

小児急性胃腸炎を引き起こすノロウイルスの遺伝子解析

日大生産工 (院) ○今門 摂子 日大生産工 Pham Thi Kim Ngan

チェンマイ大・医 Khamrin Pattara 日大・医 沖津 祥子

日大・医 相澤 志保子 日大生産工 吉宗 一晃 日大・医 牛島 廣治

1 緒言

ノロウイルスは急性胃腸炎 (acute gastroenteritis: AGE) を引き起こす病原微生物であり、AGE の総症例の約 20% を占めている。食品を媒介して感染することが多く、下痢や嘔吐の症状を伴うため乳幼児や小児は重症化しやすく、その患者において高い死亡率を示している。加えて経口、接触、飛沫、空気を媒介として感染することから集団感染しやすく、集団行動の多い小児への感染率が高くなっている。世界では年間平均 6 億 5,800 万件のノロウイルス感染症例があり、うち 2 億人が 5 歳未満である。特に発展途上国では、5 万人もの子供が死亡している。経済的な影響も大きく、ノロウイルスによる医療費の増大と生産性の低下により世界中で 600 億ドルの損失が発生していると推定されている。

ノロウイルスは脂質二重膜を持たない非エンベロープウイルスであり、アルコール消毒や熱などの環境変化に対する耐性が高いため集団感染を引き起こしやすく、感染を防ぎにくい。またノロウイルスゲノムは一本鎖 RNA (ssRNA) であり、強固なタンパク質の殻であるカプシドタンパク質に包まれている。このカプシドタンパク質は主要タンパク質 (Viral Protein 1: VP1) と、マイナータンパク質 (Viral Protein 2: VP2) で構成されており、脂質膜よりも構造的に安定している。 (Fig. 1)

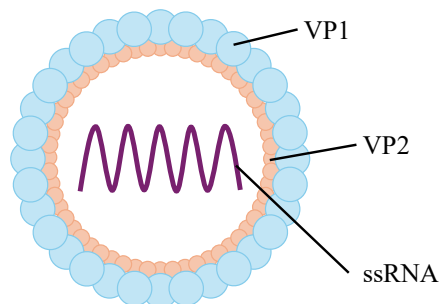


Fig. 1. Schematic diagram of Norovirus

エンベロープを持たずカプシドタンパク質のみに覆われているため、ノロウイルスは主に VP1 を含むカプシド表面のタンパク質を利用して宿主細胞の受容体に直接結合する。カプシドタンパク質はエンドサイトーシスにより宿主細胞内に侵入する。侵入後、カプシドタンパク質の構造変化を利用してゲノムを細胞質に放出することで感染する。感染後は、感染細胞の細胞膜を破壊する細胞溶解によって細胞外へ放出される。ノロウイルスのゲノム ssRNA はすべての遺伝子をコードしており、ゲノムサイズは約 7.5 kbp である。

ノロウイルスには GI から GX まで 10 種類の遺伝子群が存在し、ヒトへの感染が見られる遺伝子群は主に GI および GII である。¹⁾

ノロウイルスの遺伝子には、3 つの Open Reading Frame (ORF1-3) が存在し (Fig. 2)、ORF1 は、非構造タンパク質である RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RNA dependent RNA polymerase: RdRp) をコードしており、RdRp

Genetic Analysis of Norovirus Causing Acute Gastroenteritis in Children

Setsuko IMAKADO, PHAM Thi Kim Ngan, KHAMRIN Pattara,
Shoko OKITSU, Shihoko AIZAWA, Kazuaki YOSHIMUNE, Hiroshi USHIJIMA

はノロウイルスの複製に関与している。ORF2 はカプシドタンパク質の VP1 をコードしている。これらの RdRp および VP1 の遺伝子型により、ノロウイルスの遺伝子型を決定できる。

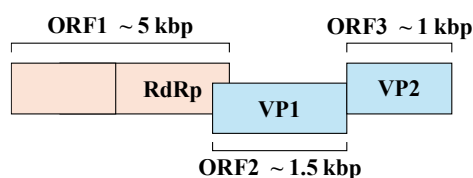


Fig. 2. Genetic structure of Norovirus

各遺伝子群にはそれぞれ数種類の遺伝子型が存在し、VP1 によって決定される遺伝子型を例にとると、GI では GI.1 から GI.9 までの 9 種類、GII では GI.1 から GI.14、および GI.16 から GI.27 までの 26 種類が存在する。ノロウイルスは経時的に遺伝子組換えを行うため、新たな遺伝子型の出現が頻繁に見つかり、いまだワクチンが存在しない。²⁾

本研究では日本の小児を対象とした遺伝的多様性の調査を目的として、ノロウイルスの各遺伝子型における有病率の調査や系統解析、組換え点の同定を行った。AGE 患者から採集された糞便検体をゲノム抽出し、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) の一種であるリアルタイム PCR 法を活用して DNA 増幅、精製後、シーケンスデータとして本解析で用いた。

2 解析方法

これまでに 2021 年 7 月から 2024 年 6 月までの 3 年間のデータを解析、評価した。解析に使用したシーケンスデータは、静岡県、京都府、大阪府の日本国内 3 府県における小児クリニックにて採集された AGE 罹患小児の糞便検体から得られたものである。解析では、全シーケンスデータと National Center for Biotechnology Information (NCBI) 上の参照データから系統樹を作成した。さらに組換えを起こしていない参照データを本研究データと

比較し、類似性から組換え点の同定を行った。

3 解析結果

採集された全 AGE 罹患小児の検体 1,095 の中でノロウイルス陽性を示した検体は 456 であり、AGE 罹患小児のうち 41.6%を占めた。このうち検出された遺伝子群 GI は 2 つ、GII は 453、GI および GI.2 の両方に感染した検体は 1 つであり、ほとんどが遺伝子群 GI.2 に感染していることが明らかとなった。また各月の感染者数を比較すると、いずれの年も 12 月から 2 月にかけて感染者数が増加しており、冬季に多くなった。さらに VP1 による遺伝子型で感染者数を比較すると、検出された GI.4 の検体数はノロウイルス陽性のうち 327 であり 71.7%を占めた。加えて、本研究 3 年目の 2023 年から 2024 年にかけて遺伝子型 GI.7 を初検出し、この年のノロウイルス陽性数 122 のうち 21 が GI.7 に分類されたことで、GI.4 (92 検体で全体の 75.4%) に次いで 2 番目に高い有病率 (17.2%) を示す結果となった。

最後に組換えが発生した遺伝子型は、RdRp および VP1 の遺伝子型が判明している検体 305 のうち 282 (92.5%) であり、多くが組換えを起こしていることが示された。組換えが発生していた遺伝子型は 5 種類あり、そのすべてが ORF1 領域で組換えを起こしていた。

本研究は、日本の小児 AGE 患者の主要原因がノロウイルスであることや、日本での GI.4 の優位性の継続および GI.7 の出現を明らかにした。ノロウイルスの進化を追跡し、公衆衛生対策と将来のワクチン開発に役立てるために、継続的に調査を進めていく必要がある。

参考文献

- 1) N. Winder, *et al. Viruses*, **2022**, 14, 2811
- 2) L. Cavicchio, *et al., Viruses*, **2022**, 14, 537