

2021年12月16日

厚生労働省アドバイザーボード資料

第63回(令和3年12月16日) 新型コロナウイルス感染症対策 アドバイザーボード	資料3-7
北島先生提出資料	



北海道大学

下水サーベイランスに関する研究開発状況

北海道大学 大学院工学研究院 環境工学部門

准教授 北島 正章

本発表の論点

1. 下水中SARS-CoV-2 RNA検出法の感度

- 北大・塩野義法：10万人あたり新規報告感染者1人/日程度の低流行期でも検出可能
 - 下水「陰性」が大きな意味を持つ

2. 下水検体のゲノム解析による変異株検出と分子疫学把握

- アルファ株、デルタ株等の検出実績あり、実証済

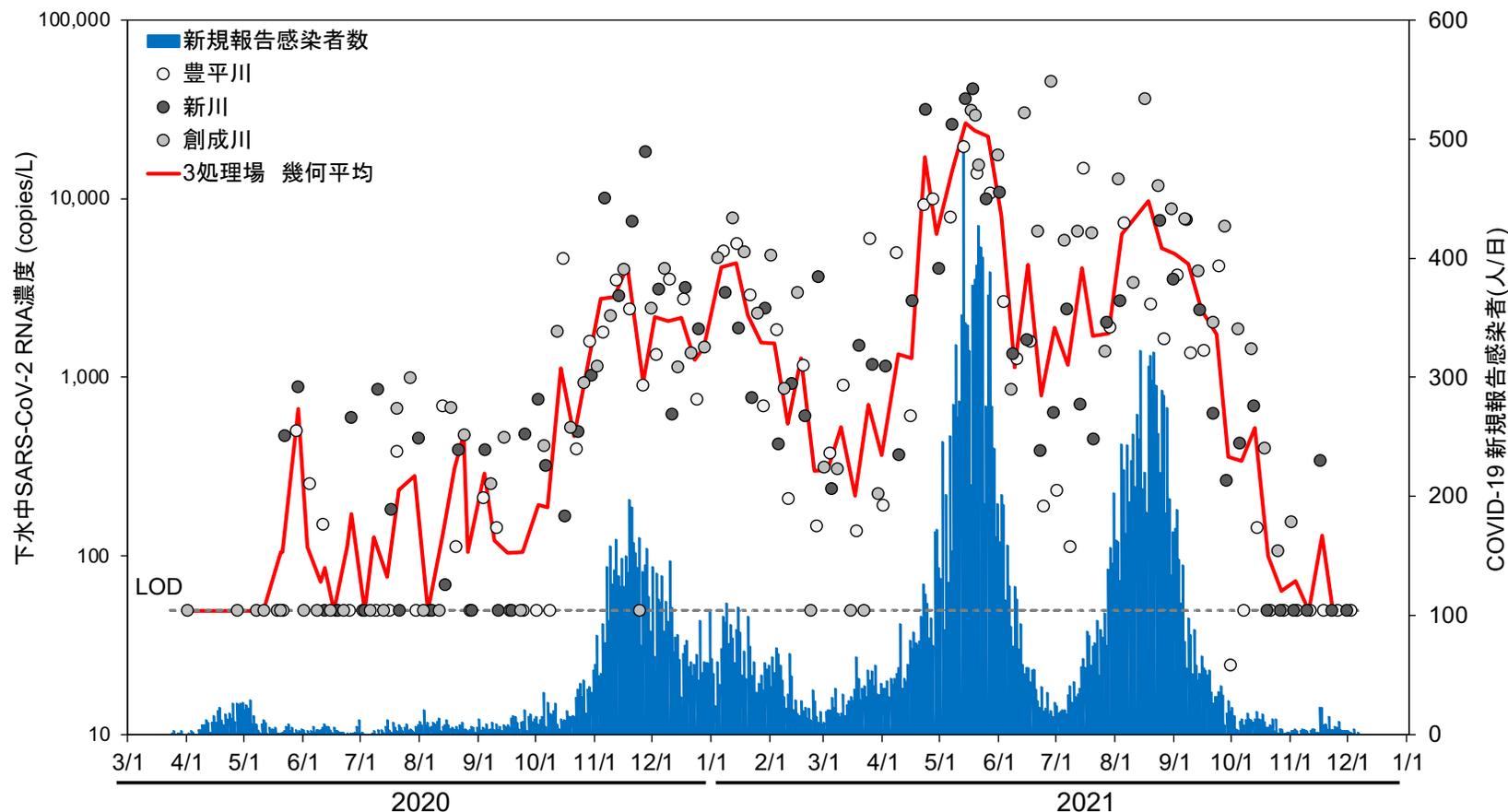
3. 下水の検査体制とキャパシティ

- 民間企業(塩野義製薬など)の受託分析サービスの活用によるキャパシティ増加

1. 下水中SARS-CoV-2 RNA検出法の感度

下水中SARS-CoV-2 RNA長期定量調査: 札幌市の結果

■ 高感度検出法(北大・塩野義法)を使用した定量調査



- 下水中SARS-CoV-2 RNA濃度と新規陽性者数の増減パターンが概ね合致することを実証
 - 下水疫学情報に基づく感染流行状況把握が可能

オリパラ選手村での調査: 毎日全員に検査を実施する集団に対する下水サーベイランス

結果の概要

オリンピック・パラリンピック共通

- 陽性者の報告がないエリアの下水からも検出される場合が多くあったが、その理由として今回の下水調査に使用した手法の検出感度が高く、一般的に感染性がないとされている既感染者やウイルス量の少ない不顕性感染者から排出されたウイルスRNAも検出していたことなどが考えられる。
- 下水（パッシブサンプリング）から3日間連続して検出されなかった場合は、概ね人からも検出されなかった。 下水「陰性」の持つ意味
- ゲノム解析によりSARS-CoV-2配列を確認し、変異株が検出された。

オリンピック

- 競技期間中、下水からの検出地点数、およびウイルス濃度が持続的に増加し続けることはなかった。
- 選手村内居住者における持続的な感染拡大が起こらなかったことと合致する結果であると考えられる。

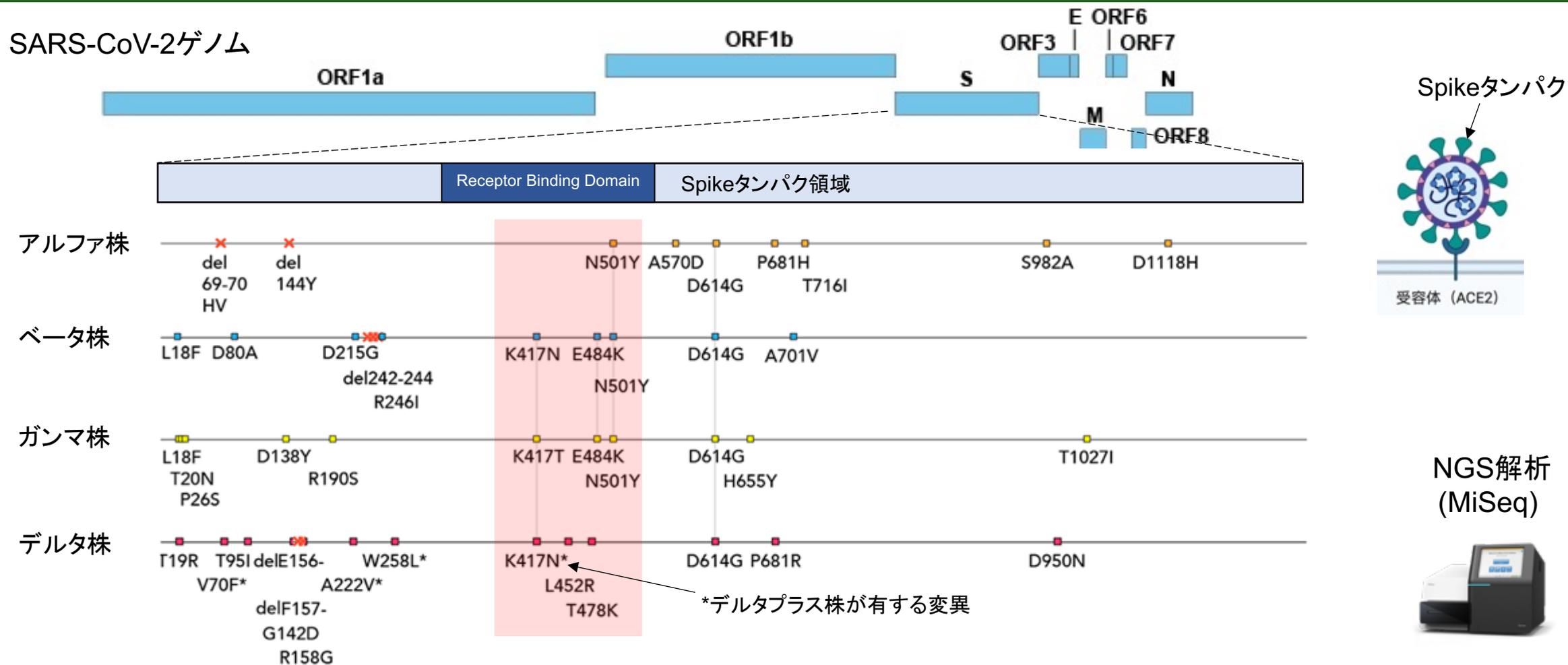
パラリンピック

- 開村期間中毎日下水から検出され、オリンピック期間に比べて検出率、濃度ともに高い傾向にあった。
- オリンピック期間中と比較して既感染者等のウイルス保有者が多かったことを示唆する結果と考えられるが、下水からの検出結果と既感染者数等との関連性について精査中。

(赤線および赤文字は本発表のために上書きしたもの)

2. 下水検体のゲノム解析による変異株検出と分子疫学把握

下水中の各種変異株の検出法の確立



■ 塩野義製薬、東京大学医科学研究所と共同でSpikeタンパク領域の一部のゲノム解析に基づく変異株検出法を確立

2. 下水検体のゲノム解析による変異株検出と分子疫学把握

都市下水からの変異株の検出動向

参照配列: Wuhan株 (NC_045512)

✓ 変異call (VAF > 0.05)

第3波

2021年3月
市内でα株初確認

第4波

2021年6月
市内でδ株初確認

第5波

処理場	'20/11/19	'20/12/4	'21/1/7	'21/5/14	'21/5/17	'21/5/19	'21/5/21	'21/5/28	'21/5/31	'21/7/28	'21/7/30	'21/8/2
A処理場				従来型等	α(10.6%) 従来型等			α(99.8%)		δ(99.8%)	δ(76.4%) 従来型等	α(37.5%) δ(57.2%)
B処理場	第一施設					α(6.1%) δ(6.6%) 従来型等			従来型等	δ(89.7%) 従来型等	従来型等	δ(24.6%) 従来型等
		第二施設	従来型等		α(12.4%) 従来型等	α(92.8%) 従来型等	α(12.0%) 従来型等	α(100.0%)		α(98.7%)	δ(100.0%)	γ(39.6%) 従来型等
C処理場	第一施設		α(5.9%) 従来型等		α(9.1%) 従来型等	α(98.1%)				α(51.5%) δ(30.4%) γ(5.5%)	δ(100.0%)	δ(97.6%)
		第二施設					α(6.0%) 従来型等			α(24.8%) δ(61.8%) 従来型等	δ(100.0%)	α(6.0%) δ(92.2%)

コンポジットサンプル

グラブサンプル

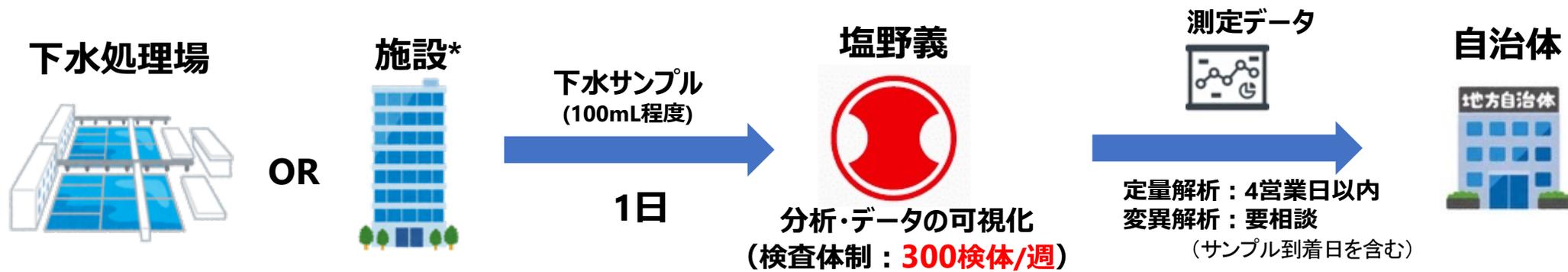
未解析

(*数字は各試料中の全SARS-CoV-2リード中の当該変異株の割合)

- 5/19採取の下水から**デルタ株**を検出: 市内での疑い例初確認(6月)より1ヶ月以上早い
- 主流株の変遷: **アルファ株**(5月) → **デルタ株**(8月)

3. 下水の検査体制とキャパシティ

塩野義製薬の下水疫学調査サービス体制

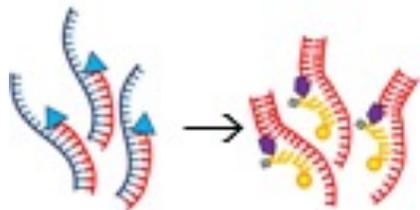


データを数日中に自治体・施設へ返却することで行政判断の材料や疫学調査の指標として活用いただきたい

サービスの提供内容

➤ 定量的な新型コロナウイルス濃度測定

- 定量PCRによる下水中に含まれる新型コロナウイルスRNA量の測定 (内部標準: ヒト糞便中に大量に含まれるPMMoV**)
- 地域感染者数を共有いただければ、合わせてデータを返却
- 既に国内複数自治体、施設で導入実績あり

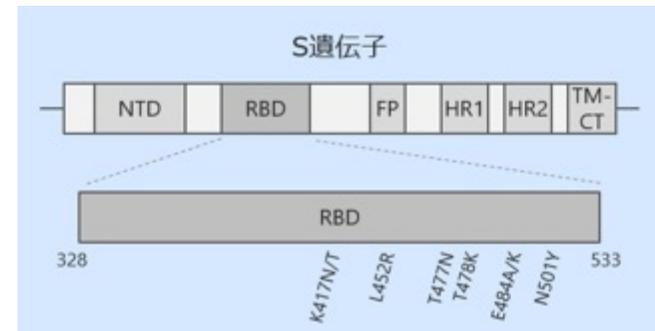


高感度/高スループットな解析体制
(北海道大学・塩野義の共同開発)

サービスのOption

➤ 塩基配列解析による変異型コロナウイルスの検出

- 変異株の発生および蔓延状況の把握・早期検知
- オミクロン株にも対応予定

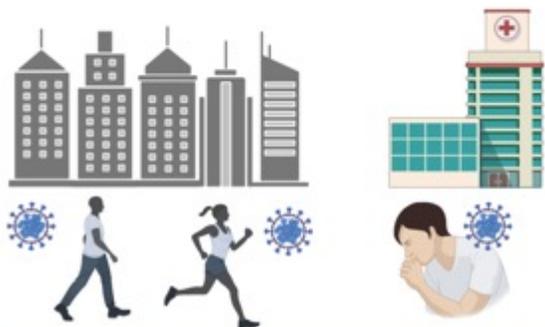


感染力や免疫回避に重要な
S遺伝子のRBD***を解析

補足資料

下水疫学調査の流れ

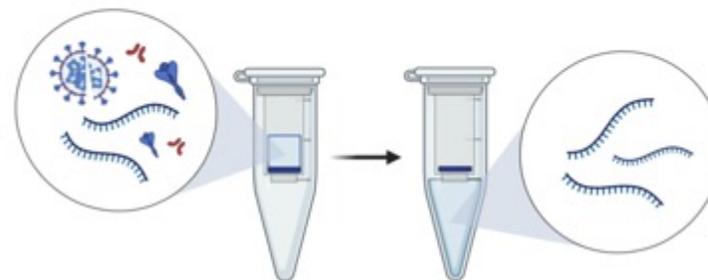
COVID-19 感染流行



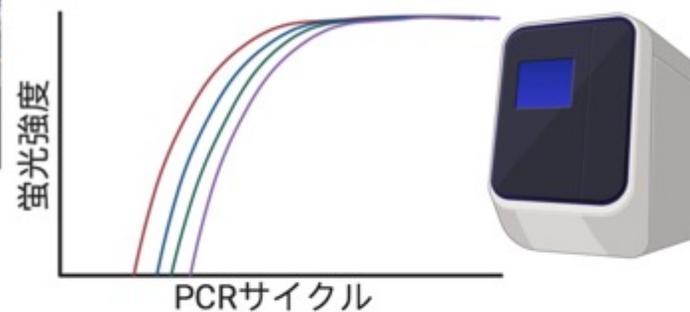
ウイルス濃縮



ウイルスRNA抽出



定量PCR



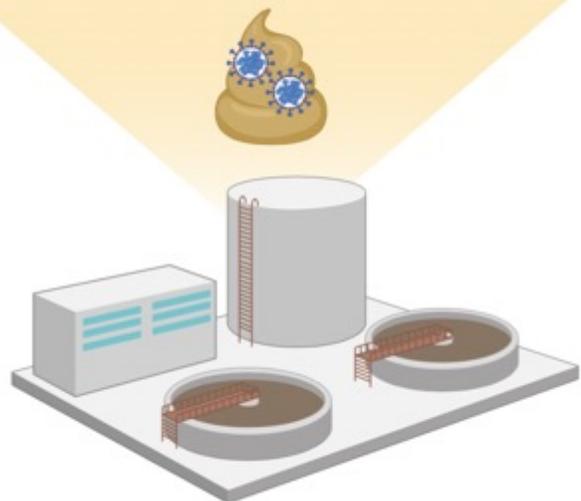
新型コロナウイルス RNAの
検出・定量

ゲノム解析

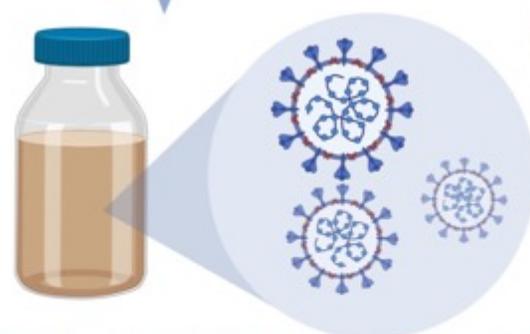


変異株検出

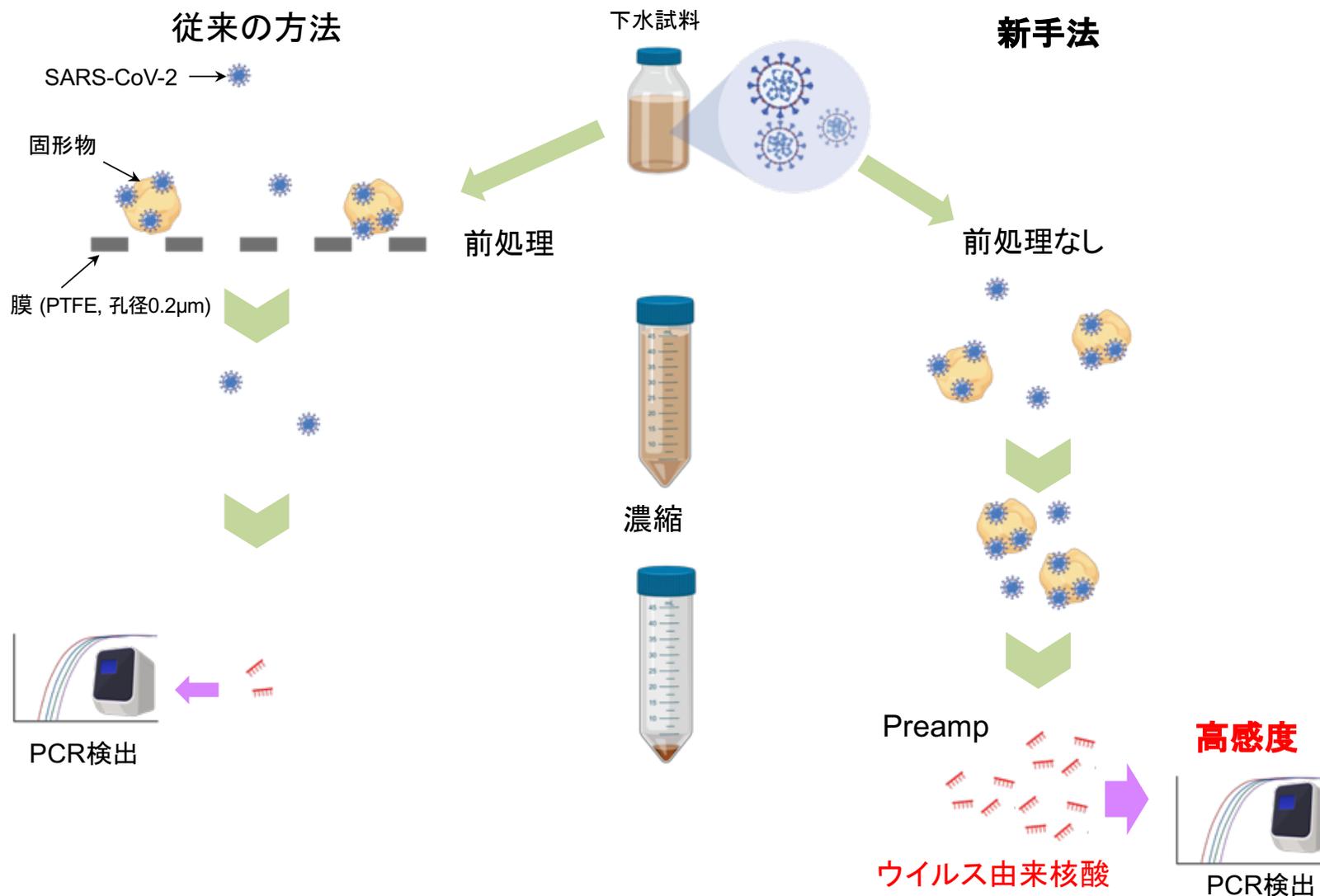
下水処理場



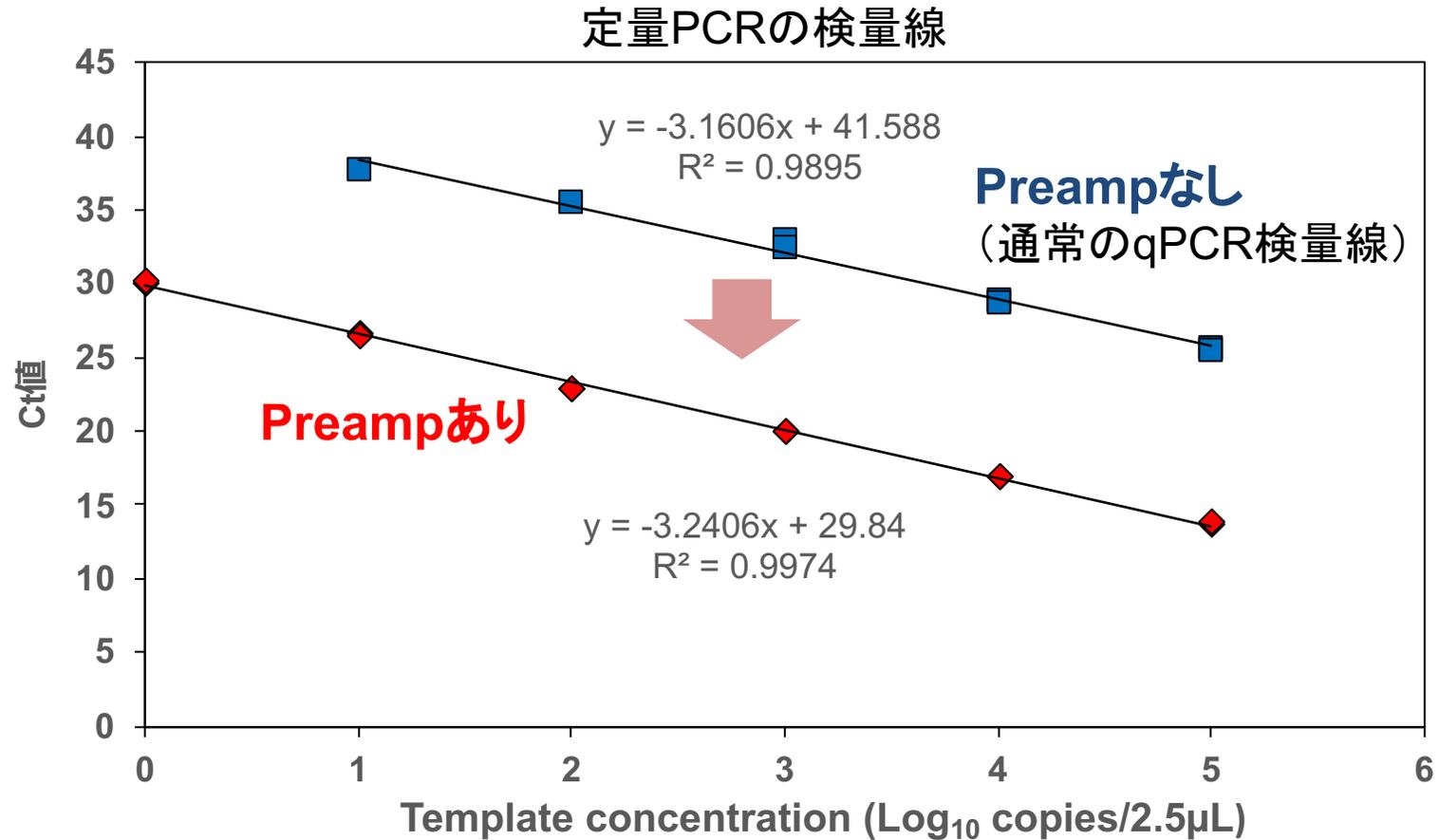
下水中の新型コロナウイルス



下水中の新型コロナウイルスの高感度検出・定量法の開発



Preampを行っても定量性は失われない



- Preampを行っても、検量線が平行移動(Ct値減少)するだけで定量性は失われないことを確認
 - 都市下水試料からの検出率が大幅に向上、低濃度試料でも定量可能に

PEG法と北大・塩野義法の検出率の直接比較

■ 全国5都市の流入下水(合計100試料)を用いて、同一試料に対しそれぞれPEG法と北大・塩野義法を直接比較

札幌市					さいたま市			A市			B市			C市			
採水日	PEG法	北大・塩野義法	採水日	PEG法	北大・塩野義法	採水日	PEG法	北大・塩野義法	採水日	PEG法	北大・塩野義法	採水日	PEG法	北大・塩野義法	採水日	PEG法	北大・塩野義法
2020/4/1	-	-	10/5	-	1172	2020/12/3	-	462	2020/12/4	3982	7369	A系統			2020/11/5	-	-
4/27	13141	-	10/12	-	5087	12/10	-	-	12/11	-	11578	2020/12/16	4054	49108	11/12	-	117
5/7	-	-	10/19	-	1472	12/17	-	700	12/18	-	2427	2021/1/7	13182	10968	11/19	-	-
5/11	127181	-	10/26	-	2632	12/24	-	1697	12/25	41316	14812	2/3	-	4323	11/26	-	166
5/18	45748	-	11/2	-	3247	2021/1/7	87539	12798	2021/1/8	-	3351	3/17	-	-	12/2	-	1188
5/20	-	-	11/9	-	6202	1/14	-	1591	1/15	8507	3699	B系統			12/9	-	1547
6/1	-	-	11/16	40950	11347	1/21	-	2350	1/22	13329	14752	2020/12/16	-	-	12/16	-	4390
6/8	-	-	11/24	-	-	1/28	-	3696	1/29	-	9332	2021/1/7	-	4057	12/22	-	1575
6/15	-	-	11/30	40935	6880	2/11	-	-	2/12	-	3081	2/3	-	2477	12/28	-	5378
6/22	-	-	12/7	-	11452	2/18	-	-	2/19	-	599	3/17	-	-	2021/1/7	-	786
7/6	-	-	12/14	4059	3223	2/25	-	-	2/26	-	432	1/14	-	1726	1/20	-	-
7/13	-	-	12/21	-	3833	3/4	-	-	3/5	-	1316	1/27	-	429	1/27	-	-
7/20	-	1886	12/28	-	4149	3/11	-	13599	3/12	-	2477	2/3	-	-	2/10	-	-
7/27	-	2801	2021/1/4	64847	13092	3/18	-	-	3/19	1666	8808	2/17	-	-	2/17	-	-
8/3	-	-	1/12	61813	21900	3/25	-	-	3/26	6081	40404	2/26	-	-	3/3	-	-
8/11	-	-	1/18	18894	14103							3/10	-	-	3/10	-	-
8/17	-	1899	1/25	-	6426							3/18	-	-	3/18	-	-
8/24	-	1342	2/1	21254	13496							3/24	-	-	3/24	-	-
9/7	-	717	2/8	-	2429							3/31	-	-	3/31	-	-
9/14	-	1301															
9/23	-	-															

検出率 (%)

PEG法

VS

北大・塩野義法

10/40 (25%)

VS

24/40 (60%)

1/15 (7%)

VS

8/15 (53.3%)

6/15 (40.0%)

VS

15/15 (100.0%)

2/8 (25.0%)

VS

5/8 (62.5%)

0/22 (0.0%)

VS

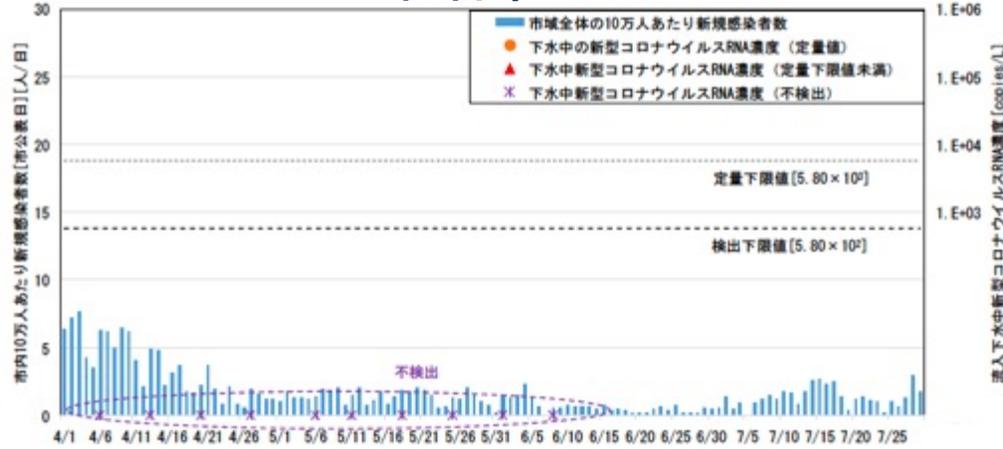
10/22 (45.5%)

北大・塩野義法の方が、全ての都市の下水試料について検出率が格段に高い。

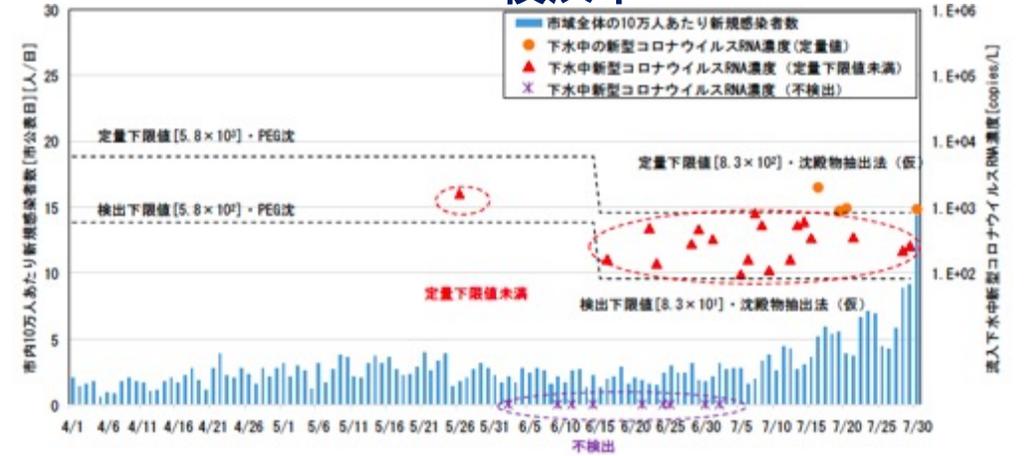
国土交通省による調査結果：北大・塩野義法では多くの試料で定量可能

PEG沈殿法
沈殿物抽出法

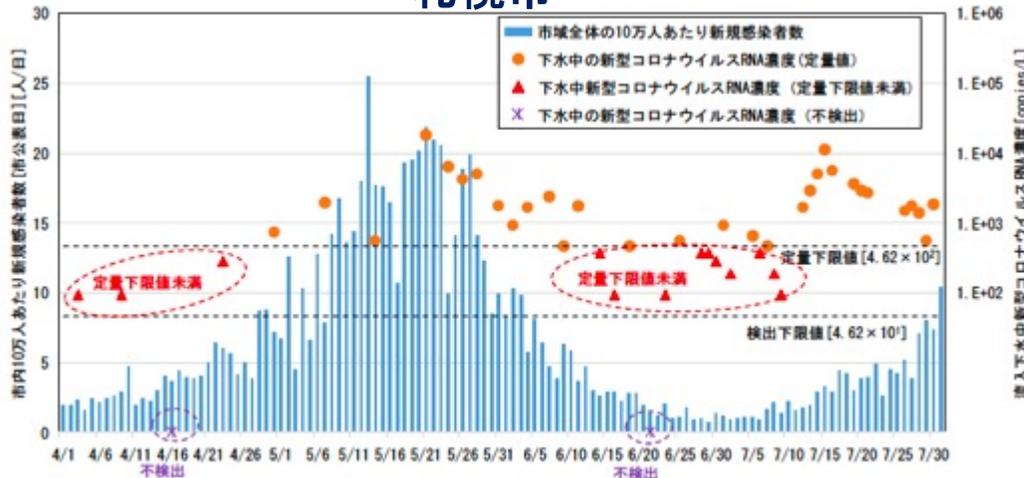
仙台市



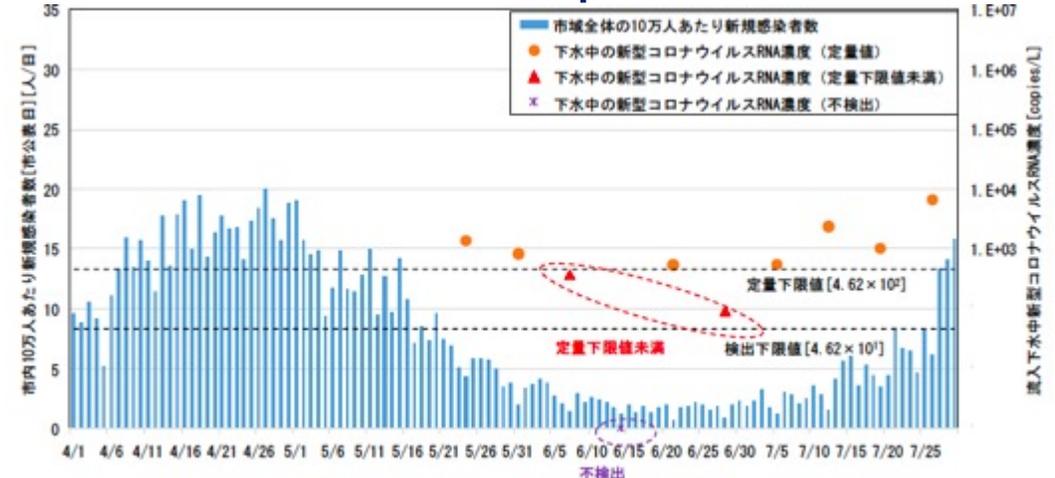
横浜市



札幌市

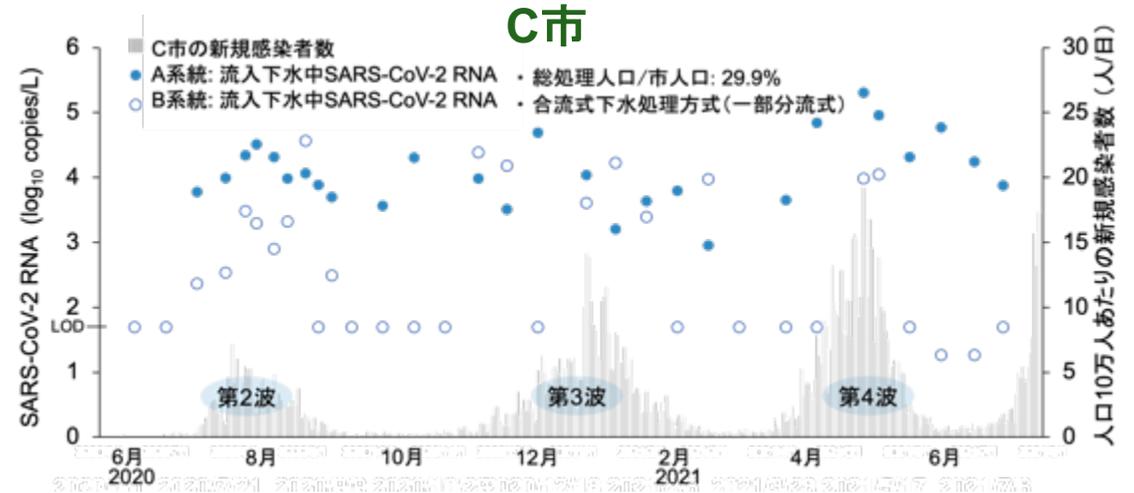
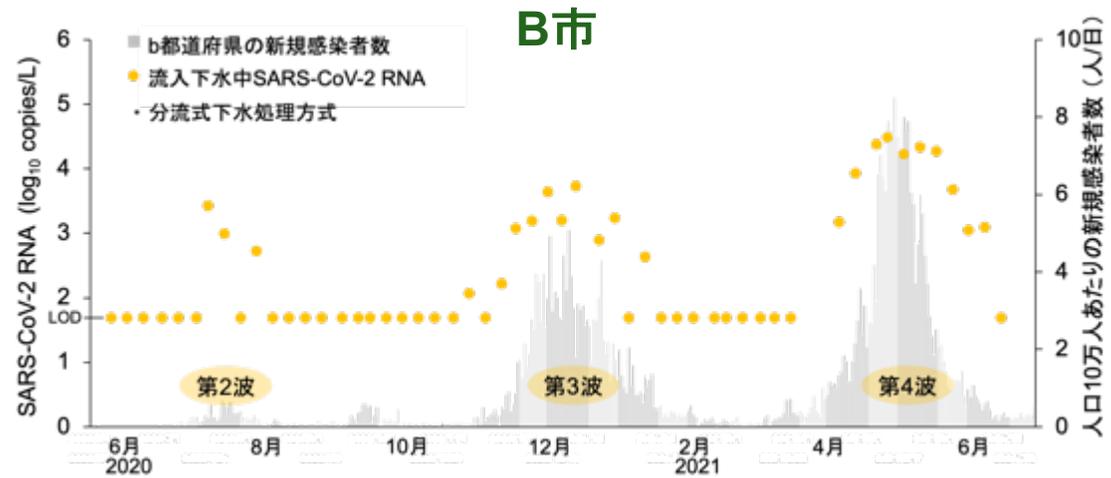
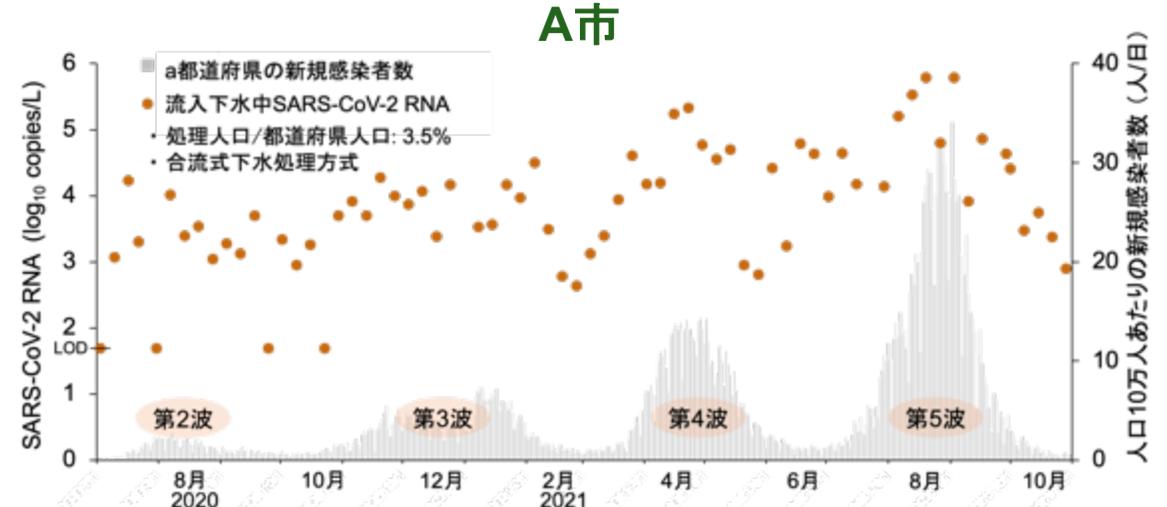
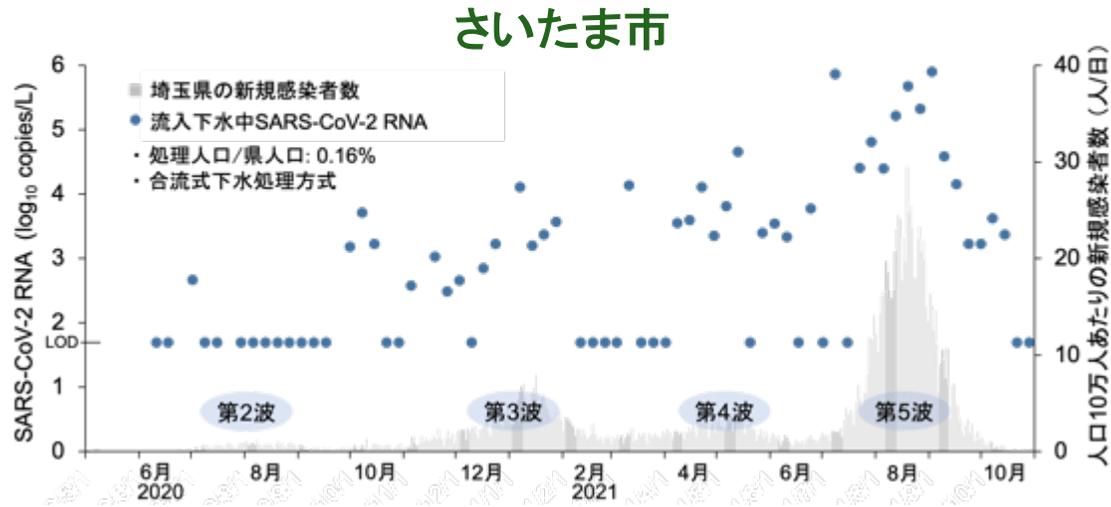


J市



北大・塩野義法

全国主要都市での下水疫学調査の実施状況



■ いずれの都市においても、下水中SARS-CoV-2 RNA濃度と新規陽性者数の増減パターンが概ね合致

NGSデータ例: 都市下水からのデルタ株 (L452R & T478K) の検出

L452R (T→G)

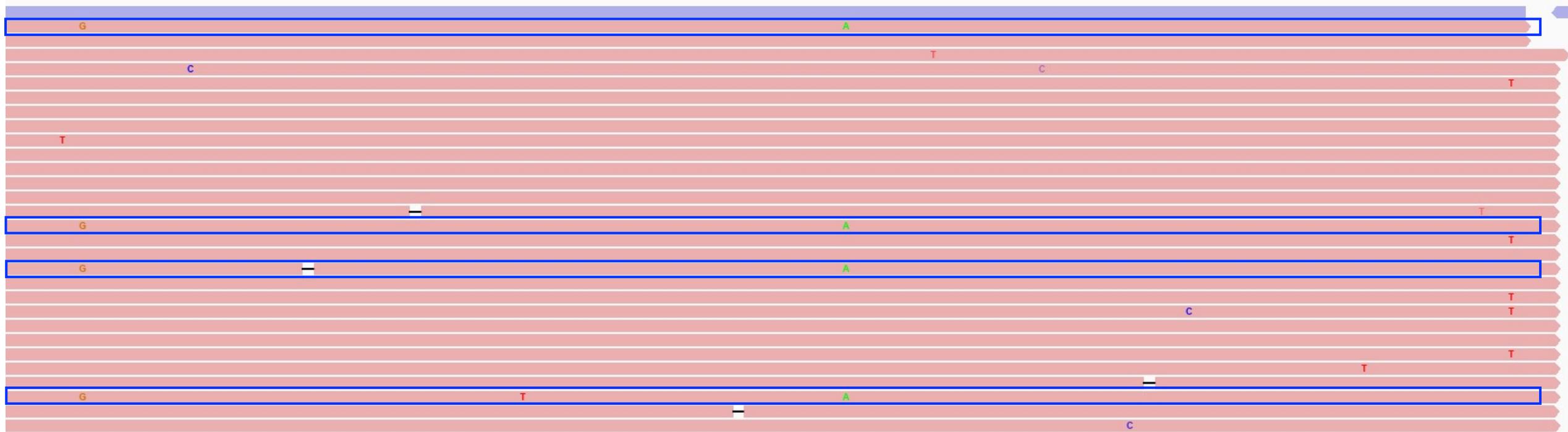
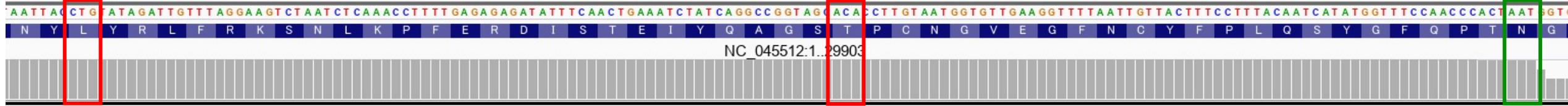
あり

T478K (C→A)

あり

N501Y (A→T)

なし



各リード上のL452R, T478K, N501Y変異の解析 → 株の分類が可能に

下水疫学を東京オリンピック・パラリンピック選手村に適用

選手村における新型コロナウイルス下水調査概要

1. 調査期間

- オリンピック：7/14～8/11（29日間）
- パラリンピック：8/17～9/8（23日間）

2. サンプルング場所・時間

- 選手村内3地点のマンホールから下水をサンプルング
- 選手村居住棟全てをカバーし、7分割それぞれから下水をサンプルング（図1）
- 東京都下水道局の協力の下、研究チームがサンプルングを実施
- 採水はおおよそ午前9時から10時の1時間で実施

3. サンプルング方法およびサンプル数（調査期間の総数）

- パッシブサンプルングにより取得：計361サンプル
- グラブサンプルングにより取得：計329サンプル

4. 分析方法

- 北大・塩野義法*1
 - ✓ SARS-CoV-2 RNA濃度
 - ✓ ゲノム解析（SARS-CoV-2配列の確認。変異株検出）
- *1 従来法（PEG沈殿法）より約100倍の高感度検出が可能（協力：塩野義製薬株式会社）
 内在性コントロールにより精度管理を実施

5. 報告方法

- 組織委員会に検査結果を報告
 - ✓ 原則、各サンプルング日の翌日までにSARS-CoV-2 RNA濃度データを報告

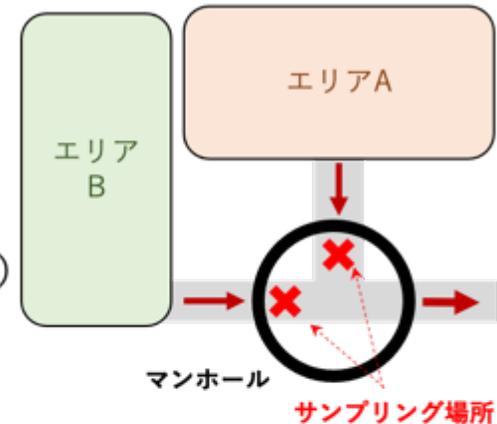


図1. サンプルング場所のイメージ

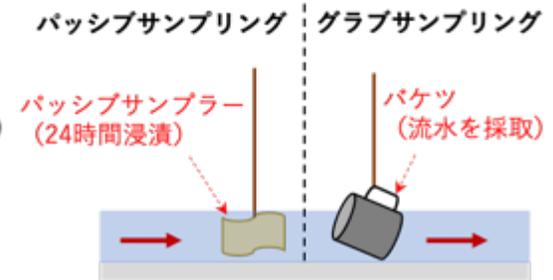


図2. サンプルング方法のイメージ

大規模集合イベントにおける下水疫学調査の適用可能性を実証

今後の下水調査の活用について

- 次回以降のオリンピック・パラリンピック選手村における感染対策の一環として活用が期待できる。
 - ✓ 人を対象とした検査の最適化（優先順位付け、全数検査の必要性の判断など）への貢献が期待できる。
 - ✓ 変異株の網羅的（不顕性感染者、および未知の変異株）な把握への活用が期待できる。
- スポーツを含む大規模集合イベントでの活用が期待できる。
 - ✓ 大規模集合イベントに関わる他の適用先（航空機、ホテル、選手寮など）への活用が期待できる。
 - ✓ 非侵襲的に網羅的・高頻度な検査を少ない総検査数で実現することが期待できる。

（赤線は本発表のために上書きしたもの）

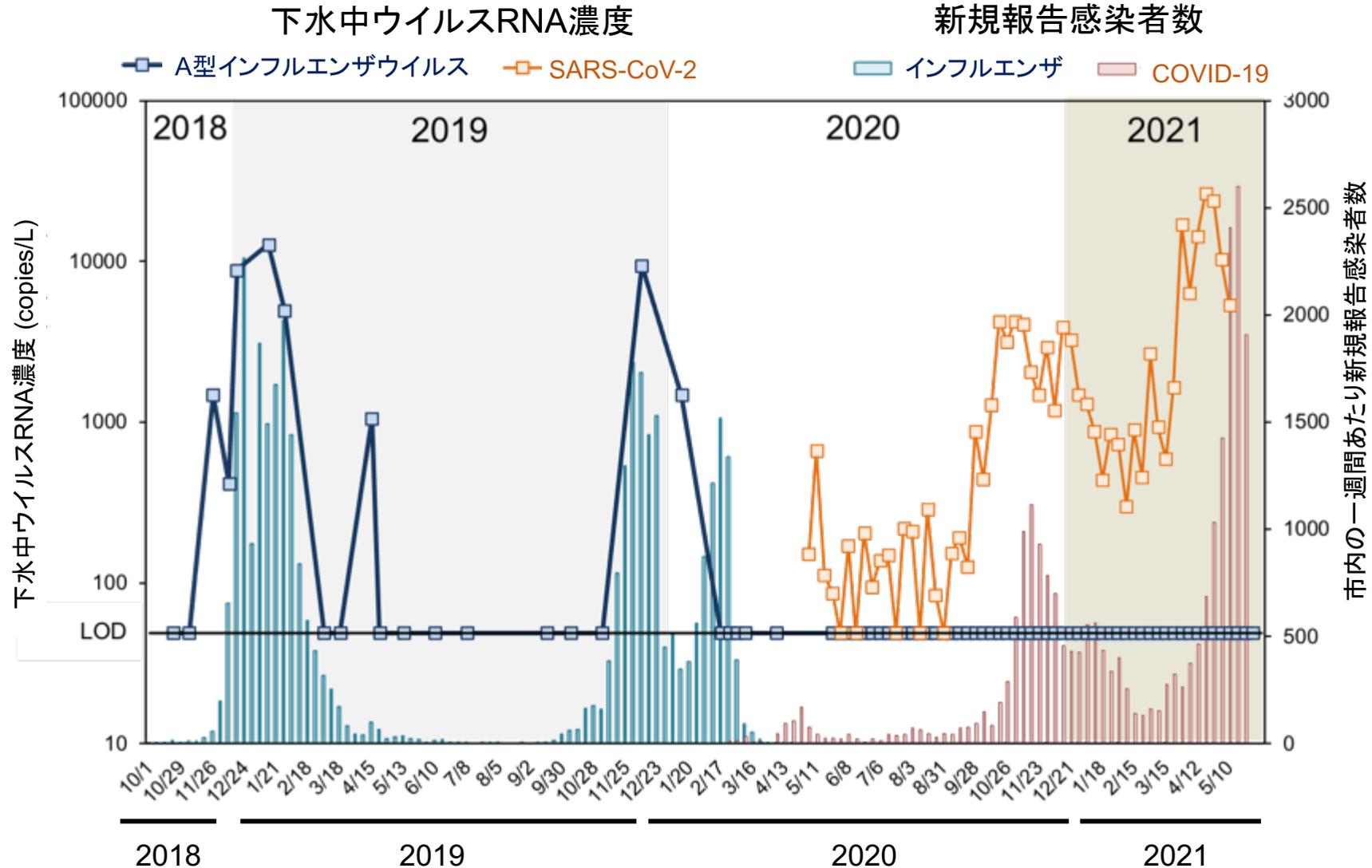
下水疫学調査は季節性インフルエンザにも適用可能

COVID-19流行下(2020~)で季節性インフルエンザ患者が激減

1. COVID-19検査の拡充等によりインフルエンザ検査数が減少？
2. 感染対策の副次的効果によりインフルエンザ感染も抑制？



- 下水疫学調査のインフルエンザへの適用可能性を実証
- COVID-19流行前後における季節性インフルエンザの流行実態を解明



下水疫学の有用性

- ウイルス感染症に対する下水疫学調査の有用性
 - 過去にはノロウイルスやポリオウイルス等で適用事例
 - COVID-19への適用可能性
 - 北島らの総説論文で世界に先駆けて提唱
 - 概念が実証され、社会実装の段階
 - 絞り込み調査によるエピセンターの特定
 - 他の感染症(次のパンデミック?)にも適用可能
- 下水道の新たな付加価値
 - 汚水排除・処理と雨水排除のために作られた下水道に
感染症流行状況の監視 という新たな役割

