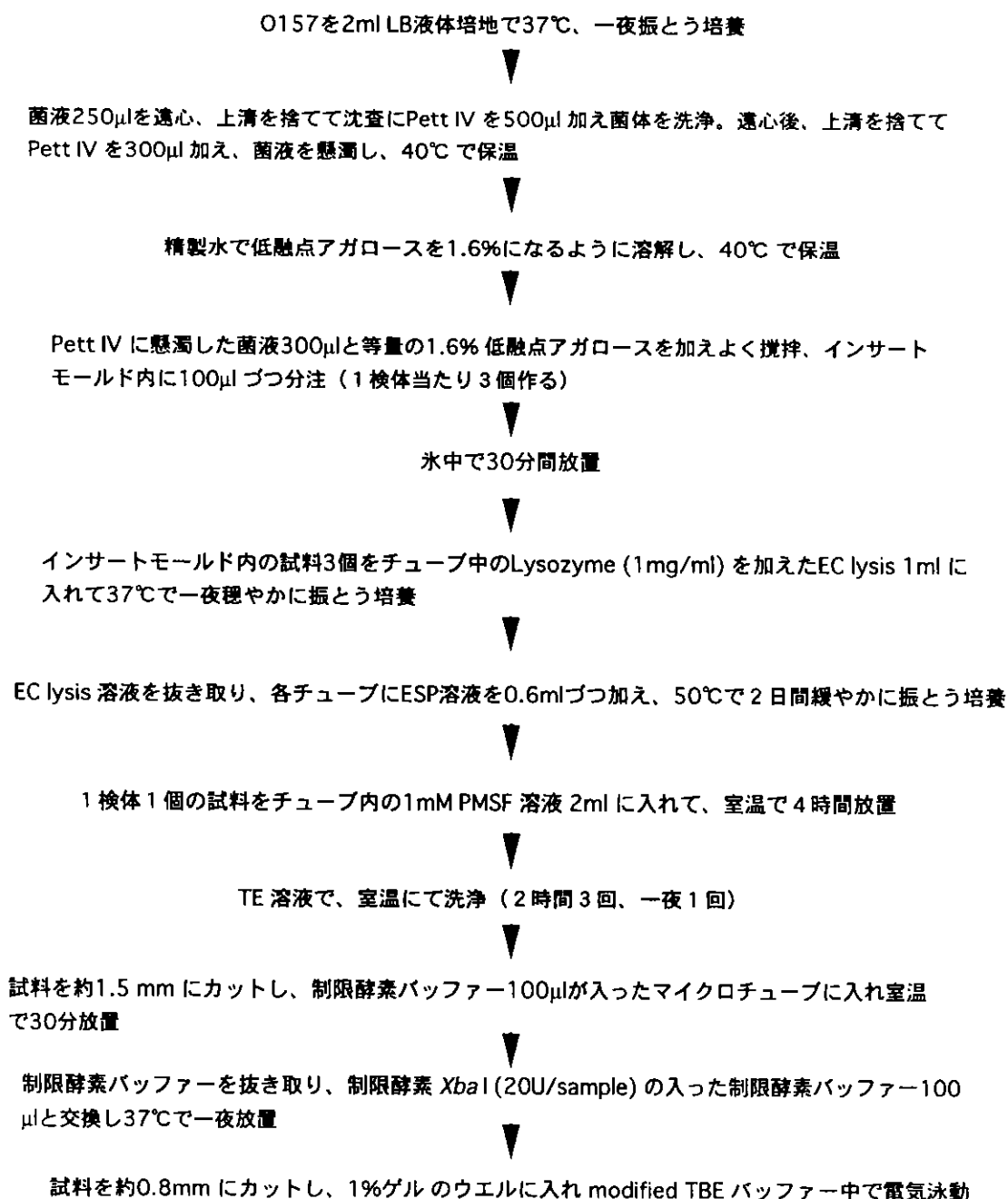


別紙2 愛知衛研の試料DNAの調製



使用試薬

Pett IV溶液: 10mM Tris-HCl (pH7.6), 1M NaCl

EC Lysis: 6mM Tris-HCl (pH7.6), 1M NaCl, 100mM EDTA(pH7.5),
0.5% Brij 58, 0.2% Deoxycholate, 0.5% N-Lauroyl Sarcosine

ESP溶液: 0.5M EDTA(pH9.0-9.5), 1% N-Lauroyl Sarcosine, Proteinase K (1mg/ml)

1mMPMSF 溶液: 1mM Phenyl Methyl Sulfonyl Fluoride in TE 溶液

modified TBEバッファー: 100mM Tris Base, 100mM ホウ酸、0.2mMEDTA

別紙 3 大阪公衛研の試料DNAの調製

寒天平板上のO157を200 μ lの精製水に懸濁させる。(MaF1 程度)



精製水で低融点アガロースを1%になるように溶解し、40 $^{\circ}$ Cで保温



菌液200 μ lと等量の1% 低融点アガロースを加えよく攪拌、インサートモールド内に70 μ l
づつ分注 (1 検体当たり4個作る)



氷中で1時間放置



インサートモールド内の試料4個をチューブ中のLysozyme 溶液1mlに入れて37 $^{\circ}$ Cで4時間穏やかに振とう培養



Lysozyme 溶液を抜き取り、各チューブにProteinase K 溶液を1mlづつ加え、50 $^{\circ}$ Cで1日間緩やかに振とう培養



1 検体 1 個の試料ゲルを半分にカットしてチューブ内の4mM Pefabloc SC を含むTE溶液 50
0 μ lに入れて50 $^{\circ}$ Cで30分2回振とうして放置



溶液をTE 溶液1mlにかえて、氷中にて30分振とうして放置



試料を制限酵素バッファー200 μ lが入ったマイクロチューブに入れ氷中で振とうしながら30分
放置



制限酵素バッファーを抜き取り、制限酵素 *Xba*I (30U/sample) の入った制限酵素バッファー10
0 μ と交換し37 $^{\circ}$ Cで振とうしながら一夜放置



試料を1%ゲルのウエルに入れ 0.5 \times TBE バッファー中で電気泳動

別紙 4 福岡保環研の試料DNAの調製

O157をトリプトソイブイオン培地で37℃、5時間振とう培養 (MaF1 程度)



菌液を遠心、上清を捨てて沈査にPett IV を 加え菌体を 2 回洗浄。遠心後、上清を捨ててPett IV を200μl 加え、菌液を懸濁する



精製水でクロモゾーマルアガーを1%になるように溶解し、70℃ で保温



菌液200μlと等量の1% クロモゾーマルアガーを加えよく攪拌、インサートモールド内に70-80μl ずつ分注 (1 検体当たり2個作る)



氷中で1時間放置



インサートモールド内の試料2個をチューブ中のLysis buffer 1ml に入れて50℃で一夜穏やかに振とう培養



1 検体 1 個の試料をチューブ内の1mM PMSF 溶液 1ml に入れて、室温で4時間放置



TE 溶液で、室温にて洗浄 (4時間4回)



試料ゲル1/4をマイクロチューブ内の制限酵素 *Xba* I (10U/sample) の入った制限酵素バッファ-100μlに入れ37℃で一夜放置



試料を1%ゲルのウエルに入れ 0.5 ×TBE バッファー中で電気泳動

使用試薬

Lysis Buffer: 5mM Tris-HCl (pH8.0), 50mM EDTA(pH8.0), 1% N-Lauroyl Sarcosine, Proteinase K (1mg/ml)

图1

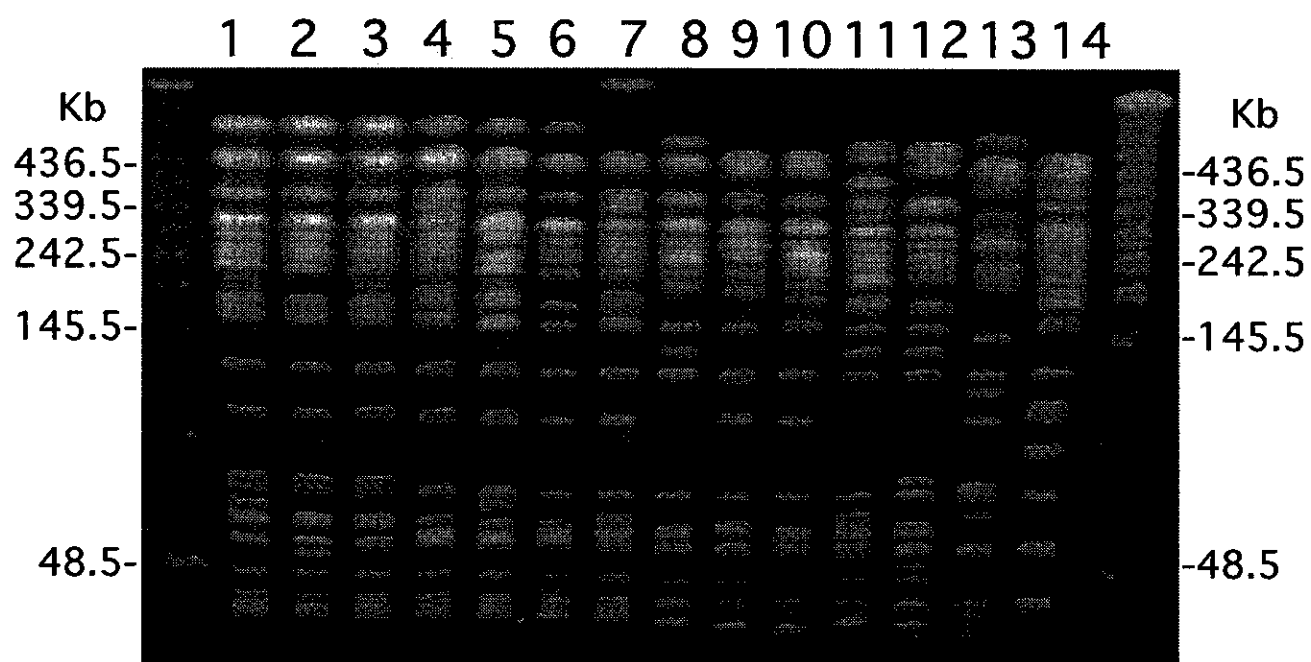


図2

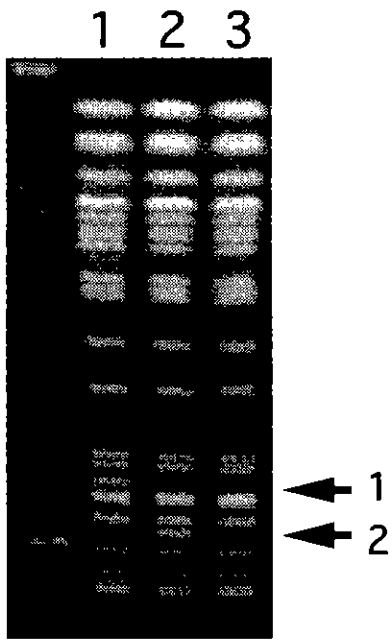


図3

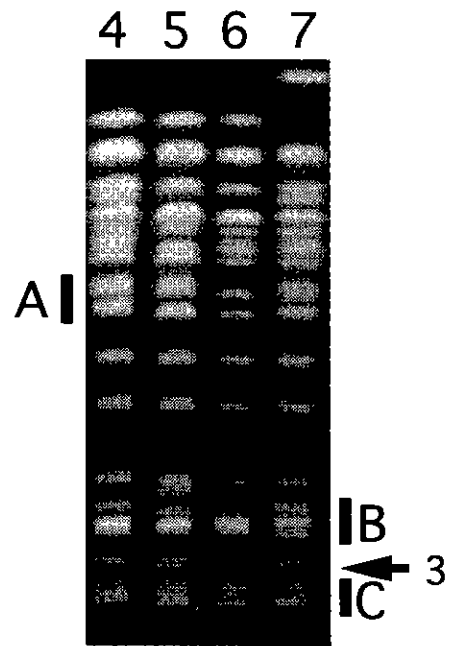


図4

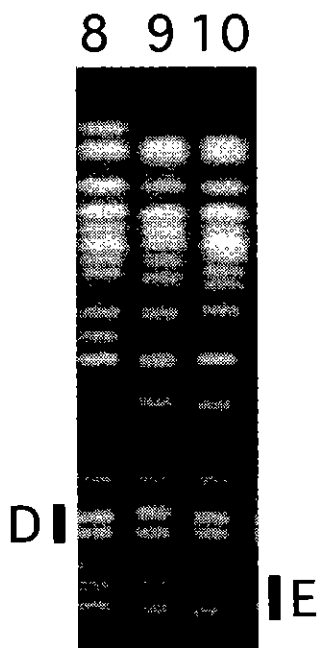


図5

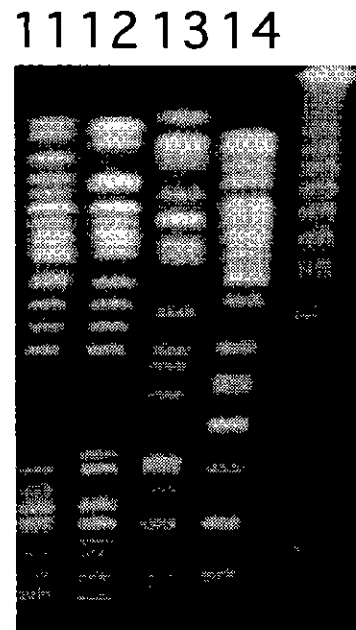


図6

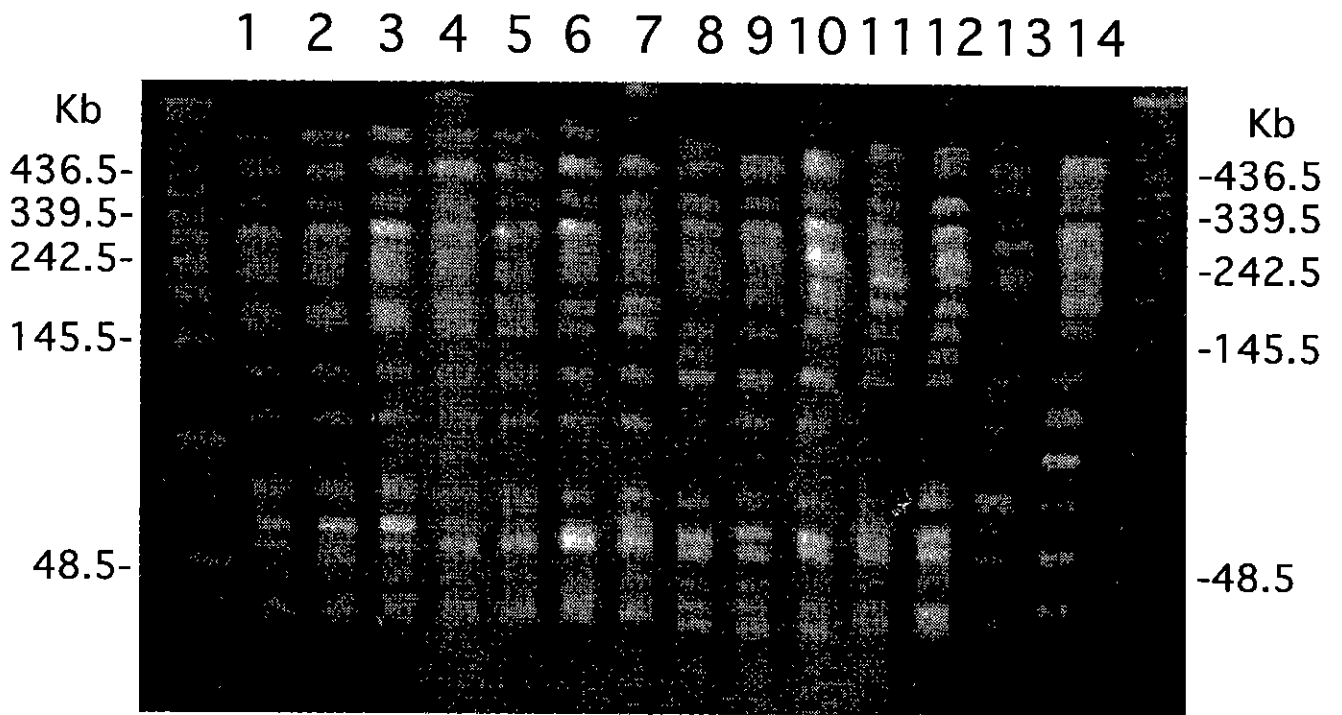


図7

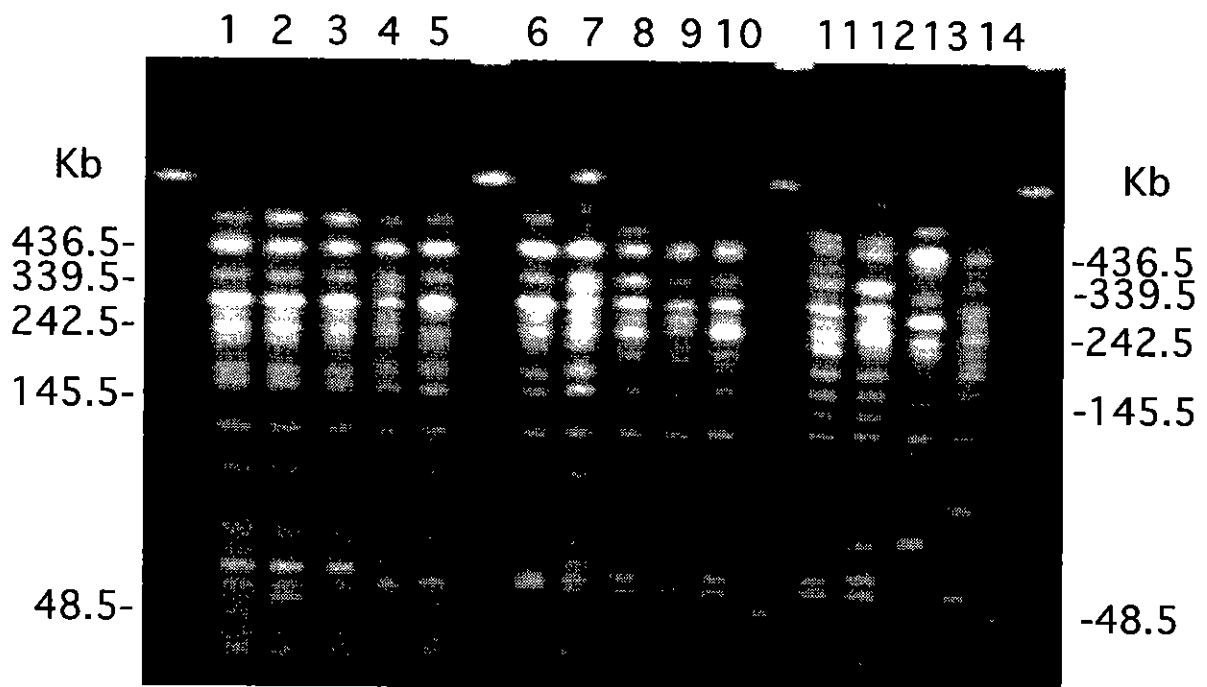


図8

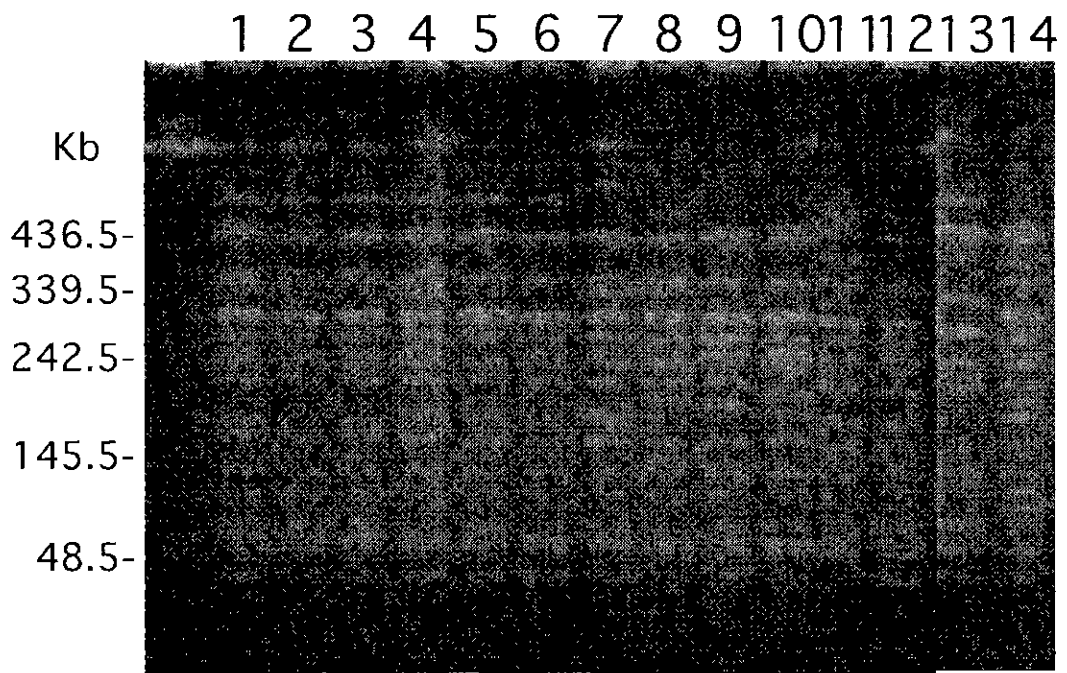
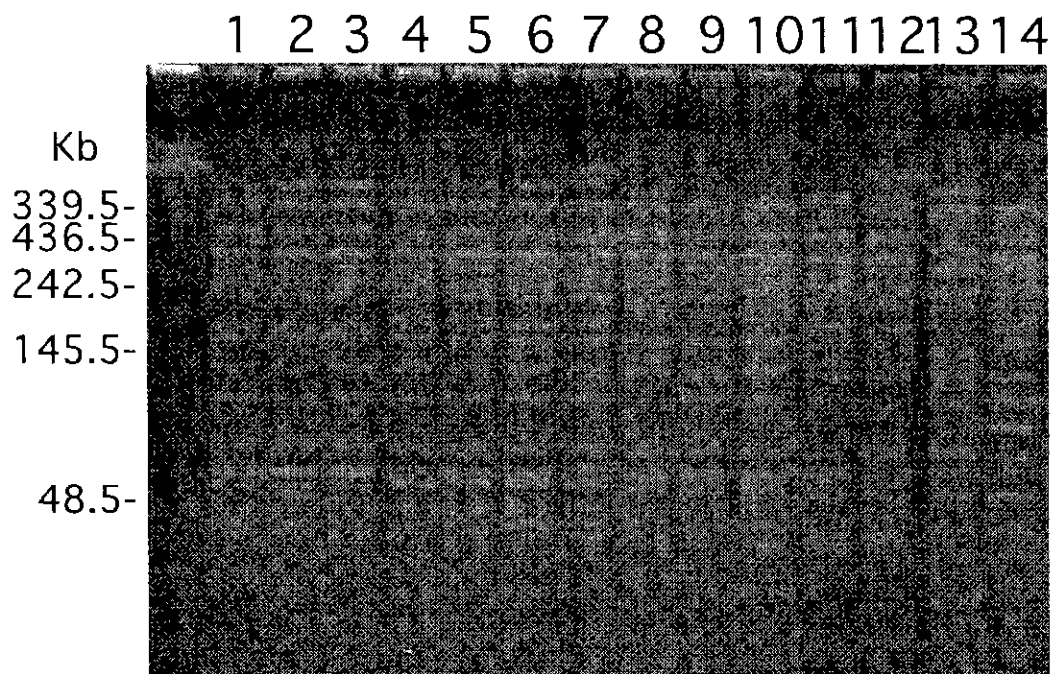


図9



試験検査（理化学検査）における分担・連携方策；精度管理・レファレンス

分担研究者 鈴木 重任 東京都立衛生研究所長

研究要旨 地方衛生研究所を対象とし、国立研究機関との試験検査における分担と連携に関する現状と問題点を把握、今後の在り方について検討するためアンケートによる調査を実施した。今回のアンケートの特徴は、各部門（食品衛生部門、環境衛生部門、薬事衛生部門）の担当者に回答を依頼し、部門間での考えを明らかにすることと、現在実施中の分担・連携事業の状況把握を目的にした。その結果、公定試験法の在り方については、各部門ともほとんどの地研で不備を指摘する回答が寄せられ、公定法の在り方そのものが問われた。バリデーションについての問いかけでは各部門間でのとらえ方や実施具合に大きな差が認められた。また、国立研究機関との連携については各部門とも国に対して期待する意見が多かった。一方、現在実施中の「後発医薬品対策」および「室内空気実態調査」について調査を行ったところ種々の要望がなされた。

Key words：地方衛生研究所，国立研究機関，機能分担，機能連携，試験検査

A. 研究目的

地方分権が叫ばれる中、地方衛生研究所に課せられる使命は大きく、行政要望や住民要望に的確に対応していかなければならない。このような状況下において、試験検査に占める比重は今後益々増大することが考えられる。

各地方衛生研究所における行政試験の取組においても、試験項目あるいはその内容は時代の要請とともに変遷している。現在では消費者のニーズに応えるべく食品衛生に係わる分野が各地方衛生研究所とも業務量あるいは組織面でも強化が図られている。しかし、環境衛生分野および薬事衛生分野においても様々な問題を抱え、早急に解決しなければならないものもあることからその実態を把握し協力体制を組む必要がある。

今回、アンケート調査により実情を把握しながら地方衛生研究所と国立試験研究機関との理化学試験検査における機能分担・機能連携の在り方について検討する。

B. 研究方法

地方衛生研究所全国協議会会員の73地研およ

び県薬事研究所1カ所に調査票を配布した。調査内容は、地方衛生研究所における食品衛生、環境衛生、薬事衛生の三部門での試験検査に係わる取組実体を個々把握することで、三部門それぞれが現在抱える問題点を調査し、問題解決に向けた方策等を検討するとともに、国立研究機関との機能分担あるいは連携について言及する。

アンケートによる調査項目は下記のとおり、①公定試験法の在り方、②バリデーションについて、③国立研究機関との連携と大きく三つに分け調査を行った（表1）。

1) 公定試験法の在り方（GLPとの関わりの中で）

各部門とも公定法を有しているが、その利用状況や不備な点等について調査を行った。例えば、食品部門では、検査実施標準作業書について、食品衛生法に沿ったいわゆる公定法は数種しか提示されておらず、他に厚生省監修「食品衛生検査指針」が在るが、多くの項目については「衛生試験法」あるいは「独自に開発した試験法」を用いているのが現状である。また、公定法が在る項目で

表1 調査項目の概要

	食品衛生	環境衛生	薬事衛生
公定法	厚生省告示法	厚生省告示法	日本薬局方
(準)	衛生試験法 衛生検査指針	上水試験法 JIS	
精度管理 過去	有	有	無
精度管理 現在	外部精度管理	無	無
バリデーションの方法論	無	無	無 (ICH)
国との連携	モニタリング (厚生省)	室内環境調査 モニタリング (環境庁)	ゾロの同等性

ICH: International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use

も数種類の試験法を併記しているのは、公定法が前時代的であり、現在の科学水準に見合った方法ではなく精度が悪く、バリデーションが十分に取れないためである。公定法の整備は国研・地研を問わず急務な課題となっている。

2) バリデーションについて

GLP関連で用いる試験法はバリデーションの取れたものを採用しているが、必ずしもすべての試験法でバリデーションの取れた良好な方法を採用しているわけではない。これは、バリデーション自体に明確な基準がないために他ならない。

また、薬事関連では医薬品の製造管理および品質管理規則（平成6年1月27日厚生省令第3号）、医療用具の製造管理および品質管理規則（平成7年6月26日厚生省令第40号）により、平成8年度からバリデーションが医薬品および医療用具製造所の許可要件となり、行政は製造業に対し、品質管理基準書の作成、試験検査記録の保管管理を義務づけることになった。これに伴い、バリデーション支援事業などが地方衛生研究所の業務に加わった。

しかし、バリデーションの方法論についての規定はなく、個々にその判断が委ねられているのが現状である。バリデーションの統一的な指針の提示について調査を行った。

3) 国立試験研究機関との連携

試験検査あるいは調査研究について国立試験研究機関と実施しているか否かについて問うとともに、研修・講習あるいはリファレンスセンター機能など国立試験研究機関に望む事項について調査を行った。また、現在実施中の国立試験研究機関

との連携業務のうち、環境衛生部門（30機関）における室内環境化学物質実態調査および薬事衛生部門（10機関）の後発医薬品（いわゆるゾロ医薬品）の溶出試験による同等性試験について連携の在り方を調査する。

C. 研究結果

アンケート用紙を73地研と富山県薬事研究所の計74カ所に配布した。そのうち72の機関（97.3%）より回答が寄せられた。対象とした73地研のうち、食品衛生部門に係わる業務はすべての機関で実施され、構成員数は1機関あたり2-80名の範囲で、平均8名であった。環境衛生部門では、58機関で業務を行っており、構成員数は2-12名の範囲で平均6名であった。残りの13機関の内訳は、業務を行っていないと回答した4機関および他の部署と兼務している9機関であった。また、薬事衛生部門では業務を行っている地研は51機関であり、残りの21機関には薬事部門が存在していなかった。また配置員数も1-27名で平均2名弱と機関間で大きな差があり、さらに他の部署と兼務している機関が多くみられた。

1. 公定試験法の在り方

公定法の利用頻度を図1に示した。各部門とも高率ではないが17-40%の範囲で使用されていることが分かった。食品衛生部門では、公定試験法の利用頻度は平均で約37%、準公定法である食品衛生検査指針26%、衛生試験法14%、また各機関独自の試験法は17%といった比率であった。環境衛生部門では、厚生省告示法17%あるいは環境庁告示法19%の利用率であった。

これに比して上水試験法では24%、JIS試験法22%であり、これらの試験法が公定法に比べよく利用されていた。薬事衛生部門では、公定法である日本薬局方が40%の利用率、また、医薬品製造承認書41%とこれら二つの試験法で80%以上を占めていた。

これらの公定法についての満足度をみると図2に示したとおり、食品部門では6%、環境部門で38%、薬事部門では28%の満足度であり、いずれも極端に低率であることが分かった。特に食品衛生関係の公定法に対して不満と回答したものが87%と高率であった。また、不満であると回答した理由については、図3に示したとおり現在保有の機器では対応できないとしたものが多く、ついで回収率が悪い、時間がかかる、操作が煩雑などの順であった。環境部門および薬事部門においても公定法への不満の理由としては食品部門と同様、記述が難解、実用に適さない、時間がかかるなどが上位を占めた。さらに、公定法に記載されている試験法は現在の科学水準に見合っているかとの問いに対しては、見合っていると回答を寄せた地研は食品部門で3機関、環境部門で23機関、薬事部門では11機関であり、各部門とも公定法が現在の科学水準に見合っていないと考えている地研が多いことが判明した。

また、諸外国の試験法の利用状況に関する質問では、図4に示したとおり時々使用、あるいは使用したことがあると何らかの形で利用している機関数は、食品部門では75%、環境部門では50%の機関と高い頻度で利用されていた。一方、薬事部門では28%の機関で利用しているだけで、諸外国の試験法の利用というより国内の試験法で十分に対応できていることが分かった。

2. バリデーションについて

各部門におけるバリデーションの実施率をみると、図5に示したとおり実施したことがあると回答を寄せたのは、食品部門では96%、環境部門で40%、薬事部門で31%と部門間により明らかな差が生じた。この原因として、各部門におけるバリデーションに対する取り組み内容や手法、考え方の違いなどが推察される。また、バリデーションを行うにあたりその標準作業書が有るかとの問いに対しては、図6に示したように食品部門

で13%、環境部門で7%、薬事衛生部門では12%と各部門において今だにバリデーション実施の標準作業書が整っていないことが明らかとなった。現在、バリデーションに関しての統一的な方法論が明示されていないことから、各機関が独自にその手法を作成し実施しているのが現状である。

さらに、統一的なバリデーションの必要性から、統一的なバリデートの手法すなわち標準作業書を作るには如何なる機関で作成するのがよいかとの問いを行った。その結果、図7のように国立試験研究機関が作成すると回答した機関は食品部門で25%、薬事部門で31%であった。一方、国立試験研究機関と地方衛生研究所の協働で作るのがよいとする意見は食品部門で73%、薬事部門で63%といずれの部門とも強く国との連携のもとに統一的なバリデーションの作成を望んでいることが判明した。

一方、薬事衛生部門では、平成8年4月の医薬品の製造管理および品質管理規則（GMP規則）の改正で、製造工程等を科学的に検証するバリデーションが導入されたが、これに伴う業者への技術指導等の対応については、70%の機関がまだ対応していないという結果であった。

3. 国立試験研究機関との連携

国立試験研究機関と連携して試験検査あるいは調査研究を行ったことがあるかとの問いに対して、連携の経験有りと回答した機関は、図8に示したとおり食品部門では48%、環境部門では31%、薬事部門で12%と各部門間での差が明らかとなった。また、今後の連携について希望の有無を質問したところ、図9のように連携を望むとの回答が食品衛生部門で77%、環境衛生部門で58%、薬事衛生部門で73%との高率で寄せられた。

国立試験研究機関による研修および講習について種々の質問を行ったところ、過去に研修あるいは講習会に参加した経験があると回答した機関は、図10に示したとおり食品衛生部門で82%、環境衛生部門で50%、薬事衛生部門で92%と環境衛生部門を除き、ほとんどの機関で参加していることが分かった。しかし、その満足度について質問すると図11のように不満であると回答した機関が食品部門で60%、薬事部門で47%と多

くを占めた。不満足であったとする理由についてみると、図12に示したとおり実務研修が伴っていない、総論的な説明が多く試験法に関する講義が少ない、講義内容が多岐で広範囲といった内容の意見が多くみられた。また、研修の形態としてはどのようなものを望むかとの問いに対しては、図13に示したとおり講義と実習の双方合体の形態が各部門ともに要望が多く、ついで事例研究があげられている。

また、国立試験研究機関のリファレンスセンターとしての機能について問いかけに対し、図14に示したとおり情報の提供、標準試験法の作成および提示、標準品の提供などを望む声が各部門とも多かった。その他、食品衛生部門および薬事衛生部門ではネットワーク化を、環境衛生部門では高度な技術的支援を望む声もあった。

4. 現在実施中の連携業務

1) 「室内空気実態調査」

暴露評価研究に参加している30地研のうち、28機関より回答が寄せられた(回答率:93%)。

国立試験研究機関との共同研究に今後とも参加するかとの問いに対して、図15に示したように「積極的に参加する」と回答した機関は29%、「積極的ではないが参加する」と回答した機関が32%と、引き続き参加の意志を有していた機関は61%であった。しかし、「参加しない」との回答は皆無であったが、「わからない」と態度を決めかねている地研が39%にも上ったことは注目すべきことである。また、共同研究での重要な要件はどの問いかけには、図16に示したように「予算」と回答したものが多く、ついで「データの取り扱い」、「プランニング」の順であった。それぞれの要件についてさらにみると、予算が十分でなかった場合に参加しないとした地研が60%を占め、データの公表について多くの地研が切望し、さらに、研究計画への参加については、計画段階から参加を希望している機関が64%と多くあり、企画された計画に参加するの36%を大幅に上回った。また、国立試験研究機関との共同研究で、地研内で評価されるかとの問いに対して、「評価される」および「やや評価される」と回答した機関が93%を占めた(図17)。

2) 後発医薬品対策

医療用後発医薬品対策として、溶出試験法の策定ならびに溶出試験による再評価の実施に協力している10都府県の衛生研究所および薬事研究所にアンケートを依頼したところ、9機関より回答が寄せられた(90%)。

共通仕様の溶出試験器についての稼働状況を質問したところ、図18のように78%の機関より「順調に稼働している」回答が寄せられた。2機関では稼働はしているが十分ではないとの回答であった。また、「後発医薬品対策事業」の進捗状況について調査したところ、7機関が順調に進んでいる、1機関がやや遅れている、残りの1機関が大分遅れているとの回答であり、遅れていると回答した2機関は先述の稼働はしているが十分ではない機関と同一機関であった(図19)。

また、本対策事業を実施していく上での不満あるいは不安について問いかけたところ、図20に示したように日常業務に割く時間を削らざるを得ないとの回答が多く、ついで業務計画の全体像が見えない、機器の用途が限定されその占有面積も大きい、データの帰属先が明らかにされていないなどの回答があった。

D. 考察

国立試験研究機関と地方衛生研究所における試験検査に係わる機能分担・機能連携に関連してアンケート方式により、公定試験法の在り方、GLPおよびGMPに係わるバリデーションへの取り組み、国立試験研究機関との連携の在り方および研修や講習あるいはリファレンスセンター等について調査を行った。

公定試験法の在り方についての調査では、大方の予想に反して食品部門で37%と大きな頻度で利用されていた。以前の公定法では、ある種の食品添加物、アフラトキシン、抗菌性物質と僅かな分析法しかなく、限られた機関でのみ公定法が使用されていた。しかし、近年の輸入農産物に係わる農業の基準拡大に伴い、新たな農業分析の提示が国よりなされたため、公定法の利用頻度が高くなったものと推察される。利用頻度が高くなったにもかかわらず、その公定試験法への満足度調査では87%の地研で不満の意志表示を示している

ことは特記すべき事である。この現象は、他の環境部門や薬事部門とは際だって異なっている。公定法への不満の理由も、三部門にわたって意見が多く出された「記述が難解」や「分析に時間がかかりすぎる」の他に、食品部門では「現在の機器では対応できない」とする意見が最も多くを占めた。これは、本来、どこの機関でも試験法の在り方として簡易に精度よくかつ迅速に分析できる方法を検討模索しているにも係わらず、公定法に記載されている方法に対応する機器を有していない機関が多いという不可思議な結果が得られた。

バリデーションについては、その取り組みに各部門間で大きな違いが生じた。食品部門ではGLPが実施されたことにより分析法に対するバリデーションは96%の機関で行われていた。これに反して環境部門および薬事部門では40%以下の実施率であり、国際化が進む中、分析法に対するバリデートの必要性があらためて浮き彫りになった。一方、このバリデーションに係わる標準作業書の有無につき問いかけると、有ると回答した機関はいずれも10%前後であり、各部門ともいまだ整備されていない実態が明らかとなった。現在のところ各機関の独自の判断でバリデートの方法論を作成し、実施しているものと思われるが、多くの機関より統一的なバリデート法の提示を望む声が上がっている。そしてこのバリデート法については、国立試験研究機関と地方衛生研究所との協働により作成することが多くの地研から提起された。

国立試験研究機関との連携については、今後とも連携をとりながら業務を遂行していきたいと希望する地研が多かった。さらに、現在国立試験研究機関が行っている研修あるいは講習について質問すると、82%以上の機関が参加しているにもかかわらず、半数以上の機関がその内容に不満を抱いていることが明らかとなった。不満の内容は「実務研修が伴っていない」、「総論的説明が多い」などであり、実践に直ぐに役立つような研修や講習を望んでいることが分かった。

現在実施中の国立試験研究機関との連携業務のうち、環境部門の「室内空気実態調査」および薬事部門の「後発医薬品対策」について、連携状況、業務の進捗状況などについて調査を行い、仮に不備な点が在ればその点を明らかにし、今後の連携

業務に生かす目的で質問した。室内空気実態調査では、60%以上の地研が今後とも参加したいという意志表示がなされた。また、連携業務をうまく実施するための重要な要件との問いかけに対して、予算、データの取り扱い、プランニングなどの意見が多く、予算の裏付けとともに連携により作成したデータを何らかの形で公表したいとする意志が強くあらわれていた。また、プランニングの段階から参加できる協働の形態を望んでいる地研が多かった。後発医薬品対策では、おおむね順調に推移していることが判明した。この事業は始まったばかりであるが、不満な点として日常業務に割く時間と業務計画の全体像が見えないなどの意見が出され、室内空気実態調査と同様プランニングの段階からの参加・協働が望まれている。

E. 結論

全国73地研の食品衛生、環境衛生および薬事衛生の各部門の研究職員を対象に、国立試験研究機関との試験検査における分担および連携方策について調査し、次のような結論を得た。

- 1) 公定法の利用頻度は各部門とも高率ではないが17-40%の範囲で使われていた。しかし、試験法については多くの不満が明らかとなった。
- 2) バリデーションの実施率をみると部門間で大きな差が生じた。また、バリデーションを実施する上での方法論が未だ統一的なものが無く、各地研で苦勞していることが判明するとともに、早急に統一的なバリデーションの方法論を国立試験研究機関と地方衛生研究所との連携で作成したいとする意見が多くあった。
- 3) 国立試験研究機関との連携には、今後とも参加したいとする地研が半数以上あった。また、国立試験研究機関が実施している研修および講習には、多くの地研が参加しているものの、その内容に満足していないことが分かった。
- 4) 現在実施されている国立試験研究機関との連携業務については、概ね順調に推移しているが、計画段階すなわちプランニングの段階から連携をとり協働したいとする意見が多くみられ、今後ますます連携の重要性が明らかになるとともに、その連携手法をさらに確立する必要がある。

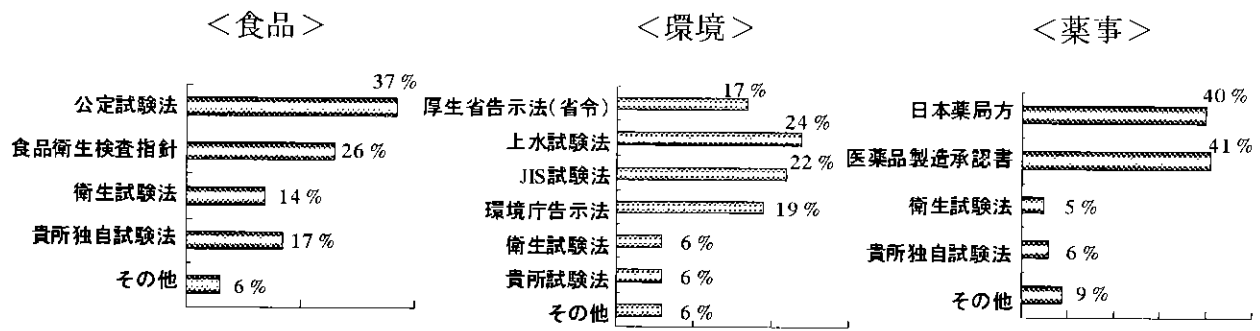


図-1. 公定法の利用頻度

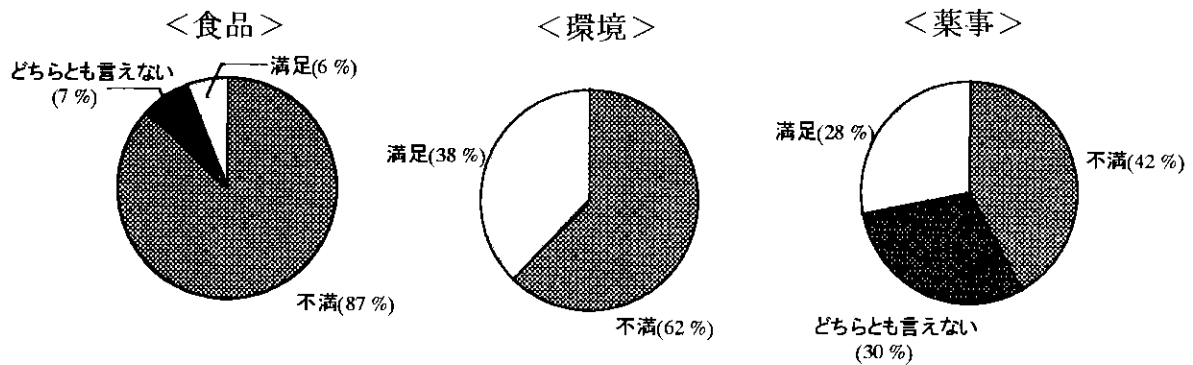


図-2. 公定法の満足度

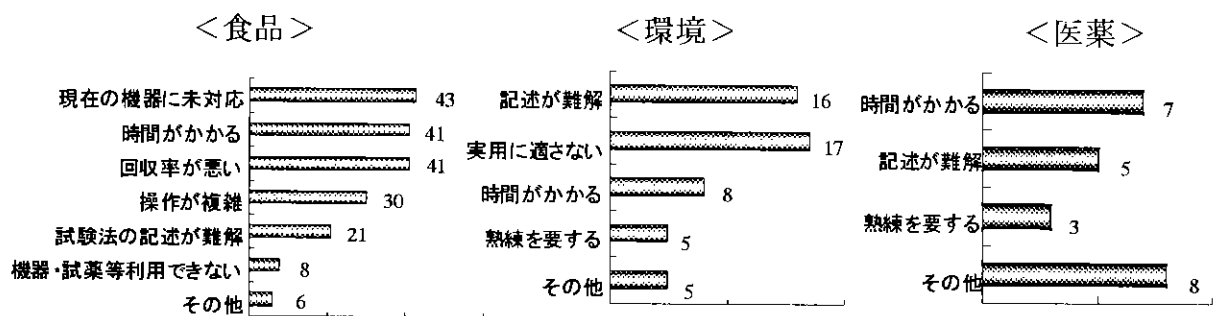


図-3. 公定法に対する不満理由

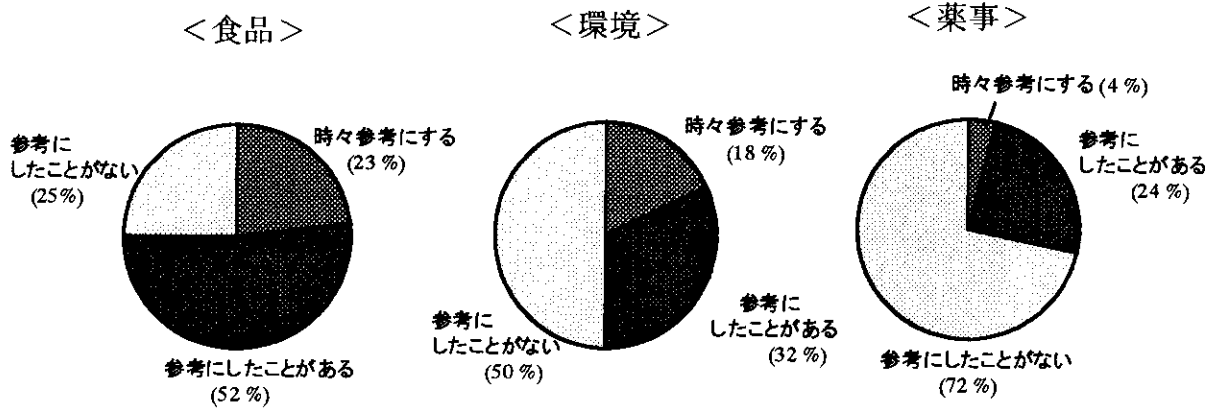


図-4. 諸外国試験法の使用状況

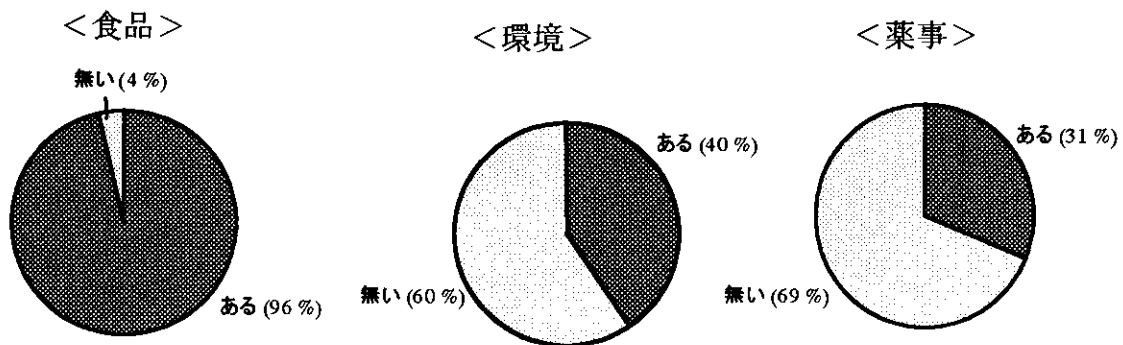


図-5. 分析法バリデーション実施の有無

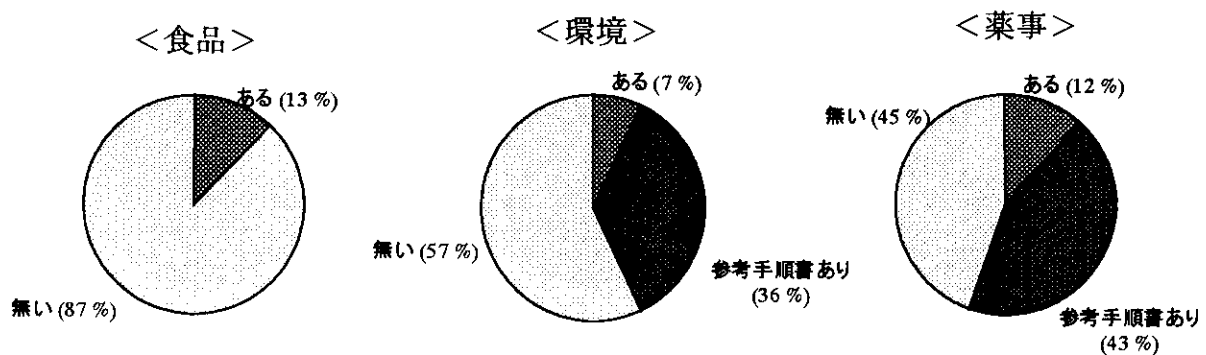


図-6. バリデーションにおける標準作業書の有無

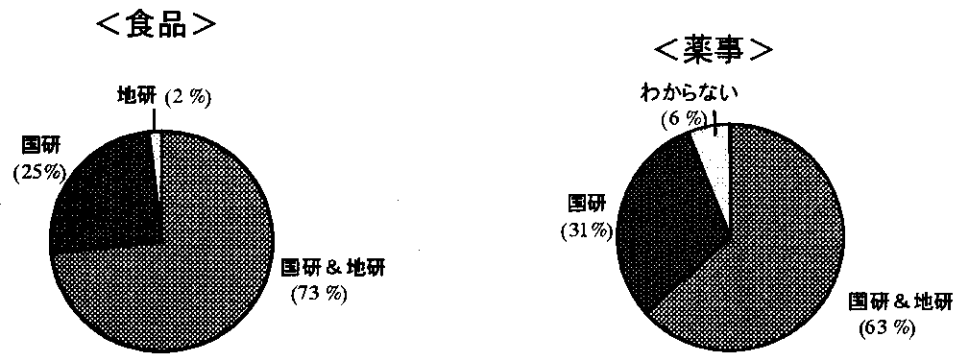


図-7. 統一のパリテーションの作成について

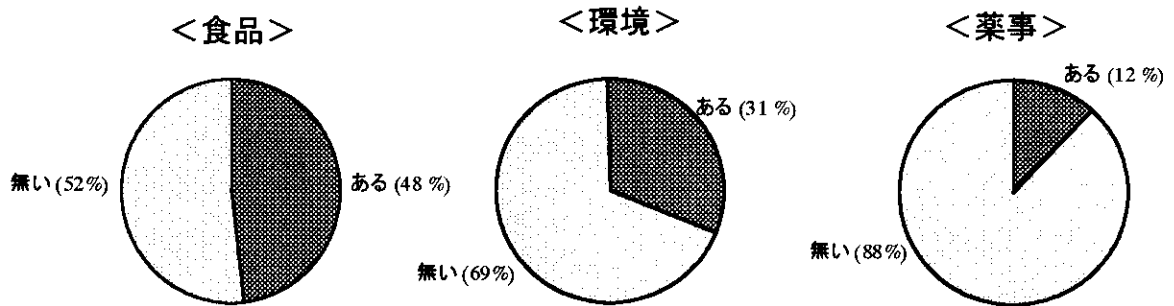


図-8. 過去における連携業務の有無

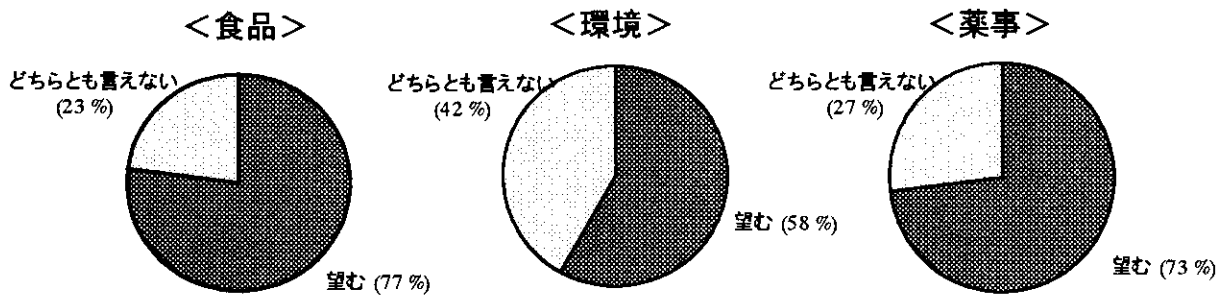


図-9. 連携業務に対する希望

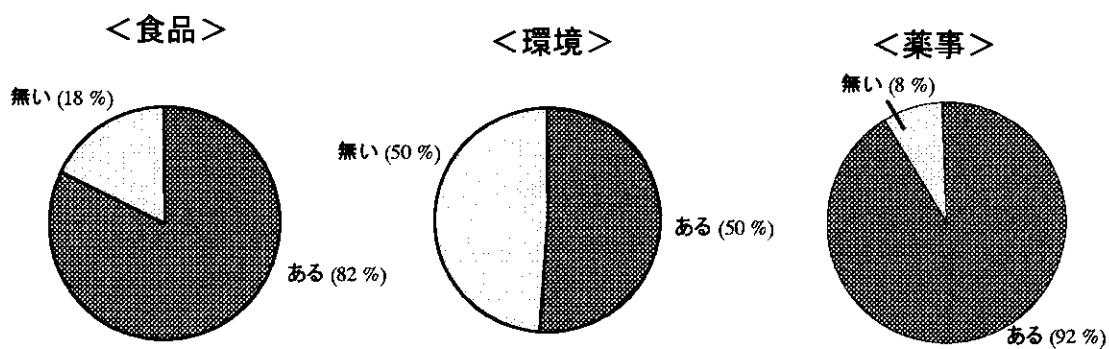


図-10. 研修・講習会への参加

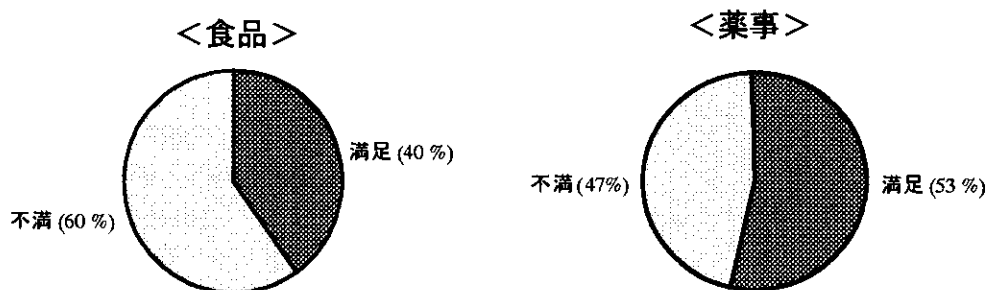


図-11. 研修・講習会の満足度

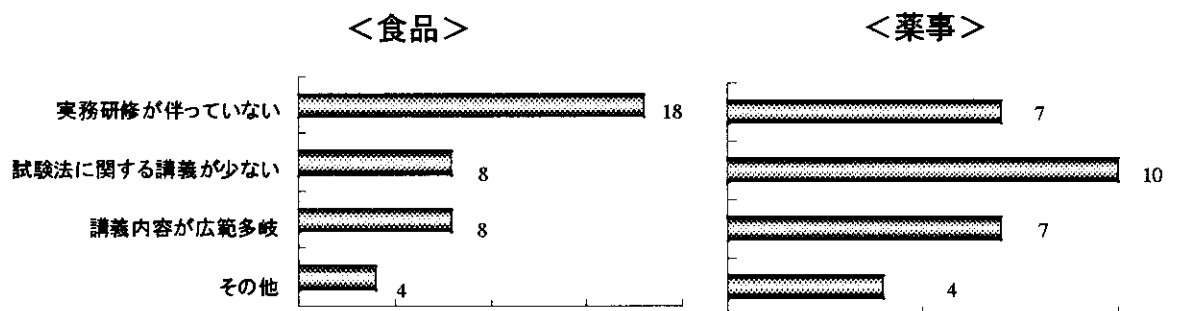


図-12. 研修・講習会に対する不満の理由

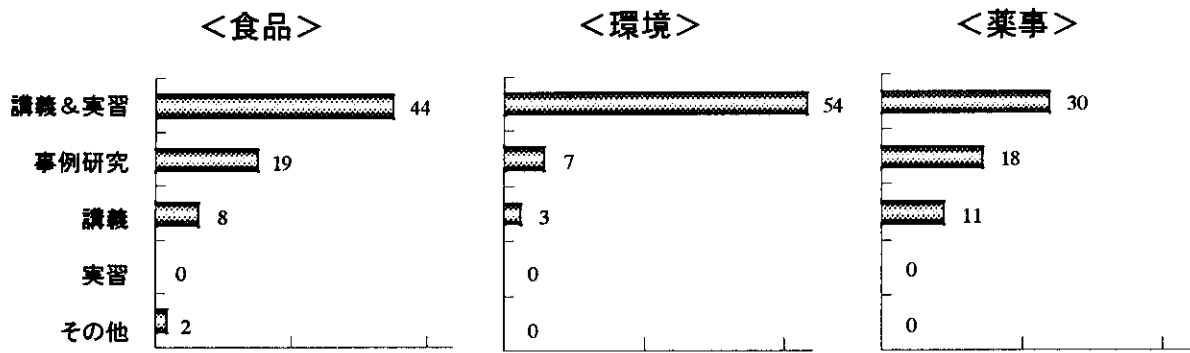


図-13. 希望する研修内容

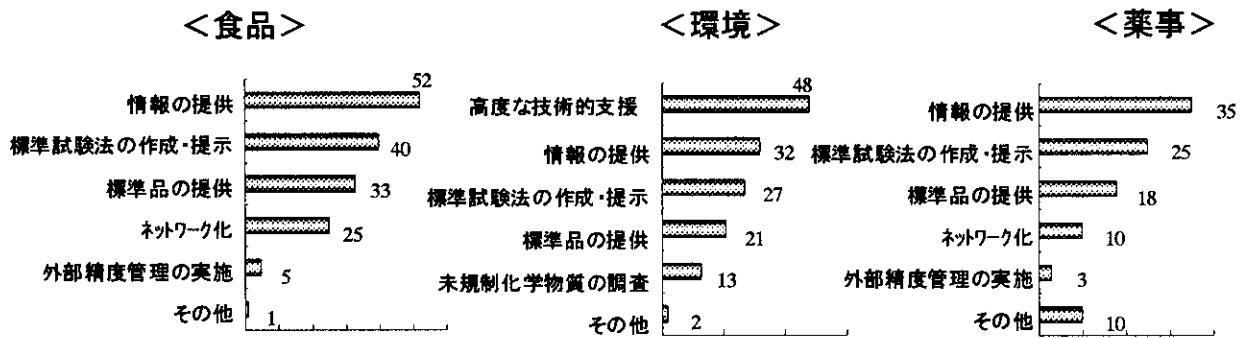


図-14. レファレンスセンターとして期待すること

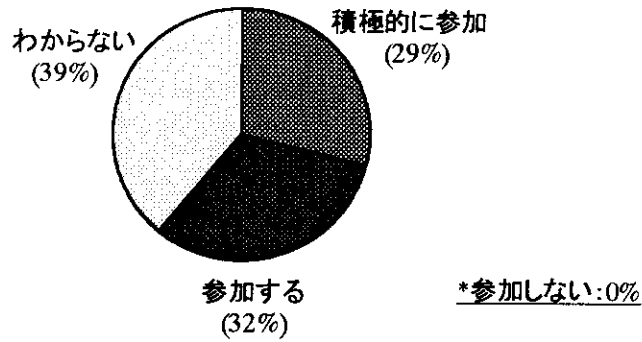


図-15. 国立研究機関との共同研究

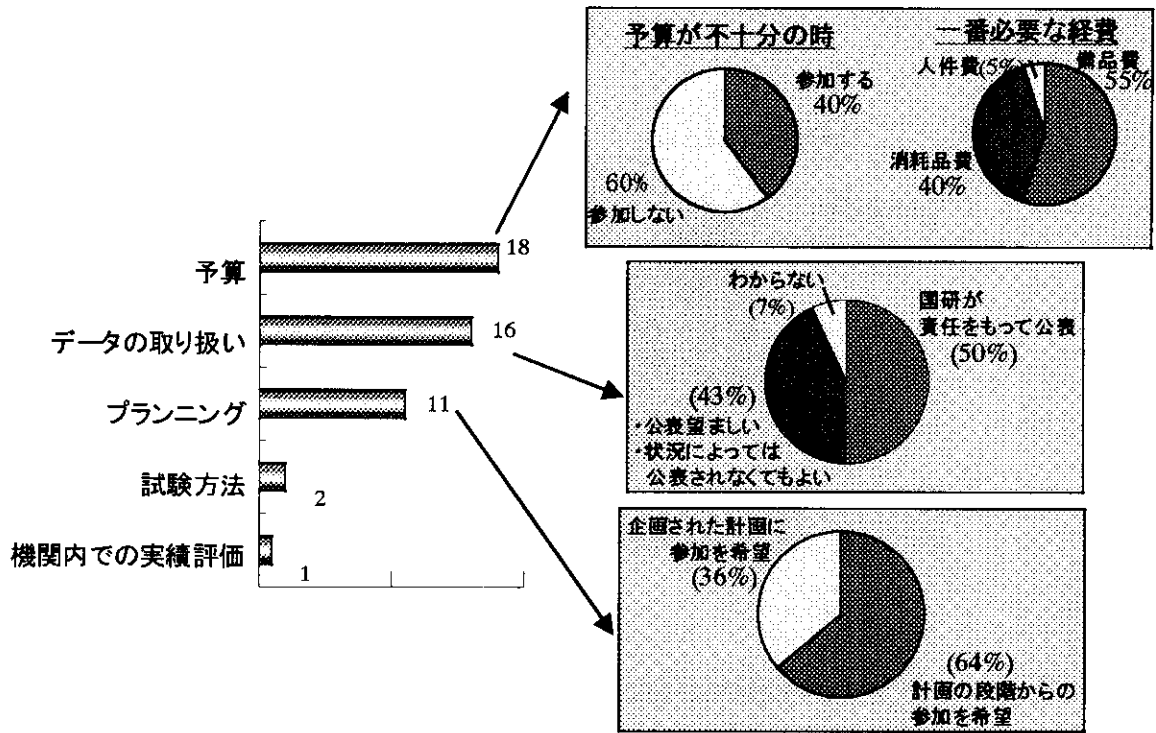


図-16. 国立研究機関との共同研究で重要と思われること

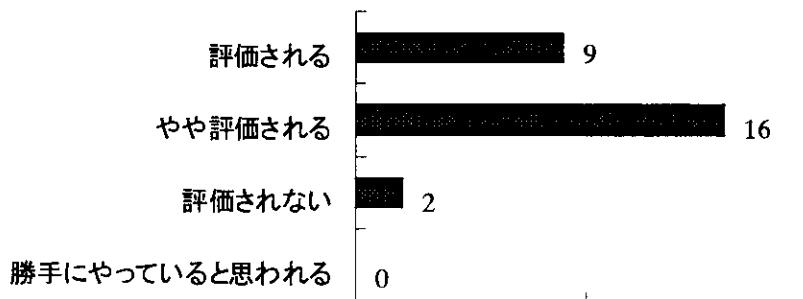


図-17. 国立研究機関との共同研究における貴機関内での実績評価について

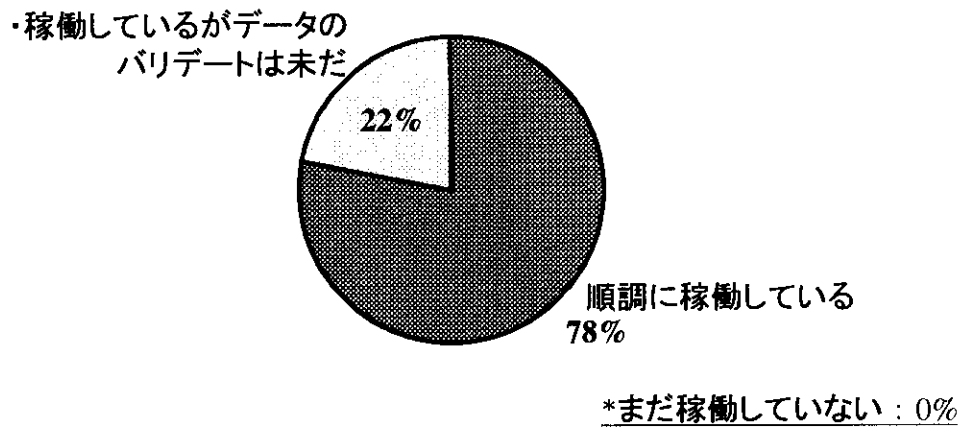


図-18. 溶出試験器の稼働状況

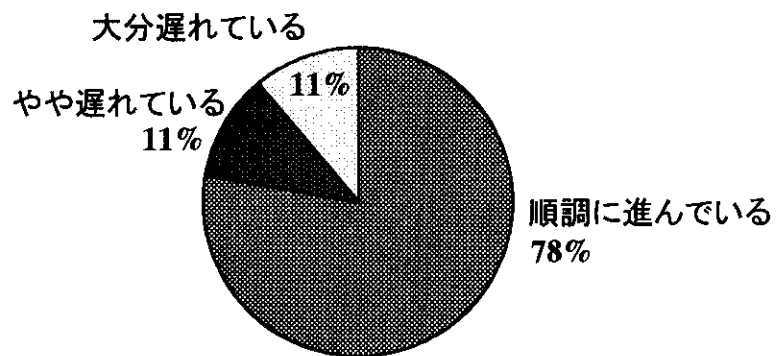


図-19. 後発医薬品対策業務の進捗状況

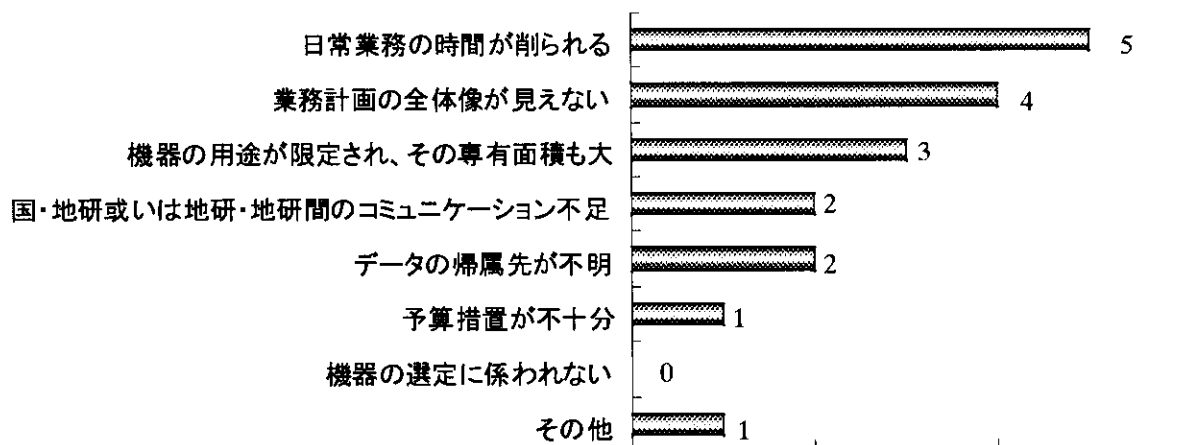


図-20. 後発医薬品対策業務の実施において、不満或いは不安に感じていること

<資料 1 >

貴所食品衛生（化学部門）担当者へのアンケート

回答者の機関名 ()
所属 1. 食品部門 2. その他 ()
a. 化学系 b. 微生物系
担当年数 (年)

貴所には、食品を専門に担当する部署はありますか？

1.ある (名) 2.ない 3.他部署と兼務している

食品衛生検査における公定試験法の在り方（GLPとの関わりの中で）、試験法のバリデーション、国立試験研究機関との連携等に関して問題点、改善方法やご感想を含めて、下記の事項につきましてお聞かせ下さい。

1. 公定試験法の在り方（GLPとの関わりの中で）について

1-1) 日常の食品衛生検査において、使用している試験法のおよその割合についてお聞かせ下さい。

1. 公定試験法（食品衛生六法記載） () %
2. 食品衛生検査指針（厚生省監修） () %
3. 衛生試験法（日本薬学会編） () %
4. 貴所独自試験法 () %
5. その他 () %

1-2) 公定試験法についてお聞きます。

1. 試験法として満足している
2. 試験法として不満である
不満の理由：a. 試験を行うのに時間がかかる
(複数回答可) b. 記載された機器、試薬等がなく、利用できない
c. 試験法の記載だけでは理解しがたい
d. 回収率等で問題がある
e. 操作法が複雑すぎる
f. 現在の分析機器等に対応していない
g. その他 ()

3. どちらともいえない

1-3) 食品衛生六法に記載されている試験法は、現在の科学水準に見合ったものと考えますか。

1. 見合っている
2. 見合っていない
3. どちらともいえない

1-4) AOAC等 外国の公定試験法あるいは公定試験法に準ずる試験法を参考にすることがありますか？

- 1.時々利用する 2.利用したことがある 3.利用したことがない