% であった。この NV 陽性者は、無症状で家族内に胃腸炎症状を有

する者も無く、1 ヶ月後は陰性となった。また、ウイルス量は 4×10^9 コピー/g で、遺伝子型は GII/2 であった。調査期間中の NV の流行は GII/4 が主体で、GII/2 は 11 月に小学校で 1 事例みられた。健康者の不顕性感染者が NV 流行期の 3 月に認められ、そのウイルス量は患者と変わらなかったことから、不顕性感染者が感染源になりうることが示唆された。

東京都で 2008 年 1 月採取の 24 施設中 5 施設 (20.8%)、197 名中 13 名 (6.6%) から NV が検出された。検出 NV 13 例中 12 例は GII.4 であった。調理従事者 16 名に陰性確認されるまで日数を調べた結果、平均 21.2 日であった。2007 年 4 月~2008 年 1 月に発生した胃腸炎集団事例 428 事例中 210 事例の 90% 以上は NV GII が関与し、高齢者施設、病院の事例ではそれぞれ 96%、83% が GII.4 であったのに対し、保育園、幼稚園、小学校の事例では GII.4 は 50% にとどまり、GII.4 以外の遺伝子型も比較的多く検出された。

3-10 嘔吐物等による感染の疫学的分析 3-10-1 嘔吐物中のノロウイルスの定量および遺伝子解析

長野県における調査では、嘔吐物 13 検体中のノロウイルス量は $5.59 \times 10^3 \sim 8.64 \times 10^5$ copies/ml、平均値は $10^{4.9}$ copies/ml、中央値は 1.04×10^5 copies/ml であった。度数分布で見ると、 10^5 オーダーが最も多く 7 検体 (53.8%) が含まれた (図 32)。嘔吐回数が調査された 10 名について、ノロウイルス量と嘔吐回数の関連性について検討した結果、嘔

吐物中のノロウイルス量の多い患者は嘔吐の回数が多い傾向が認められた(図 33)。

広島県における調査では、患者糞便は $\leq 10^4$ コピー/g が 1 検体 (4.3%), 10^{5-6} コピーが 3 検体(13.0%), 10^{7-8} コピーが 15 検体 (65.2%), 10^{9-10} コピーが 1 検体 (4.3%), $>10^{10}$ が 3 検体(13.0%)であり、 10^{7-8} コピーが最も多かった(図 34)。一方、嘔吐物は $\leq 10^4$ コピー/g が 4 検体(28.6%), 10^{5-6} コピーが 3 検体(21.4%), 10^{7-8} コピーが 6 検体(42.9%), 10^{9-10} コピーが 1 検体(7.1%)で、糞便と比較しノロウイルスコピー数は少ない傾向にあるが (Mann-Whitney U test, $p=0.049$), 糞便と同様に 10^{7-8} コピー/g が最も頻度が高かった。嘔吐物中のノロウイルスコピー数/g は最低でも 10^2 以上のコピー数で、事例別の嘔吐物中のノロウイルスコピー数には顕著な違いがなかった。

大阪市における調査で患者嘔吐物 46 検体 (NV 陽性 20 事例) のうち 10 事例 15 検体 (32.6%) から NV が検出された。嘔吐物中に含まれるウイルス遺伝子量は、 $1.9 \times 10^4 \sim 3.0 \times 10^8$ コピー数/g の範囲で認められ、遺伝子型間で特に差は認められなかった(表 14)。年齢別においても、特に差は認められなかった(表 15)。

新潟県の調査で、嘔吐後の患者うがいの液 14 検体中、嘔吐後 1 時間から 20 時間 50 分経過して採取された 5 検体から GII.4 型ノロウイルスが検出された。一人の患者のうがいの液中に含まれるウイルスの遺伝子の総量は、 $3.1 \times 10^3 \sim 1.1 \times 10^6$ コピーであった。陽性となった 5 人中 3 人は 76 歳以上の高齢者であった。

3-10-2 嘔吐物等の関与したノロウイルスの集団発生について

千葉県で発生した法事の食事後および知的障害者施設で発生した 2 事例は当初食中毒が疑われたが、それぞれ幼児、入所者が集団発生前に発症しており、トイレや廊下を汚染し感染が広がったこと原因と推定された。疫学調査では、集団発生前の発症者の有無が重要であることが示された。

杉並区における約 3 年間の乳幼児施設、小学校、高齢者施設における NV 集団感染 56 事例を統計学的に解析した結果、以下の結果を得た。① NV 事例数に対する嘔吐物関連事例の割合は高齢者施設、乳幼児施設で高く、それぞれ 50%、32%であった。② 感染経路として、嘔吐物飛散による直接的暴露と、嘔吐物の不適切な処理による汚染環境等からの間接的暴露が考えられた。③ 集団発生の継続期間は、嘔吐物事例と他の事例で違いは認められなかった。④ 嘔吐物事例は他の事例と比較し、発症率が高い傾向にあった。⑤ 高齢者施設における施設職員の発症率は他の施設と比較して高かった。

3-10-3 NV 集団感染発生後に施設環境に残存する NV の検出

嘔吐物等により汚染した施設環境に残存する NV を、高性能フィルター付掃除機で吸引したダストパック中の塵を検体として検査した結果、59 検体中 12 検体から NV が検出された。ウイルス検出率は施設の消毒・殺菌を繰り返すごとに減少した。

D. 考察

1. A型肝炎ウイルス

1-1 RT-RAMP法によるA型肝炎ウイルスの検出

RT-LAMP法は市販のリアルタイムPCR法と検出率は同程度であったが、定量値が高い傾向（特に、検体中の濃度が低濃度から中濃度の場合）にあった。検体により糞便中のインヒビターが、市販のリアルタイムPCR法に影響することがあることが一因と思われた。これらのことから、RT-LAMP法は検出感度に問題はないが、定量性に問題が残ると思われる。

2. E型肝炎ウイルス

2-1 細胞培養系の樹立

E型肝炎ウイルスが増殖できる培養細胞系を確立した。培養細胞の樹立によって、ウイルス増殖、複製のメカニズムの解明に新たな道が開かれる。又、これによってE型肝炎ウイルスの不活化条件、消毒薬の評価、ワクチン効果、さらに治療薬のスクリーニング等をin vitroで容易に検討することが可能になった。

2-2 E型肝炎ウイルスの不活化条件の検討

これまでにE型肝炎ウイルスが増殖する培養細胞系が樹立されていなかったため、E型肝炎ウイルスの安定性は十分に検討されてこなかった。本研究から得られたE型肝炎ウイルス安定性の情報はE型肝炎ウイルスによる感染症や食中毒防止対策の有力な科学根拠となる。現在、E型肝炎ウイルスには少なくとも四つの遺伝子型が存在し、遺伝子型により安定性が異なることから、E型肝炎ウイルスの不

活化条件を検討するときに遺伝子型を考慮する必要がある。

2-3 E型肝炎ウイルスの豚感染実験

愛知県のイノシシから検出された遺伝子型4 E型肝炎ウイルスの豚における感染性を検討した結果、接種後7日からE型肝炎ウイルス遺伝子が糞便ならびに血清から検出され、E型肝炎ウイルス抗体応答が確認され、解剖検査で多くの臓器からE型肝炎ウイルス遺伝子が検出された。これらの結果は以前に実施した遺伝子型3のE型肝炎ウイルスを用いた実験感染の成績とほぼ同様であったことから、豚は遺伝子型4のE型肝炎ウイルスに対しても高い感受性を有することが明らかとなった。当該ウイルス株は国立感染症研究所においてサルでの感染性が確認され、今回の接種材料は実験感染サルの糞便であり、このウイルス株においてイノシシ-サル-豚間で感染が容易に成立したことから、これら動物とヒト間での感染も起こり得ると考えられる。

2-4 豚、めん羊および牛のE型肝炎ウイルス抗体検査とウイルス遺伝子保有調査

これまでの報告と同様、豚でのE型肝炎ウイルスの主要な感染月齢は2-3ヶ月齢であるが、肥育末期の豚にE型肝炎ウイルス感染が起きている農場も存在することが明らかになった。さらに、同一農場においてもE型肝炎ウイルスの感染月齢は時期により異なる場合があることも明らかとなった。抗体検査により肥育末期にE型肝炎ウイルス感染が認められる農場において、E型肝炎ウイルス遺伝子は

肥育末期の糞便から検出されたが、血清からは全く検出されなかったことから、過去の報告と同様に市販の豚肉中に E 型肝炎ウイルスが含まれる危険性は低いと推測される。一方、糞便中から検出された E 型肝炎ウイルス遺伝子は肝臓で生成された胆汁由来と考えられ、このことは豚レバーから時に E 型肝炎ウイルス遺伝子が検出されたとする過去の成績を支持する。

母豚での E 型肝炎ウイルス抗体価は産歴が進むにつれて低下する傾向にはなく、抗体価の上昇がみられる個体も認められたことから、母豚において E 型肝炎ウイルスの再感染あるいは再暴露が繰り返しているかと推測される。

これまでめん羊から E 型肝炎ウイルスが検出されたとする報告は無いが、子羊を用いた実験感染では感染が成立してウイルス排泄があったと報告されている (Vopr Virusol. 1994 39:165-168)。今回、E 型肝炎ウイルスの国内感染と考えられるヒト症例は北海道に多いこと、北海道や東北の一部地域ではめん羊肉の消費量が非常に多いことに注目し、両者の関連を明らかにする目的でめん羊の E 型肝炎ウイルス感染調査を行った。その結果、めん羊において E 型肝炎ウイルス陽性検体は確認されなかった。一方、抗体検出 ELISA 法で高い OD 値を示す血清が認められたが、吸収試験で反応の特異性は確認されなかったことから ELISA 法で認められた反応は非特異反応と考えられた。以上の結果より、めん羊の E 型肝炎ウイルス感染は確認されず、めん羊由来畜産物の E 型肝炎ウイルス汚染リスクは無いあ

るいは低いと推測された。

牛の E 型肝炎ウイルス感染については抗体検査による成績が多数報告されている。しかし、抗体陽性率は様々で、牛が E 型肝炎ウイルス保有宿主であるか否かははっきりしていない。一方、豚は主要な E 型肝炎ウイルス保有宿主であり、多くの豚は 2-3 ヶ月齢までに E 型肝炎ウイルスに感染するので、牛が E 型肝炎ウイルスに感受性であれば、豚と牛と一緒に飼養している農場において牛の感染率は高くなる可能性がある。そこで豚舎と牛舎を同一敷地内に保有する農場で牛の E 型肝炎ウイルス感染状況を調査した結果、一部 ELISA 抗体価の高い血清が存在したが、吸収試験の結果からそれらの大多数は非特異反応であると考えられ、いずれの血清材料からも E 型肝炎ウイルス RNA は検出されなかった。これらのことから、牛は主要な E 型肝炎ウイルス保有宿主ではなく、牛由来畜産物の E 型肝炎ウイルス汚染リスクは無いあるいは極めて低いと推測される。

2-5 豚、めん羊、シカの E 型肝炎ウイルス抗体検査

熊本県のイノシシとシカの E 型肝炎ウイルス汚染調査の結果、シカは陰性であったが、イノシシは約 10% が陽性となった。イノシシ肉は生食を避け、十分加熱して喫食する必要がある。国内ではシカからの感染事例があり、ブタからも E 型肝炎ウイルス遺伝子が確認されていることから、今後、これらの動物の E 型肝炎ウイルス調査を継続する必要がある。E 型肝炎ウイルスの遺伝子型は G3 と G4 が半々で、

イノシシの捕獲地域によって特異性があった。今検討した 50%肝臓乳剤遠心上清から AGPC 法で E 型肝炎ウイルス-RNA を抽出し、ORF2 プライマーで Nested RT-PCR を行う検出法および制限酵素 *Hha* I による RFLP 解析で遺伝子型別は E 型肝炎ウイルスの検出・遺伝子型別に有用な方法と考えられた。

3. ノロウイルス、サポウイルス

3-1 食品等からのウイルス検出法の開発・改良

3-1-1 パンソルビン・トラップ法による食品からの検出

NV-抗体-パンソルビン複合体形成操作の簡便化、RNA 抽出法の工夫、逆転写反応時プライマーの検討などのプロトコール改良を重ねることで、回収効率だけでなく作業効率の向上も図った。また、食品の種類や汚染レベル、さらには濃縮対象とする NV の遺伝子型や抗血清(抗体)の種類など、さまざまな設定条件下での有効性を確認できた。本法の最大の特長として、食品乳剤を濁ったまま取り扱えるという点があげられる。このことは、濾過や遠心によるウイルス RNA の精製・抽出が困難であった練り物や油物等の食品であっても適用できることを意味している。さらに、特別な大型機器を用いずに 50mL 程度の食品乳剤から 50 μ L 程度の RNA 抽出液を得ることが可能で、所用時間は約 4 時間と見積られる。本研究ではノロウイルスに焦点を合わせた但、理論上は抗体を変更するだけでサポウイルスや A 型肝炎ウイルス等にも応用できるものと

考えられた。なお、反応に用いる抗体(抗血清、またはモノクローナル抗体)の安定供給体制確立が不可欠であるため今後の課題としたい。

3-1-2 表面汚染推定される食品からの検出法

食品からのウイルス回収率は食品の種類により異なり、また、回収率の高い試験液は食品の種類により異なったが、SDS-TG が最も安定した回収率を示した。マグロ赤身を含めた SDS-TG の平均回収率は約 94%であり、表面汚染が推定される食品からの回収(溶出)液として有用と考えられた。

3-1-3 掃除機内ダストからのノロウイルス検出法の検討とノロウイルス、サポウイルスの汚染実態調査

今回ダスト中のノロウイルス回収法を開発したことにより、嘔吐等で汚染された室内環境のノロウイルスによる汚染の程度を容易に把握することが可能となり、感染経路特定のためのツールとして非常に有用と考えられた。また、流行時期の一般家庭のダスト 51 検体のうち 2 検体からノロウイルスあるいはサポウイルスを検出し、その汚染量は 10⁶ コピー/g を超えるものも存在したことから、汚染ダストは重要な感染源になることが示唆された。ノロウイルスおよびサポウイルスを検出した家庭で継続調査を実施したところ、30 日以上 of 長期間にわたり、同一由来株によりダストが汚染されていたことから、適切な消毒等の必要性が再認識された。

3-2 ノロウイルスと血液型抗原との結合性の解析

ノロウイルスの血液型抗原への結合は体空き特異性と保存性を有することから、これを利用した検出系の開発が期待できる。

3-3 ノロウイルス、サポウイルスの抗原検出法の開発

3-3-1 ノロウイルス抗原検出法の開発と改良

食品を介するノロウイルスの感染の予防は、食材中のノロウイルスの不活化や食品の汚染防止対策など、食品中のウイルスを直接的に制御することが重要であるが、現状においては多くの困難性を伴う。特に、近年のノロウイルス食中毒は調理従事者からの2次汚染による事例が多発しており、ノロウイルス感染者を日常的に迅速に発見することが予防対策に繋がると考えられる。そのような観点から、迅速、簡便、安価なELISA法やIC法は有用性が高く応用範囲も広いと考えられ、その普及が望まれる。

3-3-2 サポウイルス抗原検出法開発を目指したウイルス様中空粒子の作成

サポウイルス VLPs とそれらに対するポリクローナル抗体を用いた検討により、構造タンパク質コード領域の配列を用いた系統樹解析で異なる genogroup, genotype に属するサポウイルス株は抗原性が異なることが示唆されたため、高精度なサポウイルス抗原検出系確立のため、網羅的なサポウイルス抗原パネル、抗体の作成の重要性が示唆された。

3-3-3 サポウイルス VLPs に対する単クローン抗体の作製とその解析

元来、サポウイルス-VLPs は NV-VLPs などに比較してその産生量が悪く抗体および抗原の解析が進まないのが現状である。今回、得られた多くの MAbs は株特異的であったが、GIV および GV に関しては抗原として1株のVLPしか用いていない。同グループのいくつかの株VLPsを用いて検討すれば、遺伝子群特異的な抗体が他にも存在する可能性がある。株特異性の抗体は、検出・診断としての利用は難しいが、抗原解析などに役立つことが期待される。今後、VLPs の数を増やし、多くの臨床材料を用いてこれらの抗体の有用性を検討する必要がある。また、得られたサポウイルス-MAbs の抗原的解析やエピトープマッピングを行うとともにサポウイルスの ELISA 法あるいはイムノクロマト法などによる検出系を構築し、流行疫学、早期発見および早期予防に寄与したい。

3-4GII/4 流行株の全ゲノム分析及び構造解析

3-4-1 ゲノム分析

本研究により世界で初めて世界的な大流行の原因となったGII/4 EU-2006b株の全ゲノム配列が明らかになった。この情報をもとに、単一起源の新型GII/4変異株(GII/4 EU-2006b株)が、2006年の間に、世界各地に急速に広がり、我が国でも、2006年の間に、GII/4 EU-2006b株が既に存在する他のGII/4変異株を凌駕して、急速に広がった実態が判明した。キャプシ

ド領域および他の領域に過去の流行株では観察されない特徴的变化が明らかになった。さらにGII/4 EU-2006b株は、1年のうちに、それぞれの地域に存在する多様なノロウイルス変異集団と置き換わり、2007-2009年までGII/4単系統群亜株は検出されているが、GII/4 EU-2006b株がいまだに流行を形成している主要な亜株であった。このことから、この株は、ヒトで効率的に広がるための性質を獲得した変異株と推測される。ゲノム情報の総合的な変化により、免疫逃避能力と高い感染・増殖能力をバランスよく獲得したウイルスが世界に広がると推察している。2007年以降出現している4種のGII/4単系統群は直近で流行した亜株同士でゲノム組換えを頻繁におこなっていることがわかった。全て推定ゲノム組換え点は、ORF2の前後に存在していた。効率的に抗原性と感染・増殖能を変化させ、ヒト集団で感染を持続する能力を維持している可能性が示唆される。

3-4-2 構造解析

世界的に大流行した2006bのキャプシド蛋白質において、2006/2007から2007/2008、2008/2009シーズンとなるに従い、P357、N412の検出頻度は減少していた。このことからP357、N412は抗体などの選択圧を受けていることが考えられる。P357、N412の位置をキャプシド蛋白質Pドメイン二量体でみると、これらの残基はキャプシド蛋白質Pドメイン二量体の外側のループに位置している。この位置は抗体などのアクセスが可能である位置であり、P357、N412がシーズンと

もに検出頻度が減少していることと一致する。

特徴的な残基がキャプシド蛋白質Pドメイン二量体の外側表面に位置していた。その数は、世界的に大流行した2006bや2004/05において最も多い。このことは、外側表面に位置する特徴的な残基が、抗原性や感染受容体との結合様式を調節している可能性を示唆する。特に、2006bのP357とE372は、2004/05(D357、D372)においても見られ、これらの残基が抗原性や感染受容体との結合様式の制御に中心的な役割を果たしていることが考えられる。

3-5 ノロウイルスの抗体保有調査

7株のウイルス様粒子に対する愛知県民の抗体保有状況を調査した結果、県民全体ではGII.4に対する保有率が最も高く、近年のGII.4株の流行を反映する結果が得られた。抗体保有率の推移と実際に流行したノロウイルスの遺伝子型との関連性を継続調査することにより、ノロウイルスの流行予測が可能になると考えられた。

3-6 食品のノロウイルス汚染実態調査

3-6-1 市販生食用カキのノロウイルス汚染実態調査

本研究で市販生食用カキのパック水にNVが存在することを明らかとなった。パック水は、開封時に調理場の広範囲を汚染することが推測され、取扱いに注意が必要であることが示唆された。カキ中腸腺から5種類の遺伝子型が検出されたことから、蓄積されるNVは多様で、二枚貝

を原因とする食中毒等では、感染源の追求にあたり、検査結果だけによる判断は避けるべきと考えられる。また、1検体から複数の遺伝子型を検出する方法の検討が必要と考えられる。

3-6-2 カキにおけるノロウイルスの量的分布と推移およびノロウイルス簡易検出法のカキへの応用

食品中の細菌などの微生物の分布と同様に、市販カキ 1 パック中のカキのノロウイルス量は対数正規分布であることが推定された。ノロウイルスの分布が特定できれば、その分布および事例の発症率などから、発症ウイルス量の推定も可能になると考えられるが、食中毒事例の例数を重ねた検証が必要となる。養殖場カキにおけるノロウイルスのピークはヒトでの発生のピークから若干遅れる傾向にあるが、ヒトのみならずカキにおけるノロウイルスの動態把握はノロウイルスのリスク制御に重要な要因で、ノロウイルス食中毒に対するリスク低減に大きく貢献すると考えられる。また、簡易法は短時間でノロウイルス遺伝子の検出が可能で、ノロウイルスモニタリングの 1 手法として有用であると考えられた。

3-6-2 カキからのノロウイルス検出法の改良とカキのノロウイルス、サポウイルス検出状況

アミラーゼ処理によるカキからのノロウイルス遺伝子抽出法は、効率的で有用な方法であると考えられる。

カキから胃腸炎事例で検出されたサポウイルス遺伝子と垂下カキと市販生食用カ

キから検出されたサポウイルス遺伝子を分子疫学的に解析した結果、一部の領域で 100%の相同性が確認されたことから、サポウイルスもノロウイルス同様にカキの汚染は、ヒト～環境～カキの経路で起きていると考えられる。また、サポウイルスの流行状況をモニタリングする手段として有効であると思われた。

3-7 ノロウイルス・サポウイルス等による食中毒事例の分析

3-7-1 ノロウイルス等の食中毒事例と検査法における問題点

冷凍アサリむき身(中国産)を原因食品とするサポウイルスとノロウイルスの混合事例において、サポウイルスでも二枚貝による食中毒が起こることを初めて遺伝子レベルで明らかにした。中腸腺の前処理としてアミラーゼ処理-細胞破碎法は簡便かつ有用であった。二枚貝からのウイルス検出において PCR 酵素の種類により検出効率に差が認められ、塩基配列パターン数は PCR 酵素の種類により異なり配列が一致しない場合があったことから、ノロウイルスやサポウイルスの検査をおこなう場合、これらの試薬の影響を考慮結果を解釈する必要がある。

3-7-2 ノロウイルスによる食中毒の発生要因に関する調査

今回の調査では、ノロウイルスによる食中毒の多くは不顕性感染の調理従事者による食品汚染が原因であったが、胃腸炎を発症しているにもかかわらず食品の取り扱いに従事し、その結果食中毒を引き起こしたと考えら

れた事例も認められた。また、同一調理施設内で複数の従事者からノロウイルスが検出されるケースが多く、調理施設においてノロウイルス感染の拡大が容易に起こることが示された。これらのデータを基に調理従事者への衛生指導を行うことにより、ノロウイルスによる食中毒の発生を抑制することが可能である。また、今回、5事例から得られた食品残品についてノロウイルスの検出を試みたが、カキ以外の食品からはノロウイルスは検出されず、原因食品の特定は困難であった。調理品については公定法による検出精度が低いと考えられ、高感度検出法の早期導入が求められる。

3-7-3 二枚貝の喫食のみられた食中毒事例からの胃腸炎ウイルスの検出

今回の調査により、中国産冷凍カキフライを加熱調理して食べた食中毒1事例において、ノロウイルスとアストロウイルスの混合感染が確認された。この結果により、原因疑い食品に二枚貝が含まれる食中毒事例では、アストロウイルスを始め、ノロウイルス以外の胃腸炎ウイルスの感染を考慮に入れる必要があることが示された。今回は二枚貝喫食事例においてアストロウイルス感染の知見が得られたが、今後は二枚貝の喫食のない食中毒や感染症事例も含め、集団胃腸炎事例におけるノロウイルス以外の胃腸炎ウイルスの関与について、引き続き調査を進める必要があると考えられた。

3-7-4 感染症事例と食中毒事例の判断

における NV 定量検査、遺伝子検査の適用

嘔吐物事例に限らず、NV 集団感染は、食中毒と感染症の両方の感染形態を示し、時には複合的な発生を起こすため、感染症か食中毒の判断は困難な場合が少なくない。今回の事例において、NV の定量および遺伝子検査は、食中毒か感染症かの判断に有用な情報となることが示唆された。その一方で、検査情報には限界があり、あくまで保健所の疫学的調査結果を科学的データとして補完するに過ぎず、疫学調査の重要性が変わるものではない。また、遺伝子解析結果をリアルタイムに行政に反映するためには、検査目的に応じた検査法の選択、保健所で NV のスクリーニング検査を行い、衛生研究所で遺伝子解析を行うなどの、検査体制の見直しも必要である。

3-7-5 サポウイルスの疫学解析

従来、サポウイルスは乳幼児の急性胃腸炎起因ウイルスと考えられていたが、本研究により実際にはあらゆる年齢層に感染し、急性胃腸炎を引き起こしていることが示された。また、散發および集団サポウイルス感染事例から、様々な genogroup, genotype に属する株が検出され、用いるプライマーセットによってサポウイルスの検出率に違いがあったことから、遺伝的に多様なサポウイルスを高精度で検出するためには、近年開発された核酸検出系の使用が重要であることも示された。2007 年には遺伝的に均一な genogroup IV に属するサポウイルス株が国内各地から検出されたが、その

後は、年ごとに異なる genogroup、genotype に属するサポウイルスが検出されているため、今後はノロウイルスやロタウイルスに加え、サポウイルスについても統一的な手法を用いた検査体制を整備する必要があると考えられる。

3-8 患者及び下水等からのノロウイルス・サポウイルス検出状況

青森県におけるノロウイルス集団事例は、9割以上が人→人感染の感染症事例と考えられ、高齢者施設、福祉養護施設での発生事例数が多い。GII/4 類似株は3シーズンとも流行の主流であり、感染力が強いと考えられることから、学校など他の施設でも発生を減少させるため、さらに感染防御の衛生知識の普及に努める必要がある。流行時期では、7月にもノロウイルス集団事例が発生し、季節を問わず発生する可能性が示唆された。

愛媛県で、期間中に最も多く検出されたノロウイルス GII/4 は、すべて EU2006b に属し、2007 年以降、愛媛県では、この型が GII/4 の主流流行タイプとなっていることが示唆された。また、2009 年1月から6月に GII/6 の地域流行が見られ、系統樹解析の結果遺伝子変異が流行の原因と考えられた。集団発生例由来株と塩基配列がほぼ 100%一致する株が、同時期に地域内で検出されたことから、地域の流行株が食中毒や胃腸炎集団発生と密接な関係を持っていることが明らかとなった。サポウイルスの糞便中の排泄量は、患者糞便 1g 中 $10^6 \sim 10^{10}$ 、無症状の調理従事者でも 10^6 、 10^9 であり、ノロウイルスと同

様、糞便中に大量のウイルスが排泄されていることが示された。本結果は食中毒防止の観点から食品取扱者への注意喚起及び指導に役立つと考えられる。

広島県の調査で、ノロウイルス集団感染事例に関与した遺伝子型には経年変化が認められ、ポピュレーションの免疫感受性の変化が推察された。特に、遺伝子型 GII.4 においては年代順の特徴的なアミノ酸変異が観察され、免疫回避のため遺伝子変化が起こっていることが推察される。これらの年代順の変化は抗原性、感染効率などに影響していると考えられ、GII.4 がノロウイルス感染症の主流の遺伝子型になっている 1つの原因であることを示唆している。また、遺伝子型 GII.4 は糞便中に排泄される遺伝子量が他の遺伝子型に比し多い傾向にあり、不顕性感染が他の遺伝子型に比し多い傾向にあることも報告されている。これらのことはウイルスの抗原変異と同時に、患者のみならず不顕性感染者が糞便中に大量のノロウイルスを排泄し、ノロウイルスを拡散させていることも GII.4 の流行に関係していると考えられる。

愛知県において GI 型ノロウイルスは下水検体から高頻度に検出されたが、散发性胃腸炎患者や集団発生事例からの検出頻度は低率であった。一方、GII 型ノロウイルスやサポウイルスは下水検体からヒトの流行時期に一致して検出され、ノロウイルスの遺伝子型やウイルス種の違いによる環境中での動態に差異があることが明らかとなった。この結果から、GI 型は多くのヒトに感染するが、病原性が低いために不顕性感染で経過する例が多

いと推察された。しかし、ノロウイルスやサポウイルスの病原性を比較検討する方法がないので、病原性の強弱については現時点では不明である。

富山県の調査では、下水流入水から集団発生事例で検出されるノロウイルス遺伝子型 GII/4 以外の多種の遺伝子型が検出され、また、集団発生事例では検出されなかったサポウイルスも検出されたことから、地域には多くは不顕性でノロウイルスやサポウイルスが浸淫していると考えられた。健常児から、ノロウイルス GII/4 以外の遺伝子型が多く検出されたこともこのことを支持する。一方、便にノロウイルスが長期排出される間に、遺伝子に変異し変異体が多数を占めるに至った例が存在することを明らかにし、さらに、下水流入水から、ノロウイルスのポリメラーゼとカプシド遺伝子領域間での新たな組換え変異体を検出したことから、ノロウイルスは地域において遺伝子を変化させていることが明らかになった。

岩手県の調査の結果、ノロウイルスは、下水道、漁業集落排水では安定して除去されているが、合併浄化槽では除去率は不安定で、下水道、漁業集落排水に比較して低いことがわかった。しかし、いずれの污水处理施設でも除去されなかった一部のノロウイルスが放流される場合があり、河川、海域のノロウイルス汚染の汚染源であることが示唆された。污水处理施設の放流水からノロウイルスが検出され始めると、垂下カキからも検出されることから、垂下カキからのノロウイルス検出が、カキ養殖海域の汚染開始の指標として役に立つと考えられた。

上流地域全体の感染性胃腸炎の流行状況やノロウイルス流行株の把握を目的としたモニタリングの対象施設としては、処理対象人数が多く、年間を通してノロウイルスが検出される下水道処理施設が適すると考えられた。

新潟県で、2007年12月にオランダで発見された GII.4 新変異株 Apeldoorn317/2007/NL に近縁なノロウイルスによる食中毒と胃腸炎の集団発生事例が、2シーズンにわたり確認された。2008-09 シーズンにおける検出数は少なく、大流行には至っていない。本村らの調査では、複数の県でこの新変異株が確認されており、GII.4 2008a と命名された。新変異株の P2 領域のエピトープと推測される部位のアミノ酸変異の状況から、過去に大流行した GII.4 2006b とは抗原性が異なり、今後の流行動向が注目される。

大阪市で、2008/09 シーズンにこれまでの検出株とは遺伝的に異なる GII.6 の流行を確認した。本株は 2008 年 12 月頃に大阪市に出現して、食品を介さずに子どもを中心にヒトからヒトへの直接感染によって、次第に拡大していったものと推測された。また、同時期に大阪市以外の地域でも、本株が検出されており、さらに大きな流行を起こしていたことが示唆された。本株の実際の流行規模や拡大状況を明らかにするためには他地域での流行実態も調べ、あわせて解析する必要がある。

堺市の過去 4 年間の下水の調査で、同時期に集団発生から検出されたノロウイルス遺伝子と相同性の高いノロウイルスが検出され、下水等の環境から検出され

る株と患者から検出される株には関連性のあることが示唆された。環境検体からの検出は気象や採水のタイミングなどが変動要因として考えられるが、患者由来のノロウイルス流行状況を補足し得る結果が得られた。

宮崎県で2009年12月に発生した2つの食中毒事例で原因食品と推定されたカキの産地は同一県であった。患者から検出されたノロウイルスの遺伝子解析の結果より、同じ海域のカキであることは考えられた。カキの産地のノロウイルスの遺伝子解析のデータと比較することが可能であれば、より詳しい検討ができると考えられ、遺伝子解析のデータベース構築の必要性があると考えられる。

3-9 健康者からのノロウイルス検出状況

千葉県における、健康人からのノロウイルス検出率は0.2%で、これまでの報告(1-3%)に比べると低かったが、同じ対象者を毎月調査したため通常より衛生意識が高められていたことが要因の一つと推測された。ノロウイルス陽性者のウイルス量は 4×10^9 コピー/gであり、これは患者のウイルス量と変わらないものであった。このことから、症状を示さないウイルス排泄者が、食品を汚染したり、直接人から人へ感染を広めることにより、集団発生を引き起こす可能性が示唆された。食中毒予防のため、調理従事者への衛生指導の徹底が重要と考える。

高齢者施設等の集団感染の発生要因として不顕性感染者の関与の可能性を調べ

るために、東京都の胃腸炎集団発生の起因ウイルスの検索と高齢者施設の健康調理従事者を対象としたノロウイルス検索を行い、検出ノロウイルスの遺伝子型を比較した。その結果、高齢者施設、病院の集団発生から多く検出されたGII.4が健康調理従事者からも検出され、かつ両者から検出されたGII.4は同じクラスターに分類されたことから、これらの施設にノロウイルスが持ち込まれる要因のひとつとして不顕性感染の調理従事者が関与している可能性が示唆された。

東京都で調理者由来株と高齢者施設における集団事例由来株は同じクラスターに分類されたことから、施設にノロウイルスが持ち込まれる原因の一端として、調理従事者が関連している可能性が示唆された。ノロウイルス陽性となった調理者の陰性確認は平均21.2日を必要とし、就業制限が長期化することにより調理現場、保育園・小学校等の教育関連、病院・高齢者施設等の医療・介護現場での対応を困難にしている。

3-10 嘔吐物等による感染の疫学的分析

3-10-1 嘔吐物中のノロウイルスの定量および遺伝子解析

長野県の調査では、嘔吐物中のノロウイルス量は $5.59 \times 10^3 \sim 8.64 \times 10^5$ copies/mlであった。嘔吐物中のノロウイルス量と患者の嘔吐回数にノロウイルス量の多い患者は嘔吐の回数が多い傾向にあったことから、さらに検討する必要があると思われた。

広島県における調査では、ノロウイルス患者嘔吐物中に排泄されるノロウイル

量は患者糞便に比較して少ないものの、 10^2 コピー以上/g で、糞便と同様に 10^{7-8} コピー/g の頻度が最も高かった。

大阪市の調査では年齢や遺伝子型 (GI 1 種類、GII 2 種類) によって嘔吐物中に排出されるウイルス量に差は認められなかったが、得られた検体数が少ないため、今後もデータを蓄積していく必要があると考えられた。

新潟県の調査で、嘔吐後の患者の口腔内に、感染可能な量のノロウイルスが残存することが示され、嘔吐後の患者から飛沫感染するリスクがあることが明らかになった。嘔吐時の環境の消毒とともに、嘔吐後に口をすすぐことや患者及び介護者等のマスクの着用等患者の口腔内の残存するノロウイルスからの感染防止対策が必要であると考えられた。

ノロウイルスの感染・発症ウイルス量は10-100個程度であると推定されていることから、嘔吐物中に排泄されるノロウイルス量は多くのヒトを感染させるに十分なウイルス量であることが示された。嘔吐は発症初期に認められることや時・場所を選びにくいこと、嘔吐時に内容物が飛沫状態になりやすいことなどの特徴を持ち、不適切な嘔吐物の処理により感染が拡大した事例の報告が見られることから、糞便と同様に、塩素消毒する等の嘔吐物の適切な処理が重要であることが示唆された。

3-10-2 嘔吐物等の関与したノロウイルスの集団発生について

千葉県における 2 事例は、一峰性の患

者発生を示し食中毒などの一斉暴露が考えられ、患者と調理従事者の遺伝子型は同じ GII/4 であり、事例 2 は塩基配列も一致した。しかし、2 事例とも集団発生の前に発症者が存在した。事例 1 は、幼児の嘔吐物による感染と推定され、事例 2 は、食事の時間に男性が発症しトイレを汚し、食事後に多くの人がトイレを使用したため感染が広がったと推定された。また、同じ日に初詣にバスでかけたことも感染の広がる要因と考えられた。

杉並区で約 3 年間の間に発生した乳幼児施設、小学校、高齢者施設におけるノロウイルス集団感染 56 事例を統計学的に解析した結果、特に、高齢者施設や乳幼児施設で嘔吐物が感染源として大きく関与していることが明らかになった。これらの施設での嘔吐物による感染防止対策の徹底が重要であると考えられる。

3-10-3 ノロウイルス集団感染発生後に施設環境に残存するノロウイルスの検出

嘔吐物により汚染された施設環境に残存するノロウイルスの検出を目的として、高性能フィルター付掃除機で集めたダストパック中の塵を対象として検査を実施した結果、ノロウイルスを検出することができた。また、検出率は消毒清掃を繰り返すことにより減少したことから、本法が消毒効果を含め環境に残存するノロウイルスの確認法として有用と考えられた。一方、畳やマットなどノロウイルスが残存しやすい環境には、集団事例に関連しないノロウイルスが存在する可能性があり、遺伝子解析により集団事例由来株との同一性を確認する必要がある。また、掃除機で環境中のノロウイルスを集

めるためには、ノロウイルスが拡散しない高性能フィルター付きの掃除機を使用する必要がある。

E. 結論

- RT-LAMP は、定量性に問題が残るものの、フィールドの迅速検査に有用である。
- 遺伝子型 4 の E 型肝炎ウイルスは豚で感染性を有する。
- 豚での E 型肝炎ウイルスの主要な感染月齢は 2-3 ヶ月齢であるが、肥育末期の豚に E 型肝炎ウイルス感染が起きている農場が存在する。
- 市販の豚肉中に E 型肝炎ウイルスが含まれる危険性は低いと考えられる。
- 母豚において E 型肝炎ウイルスの再感染あるいは再暴露が時におきている。
- めん羊および牛は E 型肝炎ウイルスの主要な保有宿主ではない。
- イノシシの 10% から E 型肝炎ウイルスを検出したが、シカからは検出されなかった。肝臓等からの感度のよい検出法および簡便な遺伝子型別法を確立した。
- 多種多様な食品からノロウイルスを迅速簡便に検出できるパンソルピントラップ法を開発した。今後抗血清の安定供給への対応が課題である。
- アミラーゼ処理はカキからのノロウイルス検出に有用である。
- 表面汚染が推定される食品からのウイルスの検出には SDS-トリスグリシン緩衝液が有効であった。
- SDS-TG を用いたダストからの簡便なノロウイルスを回収する方法を開発した。一般家庭のダストのノロウイルス、サポウイルスの汚染率は 2% 程度で、長期間ダスト中にウイルスが残存した。
- ノロウイルスは ABO 抗原、Lewis 抗原のタイプ 1、2 の構造の違いを認識する。
- 複数のサポウイルス VLPs の作成に成功した。
- 免疫学的診断法はノロウイルスの迅速診断に有用である。
- サポウイルスに対する株特異的、遺伝子群特異的、また、すべての遺伝子群に反応するモノクローナル抗体を得た。今後、免疫学的診断法の開発が期待できる。
- 2009 年 5 月から 2009 年 2 月に国内で検出された GII/4199 株の全塩基配列を決定した。2006/07 流行期のノロウイルス大流行は EU2006b 変異株の出現が大きな要因である。GII/4 は高頻度に遺伝子組換えと起こしていた。
- 世界的に大流行した 2006b 変異株や 2004/05 変異株はキャプシド蛋白質 P ドメイン二量体の外側表面に多くの変異を生じていた。
- 一般住民におけるノロウイルスの抗体保有率は GII/4 が最も高かった。
- 市販パック中に含まれるカキ中のノロウイルス量は対数正規分布する。
- 養殖場（沿岸部）カキにおけるノロウイルスのピークは 12~1 月である。
- ノロウイルスによる食中毒の発生防止には、①ノロウイルスの顕性感染と不顕性感染の認識、②調理施

設内でのノロウイルスの拡大防止を、調理従事者に周知徹底することが重要である。

- カキ関連食中毒1事例において、ノロウイルスとアストロウイルスの混合感染が確認された。今後ノロウイルス以外の胃腸炎ウイルスの関与についての調査が必要である。
- ノロウイルスの定量および遺伝子解析は、感染症か食中毒かの判断時に保健所の疫学調査結果を補完することにおいて有用性が認められた。
- アミラーゼ処理はカキからのノロウイルス遺伝子抽出法に有用である。
- カキの調査はサポウイルスの流行状況のモニタリング法として有効である。
- サポウイルスによる急性胃腸炎が従来考えられていた以上に発生し、加熱不十分な食用具によるサポウイルスの集団食中毒事例を確認した。
- ノロウイルス流行株の遺伝子型に経年変化が観察され、特に、GII.4には年代順の特徴的なアミノ酸変異が認められた。
- 遺伝子型 GII.4 は糞便中への排泄量が他の遺伝子型に比し多い傾向にあった。
- ノロウイルスの除去は、下水道、集落排水では安定し、合併浄化槽では不安定であった。河口部の垂下カキは、カキ養殖海域のノロウイルス汚染開始の指標として利用可能である。
- Apeldoorn317/2007/NL に近縁な GII.4 新変異株(2008a)を検出した。
- GII/6 の新たな変異株の流行を捉えた。
- 下水の調査はノロウイルス感染症の全体像を把握する上で重要である。
- 千葉県において公的施設13施設の調理従事者約47名から月1回1年間提出された糞便検体528検体のノロウイルス検出率は0.2%であった。
- 東京都で2008年1月に実施した、高齢者施設の調理従事者のノロウイルス陽性者は197名中13名(6.6%)であった。
- 調理従事者16名の糞便中のノロウイルスの陰性が確認されるまでの平均日数は21.2日であった。
- 患者嘔吐物中にはヒトの発症に十分な量のノロウイルスが排泄されており、糞便のみならず嘔吐物も集団発生の重要な感染源になり得ることが示唆された。
- 嘔吐後の患者の口腔内には感染可能な量のノロウイルスが残存し、嘔吐後の患者からの飛沫感染のリスクがあることが示唆された。
- 嘔吐物中のノロウイルス量の多い患者ほど、嘔吐の回数が多い傾向にあった。
- 一峰性の患者発生および患者、調理従事者からのノロウイルス GII/4 の検出から食中毒が疑われたが、集団発生の前に発症者が存在し、便や嘔吐物等により環境中を汚染したことが原因と推定された事例を経験した。
- 嘔吐物関連事例は高齢者施設、乳幼児施設の発生頻度が高く、高齢者施設は施設職員の発症率が高い傾向にあった。

- 高性能フィルター付掃除機で吸引したダストパック中の塵から、嘔吐物等により汚染した施設環境に残存するノロウイルスを検出した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Mamoru Noda, Shinji Fukuda, Osamu Nishio, Statistical analysis of attack rate in norovirus foodborne outbreaks Int J Food Microbiol 122, 216-220 (2008)

Shinkawa N, Noda M, Yoshizumi S, Tokutake Y, Shiraishi T, Arita-Nishida T, Nishio O, Oka T, Hansman GS, Takeda N, Kimura H. Molecular epidemiology of noroviruses detected in food handler-associated outbreaks of gastroenteritis in Japan. Intervirology. 2008;51(6):422-6.

Nakagawa-Okamoto R, Arita-Nishida T, Toda S, Kato H, Iwata H, Akiyama M, Nishio O, Kimura H, Noda M, Takeda N, Oka T. Detection of multiple sapovirus genotypes and genogroups in oyster-associated outbreaks. Jpn J Infect Dis. 2009 ;62(1):63-6.

Tanaka T, Kitamoto N, Jiang X and Estes MK. High efficiency

cross-reactive monoclonal antibody production by oral immunization with recombinant Norwalk virus-like particles. Microbiol. Immunol. 50(11): 883-888, 2006

Shantanu Kumar, Wendy Ochoa, Shinichi Kobayashi, Vijay S. Reddy, Presence of a surface-exposed loop facilitates trypsinization of particles of Sinsiro virus, a genogroup II.3 norovirus. J Virol 81: 1119-1128 (2007).

Shinichi Kobayashi, Noriko Fujiwara, Naokazu Takeda and Hiroko Minagawa, Seroepidemiological study of Norovirus infection in Aichi Prefecture, Japan. Microbiol Immunol 53:356-359 (2009).

Grant S. Hansman, Hiroyuki Saito, Chihiro Shibata, Shizuko Ishizuka, Mitsuaki Oseto, Tomoichiro Oka, Naokazu Takeda. Outbreak of gastroenteritis due to sapovirus. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 45, 1347-1349, 2007.

Motomura, K., Chen, J., and Hu, W.-H. ; Genetic recombination between human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and HIV-2, two distinct human lentiviruses. J. Virol. 82 :1923-1933, 2008

Motomura, K., Oka T, Yokoyama M, Nakamura H, Mori H, Ode H, Hansman GS,

- Katayama K, Kanda T, Tanaka T, Takeda N, Sato H; and the Norovirus Surveillance Group of Japan. ; Identification of monomorphic and divergent haplotypes in the 2006-2007 norovirus GII/4 epidemic population by genomewide tracing of evolutionary history. *Journal of Virology*. 2008 Nov;82(22):11247-62
- Motomura K. "Analysis of genetic recombination between human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and HIV-2" *Jpn. J. Infectious Disease*. 2009 Mar;83(2):81-93.
- Sahbandar IN, Takahashi K, Djoerban Z, Firmansyah I, Naganawa S, Motomura K, Sato H, Kitamura K, Pohan HT, Sato S. "Current HIV type 1 molecular epidemiology profile and identification of unique recombinant forms in Jakarta, Indonesia." *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009 Jul;25(7):637-46.
- Matsuura Y, Suzuki M, Yoshimatsu K, Arikawa J, Takashima I, Yokoyama M, Igota H, Yamauchi K, Ishida S, Fukui D, Bando G, Kosuge M, Tsunemitsu H, Koshimoto C, Sakae K, Chikahira M, Ogawa S, Miyamura T, Takeda N, Li TC, 2007. Prevalence of antibody to hepatitis E virus among wild sika deer, *Cervus nippon*, in Japan. *Arch Virol* 152: 1375-81.
- Li TC, Miyamura T, Takeda N, 2007. Detection of hepatitis e virus RNA from the bivalve yamato-shijimi (*corbicula japonica*) in Japan. *Am J Trop Med Hyg* 76: 170-2
- Mochizuki M, Ouchi A, Kawakami K, Ishida T, Li TC, Takeda N, Ikeda H, Tsunemitsu H, 2006. Epidemiological study of hepatitis E virus infection of dogs and cats in Japan. *Vet Rec* 159: 853-4.
- Hiroshi Yamamoto, Li TC,, Chihiro Koshimoto , Kaoru Itoh, Nobumoto Miyashita, Jiro Arikawa, Kenichi Yagami, Masahide Asano, Hideo Tezuka, Noboru Suzuki, Tsutomu Kurosawa, Tosiuyuki Shibahara, Masato Furuya, Shiro Mori, Hiroshi Satoh, Kazuki Ohsawa, Kentaru Ibuki, Sung-IL Lee, Masakazu Kita, Naokazu Takeda. Serological Evidence for Hepatitis E Virus Infection in Laboratory Monkeys and Pigs in Japan. 2008. *Exp. Animals*. In press
- Wang CY, Miyazaki N, Yamashita T, Higashiura A, Nakagawa A, T-C Li, Takeda N, Xing L, Hjalmarsson E, Friberg C, Liou DM, Sung YJ, Tsukihara T, Matsuura Y, Miyamura T, Cheng RH. Crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of recombinant hepatitis E virus-like particle. *Acta*

Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun. 2008 Apr 1;64(Pt 4):318-22.

Yamamoto H, Li TC, Koshimoto C, Ito K, Kita M, Miyashita N, Arikawa J, Yagami K, Asano M, Tezuka H, Suzuki N, Kurosawa T, Shibahara T, Furuya M, Mohri S, Sato H, Ohsawa K, Ibuki K, Takeda N. Serological evidence for hepatitis e virus infection in laboratory monkeys and pigs in animal facilities in Japan. *Exp Anim*. 2008 Jul;57(4):367-76.

Gran S, Hansman, Tmoichiro Oka, T-C Li, Osamu Nishio, Mamoru Noda, and Naokazu Takeda. Detection of Human Enteric Viruses in Japanese Clams. *Journal of Food Protection*. 2008 Aug; 71(8): 1689-95.

T-C Li, Yuriko Suzaki, Yasushi Ami, Hiroshi Tsunemitsu Tatsuo Miyamura, and Naokazu Takeda. Mice are not susceptible to hepatitis E virus infection The *Journal of Veterinary Medical Science* . 2008. Dec;70(12):1359-62.

Liu LJ, Suzuki T, Tsunemitsu H, Kataoka M, Ngata N, Takeda N, Wakita T, Miyamura T, Li TC. Efficient production of type 2 porcine circovirus-like particles by a recombinant baculovirus. *Arch Virol*. Nov 9, 2008.

Sugitani M, Tamura A, Shimizu YK,

Sheikh A, Kinukawa N, Shimizu K, Moriyama M, Komiyama K, Li TC, Takeda N, Arakawa Y, Suzuki K, Ishaque SM, Roy PK, Raihan A, Hasan M. Detection of hepatitis E virus RNA and genotype in Bangladesh. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008 Dec 1.

Yamashita T, Mori Y, Miyazaki N, Cheng RH, Yoshimura M, Unno H, Shima R, Moriishi K, Tsukihara T, Li TC, Takeda N, Miyamura T, Matsuura Y. Biological and immunological characteristics of hepatitis E virus-like particles based on the crystal structure. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Aug 4;106(31):12986-91.

Sugitani M, Tamura A, Shimizu YK, Sheikh A, Kinukawa N, Shimizu K, Moriyama M, Komiyama K, Li TC, Takeda N, Arakawa Y, Suzuki K, Ishaque SM, Roy PK, Raihan A, Hasan M. Detection of hepatitis E virus RNA and genotype in Bangladesh. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Apr;24(4):599-604.

Sugitani M, Sheikh A, Suzuki K, Kinukawa N, Moriyama M, Arakawa Y, Komiyama K, Li TC, Takeda N, Ishaque SM, Roy PK, Raihan AS, Hasan M. Sero-epidemiology of sporadic acute hepatitis in Bangladesh: high prevalences of infection with type-B, type-E and multiple types of hepatitis virus. *Ann Trop Med Parasitol*. 2009