

新型コロナウイルスの下水疫学調査の実用化に向け一歩前進 —下水からの新型コロナウイルス濃縮・検出の最適手法の提案—

1. 発表者：

鳥居 将太郎（東京大学 大学院工学系研究科都市工学専攻 博士課程3年生）

古米 弘明（東京大学 大学院工学系研究科都市工学専攻 教授）

片山 浩之（東京大学 大学院工学系研究科都市工学専攻 教授）

2. 発表のポイント：

下水中からエンベロープウイルスを濃縮・検出する方法を最適化し、2020年7月に東京都で採水された流入下水から新型コロナウイルス RNA を検出することに成功した。

流入下水の水質の違いによる影響を受けにくい方法を提案した。

広く日本において下水中のコロナウイルス RNA を測定することにより、感染流行状況の把握を可能とし、クラスターの早期発見など安全・安心社会の一助となる可能性がある。

3. 発表概要：

東京大学大学院工学系研究科都市工学専攻の鳥居将太郎 大学院生、古米弘明 教授、片山浩之 教授らは、日本各地の下水試料を用いて、下水中からエンベロープ（注1）ウイルスを検出する方法を最適化した。また、その手法の有効性を評価するため、2020年7月に東京都で採水された流入下水から新型コロナウイルス RNA を検出することに成功した。

下水からの新型コロナウイルスの測定法は、ウイルス濃縮、RNA抽出、逆転写PCR法それぞれの工程に対して様々な手法が提案されている。本研究では、ポリエチレングリコール沈殿法と TRIzol を用いた RNA 抽出の組み合わせが、下水の水質変動に対して頑健な手法であることが分かった。

この手法を用いて、2020年7月の東京の下水から新型コロナウイルス RNA を検出することに成功し、手法が新型コロナウイルスに対して有効であることを確認した。

本手法は、日本の流入下水に対して適用可能な新型コロナウイルス測定法として一定の信頼性を持つ方法であることが示された。また、この方法は、特殊な機材などを必要とせず、物理的には一般的な微生物実験室で測定を実施することが可能である。

4. 発表内容：

① 研究の背景

下水疫学調査は、特定の地域・施設などにおいて、下水中のウイルス遺伝子の検査を行う手法であり、対象地域・施設の感染症流行の早期検知や流行状況の把握に寄与すると考えられている。欧米各国においては、新型コロナウイルスに関する下水疫学調査が既に実施されており、例えば大学の寮の下水をモニタリングして無症状の感染者を早期に発見した実績がある。しかしながら、欧米で使用されている方法については、新型コロナウイルス濃度が日本よりも格段に高いため、ウイルス濃縮法・検出法について最適な方法を用いなくても社会的に有用な結果を得ることができる状況であった。日本では、COVID-19 がそこまで蔓延していない状況で、ウイルス検査を行っても不検出となることが多く、測定法の有効性に対する疑問が完全にはぬぐえない状況であった。

これまでに水系感染の可能性のある腸管系ウイルスに対する測定法は確立されていたが、新型コロナウイルスはエンベロープを有しているため、これまでの方法ではウイルス濃縮の効率が低かった。

下水からの新型コロナウイルスの測定法は、ウイルス濃縮、RNA抽出、逆転写PCR法それぞれの工程に対して様々な手法が提案されているが、地域的・時間的に変動する下水の水質の違いを考慮に入れた研究はされておらず、最適法を選定することが難しい状況にあった。

② 研究内容（具体的な手法など詳細）

本研究では、新型コロナウイルスの代替指標としてΦ6ファージ（注2）を用い、繰り返し測定により測定方法間の回収率の有意差を検定することを可能とした。ウイルス濃縮工程において、精密ろ過膜に吸着させる方法、限外ろ過膜により直接濃縮する方法、ポリエチレングリコールに吸着して遠心分離により沈殿させる方法、並びにRNA抽出工程において、ウイルスRNA抽出のために商用化されている方法（QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)）と、幅広い生体サンプルのRNA抽出のために商用化されている方法（TRIzol reagent (ThermoFisher)）について、すべての組み合わせを試し、3種類の異なる流入下水に添加したΦ6ファージの回収率を評価した。

結果として、ポリエチレングリコール沈殿法とTRIzolの組み合わせが、最も高く安定した回収率を示し、限外ろ過膜を用いた方法と同程度の高い検出感度を示したため、最適法であると結論付けた。

この手法が代替指標のΦ6に対してのみならず、新型コロナウイルスに対して有効であることを確認するため、感染者が確認されている東京の流入下水からウイルス検出を試みた。その結果、2020年7月の東京の下水から新型コロナウイルスRNAを検出し、開発した手法が下水中の新型コロナウイルスの検出に有効であることを確認した。なお、本研究は、新型コロナウイルスのRNAの検出に成功したものであり、下水中の新型コロナウイルスの感染性が確認されたものではない。

③ 社会的意義・今後の予定 など

本手法は、東京都において1週間当たりの新規感染者が1000人程度の状況において下水からウイルスを検出することに成功しており、日本の流入下水に対して適用可能な新型コロナウイルス測定法として一定の信頼性を持つ方法であることが示された。また、この方法は、特殊な機材などを必要とせず、物理的には一般的な微生物実験室で測定を実施することが可能である。多数の試料を同時に測定する操作性に優れており、多数の検体が試験機関に持ち込まれるような状況においても対応しやすい方法となっていると考えられる。

研究支援

本研究成果は、日本学術振興会、東京大学大学院工学系研究科学術戦略室の「ポストコロナの未来社会研究スタートアップ制度」の支援を受けて行われた。

5. 発表雑誌：

雑誌名：Science of the Total Environment

論文タイトル：Applicability of polyethylene glycol precipitation followed by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction for the detection of SARS-CoV-2 RNA from municipal wastewater

著者： Shotaro Torii, Hiroaki Furumai, Hiroyuki Katayama*
DOI 番号：10.1016/j.scitotenv.2020.143067
(2020年10月17日にオンライン掲載済み)

6. 問い合わせ先：

東京大学大学院工学系研究科 都市工学専攻 教授 片山 浩之 (かたやま ひろゆき)

7. 用語解説：

注1 エンベロープ 一部のウイルス粒子に見られる脂質二重膜に由来する外殻構造のこと。一般的に、エンベロープを持たないウイルスのほうが水中での生残性が高いため、これまではノンエンベロープウイルスに対する測定法に重点が置かれていた。

注2 Φ6 ファージ Pseudomonas 属菌を宿主とするファージであり、エンベロープを有している。細菌に感染するウイルスをファージと呼んでいるが、粒子特性などは両者に違いはない。扱いやすいことから、エンベロープウイルスの代替指標として広く使用されている。

8. 添付資料：

エンベロープウイルスの濃縮法評価・新型コロナウイルスRNAの検出

