

栃木県内で検出された SARS-CoV-2 のハプロタイプネットワーク解析【第1報】

○関川麻実¹⁾、水越文徳¹⁾、齋藤明日美¹⁾、若月章²⁾、青木均¹⁾、渡邊裕子¹⁾、
大山周子¹⁾、根本美香¹⁾、長谷充啓²⁾、永木英徳¹⁾、石岡真緒²⁾、高梨弘幸¹⁾

1) 栃木県保健環境センター、2) 宇都宮市衛生環境試験所

I 背景および目的

2019 年末に中国の武漢市で報告されて以来、新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は世界中に拡大し、2022 年 5 月 17 日現在、世界で約 5 億 2187 万人が感染、約 626 万人が死亡しており、日本でも、感染者が約 839 万人、死者は約 3 万人にのぼる¹⁾。感染拡大を続ける原因の一つに、次々と出現する変異株の存在があげられる。

2022 年 5 月時点で SARS-CoV-2 の変異速度は、24.895 塩基変異/ゲノム/年と推測されており²⁾、理論上では約 14.7 日に 1 塩基が変異していることになる。SARS-CoV-2 は、このような変異を繰り返しながら、枝分かれし様々な変異株を生み出してきた³⁾。このような変異は連続的に発生しており、ウイルス間の塩基配列を比較することで、株間の関係性を検討することができる。

そこで、栃木県内で検出され、栃木県保健環境センターおよび宇都宮市衛生環境試験所において全ゲノムを解読した SARS-CoV-2 のハプロタイプネットワーク図の分子疫学解析を行った。ハプロタイプネットワーク図は、ウイルスの親子関係を示し、どのようにウイルスが拡散したのかを推測できることから、実際の疫学情報と合わせることで、伝搬した経路・順序などを予測する一助となる。本発表では、ハプロタイプネットワーク図の活用方法と、その結果から明らかになった分子疫学的知見について報告する。なお、口演時は最新情報を基にしたハプロタイプネットワーク図を提示する予定であり、抄録内容とは異なる可能性がある。

II 対象と方法

1. 対象検体

2021 年 4 月 5 日から 2022 年 5 月 4 日までに採取され、その後 SARS-CoV-2 の行政検査として搬入された検体 (41652 検体) を用いた。この内、

陽性だった検体から無作為に (一部は意図的に) 選択し NGS で全ゲノム解読を実施した。検体は行政検査で搬入されたものであるため、一部情報に偏りがあることを留意されたい。

2. 方法

1) 全ゲノム解読

咽頭ぬぐい液、唾液等の検体から、QIAamp Viral RNA Kits (QIAGEN) を用いて RNA を抽出した。抽出 RNA 中の SARS-CoV-2 の全ゲノム解読は、新型コロナウイルスゲノム解読プロトコルに従って実施した⁴⁾。RNA を逆転写反応し、Multiple PCR によって SARS-CoV-2 の遺伝子を増幅させ、PCR 産物を生成後、NGS ライブラリとして調整した (フラグメント処理、アダプターライゲーシオンなど)。ライブラリを精製後、宇都宮市では MinION Mk1c (Oxford Nanopore)、栃木県では iSeq (illumina 社) を用いてゲノムを解読した。

得られた FASTQ データは、QIAGEN CLC Genomics Workbench (Filgen, Inc.) 等により Quality Check を行い精度の低いデータは除外した。また、ゲノムの両末端以外に N など ATCG 以外の配列を含まないデータについて、以降の解析を行った。最終的に、Short reads からアセンブリされたコンセンサス配列として、検体中の SARS-CoV-2 の塩基配列とした。なお、これらの塩基配列情報は、国立感染症研究所を介して GISAID⁵⁾ に登録されている。

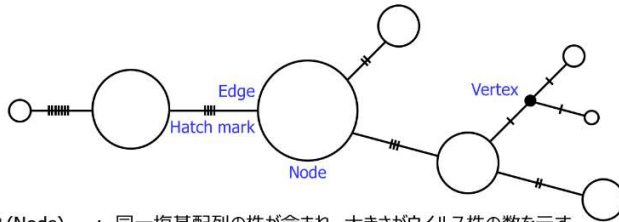
2) ハプロタイプネットワーク図の作成

比較したい塩基配列の FASTA ファイルを MAFFT (解析ソフト) でアライメントし、MEGA11 (解析ソフト) で NEXUS ファイルに変換後、地域もしくは検出した週の情報などを追記した。ハプロタイプネットワーク図は、PopART を用いて作成した。

3) ハプロタイプネットワーク図の見方

ハプロタイプネットワーク図は、丸と線で構成

される (Fig. 1)。丸(Node)は、同一塩基配列の株が含まれ、大きさがウイルス株数に比例する。線 (Edge) は最も類似性のある Node を結び、線上の Hatch mark の数が変異の数を示す (長さは関係ない)。点 (vertex) は、データは存在しないが変異の分岐点に存在していた株を示す。



丸(Node) : 同一塩基配列の株が含まれ、大きさがウイルス株の数を示す
 線(Edge) : Hatch mark (≡) の数が変異の数を示す (長さは関係ない)
 点(vertex) : データは存在しないが、変異の分岐点に存在していた株を示す

Fig1. ハプロタイプネットワーク図の見方

III 結果と考察

SARS-CoV-2 陽性検体のうち、全ゲノム解読できた 1724 検体 (県西 280 検体、県東 325 検体、県南 368 検体、県北 68 検体、安足 119 検体、宇都宮 564 検体) を分子疫学解析の対象とした。

日本国内で流行したデルタ変異株 (主に AY. 29) は、2 塩基ほど異なる 2 つの Nodes から、変異しながら県内 (国内) に拡大した。デルタ株のピークが収まった後も、さらに、変異を重ねて進化している AY. 29 も確認されている。

一方、オミクロン変異株は 2021 年 12 月下旬に県内で初めて検出されて以降、BA. 1. 1. 2 に属する亜系統が急速に拡大した。次いで、BA. 2 は、2022 年 1 月上旬から関東・関西地方を中心に検出された系統が全国へ波及し、それぞれの地域で特徴的な分布に発展している。栃木県においても 2022 年 1 月に当センターで初めて検出されて以降、BA. 1 から急速に置き換わり、BA. 2 系統、BA. 2. 3 系統のものが同時多発的に検出されている (Fig. 2)。特に栃木県内においては BA. 2. 10、BA. 2. 24、BA. 2. 29 といった BA. 2 亜系統の検出が特徴的である。BA. 2 は現時点で感染の主流となっているが、流入由来が異なる可能性のある亜系統もいくつか存在し、それぞれが感染伝播、感染拡大していることが示唆される。

このように、ハプロタイプネットワーク図を用

いて解析することで、株間の関係性が視覚的に表現でき、クラスターの追跡や感染拡大の背景の推測、疫学情報との整合性の担保等に有益な情報を提供できると考える。また、SARS-CoV-2 は、様々な変異を繰り返しながら感染伝播していることから、今後も新たな変異株の出現や流入を監視していく必要がある。よってそれらを早期に探知し適切に情報提供するために、今後もゲノム解析を実施していくことは意義深いと考える。

一方、ハプロタイプネットワーク図は連続的な変異を表現する方法であり、突発的に別のウイルス株が部分的に入れ替わる組換え体を同じ図で比較することは困難である。今後、組換え体が混在して流行した場合、組換え体ごとにハプロタイプネットワーク図を作成することになるが、一定数の集積が得られるまでは偏った情報となる恐れがある。このため、分子疫学解析は慎重に行われるべきであり、疫学情報と総合的に判断することが肝要である。

参考文献

- 1) COVID-19 Dashboard
<https://www.arcgis.com/apps/dashboards/bd a7594740fd40299423467b48e9ecf6>
- 2) Nextstrain.org
<https://nextstrain.org/ncov/open/global/all-time>
- 3) 感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の変異株について (第 16 報)
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551-cepr/11119-covid19-16.html>
- 4) 糸川健太郎, 関塚剛史, 橋野正紀 他 :
 新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル
 Qiagen 社 QiaSEQ FX 編 v1.4 (2022/01/27)
https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/SARS-CoV2_genome_analysis_manual_QIASEQFX_ver_1_4_220127.pdf
- 5) GISAID
<https://www.gisaid.org/>

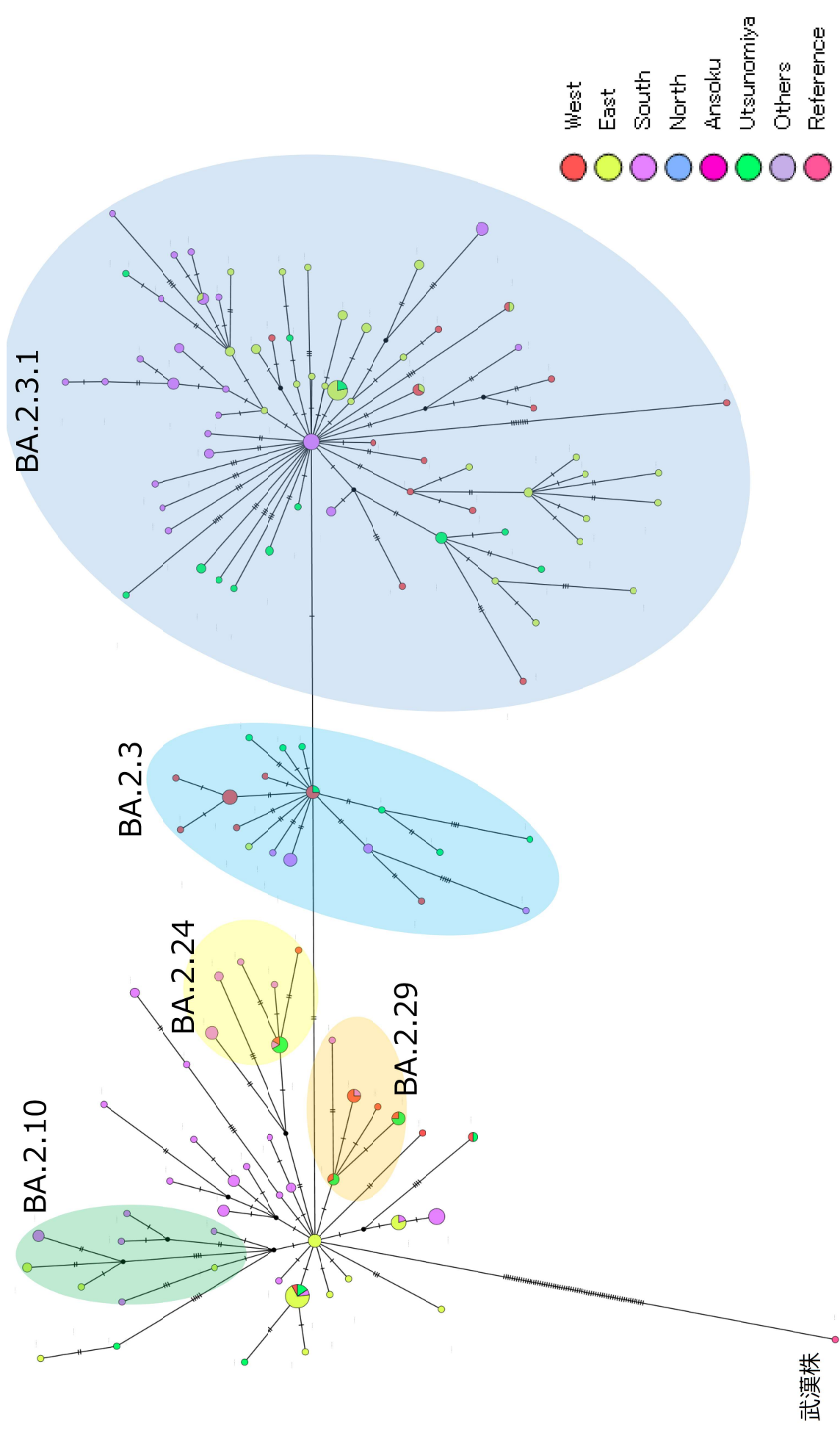


Fig. 2 栃木県内におけるBA.2系統のハプロタイプネットワーク図

無症状者を対象とした新型コロナウイルス感染症抗原定量検査の実施報告(第2報)

公益財団法人栃木県保健衛生事業団

○ 太田千晴 阿部由香里 高橋史 高瀬訓子
手塚真史 大出定夫 増田英夫 永井充洋
森久保寛 渡邊慶

【はじめに】

当施設では令和2年9月1日より唾液検体による無症状者を対象とした新型コロナウイルス感染症の抗原定量検査（以下抗原定量検査）を開始した。前年度の報告に続き、令和3年度における抗原定量検査の実施状況について報告する。

また、昨年度、抗原定量検査 4.00pg/mL 以上で PCR 検査（-）と結果が乖離した検体が複数存在したことから、令和3年度については同様の結果で乖離した検体全てについて、その原因を詳細に確認したので併せて報告する。

【試薬と使用機器】

(1) 抗原定量検査

測定試薬：ルミパルス SARS-CoV-2Ag 免疫反応カートリッジ(富士レビオ株式会社)
測定機器：全自動化学発光酵素免疫測定装置 G1200 Plus (富士レビオ株式会社)

(2) PCR 検査

測定試薬：Ampdirect 2019-nCoV 検出試薬キット (株式会社島津製作所)
測定機器：BIO RAD CFX96 Touch Deep Wellリアルタイム PCR 解析システム (バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社)

【検査の流れ】

検査の流れを図1に示す。令和2年9月1日に検査を開始し、測定試薬の添付文書では抗原定量値 0.67～3.99pg/mL の範囲は PCR 検査の結果も含めて総合的に診断を行うこととなっていたため、令和3年2月5日までは、抗原定量値 0.67～3.99pg/mL は PCR 検査で確認し、4.00pg/mL 以上は抗原定量検査のみで陽性としていた。しかし、抗原定量値 4.00pg/mL 以上で PCR 検査（-）と結果が不一致となる検体が存在したため、2月6日以降は図1に示すように、再測定結果がカットオ

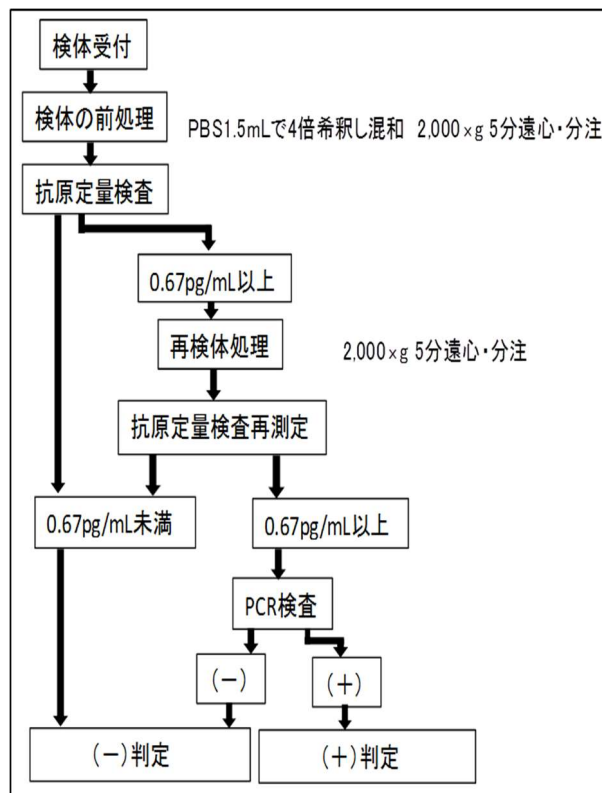


図1 検査の流れ

表1 抗原定量検査依頼数 (人)

区分	令和3年度 依頼数	令和2年度 依頼数
自主事業抗原検査	11,945	5,630
県委託行政検査	364	322
県高齢者施設等職員検査	421	18,807
一定高齢者対象抗原検査	14	411
宇都宮市事業所対象抗原検査	555	329
合計	13,299	25,499

フ値 0.67pg/mL 以上は全て PCR 検査を実施する流れに変更し、令和3年度についても同様の流れで抗原定量検査を実施した。

【結果】

(1) 依頼数

令和3年度の抗原定量検査依頼数を表1に示す。各種団体が自主的に抗原定量検査を行う自主事業抗原検査が 11,945 人、県委託行政検査

表2 団体区分別実施状況

(人)

区分	依頼数	検査不能	抗原定量検査実施数	PCR検査実施数	陽性者数	陽性率(%)
自主事業抗原検査	11,945	41	11,904	116	99	0.83
県委託行政検査	364	0	364	11	11	3.02
県高齢者施設等職員検査	421	6	415	0	0	0.00
一定高齢者対象抗原検査	14	0	14	0	0	0.00
宇都宮市事業所対象抗原検査	555	0	555	2	2	0.30
計	13,299	47	13,252	129	112	0.85

表3 抗原定量検査とPCR検査結果

抗原定量値 (pg/mL)	令和3年度		
	件数	PCR検査	
		(-)	(+)
0.67～3.99	41	13	28
4.00～9.99	16	2	14
10.00～99.9	35	2	33
100.0以上	37	0	37
計	129	17	112

364人、県高齢者施設等職員検査421人、一定高齢者対象抗原検査14人、宇都宮市事業所対象抗原検査555人で、合計13,299人であった。令和2年度は依頼数の約70%が県高齢者施設等職員であったのに対し、令和3年度は約90%が自主事業抗原検査であった。

(2) 団体区分別実施状況

令和3年度の団体区分別実施状況を表2に示す。抗原定量検査依頼総数13,299人のうち量不足などで検査不能となった47人を除いた13,252人の抗原定量検査の結果は、抗原定量値0.67pg/mL未満で陰性となった人が13,123人、0.67pg/mL以上でPCR検査を実施したのが129人、そのうちPCR検査が陽性となった人は112人で陽性率は0.85%であった。

(3) 抗原定量検査とPCR検査結果

抗原定量検査で0.67pg/mL以上だった検体の抗原定量値とPCR検査の結果を表3に示す。PCR検査を実施した129人のうち、PCR検査(-)となった17人の抗原定量値の内訳は0.67～3.99pg/mLが13人、4.00～9.99pg/mLが2人、10.00～99.9pg/mLが2人であった。また、PCR検査(+)となった112人の内訳は、0.67～3.99pg/mLが28人、4.00～9.99pg/mLが14人、10.00～99.9pg/mL以上が33人、

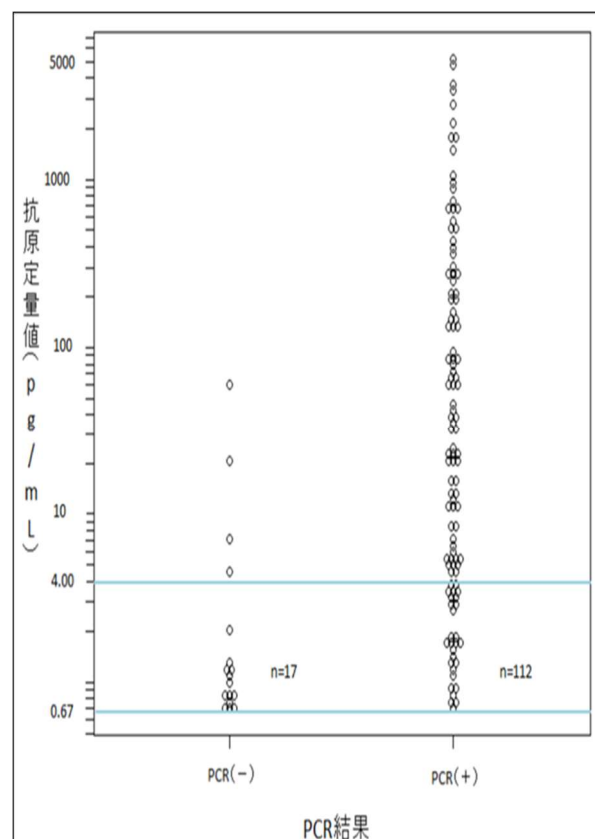


図2 PCR検査結果別の抗原定量値

100.0pg/mL以上が37人であった。

(4) PCR検査結果別抗原定量値の濃度分布

PCR検査結果別抗原定量値の濃度分布を図2に示す。PCR検査(-)では、0.67～62.19pg/mLに分布し、17件中13件は測定試薬の添付文書でPCR検査での確認が推奨されている0.67～3.99pg/mLに分布していた。また、PCR検査(+)では0.67～5000pg/mLと低値から高値まで幅広く分布していた。PCR検査(+)だった112件中28件は、0.67～3.99pg/mLに分布しており、カットオフ値0.67pg/mL付近でも陽性検体の存在が確認された。

表4 確認試験結果

No.	抗原定量値(pg/mL)		吸収試験			
	当施設	試薬メーカー	対象(pg/mL)	吸収(pg/mL)	吸収率(%)	確認試験結果
1	4.67	4.30	4.13	0.4	90.3	特異的反応
2	7.04	6.11	6.10	3.89	36.2	非特異反応
3	21.55	21.06	20.40	16.72	18.0	非特異反応
4	62.19	70.57	63.44	47.92	24.5	非特異反応

(5) 確認試験結果

抗原定量値が 4.00pg/mL 以上で PCR 検査が(一)となった4件の検体を抗原定量検査の測定試薬メーカーに依頼し、詳細を確認した。確認試験として、当施設での検査と同一検体を用いて再度試薬メーカーで抗原定量検査の実施と抗 SARS-CoV-2-抗体に対する吸収試験を行った。その結果を表4に示す。4件の検体のうち No. 2~4 の3件の検体では、抗 SARS-CoV-2-抗体に対する吸収効果が認められず、抗原定量値が 4.00pg/mL 以上を示したのは非特異反応であることが判明した。

また、PCR 検査が(一)だったため最終的に「陰性」の結果報告をした No. 1 の検体は、測定試薬メーカーでの抗原定量値もほぼ同様の定量値を示し、さらに抗 SARS-CoV-2-抗体に対する吸収効果が認められたため、正式に抗原定量検査は(+)であったことが判明した。このケースでは、新型コロナウイルス感染症の回復期で抗原量が徐々に減少していくものの PCR 検査結果が陰性と陽性を繰り返している時期の可能性が示唆された。

【考察】

令和2年度の陽性率は0.067%であったが、令和3年度は0.85%と陽性率が上昇していた。令和2年度と令和3年度ともに検査対象者は無症状者であるが、令和2年度は陽性者の発生やクラスターを未然に防ぐ目的で行われた県高齢者施設等職員検査が多かった。一方、令和3年度は自主事業抗原検査が最も多く、濃厚接触者と接触した無症状者を対象とした検体が多かったことが影響し、陽性率が上昇したのではないかと推測された。

また、抗原定量値が 4.00pg/mL 以上を示し、

PCR 検査(一)と結果が乖離した検体の出現頻度は、令和2年度は検査実施数 25,472 人中 13 人(0.05%)、令和3年度は 13,252 人中 4 人(0.03%)と、令和2年度と令和3年度に有意差は認められず、概ね非特異的反応が原因と考えられるが一部には新型コロナウイルス感染症の回復期検体等も混在していた。

このことから、抗原定量値が 4.00pg/mL 以上にも拘らず PCR 検査が(一)となる検体の存在を考慮して、抗原定量検査のカットオフ値 0.67pg/mL 以上の場合には、全ての検体に対して検体中の新型コロナウイルスの RNA の存在を確認するために PCR 検査の実施は必要であるのではないかと考えられた。

【まとめ】

令和3年度も 13,252 人の抗原定量検査を実施し、抗原定量検査でカットオフ値以上の検体を抽出し、PCR 検査で判定するという検査の流れは大量検体を処理することができ、感染防止につながるスクリーニング検査として有益な方法であると再確認できた。

しかし非特異反応なども存在することから、PCR 検査と同程度の感度を有する抗原定量検査でスクリーニングを行い、カットオフ値 0.67pg/mL 以上となった検体は PCR 検査で確認することが重要であると改めて確認することができた。

栃木県における気候変動の将来予測と活用について

栃木県気候変動適応センター(気候変動対策課) 石川 俊行 ○青柳 貴彦 山形 彩華¹⁾

若色 孝子 稲見 啓 岩下 智也²⁾

1) 現矢板市総合政策部総合政策課

2) 現県土整備部都市整備課

1 はじめに

産業革命以降の温室効果ガス排出量の増加に伴い地球温暖化が進行してきている。気象庁が提供している気象観測データによると100年前から現在まで、栃木県(宇都宮市)でも、約2.40℃の気温の上昇を確認することができる(図1)。このような地球温暖化による気候変動は、農業や自然災害、健康等様々な分野において影響を与えている。健康分野、特に熱中症においては、全国的に高齢者の超過死亡者数^{※1}・搬送者数が増加傾向にあることが確認されており、相対的に寒冷な地域において、高齢者死亡率が顕著に増加している²⁾。本県内においても、2010年以降、熱中症者搬送者数が600人/年を超え、2018年には1,548人と過去最高となった(図2)。

栃木県気候変動適応センター(以下、「適応センター」という。)では、栃木県内における気候変動及びその影響等を収集し、普及啓発等を実施している。

本報では、栃木県における気温の予測値を用いて作成した気候変動に関する将来予測マップにより得られた知見等について報告する。

※1 直接・間接を問わずある疾患により総死亡がどの程度増加したかを示す指標。

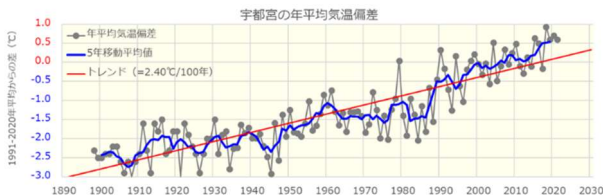


図1 宇都宮市年平均気温偏差(1898~2021年)¹⁾

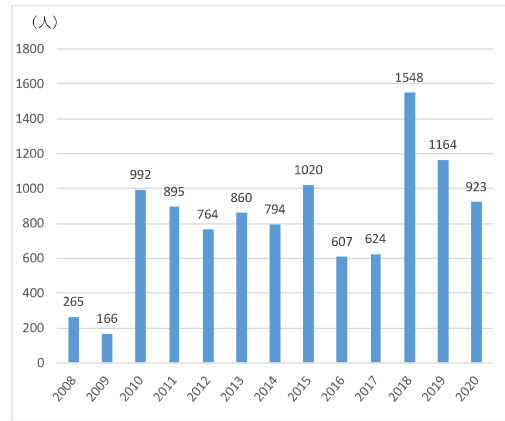


図2 栃木県における熱中症搬送者数(5~9月)³⁾

2 方法

国立研究開発法人国立環境研究所(以下、「国環研」という。)や文部科学省が運営管理するSI-CAT^{※2}が提供するダウンスケーリングデータを用いて、本県で将来起こりうる気候変動における将来予測マップを作成した。

なお、平均気温等の長期的な時間変化については統計的ダウンスケーリングデータを、短時間強雨等の極端現象については、力学的ダウンスケーリングデータを用いた。

※2 気候変動適応社会実装プログラム

2.1 統計的ダウンスケーリング

国環研が提供する「日本域バイアス補正気候シナリオデータ」(NIES2019データ)⁴⁾の気候モデルMIROC5^{※3}から日最低、日最高、平均気温と降水量を抽出し、解析を行った。統計的ダウンスケーリングによる解析事項等を表1に示す。

※3 東京大学/国環研/国立研究開発法人海洋研究開発機構の共同により開発された全球気候モデル

表1 統計的ダウンスケーリング

区分	RCP2.6 (2℃※4 上昇シナリオ) RCP8.5 (4℃※4 上昇シナリオ)
項目	年平均気温、日最高気温 真夏日・猛暑日・冬日の年間日数 年間降水量、日降水量の年最大値 日降水量 100mm 以上の日数
期間	20 世紀末 (1980～2000 年) 2030 年頃 (2020～2040 年) 2040 年頃 (2030～2050 年) 2050 年頃 (2040～2060 年) 2100 年頃 (2080～2100 年)
解像度	1km メッシュ

※4 「2℃」「4℃」とは、工業化以前(1850～1900年)と比べた世界平均気温の上昇量のこと。

2.2 力学的ダウンスケーリング

SI-CAT が提供する「大気近未来予測力学的ダウンスケーリングデータ(東北から九州)by SI-CAT」⁵⁾から、最大時間降水量、最大日降水量、短時間強雨発生頻度、大雨発生頻度、無降水日数を集計・整理し、解析を行った。

各データの整理方法を表2に、解析事項等を表3に示す。

表2 データ整理方法

項目	整理方法
最大時間降水量	200mm/h 以上のデータを除外後、各メッシュデータの 98%値を算出
最大日降水量	温度条件ごとの 372 ケースについて算出、最大値を採用
短時間強雨発生頻度	50mm/h 以上の降雨の年間発生回数を、温度条件ごとの 372 ケースについて算出、最大値を採用
大雨発生頻度	200mm/日以上降雨の年間発生回数を、温度条件ごとの 372 ケース

	について算出、最大値を採用
無降水日数	記録値が 0 の日の年間日数を、温度条件ごとの 372 ケースについて算出、最大値を採用

表3 力学的ダウンスケーリング

区分	現在気候 2℃上昇 (RCP8.5 の 2040 年に相当) 4℃上昇 (RCP8.5 の 2090 年に相当)
項目	最大時間降水量、最大日降水量、 短時間強雨発生回数 大雨発生回数、無降水日数
解像度	5km メッシュ

2.3 将来予測マップの作成

統計的ダウンスケーリング及び力学的ダウンスケーリングにおける解析から算出されたデータをもとに、表1及び表3に示した各項目の将来予測マップを作成した。

3 結果

統計的ダウンスケーリング及び力学的ダウンスケーリングにより得られた RCP8.5 の場合の 21 世紀末における将来予測マップから、本県内における年平均気温は約 4.4℃上昇し、県南部では日最高気温が 40℃を超える地点が現れてくること分かった(図3、4)。

また、最高気温が 30℃を超える真夏日の年間日数が県全体で約 42.4 日増加し、県南部で真夏日が 3 か月以上となること、無降水日数が増加することが分かった(図5、6)。

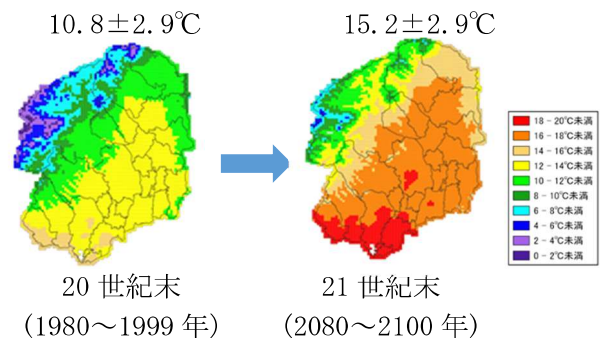
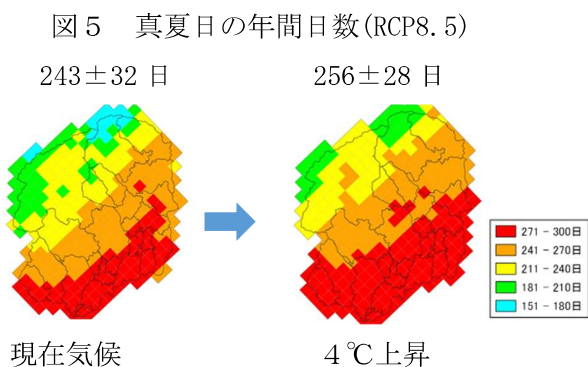
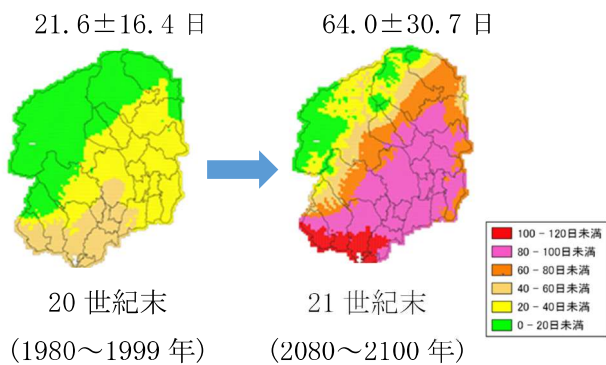
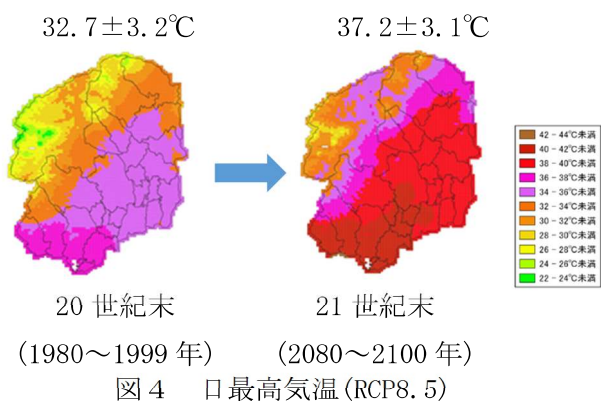


図3 年平均気温(RCP8.5)



4 まとめ

本報では、気温の将来予測値を基に、本県で起こりうる気候変動に関する予測マップを作成した。その結果、21 世紀末の本県における暑熱環境は非常に厳しいと予測された。

現在までの気候変動の影響として、熱中症搬送者数の増加等が確認されているところだが、今後、気温上昇等のために増加する熱ストレスにより、熱中症搬送者数がさらに増加していくことが推察される。

カーボンニュートラル実現に向け温室効果ガスの排出を抑制する「緩和策」が叫ばれる中、すでに起きている、あるいは起こりうる気候変動の影響による被害を回避・軽減する「適応

策」も大変重要となる。

適応センターでは、本結果を様々な分野に活用し、今後とも市町や関係機関等と連携しながら取組や計画に適応策を組み込む「適応策の主流化」を図っていく。

参考文献

- 1) 気象庁ホームページより作成,
https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/annually_s.php?prec_no=41&block_no=47615&year=&month=&day=&view=
- 2) 環境省, 「気候変動影響評価報告書 総説」,
<https://www.env.go.jp/press/files/jp/115261.pdf>
- 3) 消防庁ホームページより作成,
<https://www.fdma.go.jp/disaster/heatstroke/post3.html>
- 4) 石崎 紀子, 2020:CMIP5 をベースにした CDFM 手法による日本域バイアス補正気候シナリオデータ Ver. 202005, 国立環境研究所
<https://www.nies.go.jp/doi:10.17595/20200415.001html#blocek1>
- 5) 佐々井 崇博, (2019), 大気近未来予測力学的ダウンスケーリングデータ (東北から九州) by SI-CAT [Data set], データ統合・解析システム(DIAS),
<https://doi.org/10.20783/DIAS.5>

県内の環境中に排出される廃プラスチック類に関する調査（第3報）

栃木県保健環境センター ○神野憲一 佐藤敬士¹⁾ 小林有見子 黒田彩香 高橋稔 小池静司

1) 現栃木県県土整備部都市整備課

1 はじめに

プラスチックごみ(廃プラスチック類)による海洋汚染が、国際的に大きな問題となっている。日本近海で浮遊する廃プラスチック類の主な発生源として、周辺国からの流出の他、国内陸域からの流出も考えられるが、その原因について解明が進んでいない状況である。

そこで、県内の環境中(主に河川)に排出される廃プラスチック類の実態を把握し、発生抑制対策や普及啓発、環境学習等への活用方法を検討する基礎資料を得ることを目的として、調査を行うこととした。

令和元年度は、環境省や神奈川県の方法を参考に、予備調査として、宇都宮市の中心市街地を流下する田川本川の2地点で水質・底質(河川敷等)の試料を採取・分析するとともに、調査方法を検討した¹⁾。令和2年度は、田川本川及び流入支川を対象としたモデル河川調査を実施した²⁾。令和3年度は、田川流域を対象とした流入経路及び市街地等を踏査し、河川に流出した廃プラスチック類について、発生原因等を検討したので報告する。

2 調査方法

流入経路調査及び市街地調査の調査地点図を、図1に示した。

2.1 流入経路調査

令和2年度に実施したモデル河川調査で河川ごみが多く確認された、田川本川の大曾橋から旭陵橋の区間を、田川沿い及び田川に流入する側溝、水路などを4月に踏査し、河川ごみの散乱状況を記録した(図1)。確認されたごみは、散乱ごみ実態把握調査ガイドライン³⁾(以下、「ガイドライン」という。)に基づき分類した。

2.2 市街地調査

2.1でごみが多数確認された範囲(図1の破線で囲われた範囲)について、11月に周辺の道路や市街地などを踏査し、散乱ごみの流出原因を検討した。確認されたごみは、2.1と同様、ガイドライン³⁾に基づき分類した。

2.3 河川ごみ定点調査

河川ごみがどの程度の期間で河川敷から河川に流出するのかを検討するため、上御田橋において、毎月1回、河川ごみの散乱状況を記録した。上御田橋は、モデル河川調査で田川本川の

最下流地点であり、河川ごみが最も多く確認された地点である。確認されたごみは、2.1及び2.2と同様、ガイドライン³⁾に基づき分類した。



①大曾橋、②錦橋、③大錦橋、④大泉橋、⑤東橋、⑥幸橋、⑦宮の橋、⑧押切橋、⑨洗橋、⑩城東橋、⑪築瀬橋、⑫築瀬大橋、⑬金井田橋、⑭旭陵橋

図1 調査地点図(流入経路調査及び市街地調査)

出典：国土地理院発行5万分の1地形図を加工して作成

3 結果及び考察

3.1 流入経路調査結果

流入経路調査の結果を図2に示した。河川ごみ個数では、全地点でプラスチック類が大きい割合を占めていた(各地点の位置は、図1参照)。右岸より左岸に河川ごみの個数が多く、宮の橋から下流の築瀬橋にかけての橋梁間毎に、河川ごみが30~50個確認された。最も多かったごみはタバコの吸い殻であったが、近くにJR宇都宮駅があり、河川沿いに遊歩道があることから、通勤や散歩などの途中でポイ捨てされたと考えられた。また、田川に流入する水路にも河川ごみが確認された。

3.2 市街地調査結果

散乱ごみが確認された場所を分類し、その結果を図3に示した。その結果、路上、水路周辺、ごみステーション・ごみ箱で約70%を占めていた。ごみステーションでは、防鳥ネット等がかけていないごみ袋がカラス等に荒らされ散乱していたケースや、飲料自動販売機の脇に設置したごみ箱からPETボトルなどがあふれていたケースが確認された。さらに、ごみステーションでは、収集日以外に出されたごみが残置されていたケースも散見された。

水路周辺にも散乱ごみが確認され、周辺の住宅地などからの意図しない流入の他、投棄されたと見られるゴミ袋も確認された。植栽や空地・空家など、人目のつかない場所で確認されたごみがあり、ポイ捨てなど意図的な散乱も原因として考えられた。その他、三角コーンの破損が見られた所もあり、プラスチック製品の屋外での不適切な管理状況も、散乱の一因と推察された。

3.3 河川ごみ定点調査結果

定点調査結果を図4に示した。調査地点において、護岸の形状が異なるため、コンクリート護岸を区域1、植生に覆われた箇所を区域2とした。区域1と区域2のいずれにおいても、廃プラスチック類(プラスチックと発泡スチロール)は、月毎に河川ごみ個数の変動が確認された。廃プラスチック類のうち、重量の軽い袋やシートの破片は数ヶ月以内に確認されなくなったが、比較的重量の重いPETボトル等は、植生にトラップされている場合などに、調査期間を通じて確認された。護岸の形状を比較すると、区域1より区域2の方が、廃プラスチック類は長期間留まる傾向が見られた。

4 まとめ

- ・ 流入経路調査の結果、田川の右岸より左岸の河川ごみが多く、宮の橋から下流の築瀬橋にかけての各橋梁間で、各々30~50個確認された。
- ・ 市街地調査の結果、散乱ごみが多く確認された場所は、路上、水路周辺、ごみステーション・ごみ箱であり、主に意図しない散乱が原因と考えられ、ポイ捨て防止のみならず、施設等の管理の徹底についても普及啓発や注意喚起が必要と考えられた。
- ・ 田川に流入する水路周辺では多くの散乱ごみが確認されたことから、水路及びその周辺の定期的な清掃が必要と考えられた。

- ・ 河川ごみ定点調査の結果、短時間で流出するものの他、植生に覆われた箇所では長期間留まる傾向があり、河川敷の定期的な清掃も海洋汚染の防止に有効と考えられた。

5 謝辞

本調査に際して、機器分析に関する操作研修や解析などで御助言等いただくとともに、機器利用に格別の御配慮いただいた栃木県産業技術センターに深謝いたします。

6 参考文献

- 1) 神野憲一他、県内の環境中に排出される廃プラスチック類に関する調査(第1報)、第58回栃木県公衆衛生学会抄録、96-98、2020.
- 2) 神野憲一他、県内の環境中に排出される廃プラスチック類に関する調査(第2報)、第59回栃木県公衆衛生学会抄録、86-88、2021.
- 3) 散乱ごみ実態把握調査ガイドライン、(環境省水・大気環境局水環境課)、2021.

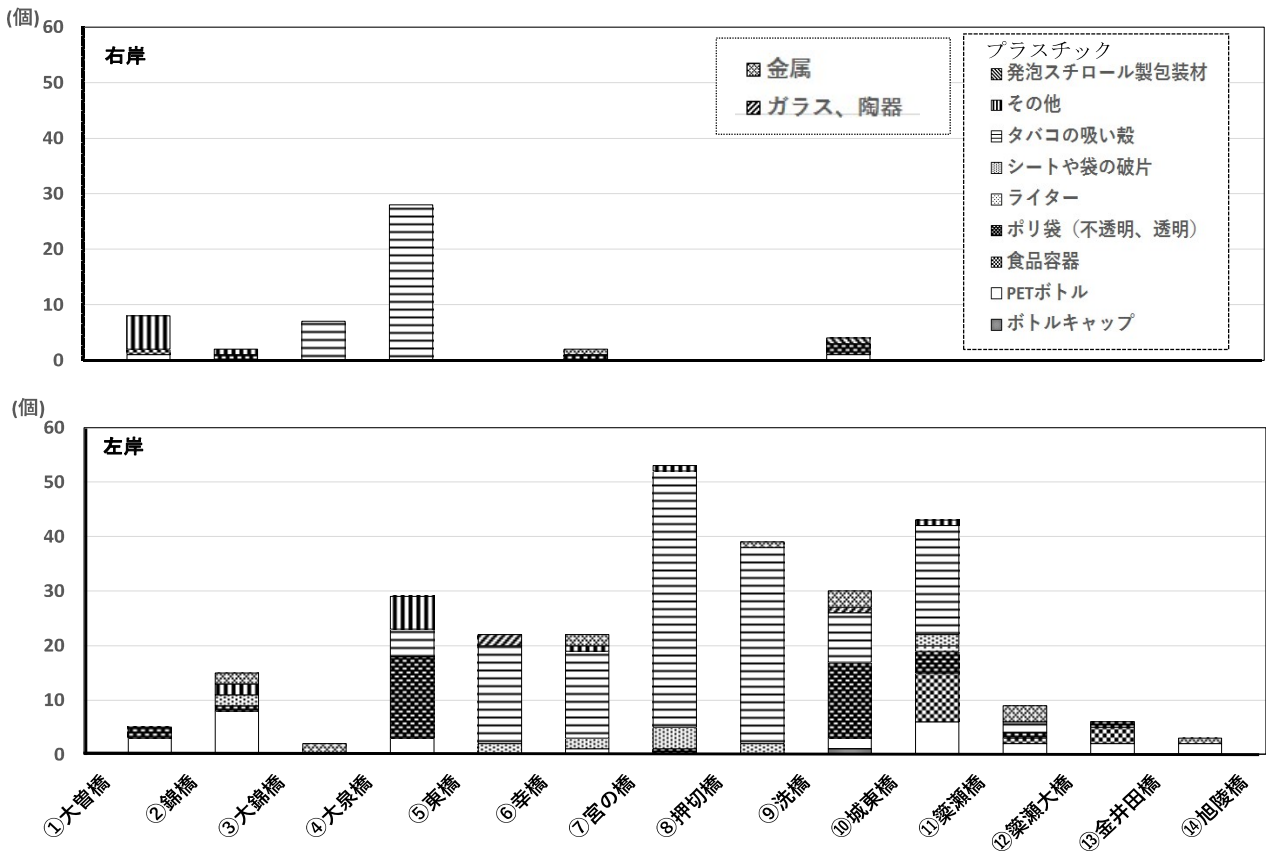


図2 流入経路調査の結果（田川本川の橋梁間毎の河川ごみ個数）

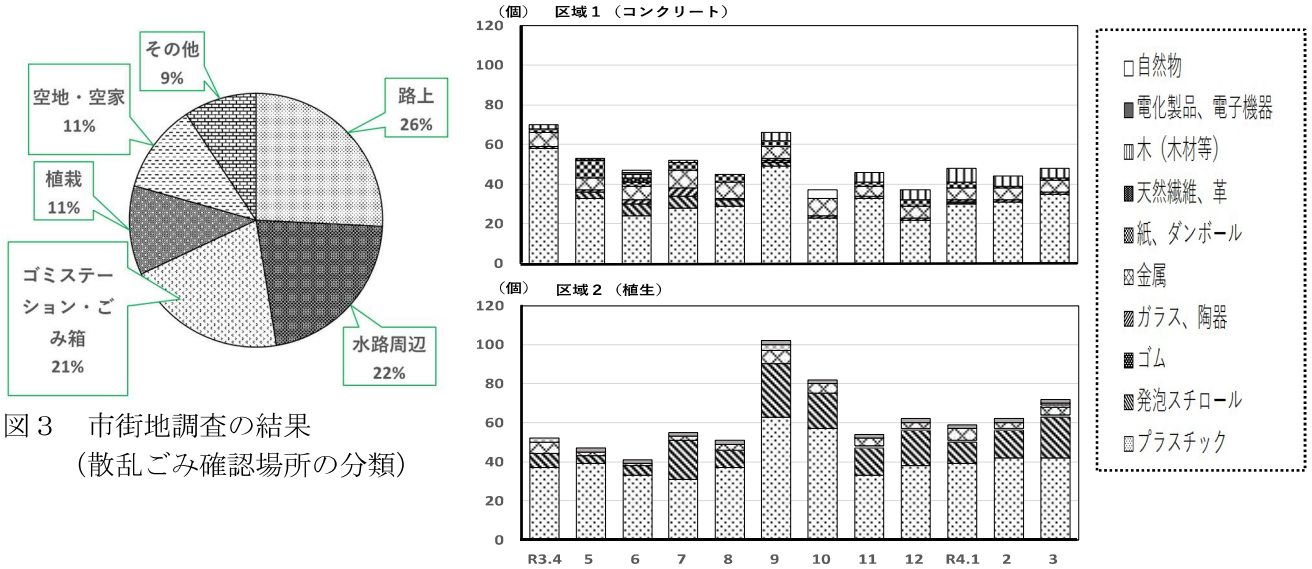


図3 市街地調査の結果 (散乱ごみ確認場所の分類)

図4 河川ごみ定点調査の結果 (河川ごみ個数の経月変化)

GMP関連業務の電子化への取り組み事例紹介（中小企業としての対応）

ジェーピーエス製薬株式会社

○櫻井 恵弥

1. はじめに

弊社は、OTCを中心とした漢方製剤をメインに製造・販売を行っている医薬品メーカーである。芳賀工業団地内にある栃木工場では、漢方エキス製造から最終製品に至るまでの一貫製造を行っている。

人々の健康に直接関与する医薬品製造業として、GMP（Good Manufacturing Practice：医薬品等の製造所における製造管理及び品質管理に関する基準）を順守するためのシステム構築を目的とし、これまで進めてきたGMP関連業務の電子化への取り組み事例を、予算・時間・規模的な制限があるなかでの中小企業としての立場から紹介させていただく。

2. 取り組み事例紹介

今回紹介する事例は、時系列順に次の5項目となり、これらには将来的な検討も含まれる。

1) 生産管理システムの導入

これまでの弊社における生産管理体系は、主にExcel、Accessを用いて生産予定の作成と在庫管理を行っていた。しかしこれらには、業務ごとに在庫の一元管理ができない、OS・アプリケーションソフトのアップデートによる互換性に起因する不具合が発生する、プログラムの制御が属人的であるなど将来の運用に不安を抱えていた。このような問題を解消するために生産管理システムの導入を決定した。

生産管理ソフト業者の選定には、業務形態に沿っているか、カスタマイズ性（自社の要求に合わせて即座に対応してくれるか）、導入コスト、供給実績（同規模・同業者への実績）、ベンダーの安定性などを条件に絞り込んでいった。最終プレゼンテーションの結果、NECネクサソリューションズ様（発注元）及び朋電舎様（ソフト供給元）に決定した。2012年より導入準備を開始し、要件定

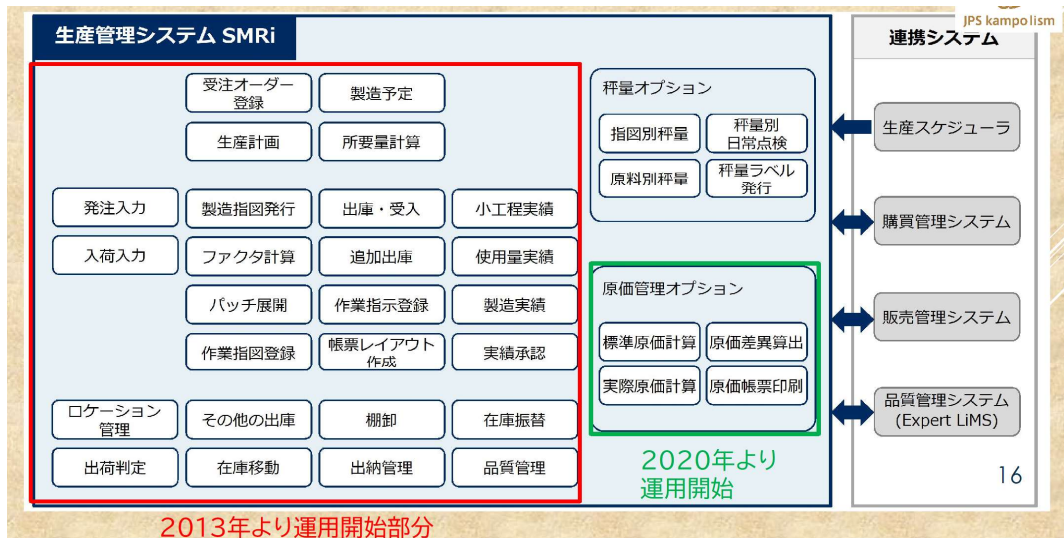
義・概要設計を含めたDQ（設計時適格性評価）やマスターデータの作成と照合を進めていった。弊社での取扱い品目数は約300にもおよび、正確なものを作っていくためには、マスタの作成→確認→差異の発見→修正→確認→・・・確定までの作業を繰り返す必要があり、この作業に約1年を要した。そして2013年より運用を開始した。運用開始後も、システムとして動かしてみても明確になる事案もあるため、実在庫とシステム在庫の照合（日常的管理）や差異が発生した場合の追跡・修正を繰り返し、適切な運用に乗せていくよう進めた。この結果、在庫管理の一元管理化による生産遅延の解消、システムメンテナンスの負荷減へと繋がった。将来的には、すべての業務システムを一本化し、属人性を排したシステム運用を目指す。（図1）

2) 工場全体の無線LAN化

製造現場も含め工場のどの場所からでもネットワークへの接続を可能にするため、2018年から順次、工場全体の無線LAN化を行った。これにより、iPad等を用いたドキュメントの電子化（ペーパーレス化）、将来導入予定のバーコード計量システム、LIMSなどの導入環境に備える。

3) 製造原価管理システムの導入

2020年より、1)のオプション機能となる製造原価管理システムを導入した。製造原価の変動要因には弊社の製造上特有のものが大きく関わっており、少量多品種製造であること、天産物である原料生薬の価格変動、原薬エキスの収率変動などが挙げられる。このような背景から、製造原価と価格変動の要因を正確に把握することを目的とし、導入に至った。システムの導入により、短時間での原価算出に加えて、これらの変動要因をふまえた一定期間内の価格



(図 1) 生産管理システム (SMRi) の構成図及び連携システム

の把握が可能となったが、その一方で、実生産での少量多品種製造により生産で工程が分かれるため、正確な作業工程数が取りづらく、正確な原価の把握が難しいという点では課題を残している。

4) バーコード計量システムの導入

2021年より導入検討を開始した本システムであるが、検討に至る背景としては、一昨年に起こった製薬会社の原料取り違い（睡眠導入薬混入）問題がある。この問題への対応として、二人体制での確認などソフト面での対応に加え、ハード面でも間違いが起こらないような業務体制が求められていること、そしてGMP省令公布通知第3逐条解説（11.（1）②第8条第1項第2号関係〈製造工程、製造設備、原料、資材及び製品の管理に関する手順〉）でもバーコードシステムによる計量を推奨していることから、より正確な秤量システムを構築することを目的としている。

検討段階での注意事項・要検討項目（リスクマネジメント）として、

- ・バーコードラベルの貼り間違い防止
- ・計量方法の選択
- ・バーコードリーダーの選択
- ・生薬の指標成分含量調整
- ・導入時（切り替え時）の対応について

などが挙げられた。これらをDQに落とし込むことで、さらに掘り下げた検討を進めた。

挙げられたリスクのうち、よりポイントとなる部分をリスクコントロールの例として紹介する。

① バーコードリーダーの選択

バーコードリーダーの選択基準として、バーコードの判読性（斜め、ゆがみがあっても読める）、堅牢性（ぶつけても破損せず異物混入を防げる）、Windows対応（ソフトの関係でWindows OSが必要）、操作性（実作業時の操作性や落下防止）に重点に置き、検討の結果、キーエンス社製のガングリップを採用した。

② 生薬の指標成分含量調整

弊社での製造上の特徴として、生薬を秤量する場合、生薬は天然物であるがゆえにロットにより成分含量が異なるため、製造指図の含量を揃えるには在庫にある生薬ロットからの組合せ秤量が必要となることが多い。したがって、合成医薬品原料のように先入れ先出しができないという課題がある。

このような要件定義の検討から原薬エキス製造のための生薬秤量と製剤製造のための原料（製剤原料）秤量を1つのシステムで同一に処理することは難しいと判断し、リスクを回避するため、コストは高くなるが工程ごとのシステムの分割導入とすることを決定した。上記のリスクコント

ロールを経て、2022年夏より製剤化工程、2023年より生薬秤量工程において運用を開始する。

(図2)



(図2) 生産管理システム (SMRi) への計量システム追加

5) LIMS 導入準備について

LIMS: ラボラトリー情報管理システム (Laboratory Information Management System) とは、実験室内の試験業務を統合管理するシステムで、分析業務の全てのフェーズで情報を管理できる。2021年のGMP省令の改正ポイント(新設項目)においても、データインテグリティ

(第八条第2項、第二十条第2項)を求められていることから、ALCOA+の対応とペーパーレス化を目的とし、LIMS導入検討の準備を開始した。

しかしながら、現時点で弊社においてLIMS導入を進めるには、取扱い品目が多岐にわたり試験構成・内容が複雑であることから現状のままでは導入しても使いこなせない可能性が高く、高価であり予算化も必要であることから段階的な導入準備が必要と判断した。まず、ハード面では、HPLCなどLIMSに対応できる監査証跡対応のハードに入れ替えを行っていく。ソフト面では、承認書の試験方法を可視化(フローシートの作成)、LIMSの前段階として安価に導入できるi-Reporterを用いてExcel関数を使用したスプレッドシートのような使い方で定量計算の自動化を進めている。

i-Reporterとは、iPad、iPhone、Windowsタブレットを活用したペーパーレス電子帳票ソリューションであり、現場で作成している報告書や入力帳票などをそのまま電子化することで、

業務のスピード化や効率化、帳票データのデジタル化により情報の活用化ができる。iPadを利用することで現場でのデータ入力が可能になり、コンバートはExcelベースで付加機能も付けられる。また、入力データは関連部門の関係者がリアルタイムで閲覧可能で、過去データの閲覧もグラフ化することによりトレンド傾向が容易に確認できるようになった。品質管理部門では、試験データの数値を入力することで自動計算による適否判定および試験の生データやクロマトグラフを試験結果と紐づけての管理が可能となった。

LIMSの前段階として導入したi-Reporterではあるが、その機能は品質管理部門だけでなく、製造現場においても活用を進めている。例えば、漢方エキスの品質において重要な指針となる生薬の刻み粒度について、刻みの記録と生薬の写真を参考データとして蓄積・管理を行っている。また、製造工程においては、工程管理上の数値を容易にグラフ化することが可能になり、データが蓄積・可視化されることにより、普段と違う傾向が見られた際などの作業員への注意意識を高めることへと繋がった。

3. おわりに

中小企業の観点からすると、はじめから大きなシステムを導入することはコスト的にも人員的にも難しいものである。ここまでの運用に至るまでには、適切に人材を確保することもポイントの一つであった。今回の事例については、段階的ではあるが、将来的なシステム構築へ繋げていくものとして、私共も引き続き取り組んでいく次第である。

医薬品製造工場におけるリモート監査事例

持田製薬工場(株) 品質管理本部 GMP 管理部 ○吉田 光一 高阿田 克己

1. はじめに

弊社ではコロナ禍において、医薬品製造所として安定的な供給を維持するために徹底した感染防止対策を実施している。しかし、緊急事態宣言やまん延防止等重点措置による人の移動制限により、実地での監査の受入が困難になっている。こうした環境下、製造販売業者より Web 会議システムやデジタル機器を活用した監査（リモート監査）の依頼が増えてきている。

本稿では、弊社が受けたリモート監査について、事前準備から監査時までの確認事項やポイント、その有効性と課題等について、解説を交えながら事例紹介する。

2. リモート監査事例

リモート監査とは、人の移動を伴わず、クラウド等のデータ共有システムや Web 会議システム等ライブでの情報共有を活用して遠隔的に GxP 適合状態を確認することである。弊社におけるリモート監査の実施例を表 1 に示す。

表 1 弊社におけるリモート監査の実施例

年度	完全リモート	実地(ツアーのみリモート)
2020	1 回	1 回
2021	1 回	1 回

ステップ 1 : 監査者との調整

1) 監査実施の依頼、監査方法の確認

- ・ 通常の実地監査と同様、製造販売業者等から監査を打診される。
- ・ 感染状況や感染防止対策（移動制限の有無等）を考慮して、実施の延期、リモート監査若しくは書面調査への変更を確認する。
- ・ 監査者の意向を踏まえ監査形態を調整する。

2) 日程調整

- ・ 監査者／製造所双方の都合に合わせた日程調整を行う。

- ・ 実地監査に比べて事前準備（書類の PDF 化、ビデオの準備等）に労力がかかるため、十分な準備期間を確保する。
- ・ 弊社の場合、定期の実地監査と概ね同じ 2 日間（1 日あたり 8 時間：休憩時間含む）でリモート監査が実施された。

ステップ 2 : 監査者との事前準備

1) 監査者との打ち合わせ

- ・ セキュリティに関する規制や会社規定を確認の上、必要な IT ツールを確保する。
 - 資料共有フォルダ：例) OneDrive、Box、SharePoint、Teams 等
 - Web 会議システム：例) Teams、WebEx、Google Meet、Skype、Zoom 等
 - ツアー時使用機器：例) PC、タブレット、スマートフォン、スマートグラス、ビデオカメラ、固定スタンド、收音マイク、モバイル Wi-Fi、Wi-Fi 中継器、モバイルバッテリー等
 - ドキュメントレビュー時使用機器：例) 書画カメラ等
- ・ 事前要求資料を確認する。
 - 資料共有フォルダの活用、メール、その他媒体（CD、DVD 等）

表 2 弊社で実際に使用した IT ツール

項目	ツール
Web 会議システム	Teams (2 台準備)
資料共有フォルダ	当時会社規定により資料共有フォルダが使用できなかったため、文書を PDF 化し、ファイル転送システム（デジ急便）にてファイルを送付
ツアー時使用機器	外付け USB カメラを接続したノート PC、iPad (2 台)、iPhone、ビデオカメラ、モバイル Wi-Fi、Wi-Fi 中継器
ドキュメントレビュー時使用機器	USB 書画カメラ (2 台準備) (サンワサプライ スタンド スキャナー：400-CAM073)

監査対象・監査範囲のすり合わせ

- ・ 監査の範囲を確認する。
- ・ リモートツアーの詳細確認：ライブで確認できること、できないことを共有し、あらかじめ確認方法を合意する。
- ・ ドキュメントレビューの詳細：あらかじめ提供する文書、書画カメラで共有する文書等を確認する。
- ・ 資料共有フォルダ、Web 会議システムの動作確認を行う。
- ・ 録画禁止等に関する秘密保持契約書締結の可否を確認する。

2) 製造所側の事前準備

事前に模擬リモートツアーを実施

- ・ リモートツアーをする場所からの通信状況を事前に確認する。
 - ライブビデオ及びオーディオの品質（解像度等）を確認する。
 - Wi-Fi 状況を確認し、接続状況が悪い場合は、モバイル Wi-Fi、ルーターの増設、テザリング等を活用する。
 - 移動途中で通信切断が起こることがあるため、通信切断後の復帰手順をあらかじめ確認しておく。
 - 無菌室等、カメラや PC を持ち込みできないエリアは、固定ライブカメラの活用や事前にカメラ撮影した画像を用いた説明を検討する。
 - ライブビデオカメラの撮影者及びサポート者のトレーニングを実施する。
 - 安定した撮影のためスタビライザー（ジンバル）等を検討する。

ドキュメントレビューの事前確認を実施

- ・ 書画カメラの使用方法を事前に確認する。
 - 監査中にピンボケしたり、解像度が落ちたりすることがあるので、あらかじめ書画カメラの使用方法を確認しておく。

- IT トラブルに備え、予備を準備しておく。

- ・ 製造実行システム（MES）、ラボ情報管理システム（LIMS）、文書管理システム等を導入している場合は、社内システム内のデータの提示方法をあらかじめ確認しておく。
 - 弊社の場合は、紙の記録を書画カメラで提示した。

リモート監査の場合は、事前の準備を十分行うことで、双方にとって有意義な監査となる。

ステップ3：監査時

1) オープニング

- ・ あいさつ、自己紹介、監査目的の説明
- ・ 製造所、製造品目の概要説明
 - 基本的には実地監査と同様に進める。
 - 円滑なコミュニケーションを考慮し、オープニング時はお互いの表情が見えるようにカメラ機能を ON にする。ただし、安定した回線接続を確保するために、ツアー時等以外はカメラ機能を OFF にすることが望ましい。

2) ツアー

- ・ ネット環境へのトラブル対応
 - ライブ中継の場合、弊社では撮影者と説明者を分けた。説明者は会議室で監査者と一緒に撮影画像を見ながら監査者への説明を行った。
 - 会議室にいる説明者は、監査者の要求に合わせて、場所の全体（機器全体、動線など）を写したり、細部（校正ラベル、備え付けの記録内容など）を写すように撮影者への指示を的確に指示する。
 - 音声途切れる、画面が固まる等はしばしば発生することなので、電波状況の確認（場所の移動等）、あらかじめ撮影した写真にて説明及びシステムへの再接続を試みる等、落ち着いて対応する。

3) ドキュメントレビュー

- PDF ファイルの共有、書画カメラ、ファイル共有システムを使い分ける
 - PDF 化している文書は Web 会議アプリで画面共有する。また、手書きの記録書等を提示して説明する場合は、書画カメラを使用する。その際、どこを説明しているかわかりにくいいため、説明箇所を指し示す。
 - 弊社では書画カメラ 2 台を準備して、次に説明する文書を別の書画カメラで準備しておき、モニターを切り替えることで待ち期間を短縮した。
 - バックアップで別の PC を Web 会議に接続しておくが良い。

4) ブレークタイム、ラップアップ

ブレークタイム

- 実地監査以上に高い集中力／緊張感が必要であり、適当な間隔で休憩が必要である。
- リモート監査中は休憩を入れることを忘れがちである。アジェンダで休憩間隔を決めておくとよい。
- 説明の区切りで休憩の要否を確認する。

ラップアップ

- 基本的には実地監査と変わらない。
- 良かった点、観察事項等についてスライド形式（文字情報）で提示されるとより理解が深まる。

ステップ4：監査後の監査者とのやり取り

- 監査終了後も監査者から追加質問等のやり取りが続くことがある。
- 監査報告書、是正措置・予防措置のやり取りは実地監査と変わりはない。

3. リモート監査の特徴と課題事例

リモート監査の特徴を表 3 に、課題と対応案を表 4 に示す。

表 3 リモート監査の特徴

リモート監査の利点	
監査者	移動時間や経費等が削減できる
	書面監査に比べて情報量が多く、直接質疑ができる
製造所	説明者等の時間的拘束が短縮できる
	監査に他メンバーが参加でき、教育や議論ができる
	感染症対策等を気にしなくて良い
共通	要点を絞り議論ができる
	日程調整が実地監査と比べて容易

表 4 リモート監査の課題と対応案

	課題	対応案
監査者	確認できる範囲が狭い	事前に確認したい記録などを提供／共有しておく
	プラントツアー時に場所がわかりにくい	図面にツアールートに記載したものを共有する（図面の提供が不可能な場合には、事前打ち合わせをもって、ツアールートを合意しておく）
	情報の信頼性確認が難しい	DI を掘り下げた調査は難しいため、そのような目的の場合は実地監査が適正と考える
製造所	書類の PDF 化やビデオの準備等で実地監査以上に労力がかかる	十分な準備期間を確保するとともに事前に確認対象・範囲を監査者と共有しておくことで無駄な労力を省ける
	文書や画像等が漏洩するリスクがある	録画禁止等に関する秘密保持契約締結を要求する
共通	意思疎通が難しい	質問事項をリスト化したものを事前に提供していただくことスムーズに進む
	通信トラブルによる中断	ライブの他に事前に撮影した動画・写真も準備しておく

4. まとめ

現時点では、リモート監査は実地監査の代替になり得るとまでは言えない。一方、コロナ禍による移動制限等がある中で、書面監査に比べて得られる情報量は多く、質疑がしやすいことから、実地監査が困難な場合の代替手段としては有用と考える。本稿が少しでも参加者各位の対応の一助となれば幸いである。