

深紫外線によるエアロゾル中のヒトコロナウイルス 229E の不活化

¹⁾ 東京大学大学院農学生命科学研究科農学国際専攻地球規模感染症制御学講座, ²⁾ ナカ電子株式会社

松浦 遼介¹⁾ 永田 文宏¹⁾ 中嶋 俊一²⁾
岡崎 英人²⁾ 間 陽子¹⁾

(令和6年6月27日受付)

(令和6年9月3日受理)

(令和6年12月24日J-STAGE 早期公開)

Key words: HCoV-229E, aerosol, ultraviolet-C

序 文

2019年末にSARS-CoV-2を病原ウイルスとする coronavirus disease 2019 (COVID-19) がパンデミックを起こし、多くの死者を出したことは記憶に新しい。特に、SARS-CoV-2は主にエアロゾルを介して感染することが報告されていることから、空間のウイルスの不活化に関する研究が盛んに行われ、その中でも、紫外線を用いたSARS-CoV-2の不活化は様々な論文で報告されている¹⁾²⁾。特に深紫外線(UV-C)と呼ばれる波長が200~280nmの紫外線は主にウイルスのDNAやRNAを損傷し、不活化することが知られ、その中でも安価で出力に優れた水銀ランプの253.7nmの波長の紫外線は広く研究が行われている¹⁾²⁾。実際にエアロゾル中のSARS-CoV-2の紫外線による不活化も複数報告されている³⁾⁴⁾。また、ハムスターを用いた動物実験では、紫外線がSARS-CoV-2のエアロゾルを介した感染を防ぐことが示されている⁵⁾。加えて、ダクト内を流れるエアロゾル中のブタ呼吸器コロナウイルスの紫外線による不活化などの応用研究も行われている⁶⁾。しかし、個人で持ち運びが可能な小型の空気交換機のような一定の流路を流れるエアロゾル中のウイルスの紫外線による不活化の知見は未だ限られている。本論文は、SARS-CoV-2に近縁なウイルスであるヒトコロナウイルス 229E (HCoV-229E) を持ち運びが可能な大きさの流路に噴霧し、253.7nmの波長の紫外線による不活化効果を検証した実験報告である。

材料と方法

本実験では、ウイルスの流路として、二種類の長さ

と形状の異なる金属製の筒を用意した (Fig. 1)。小型サイズの物は、内方が直径8.0cm、高さ14.6cm、体積約734mLの円筒状であり、その中心に波長253.7nm、殺菌線出力0.7Wの殺菌灯 (GPL6, 三共電気, Tokyo, Japan) を1本配置している (Fig. 1A, B, C)。また、流路内での空気を攪拌し、内部での滞留時間を増やし、流路を通過する空気全体に十分に紫外線を照射するために、蛇行板を配置した。さらに、効率よく紫外線を照射するために、内部は全て鏡面仕上げした。大型サイズの物は、内方が幅9.7cm、奥行き5.1cm、高さ26.0cm、体積約1.29Lの直方体状で、内部に2本の波長253.7nm、殺菌線出力1.6Wの殺菌灯 (GL6, 三共電気) を配置した (Fig. 1D, E, F)。また、小型サイズのものと同様に内部での滞留時間を増やすために、蛇行板を配置した。さらに、効率よく紫外線を照射するために、内部は全て鏡面仕上げとした。

上記の流路の噴霧口に、MRC-5細胞 (CCL-171, American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA) を用いて、増幅したHCoV-229E (VR-740, ATCC) (3.2×10^6 50% 培養細胞感染価 (TCID₅₀) / mL) 2 mL をネブライザー (NE-C28, オムロン, Kyoto, Japan) にて5分間、噴霧した (Fig. 2A)。噴霧開始時に、空気採取口からエアサンプラー (MD8, ザルトリウス, Gottingen, Germany) を用いて、流路内の空気を30L/minの風速で10分間空気を吸引し、ゼラチンメンブレン (ザルトリウス社) にHCoV-229Eを捕集した (Fig. 2A)。その後、ゼラチンメンブレンを37°Cの培養液で溶解し、捕集されたHCoV-229Eのウイルス力価は、TCID₅₀法を用いて、測定した。エアサンプラーの稼働中は流路内の殺菌灯を点灯した。また、対照群として、流路内の殺菌灯を消灯した状態で試験を行った (Fig. 2A)。加えて、エアサンプラーによるウイルスの回収量を測定するために、流

DOI: 10.11150/kansenshogakuzasshi.e24014

責任著者: (〒153-0041) 東京都東京都目黒区駒場 4-6-1

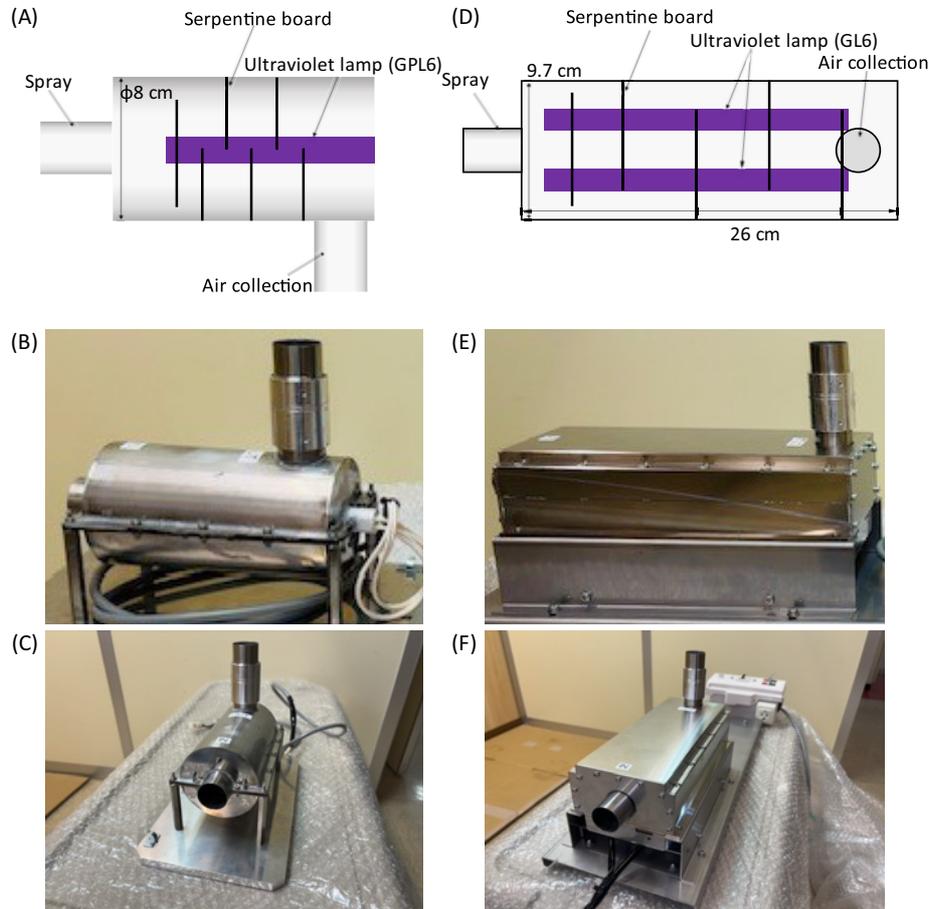
東京大学駒場IIキャンパス駒場

オープンラボラトリー205号室 間 陽子

E-mail: yoko-aida@gecc.u-tokyo.ac.jp

Fig. 1 Cross-sectional schematic view and image of the flow path box equipped with ultraviolet lamps used in this study.

Cross-sectional schematic view (A) and image from the side (B) and front (C) of the small box and cross-sectional schematic view (D) and image from the side (E) and front (F) of the large box.



路を介さず、ネブライザーから噴霧後に、エアサンプラーで直接ウイルスを回収した (Fig. 2A)。試験は各群 2 回行った。

結果

小型サイズの流路を用いた試験においては、紫外線を点灯することにより、1 回目の試験では 133 TCID₅₀/mL、2 回目の試験では 42 TCID₅₀/mL の力価の HCoV-229E が検出された (Fig. 2B)。一方で、流路を介さず HCoV-229E を回収した条件では、1 回目の試験では 13,300 TCID₅₀/mL、2 回目の試験では 4,200 TCID₅₀/mL の力価の HCoV-229E が検出された。これらの結果から、紫外線を点灯した流路を通すことで、ウイルス力価が 99.9% 減少することが明らかとなった。一方で、紫外線を消灯した状態で流路内にウイルスを噴霧した場合には、1 回目の試験では 4,220 TCID₅₀/mL、2 回目の試験では 1,000 TCID₅₀/mL の力価の HCoV-229E が検出され、ウイルス力価の減少はほとんど認められなかった。この結果から、HCoV-229E の一部

は流路へ付着するが、大部分は紫外線によって、不活化されることが示された。

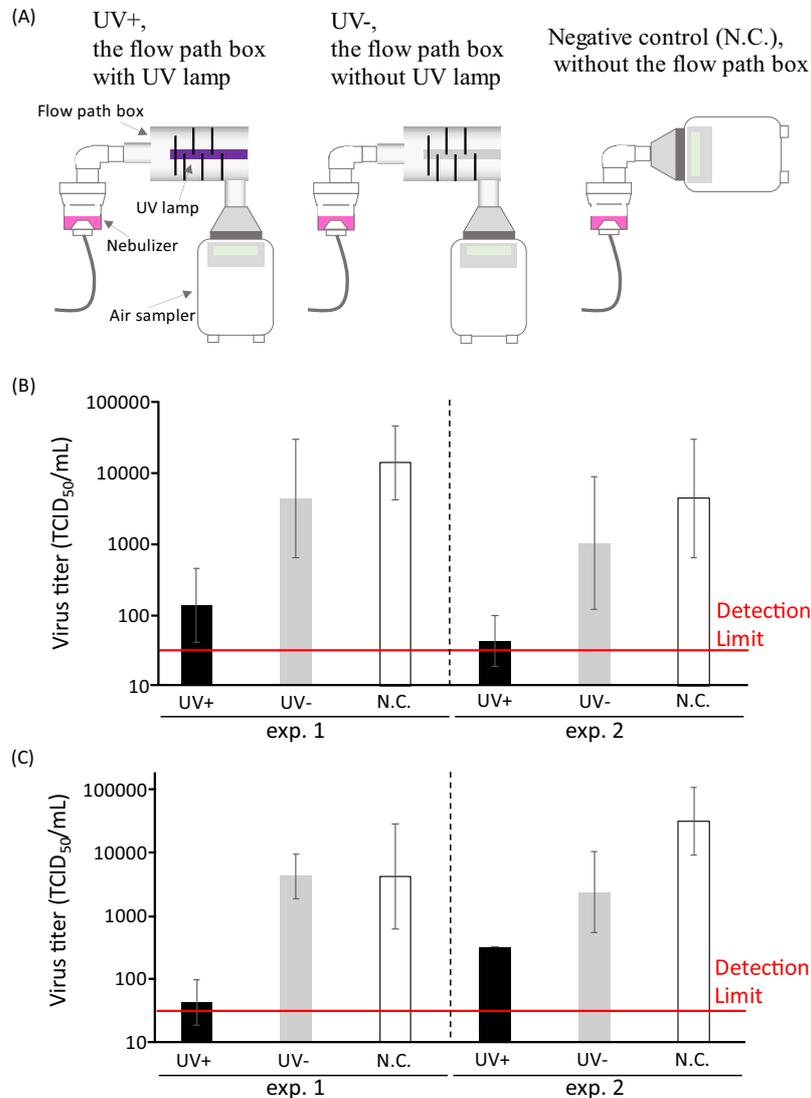
同様に、大型サイズの流路を用いた試験においても、99.9% のウイルス力価の減少が確認された (Fig. 2C)。具体的には、紫外線を点灯することにより、1 回目の試験では 42.2 TCID₅₀/mL、2 回目の試験では 316 TCID₅₀/mL の力価の HCoV-229E が検出された (Fig. 2C)。一方で、流路を介さず HCoV-229E を回収した条件では、1 回目の試験では 4,220 TCID₅₀/mL、2 回目の試験では 31,600 TCID₅₀/mL の力価の HCoV-229E が検出された。一方で、紫外線を消灯した状態で流路内にウイルスを噴霧した場合には、1 回目の試験では 4,220 TCID₅₀/mL、2 回目の試験では 2,371 TCID₅₀/mL の力価の HCoV-229E が検出され、ウイルス力価の減少はほとんど認められなかった。

考察

本研究により、エアロゾル中の HCoV-229E が個人で持ち運びが可能なサイズの流路を流れる際に紫外線

Fig. 2 Effect of the flow path box equipped with ultraviolet lamps on the airborne human coronavirus 229E variant.

(A) Schematic view of each condition (UV+, the flow path box with the ultraviolet (UV) lamps; UV-, flow path box without UV lamps; negative control (N.C.), without the flow path box). The experiment was performed using a Small box (AB) and Large box (BC). Each column and error bar represents the mean \pm SD of the results from 6 well in two independent experiments.



によって効率よく不活化されることが示された。また、本試験はサイズの異なる2種類の流路を用いたが、それぞれの紫外線ランプの強度は、小型サイズの流路が0.7W、大型サイズの流路が3.2W (1.6W, 2本)である。単位体積当たりの紫外線強度は、小型サイズの流路では約950W/m³であり、大型サイズの流路では約2,480W/m³である。また、流入した空気が流路を通過する時間は、流体力学シミュレーションから小型サイズの流路では約3.1秒であり、大型サイズの流路では約4.5秒と計算される。このことから、紫外線の照射

時間及び照射強度がより大きくなると考えられる大型サイズの不活化率と、紫外線の抗ウイルス効果が弱くなると考えられる小型サイズの不活化率が変わらない結果が得られた。これは、本実験で用いた小型サイズの流路における照射時間および照射強度が今回噴霧した 6.4×10^6 TCID₅₀のウイルスを不活化するのに十分であることを示している。

また、本研究において、流路への付着によるウイルス量の減少が確認された。流路内は紫外線が照射され続けるため、流路に付着したウイルスはそのまま不活

化されると考えられる。そのため、流路内へのウイルスの付着も流路のウイルス不活化効果に寄与する。しかし、蛇行板の配置や流路の長さ、素材によって、付着するウイルスの量は変化すると考えられ、今後最適な条件の検討が求められる。

感染が成立するエアロゾル中のウイルス量に関する先行研究は非常に限られているが、例えば、鼻咽頭ぬぐい液中の SARS-CoV-2 の感染力価が非常に高い (18,000 PFU/mL) 患者においても、バイオエアロゾル中の SARS-CoV-2 は RNA 量が 4.8 copies/mL であり、感染力価は検出限界以下であることが報告されている⁷⁾。加えて、SARS-CoV-2 は、1 TCID₅₀/mL が約 30-70 copies/mL に相当すると報告されていることから、鼻咽頭ぬぐい液中の SARS-CoV-2 の感染力価が高い患者においても、バイオエアロゾル中の SARS-CoV-2 は約 0.1 TCID₅₀/mL であると考えられる⁸⁾。このことから、SARS-CoV-2 の感染が成立するウイルス量は不明であるが、環境中の感染性を有する SARS-CoV-2 の量は非常に少ないことが推察される。また、A 型インフルエンザウイルス感染患者が 1 分間の呼吸で放出するウイルス量は 20 copies (約 0.1 TCID₅₀) 以下であり、エアロゾルを介した感染が成立するウイルス量は約 3 TCID₅₀ であることが報告されている⁹⁾¹⁰⁾。本研究で用いた HCoV-229E は SARS-CoV-2 及び A 型インフルエンザウイルスと比較して、その感染性等に違いはあるが、エアロゾルを介した感染が起こる点で類似している。本研究において、通常のエアロゾルとしては、存在しえない高濃度 (約 1 千万倍) のウイルスが不活化されたことから、上記の A 型インフルエンザウイルスの感染が成立するウイルス力価を考慮すると、このような流路と紫外線を用いた空気交換システムが感染の防止に非常に有効であることを示唆する。

紫外線を用いた空気交換システムの実際の利用方法としては、例えば、ウイルスが蔓延していると考えられる環境において、口元に紫外線で処理をした空気を届けることで、感染を防御するなどが考えられる。その意味において、本研究で用いたような約 734 mL の小型かつ軽量の流路は、流路をカバンに入れるあるいはベルト等で体に固定をし、マスク等にチューブ等を用いることで効果的に接続が可能と考えられ、病院や福祉施設などにおけるエッセンシャルワーカーや一般の旅行者等にとって効果的であることが期待される。実際に、口元にきれいな空気を届けるという点において、HEPA フィルター式の機械式マスクなどが市販されている。HEPA フィルターは非常に効率よくウイルスを吸着することから、ウイルス対策に広く使用されている。一方で、HEPA フィルターは定期的な

交換が必要であることや、HEPA フィルターに吸着したウイルスは必ずしも不活化されない点などが課題として挙げられる。紫外線は HEPA フィルターと異なり、ウイルスの不活化が可能な点で優れているが、HEPA フィルターのように物理的にウイルスを遮断することが出来ない点で HEPA フィルターに劣る。このことから、使用する環境などによって、HEPA フィルターと紫外線を搭載した流路を使い分けることが可能であると考えられる。また、先行研究でも HEPA フィルターと紫外線の併用が報告されている通り⁴⁾、HEPA フィルターと紫外線を搭載した流路の双方を用いることも可能であると考えられる。屋外において、紫外線を搭載した流路を用いるにあたっては、電源や稼働時間等の問題等も考えられるため、今後の開発が期待される。

また、本研究で試験した流量では、十分とは言えないため、さらなる研究が必要であるが、過去の研究において報告されているように、病院や学校などあるいは養鶏場やペットショップなどの集団で人や動物が生活する環境におけるダクトなどの換気システムに組込むこと、外部からのウイルスの混入を防ぐことで、感染症の蔓延を予防するなどの用途が考えられる⁵⁾。しかし、本研究は一定の実験条件の流路において、HCoV-229E に対する効果を調査したものであることから、今後は実際に使用する環境において、使用する形態に合わせ、より広い対象のウイルスを用いた研究が必要である。

謝辞：本研究において、工学的技術協力をいただいた北海道科学大学松田寿教授に深謝いたします。

本研究はナカ電子株式会社との共同研究によって、行われた。

利益相反自己申告：著者松浦遼介、永田文宏、間陽子はナカ電子株式会社から資金援助を受けている。著者中嶋俊一、岡崎英人はナカ電子株式会社の社員であり、中嶋俊一は同社の株式を保有している。

文 献

- 1) Matsuura R, Lo CW, Ogawa T, Nakagawa M, Takei M, Matsumoto Y, *et al.* : Comparison of the inactivation capacity of various UV wavelengths on SARS-CoV-2. *Biochem Biophys Rep.* 2022 ; 32 : 101379.
- 2) Lo CW, Matsuura R, Iimura K, Wada S, Shinjo A, Benno Y, *et al.* : UVC disinfects SARS-CoV-2 by induction of viral genome damage without apparent effects on viral morphology and proteins. *Sci Rep.* 2021 ; 11 (1) : 13804.
- 3) Barnewall RE, Bischoff WE : Removal of SARS-CoV-2 bioaerosols using ultraviolet air filtration. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2021 ; 42 (8) : 1014-5.

- 4) Shang M, Kong Y, Yang Z, Cheng R, Zheng X, Liu Y, *et al.* : Removal of virus aerosols by the combination of filtration and UV-C irradiation. *Front Environ Sci Eng.* 2023 ; 17 (3) : 27.
- 5) Qiao Y, Yang M, Marabella IA, McGee DAJ, Aboubakr H, Goyal S, *et al.* : Greater than 3-Log Reduction in Viable Coronavirus Aerosol Concentration in Ducted Ultraviolet-C (UV-C) Systems. *Environ Sci Technol.* 2021 ; 55 (7) : 4174–82.
- 6) Ragan I, Perez J, Davenport W, Hartson L, Doyle B : UV-C Light Intervention as a Barrier against Airborne Transmission of SARS-CoV-2. *Viruses.* 2024 ; 16 (1) : 89.
- 7) Johnson TJ, Nishida RT, Sonpar AP, Lin YJ, Watson KA, Smith SW, *et al.* : Viral load of SARS-CoV-2 in droplets and bioaerosols directly captured during breathing, speaking and coughing. *Sci Rep.* 2022 ; 12 (1) : 3484.
- 8) Zapata-Cardona MI, Flórez-Álvarez L, Gómez-Gallego DM, Moncada-Díaz MJ, Hernandez JC, Díaz F, *et al.* : Comparison among plaque assay, tissue culture infectious dose (TCID₅₀) and real-time RT-PCR for SARS-CoV-2 variants quantification. *Iran J Microbiol.* 2022 ; 14 (3) : 291–9.
- 9) Alford RH, Kasel JA, Gerone PJ, Knight V : Human influenza resulting from aerosol inhalation. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1966 ; 122 (3) : 800–4.
- 10) Nikitin N, Petrova E, Trifonova E, Karpova O : Influenza virus aerosols in the air and their infectiousness. *Adv Virol.* 2014 ; 2014 : 859090.

Inactivation of Human Coronavirus 229E in Aerosols Using Deep Ultraviolet

Ryosuke MATSUURA¹⁾, Fumihiro NAGATA¹⁾, Shunichi NAKAJIMA²⁾, Hideto OKAZAKI²⁾ & Yoko AIDA¹⁾

¹⁾Laboratory of Global Infectious Diseases Control Science, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, ²⁾NAKADENSHI CO., LTD

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has been identified as the cause of a worldwide pandemic. Ultraviolet (UV) light is regarded as a very powerful tool against SARS-CoV-2. However, there is little information regarding the effects of UV of inactivating viruses flowing in a flow path box. Herein, we showed that the human coronavirus 229E variant, which is closely related to SARS-CoV-2, in aerosol in the flow path box was efficiently inactivated by UV irradiation. In addition, the inactivating effect of UV was consistent regardless of the size of the flow pass box. This study suggests the effectiveness of a flow pass box equipped with ultraviolet lamps, as a countermeasure to prevent the spread of virus infection via aerosol.

[J.J.A. Inf. D. Advance Publication]