

審査の結果の要旨

氏名 高梨 さやか

本研究は、小児の下痢原性ウイルスとして重要な位置を占めるノロウイルスの診断法を開発し、病態生理、疾病負担を明らかにするために、簡便迅速に施行可能なイムノクロマトグラフィー法を確立し、小児の各種検体からノロウイルス遺伝子の検出・配列解析・定量化を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. ノロウイルスの流行株である GII/3 と GII/4 のウイルス中空粒子を抗原としてウサギポリクローナル抗体を作成し、イムノクロマトグラフィー試験紙に組み込んだ。RT-PCR を標準法とした臨床検体による評価は、一致率 84.1%、感度 69.8%、特異度 93.7%であった。ノロウイルス以外の下痢原性ウイルスとの交差反応性を認めず、検出限界が  $10^{6-7}$  copies per gram of stool と十分低いことも考慮すると、開発された IC は実験室的なサポートのない環境におけるノロウイルス感染症のスクリーニングに有用と考えられた。
2. 39 人のノロウイルス胃腸炎のうち 6 人 (15.4%) の血清から seminested RT-PCR でノロウイルス RNA が陽性となった。痙攣症状を呈した患児より採取された脳脊髄液は 2 検体ともに陰性であった。血清が陽性となった患児は陰性であった患児に比較して痙攣、小脳失調などの神経学的合併症を伴うことが多かった ( $p=0.028$ )。同じ患児より採取された便と血清検体中のノロウイルスの遺伝子型は全て一致し (GII/3:1、GII/4: 5)、それぞれ高い相同性を示した (99.2% ~100%)。これらの事から、血清中に検出されたノロウイルス RNA は腸管由来のものと推察された。
3. 東京都内の保育園通園児における RT-PCR を用いた胃腸炎サーベイランス (2005 年 7 月~2006 年 6 月) の結果は、6 年前に同保育園で同様の手法を用いて行ったサーベイランスと比較して、全体の胃腸炎ウイルス検出率は低下したにもかかわらず ( $p<0.001$ )、検出された胃腸炎ウイルスにおけるノロウイルスの割合は増加した ( $p<0.01$ )。1 年間の研究期間中に、20 人の対象園児のうち 18 人がノロウイルス感染症を経験したが、この中には複数の遺伝子型に感染した児や、同じ遺伝子型に複

数回感染した児も含まれていた。研究期間中にノロウイルス GII/6 による発症率 27.5%のアウトブレイクが発生したが、発端となったのは、アウトブレイク 2 日前に無症状で通園してノロウイルス GII/6 が検出された便を排出し、翌日より胃腸炎症状で休園した 2 歳女児と考えられた。この児の検体は  $4.7 \times 10^4$  copies per gram of stool とウイルス量は低値であったが、園ではそれまでノロウイルス GII/3 と GII/4 のみ侵淫していたこともあり、アウトブレイクを引き起こしたと考察された。健康園児から収集した全検体の 17.5%から何らかの下痢原性ウイルスが検出されたことも併せて考慮すると、標準予防策の重要性が強く示唆された。

4. スリランカ・キャンディ市の小児胃腸炎入院例（2005 年 9 月～2006 年 8 月）において、ノロウイルス GII は全体の 10.5%の検体（38 件体）で陽性となり、A 群ロタウイルスに次いで 2 番目に頻度高く検出された。スリランカの小児由来のノロウイルス報告例は現在まで無く、この塩基配列は初めて GenBank に登録された。他の下痢原性ウイルスと混合感染をしていない 33 例のノロウイルス感染児の主な臨床症状は、下痢（100%）、嘔吐（72.7%）、 $37.5^{\circ}\text{C}$ 以上の発熱（51.5%）であった。ノロウイルスは、A 群ロタウイルスや 2 種類のウイルスの重複感染例と同等の胃腸炎重症度スコアを示した（平均値±SD:  $12.1 \pm 3.0$ 、 $10.9 \pm 3.0$ 、 $10.6 \pm 3.0$ 、 $p = 0.156$ ）。10 月を除いて毎月ノロウイルス GII の検出がみられたが、北東モンスーンと南西モンスーン間の乾燥時期であり年間最低気温が記録される 1 月に、検出数のピークが認められた。38 個の全てのノロウイルス陽性検体に対し遺伝子解析を行い、全世界的に検出頻度が低いとされる GII/9 や GII/16 を含む 5 種類の遺伝子型が認められた。その中で GII/3 が 22 検体（57.9%）と最多であり、日本を含むアジア各国から GenBank に登録されている株の塩基配列と 98%以上の高い相同性を示した。

以上、本論文は簡便迅速に施行可能なイムノクロマトグラフィー法の開発に成功し、多数の臨床検体の検討からノロウイルスの新たな病原性への関与、社会全体へ及ぼす影響の大きさを明らかにした。本研究は小児におけるノロウイルス胃腸炎の全体像の解明、及び全世界的にノロウイルスを制御するためのサーベイランスに重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。