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」 分担報告書

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

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前と比べ著しく減少していたが、新型コロナウイルス感染症が5類定点疾患となって以降、2024年には再び増加した.

東京都において、食中毒事例からのノロウイルスを原因とする事例を調査した結果、遺伝子型 GII が多く、中でも GII. 4、GII. 17、GII. 7 等が多くを占めた。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 10⁶以上あれば、ノロウイルスの分離が可能 と思われ、85℃で 5 分間等の条件での加熱処理により増殖が抑制されることを確認した。

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、2024年1月から2025年2月までに、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のiPS細胞を用いノロウイルスの培養を試みた.

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

2024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.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 るウイルス増殖への影響を検討した.

(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) 東京都における食中毒とノロウイルス遺伝子型

2011 年~2025 年の東京都内食中毒の推移 (事件数)を図1に示す.2017年以降,事件 数ではアニサキスによるものが最も多かった が,2024年ではノロウイルスによるものが最 も多かった.また,患者数においても,2023 年,2024年とノロウイルスによる患者数が最 も多かった(図2).

2024年1月から2025年2月までのノロウイルス遺伝子型を調べたところ, GII. 4, GII. 17, GII. 7 等が多くを占めていた(図3).

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 (2021 年 4 月~2025 年 2 月),7 検体からノロウイルス,ロタウイルスが検出された (表 1).5 検体は二枚貝,2 検体はそれ以外からの検出であった.

3) 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 るウイルス増殖への影響を検討したところ、 糞便検体中のウイルス量が 10⁶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4).

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、ノロウイルスによる食中毒事例の発生件数はそれ以前と比べ著しく減少していたが、2024年には事件数、患者数ともに大きく増加している. 2024年1月から2025年2月までのノロウイルス遺伝子型を調べたところ、GII.4、GII.17、GII.7等が多くを占めていたが、今後も継続し、遺伝子型の推移を注視していく必要がある.

ノロウイルスの培養においては、市販のヒトiPS細胞の利用が可能であり、熱処理効果の判定での使用も可能であった。今後は、オルガノイド等を用いた他のノロウイルス分離法についても検討していく予定である。

E. 結論

東京都内食中毒事例では、2017年以降、事件数ではアニサキスによるものが最も多かったが、2024年ではノロウイルスによるものが最も多かった。また、患者数においても、2023年、2024年とノロウイルスによる患者数が最も多かった。

2024年1月から2025年2月までのノロウイルス遺伝子型を調べたところ,GII.4,GII.7等が多くを占めていた.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を試み,7検体からノロウイルスやロタウイルスが検出された(検出率0.5%).

市販 iPS 細胞を用いたノロウイルスの分離では、糞便検体中のウイルス量が 10^6 以上あれば、ノロウイルスの分離が可能と思われた. また、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、熱処理等の 効果にも市販 iPS 細胞の使用が可能であるこ とが判明した.

2. 実用新案登録:なし

3. その他:なし

F. 健康危険情報

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)

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,(吉村和久):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.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得: 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)

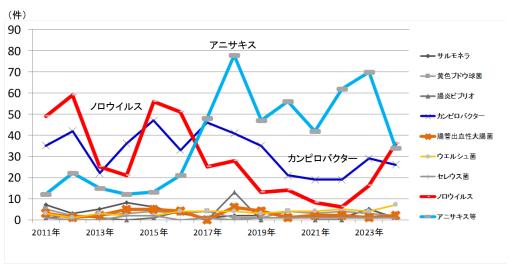


図1 病因物質別食中毒発生状況(事件数) (東京都、2011-2024年)

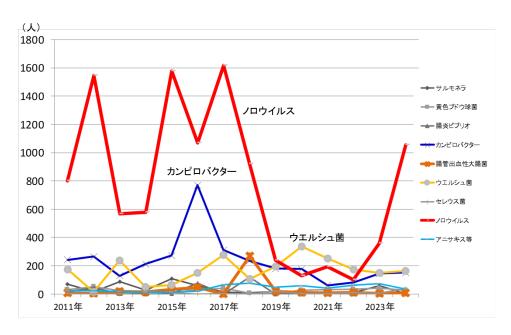


図2 病因物質別食中毒発生状況(患者数) (東京都、2011-2024年)

●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hPS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10⁶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4 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

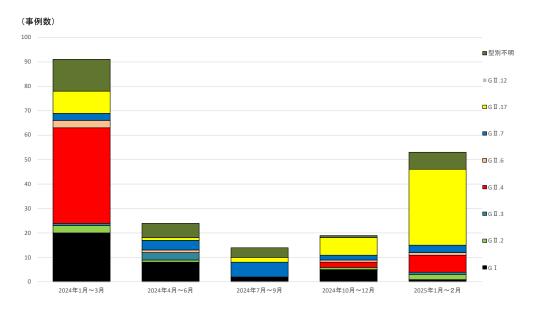


図 3 東京都内で発生した食中毒事例におけるウイルス検出状況 (2024年1月~2025年2月)