

令和6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6年8月9日（金）

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 元理事長）	
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	06-01
研究課題名	千葉県における日本脳炎に対するリスク検討
研究期間	令和6年度～令和8年度
研究概要	本県において、日本脳炎は平成27年に25年ぶりに患者が確認されて以降、約7年間発生が認められなかったが、令和4年（1名）、令和6年（1名（令和6年7月末時点））と患者の発生が確認された。 日本脳炎の原因ウイルスである日本脳炎ウイルス（JEV）は、主にコガタアカイエカが媒介し、毎年実施している感染症流行予測調査事業では、ブタにおいて例年夏季にJEV抗体保有率の上昇が認められ、JEVが夏季にブタ―蚊の間で感染が広がっていることが確認されているが、ヒトにおいては、感染者100人～1000人に対して発症者は1人程度と不顕性感染がほとんどであり、さらに血中に検出されるウイルスは一過性であり、量的にも極めて少ないことから、確定診断が行われていない脳炎患者や無菌性髄膜炎患者の中に日本脳炎患者が潜在的に存在していることが考えられる。 予防の中心となる日本脳炎ワクチンについては、平成17年～平成21年の積極的勧奨の差し控えや令和3年の供給不足によりワクチン実施率の一時的な低下が認められていることから、当該時期に接種対象となった世代におけるワクチン接種率や抗体保有率の低下も懸念され、また、他県で実施された調査では40代以降で抗体保有率の低下が認められている。 そこで今回の調査研究では、本県の日本脳炎に関する実態を明らかにすることを目的に以下の3点について調査を実施する。 ①過去の原因不明の急性脳炎等患者の中に日本脳炎患者が含まれている可能性があることから、急性脳炎等患者における直近のJEV感染の有無を調査し日本脳炎患者数を把握する。 ②直近10年間の日本脳炎患者の約8割は60代以上の年代で確認されているが、本県の感染症流行予測調査事業においては、成人は献血者を対象としており、高齢者の抗体保有状況は明らかでないことから、県内医療機関に協力を依頼し、60代以上の年齢層を対象とした県民のJEV抗体保有状況を調査する。

	③感染源であるブタ、イノシシ及び蚊について、本県における JEV の遺伝子検査を実施することにより JEV の流行状況を調査する。
主な意見	・ 日本脳炎の感染リスクと感受性のある年齢層に対するワクチン接種勧奨につながる重要な研究課題と考える。まず、原因不明の脳炎・脳症患者検体から日本脳炎ウイルス検出を試み、もし、陽性者がいた場合には、抗体価測定により、必要な防御抗体価を推定することが可能になると思われる。ヒトの感受性調査に関しては、ぜひワクチン接種者が少ない年齢層（60 歳以上）での調査をお願いしたい。実施する場合には、県内で日本脳炎患者が発生している地域と都市部の医療機関に協力をお願いし、比較検討を行っても良いかもしれない。 ・ ①急性脳炎等患者調査（ウイルス検査・抗体検査） 非常に重要な基本的データの入手を目的としており、結果により次のステップへの展開が期待できる。 ②県民抗体保有状況調査 対象者の生活基盤（住居、職場、作業内容等）の情報も可能な限り入手出来ればより有効な情報が得られるのではないかと期待している。 ③感染源（ブタ、イノシシ及び蚊）におけるウイルス保有調査 感染状況を把握解析するための重要な基礎データとなる。研究が進むことを期待している。 ・ 県レベルで病原体、患者、媒介動物を含む包括的な疫学調査を実施することは公衆衛生上の意義は高く期待が持てる。県内の地域差について考慮することが必要と考える。
対応方針	県民抗体保有状況調査の実施にあたっては、いただきました御意見を踏まえまして、協力医療機関の選定及び調査協力者に御記入いただく調査票の項目設定を行いたいと思います。

研究課題番号	06-02
研究課題名	千葉県内で検出された下痢症ウイルスの遺伝子型解析状況
研究期間	令和7年度～令和9年度
研究概要	① 当該研究が必要と考えた経緯 ＊下痢症ウイルス 胃腸炎を引き起こす病原体は様々であるが、代表的な病原体としてノロウイルス(以下 NoV)があげられる。NoV は厚生労働省の食中毒統計によると、毎年食中毒事例数、患者数ともに上位に位置している。また、ヒトからヒトへ非常に少ないウイルス量で感染することから、感染症の面においても注意すべきウイルスである。 NoV はカリシウイルス科に分類されるノンエンベロープウイルスであり、約 7.5kb のプラス一本鎖 RNA をゲノムとして持っている。ゲノムは 3 つの蛋白質コード領域 (ORF) に分かれており、ORF1 は RdRp (RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ) などの非構造蛋白質、ORF2 は VP1、ORF3 は VP2 の構造蛋白質をコードしている。VP1 は抗原性に関わっており、アミノ酸置換により抗原性を変化させ免疫から逃れていると言われており、本県ではこの領域の塩基配列により遺伝子型を決定してきた。NoV の遺伝子群は 10 種類に分類されるが、ヒトの感染の主流は GI と GII であり、さらに GI は 9 種類、GII は 27 種類の遺伝子型に分類されている。 NoV は全国的に大流行する年があるが、RdRp 領域、VP1 領域 (2 つを合わせてジャンクション領域と呼ぶ) でゲノムの組換えを度々起こすことが原因として報告されている。NoV は多様な遺伝子型が存在しており、RdRp 領域と VP1 領域それぞれで遺伝子型を決定し併記することが必要とされている 1) が本県では現状として VP1 領域の遺伝子型解析しか実施していない。他自治体では感染症発生動向調査事業の病原体定点の検体だけでなく、食中毒事案を含む集団発生事案の検体を用いてジャンクション領域を含めた遺伝子型解析を実施することで疫学情報を蓄積し、流行状況の把握に努めている。ジャンクション領域を含めた解析を行うことは、新たな分子疫学情報が蓄積でき、県内の NoV の流行状況や流行規模のさらなる把握が期待される。 NoV 以外の下痢症ウイルス(サポウイルス、アストロウイルス、ロタウイルス)も NoV 同様胃腸炎を引き起こす病原体として注視する必要がある。これらのウイルスも県内

	で流行し集団発生を引き起こすが、遺伝子型解析までは実施しておらず、流行状況の把握はもちろん分子疫学情報の蓄積に至らない状況である。 1) Kroneman A, et al., Arch Virol 158: 2059-2068, 2013 ＊流入下水 地域の病原体への感染状況を表す1つのツールとして下水サーベイランスが注目されている。当室では研究課題「03-01 コロナ禍以降の流入下水中に存在するウイルスの動向」で県内2か所のポンプ場より流入下水を採水し、下痢症ウイルス遺伝子の調査を行っており、地域住民の感染状況を推察できる可能性を示唆してきた。 しかし、流入下水から検出された下痢症ウイルスについて遺伝子型解析までは人由来検体(集団発生事案検体、発生動向調査事業検体)同様実施していない。 以上のことから次の3点について研究を行う。 ○流入下水検体とその地域の人由来検体で検出までタイムラグがあるか ・人からの検出よりも下水からの検出が早かった場合、早期探知に繋がり、感染予防へと繋げることができる可能性がある。 ○流入下水検体とそれ以外の地域の人由来検体で検出された遺伝子型に差異があるか ・本県での下水道普及率は77.1%(令和5年3月)となっている。 ・差異がある場合、下水サーベイランス+αとして人由来検体の調査を行うことにより県内全体の感染状況をより詳細に把握できる可能性がある。 ○流入下水検体から検出された遺伝子型で季節差異があるか ・感染性胃腸炎の非流行期である夏場でも下水からは下痢症ウイルスは検出されている。 ・夏と冬で検出される遺伝子型が違うのかを調査し、季節ごとに流行する可能性がある型が違うのかを調査する。 ② 研究の準備状況(先行研究等を含む) 現在、NoVを原因とする集団発生事案検査は保健所でリアルタイムPCRにより実施している。またNoVが陰性となった集団発生事案検査は当所でNoV以外(サポウイルス
--	---

	ス、アストロウイルス、ロタウイルス等)の検査をリアルタイムPCRにより実施している。また、ジャンクション領域の遺伝子型解析方法について国立感染症研究所の病原体検出マニュアルに記載されており、試薬等は準備ができています。 下水調査は令和3年度より実施しており、現在も研究継続中である。 ③ 研究の最終像 流入下水検体に加え、人由来検体を調査の対象に加えることにより、県内全体の感染状況をより詳細に把握することができると考えられる。また流入下水採水地域では流入下水検体と人由来検体で結果を比較することができ、下水サーベイランスの有用性について確認することができる。 本研究により本県での下痢症ウイルスの流行状況を現状より詳細に調査することができると考えられ、将来的な本県の下痢症ウイルスモニタリング体制構築へ向けた材料の一助になると期待できる。本研究結果は成果を都度とりまとめ千葉県衛生研究所年報にて発表するなど継続的に見える化することで科学的根拠の蓄積・共有に繋げる。また結果を当所ホームページに逐次公開や関係部署と流行状況を共有することにより本県の感染症対策に資することができると考えられる。
主な意見	・ノロウイルスの流行が県北西部から始まり、他の地域に流行が拡がると仮定しているが、実際には流行は年により異なるようであるので、仮説を設定しない方が、バイアスがかからず良いと思う。むしろ下水サンプリング領域の下水とヒトからの検体で詳細な遺伝子解析を行うことで、有用な情報を得られる可能性があるのではないかと考える。 ・日本は南アジアの国々とは異なり下痢症の集団発症も限定的であり流入下水の背後地域も広いので遺伝子型を対応させて発症を予測することは容易ではないように考えられる。それよりも下水中のNoVの検出量もしくは検出頻度の変動により集団発症のリスクを評価する方向で研究を進める方が現実的ではないか。そのためには集団発症のケースだけではなく背後地域にある定点でNoV下痢症の発症状況も入手出来ればより見通しが立つように思われる。

	・新型コロナウイルス感染症の経験を踏まえ、下水サーベイランスの活用については国際的にも注目されているところであり、本研究の公衆衛生上の意義は大きい。ただ規模や頻度を考えると、本研究で早期探知というのは難しいのではないかと。
対応方針	本研究で下水、ヒト検体双方から千葉県内の下痢症ウイルスを見ることにより、今後の下痢症ウイルス対策に寄与できると考えております。頂いた御意見を参考に研究内容(下水サンプリング領域等)について更に検討し、研究に取り組んでいきます。また、下水からのウイルス検出量とヒトからの検出頻度の変動についても検討を行います。

研究課題番号	06-03
研究課題名	健康食品中に含有するマグノフロリンの定量法の構築と実態調査
研究期間	令和6年度～令和8年度
研究概要	マグノフロリンは強壮作用のある生薬として知られるムイラプアマやインヨウカクに含まれる毒性の強いアルカロイドであり、食薬区分上の専ら医薬品として取り扱われている。マグノフロリンのLD50値は19.6mg/kg（マウス、腹腔）、20mg/kg（マウス、静注）、138mg/kg（マウス、皮下）であり、その毒性は劇薬相当とされている。 マグノフロリンが含有されていると推測される健康食品は主に海外で数多く販売され、個人輸入により入手可能であるが、健康食品中にはどの程度含まれているかの報告はない。 含有量によっては、健康被害を引き起こす可能性も考えられることから、健康被害発生時に分析可能とするため、マグノフロリンの定量法を構築するとともに、製品を購入し、マグノフロリンの含有量の実態調査を行う。 千葉県でも数年に1回程度、健康食品を喫食したことによる健康被害が発生している。マグノフロリンが含まれた健康食品でも健康被害が起こる可能性があり、そのような状況になった際、構築した定量法にて迅速に対応可能とすることが本研究の最終目的である。
主な意見	・解析方法の確立は1年程度で可能とのことであるので、健康食品の選定とその健康食品を摂取する可能性の高い対象者（年齢層、性別等）を特定し、解析結果を公表するこ

	とで、より具体的な注意喚起につなげることが期待される。 ・マグノフロリンを選んだ理由の説明が十分ではないように思われる。 1) 強壮薬販売状況の年次推移（可能ならば海外を含む） 2) 中毒の報告例（海外を含む） が提示されていることが必要だと思われる。また、検査法の有用性にも価値があるならば、そのことも記述してほしい。研究成果には期待している。 ・海外から輸入されるマグノフロリンを含有する健康食品が健康被害をもたらす危険性が指摘されており、検出可能な系を確立することは公衆衛生上の意義がある。
対応方針	健康食品市場は国内や米国で年々拡大しており、強壮効果を標ぼう・暗示した製品も同様の傾向であることが推測されます。 マグノフロリンを含有する製品での中毒例は確認されていませんが、マグノフロリンはLD50 値から劇薬相当の毒性を持つと判断され、含有量によっては健康被害の可能性が考えられます。 また、ブラックコホシュは肝機能障害による健康被害等が厚生労働省に報告されていますが、その植物中に含有する生理活性が強いと考えられる物質として、マグノフロリンがあげられています。 いただいたご意見を参考に、迅速性及び正確性のある分析方法の構築を進めていきます。

（２）研究中止

研究課題番号	05－05
研究課題名	千葉県 HIV・性感染症（STI）検査事業における検査結果を加味した STI 発生動向の評価について
研究期間	（予定していた研究期間 令和6年度～令和8年度）
研究概要	近年、感染症発生動向調査において、千葉県内の性感染症（Sexually Transmitted Infection；STI）患者数は全体的に増加傾向がみられ、特に梅毒は2022年（令和4年）に、現行感染症サーベイランスにおいて最多となる累計337例の患者の届出があった。 2023年（令和5年）も第18週時点で累計143例の届出があり、昨年を上回るペースで

	患者報告が続いている。また、五類定点把握疾患である性器クラミジア感染症、淋菌感染症も 2017 年（平成 29 年）ではそれぞれ年間累計患者数が 792 例、272 例であったが、2022 年（令和 4 年）には 2,085 例、600 例となり約 2 倍以上に増加している。 県では、保健所および委託機関において HIV、梅毒、クラミジア、淋菌等の無料検査を行っている。本研究ではこれらの検査結果データを収集し、検査数や陽性割合等のデータを感染症発生動向調査の情報と併用することで、千葉県内の各 STI（HIV、梅毒、性器クラミジア感染症、淋菌感染症）の発生状況について多面的に解析・評価し、STI の発生予防やまん延防止のための対策の一助とすることを目的とする。 （中止の理由） ・新型コロナウイルス感染症まん延の影響に伴い、令和 2 年～令和 4 年にかけて保健所における HIV 等検査実施が大幅に縮小され、令和 5 年度から徐々に再開されたが、現時点（令和 6 年 6 月時点）において、保健所における検査実施体制や状況が十分に元に戻っておらず、保健所等の検査結果を併用する本研究の遂行が実質困難な状況である。また、本状況が今後いつまで続くか、現状として見通しがつかない状況にある。 ・本研究課題について検証するためには、保健所等以外の各関係機関（たとえば医療機関や検査機関等）と協力して実施する体制を構築するなど、研究デザイン的大幅な修正が必要であることから、いったん中止とし、改めてアプローチ方法等を整理したうえで、新たな研究課題として提案することとしたい。
主な意見	・保健所での無料検査の実数は減少しているようであり、他の方法でのアプローチが必要と考える。民間の検査機関との連携も良いかもしれない、重要な研究課題であり、ぜひ、再度検討いただくことを期待する。 ・性感染症発症の動向把握は公衆衛生的にも非常に重要で基本的な業務だと思われる。その精度を向上させるため情報収集法を開発することを目指していることは高く評価できる。無料検査受診者の背景情報をどこまで入手できるかがポイントとなってくるので、この当たりの工夫が必要と思われる。今後の展開に期待している。 ・検査実施が縮小され研究実施が困難な状況であることから、研究中止はやむを得ないと考える。重要な研究課題であることから、別の方法について検討されることを期待する。

対応方針	いただいた御意見を踏まえて、今後他のアプローチ方法や別視点からの実施の可能性も含め検討してまいります。
------	---

(3) 事後評価

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	千葉県では、平成20年度より県内の結核患者から分離された全結核菌株を収集して MLVA (multi-locus variable numbers of tandem repeats analysis) 型別により分子疫学的解析を行っているが、必ずしも感染経路の特定には至っていない。 本研究では、他自治体への通勤通学者の割合が少ないがある程度の人口規模を有する地域を対象とし、当該地域で同一 MLVA パターンと1領域だけ異なる SLV (single locus variant) を含めて次世代シーケンサーによる全ゲノム解析を実施することで、地域に優勢に分布する結核菌株を特定し、今後の結核予防活動に寄与することを目的とする。 (期間延長前の実績：令和元年度～令和3年度) 2019年(令和元年)末までに搬入された結核菌株のうち感染伝播性が高いと言われている 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。得られたデータを、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、解析した結果、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。続いてこの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(令和元年)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。なお、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)。 これら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 における 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が得られた。 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」 (期間延長後の実績 : 令和 4 年度～令和 5 年度) 令和元年度から令和 3 年度までの 3 年間で modern Beijing lineage を対象として研究を進めたが、優勢に分布している株は見られなかった。そこで、他の MLVA パターンの lineage に型別された菌株についても状況を把握するため、modern Beijing lineage と同様に多く見られる ST25_19 Beijing lineage についても全ゲノム解析を行い、地域に優勢に分布する結核菌株の特定を試みることにした。 ST25_19 Beijing lineage で MLVA が同一パターンまたは SLV であった 14 株 (選定した地域から搬入のあった結核菌 12 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。 modern Beijing lineage の解析と同様、CASTB を使用した結果、14 株全てが lineage2 (East-Asian lineage) に分類され、薬剤耐性因子は無いことが判明した。さら
--	--

	に、この 14 株の全ゲノム解析データから菌株間の SNP 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 以内の菌株は 1 組（2 株）間でしか見られなかった（1.1% : 1/91）。 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。今回の異同判定に用いた基準は Walker らによって設定された 5SNPs であったが、北京型の比率が高い日本ではゲノム変異の発生率が高いと報告（Hakamata M et al., Sci Reports 2020;10:17997）されており、12SNPs がしきい値として適当であるとも報告（Fiebig L et al., Euro Surveill 2017;22:30439）されていることから、適切なしきい値の検討が今後の課題と考える。
主な意見	・集団感染事例では、ほぼ同一の遺伝子パターンを呈するということである。地域での解析以外に、小児例を軸とした感染経路の特定なども検討するのも良いかもしれない。最近の小児感染例は特定のコミュニティ内での感染が疑われる事例もあり、重要な情報を得られる可能性がある。 ・全ゲノム解析から得られる分類により感染経路を特定するという目的に沿った研究は非常に重要だと思われる。そして結果もしっかりと出している。しかしながら本プロジェクトから得られた結果からも明らかとなっているように情報の細分化は逆に物事を見えにくくしているように思われる。もう少しマクロレベルに戻って考え直すことも必要ではないかとの印象を覚えた。 ・本研究は千葉県内で発生する結核が域外から散発的に流入していることを示唆しており、公衆衛生上重要な知見をもたらしたと言える。また菌株の異同判定基準について新たなクエスチョンを生み出したという点についても、研究上の価値が高い。
対応方針	本研究では、特定の地域に着目して優勢に分布している結核菌株の特定には至らなかったものの、異同判定の基準について検討の余地があることを見いだせました。結核は公衆衛生上、重要な感染症であることから、いただいたご意見を参考に情報収集を行い、新しい知見が得られた際は追跡調査の形で報告できるようにしたいと思います。

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	牡蠣を始めとする二枚貝はスーパーマーケット、飲食店等で流通しており、全国的に二枚貝(牡蠣が主)でのノロウイルス(以下 NoV)の食中毒が発生している。NoV は感染者の糞便に含まれており、下水→川→海という流れで最終的に牡蠣の消化管である中腸腺に蓄積・濃縮している。牡蠣の NoV 検査は厚生労働省通知に基づき実施し、濃縮操作を行っても検出感度は低い。現在 NoV に代わる汚染指標の設定が話題となっており、トウガラシ微斑ウイルス(以下 PMMoV)が指標ウイルスとして検討されていることに着目した。PMMoV は下水中に多く検出が認められ、NoV 同様牡蠣に蓄積・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、牡蠣を原因とした NoV 食中毒検査では PMMoV を活用した研究はまだない。PMMoV は濃縮処理前でも検出可能で、PMMoV 量から NoV 量の検出閾値を推定できれば、検査感度の改善が期待でき、食中毒検査の補助に繋がると考えられる。 1 実施内容 令和4年12月から令和6年3月までに県内で加熱用牡蠣を月に4～10個購入した。厚生労働省通知、食品衛生検査指針に基づき検査を実施し、濃縮方法は当所で実施している超遠心処理を採用し、濃縮後検体とした。さらに、濃縮するに十分な量の検体は濃縮前に500μL分取し、濃縮前検体とした。 濃縮前、濃縮後検体のRNAを抽出し、PMMoVのリアルタイムPCRを実施した。さらに、RNAからcDNAを合成し1stPCRを実施、その後NoVのNestedリアルタイムPCRを行った。NestedリアルタイムPCRでNoV陽性となった検体は、cDNAを鋳型としたリアルタイムPCRを実施した。 2 結果 ウイルスコピー数はPMMoV、NoVともに中腸腺1gあたり(単位:cpG)とした。

	① PMMoV、NoV 検出状況 PMMoV：濃縮前、濃縮後ともに毎月検出された。6～9 月は低濃度の検出だったが、感染性胃腸炎流行期(12～3 月)は比較的高濃度で検出された。 NoV：濃縮前、濃縮後ともに感染性胃腸炎流行期(12～4 月)に検出された。また、濃縮前、濃縮後で検出される遺伝子群に相違が認められる検体も存在した。 ② NoV 陽性、陰性時の濃縮前 PMMoV 量比較 NoV 陽性、陰性時の濃縮前 PMMoV 量を比較し、ウィルコクソンの順位和検定で有意差が認められた($p < 0.01$)。また、PMMoV 量が 5.76 log cpg 以上で NoV 陽性検体が検出された。 3 考察、まとめ PMMoV は濃縮前、濃縮後全ての検体で検出されたが、10^3程の濃度差があり、6～9 月で低濃度となった。下水中の PMMoV は年間通してほぼ一定に推移しているとの研究結果が報告されている。下水から海水に流入する PMMoV を牡蠣は濃縮しているが、本研究で牡蠣中の PMMoV に季節変動を認めた。牡蠣は産卵期(6～9 月)に濾過水量が少なくなり、さらに摂餌量も減ると言われており、産卵期に PMMoV が低濃度になったと考えられた。NoV は感染性胃腸炎流行期に濃縮前、濃縮後で検出された。また濃縮前に検出された遺伝子群が必ずしも濃縮後に検出されていなかった。本研究では工程管理ウイルスを添加しておらず、原因は定かではないが、除去できなかった牡蠣由来物質、PCR 阻害物質などが濃縮され、濃縮後の NoV 検出を阻害したと考えられた。今後は工程管理ウイルスの添加について検証する必要がある。 NoV 陽性、陰性時の濃縮前 PMMoV 量を比較したところ、ウィルコクソンの順位和検定で有意差が認められ($p < 0.01$)、NoV 陰性時に比べ陽性時で PMMoV 量が多くなることが示された。そこで PMMoV 量を 4.50 log cpg から 0.25 ずつ区分けし、NoV が陽性になる閾値を求めたところ、5.76 log cpg 以上(最低検出濃度 5.84 log cpg)で NoV が検出された。このことから濃縮前 PMMoV が 5.76 log cpg 以上だった場合に濃縮前で NoV 検出を試みることにより、超遠心の濃縮処理工程を行わずに NoV を検出できる可能性がある。 本研究で濃縮前 PMMoV を測定することにより、迅速性の向上に繋げることができ、
--	--

	NoV 食中毒検査改善の一助になると示唆された。しかし、濃縮前と濃縮後で検出される遺伝子群に相違がある可能性があること、PMMoV の濃度について全国の牡蠣が本研究結果と同様に推移するか明らかになっていないことを踏まえ実施する必要がある。 本研究は NoV 検出のため加熱用牡蠣を使用した。感染性胃腸炎流行期は牡蠣から NoV が検出されることを再認識した。加熱用牡蠣は中心温度が 85℃～90℃で 90 秒以上加熱することが推奨されており、徹底することにより NoV への感染リスクを大きく減らすことができる。また、生で喫食できるのは生食用牡蠣のみで、本県は千葉県食品監視指導計画に基づく買上検査で NoV 陰性を確認しており、NoV による牡蠣の食中毒未然防止を行っている。 4 今後の課題 NoV は培養法が確立されておらず、感染性の有無の評価が難しく、本研究で検出された NoV も感染性の有無について不明である。検出されたウイルスの感染リスクを評価する方法として感染性推定遺伝子検査法が示されている。農林水産省の「カキのノロウイルスに係る平常時水準調査委員会」によると、感染性推定遺伝子検査法を用いると、従来より定量値は下がるが感染性を持つウイルスを検出しやすくなる。感染性推定遺伝子検査法を用い、牡蠣中の PMMoV と感染性 NoV との関係を観察することで、より牡蠣のリスクを評価できるのではないかと考えられた。今後の課題について精査した上で来年度以降の新規研究課題として挙げるか検討する。 また、濃縮前 PMMoV 量から NoV 検出の推定ができることで、感染性胃腸炎流行期における県内流通牡蠣の NoV モニタリングに PMMoV を活用することが可能になると思われる。さらに、海水温、雨量などを含めた多変量解析を行うことで、モニタリング強化となると考えられた。
主な意見	・スクリーニング方法として有用性が期待される。スクリーニングの進め方についてフローチャートなどを作成していただけるとわかりやすいと思われる。 ・非常に興味深い研究である。本研究は NoV の検出を主眼においた研究だが、少し視点を変えて、牡蠣中腸に濃縮している PMMoV 量（PMMoV 量）と牡蠣生息地へ流入する下水の背後地の人口数の間で相関があることが示せれば、PMMoV 量を糞便汚染の指標に代替できる。そうすると PMMoV 量を基準とした NoV 量の（検出、不検出を含めた）増減が

	NoV 感染状況の指標となり得るのではないかな。 ・本研究では千葉県内で採取された牡蠣からリアルタイム PCR を用いて PMMoV、NoV を検出し、ウイルスコピー数を調べた。それぞれに季節変動を認め、NoV 陰性時に比べ陽性時で PMMoV 量が多くなることが示された。これらの結果は、今後のノロウイルスのモニタリングに活用できる可能性があり、公衆衛生上の意義がある。また更なるリサーチクエストにもつながり、研究としての意義も大きい。
対応方針	本研究を通して新たなリサーチクエストを見出すことができたので、今後更に研究を実施するか検討します。トウガラシ微斑ウイルスがノロウイルス対策に活用できるよう今後も取り組んでいきたいと考えております。