

I 調 査 研 究 報 告

短 報

自然毒による食中毒事例（2016年）

長岡 由香, 佐田 厚史

Food Poisoning by Natural Toxins in Yamagata Prefecture (2016)

By Yuka NAGAOKA and Atsushi SADA

2016年に山形県内で発生した自然毒による食中毒事例は10件であった。これらは、すべて植物性自然毒であり、原因としては、スイセンによる食中毒2件、ヨウシュヤマゴボウによる食中毒1件、ツキヨタケによる食中毒7件であった。

そのうち当所に調査依頼のあった事例は2件であった。この2件は、いずれもキノコの調理品を喫食し、嘔吐の症状を呈した事例である。残品について、高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計(LC-MS/MS)により分析した結果、いずれもツキヨタケの誤食による食中毒と判明した。

その他の8件については、残品の形態的特徴等で判定可能であったため、調査依頼がなかった。

Key Word : 食中毒, 自然毒, 植物性自然毒, ツキヨタケ, illudin S

I はじめに

自然毒による食中毒事例において、理化学的検査による究明が必要な場合は、食品安全衛生課又は管轄保健所から依頼を受け、当所で原因物質の調査を行っている。

2016年に、自然毒による食中毒は10件発生した(表1)。そのうち、植物性自然毒のツキヨタケによる食中毒2件について依頼があり、調査を実施した。これらの概要について報告する。

事例の概要は、食品安全衛生課及び保健所による調査報告からまとめた。当所で調査を行った分析条件や結果については、当所の調査報告書からまとめた。

II 事例の概要

事例1：ツキヨタケの油炒めによる食中毒

10月21日、医療機関から保健所に、キノコによる食中毒を疑う患者4人が受診した旨の連絡があった。保健所の調査によると、10月21日に山林で採

取したキノコを、同日午後5時30分頃、自宅で油炒めにして食べた後、喫食者4人全員が午後7時30分頃から嘔吐の症状を呈し、医療機関を受診した。喫食者4人、発症者4人で、そのうち入院患者は1人であった。

事例2：ツキヨタケの鍋物による食中毒

10月22日、医療機関から保健所に、キノコによる食中毒を疑う患者2人が受診した旨の連絡があった。保健所の調査によると、10月22日に山林で採取したキノコを、同日午後7時頃、自宅で鍋物にして食べた後、喫食者3人全員が午後8時頃から嘔吐の症状を呈し、そのうちの2人が医療機関を受診した。喫食者3人、発症者3人で、そのうち入院患者は2人であった。

III 材料及び方法

1 試料

事例1及び事例2は、どちらも調理済み残品1検体を均質化して試料とした。

2 標準品

ツキヨタケからメタノールエキスを作成し、これを各種クロマトグラフィーで分離精製し、illudin S を単離した¹⁾。

Illudin S を秤量し、メタノールに溶解したものを適宜希釈して標準溶液とした。

3 抽出及び精製

試料 5.0 g を量り、メタノール 50 mL を加えてホモジナイズした。これをろ過後減圧濃縮して、10%メタノール 20 mL に溶解し、メタノール 5 mL、水 5 mL でコンディショニングを行った Oasis HLB に負荷した。20%メタノール 5 mL で洗浄後、メタノール 5 mL で溶出した。これを減圧濃縮し、メタノール 1 mL に溶解して試料溶液とした。

4 分析条件

装置は、高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) (高速液体クロマトグラフ: Agilent 社製 Agilent 1100 シリーズ、質量分析計: AB Sciex 社製 API 2000) を用いた。

LC-MS/MS 条件は既報²⁾に従った。すなわち、分析カラムは Inertsil ODS-3 (2.1 mm i.d. × 150 mm, 5 μm) を用い、カラム温度は 40°C、移動相は 5 mM ギ酸アンモニウム:メタノール (7:3)、移動相流速は 0.2 mL/min とした。イオン化法は ESI (Positive)、ターボガス温度は 450°C、試料注入量は 5 μL とした。定量用モニタリングイオンは(m/z): 265→217、確認用モニタリングイオンは(m/z): 265→201 とした。

IV 結果及び考察

本法における illudin S の定量限界は 0.28 μg/g である¹⁾。調査依頼は、illudin S が検出されるかどうかの定性試験であり、定量限界を超えた検体について、検出と判定した。

事例 1 及び事例 2 の検体について、いずれも illudin S が検出され (参考定量値 事例 1: 128.8 μg/g, 事例 2: 7.5 μg/g)、ツキヨタケの誤食による食中毒と判明した。

山形県内において、ツキヨタケによる食中毒は頻

繁に発生している。ムキタケ、ヒラタケ等の食用キノコと形態が似ていることが誤食の原因と考えられる。

2016年に、ツキヨタケによる食中毒は7件発生し、そのうちの2件について理化学的検査による調査を行った。5件は残品の形態的特徴等で判定可能であったため、調査依頼がなかった。

ツキヨタケに関しては中毒症状とそれを引き起こす illudin S の量の正確な知見は無いが、illudin S として 1 mg 以上の摂食により中毒が起こると推定されている¹⁾。

調理品の場合 illudin S は煮汁にも移行している²⁾。事例 1 の検体は油炒めであり、汁がなかったため、illudin S は具材に多く残存していたと考えられる

(参考定量値 : 128.8 μg/g)。事例 2 は鍋物であり、検体は具材のみで煮汁は入っていなかった。illudin S が検出されたが、事例 1 に比べて少ない量であった (参考定量値 : 7.5 μg/g)。これは、毒成分の一部が煮汁に移行し、具材中には少なくなったためと推定される。

食中毒原因物質究明のための理化学的検査において、検体が調理品の場合、可能であれば煮汁も共に回収することが必要と考えられる。

自然毒の食中毒は、採取者が家庭内で調理し摂食することで発生するケースが多い。しかし、2016年の自然毒食中毒事例において、販売店で購入したキノコによる食中毒が1件発生した。調理残品及び販売残品の形態的特徴からツキヨタケと判明したが、流通品の食用キノコに有毒キノコが混入した場合、被害が拡大する危険性がある。今回の事例では、販売されたのが1袋のみであったため、発症者は1家族3人であった。被害を最小限にするためにも、迅速な原因物質の究明を行うことが必要である。また、食中毒を未然に防ぐために、採取場所や市場等でツキヨタケの判別を行うことのできる簡易な方法の開発が待たれる。

V 文献

1) 笠原義正ら：LC/MS/MSによるツキヨタケおよび食中毒原因食品中の illudin S の分析，食品衛生学雑誌，50，167-172，(2009)

2) 和田章伸，笠原義正：ツキヨタケの中毒成分 illudin S の LC/MS/MS による分析，山形県衛生研究所報，43，1-5，(2010)

表 1 2016 年に発生した自然毒による食中毒事例の概要

発生	発症時間	発症者数	喫食者数	死亡者数	原因食品	症状	原因物質
3月	40分後	1	1	0	スイセンの卵とじ	吐き気，嘔吐	スイセン
4月	30分後	2	2	0	スイセンの生及びおひたし	嘔吐	スイセン
10月	2時間後	1	1	0	ヨウシュヤマゴボウの酢漬け	吐き気，嘔吐，下痢	ヨウシュヤマゴボウ
10月	1時間後	2	2	0	ツキヨタケのバター炒め	吐き気，嘔吐，下痢，腹痛	ツキヨタケ
10月	1時間後	2	2	0	ツキヨタケの味噌汁	吐き気，嘔吐	ツキヨタケ
10月	1時間後	1	1	0	ツキヨタケの煮物	吐き気，嘔吐，下痢，腹痛	ツキヨタケ
10月	1時間後	3	4	0	ツキヨタケの煮物	吐き気，嘔吐	ツキヨタケ
10月	2時間後	4	4	0	ツキヨタケの油炒め	嘔吐	ツキヨタケ ※
10月	1時間後	3	3	0	ツキヨタケの鍋物	嘔吐	ツキヨタケ ※
10月	2時間後	3	3	0	ツキヨタケの煮物	吐き気，嘔吐，下痢，腹痛	ツキヨタケ

※：検査依頼のあった事例（依頼のなかった事例は残品の形態鑑定により判定した）

短 報

**山形県に流通する農産物中の残留農薬検査結果
(平成 18 年度～平成 28 年度)**

萬年美穂子, 佐田厚史

**Survey of Pesticide Residues in Agricultural Products
in Yamagata Prefecture from April 2006 to March 2017**

By Mihoko MANNEN and Atsushi SADA

山形県内に流通する農産物等の安全性確保を目的として、当所では農産物中の残留農薬検査を実施している。今回、ポジティブリスト制度が施行された平成 18 年度から平成 28 年度までの 11 年間における残留農薬検査の実施状況及び農薬の検出状況をまとめた。総数 1,030 検体中 277 検体から延べ 472 農薬が検出された。このうち、食用ぎく、ばれいしょ、ほうれんそう、こまつなの計 4 検体から食品衛生法の残留基準値を超過する農薬が検出された。延べ農薬数からみた超過検出率は 0.003%であった。最も多く検出された農薬は殺菌剤のクレソキシムメチルで、62 検体から検出された。

Key Words : 残留農薬 pesticide residues, 農産物 agricultural products

I はじめに

当所では、県内に流通する農産物等の安全性確保を目的として、毎年度策定される山形県食品衛生監視指導計画及び県内流通農産物等残留農薬検査事業実施要領に基づき残留農薬の検査を実施している。今回、ポジティブリスト制度が施行された平成 18 年度から今年度までの 11 年間における農産物の残留農薬検査の実施状況及び農薬の検出状況をまとめたので報告する。

II 材料と方法**1 検査対象農産物**

平成 18 年度から平成 28 年度までに、県内 4 保健所の食品衛生監視員が管内の小売店舗もしくは市場から収去し当所に搬入された 28 種類の農産物 1,030 検体を検査対象とした。

2 検査対象農薬

検査対象農薬については、年度により検査項目が異なるため、検査回数にかかわらず検査を実施したすべての農薬を対象とした。203 項目の農薬 (表 1)、延べ 143,144 農薬を検査対象とした。

3 試験方法

試験は、「食品、添加物等の規格基準」¹⁾及び厚生労働省通知²⁾「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」に規定する試験法に基づき実施した。

4 装置

検査に使用した分析機器は、以下のとおりである。

- 1) ガスクロマトグラフ質量分析計
GC6890/MSD5975 (Agilent 社製)
- 2) 炎光光度検出器付ガスクロマトグラフ
GC-14A (㈱島津製作所製)
GC-2010Plus (㈱島津製作所製)
- 3) 電子捕獲検出器付ガスクロマトグラフ
GC6890N (Agilent 社製)
- 4) 高速液体クロマトグラフ - タンデム質量分析計
Agilent 1100 シリーズ (Agilent 社製)
API2000 (AB SCIEX 社製)

Ⅲ 結果及び考察

1 生産地別検出状況

検査を実施した 1,030 検体中 23 農産物 277 検体 (26.9%) から延べ 472 農薬 (0.33%) が検出された。生産地別の検出状況は、県内産 585 検体中 230 検体 (39.3%)、県外産 408 検体中 46 検体 (11.3%)、輸入品 37 検体中 1 検体 (2.7%) で、県内産の農産物の約 4 割から何らかの農薬が検出された。そのうち、県内産 2 検体 (0.34%)、県外産 2 検体 (0.49%) 計 4 検体から食品衛生法の残留基準値を超過する農薬が検出された (表 2)。

表 1 検査項目

1 BHC	42 キノクラミン	83 チオベンカルブ	124 ビリプロキシフェン	165 プロピコナゾール
2 γ-BHC(リンデン)	43 キャブタン	84 チフルザミド	125 ビリミノバックメチル	166 プロピザミド
3 DDT	44 キントゼン	85 テトラクロルピホス	126 ビリミホスメチル	167 プロヒドロジャスモン
4 EPN	45 クレソキシムメチル	86 テトラコナゾール	127 ビリメタニル	168 プロフェノホス
5 XMC	46 クロチアニジン	87 テトラジホン	128 ビレトリン	169 プロボキスル
6 アクリナトリン	47 クロルタールジメチル	88 テニルクロール	129 ビロキロン	170 プロマシル
7 アジンホスメチル	48 クロルピリホス	89 テブコナゾール	130 ピンクロゾリン	171 プロメトリン
8 アセトクロール	49 クロルピリホスメチル	90 テブフェンジド	131 フェナミホス	172 プロモブチド
9 アセフェート	50 クロルフェナビル	91 テブフェンピラド	132 フェナリモル	173 プロモプロピレート
10 アジクロチン及びシヘキサチン	51 クロルフェンピホス	92 テフルトリン	133 フェントロチオン	174 プロモホス
11 アトラジン	52 クロルフルアズロン	93 テフルベンズロン	134 フェノチオカルブ	175 ヘキサコナゾール
12 アニロホス	53 クロルプロファミ	94 デルタメトリン及びトラロメトリン	135 フェトリン	176 ヘキサフルムロン
13 アメトリン	54 クロルベンジレート	95 テルフトリン	136 フェノプロカルブ	177 ペナラキシル
14 アラクロール	55 クロロタロニル	96 テルブホス	137 フェンスルホチオン	178 ベノキサコール
15 アルドリリン及びディルドリン	56 酸化フェンブタスズ	97 トリアジメノール	138 フェンチオン	179 ベルメトリン
16 イソキサチオン	57 シアナジン	98 トリアジメホン	139 フェントエート	180 ベンコナゾール
17 イソプロカルブ	58 シアノホス	99 トリアソホス	140 フェンバレーレート	181 ベンシクロロン
18 イソプロチオラン	59 ジエトフェンカルブ	100 トリアレート	141 フェンコナゾール	182 ベンディメタリン
19 イプロベンホス	60 ジクロシメット	101 トリクロルホン	142 フェンプロバトリン	183 ベンフルラリン
20 イマザリル	61 ジクロフェンチオン	102 トリシクラゾール	143 フェンプロビモルフ	184 ベンフレセート
21 イミダクロプリド	62 ジクロホップメチル	103 トリブホス	144 フサライド	185 ホサロン
22 インドキサカルブ	63 ジクロラン	104 トリフルラリン	145 プタクロール	186 ホスチアゼート
23 エスプロカルブ	64 シハロトリン	105 トリプロキシストロピン	146 プタミホス	187 ホスファミドン
24 エタルフルラリン	65 シハロホップチル	106 トルクロホスメチル	147 プピリメート	188 ホスメット
25 エチオン	66 ジフェナミド	107 トルフェンピラド	148 ププロフェジン	189 ホルベット
26 エディフェンホス	67 ジフェコナゾール	108 ナプロバミド	149 フラムプロップメチル	190 マラチオン
27 エトキサゾール	68 シフルトリン	109 ニトロタールイソプロピル	150 フルアクリピリム	191 ミクロフタニル
28 エトフェンブックス	69 ジフルベンズロン	110 ノルフルラジン	151 フルキンコナゾール	192 メタミドホス
29 エトプロホス	70 シプロコナゾール	111 バクプロトラゾール	152 フルシトリネート	193 メタラキシル及びメフェノキサム
30 エンドスルファン	71 シベルメトリン	112 バラチオン	153 フルトラニル	194 メチダチオン
31 エンドリン	72 シマジン	113 バラチオンメチル	154 フルバリネート	195 メトキシクロール
32 オキサジアゾン	73 ジメタメトリン	114 ハルフェンブックス	155 フルフェノクスロン	196 メトラクロール
33 オキサジキシル	74 ジメチナミド	115 ビフェックス	156 フルミオキサジン	197 メフェナセット
34 オキシフルオルフェン	75 ジメトエート	116 ビフェトリン	157 フルリドン	198 メフェンビルジエチル
35 オトエート	76 シメトリン	117 ビベロホス	158 プレチラクロール	199 メプロニル
36 カズサホス	77 ジメピベレート	118 ピラクロホス	159 プロシミドン	200 モノクロトホス
37 カフェンストロール	78 スピロキサミン	119 ピラゾホス	160 プロチオホス	201 リニユロン
38 カブタホール	79 ソキサミド	120 ピラフルフェンエチル	161 プロバクロー	202 ルフェスロン
39 カルバリル	80 ダイアジン	121 ピリダフェンチオン	162 プロバジン	203 レナシル
40 キナルホス	81 チアベンダゾール	122 ピリダベン	163 プロバニル	
41 キノキシフェン	82 チアムキサム	123 ピリプチカルブ	164 プロバルギット	

表 2 残留基準値を超過した農産物（平成 18 年度～平成 28 年度）

検査年度	検出農産物	生産地	農薬名	検査結果 (ppm)	基準値* ¹ (ppm)	適用* ²
18	食用ぎく	県内	フェンバレレート	5.61	0.50	無
19	ばれいしょ	県外	ホスチアゼート	0.041	0.03	有
23	ほうれんそう	県内	クロルフェナピル	0.14	0.01* ³	無
25	こまつな	県外	イソキサチオン	12.35	0.1	無
			テブフェンピラド	0.045	0.01* ³	無

*1 検査実施時の基準値

*2 検査実施時の農薬適用の有無

*3 一律基準

2 農産物別検出状況

農産物別では、野菜類は 16 農産物 675 検体中 12 農産物 87 検体 (12.9%)、果実類は 12 農産物 355 検体中 11 農産物 190 検体 (53.5%) から検出された。延べ農薬数からみると、野菜類は 94,049 農薬中 110 農薬 (0.12%)、果実類は 49,095 農薬中 362 農薬 (0.74%) であった。ともに果実類のほうが野菜類よりも検出率が高く、果実類は全検体の約半数から農薬が検出された。最も検出率の高かった農産物は西洋なしで、88.0%の検体 (50 検体中 44 検体) から 18 項目 91 農薬が検出された。なかには 1 検体から 5 項目の農薬が検出された検体もあった。次いでおうとうの 86.7%、りんごの 85.0%で各 63 農薬が検出された。いずれも検査部位に果皮を含む果実類から多種類の農薬が検出されており、複数の農薬を使用していることが推察された。

3 農薬別検出状況

検査対象農薬 203 項目中検出された農薬は 48 項目 (23.6%) であった。用途別の内訳は、殺虫剤 32 項目 (66.7%)、殺菌剤 16 項目 (33.3%) であり、除草剤等は検出されなかった。

最も多く検出された農薬はクレソキシムメチル (殺菌剤) の 62 検体で、西洋なし、ぶどう、

日本なし等の果実類から高頻度に検出された (表 3)。しかし、クレソキシムメチルの基準値は西洋なしと日本なしが 5 ppm、ぶどうが 15 ppm と高く、検出濃度は基準値に対して 1/1000 ~ 1/10 と低い結果であったため、農薬が適正に使用されていることが推測できた。

4 残留基準値を超過した農産物及び農薬

平成 18 年度から平成 28 年度に食品衛生法の残留基準値を超過して農薬が検出されたのは 4 農産物であり、いずれも野菜類であった (表 2)。食用ぎくや薬物野菜であるほうれんそうやこまつなは、結球野菜等と比較すると重量当たりの表面積が大きいいため、農薬が残留しやすいことも要因の一つと考えられた。しかし、延べ農薬数からみた超過検出率は 0.003%と低く、県内に流通している農産物における残留レベルは十分に低いものと考えられた。なお、平成 23 年度にほうれんそうから検査実施時の残留基準値である 0.01 ppm (一律基準) を超過し 0.14 ppm のクロルフェナピルが検出されたが、平成 25 年 2 月に残留基準値が 3 ppm に改正された。また、当時クロルフェナピルは農薬取締法上ほうれんそうには適用のない農薬であったが、現在はほうれんそうにも適用が拡大されている。

Ⅳ まとめ

今回、ポジティブリスト制度施行以降の当所での残留農薬検査の実施状況及び農薬の検出状況をまとめた結果、果実類のほうが野菜類よりも検出頻度が高いにもかかわらず、基準値を超過する農薬が検出されたのは野菜類のみであることがわかった。

しかし、基準値超過の割合は低く、県内に流通している農産物における残留レベルは十分に低いものと考えられた。

Ⅴ 文献

- 1) 食品，添加物等の規格基準，厚生省告示第370号，昭和34年12月28日
- 2) 食品に残留する農薬，飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について，厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知，食安発第0124001号，平成17年1月24日

表3 検出数の多い農薬（平成18年度～平成28年度）

農薬名	用途	検査検体数	検出検体数	検出された農産物名（検出検体数）
クレソキシムメチル	殺菌剤	1030	62	西洋なし(21)ぶどう(20)日本なし(13)りんご(5)食用ぎく(3)
フェンプロパトリン	殺虫剤	940	54	りんご(27)西洋なし(13)日本なし(10)かき(3)ぶどう(1)
シベルメトリン	殺虫剤	870	42	おうとう(12)西洋なし(9)ほうれんそう(8)こまつな(5)食用ぎく(2)日本なし(2) きゅうり(1)トマト(1)アスパラガス(1)りんご(1)
クロルフェナピル	殺虫剤	1030	40	ぶどう(19)きゅうり(8)こまつな(3)日本なし(3)なす(2)食用ぎく(1)かぶ(1) ほうれんそう(1)西洋なし(1)りんご(1)
プロシミドン	殺菌剤	1030	28	おうとう(10)トマト(4)すいか(4)メロン(4)きゅうり(3)キャベツ(1)なす(1)もも(1)
ピフェントリン	殺虫剤	990	24	おうとう(15)西洋なし(4)ぶどう(4)きゅうり(1)
テブコナゾール	殺菌剤	940	23	おうとう(6)西洋なし(6)ぶどう(6)かき(3)日本なし(1)もも(1)
ジフェコナゾール	殺菌剤	940	20	おうとう(9)西洋なし(6)日本なし(2)りんご(2)いちご(1)
ベルメトリン	殺虫剤	970	19	おうとう(7)こまつな(3)ぶどう(3)西洋なし(2)すもも(2)アスパラガス(1)りんご(1)
トリフロキシストロピン	殺菌剤	870	18	りんご(10)西洋なし(7)日本なし(1)
シフルトリン	殺虫剤	850	15	西洋なし(6)おうとう(3)食用ぎく(2)ぶどう(2)りんご(2)
フェンバレレート	殺虫剤	830	13	西洋なし(5)りんご(4)食用ぎく(1)日本なし(1)ぶどう(1)すもも(1)
ホスチアゼート	殺虫剤	890	12	きゅうり(4)メロン(3)ばれいしょ(2)こまつな(2)だいこん(1)
クロルピリホス	殺虫剤	1030	9	ぶどう(3)日本なし(2)すもも(2)りんご(1)西洋なし(1)
メタラキシル及びメフェノキサム	殺菌剤	1020	8	きゅうり(7)ばれいしょ(1)

抄 録

1) 他誌掲載論文

Chronological changes of mumps virus genotypes in Japan between 1999 and 2013

Aoki Y., Matoba Y., Tanaka S., Yahagi K., Itagaki T., Katsushima F., Katsushima Y., Takeda M., and Mizuta K.
Infect.Dis.48:524-529, 2016.

BACKGROUND: The molecular epidemiology of mumps virus (MuV) has been carried out worldwide based on genotyping proposed by the World Health Organisation. However, longitudinal molecular epidemiological studies of MuV are still limited.

METHODS: This study carried out genotyping of MuVs isolated in Yamagata prefecture, which is located in northern Japan, between 1999-2013, using standard nomenclature based on the sequence analysis of the entire 316 nucleotides of the small hydrophobic (SH) gene.

RESULTS: During this 15-year period, 249 MuVs were isolated, with the majority of them belonging to genotype G. Phylogenetic analysis revealed that genotype G strains were divided into two distinct clusters 1 and 2, consisting of 178 and 47 strains, respectively. The cluster 1 strains were isolated every year since 2001, except for 2012. The cluster 2 strains first appeared in 2011 and were dominant in 2011 and 2012. The epidemic pattern of genotype G strains observed in Yamagata was similar to those in Kanagawa and Hyogo prefectures located in eastern and western Japan, respectively. Only one L, three H and one F genotype strains were isolated in 2001, 2004 and 2010, respectively. Almost every year several genotype B strains related to Japanese vaccine strains were isolated.

CONCLUSIONS: These data demonstrated that the genotype G strains have been endemically perpetuating as the major type over a wide area of Japan since 2001, although the genotype G strains that emerged after 2011 differed from the earlier strains.

The Influenza Virus Surveillance Group of Japan: Influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting enhanced cross-resistance to oseltamivir and peramivir due to a dual H275Y/G147R substitution, Japan, March 2016

Takashita E., Fujisaki S., Shirakura M., Nakamura K., Kishida N., Kuwahara T., Shimazu Y., Shimomura T., Watanabe S., Odagiri T., and Influenza Virus Surveillance Group of Japan.

Euro Surveill.21(24), 2016

An influenza A(H1N1)pdm09 virus carrying a G147R substitution in combination with an H275Y substitution in the neuraminidase protein, which confers cross-resistance to oseltamivir and peramivir, was detected from an immunocompromised inpatient in Japan, March 2016. This dual H275Y/G147R mutant virus exhibited enhanced cross-resistance to both drugs compared with the single H275Y mutant virus and reduced susceptibility to zanamivir, although it showed normal inhibition by laninamivir.

Chance isolation of non-pathogenic vaccine-derived measles and rubella viruses from children with acute respiratory infections

Aoki Y., Matoba Y., Tanaka S., Yahagi K., Ito S., Yoshida H., Itagaki T., and Mizuta K.

Jpn.J.Infect.Dis.69:350-351, 2016.

抄録なし

Genetic lineage and reassortment of influenza C viruses circulating between 1947 and 2014

Matsuzaki Y., Sugawara K., Furuse Y., Shimotai Y., Hongo S., Oshitani H., Mizuta K., and Nishimura H.

J.Virol. 90:8251-8265, 2016.

Since influenza C virus was first isolated in 1947, the virus has been only occasionally isolated by cell culture; there are only four strains for which complete genome sequences are registered. Here, we analyzed a total of 106 complete genomes, ranging from the first isolate from 1947 to recent isolates from 2014, to determine the genetic lineages of influenza C virus, the reassortment events, and the rates of nucleotide substitution. The results showed that there are six lineages, named C/Taylor, C/Mississippi, C/Aichi, C/Yamagata, C/Kanagawa, and C/Sao Paulo. They contain both antigenic and genetic lineages of the hemagglutinin-esterase (HE) gene, and the internal genes PB2, PB1, P3, NP, M, and NS are divided into two major lineages, a C/Mississippi/80-related lineage and a C/Yamagata/81-related lineage. Reassortment events were found over the entire period of 68 years. Several outbreaks of influenza C virus between 1990 and 2014 in Japan consisted of reassortant viruses, suggesting that the genomic constellation is related to influenza C virus epidemics. The nucleotide sequences were highly homologous to each other. The minimum percent identity between viruses ranged from 91.1% for the HE gene to 96.1% for the M gene, and the rate of nucleotide substitution for the HE gene was the highest, at 5.20×10^{-4} substitutions/site/year. These results indicate that reassortment is an important factor that increases the genetic diversity of influenza C virus, resulting in its ability to prevail in humans. IMPORTANCE Influenza C virus is a pathogen that causes acute respiratory illness in children and results in hospitalization of infants. We previously demonstrated (Y. Matsuzaki et al., J Clin Virol 61:87-93, 2014, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2014.06.017>) that periodic epidemics of this virus occurred in Japan between 1996 and 2014 and that replacement of the dominant antigenic group occurred every several years as a result of selection by herd immunity. However, the antigenicity of the HE glycoprotein is highly stable, and antigenic drift has not occurred for at least 30 years. Here, we analyzed a total of 106 complete genomes spanning 68 years for the first time, and we found that influenza C viruses are circulating worldwide while undergoing reassortment as well as selection by herd immunity, resulting in an increased ability to prevail in humans. The results presented in this study contribute to the understanding of the evolution, including reassortment events, underlying influenza C virus epidemics.

Hela-ACE2-TMPRSS2 cells are useful for the isolation of human coronavirus 229E

Matoba Y., Aoki Y., Tanaka S., Yahagi K., Katsushima Y., Katsushima F., Sugawara K., Matsuzaki Y., and Mizuta K.

Jpn.J.Infect.Dis.69:452-454, 2016.

抄録なし

A case of scrub typhus imported from South Korea to Yamagata, Japan

Suzuki Y., Shimanuki M., Seto J., Yahagi K., and Mizuta K.

Jpn.J.Infect.Dis.69:454-455, 2016.

抄録なし

Development of an endpoint genotyping assay to detect the *Mycoplasma pneumoniae* 23S rRNA gene and distinguish the existence of macrolide resistance-associated mutations at position 2063

Suzuki Y., Seto J., Shimotai Y., Ikeda T., Yahagi K., Mizuta K., Matsuzaki Y., and Hongo S.

J.Microbiol. Methods.131:130-134, 2016.

The prevalence of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* harboring a mutation in the 23S rRNA gene is increasing, and rapid detection assays are needed for clinical management. We developed an endpoint genotyping assay to detect the *M. pneumoniae* 23S rRNA gene and determine the existence of macrolide resistance-associated mutations at position 2063 (A2063G, A2063T and A2063C mutations). This A2063B genotyping assay detected more than 50 copies/reaction of the *M. pneumoniae* gene in every nucleotide mutation at position 2063. Of 42 clinical specimens, 3 were positive without mutation, 6 were positive with the A2063G mutation, and 33 were negative. The results were confirmed using nested PCR with the sequencing of the *M. pneumoniae* 23S rRNA gene, and a high sensitivity (90%), specificity (100%), and coincidence ratio (kappa coefficient=0.93) were obtained. Therefore, the A2063B genotyping assay is useful for the rapid discrimination of macrolide resistance mutations at position 2063.

Meteorological factors affecting scrub typhus occurrence: a retrospective study of Yamagata Prefecture, Japan, 1984-2014

Seto J., Suzuki Y., Nakao R., Otani K., Yahagi K., and Mizuta K.

Epidemiol.Infect.145:462-470, 2017.

Climate change, by its influence on the ecology of vectors might affect the occurrence of vector-borne diseases. This study examines the effects of meteorological factors in Japan on the occurrence of scrub typhus, a mite-borne zoonosis caused by *Orientia tsutsugamushi*. Using negative binomial regression, we analysed the relationships between meteorological factors (including temperature, rainfall, snowfall) and spring-early summer cases of scrub typhus in Yamagata Prefecture, Japan, during 1984-2014. The average temperature in July and August of the previous year, cumulative rainfall in September of the previous year, snowfall throughout the winter, and maximum depth of snow cover in January and February were positively correlated with the number of scrub typhus cases. By contrast, cumulative rainfall in July of the previous year showed a negative relationship to the number of cases. These associations can be explained by the life-cycle of *Leptotrombidium pallidum*, a predominant vector of spring-early summer cases of scrub typhus in northern Japan. Our findings show that several meteorological factors are useful to estimate the number of scrub typhus cases before the endemic period. They are applicable to establish an early warning system for scrub typhus in northern Japan.

***Mycobacterium tuberculosis* transmission among elderly persons, Yamagata Prefecture, Japan, 2009-2015**

Seto J., Wada T., Suzuki Y., Ikeda T., Mizuta K., Yamamoto T., and Ahiko T.

Emerg.Infect.Dis.23:448-455, 2017.

In many countries with low to moderate tuberculosis (TB) incidence, cases have shifted to elderly persons. It is unclear, however, whether these cases are associated with recent *Mycobacterium tuberculosis* transmission or represent reactivation of past disease. During 2009-2015, we performed a population-based TB investigation in Yamagata Prefecture, Japan, using in-depth contact tracing and 24-loci variable-number tandem-repeat typing optimized for Beijing family *M. tuberculosis* strains. We analyzed 494 strains, of which 387 (78.3%) were derived from elderly patients. Recent transmission with an epidemiologic link was confirmed in 22 clusters (70 cases). In 17 (77.3%) clusters, the source patient was elderly; 11 (64.7%) of the 17 clusters occurred in a hospital or nursing home. In this setting, the increase in TB cases was associated with *M. tuberculosis* transmissions from elderly persons. Prevention of transmission in places where elderly persons gather will be an effective strategy for decreasing TB incidence among predominantly elderly populations.

Seroepidemiology of human parechovirus types 1, 3, and 6 in Yamagata, Japan, in 2014

Tanaka S., Aoki Y., Matoba Y., Yahagi K., Itgaki T., Matsuzaki Y., Mizuta K.

Microbiol.Immunol.60:854-858, 2016.

To clarify the seroepidemiology of human parechovirus type 1 (HPeV1), 3 and 6, neutralizing antibodies (NT Abs) were measured in 214 serum specimens collected in 2014 in Yamagata, Japan. The seroprevalence against HPeV1 was 100% in all age groups, while that against HPeV3 and HPeV6 was 79.4% and 66.8%, respectively, overall. The geometric mean titers of NT Abs against HPeV1, 3 and 6 were 755.2, 255.0 and 55.9, respectively, overall. Our findings indicate that HPeV1 is the most prevalent HPeV circulating in Yamagata, followed by HPeV3 and HPeV6.

ラット咬傷歴が認められない鼠咬症例

小野寺啓, 上北洋徳, 渡邊達也, 平カヤノ, 渡部千沙, 齋藤博子, 瀬戸順次, 鈴木裕, 今岡浩一.

病原微生物検出情報. 38:43-44, 2017.

抄録なし

2) 学会発表

結核菌反復配列多型分析結果と遺伝系統情報の組み合わせによる 新たな分子疫学情報の提供

瀬戸順次, 鈴木裕, 和田崇之, 阿彦忠之.

第91回日本結核病学会総会, 平成28年5月27日, 於石川県金沢市.

【目的】結核菌 VNTR 分析結果に遺伝系統情報を付加することで, 保健所の結核対策に対してより有益な分子疫学情報が提供可能となるか検討すること.

【対象・方法】2009-2014年に山形県で分離された結核菌433株を対象として, 24領域 VNTR 分析 (24_{Beijing} セット) を実施した. VNTR パターンが23領域以上一致した株の由来患者間の関連性を保健所で精査した. 24領域一致, もしくは23領域一致かつ疫学的関連性が見出されたものをクラスタと定義した. 遺伝系統は, 演者らが考案した VNTR パターンを用いた推定ツール (Seto J, Wada T, et al. Infect Genet Evol. 2015 35:82-88) により推定した.

【結果】VNTR 分析の結果111株 (25.6%) が37クラスタを形成した. 系統推定結果は, 非北京型120株 (28%), 北京祖先型の4系統である ST11/26 28株 (6%), STK 67株 (15%), ST3 76株 (18%) および ST25/19 72株 (17%), および北京新興型70株 (16%) であった. 年齢階級別の検討では, 39歳以下 (n=55) は ST11/26 および北京新興型, 40-59歳 (n=39) は北京新興型, 60-79歳 (n=115) は ST25/19, 80歳以上 (n=224) は STK および ST3 がそれぞれ有意に高い割合を占めた. クラスタを形成した111人の関連性精査結果を系統別に分類した結果, 北京新興型ではクラスタを形成した23人全てに何らかの関連性が見出されていた一方で, 他系統では50% (44/88人) が関連性不明であった.

【考察】実地疫学調査結果との比較により, 北京新興型株で形成されたクラスタは年代を問わず関連性が見出され, 患者間の「最近の感染」が示唆された. 一方で, 実地疫学調査で散発事例が示唆され, かつ菌株がクラスタを形成しなかった高齢患者では, 高齢者に偏在する系統 (STK, ST3) であることが多く, それら患者は「過去の結核感染の再燃」と考えられた. 感染から発病まで数か月から数十年を要する結核という感染症において, VNTR 分析と遺伝系統情報の組み合わせは, VNTR 分析による単なる菌株の一致不一致の判定に加えて, 感染時期に関する疫学情報をもたらすものと考えられた.

臨床検体からのウイルス分離株の同定が困難であった経験から

水田克巳, 松寄葉子, 竹田誠.

第57回日本臨床ウイルス学会, 平成28年6月19日, 於福島県郡山市.

【目的】山形衛研ではウイルス分離をベースに小児の急性ウイルス性気道感染症の疫学研究を進めてきた. 今回は, 上気道炎の小児検体からの分離株同定で苦労したケースを報告する. 【方法】RT-PCR, シークエンス解析, 網羅解析, 電子顕微鏡観察等に

より同定を実施した。【結果】(1) ウイルスはRD-18S細胞で分離され、エンテロウイルスが疑われたが同定に至らず冷凍保存された。別テーマの研究結果から、偶然これら5株がコロナウイルス229Eであることが判明した。(2) VEROE6細胞等で細胞融合を観察した。パラインフルエンザ等を中心に作業を進めたが同定できず、最終的に麻疹ウイルスワクチン株であることが判明した。(3) VEROE6細胞でウイルスが分離され、形態学的にヒトメタニューモ・アデノウイルス等を検索するも同定できず、感染研で電子顕微鏡観察、網羅解析法による解析等を実施した結果、風疹ウイルスワクチン株であることが判明した。【考察】いずれも細胞変性効果から各ウイルスを考えることができなかった。ケース1と3は、コロナ・風疹ウイルスの分離経験がなかったこと、ケース2は、ワクチン・野性株の細胞感受性(受容体)の違いの認識が不十分であったこと、が背景にある。ケース2と3では、1歳児のMRワクチン接種歴の確認が大切であることを痛感した。

本研究の一部は、厚生労働科学研究補助金「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための実験室検査に関する研究」から補助を受けた。[非会員研究協力者：的場洋平・青木洋子・田中静佳・矢作一枝(山形衛研)、板垣勉(山辺こどもクリニック)、勝島史夫・勝島由利子(勝島小児科)、伊藤末志・吉田宏(鶴岡市立荘内病院小児科)黒田誠(感染研病原体ゲノム解析研究センター)、松山州徳・大槻紀之・森嘉生・川瀬みゆき(同ウイルス第3部)、永田典代(同感染病理部)]

韓国から山形県への輸入つつが虫病の1症例

鈴木裕, 瀬戸順次, 島貫美和, 矢作一枝, 水田克巳.

第70回日本細菌学会東北支部総会, 平成28年8月18-19日, 於青森県十和田市.

【はじめに】つつが虫病はツツガムシ幼虫が媒介する *Orientia tsutsugamushi* (Ot) 感染による熱性発疹性疾患であり、日本では6種類のOt亜型(Gilliam, Karp, Kato, Kawasaki, Kuroki および Shimokoshi 型)が知られている。今回、韓国で感染・発症し、山形県内の医療機関で診断された、本県初のKuroki型つつが虫病輸入例を経験した。

【症例および経過】50歳代、女性。2015年9月下旬から11月上旬にかけて韓国仁川市に滞在。帰国2日前に、左前胸部の発赤と38°C台の発熱により韓国の病院を受診した。帰国当日受診した本県医療機関にて、発熱、顔面・体幹・四肢の播種状発疹、および左前胸部に発赤を伴う潰瘍状の痂皮を認め、つつが虫病疑いにより即日入院となった。患者に対しては直ちにミノサイクリンが投与され、入院2日後に解熱、6日後に退院となった。入院当日の血液検体のnested-PCRによりOt 56-kDaタンパク遺伝子が検出され、ダイレクトシーケンスの結果Kuroki型と同定された。また、同検体の血中IgM抗体価はKuroki型640倍、Karp型320倍、IgG抗体価は全亜型に対して20倍未満であった。

【考察】本症例は、帰国前に既に症状があったこと、およびOt亜型が本県初かつ韓国で秋に主流のKuroki型(韓国名Boryong型)であったことから、韓国から本県へのつつが虫病輸入症例であると考えられた。韓国、中国及び台湾等の日本近隣諸国のつつが虫病患者報告数は近年増加しており(韓国:13年間で3.8倍、中国:8年間で8.3倍、台湾:4年間で1.4倍)、我が国における輸入つつが虫病症例の増加が危惧される。Otは国及び地域により亜型の分布が異なることから、Ot亜型の同定は輸入つつが虫病症例の鑑別に有用であると考えられた。

高齢者結核が大半を占める集団における最近の結核感染：

山形県における2009-2015年の網羅的な結核分子疫学調査結果

瀬戸順次, 和田崇之, 鈴木裕, 池田辰也, 水田克巳, 山本太郎, 阿彦忠之.

第1回抗酸菌研究会, 2016年9月29-30日, 於沖縄県那覇市.

【背景】日本を含む多くの結核低蔓延・中蔓延国において, 高齢者層への結核の偏在が観察されている. しかし, 高齢者結核が大半を占める集団における最近の結核感染の実態は国際的にも明らかにされていない.

【対象および方法】2009~2015年の山形県における菌陽性結核患者由来結核菌を網羅的に収集し, 24領域 (24_{Beijing} セット) の反復配列多型 (VNTR) 分析を実施した. VNTR パターンが23領域以上一致した集合を予備的クラスタと称し, 由来患者間の疫学的関連性 (接触歴等) を保健所で調査した. 最終的に, 24領域完全一致, もしくは, 23領域一致かつ患者間に疫学的関連性が確認された場合をクラスタと定義した.

【結果】調査期間中に分離された513株の肺結核患者由来結核菌のうちの469株 (91.4%) に加え, 25株の肺外結核患者由来結核菌を収集した (計494株). 494人の由来患者のうち387人 (78.3%) が高齢者 (60歳以上) であった. VNTR 分析の結果, 494株中128株 (25.9%) が42クラスタを形成した. これら128株のうち70株 (22クラスタ) において, 由来患者間に疫学的関連性が見出された. 関連性が見出された22クラスタのうち17クラスタ (77.3%) は発端が高齢者であった他, 17クラスタ中11クラスタは感染場所として医療機関もしくは高齢者施設を含み, かつ, 多くが若年層を巻き込む形でクラスタを形成していた.

【考察】結核分子疫学と実地疫学調査の組み合わせにより, 本研究の対象とした494人のうち少なくとも70人 (14.2%) が最近の結核感染 (2009~2015年における感染) に関与していることが確認された. 本研究では, 約80%が高齢者発端のクラスタを形成していたことから, 高齢者結核を多く含む集団においては, 高齢者からの結核感染伝播の抑止が結核対策上重要であると考えられた. 特に, 高齢者が多く集まる施設 (医療機関, 高齢者施設等) における感染伝播の抑止は, 結核罹患率低下のための有効な戦略の一つになると考えられる.

ヒスチジン脱炭酸酵素活性阻害作用を有する食材の探索

太田康介, 佐田厚史.

第112回日本食品衛生学会学術講演会, 2016年10月27-28日, 於北海道函館市.

ヒスタミン産生菌から抽出したヒスチジン脱炭酸酵素 (以下, HDC) の粗酵素液を含む反応液に, 各種食材のメタノール抽出物 (以下, エキス) を添加し, 残存する HDC の酵素活性を比較した. エキス濃度を 10 mg/mL, 1 mg/mL, 0.1 mg/mL の3条件として実験を行ったところ, 10 mg/mL とした場合全てのエキスで有意に酵素活性を阻害した.

自然毒一斉分析法の開発と食中毒への適用

笠原翔悟, 笠原義正, 大滝麻井子, 長岡由香, 佐田厚史.

第53回全国衛生化学技術協議会年会, 2016年11月17-18日, 於青森県青森市.

山形県では自然毒による中毒が毎年発生しており, 昨年は7件発生している. また, 厚生労働省の食中毒統計によると, 山形県における植物性自然毒(植物およびきのこ)による中毒発生数は全国で2番目の多さである. これを未然に防ぐこと, 中毒が発生した際に迅速に原因を特定できるようにすることが重要である.

自然毒による中毒が発生した際には, まず症状や未調理品, 残品の形態観察による原因調査が行われるが, これで特定に至らない場合, 分析機器を用いた成分分析による原因究明が行われる. 現在のところ, 一部の植物およびキノコについて個別分析法が存在しているが, 原因不明の中毒に対してはこれらを一つ一つ試していかなければならず分析に時間を要する.

本研究では, より迅速に原因の特定を行う方法として, 一度の測定で複数の毒成分を分析可能な自然毒一斉分析法の開発を行った. また, 昨年県内で発生したイヌサフランによる食中毒の原因究明のため本研究で開発した分析法を用いたところ, 毒成分コルヒチンが確認され, 原因の解明だけでなく本分析法の適用植物が追加された事例についても報告した.

各種トリカブトにおける含有成分の特性について

中山秀幸, 峰宝, 北川美穂, 笠原翔悟, 大滝麻井子, 長岡由香, 佐田厚史.

第53回全国衛生化学技術協議会年会, 2016年11月17-18日, 於青森県青森市.

トリカブトは生薬「附子」の原料として知られる一方, 芽吹きの際の状態がニリンソウ等と類似していることから, 食中毒の原因物質としても広く認知されている.

全国に広く分布している植物ではあるが, トリカブトによる食中毒は地域性が高く, 関東以北に集中しているのが特徴的である. これは, 偏に食文化に起因するものと一般的に考えられている.

トリカブトの有毒成分であるアコニチン類は, 採取するトリカブトの種類だけでなく, 採取地域や時期によって, 含有量に変動が認められると報告されているが, 九州地方に自生するタンナトリカブトとの比較はされていない.

山形県及び佐賀県内で採取された各種トリカブトについて, アコニチン類の含有量を比較するとともに, トリカブトと同じキンポウゲ科のニリンソウも含めた定性分析について報告した.

食品中でのヒスタミン生成を抑制する山形県産食材のスクリーニング調査

太田康介, 佐田厚史.

第43回山形県公衆衛生学会, 2017年3月13日, 於山形市.

ヒスタミン食中毒の原因物質であるヒスタミンは魚類に付着した細菌のもつヒスチジン脱炭酸酵素(以下, HDC)がアミノ酸の一種であるヒスチジンに作用することで生成, 蓄積される. また, ヒスタミンは熱的安定かつ揮発性であることから, 加熱調理での分解等による含有量の低減は困難である. そこで, HDC活性を低下させる食材の探索を目的に, 山形県産食材のメタノ

ール抽出物（以下、エキス）を作製し、そのエキスを添加して酵素反応およびヒスタミンの定量を行った。その結果、赤シソ、シソ、ウメ、アケビの芽、ヨモギ及びフキノトウで HDC 活性を低下させることによってヒスタミン生成を抑制する可能性が示唆された。

平成 28 年の村山・庄内地域における蚊の生息状況調査

新藤道人, 小川直美, 酒井真紀子, 安孫子正敏, 伊藤真由美, 水田克巳.

第 43 回山形県公衆衛生学会, 2017 年 3 月 13 日, 於山形市.

【はじめに】デング熱やジカ熱などの蚊媒介感染症が海外で流行しており、新たな感染症が国内に侵入するリスクが高まっている。また、2014 年には 70 年ぶりにデング熱の国内感染が報告された。これらの感染症を媒介する蚊は、山形県内にも生息しており、蚊媒介感染症侵入時の迅速な対策のために、平時から蚊の生息状況をモニタリングすることが重要である。このことから平成 27 年に当所で山形市周辺の調査を開始したが、平成 28 年は調査範囲を広げ、村山地域と庄内地域の調査を行った。

【目的】山形県内に生息する蚊の種構成、季節的消長について明らかにする。

【方法】(1) 調査地点：山形市 4 地点、天童市 1 地点、鶴岡市 2 地点、酒田市 3 地点 (2) 調査期間：平成 28 年 6 月～10 月、月 2 回、隔週 (3) 調査方法：ドライアイスを用いたライトトラップ法で蚊を捕集後、 -50°C で 24 時間殺処理し、実体顕微鏡を用いて鑑別を行った。

【結果・考察】今回の調査では 9 種の蚊の生息が確認され、捕獲数が多い順にアカイエカ群 52.5%、コガタアカイエカ 24.9%、ヒトスジシマカ 10.6% であった。調査地点ごとに様々な種構成が見られ、市街地の多い村山地域ではアカイエカ群とヒトスジシマカが、水田地帯の多い庄内地域ではアカイエカ群とコガタアカイエカが多く捕獲されていた。ほとんどの地点で優占種はアカイエカ群であったが、酒田 1 においてはコガタアカイエカが 71.3% と非常に多く捕獲された。これは、捕集場所が豚の飼育施設に隣接していたことから、大型哺乳類を好むコガタアカイエカが特に集まってきたためと考えられる。

種によって異なる季節的消長が見られ、アカイエカ群とハマダライエカは比較的早い時期から捕獲され、7 月に増加、9 月には減少していたのに対し、ヒトスジシマカは 8 月に入ってから増加し、9 月中旬まで多く捕獲され、コガタアカイエカは 8 月に急増し、9 月に入るとほとんど見られなくなっていた。また、地域別に捕獲数とアメダスの気象データ（山形、鶴岡）を比較したところ、両地域ともに降水量、降水時間、平均風速ではあまり相関が見られなかったが、平均気温に強い正の相関が見られた。特に合計捕獲数との相関が強く、相関係数が村山地域で 0.81、庄内地域で 0.74 であった。このことから、蚊の数は気温に応じて増減していることが考えられる。

本調査によって、地点による種構成の違いや種による季節的消長の違いを確認することができた。今後も引き続き調査を続け、さらにデータを蓄積するとともに、庄内地域の市街地など、今年調査を行わなかった環境でも調査を行うことを検討していきたい。