

審査の結果の要旨

氏名 原本 英司

ウイルスによる水系感染症の発生を抑制するためには、信頼できる手法でウイルスを検出し、水環境中のウイルスの挙動を明らかにする必要がある。その知見は、感染リスクを制御するための社会システムの構築に必要不可欠である。

本研究は、「水環境中における腸管系ウイルスの挙動の定量的解析」と題し、10章より構成されている。

第1章「序論」は、研究の背景と目的を示している。第2章は、「既存の研究」である。第3章は、「実験方法」であり、用いた実験手法を示すと共に、リアルタイム PCR によるウイルスの定量的な検出法を説明している。

第4章「水試料中のウイルスの検出法の確立」では、陽イオン吸着・酸洗浄・アルカリ誘出法 (Mg 法) または陽イオン添加型陰電荷膜法 (AI 法) を1次濃縮法として、MilliQ 水、水道水、ボトル水、河川水、海水、池水、および、下水処理場の各処理段階の水試料に適用し、ポリオウイルスとノロウイルスの回収率を検討している。2次濃縮法としての Centiprep YM-50 (Millipore) は、ポリオウイルス、ノロウイルスおよび Q β フェージに対して高い回収率を示したとしている。この結果より、水試料中のウイルスを検出する場合、Mg 法または AI 法を用いた1次濃縮操作と Centiprep YM-50 を用いた2次濃縮操作の組み合わせが有効であると結論している。

第5章「濃縮法によるウイルス核酸の回収率の測定」では、ポリオウイルス RNA の回収率を測定し、外套蛋白に保護されていないウイルス核酸が、濃縮法によって回収される可能性について定量的な検討を行っている。Mg 法を用いた場合、MilliQ 水、水道水、下水処理水および海水から高いウイルス粒子の回収率が得られ、RNA の回収率に比べ、粒子の回収率は 6.6 ~ 14.9 倍高かったことを示している。結論として、ウイルス粒子の選択的な濃縮を行う手法として Mg 法が適しているとしている。

第6章「水環境中におけるウイルスの季節変動の調査」では、下水処理場、河川および海水を対象とした調査により、水環境中に存在する複数種のウイルスの検出に成功している。ウイルスの中では、ノロウイルスとサポウイルスが明確な季節変動を示すこと、下水試料中のウイルス濃度が上昇する冬期には河川水中のウイルス濃度も上昇することを見出している。

また、流入水中のノロウイルスやサポウイルス濃度と感染者の分離報告数との間に相関があることを示している。下水処理場流入水中のウイルスを測定することにより、処理区域内におけるウイルス感染者の発生動向を推定できる可能性があるとしている。

下水試料中の指標微生物の季節変動や除去率、および、河川水中におけるウイルスの濃度と指標微生物の濃度との相関などの調査結果より、指標微生物による下水処理場でのウイルスの除去効果の監視、あるいは、放流先である河川水中でのウイルスの濃度の監視には、限界があることを示している。

第7章「降雨による海水中のウイルスの濃度変動の調査」では、東京湾内の5地点の海水

を対象に採水調査を行い、海水中におけるウイルス（アデノウイルス、ノロウイルス）と指標微生物（大腸菌群、大腸菌）の濃度が、降雨によって1~2 log 程度増加し、降雨後に晴天時の濃度まで低下するのに数日間を要する例を観測している。また、潮位の変動は降雨に比べ、ウイルスと指標微生物の濃度変動に与える影響は小さいとしている。

お台場海浜公園の海水浄化実験の区域内に位置する採水点では、ウイルスと指標微生物の濃度が区域外の地点よりも低い値を示し、当該の浄化システムがウイルス濃度の低下に有効であるとしている。

第8章「水試料中におけるノロウイルスおよび他のウイルス、指標微生物の消長」では、ノロウイルスをはじめとした微生物の水道水、池水、河川水および下水処理水中における生残率（培養法により測定）と残存率（リアルタイム PCR により測定）の経時変化を測定し、細胞培養系が確立されていないノロウイルスの水中での消長の特性を明らかにしている。また、ポリオウイルスの測定結果解析により、残存率から生残率を推定することが可能であるとしている。

第9章「下水処理水中のウイルスおよび指標微生物の低減手法の検討」では、添加系（試料に対象微生物を高濃度で添加する系）と非添加系（試料中に元々低濃度で含まれる微生物の野生株を対象にする系）における下水処理水中の微生物の不活化効果および除去効果（塩素消毒処理、紫外線照射処理、オゾン処理、膜ろ過処理）を測定している。

塩素消毒処理においては、大腸菌と大腸菌ファージの生残率は、添加系よりも非添加系で高い値を示し、添加系では塩素耐性を過小評価していることを明らかにしている。ノロウイルス G2 型の残存率に関しては、塩素消毒効果は添加系と非添加系で同程度であることも示している。

紫外線照射処理においては、添加系および非添加系の双方で、大腸菌ファージ、ポリオウイルス、ノロウイルス G2 の濃度が、紫外線照射量に対し1次反応で低下することを示している。ノロウイルス G2 の場合、添加系と非添加系で同程度の紫外線耐性を示すこと、大腸菌と大腸菌ファージの場合は、添加系と非添加系で異なる紫外線耐性を示すことを明らかにしている。

第10章「結論」には、本研究で得られた、水環境中における腸管系ウイルスの挙動に関する知見をまとめて示すと共に、感染リスク制御の観点から、各ウイルスが示す季節変動に加え、降雨による短期的なウイルスの濃度変動も考慮することが重要であることを指摘している。

以上のように本論文は、水環境中の腸管系ウイルスの挙動に関する優れた研究成果であり、都市環境工学の学術分野の発展に大きく貢献するものである。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。