



ONE POINT MEMO No.198

臨床検査ひとくちメモ

Q

病原ウイルスの系統樹的な話題で、たとえば「ノーウォークウイルス」が「ノロウイルス」と名前を変えていった経緯など、ウイルスの特徴・分類に関して教えてください。

A

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
感染症免疫学講座

中 込 治

はじめに

講演後に出る質問の中で、どう答えてよいか少し悩むという状況に遭遇することがあります。幸いなことに yes か no かの回答を迫られていることはまれなので、このような場合には、私が答えやすいように問題を整理して答えることにしています。今回もそうすることにします。

質問は、病原ウイルスの分類がどうやって決まるのか教えて欲しいということです。ただ、「国際ウイルス命名委員会で決める」というような答えではなく、もう少し具体的に、あるいは現実に命名が決まる背景などにも踏み込んで説明して欲しいようです。それは、たとえば「ノーウォークウイルス」が「ノロウイルス」と名前を変えていった経緯など、という具体的な指示があることから分かります。次に「病原ウイルスの系統樹的话题で」という前提があります。これは「ウイルスの分類は、まずゲノムがDNAかRNAかによりDNAウイルスとRNAウイルスに大別し、…」というような書き方は期待し

ていないということです。病原ウイルスの系統樹関係が話題になるのは、原則として科 (family)、属 (genus)、種 (species) のレベルおよび種以下の分離株レベルの場合です。分類に際して、系統樹 (分子系統樹) を使うというのは現代ではウイルスの分類を決める上で重要な基準になっています。これのみに頼り切ってはいけないと注意されることから、逆に、いかに重視されているかが分かります。

以上のことを踏まえ、病原ウイルスの命名・分類はどのように行われるか、また、分類にあたり、ゲノム情報にも基づいて作成される分子系統樹がどのような役割を担っているかについて「ノーウォークウイルス」が「ノロウイルス」と名前を変えた経緯を例にあげ説明することにします。

I. 病原ウイルスの命名・分類はどのように行われるか

ウイルスの分類と命名は国際ウイルス命名委員会 (The International Committee on the Taxonomy of Viruses, ICTV と略称されます) で決めます。これ

は大原則であり、ここで決定されない限り正式名称にはなりません。最新版は2005年に発行された第8版です¹⁾。正式名称は理事会 (executive committee) で決定されますが、その下にウイルス科ごとにその科に属するそれぞれのウイルスをアクティブに研究し、また、その発言には影響力のありそうな人からなる作業班 (study group) があります。実際的な検討は、e-mailなどの通信手段を使って作業班で行われ、この作業班の班長 (chair) から新しい名称の提案が理事会になされます。理事会は、作業班の提案がウイルスの命名規約に違反していないかどうかを検討し、問題がなければ承認するようです。

実はカリシウイルスの作業班が現在使われている「ノロウイルス *Norovirus*」「サポウイルス *Sapovirus*」という名前を提案する前に、一度「ノーウォークウイルス *Norwalkvirus*」「サップロウイルス *Sapprovirus*」という名前をウイルスの属名として理事会に提出したことがありました。理事会はこの命名法がウイルス属の名称には地名を使わないという命名規約に違反しているという理由で却下しました。その後、いろいろな駆け引きもありましたが、地名に対する香りを残したいという意見が勝ってノロウイルス *Norovirus* という造語ができました¹⁾。つまり、ノーウォーク *Norwalk* という地名の最初の3文字 *Nor* を複合語の作成に使われる連結辞 *o* により *virus* と結びつけて一語にしたものです。サポウイルス *Sapovirus* もまったく同様のやり方で、サップロ *Sapporo* の最初の3文字 *Sap* に連結辞 *o* を使って *virus* と結びつけたものです。このサポウイルス *Sapovirus* という名前にはセッケン (セッケンはラテン語で *sapo* とつづり、英語の *soap* の語源になっている) を連想させるので、反対だという意見もありました。なお、ウイルスの名前をイタリックス (斜字体) で書くのは、これが学名でありラテン語化された単語として扱われるからです。手書きの場合のようにイタリックスで書けない場合には、アンダーラインを引いて *Norovirus* などと表すことになっています。

以上は命名のいきさつですが「ノロウイルス *Norovirus*」と「サポウイルス *Sapovirus*」という名前以前に、これらのウイルスを1つにまとめるべきか、現在のように2つの属とすべきかという議論がありました。国際ウイルス命名委員会は「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る」という基本姿勢をとっています²⁾。これには重要な意味合いがあります。第一は分類と命名というのは現実世界での誤解のない使用を目的とする実用上の使命が大きいので、現実的に使われている最先端技術を反映していなければ実用性がないことです。第二にはウイルスの分類体系というものは不変なものではなく、その時代その時代の現実にあわせて変わらざるを得ないものである (より適切であると分かれば変更する) という基本的立場をとっていることです。ノロウイルスのプロトタイプとなったノーウォークウイルスは、1970年当時の最先端技術であった免疫電子顕微鏡法 *immune electron microscopy* という方法で発見された最初のウイルスです^{3,4)}。ちなみにノーウォークウイルスに続いて、免疫電子顕微鏡法を使って発見されたウイルスはA型肝炎ウイルス *Hepatitis A virus* です⁵⁾。

電子顕微鏡で見るとノロウイルスのプロトタイプであるノーウォークウイルスは、その表面構造がファジーではっきりしないのに対し^{3,4)} (図1)、サポウイルスのプロトタイプであるサップロウイルスの表面構造にはダビデの星と形容される杯状のくぼみがみられることが知られていました^{6,7)} (図2)。しかし、他の多くのウイルス同様、胃腸炎ウイルス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ます。ノロウイルスとサポウイルスの違いも、実は、電子顕微鏡で見たときの表面構造の違いによってではなく、ウイルスのゲノムにウイルスタンパク質がどのようにコード

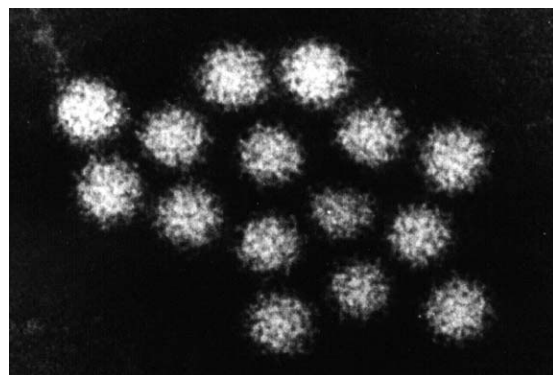


図1 ノロウイルスの陰性染色による電子顕微鏡写真
表面構造はファジーであることに注意。
(愛媛衛生環境研究所大瀬戸光明博士による)

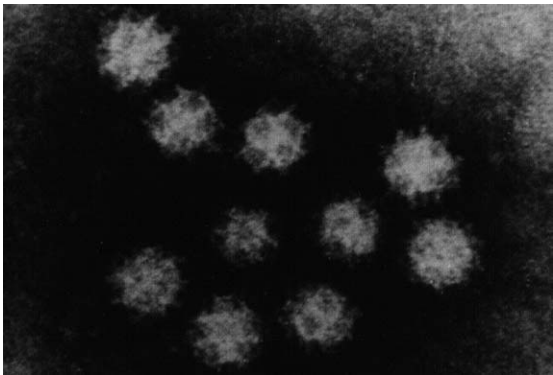


図2 サポウイルスの陰性染色による電子顕微鏡写真
表面に「ダビデの星」と形容される杯状のくぼみをもつ特徴的形態をしているのが分かる。
(愛媛衛生環境研究所大瀬戸光明博士による)

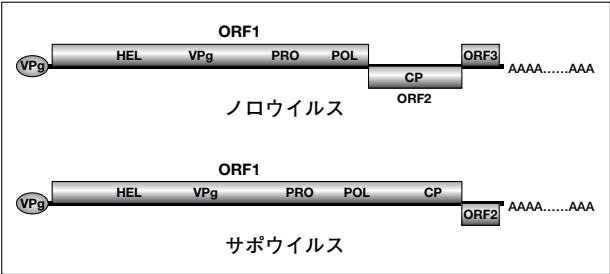


図3 ノロウイルスとサポウイルスのコーディング・ストラテジー (coding strategy) の違い

ノロウイルスもサポウイルスもそのゲノムは約7kbのプラス鎖からなる1本鎖RNAであるが、ノロウイルスはゲノム上に3つの翻訳領域 (open reading frame) がある。これに対し、サポウイルスではORFは、ORF1とORF2の2つである。これはサポウイルスでは、カプシド領域がORF1の非構造タンパクコード領域と同じ読み取り枠で融合しているためである。
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

されているか (コーディング・ストラテジー coding strategy と呼ばれる) の違いが明らかになって、異なるウイルス属に分割されました (図3)。

II. カリシウイルス科のウイルスゲノムの分子系統樹

ノロウイルスとサポウイルスのことを中心に話を進めてきましたが、この2つのウイルスはカリシウイルス科 *Caliciviridae* に属するウイルスです。ノロウイルスとサポウイルスが異なるウイルス属に分割されるべきであるという結論は、前節で述べたようにコーディング・ストラテジーが異なることが決め手であったのですが、ゲノムの分子系統樹の上から

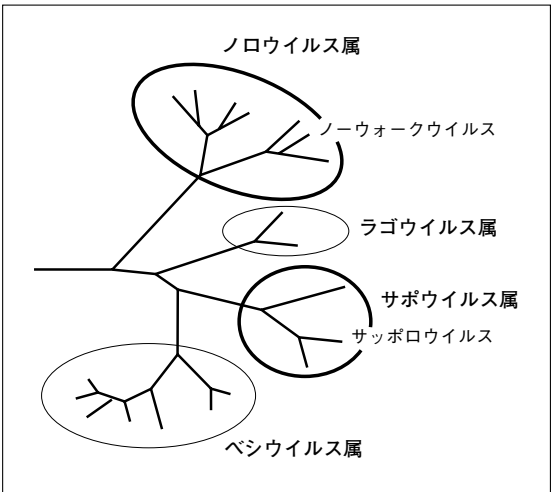


図4 カリシウイルス科に属するウイルス属間の分子系統関係

表1 カリシウイルス科ウイルスの分類

科 Family	属 Genus	種 Species
カリシウイルス科 <i>Caliciviridae</i>	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>	ウサギ出血熱ウイルス <i>Rabbit hemorrhagic disease virus</i>
	ベシウイルス <i>Vesivirus</i>	ブタ水疱疹ウイルス <i>Vesicular exanthema of swine virus</i> ネコカリシウイルス <i>Feline calicivirus</i>

もこの結論は支持されます。図4はカリシウイルス科ウイルスのゲノムの分子系統樹です。この系統樹の末端には個々のウイルスがあります。見た目が複雑になるので、例としてノーウォークウイルスとサッポロウイルスだけを示しています。線の長さが遺伝距離 (genetic distance)、つまり塩基配列 (あるいはアミノ酸配列) の違いの数 (より正確には1つの座位 site あたりに進化の過程で起こったと推定される塩基置換の回数) に比例するようになっています。この分子系統樹をみると、カリシウイルス科のウイルスが大きく4つのウイルス属に分けられ、それぞれのウイルス属がお互い同士ほぼ同程度に離れていることがわかります。4つのウイルス属はノロウイルス属とサポウイルス属のほかに、動物のウイルスであるラゴウイルス属 *Lagovirus* とベシウイルス属 *Vesivirus* です (表1)。

Ⅲ. ノロウイルス属の中の細分類と分子系統樹

分類学上の最小単位は種 species です。国際ウイルス命名委員会は分類学 (taxonomy) 上の問題を扱うので、この委員会が関知する最小単位はウイルス種 (species) です。種は最小であるとともにもっとも基本的な分類単位ですが、分類学上の抽象的概念であって、個別のウイルスではありません。国際ウイルス命名委員会では、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 な概念であるとしています⁸⁾。

種が分類学上の概念上の存在である一方、研究者や臨床家や検査技師が日常的に扱うものは具体的な実在物であるウイルス株 (strain) です。1972年に米国国立衛生研究所のアルバート・キャピキアン (Albert Kapikian) が免疫電子顕微鏡で捕まえたノロウイルスは Norwalk/68 株であってウイルス種ではありません。

ノロウイルスは培養することができません。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ことになります。このような研究から得られたもっとも重要な知見は、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す。現在ノロウイルスは RNA

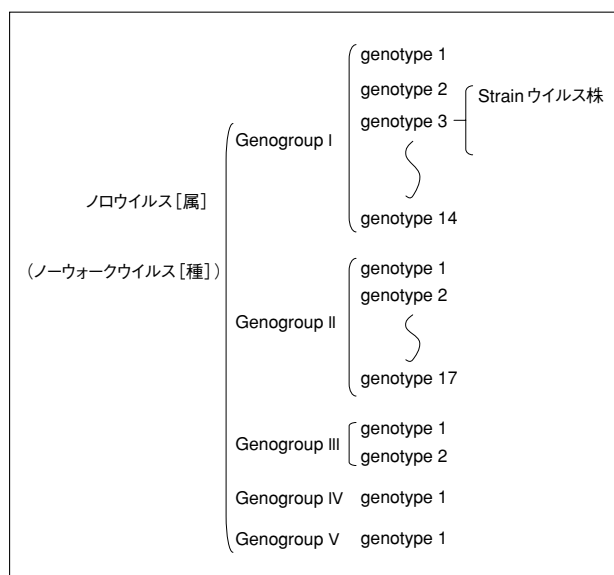


図5 ウイルス種以下のノロウイルスの分類構造 (1)

ノロウイルスには5つのゲノグループがあり、ゲノグループ I とゲノグループ II のそれぞれに 10 以上の遺伝子型がある。

ポリメラーゼ領域およびウイルス粒子の抗原性を担っているカプシド領域の塩基配列の上から、大きくゲノグループ I (genogroup I : GI) とゲノグループ II (genogroup II : GII) とに大別できることが明らかになっています (図 5, 図 6)。Norwalk/68 株は GI に属するウイルスです。

ゲノグループよりさらに下位のレベルでも臨床検体から得られるノロウイルスの塩基配列は、細かなグループに分けることができ、これを遺伝子型 genotype と呼んでいます (表 2)。遺伝子型の数は非常に多く、ゲノグループ I とゲノグループ II のそれぞれに 10 以上あります^{9, 10)}。ゲノグループも遺伝子型も種より小さい分類なので、国際ウイルス命名委員会は関与しません。分子系統樹を描いてみて 90%以上のブーツストラップ確率でひとまとまりになるような遺伝子型があり (正確には単系統 monophyletic になる)、これが今まで記載されている代表的な遺伝子型のいずれとも同じまとまりにならないければ、新しい遺伝子型であるとみなされます。世界的にみると Bristol/93/UK や Lordsdale/93/UK を代表株 (表 2) とする GII.4 という遺伝子型が多いようです。この GII.4 の遺伝子型には RNA ポリメラーゼ領域に変異が起こっていることが分かりました¹¹⁾。昨シーズン日本で蔓延したノロウイルスもカプシド領域が変化している GII.4 変異型のようです¹²⁾。

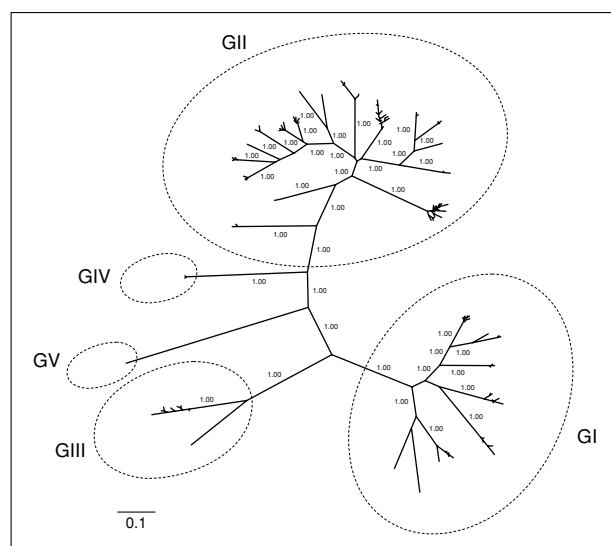


図6 ウイルス種以下のノロウイルスの分類構造 (2)

ノロウイルス属に存在する5つのゲノグループの分子系統樹上の関係。文献 10 を一部改変して引用。遺伝子型の命名は研究者によって異なるところがある。概観が分かるように、ここでは遺伝子型を消去し、5つのゲノグループのみを示している。図中の数字 1.00 はブーツストラップ確率。

表2 ノロウイルスの遺伝子型とその代表株

ゲノグループⅠ:	ゲノグループⅡ:
Genotype 1 Norwalk/68/US* [M87661], KY-89/89/JP [L23828]	Genotype 1 Hawaii/71/US [U07611]
Genotype 2 Southampton/91/UK [L07418]	Genotype 2 Melksham/89/UK [X81879], SnowMountain/76/US [U70059]
Genotype 3 Desert Shield/90/SR [U04469]	Genotype 3 SaitamaU201/98/JP[AB067542], Mexico/89/MX [U22498]
Genotype 4 Chiba407/87/JP [AB042808]	Genotype 4 Bristol/93/UK [X76716], Lordsdale/93/UK [X86557]
Genotype 5 Musgrove/89/UK[AJ277614]	Genotype 5 Hillingdon/90/UK[AJ277607]
Genotype 6 BS5/98/GE[AF093797]	Genotype 6 SaitamaU3/97/JP[AB039776]
Genotype 7 Winchester/94/UK[AJ277609]	Genotype 7 Leeds/97/UK[AJ277608]
Genotype 8 WUG1/00/JP[AB081723]	Genotype 8 SaitamaU25/98/JP[AB067543]
Genotype 9 SaitamaSzUGI/99/JP[AB039774]	Genotype 9 IdahoFalls/96/US[AY054299]
Genotype 10 Boxer/01/US[AF538679]	Genotype 10 Mc37/99/Thai[AY237415]
Genotype 11 SaitamaKU8GI/99/JP[AB058547]	Genotype 11 SaitamaT29GII/01/JP[AB112221]
Genotype 12 SaitamaKU19aGI/01/JP[AB058525]	Genotype 12 SaitamaU1/97/JP[AB039775]
Genotype 13 SaitamaT35aGI/01/JP[AB112132]	Genotype 13 M7/99/US[AY130761]
Genotype 14 SaitamaT25GI/01/JP[AB112100]	Genotype 14 Kashiwa/00/JP[AB078334]
	Genotype 15 SaitamaKU80aGII/99/JP[AB058582]
	Genotype 16 SaitamaT53GII/02/JP[AB112260]
	Genotype 17 Alphatron/98/NE [AF195847]**

*太字はその名前が分献上よく知られているウイルス株である。

**ゲノグループⅣとする研究者も少なくない。

Ⅳ. おわりに

ノーウォークウイルスがノロウイルスと名前を変えた経緯を例にあげ、この中で分子系統樹がウイルスの分類にどのような役割を果たしているかについて説明しました。現代の分類学で国際ウイルス命名委員会が関与する種以上の分類でも、研究者や臨床家や検査技師が日常的に扱うゲノグループ以下の分類でも分子系統樹によって代表されるゲノムレベルでの解析が重要な役割を果たしていることがお分かりいただければ幸いです。

文 献

- 1) Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA. Virus Taxonomy : Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses Elsevier, 2005
- 2) 中込治, 中田修二, 大石功, 川本義尋, 大瀬戸光明, 栄賢司, 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使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
- 3) Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill TS, Kalica AR. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. J Virol **10** : 1075-1081, 1972
- 4) Kapikian AZ : The discovery of the 27-nm Norwalk virus : an historic perspective. J Infect Dis **181**[Suppl. 2]S295-S302, 2000
- 5) Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. Hepatitis A : detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. Science **182** : 1026-1028, 1973.
- 6) Chiba S, Nakata S, Numata-Kinoshita K, Honma S. Saporo virus : history and recent findings. J Infect Dis. **181** Suppl 2 : S303-308, 2000.
- 7) Chiba S, Sakuma Y, Kogasaka R, Akihara M, Horino K, Nakao T, Fukui S. An outbreak of gastroenteritis associated with calicivirus in an infant home. J Med Virol **4** : 249-254, 1979.
- 8) van Regenmortel MHV. Introduction to the species concept in virus taxonomy. In : van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Cartens EB, Estes MK, Lemon SM, Maniloff J, Mayo MA, McGeoch DJ, Pringle CR, Wickner RB (eds.) Virus Taxonomy : Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses pp. 3-16, Academic Press, 2000
- 9) Katayama K, Shirako-Horikoshi H, Kojima S, Kageyama T, Oka T, Hoshino FB, Fukushima 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
- 10) Zheng DP, Ando T, Fankhauser RL, Beard RS, Glass RI, Monroe SS. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. Virology. **346** : 312-23, 2006
- 11) Lopman B, Vennema H, Kohli E, Pothier P, Sanchez A, Negredo A, Buesa J, Schreier E, Reacher M, Brown D, Gray J, Iturriza M, Gallimore C, Bottiger B, Hedlund KO, Torven M, von Bonsdorff CH, Maunula L, Poljsak-Prijatelj M, Zimsek J, Reuter G, Szucs G, Melegh B, Svennson L, van Duynhoven Y, Koopmans M. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. Lancet **363** : 682-688, 2004
- 12) Motomura K, Oka T, Grant H, Yokoyama M, Kanda T, Takeda N, Sato H. Genome analysis of norovirus GII4 variants spread in Japan during 2006-2007-winter season. The 41st Joint Working Conference on Viral Diseases, US-Japan Cooperative Medical Science Program, Baltimore, MD, USA, July 24-25, 2007