

大容量水試料濃縮手法を利用した東京湾沿岸域におけるウイルス汚染の実態調査

東京大学大学院 正会員 ○端 昭彦
 東京大学大学院 正会員 片山 浩之
 東京大学大学院 正会員 古米 弘明

1. 研究の背景

東京湾沿岸域は世界でも有数の人口集密地域であり、多数の下水処理場に由来する排水が放流されている。また、一部の下水処理場は合流式を採用しており、降雨時には未処理下水や簡易処理下水が放流されることがある。これらより、東京湾沿岸域に位置するお台場海浜公園や城南島海浜公園では病原微生物に由来する健康リスクが危惧されている。従来型の病原微生物指標である糞便性大腸菌群は、腸管系ウイルス由来のリスク管理には不適切であることが指摘されており、ウイルスを対象とした新たな指標の確立が望まれている。

水中には多種のウイルスが存在すると考えられているが、これらの中で、ノロウイルス(NoV)やサポウイルス(SaV)は特にヒトへの健康影響が大きいとされる。また、アイチウイルス(AiV)やエンテロウイルス(EV)、大腸菌に感染するFRNA フェージ(FPH)は、水中に比較的高濃度で存在する傾向があり、腸管系ウイルス指標として有望であるとされている。腸管

系ウイルス由来のリスク管理手法の構築へ向けては、これら複数種のウイルスの挙動についての知見の蓄積が必要である。ウイルスは他の病原微生物と比較して感染力が強く、適切な水の安全性評価のためには10-100 L程度の水量を検査する必要がある。特に大容量水試料からのウイルス検出は大規模な濃縮装置を要するほか、濃縮液中の夾雑物質濃度が高まりやすく、ウイルス検出が妨げられやすいが、著者らはこれらの難点を克服しつつある。本研究では、東京湾沿岸域の複数地点において、大容量水試料を収集し、継続的に複数種のウイルスの存在状況を調査することで、ウイルス汚染の実態解明を試みた。

2. 材料と方法

2010年12月から2011年12月にかけて、月に1度の頻度で東京湾沿岸域の7地点(地点A-G)で水試料を採取した。なお、降雨による影響を排除するため、降雨終了から2日以上経過した後に採水を行った。地点A, Bはそれぞれ東京湾へ注ぐ神田川、隅田川に位置し、地点C, Dはお台場海浜公園に、地点E

表1. 夏期(4-10月)及び冬期(11-3月)における各地点でのウイルス陽性率及び検出濃度範囲.

Site	Season	Positive Rate (Concentration Range (log ₁₀ copies/L))											
		GI-NoV		GII-NoV		SaV		AiV		EV		GII-FPH	
A	S ^a	3/6	(1.2-3.3)	2/6	(1.5-2.5)	5/6	(1.9-5.1)	5/6	(2.4-3.2)	N.A.		6/6	(1.7-3.8)
	W	6/6	(2.1-4.2)	5/6	(1.8-2.6)	6/6	(3.5-5.0)	6/6	(2.6-3.9)	N.A.		6/6	(2.8-4.0)
B	S	5/6	(1.0-2.7)	3/6	(0.6-1.5)	6/6	(1.8-4.0)	6/6	(0.4-3.3)	3/6	(0.8-2.0)	6/6	(2.2-3.4)
	W	6/6	(1.0-3.4)	5/6	(1.0-2.3)	6/6	(3.3-4.9)	6/6	(1.4-3.8)	4/6	(1.0-1.6)	6/6	(2.3-4.2)
C	S	2/5	(1.0-1.2)	0/5		0/5		3/5	(1.5-1.8)	0/5		4/5	(1.4-2.5)
	W	5/6	(2.2-3.3)	5/6	(1.0-1.8)	5/6	(2.9-4.6)	6/6	(1.8-3.6)	3/6	(0.9-1.6)	6/6	(1.6-3.8)
D	S	1/5	(1.4)	0/5		0/5		4/5	(2.0-2.5)	1/5	(2.0)	4/5	(2.0-2.7)
	W	5/5	(1.0-3.6)	4/5	(1.4-2.1)	5/5	(2.5-4.7)	4/5	(2.7-3.5)	1/5	(0.9)	5/5	(1.8-4.2)
E	S	6/6	(1.0-2.7)	0/6		2/6	(2.1-3.6)	5/6	(1.3-2.9)	1/6	(0.9)	5/6	(1.9-3.2)
	W	6/6	(0.7-3.5)	4/6	(0.5-2.1)	5/6	(2.5-4.6)	6/6	(1.3-3.5)	2/6	(0.7-1.1)	6/6	(2.4-4.0)
F	S	3/6	(1.6-2.9)	3/6	(0.7-1.8)	4/6	(3.1-3.4)	5/6	(0.6-2.5)	0/6		6/6	(1.2-3.4)
	W	5/6	(2.2-3.1)	5/6	(0.8-2.0)	5/6	(2.0-4.7)	6/6	(1.5-3.2)	1/6	(4.6)	6/6	(2.2-3.0)
G	S	3/6	(0.8-3.6)	1/6	(2.4)	4/6	(2.0-4.6)	6/6	(2.2-3.8)	2/6	(0.8-0.8)	6/6	(2.4-4.0)
	W	6/6	(1.3-3.5)	5/6	(0.5-2.3)	6/6	(2.9-4.3)	6/6	(1.4-4.0)	1/6	(1.2)	6/6	(2.0-3.3)

^a S: Summer (April-October), W: Winter (November-March)

^b N.A.: Not Available

キーワード 水環境, 東京湾沿岸域, 腸管系ウイルス, 大容量濃縮法

連絡先 〒113-8656 東京都文京区本郷7丁目3-1 工学部14号館408号室 TEL 03-5841-6248

は城南島海浜公園に、地点 F, G は海浜公園周縁の運河部に位置する。試料 40 L (地点 A のみ 20 L) をカートリッジ型陰電荷膜による手法 (Hata et al., 2011) 及びこれに続く遠心式 UF 濃縮ユニットである Centricon plus-70 を用いた手法により 0.7 mL 程度まで減容した。夾雑物質の排除を目的とし、濃縮液を DAX-8 及びゲルろ過ユニットである MicroSpin S-300 HR に通過させた。続いて濃縮液を RNA 抽出操作に供し、RT-qPCR により GI-, GII-NoV, SaV, AiV, EV, GII-, GIII-FPH の遺伝子定量を試みた。

3. 結果と考察

表 1 に各地点での各ウイルスの検出頻度、検出濃度をまとめた。データは夏期(4-10 月)及び冬期(11-3 月)に分けて示した。全般に冬期は高ウイルス陽性率、高検出濃度となる傾向が見られ、検出対象としたウイルスが冬季流行性であることが示唆された。地点別では、河川部である A, B で比較的高濃度となり、海域である C, D, E で比較的低濃度となる傾向であった。SaV, AiV, GII-FPH は特に高濃度かつ高頻度で検出された。図 1 において GII-FPH と他のウイルスの検出濃度を比較した。いずれの比較においても、プロットは概ね傾き 1 の直線の周囲に分布した。これらより、沿岸域においては複数種のウイルスが同様の濃度変動を示すことが示唆された。従って、SaV,

AiV, GII-FPH など、高濃度で存在するウイルス種を調べることで、沿岸域におけるウイルス汚染の度合いが推定可能であると考えられる。また、河川部や運河部と海域でのウイルス検出濃度の差異も考慮すると、河川・運河部に存在していたウイルスは、潮汐等の影響で、海水により一様に希釈されながら海浜公園へ到達していることが想定できる。本研究でウイルス検出に用いた RT-qPCR は、感染力の有無に関係なくウイルス粒子数(遺伝子数)を定量する手法である。本手法により、沿岸域において、ウイルス粒子としての濃度変動はウイルス種に依存しないことが示唆された。今後は、これに併せ感染力を有したウイルスの濃度変動についても評価し、紫外光や塩分、水温等の影響によるウイルスの損傷度合いに関する知見を蓄積していくことが、腸管系ウイルス由来の健康リスク管理手法を構築する上で重要である。

謝辞

本研究は科学研究費補助金・基盤研究(A) 24246090 により行われた。ここに謝意を表する。

参考文献

Hata et al., 2011. Appl. Environ. Microbiol. 77(13):4336-4343.

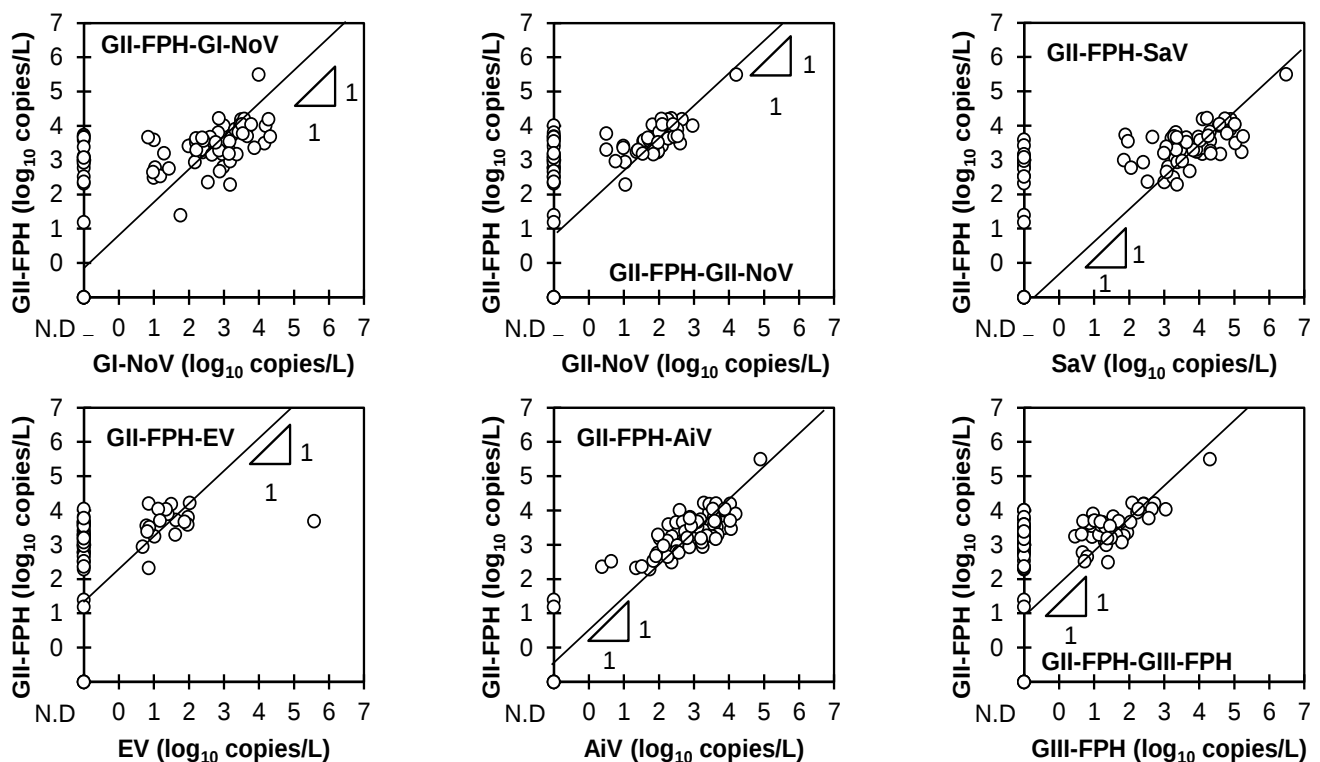


図 1. GII-FPH 検出濃度と他のウイルス検出濃度の関係。(N. D.: Not Detected)