

# Investigation of removal and inactivation efficiencies of human sapovirus in drinking water treatment processes by applying an *in vitro* cell-culture system

白崎 伸隆（北海道大学大学院工学研究院）

この度は、大変榮譽ある論文賞を授与いただきまして誠にありがとうございます。ご選考いただきました先生方、ならびに学会関係者の皆様に心より御礼申し上げます。受賞講演の際にもお話をいただきましたが、本賞は私にとって大変思い入れのある賞です。私が学部4年生として、当時岐阜大学に在籍されていた松井佳彦先生（現北海道大学名誉教授）・松下拓先生（現北海道大学教授）の研究室に配属された2004年に、松井先生が2003年度（第1回）の論文賞を受賞されました。また、2019年には、松下先生が2018年度の論文賞を受賞されております。恩師である両先生が受賞された本賞を授与いただくことができたことは、大いなる喜びです。

受賞対象となった主要対象論文<sup>1)</sup>では、水系感染症を引き起こすサポウイルス（札幌で起きた集団感染に因んでサッポロウイルスと名付けられ、2002年の国際ウイルス命名委員会です正式にサポウイルスと命名）の浄水処理性を評価しました。サポウイルスは、ノロウイルスと同じカリシウイルス科に属するウイルスであり、世界中で流行しているウイルス性急性胃腸炎の主要な病原体の一つであるにもかかわらず、効率的な培養法が未確立であったことから、ウイルスの浄水処理性の評価に広く用いられている室内添加実験の実施に必要なウイルス量を確保することが困難であり、結果として、浄水処理性に関する知見が全く得られていない状況でした。そのような中で、2020年に、市販の汎用細胞と胆汁酸を用いたサポウイルスの増殖系が見出されたことを受け、添加実験の実施に必要なウイルス量を確保できるよう、サポウイルスの高濃度ストックの調製から研究を開始しました。ウイルス培養に用いる汎用細胞の培養日数や継代数、ウイルスの培養日数や添加量、さらには、精製法についての試行錯誤を重ねることにより、ようやく添加実験の実施に耐え得るサポウイルスの高濃度精製ストックの調製法を見出すことができ、凝集沈澱-砂ろ過、凝集-膜ろ過の添加実験を通して、サポウイルスについても、これらの処理により、その他の病原ウイルスと同程度の1-4 log（90-99.99%、処理条件によっては4 log以上）の除去が期待できることを明らかにしました。また、ストック調製において培ったノウハウを応用することにより、サポウイルスの感染力評価手法を構築し、塩素消毒の添加実験を通して、サポウイルスの塩素消毒耐性が低いこと、さらには、通常の塩素消毒により、4 log以上の不活化が期待できることを明らかにしました。

関連論文<sup>2)</sup>では、水道原水中に病原ウイルスに比べて高濃度で存在しているトウガラシ微斑ウイルス（PMMoV）に着目し、PMMoVを対象とすることにより、凝集沈澱-砂ろ過、凝集-膜ろ過を実施している実浄水場におけるウイルスの除去性を評価しました。PMMoVに関する

研究においては、培養したPMMoVと病原ウイルスを同時添加した実験を実施することにより、浄水処理における代表的な病原ウイルスの除去性を把握するための指標としてPMMoVが有用であること、また、PMMoVの感染力評価手法を構築することにより、PMMoVの塩素消毒耐性が非常に高いことをこれまでに明らかにしてきました<sup>3, 4)</sup>。これらの研究成果を踏まえ、PMMoVを対象とし、大容量（～2,000 L）の試料水中のPMMoVを効果的に濃縮可能なウイルス濃縮法を構築・適用することにより、実浄水場の凝集沈澱-砂ろ過、凝集-膜ろ過によるウイルス除去が1-3 log程度であることを明らかにしました<sup>2)</sup>。また、実浄水場における調査と添加実験の両面から、これらの処理における凝集剤の添加濃度および種類がウイルス除去に大きく影響することを見出しました<sup>2)</sup>。

上述した研究成果は、水道の微生物学的安全性を確保する上で重要な知見であると考えております。現在、これらの成果を一端として、PMMoVを活用した水道におけるウイルスのリスク管理手法の設定に向けた検討を行っております。

一連の研究を遂行するに当たり、松井先生、松下先生には、数々のご指導とご助言をいただきました。国立感染症研究所の高木弘隆先生、岡智一郎先生には、主要対象論文の共著者として数々のご助言をいただきました。また、当時北海道大学の学生であった山下玲菜氏、高力聡史氏、白川大樹氏、松村拓哉氏、胡秋哈氏には、共に苦心惨憺しながら実験・調査・分析に汗を流してもらいました。この場を借りまして心より感謝申し上げます。本受賞を励みに、研究の更なる進展に向けて努力と挑戦を続けていく所存です。この度は誠にありがとうございました。

## 参 考 文 献

- 1) Shirakawa, D., Shirasaki, N., Hu, Q., Matsushita, T., Matsui, Y., Takagi, H., Oka, T., 2023. Investigation of removal and inactivation efficiencies of human sapovirus in drinking water treatment processes by applying an *in vitro* cell-culture system. *Water Research* 236, 119951.
- 2) Shirakawa, D., Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Yamashita, R., Matsumura, T., Koriki, S., 2022. Evaluation of reduction efficiencies of pepper mild mottle virus and human enteric viruses in full-scale drinking water treatment plants employing coagulation-sedimentation-rapid sand filtration or coagulation-microfiltration. *Water Research* 213, 118160.
- 3) Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Yamashita, R., 2018. Evaluation of the suitability of a plant virus, pepper mild mottle virus, as a surrogate of human enteric viruses for assessment of the efficacy of coagulation-rapid sand filtration to remove those viruses. *Water Research* 129, 460-469.
- 4) Shirasaki, N., Matsushita, T., Matsui, Y., Koriki, S., 2020. Suitability of pepper mild mottle virus as a human enteric virus surrogate for assessing the efficacy of thermal or free-chlorine disinfection processes by using infectivity assays and enhanced viability PCR. *Water Research* 186, 116409.