

「持続可能な水利用を実現する革新的な技術とシステム」
平成 23 年度採択研究代表者

H26 年度
実績報告書

大村 達夫

国立大学法人東北大学未来科学技術共同研究センター
教授

迅速・高精度・網羅的な病原微生物検出による水監視システムの開発

§ 1. 研究実施体制

(1) 大村グループ

① 研究代表者: 大村 達夫 (東北大学未来科学技術共同研究センター, 教授)

② 研究項目

- ・ 病原微生物の網羅的同定・絶対定量技術開発
- ・ 迅速な病原微生物スクリーニング技術開発

(2) 押谷グループ

① 主たる共同研究者: 押谷 仁 (東北大学大学院医学系研究科, 教授)

② 研究項目

- ・ 水監視による感染症流行検知システム構築

(3) 渡部グループ

① 主たる共同研究者: 渡部 徹 (山形大学農学部, 准教授)

② 研究項目

- ・ リスク評価に基づいた監視項目, 体制の確立

§ 2. 研究実施の概要

本研究プロジェクトの最終目標である感染性胃腸炎の流行防止のための水監視システム(概念図を図1に示す)の構築に向けた2014年度の研究実績を以下に示す。研究は4つのA~Dのテーマからなっている。

(1) 病原微生物の網羅的同定・絶対定量技術開発

流入下水試料から迅速に病原ウイルスを検出・定量する手法の開発をめざし、多数の病原ウイルスを同時検出・定量できるデジタルPCR法の開発に取り組んだ。その結果、13種類の病原ウイルスの同時検出・定量が可能となった。

また、流入下水試料中のRNAウイルスの同定および未知ウイルスの発見を目的としたメタゲノム解析を行うために、多様なRNAウイルスゲノムが混在する流入下水試料から対象ウイルスゲノムを選択的に回収する技術を開発した。この手法とパイロシーケンシング法とを組み合わせることで、効率的に対象ウイルスゲノムの配列を取得できるようになった。

さらに、下水処理場でのウイルスモニタリングによって、各ウイルス濃度の季節変動や、ノロウイルスの遺伝子型分布について調査した。その結果の一つとして、2012/2013年シーズンに感染が広まったノロウイルスGII.4型のSydney 2012株は2013/2014年シーズンにもGII.4型の主要なタイプであったことが明らかとなった。

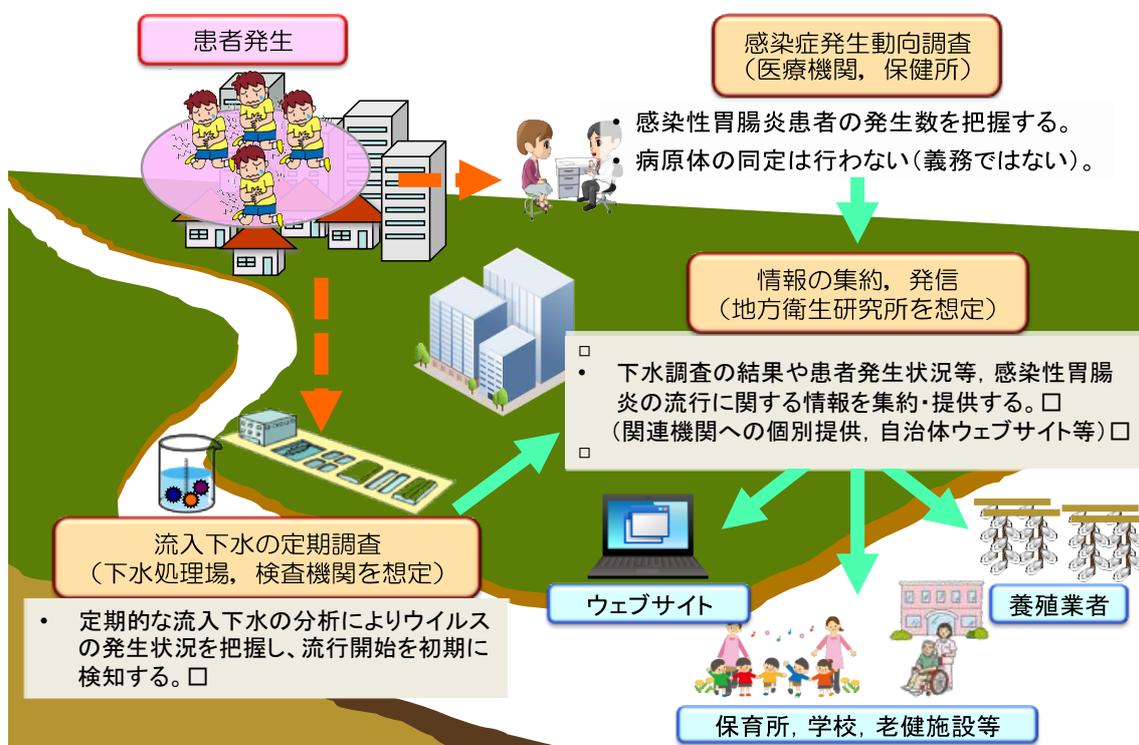


図1 感染性胃腸炎監視システムの概念図

(2) リスク評価に基づいた監視項目、体制の確立

2013 年度に引き続き、養殖カキの定期的な病原微生物モニタリングを行い、ウイルスの存在状況についてのデータを蓄積した。週 1 回のモニタリングによって、カキ中のノロウイルス GI は、ある時期に急激に濃度が上昇し、ノロウイルス GII は時間経過に伴い次第に濃度が上昇することが明らかとなった。また、これらのモニタリング結果とこれまでの流入下水等のモニタリング結果から、研究対象地域の感染性胃腸炎の監視対象ウイルスをノロウイルスとすることが妥当であると考えられた。

さらに、地域社会での感染性胃腸炎の流行を把握するためのモデル開発のため、研究対象地域において実施した衛生意識に関するアンケート調査の結果に基づき、二次感染の可能性が最も高い家庭内での感染伝播モデルを開発した。このモデルを地域社会に拡張することにより、地域社会での二次感染を考慮した感染症伝播モデルの開発に着手した。

(3) 迅速な病原微生物スクリーニング技術開発

病原ウイルスを含む病原微生物を迅速に検出・定量可能な RNA 直接定量法の開発のために、大腸菌等の人工合成 RNA を用いて既知量の標的 RNA を含む溶液中の RNA 量を測定したところ、その既知量に近い値が得られた。このことにより、病原ウイルス RNA の直接定量技術への展開が可能であることが示された。

簡易で迅速に検出可能な Q-LAMP 法を用いたウイルス検出法において、2014 年 3 月から 2015 年 2 月にかけて採取した流入下水 47 件を対象にノロウイルスの検出を試みた。厚生労働省通知法である定量 PCR 法との結果と一致率および検出率を比較したところ、Q-LAMP 法の有用性が示唆された。

(4) 水監視による感染症流行検知システム構築

2013 年に続き、研究対象地域にある外来医療機関(内科・小児科を標榜)において感染性胃腸炎サーベイランスを行った。2014 年 4 月から 2015 年 2 月 28 日までに 55 名の急性胃腸炎患者から検体が採取され、そのうち 26 件(47%)で胃腸炎の原因となり得るウイルスが検出された。ノロウイルス GII 群陽性 16 検体のうち、カプシド領域の遺伝子解析結果を 9 件から得たところ、5 件が GII.6 型、2 件が GII.4 型、1 件が GII.13 型、1 件が GII.17 型であった。2014 年から 2015 年にかけての冬期のノロウイルス流行は全国的にも少なく、研究対象地域においても患者が少なかった。

2012 年にロタウイルスワクチンが導入されたことを受け、2012 年から 2014 年にかけてロタウイルス流行パターンの変化を急性胃腸炎症例、流入下水それぞれから調査した。ロタウイルス感染を認めた胃腸炎症例を見てみると、ロタウイルス検出数の減少傾向が明らかであった。また、研究開始時期よりロタウイルス遺伝子型の変遷が見られた。一方で、流入下水中のロタウイルス量を測定したところ、シーズン間の下水中ロタウイルス濃度には大きな変化は見られなかった。ヒトにおける流行の大きさと下水中の濃度変化との乖離を調べるため、今後、下水中のロタウイルス遺伝子型分布について調査していく予定である。

以上の結果を踏まえ、図1に示したそれぞれの要素である流入下水の定期調査、情報の集約と発信そして感染症動向調査を確実に実行できる技術として開発し、最終目標である感染性胃腸炎監視システムの構築を目指す。

【代表的な原著論文】

1) 三浦郁修, 渡部徹, 渡辺幸三, 福士謙介 (2014) 家庭内での二次感染を考慮したノロウイルス感染症伝播モデルの構築, 土木学会論文集 G (環境), 70, III_295-III_304. (DOI: 10.2208/jscej.70.III_295)

2) 伊藤紘晃, 熊谷卓也, 風間しのぶ, 真砂佳史, 植木洋, 渡部徹 (2014) パイロシーケンシング法による養殖カキ中のノロウイルス GII の網羅的遺伝子解析, 土木学会論文集 G (環境), 70, III_305-III_311. (DOI: 10.2208/jscej.70.III_305)

3) Malasao R, Saito M, Suzuki A, Imagawa T, Nukiwa-Soma N, Tohma K, Liu X, Okamoto M, Chaimongkol N, Dapat C, Kawamura K, Kayama Y, Masago Y, Omura T, Oshitani H. (2015) Human G3P[4] rotavirus obtained in Japan, possibly emerged through a human-equine rotavirus reassortment event. *Virus Genes*, 50(1), 129-133. (DOI: 10.1007/s11262-014-1135-z).