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) 「食中毒原因ウイルス等の汎用性を備えた検査法と 制御を目的とした失活法の開発のための研究」 総合研究分担報告(令和 4~6 年度)

# ノロウイルス等の検出・不活化評価のための研究

研究分担者 吉村和久 東京都健康安全研究センター 所長

研究協力者 貞升健志 東京都健康安全研究センター 微生物部

長島真美 東京都健康安全研究センター ウイルス研究科長

浅倉弘幸 東京都健康安全研究センター ウイルス研究科

横田翔太 東京都健康安全研究センター ウイルス研究科

黒木絢士郎 東京都健康安全研究センター ウイルス研究科

赤瀬 悟 東京都健康安全研究センター ウイルス研究科

### 研究要旨

ノロウイルスを原因とする食中毒事例の発生件数は、新型コロナウイルス感染症以降、以前と比べ著しく減少してきたが、2023年5月以降、再び増加し、2024年は事件数、患者数ともに最も多かった。東京都においては、2021年4月より食中毒事例におけるウイルス検査を集計した結果、1,013事例中365事例(36.0%)の胃腸炎発症者からウイルスを検出した。その内訳として、ノロウイルスを原因とする事例は360事例(98.0%)、サポウイルスは4事例(1.9%)、ロタウイルスは1事例(0.1%)であった。検出されたノロウイルスについて、Capsid領域の遺伝子型別を実施した結果、GIIが多かった。中でもGII.4は107事例と多く、GII.17は56事例、GII.2が49事例であった。さらに、食中毒検査を目的に搬入された1,287検体の食品についてウイルス検査を実施したところ、ノロウイルス等は7検体で検出された。また、市販のiPS細胞を用いたノロウイルスの培養では、検体中のウイルス量が10<sup>6</sup>以上あれば、ノロウイルスの分離が可能と思われ、糞便検体を85℃、5分間の加熱処理により増殖が抑制されることを確認することができた。

### A. 研究目的

食品からのウイルス検出率の向上により、食中毒事例の解明に寄与するとともに、食中毒未然防止に寄与することを本研究の目的とする。今年度は、2021年4月から2024年2月に東京都内で発生したウイルス性食中毒事例のウイルス解析および食品からのウイルス検出ならびに市販iPS細胞によるノロウイルスの分離を試みた。

### B. 研究方法

1. 東京都内で発生した食中毒事例におけるウイルス検出状況

2021 年 4 月から 2025 年 2 月に東京都内で 発生した食中毒事例 (有症苦情を含む)で、東 京都健康安全研究センターに検査依頼のあっ た 1,013 事例 (臨床検体および食品検体)に ついて、胃腸炎起因ウイルスの検索を行った。 また、ノロウイルス陽性事例については、代 表的な検体から Capsid 領域の核酸増幅・塩基 配列の解析を行い、遺伝子型別を実施した。 なお、食品からのウイルス検査は A3T 法 (秋場ら、日食微誌、 29, 38-41, 2012) により 実施した。

2. iPS 細胞を用いたノロウイルスの分離 市販のヒト iPS 細胞(富士フイルム和光純 薬)を用い、ノロウイルス陽性検体(糞便)か らのノロウイルスの分離ならびに加熱による ノロウイルス増殖の影響を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は東京都健康安全研究センター倫理 委員会により承認されている[3 健研健 466]

### C. 研究結果

## 1. 食中毒検体のウイルス検査結果

1,013 事例中 365 事例 (36.0%) の胃腸炎発症者の糞便材料からウイルスを検出した(図1)。検出したウイルスは、ノロウイルスが360事例 (98.0%)、サポウイルスが4事例 (1.9%)、ロタウイルスは1事例 (0.1%) であった。ノロウイルスについて Capsid 領域の遺伝子型別を実施した結果、GIが45事例、GIIが291事例であり、GIIの中ではGII.4が107事例と最も多く、GII.17は56事例、GII.2は49事例であった。これらの中で、GII.4およびGII.17は比較的満遍なく検出されていた(図1)。

## 2. 食品からのウイルス検出結果

食中毒検査を目的に搬入された 1,287 検体の食品からのウイルス検出を試み、7 検体(0.5%)からノロウイルスやロタウイルスが検出された(表1)。5 検体は二枚貝から、2 件はそれ以外の食品からであった。

3. iPS 細胞を用いたノロウイルスの分離

検体中のウイルス量が 10<sup>6</sup>以上あれば、市販 の iPS 細胞でもノロウイルスの分離が可能と 思われた。また、ジェノタイプ毎では、 GII. 2[P16] は約 300 倍、GII. 3[P12] は約 20 倍、 GII. 6[P7] は約 700 倍、GII. 7[P7] は約 1,000 倍、GII. 4[P16] は約 3.8 倍、GII. 17[P17] は約 1.5 倍に増加し、糞便検体を、85℃ で 5 分間加熱して培養が可能か調べたところ、加熱処理により増殖が抑制されることを確認した (図 2)。

# D. 考察

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の流行下 (2020年~2022年) では、食中毒事例の発生件数がそれ以前と比べ著しく減少していたが、2023年以降には増加に転じ、2024年には食中毒事件数、患者数において他の病原因子と比較し最も多かった。

一方で、食品からの検出率においては、それほど変化はなく、ウイルス量の多い食品においてのみの検出と考えられた。今後はさらなる検出率の向上に向けた検討が必要である。

ノロウイルスの培養については、市販のヒト iPS 細胞を用いた分離が可能であり、熱処理による増殖抑制効果を確認することができた。一方で、市販 iPS 細胞は高価であることから、今後は、オルガノイドを用いた培養についても検討していく予定である。

### E. 結論

2021 年 4 月以降、1,013 事例中 365 事例 (36.0%) の胃腸炎発症者の糞便材料を検査し、種々のウイルスを検出した。検出したウイルスは、ノロウイルスが 360 事例 (98.0%)、サポウイルスが 4 事例 (1.9%)、ロタウイルスは 1 事例 (0.1%) であった。ノロウイルスについて Capsid 領域の遺伝子型別を実施した結果、GI が 45 事例、GII が 291 事例であり、GII の中では GII.4 が 107 事例と最も多く、GII.17 は 56 事例、GII.2 は 49 事例であった。これらの中で、GII.4 および GII.17 は

比較的満遍なく検出された。

食中毒検査を目的に搬入された 1,287 検体 の食品からのウイルス検出では、7 検体から ノロウイルスやロタウイルスが検出された。

iPS細胞を用いたノロウイルスの分離では、 検体中のウイルス量が 10<sup>6</sup>以上あれば、市販の iPS 細胞でもノロウイルスの分離が可能と思 われた。また、加熱処理により増殖が抑制さ れることを確認することができた。

### F. 健康危険情報

該当なし

### G. 研究発表

- 1. 論文発表
- 1) 横田 翔太, 浅倉 弘幸, 赤瀬 悟, 根岸 あかね, 伊藤 仁, 黒木 絢士郎, 小泉 美優, 岩崎 直哉, 北村 有里恵, 磯貝 まや, 九澤 香織, 林 志直, 長島 真 美, 貞升 健志: 市販のヒト iPS 細胞由 来腸管上皮細胞を用いたヒトノロウイ ルス分離培養方法の検討, 東京健安研 セ年報, 75, 141-147, 2024. (吉村和 久)
- 2) 浅倉 弘幸,赤瀬 悟,横田 翔太,岩崎 直哉,磯貝 まや,林 志直,根岸 あかね,伊藤 仁,黒木 絢士郎,小泉 美優,北村有里恵,九澤 香織,長島 真美,貞升 健志:東京都における胃腸炎ウイルスの検出状況(2022年度~2023年度),東京健安研セ年報,75,125-131,2024.(吉村和久)
- 3) 村上 昂, 2022 年の全国及び東京都にお ける食中毒発生状況, 東京都微生物検査 情報, 44, 1-3, 2023. (吉村和久)
- 4) 浅倉弘幸,東京都における胃腸炎起因ウ イルスの検出状況(2022/23 シーズン),

東京都微生物検査情報, 44, 4-7, 2023. (<u>吉村和久</u>)

- 5) 矢尾板優, 長谷川道弥, 浅倉弘幸, 永野美 由紀, 林志直, 根岸あかね, 河上麻美代, 林真輝, 山崎貴子, 黒木絢士郎, 磯貝ま や, 北村有里恵, 加來英美子, 藤原卓士, 鈴木淳, 三宅啓文, 長島真美, 貞升健志: 東京都内で検出されたノロウイルスの遺 伝子解析(2021年度), 東京健安研セ年 報, 73, 123-130, 2022. (吉村和久)
- 6) 永野美由紀, 浅倉弘幸, 矢尾板優, 鈴木 愛, 磯貝まや, 藤原卓士, 根岸あかね, 河 上麻美代, 伊藤仁, 黒木絢士郎, 横田翔 太, 北村有里恵, 加來英美子, 長谷川道 弥, 三宅啓文, 千葉隆司, 鈴木淳, 長島真 美, 貞升健志:東京都の感染症発生動向 調査事業における感染性胃腸炎のウイル ス検出状況(2019年度~2021年度), 東 京健安研セ年報, 73, 101-107, 2022. (吉 村和久)

### 2. 学会発表

- 1) 横田翔太,浅倉弘幸,黒木絢士郎,磯貝まや,岩崎直哉,林志直,赤瀬悟,長島真美,貞升健志,(<u>吉村和久</u>). 市販のヒトiPS 細胞由来腸管上皮細胞によるヒトノロウイルス培養と加熱による増殖抑制の検討. 第71回日本ウイルス学会学術集会. 2024.11/4-6. 愛知県.
- 2) 浅倉弘幸,横田翔太,磯貝まや,林志直, 永野美由紀,藤原卓士,三宅啓文,長島真 美,貞升健志,(<u>吉村和久</u>).東京都内で 発生したノロウイルス食中毒事例におけ る全長遺伝子解析,第44回日本食品微生 物学会学術総会. 2023.9/21, 22, 大阪 府.
- 3) 浅倉弘幸, 永野美由紀, 矢尾板 優, 鈴木 愛, 磯貝まや, 藤原卓士, 三宅

啓文, 長島真美, 貞升健志, (<u>吉村和</u> <u>久</u>). 日本食品衛生学会第 118 回学術講 演会. 2022. 11/10, 11, 長崎県.

# H. 知的財産権の出願・登録

1. 特許取得:なし

2. 実用新案登録:なし

3. その他:なし

_		搬入数	陽性数	陽性検体
	二枚貝	101	5	牡蠣
	一般食品	1,186	2	フルーツ、わかめそばの具

フルーツ: ノロウイルスGII (遺伝子型: GII.4[P16]) わかめそばの具: ロタウイルス (遺伝子型G8P[8])

表 1 東京都内で発生した食中毒事例における食品からの ウイルス検出状況 (2021年4月~2025年2月)

- ●リアルタイムPCR法による胃腸炎起因ウイルス検査
- 1,013事例中365事例 (36.0%) の胃腸炎発症者からウイルスを検出 検出されたウイルス (内訳)
  - ・ノロウイルス 360事例 (98.0%)
  - ・サポウイルス 4事例 (1.9%)
  - ・ロタウイルス 1事例(0.1%)
  - ・食品検査は1,287検体
- Jロウイルス(Capsid領域の遺伝子型別を実施)

GII:291事例、GI:45事例

GII.2 49事例(16.8%)、GII.4 107事例(36.7%)、GII.17 56事例(19.2%)

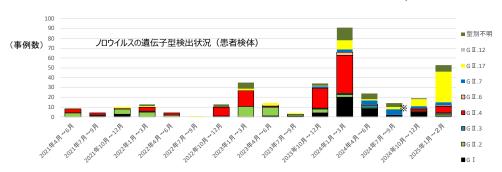
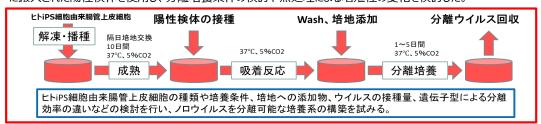


図 1 東京都内で発生した食中毒事例におけるウイルス検出状況 (2021年4月~2025年2月)

●分離培養方法が確立されていないノロウイルスについて、市販のヒhiPS細胞由来腸管上皮細胞および当センターに搬入された陽性検体を使用し、分離培養条件の検討や熱処理による増殖性の変化を検討した。



検体中のウイルス量が10<sup>6</sup>以上あれば、市販のiPS細胞でもノロウイルスの分離が可能と思われた。また、ジェノタイプ毎では、GII.2[P16]は約300倍、GII.3[P12]は約20倍、GII.6[P7]は約700倍、GII.7[P7]は約1,000倍、GII.4[P16]は約3.8倍、GII.17[P17]は約 1.5 倍に増加し、糞便検体を、85℃で 5 分間加熱して培養が可能か調べたところ、加熱処理により増殖が抑制されることを確認した。

図2 ヒトiPS細胞由来腸管上皮細胞を使用したノロウイルス分離法の検討