

緊急連載 「新型コロナウイルスと分析化学」

国内の新型コロナウイルスの新規感染者数が連日過去最多を更新するなか、季節性インフルエンザの流行シーズンが始まり、感染予防対策や感染者の早期発見がより一層重要になっています。本誌では、コロナウイルスについて、正しく理解するために最小限必要となる基礎的知識を広く会員に提供する必要があると考え、8号より緊急連載記事を企画しました。本連載は、コロナウイルスの感染状況や感染拡大防止策に関して、分析化学的視点に基づき、正しく理解していただくことを目的としております。

この12号においては、病院や大学を安全に治療や学修の行える環境に保つために新設されたPCRセンターについて紹介します。本センターは、基礎研究者が日々の研究活動で行っている実験技術を活用したボランティア活動によって運営されています。このようにコロナ対策には、あらゆる知識や経験の活用が期待されています。本連載が、会員皆様の理解の一助としていただければ幸いです。

医療系大学の基礎系教員の支援により開設した “新型コロナウイルス対応 PCR センター”の活動

木内 祐二, 小山田 英人, 石野 敬子, 石川 文博, 宇高 結子

昭和大学は、医学部、歯学部、薬学部、保健医療学部（看護学科、理学療法学科、作業療法学科）からなる医系総合大学で、大学キャンパスは医・歯・薬学部は東京都品川区に、保健医療学部は神奈川県横浜市にあります。1年生は全員、山梨県富士吉田市のキャンパス内で全寮制の教育を受けます。都内と横浜市内に合せて8つの附属病院を持ち、全国の医系大学では最大規模の病床数（約3200床）を持ちます。大学院や附属研究所なども含めて、全体では職員（病院勤務、事務職員）約5000名、専任教員約2000名、総学生数3700名と、構成員が10000人を超える組織です。

昭和大学では、新型コロナウイルス禍への対応として、附属8病院における新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）への感染の有無を判定する目的で、令和2年5月22日から旗の台キャンパス（東京都品川区）の研究棟内に新型コロナウイルス対応PCRセンター（学内PCRセンター）を開設しました（図1）。PCR検査の対象範囲を学生や教職員などにまで広げて、9月初旬までに1万検体を超える検査を行っています。学内PCRセンター設立のきっかけは、5月上旬に附属病院の医師から「発熱外来受診者のPCRの検体を民間の検査会社に出すと結果が判るまで数日かかる。学内の基礎系の研究者と機器を集めてもっと迅速にできないか。」という要望があったことです。これを受け、大学の強力な支援も得て、薬理科学研究センター、遺伝子組換え実験室、医・歯・薬学部微生物系講座が主導して、PCRセン

ターの構想を練り2週間程度の短期間で準備を進めました。医学部微生物講座のBSL2（Biosafety Level 2）の一室を利用して、基礎系研究室からPCR検査機器2台（リアルタイムPCRシステム、現在は3台）を貸与していただき、安全キャビネットをはじめとする必要な設備も整備し、感染防御と安全な運用のためのマニュアルも急遽作成しました。なお、6月2日には品川区保健所から衛生検査所として認可されました。

PCR検査の対象は、当初は発熱外来受診者と手術目的で入院予定の患者でしたが、現在は内科系も含めた全入院患者に対して入院数日前にPCR検査で陰性を確認しています。発熱など体調不良の病院スタッフ、教職員、学生も可能な限り迅速にPCR検査を受けてもらっています。また、全学部（医・歯・薬・保健医療学部）および看護専門学校学生の病院実習前PCR検査も6月後半から実施し、陰性を確認後、病院実習を開始しています。5か月遅れで9月から全寮制（山梨県富士吉田キャンパス）を開始した全学部の1年生約530人もPCR検査で陰性を確認後、入寮しています。開設当初は月曜日～土曜日の15時から毎日40～50検体程でしたが、PCR検査のニーズが高まるに従い、1日の検体数も増え、7月からは午前、午後の2回検査を行い、1日二百数十検体を超えることもあります。そのような状況でも原則的に同日中に結果（陽性、陰性）を判定、通知します。病院内で感染疑いが出ると、医療スタッフや学生が一時待機となりますが、迅速な陰性の判定で速や



図1 昭和大学新型コロナウイルス対応 PCR センター (学内 PCR センター)

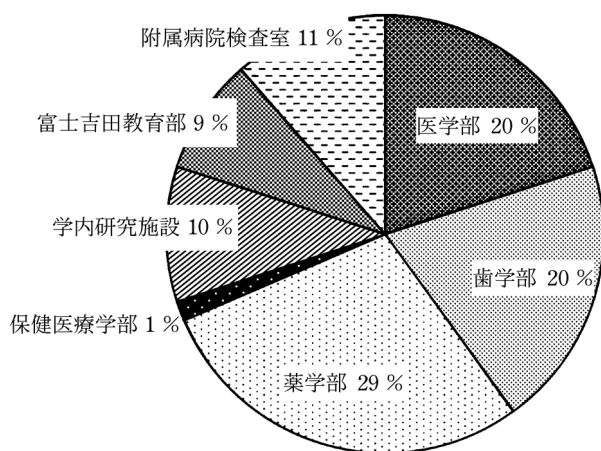


図2 昭和大学新型コロナウイルス対応 PCR センター メンバー (ボランティア) の内訳

かに診療や実習を再開でき、病院や教職員、学生からも PCR センターのサポートは喜ばれています。

1) 学内 PCR センターのメンバー

PCR センターの運営は、コアスタッフとして基礎系教員 5 名が携わっており、①PCR センター内の管理と感染制御、②附属病院、学部・看護専門学校や学内の感染管理専門部署などとの連携・連絡、③PCR 検査方法の確立および実施指導、④PCR 検査結果の解析・管理、⑤ボランティア募集、⑥PCR 関連物品の管理などを分担して行っています。

PCR センターの検査には、医・歯・薬学部および附属研究所などの主に基礎系教育職員 (若手助教からベテラン教授まで) が積極的にボランティアとして協力していただき (図 2)、現在、約 60 名が登録され、1 日 6 人 (午前 3 人、午後 3 人) 程度で、週 1 回ローテーションするシフトを組んでいます。週 1 回に数時間程度なので、各教員の研究の大きな妨げにはならず、円滑に運用されています。隣接する大学病院からの検体搬送、検体の抽出・測定、データ入力や結果の送付を分担し、チー

ムで PCR 検査を実施します。基礎系教員のボランティアですので、分子生物学的な基本的実験手技は申し分なく、3 時間程度で迅速に精度の高い結果が出ます。医・歯・薬学部所属の基礎系教員の 4 人に 1 人 (26%) が PCR 検査に参加し、中でも薬学部出身者が占める割合は 52% と半数を超えています。普段、臨床へのかかわりが少ない基礎系教員が「このコロナ禍で、切迫している医療や社会の役に立てれば」「学内外を問わず、医療人を目指す学生が安心安全に病院実習に臨んで欲しい」「1 年生の全寮制生活をはじめ、楽しく充実した学生生活を体験させてあげたい」という意識が非常に高く、積極的な協力が得られているものと思われます。

2) PCR 検査方法

患者検体からの新型コロナウイルスの検出を行うにあたり、まず既存の方法の中から検出方法の選定を行いました。国立感染症研究所 (感染研) から公開されていた病原体検出マニュアル¹⁾と検査結果が一致し、公的保険の適用となる検出キットが研究試薬メーカー数社から販売されていました。学内 PCR センターでの検査体制をかんがみて、これらの中から検査試薬を選定する際のポイントは大きく二つありました。一つ目は検査手順が可能な限りシンプルで、十分な検出力があることです。昭和大学には八つの附属病院があり、すべての発熱外来受診者と全入院患者を検査すると、一日の検体数は最大で 200 以上となることが予想されました。これらの膨大な数の検体を処理し、その検査結果を病院へ当日中に迅速に報告するためには、可能な限り煩雑な検査手順を省くことが必要でした。また、潜在的に感染性を有する臨床検体を取り扱うこととなりますが、検査担当者は基礎系教職員のボランティアを中心に構成されており、そのほとんどは病原体の取り扱い経験がありませんでした。感染性検体の取り扱いに不慣れな教員に検査を行っていただく以上、安全性の観点からも、なるべく短時間に検査を終わらせることができるシンプルな手順であることが求

められました。

二つ目のポイントは、大学に研究機器として設置してある PCR 機器が検査試薬のウイルス検出波長に対応していることです。検査試薬によっては、複数個所でのウイルスゲノムの検出に加え、インターナルコントロールも測定可能にするために複数の蛍光色素 (FAM, ROX, Cy5 など) の組み合わせで構成されているものが多いです。一方で、生命科学研究に用いる定量的 PCR の用途では、蛍光色素が増幅産物にインターカレートすることで発する強い蛍光シグナルを検出する安価な SYBER Green 法が主に用いられており、多くの研究室で使用されている PCR 機器もその検出ができることを前提に最低限のスペック (励起波長 490 nm/ 蛍光波長 530 nm) の機器を購入されていることが多いようです。学内 PCR センターでは、こうした PCR 機器 (QuantStudio3 及び StepOnePlus, Thermo Fisher Scientific) を基礎研究室から貸与していただき、検査用機器としてキャリブレーションを行って使用したため、Cy5 を用いる検査試薬に対応できず、FAM のチャンネルで検査を行うことができる検査試薬を選ぶ必要がありました。

以上の2点を踏まえ、昭和大学 PCR センターでは「東洋紡 新型コロナウイルス検出キット SARS-CoV-2 Detection Kit -N2 set-」(東洋紡製)を検査試薬として採用しました²⁾。この検出キットの長所としては、臨床検体からウイルス RNA を精製する必要がなく、前処理液と混合するだけで RT-PCR のサンプルとして用いることができる点です。しかし、臨床検体の中には、酵素反応を阻害する成分やウイルス RNA の分解に働く RNase が含まれていることが多く、本キットを用いて臨床検体から直接ウイルスを検出できるかどうかの情報が不足していました。そのため、多くの検出キットは、感染研のマニュアルに従って鼻腔拭い液からウイルス

RNA を抽出し、精製 RNA を鋳型として逆転写反応を行ったのち PCR で検出を行う手順となっています。

そこで、第1波が収まりつつある5月中旬に、貴重な陽性患者の検体を附属病院から運んでいただき条件検討を行いました。鼻腔拭い液を採取した綿棒は、ウイルス輸送液中に浸された状態でなく、乾燥状態で輸送し、リン酸緩衝液 (PBS) に懸濁して検体を調製することで検出が可能となりました。精製後のウイルス RNA (Pure Viral RNA) と直接ウイルス懸濁液 (Crude Virus) を用いた場合で比較したところ、前者の方が約16倍高い検出感度でしたが (図3)、ウイルス懸濁液でも十分な感度で検出可能であり、作業時間の短縮を考慮した際の費用対効果を考えると採用するに足るレベルであると結論付けました。

次にボランティア教員による検査体制を構築していきました。新型コロナウイルス感染が疑われる検体を扱うためには、BSL2 実験施設内で个人防护具 (PPE) を身に着け、バイオセーフティに留意しながら実際の操作を行う必要があります。しかし、当初は多くの教員は PPE の装着・脱着をはじめ、バイオセーフティに関する専門知識を持っていなかったため、検査を初めて担当する際には必ず専門家の立ち合いの下で指導を受けるとともに、標準化された手順書 (マニュアル) を作成してそれに従って実施していただきました。感染のリスクがある作業は避けたいという教員もいたため、多くの教員が参加できるように、PCR センター検査室内を検体接触エリア (レッドゾーン) と検体非接触エリア (イエローゾーン) に分けて運用することにしました (図4)。

イエローゾーンでは、主に患者検体情報の管理、PCR マスターミックスの調製とプレートへの分注、PCR 機器の設定を、レッドゾーンでは、鼻腔拭い液を採取した綿棒を安全キャビネット内で PBS に懸濁し、

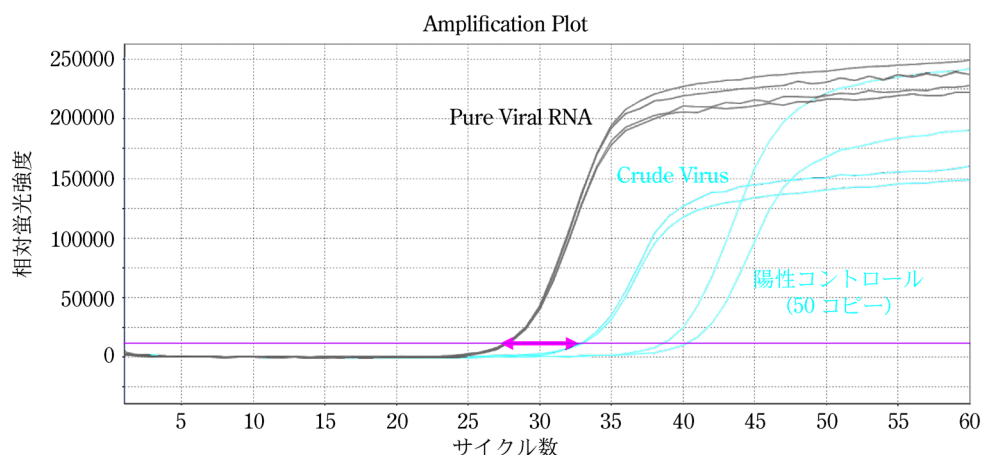


図3 検体 (綿棒) 懸濁液と精製 RNA を用いた場合の増幅曲線の比較

増幅曲線が閾値蛍光強度に達するサイクル数は、Pure Viral RNA では Crude virus よりも約4サイクル小さく (両矢印)、PCR 法では1サイクルで2倍に増幅することから16倍程度高感度であることを示している。

その懸濁液を前処理液と混合してテンプレートを調製後、PCR プレートへ添加し、PCR 機器へのセットを行います。

様々なバックグラウンドを持つ基礎系教育職員が参加したことで、検査作業の効率化や検査精度の改善につながる多くのご意見や提案をいただき、明らかな検出感度の向上を実現できました。こうした双方向的なコミュニケーションにより、基礎系教育職員がチームとして有機的に働くことでより効率的な検査を行うことができるようになり、現在では3時間以内に約130検体の検査が可能となりました。

3) PCR 検査結果 (9月5日までの集計*)

学内PCRセンターでは、5月22日から9月5日の期間に10351件の検査を実施しました。6月22日以降、1週間(6日間運用)あたり600検体以上の検査を実施しています。検体内訳は、附属病院からの依頼検体が8414件、その他(体調不良教職員・学生、病院実習前

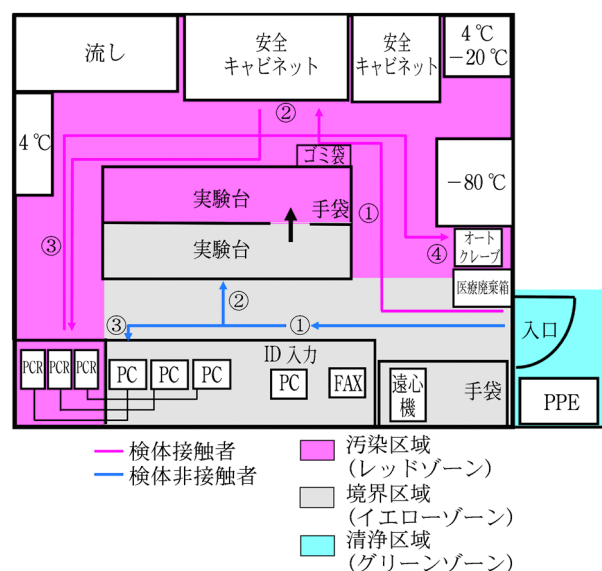


図4 昭和大学新型コロナウイルス対応PCRセンター見取り図

学生、入寮前学生等)が1937件です(図5)。

この期間における陽性検体数は178件であり、陽性率は1.7%でしたが、報告されている新型コロナウイルス感染症の国内発生動向³⁾と同じような変動を示しました。7月初旬までは、1週間あたりの陽性検体数は最高6検体でしたが、7月13日以降は週10検体以上に増加し、7月下旬～8月上旬には週30検体を超え、この期間をピークとし、それ以降も9月初旬まで断続的に週10検体以上の陽性が検出されています(図6)。

COVID-19疑いの発熱外来受診者に限ってみると陽

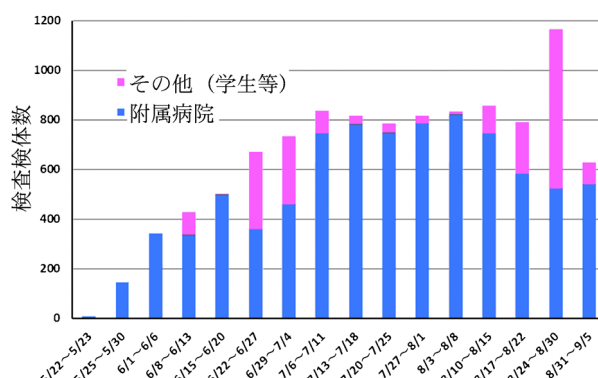


図5 昭和大学新型コロナウイルス対応PCRセンター週別検査数

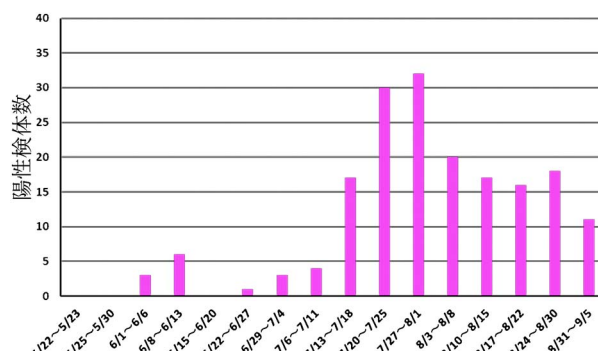


図6 昭和大学新型コロナウイルス対応PCRセンター週別陽性検体数

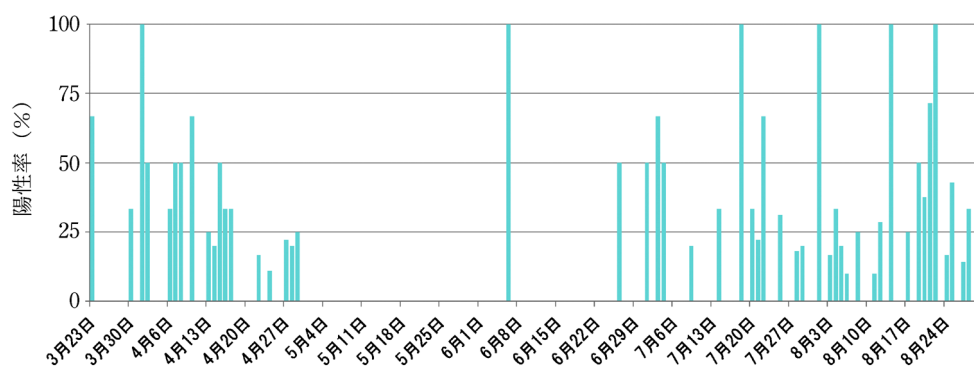


図7 昭和大学江東豊洲病院の発熱外来での陽性率(8月29日まで)
(江東豊洲病院臨床病理検査室 及川佳恵氏作成)

表1 PCR検査と抗原検査の一致率（江東豊洲病院）

抗原検査	RT-PCR 法			
		陽性	陰性	計
	陽性	35	1	36
	陰性	1	680	681
	計	36	681	717

性率は高くなり、昭和大学江東豊洲病院の発熱外来（テント外来）では、8月の受診者の26.7%がPCR検査で陽性でした（図7、5月21日以前は学内PCRセンターではなく民間検査会社の検査結果）。

なお、江東豊洲病院の発熱外来受診者を対象にPCR検査と抗原検査の一致率を調べたところ、表1のように、高い一致率が示され、抗原検査の精度と有用性も確認できました。

一方、学生（医・歯・薬・保健医療学部、看護専門学校）は現時点では、検査した1500人以上が全員陰性でした。大学生などの若者は不顕性感染者が多く、感染源となっているとメディア等で喧伝されている中で、医療系の学生は、継続的に自粛し、感染予防に努めていることも広く知ってもらいたいと思います。

以上、昭和大学の学内PCRセンターの活動について、紹介しました。薬学部出身者をはじめとする基礎系教員が、新型コロナ禍の大変困難な状況下で、そのスキルを活かして医療と社会に大きく貢献する活動を行っていることは、昭和大学としても、また基礎系の教員としても大きな喜びであり誇りです。まだ、この状況は当面は継続すると予想されており、このような取り組みを行う大学が増え、患者さんと医療への大学を挙げた支援の輪が広がることを期待しています。

*11月7日時点の総検査数は19096件、うち陽性検体数は310件（1.6%）となっています。

文 献

- 1) 病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1, 国立感染症研究所, <https://www.niid.go.jp/niid/images/labmanual/2019-nCoV20200319.pdf>(令和2年9月18日, 最終確認)。
- 2) 新型コロナウイルス検出用 1-step RT-PCR Kit, 東洋紡株式会社, https://lifescience.toyobo.co.jp/user_data/pdf/products/manual/NCV-101_102.pdf(令和2年9月18日, 最終確認)。
- 3) 新型コロナウイルス感染症の国内発生動向, 厚生労働省,

https://www.mhlw.go.jp/stf/covid-19/kokunainohasseijoukyou.html#h2_1 (令和2年9月18日, 最終確認)。



木内祐二 (Yuji KIUCHI)

昭和大学医学部薬理学講座医科薬理学部門（〒142-8555 東京都品川区旗の台1-5-8）。東京医科歯科大学医学部卒業、昭和大学大学院医学研究科博士課程修了。博士（医学）。《現在の研究テーマ》神経精神薬理、臨床薬理、医学・薬学教育。《主な著書》“新薬理学 第7版”,（日本醫事新報社）。《趣味》山歩き。

E-mail: ykiuchi@med.showa-u.ac.jp



小山田英人 (Hideto OYAMADA)

昭和大学・薬理科学研究センター（〒142-8555 東京都品川区旗の台1-5-8）。東京大学大学院医学系研究科（第二基礎医学専攻）博士課程修了。博士（医学）。《現在の研究テーマ》悪性高熱症に関連するリアノジン受容体（RyR1）遺伝子変異に関する研究。《主な著書》リアノジン受容体（分担執筆）, “悪性高熱症 for Professional Anesthesiologist”（編集：菊地博道編）（克誠堂出版）, p. 43-60（2006）。《趣味》映画および音楽鑑賞、スポーツ観戦など。

E-mail: oyamadah@med.showa-u.ac.jp



石野敬子 (Keiko ISHINO)

昭和大学薬学部臨床薬学講座感染制御薬学部門（〒142-8555 東京都品川区旗の台1-5-8）。昭和大学大学院薬学研究科博士課程修了。博士（薬学）。《現在の研究テーマ》薬剤耐性菌の分子疫学および耐性機構の解明。

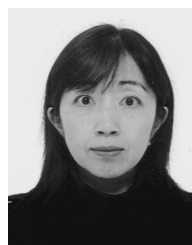
E-mail: k-ishino@pharm.showa-u.ac.jp



石川文博 (Fumihiro ISHIKAWA)

昭和大学共同研究施設遺伝子組換え実験室（〒142-8555 東京都品川区旗の台1-5-8）。昭和大学大学院薬学研究科修了。博士（薬学）。《現在の研究テーマ》転写因子を介した細胞内レッドクス制御によるがん細胞の転移機構。

E-mail: f-ishikawa@pharm.showa-u.ac.jp



宇高結子 (Yuko UDAKA)

昭和大学医学部薬理学講座医科薬理学部門（〒142-8555 東京都品川区旗の台1-5-8）。昭和大学薬学部修了。博士（医学）。《現在の研究テーマ》ドライアイ誘発性眼炎症に対する茶カテキン保護効果の臨床エビデンス構築。

E-mail: ykanda@med.showa-u.ac.jp