

令和4年1月14日

各報道機関 御中

国立大学法人山梨大学

下水からオミクロン変異を有する新型コロナウイルス遺伝子を検出 ～変異株の流行監視への下水疫学調査の有効性を実証～

ポイント

- ・ 2022年1月に山梨県内4ヶ所の下水処理場で採取した下水から主にオミクロン株に見られる変異を有する新型コロナウイルス遺伝子を検出。
- ・ 第4波のアルファ株から第5波のデルタ株への流行変異株の置き換わりを下水でも観測。
- ・ COVID-19に対する下水疫学調査が変異株の流行監視にも活用されることが期待。

山梨大学大学院総合研究部附属国際流域環境研究センターの原本英司教授の研究グループは、2022年1月に採取した下水からオミクロン変異¹⁾を有する新型コロナウイルス遺伝子を検出することに成功しました(表1)。

約半数以上の感染者の糞便中に新型コロナウイルスが排出されることから、下水中の新型コロナウイルスを定期的に調査することで地域や施設における新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の流行状況を捉える「下水疫学調査」²⁾が現在社会的にも注目されています。原本教授は、国内外の研究者と共に下水疫学調査の有用性を世界に先駆けて提唱し³⁾、下水中における新型コロナウイルスの検出調査⁴⁾や下水からの検出法の開発⁵⁻⁷⁾等に取り組んでいます。

今回、2021年12月第2週～2022年1月第3週に山梨県内5ヶ所の下水処理場で採取した下水17試料に対し、主にオミクロン株が特徴的に有する2ヶ所の変異(E484A変異、G339D変異)を対象とした逆転写定量PCRを適用した結果、1月第3週に採取した4試料(4ヶ所の処理場の各1試料)が2種類の変異のいずれかまたは両方に陽性反応を示しました。一方、12月に採取したいずれの下水からもこれら2種類の変異は検出されませんでした。

また、第4波と第5波を含む1年間の下水疫学調査の結果より、変異株の流行状況が下水から検出される変異にも反映されることが確認されました。本研究により、新たに出現する変異株に対しても下水疫学調査が有効となる可能性が示され、今後、下水疫学調査の社会実装に向けた動きが加速することが期待されます。

【COVID-19の下水疫学調査に関するこれまでの研究の展開】

原本教授らが2020年5月に発表したプレスリリース³⁾を契機に、国内でも新型コロナウイルス感染症(COVID-19)に対する「下水疫学調査」²⁾が、地域や施設におけるCOVID-19の感染流行状況を迅速かつ効率的に把握し、感染拡大防止に貢献し得る科学技術として注目を集めています。2020年6月に原本教授らが山梨県内の下水処理場で採取した下水から新型コロナウイルス遺伝子を検出することに国内で初めて成功したのを皮切りに⁴⁾、国内各地から続々と調査事例が報告されてきています。しかしながら、諸外国と比較して感染者の割合が低いことに起因して下水中の新型コロナウイルス濃度も低いため、検出が難しいことが課題となっていました。

そこで、原本教授は、タカラバイオ(株)との共同研究を通じ、下水中の新型コロナウイルス遺伝子を高感度で検出可能な逆転写定量PCRキット「SARS-CoV-2 Detection RT-qPCR Kit for Wastewater」(型番RC390A)⁸⁾を開発し、(公社)日本水環境学会 COVID-19 タスクフォースが公表している手法⁹⁾では検出できない下水の多くから新型コロナウイルス遺伝子を検出することに成功しており、国内でも下水疫学調査を実施可能であることを示してきました⁶⁾。

【下水からのオミクロン変異を有する新型コロナウイルス遺伝子の検出】

2021年12月第2週～2022年1月第3週に山梨県内5ヶ所の下水処理場(甲府市管理:1ヶ所,山梨県管理:4ヶ所)において採取した下水17試料に対し、ポリエチレングリコール沈殿法による濃縮とRNA抽出操作に供した後、タカラバイオ(株)との共同研究で開発した逆転写定量PCRキット「SARS-CoV-2 Detection RT-qPCR Kit for Wastewater」(型番RC390A)⁸⁾と変異検出用プライマー・プローブセット(Primer/Probe E484A(SARS-CoV-2)(型番RC322A), Primer/Probe G339D(SARS-CoV-2)(型番RC323A))を組み合わせることにより、オミクロン株に主に見られる2ヶ所の変異(E484A変異およびG339D変異)の検出を試みました。その結果、1月第3週に採取した5試料のうち、2試料からE484A変異、4試料からG339D変異が検出され、4試料からいずれかまたは両方の変異が検出されました。一方、12月第2週～1月第2週に採取した12試料からはいずれの変異も検出されませんでした。

なお、野生株と変異株を区別せずに「SARS-CoV-2 Detection RT-qPCR Kit for Wastewater」を用いて新型コロナウイルス遺伝子を測定した結果、1月第3週に採取した5試料すべてが陽性となりました。

表1 下水からのオミクロン変異を有する新型コロナウイルス遺伝子の検出結果

試料採取週	県内のCOVID-19新規感染者数(人/週)	甲府市			山梨県											
					A処理場			B処理場			C処理場			D処理場		
		新型コロナウイルス	E484A変異	G339D変異	新型コロナウイルス	E484A変異	G339D変異	新型コロナウイルス	E484A変異	G339D変異	新型コロナウイルス	E484A変異	G339D変異	新型コロナウイルス	E484A変異	G339D変異
12月第2週	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12月第3週	3	+	-	-												
12月第4週	1	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
1月第2週	92	-	-	-												
1月第3週	204	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-

+: 検出, -: 非検出, 空欄: 試料なし
1月第3週の新規感染者数は1月9～13日の5日間の集計

【下水中の新型コロナウイルス遺伝子の長期モニタリング】

2021年1月～2022年1月に甲府市浄化センターにおいて概ね週1回の頻度で採取した下水を「SARS-CoV-2 Detection RT-qPCR Kit for Wastewater」を用いて検査した結果、51試料23試料(45%)から新型コロナウイルス遺伝子が検出され、第5波期間中には常時検出されました。

さらに、新型コロナウイルス遺伝子が検出された試料に対して変異を測定したところ、第4波期間中には主にアルファ株が有するN501Y変異が検出されていたのに対し、第5波期間中には主にデルタ株に見られるL452R変異とT478K変異が高頻度で検出され、デルタ株へと流行株が置き換わっている状況を反映しているものと考えられました。

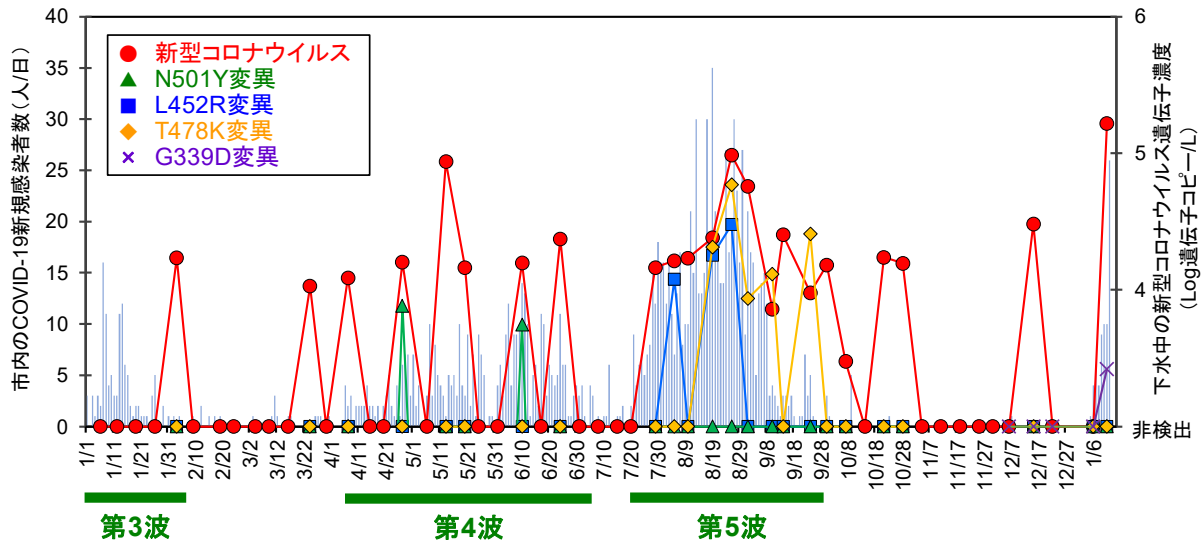


図1 下水中の新型コロナウイルス遺伝子の長期モニタリング結果

【今後の展望】

現在、オミクロン株の同定は時間を要するゲノム解析に依存していることから、解析に供される患者検体数には限りがあり、変異株の感染拡大状況を十分には把握できていません。逆転写定量PCRを用いて下水を定期的にモニタリングすることで、地域や施設への変異株の流入を迅速かつ効率的に検知できる可能性があり、今後も継続した調査研究が望まれます。逆転写定量PCRによるスクリーニングに加え、下水に対してもゲノム解析を取り入れることで、より詳細な変異株に関する情報を得られると期待されます。また、インフルエンザウイルスやノロウイルス等の疫学上重要な病原ウイルスへの下水疫学調査の拡張も望まれます。

研究支援

- ・ タカラバイオ株式会社 共同研究
- ・ 国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 関連国際緊急共同研究・調査支援プログラム (J-RAPID) 「下水疫学調査による新型コロナウイルスの感染流行状況のリアルタイム監視」(課題番号: JPMJJR2001)
- ・ 厚生労働行政推進調査事業費補助金 (新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業) 「新型コロナウイルス感染症等の感染症サーベイランス体制の抜本的拡充に向けた人材育成と感染症疫学的手法の開発研究」(課題番号: JPMH20HA2007)

- 1) 本研究では、主にオミクロン株が特徴的に有する変異である E484A 変異と G339D 変異を対象とした。
- 2) 「下水疫学」は学問分野である「Wastewater-based epidemiology」の訳語であり、原本教授が北島正章准教授（北海道大学）と共に考案。「調査」を付けることで、調査する行為そのものを意味する。
- 3) 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～」
<https://www.yamanashi.ac.jp/wp-content/uploads/2020/05/20200514pr.pdf> (2020年5月14日)
- 4) 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～」
<https://www.yamanashi.ac.jp/wp-content/uploads/2020/06/20200626pr.pdf> (2020年6月26日)
- 5) 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～」
<https://www.yamanashi.ac.jp/wp-content/uploads/2020/07/20200710pr.pdf> (2020年7月10日)
- 6) 山梨大学プレスリリース「下水中の新型コロナウイルス遺伝子の高感度検出法を開発～変異株の流行把握をはじめ COVID-19 下水疫学調査の社会実装に貢献～」
<https://www.yamanashi.ac.jp/wp-content/uploads/2021/09/202109015pr.pdf> (2021年9月15日)
- 7) JNC (株)・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の磁気分離技術を開発～下水疫学調査に大きく貢献～」
<https://www.yamanashi.ac.jp/wp-content/uploads/2021/12/20211216press.pdf> (2021年12月16日)
- 8) タカラバイオ (株) ウェブサイト「SARS-CoV-2 Detection RT-qPCR Kit for Wastewater」
https://catalog.takara-bio.co.jp/product/basic_info.php?unitid=U100009513
- 9) (公社)日本水環境学会 COVID-19 タスクフォース「下水中の新型コロナウイルス遺伝子検出マニュアル」
https://www.jswe.or.jp/aboutus/pdf/SARS-CoV-2_RNA_Detection_Manual_for_Wastewater.pdf (2021年3月30日)

研究についての問い合わせ先

山梨大学大学院総合研究部 教授 原本 英司 (はらもと えいじ)

TEL : 055-220-8725

E-mail : eharamoto@yamanashi.ac.jp

URL : <http://www.ccn.yamanashi.ac.jp/~eharamoto/>

広報についての問い合わせ先

山梨大学総務部総務課広報企画室

TEL : 055-220-8005, 8006

FAX : 055-220-8799

E-mail : koho@yamanashi.ac.jp