

2.1. 輸入貝類はエンテロウイルス属ウイルスの国内侵入 に 関与する のか？

○前田 和穂 (地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所)
中田 恵子 (地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所)

【研究目的】

エンテロウイルス属ウイルス (EV) は夏かぜなどの原因となり、時に中枢神経系症状を引き起こし、重症化する。EV 感染症は毎年夏季に小児で流行し、その流行はゲノム解析により国外から流入した EV が関与することが示唆された。EV の国外からの流入経路はヒト-ヒト伝播のみと考えられていた中、入国制限が実施された新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 流行下においても国外から流入した EV が検出された。ヒト-ヒト伝播以外の流入経路の存在が疑われたことから、本研究では輸入食品、特にウイルスを蓄積する中腸腺を持つ二枚貝を介した国外からの EV 流入の危険性を評価する。

【研究の必要性】

EV は手足口病やヘルパンギーナ、無菌性髄膜炎などを引き起こす。EV 感染症は毎年夏季に小児で流行し、流行の主となる EV の遺伝子型は年毎に異なる。国内の流行株のゲノム配列を解析すると、流行直前に近隣諸国で検出された株と近縁であることが多いため、国内の EV 感染症の流行には国外から流入した EV が関与していると考えられる。EV の国外からの流入経路は他のウイルス感染症の原因と同様にヒト-ヒト伝播が主であると考えられていた中、入国制限が実施された COVID-19 流行下においても、国内で検出された EV は近隣諸国で検出された EV と近縁であった。そのため、ヒト-ヒト伝播以外の国外からの EV 流入経路の存在が疑われた。

EV と同じ腸管ウイルスであり、食中毒ウイルスとして知られるノロウイルス (NV) や A 型肝炎ウイルス (HAV) は食品から検出され、食中毒事例が多く報告されている。その中には、輸入食品に関連したアウトブレイクも報告されており、食品安全上問題となっている¹⁾。特に二枚貝は中腸腺に環境水中のウイルスが濃縮、蓄積されるため、ウイルスによる食中毒の原因食品として頻繁に報告されている。そこで、環境中で容易に失活しない EV も同様の経路により感染症を引き起こすのではないかと考え、本研究ではヒト-ヒト伝播以外の国外

からの EV 流入経路として輸入食品、特に二枚貝を介する流入の危険性を評価する。EV 感染症は予後良好であることが多いが、アジア太平洋地域ではエンテロウイルス 71 型による中枢神経合併症による重症化やコクサッキーウイルス B1 型による新生児や乳幼児での重症化が報告されている²⁾³⁾。このような重症化を引き起こす EV の国外からの侵入を阻止することは公衆衛生上重要な課題である。流入経路を把握することは、EV に対するワクチンや治療薬が無いわが国において適切な感染対策行動の選択に繋げられる。

【研究計画】

2023年9月から2024年3月において輸入品と国産品の二枚貝(ハマグリ)を毎月入手する。同じロットのハマグリ 3~5 個を 1 検体とし、輸入品と国産品それぞれ 3 検体に対して EV の検出を行った。ハマグリから中腸腺を取り出し、貝類からのウイルス検出によく用いられる超遠心法によりウイルスを濃縮した。そこから抽出した RNA をもとに cDNA を合成し、Nested real-time PCR により EV を標的としたスクリーニングを実施した。EV 陽性と判定された検体に関しては、Nested RT-PCR を実施し、ダイレクトシーケンスにてゲノム配列を決定した。得られたゲノム配列は、データベースに登録されている EV のゲノム配列と比較し、近縁系統関係を調べた。さらに、並行してウイルスを濃縮した検体に対して株化細胞 (RD-A、VeroE6、FL、Caco-2) を用いた分離培養を行った。分離株が得られた場合も同様にゲノム配列を決定し、近縁系統関係を調べた。

【実施内容・結果】

2023年9月から2024年3月にわたり輸入品と国産品ともに毎月3検体ずつ、合計42検体(輸入品21検体、国産品21検体)のハマグリについてEVの検出を実施した(表1)。

全ての検体についてNested real-time PCRを実施した結果、すべてEV不検出であった。並行して実施した株化細胞によるウイルス分離においてもすべてEV不検出であった。

表1. 調査で使用了ハマグリ産地

実施時期	輸入品		国産品	
	産地	検体数	産地	検体数
2023年9月	中国	3	茨城県	3
2023年10月	中国	3	千葉県	3
2023年11月	中国	3	三重県	3
2023年12月	中国	3	茨城県	3
2024年1月	中国	3	千葉県	3
2024年2月	中国	3	千葉県	3
2024年3月	中国	3	千葉県	3

【考察と今後の課題】

今回の汚染実態調査では国外からの EV の流入の危険性に着目し、輸入二枚貝が国外からの EV 流入経路の 1 つとなり得る可能性があるという推測のもと、輸入されたハマグリならびに国産のハマグリを対象として EV の検出を行った。調査の結果、輸入品および国産品か

ら EV は検出されなかった。

EV 感染症は夏季に流行のピークとなり、その後流行が収束し、冬季には EV の検出が減少する⁴⁾。これはわが国のみならず温帯地域で共通している疫学パターンである。感染症発生動向調査週報および病原微生物検出情報のデータから作成した図 1 によると、調査を実施した 2023 年度もパターン通りに夏季に流行のピークを迎え、その後流行が収束した。本研究で使用したハマグリは生きた状態のものを購入したため、購入した時期とハマグリが採取された時期は大きく乖離していないと推測される。そのため、調査に供した輸入品と国産品が採取された時期は EV 感染症の流行が収束に向かう時期であり、EV 感染者から環境中に放出された EV の量が減少した結果、二枚貝に蓄積されず、検出がされなかった可能性も考えられる。大阪健康安全基盤研究所では大阪府下の 3 カ所の下水処理場から採水し、下水からウイルスを検出する下水サーベイランスを毎月実施している。2023 年度の下水サーベイランスにおいても 9 月から翌年 3 月になるにつれて検出される EV が減少していた（図 2）。本研究は実施期間が通年では無く、EV 感染症の患者数が増加していく 5 月から流行のピークを迎える 7 月にかけては調査が実施できていないため、汚染実態把握のためには流行期を含むさらなる調査が必要である。また、二枚貝は環境水中のウイルスを蓄積するため、環境水中のウイルスの動態を評価するには下水サーベイランスの情報が有用であり、二枚貝の汚染実態調査には産地の下水を含めた疫学情報などを併せた多角的な解析も必要である。

国外で実施された二枚貝を対象とした腸管ウイルスの汚染実態調査においては、中国ではハマグリから、ポルトガルではムール貝から EV が検出されている^{5) 6)}。そのため、EV においても NV や HAV と同様に加熱不十分な状態での二枚貝の喫食には十分注意しなければならないと考えられる。EV 感染症は接触感染や飛沫感染によるヒト-ヒト伝播が主な感染経路とされている。しかし、COVID-19 の感染対策により、国際的な人の往来が抑制され、主な感染経路が閉ざされた状況においても、EV は国外から流入し、国内で伝播していた。国外から持ち込まれたウイルスは国内において感受性者が多く、大規模な流行に繋がりがかねない。国外からの EV 流入経路を把握することは公衆衛生上重要であり、今後も EV の国外からの流入についてさらなる実態解明を目指していきたい。

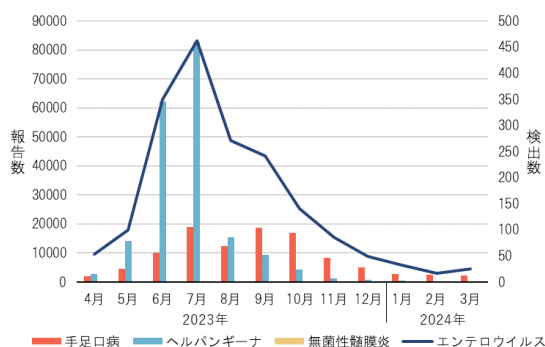


図 1. 2023 年度の国内の EV 感染症報告数および EV 検出数

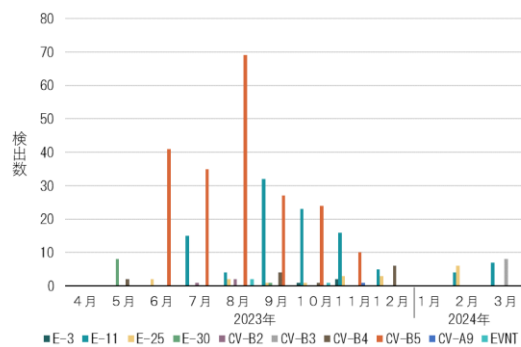


図 2. 2023 年度の大坂府下の下水における EV 検出数

【謝辞】

本研究にあたり、ご協力いただいた大阪市中央卸売市場食品衛生検査所の関係職員の皆様に感謝申し上げます。

【参考文献】

- 1) Collier M et al., 2014 The Lancet Infectious Diseases 14(10):976-981
- 2) McMinn P.C et al., 2002 FEMS Microbiology Reviews 26(1):91-107
- 3) Kim H et al., 2013 Journal of Medical Virology 85(1):110-115
- 4) Carolyn B et al., 2021 In Fields virology 7(1):86 - 128
- 5) Ming H et al., 2013 Journal of Food Safety 33:209-214
- 6) Mesquita J et al., 2011 Food Microbiology 28:936-941

【経費使途明細】

使 途	金 額
ハマグリ	63,018 円
試薬	176,014 円
器具・消耗品	57,932 円
振込手数料	3,036 円
合 計	300,000 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円