

北米の下水試料から初めて新型コロナウイルス RNA を検出

～感染拡大が深刻な米国における COVID-19 流行状況把握への下水疫学調査の活用～

ポイント

- ・ COVID-19 流行地域である米国ルイジアナ州の下水から新型コロナウイルス RNA を初検出。
- ・ 感染者数増加後の時期に採取した流入下水試料から新型コロナウイルス RNA を検出。
- ・ 日米をはじめ国際的な連携による世界規模での COVID-19 の下水疫学調査の推進に期待。

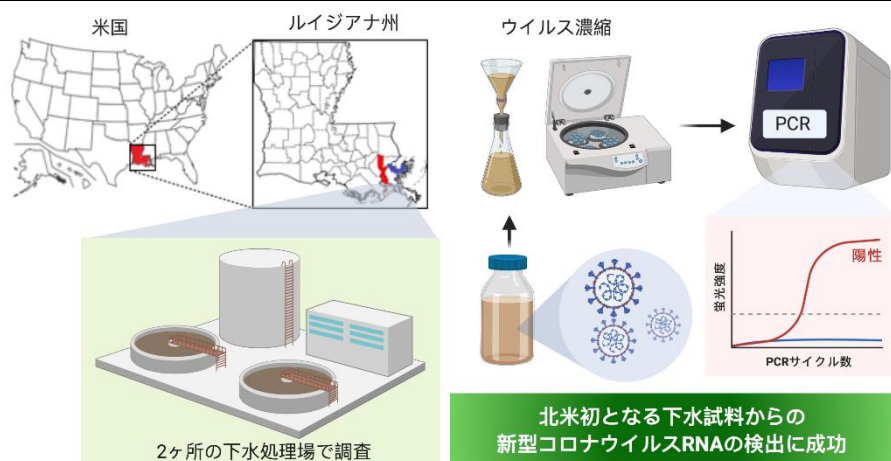
概要

北海道大学大学院工学研究院環境工学部門の北島正章助教と米国テュレーン大学の Samendra P. Sherchan 助教らの国際共同研究グループは、米国ルイジアナ州の下水試料から新型コロナウイルス RNA を検出することに成功しました。本研究成果は、米国を含む北米大陸で初めて下水試料から新型コロナウイルス RNA を検出した事例として論文発表されました。

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の病因である新型コロナウイルスは、約半数以上の感染者の糞便中に排出されるため、下水中の新型コロナウイルスを調査することで下水処理場の処理区域内における COVID-19 の流行状況を把握できる可能性があります。北島助教らの研究グループは、COVID-19 の流行状況を把握する上での下水疫学調査^{*1}の重要性を世界に先駆けて提唱し、国内外の下水等の環境試料中における新型コロナウイルスの存在実態調査や、その手法の開発等の研究に取り組んでいます（本稿 p.3「関連する研究成果」を参照）。

今回、その取り組みの一つとして、米国ルイジアナ州の2ヶ所の下水処理場において2020年1月から4月にかけて下水試料（流入水、二次処理水、塩素消毒後の放流水）を採取し、新型コロナウイルスの存在実態調査を実施しました。その結果、調査対象地域における感染者数が増加した後の流入水から新型コロナウイルス RNA が検出されました。

なお、本研究成果は、2020年6月30日（火）公開の *Science of the Total Environment* 誌（オンライン版）に査読付き研究論文として掲載されました。下水試料からの新型コロナウイルス RNA の検出をめぐっては、北島助教と山梨大学の原本英司教授の研究グループが国内初の事例を先行して論文発表しており（p.3「関連する研究成果」②）、論文としての発表は日本からの報告の方が米国よりも早かったことになります。



本研究成果の概要図

【背景】

2019 年 12 月に中国・武漢で出現した新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) を病因とする新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の世界的感染流行は、2020 年 6 月 26 日現在で、世界において累積で 9,473,214 名の感染者と 484,249 名の死者を発生させています。米国では感染拡大が特に深刻であり、同日現在累積で 2,414,870 名の感染者と 124,325 名の死者が報告されています。米国ルイジアナ州は、米国の中でも COVID-19 報告感染者数の多い州にあたり、2020 年 3 月 9 日に州内で初めての感染者が報告されて以降、2020 年 6 月 26 日現在累積で 52,415 名の感染者と 3,164 名の死者が報告されています。

これまでの多数の研究において新型コロナウイルス RNA が感染者の糞便から検出されることが報告されており、感染者の糞便等に排出されたウイルスが下水処理場に流入することが想定されます。下水疫学調査は、これまで特定の地域におけるポリオウイルスやノロウイルス等の病原ウイルスの流行状況や疫学を把握するために世界中で用いられてきました。最近、オーストラリア、スペイン、イタリア、オランダ、そして日本を含む数多くの国において都市下水からの新型コロナウイルス RNA の検出事例が報告されており、COVID-19 流行状況把握への下水疫学調査の適用可能性が示されてきつつあります。

本研究では、ルイジアナ州南部で採取した下水試料中における新型コロナウイルス RNA の存在状況を調査しました。本論文は、米国を含む北米大陸で初めて下水試料から新型コロナウイルス RNA の検出に成功したことを報告するものです。

【研究手法】

2020 年 1 月から 4 月にかけてルイジアナ州南部に位置する 2 ヶ所の下水処理場 (A と B) において計 15 試料の下水 (流入水 7 試料、二次処理水 4 試料、塩素消毒後の放流水 4 試料) を採取しました。いずれの下水処理場においても標準活性汚泥法による処理の後に塩素消毒を施して処理水を放流しています。

本研究では、2 種類のウイルス濃縮法と 2 種類のリアルタイム PCR 法を組み合わせる下水中の新型コロナウイルス RNA の検出を試みました。具体的には、ウイルス濃縮法としては、「限外ろ過膜法」と「陽イオン吸着・酸洗浄・アルカリ誘出法」を用い、前者では下水試料の種類に関わらず 70-140mL を約 350 μ L に、後者では流入水は 100mL、二次処理水と塩素消毒後の放流水は 750mL を約 650 μ L に濃縮しました。リアルタイム PCR 法としては、米国疾病予防管理センター (CDC) が推奨する 2 種類の系 (CDC N1 系及び N2 系) を使用しました。

【研究成果】

本研究で調査対象とした下水計 15 試料のうち、「限外ろ過膜法」により濃縮した流入水 2 試料 (2020 年 4 月 8 日に処理場 B で採取した 3 試料のうち 1 試料と 4 月 29 日に処理場 A で採取した 1 試料) から新型コロナウイルス RNA が検出されました。4 月 8 日に B 処理場で採取した流入水試料からは CDC N1 系及び N2 系の両方のリアルタイム PCR 法で陽性反応が得られ、試料中の推定ウイルス遺伝子濃度は $4.3 \times 10^3 \sim 7.5 \times 10^3$ 遺伝子コピー/L でした。一方、4 月 29 日に A 処理場で採取した流入水試料からは CDC N2 系で陽性反応が得られ、試料中の推定ウイルス RNA 濃度は 3.1×10^3 遺伝子コピー/L でした。下水試料から新型コロナウイルス RNA が検出されたこれらの日におけるルイジアナ州 B 郡 (一部が B 処理場の処理区域) 及び同州 A 郡 (一部が A 処理場の処理区域) における累積報告感染者数は、それぞれ 308 人 (4 月 8 日) 及び 6,713 人 (4 月 29 日) でした (図 1 参照)。

二次処理水 (4 試料) 及び塩素消毒後の放流水 (4 試料) については、いずれの試料からも新型コロナウイルス RNA は検出されませんでした。これは、今回調査対象とした下水処理場では下水処理工程で新型コロナウイルスが検出下限未満の濃度レベルにまで除去されていることを示すものです。

本研究では下水試料中の新型コロナウイルスの濃縮のために 2 種類の方法を使用しましたが、陽性反応が得られたのは「限外ろ過膜法」の濃縮液のみからであり、「陽イオン吸着・酸洗浄・アルカリ誘出法」の濃縮液からは新型コロナウイルス RNA は検出されませんでした。「陽イオン吸着・酸洗浄・アルカリ誘出法」はエンベロープ（脂質と糖タンパクからなる被膜）を持たない腸管系ウイルス（ノロウイルスなど）の環境水試料からの検出に広く使用されている方法ですが、エンベロープを有する新型コロナウイルスに対しては必ずしも有効ではない可能性があります。

【今後への期待】

本研究では、北島助教らの研究グループが世界に先駆けてその重要性を提唱した COVID-19 の「下水疫学調査」を米国で実施し、調査対象地域における COVID-19 感染流行ピーク時及びその直後に採取した流入下水試料から新型コロナウイルス RNA を検出することに成功しました。今回の論文は、過日の日本からの論文報告（p.2「関連する研究成果」②）に続き、米国を含む北米大陸で初めてとなる下水試料からの新型コロナウイルス RNA の検出成功を報告する査読付き論文であり、科学的根拠に基づく COVID-19 の下水疫学調査の概念実証が両国で進んでいることを示すものであると言えます。特に米国は世界でも感染拡大が深刻な国の一つであり、COVID-19 の流行状況把握に向けた下水疫学調査の早急な実用化が望まれています。このような中で、米国の研究グループが立ち上げ北島助教ら日本の研究者も参画する COVID-19 の下水疫学に関する世界的な調査研究プロジェクトが進行中であり、今後は国際的連携による下水疫学調査の進展が期待されます。

【関連する研究成果】

- ①北海道大学・山梨大学共同プレスリリース「下水中の新型コロナウイルスに関する世界初の総説論文を発表～COVID-19 の流行状況を把握する上での下水疫学調査の有用性を提唱～」

発表日：2020 年 5 月 14 日

U R L： <https://www.hokudai.ac.jp/news/2020/05/-covid-19.html>

- ②山梨大学・北海道大学共同プレスリリース「国内初となる下水試料からの新型コロナウイルス RNA の検出に成功～COVID-19 流行状況監視への下水疫学調査の活用に期待～」

発表日：2020 年 6 月 26 日

U R L： <https://www.yamanashi.ac.jp/wp-content/uploads/2020/06/20200626pr.pdf>

- ③北海道大学・山梨大学共同プレスリリース「下水中のコロナウイルス濃縮回収率を手法ごとに評価～COVID-19 の下水疫学調査を実施する上での標準的手法確立に期待～」

発表日：2020 年 7 月 10 日

U R L： <https://www.hokudai.ac.jp/news/2020/07/covid-19-2.html>

【研究費情報】

本研究の一部は、独立行政法人日本学術振興会 科学研究費助成事業 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化（B））（18KK0270, 研究代表：左近直美）の支援を受けて実施されたものです。

論文情報

論文名 First detection of SARS-CoV-2 RNA in wastewater in North America: A study in Louisiana, USA (北米における下水中の新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) RNA の初検出：米国ルイジアナ州での研究)

著者名 Samendra P. Sherchan¹, Shalina Shahin¹, Lauren M. Ward¹, Sarmila Tandukar², Tiong G. Aw¹, Bradley Schmitz³, Warish Ahmed⁴, Masaaki Kitajima⁵ (¹米国・テュレーン大学, ²山梨大学大学院総合研究部, ³米国・ラウドンウォーター, ⁴オーストラリア・連邦科学産業研究機構, ⁵北海道大学大学院工学研究院)

雑誌名 *Science of the Total Environment* (環境科学の専門誌)

D O I 10.1016/j.scitotenv.2020.140621

公表日 2020年6月30日(火)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院工学研究院 助教 北島正章(きたじままさあき)

T E L 011-706-7162/5587 F A X 011-706-7162 メール mkitajima@eng.hokudai.ac.jp

U R L https://www.eng.hokudai.ac.jp/labo/water/member_MasaakiKitajima.html

配信元

北海道大学総務企画部広報課(〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimuhokudai.ac.jp

【参考図】

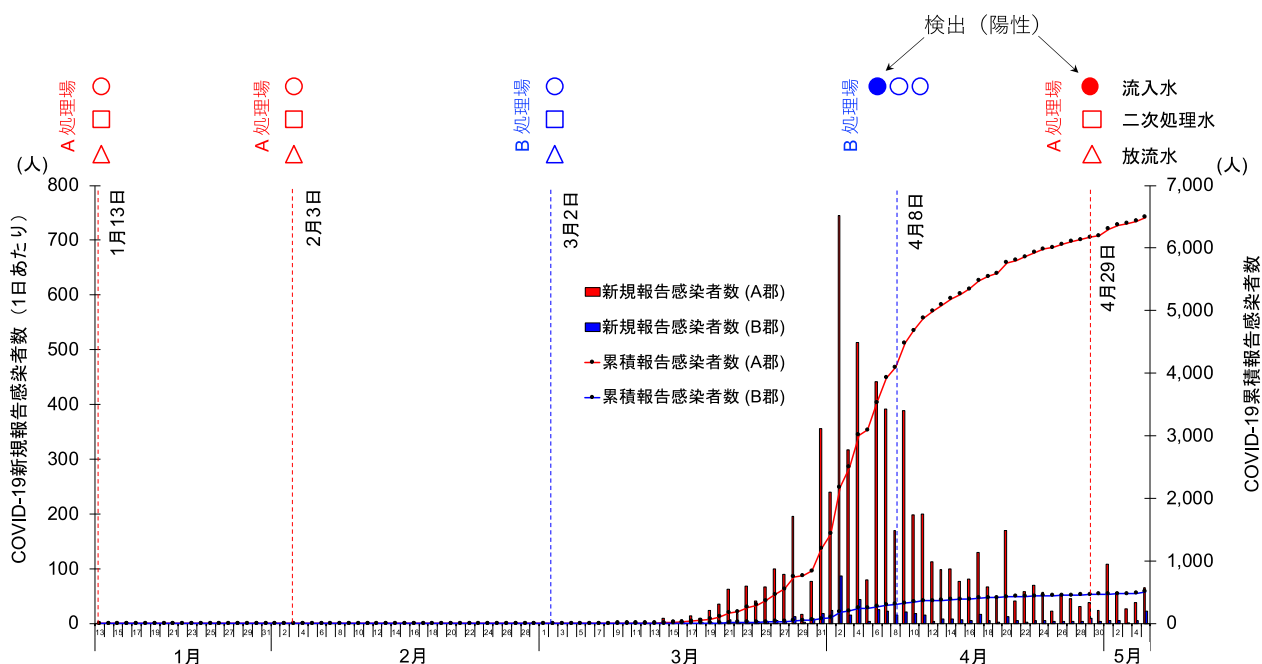


図1. 米国ルイジアナ州の下水試料からの新型コロナウイルス RNA の検出結果及び調査対象地域における COVID-19 感染報告者数の推移(「A/B 郡」はそれぞれ「A/B 処理場」が位置する同州の郡を指す)

【用語解説】

*1 下水疫学調査 … 「下水疫学」は学問分野である「Wastewater-based epidemiology」の訳語であり、北島助教と山梨大学の原本教授の研究グループが考案。「調査」を付けることで、調査する行為そのものを意味する。