

表4 地域別 *E. coli* の分離状況および血清型

地域	血清型 (O群)	分離株数	分離率 (%)
群馬県	78	25	89.3
	125	1	3.6
	143	2	7.1
長野県	15	2	5.0
	18	1	2.5
	78	26	65.0
	115	1	2.5
	161	4	10.0
	UT	6	15.0
千葉県	1	3	20.0
	18	10	66.7
	78	1	6.7
	159	1	6.7
		83	

表5 *Campylobacter* および *Salmonella* の分離状況(鶏ひき肉)

<i>Campylobacter</i>				
増菌培地	Preston			合計
分離培地	mCCDA	Butzler	BCA	
分離株数 (%)	5 (19.2)	5 (19.2)	6 (23.1)	6 (23.1)

<i>Salmonella</i>							
増菌培地	RV			TTH			合計
分離培地	DHL	CHROM	BSA	DHL	CHROM	BSA	
分離株数 (%)	3 (11.5)	8 (30.8)	9 (34.6)	1 (3.8)	3 (11.5)	4 (15.4)	10 (38.5)

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金(食品の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」
研究分担報告書

ノロウイルス食中毒事例調査の精度向上のための
塩基配列データと疫学情報の共有化

研究分担者 野田 衛(国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部)

研究要旨：ノロウイルス(NoV)等の食品媒介性ウイルスによる広域食中毒事例の探知等の食中毒調査の精度向上に資することを目的として、全国の地方衛生研究所(地研)の協力の下、NoV およびサポウイルス(SaV)の塩基配列データの共有化を試行的に実施した。今年度から 51 の地研に拡大し、より実践的な体制にするとともに、NoV 食中毒に関する情報配信や発生状況に関する問い合わせを行うことにより、情報交換を行いやすい環境を整備し、疫学情報の共有化の強化を図った。情報の内容によっては共有化が困難なものもあり、その推進には情報共有に関する具体的な取り決めが必要と考えられた。5 月以降の岩カキ関連食中毒事件の報告数増加を受け、メーリンググループをとおり情報提供を依頼したところ、食中毒事件として厚生労働省に報告されている事例以外に、各地で岩カキ関連事例が発生していることが明らかになった。塩基配列データとともに疫学情報を全国的に共有できる環境は、食中毒調査の精度向上のみならず、食品媒介事例の被害実態の把握等にも寄与できると考えられた。

研究協力者

		宇都宮市衛生環境試験所	池ヶ谷美穂
北海道立衛生研究所	吉澄 志磨	群馬県衛生環境研究所	小林 美保
青森県環境保健センター	三上 稔之	埼玉県衛生研究所	篠原美千代
青森県環境保健センター	井上 治	千葉県衛生研究所	小川 知子
青森県環境保健センター	筒井 理華	千葉県衛生研究所	堀田千恵美
青森県環境保健センター	吉田 綾子	千葉市環境保健研究所	横井 一
岩手県環境保健研究センター	高橋 知子	千葉市環境保健研究所	田中 俊光
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
仙台市衛生研究所	関根 雅夫	東京都健康安全研究センター	秋場 哲哉
山形県衛生研究所	池田 辰也	東京都健康安全研究センター	永野美由紀
福島県衛生研究所	北川 和寛	杉並区衛生試験所	山崎 匠子
茨城県衛生研究所	原 孝	神奈川県衛生研究所	鈴木理恵子
茨城県衛生研究所	増子 京子	相模原市衛生試験所	望月 響子
栃木県保健環境センター	水越 文徳	新潟県保健環境科学研究所	田村 務

新潟市衛生環境研究所	齊藤 哲也
富山県衛生研究所	名古屋真弓
福井県衛生環境研究センター	小和田和誠
山梨県衛生環境研究所	大沼 正行
長野県環境保全研究所	中沢 春幸
長野県環境保全研究所	内山友里恵
静岡県環境衛生科学研究所	長岡 宏美
浜松市保健環境研究所	鈴木 幸恵
静岡市環境保健研究所	井手 忍
愛知県衛生研究所	小林 慎一
名古屋市衛生研究所	柴田伸一郎
三重県保健環境研究所	楠原 一
滋賀県衛生科学センター	吉田 時子
京都府保健環境研究所	石崎 徹
京都府保健環境研究所	木上 照子
京都府保健環境研究所	中山淳一郎
京都府保健環境研究所	鳥居 潤
大阪府立公衆衛生研究所	左近 直美
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
神戸市環境保健研究所	田中 忍
姫路市環境衛生研究所	川西 伸也
和歌山県環境衛生研究センター	仲 浩臣
和歌山市衛生研究所	廣岡 貴之
島根県保健環境科学研究所	飯塚 節子
岡山県環境保健センター	濱野 雅子
広島県立総合技術研究所・保健環境センター	重本 直樹
広島市衛生研究所	阿部 勝彦
山口県環境保健センター	渡邊 宜朗
山口県環境保健センター	岡本 玲子
愛媛県立衛生環境研究所	山下 育孝
福岡県保健環境研究所	世良 暢之
福岡市保健環境研究所	宮代 守

福岡市保健環境研究所	梶山 桂子
佐賀県衛生薬業センター	増本 久人
大分県衛生環境研究センター	加藤 聖紀
宮崎県衛生環境研究所	三浦 美穂
宮崎県衛生環境研究所	北野 智一
沖縄県衛生環境研究所	仁平 稔
札幌医科大学	三瀬 敬治
国立感染症研究所	片山 和彦
国立感染症研究所	岡 智一郎
国立医薬品食品衛生研究所	上間 匡

(順不同)

A. 研究目的

食品流通の国際化，大規模化，広域化に伴いノロウイルス (NoV) 等のウイルス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，全国で検出されたノロウイルス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。

我々は，ウイルスによる広域食中毒事例の探知等の食中毒調査における塩基配列データの共有化の実行性や問題点等を把握することを目的に，地方衛生研究所(地研)等の協力の下，NoV およびサポウイルス (SaV) の塩基配列データの共有化を行っている。

昨年度までは 13 地研の協力の下に実施していたが，今年度から 51 地研に拡大するとともに，疫学情報の共有化を強化した。

本報告では，今年度の活動状況を 5 月～7 月に発生した岩カキ関連事例を中心として取りまとめた。

B. 研究方法

1. 塩基配列データの登録と還元

添付資料により全国の 76 地研に研究協力依頼を行い、51 地研から研究協力の承諾を得た。塩基配列データは、食品媒介事例を中心に散発事例、集団感染事例から検出された NoV および SaV のシーケンスデータを、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）食品由来感染症調査における分子遺伝学的手法に関する研究（H21-新興一般-003）によって運用・管理されている CaliciWeb (<http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calicinew/>) に設けた研究班専用フォーラムの中に FASTA 形式で登録することにより収集した。登録されたデータを ClustalW でアラインメントした後、NJplot で系統樹を作成し、一般公開されている同ウェブのダウンロードのページに PDF ファイルとして還元した（「病原微生物検出情報，31,315-316（2010）」参照）。また、得られた系統樹は、厚生労働省が運営している食中毒調査支援システム（NESFD，<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/n esf d /index.html>）内に設けた V-Nus Net にも掲載した。

2. 情報交換

NoV 等が検出された事例の疫学情報などに関する情報交換を専用のメーリンググループ内で行った。メーリンググループでは、全国の NoV 食中毒の発生状況やその疫学情報を早期に共有するため、NESFD をとおし各自治体から食中毒被害情報管理室に報告された食中毒速報やプレス発表資料なども共有した。

（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、倫理面への配慮は不要である。

C. 研究結果

1. 塩基配列データ等共有化体制の変更点

2009 年度から 2010 年度の厚生労働科学研究費補助金（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」において 13 地研の協力の下、塩基配列データの共有化を実施してきた。その結果、塩基配列データの共有化を実際の食中毒の疫学調査や被害拡大防止などの行政対応に生かすためには、継続的な分子疫学的なデータの蓄積を行う中で、広域事例が疑われる事例など、実際に行政対応上必要な事例について速やかなシーケンス検査およびデータの共有化を図るなど、データ共有の在り方などについて更なる検討を行う必要があると思われた。そこで、本研究では、幾つかの体制等の変更を図った（表 1）。

まず、収集する情報を拡大、強化し、より実践的な体制にするために協力地研数を 13 地研から 51 地研に増やした。

次に、NoV 食中毒に関する疫学情報をより迅速に共有したり、情報交換を容易に行える環境を整備することを目的に、各種の NoV 食中毒関連情報の配信に努めた（詳しくは、後述）。

一方、塩基配列データについては参加地研数の大幅な増加に伴い登録データ数も大幅に増加する可能性があったこと、登録数が多いと機械的な操作に終始し、詳細な分析が困難になる危険性があることなどから、食中毒等食品媒介事例に由来する株を中心に収集した。ただし、流行株の全体像の把握や食品媒介事例に由来する株の特徴の把

握などのために散発例や食品非媒介性の集団発生に由来する株も同様に収集した。

また、登録操作の簡便化を目的として、株名の簡略化を図った。

2. 塩基配列データの登録および解析状況

2011年4月以降、78回に渡り計645株の塩基配列データの登録が行われた(2011年2月18日現在)。その内訳をウイルス別にみると、NoVが91%(588株)、SaVが9%(57株)でNoVが約9割を占めた。解析領域別ではNoVは通常の検査で実施されているCapsid領域上流が89%(521株)を占め、SaVはすべてCapsid領域であった(表2)。由来別ではNoVは58%(343株)、SaVは61%(35株)が食品媒介性集団発生(疑いを含む)由来であり、前年度までの登録データと比較として食品媒介事例に由来する株の割合が増加した(表3)。

系統樹解析は延べ32回実施され、CaliciWebのオープン環境であるダウンロードのページにPDFファイルとして公開された。NESFDへの登録は13回行われ、26の系統樹解析結果がPDFファイルとして掲載された。

3. 疫学情報共有の実施状況

メーリンググループで2011年4月以降、延べ409回のメール交換が行われた。その多くは塩基配列データの登録および解析結果の連絡に関することであった。一方、NoV食中毒の発生状況およびその調査結果等を速やかに情報共有するために、各自治体からNESFDをとおり厚生労働省監視安全課食中毒被害情報管理室に報告された食中毒速報のうちNoVが原因物質と特定された事件について、食中毒速報聴取メモを除くプレス発表用資料をメーリンググループに転送

した。さらに、本研究班とは別の感染症や食中毒等に関するメーリンググループをとおして配信されたNoV食中毒等に関するメディア情報についても情報共有を図った。

一方、特定の業者名や地域名などその情報の取り扱いに注意が必要な場合や自治体からの取り扱いに関する要請があったような場合は、情報の匿名化を図ったり、あるいはメーリンググループを使用せず、個人メールを用いて連絡するなど対応した。特に、後述の岩カキ関連事例への対応においては、メーリンググループ全体で情報共有できるもの、岩カキ関連事例が発生した自治体間で情報共有できるもの、食中毒が発生した自治体とのみで情報交換するものの3つに情報を区分して情報共有、情報交換を行った。これは、メーリンググループが閉鎖環境であり、かつ、情報の取り扱いに関して取り決めを行っていると言えども、情報の取り扱いについて慎重な自治体が少なくなく、情報内容によってはこのような形で対応せざるを得なかったことが一因である。

4. 5月～7月に発生した岩カキ関連事例多発時における対応

2011年5月以降岩カキが原因と推定される食中毒の発生報告が東北地方(南部)や関東地方を中心に各自治体から相次いでいることを食中毒室から情報提供された。そこで、各事例の疫学的関連性、検出遺伝子型の特徴および食中毒事例としては報告されていない岩カキ関連事例の発生状況などを把握するために、積極的な情報提供をメーリンググループをとおして呼びかけた。その結果、関東、東北以外の地域でも岩カキが関連する事例が発生していることが判明

した。表4および図1は、岩カキを主とするカキ(カキフライなどを含む)関連事例とその他の事例(5月～7月発生分、散发例および集団発生事例由来株を含む)に区分して、各NoV遺伝子型の検出状況をみたものである(結果の詳細については、「病原微生物検出情報」32、354～355(2011)参照)。

D. 考察

NoV等による広域散发食中毒事例の探知等に塩基配列の比較は有効であると考えられるが、その一方で、塩基配列データのみで疫学的関連性の有無を把握することは困難な場合が少なくない。比較できる塩基配列データは通常検査で実施されているCapsid領域上流の限られた領域で、変異もそれほど多い領域ではないため、疫学的に直接的な関連性がない場合でも同じ配列をもつ株が検出されることはよくある。また、カキ等の二枚貝関連事例では多様な遺伝子型のウイルスが患者や食品から検出されるため、検出された遺伝子型から同じ産地の二枚貝による事例か否かの判断は困難な場合が多く、事実5月～7月に多発した岩カキ関連事例も産地と遺伝子型との関連に明確な特徴は見出せなかった。これらのことから、ウイルスによる広域食中毒の探知には、塩基配列データの共有化とともに疫学調査状況に関する情報交換等の疫学情報の共有化が極めて重要であると考えられる。そこで、今年度からは、塩基配列データの共有化に加え、疫学情報の共有化や情報交換により重点を置いた体制の構築を試みた。すなわち、NoV食中毒等に関する情報提供に新たに取り組むとともに、各事例の疫学情報に関する提供を依頼するように心がけ

た。その結果、各地研が塩基配列データを登録する際、その株の由来に関して簡単な疫学情報も連絡していただけるケースが増加した。さらに、地研から積極的に疫学情報を提供していただけた場合もあり、各事例に関する疫学情報の交換がより密にできる環境になったと思われる。

一方、岩カキ関連事例への対応にみられたように、メーリンググループが閉鎖環境であり、かつ、情報の取り扱いに関して取り決めを設けた上で実施していると言え、情報の取り扱いには慎重となり、メーリンググループ全体での情報共有が困難な場合もあった。本活動は調査研究の一環であるためやむを得ない部分もあるが、実際の食中毒調査においても特定の業者名や地域名などの各自治体が調査上知り得た情報は、ある程度疫学的な根拠がない場合には共有化を躊躇する場合も想定されると思われる。そのため、今後情報共有をより推進するためには、公務員の守秘義務等に基づく相互の信頼関係が必要であることは言うまでもないが、情報の共有化に関して具体的な取り決め等が必要であると思われる。一方で、コンピューターからの意図しない情報漏洩に関しても最大限の予防策を講じる必要がある。

食中毒統計は言うまでもなく、食中毒事件と断定された事例の統計であり、食品の関与が疑われるものの、その断定に足りる根拠が得られなかった事例は有症苦情事例とし処理され、報告されない。また、原因食品についても原因食品と断定するに足りる根拠がない場合には、具体的な食品名は記載されず、「食事」等として報告されることも少なくない。従って、食中毒統計だけ

では、食品媒介事例の実際の被害実態を把握することはできない。今回、2011年5月以降に岩カキ関連食中毒が継続発生した際、積極的な情報提供をメーリンググループをとおし呼びかけた結果、報告事例以外に各地で岩カキ関連事例が発生していることを把握することができた。すなわち、メーリンググループによる情報共有や情報交換は、単に食中毒調査の精度向上に寄与するだけでなく、食品媒介事例の被害実態の把握にも寄与できるものと考えられる。今後、このような情報の収集体制についても、検討する必要があると思われた。

E. 結論

NoV等の食品媒介性ウイルスによる広域食中毒事例の探知など食中毒調査の精度向上に資することを目的として、全国51地研の協力の下、NoVおよびSaVの塩基配列データの共有化を試行的に実施し、以下の結果を得た。

1. 塩基配列情報の共有化に加え、NoV食中毒に関する情報の配信や発生状況に関する問い合わせを行うことにより、情報交換を行いやすい環境を整備した。
2. 情報の内容によっては共有化が困難なものもあり、その推進には情報共有に関する具体的な取り決めが必要と考えられた。
3. 5月以降の岩カキ関連食中毒の継続発生を受け、メーリングリストをとおし情報提供を依頼したところ、食中毒事例として厚生労働省に報告されている事例以外に、各地で岩カキ関連事例が発生していることが明らかになった。塩基配列データとともに疫学情報を全

国的に共有できる環境が、食中毒調査の精度向上のみならず、食品媒介事例の被害実態の把握等にも寄与できると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

野田 衛 他：食品媒介事例を中心としたノロウイルス、サポウイルスの塩基配列情報および疫学情報の共有化の取り組み，病原微生物検出情報，32，354～355(2011)

2. 口頭発表

なし

G. 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

表 1 塩基配列データ等共有化体制の変更点

項目	2009～2010 年度	2011 年度
協力地研数	13	51
情報共有	・株の登録, 解析結果の登録が中心	・登録株に関する簡単な情報(カキ関連事例等) ・NoV 食中毒速報(NESFD) ・NoV 食中毒情報(各種配信情報等)
収集株		・食品媒介由来中心
株名の簡素化	・発生年月 ・自治体 ・由来(食品媒介, 集団, 散発) ・病原微生物検出情報報告番号 ・研究所の株名	・発生年月 ・自治体 ・由来(食品媒介, その他) ・研究所の株名

表 2 解析部位別塩基配列データ登録状況(平成 24 年 2 月 18 日現在)

区分	NoV			SaV		計
	Cap	Pol	P2d	Cap	Pol	
2009～2010 年度(前研究班)	836	122	57	55	6	1,076
2011 年度	521	29	38	57	0	645
計	1357	151	95	112	6	1,721

表 3 由来別塩基配列データ登録状況(平成 24 年 2 月 18 日現在)

区分	NoV		SaV		計
	食品媒介性	その他	食品媒介性	その他	
2009～2010 年度(前研究班)	239	776	6	55	1,076
2011 年度	343	245	35	22	645
計	582	1,021	41	77	1,721

表4 岩カキを主とするカキ関連事例における NoV 遺伝子型別検出数(2011年5月～7月発生分)

事例番号	海域区分	GI1	GI2	GI4	GI5	GI7	GI8	GI11	GI13	GI?	GI12	GI13	GI14	GI16	GI17	GI12	GI13	GI14	GI15	計
1	A						1	2		1	2	1					1			8
2	A			3		1			1		3		3				1			12
3	A				1			1									1			3
4	A				1			1			1									3
5	A					2					1		1							4
6	B					1					2									3
7	C										1					2				3
8	D					1											1			2
13	E						1													1
9	不明	1					1						1							3
10	不明	1											1							2
11	不明							1					1							2
12	不明										1									1
14	不明										1		2			1	1			5
15	不明										1				1	1				3
16	不明							2												2
17	不明	1				1		1									2			5
18	不明												1							1
19	不明	1											1							2
20	不明												1							1
カキ事例の小計		4	0	3	2	6	3	8	1	1	13	1	12	0	1	4	7	0	0	66
その他		0	1	2	0	1	4	1	0	1	23	5	25	2	2	5	10	2	2	86
計		4	1	5	2	7	7	9	1	2	36	6	37	2	3	9	17	2	2	152

GI?:GI/1～GI/14 に分類されない GI 株

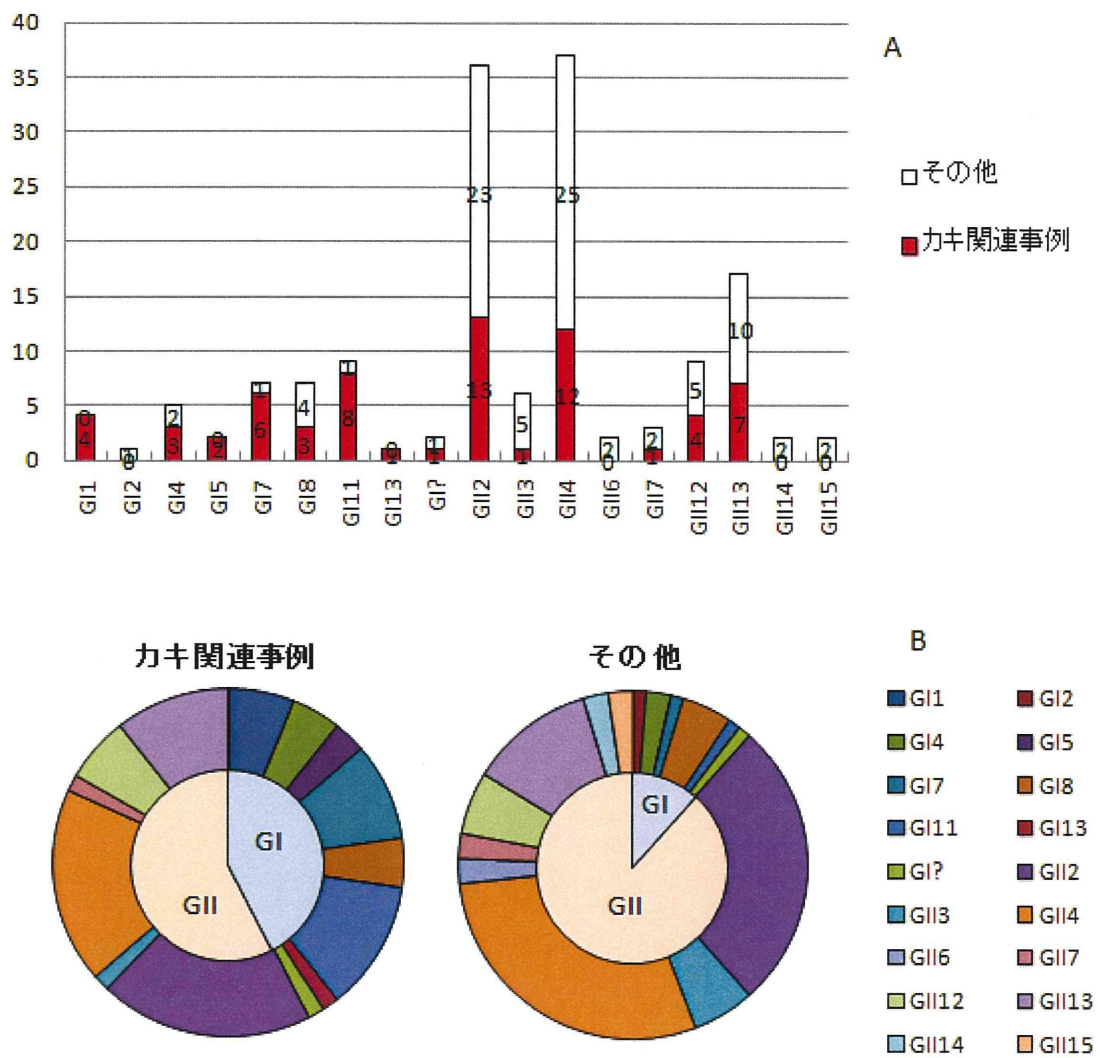


図1 カキ関連事例とその他の事例とのNoV遺伝子型別の検出割合
(2011年5月～7月)

- A 各NoV遺伝子型ごとに由来別の株数を示す
- B 由来する事例ごとに各遺伝子型の検出割合を示す

添付資料
(研究協力依頼)

平成 23 年 6 月 2 日

地方衛生研究所

ウイルス担当者 様

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金・食品の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」
ウイルス性食中毒調査の精度向上に関する分担研究におけるシークエンスデータの
全国的共有に関する研究への協力依頼

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金
食品の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」

研究分担者 野田 衛

(国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部第四室長)

時下、益々ご清栄のこととお喜び申し上げます。

さて、平成 20 年度厚生労働科学研究費補助金・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」(研究代表者 岡部信彦)において実施しましたノロウイルスのシークエンス検査に関するアンケート調査(結果については報告済み)において、ノロウイルスのシークエンスのデータベース化は多くの地研が望んではいらぬものの、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も指摘されました。そこで、平成 21~22 年度にかけて、国立感染症研究所・ウイルス第二部および全国の 13 の地方衛生研究所の先生方のご協力をいただき、CaliciWeb <http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calicinew/>、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)食品由来感染症調査における分子遺伝学的手法に関する研究(H21-新興-一般-003)によって運用)上でシークエンスデータの共有化を図り、その有用性等を検証してきました(同封の研究報告書参照)。

ノロウイルス等のシークエンスデータの共有化(系統樹解析)の目的はいくつか考えられますが、主な目的として、データの蓄積を図り、全国的な流行株の把握や流行ウイルスの分子進化的な特徴付けを行うとともに、検査法の改良や開発などに応用することがあります。その目的においては長期間、継続的に実施することが重要であり、迅速的なデータ共有は必ずしも必要としません。一方、共通の感染源や原因食品を特定し、実際の食中毒の疫学調査や被害拡大防止などの行政対応に生かすためには迅速な検査とデータ共有が求められます。多忙な業務の中でこの相反する目的を達成するためには、特に迅速性を求めず継続的な分子疫学的なデータの蓄積を実施する中で、広域事例が疑われる事例など、実際に行政対応上必要な事例が発生した場合に迅速に対応ができるよう自

治体間で情報共有や情報交換が行える体制を構築することが重要であると考えられます。本研究は行政からも注目されており、結果の一部につきましては、厚生労働省が運用する食中毒調査支援システム(NESFD)内に設けました V-Nus Net への還元も昨年からは開始したところです。

以上の背景から、平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金・食品の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」において、ウイルス性食中毒調査の精度向上に関する分担研究として、ノロウイルス等のシーケンスデータの共有化について別紙の実施要領に基づき、さらに規模を広げた形で実施したいと考えています。

また、登録いただいたデータの一部につきましては、同研究班の新規研究として国立感染症研究所・ウイルス第二部 脇田隆字先生、片山和彦先生、石井孝司先生が中心として実施される食品媒介ウイルスに関するデータの国際的な共有化（グローバルネット）への連動も計画されています。

つきましては、ご参加いただける先生は、下記によりご連絡いただければ幸いです。ご多忙とは存じますが、よろしくお願いいたします。

1. 回答方法

下表のフォーマットに従いエクセル(エクセル 2007 以下の形式)で回答用のファイルを作成して、野田までメールでご連絡ください。参加いただけない場合は、連絡は不要です。

(1) エクセルシートの表形式

	A	B	C	D	E	F	G
1	参加者氏名	メールアドレス	所属機関名	部署	郵便番号	住所	電話番号
2	衛研 太郎 (記載例)	eiken@jiti. pref. go. jp	自治体 研究所	ウイルス課	123-4567	地方県衛生市 研究町 1-2-3	03-4567-8901
3							

(2) シート名：任意

(3) エクセルファイル名：所属機関名（例：北海道立衛生研究所）

2. 連絡先メールアドレス：mamorunoda@nihs.go.jp

3. 回答期限：6月17日(金)

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金・食品の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」
分担研究「ノロウイルスデータベース共有化の試み」実施計画

1. 実施目的

全国からの食中毒等集団発生由来株を中心とするノロウイルス、サポウイルスのシーケンスデータを収集し、分子疫学的に解析し、その結果を還元することを試行的に実施することにより、広域食中毒事例(Diffuse outbreak)の早期発見などノロウイルスの食中毒調査の精度向上に資するとともに、シーケンスデータ共有のメリット、問題点等を把握し、実行性を伴うデータ共有体制の構築に向けての基礎資料とします。

2. 登録対象ウイルスと解析部位

登録対象ウイルスはノロウイルス、サポウイルスとし、原則として2011年1月1日～2012年3月31日に採取された検体から検出されたものとします(来年度、以降も継続実施する予定)。

ウイルスの由来は、食中毒事例、食品媒介感染が疑われる事例から検出された株を優先してください。もちろん集団感染事例や散发例に由来する株や環境由来のものでも構いません。

解析部位はCapsid上流の部分シーケンスを主な対象としますが、それ以外のポリメラーゼ、Capsid高度可変領域等、どの部位でも構いません。

(注) すべての検出株について登録いただく必要性はありませんが、**最低限、行政的に食中毒と断定された事例に由来する株は登録してください。**なお、サポウイルスの集団発生事例は少ないと思いますので、由来は特にこだわりません。

3. 登録時期

解析を特に急ぐ必要はありませんが、解析を実施したらできるだけ速やかに登録してください。

4. 登録方法の概要

CaliciWeb(<http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calicinew/>)にアクセス後、ユーザー名、パスワードを入力し、研究班専用のフォーラム(研究班2009)に入り、FASTA形式でデータをコピー&ペーストし、フォーラムに投稿してください。登録方法やCaliciWebへのloginの方法等については、後述のメーリングリスト等でご連絡いたします。

研究班2009フォーラムには研究班のメンバーしか入ることができません。

5. 株の命名法

以下の規則に従って、間違いのないように登録してください。

株名は検体採取年月，地研コード，由来区分，各研究所での株名を半角のハイフン「-」でつなげたものとします。

採取年月：西暦の下二+月をそれぞれ2ケタの数字で連続して記載

例 2011年6月=1106

(注意) 集団発生の場合は，発生日または最も早い検体採取日

地研コード：病原微生物検出情報の地研コード(3桁) (例) 北海道=011

由来区分：

由来区分は，食品媒介集団発生(疑い例を含む)か食品非媒介集団発生(不明事例を含む)の区分を示し，それぞれ以下のイニシャルとします。

食品媒介(疑いを含む) 集団発生由来=F

食品非媒介(疑い，感染経路不明を含む) 集団発生=0(半角大文字の”オー”)

研究所での株名：各研究所における株名，検体番号等

(株名の制限)

株名は半角30文字までとし，半角英数字の他，半角のハイフン「-」，半角のアンダーバー「_」，半角のスラッシュ「/」は使用可能です。

同一の株名が存在した場合は解析エラーとなります。同一事例由来株などはそれぞれが区別できるように命名してください。

(株名の例)

1104-011-F-110904

2011年4月(1104)に北海道(011)で食品媒介事例(F)から検出され，同研究所での株名が110904の株。

1106-471-0-230506

2011年6月(1106)に沖縄県(471)で食品非媒介事例(0)から検出され，同研究所での株名が230506の株。

6. データの還元

登録されたシーケンスデータは国立感染症研究所・ウイルス第二部等において系統

樹解析を行い、得られた系統樹を PDF ファイルとして CaliciWeb の「ダウンロード」ページにアップロードします。「ダウンロード」のページはオープン環境であるため、研究班のメンバーに限らず、誰でもアクセスでき、PDF ファイルをダウンロードすることにより系統樹解析結果を参照することができます。解析結果の一部は、NESFD 内の V-Nus Net にも還元します。

7. シークエンスデータの取り扱い

「研究班 2009」フォーラムはアクセスが許可された方(研究班メンバー)のみしかアクセスできませんが、許可された方は他の先生が登録したシークエンスデータを見ることができます。従って、その取り扱いは、以下の取り決めに従い十分に注意してください。

- ① 他の先生が登録されたシークエンスデータをコピーすることは原則禁止とします。
- ② 他の先生が登録したデータを利用したい場合は、登録された先生の許可を得てください。
- ③ ダウンロードした系統樹を論文、年報等で公表する場合は、野田に連絡の上、本研究班のデータであることを明記して公表してください。

8. 情報交換

株の登録、系統樹解析結果の登録（および各事例の疫学的情報、各地域での流行株の情報、検査法に関することなどの必要に応じた情報交換や情報共有）は、地方衛生研究所全国協議会のサーバーに設置しましたメーリングリスト(メーリングリスト名：楽しカリシ)内で行います(研究協力の承諾をいただいた先生のメールアドレスをメーリングリストに登録します)。

本メーリングリストで知り得た情報（以下「取得情報」という。）の中に、個人・法人情報が存在する場合は、行政機関の保有する情報の取扱いに係る関係法令に基づき、個人・法人情報を保護するものとします。また、取得情報は、国家公務員法及び地方公務員法にいう、守秘義務を厳守するものに該当するものとします。通常はそのような情報交換は行いませんが、当該情報があるような場合は、よろしく願いいたします。

9. 食品媒介ウイルスのグローバルネットとの連携

GII.4 に代表されるようにノロウイルスは世界規模で流行しており、また我が国は多くの食品を諸外国から輸入していることから食品媒介ウイルスの制御には世界規模でのデータの共有化が必要となります。このため同研究班の新規研究として国立感染症研究所・ウイルス第二部 脇田隆字先生、片山和彦先生、石井孝司先生が中心となり、食品媒介ウイルスに関するデータの国際的な共有化（グローバルネット）に関する研究が計画されています。本研究で収集されたデータの一部についてはこのグローバルネットと連携し、世界的なデータ共有に繋げる予定としています。

10. その他

上記の CaliciWeb の運営，データ解析作業は平成 23 年度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）食品由来感染症調査における分子遺伝学的手法に関する研究（H21-新興-一般-003）によって行われます。CaliciWeb に関するお問い合わせは，国立感染症研究所・ウイルス第二部 第一室 片山和彦先生までお願いいたします。

ご不明な点は野田までご連絡ください。

<p>(研究全般に関すること) 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 野田 衛 TEL 03-3700-9104 E-mail mamorunoda@nihs.go.jp</p>	<p>(CaliciWeb, グローバルネットに関すること) 国立感染症研究所 ウイルス第二部 片山 和彦 TEL 042-561-0771 E-mail: katayama@nih.go.jp</p>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

平成23年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

「食品に起因するウイルス感染症の流行調査と解析」

分担者報告書

ノロウイルスゲノムの分子進化

研究分担者	脇田 隆宇	国立感染症研究所	ウイルス第2部
研究協力者	片山 和彦	国立感染症研究所	ウイルス第2部
研究協力者	石井 孝司	国立感染症研究所	ウイルス第2部

研究要旨

我が国における食材に起因するウイルス性感染症の流行を把握し、適切な予防衛生対策を講じるため、国内だけでなくグローバルな観点で流行の動向を捉えることを目的として、グローバルな塩基配列情報、流行状況の情報交換を推進し分子疫学的手法を用いた解析を試みる。

A. 研究目的

食材に起因するウイルス性感染症には、ノロウイルス (NoV) , サポウイルス (SaV) , A型肝炎ウイルス (HAV) , E型肝炎ウイルス (HEV) が知られている。NoV, SaVは、非細菌性胃腸炎の原因ウイルスであり、毎年、我が国だけでも一万人程度の感染患者が報告され問題となっている。また、HAV, HEVは、発生数は年間数百例程度であるが、HAVの場合は国内における抗体保有者の割合の低下とともに感受性者が増大し、海外からの流入に伴い流行の発生が懸念されている。HEVは日本で飼育されているブタでのウイルス保有率が高く、人獣共通感染症としての対策も望まれる。

我が国は、食材をアジアに限らず、世界中の国々から輸入しており、国内における食材に起因するウイルス性感染症の流行は、海外における流行の影響を受けている可能性が高い。グローバルな塩基配列情報、流行状況の情報交換を推進し分子疫学的手法を用いた解析を試みる。

B. 研究方法、結果

1. 我が国における食材に起因するウイルス性感染症に関するデータ蓄積

NoV, SaVの国内流行株の把握：CaliciWebに登録された国内分離株の発生動向と、分子疫学解析の結果、本年度は夏場から、流行の発生が認められ、ノロウイルスGIが13都府県から110件（うち、GI/4 46件、GI/3 2件、GI/1, GI/14各1件、GI/NT 60件）、ノロウイルスGIIが43都道府県から1,046件（うち、GII/4 172件、GII/2 40件、GII/3, GII/13 各17件、GII/6 14件、GII/12 8件、GII/NT 778件）。サポウイルスが21都府県から83件（うち、GI 39件、GII 4件）報告された。報告患者数、事例数共に例年よりも低値であったが、流行のピークが2峰性を示し、10月から2月にかけて流行が続いた。流行したgenotypeにも変化が認められ、2006年より圧倒的多数を占めたgenotype GII. 4は約50%程度にまで低下し、GII. 3, GII. 2, GII. 12の流行が報告された。

HAV, HEV国内流行の把握と、流行株の把握：A型肝炎は1月から2月にかけて千葉市での大きな流行が報告され、最終的には確定診断で患者数49名であった。本事例は市内の寿司店が原因であることが明らかとなっている。GenotypeはIAであった。暫定報告

での本年の急性A型肝炎患者数は176名であった。近年の患者数は、流行のあった年以外は100から150名程度で推移しており、本年も千葉市の大きな流行を除けばほぼ例年通りであったと言える。ただ、昨年よりGenotype IIIAが検出されるようになってきており、韓国で2006年から報告されている大流行の原因となっているGenotypeがIIIAであることから注意が必要と思われる。E型肝炎は暫定報告では患者数は54名であり、ほぼ例年と同様であった。地域的には北海道が13名と引き続き多い傾向にある。

2. アジア近隣地域（韓国、台湾、中国）における食材に起因するウイルス感染症流行状況

本研究では、グローバルネットを構築し、世界的な食材に起因するウイルス感染症流行状況を時系列に把握して流行のメカニズム解析に役立てることを目標の一つにしている。これに先行して、アジア近隣諸国における分子疫学データ共有、ネットワークの構築を行うことを、本年度の研究活動の目的として、韓国、台湾、中国等のCDCとコンタクトをとり、疫学情報の交換を含めた共同研究の申し入れを進めた。

韓国-日本：Waterborne virus bank (www.knmrrc.kr) が存在する。しかし、これは、FDA主体で運営されており、核酸配列、アミノ酸配列、分子疫学データがあまり充実していない。従来より、共同研究体制にあった、Seoul National University, School of Public Health, Ko GwangPyo教授を通じて、韓国内の研究体制を模索したところ、Korea CDCのCheon Doo-Sung博士を紹介された。本年、ウイルス第二部では、Seoul National University, School of Public Health, Ko GwangPyo教授の教室より、朴英斌博士を期限付き職員として採用したこともあり、Seoul National Universityとの共同研究は順調に推移している。韓国語でのコミュニケーションの糸口がつかめたため、彼を通じて、ノロウイルス、サポウイルス、HAV、HEVの共同研究をKorea CDC, Cheon Doo-Sung博士に申し入れた。来年度より、NoV、HAVの分子疫学の共同研究が稼働する。

台湾-日本：下痢症ウイルス感染症データベース作成中。台湾 CDC の Director, Research & Diagnostic Center Director, National Influenza Center

Centers for Disease Control, DOH, Taiwan, Ho-Sheng Wu, Ph.D. (吳 和生), Head, Viral Enteric & Emerging Disease Lab Research & Diagnostic Center, Jyh-Yuanh Yang, Ph.D. (楊志元), Viral Enteric & Emerging Disease Lab, Research & Diagnostic Center, Fang-Tzy Wu, Ms. (吳 芳姿) の3名と共同研究が進行している。

この共同研究は、厚生労働科学研究費 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業、アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化に関する研究 (H23-新興-指定-020) のプロジェクトとして進行中である。この研究は、検出手法の新規開発などを中心としており、分子疫学データベースには関与しない。台湾は、自国の食材に起因するウイルス性感染症に関するデータベースを保有していない。そこで、台湾 CDC の共同研究者にデータベース構築、疫学データ共有の共同研究を持ちかけた。来年度より分子疫学の情報交換を開始する。

HAV、HEVの共同研究は、韓国CDCのDoo-sung Cheon (千 斗城)博士とHAV流行株の解析結果の共有を検討しており、台湾CDCのPei-Yun Shu (舒 佩芸)博士とも情報交換を行う予定である。

中国：現状は不明

日本：我が国のNESID, NESFD, V-NUS netは、ドメスティックなデータのみを取り扱っている。日本が率先し他国と相互交換できる情報形態にして、情報公開を目指す。各国のCDCを窓口として、情報の交換を進める。

台湾CDCとの共同研究は、倉根班のアジア連携プロジェクトで稼働中である。倉根班では、主に、新規手法による下痢症ウイルスの超高感度迅速検出法の開発に取り組んでいる。しかし、これに用いるサンプルから得られる分子疫学情報を共有することについては、岡部班で行うこととなった。現在、2010年から2011年にかけて台湾でサンプリングされた161検体のノロウイルスまたは、サポウイルス陽性便検体を調査中。これらに含まれるウイルスの塩基配列を解析し、分子疫学の共同研究を展開する。

中国、オーストラリアに関しては、まだ、連携に着手していない。下痢症関係ウイルス(ノロウイルス、サポウイルス)については、我々の構築した塩基配