

	イワ エリカ
氏 名	伊藤 絵里香
本籍（国籍）	山形県
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研 792 号
学位授与年月日	令和 3 年 3 月 2 3 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 地域環境創生学
学位論文題目	二枚貝の安全性向上のためのヒト腸管系ウイルス蓄積特性の解明 (Analysis of accumulation of human enteric viruses in bivalves for their safer supply)
学位審査委員	主査 山形大学教授 渡部 徹 副査 渡邊 一哉(山形 准教授),坂元 君年(弘前 准教授),濱上 邦彦(岩手 准教授)

論 文 の 内 容 の 要 旨

感染性胃腸炎は世界的に重要な疾病であり、特に、発展途上国ではこの疾病のために毎年多くの小児が死亡している。感染性胃腸炎の病因物質は様々であるが、ウイルスを原因とする胃腸炎の占める割合が高い。胃腸炎を引き起こすヒト腸管系ウイルスの中でも、ノロウイルスやロタウイルスは感染性が強く、ヒトからヒトへ簡単に広がるために、現状では完全な予防は難しい。これらのウイルスに感染した胃腸炎患者は、排泄物とともに膨大な数のウイルスを排出する。排出されたウイルスが下水道等を通して微量ながら海域に流入した結果、海水をろ過する性質がある二枚貝の体内に蓄積されることが、牡蠣のノロウイルス汚染の例で明らかになっている。本研究では、牡蠣以外の二枚貝、そして、ノロウイルス以外のヒト腸管系ウイルスについても、同様に感染性胃腸炎の患者を起源とする汚染経路が成立するか調べることを第一の目的とする。この経路で汚染された二枚貝を浄化する試みが数多く行われているが、二枚貝の体内に蓄積されたウイルスを不活化する、あるいは、体外へ吐き出させることは極めて困難である。従来の対策とは一線を画した抜本的な対策として、ウイルスを蓄積しにくい二枚貝を選別して養殖するアイデアを実現するために、牡蠣のノロウイルス蓄積量と糖鎖構造の関係を明らかにすることを本研究の第二の目的とする。

初めに、二枚貝のウイルス汚染と周辺の感染性胃腸炎流行との関連性を明らかにするため、下水処理水が放流される河口域に自生する牡蠣およびイソシジミを採取し、体内のノロウイルス量を測定した。その結果、牡蠣とイソシジミのどちらについても、体内のノロウイルス量に季節的な変動が見られた。これらの二枚貝に含まれるノロウイルス量は、周辺地域からの下水中のノロウイルス量との有意な相関関係が認められた。一方、二枚貝のウイルス量と感染性胃腸炎患者報告数には有意な相関がなく、医療機関からの報告では把握できない潜在的なノロウイルス感染者の存在が示唆された。これらの感染者は無症状でウイルスを排出するため、二枚貝のウイルス汚染の排出源対策を難しくする存在である。

二枚貝のノロウイルス汚染に関しては比較的多くの先行研究があるが、その他のヒト胃腸炎

ウイルスによる汚染については情報が少ない。そこで、ノロウイルスに次いで患者報告数が多いロタウイルス（ここでは、A群ロタウイルスを対象）について、二枚貝の汚染の実態を明らかにした。ロタウイルスには現在、ワクチン（商品名：ロタリックスおよびロタテック）が使用されているため、このワクチン株と区別して、ヒトに病気を引き起こすことができる野生株を調査した。その際、同一の牡蠣サンプルから、A群ロタウイルスの全株とワクチン株の遺伝子をそれぞれ定量検出し、両者の差を野生株の量とみなした。2年間の研究期間において、ロタリックス株は2年目のサンプルのみ検出されたが、ロタテック株は1年目と2年目の両方で検出された。また、野生株とロタテック株は両者とも冬季にウイルス量が増加する傾向が見られた。このうち野生株については、牡蠣と下水に含まれるウイルス量に有意な相関関係があり、感染者由来のロタウイルス株が養殖牡蠣に効率的に蓄積されていた。

牡蠣の体内には、ノロウイルスが特異的に結合する糖鎖が発現していることが知られている。同じロットの養殖牡蠣でもノロウイルス蓄積量に個体差があることから、ウイルスの蓄積が少ない牡蠣が発現している糖鎖の種類や量を明らかにし、同様の糖鎖構造を有する牡蠣を選別して養殖することができれば、ノロウイルス汚染を著しく低減できる。そこでまず、牡蠣を水槽内でノロウイルス GI.7 株または GII.2 株に人為的に汚染し、そのウイルス量が多い牡蠣および少ない牡蠣を選別し、その体内に発現している糖鎖の種類と量をレクチンアレイ解析によって調べた。GI.7 株と GII.2 株のどちらもケースでも、牡蠣への蓄積量には個体間で 1000 倍を超える差が見られた。GI.7 株の蓄積が多い牡蠣個体では、少ない個体に比べて4種類の糖鎖の発現量が有意に少なかった。一方、GII.2 株の蓄積が多い個体では、9種類の糖鎖の発現量が有意に多く、ノロウイルスに汚染されにくい牡蠣を選別するための重要な情報が得られた。

結論として、ノロウイルスだけでなくロタウイルスでも、二枚貝の汚染には、その地域での感染性胃腸炎の流行が関与していた。無症状者も含めて感染性胃腸炎の流行の把握や予防を確実に行うことが、二枚貝が生息する海域へのヒト腸管系ウイルスの流入を減らし、二枚貝の安全性向上につながる。本研究ではまた、ウイルスに汚染されにくい牡蠣を選別するための牡蠣体内の糖鎖構造に関する基礎的な情報を取得した。今後の研究によって、糖鎖構造にもとづく牡蠣の選別が可能となれば、感染性胃腸炎の流行時であっても安全な牡蠣が出荷できるようになる。この頑強な対策は、生牡蠣の安全性に対する消費者の不安を払拭し、過去の食中毒事例の影響を受け続けている養殖業の振興に貢献することが期待される。

論文審査の結果の要旨

ヒト腸管系ウイルスに感染した胃腸炎患者は、排泄物とともに膨大な数のウイルスを排出する。排出されたウイルスが下水道等を通して海域に流入した結果、二枚貝の体内に蓄積されることが、牡蠣のノロウイルス汚染の例で明らかになっている。本研究では、牡蠣以外の二枚貝や、ノロウイルス以外のヒト腸管系ウイルスについても、同様に胃腸炎患者を起源とする汚染経路が成立するか調べた。また、二枚貝のウイルス汚染に関する抜本的な対策として、ウイルスを蓄積しにくい二枚貝を選別して養殖するアイデアを実現するため、牡蠣のノロウイルス蓄積量と糖鎖構造の関係を明らかにすることにも挑戦した。本研究で得られた結果を以下にまとめる。

1. 下水処理水が放流される河口域に自生する牡蠣およびイソシジミを採取し、体内のノロウイルス量を測定した。どちらの二枚貝についても、体内のウイルス量には季節的な変動が見られ、また、周辺地域からの下水に含まれるノロウイルス量との有意な相関関係が認められた。一方、二枚貝のウイルス量と胃腸炎患者報告数には有意な相関がなく、医療機関からの報告では把握できない潜在的なノロウイルス感染者の存在が示唆された。

2. ノロウイルスに次いで患者報告数が多いロタウイルス（A群ロタウイルス）による牡蠣の汚染の実態を明らかにした。ロタウイルスには現在、2種類のワクチンが使用されているため、これらのワクチン株と区別して、ヒトに病気を引き起こす野生株のみを調査した。研究期間の2年間とも、冬季に野生株のウイルス量が増加する傾向が見られた。牡蠣と下水に含まれるウイルス量には有意な相関関係があり、感染者に由来する野生株のロタウイルスが養殖牡蠣に効率的に蓄積されていた。

3. 牡蠣をノロウイルス GI.7 株または GII.2 株で汚染した水槽で飼育し、ウイルス蓄積量が多い牡蠣および少ない牡蠣の体内に発現している糖鎖の種類と量をレクチンアレイ解析によって調べた。GI.7 株の蓄積量が多い牡蠣個体では、少ない個体に比べて4種類の糖鎖の発現量が有意に少なかった。一方、GII.2 株の蓄積量が多い個体では、9種類の糖鎖の発現量が有意に多く、ノロウイルスに汚染されにくい牡蠣を選別するための重要な情報が得られた。

以上のように、本論文は、ロタウイルスによる二枚貝の汚染も、地域での感染性胃腸炎の流行が関与しており、無症状者も含めて胃腸炎流行の把握や予防を確実に行うことが、二枚貝の安全性向上につながることを明らかにした。さらに、二枚貝の安全性を飛躍的に高める「ウイルスに汚染されにくい牡蠣」を選別するための牡蠣体内の糖鎖構造に関する基礎的な情報を提供している。よって、本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士学位論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

主論文

1. 伊藤絵里香, 木村香月, 西山正晃, 今田義光, 大村達夫, 渡部徹 (2018)
下水処理水放流先に自生する二枚貝のノロウイルス汚染
土木学会論文集 G (環境) 74(7): III_349-III_356
2. Erika Ito, Jian Pu, Takayuki Miura, Shinobu Kazama, Masateru Nishiyama, Hiroaki Ito, Yoshimitsu Konta, Gia Thanh Nguyen, Tatsuo Omura, Toru Watanabe (2019)
Weekly variation of Rotavirus A concentrations in sewage and oysters in Japan, 2014-2016
Pathogens 8: 89