

総説

3. ノロウイルスの分子疫学と進化

当 廣 謙太郎¹⁾, 牛 島 廣 治²⁾

1) Division of Viral Products, US Food and Drug Administration

2) 日本大学医学部病態病理学系微生物学分野

ロタウイルスワクチンが導入されて以降、ヒトノロウイルスは最も重要な急性胃腸炎起因ウイルスである。特に小児や高齢者では重症例が見られ、発展途上国では未だに小児下痢症による死亡の主要な原因となっている。遺伝子解析手法の発展によりヒトノロウイルスの疫学は大きく発展したが、未だに新たな遺伝子型が発見されるなど、その多様性の全容はまだ完全には把握されていない。ワクチンは未だ開発途上であるが、細胞培養法の開発が進展したことで、今後、ノロウイルス抗原多様性の研究が進むことが期待される。本稿では、ノロウイルスの疫学、分子疫学の概要とともに、ウイルスの進化と疫学パターンの関連に焦点を当ててこれまでの研究を紹介する。

1. ウイルス性胃腸炎研究の歴史的流れ

ヒトを含めた動物は、酸素呼吸をするとともに栄養物を体内に取り込む。その際、不利益になる物も同時に取り込むことがある。胃腸炎は化学物質のほか微生物の感染症によって生じることが多い。ヒトは火を使い、焼く、煮るなどして美味しく消化を良くするとともに、病原微生物を不活化して食してきた。病原体を不活化（加熱など）して持ち込まない、体の中で増やさない、持ちださないことが大切である。人口の増加、産業・文明の発展に伴い感染症は環境の中で増えてきた。コレラ、結核、ペスト、インフルエンザ、そして現在の新型コロナウイルス感染症である。1800年代には Pasteur の加熱による病原体の不活化、Koch による顕微鏡下でのコレラ菌などの発見があった。一方、細菌とは別に濾過性病原体（ウイルス）の存在が考えられた。1892年 Ivanovsky によりタバコモザイク病が証明された。ウイルス性胃腸炎については1906年（明治39年）坂本清の仮性コレラ¹⁾、1910年伊東祐彦の仮性小

児虎列刺（コレラ）²⁾、坂本陽・高津忠夫らの白色便下痢症（白痢）・冬季下痢症などが提唱された^{1,3)}。海外では1929年 Zahorsky が冬季嘔吐症と呼ばれる疾患を報告した⁴⁾。当時は病原体がウイルスではあるがはっきりしなかった。1931年 Ruska らにより電子顕微鏡が作製され、病原体を形態学的に証明することがなされた。また1949年 Enders らによってウイルスの培養法が確立された。培養法を用いての報告ではエンテロウイルスやアデノウイルスが見出されたが、その後のロタウイルス、ノロウイルスの発見からみると本命ではなかった。最初の下痢症ウイルスとして免疫電子顕微鏡法で見出されたのは1972年の Kapikian らによる下痢便からのノロウイルスである⁵⁾。当時は、その形態から SRSV (small round structured virus; 小型球形ウイルス)、あるいは発見された地域から Norwalk virus あるいは Norwalk-like virus と呼ばれていた。その後、ロタウイルス、アストロウイルス、サポウイルスが同じ手法で1970年代に発見された。ノロウイルスに限っても1970年代の免疫電子顕微鏡法⁵⁾、1980年代の酵素抗体法を用いた抗原検査⁶⁾、1990年代には RT-PCR による診断^{7,8)}、ウイルス様中空粒子 (virus-like particles: VLPs) の作製⁹⁾、2000年代はイムノクロマト法による診断^{10,11)}、Reverse Genetics System による人工ウイルス作製¹²⁾、2010-2020年代のヒトノロウイルスの細胞培養（B細胞、オルガノイド、唾液腺由来細胞）¹³⁻¹⁵⁾ などの歴史がある。これらの研究については日本の研究者も多大なる貢献をした^{16,17)}。

厚生労働省の資料で年次別の肺炎・気管支炎の死亡数(結

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微生物学分野

E-mail: ushijima-hiroshi@jcom.home.ne.jp (牛島)

kentaro.tohma@fda.hhs.gov (当廣)

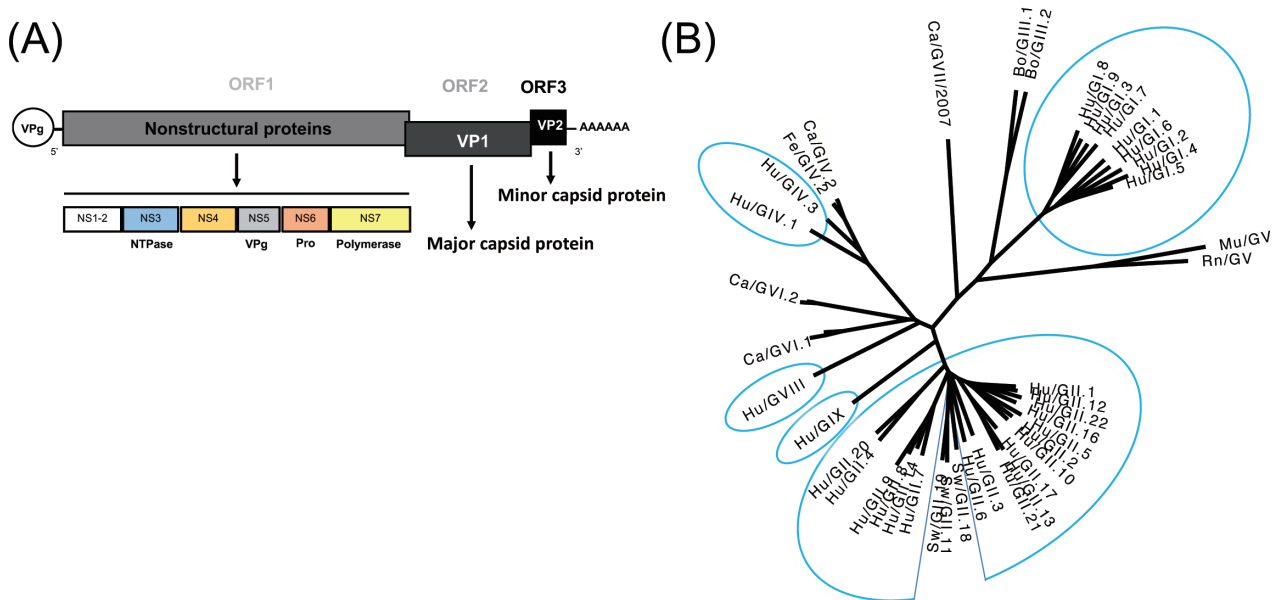


Figure 1 (A) ノロウイルスの遺伝子構造の模式図. (B) VP1 のアミノ酸配列を用いて作製したノロウイルスの進化系統樹. 青色で示されている遺伝子群および遺伝子型はヒトへの感染が報告されている.

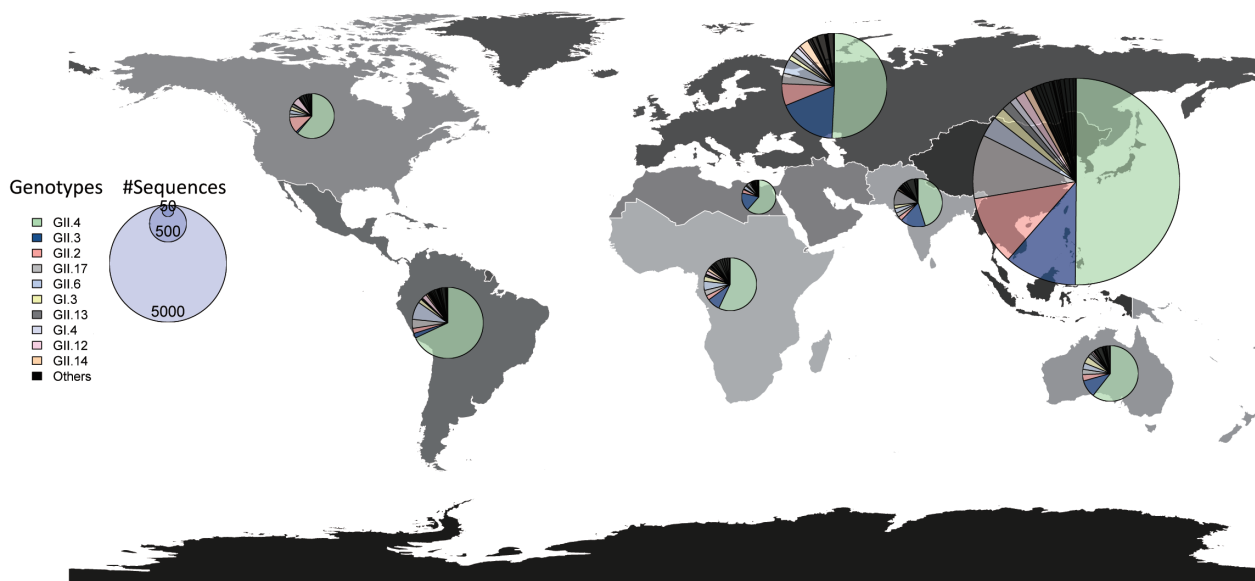
核を除いた 10 万人当たりの年間死亡数)と胃腸炎の死亡数, さらに病因別の順位の歴史的な変遷を見てみると, 1899 年 (明治 32 年) 206 (1 位) と 150 (4 位), 1920 年 (大正 9 年) 408 (1 位) と 254 (2 位), 1974 年 (昭和 22 年) 175 (2 位) と 137 (3 位), 1954 年 (昭和 29 年) 55 (5 位) と 39 (7 位), 2000 年 (平成 12 年) 68 (4 位) と例数不明 (10 位以下) であった¹⁸⁾. 明治時代, 呼吸器感染症に続いて胃腸炎での死亡が多かったが, 平成そして令和時代でははるかに少ない死亡者でランク 10 位にも当てはまらなくなった¹⁹⁾. この数字はロタウイルス等ほかの病原菌なども含んでいる. 一方で, 世界に目を向けると, 下痢症は依然として小児の主要な死亡原因であり, 障害調整生存年 (Disability Adjusted Life Years; DALY) 順位の第 3 位を占める²⁰⁾. WHO の 2017 年の報告では, 毎年, 17 億人の小児が下痢症を起こしている²¹⁾. 5 歳未満の小児では, 下痢症が呼吸器感染症に次いで死亡原因の第 2 位であるとともに, 栄養失調の原因の第 1 位であり, 毎年, 52 万 5,000 人の小児が下痢症で命を亡くしている²¹⁾. 下痢症死亡の多くは, 飲み水や上下水道の不衛生環境による. 抗生薬の使用により細菌性下痢症は減少したものの, ウイルス性下痢症は未だ多く報告されており, 途上国においては赤痢, コレラなどの細菌感染症もしくはウイルスとの混合感染がある. 予防としての衛生教育・衛生状況の改善が望まれる. 同時に診断法の普及が急務であり, 細菌感染症との区別としてロタウイルス, ノロウイルス, アデノウイルスのイムノクロマト法は有用である. ウイルス性下痢症の予防としてロタウイルスワクチン (主に Rotarix, RotaTeq) が導入

されたことで, 5 歳未満の小児の死亡は少なくなった²²⁾. ロタウイルスワクチンの導入後は, ノロウイルスが急性胃腸炎の主要な起因病原体となっており, 経済的損失も多大である²³⁻²⁵⁾. 臨床試験が進められているものの, ノロウイルスに対してはワクチンが開発途上にあり, さらなるノロウイルスのワクチン研究が期待されている²⁶⁻²⁸⁾.

2. ノロウイルスの分類

ノロウイルスは約 7.5kb の (+) 鎖一本鎖 RNA を持つノンエンベロープウイルスである. ウイルス遺伝子は 3 つの ORF (Open Reading Frame) からなり, ORF1 は非構造タンパク質 (Nonstructural proteins) NS1/2-NS7, ORF2 および ORF3 はそれぞれ構造タンパク質である Major capsid protein (VP1), Minor capsid protein (VP2) に翻訳される (Figure 1A). 2019 年に CDC を中心線とした Norovirus Classification Working Group が分類方法の更新を提案し, 2023 年現在, ノロウイルスは VP1 のアミノ酸配列の違いから 10 の遺伝子群に分類され, さらに遺伝子群は各遺伝子型へと分類される²⁹⁾ (Figure 1B). ヒトへの感染が報告されている遺伝子群は GI (遺伝子型: GL1-GL9), GII (GII.1-GII.10, GII.12-GII.17, GII.20-GII.27), GIV (GIV.1), GVIII (GVIII.1), GIX (GIX.1, 以前は GII.15 と分類) であるが, その中で GI および GII 遺伝子群, 特に GII.4 遺伝子型が最も多く検出される^{30,31)}. また, ノロウイルスは ORF1/2 の境界で頻繁に遺伝子組み換えが報告されており^{32,33)}, 現在では VP1 に加えて NS7 (RNA-dependent RNA polymerase; RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ) 領域の遺伝子配列によ

(A)



(B)

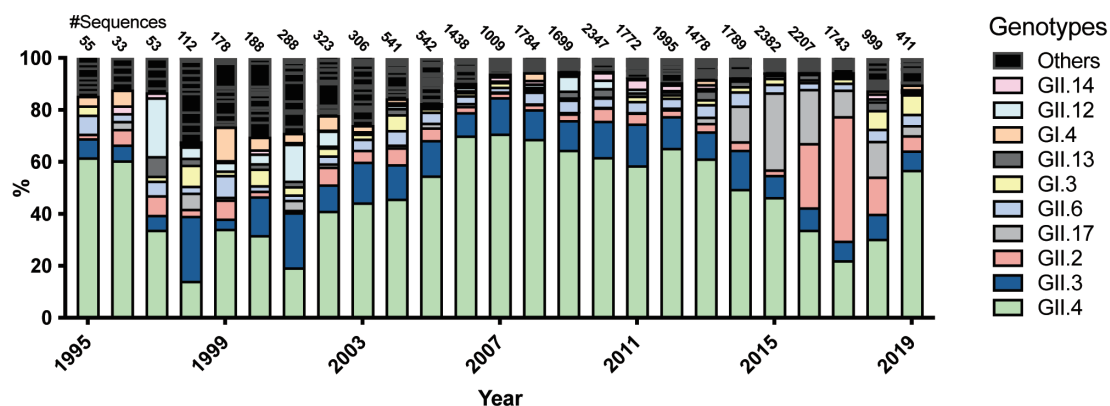


Figure 2 GenBank 上に登録されているヒトノロウイルス遺伝子型の (A) 地域別・(B) 年別分布. (図は Kendra et al.: Rev Med Virol 2022⁷⁸⁾ (CC BY-NC-ND 4.0 license) より抜粋, 凡例のフォーマットを一部変更して掲載)

る分類 (Dual typing) も推奨されている (例: VP1 領域の分類は GII.4, ポリメラーゼ領域の分類は GIIP.4 のように表記され, 二つの分類を合わせて GII.4[PI.4] と表記される)²⁹⁾. ヒトノロウイルスには一般的な細胞培養系が確立しておらず, それぞれの遺伝子群および遺伝子型の血清型分類は未だ行われていない. 古くは, 濾過したノロウイルス感染者の便検体を健常な “ボランティア” に接種し, 症状の有無や免疫持続期間を観察することで, 少なくとも GI と GII 遺伝子群の抗原性が異なることが分かっている³⁴⁾. 疫学データから, 遺伝子系統樹上で近縁の遺伝子型間で交差反応があるのではないかと示唆されているが³⁵⁾, 30 以上あるヒトノロウイルス各遺伝子型間の系統的な抗原性分類は未だなされていない.

ヒトノロウイルスのレセプターも未だ不明であるが, 細胞への結合因子として, 腸管上皮細胞上に発現する組織血液型抗原 (HBGA, Histo Blood Group Antigen) が明らかになっている³⁶⁾. HBGA はあくまで結合因子でありレセプターではないと考えられているが^{37,38)}, 結合因子として, HBGA はヒトへの感染に大きく影響している. ヒト各個人が有する HBGA タイプによって各遺伝子型に対する感染感受性が異なり^{39,40)}, ウイルスの HBGA タイプ別結合能あるいは宿主集団内の HBGA タイプ別分布がノロウイルスの疫学と遺伝子型分布に影響を与えているのかもしれない^{41,42)}. 2013-2015 年にアジア地域で見られた GII.17 の新しい変異型によるアウトブレイクにおいては, VP1 の抗原性変化⁴³⁾ の他, 幅広い HBGA タイプへの結

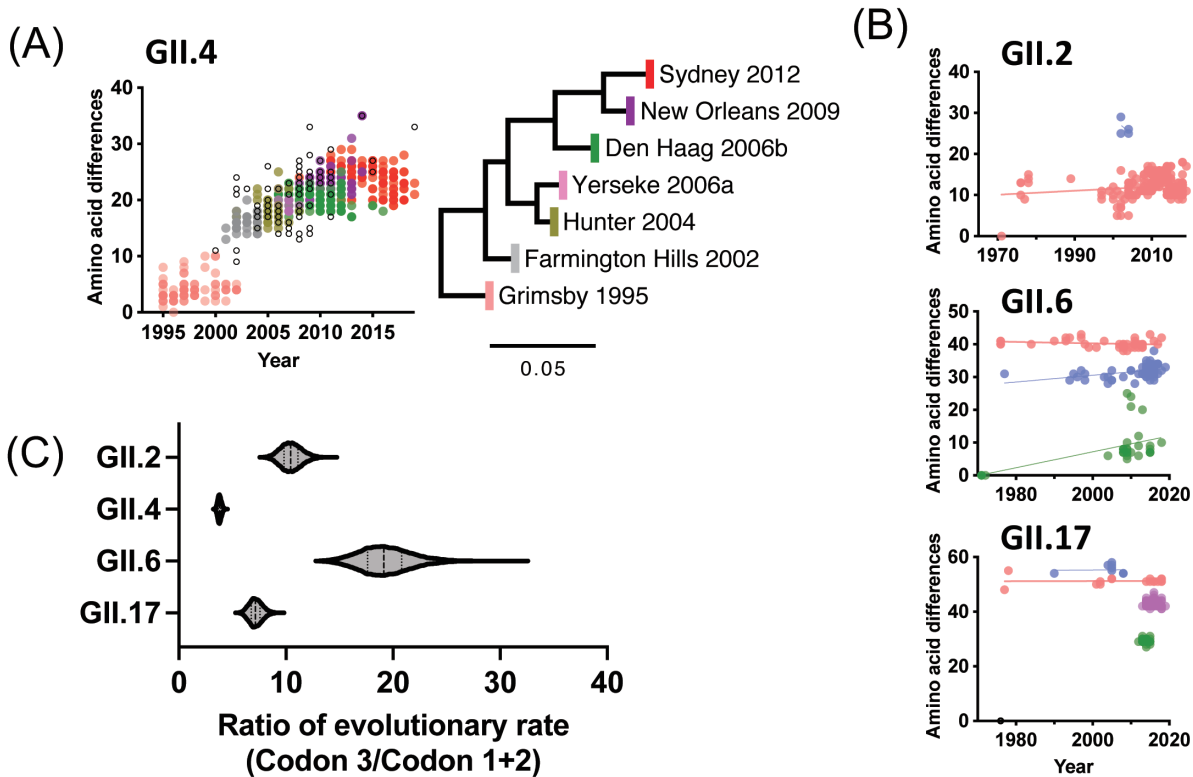


Figure 3 (A) 過去 20 年間の GII.4 の VP1 アミノ酸変異数 (左) と主要な GII.4 変異株の進化系統樹 (右). VP1 アミノ酸変異数は Hu/GII.4/Grimsby/1995/UK (accession number: AJ004864) を起点とした. (B) GII.4 以外の遺伝子型 (GII.2, GII.6, および GII.17) の VP1 アミノ酸変異数. 変異株は異なる色で示されている. アミノ酸変異数はそれぞれ、執筆時点で最も古い Hu/GII.2/HenrytonSP17/1971/US (MF405169), Hu/GII.6/HenrytonH1/1971/US (KY424345), Hu/GII.17/27-3-Tokyo/1976/Japan (AB684681) を起点とした. (C) GII.2, GII.6, GII.4 および GII.17 のコドン位置ごとの遺伝子進化速度比較. GII.4 と比べ、他の遺伝子型はコドン 3 番目の塩基で変異が多く見られ、アミノ酸変異が少ない. (パネル A は Tohma et al.: Cell Rep 2022⁵³) (CC BY-NC-ND 4.0 license) より抜粋. パネル B は Tohma et al.: PLoS Pathog 2021⁹⁷) (CC0 1.0) より抜粋・改変)

合能が感染率の増加に寄与したのではないかと推測されている^{44,45}。ある特定の地域にのみ多く検出されている遺伝子型も報告されており⁴⁶、それが単に報告数が少ない稀な遺伝子型だからなのか、感染率が低いからなのか、あるいは HBGA タイプ別分布の地域差からくる感受性の違いなのか、興味深いトピックである。また、ヒト抗血清がノロウイルス VLPs と HBGA の結合を阻害し⁴⁷、血清中抗体の HBGA : VLPs 結合阻害活性がノロウイルス感染後の症状の有無に相関していたことから⁴⁸、ウイルス培養が必要な中和試験の代替として HBGA 結合阻害試験が広く使われている。近年、腸生検によりヒトノロウイルスが感染者の腸上皮細胞 (特に腸管内分泌細胞; Enteroendocrine cells) で増殖していることが確認され^{49,50}、腸オルガノイド (エンテロイド) を用いたヒトノロウイルスの細胞培養法が確立された¹³。臨床検体を用いたウイルス中和試験が可能になったことで、今後、ノロウイルスの抗原解析が進むことが期待される^{51,52}。また、抗ノロウイルス抗体の HBGA : VLPs

結合阻害活性とエンテロイドを用いたウイルス中和活性が強く相関していることが確認され、中和試験の代替としての HBGA 阻害試験の重要性も再確認された⁵³。ノロウイルスワクチンの開発および評価を行うためにも、VLPs やオルガノイド等を用いた抗原性解析が進み、ヒトノロウイルスの抗原多様性や血清型分類が明らかになることを期待したい。

3. ノロウイルスの疫学

ノロウイルス感染は小児から高齢者まで、どの年齢でも生じうる。食物を介さないノロウイルス感染は、ノロウイルスに対して免疫を有しない 6 か月から 2, 3 歳の小児に多い。この年齢では散発的に発症することが多いが、家族内、保育園などの施設でのヒト-ヒトを介した集団感染も見られる。成人では子どもからの家族内感染が多いが、青年や子育て以後の年齢では、カキなど食物由来の感染が多く見られる⁵⁴。ヒトにおけるノロウイルス感染は、通常は下痢・嘔吐などの急性胃腸炎を引き起こすが、その多くは

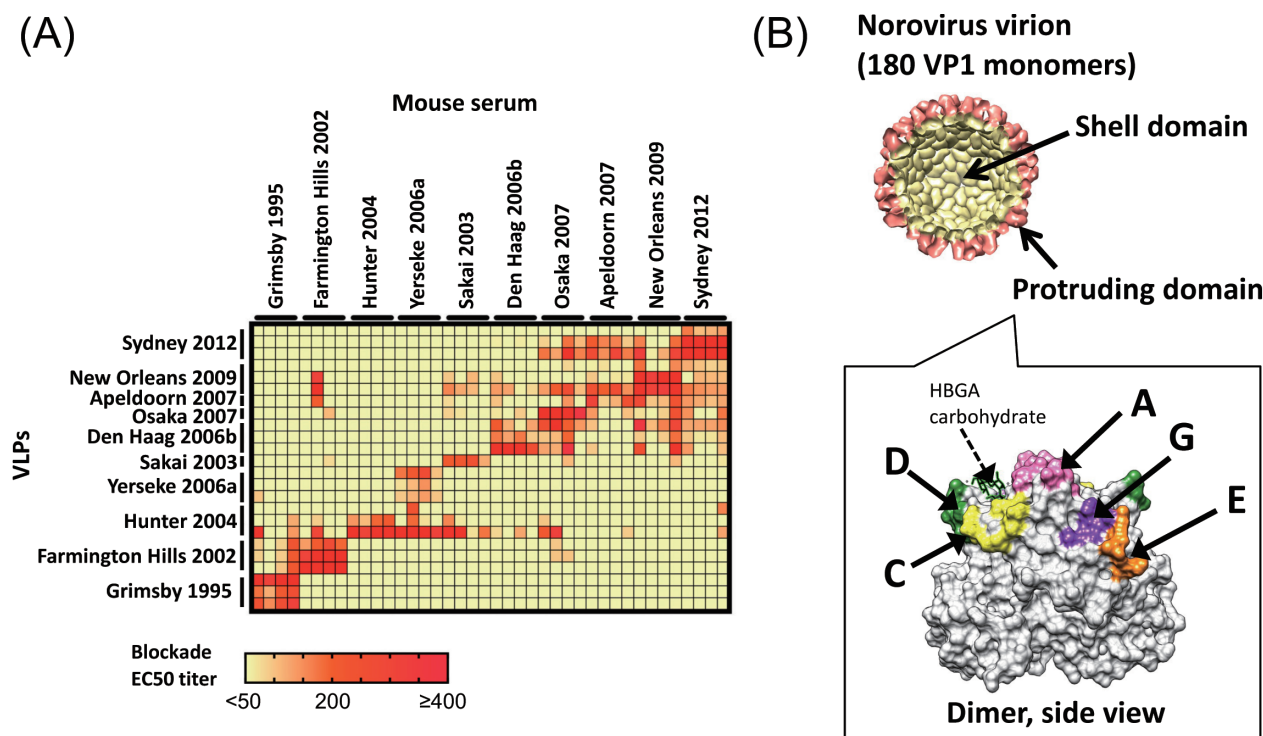


Figure 4 (A) 10 種類の GII.4 変異株 VLPs とマウス抗血清を用いた網羅的抗原性解析. ヒートマップは HBGA : VLPs 結合阻害活性 (Blockade EC₅₀ titer) を示す. (B) HBGA : VLPs 結合阻害およびウイルス中和に関与する GII.4 の抗原性決定部位 (PDB: 1IHM および 4OPS). (パネル A は Kendra et al.: PNAS 2021¹²⁵) (CC BY-NC-ND 4.0 license) より抜粋, フォーマットを一部変更して掲載)

数日で自然に回復する. 実際, 入院患者より外来患者におけるノロウイルス罹患率のほうが高い³⁰⁾. しかし, 小児あるいは高齢者では重症な場合が見られる^{25,55-57)}. 季節性について述べると, ノロウイルス感染症は“Winter Vomiting”と呼ばれるように冬季の下痢症である^{58,59)}. 日本における小児科定点の感染性胃腸炎サーベイランスによると, わが国では通常急に寒くなった時 (11 月~12 月) に乳幼児で全国ほぼ同じ時期に流行が起きる⁶⁰⁾. 幼稚園・保育園で流行し自宅に持ち帰ることも多い. 生ガキなど貝を中心とした食中毒は大人を中心に 1~3 月と遅れる^{16,17)}. COVID-19 によるパンデミックが発生した 2020 年は, 感染症の疾患によって程度の差があるものの, 季節性のある感染症については感染者数が少なくなった^{61,62)}. 2021 年, 東京で開催されたオリンピックの後から日本では行動制限が緩和され, ノロウイルスの患者数の増加が見られた^{63,64)}. 2022 年は以前の 2013 年—2019 年に近い流行パターンであるが, 季節が外れての増加もあった⁶⁰⁾. これはノロウイルスに対する免疫が低くなっていったために, より早く多くの小児に感染したことに寄るのかもしれない. 食物を介するノロウイルス感染では, 食品にウイルスが存在する場合と食材の処理時に感染者が食材を汚染させる場合がある⁶⁵⁾. 前者の場合は, 生ガキを中心に貝類, 汚染した飲料水, 汚

染した水で洗った野菜・果物などがある. 後者の場合は加工, 運搬, 配膳などの過程で生じる汚染が問題となる. 近年, 食材は冷凍あるいは乾燥保管ができるため, いつでもどこでもノロウイルスの感染が起こり得る^{66,67)}. また, ノロウイルスでは不顕性感染が多いため^{65,68)}, ヒトを介した食材汚染の対策は難しい. わが国では食物による感染の件数としてはアニサキス, カンピロバクター, ノロウイルスが主なものであるが, 感染者数としてはノロウイルスが多い^{69,70)}.

4. ノロウイルスの分子疫学

ノロウイルスのサーベイランス・疫学は遺伝子解析手法の発展とともに飛躍的に進展した⁷¹⁾. 前述したように, ヒトノロウイルスには一般によく用いられる細胞培養系がなく, 最初のノロウイルスの発見は電子顕微鏡でウイルス粒子を直接確認することにより成された. その後, 抗原検査や PCR 技術の発展とともに急性胃腸炎症例からのノロウイルスの検出が飛躍的に容易になり, 近年はイムノクロマトグラフィーを用いた迅速診断キットとともに, PCR および QPCR が検出手法のスタンダードとなっている. また, サンガー法による塩基配列解読技術が急速に発展して以降, ヒトノロウイルスの分類も大きく発展した. 当初

はポリメラーゼ領域やVP1領域を用いた遺伝子型分類が個別に提案されていたが^{33,72-74)}、NoroNetの研究グループにより分類方法が統一され⁷⁵⁾、ウェブベースのタイピングツール (Norovirus Typing Tool: <https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus/>) が構築されると⁷⁶⁾、急性胃腸炎サーベイランスにおける遺伝子型同定が非常に容易になった。現在は、NoroNetが運営する系統樹解析に基づくNorovirus Typing Toolと、CDCが開発したORF1・2領域末端の遺伝子間距離に基づくHuman Calicivirus Typing tool⁷⁷⁾が存在し、どちらも遺伝子配列をアップロードすることで瞬時に遺伝子型の同定が可能となっている。このような背景から、ヒトノロウイルスの遺伝子配列データは近年大きく増大し、2023年3月の時点で、GenBank上には50,000以上の配列データが確認出来る。この膨大なヒトノロウイルスの遺伝子配列データを用いて遺伝子型の国別・年別分布を見てみると、30以上あるヒトノロウイルス遺伝子型の中で、GII.4が50%以上を占めることが分かる⁷⁸⁾ (Figure 2)。しかし、多くの遺伝子配列データが日本や中国、アメリカなど少数の国に偏っており、ノロウイルスの疫学の全体像を把握するためには、途上国も含めた全地域でのデータバンク拡張が期待される。遺伝子解析の普及、タイピングシステムの確立、そして遺伝子配列データバンクの充実により、ノロウイルス流行の検出および起因する遺伝子型の同定が容易になった。このことが、近年見られたGII.17やGII.2によるアウトブレイクや、GII.4の新しい変異株 (Hong Kong 2019) の早期同定に繋がっている^{71,79-81)}。さらに、次世代シーケンサーの開発・応用によりノロウイルスの疫学はより一層の発展が期待される。例えば、ノロウイルスはエンベロープがなく長期間環境水のなかにウイルスゲノムが検出されることから、環境水 (下水) からノロウイルスゲノムを検出し、下水中に含まれるノロウイルスの遺伝子配列を次世代シーケンサーで網羅的に解析することが可能である^{82,83)}。地域で排出される下水をモニタリングすることで、その地域で排出されるノロウイルスをヒトでの流行前後まで広がって見出すことができる。そのため、臨床検体から検出されるノロウイルスの遺伝子型と合わせて、有症状・無症状含めたノロウイルス流行の全体像を捉えるとともに、ヒトでの流行が始まる前に、新型あるいは新変異株のノロウイルスを検出することも期待できる^{83,84)}。また、次世代シーケンサーにより遺伝子配列全長の解読が簡便になったことから、GenBank上でも全長の遺伝子配列が多く登録されてきている⁷⁸⁾。全長の遺伝子配列を解析することで、より詳細にウイルスの感染ルートをトラッキングできる⁸⁵⁾。また、遺伝子型特異的なプライマーを必要としない次世代シーケンサーにより、既存の遺伝子型とは系統的に異なる新しい遺伝子型の発見も相次いでいる⁸⁶⁻⁸⁸⁾。今後、ノロウイルスの疫学・サーベイランスにおいて次世代シーケンサーは

ますます重宝されるだろう。

5. ノロウイルスの遺伝子進化

ヒトノロウイルスの遺伝子データが多く蓄積されてきたことで、地域レベルではなく、より大きなスケールでのウイルス遺伝子進化解析が可能となった^{35,89-91)}。特筆すべきことは、過去40年間で、GII.4とそれ以外の遺伝子型とで進化パターンが大きく異なることである³⁵⁾ (Figure 3)。つまり、GII.4はVP1領域でのアミノ酸変異が一定の速度で観測されており、系統樹上で独立した変異株が確認できる (Figure 3A)。これらの変異株は、A型インフルエンザウイルスのように、アミノ酸変異の蓄積とともに定期的に出現し、数年間流行した後、新たな変異株に取って代わられている。一方、GII.4以外の遺伝子型では、遺伝子レベルでの変異はあるものの、多くが同義コドンでありアミノ酸変異を伴わない (Figure 3BおよびC)。このことは2016/2017年に見られたGII.2の流行でも観測されており、GII.2の抗原性が変わったために流行したという仮説は否定されている⁹²⁾。一方で非構造タンパク質にアミノ酸変異が認められており、流行の一旦となったのかもしれない^{92,94)}。2013/2014年に流行したGII.17の場合は、それ以前に検出されていたGII.17と比べてポリメラーゼ領域の分類が異なるほか⁸⁰⁾、VP1のアミノ酸変異およびIndelが見られている^{43,80,95,96)}。新たに出現したGII.17はVP1の系統樹で二つのクラスターに分かれ、2013/14年株 (Kawasaki323) から2014/2015年株 (Kawasaki308) へと変遷した後は、現在に至るまでアミノ酸変異はほとんど見られていない⁹⁷⁾。興味深いのは、GII.17の他、GII.6やGI.3などの遺伝子型でも系統樹上でクラスター (変異株) が見られる遺伝子型がいくつか存在するが、GII.4で見られる変異株と異なり、時間的順列が存在しない^{35,97)}。つまり、別のクラスターに位置する同じ遺伝子型のウイルスが同時期に長期にわたって検出されており、お互いが取って代わるというGII.4で見られる流行パターンが見られない。GII.6では3つのクラスターが存在するが、それぞれのクラスター内では、過去40年間ほとんどアミノ酸変異が見られていない³⁵⁾。GII.17においても、2013以降、新たな変異株 (Kawasaki323) が出現してからも、2000年以前から存在していた別のクラスターのウイルスがやはり検出されている⁹⁸⁾ (Figure 3B)。GII.4とそれ以外の遺伝子型で進化パターンと流行パターンが大きく異なるという点は、ウイルス学的にも分子疫学的にも興味深い。

遺伝子配列データの充実が見られる一方、依然として年、地域、解読されている遺伝子領域についてデータバイアスが存在する。ノロウイルス分子疫学の全体像や遺伝子進化を明らかにする上で、これらデータの穴をいかに埋めるかが重要である⁹¹⁾。筆者らはこれらのギャップを埋めるべく、時代を遡って昔の検体の再解析を行った⁹⁷⁾。米国内

立衛生研究所 (NIH, National Institute of Health) で保管されていた、電子顕微鏡でノロウイルスの存在が確認された時代の検体、WHO が 1970 年代に行った急性胃腸炎サーベイランスの検体、各地域で 1990-2000 年代に検出された検体、データが不足している南米やアフリカ地域の検体や極めて稀な遺伝子型が検出された検体から、次世代シーケンサーでノロウイルス全ゲノム解析 (5/3 末端を除く) を行った。時空間的なギャップを減らし、より多くの遺伝子型の全ゲノムを解析することで、遺伝子進化速度や選択圧がより正確に推定できるようになり、かつ各遺伝子型・遺伝子領域の比較を行うことができる。全体の傾向としては NS1/2, NS4, VP1, VP2 領域に多くのアミノ酸変異が認められたが、一方で、遺伝子型や遺伝子領域間で遺伝子進化速度に大きな差は見られなかった。GII.4 とそれ以外の遺伝子型の進化パターンの違いは VP1 領域のみで観察され、GII.4 の VP1 領域のみ、頻繁にアミノ酸変異が生じていることが再確認できた。このほか、過去を遡ることで、12 の遺伝子型について最も古いウイルスの遺伝子配列を解読することができた。ノロウイルスの遺伝子組み換えがいつ起きたのかという問いは非常に興味深い。例えば、最も古い 1970 年代の GII.5 のポリメラーゼ領域は GII.22 であり、同じく 1970 年代の GII.3 は既知のポリメラーゼとは異なる配列を有していた。ノロウイルスのタイピングは発見した順に番号が付与されるため、従来のタイピング番号 (VP1 およびポリメラーゼの遺伝子型番号) にウイルス学的な意味はないが、どのウイルスが遺伝子組み換えなのかという問いが非常に難しいことがわかる。全ゲノム解析の結果、組換えが確認された遺伝子型間のペアは、ORF1 領域の 3 末端の配列が類似していることが明らかになったが、さらに過去の検体を遡ることで、遺伝子組換えも含めたウイルス進化の全容が明らかになるかもしれない。実際、1970-90 年代の検体を再解析することで、歴史上消えてしまった (かもしれない) 遺伝子型が発見されており⁸⁸⁾、遺伝子多様性・進化を理解する上でこのような取り組みは大いに歓迎すべきではないかと考えている。

“新しいウイルス” (あるいは“新しい変異を伴ったウイルス”) は、どこから生じるのだろうか。本来ノロウイルスは宿主特異的であるが、稀にヒトノロウイルスがペットや家畜などから検出されることがある⁹⁹⁾。そのため、動物由来のノロウイルスによる異種間伝播が新たな変異の起源ではないかという考えもあるが、系統樹上で動物→ヒト感染は否定されている^{100,101)}。一方、次世代シーケンサーの発展に伴って、感染したヒト体内におけるウイルス多様性や遺伝子進化の解析が進んでいる。特に、数ヶ月あるいは数年に亘る慢性的なノロウイルス感染が起こる免疫不全患者においては、急性胃腸炎患者における宿主内ウイルス多様性と比べてより多くの遺伝子変異が観測されており¹⁰²⁻¹⁰⁵⁾、“新しいウイルス”は、免疫不全患者における慢性

的な感染から生じるのではないかと考えられてきた¹⁰⁶⁾。実際に、慢性的なノロウイルス感染患者から検出されたウイルスの *in vitro* での増殖 (HEK293T 細胞およびエンテロイド) が確認されている¹⁰⁷⁾。ただ、免疫不全患者から検出されるノロウイルスが、急性胃腸炎患者から検出されるウイルス群と系統樹上で大きく離れていること^{102,108)}、そのようなウイルスが地域レベルで大きな流行を起こしたという報告がないこと、あるいは数理モデル上では免疫不全患者から検出されるノロウイルスが新しい変異株あるいは遺伝子型として一般に広がっていったとは考えられにくいこと¹⁰⁹⁾ から、新しいノロウイルスの起源としての免疫不全患者の役割は大きくないのかもしれない。ノロウイルスは、免疫不全でなくても数週間あるいは数ヶ月、ウイルスを排出することが知られている¹¹⁰⁻¹¹²⁾。実際、免疫不全ではない小児のノロウイルス宿主内多様性を数週間追跡すると、免疫不全患者ほどではないがウイルスの遺伝子変異が観測される¹⁰⁸⁾。興味深いことに、GII.4 とそれ以外の遺伝子型 (GII.6 など) で、宿主内での遺伝子変異のパターンが異なっており、GII.4 に感染した小児では、遺伝子変異を伴ったウイルスが時間を追って感染初期のウイルスに置き換わっていくのに対し、それ以外の遺伝子型では宿主内で遺伝子変異が生じて、その変異が既存の遺伝子配列に置き換わることが少ない¹⁰⁸⁾。また、小児で観察された GII.4 の宿主内遺伝子変異の多くが、GenBank 上のウイルス配列データで確認できた一方で、それ以外の遺伝子型の宿主内遺伝子変異は GenBank 上ではほとんど認められなかった。サンプルサイズが小さいため解釈には注意が必要であるが、このような小児の急性 (中長期にわたる) 感染で生じた宿主内遺伝子変異のパターンは、前述したグローバルレベルでのノロウイルスの進化パターンと合致している。そのため、健康な小児における数週間に亘るウイルス感染も、新しいノロウイルス遺伝子変異の起源として役割を担っているのかもしれない。実際に、昔の検体を遡って再解析した研究において、既存の遺伝子型に分類されないウイルス、あるいは系統樹上で、既存の遺伝子型の間に位置する“中間体”のようなウイルスが健康者の検体から報告されている⁹⁷⁾。

6. ノロウイルス GII.4 の進化と疫学

最後に、疫学的に最も重要なノロウイルス GII.4 に注目して話をまとめたい。前述したようにノロウイルス GII.4 は VP1 領域で進化し続け、数年毎に新たな変異株が生じる。ノロウイルス GII.4 が発見された 1990 年代当初は、遺伝子配列による系統的な分類方法が確立していなかったため、検出された地域からウイルス名が付けられていた。Bristol virus¹¹³⁾、Lordsdale virus¹¹⁴⁾、Camberwell virus¹¹⁵⁾ などが、今の GII.4 と同じ遺伝子型に属する。検出技術の向上により GII.4 による急性胃腸炎の記録はさらに遡り、1987/

88年の米国メリーランド州の養護施設における施設内感染¹¹⁶⁾、1970-80年代に東京で報告された急性胃腸炎例¹¹⁷⁾、1970年代に米国ワシントンDCのChildren's Hospital National Medical Centerにて報告された重症胃腸炎例⁹¹⁾で、GII.4が検出されている。しかし、当時のノロウイルス遺伝子型分布を見ると、1990年代以前は現在のようにGII.4が最も重要な急性胃腸炎起因ウイルスというわけではなかったと考えられている^{91,118)}。ノロウイルスGII.4が公衆衛生上大きな役割を担うようになったのは、1990年代中期以降、US95-96（あるいはGrimsby 1995）変異株やFarmington Hills 2002変異株が出現してからである¹¹⁹⁻¹²²⁾。進化パターンあるいは抗原性にどのような影響を与えたのかは明らかでないが、Farmington Hills 2002以降の変異株にはVP1表面の抗原部位に1アミノ酸の挿入が認められており¹²³⁾、Hunter 2004, Den Haag 2006b, New Orleans 2009、と数年毎に新たな変異株が出現、現在は2012年頃に出現したSydney 2012変異株が流行している¹²⁴⁾（Figure 3A）。このほかにも、大きな流行を起こさなかったマイナーな変異株としてAsia 2003（Sakai 2003）、Yerseke 2006a、Osaka 2007、Apeldoorn 2007などが挙げられる。2023年現在、最も新しい変異株はHong Kong 2019であるが、この株はいくつかの国で検出されているものの、未だ大きな流行を起こすには至っていない⁸¹⁾。

これらの変異株はVP1領域のアミノ酸配列で約5%以上の変異が認められており系統樹上でもそれぞれ独立しているが³⁵⁾、抗原性の違いはどれほどあるのだろうか。筆者らは、過去に出現したGII.4の10種類の変異株についてそれぞれ1-3検体ずつ選び、計24個のVLPsを作成した。それらのVLPsをマウス（n = 4/変異株）に接種して抗血清を取得し、10変異株分の抗血清と24のVLPsを用いて大規模なHBGA結合阻害試験を行った¹²⁵⁾。その結果、i) 同じ変異株内のアミノ酸変異では抗原性があまり変わらないこと、ii) 基本的には変異株特異的な抗原性が見られたが、iii) いくつかの変異株同士では交差性があることが分かった（Figure 4A）。特に近年出現した変異株（Den Haag 2006b以降）間で交差反応が認められた。興味深いのは、その交差性が一方向であり、例えばDen Haag 2006b VLPsを免疫したマウス血清では強いDen Haag 2006b特異的な反応が見られたが、Sydney 2012 VLPsを免疫したマウス血清はDen Haag 2006bも含めた過去の変異株に対して広く交差反応を示していた。変異株間の抗原性の違いはヒト血清でも報告されており^{41,126,127)}、変異株による抗原性の違いおよび交差性の違いがGII.4の流行パターンおよび変異株の出現を決める一つの大きな要因であると考えられる。

現在知られているHBGA結合阻害あるいはウイルス中和と活性に関与する抗原性部位は、A、C、D、E、Gの5つであり、どれもVP1の上部（Protruding domain; Pドメ

イン）表面に位置している^{53,128-133)}（Figure 4B）。これらの抗原性部位では、変異株の出現とともにアミノ酸変異が見られており¹²⁹⁾、実際、前述したマウス血清を用いた変異株間の抗原性の違いに、これら抗原性部位の変異が大きく寄与していることが分かっている¹²⁵⁾。これらの抗原性部位の中で、抗原性部位Aが最も免疫優性度が高い（Immunodominant、抗体が作られやすい部位）とされてきたが¹²⁶⁾、最新の研究ではその免疫優性度が変異株の進化とともに変わってきたことが分かっている⁵³⁾。ヒトにおいても、年齢層による（つまり、年代毎のGII.4変異株の感染歴による）抗GII.4抗体パターンの違いが観察されている¹³⁴⁾。ウイルス株によって免疫優性度が異なることは、インフルエンザウイルスやHCV、HIVでも示唆されているが¹³⁵⁻¹³⁷⁾、GII.4ノロウイルスの場合、2006年以降に抗原性部位Gの優性度が高くなっており、Sydney 2012変異株においては抗原性部位AとGの2つの部位が抗原性に重要な役割を果たしている⁵³⁾。インフルエンザウイルスの例では、このような免疫優性度の変化がワクチン効果に影響を与えているのではないかと示唆されており¹³⁸⁾、麻疹ウイルスでは複数の免疫優性エピトープを持つことがウイルスの抗原安定性に寄与しているのではないかと考えられている¹³⁹⁾。Sydney 2012変異株は、2012年に出現して以降10年以上流行を続けており、3-5年毎に入れ替わっていたこれまでの変異株と比べても抗原的に安定しているのかもしれない¹⁴⁰⁾。

7. おわりに

ロタワクチンが導入されて以降、ヒトノロウイルスは最も重要な急性胃腸炎起因ウイルスである。未だにワクチンは存在せず、新たな遺伝子型も発見されるなど、その多様性の全容はまだ完全には把握されていない。細胞培養法の開発が進化したことで、今後、感染性や中和試験による抗原性解析の研究が進むことが期待される。VLPsやRNAワクチン開発も進んでおり、遺伝子型間の交差性解析や免疫持続期間の解析、成人と小児における感染後の免疫パターンの違いなどが明らかになることで、ノロウイルスの遺伝子進化、抗原進化、疫学パターンとの関連も含めたノロウイルス感染症の制圧に向けた研究が進展することが期待される。

利益相反に関する開示

本稿に関連し、開示すべき利益相反状態にある企業等はありません。また、本稿に記した内容は個人の見解に基づくものであり、著者が所属する米国政府、米国保健福祉省（Department of Health and Human Services）および米国食品医薬品局（US Food and Drug Administration）の公式発表・見解を表すものではありません。

参考文献

- 1) 坂本清. 小児虎列刺? について. *児科雑誌* **73**, 452-459 (1906).
- 2) 伊東祐彦. 仮性小児虎列刺について. *児科雑誌* **125**, 751-759 (1910).
- 3) 高津忠夫. 乳児白色便性下痢症. *最新医学* **16**, 2866-2874 (1961).
- 4) Zahorsky, J. Hyperemesis hiemis or the winter vomiting disease. *Arch Pediat* **46**, 391-395 (1929).
- 5) Kapikian, A. Z., Wyatt, R. G., Dolin, R., Thornhill, T. S., Kalica, A. R. & Chanock, R. M. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol* **10**, 1075-1081 (1972). <https://doi.org/10.1128/JVI.10.5.1075-1081.1972>
- 6) Herrmann, J. E., Nowak, N. A. & Blacklow, N. R. Detection of Norwalk virus in stools by enzyme immunoassay. *J Med Virol* **17**, 127-133 (1985). <https://doi.org/10.1002/jmv.1890170205>
- 7) De Leon, R., Matsui, S. M., Baric, R. S., Herrmann, J. E., Blacklow, N. R., Greenberg, H. B. & Sobsey, M. D. Detection of Norwalk virus in stool specimens by reverse transcriptase-polymerase chain reaction and nonradioactive oligoprobes. *J Clin Microbiol* **30**, 3151-3157 (1992). <https://doi.org/10.1128/jcm.30.12.3151-3157.1992>
- 8) Jiang, X., Wang, J., Graham, D. Y. & Estes, M. K. Detection of Norwalk virus in stool by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* **30**, 2529-2534 (1992). <https://doi.org/10.1128/jcm.30.10.2529-2534.1992>
- 9) Jiang, X., Wang, M., Graham, D. Y. & Estes, M. K. Expression, self-assembly, and antigenicity of the Norwalk virus capsid protein. *J Virol* **66**, 6527-6532 (1992). <https://doi.org/10.1128/JVI.66.11.6527-6532.1992>
- 10) Burton-MacLeod, J. A., Kane, E. M., Beard, R. S., Hadley, L. A., Glass, R. I. & Ando, T. Evaluation and comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for detection of antigenically diverse human noroviruses in stool samples. *J Clin Microbiol* **42**, 2587-2595 (2004). <https://doi.org/10.1128/JCM.42.6.2587-2595.2004>
- 11) Richards, A. F., Lopman, B., Gunn, A., Curry, A., Ellis, D., Cotterill, H., Ratcliffe, S., Jenkins, M., Appleton, H., Gallimore, C. I., Gray, J. J. & Brown, D. W. Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. *J Clin Virol* **26**, 109-115 (2003). [https://doi.org/10.1016/s1386-6532\(02\)00267-6](https://doi.org/10.1016/s1386-6532(02)00267-6)
- 12) Katayama, K., Murakami, K., Sharp, T. M., Guix, S., Oka, T., Takai-Todaka, R., Nakanishi, A., Crawford, S. E., Atmar, R. L. & Estes, M. K. Plasmid-based human norovirus reverse genetics system produces reporter-tagged progeny virus containing infectious genomic RNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**, E4043-4052 (2014). <https://doi.org/10.1073/pnas.1415096111>
- 13) Ettayebi, K., Crawford, S. E., Murakami, K., Broughman, J. R., Karandikar, U., Tenge, V. R., Neill, F. H., Blutt, S. E., Zeng, X. L., Qu, L., Kou, B., Opekun, A. R., Burrin, D., Graham, D. Y., Ramani, S., Atmar, R. L. & Estes, M. K. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. *Science* **353**, 1387-1393 (2016). <https://doi.org/10.1126/science.aaf5211>
- 14) Ghosh, S., Kumar, M., Santiana, M., Mishra, A., Zhang, M., Labayo, H., Chibly, A. M., Nakamura, H., Tanaka, T., Henderson, W., Lewis, E., Voss, O., Su, Y., Belkaid, Y., Chiorini, J. A., Hoffman, M. P. & Altan-Bonnet, N. Enteric viruses replicate in salivary glands and infect through saliva. *Nature* **607**, 345-350 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04895-8>
- 15) Jones, M. K., Watanabe, M., Zhu, S., Graves, C. L., Keyes, L. R., Grau, K. R., Gonzalez-Hernandez, M. B., Iovine, N. M., Wobus, C. E., Vinje, J., Tibbetts, S. A., Wallet, S. M. & Karst, S. M. Enteric bacteria promote human and mouse norovirus infection of B cells. *Science* **346**, 755-759 (2014). <https://doi.org/10.1126/science.1257147>
- 16) 牛島廣治. ウイルス性胃腸炎の診断法と疫学の過去, 現在と今後の展望. *ウイルス* **59**, 75-90 (2009). <https://doi.org/10.2222/jsv.59.75>
- 17) 牛島廣治. ウイルス性胃腸炎(研究)の過去, 現在と今後の展望. *日本臨床腸内微生物学会誌* **24**, 22-31 (2022).
- 18) 厚生労働省. 年次別にみた死因順位. (2006). <<https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/tokusyuu/sinno05/13-2-1.html>>.
- 19) 厚生労働省. 人口動態統計月報年計(概数)の概説. (2021). <<https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/geppo/nengai21/dl/gaikyouR3.pdf>>.
- 20) GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet* **396**, 1204-1222 (2020). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30925-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30925-9)
- 21) World Health Organization. Diarrhoeal disease. *Fact sheets* (2017). <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>>.
- 22) Burnett, E., Parashar, U. D. & Tate, J. E. Global Impact of Rotavirus Vaccination on Diarrhea Hospitalizations and Deaths Among Children <5 Years Old: 2006-2019. *J Infect Dis* **222**, 1731-1739 (2020). <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa081>
- 23) Payne, D. C., Vinje, J., Szilagyi, P. G., Edwards, K. M., Staat, M. A., Weinberg, G. A., Hall, C. B., Chappell, J., Bernstein, D. I., Curns, A. T., Wikswo, M., Shirley, S. H., Hall, A. J., Lopman, B. & Parashar, U. D. Norovirus and medically attended gastroenteritis in U.S. children. *N Engl J Med* **368**, 1121-1130 (2013). <https://doi.org/10.1056/NEJMsa1206589>
- 24) Bartsch, S. M., Lopman, B. A., Ozawa, S., Hall, A. J. & Lee, B. Y. Global Economic Burden of Norovirus Gastroenteritis. *PLoS One* **11**, e0151219 (2016). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151219>
- 25) Cardemil, C. V., Parashar, U. D. & Hall, A. J. Norovirus Infection in Older Adults: Epidemiology, Risk Factors, and Opportunities for Prevention and Control. *Infect Dis Clin North Am* **31**, 839-870 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.idc.2017.07.012>

- 26) Lopman, B. A., Steele, D., Kirkwood, C. D. & Parashar, U. D. The Vast and Varied Global Burden of Norovirus: Prospects for Prevention and Control. *PLoS Med* **13**, e1001999 (2016). <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001999>
- 27) Tan, M. Norovirus Vaccines: Current Clinical Development and Challenges. *Pathogens* **10** (2021). <https://doi.org/10.3390/pathogens10121641>
- 28) Ford-Siltz, L. A., Tohma, K. & Parra, G. I. Understanding the relationship between norovirus diversity and immunity. *Gut Microbes* **13** (2021). <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1900994>
- 29) Chhabra, P., de Graaf, M., Parra, G. I., Chan, M. C., Green, K., Martella, V., Wang, Q., White, P. A., Katayama, K., Vennema, H., Koopmans, M. P. G. & Vinje, J. Updated classification of norovirus genogroups and genotypes. *J Gen Virol* **100**, 1393-1406 (2019). <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001318>
- 30) Ahmed, S. M., Hall, A. J., Robinson, A. E., Verhoef, L., Premkumar, P., Parashar, U. D., Koopmans, M. & Lopman, B. A. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* **14**, 725-730 (2014). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70767-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70767-4)
- 31) Hoa Tran, T. N., Trainor, E., Nakagomi, T., Cunliffe, N. A. & Nakagomi, O. Molecular epidemiology of noroviruses associated with acute sporadic gastroenteritis in children: global distribution of genogroups, genotypes and GII.4 variants. *J Clin Virol* **56**, 185-193 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2012.11.011>
- 32) Bull, R. A., Hansman, G. S., Clancy, L. E., Tanaka, M. M., Rawlinson, W. D. & White, P. A. Norovirus recombination in ORF1/ORF2 overlap. *Emerg Infect Dis* **11**, 1079-1085 (2005). <https://doi.org/10.3201/eid1107041273>
- 33) Bull, R. A., Tanaka, M. M. & White, P. A. Norovirus recombination. *J Gen Virol* **88**, 3347-3359 (2007). <https://doi.org/10.1099/vir.0.83321-0>
- 34) Wyatt, R. G., Dolin, R., Blacklow, N. R., DuPont, H. L., Buscho, R. F., Thornhill, T. S., Kapikian, A. Z. & Chanock, R. M. Comparison of three agents of acute infectious nonbacterial gastroenteritis by cross-challenge in volunteers. *J Infect Dis* **129**, 709-714 (1974). <https://doi.org/10.1093/infdis/129.6.709>
- 35) Parra, G. I., Squires, R. B., Karangwa, C. K., Johnson, J. A., Lepore, C. J., Sosnovtsev, S. V. & Green, K. Y. Static and Evolving Norovirus Genotypes: Implications for Epidemiology and Immunity. *PLoS Pathog* **13**, e1006136 (2017). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006136>
- 36) Marionneau, S., Ruvoen, N., Le Moullac-Vaidye, B., Clement, M., Cailleau-Thomas, A., Ruiz-Palacois, G., Huang, P., Jiang, X. & Le Pendu, J. Norwalk virus binds to histo-blood group antigens present on gastroduodenal epithelial cells of secretor individuals. *Gastroenterology* **122**, 1967-1977 (2002). <https://doi.org/10.1053/gast.2002.33661>
- 37) Haga, K., Ettayebi, K., Tenge, V. R., Karandikar, U. C., Lewis, M. A., Lin, S. C., Neill, F. H., Ayyar, B. V., Zeng, X. L., Larson, G., Ramani, S., Atmar, R. L. & Estes, M. K. Genetic Manipulation of Human Intestinal Enteroids Demonstrates the Necessity of a Functional Fucosyltransferase 2 Gene for Secretor-Dependent Human Norovirus Infection. *mBio* **11** (2020). <https://doi.org/10.1128/mBio.00251-20>
- 38) Murakami, K., Kurihara, C., Oka, T., Shimoike, T., Fujii, Y., Takai-Todaka, R., Park, Y., Wakita, T., Matsuda, T., Hokari, R., Miura, S. & Katayama, K. Norovirus binding to intestinal epithelial cells is independent of histo-blood group antigens. *PLoS One* **8**, e66534 (2013). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066534>
- 39) Hutson, A. M., Atmar, R. L., Graham, D. Y. & Estes, M. K. Norwalk virus infection and disease is associated with ABO histo-blood group type. *J Infect Dis* **185**, 1335-1337 (2002). <https://doi.org/10.1086/339883>
- 40) Lindesmith, L., Moe, C., Marionneau, S., Ruvoen, N., Jiang, X., Lindblad, L., Stewart, P., LePend, J. & Baric, R. Human susceptibility and resistance to Norwalk virus infection. *Nat Med* **9**, 548-553 (2003). <https://doi.org/10.1038/nm860>
- 41) 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**, e31 (2008). <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050031>
- 42) Shanker, S., Choi, J. M., Sankaran, B., Atmar, R. L., Estes, M. K. & Prasad, B. V. Structural analysis of histo-blood group antigen binding specificity in a norovirus GII.4 epidemic variant: implications for epochal evolution. *J Virol* **85**, 8635-8645 (2011). <https://doi.org/10.1128/JVI.00848-11>
- 43) Lindesmith, L. C., Kocher, J. F., Donaldson, E. F., Debink, K., Mallory, M. L., Swann, E. W., Brewer-Jensen, P. D. & Baric, R. S. Emergence of Novel Human Norovirus GII.17 Strains Correlates With Changes in Blockade Antibody Epitopes. *J Infect Dis* **216**, 1227-1234 (2017). <https://doi.org/10.1093/infdis/jix385>
- 44) Zhang, X. F., Huang, Q., Long, Y., Jiang, X., Zhang, T., Tan, M., Zhang, Q. L., Huang, Z. Y., Li, Y. H., Ding, Y. Q., Hu, G. F., Tang, S. & Dai, Y. C. An outbreak caused by GII.17 norovirus with a wide spectrum of HBGA-associated susceptibility. *Sci Rep* **5**, 17687 (2015). <https://doi.org/10.1038/srep17687>
- 45) Malm, M., Tamminen, K., Vesikari, T. & Blazevec, V. Norovirus GII.17 Virus-Like Particles Bind to Different Histo-Blood Group Antigens and Cross-React with Genogroup II-Specific Mouse Sera. *Viral Immunol* **31**, 649-657 (2018). <https://doi.org/10.1089/vim.2018.0115>
- 46) Tohma, K., Lepore, C. J., Degiuseppe, J. I., Stupka, J. A., Saito, M., Mayta, H., Zimic, M., Ford-Siltz, L. A., Gilman, R. H. & Parra, G. I. Recombinant Nontypeable Genotype II Human Noroviruses in the Americas. *Emerg Infect Dis* **26**, 157-159 (2020). <https://doi.org/10.3201/eid2601.190626>
- 47) Harrington, P. R., Lindesmith, L., Yount, B., Moe, C. L. & Baric, R. S. Binding of Norwalk virus-like particles

- to ABH histo-blood group antigens is blocked by antisera from infected human volunteers or experimentally vaccinated mice. *J Virol* **76**, 12335-12343 (2002). <https://doi.org/10.1128/jvi.76.23.12335-12343.2002>
- 48) Reeck, A., Kavanagh, O., Estes, M. K., Opekun, A. R., Gilger, M. A., Graham, D. Y. & Atmar, R. L. Serological correlate of protection against norovirus-induced gastroenteritis. *J Infect Dis* **202**, 1212-1218 (2010). <https://doi.org/10.1086/656364>
 - 49) Green, K. Y., Kaufman, S. S., Nagata, B. M., Chaimongkol, N., Kim, D. Y., Levenson, E. A., Tin, C. M., Yardley, A. B., Johnson, J. A., Barletta, A. B. F., Khan, K. M., Yazigi, N. A., Subramanian, S., Moturi, S. R., Fishbein, T. M., Moore, I. N. & Sosnovtsev, S. V. Human norovirus targets enteroendocrine epithelial cells in the small intestine. *Nat Commun* **11**, 2759 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16491-3>
 - 50) Karandikar, U. C., Crawford, S. E., Ajami, N. J., Murakami, K., Kou, B., Ettayebi, K., Papanicolaou, G. A., Jongwutiwes, U., Perales, M. A., Shia, J., Mercer, D., Finegold, M. J., Vinje, J., Atmar, R. L. & Estes, M. K. Detection of human norovirus in intestinal biopsies from immunocompromised transplant patients. *J Gen Virol* **97**, 2291-2300 (2016). <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000545>
 - 51) Ford-Siltz, L. A., Wales, S., Tohma, K., Gao, Y. & Parra, G. I. Genotype-Specific Neutralization of Norovirus Is Mediated by Antibodies Against the Protruding Domain of the Major Capsid Protein. *J Infect Dis* **225**, 1205-1214 (2022). <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa116>
 - 52) Sato, S., Hisaie, K., Kurokawa, S., Suzuki, A., Sakon, N., Uchida, Y., Yuki, Y. & Kiyono, H. Human Norovirus Propagation in Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Intestinal Epithelial Cells. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* **7**, 686-688 e685 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2018.11.001>
 - 53) Tohma, K., Ford-Siltz, L. A., Kendra, J. A. & Parra, G. I. Dynamic immunodominance hierarchy of neutralizing antibody responses to evolving GII.4 noroviruses. *Cell Rep* **39**, 110689 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110689>
 - 54) Honjo, S., Kuronuma, K., Fujiya, Y., Nakae, M., Ukae, S., Nihira, H., Yamamoto, M., Akane, Y., Kondo, K., Takahashi, S., Kimura, H., Tsutsumi, H., Kawasaki, Y. & Tsugawa, T. Genotypes and transmission routes of noroviruses causing sporadic acute gastroenteritis among adults and children, Japan, 2015-2019. *Infect Genet Evol* **104**, 105348 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105348>
 - 55) Burke, R. M., Shah, M. P., Wikswo, M. E., Barclay, L., Kambhampati, A., Marsh, Z., Cannon, J. L., Parashar, U. D., Vinje, J. & Hall, A. J. The Norovirus Epidemiologic Triad: Predictors of Severe Outcomes in US Norovirus Outbreaks, 2009-2016. *J Infect Dis* **219**, 1364-1372 (2019). <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy569>
 - 56) Patel, M. M., Widdowson, M. A., Glass, R. I., Akazawa, K., Vinje, J. & Parashar, U. D. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. *Emerg Infect Dis* **14**, 1224-1231 (2008). <https://doi.org/10.3201/eid1408.071114>
 - 57) Harris, J. P., Edmunds, W. J., Pebody, R., Brown, D. W. & Lopman, B. A. Deaths from norovirus among the elderly, England and Wales. *Emerg Infect Dis* **14**, 1546-1552 (2008). <https://doi.org/10.3201/eid1410.080188>
 - 58) Rohayem, J. Norovirus seasonality and the potential impact of climate change. *Clin Microbiol Infect* **15**, 524-527 (2009). <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02846.x>
 - 59) Ahmed, S. M., Lopman, B. A. & Levy, K. A systematic review and meta-analysis of the global seasonality of norovirus. *PLoS One* **8**, e75922 (2013). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075922>
 - 60) 国立感染症研究所, 感染症発生動向調査 週報. (2023). <<https://www.niid.go.jp/niid/ja/10/2096-weeklygraph/1647-04gastro.html>>.
 - 61) Fukuda, Y., Tsugawa, T., Nagaoka, Y., Ishii, A., Nawa, T., Togashi, A., Kunizaki, J., Hirakawa, S., Iida, J., Tanaka, T., Kizawa, T., Yamamoto, D., Takeuchi, R., Sakai, Y., Kikuchi, M., Nagai, K., Asakura, H., Tanaka, R., Yoshida, M., Hamada, R. & Kawasaki, Y. Surveillance in hospitalized children with infectious diseases in Japan: Pre- and post-coronavirus disease 2019. *J Infect Chemother* **27**, 1639-1647 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2021.07.024>
 - 62) Chow, E. J., Uyeki, T. M. & Chu, H. Y. The effects of the COVID-19 pandemic on community respiratory virus activity. *Nat Rev Microbiol* **21**, 195-210 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00807-9>
 - 63) 国立感染症研究所. 病原微生物検出情報 (IASR). (2023). <<https://www.niid.go.jp/niid/ja/norovirus-m/2082-idsc/iasr-noro/5701-iasr-noro-150529.html>>.
 - 64) Pham, N. T. K., Nishimura, S., Shimizu-Onda, Y., Trinh, Q. D., Komine-Aizawa, S., Khamrin, P., Okitsu, S., Sato, S., Kobayashi, T., Maneekarn, N., Hayakawa, S. & Ushijima, H. Emerging norovirus GII.4 Sydney[P31] causing acute gastroenteritis outbreak in children in Japan, during COVID-19, 2021. *J Infect Chemother* **28**, 1347-1351 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2022.05.015>
 - 65) Hardstaff, J. L., Clough, H. E., Lutje, V., McIntyre, K. M., Harris, J. P., Garner, P. & O'Brien, S. J. Foodborne and Food-Handler Norovirus Outbreaks: A Systematic Review. *Foodborne Pathog Dis* **15**, 589-597 (2018). <https://doi.org/10.1089/fpd.2018.2452>
 - 66) Sakon, N., Sadamasu, K., Shinkai, T., Hamajima, Y., Yoshitomi, H., Matsushima, Y., Takada, R., Terasoma, F., Nakamura, A., Komano, J., Nagasawa, K., Shimizu, H., Katayama, K. & Kimura, H. Foodborne Outbreaks Caused by Human Norovirus GII.P17-GII.17-Contaminated Nori, Japan, 2017. *Emerg Infect Dis* **24**, 920-923 (2018). <https://doi.org/10.3201/eid2405.171733>
 - 67) Nasheri, N., Vester, A. & Petronella, N. Foodborne viral outbreaks associated with frozen produce. *Epidemiol Infect* **147**, e291 (2019). <https://doi.org/10.1017/S0950268819001791>

- 68) Lopman, B., Simmons, K., Gambhir, M., Vinje, J. & Parashar, U. Epidemiologic implications of asymptomatic reinfection: a mathematical modeling study of norovirus. *Am J Epidemiol* **179**, 507-512 (2014). <https://doi.org/10.1093/aje/kwt287>
- 69) Ushijima, H., Fujimoto, T., Müller, W. E. & Hayakawa, S. Norovirus and foodborne disease: *A Review Food Safety* **2**, 37-54 (2014).
- 70) Kirk, M. D., Pires, S. M., Black, R. E., Caipo, M., Crump, J. A., Devleeschauwer, B., Dopfer, D., Fazil, A., Fischer-Walker, C. L., Hald, T., Hall, A. J., Keddy, K. H., Lake, R. J., Lanata, C. F., Torgerson, P. R., Havelaar, A. H. & Angulo, F. J. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis. *PLoS Med* **12**, e1001921 (2015). <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001921>
- 71) van Beek, J., de Graaf, M., Al-Hello, H., Allen, D. J., Ambert-Balay, K., Botteldoorn, N., Brytting, M., Buesa, J., Cabrerizo, M., Chan, M., Cloak, F., Di Bartolo, I., Guix, S., Hewitt, J., Iritani, N., Jin, M., Johne, R., Lederer, I., Mans, J., Martella, V., Maunula, L., McAllister, G., Niendorf, S., Niesters, H. G., Podkolzin, A. T., Poljsak-Prijatelj, M., Rasmussen, L. D., Reuter, G., Tuite, G., Kroneman, A., Vennema, H., Koopmans, M. P. G. & NoroNet. Molecular surveillance of norovirus, 2005-16: an epidemiological analysis of data collected from the NoroNet network. *Lancet Infect Dis* **18**, 545-553 (2018). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30059-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30059-8)
- 72) Zheng, D. P., Ando, T., Fankhauser, R. L., Beard, R. S., Glass, R. I. & Monroe, S. S. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology* **346**, 312-323 (2006). <https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.11.015>
- 73) Vinje, J., Green, J., Lewis, D. C., Gallimore, C. I., Brown, D. W. & Koopmans, M. P. Genetic polymorphism across regions of the three open reading frames of "Norwalk-like viruses". *Arch Virol* **145**, 223-241 (2000). <https://doi.org/10.1007/s007050050020>
- 74) Katayama, K., Shirato-Horikoshi, H., Kojima, S., Kageyama, T., Oka, T., Hoshino, F., Fukushima, S., Shinohara, M., Uchida, K., Suzuki, Y., Gojobori, T. & Takeda, N. Phylogenetic analysis of the complete genome of 18 Norwalk-like viruses. *Virology* **299**, 225-239 (2002). <https://doi.org/10.1006/viro.2002.1568>
- 75) Kroneman, A., Vega, E., Vennema, H., Vinje, J., White, P. A., Hansman, G., Green, K., Martella, V., Katayama, K. & Koopmans, M. Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Arch Virol* **158**, 2059-2068 (2013). <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1708-5>
- 76) Kroneman, A., Vennema, H., Deforche, K., v d Avoort, H., Penaranda, S., Oberste, M. S., Vinje, J. & Koopmans, M. An automated genotyping tool for enteroviruses and noroviruses. *J Clin Virol* **51**, 121-125 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2011.03.006>
- 77) Tatusov, R. L., Chhabra, P., Diez-Valcarce, M., Barclay, L., Cannon, J. L. & Vinje, J. Human Calicivirus Typing tool: A web-based tool for genotyping human norovirus and sapovirus sequences. *J Clin Virol* **134**, 104718 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104718>
- 78) Kendra, J. A., Tohma, K. & Parra, G. I. Global and regional circulation trends of norovirus genotypes and recombinants, 1995-2019: A comprehensive review of sequences from public databases. *Rev Med Virol* **32**, e2354 (2022). <https://doi.org/10.1002/rmv.2354>
- 79) Niendorf, S., Jacobsen, S., Faber, M., Eis-Hubinger, A. M., Hofmann, J., Zimmermann, O., Hohne, M. & Bock, C. T. Steep rise in norovirus cases and emergence of a new recombinant strain GII.P16-GII.2, Germany, winter 2016. *Euro Surveill* **22** (2017). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.4.30447>
- 80) Matsushima, Y., Ishikawa, M., Shimizu, T., Komane, A., Kasuo, S., Shinohara, M., Nagasawa, K., Kimura, H., Ryo, A., Okabe, N., Haga, K., Doan, Y. H., Katayama, K. & Shimizu, H. Genetic analyses of GII.17 norovirus strains in diarrheal disease outbreaks from December 2014 to March 2015 in Japan reveal a novel polymerase sequence and amino acid substitutions in the capsid region. *Euro Surveill* **20** (2015). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2015.20.26.21173>
- 81) Chan, M. C., Roy, S., Bonifacio, J., Zhang, L. Y., Chhabra, P., Chan, J. C. M., Celma, C., Igoy, M. A., Lau, S. L., Mohammad, K. N., Vinje, J., Vennema, H., Breuer, J., Koopmans, M., de Graaf, M. & for, N. Detection of Norovirus Variant GII.4 Hong Kong in Asia and Europe, 2017-2019. *Emerg Infect Dis* **27**, 289-293 (2021). <https://doi.org/10.3201/eid2701.203351>
- 82) Kazama, S., Masago, Y., Tohma, K., Souma, N., Imagawa, T., Suzuki, A., Liu, X., Saito, M., Oshitani, H. & Omura, T. Temporal dynamics of norovirus determined through monitoring of municipal wastewater by pyrosequencing and virological surveillance of gastroenteritis cases. *Water Res* **92**, 244-253 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.10.024>
- 83) Fumian, T. M., Fioretti, J. M., Lun, J. H., Dos Santos, I. A. L., White, P. A. & Miagostovich, M. P. Detection of norovirus epidemic genotypes in raw sewage using next generation sequencing. *Environ Int* **123**, 282-291 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.11.054>
- 84) Kazama, S., Miura, T., Masago, Y., Konta, Y., Tohma, K., Manaka, T., Liu, X., Nakayama, D., Tanno, T., Saito, M., Oshitani, H. & Omura, T. Environmental Surveillance of Norovirus Genogroups I and II for Sensitive Detection of Epidemic Variants. *Appl Environ Microbiol* **83** (2017). <https://doi.org/10.1128/AEM.03406-16>
- 85) Kundu, S., Lockwood, J., Depledge, D. P., Chaudhry, Y., Aston, A., Rao, K., Hartley, J. C., Goodfellow, I. & Breuer, J. Next-generation whole genome sequencing identifies the direction of norovirus transmission in linked patients. *Clin Infect Dis* **57**, 407-414 (2013). <https://doi.org/10.1093/cid/cit287>
- 86) Tohma, K., Saito, M., Mayta, H., Zimic, M., Lepore, C. J., Ford-Siltz, L. A., Gilman, R. H. & Parra, G. I. Com-

- plete Genome Sequence of a Nontypeable GII Norovirus Detected in Peru. *Genome Announc* **6** (2018). <https://doi.org/10.1128/genomeA.00095-18>
- 87) Chhabra, P., Aswath, K., Collins, N., Ahmed, T., Olortegui, M. P., Kosek, M., Cebelski, E., Cooper, P. J., Bucardo, F., Lopez, M. R., Castro, C. J., Marine, R. L., Ng, T. F. F. & Vinje, J. Near-Complete Genome Sequences of Several New Norovirus Genogroup II Genotypes. *Genome Announc* **6** (2018). <https://doi.org/10.1128/genomeA.00007-18>
 - 88) Mori, K., Nagano, M., Yaoita, Y., Asakura, H., Suzuki, A., Isogai, M., Fujiwara, T., Nagashima, M., Suzuki, J., Tohma, K. & Sadamasu, K. Genetic characteristics of archival noroviruses detected from the 1970s to the 1990s. *Arch Virol* **167**, 2723-2727 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05595-4>
 - 89) Siebenga, J. J., Lemey, P., Kosakovsky Pond, S. L., Rambaut, A., Vennema, H. & Koopmans, M. Phylogenetic reconstruction reveals norovirus GII.4 epidemic expansions and their molecular determinants. *PLoS Pathog* **6**, e1000884 (2010). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000884>
 - 90) Chan, M. C. W., Hu, Y., Chen, H., Podkolzin, A. T., Zaytseva, E. V., Komano, J., Sakon, N., Poovorawan, Y., Vongpunsawad, S., Thanusuwannasak, T., Hewitt, J., Croucher, D., Collins, N., Vinje, J., Pang, X. L., Lee, B. E., de Graaf, M., van Beek, J., Vennema, H., Koopmans, M. P. G., Niendorf, S., Poljsak-Prijatelj, M., Steyer, A., White, P. A., Lun, J. H., Mans, J., Hung, T. N., Kwok, K., Cheung, K., Lee, N. & Chan, P. K. S. Global Spread of Norovirus GII.17 Kawasaki 308, 2014-2016. *Emerg Infect Dis* **23**, 1359-1354 (2017). <https://doi.org/10.3201/eid2308.161138>
 - 91) Bok, K., Abente, E. J., Realpe-Quintero, M., Mitra, T., Sosnovtsev, S. V., Kapikian, A. Z. & Green, K. Y. Evolutionary dynamics of GII.4 noroviruses over a 34-year period. *J Virol* **83**, 11890-11901 (2009). <https://doi.org/10.1128/JVI.00864-09>
 - 92) Tohma, K., Lepore, C. J., Ford-Siltz, L. A. & Parra, G. I. Phylogenetic Analyses Suggest that Factors Other Than the Capsid Protein Play a Role in the Epidemic Potential of GII.2 Norovirus. *mSphere* **2** (2017). <https://doi.org/10.1128/mSphereDirect.00187-17>
 - 93) Chan, M. C. W., Kwok, K., Hung, T. N., Chan, L. Y. & Chan, P. K. S. Complete Genome Sequence of an Emergent Recombinant GII.P16-GII.2 Norovirus Strain Associated with an Epidemic Spread in the Winter of 2016-2017 in Hong Kong, China. *Genome Announc* **5** (2017). <https://doi.org/10.1128/genomeA.00343-17>
 - 94) Barclay, L., Cannon, J. L., Wikswo, M. E., Phillips, A. R., Browne, H., Montmayeur, A. M., Tatusov, R. L., Burke, R. M., Hall, A. J. & Vinje, J. Emerging Novel GII.P16 Noroviruses Associated with Multiple Capsid Genotypes. *Viruses* **11** (2019). <https://doi.org/10.3390/v11060535>
 - 95) Chan, M. C., Lee, N., Hung, T. N., Kwok, K., Cheung, K., Tin, E. K., Lai, R. W., Nelson, E. A., Leung, T. F. & Chan, P. K. Rapid emergence and predominance of a broadly recognizing and fast-evolving norovirus GII.17 variant in late 2014. *Nat Commun* **6**, 10061 (2015). <https://doi.org/10.1038/ncomms10061>
 - 96) Jin, M., Zhou, Y. K., Xie, H. P., Fu, J. G., He, Y. Q., Zhang, S., Jing, H. B., Kong, X. Y., Sun, X. M., Li, H. Y., Zhang, Q., Li, K., Zhang, Y. J., Zhou, D. Q., Xing, W. J., Liao, Q. H., Liu, N., Yu, H. J., Jiang, X., Tan, M. & Duan, Z. J. Characterization of the new GII.17 norovirus variant that emerged recently as the predominant strain in China. *J Gen Virol* **97**, 2620-2632 (2016). <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000582>
 - 97) Tohma, K., Lepore, C. J., Martinez, M., Degiuseppe, J. I., Khamrin, P., Saito, M., Mayta, H., Nwaba, A. U. A., Ford-Siltz, L. A., Green, K. Y., Galeano, M. E., Zimic, M., Stupka, J. A., Gilman, R. H., Manekarn, N., Ushijima, H. & Parra, G. I. Genome-wide analyses of human noroviruses provide insights on evolutionary dynamics and evidence of coexisting viral populations evolving under recombination constraints. *PLoS Pathog* **17**, e1009744 (2021). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009744>
 - 98) Tohma, K., Lepore, C. J., Ford-Siltz, L. A. & Parra, G. I. Evolutionary dynamics of non-GII genotype 4 (GII.4) noroviruses reveal limited and independent diversification of variants. *J Gen Virol* **99**, 1027-1035 (2018). <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001088>
 - 99) Villabruna, N., Koopmans, M. P. G. & de Graaf, M. Animals as Reservoir for Human Norovirus. *Viruses* **11** (2019). <https://doi.org/10.3390/v11050478>
 - 100) Villabruna, N., Izquierdo Lara, R. W., Szarvas, J., Koopmans, M. P. G. & Graaf, M. Phylogenetic Investigation of Norovirus Transmission between Humans and Animals. *Viruses* **12** (2020). <https://doi.org/10.3390/v12111287>
 - 101) Ford-Siltz, L. A., Mullis, L., Sanad, Y. M., Tohma, K., Lepore, C. J., Azevedo, M. & Parra, G. I. Genomics Analyses of GIV and GVI Noroviruses Reveal the Distinct Clustering of Human and Animal Viruses. *Viruses* **11** (2019). <https://doi.org/10.3390/v11030204>
 - 102) van Beek, J., de Graaf, M., Smits, S., Schapendonk, C. M. E., Verjans, G., Vennema, H., van der Eijk, A. A., Phan, M. V. T., Cotten, M. & Koopmans, M. Whole-Genome Next-Generation Sequencing to Study Within-Host Evolution of Norovirus (NoV) Among Immunocompromised Patients With Chronic NoV Infection. *J Infect Dis* **216**, 1513-1524 (2017). <https://doi.org/10.1093/infdis/jix520>
 - 103) Vega, E., Donaldson, E., Huynh, J., Barclay, L., Lopman, B., Baric, R., Chen, L. F. & Vinje, J. RNA populations in immunocompromised patients as reservoirs for novel norovirus variants. *J Virol* **88**, 14184-14196 (2014). <https://doi.org/10.1128/JVI.02494-14>
 - 104) Doerflinger, S. Y., Weichert, S., Koromyslova, A., Chan, M., Schwerk, C., Adam, R., Jennewein, S., Hansman, G. S. & Schrotten, H. Human Norovirus Evolution in a Chronically Infected Host. *mSphere* **2** (2017). <https://doi.org/10.1128/mSphere.00352-16>
 - 105) Bull, R. A., Eden, J. S., Luciani, F., McElroy, K., Rawlinson, W. D. & White, P. A. Contribution of intra- and

- interhost dynamics to norovirus evolution. *J Virol* **86**, 3219-3229 (2012). <https://doi.org/10.1128/JVI.06712-11>
- 106) Karst, S. M. & Baric, R. S. What is the reservoir of emergent human norovirus strains? *J Virol* **89**, 5756-5759 (2015). <https://doi.org/10.1128/JVI.03063-14>
- 107) Davis, A., Cortez, V., Grodzki, M., Dallas, R., Ferrolino, J., Freiden, P., Maron, G., Hakim, H., Hayden, R. T., Tang, L., Huys, A., Kolawole, A. O., Wobus, C. E., Jones, M. K., Karst, S. M. & Schultz-Cherry, S. Infectious Norovirus Is Chronically Shed by Immunocompromised Pediatric Hosts. *Viruses* **12** (2020). <https://doi.org/10.3390/v12060619>
- 108) Tohma, K., Saito, M., Pajuelo, M. J., Mayta, H., Zimic, M., Lepore, C. J., Ford-Siltz, L. A., Gilman, R. H. & Parra, G. I. Viral intra-host evolution in immunocompetent children contributes to human norovirus diversification at the global scale. *Emerg Microbes Infect* **10**, 1717-1730 (2021). <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.1967706>
- 109) Eden, J. S., Chisholm, R. H., Bull, R. A., White, P. A., Holmes, E. C. & Tanaka, M. M. Persistent infections in immunocompromised hosts are rarely sources of new pathogen variants. *Virus Evol* **3**, vex018 (2017). <https://doi.org/10.1093/ve/vex018>
- 110) Teunis, P. F., Sukhrie, F. H., Vennema, H., Bogerman, J., Beersma, M. F. & Koopmans, M. P. Shedding of norovirus in symptomatic and asymptomatic infections. *Epidemiol Infect* **143**, 1710-1717 (2015). <https://doi.org/10.1017/S095026881400274X>
- 111) Saito, M., Goel-Apaza, S., Espetia, S., Velasquez, D., Cabrera, L., Loli, S., Crabtree, J. E., Black, R. E., Kosek, M., Checkley, W., Zimic, M., Bern, C., Cama, V., Gilman, R. H. & Norovirus Working Group in, P. Multiple norovirus infections in a birth cohort in a Peruvian Periurban community. *Clin Infect Dis* **58**, 483-491 (2014). <https://doi.org/10.1093/cid/cit763>
- 112) McMurry, T. L., McQuade, E. T. R., Liu, J., Kang, G., Kosek, M. N., Lima, A. A. M., Bessong, P. O., Samie, A., Haque, R., Mduma, E. R., Leite, J. P., Bodhidatta, L., Iqbal, N. T., Page, N., Kiwelu, I., Bhutta, Z. A., Ahmed, T., Houpt, E. R. & Platts-Mills, J. A. Duration of Postdiarrheal Enteric Pathogen Carriage in Young Children in Low-resource Settings. *Clin Infect Dis* **72**, e806-e814 (2021). <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1528>
- 113) Green, S. M., Dingle, K. E., Lambden, P. R., Caul, E. O., Ashley, C. R. & Clarke, I. N. Human enteric Caliciviridae: a new prevalent small round-structured virus group defined by RNA-dependent RNA polymerase and capsid diversity. *J Gen Virol* **75** (Pt 8), 1883-1888 (1994). <https://doi.org/10.1099/0022-1317-75-8-1883>
- 114) Dingle, K. E., Lambden, P. R., Caul, E. O. & Clarke, I. N. Human enteric Caliciviridae: the complete genome sequence and expression of virus-like particles from a genetic group II small round structured virus. *J Gen Virol* **76** (Pt 9), 2349-2355 (1995). <https://doi.org/10.1099/0022-1317-76-9-2349>
- 115) Cauchi, M. R., Doultree, J. C., Marshall, J. A. & Wright, P. J. Molecular characterization of Camberwell virus and sequence variation in ORF3 of small round-structured (Norwalk-like) viruses. *J Med Virol* **49**, 70-76 (1996). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9071\(199605\)49:1<70::AID-JMV12>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9071(199605)49:1<70::AID-JMV12>3.0.CO;2-6)
- 116) Green, K. Y., Belliot, G., Taylor, J. L., Valdesuso, J., Lew, J. F., Kapikian, A. Z. & Lin, F. Y. A predominant role for Norwalk-like viruses as agents of epidemic gastroenteritis in Maryland nursing homes for the elderly. *J Infect Dis* **185**, 133-146 (2002). <https://doi.org/10.1086/338365>
- 117) Mori, K., Chu, P. Y., Motomura, K., Somura, Y., Nagan, M., Kimoto, K., Akiba, T., Kai, A. & Sadamasu, K. Genomic analysis of the evolutionary lineage of Norovirus GII.4 from archival specimens during 1975-1987 in Tokyo. *J Med Virol* **89**, 363-367 (2017). <https://doi.org/10.1002/jmv.24624>
- 118) Mori, K., Nagano, M., Kimoto, K., Somura, Y., Akiba, T., Hayashi, Y., Sadamasu, K. & Kai, A. Detection of Enteric Viruses in Fecal Specimens from Nonbacterial Foodborne Gastroenteritis Outbreaks in Tokyo, Japan between 1966 and 1983. *Jpn J Infect Dis* **70**, 143-151 (2017). <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2015.456>
- 119) Lopman, B., Vennema, H., Kohli, E., Pothier, P., Sanchez, A., Negredo, A., Buesa, J., Schreier, E., Reacher, M., Brown, D., Gray, J., Iturriza, M., Gallimore, C., Bottiger, B., Hedlund, K. O., Torven, M., von Bonsdorff, C. H., Maunula, L., Poljsak-Prijatelj, M., Zimsek, J., Reuter, G., Szucs, G., Melegh, B., Svennson, L., van Duinhoven, Y. & Koopmans, M. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet* **363**, 682-688 (2004). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)15641-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)15641-9)
- 120) Vinje, J. & Koopmans, M. P. Molecular detection and epidemiology of small round-structured viruses in outbreaks of gastroenteritis in the Netherlands. *J Infect Dis* **174**, 610-615 (1996). <https://doi.org/10.1093/infdis/174.3.610>
- 121) Vinje, J., Altena, S. A. & Koopmans, M. P. The incidence and genetic variability of small round-structured viruses in outbreaks of gastroenteritis in The Netherlands. *J Infect Dis* **176**, 1374-1378 (1997). <https://doi.org/10.1086/517325>
- 122) Noel, J. S., Fankhauser, R. L., Ando, T., Monroe, S. S. & Glass, R. I. Identification of a distinct common strain of "Norwalk-like viruses" having a global distribution. *J Infect Dis* **179**, 1334-1344 (1999). <https://doi.org/10.1086/314783>
- 123) Dingle, K. E. & Norovirus Infection Control in Oxfordshire Communities, H. Mutation in a Lordsdale norovirus epidemic strain as a potential indicator of transmission routes. *J Clin Microbiol* **42**, 3950-3957 (2004). <https://doi.org/10.1128/JCM.42.9.3950-3957.2004>
- 124) Parra, G. I. Emergence of norovirus strains: A tale of two genes. *Virus Evol* **5**, vez048 (2019). <https://doi.org/10.1093/ve/vez048>
- 125) Kendra, J. A., Tohma, K., Ford-Siltz, L. A., Lepore, C. J. & Parra, G. I. Antigenic cartography reveals com-

- plexities of genetic determinants that lead to antigenic differences among pandemic GII.4 noroviruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* **118** (2021). <https://doi.org/10.1073/pnas.2015874118>
- 126) Lindesmith, L. C., Costantini, V., Swanstrom, J., Debbink, K., Donaldson, E. F., Vinje, J. & Baric, R. S. Emergence of a norovirus GII.4 strain correlates with changes in evolving blockade epitopes. *J Virol* **87**, 2803-2813 (2013). <https://doi.org/10.1128/JVI.03106-12>
 - 127) Cannon, J. L., Lindesmith, L. C., Donaldson, E. F., Saxe, L., Baric, R. S. & Vinje, J. Herd immunity to GII.4 noroviruses is supported by outbreak patient sera. *J Virol* **83**, 5363-5374 (2009). <https://doi.org/10.1128/JVI.02518-08>
 - 128) Garaicoechea, L., Aguilar, A., Parra, G. I., Bok, M., Sosnovtsev, S. V., Canziani, G., Green, K. Y., Bok, K. & Parreno, V. Llama Nanoantibodies with Therapeutic Potential against Human Norovirus Diarrhea. *Plos One* **10** (2015). <https://doi.org/ARTN e0133665>
10.1371/journal.pone.0133665
 - 129) Tohma, K., Lepore, C. J., Gao, Y. M., Ford-Siltz, L. A. & Parra, G. I. Population Genomics of GII.4 Noroviruses Reveal Complex Diversification and New Antigenic Sites Involved in the Emergence of Pandemic Strains. *Mbio* **10** (2019). <https://doi.org/ARTN e02202-19>
10.1128/mBio.02202-19
 - 130) Parra, G. I., Abente, E. J., Sandoval-Jaime, C., Sosnovtsev, S. V., Bok, K. & Green, K. Y. Multiple Antigenic Sites Are Involved in Blocking the Interaction of GII.4 Norovirus Capsid with ABH Histo-Blood Group Antigens. *Journal of Virology* **86**, 7414-7426 (2012). <https://doi.org/10.1128/Jvi.06729-11>
 - 131) Lindesmith, L. C., Debbink, K., Swanstrom, J., Vinje, J., Costantini, V., Baric, R. S. & Donaldson, E. F. Monoclonal Antibody-Based Antigenic Mapping of Norovirus GII.4-2002. *Journal of Virology* **86**, 873-883 (2012). <https://doi.org/10.1128/Jvi.06200-11>
 - 132) Debbink, K., Donaldson, E. F., Lindesmith, L. C. & Baric, R. S. Genetic Mapping of a Highly Variable Norovirus GII.4 Blockade Epitope: Potential Role in Escape from Human Herd Immunity. *Journal of Virology* **86**, 1214-1226 (2012). <https://doi.org/10.1128/Jvi.06189-11>
 - 133) Allen, D. J., Noad, R., Samuel, D., Gray, J. J., Roy, P. & Iturriza-Gomara, M. Characterisation of a GII.4 norovirus variant-specific surface-exposed site involved in antibody binding. *Virol J* **6** (2009). <https://doi.org/ARTN 150>
10.1186/1743-422x-6-150
 - 134) Lindesmith, L. C., Boshier, F. A. T., Brewer-Jensen, P. D., Roy, S., Costantini, V., Mallory, M. L., Zweigart, M., May, S. R., Conrad, H., O'Reilly, K. M., Kelly, D., Celma, C. C., Beard, S., Williams, R., Tutill, H. J., Dreps, S. B., Bucardo, F., Allen, D. J., Vinje, J., Goldstein, R. A., Breuer, J. & Baric, R. S. Immune Imprinting Drives Human Norovirus Potential for Global Spread. *Mbio* **13** (2022). <https://doi.org/10.1128/mbio.01861-22>
 - 135) Rusert, P., Kouyos, R. D., Kadelka, C., Ebner, H., Schanz, M., Huber, M., Braun, D. L., Hoze, N., Scherrer, A., Magnus, C., Weber, J., Uhr, T., Cippa, V., Thorball, C. W., Kuster, H., Cavassini, M., Bernasconi, E., Hoffmann, M., Calmy, A., Battegay, M., Rauch, A., Yerly, S., Aubert, V., Klimkait, T., Boni, J., Fellay, J., Regoes, R. R., Gunthard, H. F., Trkola, A. & Studys, S. H. C. Determinants of HIV-1 broadly neutralizing antibody induction. *Nature Medicine* **22**, 1260-1267 (2016). <https://doi.org/10.1038/nm.4187>
 - 136) Popova, L., Smith, K., West, A. H., Wilson, P. C., James, J. A., Thompson, L. F. & Air, G. M. Immuno-dominance of Antigenic Site B over Site A of Hemagglutinin of Recent H3N2 Influenza Viruses. *Plos One* **7** (2012). <https://doi.org/ARTN e41895>
10.1371/journal.pone.0041895
 - 137) Brasher, N. A., Eltahla, A. A., Underwood, A., Boo, I., Rizzetto, S., Walker, M. R., Rodrigo, C., Luciani, F., Maher, L., Drummer, H. E., Tedla, N., Lloyd, A. R. & Bull, R. A. B cell immunodominance in primary hepatitis C virus infection. *J Hepatol* **72**, 670-679 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.11.011>
 - 138) Chambers, B. S., Parkhouse, K., Ross, T. M., Alby, K. & Hensley, S. E. Identification of Hemagglutinin Residues Responsible for H3N2 Antigenic Drift during the 2014-2015 Influenza Season. *Cell Reports* **12**, 1-6 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.06.005>
 - 139) Munoz-Alia, M. A., Nace, R. A., Zhang, L. W. & Russell, S. J. Serotypic evolution of measles virus is constrained by multiple co-dominant B cell epitopes on its surface glycoproteins. *Cell Rep Med* **2** (2021). <https://doi.org/ARTN 100225>
10.1016/j.xcrm.2021.100225
 - 140) Parra, G. I., Tohma, K., Ford-Siltz, L. A., Eguino, P., Kendra, J. A., Pilewski, K. A. & Gao, Y. M. Minimal Antigenic Evolution after a Decade of Norovirus GII.4 Sydney_2012 Circulation in Humans. *Journal of Virology* **97** (2023). <https://doi.org/10.1128/jvi.01716-22>

Molecular epidemiology and evolution of human noroviruses

Kentaro TOHMA¹⁾, Hiroshi USHIJIMA²⁾

1) Division of Viral Products, US Food and Drug Administration, Maryland, Unites States

2) Division of Microbiology, Department of Pathology and Microbiology, Nihon University School of Medicine, Tokyo, Japan

Noroviruses are the most common viral cause of acute gastroenteritis after the introduction of rotavirus vaccines. Norovirus infection can cause severe symptoms in vulnerable populations including young children and the elderly. Thus, it is still a leading cause of death from diarrhea in children in developing countries. Recent advancement of genomics platforms facilitated understanding of the epidemiology of norovirus, while the whole picture of norovirus diversity is still undetermined. Currently, there are no approved vaccines for norovirus, but state-of-the-art norovirus cultivation systems could elucidate the antigenic diversity of this fast-evolving virus. In this review, we will summarize the historical and latest findings of norovirus epidemiology, diversity, and evolution.