

令和2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 令和2年8月12日（水）
- 2 開催場所 千葉県庁南庁舎4階 収用委員会審理室
- 3 評価方法 下記の基準により評価した。
 - (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：大幅に見直す必要がある
 - 1：採択すべきではない
 - (2) 中間評価（研究者変更・期間延長を含む）
 - 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：大幅に見直す必要がある
 - 1：中止すべきである
 - (3) 事後評価
 - 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、(2) 中間評価 (研究者変更・期間延長を含む)、(4) 研究中止

区分	整理番号	研究課題名	総合評価
事前	02-01	COVID-19の流行を踏まえて千葉県保健医療計画に精緻な情報を加えるための疫学研究	3.1
	02-02	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	4.0
	02-04	千葉県における野生イノシシの日本脳炎感染状況について	3.8
	02-05	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	4.0
	02-06	軟膏状及びクリーム状で販売される製品中に含有する防腐剤の定量法の構築	3.9
研究者変更	29-02	いわゆる健康食品中に含まれる医薬品成分の立体異性体判定	4.0
	31-03	炭酸ガスライトトラップを用いて捕集した蚊の日本脳炎ウイルス保有状況調査	3.9
	31-06	甘味料ネオテーム及びアドバンテームの一斉分析法の開発及び加工食品中の実態調査	3.8
期間延長	25-01	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	3.6
	29-05	千葉県東総地域における日本脳炎ウイルス抗体保有調査	3.9
	29-10	千葉県におけるマダニの生息状況	3.9
	30-01	仁戸名糖尿病コントロール研究 (0次)	3.4
研究者変更 期間延長	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	4.0
研究中止	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	1.0

事前評価課題 5 課題のうち、02-02、02-05 の 2 課題を令和 2 年度の重点研究課題として選定した。

(3) 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
27-04 H27 重点	流入下水中に存在するウイルスの動向把握	平成 28 年度～ 令和元年度	3.5
<p><研究の概要></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><研究成果></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)</p> <p>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。</p> <ul style="list-style-type: none">・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。 <p>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。</p> <ul style="list-style-type: none">・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。

【学会・誌上発表等】

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)

Coxsackievirus B5 Aseptic Meningitis in Infants in Chiba Prefecture、 Japan、 in 2016 (J Nippon Med Sch Vol. 85 No. 3 (2018))

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)

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)

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)

整理番号	研究課題名	研究期間 (変更前期間)	総合 評価
27-05	千葉県におけるダニ媒介性感染症に関する研究	平成 28 年度～ 令和元年度	4.1

<研究の概要>

2013 年の重症熱性血小板減少症 (SFTS) の発生に伴い、国内に生息するマダニが媒介する感染症が脚光を浴びている。他方、国内生息のマダニは、紅斑熱群リケッチアなど既知の病原体だけではなく、病原性の低い病原体も保有すること、またその一部は感染動物に重篤な症状を引き起こすことが次第に明らかにされつつある。これらは潜在的なヒトと動物共通の新興感染症としての可能性が危惧されている。千葉県安房地方、夷隅地方、君津地方は関東でも少ない日本紅斑熱の流行地であり毎年発生が見られるが、マダニ刺咬歴があり日本紅斑熱を疑われながら検査結果陰性のいわゆる「不明熱」が年間数例発生している。その原因はマダニ媒介性の他の新興感染症の可能性は十分あると考えた。

本研究ではヒトに対する病原性保有状況を確認した。

<研究の成果>

フラッキング法で採集したマダニ 1,237 匹を実体顕微鏡下で形態学的に同定し、SPG バッファー中で磨り潰し DNA 抽出を行った。リケッチアの一種であるエーリキア属細菌に対する特異的な PCR の結果、アカコッコマダニの陽性率が最も高く 10.7%であった。検出された遺伝子は解析の結果アメリカでのヒトエーリキア症の原因菌である *Ehrlichia chaffeensis* と比較し、99.2%の相同性があった。また系統樹解析の結果から、ヤマトマダニは 2 種類のエーリキアを保有することが分かった。1 つは前述の *E. chaffeensis* に近縁な種、もう 1 種類はヨーロッパなどでダニ媒介性新興感染症の原因菌として知られている '*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*' に近縁な種であった。これら得られた 39 株の遺伝子配列情報は DNA Databank of Japan(DDBJ)に登録した (Accession No. LC385848 他)。また、PCR 陽性だったマダニ乳剤を、ddY マウスの腹腔内に接種を行うことにより 4 株のエーリキアを分離することに成功した。これらは *E. chaffeensis* に近縁な既知株であるエーリキア属細菌であることが確認された。以上の結果から、未だ日本で患者報告の無いエーリキア属細菌の DNA がマダニから検出されたことから、千葉県にも潜在的に患者が存在する可能性が示唆された。

【学会発表等】

第 23 回リケッチア研究会 (東京都)

第 27 回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー (SADI) (熊本県)

第 160 回日本獣医学会学術集会 (鹿児島県)

成果物: Isolation and molecular detection of *Ehrlichia* species from ticks in western, and eastern Japan., *Ticks and Tick borne diseases* 10 (2019) 344-351

整理番号	研究課題名	研究期間 (変更前期間)	総合 評価
27-07	歯科口腔保健と作業関連疾患との関連に関する実証研究	平成 27 年度～ 令和元年度	3.4

<研究の概要>

平成 26 年 4 月、参議院厚生労働委員長報告及び衆議院厚生労働委員長報告における附帯決議の一つに、産業歯科保健に関する内容が盛り込まれ、「一般の労働者の口腔の健康を保持することの重要性に鑑み、歯科口腔保健の推進に関する法律（平成 23 年 8 月公布）の趣旨も踏まえ、業務と歯科疾患の関連についての知見の収集に努め、収集した知見をもとに、労使関係者の理解を得つつ、職域における歯科保健対策について具体的に検討を行うこと」と明記された。厚生労働省労働衛生課は、保健局・健康局と特定健診への歯科保健導入の議論を行っており、その議論に有識者として関わっていた佐藤ら呼び出し、対応を協議した。我々は、一般の労働者における歯科口腔保健対策の効果は、大企業の単一健康保険組合から、費用効果性を含めて優れているとする報告がわずかにあるのみで、わが国のマスである中小企業では、報告されている検討成績は無いことを示し、主として中小企業での研究がまず必要と提案した。職域における歯科保健対策の効果として①労働者の歯科口腔保健の向上、②医科疾患の発症と重症化の予防、③労働生産性の向上、④医療費への影響、の測定を目的とした介入研究を行い、費用効果性を含めた検証を目的とした。

<研究の成果>

【平成 27 年度】客員研究員 2 名の歯科衛生士を雇用し衛生研究所(事務局)にプロジェクトリーダーとして配置し、歯科検診・口腔保健指導はそれぞれ千葉県歯科医師会、千葉県歯科衛生士会に委託して研究を行った。協力の得られた 6 事業所累計 388 人の対象者に対して 320 人（82%）に歯科検診を行い、保健指導を 1 回目 159 人に、2 回目 147 人に実施した（保健指導継続率 94%）。実施にあたり、県歯科医師会、県歯科衛生士会の協力により、検診マニュアルを整備した。マニュアルは事業所の希望に合わせて「個別検診型」と「歯科単独集団検診型」、「定期健康診断併設型」を整備した。実施結果から、自覚症状と検診結果との間に大きな差があったことから、検診及び保健指導により重症化予防につながるが見込まれた。

【平成 28 年度】前年度に引き続き、6 事業所における実証研究を継続し、累計対象者 399 人のうち、312 人（78%）に歯科検診を、保健指導 1 回目 165 人、2 回目 123 人に実施した（保健指導継続率 75%）。衛生研究所に配置するプロジェクトリーダー（客員研究員である歯科衛生士）の雇用を 2 名から 3 名に増やし、丁寧な連絡調整を行うことで受診率、保健指導継続率とも高く得られたと考える。

2 年連続健診受診者 279 人のうち、27 年度と 28 年度との間で 27 年度の口腔保健指導実施群 138 人を介入群とし、口腔保健指導非実施群 141 人を非介入群とし、歯科健診及び口腔保健指導の効果を分析した。全体では歯科健診、口腔保健指導とも、「要医療」者の改善割合において、有意な効果は認めなかった。ただし、歯科健診において、唯一、有意にペリオスクリーン（歯周病リスク）の歯科保健指標がよくなった。また、勤怠状況は歯科健診により「歯による仕事への支障」が減り、口腔保健指導により、「歯による休暇や遅

刻・早退」が減った。更に、歯科健診、口腔保健指導ともに「健康上の理由による休暇や遅刻・早退」が減った。歯科医院受診は、介入群、非介入群とも同程度増えたので歯科健診の効果であると考えたが、口腔保健指導により、欠勤利用が減ったことは、自覚症状の出ないうちに計画的に受診することが指導の結果としてできたものと考ええる。

【平成 29 年度】 4 事業所 161 名に対し健診及び保健指導を行った。そのうち 3 年間継続して歯科健診を受けた 130 名を対象として分析したところ、「ペリオスクリーン結果」及び「噛めないものがあるかの回答」に改善傾向がみられ、口腔保健指導の効果が得られたものと推測する。その他、出血歯の割合や CPI 値の改善結果は得られなかった。また、勤怠状況(アブセンティズムとプレゼンティズム)については、1 年目から 2 年目で改善が見られ、2 年目から 3 年目では、更なる改善は見られなかった。行動変容については、初回指導効果の方が継続指導効果より大きくなるので妥当な結果と考える。

【平成 30 年度】 協会けんぽが保険者である 5 事業所 292 名のうち、初年度及び 2 年度目のどちらかに口腔保健指導を受けた者 157 人に絞り、平成 26 年 11 月から 4 年間のレセプトデータを突合し医療費の傾向の概略を分析した結果、歯科健診時に介入した初年度あるいは 2 年目に医療費の負荷が大きく増加したものの、追跡のみを行った 3 年度目の以降は横ばいと考えられる結果を得た。しかしながら、参加した 292 名すべてのデータを用いた解析ではないこと、協会けんぽ全体あるいは千葉支部の保険者負担の推移と比較していないなどから、医療費への長期効果を評価するに至らないと考える。

【令和元年度】 前年度に引き続き、協会けんぽが保険者である 5 事業所のレセプトから同時期の国民医療費及び協会けんぽ千葉支部の医療費と比較し保険者としての費用効果性を分析したところ、医科薬剤医療費の増加抑制により、総医療費の上昇は国民医療費及び協会けんぽ千葉支部の上昇の平均値より低く抑えられた。健康関連 QOL 得点は、初年度から 2 年度、2 年度から 3 年度が高くなった。歯科口腔保健介入により従業員の便益が継続的に生じ、事業主の便益が早期に、保険者の便益が後期に生じることがわかった。健康経営のための投資として有効であり、コラボヘルスに向けた対策であることが認められ、令和 2 年度から協会けんぽ千葉支部における歯科健診の事業化に至った。今年度以降の協会けんぽ千葉支部における歯科健診の事業評価は、千葉県歯・口腔保健支援センター、千葉県歯科医師会、千葉県歯科衛生士会とともに継続して行っていく体制が整った。

整理番号	研究課題名	研究期間 (変更前期間)	総合 評価
28-01 H28 重点	千葉県内の小児における呼吸器感染症起因 ウイルスの動向調査	平成 29 年度～ 令和元年度	3.4

<研究の概要>

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。

<研究の成果>

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。

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。

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ている。

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ている。

整理番号	研究課題名	研究期間 (変更前期間)	総合 評価
29-03	GC-MS/MS を用いた多環芳香族化合物類 (PAHs) 及び特定芳香族アミンの分析法の検討	平成 28 年度～ 令和元年度	3.5

<研究の概要>

「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」では、クレオソート油を含有する家庭用の木材防腐剤及び木材防虫剤並びにクレオソート油で処理された家庭用の防腐木材及び防虫木材について、多環芳香族化合物 (PAHs) の濃度が規制されている。また平成 28 年 4 月から、特定芳香族アミンを容易に生成するアゾ染料の家庭用繊維製品等への使用が規制された。PAHs 及び特定芳香族アミンについては、いずれもガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) によって測定を行うことが求められているが、測定対象物質と試料中の夾雑物のピークの保持時間及び m/z 値が同じ場合、両者を区別することはできない。しかし、平成 30 年 4 月から当所に導入されたガスクロマトグラフトンデム質量分析計 (GC-MS/MS) を用いた場合、測定対象物質と夾雑物における特定のプリカーサーイオンに不活性ガスを衝突させることで、断片化したプロダクトイオンが得られる。このプロダクトイオンは化合物特有のマスペクトルを示すため、両者を比較して区別できる。また、多重反応モニタリング (MRM) モードを用いた高感度分析も可能である。当研究ではその GC-MS/MS を利用し、偽陽性を防ぐと共に高感度な分析法を構築した。

<研究の成果>

【分析条件の検討】

多環芳香族化合物 (PAHs) 標準溶液及び特定芳香族アミン類 (PAAs) 溶液をスキャンモード (MS モード) で分析し、強度の高いイオンをプリカーサーイオン (親イオン) として選択した。さらに、そのプリカーサーイオンをプロダクトスキャンモード (MS/MS モード) で分析し、各物質の面積が最大となるコリジョンエネルギーを決定した。その後、決定した条件で添加回収試験を行った。

【添加回収試験】

① 多環芳香族化合物 (PAHs)

回収率：83.3～104.9%、変動係数 5%以下

② 特定芳香族アミン類 (PAAs)

回収率：77.8～102.7%、変動係数 5%以下

【製品への適用】

手袋 1 製品、下着 1 製品について、特定芳香族アミン類 (PAAs) を分析した結果、パークロロアニリンが検出され、その値は手袋では、2.61 $\mu\text{g/g}$ 下着では 2.67 $\mu\text{g/g}$ であり、基準値である 30 $\mu\text{g/g}$ を超過しなかった。

多環芳香族化合物 (PAHs) を含有する製品については、入手できず、実施していない。

【まとめ】

今回構築した分析法は回収率等良好な結果が得られたことから、分析法としては妥当と考えられる。今後は、今回構築した分析法を適用し、家庭用品規制法への対応を図る予定。

整理番号	研究課題名	研究期間 (変更前期間)	総合 評価
29-07 H29 重点	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	平成 29 年度～ 令和元年度	4.6

<研究の概要>

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。

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。

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。

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。

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）

整理番号	研究課題名	研究期間 (変更前期間)	総合 評価
31-04	千葉県内で採取されたマダニ中における重症熱性血小板減少症候群ウイルス保有状況	令和元年度	3.8

<研究の概要>

重症熱性血小板減少症候群（SFTS）は、2011年に中国の研究者らによって初めて報告された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って以来、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。

千葉県はこれまで SFTS 患者の発生は無い。しかしながら2017年の山口大学の調査では千葉県内で捕獲されたシカの血液から SFTSV に対する抗体が検出されたとの報告から、本県においても、SFTSV の存在と本感染症への感染リスク地域があることが示唆された。一方で、千葉県はマダニ媒介感染症である日本紅斑熱の流行地であり、マダニと野生動物の間で日本紅斑熱の原因菌である *Rickettsia japonica* の生活環が成立している。その環境下においては SFTSV の生活環も存在する可能性は高いと考えられる。また、千葉県内には、過去の調査から SFTSV の感染に寄与していると考えられているマダニ種である、フタトゲチマダニやタカサゴキララマダニが生息している。今回、千葉県内の植生上からこれらマダニを採取し遺伝子検査を行うことにより、本県における SFTSV 感染リスクを評価した。

<研究の成果>

千葉県南部のシカの生息地を中心に夷隅郡大多喜町に4地点、勝浦市に2地点、市原市に1地点の定点を設け、採取時期は SFTS の発生頻度の高い5月から10月の各月に2回行った。マダニはフタトゲチマダニ720個体、ヒゲナガチマダニ185個体、キチマダニ79個体、オオトゲチマダニ66個体、タカサゴキララマダニ50個体、ツノチマダニ18個体、ヤマトマダニ3個体、アカコッコマダニ2個体の合計1123個体が採取された。採取されたマダニは実態顕微鏡下で形態学的に同定後、PBS中で磨り潰し、DNA抽出を行った。遺伝子検査は国立感染症研究所獣医科学部の「マダニからの SFTSV 検出マニュアル」に準じて実施し、採取した1123個体、全て SFTSV 遺伝子は陰性であった。県内で捕獲された野生のシカの血液から SFTSV 抗体が検出されたという山口大のデータから、県内のマダニが SFTSV を保有している可能性はあるものの、今回の研究結果から、その保有率は非常に低いものと考えられた。このことから、本県における SFTSV 感染リスクは現時点では少ないものと示唆された。