

201028055A

厚生労働科学研究費補助金  
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

「ノロウイルス、サポウイルス感染症制御方法開発のためのウイルス増殖系の構築」

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者 岡 智一郎

平成23年(2011)年 3月

厚生労働科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

「ノロウイルス、サポウイルス感染症制御方法開発のための  
ウイルス増殖系の構築」

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者 岡 智一郎

平成23年(2011)年 3月

## 目次

I. 総括研究報告	
「ノロウイルス、サポウイルス感染症制御方法開発のための ウイルス増殖系の構築」	
岡 智一郎	…1-6
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	… 7-10
III. 研究成果の刊行物・別刷	… 11-24

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
総括研究報告書

「ノロウイルス、サポウイルス感染症制御方法開発のための  
ウイルス増殖系の構築」

研究代表者 岡 智一郎 国立感染症研究所 ウイルス第2部 主任研究官

### 研究要旨

ノロウイルス、サポウイルスは急性胃腸炎の原因ウイルスとして、その感染制御方法の確立が切望されている。しかし、現時点ではヒト由来のノロウイルス、サポウイルスの増殖細胞やモデル動物は見いだされていない。そのため、これらのウイルスの不活化条件の検討、感染増殖メカニズムの解明は困難な状況にある。本研究ではヒト由来ノロウイルス、サポウイルスを増殖させることが可能な培養細胞の検索を目的として、市販培養細胞株25種類についてウイルスの増殖を試みた。

#### A. 研究目的

急性胃腸炎の原因であるノロウイルス、サポウイルスは大規模な集団感染や食中毒を引き起こすため、公衆衛生上重要なウイルスとして、その感染制御方法の確立が切望されている。

これらのウイルスは微量で感染が成立すると考えられている。しかし、現時点ではヒト由来のノロウイルス、サポウイルスの増殖細胞やモデル動物は見いだされていない。これらのウイルスが増殖可能な培養細胞を同定することが出来ればノロウイルス、サポウイルス感染症の制御方法の確立、お

よび、さらなる高感度検出に向けて大きく研究が加速する。

近年になり、動物由来のノロウイルスのうち、マウスノロウイルスについては、マクロファージ、樹状細胞、グリア細胞での増殖が報告されている。また、動物由来のサポウイルスのうち、ブタサポウイルスの一部の株では、ブタ腎臓由来細胞での増殖も報告されている。

ノロウイルス、サポウイルスの感染、増殖部位は小腸と考えられているが、培養増殖が可能となった動物由来のノロウイルス、サポウイルスはいずれ

も腸由来以外の培養細胞で増殖系が確立されている。

そこで本研究では、市販品として入手可能な培養細胞から、主にヒト由来の様々な組織由来の培養細胞株を選択し、ヒト糞便由来ノロウイルス、サポウイルスの増殖能を検討することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. ウイルス陽性糞便材料

ノロウイルス陽性糞便 17 検体 ( $3.0 \times 10^5 \sim 8.6 \times 10^{10}$  copies/ g stool)、サポウイルス陽性糞便 3 検体 ( $5.1 \times 10^6 \sim 1.6 \times 10^8$  copies/ g stool)について、乳剤（水溶液）を作成し、0.45 $\mu$ M フィルター、さらに0.22 $\mu$ M フィルターで濾過した後、4°Cに保存した。

### 2. 培養細胞

市販培養細胞 25 種類について、ノロウイルス、サポウイルスの増殖能を検討した。RAJI (B リンパ球)、U937 (B リンパ球)、THP-1 (単球)はヒューマンサイエンス研究資源バンクより購入し、推奨条件で培養した。COLO720L (B リンパ球)、F-36P (骨髄)、U937 (CD59+) (マクロファージ)、JM (T リンパ球)、Jurkat E.6.1 (T リンパ球)、JVM2(前リンパ球)、JVM13 (前リンパ球)、My-La CD8+

(T リンパ球)、BHL-89 (リンパ芽球)、SHP-77 (肺小胞)、OE19 (食道)、HGC-27 (胃)、BxPC-3 (膵臓)、LS180 (結腸)、DBTRG.05MG(グリア)、T98G (グリア)、U87-MG (グリア,アストロ)、CCF-STTG1 (アストロ)、1321N (アストロ)、MOG-G-CCM (アストロ)、RK13 (ウサギ腎)は DS ファーマ株式会社より購入し、推奨条件で培養した。さらに、正常ヒト小腸細胞を DS ファーマより購入し、専用培地で培養した。

### 3. ウイルスの培養細胞への添加

フィルター濾過した糞便乳剤 200 $\mu$ L を培養細胞へ添加 (培地の 1/10 量)し、3~4 日間培養後、培養上清 200 $\mu$ L を新たな培養細胞へ添加 (培地の 1/10 量)し、~6 日間培養した。回収した培養上清は-80°Cで保存した。

### 4. ウイルス核酸の精製および cDNA の合成

糞便乳剤 140 $\mu$ L から Viral RNA mini kit (QIAGEN)を用いてキットのマニュアルに従って、ウイルス核酸を抽出した。また培養上清 50 $\mu$ L から MagMax<sup>TM</sup>-96 Viral RNA Isolation Kit (Ambion 社)を用いて、ウイルス RNA を抽出した。その後、High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied

Biosystems)を用いて cDNA を合成し、リアルタイム PCR 反応の鋳型とした。

#### 5. ノロウイルス、サポウイルス核酸の定量検出

ノロウイルス、サポウイルス核酸はリアルタイム RT-PCR 法 (Kageyama et al., J Clin. Microbiol. 41: 1548-1557., 2003, Oka et al., J. Med. Virol. 78:1347-1353., 2006) を用いた。

#### (倫理面への配慮)

本研究では、特定の研究対象者は存在せず、市販培養細胞のみを使用したため、倫理面への配慮は不要である。

#### C. 研究結果

培養細胞 25 種類を用いてノロウイルス、サポウイルス増殖の検討を行った。ウイルス陽性糞便を添加した後、さらに 1 回 passage した培養細胞の上清について核酸定量法でウイルス増殖の有無を検討したところ、いずれの細胞でも添加ウイルス核酸量と比較して、ウイルス核酸量が増加した細胞は認められなかった。また、壊死を示す細胞も認められなかった。

#### D. 考察

ノロウイルス、サポウイルスはヒト

体内で短時間に爆発的に増殖するが、いまだに培養細胞やモデル動物によるウイルス増殖系が確立されていない。

本研究では様々なヒト組織由来の細胞を用いたてノロウイルス、サポウイルスの増殖を試みたが、ウイルスの増殖は認められなかった。

本研究実施中にヒト末梢血由来のマクロファージ、樹状細胞でのヒト由来ノロウイルスの増殖検討結果が報告されたが、これらの細胞でもヒト由来ノロウイルスの増殖には成功していない (Lay MK et al., Virology. 406: 1-11., 2010)。

ノロウイルス、サポウイルス感染症は急性胃腸炎の主要な原因ウイルスとして現在も世界中で猛威をふるっている。培養細胞でのウイルス増殖系の確立は、これらのウイルスの詳細な不活化条件の検討のみならず、ウイルス感染、増殖メカニズムの解析、ウイルス増殖阻害物質の検索、ワクチンによる感染防御の可能性検討など多岐にわたる研究が加速する。また機能的感染受容体の同定も可能となり、感染モデル動物確立への道も開かれる。

そのため、今後もウイルス増殖系の確立に向け、培養細胞でのノロウイルス、サポウイルスの増殖系確立をめざした研究を進めていく必要がある。

## E. 結論

本研究ではノロウイルス、サポウイルスの培養細胞での増殖は認められなかった。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

(1) 岡智一郎, 片山和彦、小林慎一、飯高順子、野田衛

“愛知県と川崎市の食中毒事例から検出されたサポウイルス GI/2 の塩基配列の比較”

病原体微生物情報(IASR) Vol. 31 No. 11 (No. 369), 2010年11月号 p1-p14

### 2. 学会発表

(1) Harada S, Nishimura K, Kiyota N, Matsumoto K, Yahiro S, Okada M, Katayama K, Oka I.

Surveillance of pathogens in outpatients with gastroenteritis and genetic analysis of sapovirus strains between 2002 and 2009 in Kumamoto Prefecture, Japan  
16<sup>th</sup> Federation of Asian Veterinary Associations Congress 2011  
February 16-18, 2011.  
Cebu City, Philippines

(2) 岡智一郎、横山勝、高木弘隆、本村和嗣、村上耕介、佐藤裕徳、脇田隆字、片山和彦

カリシウイルスプロテアーゼ catalytic triad 形成残基のポリプロテイン切断活性への重要性

第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会

2010年12月7～10日、神戸

(3) 村上耕介、岡智一郎、脇田隆字、松田幹、片山和彦

ノロウイルスのヒト腸管由来培養細胞への結合様式

第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会

2010年12月7～10日、神戸

(4) 野田衛、片山和彦、石井孝司、岡智一郎、多田有希、山下和予、三瀬敬治、地方衛生研究所、中村奈緒美、島田智恵、岡部信彦

「塩基配列情報共有化の食品媒介ウイルス感染症の疫学調査への応用」

第31回日本食品微生物学会総会、2010年11月11日～12日、滋賀

(5) 斎藤博之、東方美保、岡智一郎、

片山和彦、田中智之、野田衛

食品検体のノロウイルス検査を目的としたパンソルピン・トラップ法の開発

第31回日本食品微生物学会総会、2010年11月11日～12日、滋賀

(6) 北元憲利、岡智一郎、片山和彦、

Hansman GS、三好龍也、田中智之

サポウイルスに対する単クローン抗体の解析

第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月 7 日～9 日、徳島

(7) 野田衛、入谷展弘、中田恵子、斎藤博之、田中忍、西川篤、北堀吉映、三谷亜里子、三瀬敬治、山下和予、岡智一郎、片山和彦、岡部信彦

関西で同時多発的に発生したノロウイルス食中毒事例の解析

第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月 7 日～9 日、徳島

(8) 高木弘隆、北島正章、遠矢幸伸、岡智一郎、片山浩之、片山和彦、杉山和良。マウスノロウイルス(MNV)のマウス由来培養細胞での増殖性についての検討。

第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月 7 日～9 日、徳島

(9) 原田誠也、西村浩一、岡智一郎、片山和彦

「熊本県における感染性胃腸炎の起因病原体調査とサポウイルス genogroup の年次変化」

第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月 7 日～9 日、徳島

(10) 斎藤博之、東方美保、岡智一郎、片山和彦、田中智之、野田衛  
食品検体のノロウイルス検査のためのパンソルビン・トラップ法の開発と拡大適用  
第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月 7 日～9 日、徳島

(11) 村上耕介、岡智一郎、脇田隆字、松田幹、片山和彦

ノロウイルスのヒト腸管由来細胞への結合様式の解析

第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月 7 日～9 日、徳島

(12) 北島正章、岡智一郎、原本英司、武田直和、片山和彦、片山浩之  
国内の下水および河川水からの GenogroupIV ノロウイルスの検出および遺伝子解析

第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月 7 日～9 日、徳島

(13) 岡智一郎、高木弘隆、遠矢幸伸、村上耕介、脇田隆字、片山和彦  
ネコカリシウイルスの新規リバースジェネティクス系の構築

第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月 7 日～9 日、徳島

(14) 岡智一郎

「カリシウイルスの新知見」

ウイルス性下痢症研究会第 22 回学術集会  
2010.11.6. 徳島

(15) 浅野有香、村上耕介、鈴木さやか、灘野大太、宇理須厚雄、岡智一郎、片山和彦、松田幹

「母乳に含まれるヒトノロウイルス感染抑制因子の探索」

日本農芸化学会中部支部第 159 回例会



2010年10月30日 名古屋

(16) Kitajima M, Oka T, Haramoto E, Takeda N, Katayama K, Katayama H.

Genetic diversity of human noroviruses and sapoviruses in river water, Japan.

Fourth International Conference on Caliciviruses.

October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile

(17) Yokoyama M, Oka T, Katayama K, Kanda T, Sato H.

Structural Insight into Substrate Recognition based on P4 and P1 residues by Sapovirus 3C-like Protease.

Fourth International Conference on Caliciviruses.

October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile

(18) Motomura K, Yokoyama M, Ode H, Oka T, Katayama K, Noda M, Tanaka T, Sato H, and Norovirus Surveillance Group of Japan.

Evolution of Norovirus GII/4 in Japan by Genome Recombination.

Fourth International Conference on Caliciviruses.

October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile

(19) Murakami K, Oka T, Wakita T, Matsuda T, Katayama K.

Analysis of Mechanism of Human Norovirus Binding to Caco-2 Cells.

Fourth International Conference on Caliciviruses.

October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile

(20) Oka T, Yokoyama M, Takagi H, Tohya Y, Motomura K, Murakami K, Wakita T, Sato H, Katayama K.

Antiviral Development

Fourth International Conference on Caliciviruses. State-of-the Art

October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile

## 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。

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 1. 論文発表

(1) 岡智一郎, 片山和彦、小林慎一、飯高順子、野田衛

“愛知県と川崎市の食中毒事例から検出されたサポウイルス GI/2 の塩基配列の比較”  
病原体微生物情報(IASR) Vol. 31 No. 11 (No. 369), 2010年11月号 p1-p14 (p13-14)

### 2. 学会発表

(1) Harada S, Nishimura K, Kiyota N, Matsumoto K, Yahiro S, Okada M, Katayama K, Oka T.

Surveillance of pathogens in outpatients with gastroenteritis and genetic analysis of sapovirus strains between 2002 and 2009 in Kumamoto Prefecture, Japan

16<sup>th</sup> Federation of Asian Veterinary Associations Congress 2011

February 16-18, 2011.

Cebu City, Phillippines

(2) 岡智一郎、横山勝、高木弘隆、本村和嗣、村上耕介、佐藤裕徳、脇田隆字、片山和彦  
カリシウイルスプロテアーゼ catalytic triad 形成残基のポリプロテイン切断活性への重要性  
第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会  
2010年12月7～10日、神戸

(3) 村上耕介、岡智一郎、脇田隆字、松田幹、片山和彦

ノロウイルスのヒト腸管由来培養細胞への結合様式

第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会

2010年12月7～10日、神戸

(4) 野田衛、片山和彦、石井孝司、岡智一郎、多田有希、山下和予、三瀬敬治、地方衛生研究所、  
中村奈緒美、島田智恵、岡部信彦

「塩基配列情報共有化の食品媒介ウイルス感染症の疫学調査への応用」

第31回日本食品微生物学会総会、2010年11月11日～12日、滋賀

(5) 斎藤博之、東方美保、岡智一郎、片山和彦、田中智之、野田衛

食品検体のノロウイルス検査を目的としたパンソルビン・トラップ法の開発



第31回日本食品微生物学会総会、2010年11月11日～12日、滋賀

(6) 北元憲利、岡智一郎、片山和彦、Hansman GS、三好龍也、田中智之  
サポウイルスに対する単クローン抗体の解析

第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月7日～9日、徳島

(7) 野田衛、入谷展弘、中田恵子、斎藤博之、田中忍、西川篤、北堀吉映、三谷亜里子、  
三瀬敬治、山下和予、岡智一郎、片山和彦、岡部信彦

関西で同時多発的に発生したノロウイルス食中毒事例の解析

第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月7日～9日、徳島

(8) 高木弘隆、北島正章、遠矢幸伸、岡智一郎、片山浩之、片山和彦、杉山和良、  
マウスノロウイルス(MNV)のマウス由来培養細胞での増殖性についての検討。

第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月7日～9日、徳島

(9) 原田誠也、西村浩一、岡智一郎、片山和彦

「熊本県における感染性胃腸炎の起因病原体調査とサポウイルス genogroup の年次変化」

第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月7日～9日、徳島

(10) 斎藤博之、東方美保、岡智一郎、片山和彦、田中智之、野田衛  
食品検体のノロウイルス検査のためのパンソルビン・トラップ法の開発と拡大適用

第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月7日～9日、徳島

(11) 村上耕介、岡智一郎、脇田隆字、松田幹、片山和彦

ノロウイルスのヒト腸管由来細胞への結合様式の解析

第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月7日～9日、徳島

(12) 北島正章、岡智一郎、原本英司、武田直和、片山和彦、片山浩之

国内の下水および河川水からの GenogroupIV ノロウイルスの検出および遺伝子解析

第58回日本ウイルス学会学術集会、2010年11月7日～9日、徳島

(13) 岡智一郎、高木弘隆、遠矢幸伸、村上耕介、脇田隆字、片山和彦

ネコカリシウイルスの新規リバーシジェネティクス系の構築



第 58 回日本ウイルス学会学術集会、2010 年 11 月 7 日～9 日、徳島

(14) 岡 智一郎

「カリシウイルスの新知見」

ウイルス性下痢症研究会第 22 回学術集会 2010.11.6. 徳島

(15) 浅野有香、村上耕介、鈴木さやか、灘野大太、宇理須厚雄、岡智一郎、片山和彦、松田幹

「母乳に含まれるヒトノロウイルス感染抑制因子の探索」

日本農芸化学会中部支部第 159 回例会 2010 年 10 月 30 日 名古屋

(16) Kitajima M, Oka T, Haramoto E, Takeda N, Katayama K, Katayama H.

Genetic diversity of human noroviruses and sapoviruses in river water, Japan.

Fourth International Conference on Caliciviruses.

October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile

(17) Yokoyama M, Oka T, Katayama K, Kanda T, Sato H.

Structural Insight into Substrate Recognition based on P4 and P1 residues by Sapovirus 3C-like Protease.

Fourth International Conference on Caliciviruses.

October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile

(18) Motomura K, Yokoyama M, Ode H, Oka T, Katayama K, Noda M, Tanaka T, Sato H,  
and Norovirus Surveillance Group of Japan.

Evolution of Norovirus GII/4 in Japan by Genome Recombination.

Fourth International Conference on Caliciviruses.

October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile

(19) Murakami K, Oka T, Wakita T, Matsuda T, Katayama K.

Analysis of Mechanism of Human Norovirus Binding to Caco-2 Cells.

Fourth International Conference on Caliciviruses.

October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile

(20) Oka T, Yokoyama M, Takagi H, Tohya Y, Motomura K, Murakami K, Wakita T, Sato H,



Katayama K.

Antiviral Development

Fourth International Conference on Caliciviruses. State-of-the Art

October 16-19, 2010, Santa Cruz, Chile

# 病原微生物検出情報 月報

Infectious Agents Surveillance Report (IASR)

<http://idsc.nih.gov.jp/iasr/index-j.html>

Vol.31 No. 11 (No.369)

2010年11月発行

国立感染症研究所  
厚生労働省健康局  
結核感染症課

事務局 感染研感染症情報センター

〒162-8640 新宿区戸山1-23-1

Tel 03(5285)1111 Fax 03(5285)1177

E-mail [iasr-c@nih.go.jp](mailto:iasr-c@nih.go.jp)

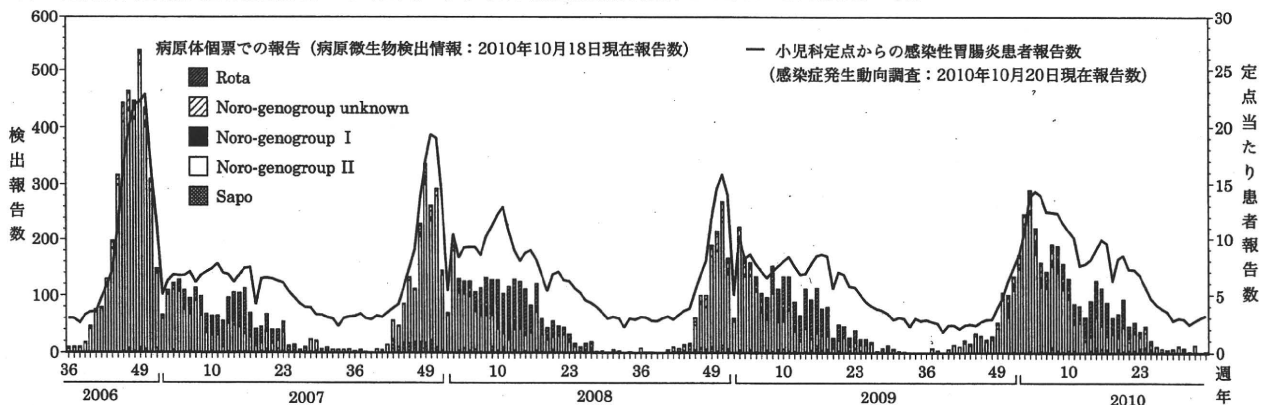
(禁、無断転載)

NoV 食中毒調査・検査体制に関する研究の動向 4, GI/4 2008a 亜株の動向と IC 法改良 5, 掃除機内ダストの NoV・SaV 汚染実態調査 6, NoV 陽性調理従事者の陰性確認検査: 東京都 8, NoV 集団胃腸炎: 静岡県 9, 夏季に結婚式場で発生した NoV 集団胃腸炎: 大阪市 10, 給食弁当が原因の SaV 大規模集団食中毒: 愛知 11, 中華料理店での SaV 食中毒: 川崎 12, 愛知と川崎の食中毒事例から検出された SaV GI/2 塩基配列比較 13, 夏季の AH3 亜型集団感染: 新潟県 14, 2010 年 EV71 分離状況: 大阪市 15, 帰国者を発端とした D9 型麻疹ウイルス検出: 三重 16, D8 型麻疹ウイルス輸入症例: 横浜 17, 麻疹検査診断体制: 横浜 18, 飼い猫の排泄物に伴って膿瘍を生じたと思われる *C. ulcerans* 感染例 20, シャワー水を感染源としたレジオネラ症例 20, 入浴施設シャワー水のレジオネラ汚染状況 21, アメーバ性脳炎 23, 臓器移植による *B. mandrillaris* 感染事例: 2009 年米国 ミシシッピ州 24, 2010 年米国アリゾナ州 24, 日本の HIV 感染者・AIDS 患者の状況 26, チェス菌・パラチフス A 菌ファージ型別成續 32

本誌に掲載された統計資料は、1) 「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に基づく感染症発生動向調査によって報告された、患者発生および病原体検出に関するデータ、2) 感染症に関する前記以外のデータに由来する。データは次の諸機関の協力により提供された: 保健所, 地方衛生研究所, 厚生労働省食品安全部, 検疫所, 感染性腸炎研究会。

## <特集> ノロウイルスの流行 2006/07~2009/10シーズン

図1. 週別感染性胃腸炎患者報告数とノロウイルス/ロタウイルス検出報告数の推移, 2006/07~2009/10シーズン

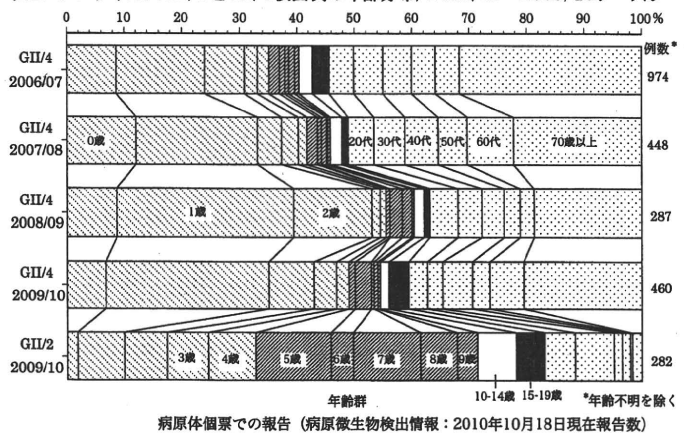


ノロウイルス (Norovirus, 以下 NoV) は RNA ウィルスで、大きく genogroup (G) I~V に分けられ、GI と GII が主にヒトに感染する。少なくとも GI は 15, GII は 19 の遺伝子型が存在する。NoV は糞便および吐物中に大量に排出され、症状消失後も長期に糞便中への排出が続く (本号 8 ページ)。NoV で汚染された食品の摂取により食中毒が起こり、手指等を介して人→人感染が起こる。

1. 感染症発生動向調査における感染性胃腸炎発生状況: 約 3,000 の小児科定点から報告される感染性胃腸炎の患者数は年末に急増する。2006/07 シーズン (2006 年 9 月/第 36 週~2007 年 8 月/第 35 週) は例年より約 4 週早く流行が立ち上がり、流行のピークも第 50 週に定点当たり 22.81 人と 1981 年の調査開始以来最高であった。2009/10 シーズンは流行の立ち上がりが遅く、年が明けてから第 4 週にピーク (定点当たり 14.32 人) となった (図 1)。

2. 最近流行した NoV について: 地方衛生研究所 (地研) から国立感染症研究所感染症情報センター (IDSC) へ個々の検出例についての病原体個票が報告されている (IASR 31: 75-76, 2010)。感染性胃腸炎患者の流行ピークに NoV 検出例数が増加している (図 1)。2006/07~2009/10 シーズンに検出された NoV の

図2. ノロウイルス GII/2 と GII/4 検出例の年齢分布, 2006/07~2009/10 シーズン



大部分は GII であるが、GI も報告されている (<http://idsc.nih.gov.jp/iasr/prompt/graph/srsvj.gif>)。

2006 年からはシークエンスによる NoV の遺伝子型別結果も報告されている。0~15 歳の感染性胃腸炎患者から検出された NoV の遺伝子型をシーズン別にみると (3 ページ表 1), 2006/07 シーズンは遺伝子型別された NoV の 85% を GII/4 が占めた。GII/4 はその後も最も多く、次いで GII/2, GII/3, GII/6 が多かった。特に GII/2 は 2009/10 シーズンに急増し、その割合は 36% と GII/4 (42%) に迫っている。GII/2 検出例は GII/4 検出例に比べて 3~19 歳の割合が大きい (2 ページにつづく)



(特集つづき)

(前ページ図2)。インフルエンザウイルス AH3 亜型変異株流行時においても、同様の患者年齢分布が観察されている (IASR 20: 289-290, 1999)。

2008/09シーズンに NoV GII/4 の新しい亜株である 2008a が検出されており、遺伝子変異によるアミノ酸残基の変異に対して迅速診断法の感度・特異性を向上させるため、イムノクロマト法の改良が進行中である (本号5ページ)。

海外 (北米, ヨーロッパ, オーストラリア) においても日本と同様に GII が NoV の大部分を占めるが、2009/10シーズンには GII/12 の流行拡大の兆候が認められた (2010年10月第4回国際カリシ学会)。いずれにせよ、国内外とも GII/4 の流行は減少傾向を示しており、世界的規模で主流型遺伝子型の変化が起きる可能性がある。

3. 集団発生事例からの NoV 検出報告: 地研からは「集団発生病原体票」も報告されている (IASR 31: 75-76, 2010)。これには、食品媒介による感染が疑われる「食中毒」や「有症苦情」、人→人感染や感染経路不明の胃腸炎集団発生などの事例ごとの情報が含まれている。2006/07シーズンは11月に NoV 集団感染事例の報告が急増し、ピークとなった (図3)。2007/08, 2008/09シーズンは12月の報告が最も多かったが、2009/10シーズンは1月が最も多かった。

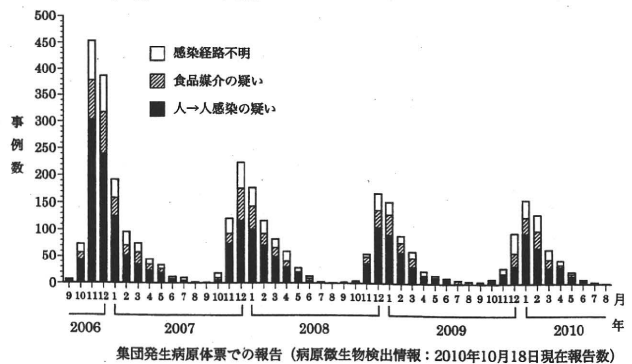
2007/08~2009/10シーズンに、患者や調理従事者などから NoV が検出された事例は563~849事例で、2006/07シーズンに比べ4~6割減であった (3ページ表2)。2006/07シーズンには、遺伝子型別が実施された事例中90%を GII/4 が占めていたが、2009/10シーズンには41%に減少し、2008/09シーズンには3%であった GII/2 が35%に急増している (本号9ページ)。

感染経路: NoV が検出された事例の推定感染経路別の内訳は、2006/07シーズンには人→人感染が疑われているものが861事例と多数を占めたが、2007/08シーズンに大きく減少した。食品媒介が疑われているものも2006/07シーズン262事例から2008/09, 2009/10シーズンには半減している (3ページ表2)。

推定感染場所: 2006/07シーズンには老人ホーム (介護施設を含む)、病院、福祉養護施設での集団発生が多かったが、これらはシーズンごとに減少している。2009/10シーズンは保育所での事例が増加しており、その感染経路はほとんどが人→人感染が疑われている (3ページ表2)。

4. 食中毒統計: 厚生労働省がまとめている食中毒統計において2006/07シーズンの NoV 食中毒事例は過去最高の513事件 (患者数30,852人) であったが、2007/08~2009/10シーズンは365事件 (同15,835人)、274事件 (同10,885人)、301事件 (同9,187人) で推移している。2006/07シーズンには、患者数1,734人の事例も発生しているが、2006/07~2009/10シーズンの食

図3. 推定感染経路別ノロウイルス感染集団発生の月別推移, 2006年9月~2010年8月



中毒事件ごとの患者数を階級別にみると (3ページ図4)、17~32人 (385件) が最も多く、次いで、33~64人 (331件)、9~16人 (295件) となっている。また、原因施設をみると飲食店 (915件) が最も多く、次いで、旅館 (194件)、仕出屋 (147件) であり、原因食品 (推定を含む) では複合調理食品 (163件) が最も多く、次いで魚介類 (貝類) (103件) となっている。

5. NoV 感染対策と今後の課題: NoV による食中毒および感染症の発生を防止するためには、感染性胃腸炎の患者発生動向、NoV 検出情報に注意し、常日頃から健康観察、手洗いなどを励行することが重要である。また、非流行期にも事例は発生しており、通年的な NoV に対する衛生管理が重要である (本号10ページ)。

厚生労働省は2007年10月12日に、「ノロウイルスによる食中毒対策について」を公表しており (<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2007/10/s1012-5.html>), 調理従事者による食品の二次汚染による食中毒を防ぐためには、食品取り扱い施設での基本的な衛生管理および無症状の調理従事者の陰性確認の徹底が望まれる (本号8ページ)。

食中毒の原因を早期に究明し拡大を防止するためには、食品からのウイルス検出法の確立および標準化が必要である (本号4ページ)。また、広域食中毒事例を迅速に探知するために、検出された NoV の塩基配列データの共有化が進められている (本号4ページ)。NoV に比べて数は少ないがサポウイルス (Sapovirus, 以下 SaV) による大規模食中毒も報告されているので (本号11, 12 & 13 ページ)、食中毒菌、NoV と並行して SaV の検査も必要と考えられる。

また、不適切な吐物の処理のために多数の人が NoV に曝露したと考えられる集団感染も報告されており (IASR 28: 84, 2007 & 29: 196, 2008), 糞便のみならず吐物の処理にも特に注意が必要である。吐物処理後の掃除機内ダスト中には長期間 NoV が存在する可能性が示唆されており (本号6ページ)、ダストの取り扱いに対する注意喚起も必要と考えられる。

(3ページにつづく)

(特集つづき)

表1. 小児の感染性胃腸炎患者 (0~15歳) からのノロウイルス検出状況, 2006/07~2009/10シーズン

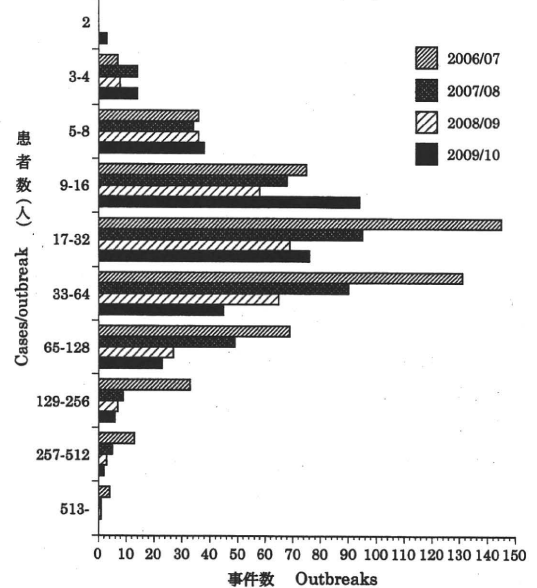
Table 1. Norovirus detection from children 0-15 years of age with gastroenteritis in Japan, 2006/07-2009/10 seasons

検出病原体 Virus	検体採取シーズン* Season*				合計
	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	
Norovirus genogroup unknown	181	96	262	247	1,087
Norovirus genogroup I	66	164	105	83	638
Norovirus genogroup II	2,012	1,537	1,282	1,387	8,898
Sapovirus genogroup unknown	113	138	163	104	681
Sapovirus genogroup I	5	11	22	33	92
Sapovirus genogroup II	4	-	13	12	33
Sapovirus genogroup IV	6	89	-	-	95
Sapovirus genogroup V	3	1	-	2	7
Norovirusの遺伝子型(再掲) Genotype of Norovirus					
Norovirus GI not typed	46	101	67	53	474
Norovirus GI/1	-	4	1	-	6
Norovirus GI/2	-	-	-	1	2
Norovirus GI/3	3	2	5	-	14
Norovirus GI/4	7	48	22	13	90
Norovirus GI/7	1	1	3	9	14
Norovirus GI/8	7	6	7	6	31
Norovirus GI/12	1	-	-	1	2
Norovirus GI/14	1	2	-	-	5
Norovirus GII not typed	1,552	1,214	1,003	813	7,170
Norovirus GII/1	-	2	-	2	5
Norovirus GII/2	3	26	13	220	273
Norovirus GII/3	10	54	11	48	150
Norovirus GII/4	409	212	175	255	1,074
Norovirus GII/5	-	1	-	-	1
Norovirus GII/6	9	3	74	15	118
Norovirus GII/7	-	1	-	3	14
Norovirus GII/8	-	-	-	-	2
Norovirus GII/9	4	1	-	-	5
Norovirus GII/11	-	-	1	-	1
Norovirus GII/12	-	-	4	10	14
Norovirus GII/13	25	22	1	16	65
Norovirus GII/14	-	-	-	5	5
Norovirus GII/16	-	1	-	-	1

\*9月~翌年8月 \* Detection from specimens collected during September through August next year  
 病原体個票での報告 (病原微生物検出情報: 2010年10月18日現在報告数)  
 (Infectious Agents Surveillance Report: Data based on the reports of individual case of pathogen detection received before October 18, 2010)

図4. 患者数規模別ノロウイルス食中毒事件数, 2006/07~2009/10シーズン

Figure 4. Outbreak scale of norovirus food poisoning, 2006/07-2009/10 seasons, Japan



食中毒統計、2010年は速報値 (2010年10月28日現在報告数)  
 (Statistics of Food Poisoning in Japan, Ministry of Health, Labour and Welfare: Data for 2010 is based on the provisional reports received before October 28, 2010)

表2. ノロウイルス感染集団発生事例の推定感染場所と推定感染経路, 2006/07~2009/10シーズン

Table 2. Norovirus outbreak settings, 2006/07-2009/10 seasons, Japan

推定感染場所 Suspected place of infection	シーズン Season***	シーズン Season***				合計 Total	感染経路 Route of infection	GIIの主な遺伝子型 Major genotypes of GII												
		2006/07-2009/10シーズン						2009/10シーズン												
		2006/07	2007/08	2008/09	2009/10			II/2	II/3	II/4	II/6	II/13	II/2	II/3	II/4	II/6	II/12	II/13		
家庭 Home	25	21	11	9	66	23	20	23	1	1	18	-	-	2	-	-	-	-	-	-
飲食店 Restaurant	98	110	60	65	333	238	19	76	2	4	73	5	6	3	2	13	-	1	1	
宴会場 Banquet room	37	17	12	16	82	53	14	15	1	1	21	1	-	-	-	4	-	-	-	
ホテル・旅館* Hotel	53	41	28	20	142	73	32	37	-	-	32	-	-	1	-	5	1	-	-	
福祉・養護施設 Welfare facility	96	47	43	36	222	7	192	23	2	1	82	3	-	10	-	19	-	-	1	
老人ホーム** Home for the aged	464	205	114	79	862	20	751	91	-	-	303	-	-	2	1	45	-	-	-	
病院 Hospital	101	35	14	13	163	5	144	14	-	-	59	-	-	-	1	6	-	-	-	
小学校 Primary school	54	80	65	71	270	7	233	30	11	1	25	11	10	35	1	3	-	2	2	
中学校 Junior high school	3	6	2	2	13	1	11	1	-	-	4	-	-	1	-	-	-	-	-	
高校 High school	4	1	3	2	10	3	6	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	
大学 University/college	3	-	1	1	5	3	2	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	
保育所 Nursery school	88	78	63	104	333	2	312	19	9	14	72	15	11	43	9	30	3	3	2	
幼稚園 Kindergarten	16	8	12	17	53	2	44	7	1	2	7	5	1	10	3	-	-	1	1	
事業所 Workplace	11	12	10	10	43	37	2	4	-	-	15	-	1	1	-	3	-	-	-	
宿舎・寮 Dormitory	13	6	5	5	29	13	9	7	-	-	9	-	-	1	1	-	-	-	-	
国内ツアー Domestic tour	11	11	7	1	30	2	7	21	-	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	
その他 Others	39	50	30	36	155	56	31	68	2	1	28	1	3	2	1	1	-	1	-	
不明・記載なし Unknown	272	121	123	76	592	153	167	272	3	4	98	6	2	8	1	12	-	-	1	
合計 Total	1,388	849	603	563	3,403	698	1,996	709	32	29	858	47	34	119	20	142	4	8	8	
食品媒介の疑い Foodborne	262	182	138	116	698	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
人→人伝播の疑い Person-to-person	861	474	362	299	1,996	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
不明 Not determined	265	193	103	148	709	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

\*宴会場を除く、\*\*介護施設を含む、\*\*\*各シーズンは当年9月~翌年8月 NoV outbreaks during September through August next year  
 地方衛生研究所からの「集団発生病原体票」による事例報告数 (病原微生物検出情報: 2010年10月18日現在報告数)  
 (Infectious Agents Surveillance Report: Data based on the reports of outbreak summary received before October 18, 2010 from PHIs)



### ＜特集関連情報＞

#### ノロウイルス食中毒の調査・検査体制に関する研究の動向

ノロウイルス (NoV) による食中毒の患者数は全食中毒患者の半数程度を占めており、その制御が食品の安心・安全を確保する上で重要な課題となっている。ここでは、最近の NoV 食中毒の調査・検査体制に関する研究の動向を紹介する。

##### 食品からのウイルス検出法の開発

近年の NoV 食中毒は、調理従事者からの食品の二次汚染を原因とする事例が多数を占めている。そのため、多種多様な食品・食材が原因となっているが、二枚貝を除き食品からウイルスが検出される例は少なく、原因食品の特定や汚染経路の究明が困難な状況にあり、食品からのウイルス検出法の確立が急務の課題となっている。2007～2009 (平成19～21) 年度食品の安心・安全確保推進研究事業「食品中のウイルスの制御に関する研究」班において、パンソルビン・トラップ法という新しい食品検査法が開発された。本法は免疫磁気ビーズ法で使用されている磁気ビーズの代わりにパンソルビン (免疫グロブリン結合性蛋白質プロテイン A を持つ黄色ブドウ球菌菌体) を使用し、NoV-抗体-菌体の複合体を形成させ、NoV を特異的に濃縮するものである。本法の特徴は、多種多様な食品に対して同一の手技で実施できること、種々のウイルスに応用可能であること、多検体処理が可能であること、安価であること、高速遠心機等特殊な機器を必要としないこと、などである。本法の最大の課題は抗血清の安定した供給体制の確立にあり、現在、その課題を克服するために検査法の改良に取り組んでいる。

##### 食品のウイルス試験法の標準化

一方、上記の食品検査法以外にもいくつか検査法の開発の報告がある。これらの新たに開発された試験法を地方衛生研究所 (地研) 等で導入するためには、複数の検査機関による共同研究などにより試験法を評価し、標準化を行うことが重要であるが、わが国においてはそのことを実施する組織は存在していなかった。また、最近の NoV 食中毒は二枚貝を原因とする事例が増加傾向にあるが、出荷前に自主検査で陰性となった二枚貝による食中毒事例も散見され、食品のウイルス検査に関する精度管理体制の確立が求められている。さらに、輸入食品に伴うウイルス性食中毒の発生への対応や、輸入食品の安全性確保の国際的な取り決めの必要性から、国際的なウイルスの食品検査の標準化の動きも見られている。これらの背景から、わが国の食品のウイルス検査法の標準化を行い、今後の精度管理の在り方などを議論するために、2010 (平成22) 年6月に「食品のウイルス標準試験法検討委員会」 (<http://www.nihs.go.jp/fhm/csvdf/index.htm>) を設立した。

本委員会は主に以下の点に関して検討する予定としている。

- ①各種ウイルスの食品からの検出法の標準化に関すること
- ②検査に必要な標準品に関すること
- ③食品のウイルス検出法の精度管理に関すること
- ④その他、食品媒介性ウイルスの食品検査に関すること

一方、食品からの NoV 検出法に関しては、厚生労働省の通知法である「ノロウイルスの検出法について」 [2007 (平成19) 年5月14日食安監発第0514004号] および国立感染症研究所 (感染研) 編集の「ウイルス性下痢症検査マニュアル (第3版)」がある。前者は食中毒発生時における原因究明検査、後者は感染症診断のための検査を主に意図したものである。実際の集団事例においては食中毒か感染症かの判断は困難な場合が多く、また、それぞれの検査法が異なることは、検査の効率性や実行性に問題を生じることになる。現在、感染研においては「ウイルス性下痢症検査マニュアル (第3版)」を含む病原体検出マニュアルの改訂作業が進行中である。NoV のみならず、他の胃腸炎ウイルス、A 型肝炎ウイルス、E 型肝炎ウイルスを含めた食品媒介性ウイルスの食品検査法について、これらの既存の検査法との整合性を図りつつ、作業を進めていく予定である。

##### NoV の塩基配列データ共有化の試み

食品流通の国際化、大規模化、広域化に伴い NoV の原材料汚染による広域散発食中毒事例の発生が危惧されている。その探知に有効な実験室内解析手法は塩基配列の比較であると考えられるが、現在、全国で検出された NoV の塩基配列データを迅速に収集し、比較・解析するシステムはない。2008 (平成20) 年度食品の安心・安全確保推進研究事業「食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究」班において、全国の地方衛生研究所 (地研) に対して、NoV のシーケンス検査の導入状況および塩基配列データのデータベース化等に関するアンケート調査を実施した結果、データベース化は多くの地研が望んではいないものの、データ登録に伴う業務の増大化、既存の DDBJ 等との役割分担などの問題点が指摘された。そこで、2008～2009 (平成20～21) 年度の研究班において、NoV の塩基配列データ共有化の有用性、実行性、問題点等を把握することを目的として、感染研ウイルス第二部および13の地研の協力の下、塩基配列データを疫学情報とリンクさせ、タイムリーに収集し、還元することを試行的に実施している。本研究でのデータ収集および分子系統解析は、2008 (平成20) 年度新型インフルエンザ等新興再興感染症「食品由来感染症調査における分子疫学手法に関する研究」によって構築されている CaliciWeb (<http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calicinew>)

のプライベートフォーラム (閉鎖環境) をプラットフォームとして用いている。系統樹解析結果は、還元データとして同サイトのオープン環境に掲載しているので参照していただきたい。

本塩基配列データの共有化の中で、我々は、同一塩基配列を持つ NoV 遺伝子型 GI/4 3 株が大阪府および大阪市から登録され、2009年8月初旬に奈良市、大阪市および神戸市の同一居酒屋チェーン店3店舗で同時多発的に発生した食中毒事例を探知した。そこで、これら3事例に関連する6自治体の協力を得て、患者等から検出した NoV のカプシド領域およびポリメラーゼ領域の塩基配列の比較およびパンソルビン・トラップ法による食品からのウイルス検出を実施した。その結果、3店舗の患者の塩基配列は完全に一致し、食材の一つであるタコからリアルタイム PCR 法で GI が検出されたことなどから、当該3事例は共通の汚染食品による NoV の広域食中毒事例であると考えられた。塩基配列情報共有化の有用性を示す例であるといえる。

#### V-Nus Net Japan (Virus Nucleotide Sequence Network)

広域食中毒事例の探知には、共有化された塩基配列データ (実験室内情報) を実際の疫学調査に利用できるかが重要となる。厚生労働省は食中毒の早期発見と被害の拡大防止を目的として、自治体間での情報の共有、交換を行うためのポータルサイトである食中毒支援調査システム (NESFD) の運用を2010 (平成22) 年4月26日から開始した。本システムでは、自治体から厚生労働省への食中毒調査報告の他、食中毒発生状況など、食中毒調査に有用な情報を掲載している。その中で実験室内情報として腸管出血性大腸菌などの PulseNet の情報とともにウイルス検査情報として A 型肝炎ウイルスの系統樹解析結果 (IASR 31: 287-289, 2010参照) および CaliciWeb に還元されている NoV の系統樹解析結果を掲載し、自治体の検査担当者および行政担当者への情報提供を開始した (IASR 31: 289-291, 2010参照)。しかしながら、前述のアンケート結果にあるように、塩基配列データの共有化が広域食中毒事例の探知に実行性を持って機能する体制を構築するためには問題点が少なくない。忌憚りの無い意見をいただければ幸いである。

国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

野田 衛 山本茂貴

国立感染症研究所ウイルス第二部

片山和彦 岡 智一郎

国立感染症研究所感染症情報センター

山下和子 岡部信彦

秋田県健康環境センター 斎藤博之

福井県衛生環境研究センター 東方美保

札幌医科大学・医療人育成センター 三瀬敬治

北海道立衛生研究所 吉澄志磨

宮城県保健環境センター 植木 洋

東京都健康安全研究センター

森 功次 林 志直

杉並区衛生試験所 山崎匠子

富山県衛生研究所 滝澤剛則 小原真弓

長野県環境保全研究所 吉田徹也

愛知県衛生研究所 小林慎一

大阪府立公衆衛生研究所 中田恵子

大阪市立環境科学研究所 入谷展弘

堺市衛生研究所 三好龍也

広島市衛生研究所 阿部勝彦

愛媛県立衛生環境研究所 山下育孝

沖縄県衛生環境研究所 糸数清正 仁平 稔

神戸市環境保健研究所 田中 忍

奈良市保健所 西川 篤

奈良県保健環境研究センター 北堀吉映

京都府山城北保健所 三谷亜里子

厚生労働省医薬食品局監視安全課

食中毒被害情報管理室 田中 誠 熊谷優子

#### <特集関連情報>

#### ノロウイルス GII/4 の 2008a 亜株の動向とイムノクロマト法の改良

GII ノロウイルス (NoV) の中でも特に遺伝子型が GII/4 の NoV は、過去に大規模な流行を繰り返してきた。これは、免疫圧力によって出現した新たな亜株が次々に流行を引き起こしたと考えられている。GII/4 亜株は、検出された西暦とアルファベットのオーダーで GII/4 2006a, GII/4 2006b のように示され、区別されている。GII/4 2006b 亜株 (2006b) は、2006~2007年の冬期に日本でも大流行した亜株であり、その後も本年に至るまで継続して検出されている。

新たな GII/4 亜株の出現は、新たな大流行につながる可能性があるため、GII/4 亜株の出現状況を継続して監視していたところ、2007年12月にオランダで GII/4 の新亜株として報告された Apeldoorn317/2007/NL (AB445395) に近縁な GII/4 亜株が、2008年11月に新潟県内で発生した集団胃腸炎患者から検出された。この亜株は、Motomura ら<sup>1)</sup>によって、2008a GII/4 subtype (2008a) として報告された。2008a は、北海道、岩手県、大阪府、愛知県でも存在が確認された。

2008年11月~2010年3月の間に、新潟県内で発生した食中毒の疑い事例、および胃腸炎の集団発生事例において、保健所から病原体の検索依頼があった148事例中109事例から NoV が検出された。これらのうち GII が検出された90事例中76事例について遺伝子型別を実施したところ、GII/4: 39事例、GII/6: 19事例、GII/2: 9事例、GII/3: 7事例、その他: 4事例であった。GII/4 陽性の33事例に由来する株について P2 領

域の遺伝子解析を実施したところ、11事例が2008aに極めて相同性が高かった。22事例は2006bに相同性が高く、依然として2006bが主な亜株として流行していると考えられたが、2009/10シーズンと2008/09シーズンにおける2006bと思われる亜株の検出頻度を比較すると、2006bが減少し、2008aの割合が増加する傾向が認められた。

P2領域を含む196アミノ酸配列を用いた系統解析の結果、2008aはbootstrap値100で2006bと別クラスターを形成した(図1)。2010年2月以降に新潟県A市内で発生した4件の集団事例から検出された2008a 4株(10-206, 238, 304, 308)は、bootstrap値100でアメリカ、フランス、香港など海外で検出された株を含むクラスターを形成し、国外からの侵入が示唆された。2008aは、デンマーク、オーストラリア、韓国でも検出されたことから、世界に広く浸潤していると考えられる。2009/10シーズンでは、2006bの減少とともに、2008aやGII/4以外の遺伝子型が占める割合が増加する傾向が観察されており、2006bに変わる新たな亜型の流行を捉えるために、継続した監視が必要である。

一方、NoVのイムノクロマト迅速診断法(IC法)が開発されてから、多くの医療施設、高齢者福祉施設等で活用されている。IC法の感度、特異性はそれぞれ81.1%、100%、RT-PCR法との一致率は89.6%である。遺伝子型ではGII/4を含む23遺伝子型を捕捉可能な抗体が使用されている。しかし、上述の2008aが検出された糞便検体は、IC法で陰性反応を示した。本IC法では、既存のGII/4亜株2006a、2006b等は検出可能であったことから、2008aに固有なアミノ酸残基の変異が、抗体との反応性に影響を与えている可能性が考えられた。我々は、2008aに対するIC法の感度向上を図るため、2008aのウイルス様中空粒子(VLPs)を作出し、2008aを認識するモノクローナル抗体の作製に成功した。現在、この抗体を用いてIC法の改良が進行中である。

参考文献

1) Motomura K, *et al.*, J Virol 84: 8085-8097, 2010  
 新潟県保健環境科学研究所  
 田村 務 田澤 崇 渡邊香奈子  
 渡部 香 昆 美也子  
 堺市衛生研究所  
 三好龍也 内野清子 吉田永祥  
 松尾光子 西口智子 田中智之  
 兵庫県立大学人間環境学科 北元憲利  
 国立感染症研究所 本村和嗣 佐藤裕徳

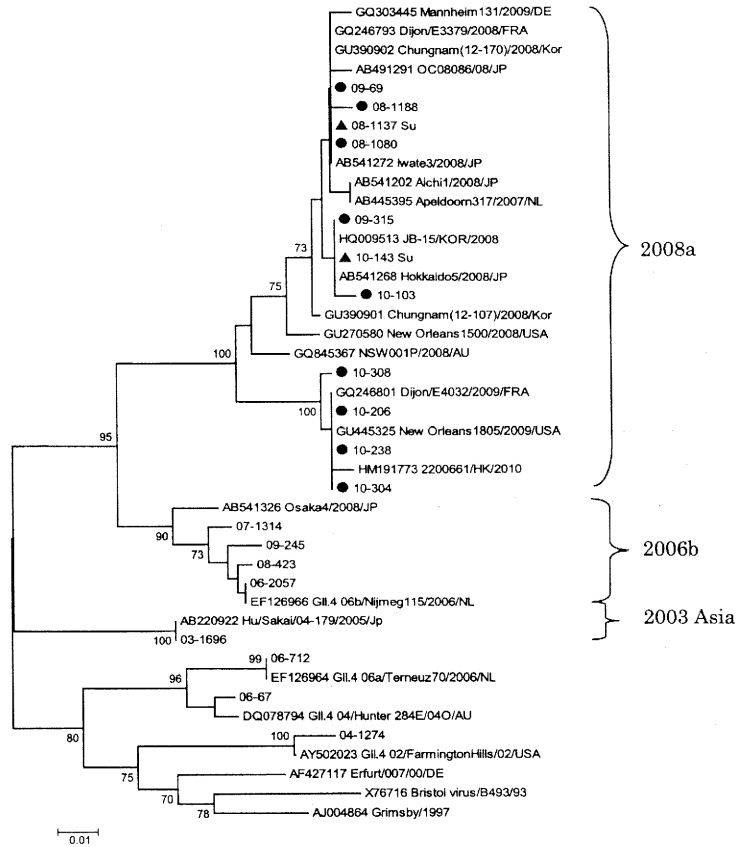


図1. GII/4ノロウイルスのアミノ酸配列による系統樹  
 Nj法、P2領域を含む196アミノ酸による。Bootstrap値70未満は消去。  
 ●：集団事例からの2008a検出株、▲：小児散発事例からの2008a検出株

<特集関連情報>

掃除機内ダストにおけるノロウイルスおよびサポウイルス汚染実態調査

我々は、2008年4月に長野県内の結婚式披露宴会場の床がノロウイルス(NoV)に汚染し、それが感染源と推定された集団感染症事例を経験した<sup>1)</sup>。その際、当該会場専用の掃除機内ダスト(ダスト)からNoVを検出したことなどから、当該事例は食中毒の可能性は低く、塵埃とともに浮遊したNoVに曝露・感染した塵埃感染であったと推定された。この事例を通じ、我々はダストがNoVによる環境汚染の把握や感染経路の追及のための、有用な試料になり得ると考えた。そこで、ダストから簡便で効率よくNoVを回収するための検出法を確立し、ダスト中のNoV等における汚染実態調査を実施した<sup>2,3)</sup>ので、その概要を報告する。

2008年12月~2009年3月(2008/09シーズン)および2009年11月~2010年3月(2009/10シーズン)のウイルス性胃腸炎の流行時期に、一般家庭で使用されている掃除機内から採取された59検体(47家庭)を試料用ダストとした。ダストがNoVあるいはサポウイルス(SaV)陽性となった場合は、当該家庭のダスト試料を継続して採取し、ウイルス量の推移を調査するとともに、家庭内における胃腸炎患者の発生等について

図. ダストからの NoV 等回収方法

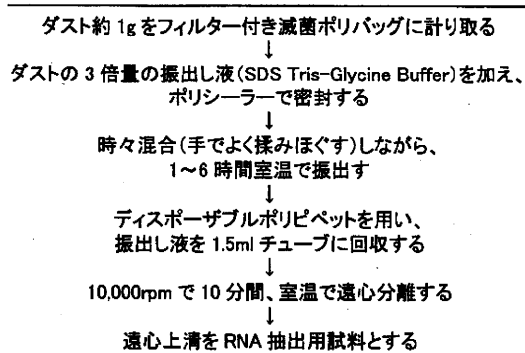


表 1. 一般家庭ダストの NoV および SaV 汚染実態調査結果

試料採取 シーズン	供試検体数	結果(陽性数(%))	
		NoV	SaV
'08/09	35	1 (2.9)	1 (2.9)
'09/10	24	1 (4.2)	0 (0.0)
合計	59	2 (3.4)	1 (1.7)

表 2. NoV 陽性家庭のダストにおけるウイルス量の推移

家庭 (シーズン)	経過日数*					家庭内における 胃腸炎患者 発生の有無
	0	18	30	50	60	
A ('08/09)	+	NT <sup>c</sup>	+	NT	-	有(14 日前)
	(5.7) <sup>b</sup>		(4.3)			
B ('09/10)	+	+	NT	-	NT	有(27 日前)
	(3.5)	(2.5)				

a: 最初に試料を採取した日を 0 とした, b: log<sub>10</sub>(copies/g of dust),  
c: 試験実施せず

表 3. SaV 陽性家庭のダストにおけるウイルス量の推移

ダスト 採取箇所	経過日数*							
	0	34	45	68	77	92	105	107
集塵器内	+	+	+	NT <sup>c</sup>	-	-	NT	NT
	(6.6) <sup>b</sup>	(5.2)	(5.2)					
集塵器奥	NT	NT	NT	+	NT	+	+	-
				(6.2)		(4.4)	(5.4)	

a: 最初に試料を採取した日を 0 とした, b: log<sub>10</sub>(copies/g of dust),  
c: 試験実施せず

での聞き取り調査を実施した。ダストからの NoV 等の回収は図に示すとおり行い、RNA 抽出用試料とした。NoV および SaV の定量は、それぞれ Kageyama<sup>4)</sup> および Oka<sup>5)</sup> の報告したリアルタイム PCR 法に準じて実施した。リアルタイム PCR 法で陽性となった試料の一部については、nested PCR 法でカプシド領域の一部を増幅し、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。

一般家庭のダスト 59 検体中 2 検体 (3.4%) が NoV 陽性、1 検体 (1.7%) が SaV 陽性であった (表 1)。NoV および SaV がともに陽性となったダストは認められなかった。2008/09 シーズンは 35 検体中 NoV あるいは SaV 陽性がそれぞれ 1 検体 (2.9%)、2009/10 シーズンは 24 検体中 1 検体 (4.2%) が NoV 陽性であった (表 1)。

NoV が検出された 2 家庭におけるダスト中のウイルス量の推移をみると (表 2)、A 家庭の初回採取時 (0 日) の NoV 量は 10<sup>5.7</sup> コピー/g で、30 日に 10<sup>4.3</sup> コピー/g に減少し、60 日で定量下限未満となった。また、0 および 30 日に採取された試料から検出した株はいずれも GII/6 に属し、カプシド領域の一部 287 塩基が 100% 相同であった。このことから、同一株によ

って A 家庭内環境が少なくとも 30 日間汚染されていたことが示唆された。B 家庭については、0 日の NoV 量が 10<sup>3.5</sup> コピー/g で、18 日に 10<sup>2.5</sup> コピーとなり、50 日で定量下限未満となった。

聞き取り調査の結果、A 家族では初回採取時の 14 日前に 4 名中 2 名が嘔吐・下痢症状を呈していたことが、B 家族では初回採取時の 27 日前に 5 名中 1 名が嘔吐症状を呈し、寝具を汚染していたことがそれぞれ確認された。このことから、これら有症状者が NoV 感染者であり、これらの感染者によりそれぞれの家庭内環境が本ウイルスに汚染されたものと推察された。

一方、SaV 陽性家庭で使用されていた掃除機からは、集塵器内ダスト (集塵器内) および集塵器奥のフィルター付着ダスト (集塵器奥) の 2 種類を試料として採取した。0 日の集塵器内 SaV 量は 10<sup>6.6</sup> コピー/g で、34 および 45 日に 10<sup>5.2</sup> コピー/g に減少し、77 日に定量下限未満となった (表 3)。集塵器奥から採取した試料では、68 日も 10<sup>6.2</sup> コピー/g で、定量下限未満になったのは 107 日であった。0、45、68 および 105 日の試料から検出された株について遺伝子解析を行ったところ、いずれも GI に属し、カプシド領域の一部 399 塩基の配列は 100% 相同であった。このことから、約 3 カ月