

## 審査の結果の要旨

氏名 北島 正章

本論文は、Molecular Epidemiological Analysis of Pathogenic Viruses in Water Environments and Risk Assessment (水環境中における病原ウイルスの分子疫学的解析および感染リスク評価)と題する。近年世界規模での大きな社会問題となってきたノロウイルスや鳥インフルエンザウイルスを含む幅広い病原ウイルスを対象として、水環境中におけるウイルスの遺伝的多様性とヒトへの感染リスクについて研究したものである。本論文は以下の 8 章で構成されている。

第 1 章では、水環境中の病原ウイルスの遺伝子解析および高病原性鳥インフルエンザウイルスの感染リスク評価を実施することの意義ならびに本論文の目的と構成を示している。

第 2 章では、水系感染性の病原ウイルスについての既存の知見をまとめている。病原ウイルスについての概論、ヒトへの健康被害と集団感染報告事例、消毒処理感受性や環境中における生残性、水中のウイルスの検出法と検出事例、ヒトへの感染リスクの定量的評価などに関する既存の研究事例を整理して示している。

第 3 章では、下水および河川水中におけるノロウイルス、サポウイルスおよびアイチウイルスの存在状況ならびに遺伝的多様性を調査している。具体的には、水試料中のウイルス遺伝子を Nested RT-PCR 法により増幅し、PCR 産物をクローニング後、塩基配列を決定することで遺伝子型を同定するとともに遺伝的多様性を解析している。ここで、GIV ノロウイルス、サポウイルスについては、遺伝子増幅のための新たなプライマーを開発している。ノロウイルスについては、胃腸炎感染者から検出されるウイルス株は GII 株が大部分 (90%) を占めるが、本研究の調査では水試料から GI 株のほうが高頻度に検出されたことを報告しており、急性胃腸炎事例として報告されない GI 感染者が流域に多数存在していた可能性を示している。さらに、GIV ノロウイルスの遺伝子増幅のための新たな Nested RT-PCR を開発し水試料からのウイルス検出に適用することで、下水および河川水中における GIV ノロウイルスの存在状況および遺伝的多様性に関する新たな知見を得ることに成功している。サポウイルスについても新たな Nested RT-PCR を構築し、水環境中のサポウイルスの遺伝的多様性に関する新たな知見を得ている。アイチウイルスに関しては、これまで考えられてきた以上に遺伝的に多様なウイルス株がヒトの間で広く流行していることを示す知見を示している。以上の結果より、水環境中のウイルス遺伝子を網羅的に解析することにより流域におけるウイルス感染症の真の流行状況像を把握することが可能であるとの結論を導いている。

第 4 章では、Real-time RT-PCR によるアイチウイルスの核酸定量法を開発し、下水中におけるアイチウイルスの挙動の定量的解析を実施している。開発した核酸定量法は、アイチウイルスの迅速検出、定量および Genotype 識別が可能であり、アイチウイルスの疫学と環境中での挙動を解明するための有用なツールであるとしている。また、この方法を国内二ヶ所の下水処理場の下水中からのアイチウイルス検出に適用し、下水中におけるアイチウ

ウイルス濃度の年間変動を調査するとともに、下水処理場における除去率を算出してその他のウイルスや指標微生物の挙動と比較している。アイチウイルスは下水流入水および放流水から年間を通じて検出され、下水処理による除去率は他のウイルスと同程度であったことから、新たなウイルス指標として有望であるとの結論を導いている。

第5章では、水中のA型インフルエンザウイルスの濃縮法を開発している。まず、水中の腸管系ウイルスの濃縮を目的として開発され、様々な水試料からのウイルス検出に適用されてきた既存の3種類の濃縮法(Mg法、Al法、1MDS法)によるA型インフルエンザウイルスの濃縮回収率を測定したところ、これら既存の濃縮法では感染性のA型インフルエンザウイルス粒子を効率良く回収できなかったことを示している。そこで、感染性のA型インフルエンザウイルス粒子の回収を目的として、界面活性剤系の誘出液を使用した濃縮法を新たに開発している。開発した濃縮法(Mg-Tween法)を使用することで、実用可能なレベル(30%以上)の感染性ウイルス回収率が得られたとしている。

第6章では、水の消毒処理(塩素、モノクロラミンおよび紫外線)によるA型インフルエンザウイルスの不活化特性を解析している。本研究でのA型インフルエンザウイルスの不活化実験結果と既に報告されている腸管系ウイルスの実験結果とを比較し、A型インフルエンザウイルスは、いずれの消毒処理についても大部分の腸管系ウイルスよりも速やかに不活化することを示している。我が国では、水道法により給水栓末端で0.1 mg/L以上の遊離塩素濃度を確保することが義務付けられているが、この濃度の遊離塩素で消毒した場合にはA型インフルエンザウイルスは速やかに不活化することから、仮に水道原水がA型インフルエンザウイルスにより汚染されたとしても上水道で施されている通常の塩素消毒により十分な不活化が期待できると結論付けている。

第7章では、高病原性鳥インフルエンザウイルスの定量的感染リスク評価モデルを開発している。具体的には、まず一羽の感染カモ糞便に汚染された河川水を感染源とした水系感染リスクを定量的に評価している。不確実性を含む原単位はその分布を推定した上でモンテカルロ法による計算を実施した結果、河川での遊泳に伴う感染確率の中央値は $9.4 \times 10^{-11}$  [infection/person/swim]、浄水場でのウイルス除去率を $4 \log_{10}$ とした場合の水道水飲用に伴う感染確率の中央値は $10^{-13}$  [infection/person/year]未満であることを示している。更に、空気を介した感染リスク評価モデルも開発している。また、ヒトが高病原性鳥インフルエンザウイルスに感染した場合には感染後経時的に致死率が上昇するが、この反応を表現するために従来型 Dose-Response モデルに時間項(感染後死亡までの時間)を組み込み、新たな Time-Dose-Response モデルを開発することに成功している。

第8章は総括であり、本論文の結論および今後の展望について整理して示している。

本論文では、水環境中におけるノロウイルス、アイチウイルスおよびサポウイルスの挙動と遺伝的多様性に関する数多くの新たな知見を得ているとともに、インフルエンザウイルスの濃縮法の開発、不活化特性の解析および感染リスク評価モデルの開発を行っている。このように、本論文は、水中病原ウイルスの感染リスク管理に資する新たな知見をまとめたものであり、都市環境工学の学術分野に大いに貢献する成果である。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格であると認められる。