

〈特集〉

ポリオの環境水サーベイランス

吉田 弘

国立感染症研究所 ウイルス第二部

(〒208-0011 東京都武蔵村山市学園4-7-1 E-mail: hyoshida@niid.go.jp)

概要

世界ポリオ撲滅計画により患者は激減したが、根絶証明にはポリオウイルス (PV) 感染者が地域に存在しない確認が最終段階で必要とされる。PV は顕性、不顕性を問わず感染者の糞便を介し下水、河川中に排出されるため、広域で感染者の存在を把握できる環境水サーベイランス (ES) は多くの国や地域で導入されている。また本法は SARS-CoV-2、下痢症ウイルスなど他の病原体監視にも応用が進んでいる。ポスト・ポリオ時代を念頭に ES 普及を目的とした更なる研究開発が期待される。

キーワード：ポリオ、環境水、サーベイランス、下水、SARS-CoV-2

原稿受付 2023.12.21

EICA: 28(4) 54-57

1. はじめに

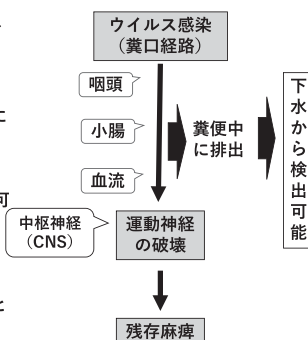
2022年、イスラエル、英国、米国、カナダにて下水からワクチン由来ポリオウイルスが相次いで検出された。米国では1979年以降の患者も報告されている¹⁾。ポリオは野生型ポリオウイルス、あるいはワクチン由来ポリオウイルス感染によって引き起こされる疾患だが、不顕性感染がほとんどのため、地域社会におけるウイルス伝播の実情を把握することが難しい感染症の一つである (Fig. 1)。

ポリオは疾病負荷が極めて大きいため世界保健総会 (1988年) にて天然痘に続く根絶対象に選定され、官民連携による世界ポリオ根絶イニシアティブ (GPEI) が発足し活動が始まった。根絶の最終段階では AFP

(急性弛緩性麻痺) を伴う患者サーベイランスを補完する目的で、より高感度にウイルスを捕捉する環境水サーベイランス (environmental surveillance: ES) が、ポリオ流行地、発生リスク国を中心に普及している (Fig. 2)。

ES は下水や河川水のウイルスを調べることで地域のポリオウイルス感染者の有無を把握する手法であり、検出後のリスク評価を踏まえて追加ワクチン接種、AFP サーベイランス強化など対策立案に必要な判断材料の一つとして活用する。

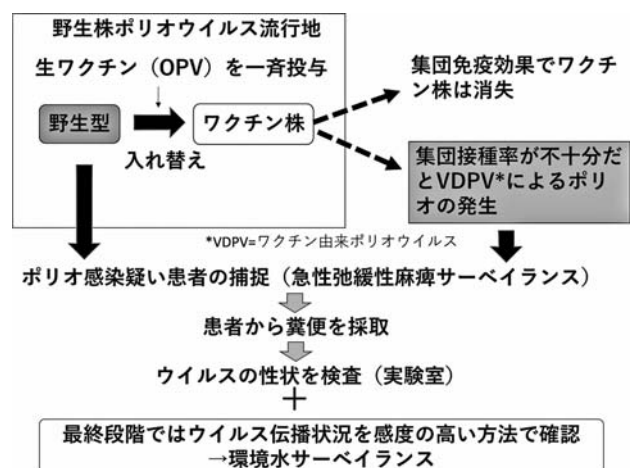
- ・ポリオ (急性灰白髄炎) はポリオウイルス感染症
- ・ポリオウイルス: +1 本鎖 RNA ウイルス
- ・1,2,3 血清型が存在
- ・糞口経路で感染。
- ・ウイルスは主に腸管で増殖し、便中に排泄 (数週間) → 環境水 (下水、河川) から検出可能
- ・不顕性感染がほとんど (およそ 9 割)
- ・不活化/生ポリオワクチン*にて予防可能な疾患
- ・日本では 2012 年 9 月以降、不活化ワクチン使用
- ・感染症法では 2 類感染症で届出 (ポリオ: 急性灰白髄炎 → かつて小児まひと呼ばれてきた)



* 不活化ポリオワクチン (iPV)、生ポリオワクチン (OPV)

A brief summary of polio (poliomyelitis) such as virological properties and routes of infection is shown in Fig. 1. Most infection cases by poliovirus are asymptomatic and recovered. In case of polio onset, a residual paralysis might remain because the motor neuron would be damaged. The disease burden is extremely high in infant case.

Fig. 1 Summary of poliomyelitis



To assess the effectiveness of vaccination by OPV under the polio eradication program, AFP (acute flaccid paralysis) surveillance has played a key role, which stool is collected from patient with AFP, and virologically examined in detail at the laboratory accredited by WHO. Because over 90% of poliovirus infection cases would be asymptomatic or "common cold", environmental surveillance with high sensitivity would be important in order to supplement AFP surveillance when numbers of case would be reduced with progress of eradication program.

Fig. 2 The role of environmental surveillance under the Polio Eradication Program

ポリオ対策に用いられるワクチンは生ポリオワクチン (oral poliovaccine: OPV) と不活化ポリオワクチン (inactivated polio vaccine: IPV) が利用できる。1950年代に開発された OPV は弱毒ウイルス (Sabin 株) を用いて製造され、ヒトに投与後、腸管で増殖し、粘膜免疫を誘導し感染防御に効果的とされる。一方増殖中のウイルスゲノム上に変異による毒性復帰が知られており、100-400万人に一人の割合でワクチン関連麻痺 (vaccine-associated paralytic poliomyelitis: VAPP) が副反応として報告されている。排出されたウイルスが糞口感染を介しヒト集団内で長期間伝播するとさらに変異が蓄積し、強毒型に変化したワクチン由来ポリオウイルス (VDPV) 感染によるポリオの発生も知られている。ポリオワクチン接種率が低下した地域では、他の地域から侵入した野生型ポリオウイルスや VDPV によるアウトブレイクが報告されている^{1,2)}。

2. 環境水 (下水) サーベイランス

世界ポリオ根絶計画の進捗とともに2015年の世界保健総会にてESをポリオ流行国、リスク国に導入することが決議されている³⁾。

決議に至るまでの取り組みの例を紹介する。富山県衛生研究所と筆者らは、環境水 (河川水、下水) から分離されたワクチン株を詳細に解析したところ、弱毒型と、弱毒型から強毒型に変化した2種類のウイルス株が存在することを示した。このことはワクチン接種低下などの理由で感受性個体が多く占める地域ではVDPVによるポリオ発生のリスクがあることを2000年に発表している⁴⁾。

また一連の共同研究を通じESが顕性、不顕性にかかわらず集団レベルで伝播するウイルスを捕捉可能であり、他の病原体調査へ応用可能であることを示してきた⁵⁾。

IPVは発症予防に効果的であるが、感染防御はほとんど期待できないため、IPV使用国へ野生型ポリオウイルスやVDPVが侵入した場合、強毒型が感染しても患者は発生せず、ウイルス感染に気付かず地域に蔓延する事態が想定される。このため国内では2012年に定期接種用ワクチンをOPVからIPVへ切り替えの際、翌年からポリオ環境水サーベイランス (感染症流行予測調査事業) が開始されることとなった。

イスラエルではESにより検知した野生型ポリオウイルス輸入事例が報告されている。同国では2005年にOPVからIPVに切り替え後、ポリオの発生は見られなかったが、2013年イスラエル南部の下水処理場より野生型ポリオウイルスが分離後、国内全体への伝

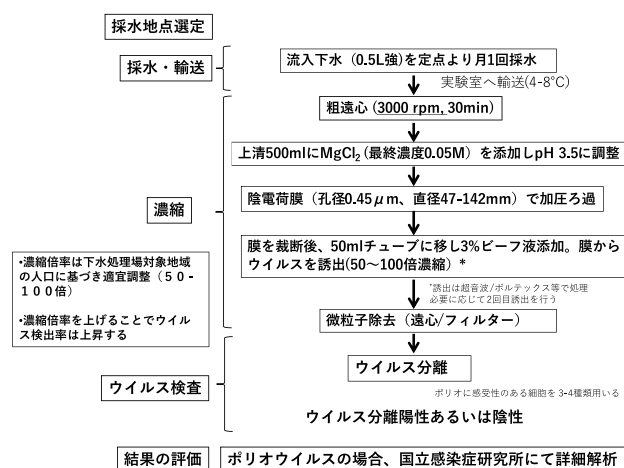
播が懸念された。このためOPVを再導入することによって野生型ポリオウイルスの伝播収束に成功した。この間ポリオ患者は報告されていない。野生型ポリオウイルスの伝播遮断には感染防御効果の高いOPVが有効である。しかし患者報告が見られない状況下でESの結果に基づき、VAPPの恐れのあるOPVの再導入には慎重な意見もあったとされるが、最終的にはIPV+OPV接種スケジュールに変更しOPVが再導入されている⁶⁾。

イスラエルの事例はESが野生型ポリオウイルス伝播の状況を示す重要な情報を提供しており、対策立案の過程において行政、医療関係者などステークホルダー間の調整の重要性を認識させられる事案である。

3. ポリオESの手法

ポリオウイルスは糞口ルートで感染し、主に腸管上皮で約3~4週間増殖する。その間一人あたり最大 10^7 pfu (ウイルス感染価)/日の大量のウイルスが間歇的に糞便中に排出される。このためESに用いる検体は、下水道網を経て下水処理場に到達する流入水が最適だが、糞便中のウイルス量が多いこと、かつ排出期間が長いため、適切な濃縮処理を行えば河川水などでもウイルスは検出可能である。したがって下水道が未整備な国や地域でもポリオESは実施可能な手法である。

調査手法は、採水地点の選定、採水・輸送、環境水 (下水、河川水等) の濃縮、ウイルス検査、結果の評価のプロセスからなる (Fig. 3)。WHOはポリオ流行地の対策のためにガイドラインを作成しており、各国



After the sewage sample collected at inlet of wastewater treatment plant is concentrated by negative charged membrane, concentrates will be inoculated onto RD-A, L20B and other cell lines, in order to isolate poliovirus. Local public health institutes have been responsible for polio ES since 2013.

Fig. 3 A flow of polio environmental surveillance under the National Epidemiological Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases (NESVPD) (partially revised reference 12)

のニーズに基づき ES 導入を支援している⁷⁾。ガイドラインでは操作が比較的簡便なことから環境水濃縮方法に二相分配法 (Two-phase method) を推奨しているが⁷⁾、他に限外ろ過膜による濃縮法、陰電荷膜濃縮法なども利用可能である。なお濃縮後のウイルス検査にはポリオウイルスに感受性のある L20B, RD-A 細胞を用いたウイルス分離・同定法を AFP 患者の糞便検査と同様に WHO 標準法として定めている。

下水濃縮産物からウイルス RNA を抽出し RT-PCR によるウイルスゲノム検出ではなく、培養細胞によって感染性ウイルスを分離する理由は、下水濃縮物に含まれる PCR 反応阻害物質の影響を避けること (偽陰性の防止)、また品質保証された培養細胞を用いることにより、下水濃縮物から効率よくポリオウイルスを分離可能であるという知見に基づく。分離操作後に得られたウイルス株はリアルタイム PCR 法等によるポリオウイルス同定を行う。理論的には流入下水を濃縮後ウイルス分離・同定法にてポリオウイルスが検出された場合、10 万人あたり 1 名～数名の感染者が存在していると解釈される⁷⁾。

国内ではポリオ ES によりポリオウイルスが分離された場合、迅速なリスク評価の必要があるため厚生労働省への報告を行うことを都道府県等に周知している^{8,12)}。国内の調査フローは **Fig. 3** に示す。

4. ポリオ ES の今後について

世界ポリオ根絶計画のもと ES が普及するにつれ、様々な課題が明らかになり、新たな研究が展開されている。根絶の最終段階では、高いワクチン接種率と高感度なウイルス監視体制の維持が重要である。GPEI は流動人口、治安問題などの理由で病原体サーベイランスに課題を抱える国や地域で ES 導入を支援すべく、野外で実施可能な水試料の濃縮技術開発や⁹⁾、最適な採水地点の選定手法など様々な取り組みを行っている。例えば WHO と JAXA は 3D 衛星画像技術を応用して下水道が整備されていない地域において水文学的なアプローチにより糞便が集積する最適な採水地点設定を試みている¹⁰⁾。

ポリオ ES はウイルス分離・同定を基本とするが、核酸検査系 (PCR など) を組み合わせることで、下水中の SARS-CoV-2 ゲノム定量による COVID-19 患者の発生動向把握にも応用可能である¹¹⁾。

このように医療機関ベースの患者サーベイランスシステムを補完する観点で、地域の感染症の流行を把握できる可能性のある ES は途上国・先進国を問わず需要があり、ポストポリオを見据えたサーベイランス体制構築のための調査研究が行われている。

環境水中の病原体情報は膨大である。ウイルスのみ

ならず薬剤耐性菌などの細菌他、様々な病原微生物を含む。国内のポリオ ES の例では、検査時にはウイルス分離を行っているが、他のエンテロウイルス、レオウイルス、アデノウイルス等も下水濃縮物から分離される。例えばレオウイルスはヒトに対する病原性は不明であり、患者サーベイランスで検出報告は稀であるが、国内の ES では冬季を中心に下水から分離されることが判明している¹²⁾。一方、病原体サーベイランスで報告されているウイルスが ES でかならずしも捕捉されるわけではない⁵⁾。

また検査手法の違い (ウイルス分離、あるいは PCR などによる核酸増幅法) による検出バイアスや下水固有の要因 (PCR 阻害物質、水量) など複雑な要因が検査結果に影響を及ぼすことも知られている。

このように得られた病原体情報 (ウイルス分離、PCR による検出など) は様々なバイアスを内在することを念頭に入れ、感染症対策上の重みづけ (疾病負荷、対策の緊急性など) を考慮した指標開発を行うなど、環境水中の病原体情報に対する評価系を構築することが普及時の課題の一つとして考えられる。

日本では 1981 年より全国レベルの患者・病原体サーベイランス (感染症発生動向調査) が開始されたが、病原体検査を含む定点サーベイランスを長期間継続している海外の事例は少ない。感染症対策に活用するためには既存の患者・病原体サーベイランスと比較研究、すなわち ES が対象とする疾患及び病原体と有用な場面について分野横断的に学際的な研究が必要である。患者・病原体サーベイランスと重層的な解析を行うことで日本から発信される研究成果は国内外の感染症対策に貢献することが期待される。

参考文献

- 1) 小野貴志, 島田智恵, 砂川富正: イスラエル, 英国, 米国, カナダにおける伝播型ワクチン由来ポリオウイルスの伝播: 最近の文献からの知見, *IASR* Vol. 44, pp. 115-116 (2023)
- 2) 高島義裕, V. Grabovac, Benjamin Bayutas, KM. Mariano and J. Logronio: WHO 西太平洋地域におけるポリオ根絶事業の現在, *IASR* Vol. 44, pp. 116-120 (2023)
- 3) World Health Organization. WHA. 68.3. Resolution. Poliomyelitis. (2015)
- 4) H. Yoshida, H. Horie, K. Matsuura, T. Miyamura: Characterization of vaccine-derived polioviruses isolated from sewage and river in Japan., *Lancet*, Vol. 356(28), pp. 1461-1463 (2000)
- 5) 吉田 弘: 感染症危機管理における環境水サーベイランスの有用性 環境水サーベイランス総論, *臨床とウイルス*, Vol. 50 (4), 171-176 (2022)
- 6) E. Kaliner, J. Moran-Gilad, I. Grotto, E. Somekh, E. Kopel, M. Gdalevich, E. Shimron, Y. Amikam, A. Leventhal, B. Lev, R. Gamzu: Silent reintroduction of wild-type poliovirus to Israel, 2013 — risk communication challenges in an argumentative atmosphere, *Euro Surveill*, 19 (7): 20703. doi: 10.2807/1560-7917.es2014.19.7.20703. (2014)

- 7) Vaccines and Biologicals, World Health Organization: Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation, World Health Organization, WHO/V&B/03.03 (2003)
- 8) 厚生労働省結核感染症課：「ポリオウイルスに関するサーベイランス等について (依頼)」平成27年4月15日健感発0415第3号
- 9) NA. Zhou, CS. Fagnant-Sperati, JH. Shirai, S. Sharif, SZ. Zaidi, SZ, L. Rehman, J. Hussain, R. Agha, S. Shaukat, M. Alam, A. Khurshid, G. Mujtaba, M. Salman, RM. Safdar, A. Mahamud, J. Ahmed, S. Khan, AL. Kossik, NK. Beck, G. Matrajt, H. Asghar, AS. Bandyopadhyay, DS. Boyle, JS. Meschke: Evaluation of the bag-mediated filtration system as a novel tool for poliovirus environmental surveillance: Results from a comparative field study in Pakistan. PLOS ONE 13(7): e0200551. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200551>, (2018)
- 10) S. Yabe, Y. Tateshita, Y. Kobayashi, A. Hino, K. Isono, H. Okayasu, O. M. Diop and T. Tadono: Satellite imagery technology in public health: analysis of site catchment areas for assessment of poliovirus circulation in Nigeria and Niger, *Geospatial health*, 11 (3), 462. <https://doi.org/10.4081/gh.2016.462> (2016)
- 11) K. Kitakawa, K. Kitamura, H. Yoshida: Monitoring Enteroviruses and SARS-CoV-2 in Wastewater Using the Polio Environmental Surveillance System in Japan, *Appl Environ Microbiol*, Vol. 89 (4): e0185322. doi: 10.1128/aem.01853-22, (2023).
- 12) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症疫学センター：令和元年度感染症流行予測調査報告書, 厚生労働省, 第2章 ポリオ, pp.8-54 (2019).