

初めに、*Salmonella* Enteritidis の 5 種類の株について、QIAamp DNA Stool Mini Kit で DNA 抽出を行い、Real-time PCR で標的遺伝子の検出を試みた。反応温度条件は、Power SYBR Green PCR Master Mix のマニュアルに従い行った。

次に、*Escherichia coli* O157、*Campylobacter jejuni*、*Staphylococcus aureus*、*Clostridium perfringens*、*Vibrio parahaemolyticus*、*Bacillus cereus*、*astA* positive *E. coli* については、それぞれ 1 株から抽出した DNA を、11 段階の 10 倍階段希釈を行い、*S. Enteritidis* と同様に反応試薬のマニュアルに従い Real-time PCR を行った。

C. 研究結果

初めに *S. Enteritidis* の 5 菌種の抽出 DNA を鋳型として Real-time PCR を実施したが、福島ら¹⁾の温度条件では標的遺伝子の増幅は見られなかった。そこで、アニーリング温度を 60°C から 55°C に変更すると増幅が見られたが、鋳型 DNA を含まない陰性コントロールにおいても、蛍光強度が上昇していた(図 1)。また、このときの融解曲線解析の結果では、 T_m 値は 77.2°C から 77.6°C であった(図 2)。さらに、陰性コントロールでは T_m 値が 69.7°C であり、*S. Enteritidis* の 5 菌種の T_m 値とは明らかに異なっていたことから、アニーリング温度を下げたことで現れた非特異な増幅産物であると考えられた。

次に、*S. Enteritidis* 以外の 7 菌種 (*E. coli* O157、*C. jejuni*、*V. parahaemolyticus*、*S. aureus*、*C. perfringens*、*B. cereus*、*astA* positive *E. coli*) について、Real-time PCR での標的 DNA の検出をおこなった。その結果、*E. coli* O157、*C. jejuni*、*S. aureus*、*C. perfringens*、*astA* positive *E. coli* では福島ら¹⁾の方

法で増幅が見られ(図 3、4、6、7、9)、融解曲線解析より T_m 値を得ることができた(図 10)が、福島ら¹⁾の T_m 値とは約 2–3°C 異なっていた(表 3)。一方、*V. parahaemolyticus* 及び *B. cereus* については、遺伝子の増幅は確認できなかった(図 5、8)。

E. 結論

今回、ABI PRISM 7000 で Power SYBR Green PCR Master Mix を用い、食中毒細菌を検出できるか否かについて検討したが、*S. Enteritidis*、*V. parahaemolyticus* 及び *B. cereus* においては、福島ら¹⁾の条件では標的遺伝子を増幅できなかった。*S. Enteritidis* においては、アニーリング温度を変更することで増幅されることが確認されたが、非特異的な増幅が陰性コントロールに出現した。しかし、福島ら¹⁾の報告では Light Cycler と SYBR Premix Ex Taq™ II (TaKaRa) の組み合わせで、全ての菌種において標準の温度条件で問題なく標的遺伝子が増幅されていることから、反応試薬とプライマーの組み合わせが良くなかったことも考えられる。このことから、次年度は SYBR Premix Ex Taq™ II を用い、再検討を行う予定である。

F. 研究発表

なし

G. 文献

- 1) 福島博、角森ヨシエ:リアルタイム PCR 法による食中毒細菌の迅速スクリーニングの検討、感染症誌 2005;79、644–655.

表1 今回使用したプライマー

菌種	標的遺伝子	プライマー
<i>Salmonella</i>	<i>invA</i>	StyinvA-JHO-2-left StyinvA-JHO-2-right
<i>Escherichia coli</i>	<i>eaeA</i>	eae-F2-Nielsen eae-R-Nielsen
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>gyrA</i>	JL238 JL239
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>tdh</i>	Tdh199-F Tdh199-R
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>FemB</i>	FemB-fw FemB-rv
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>rrsA</i>	Cper165F Cper269R
<i>Bacillus cereus</i>	<i>crsI</i>	ces-TM-F ces-TM-R
<i>astA</i> positive <i>Escherichia coli</i>	<i>astA</i>	EAST-IS EAST-IAS

表2 使用した菌株とDNA抽出法

sample No.	菌株名称	菌株由来	DNA抽出方法
1	<i>Salmonella</i> Enteritidis	IFO8313	QIAamp DNA stool mini kit
2	"	ATCC13076	"
3	"	当所分離株	"
4	"	"	"
5	"	"	"
6	<i>Escherichia coli</i> O157	ATCC 43894	ボイル法
7	<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 43440	アルコール抽出
8	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	IFO 12711	ボイル法
9	<i>Staphylococcus aureus</i>	IFO 12732	"
10	<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC 3624	"
11	<i>Bacillus cereus</i>	IFO 3836	"
12	<i>astA</i> positive <i>Escherichia coli</i>	当所分離株	"

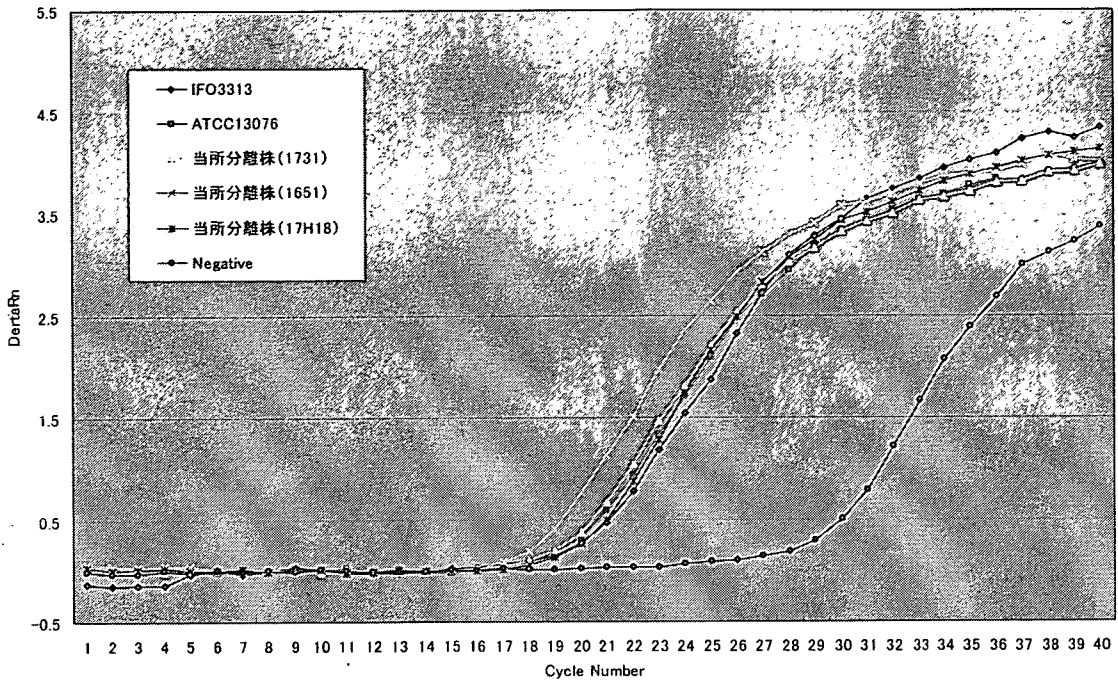


図 1: *Salmonella* Enteritidis の増幅曲線

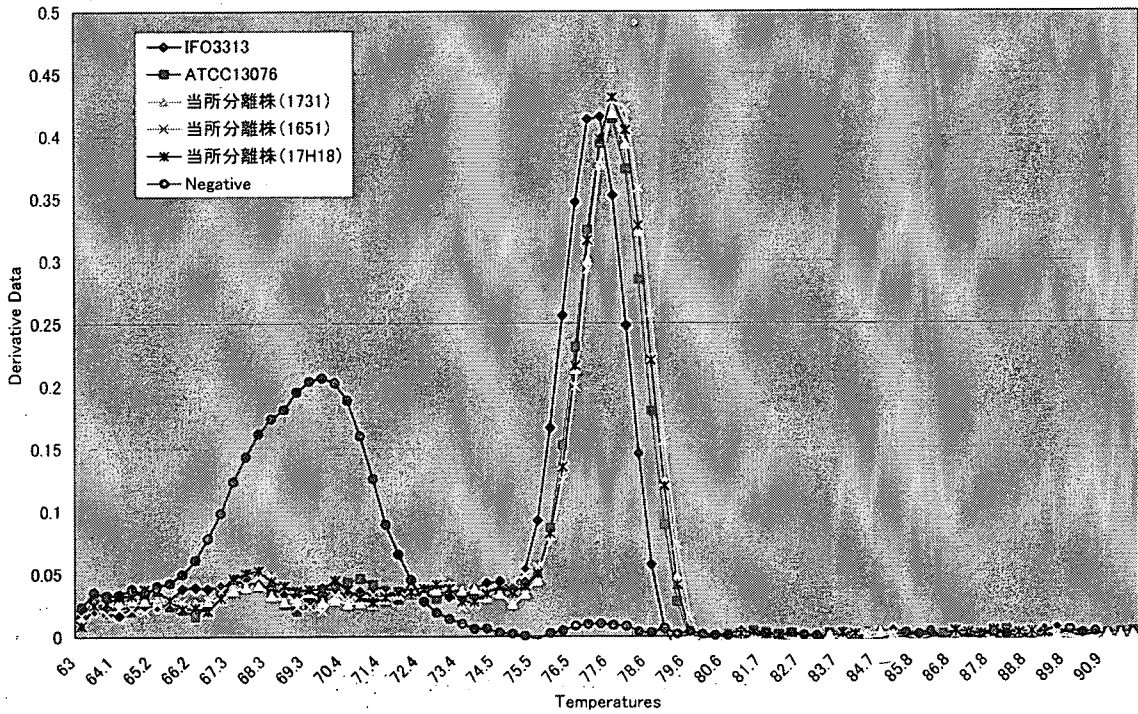


図 2 *Salmonella* Enteritidis の融解曲線解析

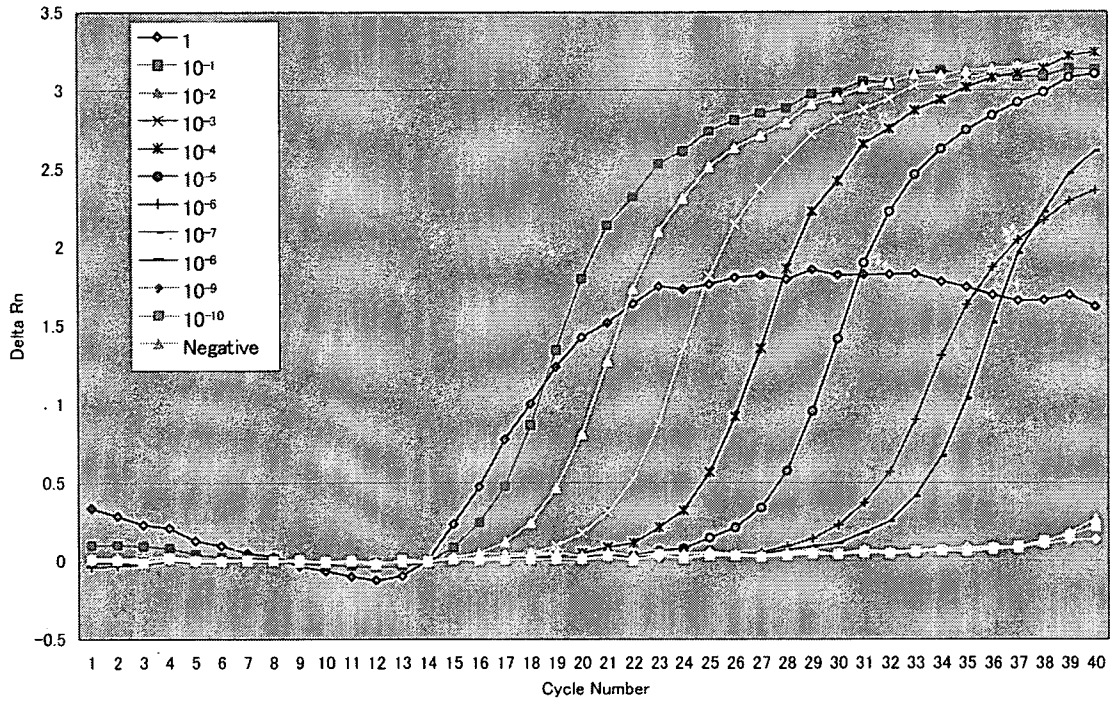


図 3 *Escherichia coli* O157 の増幅結果

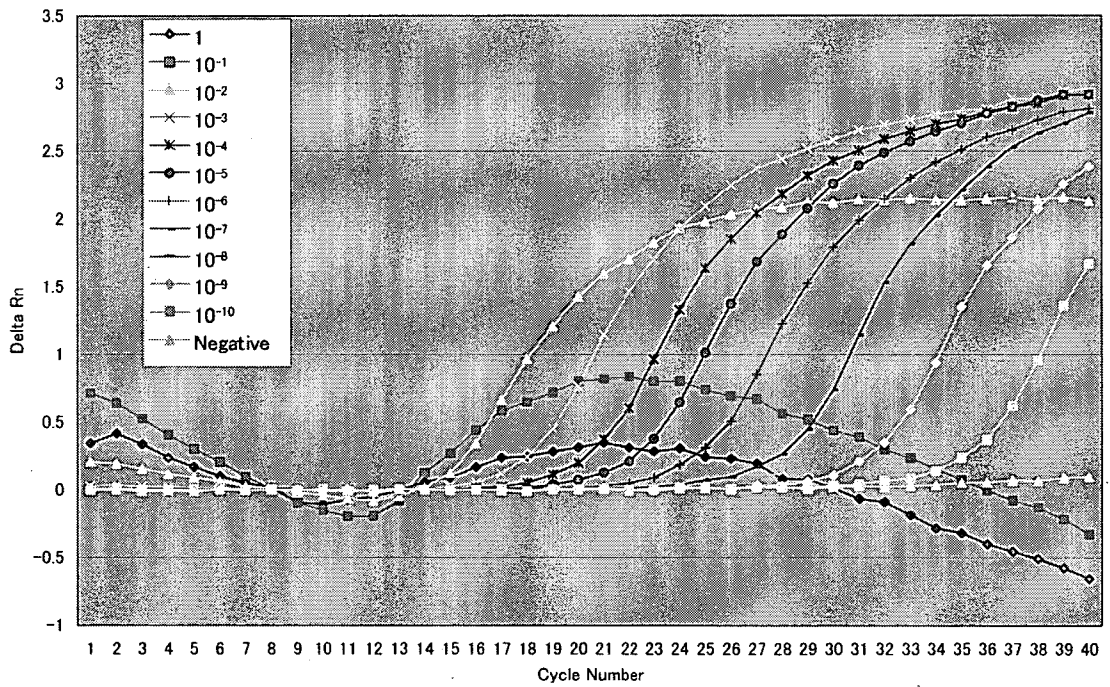


図 4 *Campylobacter jejuni* の増幅結果

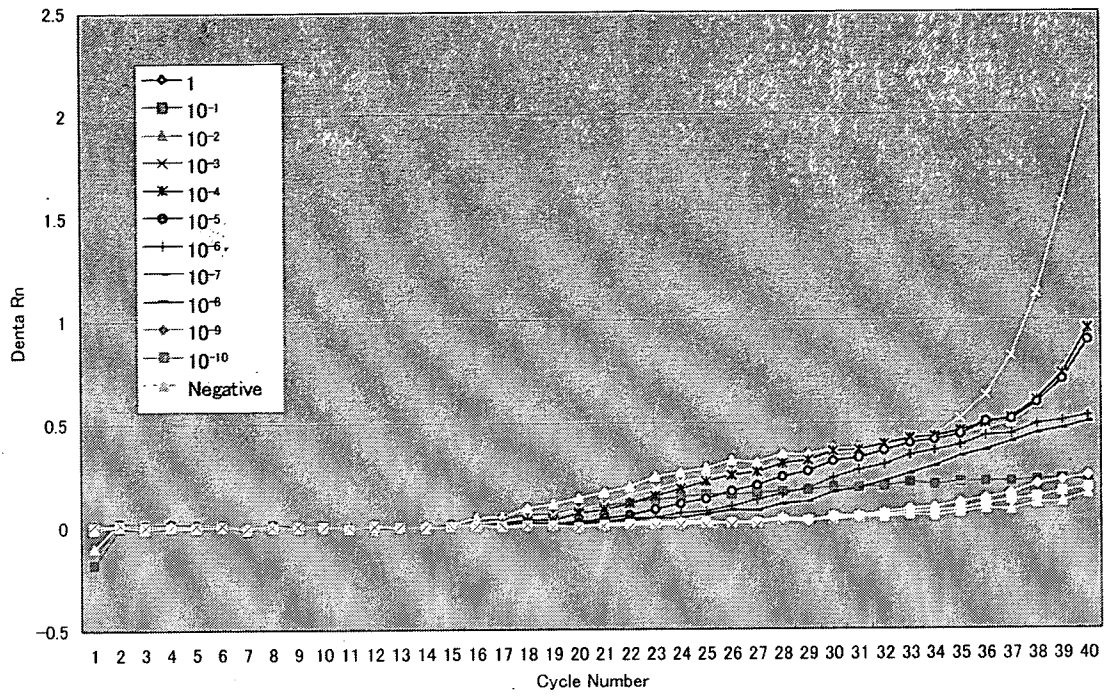


図5 *Vibrio parahaemolyticus* の増幅結果

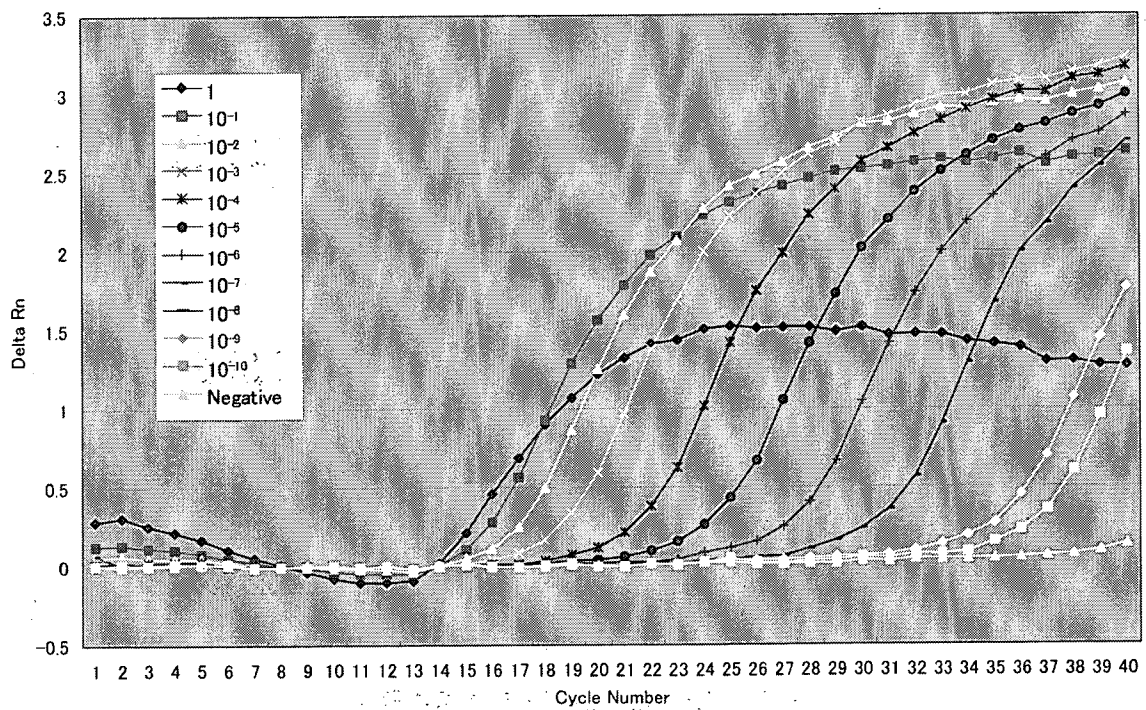


図6 *Staphylococcus aureus* の増幅結果

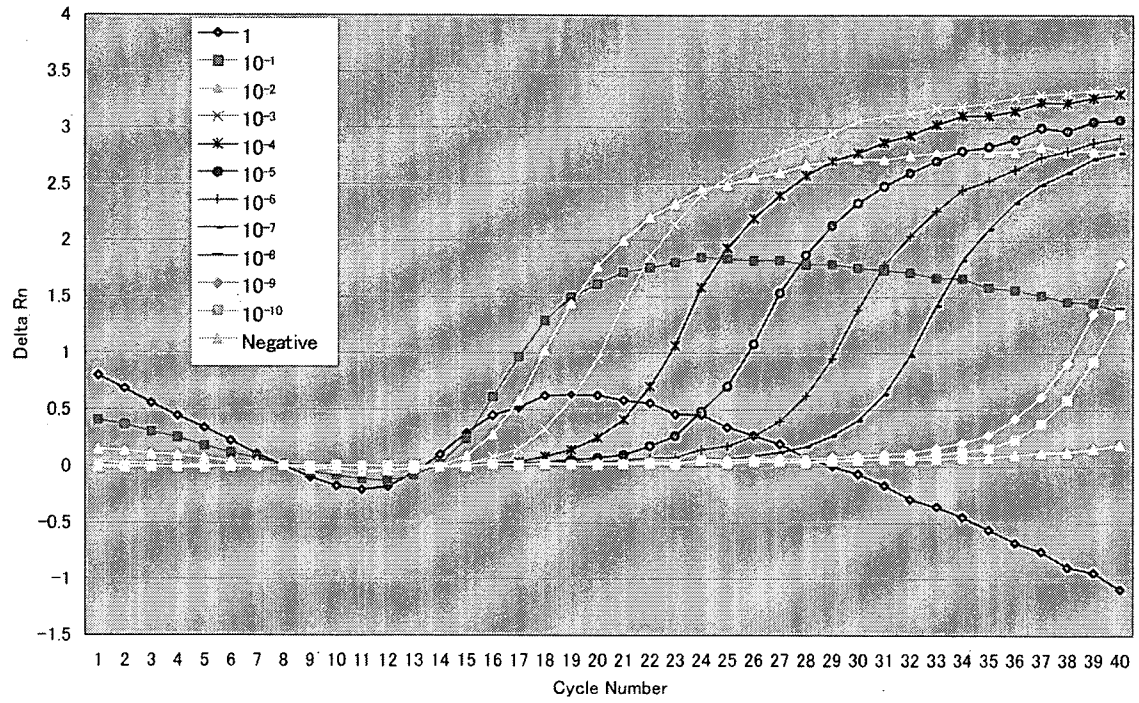


図 7 *Clostridium perfringens* の増幅結果

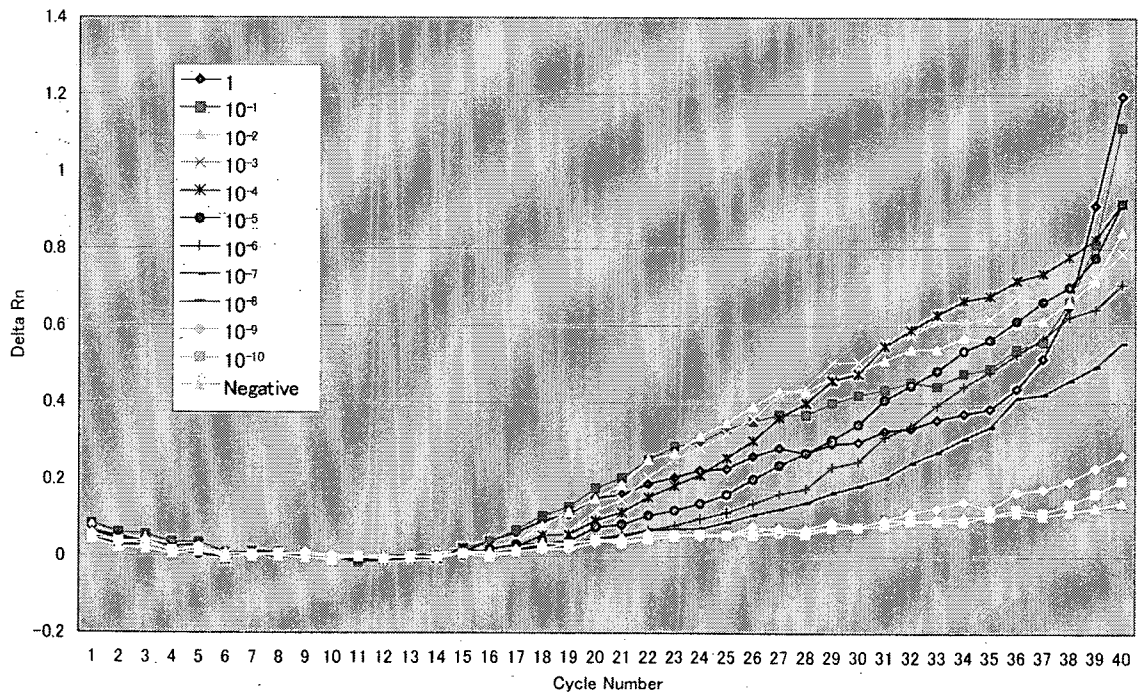


図 8 *Bacillus cereus* の増幅結果

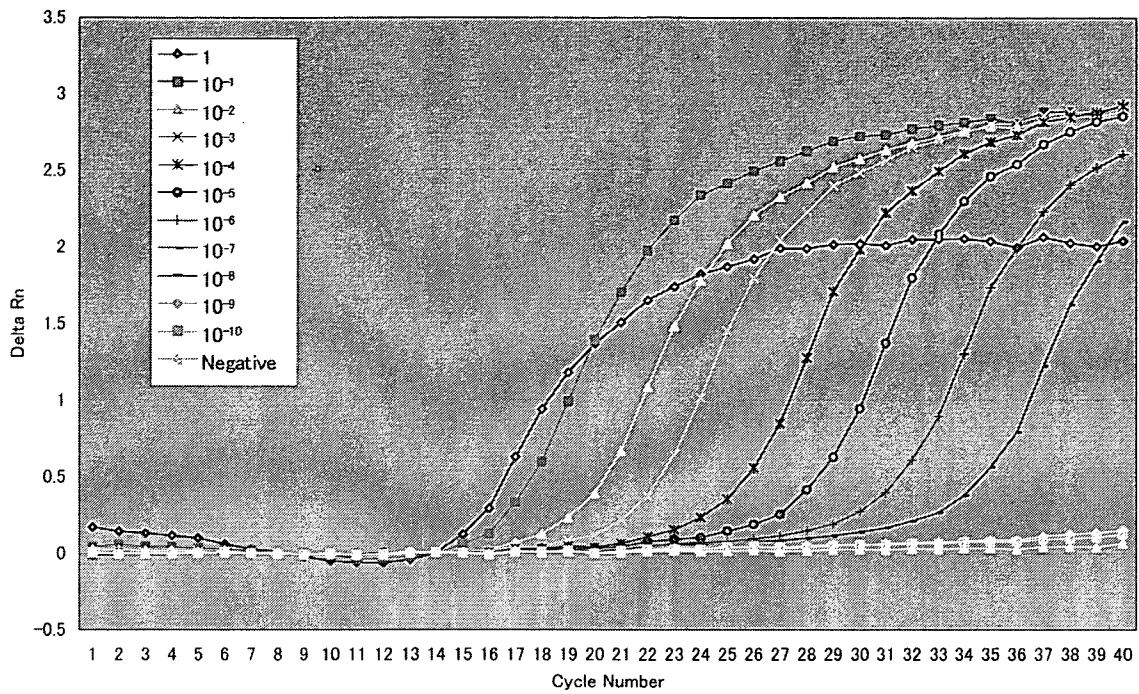


図 9 *astA* positive *Escherichia coli* の増幅結果

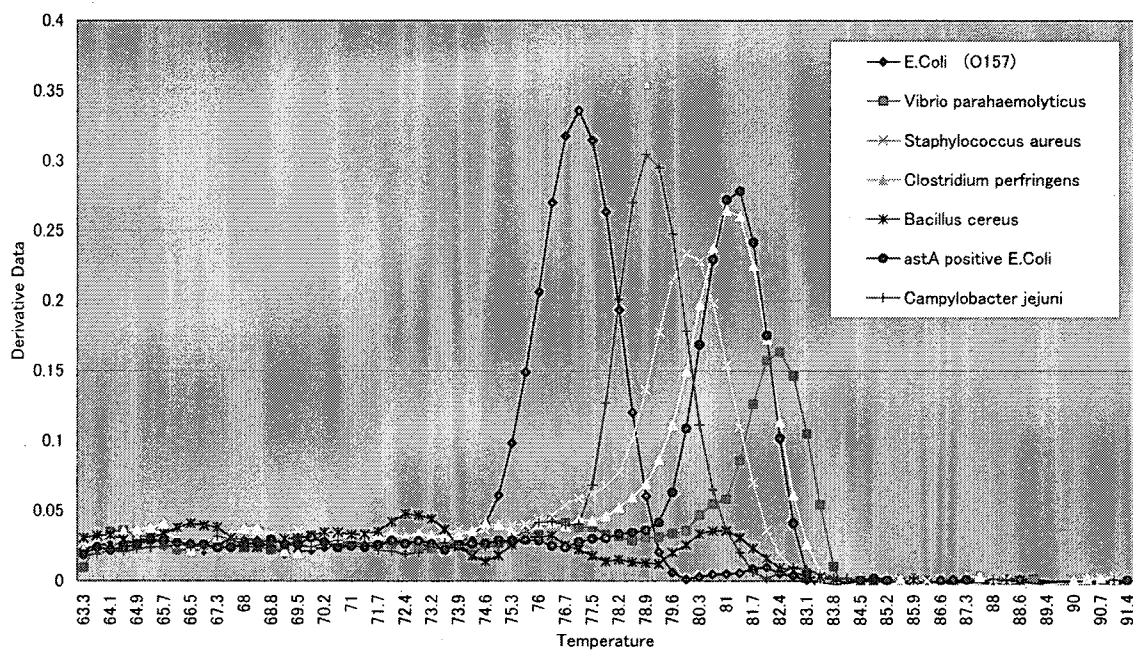


図 10 7 菌種における融解曲線解析結果

表 3 菌種ごとの Tm 値の比較

No.	菌株名称	Tm値、℃	
		(ABI PRISM 7000)	(LightCycler 参考値*)
1	<i>Escherichia coli</i> O157	77.1	-
2	<i>Campylobacter jejuni</i>	78.6	80.3±0.3
3	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	82.4	80.4±0.4
4	<i>Staphylococcus aureus</i>	79.9	-
5	<i>Clostridium perfringens</i>	81.0	-
6	<i>Bacillus cereus</i>	-	-
7	<i>astA</i> positive <i>E. coli</i>	81.4	84.9±0.6

*福島ら 感染症学雑誌、第79巻 第9号 644-655、2004

厚生労働科学研究費補助金(地域健康危機管理研究事業)研究報告書

地域における健康危機管理に対応するための 地方衛生研究所機能強化に関する研究

分担報告書(ウイルス部門)

原因不明感染症に対する迅速な包括的診断法の開発と有効性の評価

主任研究者	吉村健清	福岡県保健環境研究所	所長
分担研究者	織田 肇	大阪府立公衆衛生研究所	所長
協力研究者	高橋和郎	大阪府立公衆衛生研究所	副所長兼感染症部長
	加瀬哲男	大阪府立公衆衛生研究所	感染症部ウイルス課長
	川淵貴子	大阪府立公衆衛生研究所	感染症部ウイルス課
	廣井 聡	大阪府立公衆衛生研究所	感染症部ウイルス課
	千々和勝己	福岡県保健環境研究所	保健科学部ウイルス課長
	世良暢之	福岡県保健環境研究所	保健科学部ウイルス課
	石橋哲也	福岡県保健環境研究所	保健科学部ウイルス課
	中山志幸	福岡県保健環境研究所	保健科学部ウイルス課
	江藤良樹	福岡県保健環境研究所	保健科学部ウイルス課
	皆川洋子	愛知県衛生研究所	研究監兼微生物部長
	山下照夫	愛知県衛生研究所	微生物部腸管系ウイルス科長
	伊藤 雅	愛知県衛生研究所	微生物部腸管系ウイルス科

研究概要

本研究では、健康危機発生時に、地方衛生研究所において実施するべきウイルス検査について、特に、呼吸器症状を主徴とする原因不明感染症および消化管や中枢神経系はじめ全身感染症の患者検体を対象に、迅速性、網羅性を考慮し、最適な手法を確立することを目的とした。本年度は、3年計画の1年目であり、第1に、呼吸器ウイルスを対象としたマルチプレックスPCR法について検討を行い、手法を決定し、また、第2に、防疫対策上重要度の高いエンテロウイルスを対象としたPCR法による迅速な検出及び同定型別法の検討を行った。

大阪府立公衆衛生研究所の分担研究

A. 研究目的

本研究では、呼吸器症状を主徴とする原因不明感染症の患者検体を対象に、マルチプレックスPCR法による呼吸器系ウイルス

および細菌の網羅的検査法を確立することを目的とする。

B. 研究方法

本年度は呼吸器系ウイルスのうち、Parainfluenza virus (PIV) 1, 2, 3, 4を検出するマルチプレックス PCR 法の検査手法を決定した。

検査に際して陽性コントロールとなる PIV 1, 2, 3, および 4a は、仙台医療センター 西村秀一先生から分与をうけた。ウイルスは 96well plate で培養した Hep2 cell を用いて TCID₅₀ を決定し、それぞれのウイルス培養液からの RNA の抽出は、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) で RNA を抽出した。

PCR のプライマーと PCR の反応条件は、以下の2つの論文のものを採用した。

J. Clin. Microbiol, 1998, 36:1388-1391

J. Clin. Microbiol, 2000, 38:1191-1195

RT-Nested PCR では、1回目の PCR は One Step RT-PCR kit (QIAGEN) を用い、2回目の PCR は AmpliTaq (Applied Biosystems) を用いた。

PCR の検出感度を調べるために、陽性コントロールのウイルス RNA はそれぞれ精製水で 10 倍段階希釈し、鋳型として使用した。

増幅産物は 2% アガロースゲルで電気泳動して可視化した後、シーケンスを行い塩基配列を確認した。

C. 研究結果

4つの PIV のマルチプレックス RT-nested PCR では、それぞれの増幅産物の長さが PIV 1: 317bp; PIV2: 203bp; PIV3: 102bp; PIV4: 246bp で独立して増幅された。それぞれのウイルスの検出感度は、PIV1: 10⁻³TCID₅₀; PIV2: 10⁻²TCID₅₀; PIV3: 10⁻²TCID₅₀; PIV4: 10⁻⁴TCID₅₀であった。

D. 考察

本研究において、文献をもとに呼吸器系ウイルスの網羅的検査法を目的とし、本年度は Parainfluenza virus のマルチプレックス RT-nested PCR の手法を決定した。検出感度は 10⁻²~10⁻⁴TCID₅₀ と比較的良好で、実際の臨床検体を用いた検査でも有効なウイルス検出方法となることが期待された。現在さらに Influenza virus, RS virus, Rhino virus などの RNA ウイルスや、Adeno virus, Parvo virus, Boca virus などの DNA ウイルスを対象としたマルチプレックス RT-nested PCR 法を検討中である。今後これらのウイルスを対象とした Multiplex PCR の手法を準備し、臨床検体で活用していくことで原因病原体不明の呼吸器症状を示す患者の原因解明に利用できると考えられた。

E. 結論

今回我々が検討した Parainfluenza virus のマルチプレックス RT-nested PCR の手法では4つの PIV のマルチプレックス RT-nested PCR では、それぞれの増幅産物の長さが PIV 1: 317bp; PIV2: 203bp; PIV3: 102bp; PIV4: 246bp で独立して増幅された。それぞれのウイルスの検出感度は、PIV1: 10⁻³TCID₅₀; PIV2: 10⁻²TCID₅₀; PIV3: 10⁻²TCID₅₀; PIV4: 10⁻⁴TCID₅₀であった。

福岡県保健環境研究所の分担研究

A. 研究目的

本研究においては、マルチプレックス PCR 法による呼吸器系ウイルスの網羅的検査法を確立することを目的としている。現在は、搬入された検体について、原因と疑われるウイルス 1 種類毎に、PCR 反応を行

っている。しかし、呼吸器疾患の場合、症状から原因ウイルスを絞り込むことは困難であり、迅速な原因究明のためには、複数のウイルスを対象として、複数の PCR 反応を同時に行わなければならない。そのため、本研究では複数のプライマーを組み合わせた上、反応を同時に 1 本のチューブで実施できるような、マルチプレックス PCR 法について検討した。この手法を、健康危機管理事例発生の場合に、迅速に原因ウイルスを推定する検査法として確立することを目的とする。

B. 研究方法

研究は 3 ヶ年に亘り、初年度は、①呼吸器系ウイルスの網羅的検査法に関する文献検索、②設定した呼吸器系ウイルスの網羅的検査法の、感染症発生動向調査事業により搬入された検体への適用、の 2 点について実施した。次年度はさらに他の検体について応用し、最終年度は確立した検査法について疫学的な観点から評価を行う。具体的には、まず、A service of the U.S. National Library of Medicine and the National Institutes of Health により提供されているホームページ「PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez/>)」を用いて、文献検索を行った。その結果、最適と思われる方法を検討し、実際に検査を行った。検査は、検体(咽頭拭い液)に抗生物質を添加後、遠心(3,000rpm、20min)し、その上清から「QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)」で RNA を抽出した後、「One Step RT-PCR kit (QIAGEN)」を用いて RT-PCR 反応を行った。PCR 産物を確認した場合は、さらにダイレクトシーケンスによる遺伝子の確認を行った。

(倫理面への配慮)

対象としている検体は全て感染症新法に基づく感染症発生動向調査事業により各定点

医療機関から搬入されたものである。検体に付随している個票には個人を特定できるような住所、氏名などは記載されておらず、解析に最低限必要な情報として、男女別、年齢、発症年月日、検体搬入日並びに症状のみが記載されている。

C. 研究結果

(1)マルチプレックス PCR に関する文献検索

種々の文献について検討を加えた結果、下記 2 文献を組み合わせ、新しい呼吸器系ウイルスの網羅的検査法を確立することとした。

文献 1 Bellau-Pujol S, Vabret A, Legrand L, Dina J, Gouarin S, Petitjean-Lecherbonnier J, Pozzetto B, Ginevra C, Freymuth F., Development of three multiplex RT-PCR assays for the detection of 12 respiratory RNA viruses, *Journal of Virological Methods*, 126(1-2), 53-63, 2005.

本論文においては、7 種類のウイルス(エンテロウイルス、A 及び B 型インフルエンザウイルス、RS ウイルス、1 及び 3 型パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス)、肺炎マイコプラズマならびにクラミジア・ニューモニアを検出する方法が述べられている。この論文の中で、1,118 人の子供の臨床検体について検討し、395 検体から何らかのウイルスを検出している。37.5%が RSV、20%はインフルエンザ A 型ウイルス、12.9%はアデノウイルス、10.6%はエンテロウイルス、8.1%は肺炎マイコプラズマ、4.3%はパラインフルエンザウイルスのタイプ 3、3.5%はパラインフルエンザウイルスのタイプ 1、2.8%はインフルエンザ B ウイルス、0.2%はクラミジア・ニューモニアであった。

文献 2 Gröndahl B, Puppe W, Hoppe A, Kühne I, Weigl JA, Schmitt HJ., Rapid

identification of nine microorganisms causing acute respiratory tract infections by single-tube multiplex reverse transcription-PCR: feasibility study, Journal of Clinical Microbiology, 37, 1, 1-7, 1999.

本論文においては、A、B及びC型インフルエンザウイルス、RSウイルス、メタニューモウイルス、1、2、3及び4型パラインフルエンザウイルス、ヒトコロナウイルス並びにライノウイルスを検出する方法が述べられている。本方法では非常に効率よくウイルスを検出できたことを報告している。

上記文献を踏まえ、下記病原体についての網羅的検査法を設定した。この方法では、①～④の4本のチューブに各ウイルスを検出するプライマーを次のとおり複数加え反応を行う。

以下、「病原体名、PCR産物の大きさ、標的遺伝子（プライマー）」の順に表示。

① RSウイルス、279bp、Nucleocapsid (vrs P1, vrs P2)

インフルエンザウイルス A型、212bp、Matrix protein (mia 1, mia 2)

インフルエンザウイルス B型、362bp、Matrix protein (mib 1, mib 2)

ヒトメタニューモウイルス、416bp、Matrix protein (hmpv1, hmpv2)

②パラインフルエンザウイルス 1型、317bp、Hemagglutinin-Neuraminidase (PIS1+, PIS1-)

パラインフルエンザウイルス 2型、507bp、Hemagglutinin-Neuraminidase (PIS2+, PIS2-)

パラインフルエンザウイルス 3型、189bp、Hemagglutinin-Neuraminidase (Para3.1, Para3.2)

パラインフルエンザウイルス 4型、451bp、Phosphoprotein (PIP4+, PIP4-)

③ライノウイルス、549bp、VP4/VP2

/5'NC(SRH11, SRH12)

コロナウイルス 229E、573bp、Gene M (MD1, MD3)

コロナウイルス OC43、335bp、Gene M(MF1, MF3)

インフルエンザ C型、485bp、Hemagglutinin-esterase (CHAA, CHAD)

④ C. pneumoniae、463bp、16S rRNA (C.pneumoniae P1, C.pneumoniae P2)

M. pneumoniae、277bp、16S rRNA (M.pneumoniae P1, M.pneumoniae P2)

ライノウイルス、530bp、VP4/VP2/5'NC

エンテロウイルス、154bp、VP4/VP2

/5'NC (EVP4, OL68-1)

アデノウイルス、134bp、Hexon (adeno P1, adeno P2)

PCR反応の条件は、文献に従った。

(2)呼吸器系ウイルスの網羅的検査法の適用

本検査法について、感染症発生動向調査事業により搬入された検体を用いて評価を行った。平成17年～19年度の3年間に当所に搬入された277検体のうち94検体(33.9%)からインフルエンザウイルスが分離同定されている。残りの133検体からはウイルスが分離同定できなかった。このうち過去2年間に搬入された63検体について呼吸器系ウイルスの網羅的検査法を適用した。その結果、1検体からインフルエンザウイルス A/H1N1が新たに検出された。

D. 考察

本研究において、2文献をもとに呼吸器系ウイルスの網羅的検査法を設定し、感染症発生動向調査事業により過去2年間に搬入された検体のうち培養細胞への接種等によりウイルスが分離同定できなかった63検体について適用し、1検体からインフルエンザ A/H1N1を検出・同定した。残りの

検体から呼吸器ウイルスが検出されなかった点については今後検討していく予定である。検出されなかった要因には、この検査法には含まれないウイルスが原因である可能性等の要因などが考えられるが、今後の課題である。

E. 結論

今回我々が検討した呼吸器系ウイルスを対象とした網羅的検査法を感染症発生動向調査事業の検体について適用したところ、培養細胞によりウイルス分離不能であった63検体中、1検体からインフルエンザウイルスを検出した。

愛知県衛生研究所の分担研究

A. 研究目的

本研究の目的は、健康危機発生時に地方衛生研究所において実施すべきウイルス検査の確立である。現在は、搬入された検体について原因と疑われるウイルスを標的とするPCR反応及びウイルス分離を行っている。臨床症状や付随する疫学データから原因ウイルスを絞り込むことは困難であるが、ワクチンやグロブリンあるいは抗ウイルス薬、さらに検疫等公衆衛生上迅速な対応が感染制御に有効なウイルスであるか否かに関して検査データを迅速に提供できれば有用性が高い。本研究では複数のPCR法について比較検討した。本研究は、例えば海外帰国者を含む脳脊髄炎あるいは胃腸炎集団発生等エンテロウイルス感染症が疑われる健康危機管理事例発生の場合において、迅速なエンテロウイルス型別、とくにポリオウイルスの迅速な検出鑑別同定法の確立を目的とする。

B. 研究方法

研究は3か年にわたるが、初年度は①複数

のPCR検査法に関する分離ウイルス株を用いた検討、②感染症発生動向調査事業により搬入された検体への適用の2点について実施した。次年度はさらに他の検体について応用し、最終年度は確立した検査法について疫学的な観点から評価を行う。具体的には、まず感染症発生動向調査において分離されたエンテロウイルス株を用いて、最近報告された鋭敏で網羅的とされるPCR法及び従来法の感度及び特異性を検討した。その結果をふまえて、発生動向調査用検体から直接PCR検査を行った。PCR産物を確認した場合は、さらにダイレクトシーケンスによる遺伝子塩基配列に基づく血清型別を行った。

(倫理面への配慮)

対象とした検体は、全て感染症新法に基づく感染症発生動向調査事業により各定点医療機関から搬入されたものあるいはこれら検体から分離されたウイルス株である。検体に付随している個票には個人を特定できるような住所、氏名などは記載されておらず、解析に最低限必要な情報として、男女別、年齢、発症年月日、検体搬入日並びに症状のみが記載されている。

C. 研究結果

(1) PCR手法に関するウイルス分離株による検討

下記ウイルス株について文献に従いエンテロウイルスVP1領域を標的とする新たなsemi-nested PCRプロトコルA(Nix et al. J Clin Microbiol 44:2698, 2006)、VP1を標的とする従来法B(Oberste et al. *ibid* 37:1288, 1999及びVP2-4を標的とするプロトコルC(Ishiko et al. J Infect Dis 185:744, 2002)の3者について検討した。

分離ウイルス株として、感染症発生動向調査事業において当所で得られたコクサッキーウイルス(CV)-A2, A4, A5, A6, エンテ

ロウイルス(EV)-71, ポリオウイルス(PV)-3各株を用いた。プロトコル A は検討した全てのウイルス型を検出可能であったが感度は 100 倍程度低かった。PCR 産物の塩基配列決定による血清型別は容易であった。プロトコル B はポリオウイルスをのぞく検討した全てのウイルス型を A よりも高感度に検出し、PCR 産物を用いる型別が可能であった。プロトコル C は全てのウイルス型を高感度に検出したが、PCR 産物からの型別は一部困難である。

(2) エンテロウイルス検査法の検体への適用

本検査法について、感染症発生動向調査事業により搬入され、ウイルス陽性と判明している糞便及び咽頭拭い液を検体として検討したところ、A 群コクサッキーウイルスについては 3 者ともほぼ同程度検出可脳であったが、エンテロウイルス 71 型についてはプロトコル A では 6 検体全て陰性、同 B は 50%、同 C は 100%陽性と結果が分かれた。

D. 考察

網羅的で高感度とされる新たなプロトコル A による PCR 増幅法の検出感度は、当所で過去 4 年間に分離されたウイルスに対して

は従来法に劣っていたが、陽性検体については型別に関する情報量が多く有用である。しかし近年東南アジアで致死性脳脊髄炎の集団発生が問題となったエンテロウイルス 71 を検出できず、ポリオの検出感度も高くないため、VP2-4 領域を標的とした新たなプライマー設計等プロトコルのさらなる検討の必要性が判明した。

E. 結論

来年度に VP2-4 領域を標的とする PCR 法の改良を行った後、新たな検体を用いた検討を行い、研究期間内に迅速検査法確立に努める。

(ウイルス部門として)

G. 研究発表

1. 論文発表
なし。
2. 学会発表
なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）

分担研究報告書

地域における健康危機に対応するための地方衛生研究所機能強化に関する研究
～分担研究 地方衛生研究所の疫学機能強化に関する研究～

（分担研究者）前田 秀雄 東京都健康安全研究センター所長

研究要旨

地域健康危機に対応するために今後の地方衛生研究所に必須である疫学機能のあり方および推進強化する具体的方策を、PRECEDE-PROCEED Modelを用いた事例分析により検討した。その結果、地研のあり方の再検討、組織体制の強化、連携の推進等の様々な推進要因が複合的に作用して事業が推進されているが明らかとなった。そして、その具体的な推進要因は、地方衛生研究所自身だけでなく、所属自治体、地方衛生研究所全国協議会等が連携して積極的に地方衛生研究所の機能強化に取り組むことによって実現される。

埼玉県衛生研究所 岸本 剛
群馬県衛生環境研究所 加藤 政彦
群馬県衛生環境研究所 森田 幸雄
群馬県衛生環境研究所 鈴木 智之
富山県衛生研究所 堀元 栄詞
福岡県保健環境研究所 小野塚 大介
東京都健康安全研究センター 神谷 信行
東京都健康安全研究センター 阿保 満

A. 研究目的

近年、様々な健康危機が発生し、また発生が懸念される状況において、地方自治体は、それに的確に対応するため、科学的根拠に基づいた政策が求められている。このため、地方衛生研究所は公衆衛生行政の科学的技術的拠点としての機能の強化が必要がある。

しかしながら、近年の健康危機は様々な科学的、社会的因子が複合的に関与して発生している。このため、地方衛生研究所は、試験研究により得られた病原体情報・化学

物質分析情報・環境測定情報等の理化学的情報のみならず、疾病発生動向、患者情報、社会的事象、等の社会情報・統計情報等の双方を包括的に分析し、健康危機の発生要因を明らかにし、さらにその制圧のための方策を考案する疫学機能の充実が必要である。

ただし、疫学機能の充実のためには、それにふさわしい人材の配置や組織体制の確立が必要であり、機能が発展的に継続するためには、地研間や関係機関との連携の強化が必要である。（図1）

このため、本研究ではこうした今後の地方衛生研究所に必須である疫学機能のあり方および推進強化する具体的方策を検討し、地域健康危機管理対策の一助とする。

B. 研究方法

既に行われている各地研の疫学機能事例を保健行動モデルを用いて分析し、地研雄疫学機能のあり方及びその強化に必要な政策を探求し、提案する。

1. 各事例の推進要因に関する分析

具体的な保健行動モデルとしては、Green らによる PRECEDE-PROCEED Model (以下PPモデル) を用いる。PPモデルは、住民が保健行動を実践するための前提要因、実現要因、強化要因を明らかにし、ヘルスプロモーションの支援対策を検討するための理論的モデルである。(図2)

前提要因とは、「行動(活動・事業)に先立つ要因、その行動の論理的根拠や動機となる要因」であり、個人の保健行動においては、知識、信念、価値観、態度等である。

実現要因とは、「ある動機による行動を実現させるための要因」であり、教育訓練、技術、法令、組織化等である。

強化要因とは、「ある行動が起こった後に、その行動が継続して実践されるよう持続的にインセンティブを与えようとする要因」であり、保健行動においては、同僚、意志決定者、同志、支援者等である。

本研究ではこの定義に基づいて、収集した事例を分析し、地研の疫学機能のあり方等について検討した。

2. 疫学機能推進方策の検討

事例分析から得られた推進要因を総合的に検討し、自助(各地方衛生研究所としての活性策)、共助(地研全国協議会としての活性策)、公助(所属自治体及び国からの支援策)の観点から、疫学機能の具体的な推進方策を明らかにする。

3. 調査対象事例

①群馬県「感染制御センターにおける疫学調査機能について」

衛研の疫学情報部門と保健所での疫学調査の指導部門が組織的に一体となった事例

②東京都「K-net(東京都感染症情報ネットワーク)」

感染症に関する保健所・医療機関等と

の電子ネットワークシステム

③埼玉県「埼玉県感染症情報センター」

疫学部門と検査部門が有機的連携して、保健所・市町村等の行政技術支援体制を構築

④神戸市「結核菌分子疫学調査体制」

保健所の地域結核対策と連携した結核菌分子疫学研究体制

⑤愛媛県「中四国インフルエンザ検査情報ネットワーク」

各地研の実務者間のSNS(ソーシャル・ネットワーク・システム)構築

4. 調査項目

組織に関する基本的事項、政策支援状況、実地疫学部門の状況、試験検査部門、所属の支援体制、人材育成、関係行政機関、関係研究機関、地衛研ネットワークの活用、研究結果への反響、包括的分析、具体的事業内容等。(表1)

(倫理面への配慮)

本研究は、ヒト生体試料及び個人を特定する情報は用いない。

C. 結果

1. 群馬県「感染制御センターにおける疫学調査機能について」

群馬県では、保健所における担当者数の減少や疫学調査経験者の不足、業務多忙等の理由により、実地疫学調査が十分になされてないことが指摘され、実地疫学調査を支援するための専門スタッフを組織化することが望まれ、同センターが設置された。スタッフは、医師、獣医師、臨床検査技師、FETP修了生で構成されている。保健所長から実地疫学調査支援に関する依頼が発生した場合に、感染制御センターの職員が派遣されるシステムになっていて、出動依頼に迅速に対応し、保健所支援に資する活動を進めており、評価が高まっている。国や外部研究機関との共同研究にも積極的に参画し、業績も伸ばしつつあ

る。保健所との間において人事交流等をすすめていくことにより、実地疫学調査が適切に実施できる人材を育成することが期待されている。

2. 東京都「K-net（東京都感染症危機管理情報ネットワークシステム）」

新興感染症対策上、都・市・区間における感染症情報の共有・一元化を行う必要性が指摘され、本システムが提案された。本事業は、疫学機能を担う専管組織である疫学情報室が運営している。同組織は、試験検査職員と保健所との交流人事により配置された医師、保健師で構成され、従来本庁が実施してきた情報発信・研修機能も一部移管されている。システムは 1)感染症情報ネットワークシステム（感染症に係る情報提供及び意見交換）、2)診療情報迅速把握システム（一類感染症等発生の際、診療情報を継続的・効率的に把握）、3)症候群別サーベイランスシステム（新感染症等の発生状況を、症候群別に収集）の 3 つによって構成されている。情報の収集と共有に利用される意見交換フォーラムは、集団発生事例などの情報共有に活用されており、本システムは、目的である都・市・区の感染症情報の一元化に不可欠な機能として利用されている。

3. 埼玉県「埼玉県感染症情報センター」

埼玉県感染症情報センターは、疫学情報部門の感染症疫学情報担当と検査部門のウイルス担当及び臨床微生物担当で構成され、「感染症情報センター運営委員会（毎月開催）」等を通じて、関係業務の企画・調整・情報交換を行い、効率的な業務運営に努めている。保健所をはじめとした行政機関等から寄せられる相談に対応し、それらの情報をデータベース化して相談内容の共有化を図っている。各関連機関に対する感染症情報を様々なメディアを使って広く情報提供を実施している。職員自体の研修

受講も積極的に推奨されており、最新検査技術の習得や疫学調査法の習得のため、平成 18 年度は延べ 26 名の職員が国立感染症研究所や国立保健医療科学院等が主催する研修会を受講している。埼玉県での取り組みについては、県内外から高い評価を受けている。

4. 神戸市「結核菌分子疫学調査体制」

神戸市では、結核患者の発生要因を研究、調査・解析する事を目的に、2000 年度に制定された「神戸市緊急 5 年結核対策指針」に、先行的に実施されていた結核菌分子疫学調査研究を「結核菌バンク事業」として盛り込み、効果的で効率的な結核対策を推進することとした。現在は、「第二次神戸市 5 年結核対策指針」として事業が継続されている。結核患者の発生動向は、神戸市保健所で把握され、菌株分与の依頼や、医療機関から環境保健研究所への菌株の搬送を保健所が積極的に行っているため、検査・解析が迅速に行われている。その結果、集団感染の早期発見や接触者健診での感染経路の特定に役立っている。保健所の聞き取り調査では疫学的関連性が判断できない事例でも、遺伝子配列パターンから関連性を推定することも可能である。この事業を長期的に継続するには、引き続き協力医療機関や保健所の理解を得ることと、結核対策での有効性を具体的に示す必要がある。

5. 愛媛県「中四国インフルエンザ検査情報ネットワーク」

本事業は、シーズンを通じた地域内でのインフルエンザ分離状況等の情報交換の効率化として、地方衛生研究所中四国支部微生物部会で提案され、中国・四国地区の地研職員 10 数名の参加で、地研全国協議会が運営しているメーリングリストサービスを活用して行われている。地域の中で、ウイルス検査担当者間で、

迅速な情報交換が行われることは、特にインフルエンザのような流行が急激に起こる疾患の危機管理上は有用である。人的ネットワークの構築維持やインターネットツールの活用においては、地研全国協議会の組織機能を活用しており、効率的な事業運営と言える。業務量増加や人員削減が進む中で、地域としての必要性に基づいて醸成された事業である。

D. 考察

1. 地方衛生研究所の疫学機能

まず、地方衛生研究所の疫学機能の定義を検討した。国際疫学会の疫学の定義は「特定の集団における健康に関連する状況あるいは事象の、分布あるいは規定因子に関する研究、また健康問題を制御するために疫学を応用すること。」となっている。一般的な研究機関では、前段の「因果関係及びリスクの解明」が専ら研究の中心となる。

しかしながら、地方衛生研究所は①自治体の衛生行政部門が設置した機関である、②調査研究対象分野が各自治体の健康政策の重点対象分野である、③調査研究の基盤となる情報が行政事務の遂行に伴い実施された検査により得られた内容が主体であることから、後段の「健康問題の制御への応用」に、より重点が置かれるべきである。

このため、地方衛生研究所の疫学機能は、国際疫学会の定義の後段に重点を置き、「地域住民の健康問題に関するリスクを解明し、そのリスクの制御のための健康政策の実施に資する研究及び事業」と考えるべきである。また、さらに一歩進めて政策研究及び提言も含めて、「地域住民の健康問題に関するリスクを解明し、その制御のための政策を立案する研究及び事業」と考えるのである。

2. 地研疫学機能の推進要因

次に、PPモデルに基づいて地方衛生研究所の疫学機能を推進する要因について分

析した。最終的な目的は住民の健康のための健康危機管理事業の推進とし、行動目的を疫学機能の強化して、その推進のための三要因について分析した。(図3)

1) 前提要因

地方衛生研究所の活動における前提要因とは、地研の機能についての認識、収集蓄積されている試験検査調査情報、疫学的分析技術、等と考えられる。

今回の事例検討において明らかとなった前提要因は、以下の通りである。

①地方自治体の疫学機能に対する必要性の高まり

健康危機の蓋然性の高まりを踏まえて、地方自治体として疫学機能を強化することの必要性についての認識が深まった。

②優れた試験検査機能・実績

試験検査部門の研究成果が行政的効果に資することへの期待が、疫学的機能の推進に繋がる。そのためには、疫学的分析の対象に値する試験検査実績があることが必要である。

③本庁・保健所との役割分担の見直し

本庁関連部門・保健所との役割分担を再検討し、地衛研の疫学機能を強化することが、健康危機管理対策の効率化・高度化に繋がることが認識された。

2) 実現要因

地研活動における実現要因としては、人材育成・研修、組織体制、自治体の政策的方向性と考えられる。

今回の事例検討において明らかとなった実現要因は、以下の通りである。

①ジョブ・ローテーションによる人材育成

本庁、保健所等での勤務を経験している試験検査職員を配置することで、関係部門からどのような疫学情報が求められているかを理解できる。

②多職種の職員配置による組織の広角化

地研の固有職員(試験検査職)のみなら

ず、本庁・保健所等との人事交流により関連職種を含めてた多職種の職員を複数名を配置し、視野の広い組織を構築した。

③実務的疫学研修の履修による基盤強化

国立感染症研究所実地疫学専門家養成課程（FETP）、国立保健医療科学院専門課程等の疫学の基本的技術を修得する実務的な研修を履修した職員を在籍させ、疫学機能の基盤を構築している。

④疫学業務専管組織の配置

人員・業務量が確保されるために、専管組織が設置されることが必要である。最低条件として、疫学機能が最も効果的に発揮できる感染症情報センターを地方衛生研究所に配置することが必要である。

⑤試験検査部門と疫学情報部門の連携体制の強化

両部門がそれぞれの保有する情報を共有し、協働して情報を分析・発信する体制が確立されている。

⑥政策的方向性の明確化

地域保健医療計画、感染症予防計画、等の自治体としての行政計画に関連事業が記載されることで、地方衛生研究所の疫学機能が行政的、組織的に認知される。

3) 強化要因

地研活動における強化要因としては、関係機関との連携、研究機関相互の連携、地研ネットワーク、マスコミ、住民からの反響等と考えられる。

今回の事例検討において明らかとなった強化要因は、以下の通りである。

①厚生労働科学研究等研究助成事業への参加

研究助成事業を受託することにより、研究費の確保、他研究機関との交流、関係研究者との人脈の拡大、等により疫学機能が強化される。

②保健所・市町村との交流

保健所・市町村からの要望を踏まえて疫

学情報を報告する共に、研修・情報提供等により積極的に情報発信することで、保健所・市町村からの期待が高まり、事業の強化に繋がる。

③関係機関との連携

関連機関と連携して事業を実施することにより情報の質・量が充実すると共に、研究交流を通じて研究者の能力が育成され、機能が強化される。

④マスコミからの取材

報道機関からの取材、報道発表等により、本庁等の認識が高まると共に、職員の志気も向上する。

⑤地方衛生研究所ネットワークの交流

他地方衛生研究所の疫学情報と連動させることにより情報の質が高まると共に、担当職員間の連帯感が高まる。

4) 環境要因

地方衛生研究所の疫学機能が推進される各地研固有の条件が存在している。

①属人的要因

個別事情から資質の高い職員、指導能力のある所属長が在籍していた。

②財政的要因

所属自治体の財政が健全であり、積極的な施策展開が推進されていた。

③組織風土

自治体全体として開明的な組織運営が展開されていた。

先進的な事例においては、こうした個々の環境要因が存在することが少なくないが、加えて、様々な推進要因が複合的に作用することで疫学機能が実現し、更に推進・強化されている。

3. 疫学機能を推進する方策

事例分析に基づき、実施主体別の疫学機能推進方策を検討した。(図4)

1) 各地方衛生研究所の実施すべき方策

①試験検査機能のブラッシュアップ

疫学機能を強化するためにはその原資と

なる科学的知見の質・量が重要であるため、その基盤となる試験・検査機能の向上を図る必要がある。

②研修情報提供相談等による市町村・保健所との関係性の強化

日常の試験検査業務に留まらず、研修及び相談事業等の充実や積極的な情報提供を通じて、市町村・保健所との関係性を強化し、疫学事業の協力体制を確立する。

③関係機関との連携の強化

関係研究機関、近隣地研、所属自治体内試験検査機関と連携して疫学情報の収集を図ると共に、協力して疫学研究を行う。

2) 地方衛生研究所全国協議会の実施すべき方策

①地方衛生研究所機関間のネットワークの強化

各地研の実務者間の研究交流事業の実施やメーリングリスト等の構築等により、人的ネットワークを強化する

②研究助成事業及び研修事業を通じた研究体制の強化

厚生労働科学研究助成事業等へ積極的に応募し、地研間の共同研究体制を組織的に推進すると共に研修等により地研の基本的疫学技術の確保を支援する。

③自治体・地研の疫学機能に関する提言

自治体としての疫学機能のあり方及びそれを担う本庁、保健所、地研の役割分担の基本的考え方を明らかにする。

2) 本庁

①活性化のための人事計画

試験検査職以外の職種との人事交流や試験検査職の本庁保健所等への配置により、職員及び組織の活性化を図る。

②疫学機能を所管する組織の設置

多職種の職員の複数配置による疫学機能所管組織を設置する。地方感染症情報センターは、地方衛生研究所への設置を原則とする。

3) 厚生労働省

①自治体の疫学機能の推進の政策的誘導

健康危機管理対策推進するためには、自治体の疫学機能の強化が不可欠であることを明らかにする。

②地方衛生研究所の位置づけの強化

地方衛生研究所を自治体の疫学機能の拠点として位置づける。

4. 地方自治体の疫学機能強化の具体策

近年、健康危機が注目を浴び、原因究明やリスク評価に対する各自治体の疫学機能は重要な役割を占めるが、これまでは具体的に議論されていない。

現在、地方自治体の疫学機能は、主に保健所と衛生研究所が担っている。従来、実地疫学調査は保健所が中心となり行ってきたが、検査技術の向上に伴い情報量が増加したため、これまでの体制では、疫学の機能を十分に発揮できなくなりつつある。一方、多くの地方衛生研究所は地方感染症情報センターとして、感染症発生動向調査による情報の収集・解析等の疫学的機能を担っているが、疫学的機能よりも検査機能の保持に力が注がれる傾向がある。更に、自治体自体も、疫学的機能・役割が不明確であり、また、疫学専門家の人員や研修なども不足しており、必ずしもその機能を十分に果たしているとは言えない。

このような状況下で、自治体の疫学機能を強化するために、実地疫学専門家チームを設置することを提案する。このチームは多職種で構成され、事例発生時に直接現地に赴き疫学調査を行い、保健所の調査を支援すると共に、患者情報と検査情報を包括して捉え、第三者的な観点から学術的に事例を検証し、施策の改善等を提案する事を役割とする。稀少な大規模かつ重大な事例に、疫学の専門家として多くの事例に携わることにより、非常時のみならず平常時の危機管理対策上極めて有効であると思われる。