

話題の感染症

ノロウイルス感染症：最近の研究の展開

Norovirus infection: some new developments in its research

なか ごみ おさむ
中 込 治
Osamu NAKAGOMI

要 旨

ノロウイルスとは国際ウイルス命名委員会が決定したカリシウイルス科ウイルスの分類上の新しい「属」名であり、従来、ノーウォークウイルス、ノーウォーク様ウイルス、小型球形ウイルス(SRSV)などと呼ばれていた一群のウイルスが該当する。一般報道でもノロウイルスが広く受け入れられてきているのは望ましい。食品衛生法に規定される食中毒事件票中の「小型球形ウイルス」が「ノロウイルス」と改められた(2003年)ことは、単なる用語の変更にとどまらず、わが国の食中毒統計がウイルス学的に厳密になったことを意味し、大きな進展である。さらに、国立感染症研究所が作成している標準化したPCR法の検査マニュアルは世界的水準に照らして優れたものであり、わが国の当該分野における国および地方公衆衛生研究機関の高い水準の反映である。ELISAによる抗原検出法の実用レベルでの完成も間近い。ノロウイルスはウイルス性食中毒の95%以上を占める重要な病原体である。また、ノロウイルスは乳幼児期から成人に至るまでの幅広い年齢層における散発性および集団発生型胃腸炎の原因である。分子細胞レベルでの研究から、組織-血液型抗原の構造の一部がノロウイルスのレセプターになっているものと推定され、組織-血液型抗原を消化管の粘膜上皮細胞に発現しない非分泌型個体がノロウイルス感染に対して先天的に抵抗性をもっていることが分かった。ノロウイルス研究は今後ますます加速され、散発性ウイルス胃腸炎における臨床的意義を含め、ノロウイルス感染症の全体

像がより明確になるものと期待される。

はじめに

1999年4月から施行され、2003年11月に改正された「感染症の予防および感染症の患者の医療に関する法律(感染症法)」に基づく感染症発生動向調査によれば、定点当たりの患者数が最も多い感染症は5類感染症である感染性胃腸炎である。全国3,000カ所の小児科定点の患者数を基にした厚生労働省の調査研究班の推計によれば年間患者数は約900万人である^{1,2)}。これを全年齢層に敷衍して考えると、感染性胃腸炎患者数は膨大なものとなり、毎年全国民の数人に1人の割合で、医療機関を受診する感染性胃腸炎患者が発生していることになる。

感染性胃腸炎は嘔気、嘔吐、下痢、発熱、腹痛などを主症状とする症候群の診断名であり、多くの病原体で起こる。少なくともその半数以上が非細菌性であることから、原因ウイルスの探索が精力的に進められ、1972年に最初の胃腸炎ウイルスとして発見されたのがノーウォークウイルス、すなわち今日のノロウイルスである³⁾。発見者はサバティカルを利用し6カ月間の英国留学で修得した免疫電子顕微鏡法 immune electron microscopy (IEM) をはじめて未知のウイルスの探索に応用した米国国立衛生研究所の Albert Kapikian であった⁴⁾。

振り返ってみるとノロウイルスの発見から分類と命名が確定するまで30年を要したことになる。ウイルスの分類と命名は、一見すると学者のペダントリーのように、些細なことへのこだわりのようにみえる。しかし、分類と命名というのは現実の世界で

の誤解のない使用を企図した実用上の使命が大きい。国際ウイルス命名委員会 International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) は「実用性のあるウイルスの分類体系は、その時代までに得られているそのウイルスについての情報に依存するものであって、その時代に利用可能な最先端技術を反映して決められている」という基本姿勢をとっている⁵⁾。多くのウイルス同様、ノロウイルスの世界でも、電子顕微鏡での粒子ウイルス学 particle virology の時代から、遺伝子レベルでの同定が基本となるゲノムウイルス学の時代になっている。本稿ではこのノロウイルスの分類と命名、診断、臨床的・疫学的特徴について最近の知見を中心に解説する。

I. ノロウイルスの分類

1. ノロウイルスとカリシウイルス科ウイルス

ウイルスの分類で重要なのは上位から下位に向かって、「科 family」, 「属 genus」, 「種 species」の3つである。分類学的にみるとノロウイルス *Norovirus* はカリシウイルス科ウイルス、学名では *Caliciviridae* (カリシヴィリダイと発音) というが、その中に作られた新しいウイルス属の名前である。名前の由来は Norwalk の最初の3文字に複合語を作る場合に使われる連結辞 o により virus と結びつけて1語にしたものである。

カリシウイルス科ウイルスの中には表1に示すように、ノロウイルス *Norovirus* 以外に3つのウイルス属がある。これらの中でヒトを自然宿主とし病原性を示すウイルスとしてはサポウイルス *Sapovirus*

表1 カリシウイルス科ウイルスの分類

ウイルス属 Genus	ウイルス種 Species
ノロウイルス <i>Norovirus</i>	ノーウォークウイルス <i>Norwalk virus</i>
サポウイルス <i>Sapovirus</i>	サッポロウイルス <i>Sapporo virus</i>
ラゴウイルス <i>Lagovirus</i>	ウサギ出血病ウイルス <i>Rabbit hemorrhagic disease virus</i> ヨーロッパ褐色野ウサギ症候群ウイルス <i>European brown hare syndrome virus</i>
ベジウイルス <i>Vesivirus</i>	豚水疱疹ウイルス <i>Vesicular exanthema of swine virus</i> ネコカリシウイルス <i>Feline calicivirus</i>

がある。ノロウイルスとサポウイルスは並列して取り上げられることも多いが本稿では詳しい言及は避ける。わが国のウイルス性下痢症研究者が作ったワーキンググループでもノロウイルスとサポウイルスをまとめてヒトカリシウイルスと呼ぶのは誤解を起しやすいため極力避けるよう提言している⁵⁾。

2. 小型球形ウイルスとノロウイルスの関係：食品衛生法による食中毒事件統計

ところで、2003年8月29日には、食品衛生法等の一部を改正する法律(平成15年法律第55号)の一部が施行され、このときに食中毒事件票中の「小型球形ウイルス」が「ノロウイルス」に改められた。小型球形ウイルスすなわち small round-structured virus (SRSV) がノロウイルスに名称変更になることにより起こるウイルス学的同定の変化について、少し解説する。

ウイルス性食中毒に対する行政対応の中で病因ウイルスの同定に際し重要な役割を担っているのが地方衛生研究所である。ほとんどの地方衛生研究所では、食品衛生法施行規則が改正され食中毒の病因物質に小型球形ウイルスが加えられてからこの方、小型球形ウイルスを検索する場合ノロウイルス検出用プライマーを用いた核酸診断(RT-PCR法)を行っているのが実態である。すなわち、小型球形ウイルスというウイルスの粒子形態に基づく名称でありながら本来の定義から離れ、ゲノム情報に基づく核酸診断による検査で同定されていたのである。核酸診断によって、形態学的名称である小型球形ウイルスを使うことには問題はない。注意しなければならないのは、その逆がそのまま成り立たないことである。電子顕微鏡で観察した結果、小型球形ウイルスが観察されてもノロウイルスと診断してはならないのである。その理由は次の2点に要約される。第一は、ノロウイルスの診断はあくまでも遺伝子レベルでなされることが基本であるからである。今後他の検査法によってもノロウイルスと診断できるものが出てくるとすれば、ELISAによる抗原診断である。理由の第二は、ノロウイルス以外のウイルスでも電子顕微鏡下に小型球形ウイルスと同定されることがありうるからである。電子顕微鏡で観察されたウイルスはサポウイルス(サッポロウイルス)あるいはアストロウイルスであるかもしれないし、プラ

イマーのミスマッチにより増幅されなかったノロウイルスであるかもしれない。今回の改正以前では、これらはすべて小型球形ウイルスとして報告されていた。しかし、今回の改正でノロウイルスと分類されるのは、核酸診断でノロウイルスと同定されたもののみであり、統計に上がってくるものはウイルス学的に確定したものとみなせる点が従来との大きな違いであり前進である。

一部の地方衛生研究所では核酸診断でノロウイルスが検出されなかった場合、検体を電子顕微鏡で観察をするところがある。このとき形態学的に小型球形ウイルスが観察された場合はどうするのか。核酸診断でノロウイルスが検出されず、電顕形態学的に小型球形ウイルスが観察された場合は「ノロウイルス以外の小型球形ウイルス」と記載されることになる。繰り返しになるが、このようなウイルスは従来統計では小型球形ウイルスとなっていたので、データの解釈に当たって注意が必要である。

このようなウイルスについて、さらにサッポロウイルスやアストロウイルスのプライマーを使って検出を試み、あるいはアストロウイルスの分離を培養細胞で試み、いずれかのウイルスが検出されたとする。そうなれば、病因物質の種類は「その他のウイルス」となり、病因物質はサッポロウイルスやアストロウイルスなど個別に同定されたウイルス名が使われることになる。

3. ノロウイルスとノーウォークウイルス

ノロウイルスはカリシウイルス科にある4つのウイルス属の1つであり、ノロウイルス属の中で、今のところ唯一のウイルス種がノーウォークウイルス *Norwalk virus* である。ノーウォークウイルスは正式な分類上の種名であるので大文字で書き始め、またラテン語化された単語として扱われるので斜字体(イタリック体)で書き表す。

分類学上の最小単位は種 *species* である。ICTV は分類学 *taxonomy* 上の問題を扱うので、ICTV が関知する最小単位はウイルス種 *species* である。種は、門、科、属とともにいずれも分類学上の抽象的概念であって、個別のもの(ウイルス)ではない。ウイルス種をどう定義するかはウイルス研究に応用できる時代の先端技術と考え方が反映される。最近の ICTV の考え方によれば、ウイルス種とはゲノ

ムのコーディングストラテジーを含めた塩基配列情報に加え、宿主域、病原性などさまざまな観点から定義される多元的 *polythetic* な概念である⁶⁾。

種は分類学の概念上の存在であるので、ノーウォークウイルス *Norwalk virus* というウイルス種を精製することはできない。精製できるのは具体的な実在物である株 *strain* である。実在の個体である株と分類学上の最小単位である種を結びつけるのが通常の生物分類学では模式標本 *type specimen* である。ノーウォークウイルス *Norwalk virus* というウイルス種に関して言えば、1968年オハイオ州ノーウォークの小学校で急性胃腸炎の集団発生を起こしたオリジナルの(またはそこからボランティアで継代した)ウイルス株、すなわちノーウォークウイルス株が模式標本である。当然のことながら、1つの種を定義する模式標本は世の中にただ1つしか存在しない。

世の中にただ1つしか存在しないウイルス株としてのノーウォークウイルスと種としてのノーウォークウイルスの区別は紛らわしい。そこで、オリジナルのノーウォークウイルスは *Norwalk/68* 株などと書き表すことが推奨されている。イタリック体であるかどうかはあまりあてにならない。細菌の学名の場合、少なくとも学術的文章の中では、これを常にイタリック体で表現するが、ウイルスの学名となるとそこまで慣習は徹底していない。種や属を表す学名である *Norovirus* や *Norwalk virus* を *Staphylococcus aureus* のごとく常にイタリック体で表現しなければならないという強迫観念にとらわれる必要はない。

ノーウォーク様ウイルス *Norwalk-like virus* (NLV) という用語は、ノロウイルスという正式属名が決定するまで ICTV が暫定的に用いたことがある。また、米国では長期間にわたり今日いうところの種としてのノーウォークウイルスを表す単語として定着してきた。今後このノーウォーク様ウイルス *Norwalk-like virus* (NLV) という単語を使う必要は全くない。

結論としてノロウイルスとノーウォークウイルスのどちらを使うのが正しいのか。今のところ一属一種であり、種レベルの違いを定義する特徴は記載されていない。したがって、どちらを使っても同一群のウイルスを意味する。現役のウイルス性下痢症研究者のほとんどは、分類学上の体系的整合性を重

視するより、ノーウォークウイルスという単語をノーウォークウイルス株 (Norwalk/68株) と同様のものとして認識してきた背景があるため、ノロウイルスに乗り換えたいという心理的状况であろう。そこで、*de facto* な標準的用法としてますますノロウイルスが多用されると思われる。

4. ノロウイルスを構成する多様なウイルス株

ノロウイルスは培養することができない。培養することができないウイルスにとってはゲノムの塩基配列情報は決定的重要性をもつ。その意味で1993年の米国の Jiang ら⁷⁾ によるオリジナルの Norwalk virus (Norwalk/68株) と英国の Lambden ら⁸⁾ による Southampton virus (SHV/91株) の全塩基配列決定の影響は大きく、その後の10年間におけるノロウイルス研究の基礎を築いた。

ノロウイルスの分子疫学的研究から得られた最も重要な知見は、ノロウイルス株間のゲノムレベルでの多様性が著しいということである。しかし、この多様性も、最初はよく保存されているRNAポリメラーゼ領域で、次いでウイルス粒子の抗原性を担っているカプシド領域でも、genogroup I (GI) と

genogroup II (GII) とに大別できることが明らかになった。オリジナルのノーウォークウイルス Norwalk virus [M87661] (Hu/NV/NV/1968/US) とサザンプトンウイルス (Southampton virus [L07418] (Hu/NV/SHV/1991/UK) は湾岸戦争の時に分離されたデザートシールドウイルス Desert Shield virus [U04469] (Hu/NV/DSV395/1990/SR) とともにGIに属するウイルスであり、ローズデールウイルス Lordsdale virus [X86557] (Hu/NV/LD/1993/UK)、メキシコウイルス Mexico virus [U22498] (Hu/NV/MX/1989/MX)、ハワイウイルス Hawaii virus [U07611] (Hu/NV/HV/1971/US)、スノーマウンテンウイルス Snow Mountain virus [L23831] (Hu/NV/SMV/1976/US)などはGIIに属するウイルス株である^{9,10)} (図1)。

ヒトに由来するノロウイルスに関するかぎり、多様なノロウイルス株もgenogroupの上からはGIとGIIにおさまるが、ウシやブタに由来するノロウイルスの解析が相次いで進み、これらは新しいgenogroupすなわち第3や第4のgenogroup (GIIIおよびGIV) に属すると解されるとされる。1976年英国のニューベリーでウシから電顕観察により発見されたカリシウイルスであるニューベリーウイルス Bovine

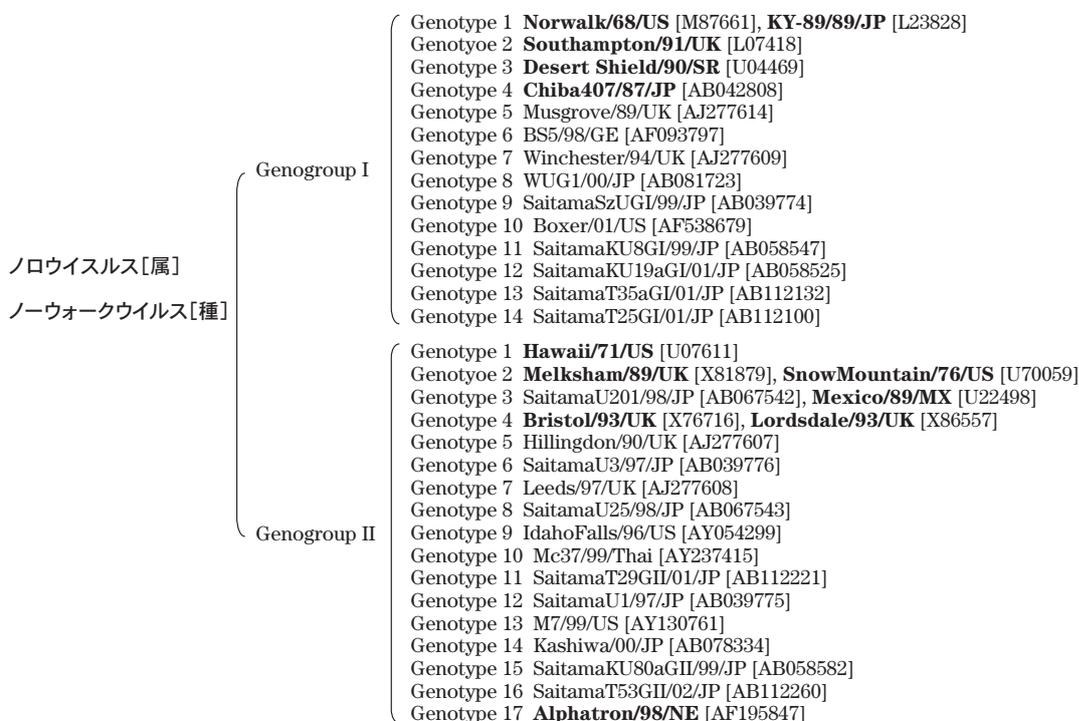


図1 ノロウイルスの分類

ノロウイルスの分類を模式的に示した。Genogroupより下位の分類は研究者の間で一般にgenotypeと言いつわされており、分子疫学的に重要であるにもかかわらず統一したナンバリングはない。ここに紹介したのは国立感染症研究所の片山和彦博士のご教示によるものである。なお、太字は著者が歴史的に有名な株であり、よく知られていると判断したものである。

enteric calicivirus [AF097917, AF097918] (Bo/NV/Newbury2/76/UK) は、ゲノムの塩基配列解析の結果ノロウイルス属のウイルスであると判明したが、その genogroup は GI と GII とも異なり、GIII に属するものであると提案されている¹¹⁾。わが国で発見されたブタカリシウイルス Swine calicivirus [AB009412] (Sw/NV/Sw43/1997/JA) は GIV の候補である¹²⁾。宿主はブタであるが胃腸炎の原因ウイルスと思われ、豚水疱疹ウイルス感染症のような全身性疾患とは異なる。自然宿主が異なるだけではなく、病原性なども異なるところが見つかれば、genogroup のレベルの違いではなく、種のレベルの違いという可能性も出てくる。違いが genogroup のレベルであれば、研究者間のコンセンサスが得られればよく、種のレベルでの違いとなれば ICTV の決定によらなければならない。

著者は今後このようなウイルスがいろいろな動物から検出された場合にブタカリシウイルス、ウシカリシウイルス、... と名前をつけて呼ぶのは、ヒトカリシウイルスが適切ではないと同様に、適切な命名ではないと思う。ブタカリシウイルスが適切でないのは、豚水疱疹ウイルスというブタのカリシウイルスがノロウイルスとはっきりと異なるベジウイルス属のウイルスとしてすでに存在するからである。ネコからノロウイルス属に入るウイルスが検出されたとして、これをネコカリシウイルスと呼ぶわけにはいかないことは明らかであろう。

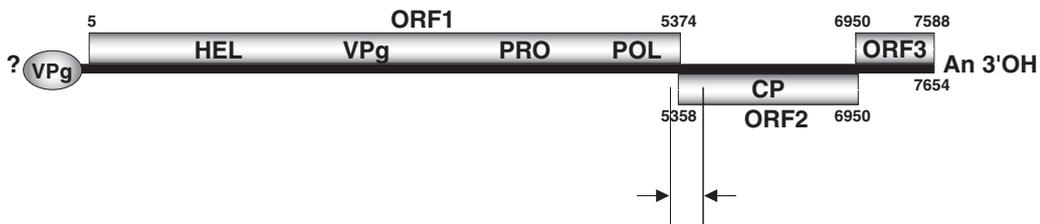
II. ノロウイルスのウイルス学

ノロウイルスはエンベロープを持たない小型の RNA ウイルスであり、陰性染色すると電子顕微鏡

下に直径約 30 nm の表面構造があいまいなウイルス粒子として観察される³⁾。ウイルス粒子は塩化セシウムの平衡密度勾配遠心法で 1.33 ~ 1.41 g/cm³ の浮上密度を持つ³⁾。

ノロウイルスのゲノムはプラス鎖 1 本鎖 RNA で、この上に 3 つの翻訳領域 (open reading frame) がある。ゲノムの 3' 末端にはポリ A テイルが付加され、全長は約 7.7 kb である^{7, 8)} (図 2)。5' 末端側の ORF1 はヘリケース、5' 末端結合タンパク VPg, システインプロテアーゼ, RNA ポリメラーゼなどウイルスの複製に必要な非構造タンパク質の前駆体となる巨大なポリプロテインをコードする。ORF2 は分子量約 6 万の構造タンパク質であるカプシドタンパク質をコードしている。ORF1 と ORF2 の間および ORF2 と ORF3 の間には塩基のオーバーラップがある。ORF3 は塩基性アミノ酸に富んでいる機能不明の構造タンパク質をコードしている。バキュロウイルスでウイルスタンパク質の発現を試みる場合 ORF3 も同時に発現させないと粒子形成が効率的に起こらないようである。

ノロウイルスは培養細胞を用いて感染価を測定することができない。したがって、ノロウイルスの物理化学的安定性に関する情報は断片的である。ボラソニアによる実験ではノロウイルスは pH 2.7 の環境下では室温で 3 時間安定、20% エーテルに対して 4℃ で 18 時間安定、60℃ 30 分間の加温で感染性を失わないことが報告されている¹³⁾。通常の上水道の塩素消毒では塩素濃度で 3.75 ~ 6.25 mg/l (遊離残留塩素濃度で 0.5 ~ 1.0 mg/l) の処理を行うが、ノロウイルスはこれに対して安定であり、感染性を消失させるためには塩素濃度 10 mg/l の処理が必要である¹⁴⁾。ノロウイルスは塩素に対する抵抗性と



カプシドタンパク領域を増幅するプライマー
 GI: COG1F/G1-SKR 381 bp
 GII: COG2F/G2-SKR 387 bp

図 2 ノロウイルスゲノムの構造

HEL: ヘリケース, VPg: 5' 末端結合タンパク, PRO: システインプロテアーゼ,
 POL: RNA ポリメラーゼ, CP: カプシドタンパク質

いう点でみるとポリオウイルスやロタウイルスよりも強いと言える。

Ⅲ. ノロウイルスの実験室診断

ノロウイルスの確定診断はウイルスゲノムを標的とした RT-PCR 法による核酸診断が原則である。電子顕微鏡によるウイルス粒子の検出は主流の地位を退いた。核酸診断は、ノロウイルスのゲノムが非常に多様性に富むためプライマーの設計が難しく、検出もれとなる検体が相当数あったので、熟練した電顕技術がある場合には、RT-PCR 法で陰性の検体について電顕検索をするという補完的な使われ方がされることがある。

核酸診断に当たって、プライマーは従来から RNA ポリメラーゼ領域の塩基配列をもとに設計されてきたが、最近、わが国の研究者によりカプシド蛋白領域を増幅できるプライマーが設計され、ノロウイルスの検査診断が大きく進歩した¹⁵⁾ (図2)。RT-PCR 法で増幅された PCR 産物はこれがノロウイルスに特異的なものであることを確認して診断が確定する。この確定検査には、通常特異的なプローブを用いたサザンハイブリダイゼーションまたは塩基配列の決定による¹⁶⁾。

リアルタイム PCR は、機器、試薬が高価であるが、RT-PCR 法の 1st PCR よりも検出感度がよく、PCR における増幅産物に蛍光プローブが高い特異性で反応するので、DNA の増幅と定量が同時に行えるという特徴がある。さらに原理的にハイブリダイゼーションも同時に行われるので、電気泳動や確認試験も行う必要がなく、その分短い時間で結果が得られる。食中毒発生事例での検査などに威力を発揮する。

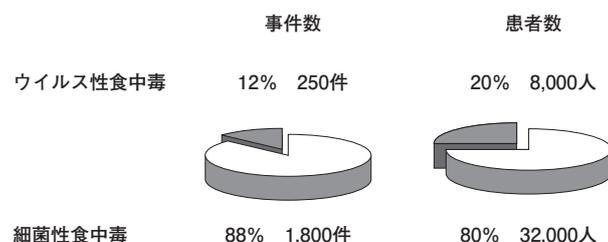


図3 わが国のウイルス性および細菌性食中毒の概要

厚生労働省の発表による平成12年度のデータをもとに概数としてまとめた。

簡便性と多数検体の処理能力の高さ (high throughput) のゆえに、期待を持たれるのが ELISA による糞便検体からの抗原の検出法である。これはモノクローナル抗体を捕捉抗体として ELISA プレートの固相に吸着させ、組換え DNA 技術を使ってバキュロウイルスベクターで発現させて作ったウイルス様中空粒子 virus-like particles (VLP) に対する抗体を検出抗体とするものである^{17,18)}。従来の臨床検体によるテストでは非特異反応が多く難点とされていたが、最近改良が加えられ非特異反応が著名に減少したとされている。

Ⅳ. ノロウイルス感染症の疫学

ノロウイルスは疫学的にみると、学童期以降成人のウイルス性胃腸炎の集団発生またはウイルス性食中毒の原因ウイルスとして最も重要なウイルスである¹⁹⁾。わが国の場合、ノロウイルスによるウイルス性食中毒は生カキの喫食によることが多く、毎年11月から翌年の4月にかけて頻繁に発生する。ノロウイルスはウイルス性食中毒の95%以上の原因となり、食中毒全体の中では、事件数の約12%で年間約250件、患者数では約20%で年間約8,000人を占める (図3)。ノロウイルスによる食中毒は1件当たりの患者数が多いことから食中毒事件としても公衆衛生上重要な問題となっている。しかし、1件当たりの患者数が100人以上に及ぶ大規模な食中毒が、食材として汚染されていた生カキの喫食により起こることはまれで、大規模な食中毒はノロウイルスに感染している調理人等が手を介して食品を汚染させ、この汚染食品を多数の者が摂取することにより発生するというパターンが多い (図4)。

ノロウイルスは貝の体内では増殖することはない

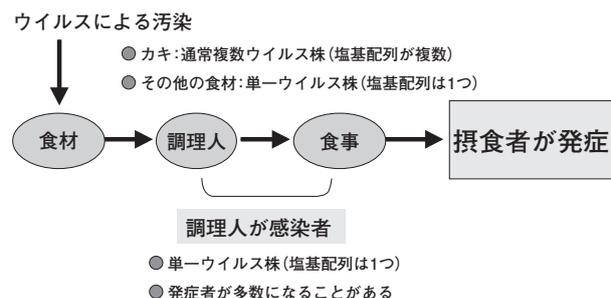


図4 ノロウイルスによる食中毒の2つのパターン

ので、生食に当たり新鮮であるかどうかはノロウイルス食中毒の発生とは関係ない。カキなど二枚貝の生息域がノロウイルスに汚染されると、ノロウイルスを体内の中腸腺に蓄積することが原因である。

また、ヒトからヒトへの感染によるノロウイルス胃腸炎の集団発生も症例の重症度よりも患者数が多数に及ぶことから密集した環境下での集団生活の場では大敵である。2003年5月にイラクに進駐したアメリカ軍兵士の間で数週間の間、2,500人以上の患者が出るノロウイルス感染症の集団発生が起こったという。軍隊のほか、学校、寄宿舎や寮などで集団発生の事例が多い。

ノロウイルスが乳幼児や成人の散発性下痢症の原因となっていることがしだいに明らかにされてきている²⁰⁾。フィンランドでの疫学調査によれば乳幼児期の急性胃腸炎ではノロウイルスが約15%、重症例では約10%といずれもロタウイルスに次ぎ、アデノウイルスより多い第2の病因である²¹⁾ (図5)。また、感染症情報センターに集積される病原体検出情報として、散発例に限定したノロウイルスの全国での検出状況が報告されている²²⁾。2000～2003年に報告された2,056例のノロウイルスの年齢分布を見ると、1歳が515例(25%)と最も多く、次いで0歳362例(18%)、2歳241例(12%)、3歳154例(8%)と年齢が進むにつれ漸減している。この年齢分布はロタウイルスの場合とよく似ており、ここからもノロウイルスが乳幼児の胃腸炎の原因として重要な病原体であることがわかる。

成人の散発性胃腸炎でも10～15%がノロウイルスによるものと推定され、やはり10～15%を占め

るロタウイルスと並んで主要な病因であろう。

V. ノロウイルス感染症の臨床像

ノロウイルスは糞便経口伝播により感染し、24～48時間の潜伏期の後、突然の嘔気(79%)、嘔吐(69%)、下痢(66%)で始まる急性胃腸炎を起こす。その他の症状の発現頻度は腹痛(30%)、頭痛(22%)、発熱(37%)、悪寒(32%)、筋肉痛(26%)、咽頭痛(18%)であり、下痢が血性になることはない²³⁾。

感染性は非常に強く、10～100個のウイルス摂取で感染が成立するらしい。ボランティアにノーウォークウイルスを実験的に感染させると、約50%が発症し、小腸に局限して絨毛の萎縮や上皮細胞の脱落などの病理組織学的変化が見られる²³⁾。疫学的研究によれば、吐物が乾燥し、エアロゾルとなって経口的に摂取されて感染が起こることもある^{24, 24a)}。症状は一般に軽症であり、脱水により重症化することはまれである。また発熱も38℃を超えることはほとんどない。ボランティアでの実験感染によると消化管運動が低下し、胃から小腸への食物の移動が停滞することにより、嘔気および嘔吐が起こる。症状の持続は短く通常1～2日で回復し慢性化することはない。

電顕観察によれば、ウイルス排泄は症状出現とともに始まり3日ほど続く。しかし電顕より検出感度が優れているRT-PCR法によれば、便中へのウイルス排泄は7～14日間続く。また、約50%が不顕性感染である。

VI. ノロウイルスに対する免疫と抵抗性

抗体による病後免疫が成立するかどうかは、ワクチンの研究開発にとって非常に重要な出発点である。ノロウイルス感染症は典型的なhit-and-run型の急性粘膜表面感染症である。ノロウイルスに対する免疫と抵抗性に関するボランティアを使った感染実験の結果は次の2点に要約される。

第1は6～14週間持続する短期のおそらく血清型特異的な免疫である。ノーウォークウイルスの感染後にできた免疫がノーウォークウイルスの再感染に防御的に働くが、ハワイウイルスの感染に対して

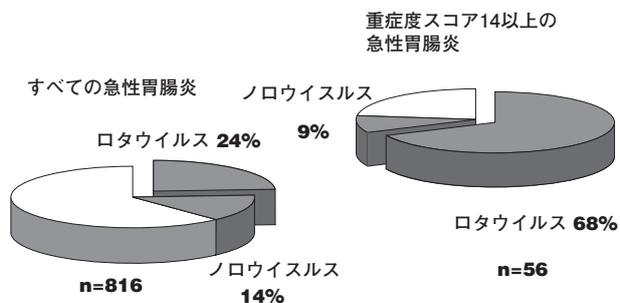


図5 フィンランドの乳幼児(2～24カ月)コホートにおける急性胃腸炎の重症度と起因ウイルスの相対頻度(文献21をもとに作成)

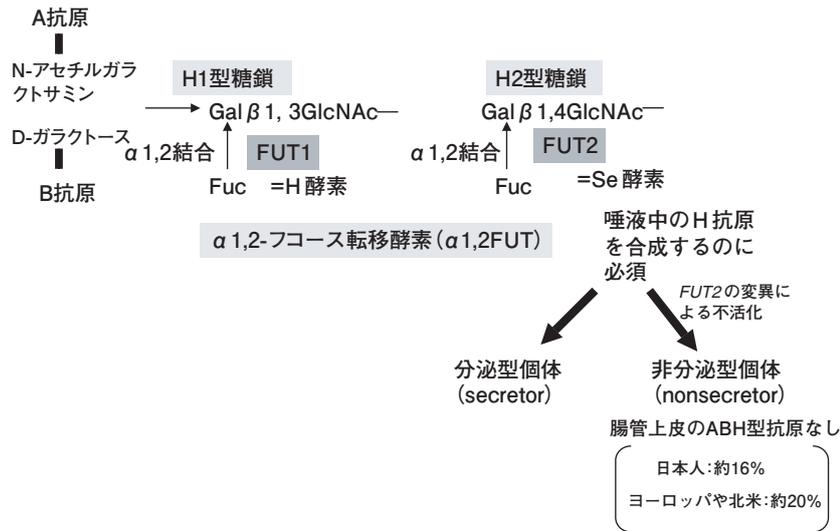


図6 組織-血液型抗原と分泌型・非分泌型個体のなりたち

は感染防御効果を示さないという意味で血清型特異的な免疫である。また、この同一のウイルスに対する免疫の持続は時間とともに減弱する。

第2は長期間にわたる免疫あるいは抵抗性である。ノーウォークウイルスに感染しなかったボランティアが、免疫があっても当然消えていると思われる1年以上たった後で、再びノーウォークウイルスの暴露を受けても感染しないという感染に対する抵抗性である。つまり、一見抗体の存在と感染が起こるかどうかが関連しないように見える。一方、パナマで行った疫学的調査によると、抗体の存在と感染への抵抗性がよく相関するという結果が得られている²⁵⁾。

第2の免疫、すなわちノーウォークウイルスに感染しない抵抗性を持った個体があることについて、最近、組織-血液型抗原 histo-blood antigen との関連性を突破口に新たな展開がみられる(図6)。ABO型抗原やLewis型抗原はH型抗原前駆多糖体にフコースが付加されたものが基本骨格となるが、この反応にはFUT1とFUT2という遺伝子座の産物であるフコシルトランスフェラーゼという酵素が関与する。FUT2がコードするα1,2-フコース転移酵素は唾液中のH抗原を合成するのに必須であり、この遺伝子座に変異があると、ABH型抗原が粘膜上皮細胞に発現せず、唾液中にも分泌されない非分泌型個体(nonsecretor)となる。血液型とノーウォークウイルスに対する感受性に関してはO型の個体がノーウォークウイルスに感染する割合が高

く、B型の個体が感染する割合が低いという報告がある²⁶⁾。また、ノーウォークウイルスを昆虫細胞で発現させて作ったウイルス様中空粒子VLPはABH型抗原を粘膜上皮細胞に発現している分泌型個体の腸管上皮細胞には結合するが、これを発現していない非分泌型個体の腸管上皮細胞には結合しない²⁷⁾。そこで、ノーウォークウイルスに感染しない抵抗性を持った個体は、この非分泌型個体ではなからうかという仮説のもとに77人のボランティアを使ったノロウイルスの感染実験が行われたので、その概要を表2に示しながら紹介する²⁸⁾。

いろいろな量のノロウイルスを投与された77人のボランティアのうち44%に当たる34人が発症し、56%に当たる43人には発症が見られなかった。この結果を被検者がFUT2遺伝子が不活化している非分泌型個体であるか、分泌型個体であるかという観点からみると、非分泌型個体である被検者は、大量のノロウイルスを投与された者も含めて22人全員が感染をまぬかれた。一方、分泌型個体である55人の被検者は62%に当たる34人が発症し、38%

表2 ノロウイルスの実験的感染における発症の有無と分泌型・非分泌型個体との関連性

	発症	未発症	合計
全ボランティア	34 (44%)	43 (56%)	77
分泌型個体	34 (62%)	21 (38%)	55
非分泌型個体	0 (0%)	22 (100%)	22

(文献28をもとに作成)

に当たる 21 人には発症が見られなかったという結果になった。なお、RT-PCR の検出限界を基準として、この検出限界量の 1 万倍から 1 億倍のウイルス量まで変化させて感染率を見たが、どの投与量でも感染者の割合は分泌型個体の 50～69% で大きな変化は見られなかった。これはノーウォークウイルスが非常に微量でも強い感染性を示すという以前からの知見に合致するものである。

分泌型個体すなわち先天性的抵抗性を持っていない被検者の感染と粘膜免疫の関係を調べた結果は興味深い。分泌型個体で感染をまぬかれた者はノーウォークウイルスに特異的な唾液中の IgA 抗体がウイルス投与後 2～3 日のごく初期にのみ上昇し、1 週間後にはベースラインに戻っていることがわかった。すなわち、感染後おそらく免疫記憶に基づくすばやい特異的 IgA 抗体が粘膜表面に出現し、イノキュラムのウイルスを中和することにより感染からまぬかれるものと思われる。一方、分泌型個体で感染した被検者は、ウイルス投与後 5 日以降になって特異的 IgA 抗体が粘膜表面に出現し、投与 2 週間後にピークに達することがわかった。すなわち、ウイルスを投与される前には感染を防御できる特異的抗体がなく免疫学的一次応答が起こったものと思われる。これらの実験結果はノロウイルスに対するレセプターを欠き、先天性に抵抗性の個体が存在するという仮説を支持するとともに、過去の感染による免疫記憶がすばやく起こり感染を防御できること、したがって、ワクチンによる防御が可能であることを示唆している。

おわりに

今日のノロウイルスのプロトタイプとなるノーウォークウイルスを発見した Kapikian は、ウイルス粒子を直接見ることなく培養細胞での細胞変性効果 cytopathic effect を指標とした分離を偏重していたウイルス学をウイルスそのものを直接見る粒子ウイルス学 particle or direct virology の時代へと導いた。Kapikian 自身は好まず使用しなかった「小球形ウイルス (SRSV)」という名前は粒子ウイルス学にとって象徴的な名前であったと言えよう。20 世紀の最後の 10 年に起こったこのウイルスのゲノムのクローニングを端緒とする分子生物学的研究や

分子疫学的研究の爆発的進展が時代を再びウイルス粒子を直接見ることのないゲノムウイルス学へと押し進めてきた。ノロウイルスという属名の決定は再び象徴的な出来事である。

ノロウイルスの最も大きな特徴はゲノムの多様性であり、これが RT-PCR による核酸診断の障壁となってきた。ICTV が関与しないウイルス種より下位の分類に関して genogroup が国際的な合意に達している。その下位に類似のウイルス株のまとまりがあることもこの分野の研究者が等しく認識するところである。今のところナンバリングのしかたが一致していないので、統一に向けての国際的な協調が期待される。最近、文献 9 の命名に従って GII 4 に分類されるプリストルウイルスやローズデールウイルス類似のウイルスがヨーロッパに急増していると報告された²⁹⁾。国際的なネットワークによる分子疫学的監視がますます重要視されてくるであろう。このようなグローバルな巨視的な監視とあいまって、ノロウイルスに対する先天性的抵抗性や免疫の成立についても著しい進歩が起こりつつあり、ノロウイルス感染症の全体像がより明確になるものと期待される。

文 献

- 1) 永井正規: 感染症発生動向調査に基づく流行の警報・注意報および全国年間罹患数の推計—その 1—。定点サーベイランスの評価に関するグループ研究報告書, 2002.
- 2) 永井正規: 感染症発生動向調査に基づく流行の警報・注意報および全国年間罹患数の推計—その 2—。定点サーベイランスの評価に関するグループ研究報告書, 2003.
- 3) Kapikian A.Z., Wyatt R.G., Dolin R., Thornhill T.S., Kalica A.R.: Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* 10:1075-1081, 1972.
- 4) Kapikian A.Z.: The discovery of the 27-nm Norwalk virus: an historic perspective. *J Infect Dis* 181[Suppl. 2] S295-S302, 2000.
- 5) 中込治, 中田修二, 大石功, 川本義尋, 大瀬戸光明, 榮賢司, 武田直和, 田中智之, 牛島廣治: カリシウイルス科ウイルスの名称と用法についてのワーキンググループの提言. *臨床とウイルス* 28: 339-347, 2001. (<http://web.sapmed.ac.jp/viralge/calici/teigen.html>)
- 6) van Regenmortel MHV: Introduction to the species concept in virus taxonomy. In: van Regenmortel MHV, Fauquet C.M., Bishop D.H.L., Cartens E.B., Estes M.K., Lemon S.M., Maniloff J., Mayo M.A., McGeoch D.J., Pringle C.R., Wickner R.B. (eds.), *Virus Taxonomy*:

- Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press 3-16 2000.
- 7) Jiang X., Wang M., Wang K., Estes M.K.: Sequence and genomic organization of Norwalk virus. *Virology* **195**: 51-61, 1993.
 - 8) Lambden P.R., Caul E.O., Ashley C.R., Clarke I.N.: Sequence and genome organization of a human small round-structured (Norwalk-like) virus. *Science* **259**: 516-519, 1993.
 - 9) Ando T., Noel J.S., Fankhauser R.L.: Genetic classification of "Norwalk-like viruses". *J Infect Dis* **181**[Suppl. 2] S336-S348, 2000.
 - 10) Katayama K., Shirako-Horikoshi H., Kojima S., Kageyama T., Oka T., Hoshino F.B., Fukushi S., Shinohara M., Uchida K., Suzuki Y., Gojobori T., Takeda N.: Phylogenetic analysis of the complete genome of 18 Norwalk-like viruses. *Virology* **299**: 225-239, 2002.
 - 11) Oliver S.L., Dastjerdi A.M., Wong S., El-Attar L., Gallimore C., Brown D.W.G., Green J., Bridger J.C.: *J Virol* **77**: 2789-2798.
 - 12) Sugieda M., Nakajima S.: Viruses detected in the caecum contents of healthy pigs representing a new genetic cluster in genogroup II of the genus "Norwalk-like viruses". *Virus Res* **87**: 165-172, 2002.
 - 13) Dolin R., Blacklow N.R., DuPont H., et al.: Biological properties of Norwalk agent of acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *Proc Soc Exp Biol Med* **140**: 578-583, 1972.
 - 14) Keswick B.H., Satterwhite T.K., Johnson P.C., DuPont H.L., Secor S.L., Bitsura J.A., Gary G.W., Hoff J.C.: Inactivation of Norwalk virus in drinking water by chlorine. *Appl Environ Microbiol* **50**: 261-264, 1985.
 - 15) Kojima S., Kageyama T., Fukushi S., Hoshino F.B., Shinohara M., Uchida K., Natori K., Takeda N., Katayama K.: Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. *J Virol Meth* **100**: 107-114, 2002.
 - 16) 中田修二：カリシウイルスの確定検査。総合臨床 **51**: 2959-2965, 2002.
 - 17) Richards A.F., Lopman B., Gunn A., Curry A., Ellis D., Cotterill H., Ratcliffe S., Jenkins M., Appleton H.A., Gallimore C.I., Gray J.J., Brown D.W.G.: Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. *J Clin Virol* **26**: 109-115, 2003.
 - 18) 内野清子, 岩上泰男, 田中智之：モノクローナル抗体による免疫学的検出法。日本臨床 **60**: 1188-1193, 2002.
 - 19) 西尾治, 西香南子, 福田伸治, 西田知子, 篠原美千代, 三上稔之, 沖村容子, 新川奈緒美, 杉枝正明, 古屋由美子, 大瀬戸光明, 鈴木宏：ウイルス性食中毒の病因。臨床とウイルス **31**: 163-169, 2003.
 - 20) 中田修二：小児と成人の散発性非細菌性下痢症の病因。臨床とウイルス **31**: 156-162, 2003.
 - 21) Pang X-L., Honma S., Nakata S., Vesikari T.: Human caliciviruses in acute gastroenteritis of young children in the community. *J Infect Dis* **181**[Suppl. 2] S288-S294, 2000.
 - 22) 齊藤剛仁, 山下和予, 岡部信彦：SRSV 検出例最近の動向。病原微生物検出情報 **24**: 321-322, 2003.
 - 23) Kaplan J.E., Feldman R., Campbell D.S., Lookabaugh C., Gary G.W.: The frequency of a Norwalk-like pattern of illness in outbreaks of acute gastroenteritis. *Am J Public Health* **72**: 1329-1332, 1982.
 - 24) Caul E.O.: Small round structured viruses. Airborne transmission and hospital control. *Lancet* **343**: 1240-1242, 1994.
 - 24a) Marks P.J. et al.: Evidence for airborne transmission of Norwalk-like virus (NLV) in a hotel restaurant. *Epidemiol Infect* **124**: 481-487, 2000.
 - 25) Ryder R.W., Singh N., Reeves W.C., Kapikian A.Z., Greenberg H.B., Sack R.B.: Evidence of immunity induced by naturally acquired rotavirus and Norwalk virus infection on two remote Panamanian islands. *J Infect Dis* **151**: 99-105, 1985.
 - 26) Huston A.M., Atmar R.L., Graham D.Y., Estes M.K.: Norwalk virus infection and disease is associated with ABO histo-blood group type. *J Infect Dis* **185**: 1335-1337, 2002.
 - 27) Harrington P.R., Lindesmith L., Yount B., Moe C.L., Baric R.S.: Binding of Norwalk virus-like particles to ABH histo-blood group antigens is blocked by antisera from infected human volunteers or experimentally vaccinated mice. *J Virol* **76**: 12335-12343, 2002.
 - 28) Lindesmith L., Moe C., Marionneau S., Ruvoen N., Jiang X., Lindblad L., Stewart P., LePendou J., Baric R.: Human susceptibility and resistance to Norwalk virus infection. *Nat Med* **9**: 548-553, 2003.
 - 29) Loopman B. et al.: Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet* **363**: 682-688, 2004.