

埼玉県衛生研究所倫理審査委員会審査申請書

平成 27年 9月 10日

研究担当者 貫洞 里美

1 研究概要

(1)研究課題名	ウイルス遺伝子の定量測定における精度管理に関する研究
(2)共同研究者の氏名及び所属	ウイルス担当：内田和江、富岡恭子、鈴木典子、峯岸俊貴、小川泰卓、 篠原美千代 副所長兼感染症室長：岸本剛
(3)研究の背景・意義・目的	<p>【背景】 病原ウイルスを迅速、高感度に検出できることから、リアルタイム PCR 法等の遺伝子検査が食中毒をはじめ、様々な感染症に適用されている。これら遺伝子検査法は、厚生労働省通知、国立感染症研究所病原体検査マニュアルに記載の方法を用いているが、検査対象ウイルスごとに使用機器、試薬等が例示され、その種類は多岐に渡っている。現状では、試薬類に関しては、同等以上の性能を持つ他社の製品があるとしても、精度保障の点から特に食中毒におけるノロウイルス検査に関しては、厚生労働省通知に例示された試薬を用いた検査法（以下通知法と記載）を実施している。</p> <p>一方、ノロウイルスをはじめ、種々のウイルス遺伝子検査に必要なポジティブコントロール(PC)は、国立感染症研究所と地方衛生研究所で構成するレファレンスセンターからの配布を受けて、それを希釈調整して用いている。しかし、配布されたPCが保存中あるいは調整後劣化し、検査に用いることができなくなることがある。特に測定精度の確保のため、検査ごとに同一のPC用プラスミドによる検量線作成を必要とする食中毒検査において、PCの劣化は検査の精度及び迅速性の上で問題となる。</p> <p>【目的・意義】 本研究の目的は、以下の1)、2)を実施することにより、ウイルス遺伝子検査の精度と迅速性の向上を目指すことである。</p> <p>1) ノロウイルスの遺伝子検査に関して、通知法公表後に発売された高性能とされる試薬等を用い、検査の精度を落とすことなく迅速性の向上が図れるかどうか検討する。</p> <p>2) 遺伝子検査のPC用プラスミドの調整、保存等取扱い方法と、当所での遺伝子組換え技術によるPC用プラスミドの作製技術を確立する。</p>
(4)研究計画の内容(具体的方法)	<p>研究計画の内容(概要)</p> <p>1)通知法のノロウイルス遺伝子検査について、DNA 分解処理工程の有る場合とない場合及び、数種類の同等以上の性能を持つと思われる試薬を用いた検査を実施し、通知法のデータと精度、迅速性を比較する。</p> <p>2) ノロウイルス等胃腸炎ウイルスについてクローニング技術によりPC用プラスミドを作成し、希釈方法、温度等管理方法による安定性に関するデータを収集する。</p> <p>(具体的内容)</p> <p>【試料】 2013-2014 年度(平成 25-26 年度)の期間にノロウイルス検査が実施された糞便検体 80 件。</p> <p>【方法】 《初年度》 通知法のノロウイルスのリアルタイム PCR 法で、DNA 分解処理工程の有る場合とない場合それぞれにおいて、続く逆転写反応過程に使用する酵素試薬を数</p>

	<p>種類の同等以上の性能を持つと思われる試薬を用いて実施する。検体は、通知法により陽性だったもの、陰性だったもの両方について実施し、得られたデータ（陽性または陰性、陽性の場合は Ct 値等）を比較し、DNA 分解酵素処理工程の有無及び酵素試薬の変更が結果に与える影響について検討する。</p> <p>《次年度》</p> <p>クローニング kit を用いてノロウイルスの PC 用プラスミドを作成し、定量リアルタイム PCR の PC として使用可能かどうか検討する。また、作成した PC 用プラスミドの保存、調整法による安定性のデータを収集する。</p>
(5) 研究対象者 (集団)	ノロウイルスのリアルタイム PCR 法の検討と PC 作成では、2013-2014 年度の期間に食中毒またはその疑いがあるとして、当所に検体を提供した者約 80 名（ノロウイルス及びその他のウイルス陽性検体及び陰性を含む）。
(6) 研究対象者の選定方針	既存のノロウイルス検査データにより、検体中にウイルスが、相対的に多い者、中程度の者、少ない者、不検出の者が、概ね 1 : 2 : 2 : 3 の割合となるよう、かつ陽性者に関しては、遺伝子群 I、II を含むように選定する。
(7) 利用する資料 (生体試料・ヒトの健康情報)	生体試料：研究対象者の糞便検体 資料：食中毒検査（通知法）における検査データ（検査結果：検出/不検出及び測定値）
(8) 収集資料の利用方法・解析方法	1) 試料から抽出したウイルス遺伝子を用い、改変リアルタイムPCR法による測定を実施する。得られたデータと通知法による測定データとの比較分析を行う。 2) 抽出ウイルス核酸をPCRにより増幅し、プラスミドに組込む。このプラスミドを大腸菌内で増幅後、収集、精製する。作製した組換え体プラスミドがリアルタイムPCR法における定量測定用PCとして使用できるかどうか（検量線作成）、また、その調整法、保存法について検討する。
(9) 研究期間	平成 28 年度から平成 29 年度まで (2 年間)

※ 資料とは、人体から採取された試料並びに研究に用いられる情報をいう。

2 本研究で取り扱う資料

(1) 資料の収集方法	<p>■ 人体から採取された試料（糞便検体）</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 2013-2014 年度(平成 25-26 年度) の期間にノロウイルス検査が実施された糞便検体 80 件 <p>■ 研究に用いられる情報（検査結果情報）</p> <ul style="list-style-type: none"> 食中毒検査時におけるノロウイルス検査（リアルタイムPCR）結果、また、陽性の場合には測定値 <p>□ その他（ ）</p>
※既存資料等の利用や他の機関から資料提供を受ける場合等も、その詳細を記載する。	

	<input checked="" type="checkbox"/> 該当する <input type="checkbox"/> 該当しない
(2) 既存資料等	<p>既存資料等に該当する場合、その理由</p> <p>本研究で取り扱う検体は、研究計画以前に食中毒検査のために採取された検体であり、検査後の検体を当所で保存しておいたものである。また、情報は、検体採取時点の食中毒検査において取得されたものである。</p>

※ 既存資料とは、次のいずれかに該当する資料をいう。

- ① 研究計画書の作成時までに既に存在する資料
- ② 研究計画書の作成時以降に収集した資料であって収集の時点においては当該研究に用いることを目的としていなかったもの。

3 インフォームド・コンセントを受ける手続き

(注 インフォームド・コンセントを受ける場合、説明事項及び同意文書を1部添付する。)

3-1 研究対象者からインフォームド・コンセントを受ける手続等

(1) インフォームド・コンセントの方法	<p>注 文書による同意の取得、同意の記録作成による対応、情報公開による対応など、該当する倫理指針等の根拠を明記した上で記載すること。</p> <p>注 インフォームド・コンセントを受ける場合、誰が、どのようにして研究対象者に説明し、同意を受けるのかを詳細に記載すること。</p>
(2) インフォームド・コンセントを必ずしも受けることができない場合又は手続を簡略化もしくは免除する場合、その理由	<p>注 該当する倫理指針等の根拠を明記した上で理由を記載すること。</p> <p>本研究は、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針第5章第12の6 インフォームド・コンセントの手続き等の簡略化(1)①-④の簡略化することができる要件に以下の理由で該当すると考える。</p> <p>①本研究は、既存試料である糞便検体を使用して実施すること、また研究対象者の個人情報、質問の回答等を取り扱わないため、侵襲はない。</p> <p>②インフォームド・コンセントの手続き全てを簡略化することで、本研究の研究対象者の不利益とはならないと考える。</p> <p>③本研究の研究対象者は、食中毒(疑い)事例の行政検査の検体提供者であり、検体収集時点で一人一人にインフォームド・コンセントを受ける手続をすることは、保健所担当者の事務や行政検査の迅速性を阻害し、研究対象者自身にも不利益を生むこととなる。また検体収集時に記載された電話番号等を基に今後、インフォームド・コンセントを取ろうとすることは、困難とリスク(電話対応者への情報流出等)がある。</p> <p>本研究は、ノロウイルス陰性/陽性が確定している生体試料を使用することでしか実施できないと考える。</p> <p>④本研究を実施することで、食中毒行政検査として、実施頻度が高く重要なノロウイルス検査法の検討と改良が促進される。これにより本検査の精度、迅速性、経済性が向上することは、行政的、社会的に非常に有用であると考えられる。</p>
(3) 研究の実施について公開する場合、公開すべき事項の通知及び公表の方法	<p>倫理指針6(2)①に該当する処置を講ずるものとする。</p> <p>公開すべき事項：本研究の目的、方法、試料・情報の利用。</p> <p>公表の方法：研究対象者は、社会一般の方々であることから、県ホームページにより公開する。</p>

3-2 代諾者等からインフォームド・コンセントを受ける手続

(1)代諾者からインフォームド・コンセントを受ける理由	該当なし
(2)代諾者を選定する場合の考え方	該当なし

4 個人情報の保護について

(1) 個人情報取り扱いの有無	<input type="checkbox"/> 有 (保有する個人情報：) <input checked="" type="checkbox"/> 無
(2) 個人情報保護の体制	<p>本研究は個人情報を取り扱わない。通知法の検査データを基に選定した試料は、本研究とは無関係の精度管理室長の監視下において連結不可能匿名化の処置をして使用する。</p>
(3) 資料の保存方法・保存期間	<p>試料：ウイルス担当機器室の冷凍庫に保存する。研究終了後3年間保存する。 情報：本研究に関する電子ファイル、書類等はウイルス担当事務室内の施錠付キャビネットに保管する。保存期間は永久保存とする。</p>
(4) 研究終了後の資料の保存、利用又は廃棄の方法	<p>※ 他の研究への利用の可能性と、予測される研究内容を含む。 試料：ウイルス担当機器室の冷凍庫に保存する。保存期間中、所内での検査精度管理、新たな試薬の有効性確認ため利用する場合がある。 情報：保存については、上記(3)に同じ。</p>

5 研究により生じる利益、不利益等

(1) 研究に参加することにより研究対象者が期待できる利益及び研究対象者に起こりうる危険並びに必然的に伴う不快な状態	<p>食中毒はありふれた事象であり、社会生活をしている者は誰でも、避けられない場合がある。本研究により、食中毒の原因病原体検出の精度、迅速性が向上することは、食品衛生行政にとって有用である。また、研究対象者を含む一般の方々にとっても、食中毒の被害者となった場合も、加害者となってしまった場合も、適切な処置をより迅速に講じることが可能になる点で有用である。</p> <p>本研究により、研究対象者に危険、必然的に伴う不快な状況はないと考える。</p>
(2) 研究費を負担する主体	<p>埼玉県衛生研究所 平成28年度所費研究に申請中</p>

(3)他団体・他組織等との間に起こりうる利害上の問題点	該当なし。
-----------------------------	-------

6 研究成果の活用等

研究成果の活用方法及び活用にあたっての倫理的配慮	<ul style="list-style-type: none"> ・ 研究結果から、ノロウイルス検査の精度、迅速性の向上に関して有益な改良点が見いだせた場合、実際の検査に取り入れる。 ・ 研究報告として公表する他、同様の検査を実施している行政検査研究機関での研究会、発表会で公表する。 ・ 研究成果の活用に関しての倫理的問題はないと考える。
--------------------------	---

7 特記事項

<ol style="list-style-type: none"> 1) 本研究は、平成28年度所費研究として申請中であり、衛生研究所内部評価委員会の承認を得たところであるが、外部評価委員会により採択された場合に実施される。 2) 本研究中のPC用プラスミドの作成に関する実験に際しては、当所遺伝子組換え実験安全管理規定を遵守し、遺伝子組換え実験計画書による申請の承認を得て、開始するものとする。 3) なお、臨床検体を取り扱わないため倫理審査対象外であるが、現状ではPCが配布されていないヒトヘルペスウイルス6（HHV6）についても、ATCC標準株を購入し、同様に実施する。
--