

令和元年6月10日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08027

研究課題名(和文) ノロウイルス感染症とネコの関係 - 公衆衛生学的見地から -

研究課題名(英文) The etiologic relationship between human and feline norovirus.

研究代表者

高野 友美 (Takano, Tomomi)

北里大学・獣医学部・准教授

研究者番号：20525018

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：ノロウイルス感染症はヒトを始め、様々な動物で確認されている。しかし、我々の知る限り、ヒトと動物の間でのNoVの循環は確認されていない。現在、イヌノロウイルス(遺伝子型GVI)がヒトへ感染する可能性については複数の報告例があるものの、ネコノロウイルスがヒトへ感染する可能性を示した報告は無い。本研究で我々はヒトノロウイルスの遺伝子群GIVと遺伝子学的に類似するGIVネコノロウイルスはネコに対して病原性を有することを確認した。また、GVIネコノロウイルスに感染したネコにおいて同一株の再感染が生じることを明らかにした。さらに、ネコノロウイルスがヒトノロウイルスの検査系で検出できることを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、日本国内では猫の飼養頭数が増加している。特に、猫の推定飼養頭数は965万頭(2018年)であり、日本国内では最も多く飼養されている動物である。猫は、他の愛玩動物と異なり、集団飼育される傾向があることから、感染症が発生・蔓延しやすい状況にある。すなわち、猫から人への人獣共通感染症の伝播が懸念される。また、ノロウイルスによる感染症は社会的・経済的にも大きな影響を及ぼしていること、ネコノロウイルスは獣医臨床および公衆衛生上注目されつつある病原体であることを踏まえると、本研究の結果は獣医学のみならず医学的にも重要な結果をもたらすことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Norovirus infection has been confirmed in several animal species, including humans, but to our knowledge, no transmission of norovirus between humans and animals has been confirmed. At present, there have been some reports on the possibility that canine virus (genotype GVI) infects humans, but there are no reports on the possibility of feline norovirus. In this study, we confirmed that the GIV feline norovirus, which is genetically similar to the human norovirus gene group GIV, shows virulence to cats. In addition, it was clarified that reinfection of the same strain occurs in cats infected with GVI feline norovirus. Furthermore, we have found that feline norovirus can be detected in the test for human norovirus.

研究分野：動物感染症学、獣医ウイルス学

キーワード：ノロウイルス 胃腸炎 動物疾患モデル ネコ

1. 研究開始当初の背景

毎年、ノロウイルスによる感染性胃腸炎は年齢を問わず爆発的な流行が報告されている。現在、米国を中心に、ノロウイルスに対する予防薬および治療薬の開発研究が実施されているが、実用化するに至っていない。

ヒトと接触する機会が多い犬や猫でも、ノロウイルスによる感染性胃腸炎が確認されている(Mesquita et al., 2010. *Emerg. Infect. Dis.* 16:980-982; Pinto et al., 2012. *PLOS One*. E32739)。犬および猫のノロウイルスは遺伝子群 GIV および GVI に大別される。遺伝子群 GIV ノロウイルスはヒトにも存在する。現在、ヒトにおいて犬・猫のノロウイルスによる感染性胃腸炎の報告は無い。しかし、(1) 犬に接する機会が多い獣医師は犬の遺伝子群 GVI ノロウイルスに対する抗体を保有していること(Mesquita et al., 2013. *Virology* 471:176)、(2) 犬の遺伝子群 GVI ノロウイルスはヒトの histo-blood group antigens (HBGAs : ノロウイルスのウイルスレセプター)に結合すること(Caddy et al., 2014. *J. Virol.* 88:10377-10391)、(3) 犬から検出された遺伝子群 GVI ノロウイルスはカキ由来のヒトノロウイルスに類似すること(Martella et al., 2009. *J. Virol.* 83:11391-11396)、(4) ヒトノロウイルスの流行型(GII.4)に感染した犬が存在すること(Caddy et al., 2015. *J. Clin. Microbiol.* 53:1873-1883)を踏まえると、犬のノロウイルスがヒトに感染して胃腸炎を引き起こす、もしくはその反対の現象が起きる可能性は否定できない。猫にもノロウイルスが存在する場合、同様の可能性が懸念される。

2. 研究の目的

イヌノロウイルスがヒトへ感染する可能性については複数の報告例があるものの、ネコノロウイルスがヒトへ感染する可能性を示した報告は無い。この理由として、人への感染性が疑われる遺伝子群 GVI ノロウイルスが猫に存在しないことが挙げられる。このような状況の中、我々は野外猫から世界で初めて遺伝子群 GVI ノロウイルスの検出に成功した(Takano et al., 2015. *Vet. Microbiol.* 178:201-207)。即ち、人に感染し得るノロウイルスの存在が猫でも確認された。我々はネコノロウイルスがヒトノロウイルスと同様に胃腸炎を示すか否かを再確認するとともに、本ウイルスのヒトへの感染の可能性を検討した。

3. 研究の方法

(1) ネコノロウイルスの疫学調査 これまでに収集した猫血清および猫糞便材料を用いて、猫における抗ネコノロウイルス抗体の保有状況およびネコノロウイルスの感染状況を確認する。抗体保有状況の調査には、組換えネコノロウイルス VP1 タンパク質もしくは組換えヒトノロウイルス VP1 タンパク質を用いる。

(2) ネコノロウイルスとヒトノロウイルスの共通性の確認 ヒトノロウイルス検査の公定法である定量的 RT-PCR 法を用いて、ネコノロウイルスが検出可能か否か

を確認する。また、組換えネコノロウイルスウイルス様粒子(VLP)を作製して、ヒトノロウイルス検出用簡易検査キットでそれを検出できるか否かを確認する。即ち、ネコノロウイルスとヒトノロウイルスの共通性を確認する。

(3) 遺伝子群 GIV ネコノロウイルスのネコにおける増殖性および病原性の確認
遺伝子群 GIV ノロウイルスはヒト、猫、犬およびライオンでその存在が報告されている。猫において、遺伝子群 GIV ノロウイルスの病原性は不明な点が多い。そもそも、GIV ヒトノロウイルスの病原性についても明らかにされていない部分は少なくない。本研究において、遺伝子群 GIV ネコノロウイルスをネコに接種してその増殖性および病原性を確認する。

4 . 研究成果

(1) ネコノロウイルスの疫学調査 組換えネコノロウイルス VP1 タンパク質を用いてネコにおける抗ネコノロウイルス抗体保有状況を調査した。その結果、GIV ネコノロウイルスおよびGVI ネコノロウイルスともに抗体保有率は5～15%であった。猫血清を採取した年代が新しくなるほど、抗体保有率が増加する傾向が認められた。猫糞便材料からネコノロウイルス遺伝子を検出したところ、100 頭中 4 頭においてネコノロウイルス遺伝子が検出された。このうち、1 頭は国内で初めて確認された遺伝子群 GIV ネコノロウイルスであった。

(2) ネコノロウイルスとヒトノロウイルスの共通性の確認 過去の研究で得られたネコノロウイルス遺伝子陽性糞便材料を用いて、ヒトノロウイルス検査の公定法である定量的 RT-PCR 法でウイルス遺伝子の検出を試みた。その結果、遺伝子群 GII および GIV ヒトノロウイルスを検出できるプライマーセットでネコノロウイルスを検出できることが確認された。また、公定法はヒトノロウイルスを検出する際の感度・特異度とほぼ同程度にネコノロウイルス遺伝子を検出できる可能性が示唆された。組換えネコノロウイルス VLP を用いて、ヒトノロウイルス検出用簡易検査キットでそれを検出できるか否かを試みた。使用した検査キットは遺伝子群 GI および GII ヒトノロウイルスを検出するものである。この検査キットにおいて、遺伝子群 GIV および GVI ネコノロウイルスの組換え VLP の検出を試みたところ、いずれも検出することが可能であった。即ち、ヒトノロウイルスとネコノロウイルスはウイルス粒子表面に共通の抗原が存在することが明らかとなった。

(3) 遺伝子群 GIV ネコノロウイルスのネコにおける増殖性および病原性の確認
1)の疫学調査で得られた遺伝子群 GIV ネコノロウイルスを SPF 猫 2 頭に経口接種して猫における増殖性および病原性を確認した。接種 2-3 日目において糞便中へのウイルス排泄量が増加するとともに、胃腸炎症状(軟便、嘔吐など)が認められた。臨床症状は数日で消失したが、糞便中へのウイルス排泄は断続的に 2 週間以上認められた。また、血中抗ノロウイルス IgG が上昇すると糞便へのウイルス排泄が減少する傾向が認められた。

(4) 遺伝子群GVI ネコノロウイルスの再感染 遺伝子群GVI ネコノロウイルスに感染したネコは同一株に再感染することを確認した(詳細は下記発表論文を参照)。即ち、GVI ネコノロウイルスはヒトノロウイルスと同様に再感染が成立する可能性が示唆された。

(5) その他 糞便中のネコノロウイルス遺伝子の検索する過程で、猫を宿主とする新規ウイルスを発見した (詳細は下記発表論文を参照)。

5 . 主な発表論文等 (研究代表者は下線)

- (1) Takano T, Hiramatsu K, Matsuyama M, Mutoh K, Matsumoto Y, Fukushima T, Doki T, Kusuhara H, Hohdatsu T. 2018. Viral shedding and clinical status of feline-norovirus-infected cats after reinfection with the same strain. Arch Virol. 163: 1503-1510. 査読有
- (2) Takano T, Yanai Y, Hiramatsu K, Doki T, Hohdatsu T. 2018. Novel single-stranded, circular DNA virus identified in cats in Japan. Arch Virol. 163: 3389-3393. 査読有

[学会発表] (計 7 件)

(一般口演)

- (1) 森岡亮裕、高野友美、加藤美津紀、渡邊温菜、土岐朋義、楠原一、宝達勉. 遺伝子群 GIV ネコノロウイルス(FNoV)のネコにおける増殖性および病原性. 第 161 回日本獣医学会学術集会 2018 年 9 月(つくば).
- (2) 加藤美津紀、高野友美、森岡亮裕、渡邊温菜、土岐朋義、楠原一、宝達勉. 遺伝子群 GIV ネコノロウイルス(FNoV)のネコにおける増殖性および病原性. 第 31 回北里大学バイオサイエンスフォーラム 2018 年 8 月(相模原).
- (3) 渡邊温菜、高野友美、加藤美津紀、森岡亮裕、土岐朋義、楠原一、宝達勉. ヒトノロウイルスの検査系を使用したネコノロウイルスの検出. 第 31 回北里大学バイオサイエンスフォーラム 2018 年 8 月(相模原).
- (4) 高野友美、平松香菜恵、松山美冬、武藤かりん、松本有加、土岐朋義、楠原一、宝達勉. ネコノロウイルス(FNoV)感染ネコにおける同一ウイルス株の再感染について. 第 160 回日本獣医学会学術集会 2017 年 9 月(鹿児島).
- (5) 松山美冬、高野友美、平松香菜恵、武藤かりん、松本有加、土岐朋義、楠原一、宝達勉. ネコノロウイルス(FNoV)感染ネコにおける同一ウイルス株の再感染について. 第 30 回北里大学バイオサイエンスフォーラム 2017 年 8 月(十和田).
- (6) 高野友美、平松香菜恵、土岐朋義、楠原一、宝達勉. 胃腸炎症状を示したネコに由来するネコノロウイルスの病原性について. 第 70 回日本細菌学会東北支部総会 2016 年 8 月(十和田).

(招待講演)

- (1) 高野友美. ネコノロウイルス感染症. 第 30 回ウイルス性下痢症研究会学術集会. 2018 年 10 月(京都).

〔その他〕

- (1) 毎日新聞 地方版(三重) 2016 年 1 月 27 日「ノロウイルス 被害撲滅 県など 6 機関研究協定」研究者が所属する北里大学獣医学部獣医伝染病学研究室が 2016 年 4 月から 2019 年 3 月までの 3 年間、この協定に参加した。ノロウイルスに特化した産学官の取り組みの協定は全国初。

6 . 研究組織

〔その他の研究協力者〕

研究協力者氏名：楠原 一

ローマ字氏名：Kusuhara Hajime

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。