

令和4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 意見交換開催日

令和4年8月18日（木）

2 外部専門家名簿

所属・役職	氏名
千葉大学真菌医学研究センター 感染症制御分野 教授	石和田 稔彦
医療法人社団翠会 蓮根ひまわり苑 施設長	小川 康恭
(独立行政法人労働安全衛生総合研究所 前理事長)	
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	04-01
研究課題名	千葉県内で分離された <i>Campylobacter jejuni</i> における病原性関連因子の保有調査
研究期間	令和5年度～令和6年度
研究概要	1 経緯 カンピロバクターは、千葉県食品衛生監視指導計画にも含まれる細菌であり、食品衛生分野において注目されている細菌である。人において、下痢、腹痛、発熱等の消化器症状を引き起こす食中毒の起因菌であり、本菌による全国の細菌性食中毒事件数は近年常に上位にある。また、分離されるカンピロバクターの約9割は <i>Campylobacter jejuni</i> (以下、<i>C. jejuni</i>) である。 さらに本菌において注目すべき点は、感染後1～3週間を経て、ギラン・バレー症候群 (GBS) と呼ばれる自己免疫性の末梢神経障害を発症することもある点であり、GBSの先行感染症の一つとして、カンピロバクター感染症は、医療分野においても注目される細菌感染症である。本菌における GBS に関連する因子については複数の報告があるが、これまでに本県 (千葉市、船橋市及び柏市を除く) で分離された菌株に対する、同因子の保有状況の調査が実施されたことはない。 これより、本県において分離された菌株における関連因子の保有状況及び傾向を把握するために、<i>C. jejuni</i> について、保有調査を行う事とした。 2 研究に関する準備 供試菌株については、カンピロバクターの培養時間が他の細菌と比較して長く (2日間以上)、検体処理等に時間がかかることを考慮し、既に衛生研究所に保存済みである菌株 (主に衛生研究所、県内保健所検査課及び食肉衛生検査所等により分離された菌株) を使用した調査を行うこととする。 対象とする病原因子の検出に必要な PCR 用プライマーは、既知の論文により調査済みであり、随時購入する予定である。試薬については、これまでに検査及び研究において使用経験のあるものを使用する。

	遺伝子増幅及び解析に必要な機器、器具等については、当所に既存のものを使用するため、新規購入は不要である。 3 本研究の最終像 <i>C. jejuni</i> における GBS 関連遺伝子の保有状況及び各年の傾向を把握すると同時に、カンピロバクター感染は、消化器症状を呈する食中毒のみでは終わらず、ギラン・バレー症候群を発症する可能性があることを周知することを目的とする。調査研究結果については、学会等の口頭発表ないし誌上発表を予定している。 4 本研究結果を基にした展望 本研究による保有状況調査結果を基に、供試菌株について、分子疫学的解析や血清学的解析等による菌株のタイピング、クラスターごとの関連因子の保有との関連性及びリスク評価へつなげていく等の、新たな研究を計画することが可能であると考えられる。また、この遺伝子解析は、個人情報が必要であることから、分離菌株のみを受け取り、菌株の解析を行うことが可能である。これより、政令市、中核市、県内医療機関等の分離検体についても解析の対象範囲を拡大することが可能であれば、本県におけるカンピロバクターに関する遺伝子保有状況の把握範囲が広がると考えられる。
主な意見	・重要な研究テーマだと思う。 ・各検討菌株の関連遺伝子保有状況と血清型、MLST 解析結果（ST 型）を組み合わせることで、より有用な情報になることが期待される。 ・可能であれば、平成 30 年以降の分離株も検討に加えると最近の菌の関連遺伝子保有状況が明確になると思う。 ・ギランバレー症候群は、AFP サーベイランスに関連ある疾患であるので、AFP サーベイランスと本研究の関連についても今後、検討願いたい。 ・食中毒とギランバレー症候群を検討する上で基礎となるデータ収集は非常に重要である。研究目的を達成するためには検出技術の確立が基本となるが、社会医学的研究目的の場合には研究対象となる菌株のサンプリング方法がそれと同等に重要となる。発生時期、発生地域、原因食品等を変数としてどのように解析するかを熟考した上でサンプリング計画を立てていただきたい。

	・人および食品から同定された <i>C. jejuni</i> における GBS 関連因子をコードする遺伝子を検出する研究である。国内他地域での保有率は1-2割程度とされているが、千葉県ではデータがない。同因子の保有率を把握しておくことは、公衆衛生的意義があると考ええる。予算やサンプルの入手の課題があると思うが、可能であればもう少しサンプルサイズを増やせるとよいと考える。
対応方針	いただいた御意見を参考に進めていく所存です。 前述のとおり、培養時間、検体処理等に時間のかかる研究ではありますが、今回設定していない H30 年度以降の検体への着手が可能であれば、サンプル数が増え本研究の質をさらに上げられる可能性があると考えますので、これについては検討いたします。また、今回使用する菌株は、菌株分離の由来（人又は食品）以外の情報が乏しいため、今後の菌株収集の際は、付随する情報についても取得することを検討したいと考えます。

研究課題番号	04-02
研究課題名	トウガラシ微斑ウイルスを使用した二枚貝ノロウイルス食中毒検査法の確立
研究期間	令和4年度～令和5年度
研究概要	1 当該研究が必要と考えた経緯 牡蠣を始めとする二枚貝はスーパー、飲食店等に流通しており、全国的に二枚貝でのノロウイルス(以下 NoV)の食中毒が発生している。NoV は感染者の糞便中に排出され下水を通り、海水に流れ込む。牡蠣は1時間に10～20L以上の海水を吸引し、牡蠣の消化管である中腸腺に NoV を蓄積・濃縮しているとされている。牡蠣の NoV 検査は厚労省通知に基づき実施しており、濃縮操作を行っても検出感度は低い。そこで、NoV に代わる汚染指標の設定が課題となっていることから、近年注目されている下水中に多く検出されるトウガラシ微斑ウイルス(以下 PMMoV)を指標ウイルスとして使用することが検討されていることに着目した。PMMoV は野菜を喫食したヒトの糞便から安定的に検出されることが報告されており、下水中にも多く検出が認められ、NoV と同様に牡蠣に蓄積・濃縮されていることが知られている。また NoV に比べ高濃度に検出され、NoV に代わる汚染指標として有効である可能性が示唆されている。

	しかし、NoV 食中毒検査で実際に PMMoV を活用した研究はまだない。PMMoV は濃縮前乳剤から検出可能で、PMMoV 量から NoV 量の検出閾値を推定できれば、濃縮の実施有無等による検査工程の短縮、nested-PCR で使用する 1st PCR 産物量の変更等による検査感度の改善に繋がることが期待でき、食中毒検査の補助に繋がると考えられる。 2 研究の準備状況(先行研究含む) 過去の牡蠣の買い上げ検査における保存検体を用いた検討で PMMoV が濃縮前乳剤から検出可能であることを確認している。今回、食品衛生検査指針に記載されている通知法に基づき、NoV 汚染確率が高い加熱用二枚貝を試料として濃縮前乳剤における PMMoV 量を測定する。検出された濃縮前 PMMoV 量(copies/1g 中腸腺)から NoV 量(copies/1g 中腸腺)との相関について検討することから始める予定である。 3 研究の最終像 食中毒検査は迅速かつ確実に実施することが求められる。本研究において濃縮前乳剤の PMMoV 量(copies/1g 中腸腺)から NoV 量(copies/1g 中腸腺)の検出閾値を推定できれば、PMMoV が NoV 食中毒検査の補助に繋がると期待でき、検査結果を従来より迅速かつ確実に導き出すことができると考えられる。また、二枚貝採取地域の感染性胃腸炎発生状況が二枚貝の PMMoV 量と NoV 量に影響すると考えられるため、考察に加えることも検討したい。
主な意見	・興味深い研究である。 ・他県のデータで、PMMoV 量と NoV 量に相関があるというデータがあるが、検証が必要とのことだった。サンプルサイズも含め、現在の検討数で陽性所見が得られなかった場合の対応を事前に検討しておくことが望ましい。 ・研究仮説では PMMoV 量と NoV 量が相関していることを前提としている。文献的には、食中毒発症時の関連検体の NoV 量と PMMoV 量の間には関連があったのか、また PMMoV 量は糞便汚染指標として既に確立しているのか。これらを考慮した上で相関していない場合の研究仮説も考えておく必要がある。 ・トウガラシ微斑ウイルスをマーカーとして生活排水による汚染の状況をモニタリングすることには公衆衛生的意義がある。モニタリングのためには同じ場所で継続すること

	が望ましい。採取場所による検出率の違い、検出されなかった場合の対応について検討しておくのが良いと考える。
対応方針	いただいた御意見を参考に更なる検証を加え、トウガラシ微斑ウイルスを活用した食中毒検査法の確立に努めると共に、採取場所のモニタリングに繋がるよう研究に取り組んでいきます。

研究課題番号	04-07
研究課題名	歯科診療所における院内感染対策の現状と課題について
研究期間	令和5年度
研究概要	1 背景 歯科診療所において取り組むべき重要な対策の一つは、院内感染対策である。歯科診療は、唾液や血液を含んだ飛沫によって、歯科診療用チェアユニット周辺や歯科医療機器が汚染されやすいなどの医療環境にある。 2 目的 本研究は、歯科診療所の院内感染対策の現状と課題を把握し、歯科診療所の院内感染対策の支援を行うことを目的とする。 3 内容 (1) 歯科診療所の院内感染対策の現状を把握するための調査 (2) 調査の結果等から課題を分析し、課題解決のためのマニュアル作成・配布 4 期待される効果 (1) 院内感染防止に対する歯科医師等の意識向上 (2) 歯科診療所における院内感染防止 (3) 県民に対する医療安全の向上
主な意見	・重要な研究だが、目的を「針刺し切創対策」なのか「標準予防策などの対応」なのかを明確にしておく方が良いと思う。 ・知識のみならず、意識調査も加えること、対象者を歯科医師のみならず、歯科衛生士などにも広げて調査する（各歯科医療機関に回答者を任せる）とより興味深い結果が得られると思う。 ・調査結果に基づき、マニュアル等作成するようだが、マニュアル作成、活用後に同様

	の事後調査を行い、活動評価をするのが良いと思う。 ・現状と課題の把握はこれまでの報告でそれなりにできると思う。新たな研究はそれをベースに問題点を抽出した上でターゲットを絞ることが良いと思う。現場で実際に役立つガイドラインができることを期待する。 ・歯科診療所における標準予防策の実施率を調査することは、地域の院内感染対策の実態を解明し、その改善を進めるうえで重要である。調査結果に基づいて課題を分析し、課題解決法をマニュアルとして示すとのことであるが、もう少し目的を明確にした方がよいと思われる。
対応方針	いただいた御意見を踏まえて、研究目的や調査ターゲットを絞りながら、歯科診療所の院内感染対策の現状と課題を把握し、現場で役立つマニュアルの作成など歯科診療所の院内感染対策の支援を行っていきます。

(2) 中間評価

研究課題番号	31-02
研究課題名	特定地区における優勢分布結核菌株の特定
研究期間	令和元年度～令和5年度
研究概要	2019 年末までに搬入された結核菌株のうち modern Beijing lineage で MLVA (multi-locus variable numbers of tandem repeats analysis) が同一パターンまたは SLV(single locus variant)であった 33 株 (選定した地域から搬入のあった結核菌 7 株を含む) を抽出し、次世代シーケンサーを用いて全ゲノム解析を行った。全ゲノム解析で得られたデータから、国立国際医療研究センターで公開されている CASTB (The Comprehensive Analysis Server for the Mycobacterium tuberculosis complex) を使用した結果、33 株全てが lineage2 (East-Asian lineage) に分類され、ストレプトマイシン (Streptomycin: SM) 耐性であることが判明した。この 33 株が、県内で分離された modern Beijing lineage の中でどのような位置付けになるかを調べるために、2019 年末までに分離された全ての modern Beijing lineage (990 株) を対象に MLVA ベースの MST (Minimum spanning tree) 解析を行った結果、今回の解析の対象とした 33 株は既報 (Wada et al., Plos One 2014;3:e011849) の pECT07 (M4) 株とその SLV であることが判明した。この

	33 株の全ゲノム解析データから菌株間の SNP (Single nucleotide polymorphism) を調べるために、MST 解析を行ったところ、異同判定の基準とされている 5SNPs 以内 (Walker et al., Lancet Infect Dis 2013; 13: 137-46) の菌株は 9 菌株間でしか見られなかった (1.7% : 9/528)。 この結果から優勢に分布しているという結核菌株の特定には至らなかった。 また、MLVA 解析では SLV までは感染の疑いがある (瀬戸ら, 結核, Vol. 88. No. 6: 535-542, 2013) と言われているが、今回の全ゲノム解析で MLVA パターンの SLV は 5SNPs 以下の可能性が低いことも考えられ、別な視点からの新しい知見も得られた。 ここまでの研究成果は以下の論文、学会にて発表を行った。 Journal of Infection and Chemotherapy (https://doi.org/10.1016/j.jiac.2021.12.020) Molecular epidemiological analysis of Mycobacterium tuberculosis modern Beijing genotype strains isolated in Chiba Prefecture over 10years 令和 3 年度第 33 回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部 細菌研究部会 研究会 「次世代シーケンサーを活用した結核菌ゲノム解析の取り組み」
主な意見	・興味深い研究で、論文も作成されており、研究成果も認められる。 ・結核に関しては、海外からの輸入についても着目する必要がある、海外での分離株との比較検討を行うことを勧める。また、検討した株は SM 耐性株であったとのことだが、薬剤耐性についても着目して検討を続けることを希望する。 ・選定した地域でエンデミックになっているかいないかは重要なエビデンスであるので、労力のかかる研究だが今までの成果をベースに研究を進めてほしい。 ・当初 Modern Beijing lineage に限局した公衆衛生学的意義をもう少し分かり易く説明すれば研究の重要度もよりアピールできると思う。 ・研究成果を論文発表しており着実に実績を挙げている点が評価できる。期間延長について異論はない。
対応方針	海外での分離株との比較検討、並びに薬剤耐性についての話は公衆衛生上、非常に重要であると考えられます。海外での文献等参考にしながら研究を進めていきたいと思い

	ます。 この研究で Modern Beijing lineage に限局したのは、他の lineage に比べて感染伝播性が強く、発病しやすいという特徴があるからです。今回、期間延長をさせていただき、他の lineage である ST25_19 Beijing lineage の解析を行います。それによって得られた結果を比較することで、あらためて Modern Beijing lineage に限局したことについて触れたいと思います。
--	---

(3) 事後評価

研究課題番号	25-01
研究課題名	公衆衛生分野の分子疫学的解析における次世代シーケンサーの有用性
研究期間	平成26年度～令和3年度
研究概要	千葉県では分子疫学的解析法としてパルスフィールド・ゲル電気泳動法（PFGE）や variable number of tandem repeat typing（VNTR）を用いてきたが、近年、目覚ましい発達を遂げている次世代シーケンサー（NGS）を分子疫学的解析に活用することの有用性について調査する。また、人材育成に主眼を置いての研究活動を行う。
主な意見	・NGS 解析について、積極的に取り組まれており、多数の論文を公表されている点は、高く評価出来る。 ・現在、大腸菌、サルモネラ菌、結核菌について解析を行っているようだが、今後、より多くの微生物に関して、検討できる体制を整えることを希望する。 ・この分野に関しては、新しい解析技術などが次々と出てくるので、所員の方の知識と技術を brush up できる機会を設けていただきたい。 ・研究所内で NGS が幅広く活用できることになったことは評価できる。このような研究課題の場合、効果を何らかの数値で表現できないか。 ・着実に研究成果を挙げており評価できる。この実績を活かして、さらに人材育成につなげていただきたい。
対応方針	研究の成果を日常の検査に反映して検査効率が上がった場合などは、その効果を数値化することは可能であると考えます。数値化できるような課題について、今後検討したいと思います。いただいた御意見を参考に、情報収集を行い、検討できる微生物の種類を増やすこと、また、新しい知識と技術の取得に努めるとともに、人材育成にも努めて

	まいります。
--	--------

研究課題番号	02-05
研究課題名	千葉県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	1 研究目的 麻疹ウイルスに対する感染防御免疫の最も直接的な指標は中和抗体価とされるが、近年の市中流行株（遺伝子型 D8、B3、H1）に対する反応性は十分に報告されていない。麻疹が再興し、ワクチン接種者や既感染者からの感染例（再感染例）が存在することに鑑みて、本研究は再感染例に焦点をあて、2016～19 年の千葉県内の麻疹例のうち、遺伝子検査陽性例と遺伝子検査陰性であった例を用いて、市中流行株と抗体の反応性を評価することを目的とした。 2 研究当初の背景 麻疹ウイルスは 24 の遺伝子型に分類されるが、血清型は単一で、抗原性が変化することはほとんどないとされる。しかし近年、排除状態となった国々で麻疹が再興し、わが国でも輸入例を発端とした小流行が発生している。千葉県内で 2016 年以降に遺伝子検査で確定した麻疹症例の 54% は麻疹再感染例であることを、IgG avidity を測定することで確認している。従って、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可能性がある。 現在、世界的に流行している遺伝子型は D8、B3、H1 が主であり、以前流行していた B2、C2、D3 や、日本の土着株の D5 は、10 年前を境に検出されておらず、MeV の遺伝子型が変遷しているが、その理由は明らかになっていない。 中和抗体の標的は麻疹ウイルスの H 蛋白で、蛋白の構造安定性は、2016 年 Tahara らがモデリング解析を用いて明らかにしており、ウイルス側からワクチンの有効性を支持している。しかし、血清反応においては、いずれの抗体検査でもワクチン株である遺伝子型 A のウイルスを抗原として使用しており、市中流行株（遺伝子型 D8 や B3）に対して

	の反応性は評価されていない。さらに、麻疹再感染例の免疫の質や発生機序に関する知見はほとんど得られていない。 以上から、上述の研究目的を設定して、検討を進めることとした。
主な意見	・大変興味深い研究だと思った。 ・麻疹再感染の定義に関して、麻疹ワクチン既接種者の麻疹なのか麻疹罹患者の麻疹なのかをある程度明確にして解析を進めるのが良いと感じた。 ・成果はしっかり出ている。再感染の要因を示唆する結果は得られていないが、本研究は次へのステップとなる重要な研究だと思う。今後の研究に期待する。 ・「IgG avidity を測定し、cut off 60%として再感染例疑い」と定義したとされているが、これはワクチンを接種したが十分な免疫を獲得できなかったか、又は獲得した免疫が減弱したから感染したのではないか。これを「再感染」と呼ぶことが適当であるのか、今一度、関連文献との整合性についてご確認頂きたい。
対応方針	麻疹の野外感染例が少ない今日においては、再感染例の多くは、secondary failure であることが示唆されていますが、本研究を実施するにあたり、研究対象者のワクチン歴が不明の方が多く、ワクチン歴から再感染例者が Secondary vaccine failure なのか自然感染者であるかを分類することは困難と考えました。そこで、Mercader らの定義に準じて、avidity により再感染例を分類しています。 麻疹は公衆衛生上重要な感染症であることから、引き続き、市中流行株の動向を含め注視していきたいと考えます。

研究課題番号	31-05
研究課題名	ダニ媒介感染症疑い症例に対する遡及調査
研究期間	令和元年度～令和2年度
研究概要	ダニ媒介感染症として知られる四類感染症である日本紅斑熱やツツガムシ病は、厚生労働省の感染症発生動向調査事業として、当所で検査を実施しているが、日本紅斑熱やツツガムシ病の検査が陰性となり、原因を特定できない事例がある。なお、これらの患者はダニ刺咬歴があり、また、熱及び発疹の症状がある場合がほとんどであり、他のダニ媒介感染症が疑われる。

	本研究では、平成20年4月から令和元年12月に、ダニ媒介感染症疑いで当所に搬入された患者検体（242検体）について、重症熱性血小板減少症候群ウイルス（SFTSウイルス）、エーリキア症の原因菌である <i>Ehrlichia chaffeensis</i>、及びアナプラズマ症の原因菌である <i>Anaplasma phagocytophilum</i> の遺伝学的及び血清学的検査を行い、千葉県における潜在的なダニ媒介感染症を究明するとともに、その疫学的なリスクを評価することを目的とする。
主な意見	・非常に重要な情報だと思う。県内の医療機関並びに一般の県民への注意喚起なども含め、検討していただきたい。 ・SFTSウイルス感染症、ヒトアナプラズマ症を確認できたことは貴重な成果である。これらの新規発見は昔からあるものを確認したのか、近年増えているのか、日本での疫学動向を踏まえてのディスカッションを期待する。 ・本研究結果は、公衆衛生上重要な知見である。本結果を踏まえて、今後のモニタリングにつながることを期待される。
対応方針	本県は毎年、房総半島南部を中心に日本紅斑熱やつつが虫病の感染報告があり、ダニ媒介感染症を疑った保健所からの検査依頼も増えています。しかし、ダニ刺咬歴があり、発熱、発疹等の症状があるにもかかわらず、検査陰性となる症例も多く認められます。 本研究によりアナプラズマや SFTS ウイルスの感染を示唆する症例を確認できたことから、今後もダニ媒介感染症の実態を把握できるように努めていきたいと考えます。

（４）研究中止

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	重症熱性血小板減少症候群（SFTS）はブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類される 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。ヒトでの症状は発熱、消化器症状、血小板減少、白血球減少が特徴的である。日本では2013年に山口県で初めて患者の報告があつて以来、2020年1月29日時点で498例の患者報告があり、そのうち死亡者は70例で死亡率は14.1%である。主な流行地は

	現時点で石川県以西の西日本であるものの、患者報告の無い東日本のマダニからは SFTSV 遺伝子が検出され、シカからは SFTSV に対する抗体が検出されたとの調査報告がある。そのため、現時点では患者発生の無い地域においても、新たに患者が発生する可能性がある。 千葉県は 2020 年 5 月時点において SFTS 患者の発生は無い。しかしながら 2017 年、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。これを受け、本県で採取されたマダニを用いて SFTSV 浸潤状況を試みたところ、PCR 検査を実施した 1,123 個体中の SFTSV 遺伝子は全て陰性であり、本県の SFTS 感染リスクは少ないと結論付けた。しかしながら、SFTSV を自然界で感染環を維持していると考えられている野生動物のイノシシ、シカ、キョン等の血清疫学的情報は少ない。そこで本研究では、野生動物の抗 SFTSV 抗体の保有状況を調査し、本県における SFTSV の浸潤状況を把握する。
主な意見	・研究中止の理由について了解した。研究は継続されており、千葉県内の野生動物からも抗体が検出されていること、重点事後 31-05 の結果も合わせて、大変重要な情報だと思う。国立感染症研究所と連携し、研究を進めることを期待する。 ・動物試料の中での検出可能時期、期間とダニ試料でのそれとは必ずしも一致しない可能性がある。ダニと動物の間の生活環によりダニで検出されず動物で検出される可能性はないのか検討していただきたい。 ・中止の理由（研究責任者の退職）について了解した。
対応方針	研究責任者の退職に伴って研究を中止しましたが、本研究は研究責任者が引き続き国立感染症研究所で継続して取り組んでいます。引き継がれた検査データにより重症熱性血小板減少症候群ウイルスの抗体を保有した野生動物が県内にも生息していることが判明しており、今後も国立感染症研究所と情報交換等を行いながら、ウイルスの浸潤状況を注視していきたいと考えます。