

## 平成30年度衛生研究所研究課題内部評価検討会議結果報告書

- 1 開催年月日 平成30年7月11日（水）
- 2 開催場所 千葉県衛生研究所 1階研修室
- 3 評価方法 以下の基準で評価を行った。
  - (1) 事前評価
    - 5：独創性・貢献度等が高く、是非採択した方が良い
    - 4：採択した方が良い
    - 3：部分的に検討する必要がある
    - 2：大幅に見直しする必要がある
    - 1：採択すべきではない
  - (2) 中間評価、期間延長、研究者変更
    - 5：独創性・貢献度等が高く、是非継続した方が良い
    - 4：継続した方が良い
    - 3：部分的に検討する必要がある
    - 2：大幅に見直しする方が良い
    - 1：中止すべきである
  - (3) 事後評価、追跡評価
    - 5：計画以上の成果が得られた
    - 4：計画どおりの成果が得られた
    - 3：計画に近い成果が得られた
    - 2：わずかな成果しか得られなかった
    - 1：成果が得られなかった
  - (4) 研究中止
    - 3：継続した方が良い
    - 2：内容の見直しを行ったうえで、継続した方が良い
    - 1：中止すべきである

#### 4 評価結果

##### (1) 事前評価、中間評価、期間延長、研究者変更、研究中止

区分	整理番号	研究課題名	総合評価
事前評価	30-01	仁戸名糖尿病コントロール研究（0次） Nitona Integrated Trial of Noninvasive Action for Diabetes Mellitus Control –Preliminary-	4.3
	30-02	千葉県におけるトキソプラズマ症に関する研究	3.7
	30-03	シルデナフィル類似体におけるホスホジエステラーゼ 阻害活性の調査について	3.8
	30-04	LC/MS/MS による健康危機発生時の農薬一斉分析法の 確立	4.1
中間評価	27-04	流入下水中に存在するウイルスの動向把握	3.4
	27-05	千葉県におけるダニ媒介性感染症に関する研究	3.6
	27-09	海匝地域の健康格差の実態解明と縮小に向けた研究	3.8
期間延長	21-02	病原細菌の細菌学的・系統学的解析	3.7
期間延長 研究者変更	29-06	新庁舎における室内環境中の揮発性有機化合物濃度が 水質検査へ与える影響	3.7
研究中止	27-10	健康情報に係るビッグデータの活用を可能にするため の環境整備	1.4
	29-04	ノロウイルスの食品検査法の検討	1.3

事前評価課題 4 課題のうち、整理番号 30-03、30-04 の 2 課題を平成 30 年度の重点研究課題として選定した。

## (2) 事後評価

整理番号	研究課題名	研究期間 (変更前期間)	総合 評価
24-01	腸管出血性大腸菌 O157 の系統学的解析による動態の把握	平成 25 年度 ～平成 29 年度	4.0
<p>&lt;研究概要&gt;</p> <p>腸管出血性大腸菌 O157 (以下 O157 とする) は、進化過程で発生した一塩多型 (SNP) に基づく、共通の先祖から派生した系統学的集団である clade (clade 1～9) に分類される。異なる clade 菌株間では、ヒトに対する病原性の強さに違いがあることが知られており、地域における clade の分布状況は、O157 感染症の重症化リスクを把握する上で有用な情報となる。例えば、高病原性の系統学的集団と疑われている clade 8 の菌株が優性に分布しているアルゼンチン共和国では、感染者の 13 %程度が溶血性尿毒症症候群 (HUS) を発症している。しかし、これまでに、我々は clade 分類法には進化系統学的な誤りがあることを報告しており、既存の分類法では、地域における O157 感染症の重症化リスクを正確には評価できないため、新たな clade 分類法を構築し、O157 感染症の重症化リスクを容易かつ正確に評価することを目的とした。</p> <p>&lt;研究成果&gt;</p> <p>本研究により、O157 の進化系統学的に正しい clade 分類を構築した。我々が構築した clade 分類法を用いて、O157 菌株のヒトに対する病原性を評価したところ、subclade 8b が高病原性であり、clade 7 及び 12 が低病原性の進化系統群であることが明らかになった。さらに、各 clade に特異的な SNP を標的とした簡易・迅速な検出法を開発したことで、O157 菌株を容易に clade に分類できるようになった。以上より、地域で分離された O157 菌株の clade 分布状況から、O157 感染症の重症化リスクを容易に正確に評価することが可能になった。今後の課題としては、評価した O157 感染症の重症化リスクを活用する行政的なシステムを構築する必要があると考えられた。</p>			

整理番号	研究課題名	研究期間	総合評価
25-05	健康食品中に含まれる医薬品成分（ビンカミン及びビンポセチン）の分析について	平成 26 年度 ～平成 29 年度	3.6
<p>&lt;研究概要&gt;</p> <p>ヒメツルニチニチソウはキョウチクトウ科の植物であり、認知症や記憶力の向上等を標榜した健康食品の原材料として用いられている。ヒメツルニチニチソウに含有されているビンカミンは、脳循環改善効果が報告されており、ビンカミンの誘導体であるビンポセチンは、過去に日本国内で脳循環改善薬として用いられていた医薬品成分である。</p> <p>健康食品中のビンカミン及びビンポセチンの分析法は報告されておらず、市販健康食品中のビンカミン及びビンポセチン含有量は不明である。本研究では、ビンカミン及びビンポセチンの分析方法を検討し、併せて市販健康食品中のビンカミン及びビンポセチン含有量の実態調査を行うことを目的とした。</p> <p>&lt;研究成果&gt;</p> <p>今回調査を行った製品中では、個人輸入したビンポセチンを含有する 1 製品が、製品に記載されたとおり摂取した場合、ビンポセチンの一日投与量を超過することになった。他の製品については摂取推奨量を超過する量のビンカミン又はビンポセチンを含有するものはなかった。</p> <p>消費者は健康増進や老化予防を目的に健康食品を使用することが多く、今後もビンカミン及びビンポセチン含有製品の販売・使用が見込まれるため、摂取量や医薬品や健康食品との相互作用に注意する必要があると思われた。</p>			

整理番号	研究課題名	研究期間	総合評価
26-01	ハイブリッド型超高分解能質量分析計を用いた危険ドラッグ一斉分析法の構築	平成 27 年度 ～平成 29 年度	4.0

<研究概要>

危険ドラッグを摂取したものの自身による中毒死のみならず、その使用者による交通事故等が多発し、危険ドラッグの危険性が広く知れ渡ることとなった。また、指定薬物の数は年々増え、2000 以上の物質が指定薬物に指定されているが、その標準品の多くは市販されていないため、指定薬物の標準品をほとんど保有していない状態で検査を行っているのが現状である。その状況で、指定薬物の検査漏れを回避するためには、高い質量精度と分解能を持つ質量分析計を用いた網羅的なスクリーニング分析法が必要となる。また、包括指定制度の導入等により、多くの構造異性体が指定薬物には存在するため、得られた精密質量だけでは危険ドラッグ製品から検出した成分を 1 つに絞ることはほぼ無理であり、ハイブリッド型質量分析計を用いて検出した成分の部分構造の情報を得ることが重要となってくる。

本研究では、液体クロマトグラフ-ハイブリッド型超高分解能質量分析計を用いて、危険ドラッグ検体に含まれる指定薬物等の危険ドラッグ成分の迅速かつ網羅的な一斉分析法を構築することを目的とした。

<研究成果>

- 1 ハイブリッド四重極-オービトップ質量分析計を用いた危険ドラッグの一斉分析法を検討した。その結果、超高速分離用のカラムを用いることで従来の分析法よりも分析に要する時間を短くするとともに、**Stepped normalized collision energy** やキャピラリー温度等の質量分析計の条件を最適化することで、各成分のプロトン付加分子又は脱プロトン分子の精密質量及びプロダクトイオンスペクトルを良好に取得できる分析法を構築することができた。
- 2 標準品を分析して得られた保持時間、プロトン付加分子又は脱プロトン分子の精密質量及びプロダクトイオンスペクトルの情報を利用して、自動解析により各成分の検出の有無を判断することを可能とした。
- 3 標準品を保有していない指定薬物については、そのプロトン付加分子の精密質量の情報を事前にソフトウェアに登録しておくことで、標準品を保有していないことによる検出漏れがないようにした。さらに、標準品を保有していない包括規制されているカチノン系物質やカンナビノイド系物質については、標準品の分析で得られたフラグメントパターンの情報を利用して、そのフラグメントを予想し、プロトン付加分子の精密質量の情報とともに、その予想したフラグメントイオンの精密質量を解析ソフトウェアに登録しておくことで、より精度よく標準品を保有していない包括規制されているカチノン系物質やカンナビノイド系物質の検出を自動解析で推定することを可能とした。

4 カチノン系化合物、カンナビノイド系化合物、トリプタミン系化合物、ピペラジン系化合物、フェネチルアミン系化合物、アンフェタミン系化合物、メチルフェニデート系化合物及びフェンタニル系化合物について、そのプロダクトイオンスペクトル中に観られるフラグメントイオンの特徴をまとめ、これらの化合物に類似した構造を有しているが、標準品を保有していない若しくは未知の危険ドラッグ成分が検出した場合に、その成分の構造が容易に推定できるようにした。

整理番号	研究課題名	研究期間	総合評価
27-01	下痢性貝毒の機器分析法の開発と妥当性評価	平成 28 年度 ～平成 29 年度	3.8

<研究概要>

下痢性貝毒（オカダ酸、ジノフィシストキシン-1、ジノフィシストキシン-2）検査については、平成 27 年 3 月 6 日付け食安発 0306 第 1 号「麻痺性貝毒等により毒化した貝類の取扱いについて」により、これまでのマウス毒性試験法に代わり機器分析法が導入された。そこで、健康危機事案への速やかな対応を可能とすることを目的として、マウス法に代わる機器分析法を検討し、妥当性評価を実施した。

<研究成果>

千葉県の特産品である岩ガキ及びあさりについて LC/MS/MS による機器分析法を検討し、妥当性評価を実施した。

**【方法 1】** 検体をメタノールで抽出し、アルカリ加水分解及びヘキサン脱脂後 ODS ミニカラム（500 mg, 6cc）に負荷し、65%メタノールで洗浄を行った後、90%メタノールで溶出させ、溶媒を減圧留去した後に定容して試験液とし、LC/MS/MS を用いて定量する。

**【方法 2】** 検体をメタノールで抽出し、アルカリ加水分解及びヘキサン脱脂後 ODS ミニカラム（500 mg, 6cc）に負荷し、65%メタノールで洗浄を行った後、90%メタノールで溶出させ、希釈後定容して試験液とし、LC/MS/MS を用いて定量する。

1 方法 1 での妥当性評価結果

あさりについては、絶対検量線を用いた定量により妥当性評価の目標値を満たした。岩ガキについては、イオン化促進効果が確認されたため、絶対検量線を用いた定量では妥当性評価の目標値を満たせなかったが、マトリクス検量線を用いた定量では妥当性評価の目標値を満たした。

2 方法 2 での妥当性評価結果

岩ガキについて、方法 1 では絶対検量線を用いた定量が困難であったため、方法 1 を一部改変した方法 2 を開発した。

岩ガキでの妥当性評価の結果、絶対検量線を用いた定量により妥当性評価の目標値を満たした。そこで、方法 2 を用いてアサリ及びホンビノスについても妥当性評価を実施したところ、いずれも絶対検量線を用いた定量により妥当性評価の目標値を満たした。

方法 2 では、絶対検量線での定量が可能であり、マトリクスの入手が不要となることに加え、方法 1 に比べ操作時間も 2 時間程度短縮され、より迅速な検査が可能となった。

方法 1 及び方法 2 については、それぞれ検査実施標準作業書を作成し、食品化学検査等実施要領に基づく食品化学検査（衛生指導課事業）に活用している。

整理番号	研究課題名	研究期間	総合評価
27-02	カツオの生食によって惹起される胃腸炎様症状の起因物質の検索	平成 28 年度 ～平成 29 年度	2.9
<p>&lt;研究概要&gt;</p> <p>カツオを生食した後、比較的短時間のうちに悪心・嘔吐を主徴とする胃腸炎様症状を呈したが、既知の病因物質が検出されない例が国内で散見されている。これらの症状がクドアセペンクタータという寄生虫を原因とする食中毒の症状と酷似していることから、流通しているカツオより胃腸炎様症状を起こす可能性のある粘液胞子虫類を検出することを目的として、顕微鏡検査により胞子様物を検索した。併せて東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科と協同し、粘液胞子虫類遺伝子の検出を試みた。</p> <p>&lt;研究成果&gt;</p> <p>店頭で販売されていたカツオ 80 検体、ハガツオ 1 検体及び小湊沖で捕獲されたソウダガツオ 1 検体を検査に供した。そのうちソウダガツオ 1 検体より顕微鏡検査によって粘液胞子虫様の胞子を検出した。胞子は 4 極嚢を有していた。</p> <p>検出された胞子の 18S rRNA 及び 28S rRNA の塩基配列を、東京都健康安全研究センターと協同して解析し、分子系統樹を作成したところ、既知の粘液胞子虫で配列の一致するものは認めなかった。</p> <p>カツオ 80 検体及びハガツオ 1 検体からは目的とする遺伝子・胞子ともに検出されなかった。</p>			



整理番号	研究課題名	研究期間	総合評価
27-03	千葉県におけるアルゼンチンアリの侵入状況調査	平成28年度 ～平成29年度	3.6

<研究概要>

近年、物資や人の移動にともなって、国内には本来生息していなかった外来生物が侵入しつつある。外来生物には生態系を崩すだけでなく、人の生命・身体への影響をおよぼす衛生動物が存在する。千葉県において現時点では、アルゼンチンアリといった外来の衛生害虫の侵入は確認されていないが、千葉港等の貿易港を有しているため、何時侵入してもおかしくない状況であり、生息状況を調査する必要がある。本研究では、千葉大学海洋バイオシステムセンターと共同で東京湾沿岸の浦安市から南房総市までの13地点に定点を設けアルゼンチンアリの侵入状況を調査した。また、その他に内陸部の千葉市と成田市で調査を実施した。

<研究成果>

浦安市から南房総市までの東京湾沿岸地域の8市1町（千葉市1、習志野市1、浦安市1、市原市2、袖ヶ浦市1、木更津市2、富津市3、鋸南町1、南房総市1）13地点で5月と10月に各1回調査を実施した。また、平成28年度は、内陸地域の千葉市と成田市（成田空港隣接地）の2地点で、8月に1回調査を実施した。

東京湾沿岸部13地点では、4亜科13属18種のアリを採集し、内陸地域の千葉市では2亜科6属7種、成田空港隣接地では2亜科5属5種のアリを採集した。

本調査では、全ての地点でアルゼンチンアリの侵入は確認できなかった。東京湾沿岸地域の調査地では、アルゼンチンアリと負の相関があるトビイロシワアリとクロヤマアリが確認された。内陸部の千葉市でもトビイロシワアリとクロヤマアリが確認され、成田空港隣接地の調査でもクロヤマアリが確認された。今回の調査でアルゼンチンアリと負の相関があるアリが確認されたことから、現時点でアルゼンチンアリが生息している可能性は低いと考えられた。

整理番号	研究課題名	研究期間	総合評価
28-02	人口動態死亡小票及び自殺統計原票データを活用した市町村単位での自殺の詳細分析	平成 28 年度 ～平成 29 年度	3.0
<p>&lt;研究概要&gt;</p> <p>平成 28 年 4 月に自殺対策基本法が改正され、都道府県だけでなく市町村にも「自殺対策計画」の策定が義務付けられた。計画策定には地域の自殺に関する現状分析が必要であるが、市町村単位での現状を表す公表データは少なく、具体的な対策の検討をしにくい。</p> <p>本研究は、既存のデータを用いた市町村単位の自殺に関する統計の詳細分析の方法を研究し、市町村の「自殺対策計画」策定に寄与することを目的とした。</p> <p>&lt;研究成果&gt;</p> <p>山武市をモデルに選定し、平成 25 年～27 年の山武市に住所を持つ自殺者について、人口動態死亡小票及び自殺統計原票を突合したところ 37 人であった。市が保有するデータの提供を受けて分析を行ったところ、「市税の滞納者」「転入から 5 年以内の者」「身体疾患の悩みを抱えている者」の市特有のハイリスク群が示唆された。</p> <p>本研究は、計 4 箇所のモデル市町村で実施し、人口規模・人口構成・主な産業等の地域の基本的な情報と自殺の特徴、使った既存データ、ケーススタディから得られた背景を整理し、市町村の自殺対策計画策定に活かす統計分析の手法を示す計画であったが、平成 30 年度から「第 2 次千葉県自殺対策推進計画」がスタートし、新設された千葉県自殺対策推進センターにおいて、市町村の自殺対策計画の策定支援を行うこととなったため、山武市をモデルとした自殺実態調査の中間報告をもって本研究を終了とした。</p>			

整理番号	研究課題名	研究期間	総合評価
28-03	特定原材料の確認検査におけるシリカモノリスを用いた DNA 抽出法の検討	平成 28 年度 ～平成 29 年度	3.7

<研究概要>

食物アレルギーの原因となる特定原材料の確認検査には定性 PCR 法を用いるが、その検体前処理法（DNA 抽出精製法）として、千葉県では、イオン交換樹脂タイプキット法（以下 G-Tip 法とする）を第 1 選択としている。しかし、G-Tip 法は操作全体で時間がかかり、粘性のある検体では自然滴下が困難など問題点も多く、特殊な製造法により高速処理が可能で通液性に優れるという利点をもつシリカモノリススピンカラムを用いた DNA 抽出法（以下シリカモノリス法という）に着目した。

平成 26 年度から平成 29 年度に食品化学研究室で実施した特定原材料検査において、スクリーニング検査で陽性となり、確認検査を実施した項目は「えび」と「そば」であった。そこで、えびを含む加工食品 14 検体及びそばを含む加工食品 7 検体について、シリカモノリス法が G-Tip 法と同等の結果を示すことを検証し、現在最も用いられている G-Tip 法と同等かつ、時間を短縮できる抽出法を確立することを目的とした。

<研究成果>

シリカモノリス法に要する時間は G-Tip 法の 3 分の 1 であった。

【えびを含む加工食品について】

○シリカモノリス法

- ・ 14 検体中 12 検体で通知の条件（DNA 濃度 20 ng/μL 以上 O.D.260/O.D.280 が 1.2－2.5）を満たし、目的の PCR 産物が検出された。
- ・ 魚介類加工品 1 検体で、DNA 濃度及び吸光度比が通知の条件を満たさなかったものの、目的の PCR 産物が検出された。
- ・ チルド食品 1 検体で DNA 濃度及び吸光度比は通知の条件を満たしたが、目的の PCR 産物が検出されなかった。

○G-Tip 法

- ・ 14 検体中 12 検体で通知の条件を満たし、目的の PCR 産物が検出された。
- ・ 調味料 1 検体で DNA 濃度及び吸光度比に問題がないにもかかわらず、目的の PCR 産物が検出されなかった。
- ・ チルド食品 1 検体で DNA 濃度及び吸光度比は通知の条件を満たしたが、目的の PCR 産物が検出されなかった。

【そばを含む加工食品について】

7 検体中、ペットボトル飲料 1 検体は、両抽出法とも検査に適した DNA が抽出できず、PCR を実施しなかった。残りの 6 検体は、すべて通知の条件を満たし、目的の PCR 産物が検出された。

以上の結果より、シリカモノリス法は G-Tip 法と同等の結果が得られ、かつ操作時間を短縮できることから、特定原材料（えび及びそば）の確認検査に有用であると考えられた。