



感染症の話

ノロウイルス感染症

夏に猛威を振るったサルモネラ、腸炎ビブリオをはじめとする細菌による食中毒が一段落し、秋空が広がる10月に入った頃から新聞紙上を賑わす食中毒がある。代表的なものは生ガキによる集団食中毒である。カキの中腸腺に蓄積されたノロウイルスがヒトの小腸で増殖して引き起こされる急性胃腸炎である。ノロウイルスによる急性胃腸炎は食品によるほか、水を介する場合、さらにヒト-ヒトで伝播し、主に小児で流行する場合もあることが明らかになってきた。

ノロウイルス(Norovirus)は、電子顕微鏡で観察される形態学的分類でSRSV(小型球形ウイルス)と呼ばれたり、ノーウォーク様ウイルス "Norwalk-like viruses" という暫定的な属名で呼ばれてきたウイルスである。2002年の夏、国際ウイルス命名委員会によって、ノロウイルスという正式名称が決定され、世界で統一されて用いられるようになったので、本稿でも以下の文中でノロウイルスを使用する。

疫学

わが国のノロウイルスに関するデータは3つある。(1)食中毒統計(<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/index.html>)は、医師の届出によって保健所が検査し、厚生労働省にウイルス性食中毒として報告され集計されている。我が国における集団食中毒がほぼ捉えられている。平成14年の食中毒発生状況によると、小型球形ウイルスによる食中毒は、事件数では、総事件数1,850件のうち268件(14.5%)、患者数では総患者数27,679名のうち7,961名(28.8%)となっている。病因物質別にみると、サルモネラ属菌(465件)、カンピロバクター・ジェジュニ/コリ(447件)に次いで発生件数が多く、患者数では第1位となっている。表1に平成10年から14年のノロウイルスによる集団食中毒の集計結果を示した(小型球形ウイルスによる食中毒として集計されたデータ)。(2)感染症発生動向調査(週報)の中で冬季の感染性胃腸炎関連ウイルスとして集計されている。感染性胃腸炎は感染症法の5類感染症定点把握疾患で、全国約3,000カ所の小児科定点医療機関から報告される(<http://idsc.nih.go.jp/kanja/idwr/idwr-j.html>)。主に散発の感染性胃腸炎患者数を示している。(3)病原微生物検出情報(月報)に、地方衛生研究所で検査され、ノロウイルスであることが確認されたものが集計されている(<http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html>)。散発例およびウイルスに起因する集団発生からのノロウイルス検出が捉えられている。これらのデータはいずれの場合も、日本ではノロウイルスが12月から3月をピークにして全国的に流行していることを示している(表2)。

表1.

	平成10年	平成11年	平成12年	平成13年	平成14年
事件数(件)	123	116	245	269	268
患者数(名)	5,213	5,217	8,080	7,358	7,961

ノロウイルス食中毒の予防に関するQ&A(厚生労働省作成:平成16年2月4日)より転用

表2 . 過去5年間の月別発生件数

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
平成10年	47	16	16	2	9	1	1	0	0	3	9	12
平成11年	12	17	12	12	5	3	2	2	0	3	10	38
平成12年	70	45	45	13	4	4	3	0	3	3	10	45
平成13年	87	72	25	9	7	5	2	0	1	5	14	42
平成14年	61	62	37	12	9	11	2	1	1	3	13	56

ノロウイルス食中毒の予防に関するQ&A (厚生労働省作成：平成16年2月4日) より転用

病原体

ノロウイルスはサポウイルス(Sapovirus; 旧名称 sapporo like viruses : SLV) と並ぶカリシ(ラテン語: コップを意味する)ウイルス科の属名である。ウイルス粒子を電子顕微鏡で見たときに、その表面にコップ状の窪んだ構造が観察されることがカリシウイルス命名の由来となっている。図1にノロウイルスの電子顕微鏡像を示した。直径が38ナノメートルの正二十面体である。プロトタイプは1968年に米国オハイオ州 ノーウォークの小学校で発生した集団胃腸炎から検出され、1972年に免疫電子顕微鏡下でその形態が明らかになったノーウォークウイルス/68(NV/68)である。以来、形態学的にNV/68と区別できないが抗原的に異なる株は、発見された地名を冠して、たとえばスノーマウンテンウイルス、メキシコウイルス、わが国でも音更(おとふけ)因子、チバウイルスなどと命名されてきた。ノロウイルスは培養細胞や実験動物への感染がいまだに成功していないウイルスで、ヒトが唯一の感受性動物であるといつてよい。

現在、ノロウイルスに属するウイルスはGenogroup I(GI)とGenogroup II(GII)の2つの遺伝子群に分類され、さらにそれぞれは14と17の遺伝子型(genotype)に分類される。また各遺伝子型に対応した血清型があるらしく、極めて多様性を持った集団として存在する。図2に構造蛋白コード領域の上流部分約250塩基の塩基配列に基づいて作成した系統樹を示した。この領域は後述するノロウイルス検出用RT-PCRプライマーG1SKF & G1SKR, G2SKF & G2SKRによって増幅されるPCR増幅産物のプライマー部分を除いた領域である。GI, GIIに含まれる遺伝子型番号は欧米の研究者らと協議の上、Fields VIROLOGYの第4版に従ってナンバリングした。病原微生物検出情報 vol.24 No.12, p5に掲載済みの系統樹と番号が異なる遺伝子型があるが、今後の混乱を防ぐ意味でも、今後は本報のナンバリングに従っていただきたい。海外の研究者との情報交換もスムーズにいくと思われる。

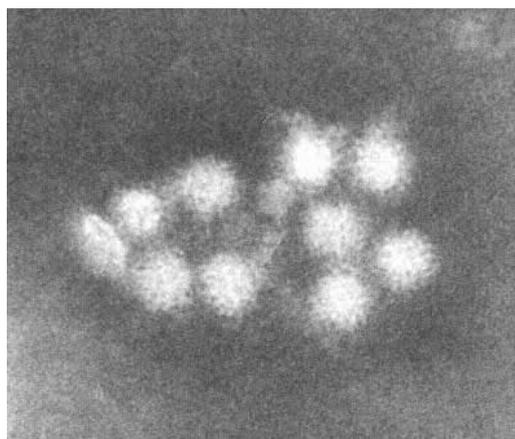


図1 . ノロウイルスの電子顕微鏡像 (埼玉県衛生研究所篠原先生撮影) 直径は約38ナノメートルである。

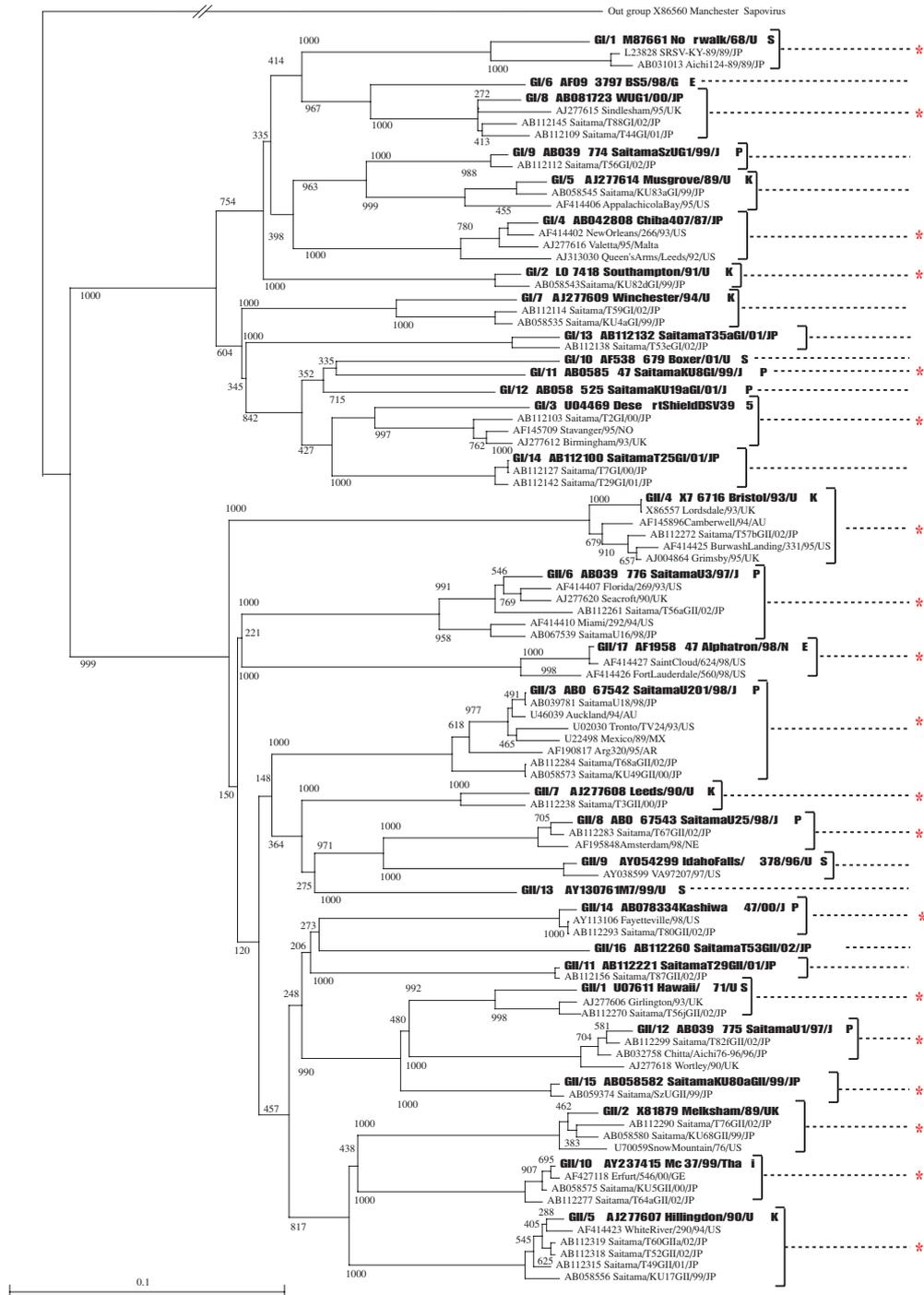


図2. ノロウイルスの構造蛋白全領域に基づく系統樹

RT-PCRプライマーG1SKF & G1SKR, G2SKF & G2SKRによって増幅される領域のうち、プライマーの部分を除いた253塩基をDDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/Welcom-j.html>) のclustalWを用いてアライメントし、Kimura 2-parameterで遺伝学的距離を算出した。分岐点検定のためブートストラップ検定は1000回を行い、950以上を統計学的に有意な分岐とした。系統樹はclustalWの値に基づき、Njplot (<http://pbil.univ-lyon1.fr/software/njplot.html>) で作成した。遺伝子型別はKatayamaら (Viology 299, p225-239, 2002) の方法に基づいて行い、遺伝子型番号についてはFields VIROLOGYの第4版に従った。*印は、VLPと免疫血清を用いたEIAで相互に抗原性が異なることを確認済みの遺伝子型である(国立感染症研究所、名取、未発表)。

臨床症状

ノロウイルスのボランティアへの投与試験の結果から、潜伏期は1～2日であると考えられている。乳児から成人まで幅広く感染するが、一般に症状は軽症であり、治療を必要とせずに軽快する。まれに重症化する例もあり、老人や免疫力の低下した乳児では死亡例も報告されている。嘔気、嘔吐、下痢が主症状であるが、腹痛、頭痛、発熱、悪寒、筋痛、咽頭痛などを伴うこともある。ウイルスは、症状が消失した後も3～7日間ほど患者の便中に排出されるため、2次感染に注意が必要である。ボランティアのバイオプシー由来の腸管組織を病理組織学的に観察した結果から、ノロウイルスはヒトの空腸の上皮細胞に感染して繊毛の委縮と扁平化、さらに剥離と脱落を引き起こして下痢を起こすらしいことが明らかになっている。しかしながら、このような現象がどのようなメカニズムによるものなのか、その詳細はまだ不明である。

病原診断

ノロウイルスの検出はあくまでも電子顕微鏡による観察が基本であるが、対象が患者糞便に限られるのが難点である。現在に至っても、本法がノロウイルス検出の基本であるが、この方法で検出するには 10^6 個/ml以上のウイルス粒子が必要であるので、感度は低い。また、形態学的にノロウイルスが観察できても、ノロウイルスであることを同定できるわけではない。

前述した様にノロウイルスは、培養細胞で再現性良く増殖させることができない。これがネックとなり、ノロウイルスに関する基礎的な研究は遅れていた。しかし、ここ数年で20株を超えるノロウイルスのゲノム全塩基配列が決定され、ウイルスゲノムが詳細に解析されたことにより、新たな診断法が開発された。一つは、ゲノムの中で最も高度に保存された領域を標的としたリアルタイムRT-PCRシステムの構築である。この方法により、ノロウイルスゲノムを超高感度に定量測定することが可能となった。もう一つは、ウイルス様粒子(VLP)を用いた抗原検出システムの構築である。ノロウイルスゲノムの構造蛋白質領域をバキュロウイルスに組み込み、昆虫細胞で発現させると、ウイルス粒子と酷似したVLPを作出できることが明らかにされた。VLPは構造がノロウイルスそのものであり、ウイルス粒子と同等の抗原性を有するが、内部にゲノムRNAを持たず、中空で感染性はない。現在、互いに抗原性の異なると予想されるノロウイルスは30種類以上になろうとしているが、その約60%をカバーするVLPの作出に成功している。これらのVLPをウサギに免疫して得たポリクローナル抗体を用いて構築したEIAキットが、前述の抗原検出システムである。このキットにより、特殊な機器を必要としない迅速かつ簡便な抗原検出が可能となった。しかし、ノロウイルスの新しい遺伝子型が現在もなお発見され続けており、これらに対応するためには、新たなVLPの作出と抗体の作製を継続しなければならない。

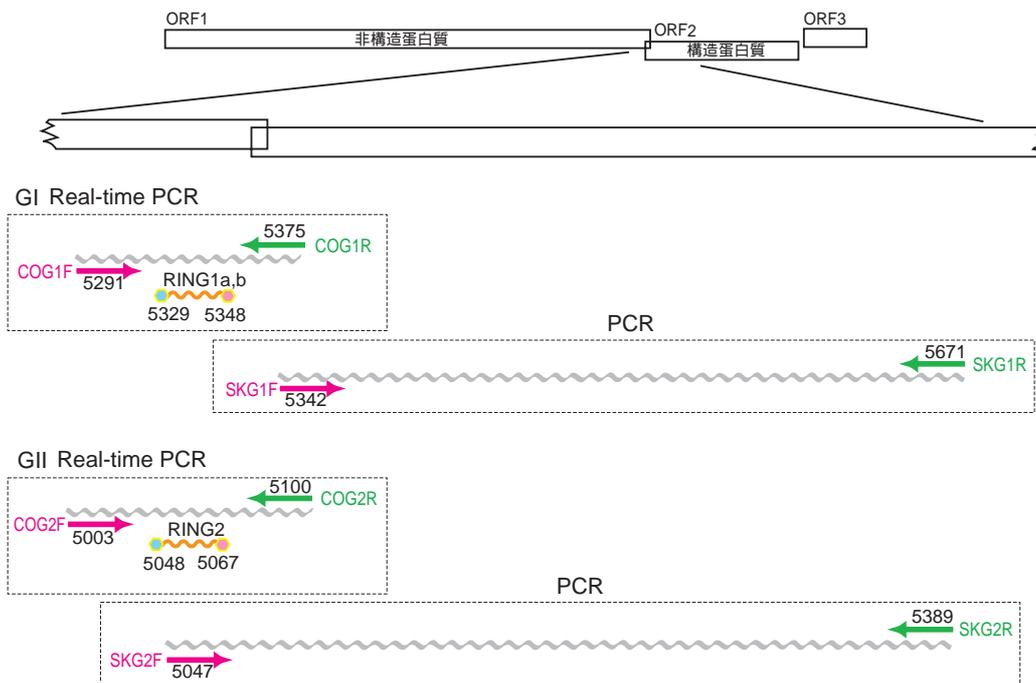


図3. ノロウイルスの遺伝子構造と増幅のためのプライマー

ノロウイルスはORF1-3の三つのオープンリーディングフレームをもつ。RT-PCRによる遺伝子増幅には、ノロウイルスゲノムの中で最も高度に保存されている領域ORF1とORF2の境界付近の超高感度定量検出用(リアルタイムPCR)プライマーセットと、ORF2にコードされる構造蛋白質領域のPCR用プライマーが使用されている。図にはプライマーの5'末端の塩基の位置をGIはNorwalk/68(M87661)、GIIはLordsdale/93/UK(X86557)の塩基番号で示した。

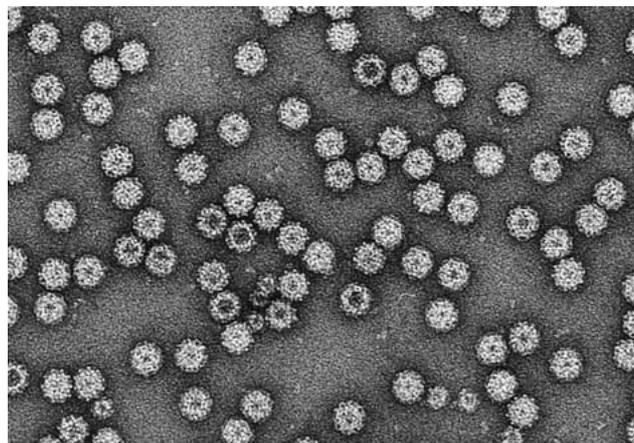


図4. 組換えバキュロウイルスで作製したVLPの電子顕微鏡像

遺伝子が入っていないので中央が黒く見えているものがある。いずれも中空の粒子で、ネイティブなノロウイルスと同じ38ナノメートルの直径を有する。

治療・予防

感染者より排泄された排泄物、もしくは吐物は下水より汚水処理場に至る。しかし、ウイルスの一部は浄化処理をかいくり、河川に排出され、海で蠣などの貝類の中で濃縮される。汚染した貝類を生そのまま食すると当然、再びウイルスは人体に戻り、感染を繰り返す。しかし一般に、加熱した食品であればウイルスは完全に失活するので問題はないが、サラダなど加熱調理しないで食する食材が感染源となる。例えば、汚染された貝類を調理した手や、包丁・まな板などから生食用の食材に汚染が広がると考えられている。また最近の報告では、ノロウイルスの感染者を看病したり、患者の吐物、便などから直接感染するヒト-ヒト間の感染があることも明らかにされている。

糞口感染するウイルスであるので、食品衛生上の対策としては、食品の取り扱いに際し入念な手洗いなど衛生管理を徹底すること、食品取扱者には啓発、教育を十分に行う事が大切である。身近な感染防止策として手洗いの励行は重要である。また、吐物など、ウイルスを含む汚染物の処理にも注意が必要である。粒子は胃液の酸度(pH3)や飲料水に含まれる程度の低レベルな塩素には抵抗性を示す。また温度に対しては、60 程度の熱には抵抗性を示す。したがってウイルス粒子の感染性を奪うには、次亜塩素酸ナトリウムなどで消毒するか、85 以上で少なくとも1分以上加熱する必要があるとされている。ノロウイルス食中毒の予防に関するQ&A(厚生労働省作成:平成16年2月4日)に詳細が記されている。

治療としてはノロウイルスの増殖を抑える薬剤はなく、整腸剤や痛み止めなどの対症療法のみである。

感染症法における取り扱い

ノロウイルスによる胃腸炎は、5類感染症定点把握疾患である感染性胃腸炎の重要な疾患である。感染性胃腸炎は全国約3,000カ所の小児科定点医療機関より、毎週報告がなされている。

食品衛生法での取り扱い

食中毒が疑われる場合は、24時間以内に最寄りの保健所に届け出る。

(国立感染症研究所ウイルス第二部 片山和彦)