

私の小児科学とウイルス性下痢症

2021.12.11

令和3年東京大学医学部小児科学教室同窓会総会・講演会

昭和47年小児科教室入局

牛島廣治

略歴

1946(S21) 佐賀県佐賀市 生

1965(S40) 佐賀高校卒/東京大学理科II類

1967(S42) 東京大学医学部医学科

1972(S47) 東京大学医学部卒小児科学教室

1973(S48-53) 築地産院/東京逋信病院/帝京大学病院 小児科

留学

1981(S56-62) 帝京大学病院/東京厚生年金病院小児科

敬称略

小林登・鴨下重彦

藤井とし、多田 裕

渡辺悌吉・藤井良知

篠崎立彦

吉野加津哉・阿部敏明

他:植地、二瓶、早川、岩田

臨床と研究 小児科 感染症(ウイルス)、免疫、神経

(1)ビリルビンの細胞毒性について—中枢神経細胞と末梢白血球の形態、機能の変化の
相関性について— (論文博士)1977

(2)Disorder of Subpopulation of lymphocytes in Prader-Willi Syndrome
-5症例のまとめ- 1978

(3)The progress of adrenoleukodystrophy as revealed by auditory evoked responses
and brainstem history 1980

(4)Isolation of murine rotavirus in cell cultures. Brief report 1984

ここまでロタウイルスの疫学、診断(LA,RNA-PAGE)、臨床を中心に26英文論文



1979－1981(S54-56) 米国アラバマ大学微生物学部 {後述}

DHL Bishop, Polly Roy (清野 宏)

敬称省略(同輩)

1987－1993(S62-H5) 国立予防衛生研究所(現国立感染症研究所) 北村 敬

外来性ウイルス室:Emerging Infectious Diseases、P4 Labの管理、安全講習

エイズウイルス室:その後エイズ研究センターの設立 (森川 茂、松浦善治

腸内ウイルス室:ポリオ検定、下痢症ウイルス 高木弘隆 他)

国の感染症の機関に専門家があつまり、研究と行政に関係することに関与した
他の研究者(国内外)との交流ができた,WHO専門家

1993－1995(H5-7) 国立公衆衛生院(現国立保健医療科学院)衛生微生物学部

地方の衛生研究所の研修、下痢症ウイルスの研究 染谷四郎、三瀬勝利、中島捷久

健康に対して衣食住、環境の大切さがわかった、母子保健・分子疫学の視点(衛藤隆)

1995－2007(H7-9) 東京大学医学部健康科学・看護学科、東京大学大学院医学系研究

科国際保健学専攻国際生物医科学講座発達医科学分野、平山宗宏、日暮眞

教育:感染症、母子保健 研究:ウイルス性下痢症他、国際母子保健学

若い国内外の学生、研究生と一緒に感染症(実験系)や母子保健(調査系)の研究
で楽しく充実した (東大小児科関係:高橋謙造、高梨さやか、安藤亜希)

2007-2011(H19-23) 鹿児島国際大学・藍野大学(大阪) 高山忠雄
他の私学大学で社会学・保健学の教育。一方これまでの研究を東京で続ける

2011-(H23-) 堀ノ内病院小児科と日本大学医学部微生物分野(東京大学発達医科学)
小児科外来一般とウイルス(感染症)学、国際保健学
感染症一般外来と胃腸炎ウイルス関連の研究と続ける一少しの趣味とともに

資料

1. あるがままの挑戦 鉄門だより (749号)2018
 2. 私の小児科学研究:臨床・基礎・国際保健の立場から 医人伝 鉄門だより(728号)
2016 学生時代、小児科選択、臨床と研究、米国留学、感染研、発達医科学(ウイルスの分子疫学と診断法等)、学生へのメッセージ(駒場時代のつながり)
 3. Career Making (Up-to-date) 2016 専門医から若手ドクターへの提言
小児科医としての誇りを持ち、未解決の問題に取り組み続ける
 - 4 感染症と私 Opinion 2005 Jap J Clin Denstry for Child
ワクチンとやさしく感染すること
- 小児科ー医学ーウイルス学(感染症学)ー農学・獣医学・環境医学

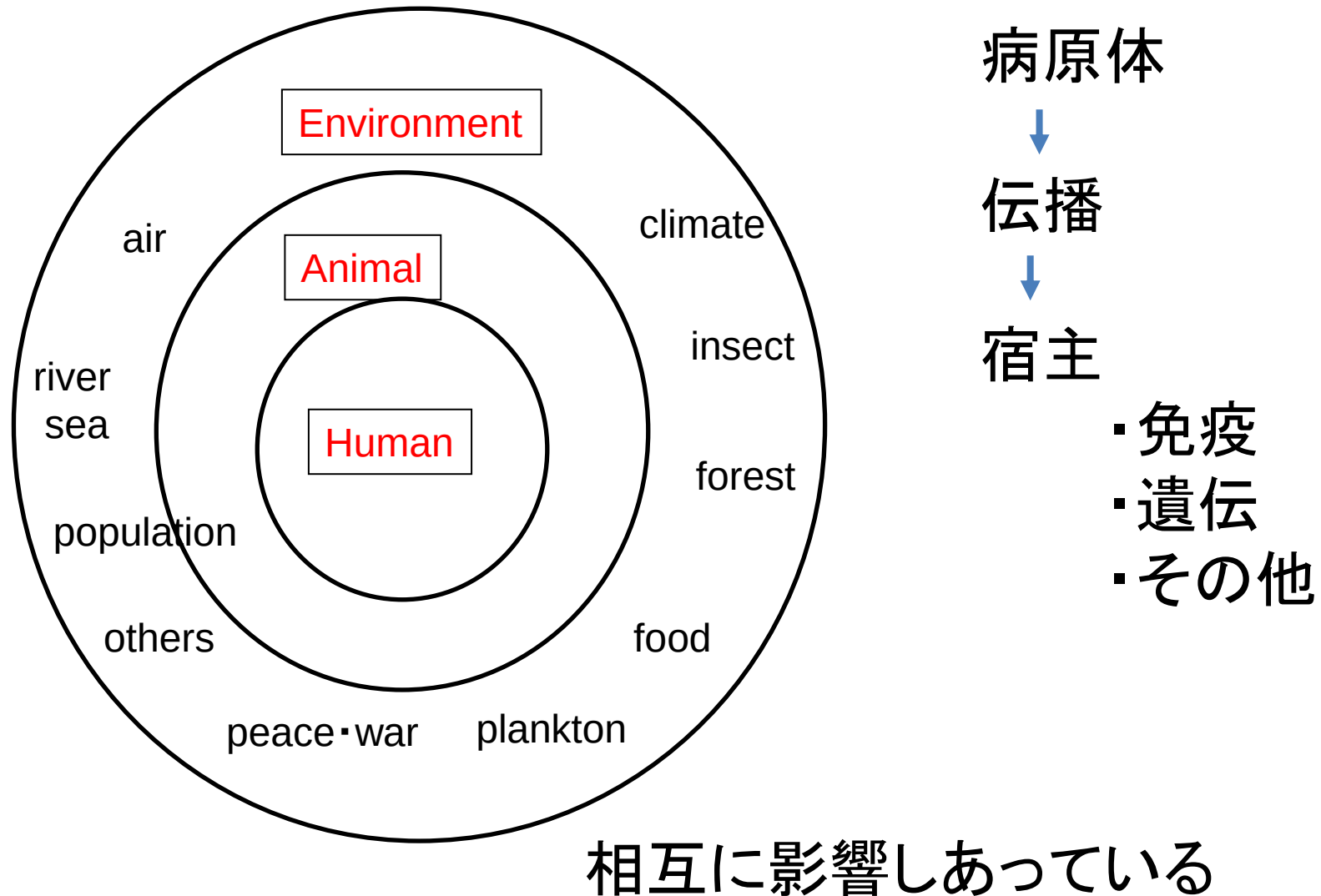


発達医科学時代 雲南省での母子保健活動 李燕 先生と（博士課程）、ベトナム、タイの少数民族の訪問、在日外国人の母子保健にも取り組む（中村安秀、李節子先生らと）



分子疫学の対象

One World, One Health



米国留学中で、、、、、、

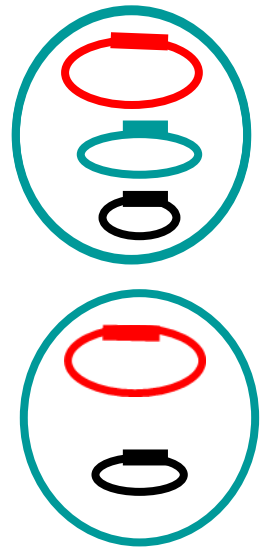
- ・ 分子疫学的手法を用いたウイルスの研究
- ・ 多民族社会としての米国
- ・ 米国における少数民族としての日本人
- ・ 日本社会を振り返る

ブニヤウイルス目

そのビリオンは92 - 105 nmであり、エンベロープを有する。ゲノムは3分節のマイナス鎖RNAや2分節アンビセンスRNAを持つ。フレボウイルス属およびトスポウイルス属のRNAの一部はプラス鎖で機能する。細胞質内で増殖する。節足動物内で増殖することができる。2019年現在:

12科4亜科48属383種

- ・アレナウイルス科
 - ・マムアレナウイルス属(ラッサウイルス、マチュポウイルス、LCMウイルス)
- ・ペリブニヤウイルス科
 - ・オルトブニヤウイルス属(アカバネウイルス、アイノウイルス、SRV, PHV)
- ・ハンタウイルス科
 - ・オルトハンタウイルス属(ハンターンウイルス)
- ・ナイロウイルス科
 - ・オルトナイロウイルス属(クリミア・コンゴ出血熱ウイルス)
- ・フェヌイウイルス科
 - ・バンダウイルス属(重症熱性血小板減少症候群ウイルス、ハートランドウイルス)
 - ・フレボウイルス属(リフトバレー熱ウイルス)
- ・トスポウイルス科
 - ・オルトトスポウイルス属(トマト黄化えそオルトトポスウイルス)



- ・感染と病気

動物、植物のウイルス病で多くはカやダニを中間宿主

ハンタウイルスはげっ歯目の動物（ネズミなど）を自然宿主（尿からヒトへ）

- ・粒子構造

約100nm エンベロープ

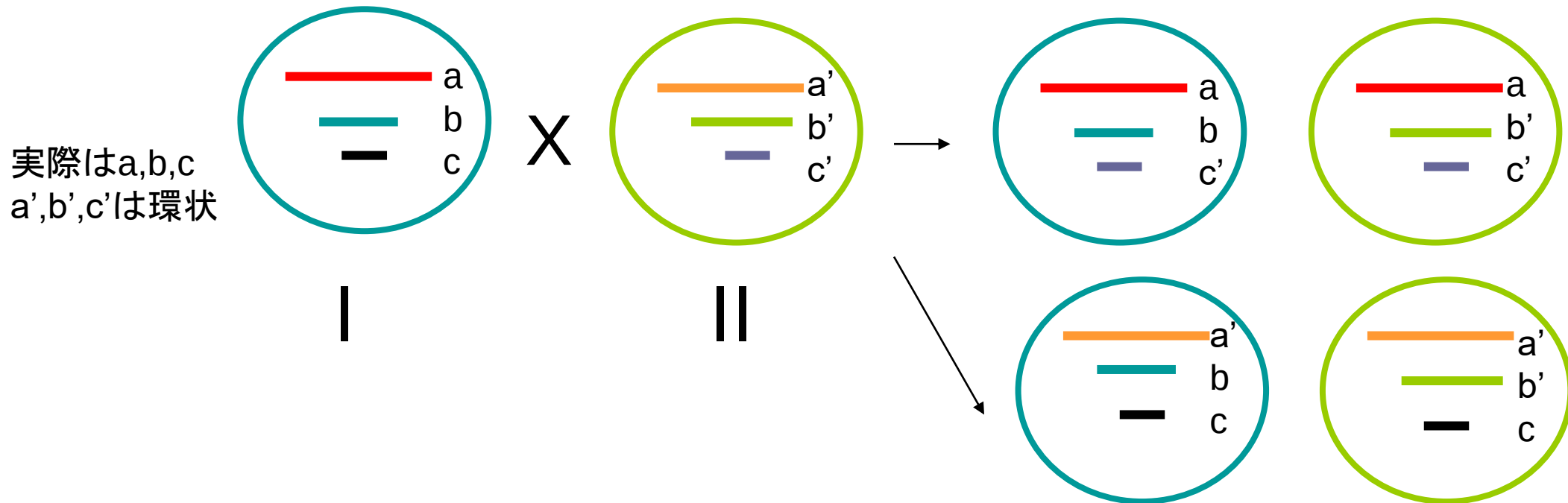
- ・遺伝子

L、M、Sの分節 一本鎖(ー)RNA遺伝子、それぞれカプシドを作って粒子中に存在
フレボウイルスのS分節はアンビセンス

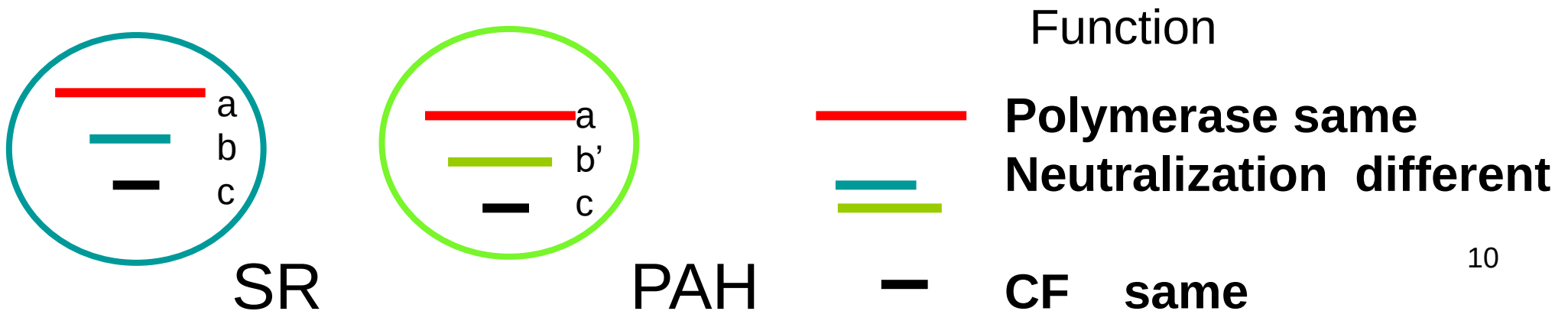
留学の目的は、ブニヤウイルス科のウイルスの確認、分類 Ushijima et al. Am J Trop Med Hyg. 1980 であつたがそれ以外にL、M、S遺伝子の機能、自然界のリアソータントウイルスの発見、非構造蛋白の発見 Ushijima et al. Virology. 1981.

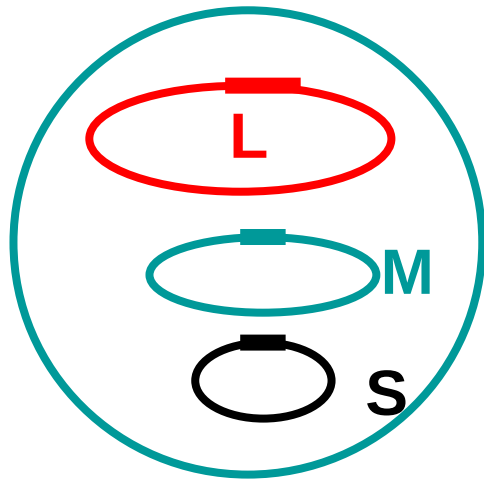
（この事はロタウイルスの現象にも当てはまる。）

In vitro reassortant virus

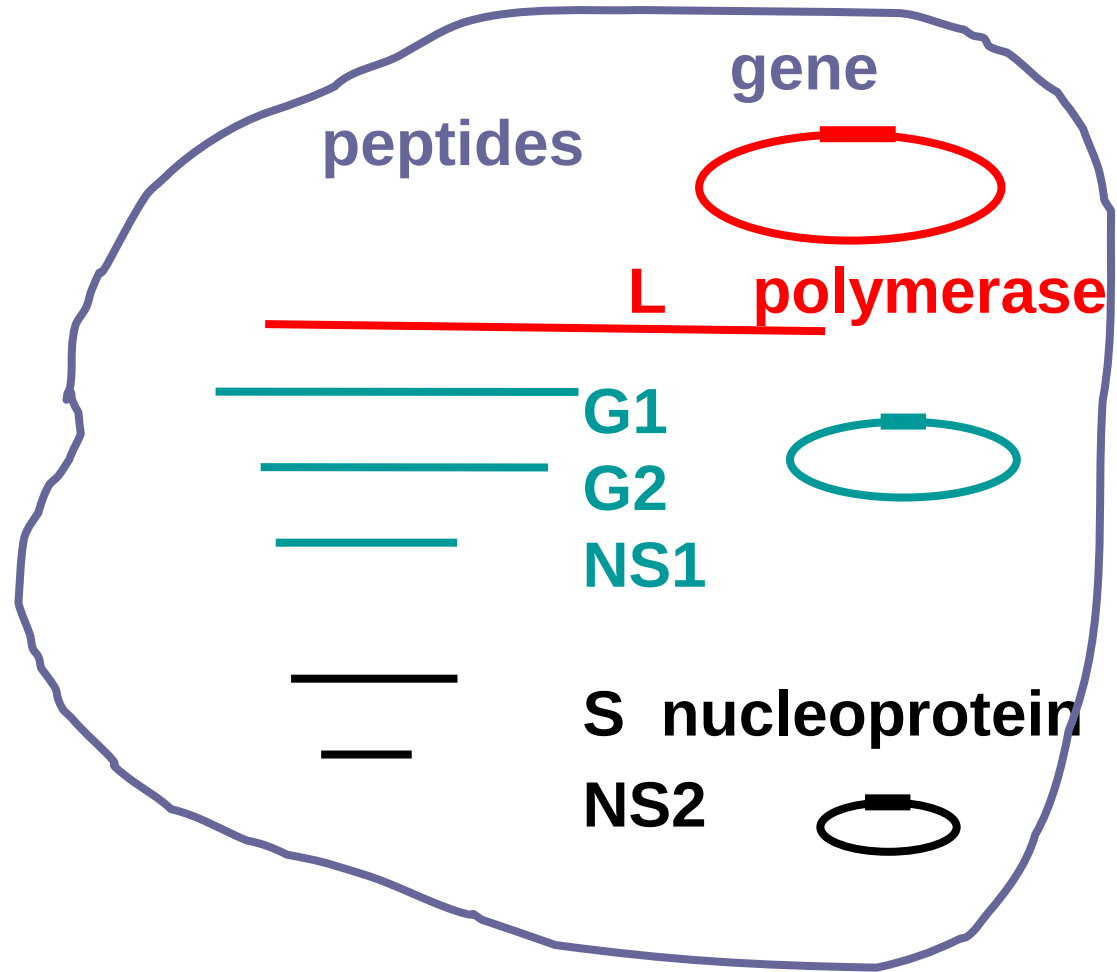


Naturally occurring reassortant virus





virion



infected cell

COELECTROPHORESIS OF SHARK RIVER vRNA AND PAHAYOKEE vRNA

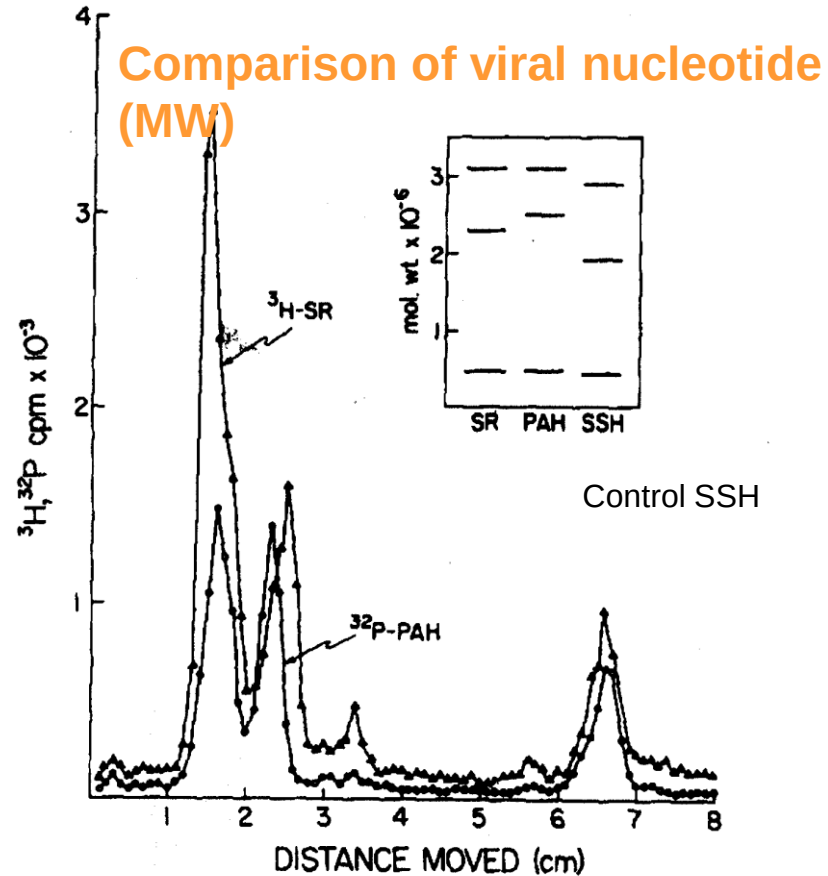
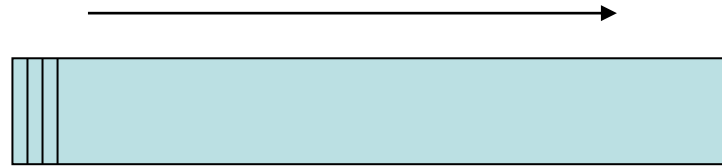
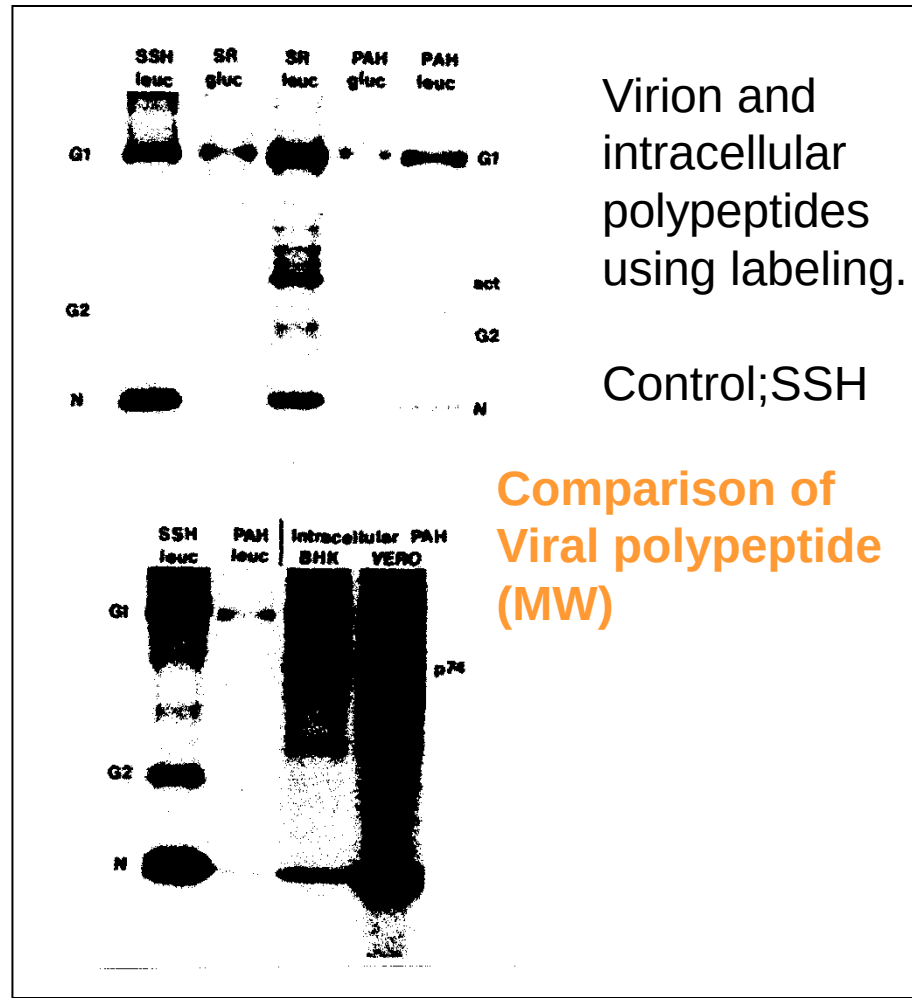
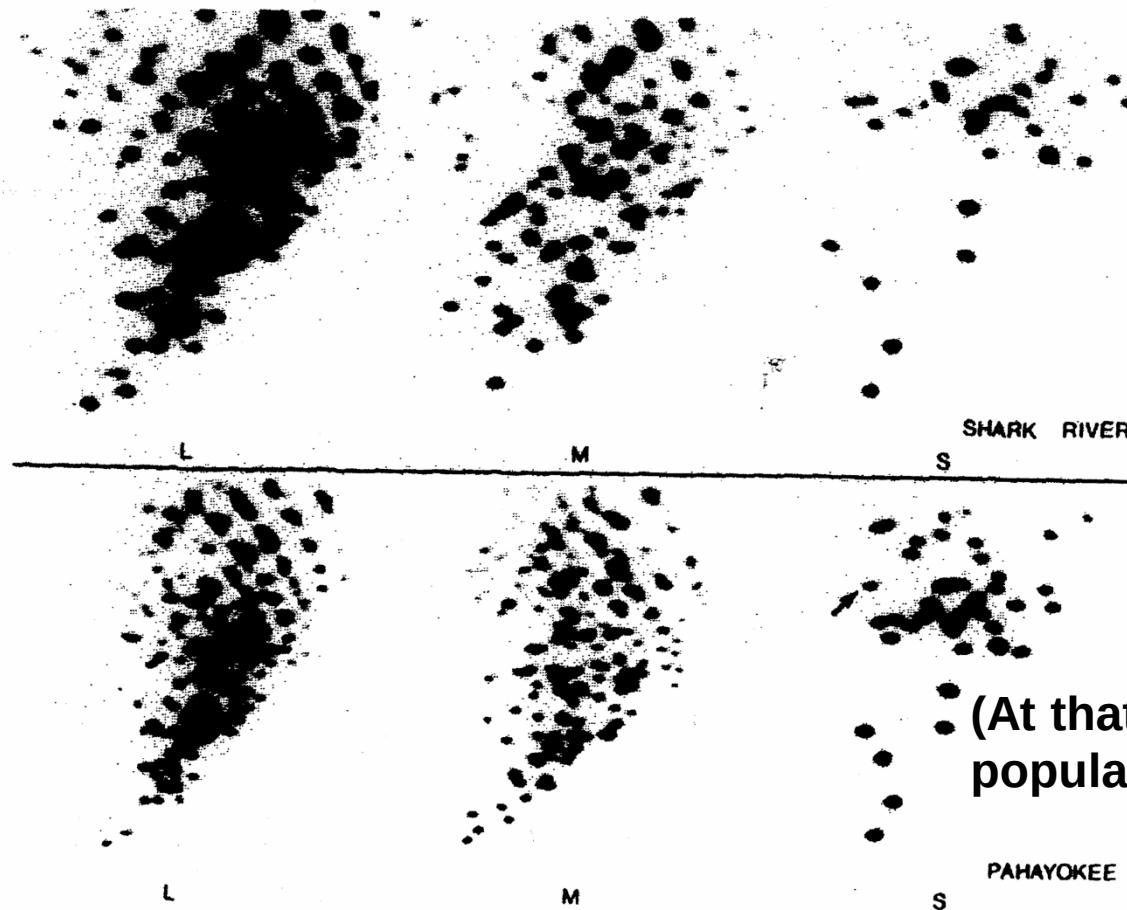


FIG. 1. The viral RNA species of PAH and SR viruses. Preparations of [^3H]uridine-labeled SR viral RNA and [^{32}P]phosphate-labeled PAH viral RNA were mixed and resolved by 2.4% polyacrylamide gel electrophoresis (Bishop *et al.*, 1967). In the inset is depicted the relative apparent molecular weight values of SR, PAH, and SSH viral RNA species as determined from various coelectrophoreses.



Electrophoresis,
Then cut gel thinly after freezing





PAH	SR
L RNA	almost identical
M RNA	different
S RNA	almost identical

Naturally occurring
reassortant viruses

(At that time, sequencing was not popular and just started.)

These observations are in
agreement with serological
studies.

Neutralization different,
complement fixation
same

FIG. 2. Oligonucleotide fingerprint analyses of PAH and SR viruses. The individual L, M, and S RNA species of SR (top three panels) and PAH (bottom three panels) viruses were recovered after resolution by agarose gel electrophoresis (Wieslander, 1979). The ribonuclease T1 oligonucleotide fingerprints of the viral RNA species were obtained as described by Clewley *et al.* (1977). The first-dimensional gel was run from left to right, the second-dimensional gel from bottom to top. Oligonucleotides that are absent from the S or L RNA patterns of one virus, by comparison to the other, are indicated by a *. Analyses of the oligonucleotide that is highlighted by an arrow in the PAH S RNA pattern showed that it was the 3' terminal oligonucleotide (see text).

下痢症関連のウイルス

(感染研でのHIV,ポリオV,種痘ワクチンなどは省略)

下痢症を示すウイルス

ロタウイルス、アデノウイルス、ノロウイルス、サポウイルス、
アストロウイルス、

パレコウイルスA、アイチ（コブ属）ウイルス、ボカウイルス
サフォード（カルジオ属）ウイルス、コサウイルス
ブファウイルス、サリウイルス、クタウイルス他

その他のウイルス（下痢および腸管で増殖するウイルス）

ピコビルナウイルス、エンテロウイルス（ポリオウイルスを含む）
A，E型肝炎ウイルス

その他のウイルス(呼吸器疾患などに伴うウイルス)

R Sウイルス、インフルエンザウイルス、メタニューモウイルス
コロナウイルス

免疫低下時に見られる下痢症ウイルス

サイトメガロウイルス、ヘルペスウイルス 6, 7

ds or ssDNAウイルス、 ds or ss +/- RNA ウイルス

私たちは主要ウイルス以外のウイルスの分子疫学 も行った

ヒト下痢症ウイルスの研究の流れ

- 1900 小児コレラ、仮性コレラ、白色便下痢症、冬季嘔吐症などと呼ばれ国内外
-1970 エンテロウイルスなどを病原体と考えて研究
- 1972 下痢便から免疫電子顕微鏡でノロウイルスを発見
1973 十二指腸粘膜の生検材料からロタウイルスを電子顕微鏡で発見
- 1975 下痢便よりアストロウイルスを電子顕微鏡で発見
- 1977 下痢便よりサッポロウイルス（サポウイルス）を電子顕微鏡で発見
- 1981 ヒトロタウイルスの細胞培養
- 1980代 免疫学的手法 即ち回復期の抗体を用いた抗原検出（酵素抗体法）
- 1990代 (RT-)PCR法での下痢症ウイルスの診断, ウイルス様粒子の作製
- 2000代 ロタウイルス生ワクチンの本格的使用
Reverse Genetics Systemによる人工ロタウイルス、人工ノロウイルス作製
- 2010代 ヒトノロウイルス細胞培養（オルガノイド）
- 2020代 ヒトサポウイルス細胞培養

小児感染症学

帝京大学教授 藤井良知 監修

大阪医科大学教授 西村忠史 編集

帝京大学教授 中村 健

乳児下痢症の治療

東京大学教授
高津忠夫 著

東京 医学書院 大阪

小児のウイルス性疾患

(全改訂版)

= 内 容 目 次 =	
序 説	
1. 臨床医学に必要なウイルス学の一般知識とウイルス検査法	甲 野 礼 作
2. ウイルスの感染と免疫	堀 見 秀 雄
3. ウイルス病化学療法の現在	石 田 名 香 雄
I 発疹性ウイルス疾患	
1. 麻疹	川 上 勝 朗
2. 風疹	永 山 徳 郎
3. 伝染性紅斑	永 山 徳 郎
4. 突発性発疹症	永 山 徳 郎
5. 痘そう・種痘	木 村 三 生 夫
6. 水痘・帯状疱疹	新 居 美 都 子
7. 新しいウイルス性発疹症	渡 辺 伸 吉
II 脳神経系	
1. ウイルス性髄膜炎	中 尾 亨
2. 流行性耳下腺炎	中 尾 亨
3. ウイルス性脳炎	石 井 慶 彦
4. 急性灰白髄炎	平 山 宗 宏
5. コクサッキーウイルス感染症	中 村 兼 次
6. エコーウイルス感染症	沢 田 啓 司
7. ヘルパン・パルペー症候群の定義と成因	福 山 幸 夫
III 呼吸器系	
1. インフルエンザ	加 地 正 郎
2. パラインフルエンザ	酒 崎 義 夫
3. Respiratory Syncytial (RS) Virus 感染症	須 藤 恒 久
4. アデノウイルス感染症	北 山 徹
5. その他のウイルスによるカゼ症候群	酒 崎 義 夫
6. Mycoplasma Pneumoniae 感染症	藤 井 良 知
IV 消化器系	
1. ウイルス性肝炎	須 藤 恒 久
2. ウイルス性下痢症	鈴 木 栄
V そ の 他	
1. 伝染性単核症	中 尾 亨
2. サイトメガロウイルス感染症	中 尾 亨
3. 急性リンパ球増多症	喜 多 村 勇 彦
4. ウイルス性結膜炎	三 井 幸 洋
5. トラコーマ	田 波

株式会社
診断と治療社

過去の先輩方の著書

①高津忠夫 「乳児下痢症の治療」

医学書院 1954年3月

単一症候性、急性消化不良症、消化不良性中毒症などの分類

飢餓療法、食事療法、輸液

化学療法、ACTHホルモン、解毒

附1 "ビールス"らしいとの報告

はあるが証明はない

②中尾亨、中村兼次 「小児のウイ

(ィ)ルス性疾患」 診断と治療社

1968年9月 (平山、福山、渡邊、

北山ら) 当時は当時はピコルナ、

アデノウイルスが見出だされている

③藤井良一ら 「小児感染症学」 1985年 1月(篠崎)

ロタウイルス、ノロウイルス記載(サポウイルスの記載は

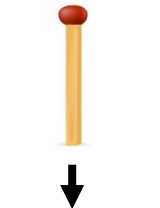
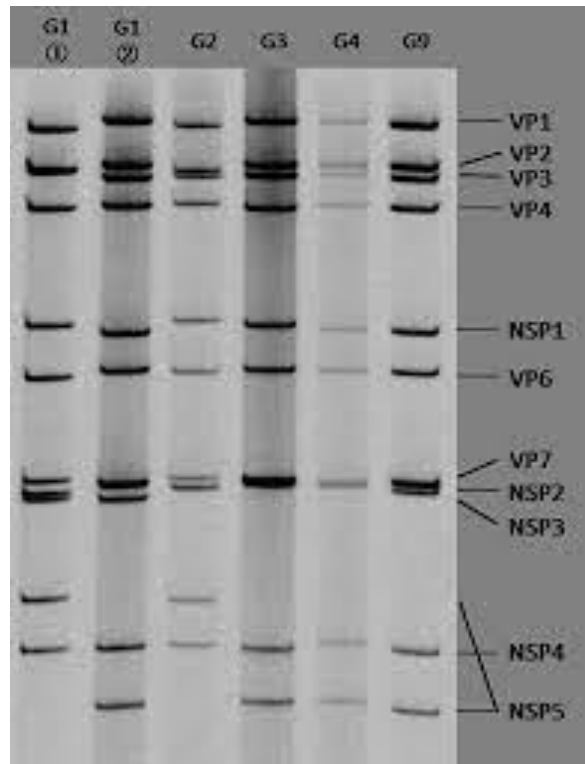
明確でない)、アデノウイルス、アストロウイルス、コロナ

ウイルス 他にミニロタウイルスとの記載あり

帰国後： 学問のすすめ 勉学のすすめ 便学のすすめ

帝京大学では ヒトロタウイルスの分離培養に成功し、ロタウイルス抗体(血清、便など)と更なるロタウイルスの分離がなされる。抗体を用いて抗原(ロタウイルス)の診断ができる。抗原を用いて抗体も調べられる。

ロタウイルスは11本の分節であり、RNA電気泳動で特徴的な泳動パターンが見られる。RNA-PAGE
1980年代 RNA-PAGE



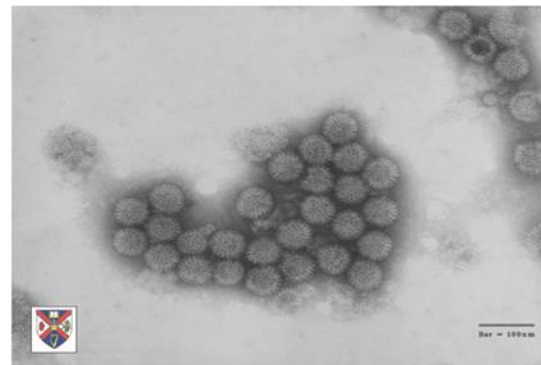
マイクロ
チューブ
10%懸濁液
上清

SDS

フェノール

クロロ
フォルム

- ・ヘマトクリット管を用いた電気泳動
- ・東京都、日本各地からの検体からの泳動型
- ・他の地方の開業医の方から検体のサポート



電子顕微鏡

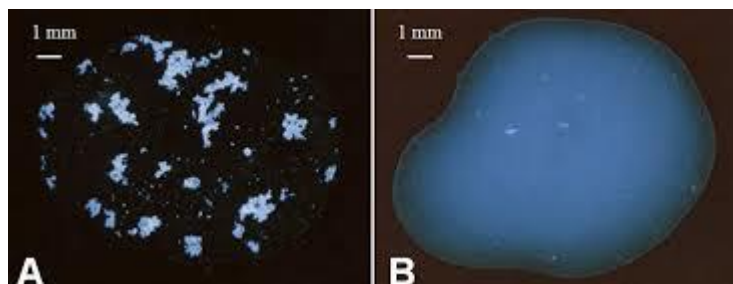


Odelia株(聖オディリアホーム乳児院)
非常に細胞で増殖するRV
(最近ウイルスも米国へ渡る)

病原体検出マニュアル NIIDより

- ①G1-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2 DS-1様G1株
- ②G1-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1 Wa様株
- ③DS-1様株

マウスのRVの細胞培養を可能にする



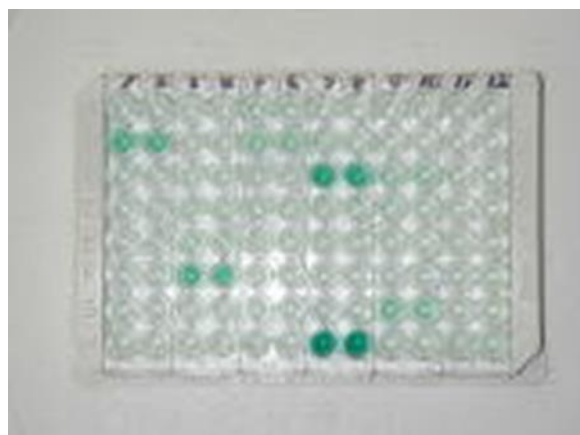
陽性

陰性

Latex 凝集反応
(糞便からの抗原検出)

C.difficile、RV
自動測定器

1980年代



ELISA法による抗原(RV,NoV,SaV)の検出

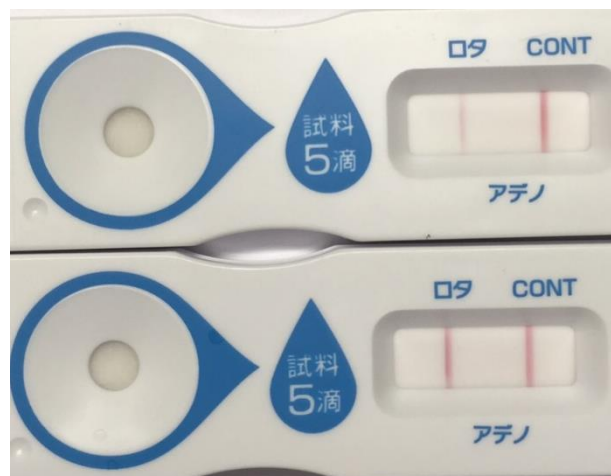
1980—2000年代

糞便、血清RT-PCR法による糞便からのRV,NoVの検出

ELISA法による抗体(RV,NoV、SaV)の検出

糞便(IgA)、血清(IgG,M,A)、母乳・咽頭スワブ(IgA)、髄液(IgG)

RVではモノクローナル抗体を用いて血清型を決めるのにも用いる



イムノクロマト法によるRV、NoVの糞便からの迅速診断

2000年代

イムノクロマトでのRV抗原血症・尿症の検出 発症後2, 3日でMax
5から7日で消失、嘔吐のみの患者で点滴時の血清からも
検出される尿からも認め、尿に強くみられることがある
イムノクロマト法を用いてもRVワクチンの有効性が確認
(遺伝子検査でも確認できる)

Monoplex/Multiplex RT-PCRによる下痢症ウイルスの検出

RT-PCR法による糞便からの検出、
遺伝子型の決定、リアソータント株、
リコンビナント株などの流行疫学が
1990年後半から進んできた

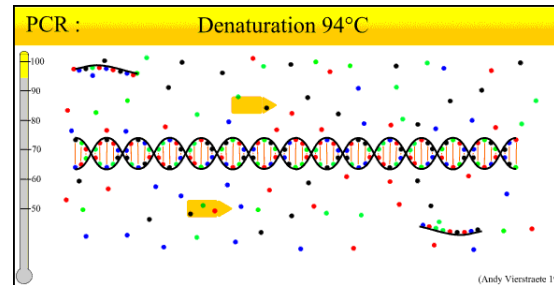


10% stool suspension

RNA extraction

Reverse Transcriptase (RT)

Polymerase chain reaction (PCR)



PCR試薬、プライマー等は
目的、時代によって変更になる

分子診断

- ・(RT-)PCR
 - ・リアルタイム(RT-)PCR
 - ・multiplex real time PCR
- 下痢症病原体迅速検査
簡単に迅速に診断できる

分子疫学

- Typing
- ・multiplex PCR
 - ・sequencing
(次世代シーケンス)

更に呼吸器系
神経系の検出法も
開発し、臨床にだっ
ている

Monoplex-set I

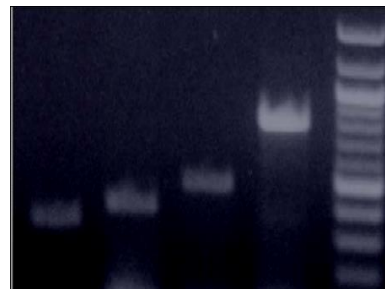
- Group A rotavirus

395bp



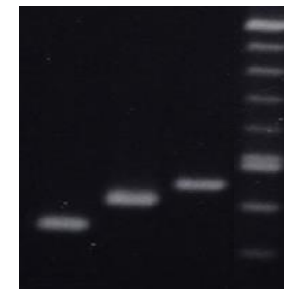
Multiplex-set II

- Group B rotavirus 814bp
- Group C rotavirus 352bp
- Adenovirus 482bp
- Astrovirus 409bp



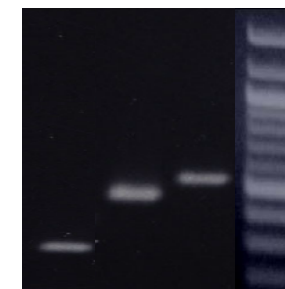
Multiplex-set III

- Norovirus GI 330bp
- Norovirus GII 387bp
- Sapovirus 434bp



Multiplex-set IV

- Human parechovirus 270bp
- Enterovirus 440bp
- Aichi virus 519bp



Viral copy number (copy/1uL RNA) 阪大微研の協力

Sample	NSP3 universal	Rotarix	Rotateq
18668	1.483×10^7	1.167×10^6	N.D.
18713	3.383×10^4	3.055×10^3	N.D.
18721	5.512×10^4	3.114×10^3	N.D.
SA11 (Positive control)	2.282×10^7	N.D.	N.D.

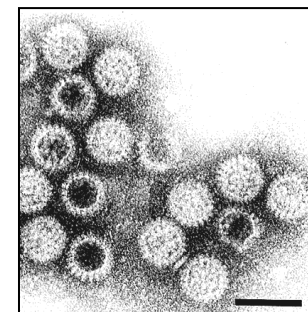
N.D. Not detected

他の107検体はすべて検出限界以下(<10⁴ copy: NSP3 qPCRでの結果)
RT-PCRによるVP7遺伝子の部分配列で決められたウイルスG型およびワクチン型と一致

Film array 消化管パネルでは細菌、ウイルス (RV,Ad,NoV,SaV,AstV) 、寄生虫が
調べられる。

ロタウイルス(RV)

- レオウイルス科 ロタウイルス属
- 11分節 dsRNA エンベロープはない



- 10 群: A, B, C, D, E, F, G, H, I, J

- A群ロタウイルス(RVA):

- ・ 乳幼児の主要なウイルス性胃腸炎 (Estes 2013)

- ・ G (VP7) とP(VP4):カプシド外層

[57 P genotypes] ← VP4

[41 G genotypes] ← VP7

主な G-遺伝子型: G1-4 とG8,G9

P遺伝子型: P[4]とP[8] :

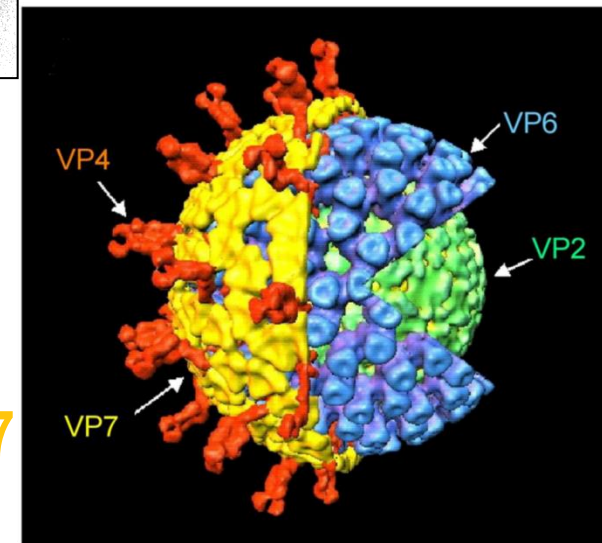
(<https://rega.kuleuven.be/cev/viralmetagenomics/virus-classification/rcwg>)

・ 日本でのワクチンは: Rotarix 2011年11月 RotaTeq 2012年7月 ともに有効

- 混合感染ではRVとNoVが多い RV流行の季節は冬から春へ ワクチン株での2次感染

- リアソータント

主な組み合わせ: G1P[8],G2P[4],G3P[8],G4P[8],G8P[8],G9P[8]



Esona MD and et.al
Virus Evol. 2021

ノロウイルス (NoV)

➤ 子どもの散発性、大人の流行性胃腸炎ウイルス、食中毒

➤ カリシウイルス科 ノロウイルス属

エンベロープ蛋白はない, 直径35 nm

ss(+) RNAウイルス

➤ VP1領域で

- ・ 10 遺伝子群(GI-GX) 48遺伝子型

- ・ HuNoVs: GI, GII, GIV, GVIII, とGIX

- ・ NoV GI: 9 とGII: 26遺伝子型

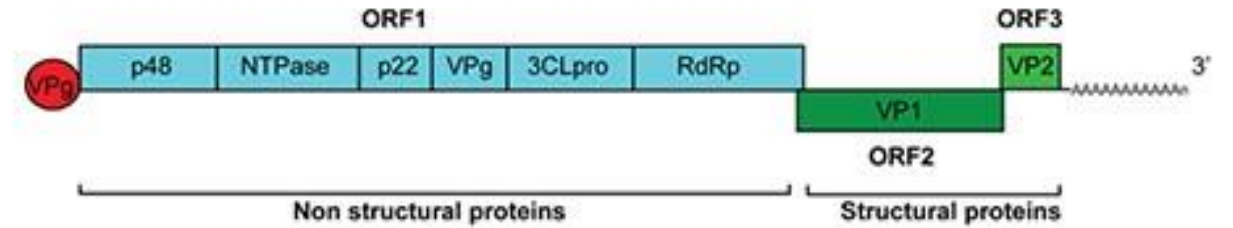
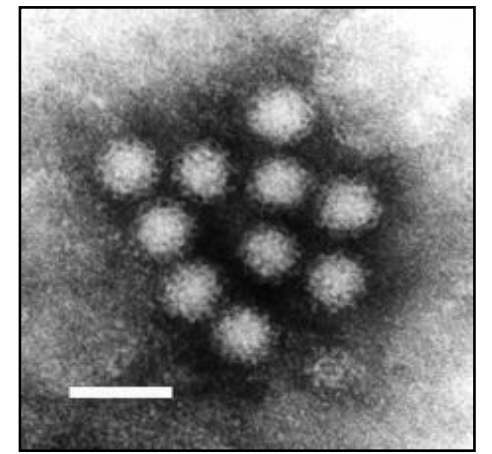
流行型: GII.4 (Gao J et al., 2021) 特にSydney株

➤ ポリメラーゼ領域(RdRP)

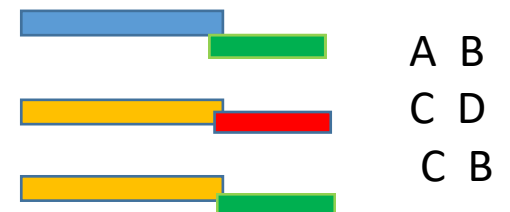
60以上のP型

Dual typingの表記、リコンビネーション

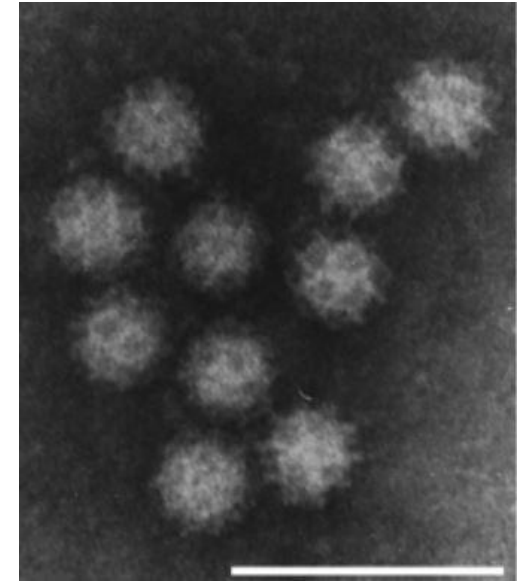
➤ 組織血液型抗原の関与



Norovirus genome



サポウイルス (SaV)



Electron micrograph of Sapovirus
(Madeley CR. 1979)

- カリシウイルス科, サポウイルス属
- エンベロープ蛋白なし ss(+) RNAウイルス
- どの年齢でも感染、散発的あるいは集団、食中毒も
- 症状はNoVより軽いことが多い
- 19遺伝子群

Human SaV: 4群

GI: GI.1 – GI.7

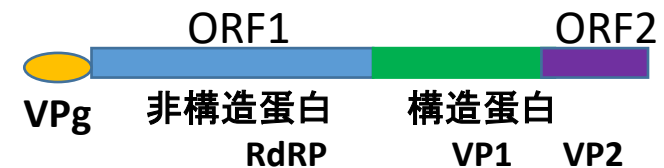
GII: GII.1 – GII.8, とGII.NA

GIV: GIV.1

GV: GV.1 – GV.2

(Nagai M et al., 2020; Oliveira-Tozetto S et al., 2021)

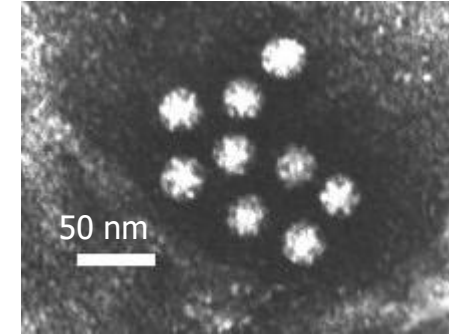
GI > G2 > GIV, GV



GI.1, 57%; GI.2, 19%, GII.1, 10.8%; GIV 9.4% 他季節性少ない(冬多い?) 増加? NoV, RV混合もある

アストロウイルス(AstV)

アストロウイルス科 哺乳類アストロウイルス属
ヒトアストロウイルス種



EM image of Astroviruses

エンベロープ蛋白なし

8 serotypes : 1-8 Classic types → Melbourne、Virginia

臨床症状はロタウイルス、ノロウイルス感染症と類似
また関連した脳炎がある。腎疾患、呼吸器疾患も推測

Janowski Viruses 2021

古典型 1~8

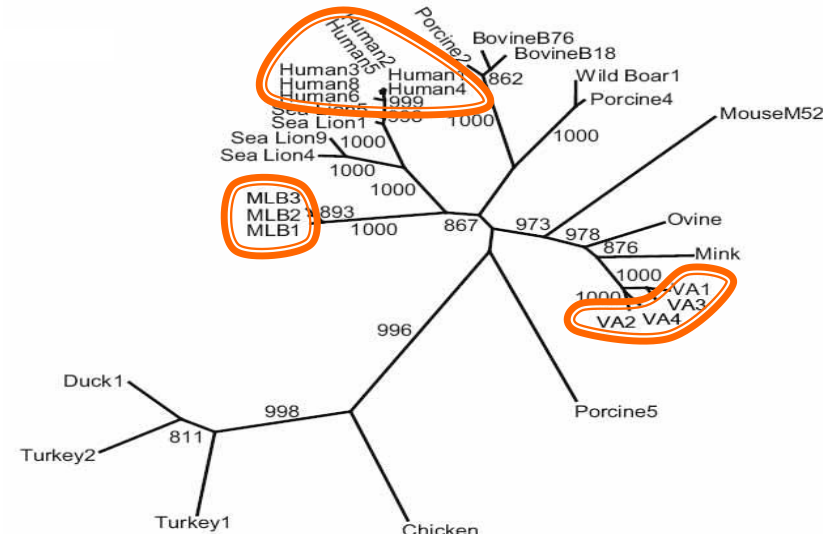
1が多い (5%)

新型

メルボルン型 (1-3)
(11%)

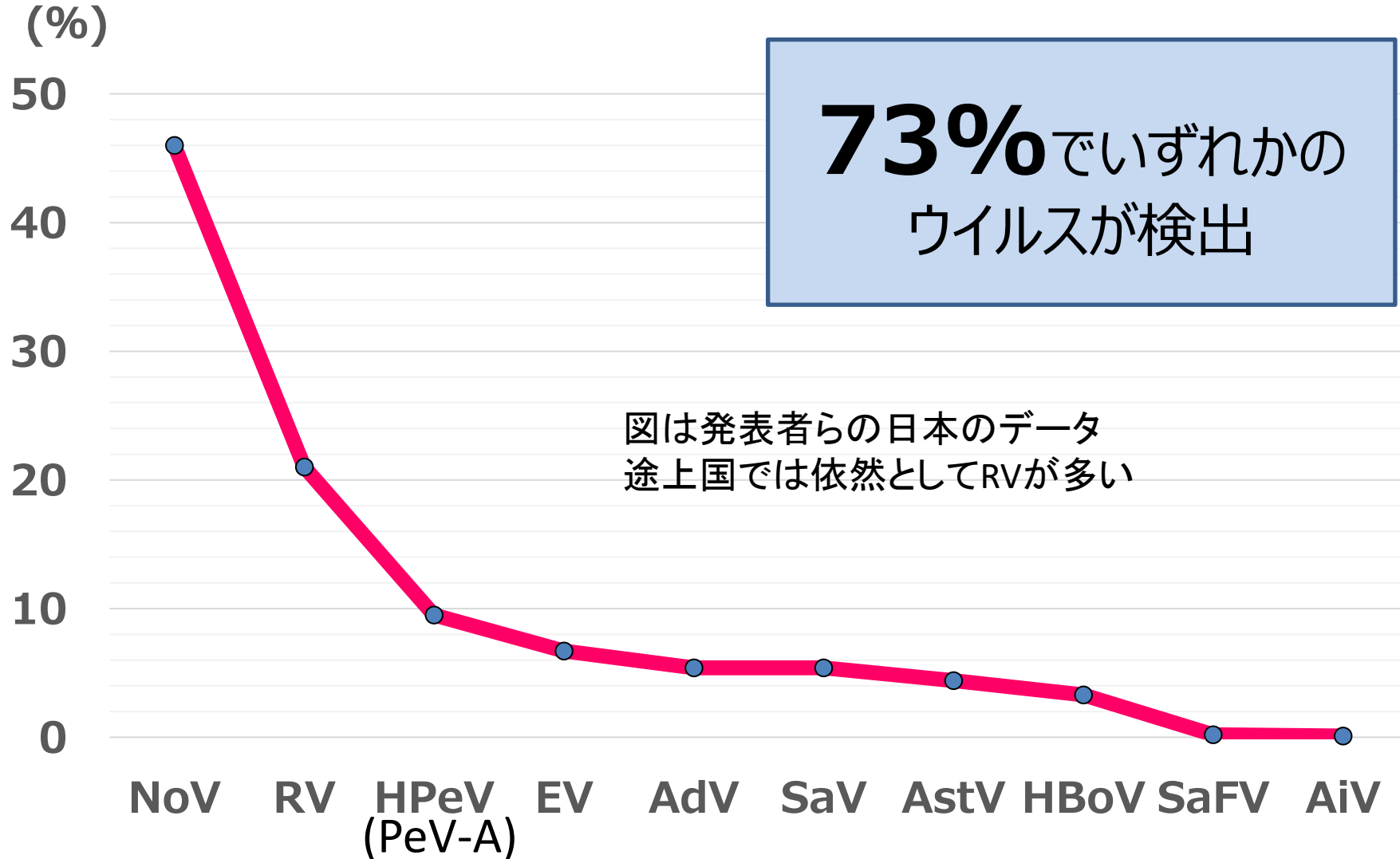
バージニア型 (1-4)
(1%)

現在はメルボルン型が多い



HIV関連の患者便より 近縁のbastrovirusが見出されている (E型類似症状) Munnink 2016

各ウイルスの検出頻度 2009年7月～2017年6月



ウイルス性胃腸炎の症状と特徴

主な症状： 胃腸炎（下痢、嘔吐、発熱）と脱水

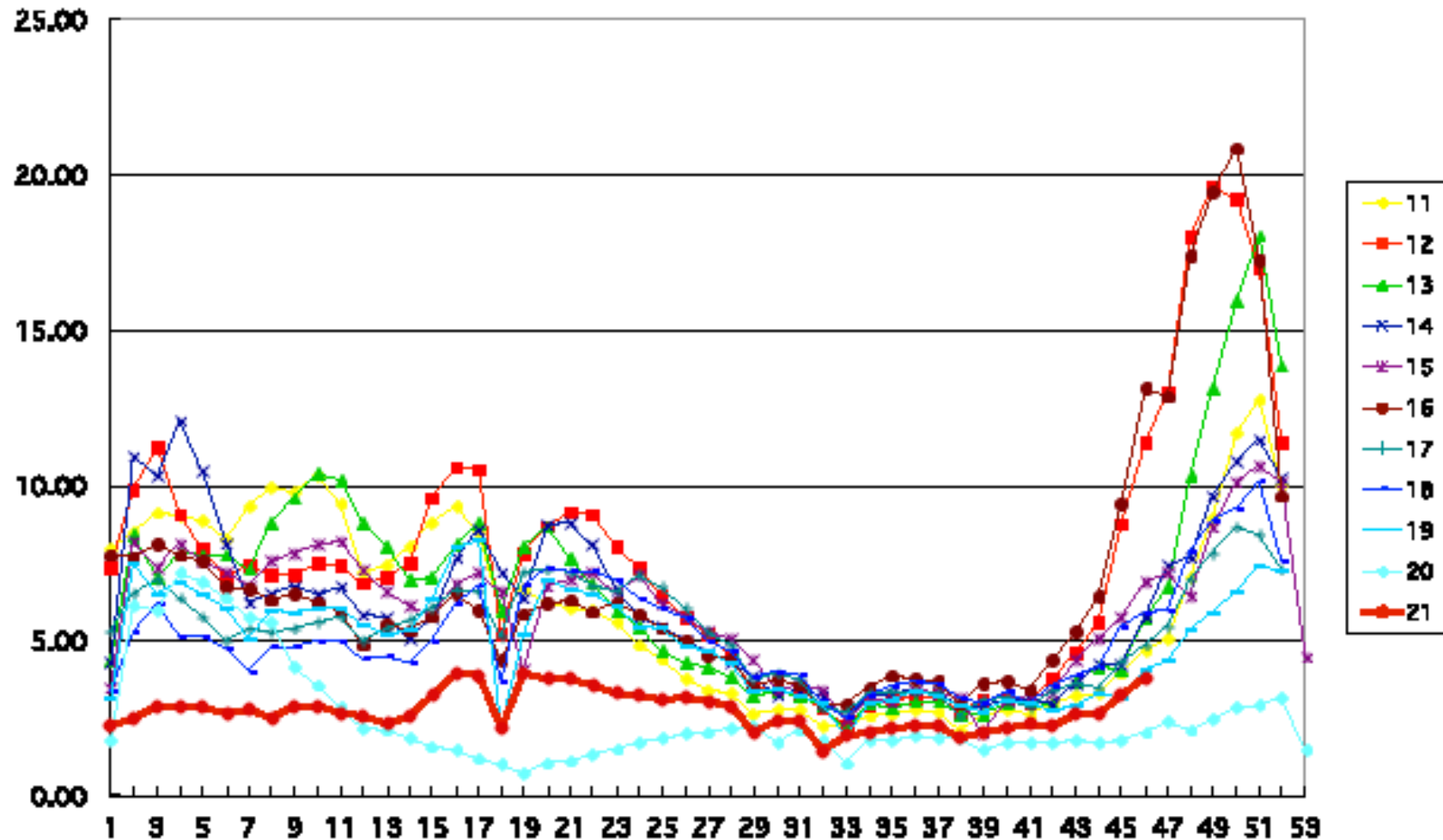
時に見られる症状： 気道炎（咳）

**稀に見られる症状：肝炎（黄疸）、胆道閉鎖、発疹、紫斑病、
脳症/脳炎（痙攣、意識障害）、筋炎（筋痛、筋力低下）、腸重積、
虫垂炎、腎炎、糖尿病、多臓器不全 他**

**排泄は数週間続く（ハイリスク患者はもっと症状続く）
吸収障害、長引くと栄養失調、急性と慢性、顕性と不顕性**

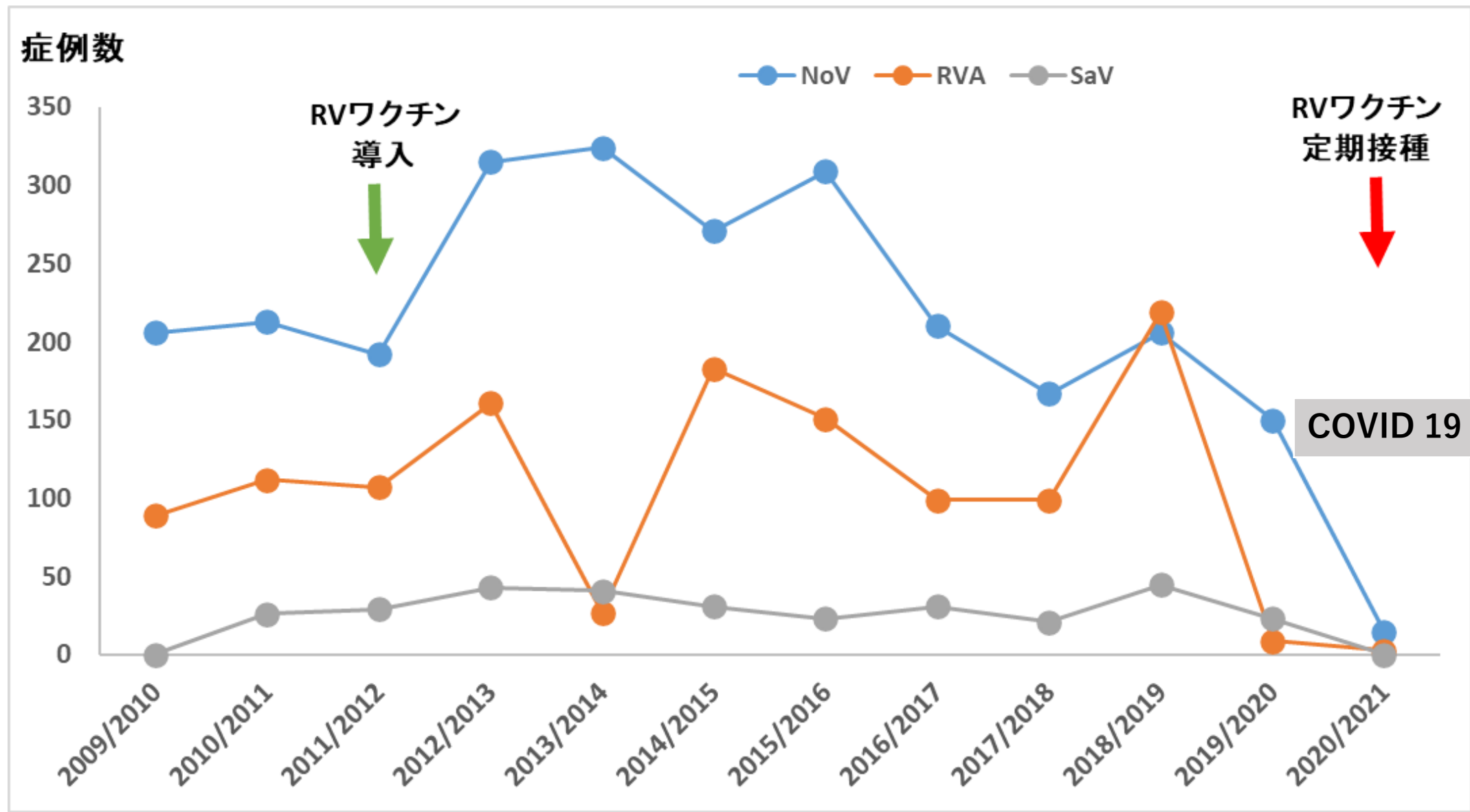
ウイルス性下痢症での多彩な臨床像、裏づける基礎研究が進む

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



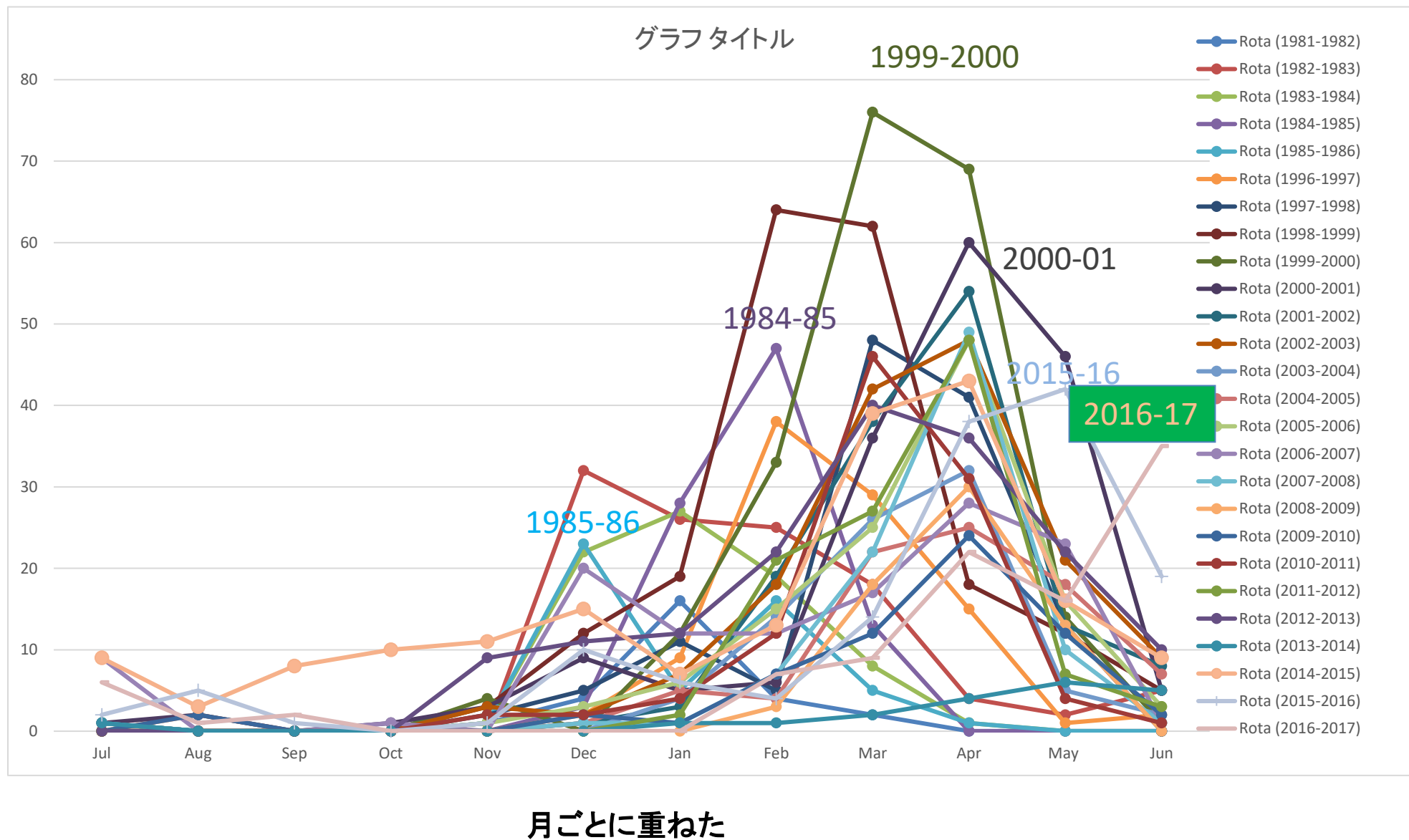
小児のノロウイルス感染症は11~12月に多いがロタウイルス感染症は2~4月に多い。ロタウイルス感染症は20~30年間で12~2月のピークが2~4月になっている。2020ー2021はCOVID-19で少ない。**2021年12月感染性胃腸炎ノロウイルスの集団感染が乳幼児中心に報告** IDWR 感染性胃腸炎 週報より

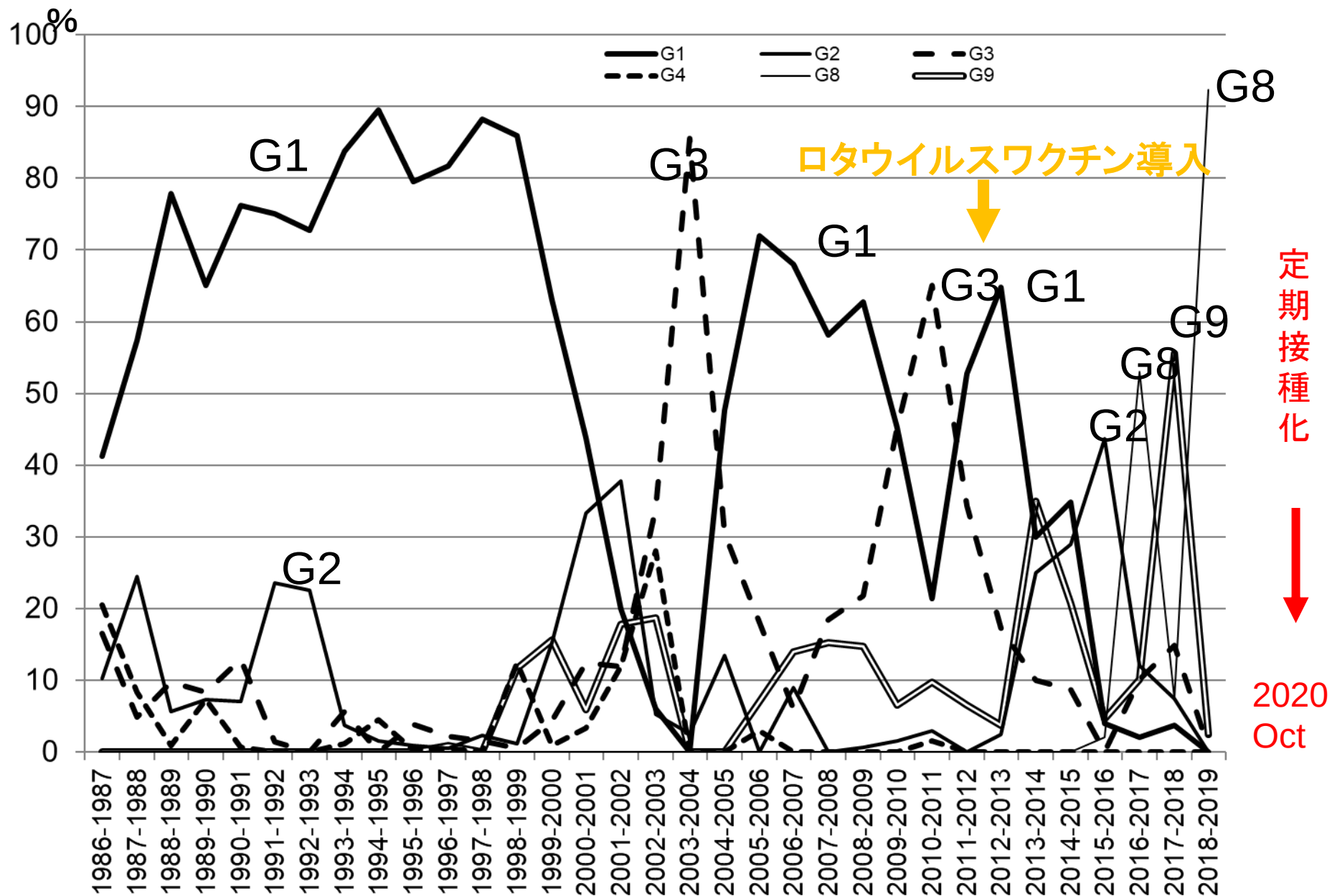
わが国の小児ウイルス性胃腸炎（ロタウイルス、ノロウイルス、サポウイルス）の分子疫学(2019-2021)



NoVがRVより2倍ほど多かったが、COVID19により急激にRV、そしてNoVとSaVが低下する。
RVワクチンも影響。今後どのようになるか。RVは低下したまま？NoV、SaVは上昇？

Yearly and monthly change of rotavirus gastroenteritis





日本のロタウイルスのG遺伝子型の流行の推移

2019-2020 赤はワクチン様株
G1(7:6,1),G3(1),G4(1) 合計9

RV, NoV感染症と腸管外疾患

- * ロタウイルス脳炎（脳症）と思われる1例 Ushijima 1986
星野・水口先生らが統計を取られている
- * ロタウイルスVP7遺伝子の便、血清、髄液、咽頭ぬぐい液からのRT-PCRでの検出 Ushijima 1994
EIAによる抗原血症が報告された
- * NoV感染症の一部に血液中にNoVRNAを見出した。Takanashi 2009
- * 脳炎/脳症関連の10ウイルスを標準株、臨床株で便、血清、髄液からmultiplex/monoplex PCR で検出を試みた。検出が可能なことがわかった。Pham 2017
- * イムノクロマト法によるロタウイルス抗原血症 Ushijima 2021

ロタウイルスワクチン（RV）の有効性

RVがわが国で任意接種になり、一時期RV感染症が減るも、ワクチン未接種者（5歳以上の児）に比較的入院の比率が高まる。またワクチンに含まれないG8,G9株の流行があった。コロナ禍になってからRV患者が外来、入院とも激減。 クリニックの立場でRVワクチンの有効性を評価した。重症度はVesikariスコア、評価法はTest-Negative Study Designを用いた。

RVワクチンにないG8P[8]株に対して、重症や中等度に効果があった。 [Hoque 2018](#)

RT-PCRと同様にイムノクロマト法でも有効性が、特に重症例で明確 [Hoque 2019](#)

イムノクロマト法での検査でワクチンの有効性がRVのどの型に対しても見られた [Kawata 2019](#)

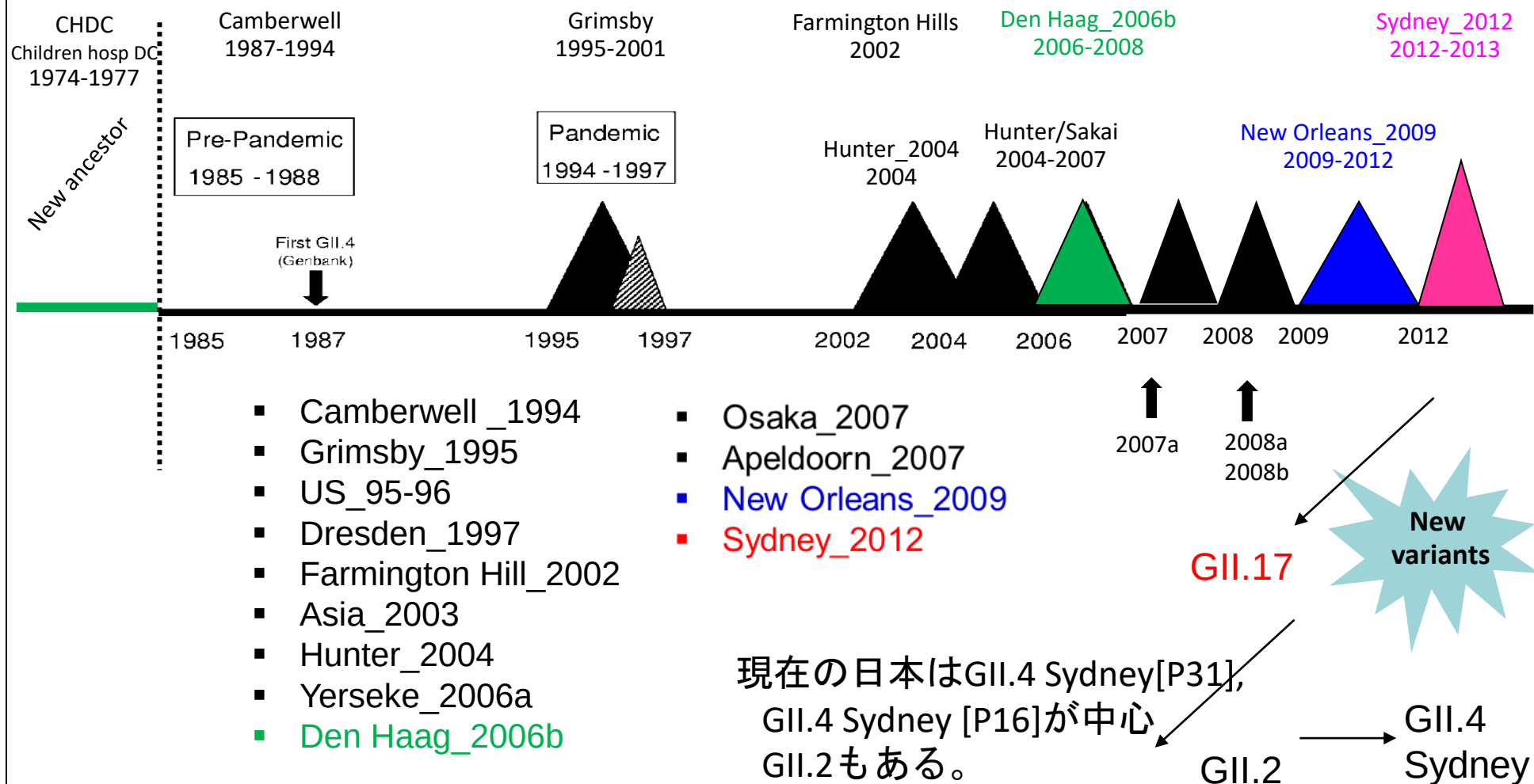
ワクチン未接種の5歳以上の児で入院がみられた。 [Ryo 2021](#)

23%ワクチン接種率の地区の外来でG9P[8]の株の流行があった。イムノクロマト法でもRT-PCRでもワクチンの有効性があった。 [Kawata 2021](#)

ノロウイルスGIIの流行と型

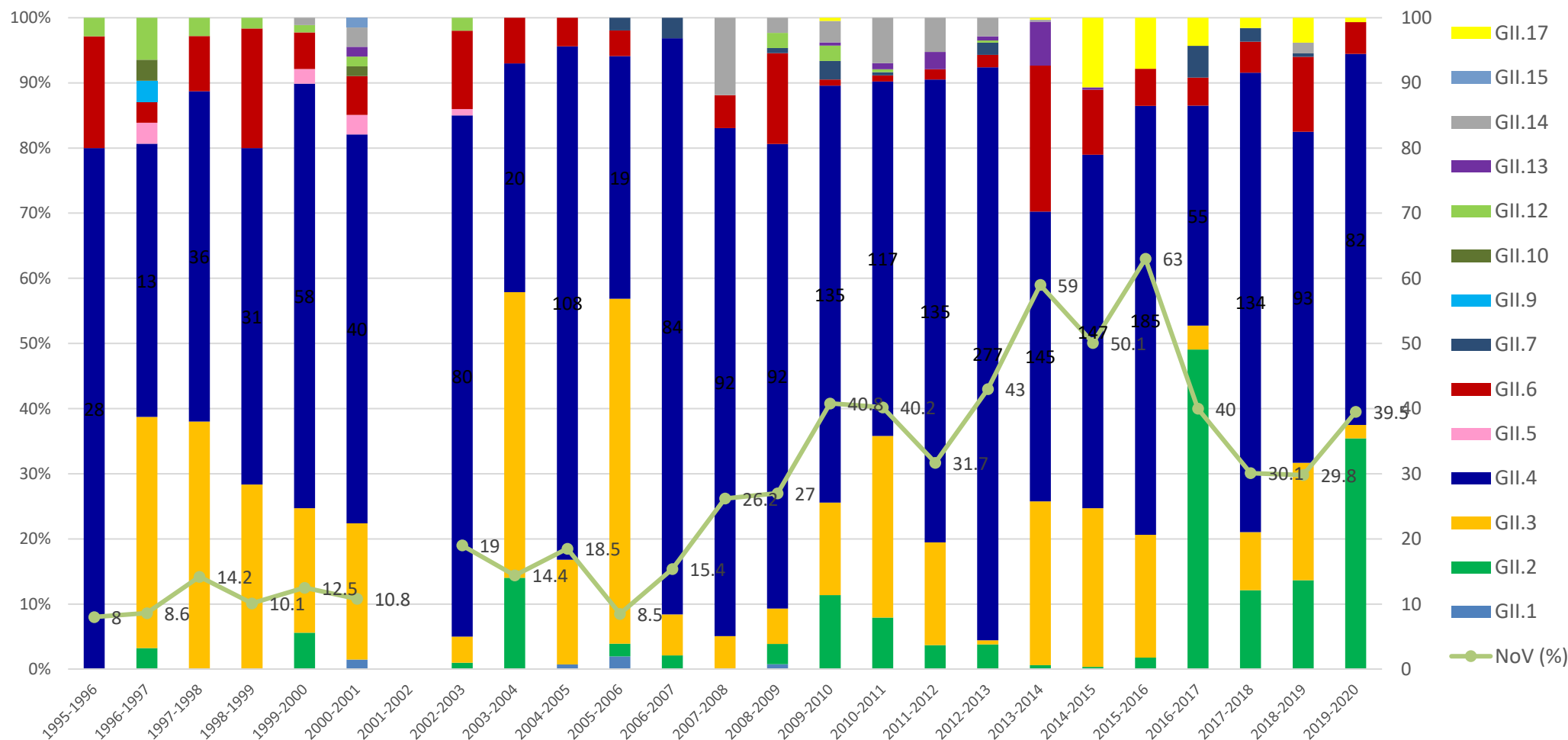
GII.4 Norovirus Evolution

NoV感染の中でGII.4が半数を占める

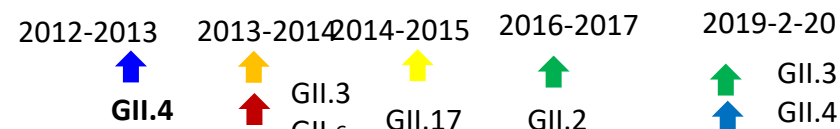


わが国の小児科クリニックにおける胃腸炎ノロウイルスの分子疫学(1995ー2020)

胃腸炎ウイルスの中での頻度= 64.0 %(Max), 38.9% (2019/2020) 折れ線



リコンビナントウイルスも存在する



Nov. GII.4 Sydneyのノロウイルスの部分カプシド領域(A)と部分ポリメラーゼ領域(B)の系統樹
(我々の株と参考株)

(A)

Reference GII.4 Sydney 129 studied strains
17611-18315-18320-18380-18387-18388-17604-17563-18392

Sydney 2012

18547-Japan
MK775032-GII.4Sydney
MN461058.GII.4
93
MT393989-15 studied strains
17592-17607-17640-17609-18334

0.0050

(B)

18380-Japan-ORF1

18392-Japan-ORF1

18388-Japan-ORF1

18387-Japan-ORF1

18320-Japan-ORF1

18315-Japan-ORF1

MK328934-GII.Pe GII.4

17611-Japan-ORF1

17563-Japan-ORF1

KX657723-GII.Pe/GII.4

17604-Japan-ORF1

17609-Japan-ORF1

18334-Japan-ORF1

KY817503-Hu/FR/2016/GII.P16-GI

MK881914-Hu/GII.P16-GII.4/RUS/

KY887601-Hu/UK/2016/GII.P16 GI

17607-Japan-ORF1

17592-Japan-ORF1

17640-Japan-ORF1

GII-P31

Pe=P31

GII.P16

B-1

B-2

0.02

A-1はB-1即ち[P31]に、A-2はB-2即ち[P16]に関連する
2019 - 2020と2020-2021は同じSydneyでもアミノ酸配
列に一部違いがある

ヒト・動物の群（種）と関係する宿主

ロタウイルス		ノロウイルス		サポウイルス	
群	宿主	群	宿主	群	宿主
A	ヒト、サル、ウマ、ブタ、ネコ、ヤギ、ウシ	GI	ヒト、サル、トリ	GI	ヒト、チンパンジー
B	ヒト、ウシ、ブタ、ヒツジ、ラット	GII	ヒト、ブタ	GII	ヒト、ラット
C	ヒト、ブタ、フェレット、ウシ	GIII	ウシ	GIII	ブタ
D	トリ	GIV	ヒト、イヌ	GIV	ヒト
E	ブタ＊血清型のみで検体なく現在不明	GV	マウス	GV	ヒト、ブタ、アシカイノシシ
F	トリ	GVI	イヌ	GVI	ブタ、イノシシ
G	トリ	GVII	イヌ	GVII	ブタ
H	ヒト、ブタ	GVIII	ヒト	GVIII-XI	ブタ
I	イヌ	GIX	ヒト	GXII	ミンク
J	コウモリ	GX	コウモリ	GXIII	イヌ
				GXIV-XIX	コウモリ

宿主はさらに増えている。ノロウイルス、サポウイルスでは群内、群間のリコンビナントウイルスが存在する。ロタウイルスは動物間のリアソータント（再集合）ウイルスが見られる。しかし、群間の再集合は報告がない。現時点では動物のロタウイルス、ノロウイルス、サポウイルスがヒトでの流行は見られない。散発的である。

A群ロタウイルスの分布（2018－2021）

Year July-June	Samples size	RVA	No. of genotypes (%)									
			G1	G3	G4	G8	G9	G8P[8]I1	G8P[8]I2	G8P[8]	G9P[8]I1	Vaccin-like RV
2018-2019 6地域	647	221	7	1	1	45	7	3	150 (67.9)	3	3	1 RotaTeq : 1(G4)
2019-2020 6地域	364	9	2	1	-	-	-	-	-	3	-	6 Rotarix: 4 (G1P[8]I1) RotaTeq: 2 (G4,G1)
2020-2021 4地域	160	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3 Rotarix 3(G1)
総計	1171	233	9	2	1	45	7	3	150	6	3	10 Rotarix: 7(G1) RotaTeq: 3(G4)

2018-2019:RVA G8: (201/221) 91%, G8P[8]: (150/221) 67.9%

Ref. Identification of vaccine-derived rotavirus strains in children with acute gastroenteritis in Japan, 2012-2015
わが国でもワクチン株が一般のロタウイルス感染症に交じって見られる (Kaneko, Takanashi)。

Genotype distribution of NoVs in children with AGE in Japan 2018-2021

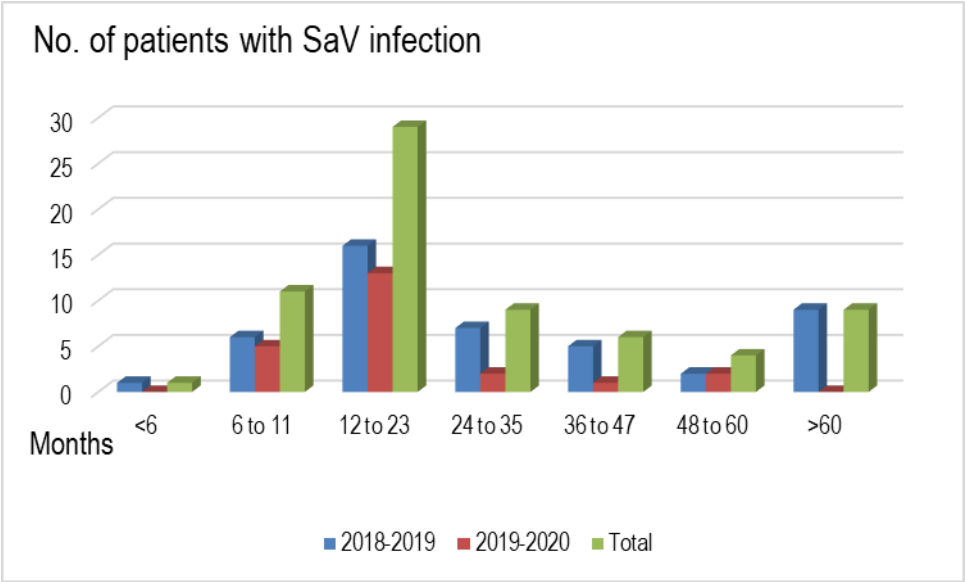
Year July-June	No. of sample s tested	No. of NoV GI positiv e (%)	No. of each NoV GI genotypes			No. of NoV GII positive (%)	No. of each NoV GII genotypes						
			GI.2	GI.4	GI.6		GII.2	GII.3	GII.4	GII.6	GII.7	GII.14	GII.17
2018-2019 6地域	647	5 (0.8)	4	-	1	183 (29.8)	25 (13.7)	33 (18)	93 (50.8)	21	1	3	7
2019-2020 6地域	364	5 (1.4)	1	1	3	144 (39.5)	43 (29.9) ↑	3 (2.1)	90 (62.5)	7	-	-	1
2020-2021 4地域	160	0	-	-	-	15	5	1	8	-	-	-	1
Total	1171	10	5	1	4	342	73	37	191	28	1	3	9

2019-2020: GII.4について GII.P31/GII.4 Sydney>>GII.4.P16/GII.4 Sydney

2020-2021: GII.4について すべてGII.P31/GII.4 Sydney 2021-2022 予想として2018--2020並みには行きそう

Sapovirus

Age distribution of SaV infection and SaV genotypes in Japan 2018-2021

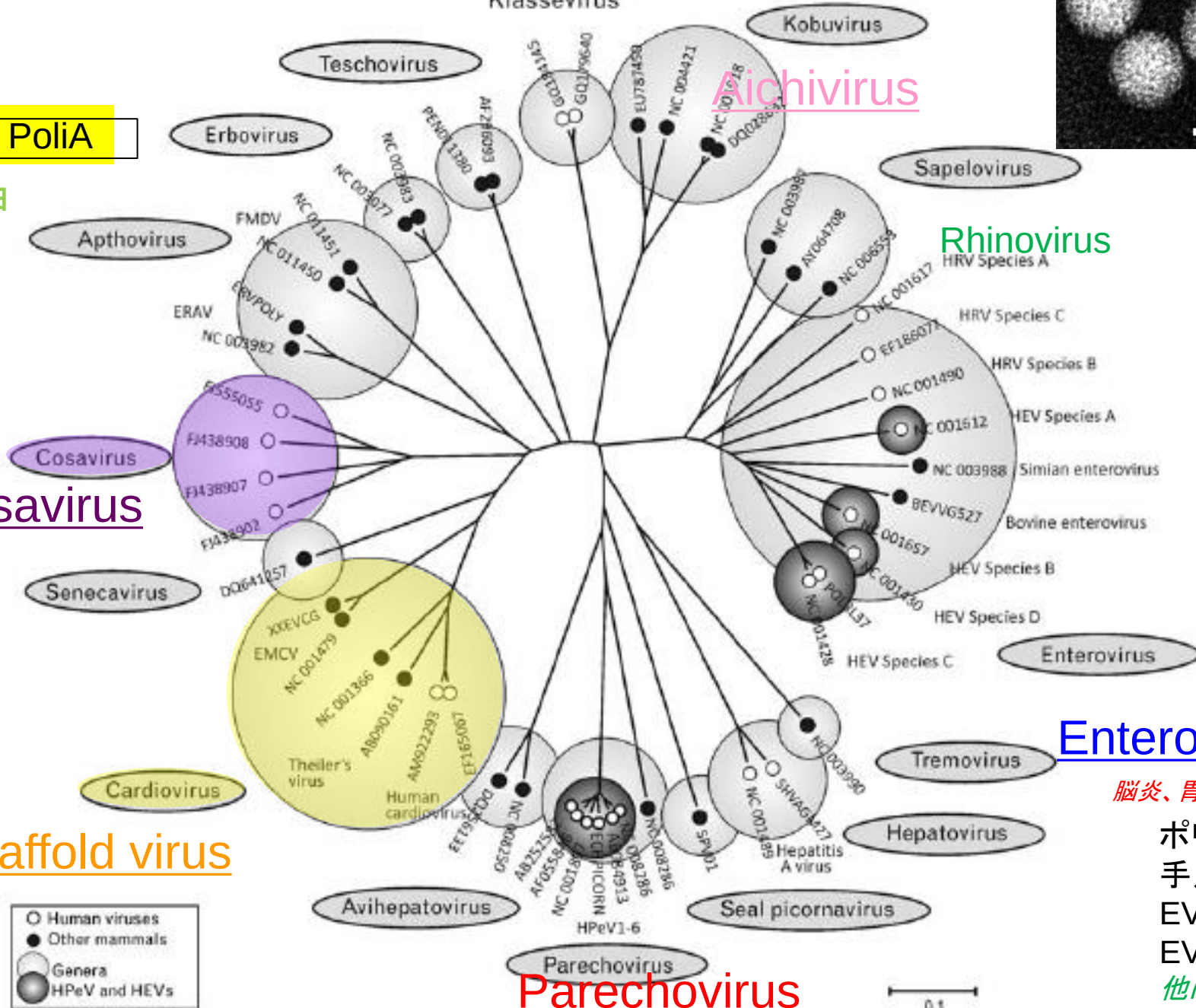


Year July-June	No. of positive cases (%)	No. of each SaV genotypes (%)				
		GI.1	GI.2	GII.1	GII.3	Not genotyped
2018-2019 6地域	46 (7.1)	23 (50)	9	9	-	5
2019-2020 6地域	23 (6.3)	13 (56.5)	3	6	1	-
2020-2021 4地域	0	-	-	-	-	-
Total	69	36 (52.2)	12	15	1	5

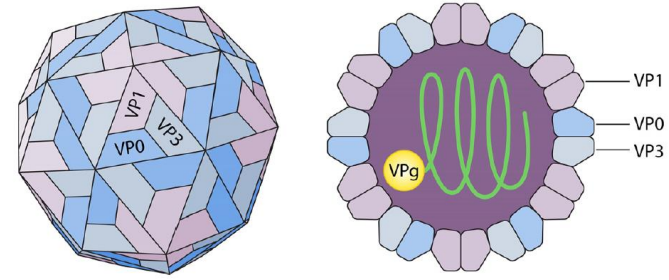
Similar to that of NoV study:
SaV infection was mainly occurred in children aged
12 to 23 months

GI.1 was the most prevalent genotype

ポリオ
手足口病
EV71
EV D68*
他に喘息様



ヒトパレコウイルス = パレコウイルスA



- ・ パレコウイルスA (Parechovirus A: PeV-A) はピコルナウイルス科
2014年以降相次いで感染事例が報告されている。
- ・ PeV-A 19遺伝子型のうち, PeV-A 1, 2, 3, 4, 6型が検出された。
多くはPeV-A 1型 (旧 エコーウイルス22) (PeV-A2 エコーウイルス23は初めて)
- ・ 一般的には軽症の胃腸炎や呼吸器感染症
- ・ 3型、4型は新生児に敗血症様症状や中枢神経障害などの重症もある
発熱、網状紅斑 検査では凝固能障害、肝機能障害、白血球数低下
- ・ 夏に多い
- ・ 重症化とウイルスの関係不明 不顕性から軽症～重症まで
- ・ 成人の流行性筋痛症の原因ウイルス (PeV-A3)

某地区での未処理下水からのウイルスの検出(2015.7-2016.6 1/M)

RVA, NoVG1/GII, BoV : 100 % (12/12)
AstV, SaV, Aichi virus : 91.7 % (11/12)
Adenovirus : 66.7 % (8/12)
Enterovirus, salivirus : 58.3 % (7/12)
Parechovirus : 50 % (6/12)
Saffold virus : 16.7 % (2/12)

Negative:

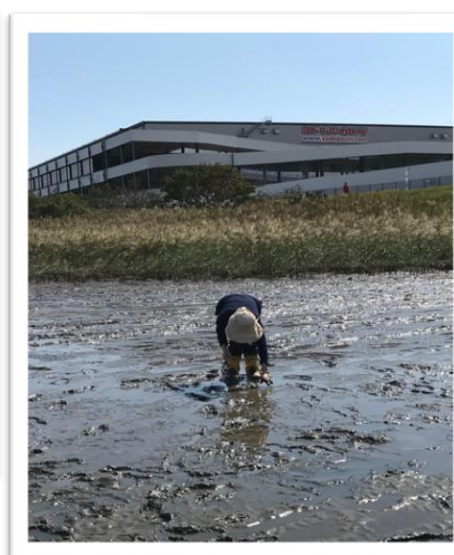
RVB/C, Hepatitis A/E, rosavirus, bufavirus

- 未処理下水は沢山の種類の下痢症ウイルスが含まれている(7-11種類のウイルス)。これらのウイルスはヒトや動物から排泄されたと考える。そして下水道を通して運ばれる。
- 採取地、時期の流行株とほぼ一致する。
- 未処理下水中に 10^3 copy/mL 以上のRVがある。1月から5月に $10^5 - 9.0 \times 10^6$ copy/mLの範囲で、冬が高濃度であった。
- 未処理の下水中に多様な型のノロウイルスGIとGIIが見いだされる。流行中波はGIよりも高いGIIのノロウイルスが存在する。

Thongprachum A et al. 2018 他

シジミ（河川）からのRVワクチン株の検出

採取年月	数	RV陽性(%)	RotaTeq陽性	Rotarix陽性
2019年7月	24	22(91.7)	0(0)	0(0)
9月	24	9(37.5)	0(0)	0(0)
11月	24	18(75.0)	1(4.1)	0(0)
2020年1月	24	13(51.2)	0(0)	0(0)
総計	96	62(64.6)	1(1)	0(0)



Hoque et al. 2022

今後の課題と研究方針（計画）

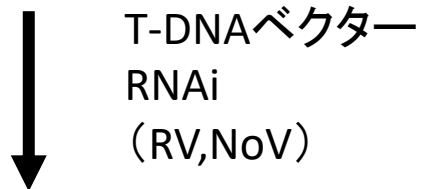
諸事情が許すなら、国内外の研究者とともに次のようなことをしばらく行いたいと思います。

- ロタウイルス、ノロウイルス、サポウイルスを中心としたウイルス学的研究の継続
 - /分子疫学的手法による流行疫学
 - /ロタウイルスワクチンの有効性と変異株の検出 疫学的手法での有効性
- 腸管外でのウイルスの病態
- 自然界におけるロタウイルス生ワクチン株等の検出
- ICによるサポウイルス、アストロウイルスの迅速診断法
ロタウイルス/ノロウイルス/サポウイルス/ コンビのIC
- 共同研究としてのワクチン開発の基礎研究の継続
 - ロタウイルス・ノロウイルスワクチン 食べる・飲むワクチン
 - 植物（イネなど） ▪ 昆虫および昆虫細胞を用いた方法 ▪ 乳酸菌での発現
 - 従来の方法による不活化ワクチン
- 治療薬？

コメでのウイルス蛋白発現

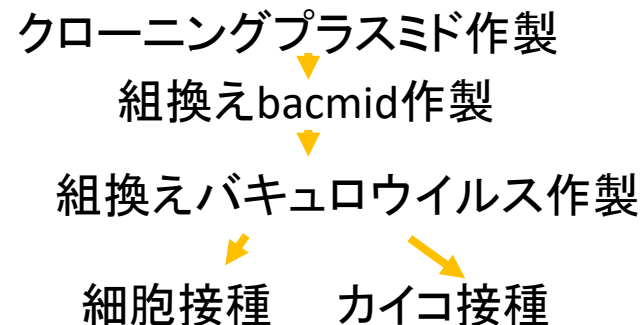


アグロバクテリウム法



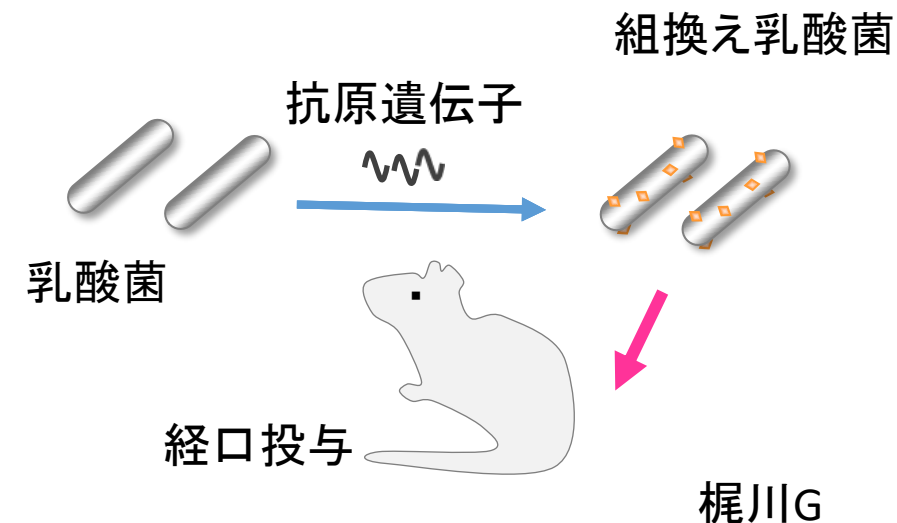
ムコライス
(清野G) 私も試みたが不成功

感染培養細胞上清および感染カイコ生体内のノロウイルスVLPの産生



(谷G)

組換え乳酸菌のマウス接種



mRNA法

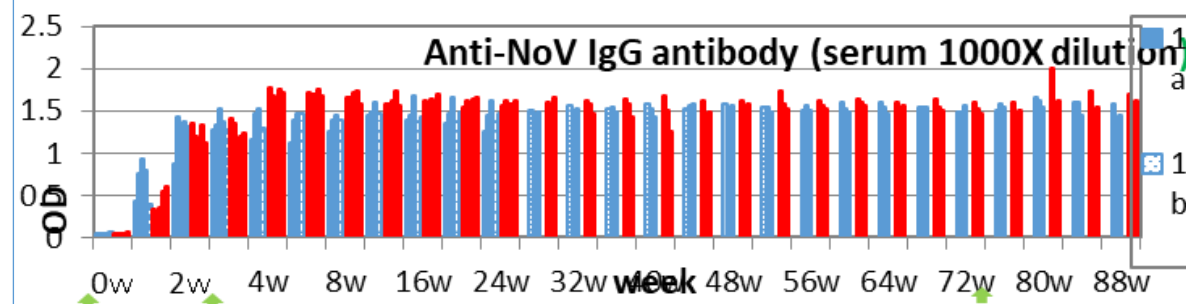
従来のロタウイルス、ノロウイルス接種法

細胞培養ロタウイルス (生/不活)

+ VLPノロウイルス

マウス(皮下接種・経口接種)

牛島G



3回皮下接種と1回皮下接種

まとめ

- * 私の下痢症ウイルスの研究を中心として話させていただきました。その時々の手技を使い、今は分子レベルの研究になってきました。現在のコロナの研究にも通じるところがあります。
- * 分子疫学はその時々積み重ねです。長い目で見ていかなければなりません。
分子疫学的研究には恒常的な検体の採取と検体の保存が大切です。
- * 日本の研究者が下痢症ウイルスの研究に貢献しています。
- * ウイルス性下痢症のワクチンはロタウイルスで始まったばかりです。また特異的な治療薬はありません。
- * 動物の下痢症ウイルスが現時点ではヒトで大きい問題を起こしてはいませんが、今後に備えることが必要です。
- * 臨床的には、感染性下痢症は腸管・脳・代謝・免疫と関連があり、疾患の上でも注意する必要があります。
- * 現在、私は計画をして旗振り役、まとめ役が中心になっています。研究は国内外の多くの仲間が行なってくれました。興味を持たれる若い方など参加も希望します。
- * 国際保健学専攻発達医科学は、名前からすると感染症のみならず発達の面、健康からの国際的な研究も続けて欲しいです。小児科学教室とWIN-WINの関係を今後とも期待しています。

謝辞 (研究協力者・共同研究者) 敬称略

実験系

日本大学 沖津祥子、早川 智
恩田優子、Ngan Thi Kim Pham
Quang Duy Trinh 教室員 他

元東京大学 高梨さやか、星野 愛、水口 雅

日本ウイルス性胃腸炎研究グループ
菊田英明、西村修一、小林正明
山本あつ子、杉田久美子、馬場常嘉
疋田敏之 他

国立感染症研究所
清水博之 藤本嗣人 他

地方衛生研究所
谷 英樹、斎藤博之、清水英明 他

他大学
梶川揚申、林京子
小林 剛、佐藤慎太郎
清野宏 他

実験系

タイ国

Niwat Maneekarn
Pattara Khamrin
AksaraThongprachum
Kattareeya Kumthip
Leera Kittigul 他

バングラデシュ

Sheikh Ariful Hoque
Shuvra Kanti Dey

ベトナム

Dinh Nyguen Tran
Tuan Anh Nguyen

ドイツ

Werner EG Müller

米国

Itoe Shiota
Gia Tung Phan
Quihong Wang

調査系

早川有子
秋原志穂
川田紀美子
柳生文宏
大日方美音
顧 艶紅

Li LuiBai
Li Yan
Manilay Phengxay

その他多数の協力いただいた。
また検体供給者と採取者に深謝します。

御清聴ありがとうございました。



ヘレン ケラーの生家 アラバマ州タスカンビア



シュバイツワールの生家 アルザス地方 カイゼルスベルグ

長い間 臨床、研究などを一緒に
させていただいて感謝いたします。
今後とも宜しくお願いします。

わが国の小児ウイルス性胃腸炎（ロタウイルス、ノロウイルス、サポウイルス）の分子疫学(2019-2021)について述べます。2019年7月から2020年6月までと2020年7月から2021年6月の2年間で、1年目は全国6地域（北海道、東京、静岡、大阪、佐賀、京都）で2年目は4地域（静岡、大阪、京都、佐賀）に減少しました。

左上は2009年から2020年までの症例数です。ノロウイルスがロタウイルスの約2倍でしたが、2019/2020からはCOVI19のため、个人防护（マスク、手洗いなど）などで減少となりました。ただ、5波の緊急事態宣言の解除の後、これからの冬に向けてノロウイルス感染の増加の兆しが予想されています。

下 この2年間を詳しく見るとロタウイルスはワクチン接種で患者数が減ってますが、ワクチン株が検出されております。今後、野生株とワクチン株のリアソータントの出現も予想されます。ノロウイルスはGII.4が依然として多く見られ、それはSydney株です。ポリメラーゼ領域ではP31とP16がありP31が多く見られます。**右上**はSydneyのカプシドが2つに分けられること、A-1はP31,A-2はP16に関係します。GII.2もGII.4の半分ほど見られます。**下の右**はサポウイルスですが2020-2021には陽性はありませんでした。1年目はGI.1が他の遺伝子型(亜型) より多く見られます。

まとめ、コロナの流行で个人防护のためかウイルス性下痢症は減少しています。ポストコロナはまだ予測できませんがまた増加すること考えられます。ロタウイルス感染症はワクチンで少なくなっていますが、わが国にないB群、H群など、リアソータントウイルスの出現も今後考えられます。またノロウイルスはワクチンがないため今後増えることも感じられます。ワクチンとともに治療薬も研究が必要と考えられます。

註 右上の系統樹で B-1の所 Peとしているのは 最初のころPタイプが決まっていなかったのですが現在はP31となりました。

* 私の下痢症ウイルスの研究を中心として話させていただきました。その時々の手技の発達などで分子レベルの研究になってきました。PCR法が大きく貢献していることは、今の新型コロナウイルスでおわかりと思います。

私は計画をして旗振り役に今なっています。また、研究費を取ってきたり、成果を発表する役目です。研究は多くの仲間が行なってくれました。重箱の隅をつつくような研究が多いのですが、興味を持たれる若い方など参加ください。

国際保健学専攻発達医科学は、名前からすると感染症のみならず発達の面、健康からの国際的な研究も続けて欲しいです。小児科学教室とWIN-WINの関係を今後とも期待しています。

* 小児科、アラバマ大学留学、感染症研究所(予研)、公衆衛生院、東京大学医学系研究科発達医科学、東大退官後の日本大学等での研究を述べさせていただきました。

* その時々国内外の協力者、特に海外の方からの援助を得ました。

* 環境がかわりウイルス以外のことも学び、一緒に仕事させていただきました。

* 日本の研究者が下痢症ウイルスの研究に貢献しています。

* クリニックからの検体は戴いていますが、病院からのサンプルはありません。重症例の検体十分ではありません

・分子疫学はその時々積み重ねです。長い目で見ていかなければなりません。

・分子疫学的研究には恒常的な検体の採取と検体の保存が大切です。

・ウイルス性下痢症は栄養状態を保つことで回復することがありますが、まだ特異的な治療薬はありません。

・動物の下痢症ウイルスが現時点ではヒトで大きい問題を起こしてはいませんが、今後備えることが必要です。

・わが国のワクチンの開発(ロタウイルス、ノロウイルス、サポウイルスなど)が必要です。