

3 研究業務

3-1 単独県費研究

(1) 法規制薬物による健康被害防止のための分析法の改良・開発に関する研究—(薬務課行政事業)

(研究期間：令和5年度)

目的 近年、様々な形状の CBD 製品が市場に流通しているが、一部の CBD 製品から THC が検出された事例がある。県内の粗悪な CBD 製品の監視の為、CBD 関連製品の分析体制を整えておく必要がある。

内容 クリーム、ジェル及びはちみつの形状の CBD 製品から、CBD 及び Δ^9 -THC の抽出法を検討する。

結果 クリームからの CBD 及び Δ^9 -THC の抽出はエタノールによる抽出法を確立し、良好な回収率が得られた。また、はちみつからの CBD 及び Δ^9 -THC の抽出法については、令和2年度にキャンディで実施した方法を用い、一部抽出溶媒を水・アセトニトリル混液(7:3)とした方法により、良好な回収率が得られた。

(2) コメ加工食品等からの DNA 抽出に関する研究(食品生活衛生課行政支援事業)

(研究期間：令和5年度)

目的 通知検査法が適用できるコメ加工食品を明らかにし、適切な収去検査が実施可能な体制の構築を目指す。

内容 様々な加工形態のコメ加工食品について通知法に従い DNA 抽出を行い、DNA の収量及びコメ内在性遺伝子をターゲットとしたリアルタイム PCR の C_q 値を指標として検査適用の可否を検討する。

結果 コメ加工食品 19 検体全てにおいて十分量の DNA が得られ、コメ内在性遺伝子の増幅 (48 未満の C_q 値) を確認した。得られた知見を事業課に情報提供した。

(3) 蛍光マルチプレックス RT-PCR 法のアップデート及び Dual Typing 法によるノロウイルスの流行状況の解明

(研究期間：令和5年度)

目的 現在使用している下痢症ウイルス検出用蛍光マルチプレックス RT-PCR 法では、ノロウイルスとサポウイルスの混合感染時に判定が難しい点、一部のサポウイルスの遺伝子型で検出感度が劣る点が課題となっていることから、本方法の改良を行う。また、ノロウイルス遺伝子型別法の国際基準法である Dual Typing 法の導入を行う。

内容 ノロウイルス及びサポウイルス検出用プライマーの検討を行う。また、Dual Typing 法導入条件の確立を行う。

結果 ノロウイルス及びサポウイルス検出用プライマーの変更を行い、蛍光マルチプレックス RT-PCR 法の検出感度が向上した。また、Dual Typing 法の導入を行い、既存のノロウイルス遺伝子型別法よりもより詳細な結果を得ることが可能となった。

(4) GC-MS/MS による残留農薬検査体制の構築

(研究期間：令和5年度)

目的 迅速・簡便性に優れた溶媒量が少ない検査法を用いた、多項目に対応できる検査体制の構築を行い、令和7年度中に事業課及び試験検査課に提案できる、GC-MS/MS による残留農薬検査体制の構築

を目指す。

内容 測定対象項目の選定と抽出精製法を確立する。

結果 360成分の定量メソッドを作成した。また、簡易迅速法(QuEChERS法)の抽出法は厚生労働省の通知法の抽出法と同等の抽出効率であることを一部の野菜類を用いて確認した。精製方法では、固相抽出カラム①GC/PSA、②C18+GC/PSA、③C18/SAX/PSAの3種類について検討した結果、添加回収率が70%以上であった成分が多く、かつ溶出溶媒に有害性のあるトルエンを使用しない、③を採用することとした。添加回収率が120%以上となる成分が認められ、マトリクス効果の影響を受けていると推測されるものの、スクリーニング検査法として有効な手法を確立できた。

(5) かき養殖海域調査における腸炎ビブリオのリアルタイムPCR検査系の確立

(研究期間：令和5年度)

目的 現在行っているかき養殖海域調査は、煩雑で、培養含め4日を要する検査となっている。迅速かつ簡易な検査法の確立が求められることから、リアルタイムPCRを用いた検査法の確立を行う。

内容 リアルタイムPCRのプライマー、プローブの設計、海水からのDNA抽出法と前処理法の検討、確立された方法と現在の方法との比較検討を行う。

結果 腸炎ビブリオ特異的な配列を用いてプライマー、プローブを作成した。海水に関しては、増菌培地で増菌後、蒸留水で一度洗浄、熱抽出でDNA抽出を行った後にリアルタイムPCRで検出、最確数法にて菌数を確定する方法が最適だった。

(6) ウイルス性気道感染症サーベイランスの強化と効率化に関する研究

(研究期間：令和5年度)

目的 新型コロナウイルスが、2023(令和5)年5月から五類定点把握対象疾患となり、既存の感染症発生动向調査の検査体制へ早急に組込む必要があることから、他の気道感染症の原因ウイルスとの同時検査を可能にするための検査系を再構築する。

内容 現在の気道炎パネル(エンテロウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス、パラインフルエンザウイルス3種、RSウイルス、ヒトメタニューモウイルス、季節性コロナウイルス4種及びマイコプラズマを複数組み合わせると同時検査可能)のRSウイルス検出プライマー、プローブの見直しを行い、さらに本パネルに新型コロナウイルス検査系を組み込んで、既存の試料を用いた検出感度等の評価を行う。

結果 新型コロナウイルスを含む気道炎感染症の原因ウイルス13種の一括検査系を構築した。これまで新型コロナウイルスと他の気道炎ウイルスを別々に検査していたが、今回構築した検査系はこれらを一括して検査することで、検査コストを約19%削減することができた。

(7) 差分評価による水質汚染事故時の流出物質特定技術の開発

(研究期間：令和5年度)

目的 下水処理場放流水の流入前後で河川水を差分評価・比較し、環境水中に放出された化学物質を特定することにより、水質汚染事故時に流入物質の特定に活用できる手法を確立する。特定地点で河川に流入する物質として、下水処理場放流水から検出される指標物質^{*1}を特定可能な手法の確立を目標とする。

^{*1} 医薬品及び生活関連物質のうち、下水処理場放流水から検出事例がある5物質程度

内容 下水処理場放流水の放流直下と上流・下流の河川水に含まれる物質を網羅分析し、差分評価^{*2}を行うことで、放流水によって河川中に放出された物質を特定する方法を確立する。

^{*2} 統計解析により、大量のデータの中から指標となる物質や測定項目の抽出等を行う手法。

結果 分析前処理及び GC-MS での網羅分析の条件を決定し、河川水の分析データを得た。そのデータから、複数ピークを自動抽出し、機器由来のノイズや前処理由来のブランク物質のピーク除去、外れ値の有無の確認を行った。その後、河川水から検出されたピークに対して、統計解析を行い、下水処理場放流水によって河川に流入した物質の候補を抽出した。候補物質の中には、指標物質が 5 物質とも含まれており、本手法の有効性が示唆された。

(8) 豊かな瀬戸内海の実現に向けた調査研究

(研究期間：令和 3～5 年度)

目的 「豊かな瀬戸内海」の達成のため、里海づくり活動のひとつとして県内で実施されているアサリの保全・再生活動について効果的な方法を探索し、県民の里海づくり活動の推進に資する。

また、令和 3 年度には、各海域の地域性や季節性に応じたきめ細かな水質管理を可能とする「栄養塩類管理制度」が創設された。しかしながら、この制度における海域のモニタリング手法等の具体的な手法は提示されていないため、「栄養塩類管理制度」の実施に向け、必要とされるモニタリング手法を開発する。

内容

ア 県民が取り組みやすい里海づくりの手法として網袋を用いたアサリの育成手法を検討する。

イ 広島県沿岸域における「栄養塩類管理制度」を実施するため、栄養塩又は人工甘味料を指標とした海水中の人為排水流入割合の推定手法の確立に着手した。

結果

ア 宮島及び安浦の干潟で網袋を用いたアサリの育成試験(網袋に砂を詰めアサリを育成する方法)を行った。本方法によりアサリを漁獲サイズまで育成できた。また、網袋には天然稚貝の捕捉効果がありアサリの再生産が可能なこと、アサリだけでなく他の底生生物も増加することが確認され、本法が里海づくり活動を実施するにあたり有効なツールであることが実証できた。また、アサリの生育には、海域の餌料環境に起因した地域差があることも分かった。

イ 広島湾における海域調査を行い、アンモニア態窒素を指標とすることで、広島湾沿岸域における陸域起源水の寄与率を推定できた。また、黒瀬川水系をフィールドとして調査を行い、人為起源排水として人工甘味料がマーカー成分として有効であることを見出した。次年度以降、人工甘味料をマーカー成分とした海水中の人為排水混入割合の推定手法を確立する。

(9) 有害大気汚染物質の採取方法の検討

(研究期間：令和 5 年度)

目的 定常時の大気環境を評価するため、長期間の採取が可能なロウボリウムエアサンプラー(LV)の導入について検討し、従来法との相違点を明らかにする。

内容 有害大気汚染物質モニタリング調査の対象項目であるベリリウム、クロム、マンガン、ニッケル、ヒ素について、LV を用いた採取法におけるブランク値、検出下限値等について調査し、従来法と比較した。

結果 検討の結果、LV 法は従来法と同程度のヒ素濃度を示すことが分かった。また、LV 法は従来法よりも低いブランク値と検出下限値を示し、特に全クロムとニッケルの検出率が向上することが分かった。ただし、ベリリウムについては従来法との差が大きくなる傾向があった。LV 法では大気採取量が少ないため、ベリリウムの分析精度に問題がある可能性が示唆された。今後はハイボリウムエアサンプラー+PTFE フィルターによる採取結果と比較し、適切な採取方法を決定する必要がある。

3-2 受託研究

本年度は、企業等からの依頼により、受託研究 2 課題を実施した。

3-3 共同研究

本年度は、企業等からの依頼により、共同研究 1 課題を実施した。

3-4 協力研究

(1) 日本医療研究開発機構(感染症実用化研究事業〔新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業〕)「ダニ媒介性感染症の総合的な対策に向けた研究」

(研究期間：令和 3～5 年度)

目的 ダニ媒介感染症の発生実態を把握し、総合的な対策について提案する。

内容 広島県内のダニ媒介感染症発生状況について、情報提供を行った。

(2) 厚生科研(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「食品由来感染症の病原体解析の手法及び病原体情報の共有に関する研究」

(研究期間：令和 3～5 年度)

目的 分子疫学解析の開発・評価・精度管理、当該解析法に基づく病原体情報の効率的、効果的な共有化を行うためのシステムの開発を柱として、本研究によって流行株の把握、並びに広域事例における感染源の究明及び感染拡大の防止に貢献することを目指す。

内容 腸管出血性大腸菌(EHEC)O111 の菌株を用いたパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE 法)及び Multiple-locus Variable Number Tandem Repeat Analysis 法(MLVA 法)について外部精度管理を実施した。また、中四国地方で発生した EHEC による感染事例について、分子疫学解析結果や疫学情報を収集し比較調査を行った。

結果 概ね良好な結果を得た。

(3) 日本医療研究開発機構(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)「薬剤耐性菌のサーベイランス強化および薬剤耐性菌の総合的な対策に資する研究」

(研究期間：令和 3～5 年度)

目的 感染症発生動向調査および病原体サーベイランスで明らかとなってきた CRE 感染症の疫学について、より深い解析を行うことで CRE 感染症の治療と対策により有用な知見を得る。それを通じて、地方衛生研究所における薬剤耐性菌の試験解析技術を向上させ、次世代シーケンス(NGS)解析技術を導入する。

内容 国立感染症研究所薬剤耐性研究センターが全国の地方衛生研究所より CRE 菌株を収集し、全ゲノム解析および薬剤感受性試験を実施した。当センターに搬入された CRE 菌株の情報提供を行った。

結果 国立感染症研究所薬剤耐性研究センターがカルバペネム耐性腸内細菌を定義する上で、イミペネム耐性よりもメロペネム耐性が重要であるという結果を得て、CRE 届出基準に関する論文を発表した。

また、国立感染症研究所薬剤耐性研究センター主催の NGS 勉強会に参加し、解析技術を習得した。

(4) 国環研 II 型研究「海域における気候変動と貧酸素水塊(DO)/有機物(COD)/栄養塩に係る物質循環との関係に関する研究」

(研究期間：令和 5～7 年度)

目的 現在、全国各地の沿岸海域で顕在化している水質上の問題である貧酸素水塊と貧栄養状態に加え、気候変動に対する海水温変動の影響を評価する。

内容 貧酸素水塊の発生に関する底層溶存酸素量(DO)、生物化学的酸素要求量(BOD)を含む有機汚濁物質、貧栄養状態の評価に係る栄養塩類の測定に加え、溶存態有機窒素(DON)分解・溶存態無機窒素(DIN)生成試験を行い、これら測定結果の解析を行う。さらに、海域における気候変動の影響評価として、水温について長期変動傾向の解析を行う。

結果 広島湾において上記項目の測定及び室内試験を実施し、測定項目間の関連性を解析した。また、全体会議(Web)において貧酸素化や栄養塩等に関する各地域の実態について、情報交換を行った。

(5) 国環研Ⅱ型研究「里海・里湖流域圏が形成する生態系機能・サービスとその環境価値に関する研究」

(研究期間：令和3～5年度)

目的 里海・里湖流域圏において、ヒトとの関わりの強い干潟、藻場、浅場、水草帯等といった場における生態系機能・サービスとそれらの環境価値に関する調査や評価を実施する。

内容 地環研等により継続的に取得・蓄積されてきた水質・底質・生物分布情報等から生物の生息環境等とその変遷を整理する。また、温暖化緩和としてのブルーカーボンを評価するため、水界生物や底質等に含まれる難分解性有機物の炭素含有量原単位算出のための室内実験を行う。

結果 全体会議(Web)を行い、各自治体の調査結果等について情報交換を行った。

(6) 国環研Ⅱ型研究「河川プラスチックごみの排出実態把握と排出抑制対策に資する研究」

(研究期間：令和3～5年度)

目的 河川及び河川敷等のプラスチックごみについて、参加機関の調査技術の向上と共通化を図りつつ、河川の実態把握調査を行い、排出抑制対策に資する基礎的な知見を得る。

内容 各参加機関は、河川プラスチックごみの調査方法の共通化、効率化を行う。調査可能な参加機関は、河川の汚染実態を調査する。

結果 オブザーバーとして参加し、情報収集を行った。

(7) 国環研Ⅱ型研究「複数プライマーを用いた環境 DNA 底生動物調査手法の開発」

(研究期間：令和4～6年度)

目的 大型無脊椎動物をはじめとした河川等の底質に生息する生物(以下「底生動物」)は水質等の環境の変化に鋭敏に反応することから、古くから水質評価を始めとした水環境の健全度評価に用いられてきた。生物を用いた水環境の評価は長期的な水質を反映する等、化学的な水質評価に比べて優位な点がある一方で、手法としては通常、捕獲を主体としており、調査に必要な人的資源と分類学に関する知識がネックとなり、全国において広く実施されている状況には至っていない。このような中、近年新たな生物調査手法として環境 DNA 法が注目を集めている。本研究では底生動物の捕獲調査時に環境 DNA 調査を実施し、環境 DNA による底生動物調査手法を開発するとともに捕獲した底生動物 DNA データベースの充実を図ることを目的とする。

内容 広島県内の干潟にて、底生生物の捕獲調査と干潟直上水の DNA サンプリングを実施した。

結果 生物捕獲調査により得られた生物相と環境 DNA により得られた生物相を比較したところ、二枚貝の種類は捕獲調査と DNA 調査で概ね一致した。しかしながら、環境 DNA 法では二枚貝を除く軟体動物と節足動物の検出精度が低かったため、これらの検出精度の向上が今後の課題と考えられた。

(8) 国環研Ⅱ型研究「災害時等における化学物質の網羅的簡易迅速測定法を活用した緊急調査プロト

コルの開発」

(研究期間：令和 4～6 年度)

目的 事故・災害時において初動時スクリーニングに有効な、GC-MS による全自動同定定量システム (AIQS-GC) の構築と、地方環境研究所等への実践的な普及を目的とする。

内容 標準物質の保持指標測定と検量線情報取得を行い、物質データベースを更新する。また、平時の環境試料データを蓄積する。

結果 国立環境研究所が物質データベースの更新を行った。GC 装置のガス流量調整によって物質の保持時間を調整し、データベースとの一致率を向上させる方法が示され、参加機関は保有機器での確認を行った。

(9) 国環研 II 型研究「光化学オキシダント等の変動要因解析を通じた地域大気汚染対策提言の試み」

(研究期間：令和 4～6 年度)

目的 前期 II 型共同研究(2019～2021 年度)では、光化学オキシダント(Ox)及び PM_{2.5} の高濃度生成要因を明らかにした。今期共同研究では、気候変動、越境汚染を視野に入れた各地域の大気汚染物質の高濃度化要因の解明し、さらに統計モデルを用いて前駆物質排出量変化による大気汚染物質濃度の変動をより正確に評価することを目指す。

内容 統計モデルを使用した Ox の評価：統計解析による気象条件による季節オゾン濃度の変動を調整し、前駆物質の排出量変化による Ox の傾向をより正確に評価する。

Ox 高濃度因子の解明：既存データを活用して、NO_x、VOC 等の排出量変化等の各種因子による Ox 生成への影響評価を行う。

PM_{2.5} データの長期的解析：PM_{2.5} 成分分析データの長期的解析を行い、発生源対策と排出量変化(自動車、船舶、越境汚染等)と PM_{2.5} 濃度、組成との関係性を検証する。

結果 Ox 及び PM_{2.5} に関する研究グループに参加し、長期的解析に必要な各種データの整理を行った。さらに、Ox 生成に関する勉強会に参加し、Ox に関する解析技術を習得した。

(10) 国環研 II 型研究「公共用水域における有機-無機化学物質まで拡張した生態リスク評価に向けた研究」

(研究期間：令和 4～6 年度)

目的 化学物質の中には予測無影響濃度を超える濃度で環境中に存在するものがあることが明らかになっている。そこで、これまでの II 型研究で対象としてきた有機化学物質に加えて無機化学物質も対象とし、評価すべき物質を選定し、環境中の濃度および水生生物に対する生体リスク評価の情報を拡充することで環境行政に資する。

内容 全国の自治体の地方環境研究所において、国内都市域の河川水を対象とし、AIQS-GC や AIQS-LC による測定で有機化学物質の、また、キレート樹脂を用いた固相抽出方法による測定で無機化学物質の検出実態を明らかにする。その後、概算濃度と毒性情報から生態リスク評価を進める。

結果 有機化学物質については、国内都市域の河川水を対象とし、その検出実態を明らかにした。また、無機化学物質については、固相抽出方法の検討を進め、生物利用性を考慮した形態別分析を行った。

3-5 競争的研究費

(1) 日本医療研究開発機構(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)「病原体ゲノミクス・サーベイランスを基盤とした公衆衛生対策への利活用に係る研究」

(研究期間：令和4～6年度)

目的 ゲノム解析結果をより迅速かつ効率的に行政の対応に反映させていくために、利用しやすい実地疫学・分子疫学統合ツールの開発とブラッシュアップをおこなうと同時に、ゲノム解析に対する知見を深める。

内容 開発された実地疫学・分子疫学統合ツールを使用し評価を行う。また、NGS についての知見を深め、CUI 環境で解析を行える体制を整備する。

結果

ア 実地疫学・分子疫学統合ツールの利用と改善

新型コロナウイルス感染症について、陽性患者の検体から NGS によって得られた新型コロナウイルスのゲノムデータと、陽性患者の疫学情報を、研究代表者の所属機関である国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センターが開発した、Pomegraph にインポートし、解析を実施した。その結果、疫学情報から予想される感染の拡大経路と、ウイルスの変異の蓄積に関連性がみられた。Pomegraph は疫学情報とゲノム解析の結果を統合して閲覧することができ、感染症対策に有用なツールであると考えられた。

イ ゲノム解析結果の感染症対策への利用

感染症が強く疑われるが、検査を実施しても原因が特定できなかった、原因不明症例について、迅速に解析を行い、診断に寄与するデータを提供することを目的として、メタゲノム解析を実施するための検査体制整備を行った。検査法については国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センターから提供を受けた。また、解析については Kraken Uniq、Krona をインストールし、自施設の解析環境に適合するよう調整を行い、解析可能な状態とした。また、CUI による解析に精通していない職員でも解析を行うことができる環境を整備するため、シェルスクリプトを利用し、数回のタイピングで解析できるような環境を整備した。

ウ 地域拠点としての活動

NGS を利用した SNPs 解析に精通していない者でも簡易に操作可能な SNPs 解析法として、Galaxy (<https://usegalaxy.org>)中のワークフロー機能を利用した解析法を確立した。所内で整備した SNPs 解析法との比較の結果、レファレンスゲノムの選定について注意が必要であるものの、同等の精度があることを確認した。また、開発したワークフローを中四国地方の衛生研究所において周知し、希望した施設に操作方法とともに配布した。

(2) 環境研究総合推進費「建築物の解体現場等において現場判定を可能とする大気飛散アスベスト迅速検出技術の開発」

(研究期間：令和4～5年度)

目的 大気中に飛散するアスベストの迅速検出技術はアスベストモニタリングマニュアル等に示されているが、いずれの方法も多額の装置導入費用が必要であり、さらにはアスベストを同定できる専門性が必要である。本研究では、我々が見出した特許技術(発色剤を用いた建材中のアスベスト迅速検出技術)を活用し、解体現場及び一般環境において、既存の技術に比べ、装置を必要としない容易かつ迅速(10分以内)に大気中のアスベスト繊維濃度(漏えいの目安とする石綿繊維濃度：1f/L)を判定できる大気飛散アスベスト検出技術の開発を目標とする。

内容 本研究では、解体現場等において飛散した粉じん等を捕集したフィルター上のアスベストを発色させることにより、大気中に飛散したアスベスト迅速検出技術を確立する。

結果 特許技術を活用した大気飛散アスベスト検出技術の基礎技術を確立した。