

令和2年度衛生研究所研究課題外部専門家との意見交換結果報告書

1 意見交換開催期間

令和2年10月19日（月）から12月11日（金）まで
（書面開催）

2 外部専門家名簿

所属・役職	氏名
医療法人社団翠会 蓮根ひまわり苑 施設長 (独立行政法人労働安全衛生総合研究所 前理事長)	小川 康恭
千葉大学大学院医学研究院 分子ウイルス学 教授	白澤 浩
国立感染症研究所感染症疫学センター センター長	鈴木 基

(敬称略 五十音順)

3 意見及び対応方針

次項のとおり

(1) 事前評価

研究課題番号	02-02
研究課題名	千葉県内で狩猟された野生動物における重症熱性血小板減少症候群ウイルス浸潤状況
研究期間	令和2年度～令和4年度
研究概要	<p>重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は SFTS ウイルス（SFTSV）による新興感染症であり、主にマダニを介して人に感染する。千葉県ではこれまでに SFTS 患者の発生は無いが、2017 年に山口大学の調査チームは、千葉県内で捕獲されたシカの血液から抗 SFTSV 抗体が検出されたと報告した。このことから、現時点で患者発生が無い本県においても、新たな患者発生の可能性がある。イノシシ、シカ、キョンなどの県内に生息する野生動物は自然界で SFTSV 感染環を維持していると考えられるが、動物種ごとの抗体調査をはじめとした血清疫学情報は少ない。</p> <p>そこで本研究では、野生動物の抗 SFTSV 抗体の保有状況およびウイルス遺伝子保有状況を調査し、本県における SFTSV の浸潤状況を把握する。更に、日本医療研究開発機構研究補助金（AMED）研究班にて行っている放浪犬の SFTSV 抗体保有調査結果と併せて本県の SFTS 発生のリスクを評価する。</p>
主な意見	<ul style="list-style-type: none">・千葉県内の野生動物における SFTSV に対する抗体保有率をサーベイし、継続的にデータを蓄積していくことは、将来的に千葉県での発症例が出現する可能性もあることから重要な課題であると考え。また、千葉県において発症者が見られていない現状で、適切な浸潤状況の調査が設定されていると考える。・研究期間中においては、他の野生動物媒介による感染症の出現に備えて、千葉県内における野生動物のサーベイランスのネットワーク構築にも留意して頂くことを期待したい。・野生動物への浸潤状況から SFTS 患者発症の将来予測が可能となるように研究が進むことを期待する。

対応方針	<p>いただいた御意見を参考に、SFTSV 抗体陽性率からリスク評価を行うとともに、新たな野生動物媒介感染症を解明すべく、環境省の研究者とのネットワーク構築も並行して研究に取り組んでいきたい。</p>
------	--

研究課題番号	02-05
研究課題名	千葉県内で確認された麻疹再感染例 (Secondary vaccine failure 及び既感染例) におけるウイルス中和抗体の評価
研究期間	令和 2 年度～令和 4 年度
研究概要	<p>近年、排除状態となった国々で麻疹が再興し、わが国でも、千葉県をはじめ国内各地で輸入例を発端とした小流行が発生している。2016 年以降に千葉県で確認された麻疹 72 例を対象に、抗体成熟度の指標のひとつの IgG avidity を評価したところ、ワクチン緊急接種を除く 39 例 (54%) が high avidity であり、半数以上が再感染例 (re-infection case : 以下、RIC) とされる secondary vaccine failure 例または既感染例であることが明らかになった。このことから、ワクチン接種 (または過去に感染) し免疫を獲得していても、抗体の量的または質的な点で感染を防御できない場合がある可能性を認めた。</p> <p>ウイルスの構造側からは、ワクチンの有効性が既に確認されている。しかし、麻疹ウイルスに対する抗体保有状況は、PA 法や ELISA による IgG 測定での調査が一般的であり、いずれの抗体検査でもワクチン株を抗原として使用するため、市中流行株に対しての反応性は評価されていない。さらに、RIC における免疫の質に関する知見はほとんど得られていない。</p> <p>これらのことから、2016～2019 年に千葉県内で確認された麻疹再感染例に焦点をあて、市中流行株と抗体の反応性を評価する。</p>

<p>主な意見</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・国際空港が立地する千葉県において、ワクチン接種例における再感染症例の病態を検証することは重要な課題と考える。特に中和抗体と再感染例の病態には未知な点も多く残されており、詳細な検討には症例数の蓄積と精緻な解析が必須であり、本課題の成果を期待したい。 ・発想としては非常に興味深い研究だと考える。方法の中に記載は無いが、全検体の Avidity 検査結果、陽性例に関しては遺伝子型が分かっているものとして中和抗体価を測定するものと理解した。その上で、遺伝子検査陽性例と陰性例の位置づけが問題となるが、陽性例の抗体は中和力が弱く、陰性例は中和力が強いと言えない場合は結果を解釈する上での基準が定まらないことになり、陰性例、陽性例に分けて比較することの意義が低下するのではないかと思ひ質問をさせていただいた。何れにせよ、結果によっては解釈が非常に難しくなることが起こるので、結果が出る毎に十分に吟味しながら研究を進めてほしい。
<p>対応方針</p>	<p>いただいた御意見を参考に、結果の解析方法についても十分吟味し、麻疹再感染例の特徴を解明するため、研究に取り組んでいきたい。</p>

(2) 事後評価

<p>研究課題番号</p>	<p>27-04</p>
<p>研究課題名</p>	<p>流入下水中に存在するウイルスの動向把握</p>
<p>研究期間</p>	<p>平成 28 年度～令和元年度</p>
<p>研究概要</p>	<p>ヒトから排出されたウイルスが多数存在すると考えられる流入下水中のウイルスを検索することで、県内に存在するウイルスの動向を明らかにする。さらに、下水中の公衆衛生上重要なウイルスの動向を解析することで、ヒトの発症時期と下水からの検出時期の関係性、ヒトへの発症に対する下水中のウイルスの関与などを把握し、予防啓発へつなげることを目的とする。</p> <p>不顕性感染者も多いが顕性時に公衆衛生上影響の大きく、便や尿に排泄されるウイルスの検出を試みた。(平成 28 年度、平成 29 年度)</p> <p>また、流入下水中の胃腸炎ウイルスの検出状況と患者発生状況を比</p>

較、関係性を明らかにし、流入下水中の胃腸炎起因ウイルスの検出が感染性胃腸炎の予防啓発へつながるデータになり得るか試みた。(平成28年度から平成31年度)

流入下水の採水は、月に一度、採水地点は県内1カ所に設定した。

・不顕性感染者も多いが顕性時に公衆衛生上のリスクが大きく、尿中に排泄されることから流入下水中に存在が想定されたデングウイルス、風しんウイルスの検出を試みた。リアルタイムPCR法による検出を実施したところ、すべて陰性を確認した。

デングウイルス、風しんウイルスともに国内の患者報告数の少ない期間に検出を試みたことから、検出を継続することで新たな知見を得られる可能性はある。

・無菌性髄膜炎患者から検出されたエンテロウイルスと患者発生時期と同時期に採水した流入下水から検出されたエンテロウイルスは系統樹解析によって配列はほぼ一致した。また、患者報告数の増加とともに流入下水からの検出数も増加傾向にあった。これらのことから、流入下水中のウイルス検索は、疾患の原因となるウイルスの流行状況を把握する上で有用な指標になることが示唆された。また、流入下水中のウイルス検索は不顕性感染者の存在を検出できる高感度なウイルス監視方法であるが、対象人口は下水道利用地域に限定され、感染源の特定は困難である。感染症発生動向調査と組み合わせることで、質の高いウイルスの監視を継続することが可能であると考えられる。

・胃腸炎に関与するウイルス(ノロウイルス、サポウイルス、アストロウイルス、A群ロタウイルス、C群ロタウイルス)は、患者発生の流行に左右されず、流入下水から検出された。また、患者発生の少ない夏季においても流入下水からは一定の割合で検出された。不顕性感染者の存在や感染者からの長期排泄が、流行に影響されず流入下水から検出される要因と考えられた。また、調査期間中患者発生の流行規模があまり小さくなく、流入下水からのウイルスの検出状況を流行規模と比較、評価するには不十分であった。流入下水を用いた胃腸炎に関与するウイルスのモニタリングは有益な情報を得られると考えられ

	<p>るが、検体の提供が減少している病原体定点の情報を流入下水の調査によって補完するためには、流入下水からのウイルスの検出調査の継続、更なる体制の構築が必要と考える。</p> <p>【学会・誌上发表等】</p> <p>無菌性髄膜炎患者からのコクサッキーウイルス B 群の検出状況-千葉県 (IASR Vol. 38 p39-40: 2017 年 2 月号)</p> <p>Coxsackievirus B5 Aseptic Meningitis in Infants in Chiba Prefecture、Japan、 in 2016 (J Nippon Med Sch Vol. 85 No. 3 (2018))</p> <p>環境水サーベイランスと感染症発生動向調査事業から検出されたエンテロウイルス (第 77 回日本公衆衛生学会総会 平成 30 年 10 月)</p> <p>平成 28 年度ポリオ環境水サーベイランス (感染症流行予測調査事業および調査研究) にて検出されたエンテロウイルスについて (IASR Vol. 39 p67-69: 2018 年 4 月号)</p> <p>平成 29 年度ポリオ環境水サーベイランス (感染症流行予測調査事業および調査研究) にて検出されたエンテロウイルスについて (IASR Vol. 40 p88-90:2019 年 5 月号)</p>
<p>主な意見</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・本研究課題は、流入下水中の胃腸炎起因ウイルスの検出が感染性胃腸炎の予防啓発へつながりうることを示し、千葉県における感染動向把握のための基盤を構築したことが成果として評価できる。 ・今後、次世代シーケンサーによる解析等を導入し、より精緻な調査を継続していくことを期待したい。 ・研究成果が時間及び地域の流行予測に何処まで使えるか十分に吟味し活用されることを期待する。
<p>対応方針</p>	<p>いただいたご意見を参考に、感染症のサーベイランス強化のために活用し、さらに詳細かつ精緻な調査を継続することで感染症の流行予測への活用を見極めたい。</p>

研究課題番号	28-01
研究課題名	千葉県内の小児における呼吸器感染症起因ウイルスの動向把握
研究期間	平成 29 年度～令和元年度
研究概要	<p>呼吸器感染症の原因の約 90%はウイルスによるとされる。特に小児では、母体の移行抗体が消失する 6 ヶ月齢以降にウイルスにさらされ、様々な感染症を引き起こし、中には呼吸器症状を呈する場合がある。通常、咳や息苦しさ等を含む風邪とされる呼吸器感染症も、一部では上気道炎から下気道炎に波及し、重症呼吸器感染症例となる。呼吸器感染症を引き起こすウイルスは、一般的に知られているインフルエンザウイルスの他、RS ウイルス、ヒトメタニューモウイルス、鼻かぜの原因と言われるヒトライノウイルスと多岐にわたる。しかし、ベットサイドで抗原検出できるウイルスは限られ、他のウイルス検索や病態との関連性については精査されていない。今回、千葉県内で集計した上気道炎～下気道炎として診断された症例について、ウイルス検出状況、さらに上気道炎と下気道炎別に考察し、ウイルス学的、疫学的、臨床的特徴を明らかにすることを目的とした。</p> <p>研究期間中に上気道炎、下気道炎とされ、インフルエンザ迅速キット陰性で細菌培養で有意菌の検出がなかった合計 103 例を対象とした。年齢範囲は 0～16 歳(中央値 0 歳)、男女比は 6:4 であった。検索対象のウイルスはエンテロウイルス属 (ヒトライノウイルス、コクサッキーウイルスを含む)、RS ウイルス、ヒトメタニューモウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス、ヒトボカウイルスとし、検体から核酸を抽出し、遺伝子検査を実施した。また、調書から得られた、疫学事項、臨床的特徴について精査した。</p> <p>ヒトライノウイルスが最も多く、全体の 41%から、季節性なく検出された。次いで、エンテロウイルス型不明が 11%であった。他のウイルスでは、ヒトボカウイルス 11%、アデノウイルス 10%、RS ウイルス 9%、パラインフルエンザウイルス 8%であった。</p> <p>病日と検出ウイルスの関連については、第 11 病日まで、何らかのウ</p>

ウイルスが検出されたが、検出期間とウイルス種に差は認められなかった。RSウイルスが第11病日に検出されており、最長期間であった。

基礎疾患別にウイルスの検出率をみたところ、基礎疾患が有りてウイルスが検出された症例は64%であった一方、基礎疾患がなくウイルスが検出された症例は59%であった。

上気道炎46例、下気道炎57例の2群で比較を行った。上気道炎では61%、下気道炎では70%からウイルスが検出された。上気道炎では、エンテロウイルス属が75%を占め、そのうちの半数以上はヒトライノウイルスであった。下気道炎についてもエンテロウイルス属が62%を占めており、ライノウイルスの検出率は上気道炎と同等であった。2群間で基礎疾患の有無、疫学事項について比較検討した結果、基礎疾患有りは上気道炎では4%であったが、下気道炎では45%であった。疫学事項では両群とも散発例が最も多く、次いで家族内伝播であり、両群に疫学的な差は認められなかった。

下気道炎例の内、鼻咽頭ぬぐい液（上気道検体）と喀痰又は気管吸引液（下気道検体）の同時採取検体が得られた9例を対象として、検体採取部位別の特徴を検討した結果、ヒトライノウイルスとアデノウイルスは上気道検体のみ、RSウイルス、ヒトボカウイルス、パラインフルエンザウイルスは上気道検体、下気道検体の両方から検出され、ウイルスによって、検出箇所または増幅箇所に違いがあることが明らかとなった。また、検体採取部位の違いによって、共検出（ヒトボカウイルスとヒトライノウイルス）が確認された。

今回の研究から、下気道炎についても鼻風邪の原因であるヒトライノウイルスが原因病原体となる可能性が高いことを示した。病態の悪化については、検出されるウイルス側よりも宿主側の要因（基礎疾患等）が影響している可能性が高く、検出されるウイルスによる臨床的な差は認められなかった。このことから、原因の特定にはサーベイランス（ウイルス遺伝子の検出）の必要性が高いと考える。遺伝子の検出に併せて、コピー数の決定や症状に併せた経時的なサンプリングによって、病態との関連性についてはより詳細に把握できると考えら

	<p>れた。また、ウイルス側だけでなく、罹患児の IgA や IgG の動態も併せることで、ウイルス共検出も含めた病態の解明につながるのと考えられる。</p> <p>現行のサーベイランスではインフルエンザ以外にほとんど行われていないこと、県内の呼吸器感染症の重症化リスク評価はなされていない状況に鑑み、本検討は、事業もしくは発生動向調査に組み込まれるための基礎データの一つになるものと考えられる。</p>
<p>主な意見</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・呼吸器感染症の病因が主としてウイルスである一方で、病因ウイルスは多様であり、不顕性感染もかなり存在すると考えられ、呼吸器感染症の発生病態は単純ではないことが予想される。そのため、本研究課題で調査された基礎的な動向調査の積み重ねが必須であると考えられ、本研究課題で得られた知見は将来に繋がる有意義な成果であると評価できる。 ・本研究課題で見いだされた問題点を解決すべく、新たな技術の導入、調査範囲の拡大等も視野に入れて継続していくことが望まれる。 ・非常に興味深いデータが成果として出ている。これらの結果をベースとして次への展開を考えてほしい。
<p>対応方針</p>	<p>いただいた御意見を参考に、成果の活用について検討するとともに、今後のさらなる研究活動に活かしていきたい。</p>

研究課題番号	29-07
研究課題名	飲料水中の陰イオン類の定量に及ぼす脱塩素剤の影響と分析条件の検討
研究期間	平成 29 年度～令和元年度
研究概要	<p><研究の概要></p> <p>飲料水中の陰イオン類分析において、脱塩素剤（前処理試薬）であるエチレンジアミン（EDA）由来の妨害ピークにより、分析対象物質のフッ素の定量が困難となる事例が報告されている。当該事象は、陰イオン類分析に汎用されるサプレッサー型イオンクロマトグラフにおいて、水酸化物系溶離液（水酸化カリウム）を用いた分析時に確認されている。</p> <p>EDA による前処理は、分析対象物質のうち一部の陰イオン分析には不可欠であるが、フッ素の分析においては不要であり、フッ素ピークに対する妨害ピークを生じさせる。そのため、EDA によりフッ素の定量が困難な場合には、「EDA を用いないフッ素の個別分析」及び「EDA を用いた、フッ素を除く陰イオン類の一斉分析」を併行して実施し、各物質の定量精度を確保することが推奨されている。</p> <p>しかし、試験操作の期限が採水後 24 時間以内に設定されていること、分析時間の短縮や効率化、コスト削減の観点から、同一の試験操作でフッ素を含む陰イオン類を一斉分析することが望まれる。</p> <p>そこで本研究では、いまだ詳細な研究報告がなされていない、EDA の代替となり得る脱塩素剤の探索と、フッ素を含む一斉分析法の検討を行い、妨害ピークの縮小と定量性の向上及びフッ素を含む陰イオン類一斉分析法の開発を目指した。</p> <p>はじめに、当所のクロマトグラム上に観察されている妨害ピークが EDA 由来であることを確認後、妨害ピークの生成挙動に影響を及ぼすファクターの探索を行った。次に、分析カラムや溶離液組成、EDA の添加濃度等の分析条件の検討を行った。さらに、フッ素分析に影響を及ぼさない代替の脱塩素剤の探索を行った。選抜した脱塩素剤を用い</p>

て、フッ素を含めた一斉分析法のバリデーションを行い、妥当性評価ガイドラインに準拠した分析法の妥当性評価を行った。

<研究の成果>

① 妨害ピークの生成挙動に影響を及ぼすファクターの探索

検討の結果、試料中のフッ素が低濃度の場合に、妨害ピークが大きくなることが確認された。また、水道水試料は超純水試料と比較して、妨害ピークが大きくなる傾向があった。以上のことから、妨害ピークの生成挙動に影響を及ぼすファクターとして、試料中のフッ素濃度及びマトリックスが考えられた。一方、試料中の遊離残留塩素濃度及び EDA の経時的変化等（市販 EDA 原液容器開封後の経過時間、EDA 溶液調製後の経過時間、容器形態、製造メーカー）による影響はみられなかった。

② 分析条件の検討

陰イオン類分析に汎用される 4 種類のカラムについて、妨害ピークの生成挙動を比較検討した。その結果、いずれのカラムにおいても EDA 由来のピークが認められたが、EDA 由来のピークとフッ素ピークの分離が良好なカラムが 2 種類あり、このうち、陰イオン類一斉分析の定量精度が良好なカラムが 1 種類あった。

溶離液について、水酸化物系溶離液（水酸化カリウム水溶液）を用いた場合と炭酸系溶離液（炭酸ナトリウム・炭酸水素ナトリウム混液）を用いた場合を比較したところ、EDA 由来の妨害ピークは水酸化カリウム水溶液を用いた場合にのみ確認された。

試料に添加する EDA 濃度を変化させて、妨害ピークの生成挙動を検討したところ、告示法規定濃度(50mg/L)の 1/10～1/50 に減量することで、妨害ピークによるフッ素ピークへの影響が低減されることが確認された。なお、EDA を 1/10～1/50 に減量した場合であっても、水道水試料として通常想定される残留塩素濃度を脱塩素処理できることが確認された。

③ 代替の脱塩素剤の探索

EDA の代替となり得る脱塩素剤について検討した結果、チオ硫酸ナトリウム（試料中の最終濃度として 2×10^{-2} mmol/L 及び 4×10^{-2} mmol/L）が妥当と考えられた。なお、クロマトグラム上にチオ硫酸ナトリウムのピークが観察されたが、分析対象物質のピークと十分に分離していることが確認された。

④ 代替の脱塩素剤等を用いた陰イオン類一斉分析法のバリデーション

妥当性評価ガイドラインに従い、代替の脱塩素剤等（チオ硫酸ナトリウム及び添加濃度を 1/10～1/50 に減量した EDA）を用いて一斉分析法のバリデーション試験を実施した。その結果、いずれの脱塩素剤においても、すべての陰イオン類（フッ素、亜硝酸態窒素、塩素酸、塩化物イオン、硝酸態窒素）においてガイドラインの目標値を満たす良好な結果が得られた。

なお、本研究により確立した検査方法は、令和 2 年 8 月に当所の水質検査法の SOP に採用され、現在日常の検査において、精度の確保された迅速・簡便な検査法として問題なく使用されている。

【成果発表】

- ・水道研究発表会（公益社団法人日本水道協会、平成 30 年、福岡）
- ・第 55 回全国衛生化学技術協議会年会(全国衛生化学技術協議会、平成 30 年、横浜)
- ・環境化学討論会（一般社団法人日本環境化学会、令和元年、埼玉）
- ・千葉県衛生研究所年報（千葉県衛生研究所、ISSN0386-8702、2020 年、第 68 号）
- ・水道協会雑誌（公益社団法人日本水道協会、ISSN0371-0785、令和 2 年、1034 号）

<p>主な意見</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・本研究課題では、詳細な解析と検討を行い、さらにその結果を公表し、告示法の改正にまで結びつけたことから、本研究期間内に最大限の成果をあげたものと評価したい。 ・しっかりと成果が得られている。
<p>対応方針</p>	<p>いただいたご意見を参考に、今後、研究成果を活用していきたい。</p>