

ノロウイルスの遺伝子解析

日大生産工 吉宗 一晃 ○日大生産工(院) 今門 摂子

1 緒言

感染性の急性胃腸炎(acute gastroenteritis: AGE)を含む下痢症は、嘔吐や下痢などの症状を伴う。この症状は非常に重篤な場合があり乳幼児、小児の入院率や死亡率が高く、社会問題となっている。加えて発展途上国や先進国に関わらず世界中で医療負担となり、大きな問題となっている。感染性 AGE は集団生活を送る施設内で起こりやすく、集団での爆発的な感染および流行に繋がること有许多ある。ヒトからヒトへの感染力は極めて強力であり、広範囲に影響を及ぼす。また複数のウイルスや細菌との重複感染や、他の疾患を併発するなど胃腸炎以外の疾患との関連がある。さらに慢性胃腸炎に発展することや、がんやアレルギーの原因となることもある。これほどまでに強い感染力を有し、他疾患を誘発する疾患であるが、感染性 AGE を引き起こす原因物質に対する特効薬はいまだに存在しない。

感染性 AGE の原因にはさまざまな種類があり、一般的なものはウイルスである。最も主要なものはロタウイルス、続いてノロウイルスである。ノロウイルスは世界中で年間 7 億人が感染しており、下痢症例全体の 20% を占めている。また発展途上国の 5 歳未満の小児、および 65 歳以上の高齢者において年間 20 万人以上の死亡例と関連している。先進国でも同様に医療負担の原因となっている。例えばアメリカでは年間 1,900 万から 2,100 万人の感染者が発生し、70,000 人の入院者と 570-800 人の死亡者が発生している^{1,2)}。この予防策の一つとしてワクチン接種が挙げられるが、

ロタウイルスにワクチンがあるのに対し、ノロウイルスにはワクチンがない。つまりノロウイルスは全世界の小児に対して最も重要な感染性 AGE の原因ウイルスとなっている。よって本研究ではノロウイルスのワクチン開発を最終目標に掲げ、ノロウイルスを調査する。

前提として、これまでにノロウイルスの研究はそれほど盛んに行われなかった。ノロウイルスの遺伝子型が時間経過とともに急速に変化することが大きな要因である。以上より現在進められている研究では、遺伝子多様性や分布に関する調査が必要であると考えられている。最終的にはワクチン開発に対する知見を広げ、貢献することを目的としている。

本研究においてノロウイルス RNA の増幅は RT-PCR 法を用いた。RT-PCR 法とは、逆転写反応とポリメラーゼ連鎖反応(PCR)を組み合わせた DNA 増幅法である。はじめに逆転写酵素によりウイルス RNA から cDNA を合成し、PCR 法と同様にプライマーを用いて増幅させる。この増幅 DNA の塩基配列を読み、シーケンスデータとして解析を行う。

本解析では系統樹の作成、および組換え点の検出を行った。まず系統樹は、既存の遺伝子型の類似性から遺伝子型分類を行うために作成する。ノロウイルスの遺伝子型における分類表記には GI や GII などがある。これはノロウイルスの遺伝子群による分類であり、GI から GX まで存在する。さらに遺伝子型に細分化され、GI では 9 種類(GI.1-GI.9)、GII では 26 種類(GII.1-GII.14, GII.16-GII.27)存在している³⁾。次に組換え点の検出は遺伝子

Genetic Analysis of Norovirus

Setsuko IMAKADO, Kazuaki YOSHIMUNE

の組換え位置を調査するために行う。ノロウイルスの遺伝子にはポリメラーゼ領域とカプシド領域が重なった領域(ORF1-ORF2 領域)が存在する。ここで組換えが起こりやすい。

2 解析方法

研究は3年ごとに行うが、現在までに2021年7月から2年間のデータについて解析した。研究対象は感染性 AGE に罹患している0から15歳の小児患者であり、便を検体とした。採取された便からウイルス RNA を抽出し、RT-PCR 法により増幅した。これまでに有病率を時期、月齢に分けて調査した。ここではノロウイルス全体の感染者数だけでなく、ノロウイルスの各遺伝子型の有病率も調査し、遺伝子型ごとに比較した。さらに既存の参考データをもとにシーケンスデータの一部から系統樹の作成および、組換え点の検出を行った。

2 解析結果

感染性 AGE の罹患乳幼児・小児のうち、ノロウイルス感染者が多かった。なかでも GII の遺伝子群はかなり高い割合を示した。過去2年間の総数のうち GI の遺伝子群が 0.12%であるのに対し、GII は 41.3%であった(表 1)。

表 1 2021 年～2023 年の日本における感染性 AGE の乳幼児・小児のノロウイルス感染者割合

Year	No. of specimen tested	No. of Positive samples (%)	
		NoV GI	NoV GII
2021-2022	452	0 (0)	176 (38.9)
2022-2023	360	1 (0.28)	159 (44.2)
Total	812	1 (0.12)	335 (41.3)

さらに各年における時期、月齢に関する有病率を算出した。過去2年間のそれぞれで12月から翌年2月にかけて52.2%であり(図1)、生後12から23ヶ月の乳幼児で36.7%(図2)であった。また GII.4 が最も有病率の高い遺伝子型となっており、70.4%を示した(図3)。

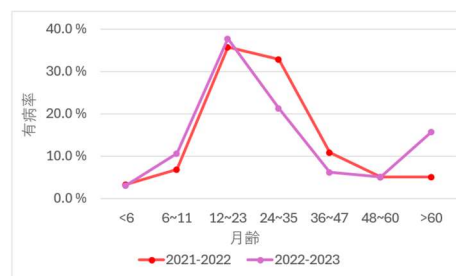


図 1. 各年における時期ごとのノロウイルス有病率

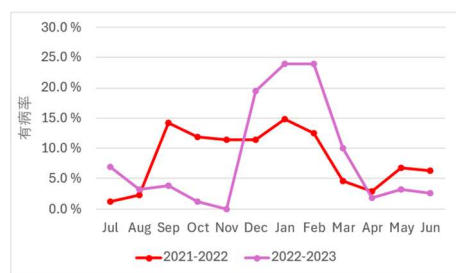


図 2. 各年における月齢ごとのノロウイルス有病率

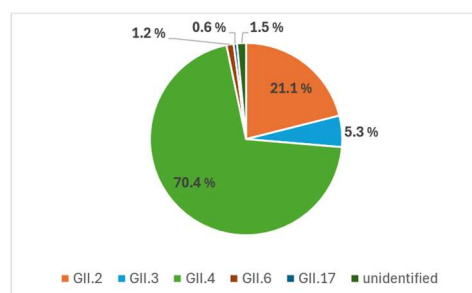


図 3. 研究2年間のノロウイルス遺伝子型ごとの有病率

作製した系統樹は4種類の遺伝子型に分類された。組換え点の検出では解析したすべてで、ORF1-ORF2 領域での組換えが確認された。

今後はすべてのデータを解析し、組換え点の同定や有病率の調査などを行う予定である。またワクチン開発に繋げるために、組換え発生時期や条件についても調査する必要がある。

参考文献

- 1) J. Sherwood, P. M. Mendelman, E. Lloyd, *et al.*, *Vaccine.*, **2020**, 38, 41, 6442-6449.
- 2) M. Tan, *pathogens.*, **2021**, 10, 12, 1641.
- 3) N. T. K. Pham, P. Khamrin, Y. Shimizu-Onda, *et al.*, *Archives of Virology.*, **2023**, 168, 9, 231.