

【5-1603】水系感染微生物による水環境汚染の把握と微生物起源解析の活用に関する研究 (H28～H30)

研究代表者 片山 浩之 (東京大学)

1. 研究開発目的

本研究では、①大腸菌の指標性評価(増殖特性、並びに病原ウイルスとの相関性)、②国外で使用されている指標の有効性、③環境基準に適用可能な汚染源解析手法の開発を目的とする。

本委託業務では、現在の大腸菌群あるいは大腸菌による基準では、病原微生物濃度に対して過大評価(汚染源が特定できないため)も過小評価(環境ストレスの耐性の違い)も生じ得るため、諸外国同様に科学的知見を取り入れた基準の策定が望ましく、そのために我が国の環境水中における存在状況などの基礎データ、病原微生物との存在状況の比較等を行う。

2. 研究の進捗状況

サブテーマ(1)は当初計画どおりに進捗している。今年度は、東京湾および外洋域において新規ウイルス指標として注目されている PMMoV の存在を調査した。また、我が国の複数地域の下水処理施設から試料を採取し、バクテロイデス株の分離を行った。さらに、河川水を培養液とした大腸菌の増殖実験を実施し、環境水中での増殖ポテンシャルと他細菌との有機物競合を明らかにした。

サブテーマ(2)は当初計画どおりに進捗している。具体的には、今年度は琵琶湖南湖および南湖周辺の『下水処理場で病原微生物、指標微生物の存在実態を調査し、また、FRNA フェージの遺伝子型解析、ヒト由来医薬品の測定を通じて汚染源の解析を進めた。次世代シーケンサー(NGS)を活用してのノロウイルスの遺伝子解析および大腸菌の遺伝子解析の基礎検討を実施した。

サブテーマ(3)は、当初計画どおりに進捗している。環境水中から血液型決定抗原様物質陽性大腸菌を単離することを目的としていたが、高血液型活性を有する 22 株を未処理下水及び河川水から単離することに成功した。

サブテーマ(4)は、当初計画どおりに進捗している。水環境中への主要な糞便汚染源であると想定される宿主(ヒト、反芻動物およびブタ)に対し、汚染源試料における様々な指標微生物と微生物遺伝子マーカーの測定を通じ、宿主特異的な微生物遺伝子マーカーの候補(バクテロイデスや F-DNA フェージ)の選定に成功した。

3. 環境政策への貢献(研究代表者による記述)

1) 人為的影響の少ない外洋にも微量ながら PMMoV 遺伝子が検出されたことは、新規ウイルス指標選定の評価に重要な知見を提供するものである。

2) 琵琶湖南湖での調査の結果、大腸菌群濃度は大腸菌濃度の 2 オーダーを超える結果となった。この結果は琵琶湖南湖において検出された大腸菌群はほとんどが糞便ではないことを示唆しているため、少なくとも琵琶湖南湖においては、糞便汚染を測るための指標としては、大腸菌群は十分でなく、大腸菌への基準変更が必要である。

3) 琵琶湖南湖では、大腸菌が十分低い場合でもウイルスが検出されることがあった。よって、ウイルス汚染の指標が新たに必要であることが示唆される。今後検討すべきウイルス指標の候補としてはアイチウイルス(Aichi virus: AiV)やトウガラシ微斑ウイルス(pepper mild mottle virus: PMMoV)が考えられる。

4) 環境水で検出される大腸菌の由来を推定するために、環境水から検出される大腸菌と下水放流水から検出される大腸菌の全ゲノムの遺伝子配列を解読、比較することを試みている。全ゲノムの遺伝子配列を解読することで、遺伝子配列に基づいた大腸菌の分類(sequence type, ST)や薬剤耐性遺伝子の保有状況、病原性関連遺伝子の保有状況がわかる。これらの要素の類似性を下水由来の大腸菌と環境水由来の大腸菌で比較することで、環境水中の大腸菌の由来を詳細に推定することが可能であると期待

される。この結果は、大腸菌の糞便汚染指標としての妥当性の科学的根拠を与えることが期待される。

5) 流入水中のノロウイルス遺伝子型の推移は、概ね流行状況を捉えていることが示された。今後は、琵琶湖南湖の水試料でもノロウイルス遺伝子型の解析を試みる。下水や医療機関で検出される遺伝子型と琵琶湖南湖での遺伝子型の類似性、差異を検討することで、琵琶湖で検出されるノロウイルスの起源を推定することが可能となる。この情報は今後必要になると考えられるウイルス汚染の指標の選定の際に有用な情報となる。

6) 水質衛生指標微生物としての大腸菌を HBGA 分泌の有無で分類することにより、ノロウイルス指標性を付与できる可能性が示唆された。

7) バクテロイデスや F-DNA フェージ等の宿主特異的な微生物遺伝子マーカーの測定により、従来の大腸菌群等の指標微生物の測定のみでは得ることのできない水環境中の糞便汚染源に関する知見を得ることが可能になり、汚染源対策等に活用できることが示唆された。

4. 委員の指摘及び提言概要

学術的にも注目されるレベルの研究である。特にウイルス遺伝子については、新たな微生物指標として呈示するブレークスルーとなることが期待される。一方で、4つのサブテーマの研究間連携が十分でないようにも見られるので、今後、それらの結果を統合させつつ、当初の目標である行政貢献のできる環境基準の確立と提言ができることを念頭において研究を進めていただきたい。

5. 評点

総合評点：A