

令和 7 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）
「食品取扱現場における効果的なウイルス汚染対策の策定のための研究」
分担報告書

腸管オルガノイド系による感染性ウイルス評価

研究分担者 村上 耕介
国立健康危機管理研究機構 国立感染症研究所 検査診断技術研究部 室長

研究概要

ノロウイルスはこれまで培養効率が低く、感染性の定量評価が難しいことが課題となっており、その改善が求められている。本研究では、ヒト腸オルガノイドを用いた培養系においてノロウイルスの感染効率を向上させることを目的とし、ウイルス増殖を制限する宿主免疫応答に着目した。二種類の宿主免疫応答関連化合物を用いて、その抑制が感染効率に与える影響を検討した結果、化合物の併用により、特にGII.17ノロウイルスの増殖が顕著に促進され、安定した継代培養が可能となることを示した。さらに、継代によりウイルスの増殖能が向上することも確認された。これらの成果は、ノロウイルスの培養系の改良につながり、食品中ノロウイルスの不活化評価や衛生管理の高度化に貢献する基盤技術となることが期待される。

A. 研究目的

ノロウイルスは急性胃腸炎を引き起こす主要病原体で、大規模食中毒事例を引き起こすことから世界中で不活化条件が調べられている。しかし再現性の高い培養系が長年未確立であったため、現在のガイドライン等に使用されている不活化条件は、培養可能な近縁ウイルスを用いて「間接的」に策定されたものであり、その確実性には疑問が残されている。本研究分担者らのグループは、令和 4-6 年度厚労研究班（上間代表）における先行研究において、腸管幹細胞由来オルガノイドおよび iPS 由来腸管上皮細胞を用いた *in vitro* 培養系を用いることで、ノロウイルスの加熱不活化条件を検証した。その結果、加熱条件「85-90℃で 90 秒以上」を実証したが、各培養系におけるノロウイルスの感染効率は依然と低く、定量的感染性評価を行うことが難し

い状況である。本年度は、細胞宿主免疫反応の抑制によるノロウイルスの感染効率向上を目指した研究を実施した。

B. 研究方法

腸管幹細胞由来オルガノイド（HIO）は、既報に従って培養および感染実験を行った（Murakami et al, PNAS, 2020）。ノロウイルスの感染実験には、2D 単層培養した HIO を供した。ノロウイルスは患者便由来試料から調製し、PBS で希釈後、遠心および 0.22 μm フィルターで濾過した濾液を使用した。感染実験では、細胞を化合物 A および/または化合物 B で前処理した後、GCDCA を含む培地中で HuNoV を一定時間感染させ、その後洗浄して同条件で培養した。感染後 96 時間で細胞からウイルスを回収し、凍結保存してウイルスストックを作製

した。ウイルス量の評価は、RNA 抽出後に RT-qPCR でゲノムコピー数を測定して行い、標準曲線により定量した。

なお本研究で用いた HIO はベイラー医科大学が樹立したものを、国立感染症研究所人を対象とする生命科学・医学系研究倫理審査委員会からの承認を受け、MTA を締結した上で譲渡されたものを使用した。

C. 研究成果

HIO へのノロウイルスの感染時に、細胞宿主免疫反応を抑制する二種類の化合物を添加したところ、化合物 A 単独ではノロウイルス複製への有意な影響は認められなかったが、化合物 B 単独では GII.17 や GII.3 の複製が増加傾向を示した。さらに両化合物を併用することで、HuNoV（特に GII.17）の複製が有意に増強され、48 および 96 時間後には最大で約 10 倍以上の増加が認められた。また、この併用条件により GII.17 は少なくとも 5 代（P5）まで安定して継代可能となり、継代ウイルスは元の便由来ウイルスよりも高い増殖能を示した。

D. 考察

本研究から、ノロウイルスの増殖には細胞宿主免疫反応が制限因子として関与しており、これらを同時に阻害することで増殖が効率的に促進されることが示された。一方で、化合物 A 単独では効果が見られず、実験条件やウイルス株の違いが影響している可能性がある。また、継代によってウイルスの増殖能が向上したことから、HIO への適応が進行している可能性が示唆された。さらに、遺伝子型によって増殖促進効果に差が見られたことから、宿主応答やウイルス側の特性の

違いが関与していると考えられる。今後は、複数の HIO 系や条件での検証、ならびに適応変異や作用機序の詳細な解析が必要である。

E. 結論

本研究は、ヒト腸オルガノイドを用いた培養系において、二種類の化合物の併用によりノロウイルスの増殖効率が大幅に向上し、安定した継代培養が可能になることを示した。この手法により、これまで困難であった高力価ウイルスストックの作製が可能となり、食品中のノロウイルスの不活化評価や検出法の高度化に資する基盤技術となる。特に食品業界においては、ノロウイルスは食中毒の主要原因であるが、実験室での培養が難しいため、消毒・加熱条件の評価やリスク評価に制約があった。本研究で示された培養法は、実験室でのウイルス増幅と継代を可能にすることで、食品加工や衛生管理における科学的根拠の強化に貢献することが期待される。さらに、実際の食品や環境試料に近い条件でのウイルスの挙動評価や、不活化技術（加熱、消毒剤、洗浄プロセスなど）の検証にも応用可能である。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Hayashi T, Kobayashi S, Hirano J, Murakami K. Human norovirus cultivation systems and their use in antiviral research. J Virol. 2024 Apr 16;98(4):e0166323.

2. 学会発表

(1) Murakami K, Hayashi T, Kagimoto F, Tamiya S, Sakon N, Takahashi T, Sakagami A, Uema M, Sato S. Evaluation of heat inactivation of human norovirus using two distinct cultivation systems. 9th International Calicivirus Conference, Canada. Oct 7-13, 2025.

(2) Takahashi A, Takemoto S, Kamaishi T, Murakami K. Feeding- and temperature-dependent accumulation of norovirus like particles in oysters.. 9th International Calicivirus Conference, Canada. Oct 7-13, 2025.

(3) 林豪士, 藤井克樹, 小林さくら, 村上耕介. ヒトノロウイルス増殖を規定する宿主因子・経路の探索研究. 第 72 回日本ウイルス学会学術集会.

(4) 鍵本風花、民谷繁幸、林豪士、左近直美、高橋知子、坂上亜希恵、上間匡、村上耕介、佐藤慎太郎. 熱処理によるヒトノロウイルスの不活化における *in vitro* 培養系での検討. 日本薬学会第 146 年会.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

該当なし