

2. カリシウイルス

牛島 廣治, 沖津 祥子, Khamrin PATTARA

日本大学病態病理学系微生物学分野

ノロウイルス, サポウイルスに代表されるカリシウイルスは, ヒト, 哺乳類のみならず広く動物に存在する. 臨床症状も胃腸炎のみならず多彩である. 不顕性感染のこともある. カリシウイルスは環境に強いために, 宿主動物間の感染以外に自然界, 食品などを介しての感染が見られる. カリシウイルスでは突然変異の他にゲノム内の組換えが頻繁にみられる. 現時点では組換えは同じ動物種ウイルス内である. 遺伝子診断, 遺伝子解析や組換え中空ウイルスを用いた酵素抗体法で, 臨床や疫学研究が進んできた. ウイルスと宿主との免疫反応はウイルス遺伝子型特異性が強く交差免疫が出来にくい. 従ってノロウイルスやサポウイルスなどのカリシウイルス感染では, 世界規模で新しい変異株の流行が短期間に広がる可能性がある. 感染にカリシウイルスの細胞側のレセプターである組織血液型抗原が関与する場合があります. 感染, 発症に個体差がある. ヒトノロウイルス, ヒトサポウイルスは細胞培養が出来ないので研究に制約がある. 培養できる動物のノロウイルスを用いて病態や治療薬・消毒薬, ワクチンの開発が進んでいる.

カリシウイルスの性状

カリシウイルス Calicivirus の名は, 電子顕微鏡で特徴的なウイルス表面の外観となる 32 個のコップ型の陥凹 (calix, コップ; 医学的には腎杯の意味がある) に由来する. Chalice (drinking cup) 即ち, ミサの時ブドウ酒を入れる杯の形がウイルスの外表に多数見られる. 直径 27 - 40nm でピコルナウイルスより僅かに大きい. サポウイルスは電子顕微鏡像としてノロウイルスの構造とやや異なり, “ダビデの星” とも称されるより大きな窪みを有している (図 1). ネコカリシウイルスではダビデの星に近い印象を受けるが, カリシウイルスの電子顕微鏡像は処理の条件によっても異なる像のように見られる. エンベロープを持たない正 20 面体で, 90 個のカプソマーよりなり, 各カプソマーは 1 種のポリペプチドの 2 量体である.

ノロウイルスのカプシドは shell domain (S) と protruding domain (P) に分けられる. P は P1 と P2 の subdomain に分けられる. P2 はウイルスの最表層に飛び出している (図 2). S-P1-P2-P1 の順に並んでいる. ウイルスの遺伝子型によって構造がやや変化している. 即ち P2 領域は抗原性や細胞レセプターに関係し遺伝子型による違いを形態学的に反映している^{2,9)}. そして組織血液型抗原 (HBGA) との結合部位および結合力が P2 の立体構造で異なっている. 抗体結合部位も HBGA 部位とは異なり存在する. 詳細な立体構造は省略する³⁰⁾.

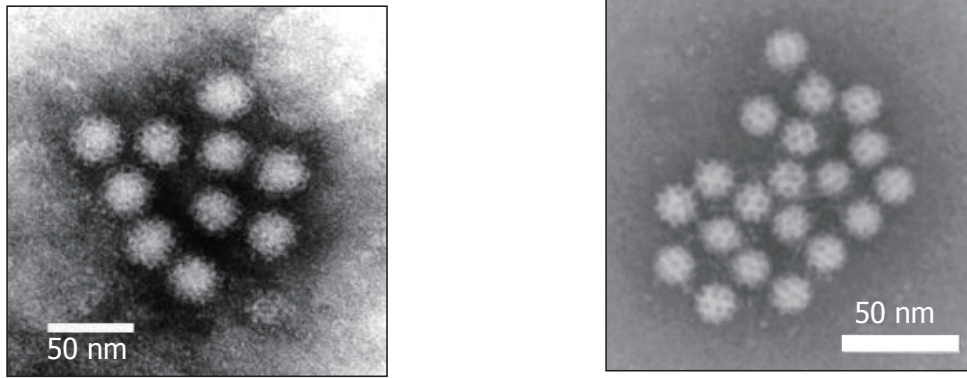
カリシウイルスのカプシドは環境の変化に強い. たとえば塩素濃度 3.65~6.25mg/L ではロタウイルス, ポリオウイルスと違い抵抗性がある. また, 60°C で 30 分, pH 2.7 で 3 時間安定である⁹⁾. 通常人獣共通感染症ではない. 非常にまれに濃厚な接触により, また動物実験により他種動物に感染させることが出来る.

カリシウイルス科の分類と構造

カリシウイルス科 (family Caliciviridae) には 5 つの属がある. Norovirus, Sapovirus, Lagovirus, Vesivirus, Nebovirus 属がある^{9,40)} (図 3). また新しい属の候補 (Candidate genus) として Recovirus 属がある⁶⁾. その他未分類の新しいカリシウイルスの属として, St-Valerien-like calicivirus, Chicken calicivirus, Turkey calicivirus, bovine enteric calicivirus

連絡先

〒173-8610
東京都板橋区大谷口上町 30-1
日本大学医学部病態病理学系微生物学分野
牛島廣治 (USHIJIMA Hiroshi)
TEL: 03-3972-8111 (内線 2263)
E-mail: ushijima-hiroshi@jcom.home.ne.jp



Norovirus

Sapovirus

図1 ノロウイルス、サポウイルスの免疫電子顕微鏡像

註 <http://www.epa.gov/microbes/norwalk.html> を引用

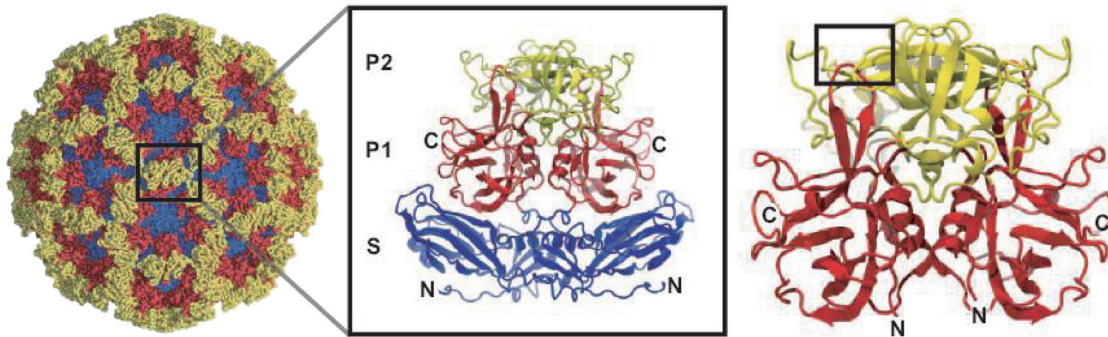


図2 ノロウイルス カプシドの構造

註：カプシドは2量体からなる90のカプソマーでS（青）、P1（赤）、P2（黄）の領域からなる。N、C末端とHBGA結合部位（長方形）を示した。Glass RIらの論文から引用

(BEC) が報告されている。

ゲノムは1本鎖(+)RNAで7.3から8.3kbの直鎖であり、5'-末端にVPg (virus protein genome-linked) が共有結合しており、3'-末端にポリA配列を持つ。ゲノムRNAは複製時にmRNAとしての機能を有する。1つのゲノムからポリプロテンORF1と、1つのORF2あるいは2つのORF (ORF2, ORF3) が作られる。構造蛋白はVP1とVP2がありサブゲノムRNAから作られる。カプシド蛋白の遺伝子はNorovirus属とVesivirus属ではORF2になるが、Lagovirus属、Sapovirus属、Nebovirus属ではORF1の3'側に存在する。ORF1ポリプロテンが自己のプロテアーゼによって切断されて成熟した非構造蛋白となる。N-末端蛋白(2つまたは1つの蛋白でその機能ははっきりしていないが他の非構造蛋白と相互作用し複製に関係がある：NS1とNS2またはNS1-2)、NTPase (NS3)、20-30kダルトンで他の非構造蛋白と相互作用し複製に関係がある

(NS4)、VPg (NS5)、proteinase (NS6)、RNA-dependent RNA polymerase (RdRp, NS7) が存在する。3'側にはカプシド蛋白 (VP1) とまだ十分に機能が分かっていない蛋白 (VP2) が存在する²⁸⁾。カリシウイルスはピコルナウイルスと類似するところがあり、それぞれ3D-like polymerase、3C-like protease、VPg、3A-like protein、2C-like protein などと呼ばれることがある。Sapovirus属の場合ORF3があり、さらに1つの小さい蛋白が存在する⁵⁾。この蛋白は動物カリシウイルスでは粒子の安定化に関係するといわれる。Vesivirus属の場合ORF2がカプシド蛋白を作るが、プロテアーゼで切断されて成熟カプシドになる²⁴⁾。

カリシウイルスのライフサイクル (図4)

増殖過程を調べるためには現時点では細胞培養が可能なネコカリシウイルスやマウスノロウイルスが用いられる。ウイルスは細胞のレセプターに結合し[1]、エンドサイ

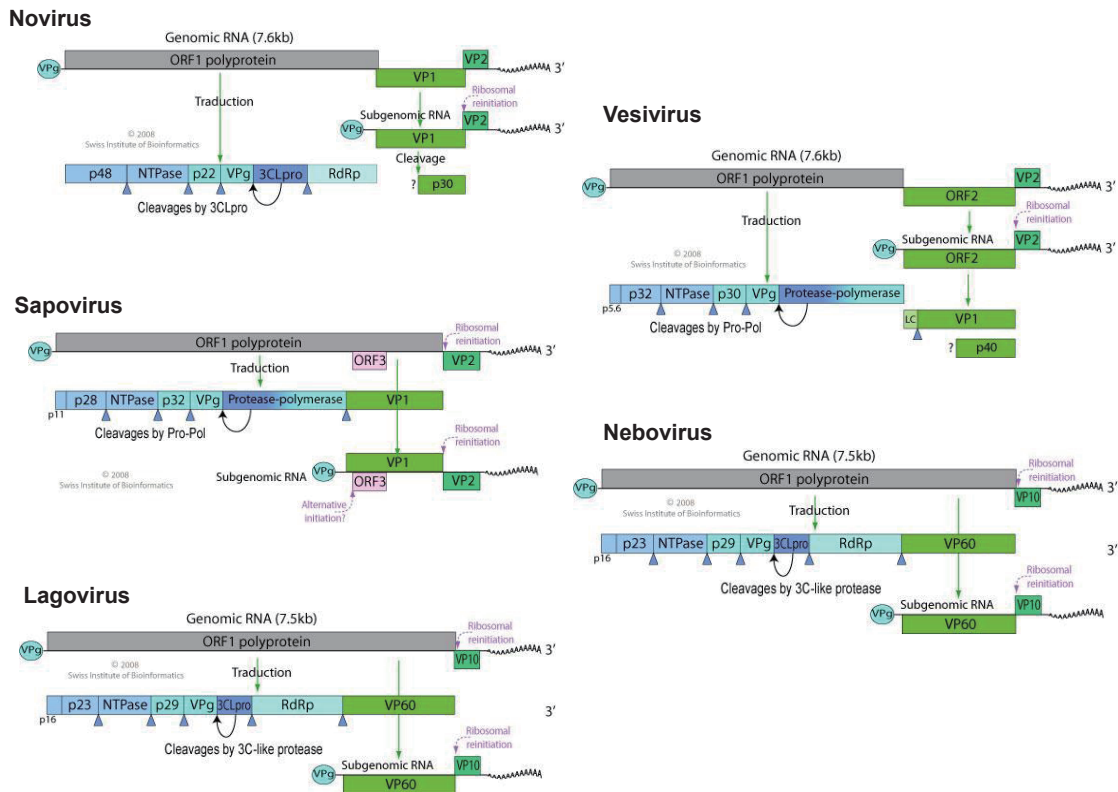


図3 カリシウイルスのゲノム構造と蛋白

註： http://viralzone.expasy.org/all_by_species/294.html より引用

トースで細胞に取り込まれる。レセプターはHBGAがNorovirus属²⁾、Lagovirus属²²⁾、Recovirus属⁶⁾で、接合部接着分子がfeline calicivirus¹⁶⁾で報告されている。脱殻²⁾により、細胞質内に放出される。VPgはcap様の働きを有し、eIF4EとeIF3(宿主細胞由来)との相互作用で、ORF1は翻訳されポリプロテインが作られ³⁾、さらにプロテアーゼで切断され⁴⁾、すでに述べた6~7個の蛋白が作られる。これらの非構造蛋白はさらに集合(replication complex)⁵⁾してRNAの転写に関与する⁶⁾。即ちゲノムRNAを鋳型としてマイナス鎖RNA(antigenomic RNA)が作られる⁶⁾。そしてこのマイナス鎖RNAをもとにして新しいゲノムRNAが作られる⁷⁾。またreplication complexによりサブゲノムRNAが作られ⁸⁾、翻訳により構造蛋白が作られる⁹⁾。複製されたゲノムRNAと構造蛋白がアセンブリー(組み立て)¹⁰⁾された後、新しいウイルスが放出される¹¹⁾²⁴⁾。Norovirus属、Vesivirus属、Recovirus属ではサブゲノムRNAからVP1とVP2が作られる。Sapovirus属、Lagovirus属、Nebovirus属はORF1のポリプロテインがプロテアーゼで切断されてVP1が出来る。ネコカリシウイルス(Vesivirus属)ではVP1が更に切断されてleader of capsid(LC) proteinとcapsidの2つに分かれる。VP2の翻訳にtermination/reinitiation機能が

関係する。即ちVP1/VP2の比率を決めるtermination upstream ribosomal binding site(TURBS)の機能が関係する²⁴⁾。

カリシウイルスの分子疫学的分類(図5)

ノロウイルス属はカプシドVP1の遺伝子配列で遺伝子群GIからGVに分けられる。ヒトの場合はGI, II, IVであるが、現在多くはGIIである。GI, GIIはそれぞれ16, 23以上の遺伝子型に分けられる。GIIはヒト以外にウシ、ブタのノロウイルスがある。GIVにはヒト以外にネコ、ライオン、イヌのノロウイルスを含む。GIII, GVはヒト以外が宿主のノロウイルスであり、GIIIはウシノロウイルス、GVはマウスノロウイルスである。遺伝子型はさらに細かく亜型(クラスター)に分類される。その亜型は地域、年によって流行の型が変わる。GII.4の中でも1996, 2002, 2004, 2006a, 2006bのように流行が変わってきている。その後2008a, 2008bがあるが2006bが現在でも大きな割合を占める²⁷⁾。この流行は世界的に連動している。全塩基配列決定が比較的容易に行えるようになり、全塩基、部分塩基からの解析も行われている¹⁸⁾。遺伝子の突然変異とともにORF1とORF2の重複する部位で主に組換えrecombinationが見られる。これは遺伝子型内(intrageno-

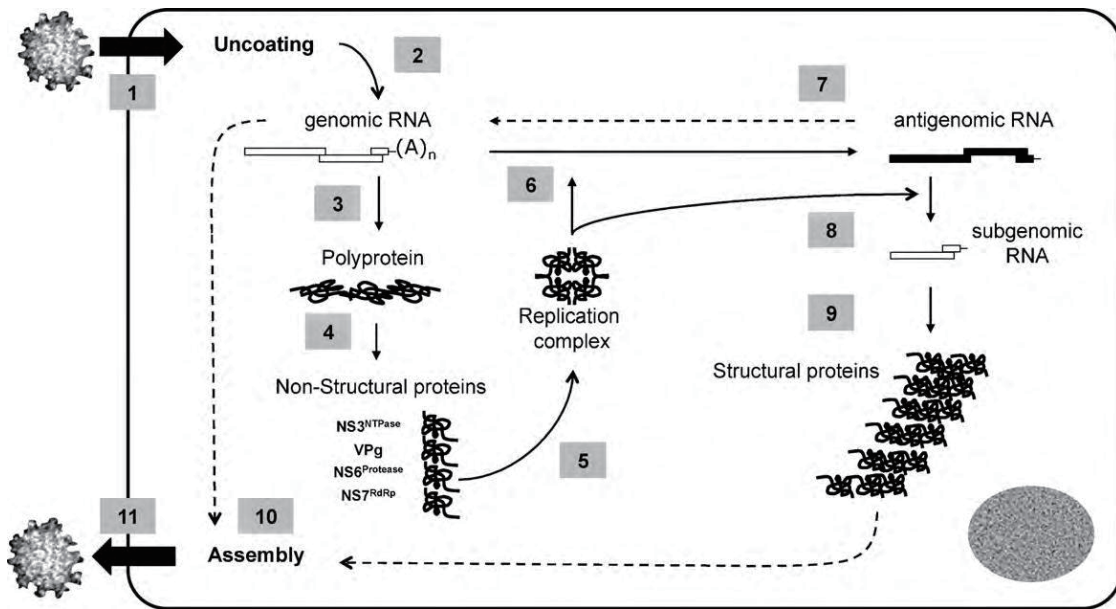


図4 カリシウイルスのライフサイクル (増殖)
 註：本文参照 Rohayem Jらの総説より引用

表1 カリシウイルス科の分類 (特徴)

属	種	宿主	細胞好性	分布	疾患	伝ばん様式	細胞レセプター
Norovirus	<i>Norwalk virus</i>	ヒト, 哺乳類	腸管上皮細胞	世界	胃腸炎	糞口,食品・水	組織血液型抗原
Sapovirus	<i>Sapporo virus</i>	ヒト, ブタ	腸管上皮細胞	世界	胃腸炎	糞口,食品・水	
Lagovirus	<i>Rabbit hemorrhagic disease virus</i>	ウサギ	肝細胞	世界	壊死性肝炎と出血	感染動物,節足動物,食品・水	組織血液型抗原
	<i>European brown hare syndrome virus</i>	褐色野兎	肝細胞	世界	壊死性肝炎と出血	感染動物,節足動物,食品・水	
Vesivirus	<i>Vesicular exanthema of swine virus</i>	ブタ, 海産哺乳類	呼吸器細胞	世界	呼吸器感染	飛沫感染	
	<i>Feline calicivirus</i>	ネコ	呼吸器細胞	世界	結膜炎, 呼吸器感染	飛沫感染	接合部接着分子
Nebovirus	<i>Newbury-1 virus</i>	ウシ	肝細胞	世界	壊死性肝炎と出血	糞口感染,飛沫感染	
Recovirus	<i>Tulane virus</i>	サル	腸管上皮細胞	世界	胃腸炎	糞口感染	組織血液型抗原

参照： http://viralzone.expasy.org/all_by_species/294.html, <http://www.caliciviridae.com>

type)のみならず、遺伝子型間 (intergenotype)でも、また稀であるが遺伝子群間 (intergenogroup)で見られる²⁰⁾。現在のところ recombinationは同じ動物内である。その中で intragenotype が最も多い。自然界の recombinationはカリシウイルスに頻繁にみられる現象である¹⁾。

サポウイルス属は遺伝子群 GI から GV に分けられる。ヒトでは GI, II, IV, Vであるが, GIIIはブタに見られる。現在のところ GI, GIIはそれぞれ8, 5の遺伝子型以上に分けられる。ヒトサポウイルスについての我々によるわが国の疫学では、2003—2004年はGI/1, 2004-2005年はGI/6, 2005-2007年はGI/1, 2007-2008年はGIV, 2008-2010年はGI/1が優勢であった。ノロウイルスと同様それ

ぞれに亜型またはクラスターが認められる。型内、型間、群間の組換えが見られる^{3,23)}。

Lagovirus属はRabbit hemorrhagic disease virusとEuropean brown hare syndrome virusに分けられる。出血や肝壊死を示すほかに無症状のウイルス感染もある^{24,35)}。Vesivirus属はブタ水疱疹ウイルスがプロトタイプであるが、アシカ水疱疹ウイルス (San Miguel sealion virus)とも類似する。ネコカリシウイルスもここに入る。その他爬虫類、両生類、魚類、線虫類にも存在する。Nebovirus属はNewbury agent 1がプロトタイプでありウシに検出された。またRecovirus属 (候補とされている属)は rhesus enteric virusの略でプロトタイプはTulane virusであり、サルに検出された^{6,24)}。

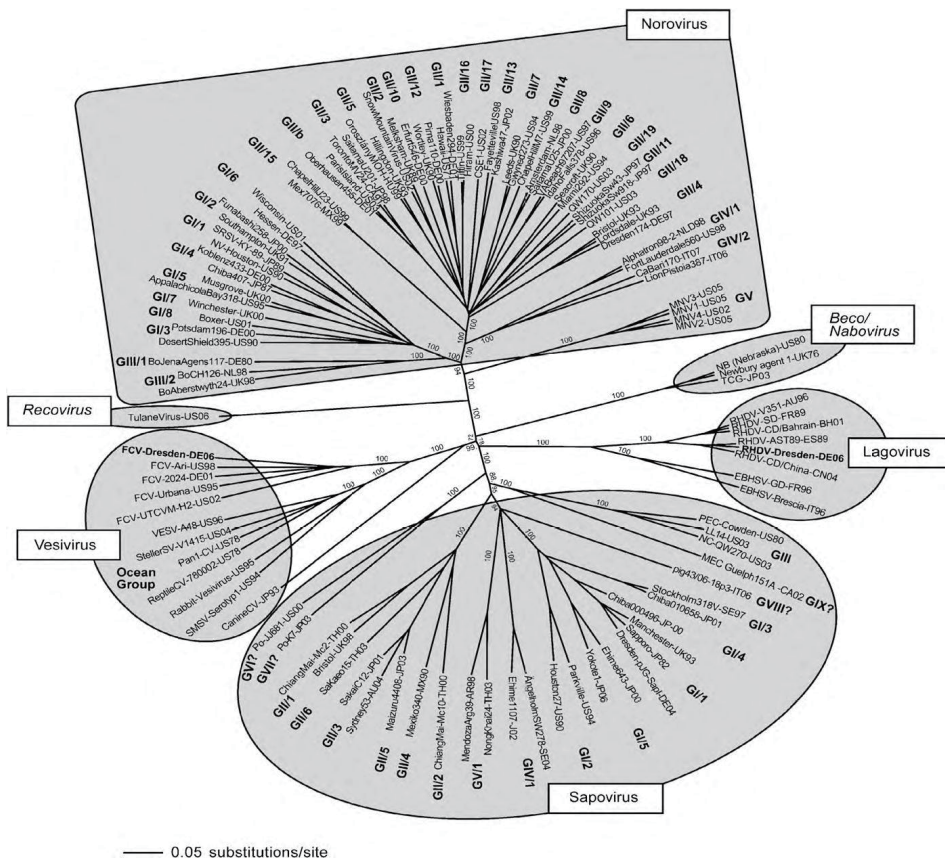


図5 カリシウイルスの系統樹による分類
文献 RohayemJ らの総説より引用

カリシウイルスの属、種、株

カリシウイルスの代表的な命名を例として示す (表1)。

属	種	株
Norovirus	Norwalk virus	Hu/NoV/GI.1/Norwalk/1968/US
Sapovirus	Sapporo virus	Hu/SaV/GI.1/Sapporo/1982/JP
Lagovirus	Rabitt hemorrhagic disease virus	Ra/LaV/RHDV/GH/1988/DE
	European brown hare syndrome virus	Ha/LaV/EBHSV/GD/1989/FR
Vesivirus	Vesicular exanthema of swine virus	Sw/VeV/VESV/A48/1948/US
	Feline calicivirus	Fe/VeV/FCV/F9/1958/US

カリシウイルスの歴史

カリシウイルス科に属するウイルスは、1940年代から獣医学の領域で研究が行われて来ている。プロトタイプのカリシウイルスのブタ水疱疹ウイルス (VESV) は、ブタに水疱疹、脳炎、心筋炎、下痢、流産などを示す。アシカ水疱疹ウイルス (San

Miguel sealion virus) はブタと同様の症状を来した。またアシカ水疱疹ウイルスはブタに感染することがわかった。1960年代にネコピコルナウイルスと思われていたウイルスが1970年代にネコカリシウイルスに分類された。ネコに主に気道感染症、口内炎、鼻炎を来す。一方、1980年代にウサギのみに見られ、全身の出血と肝臓死で高い死亡率を示すウサギ出血病ウイルス (RHDV) が見出された。動物のカリシウイルスはブタ、ウサギでは食肉、皮産業に影響し、ネコでは愛玩動物の疾患として意味を持つ^{9,24)}。さらに1981年、1992年などに鶏の胃腸炎およびアジサシの水かきの水疱、七面鳥の腸からトリのカリシウイルスが見出された^{38,39)}。

1968年、オハイオ州ノーウォーク市の小学校で集団食中毒 (急性胃腸炎) が発生し、その下痢便から1972年に電子顕微鏡でウイルスが見出された。このヒトのカリシウイルスは、当初はノーウォーク因子と呼ばれた。現在のノロウイルス属のプロトタイプである。その後、諸国から同様の因子、あるいはその後、ノーウォーク様ウイルスあるいは small round structured virus (SRSV) と呼ばれるノロウイルス属のウイルスが見出された^{9,19)}。サポウイルス

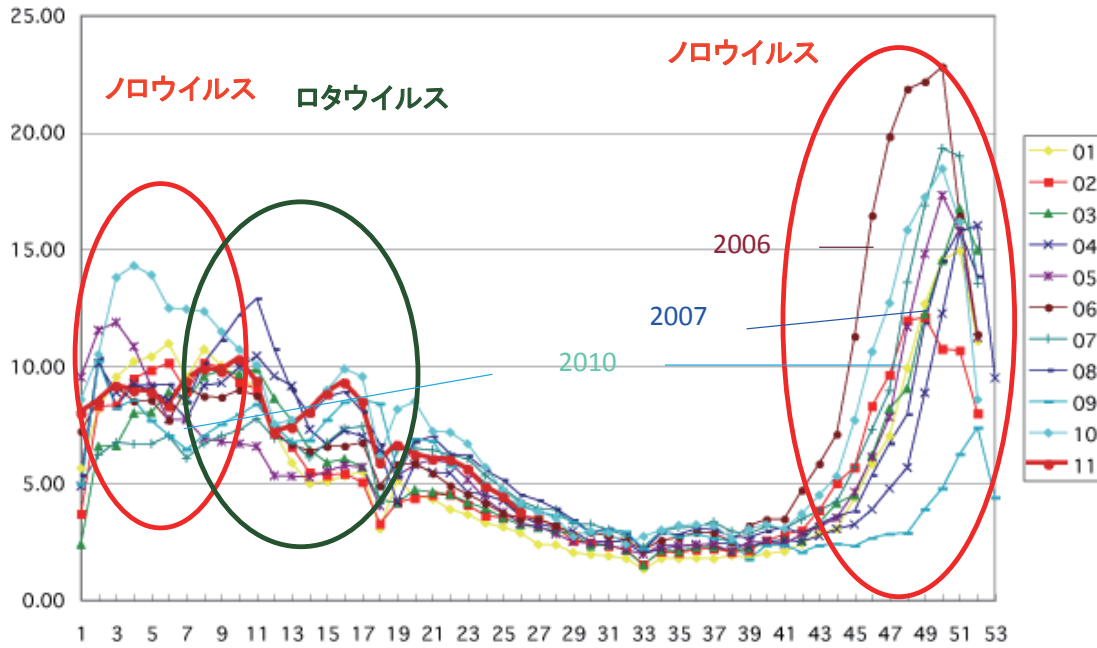


図6 日本における感染性胃腸炎サーベイランス (小児科 3000 定点)
病原微生物検出情報より (一部改変)

属に関しては、1974年に英国で急性胃腸炎の患者から電子顕微鏡では古典的なカリシウイルス（動物カリシウイルス）に似た「ダビデの星」に似たウイルスが見出された¹⁷⁾。このウイルスは、わが国でも見出されサポロウイルスと命名された⁴⁾。現在ではこれらのウイルスはサポウイルス属となる。同時にウイルス遺伝子に対する手法の開発が重なって、診断・分子疫学等の研究が急速に発展した。バキュロウイルスの系を用いて組換え中空ウイルス（VLP）の作製が可能となり、さらに研究が進んだ。しかしながら未だヒトのノロウイルス、サポウイルスの培養には成功していない^{9,24)}。

近年マウスノロウイルスが見いだされた。免疫不全（STAT-1 遺伝子欠損）マウスでは脳炎を来すが、通常のマウスでは不顕性である。マウスノロウイルスは細胞培養が可能となりマクロファージ系細胞および BV-2 細胞（murine microglial cell）で *in vitro* の感染実験が行われる^{12,13)}。

ヒトノロウイルスおよびヒトサポウイルスの病態

ヒトノロウイルスを中心に述べる^{8,34)}。

ヒトノロウイルスは吐物からエアロゾールとして吸い込むこともあるが主として経口的に体内に入る。胃酸に安定である。発症まで潜伏期は多くは 24 - 48 時間であるが、4 時間から 77 時間の幅が見られる¹⁰⁾。ノロウイルスの遺伝子診断が可能となった 1990 年代はウイルス性胃腸炎と思われる糞便の 10 - 20% がノロウイルス陽性であったが、

近年は 30 - 50% と増加している。

通常腸管免疫としての抗体の持続は数ヶ月である。ノロウイルスの液性免疫としての中和抗体は型特異性が強い。人工的に作成したウイルス様中空粒子（VLP）を用いて動物に免疫した場合、作製した抗体はその型には強く反応するが他の型に対する反応は弱い。特に遺伝子群が異なれば非常に弱い。同じ遺伝子型でも必ずしも同等でない。臨床的には、ノロウイルスに関しては何回でも感染しうる。ある型のノロウイルスに感染した集団に新しい型のウイルスが侵入した場合、一部の者は再度感染するが、感染しないこともある。感染防御には、細胞性免疫および自然免疫があるのでさらに複雑である。

ボランテアやブタを用いた実験では上部小腸を中心に感染し、絨毛・微絨毛の平坦化、萎縮が見られる。一方粘膜部分は傷害が少ない。ウイルスの細胞向性についてはよくわからない³⁶⁾がマウスノロウイルスに関してはマクロファージや樹状細胞向性がある³⁷⁾。絨毛部位に単核球の浸潤や細胞質の空胞化が見られる。CT では腸管壁の肥厚や増強像、腸管内での液体の貯留が見られる。

ノロウイルスが腸管上皮細胞へ結合する場合、上皮細胞の表面にある HBGA がレセプターとして関与する²⁹⁾。HBGA は唾液、母乳、赤血球表面にも存在する。しかし約 20% のヒトは非分泌型である。ノロウイルスとヒト細胞のレセプターとの結合様式は、遺伝子群で異なる³⁰⁾と共に、遺伝子型内でも流行株によって HBGA との反応の

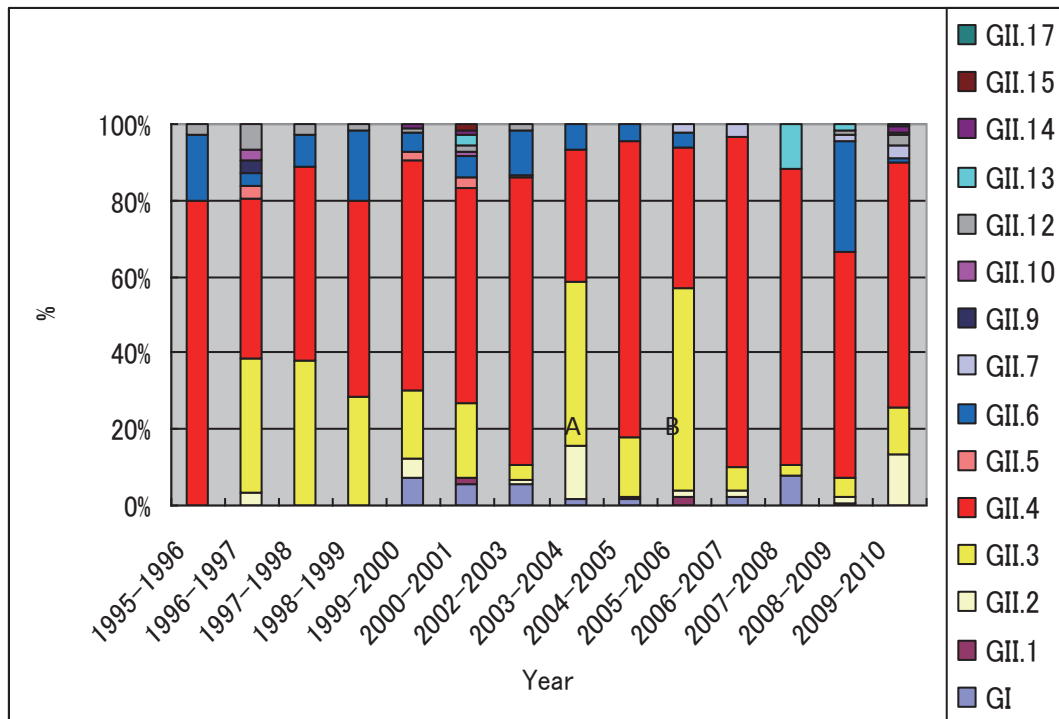


図7 1995-2010年のノロウイルス遺伝型の分布 (著者ら)

註 ポリメラーゼ / カプシドの組換え型 Aは2003-4年 GII.4/GII.3、Bは2005-6年 GIIb/GII.3

強さは異なる^{14,15)}。

ヒトサポウイルスの疫学的頻度 (3 - 10%) はノロウイルス (30 - 50%) と比較すると少ない。小児期に感染を受けるが症状が軽いため外来受診・入院が少ないことによると思われる^{31,32)}。しかし成人で抗体を調べると抗体陽性である。サポウイルスのレセプターとしてHBGAの関与がないとの報告²⁶⁾があるが、今後研究を続ける必要がある。

従来、人獣感染症はないと思われているが、濃厚に動物と接触している場合は感染をするが発症はごく稀と考えられている。しかしサルでTulaneウイルス、ノロウイルス、サポウイルスに対する抗体が検出されている。またヒトでもTulaneウイルスに対する抗体が検出されていることから交差免疫や人獣共通感染の存在は否定できない⁶⁾。

ヒトノロウイルスおよびヒトサポウイルス感染症の疫学

ヒトノロウイルスでは感染経路として大きくヒト-ヒト感染と食品を媒介する食中毒感染がある。汚染した物体との接触 (例えば吐物、ドアのノブ、握手)、飛沫感染 (エアロゾルとして空中に漂う)、二枚貝などを生で食べる、汚染された水を飲む、風呂・プールの共用、感染した食品加工者・調理者が作った食物からなどがあてはまる。18 - 1000個の生きているウイルスで感染する³²⁾。好発年齢

として、乳幼児から高齢者まで感染の危険性がある。好発時期としてノロウイルス感染症は季節がはっきりしている国では、冬季 (寒い季節) に多い。小児のノロウイルス感染症はわが国では初冬 (11 - 12月) の急に寒くなったときから認められる。そして1 - 2月から少なくなるが、年によっては4 - 5月まで続くことがある (図6)。学校、病院、高齢者の施設内感染は12 - 3月ごろに認める。時に5 - 7月ごろにも集団感染のことがある。食中毒としてのノロウイルス感染は12 - 2月が多い。糞便検体からの分子疫学では世界的にほぼ同じ遺伝子株が同時にあるいは1, 2年の間に流行する^{8,21)}。重複感染としてノロウイルスとロタウイルスあるいは、アデノウイルス、アストロウイルス、サポウイルスなどがある。国立感染症研究所感染症情報センターの情報および我々の乳幼児の糞便成績からGII.3およびGII.4が多く検出される。しかしながらGII.6, GII.2, GII.5なども見出される。また、同じGII.4, GII.3であっても年によって異なるクラスター (亜型) あるいは組換えウイルスが存在する (図7)。2006年末のわが国のノロウイルスの流行は、当時ヨーロッパを中心に流行している2006bであった。さらに2008年には2008aが見られる。その後も2006bや2008aが見られる¹⁶⁾。

ヒトサポウイルスは同様な感染経路があるが症状が一般にノロウイルス程ではない。1 - 2歳に多く季節では12

月から2月である。食中毒の原因ともなる。

ヒトノロウイルスおよびヒトサポウイルスの臨床症状

ノロウイルスの潜伏期は12 - 72時間である。また症状の持続日数は1 - 3日で、予後は良好である。時に5日間ほど症状が続くことがある。吐気、嘔吐、下痢が60 - 80%に見られる。また腹痛が50%、頭痛、発熱、寒気が20 - 30%に見られる。筋肉痛、咽頭痛が見られることがある。ごく稀ではあるが、発疹、痙攣⁹⁾、脳症⁹⁾、腎症¹¹⁾などが見られる。イレウスの症状を見た症例もある。循環器疾患、腎移植、免疫不全、高齢が危険因子となっている。血便は通常見られない。高齢者では吐物により誤嚥性肺炎や吐物による気道の閉塞による窒息を起こし、重症化することがある。

Gallimoreらの報告⁷⁾では病院での集団発生で不顕性の患者、医療従事者で便中のウイルスを調べたところ1stPCRではウイルス遺伝子は見出せず2ndPCRですべて陽性であった。2ndPCRでは10 - 100倍の感度で検出が可能である。また顕性と不顕性との比率は約1:2である。食中毒での報告では、集団発生時に不顕性の例が約30%に見られた。

末梢血中にウイルス遺伝子が僅かながら検出されることからウイルス血症が考えられる。臨床的に下痢が消失してからもウイルスの排泄は続いており、遺伝子増幅法では3週間ほど陽性である。この場合免疫状態が低下しているとウイルスの排泄が長引く。免疫の状態が改善されない限り下痢あるいはウイルスの排泄が止まらないことがある。

サポウイルス胃腸炎はノロウイルス胃腸炎と同様の臨床症状を示すがノロウイルス胃腸炎より軽症である。散発発症も集団発症もある。無症状の場合でも高濃度のウイルスが排泄される場合がある。食品を介しての感染もある。

ヒトノロウイルス、ヒトサポウイルスの臨床診断

ノロウイルス感染症は冬季、特に乳幼児では10 - 12月の急に寒くなった時に全国で始まる。家族内で子どもだけでなく大人にも嘔吐を伴う下痢症が見られた時にノロウイルス感染が最も疑われる。水様性の下痢便で、嘔吐・下痢が続けば脱水となる。下痢症の院内感染、施設内感染の場合もノロウイルス感染がまず考えられる。ロタウイルスがイムノクロマト法などの迅速診断で陰性の場合や、職員などの成人も発症する場合はノロウイルスの可能性が高い。

サポウイルス感染症の臨床だけでの診断はより難しい。サポウイルス感染症はアストロウイルス、ヒトパレコウイルス、エンテロウイルス、アイチウイルス、ボカウイルス感染症などとの鑑別が難しい。

ヒトノロウイルス、ヒトサポウイルスの検査診断

ウイルス抗原と遺伝子を調べる方法がある。遺伝子診断は、さらに遺伝子解析をすることにより遺伝子型が決定される。また血清中、糞便中の抗体を調べることもあるが通常は行わない。ロタウイルスと比較すると検体中のウイルス量が少ないことがあるため2ndPCRを行うことが多い。

ノロウイルスの抗原検査として酵素抗体法が用いられてきたが2007年末にイムノクロマトキットが2社から市販され、迅速診断法として利用できるようになった。感度・精度の面で改良が続いている。二枚貝などの食品、環境水からの微量のウイルス遺伝子の測定のためにはリアルタイムRT-PCR法が用いられる。またTRC法(transcription reverse transcription concerted reaction)やLAMP法のキットが遺伝子診断法として市販されている³⁴⁾。

サポウイルスの試薬ではイムノクロマトキットが迅速診断として市販されているが、まだその有用性は検討されていない。もっぱら遺伝子診断(1stPCRと2ndPCR)として行われる。リアルタイムPCRも行われる。

抗カリシウイルス薬

現在有効な抗ウイルス薬はない。前述したウイルスの増殖の①から④の各段階に応じて研究がなされている²⁴⁾。インターフェロン α 、 γ がノロウイルスを含めたカリシウイルスの複製を阻害するとの報告がある。またnitazoxanide(ウイルスの成熟過程を阻害)が成人では胃腸炎に有効と言われる²⁵⁾。

ワクチン等の予防

ヒトノロウイルス胃腸炎は、どの年齢にも発症し、食中毒や施設内感染の原因となる。医療従事者、調理者、免疫不全症のハイリスク者には予防としてのワクチン接種が望まれる。ノロウイルスは多くの遺伝子型があり、交差免疫が少ないことから幾つかの遺伝子型のウイルスを準備しなければならない。ヒトノロウイルスは細胞培養できないこと、動物実験が難しいことがある。従ってヒトではボランティア実験、無菌ブタの使用、あるいはマウスノロウイルスとマウスでの代替え研究などと制約がある。感染を受けると14週位の短期間の抗体あるいは34週間ぐらいのやや長期の抗体が存在するとされる²⁴⁾。またTh1優位の細胞性免疫が見られる。現時点では細胞培養による精製ウイルスをワクチンとすることが出来ないが、VLP、またカプシドの一部からなるP粒子を作製することは可能である。VLP単独あるいはアジュバントを用いて細胞性免疫、液性免疫を増強することができる。ヒトでの多価ワクチンはこれからである。一方、ネコカリシウイルス、ブタ水疱疹ウイルスは培養が可能のため生あるいは不活化ワクチンが作られ、市販されている。またVLPを用いたワクチンも可能である。ネコカリシウイルスにはGenogroup IとIIがあり、Iには3つのgenotypeがある。ワクチンの効果

について交差免疫があるかの注意が必要である。Rabbit hemorrhagic disease virus や European brown hare syndrome virus では不活化ワクチンがある。VLP を用いたワクチンが作られている。

カリシウイルスの問題点とこれからの展望

カリシウイルスは動物間に広汎に存在する。一部の動物ウイルスでは細胞培養、ワクチンが可能となったが、ヒトノロウイルス、ヒトサポウイルスでは細胞培養が成功していない。ノロウイルスの疫学、診断は進んできた。一方ワクチン、抗ウイルス薬開発のための研究はされているがまだ市販にはなっていない。有効な小動物での実験は代替ウイルスを用いて行っており限界がある。カリシウイルスはインフルエンザと同様に変異が激しい。したがって分子疫学的な調査は続けて行う必要がある。

さらに環境・食品からのウイルスの排除もこれからである。したがって現時点では感染予防対策を周知し、感染が広がらないようにすることが大切である。

参考文献

- 1) Bull, R. and White, P. A.: Genome organization and recombination. *In: Caliciviruses : Molecular and Cellular Virology*, (Eds, Hansman, G. S., Jiang, X. J., Green, K. Y.), Caister Academic Press, Great Britain, pp 45-63, 2010.
- 2) Chen, R., Neill, J. D., Estes, M. K., Prasad, B. V.: X-ray structure of a native calicivirus: Structural insights into antigenic diversity and host specificity. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 103:8048-8053, 2006.
- 3) Chanit, W., Thongprachum, A., Khamrin, P., Okitsu, S., Mizuguchi, M., Ushijima, H.: Intergenogroup recombinant sapovirus in Japan, 2007-2008. *Emerg Infect Dis*, 15: 1084-1087, 2009.
- 4) Chiba, S., Sakuma, Y., Kogasaka, R., Akihara, M., Hori-no, K., Nakao, T., Fukui, S.: An outbreak of gastroenteritis associated with calicivirus in an infant home. *J Med Virol*, 4:249-254, 1979.
- 5) Clarke, I. N., Lambden, P. R.: Organization and expression of calicivirus genes. *J Infect Dis*, 181: S309-S316, 2000.
- 6) Farkas, T., Cross, R. W., Hargitt, E. 3rd, Lerche, N. W., Morrow, A. L., Sestak K.: Genetic Diversity and histo-blood group antigen interactions of rhesus enteric caliciviruses. *J Virol*, 84:8617-8625, 2010.
- 7) Gallimore, C. I., Cubitt, D., du Plessis, N., Gray, J. J.: Asymptomatic and symptomatic excretion of noroviruses during a hospital outbreak of gastroenteritis. *J Clin Microbiol*, 42:2271-2274, 2004.
- 8) Glass RI, Parashar UD, Estes MK.: Norovirus gastroenteritis. *New Eng J Med* 361: 1776-1785, 2009.
- 9) Green, K.Y.: The Noroviruses, *In: Fields Virology*, 5th edition (Eds. Knipe, D. M., Howley, P.M., Griffin, D. E., Lamb, R. A., Martin, M. A., Roizman, B., Straus, S.E.), Lippincott Williams and Wilkins, USA, pp 950-979, 2007.
- 10) Kaplan, J. E., Gary, G. W., Baron, R. C., Singh, N., Schonberger, L. B., Feldman, R., Greenberg, H. B.: Epidemiology of Norwalk gastroenteritis and the role of Norwalk virus in outbreaks of acute nonbacterial gastroenteritis. *Ann Intern Med*, 96: 756-761, 1982.
- 11) Kanai, T., Yotsumoto, S., Momoi, M. Y.: Norovirus-associated renal acute renal failure with nephrotic syndrome. *Pediatr Inter*, 52: e23-25, 2010.
- 12) Karst, S. M., Wobus, C. E., Lay, M., Davidson, J., Virgin, H.W. 4th: STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus. *Science*, 299: 1575-1578, 2003.
- 13) Karst, S. M.: Murine norovirus pathogenesis and immunity. *In: Caliciviruses : Molecular and Cellular Virology*, (Eds, Hansman, G. S., Jiang, X. J., Green, K. Y.), Caister Academic Press, Great Britain, pp 183-203, 2010.
- 14) Lindesmith, L. C., Donaldson, E. F., Lobue, A. D., Cannon, J. L., Zheng, D. P., Vinje, J., Baric, R. S.: Mechanisms of GII.4 norovirus persistence in human populations. *PLoS Med*, 5: 269-290, 2008.
- 15) Lindesmith, L. C., Donaldson, E. F., Baric, R. S.: Norovirus GII.4 strain antigenic variation. *J Virol*, 85: 231-242, 2011.
- 16) Luttermann, C., Meyers, G.: Feline calicivirus. *In: Caliciviruses : Molecular and Cellular Virology*, (Eds, Hansman, G. S., Jiang, X. J., Green, K. Y.), Caister Academic Press, Great Britain, pp 145-168, 2010.
- 17) Madeley, C.R., Cosgrove, B. P.: Letter: Caliciviruses in man. *Lancet* 1:199-200, 1976.
- 18) Motomura, K., Yokoyama, M., Ode, H., Nakamura, H., Mori, H., Kanda, T., Oka, T., Katayama, K., Noda, M., Tanaka, T., Takeda, N., Sato, H.; Norovirus Surveillance Group of Japan.: Divergent evolution of norovirus GII/4 by genome recombination from May 2006 to February 2009 in Japan. *J Virol*, 84: 8085-8097, 2010.
- 19) 中田修二: カリシウイルス. ウイルス 52:7-13, 2002.
- 20) Nayak, M. K., Balasubramanian, G., Sahoo, G. C., Bhattacharya, K., Vinje, J., Kobayashi, N., Sarkar, M. C., Bhattacharya, M. K., Krishnan, T.: Detection of a novel intergenogroup recombinant Norovirus from Kolkata, India. *Virology* 377: 117-123, 2008.
- 21) Nguyen, T. A., Khamrin, P., Takanashi, S., Le Hoang, P., Pham, le D., Satou, K., Masuoka, Y., Okitsu, S., Ushijima, H. Evaluation of immunochromatography tests for detection of rotavirus and norovirus among Vietnamese children with acute gastroenteritis and the emergence of a novel norovirus GII.4 variant. *J Trop Pediatr* 53:264-269, 2007.
- 22) Nyström, K., Le Gall-Reculé, G., Grassi, P., Abrantes, J., Ruvoën-Clouet, N., Le Moullac-Vaidye, B., Lopes, A. M., Esteves, P. J., Strive, T., Marchandeu, S., Dell, A., Haslam, S.M., Le Pendu, J.: Histo-blood group antigens act as attachment factors of rabbit hemorrhagic disease virus infection in a virus strain-dependent manner. *PLoS Pathog* 7:e1002188, 2011.
- 23) Phan, T. G., Khamrin, P., Quang, T. D., Dey, S.K., Takanashi, S., Okitsu, S., Maneekarn, N., Ushijima, H.: Emergence of intragenotype recombinant sapovirus in

- Japan. *Infect Genet Evol*, 7: 542-546, 2007.
- 24) Rohayem, J., Bergmann, M., Gebhardt, J., Gould, E., Tucker, P., Mattevi, A., Unge, T., Hilgenfeld, R., Neyts, J.: Antiviral strategies to control calicivirus infections. *Antiviral Res*, 87: 162-178, 2010.
 - 25) Rossignol, J. F., El-Gohary, Y. M.: Nitazoxanide in the treatment of viral gastroenteritis: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Aliment Pharmacol Ther*, 24: 1423-1430, 2006.
 - 26) Shirato-Horikoshi, H., Ogawa, S., Wakita, T., Takeda, N., Hansman, G.S.: Binding activity of norovirus and sapovirus to histo-blood group antigens. *Arch Virol*, 152: 457-461, 2006.
 - 27) Siebenga, J. K., Duizer, E., Koopmans, M, P, G.: Norovirus Epidemiology, *In: Caliciviruses: Molecular and Cellular Virology*, (Eds, Hansman, G. S., Jiang, X. J., Green, K. Y.), Caister Academic Press, Great Britain, pp 1-24, 2010.
 - 28) Sosnovtsev, S. V.: Proteolytic cleavage and viral proteins. *In: Caliciviruses: Molecular and Cellular Virology*, (Eds, Hansman, G. S., Jiang, X. J., Green, K. Y.), Caister Academic Press, Great Britain, pp 65-94, 2010.
 - 29) Tan, M., Jiang, X.: Norovirus and its histo-blood group antigen receptors: an answer to historical puzzle. *Trends Microbiol* 13:285-293, 2005.
 - 30) Tan, M., Jiang, X.: Norovirus-host interaction: Multi-selections by human histo-blood group antigens. *Trends Microbiol*, 19: 382-388, 2011.
 - 31) 辰巳正純、堤裕幸: サポウイルス、ウイルス感染症の検査・診断スタンダード (田代真人、牛島廣治編)、羊土社、東京、pp 134-137, 2011.
 - 32) Teunis, P. F., Moe, C. L., Liu, P., Miller, S. E., Lindsmith, L., Baric, R. S., Le Pendu, J., Calderon, R. L.: Norwalk virus: how infectious is it? *J Med Virol*, 80: 1468-1476, 2008.
 - 33) 牛島廣治: ウイルス性胃腸炎の診断法と疫学の過去、現状と今後の展望、*ウイルス*、59: 75-90, 2009.
 - 34) 牛島廣治: ウイルスによる消化管障害 ノロウイルス、*臨床消化器内科*、26: 1003-1010, 2011.
 - 35) Ward, V. K., Cooke, B.D., Strive, T.: Rabbit haemorrhagic disease virus and other Lagoviruses. *In: Caliciviruses: Molecular and Cellular Virology*, (Eds, Hansman, G. S., Jiang, X. J., Green, K. Y.), Caister Academic Press, Great Britain, pp 223-245, 2010
 - 36) White, L. J., Ball, J. M., Hardy, M. E., Tanaka, T. N., Kitamoto, N., Estes, M. K.: Attachment and entry of recombinant Norwalk virus capsids to cultured human and animal cell lines. *J Virol*, 70: 6589-6597, 1996.
 - 37) Wobus, C. E., Karst, S. M., Thackray, L. B., Chang, K. O., Sosnovtsev, S. V., Belliot, G., Krug, A., Mackenze, J. M., Green, K. Y., Virgin, H. W.: Replication of Norovirus in cell culture reveals a tropism for dendritic cells and macrophages. *PLoS Biol*, 2: 2076-2084, 2004.
 - 38) Wolf, S., Reetz, J., Otto, P.: Genetic characterization of a novel calicivirus from a chicken. *Arch Virol*, 156: 1143-1150, 2011.
 - 39) Wyeth, J. P., Chettle, N. J., Labram, J.: Avian calicivirus. *Vet Rec*, 109:477, 1981.
 - 40) ViralZone root: http://viralzone.expasy.org/all_by_species/294.html

Calicivirus

Hiroshi USHIJIMA, Shoko OKITSU, Pattara KHAMRIN

Division of Microbiology, Department of Pathology and Microbiology, Nihon University School of Medicine

Caliciviruses represented by norovirus and sapovirus exist not only in human but also in other animal species. Clinical manifestations are gastroenteritis, respiratory infections, vesicles and hemorrhagic skin diseases and others symptoms depended on the viruses. Inapparent symptom of calicivirus infection is also recognized. Calicivirus is stable in the environment and found sometimes in contaminated food or water sources. In addition to intragenomic mutation, intragenomic recombination is the common phenomenon that usually found in calicivirus genome. The genomic recombinations have been reported among the strains within the same animal species. For diagnosis and molecular epidemiological study, several laboratory methods are available, such as genetic molecular analysis, enzyme immunoassay and immunochromatography, which developed by using the antibody against virus-like particles. The reactivity between virus and host immunity is type specific and the titer of cross reaction is not so high. There are evidences that the new variant strains are emerged and spread quickly year by year. Histo-blood group antigen (HBGA) is one of the specific host cells receptor for calicivirus. Infectivity of the virus depends on specificity of the HBGA on the host cells. Because of the inability to culture human norovirus and sapovirus, pathogenesis and immunological data are limited. So far, only feline calicivirus and mouse norovirus are cultivable. Animal model studies for calicivirus by gnotobiotic pigs with human calicivirus and mouse with mouse norovirus are mainly used for experiments of pathobiological study, treatment and vaccine development.

