

ISSN 0917-0707

f161e

富山県衛生研究所年報

(平成5年度)

第17号

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH
(APRIL 1993 ~ MARCH 1994)
NO. 17

1994



富山県衛生研究所

富山県衛生研究所年報

(平成5年度)

第17号

富山県衛生研究所

は じ め に

平成5年度の年報を発行する事となりました。本年度は児玉博英所長の下で業務が推進されましたが、平成6年3月末を以て退任され、4月に筆者が引継ぎました。従来通り、調査・研究業務、検査業務等が、質・量共に高いレベルで行われている事を、発表論文、学会演題、その他の学術論文等で見て頂き、今後とも御指導頂ければ幸いです。

本年度は科学技術庁の生活・地域流動研究費による病原微生物の分子疫学的研究と、骨粗しょう症の発症要因に関する疫学的研究の3年計画の第2年次に当り、幾つかの着実な成果が学会等でも評価されました。特に病原微生物の分子疫学的研究は、本計画に依る推進が、細菌、ウイルス共に、研究方法全体の根本的な変化を招来しつつあり、今後、多くの面で成果が生かされるものと期待されています。平成6年度の計画完了までに期待された成果をあげられるよう関係者一同、鋭意努力しております。昭和63年度に、佐藤前々所長の主導下に始まり、6年間をかけて行われた胃がん発生要因の疫学的研究も、本年度末で終わり、次の段階への発展を検討中です。発足時、本県の胃がん死亡率は、男性が全国2位、女性が全国1位という憂慮すべき状況にありましたが、本研究の成果が、この状況の改善に寄与出来るよう祈っております。

従来からの検査業務の中の幾つかは保健所や、医療機関に移され、業務上の負担は軽減されたかに見えますが、染色体検査や先天性代謝異常、イタイイタイ病に関する骨代謝指標の検査等、より高次の検査の需要が漸増しており、特に今年度は、緊急輸入された外国産米中の残留農薬の検査も加わり、検査業務は多忙を極めました。特に残留農薬の検査は、国の基準に従って対象となる農薬の種類が倍増すると共に、検査に用いる有機溶媒の問題なども起こっています。全国の地方衛生研究所の共通の問題として、検査データの相互利用、代替検査方式の開発等で、共同して問題解決を目指して行きたいと思っております。

新しく就任した所長として、従来の伝統を尊重すると共に、地元で題材を得て、世界に通ずる一流の研究を行うという理想を掲げて研究を推進して行きたいと存じております。今後とも、各位の御鞭撻を宜しくお願い致します。

平成6年8月

富山県衛生研究所長
北 村

敬

目 次

1. 運 営

(1) 沿革および組織機構	1
(2) 施設の概要	2
(3) 職 員 数	2
(4) 職 員 一 覧	3
(5) 予 算 概 要	5
(6) 各部の業務概要	14
(7) 検 査 状 況	23
(8) 講 師 派 遣	27
(9) 研 修 指 導	29
(10) 研 修 受 講	31
(11) 客員研究員等招へい	32
(12) セミナーの開催	33

2. 調査研究報告

・先天性代謝異常等マススクリーニングの成果について	35
・ヒト染色体に関する調査研究 — 血液, 骨髓液 —	46
・ヒト染色体に関する調査研究 — 羊水・流産胎児 —	56
・姉妹染色分体交換におよぼす培養酸素濃度の影響 2. ヒト末梢血リンパ球について	63
・富山県のマダニ相とマダニからのライム・ボレリア検索	68
・中部山岳国立公園立山の観光ルート沿いで発生する蚊類の季節消長 (1993年度)	75
・日本脳炎流行予測調査	80
・ポリオ流行予測調査	93
・風疹流行予測調査	100
・インフルエンザ流行予測調査	103
・河川水中のウイルス: 富山県内河川のウイルス汚染に関する定点観測	108
・急性胃腸炎におけるA群ヒトロタウイルス血清型の疫学的解析(1991. 7~1994. 4)	114
・富山県における溶血レンサ球菌分離株の菌型と薬剤感受性の推移	120
・環境に分布する <i>Vibrio cholerae</i> のパルスフィールド電気泳動	125
・サルモネラの疫学へのパルスフィールド電気泳動の利用について	129
・都市河川水のサルモネラ定点観測	133

・魚肉ねり製品の製造工程におけるポリリン酸塩の消長(Ⅲ)	
—坐り工程温度の影響について—	140
・米中残留農薬の系統的分析法について	144
・健康女性における腰椎骨塩量の変化と骨代謝指標に関する追跡調査	155
・骨代謝指標としての血清酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ	161
・中高年女性における尿酸値と閉経に関する追跡調査	165
・健康成人における喫煙・飲酒習慣と血清グルタチオン・ペルオキシダーゼ活性	170

3. 資 料

・マイクロプレートを用いた酵素法による先天性代謝異常症マススクリーニングの検討	177
・カドマルカツオブシムシによる建造物の穿孔被害の一例	184
・富山県におけるウイルス検査状況	188
・富山県における恙虫病患者発生状況(1993年)	191
・エンテロウイルス71型感染による髄膜炎を伴った手足口病の発生	196
・生ガキが推定原因食と考えられるSRVによる急性胃腸炎の集団発生	199
・県内1地区におけるC型肝炎ウイルス抗体調査	202
・富山県における1993年の病原微生物検出情報	207
・黒部市の一施設における溶血レンサ球菌感染症の流行	212
・毒素原性大腸菌O148:H28による食中毒事例	215
・農業用溜池のプランクトン調査	219
・高速液体クロマトグラフィーによる米中の総臭素定量	225
・ページ・トラップ／キャピラリーGC／MS法による飲料水中の揮発性有機化合物の 定量(Ⅱ)	229
・ページ・トラップ／GC－MS法とヘッドスペース／GC法による水道水中のトリハロ メタン測定値の比較	234
・富山県の温泉中の金属含有量について	237

4. 業 績

(1) 受 賞	239
(2) 誌上発表	240
(3) 学会発表	251

Titles

Reports

• A Survey Report on Neonatal Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism, Congenital Hypothyroidism and Congenital Adrenal Hyperplasia in Toyama Prefecture.....	35
• Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells	46
• Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells and Fetal Cells	56
• Effect of Oxygen Concentration in Culture on the Frequency of Sister Chromatid Exchanges in Human Lymphocytes Cells	63
• Survey on the Tick Fauna and Detection of Lyme <i>Borrelia</i> from Ticks in Toyama Prefecture.....	68
• Seasonal Prevalence of Mosquitoes Breeding along the Sight - seeing Rout of Mts. Tateyama in Chubu Sangaku National Park in 1993	75
• Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 1993.....	80
• Epidemiological Surveillance for Poliovirus in Toyama Prefecture.....	93
• Epidemiological Surveillance for Rubella Antibodies	100
• Epidemiological Surveillance for Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture.....	103
• Viruses in River Water : Epidemiological Surveillance for Viral Pollution of Rivers in Toyama Prefecture.....	108
• An Epidemiological Analysis on the Serotype of Group A Human Rotavirus in Acute Gastroenteritis from July 1991 to April 1994.....	114
• Changes in Serotype Distribution and Drug Sensitivity among Hemolytic <i>Streptococcus</i> Isolates in Toyama Prefecture	120
• Pulsed - Field Gel Electrophoresis of <i>Vibrio cholerae</i> O1 Distributing in the Environment.....	125
• Use of Pulsed - Field Gel Electrophoresis for Epidemiology of <i>Salmonella</i>	129
• <i>Salmonella</i> Surveillance on River Water in an Urban Area.....	133
• Degradation of Polyphosphates during Manufacturing Process of Surimi - Based Products(Ⅲ). Effect of Temperature during Setting Process.....	140
• Studies on Systematic Analysis of Pesticide Residues in Rice.....	144
• Relationship between the Lumbar Vertebral Bone Loss and the Mean Values of Biochemical Markers of Bone Metabolism in Healthy Middle - aged and Aged Women Evaluated by a Longitudinal Study	155

• Serum Tartrate Resistant Acid Phosphatase as a Biochemical Marker of Bone Metabolism	161
• A Follow - up Study on Serum Levels of Uric Acid around the Menopause in Middle - aged and Elderly Women	165
• Effects of Smoking and Drinking on Glutathione Peroxidase Activity in Serum of Healthy Adults	170

Notes

• Basic Study for Neonatal Mass Screening of Inborn Errors of Metabolism Using Microplate	177
• A House Boring - Damaged by Larder Beetle, <i>Dermestes haemorrhoidalis</i> KÜSTER	184
• Virological Examination in Infectious Diseases in Toyama Prefecture.....	188
• Incidence of Tsutsugamushi Disease in Toyama Prefecture in 1993.....	191
• An Outbreak of Hand, Foot and Mouth Disease and/or Aseptic Meningitis Associated with Enterovirus Type 71 Infection	196
• Outbreaks of Gastroenteritis Caused by Oysters Contaminated with Small Round Virus	199
• Prevalence of Antibody against Hepatitis C Virus in a District in Toyama Prefecture.....	202
• Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 1993	207
• An Epidemic Outbreak of Hemolytic Streptococcal Infection at a Public Institution in Kurobe City.....	212
• An Outbreak Caused by Enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i> O148:H28	215
• A Survey of the Plankton Occurring in Irrigation Ponds	219
• Determination of Total Bromine in Rice by High Performance Liquid Chromatography.....	225
• Determination of Volatile Organic Compounds in Tap Water Using Purge and Trap/Capillary - GC/MS Method (II)	229
• Comparison of Measured Values of Trihalomethanes in Tap Water by Purge and Trap/GC - MS Method with by Head Space/GC Method.....	234
• Concentration of Metals in Thermal Springs in Toyama Prefecture.....	237

1. 運 営

1. 運 営

(1) 沿革および組織機構

昭和22年10月1日	富山県部設置条例の規定により衛生部が設置され、衛生試験検査を所管。
昭和23年1月1日	衛生部公衆衛生課が設置され、細菌検査所、衛生試験室を併置。
昭和23年4月7日	厚生省が「地方衛生研究所設置要綱」を提示。
昭和34年3月30日	旧研究所の官舎が完成。
昭和35年3月28日	富山県衛生研究所設置条例が交付され、4月1日から職員9名の構成で発足。
昭和36年4月1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、課、係制が設けられ、職員17名に拡充強化（庶務係、細菌課、ウイルス血清課、食品衛生課、生活環境課）。
昭和37年11月30日	旧研究所の増築。
昭和38年4月1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、所長代理制が設けられ、また、課名の一部を変更。 庶 務 係→庶 務 課 ウイルス血清課→ウイルス病理課
昭和39年5月18日	「地方衛生研究所設置要綱」改正。
昭和39年10月1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、公害調査課を新設。
昭和43年7月10日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により「所長代理」制を「次長」制に変更。
昭和44年4月1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、従来の課制を廃し、部制を設置し、部に主任研究員を配置（病理生化学部、微生物部、食品科学部、公害調査部）。
昭和46年4月15日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、公害調査部所管の業務が公害センターに移管され、また、各部の名称を変更（病理部、ウイルス部、細菌部、化学部、環境保健部）。
昭和51年9月10日	「地方衛生研究所設置要綱」が改正され、「公衆衛生情報の解析提供」が設置目的に追加。
昭和55年12月20日	研究所新庁舎小杉町中太閤山で建設着工。
昭和57年6月10日	小杉町中太閤山に新庁舎完成。
平成元年4月1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、病理部をがん研究部に名称を変更。
平成4年4月1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、庶務課を総務課に名称を変更。

(2) 施 設 の 概 要

建 物	構 造	延 面 積
研 究 棟	鉄筋コンクリート造3階(1部4階)建	3,044.59m ²
“(動物飼育)	” 平屋建	241.76
車 庫	鉄骨造平屋建	34.56
薬 品 庫	コンクリートブロック造平屋建	20.60
ボ ン ベ 庫	”	17.54
R I 排 水 庫	”	26.65
排水処理庫	”	13.57
渡 り 廊 下	鉄 骨 建	40.50
機 械 室	鉄骨造平屋建	39.24
合 計		3,479.01

(3) 職 員 数

(平成6年5月1日現在)

区 分	所・次長 部・課長	技 術 吏 員	主 幹 研究員	副主幹 研究員	主 任	主 任 研究員	研究員	技術員	嘱 託	計
所 長	1									1
次 長	1									1
総 務 課	1				2			助手 1	運転手 1	5
がん研究部	所 長 事務取扱	(1)				5	1			(1) 7
ウイルス部	1			3		2				6
細菌部	所 長 事務取扱		2			1	2			5
化学部	次 長 事務取扱		1	1		3	2			7
環境保健部	ウイルス部長 兼 務		1			2	2			5
合 計	4	(1)	4	4	2	13	7	1	1	(1) 37

注() は兼務職員で無い数である。

(4) 職 員 一 覧

(平成6年5月1日)

職 名	氏 名	当 所 勤続年数	主 な 担 当 事 務
所 長	北 村 敬	0.2	所内事務総括
次 長	水 上 英 一	7.8	〃
技 術 吏 員	加 藤 一 之	0.2	
総 務 課 長 (出納員)	押 田 政 弘	0.2	人事, 予算, 出納員業務及び課内事務総括
主 任 (会計員)	長 谷 玲 子	0.2	給与, 旅費, 賃金の支給, 収入事務及び会計員業務
主 任 (会計員)	牛 谷 博 信	1.8	物品購入, 予算経理, 決算及び会計員業務並びに財産 管理事務
技 術 員	谷 井 富 造	1.2	実験動物の飼育管理, 滅菌洗浄室の管理
(嘱 託)	金 岡 寛	2.2	公用車の操車, 整備保全業務
がん研究部長	所 務 取 長 扱		部内事務総括及びがん発生要因の調査研究
主任研究員	渡 辺 護	25.4	衛生動物の検査研究及び防除対策に関する調査研究
〃	本 田 幸 子	23.8	環境変異原物質の影響調査研究
〃	林 美貴子	23.5	染色体異常の検査及び調査研究
〃	米 田 豊	0.2	先天性代謝異常マスキングの調査及び調査研究
〃	品 川 保 弘	5.1	がん発生要因の実験的調査研究
研 究 員	高 橋 雅 子	10.11	先天性代謝病の検査及び調査研究
ウイルス部長	森 田 修 行	18.11	部内事務総括及びウイルス等の調査研究
副主幹研究員	石 倉 康 宏	30.2	リケッチア感染症及び免疫学的調査研究
〃	松 浦 久美子	29.2	ウイルス疾患の病因究明及び予防のための調査研究
〃	中 山 喬	24.2	ウイルス疫学に関する調査研究
主任研究員	長谷川 澄 代	22.4	ウイルス感染症の検査及び検査法開発の研究
〃	庄 司 俊 雄	16.8	ウイルス疾患発生の環境要因の調査研究
細 菌 部 長	所 務 取 長 扱		部内事務総括及び病原細菌の生態学的研究
主幹研究員	刑 部 陽 宅	31.2	細菌感染症, 食中毒の原因究明及び病原細菌の生態, 細菌毒素の研究
〃	井 山 洋 子	9.2	水の細菌学的試験, 検査及び水質汚濁防止の調査研究

職 名	氏 名	当 所 勤続年数	主 な 担 当 事 務
主任研究員	磯 部 順 子	4.2	食品の細菌学的試験検査及び食中毒起因細菌の生態調査
研 究 員	田 中 大 祐	2.4	病原細菌のレファレンス業務及び輸入感染症の検査
”	細呂木 志 保	3.1	医薬品、血清学的試験、細菌DNAの研究及び病原細菌情報の収集
化 学 部 長	次 事 務 取 長 扱		部内事務総括及び食品、環境中の汚染物質の調査研究
主幹研究員	松 永 明 信	20.1	化学物質による食中毒及び食品添加物の調査研究
副主幹研究員	高 柳 信 孝	12.2	温泉の成分分析及び調査研究
主任研究員	齊 藤 行 雄	16.2	食品中の残留農薬及び環境汚染物質の検査研究
”	山 本 敦	15.2	家庭用品、食品中の成分の検査研究
”	大 戸 幹 也	8.8	食品中の重金属、器具、容器、包装等の検査研究
研 究 員	小 玉 修 嗣	0.4	飲料水中の残留農薬等の検査研究
”	健 名 智 子	10.1	飲料水等の検査研究
環境保健部長	ウイルス部長 兼務		部内事務総括及び環境化学物質の汚染にかかわる健康調査研究
主幹研究員	西 野 治 身	29.2	環境汚染に伴う地域住民の健康調査及び生化学調査研究
主任研究員	新 村 哲 夫	22.1	生体中の重金属及び成人病における重金属代謝の調査研究
”	田 中 朋 子	16.5	成人病及び各種疾病の生化学的検査研究
研 究 員	中 崎 美峰子	9.1	生体中有害物質の検査研究
”	堀 井 裕 子	7.1	健康調査における生化学的検査研究

(5) 予 算 概 要

総 務 課 平成5年度 予算概要

事業名	予算額	財 源 内 訳		事業内容
		使、手数料	一般財源	
	千円	千円	千円	
衛生研究所費	72,074	2,618	69,456	研究所運営, 維持管理, 試験検査等
試験研究費	15,427		15,427	調査研究(18項目) 1. 染色体に関する研究 2. 環境汚染物質等の突然変異原性に関する研究 3. 衛生害虫の多発性要因の機構解析と発生予測に関する研究 4. ウイルス感染症の疫学的研究 5. ウイルスウォッチプログラム 6. ウイルス感染症の電子顕微鏡的検査に関する研究 7. リケッチアの感染免疫に関する研究 8. 溶連菌の生態に関する研究 9. 都市河川水の病原微生物学的定点観測 10. 病原性海水ビブリオに関する研究 11. 細菌の病原遺伝子に関する研究 12. 飲料水に関する調査研究 13. 食品中の成分及び添加物に関する調査研究 14. 温泉に関する調査研究 15. 食品中の残留農薬及びその他の有害物質に関する調査研究 16. 環境汚染物質の生体影響に関する調査研究 17. ウイルス, リケッチア, 細菌感染症の疫学に関する基礎研究 18. 成人病予防に関する疫学的研究
設備充実費	10,230		10,230	試験研究及び検査用機械器具の更新等
がん等特別研究費	12,876		12,876	調査研究(5項目) 1. がん発生の背景要因の疫学的研究 2. がん発生の要因の実験的研究 3. 生体高分子物質に結合した化学発がん物質の微量定量法の開発 4. DNAまたはRNAを指標とした病原微生物の迅速、敏感な同定法の開発 5. 遺伝子工学による食中毒および集団下痢症の迅速診断に関する研究
計(衛生研究費)	110,607	2,618	107,989	

平成5年度 歳入決算

款 項 目 節	決 算 額	備 考
使用料及び手数料	16,937,914円	
手 数 料	16,937,914	
衛 生 手 数 料	16,937,914	
衛 生 研 究 所	2,470,924	} 収入証紙 2,689,790 円 納入通知 14,248,124 円
環境衛生検査	14,466,990	
諸 収 入	270,531	
雑 入	270,531	
雑 入	270,531	
納 付 金	13,392	
雑 入	257,139	
合 計	17,208,445	

平成 5 年度 歳出決算

款	項	目	節	決 算 額	摘 要
総 務 費	総務管理費	人事管理費		円 11,112,254	
				4,876,519	
				4,451,059	
			共 済 費	423,293	
			賃 金	3,336,400	
			旅 費	691,366	
			諸 費	425,460	
			報 償 費	50,000	
			旅 費	79,460	
			需 用 費	287,000	
			役 務 費	6,000	
			使用料及賃借料	3,000	
				6,235,735	
			計画調査費	6,235,735	
			賃 金	764,962	
			報 償 費	280,000	
			旅 費	1,104,735	
			需 用 費	3,468,248	
			諸 費	60,000	
民 生 費	企 画 費	計画調査費	備品購入費	507,790	
			負担金補助及 交付金	50,000	
				4,156,591	
			児童福祉費	4,156,591	
			児童福祉対策費	4,156,591	
			賃 金	1,993,976	
			旅 費	173,615	
			需 用 費	1,909,000	
			役 務 費	80,000	
				131,922,737	
衛 生 費	公衆衛生費			125,575,274	

款	項	目	節	決 算 額	摘 要
		予 防 費		円 2,867,118	
			旅 費	581,118	
			需 用 費	2,276,000	
			役 務 費	10,000	
		環境保健対策費		10,153,413	
			賃 金	867,680	
			旅 費	377,733	
			需 用 費	3,958,000	
			諸 費	20,000	
			役 務 費	109,000	
			使用料及賃借料	4,821,000	
		衛生研究所費		112,554,743	
			賃 金	4,397,406	
			報 償 費	225,000	
			旅 費	4,637,194	
			需 用 費	71,984,000	
			諸 費	449,616	
			役 務 費	1,798,000	
			委 託 料	13,677,571	
			使用料及賃借料	1,020,000	
			工事請負費	2,050,000	
			備品購入費	12,210,956	
			負担金補助及び 交付金	105,000	
	環 境 衛 生 費			5,839,808	
		環境衛生総務費		3,103,050	
			旅 費	110,050	
			需 用 費	2,870,000	
			役 務 費	23,000	
			備品購入費	100,000	
		食品衛生指導費		2,131,315	
			旅 費	61,315	

款	項	目	節	決 算 額	摘 要
			需 用 費	円 2,067,000	
			役 務 費	3,000	
		環境衛生指導費		160,443	
			旅 費	60,443	
			需 用 費	100,000	
		水道指導費		445,000	
			需 用 費	445,000	
	医 務 費			107,655	
		保健婦等指導 管理費		107,655	
			旅 費	107,665	
	公害防止費			400,000	
		公害防止対策費		400,000	
			需 用 費	400,000	
合 計				147,191,582	

重 要 物 品 一 覧

(購入価格100万円)

品 名	購入年月日	数 量	型 式
倒 立 型 顕 微 鏡	50. 10. 30	1	日本光学 MD型
万 能 顕 微 鏡	57. 9. 30	1	オリンパス
高 速 冷 却 遠 心 分 離 機	54. 11. 26	1	久保田
真 空 凍 結 乾 燥 機	50. 10. 31	1	アトモパック 卓上型 No.2003型
超 低 温 槽	52. 12. 20	1	レブコ ULT-1275型
二 波 長 分 光 光 度 計	49. 3. 30	1	日立 デジタル 156型
水 銀 分 析 計	50. 3. 31	1	島津 UV-201型
赤 外 線 分 光 光 度 計	54. 1. 26	1	日立 260-0613型
原子吸光炎光分光光度計	54. 9. 19	1	島津 AA-640-12型
自 動 連 続 比 色 装 置	55. 12. 15	1	パーキンエルマーモデル55E
ガスクロマトグラフ	48. 2. 23	1	島津 GC-5AP EE型
〃	52. 12. 15	1	日立 163型
〃	57. 1. 8	1	島津 GC-7AP r FFT型
〃	57. 10. 12	1	島津 GC-7AP r FFT型
低 温 乾 燥 灰 化 装 置	45. 12. 7	1	トラテロ LTA-505型
バイオペレレーター	49. 9. 4	1	ミツミ科学 ST-1500-BP
等 電 点 分 画 装 置	49. 9. 4	1	KLB 8100
ク リ オ ス タ ッ ト	53. 1. 10	1	アメリカンオプチカル「ADクリオカット」 840C型
ガンマーカウンター	57. 9. 30	1	アロカ ARC-305
全自動コロニーカウンター	57. 9. 30	1	東海医理化 COP-1000

品 名	購入年月日	数 量	型 式
高 速 冷 却 遠 心 分 離 機	57. 9. 30	1	久保田 KR-20000T
フ レームレスアトマイザー	57. 9. 30	1	島津 GFA-4
超 音 波 洗 浄 機	57. 9. 30	1	神明台 UD-2400FA
超 低 温 槽	57. 9. 30	2	フォーマ 8107型
”	57. 9. 30	1	” 8200型
”	57. 9. 30	1	” 8255型
炭 酸 ガ ス 培 養 装 置	57. 9. 30	1	” 3158型
”	57. 9. 30	1	ナプコ 5200型
超 遠 心 機	57. 10. 15	1	日立 SCP-70H
高速液体クロマトグラフ	57. 10. 2	1	島津 LC-4A
赤 外 線 放 射 温 度 計	57. 10. 8	1	三栄測器 6T53
液体シンチレーションカウンター	57. 10. 12	1	アロカ SC-703
低バックグラウンド 液体シンチレーションカウンター	57. 10. 14	1	アロカ LSC-LB1
ウサギ, マウス感染動物飼育装置	57. 10. 15	2	東洋理工 TAR-23改良型
原 子 吸 光 分 析 装 置	57. 10. 5	1	日本ジャーレル, アッシュ AA-860型
データー処理装置	57. 10. 30	1	横河, ヒューレット, パッカード
ウサギ自動洗浄飼育機	57. 11. 12	1	日本ケージ, BAW309改良型
アミノ酸分析計	57. 11. 30	1	日本分光 SR-1
紫 外 線 吸 収 計	57. 12. 2	1	日科機 イスコUA-5-6型
フラクションコレクター	57. 12. 21	1	ファルマンシア・ジャパン FRARC
高速液体クロマトグラフ	58. 3. 30	1	島津 LC-5Aシステム
超 低 温 槽	58. 3. 24	1	フォーマ 810型
”	58. 3. 24	1	” 8138型

品 名	購入年月日	数 量	型 式
炭 酸 ガ ス 培 養 装 置	58. 3. 31	1	フォーマ 3158型
酵 素 免 疫 シ ス テ ム	58. 3. 31	1	三光純薬 MR580 ミニオウッシャー 2-315
炭 酸 ガ ス 培 養 装 置	59. 1. 10	1	フォーマ 3158型
超 低 温 槽	59. 7. 16	1	“ 8319型
高 速 冷 却 遠 心 機	59. 9. 20	1	久保田 KP-20000T
ガ ス ク ロ マ ト グ ラ フ	59. 9. 28	1	島津 GC-7APFE
電 子 顕 微 鏡	60. 2. 28	1	日立 H-600A
超 低 温 槽	60. 8. 30	1	レブコ ULT-1490型
ガ ス ク ロ マ ト グ ラ フ	61. 9. 6	1	島津 GC-15APEF
分 光 光 度 計	61. 9. 6	1	島津 UV-160
原 子 吸 光 分 光 光 度 計	62. 9. 30	1	日立偏光ゼーマン Z-8000
分 光 光 度 計	62. 9. 10	1	日立U-2000
パンチ & インデクサー	62. 8. 31	1	米国ファンダメンタルプロダクツ社製 MODEL VIA
デ ン シ ト メ ー タ ー	63. 7. 20	1	島津 二波フライングスポットスキャナ CS-9000
電 気 泳 動 装 置	63. 10. 11	1	ファルマシア社ファーストシステム
高速液体クロマトグラフ	63. 10. 21	1	東ソー, CCP-8000
落 射 蛍 光 顕 微 鏡 装 置	1. 8. 11	1	オリンパス BHT-RFK-A2型
蛍 光 測 定 シ ス テ ム	1. 9. 8	1	島津 デンシトメータ (CS-9000) 用
フォトダイオードアレイ検出器	1. 9. 14	1	島津 SPD-M6A
遠 心 分 離 機 用 ロ ー タ ー	1. 11. 19	1	日立工機 スイングローターRPS50-2
純 水 製 造 装 置	1. 12. 19	1	ミリポア ミリーQSP
ガ ス ク ロ マ ト グ ラ フ	2. 3. 31	1	島津 GC-14APSC, タンデムGCシステム
分光光度計酵素反応システム	2. 9. 20	1	島津 UV-2200

品 名	購入年月日	数 量	型 式
高速液体クロマトグラフ クラジェント装置	2. 9. 20	1	島津 LC-9A
ガスクロマトグラフ質量分析計	2. 11. 5	1	島津 GCMS-QP2000GF
超 低 温 槽	2. 11. 6	1	レブコ ULT-2050
炭酸ガスインキュベーター	3. 2. 8	1	サンヨーフォマMIP-3193
スローモーション解析装置付 ビデオ撮影記録機	3. 9. 30	1	ソニー
パルスフィールド電気泳動装置	3. 9. 30	1	バイオラッド CHEF-DR II
分 光 蛍 光 光 度 計	3. 11. 3	1	日本分光 FP-777
高速液体クロマトグラフ用 分光蛍光検出器	4. 3. 6	1	島津 RF-550
パラフィンブロック作製装置	4. 3. 12	1	サクラ精機 テイシュー・エンベンディング・ コンソール #4596
ク リ ー ン ベ ン チ	4. 3. 31	1	日立冷熱 CCV-1301EC型
万 能 顕 微 鏡	4. 9. 30	1	オリンパス
ガ ス ク ロ マ ト グ ラ フ	4. 11. 30	1	島津 GC-14B
D N A 合 成 装 置	4. 11. 30	1	ファルマシアLKB ジーンアッセンブラー スペシャル
マイクロプレートウォッシャー	5. 3. 10	1	米国ダイナテック ウルトラウォッシャーII
紫 外 可 視 分 光 光 度 計	5. 3. 25	1	島津 UV-160A
濃 縮 導 入 装 置	5. 3. 25	1	テクマー社 LSC-2000
デ ン シ ト グ ラ フ	6. 1. 20	1	アトー(株) プリントグラフ AE-6910型
超 低 温 フ リ ー ザ ー	6. 2. 28	1	三洋電機 MDF-382AT
高 速 冷 却 遠 心 機	6. 2. 28	1	久保田 MODEL 6800型
ガスクロマトグラフ質量分析計	5. 11. 30	1	島津 CG/MS QP-1100WA
高速液体クロマトグラフ	5. 12. 24	1	日立製作所 L-6300
ページ&トラップ濃縮装置用 自動試料注入装置	5. 11. 10	1	テクマー社 AQUA Tek50

(平成6年3月31日)

(6) 各部の業務概要

がん研究部

〔行政および依頼検査〕

先天性代謝異常等マススクリーニング：今年度の検体総数は、11,194件で、県内69か所の医療機関で採血され、送付されたものである。受検児は出生数の107.8%（里帰り分娩を含む）であり、前年度同様高い受検率であった。検査項目は、フェニールケトン尿症、ホモシスチン尿症、ヒスチジン血症、楓糖尿症（メイプルシロップ尿症）、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）および先天性副腎過形成症の7疾患である。その結果、要精密検査児として48名（ホモシスチン尿症疑い3名、ガラクトース血症疑い3名、クレチン症疑い28名、先天性副腎過形成症疑い14名）がスクリーニングされ、このうち患児はすべてクレチン症で5名、正常36名、不明、経過観察中のものは7名であった。

染色体検査：検査実施件数は、血液89件、骨髄液1件、羊水46件、流産胎児9件と絨毛1件の計146件で、うち染色体異常を示したものは、血液9件（ダウン症候群2名、均衡転座保因者7名）、羊水1件（13トリソミーモザイク）と流産胎児4件（ターナー症候群等）の計14件であった。検査受付時の主訴は、血液では反復流産、先天異常児の家族が多く、羊水では、高齢妊娠、前子が異常等であった。

衛生動物検査：行政検査として、日本脳炎流行予測事業の媒介蚊の発生調査を継続して行った。平成5年度は前年に比べ発生数は減少した。近年、蚊の発生数の年変動が著しく、その原因について、気象要因、発生源の水田の状況などと、蚊の生理特性との関連を昨年引き続き解析中である。ライム病の富山県における侵淫状況を調べるため、前年に引き続き、福光町医王山、立山町立山美女平、大山町有峰、上市町馬場島などで媒介マダニの分布調査と、それらからのボレリアの検出を行った。各地からライム病ボレリアを媒介するシュルツェマダニ、ヤマトマダニが採集され、ヤマトマダニの32～50%、シュルツェマダニの0～47%からライム病ボレリアが検出された。以上の調査のほかに、分類同定検査として、保健所から依頼の食品混入昆虫など7件と、行政機関からの分類同定分を含め、合計2,233件の検査を行った。

一般依頼検査として、昆虫、ダニ、クモ、ムカデ・ヤスデなどの分類同定検査および駆除指導を196件行い、さらに食品に混入した昆虫類、小動物の糞の分析を10件行った。

〔調査研究〕

胃がん発生の背景要因の疫学的研究：独自に作成した「暮らしと健康についての質問票」を用い、県内5つの医療機関の協力のもと、胃がん患者169名、性別、年齢、居住地域に関し一定条件を備えた対照者338名について、面接聞き取り調査を行った。全てのデータのパソコンへの入力を終了し、現在、国立公衆衛生院疫学部、富山女子短期大学食物栄養科、神戸大学医学部衛生学講座と共同で、富山県の胃がん患者に特徴的な背景要因や、逆に胃がん発生のリスクを低下させる抑制要因について、解析検討中である。

がん発生要因の実験的研究：チャイニーズハムスター肺組織由来培養細胞V79および、アフリカ

ミドリザル腎組織由来培養細胞Veroを用い、環境中の化学物質による染色体核型への影響を検討し、これと並行して、マウス全胎児組織由来培養細胞BALB/c3T3を用い、試験管内における発がん性との関連を検討している。

先天性代謝異常症等患児の実態に関する研究：新生児マススクリーニングで発見された患児について引き続き追跡調査を実施している。今年度のマススクリーニングの結果、低出生体重児で初回検査の時期が遅い例がみられたが、この内からクレチン症の患児が発見された。この例では治療開始されたのが、生後3か月も経ってからとなり、発育・発達の遅れが懸念されている。ガラクトース血症の疑いで、要精検となった児で、兄妹例が見つかり、調査を行った結果、兄妹ともまったく同じ経過をたどり、数か月でガラクトース値は正常化し、一過性と診断された。酵素の異常も認められなかった。

また、新しく開発された脱水素酵素・マイクロプレート法を用いて、フェニールケトン尿症、ガラクトース血症のスクリーニングについての検討を行った。

姉妹染色分体交換法に関する研究：DNA損傷の鋭敏な指標とされている姉妹染色分体交換法(SCE)を用い、ヒト血液において培養中の酸素濃度を低くするとSCE頻度が低くなることを明らかにした。さらに、このことが先天異常の成因に関与しているかを検討中である。

環境汚染物質等の突然変異原性に関する研究：骨髓、末梢血を用いた小核試験法により、環境中の突然変異物質をスクリーニングし、さらに、これらの方法を用いて化学物質の複合効果、抑制作用などを検討している。

衛生動物に関する研究：立山山岳観光地の美女平、ぶな坂、上の小平、追分で前年に引き続き、蚊の発生生態の研究を行った。各地点とも雪解けと同時に多量の幼虫が出現し、夏期に羽化する年1化型であることを明らかにした。なお、捕食性のトワダオオカの役割について現在解析中である。

家屋侵入性カメムシの駆除研究は、シフェノトリン水性懸濁剤の窓枠重点処理法を開発し、各地のホテル、旅館で効果を発揮している。また、一般家庭などで経済的に可能な方法として、市販エアゾル剤の利用を試験し実用性を確認した。さらに、家屋への殺虫剤展着網の“覆い法”を実験し、良好な成績を得た。

各種の事業所において、品質管理上の問題として侵入昆虫の駆除が重要な課題になっている。印刷関連事業所において侵入昆虫類の実態調査を昨年に引き続き行うと同時に、侵入阻止法として、窓に対する網戸を“外掛け方式”の覆い法と、殺虫剤の隙間重点処理法の実験を行い、経過観察中である。

ウ イ ル ス 部

〔行政および依頼検査〕

富山県結核・感染症サーベイランス事業など保健所からの行政依頼および病院小児科などからの一般依頼によるウイルス学的検査では、171名の患者について検査を行い、78名の検体からウイルスが検出された。6～8月にエンテロウイルス71型感染による無菌性髄膜炎を伴った手足口病が多発した。1月には「生ガキ」摂食が原因と考えられる急性胃腸炎の集団発生が2件起こり、小型球

形ウイルスを電子顕微鏡で検出した。恙虫病患者は5月に1名、10月に4名、11月に4名の合計9名発生した。地区別では入善町に住所のある者6名、黒部市、上市町、立山町がそれぞれ1名であった。*R. tsutsugamushi*の感染場所を特定することができなかつたので、患者が日常生活の中で感染したものと推測している。しかし、会社員や小学生、高校生、主婦など農作業や畑仕事をしていない者が多く、感染の機会を推測することは困難であった。

〔流行予測調査〕

日本脳炎の調査では、6月から9月まで県内8定点でコガタアカイエカの捕集調査を行った。蚊の捕集数は全体的に前年より減少しており、ピークも8月中旬もしくは9月上旬にずれ込んでいた。一方、7月13日から9月28日までの間、毎週1回県内産の豚から採血し、日本脳炎ウイルスに対するH I抗体の保有状況を調査した。240頭を検査したが、20倍以上のH I抗体価を示した例はまったく見られなかった。

ポリオでは、前年度に引き続き、感受性調査と感染源調査を行った。感受性調査では、1型、2型および3型の中和抗体陽性率（抗体価4倍以上）は全体として高く、良好な状態が維持されていた。しかし、個人レベルでは3種類の抗体を共に保有しているのは68%であった。感染源調査も前年度同様、小矢部市と魚津市の乳幼児を対象に実施した。ポリオウイルスは分離されなかったが、コクサッキーウイルスA 9型など腸管系のウイルスが50株分離された。これらのことから県内でポリオの流行はないと考えられる。

風疹の感受性調査は前年度同様、女性を対象に年齢区分を0～4歳から40歳以上までの9区分に分けて行われた。年齢区分別の感受性者は、前年度と比較して5～9歳と10～14歳で低下傾向がみられ、平成5年に発生した風疹流行の影響が現れていた。15歳から29歳の年齢層はワクチン定期接種群なので、感受性者が少なく3.3%～8.2%であった。30歳以上でも感受性者の割合は3.4%～12.0%と少数であった。これらの結果は前年度とほぼ同様であり、先天性風疹症候群が発生する危険性はかなり低いと考えられる。

インフルエンザウイルスは、平成6年1月20日に発病した患者から今シーズン初めて分離され、A(H3)型と同定された。その後も患者発生数は少なく、集団発生は4月25日の宇奈月中学校のみであった。108名の咽頭ぬぐい液から29株のウイルスを分離し、そのすべてがA(H3)型であった。H I抗体価測定の結果とも合わせ、県内で流行したウイルスはA(H3)型であった。

〔調査研究〕

ロタウイルスの疫学調査：科学技術庁の生活・地域流動研究費によって、富山県における小児の急性胃腸炎に關与するロタウイルスの血清型をR T-P C R法によって判定し、その分布を調査した。平成4年12月から5年5月の間に検出されたウイルスは血清型1型が優勢であった。これらの血清型別結果は、単クローン抗体・E L I S Aによる血清型別の成績と一致していた。これらの成績を科技庁へ報告した。つぎに、冬期に採取した下水からのロタウイルス遺伝子の検出を試みた。下水を約100～200倍濃縮したが、R T-P C R法によって遺伝子を検出できなかった。一方、平成3年から厚生科学医療研究費（3か年計画）で行っている「A群ヒトロタウイルス(HRV)流行における血清型疫学解析研究」では、1991年7月から1994年4月までの急性胃腸炎の小児について検査し、検出されたHRVを単クローン抗体・E L I S Aによって血清型別した成績をまとめた。

C型肝炎ウイルスの疫学調査：県内のある地区で、C型肝炎ウイルス(HCV)に対する抗体の保

有調査を行った。HCV関連抗体を検出する第2世代のPHAキットを用いて血清抗体を測定したところ、30歳代から70歳代の住民の抗体陽性率は19%であった。これら抗体保有者の血清におけるHCV遺伝子を検索するために、RT-PCR法について検討中である。

河川水中のウイルス汚染調査：小矢部川流域の下水と高岡市内千保川および富山市いたち川での河川水ウイルス汚染調査を開始し、1979～1985年に行った調査の結果と比較しながら、ウイルス汚染度の変化をサーベイする。今回は、まだ調査期間が短いので、得られた成績も十分ではないが、ポリオ予防接種の時期でも河川水からポリオウイルスがほとんど分離されなかったことが、前回の調査結果との顕著な違いであった。

細菌部

〔行政および依頼検査〕

細菌による伝染病の集団発生はなかった。散発例も赤痢3例、チフス1例の計4例と少なく、そのうち2例は海外からの持ち込みであった。一方、細菌性食中毒集団発生はサルモネラ1、病原性大腸菌4、腸炎ビブリオ1の計6例であった。これらのうち、7月に発生した毒素原性大腸菌0148 H28による食中毒は行政上2事例に分けられたが、同一の給食センターが提供した食事を原因とするものであり、1事例とすると患者数802名で、富山県における最大規模の食中毒となった。当研究所の検査で、原因菌は比較的早く判明したが、発病前日の食品からは、精査したにもかかわらず原因菌は検出されず、原因食として収去できなかった発病2～3日前の食品が疑われた。1月に氷見市で発生した病原性大腸菌018 H4による食中毒でも、前日の食品から原因菌は検出されず、同様のことが推定された。

〔その他の行政および依頼検査〕

行政検査：食品については、7月に清涼飲料水の成分規格検査、6～10月に富山湾産魚介類の腸炎ビブリオ検査を行った。魚からは、例年どおり夏期に腸炎ビブリオがよく検出された。水質関係では、市町村あるいは県の企画県民部の依頼を受け、海水浴場のふん便性大腸菌群の定量あるいは海水域の大腸菌群の検査を行った。海水浴場は水質AまたはAAと適で、海水域では汚染が進行していないことを確認した。梅毒については、保健所でガラス板あるいはTPHAで陽性であった検体を、蛍光抗体法で調べたところ、21件中4件が陽性であった。

依頼検査：民間企業あるいは公営企業体より依頼されて検査した、食品、医薬品、水の検体数はそれぞれ145、51、312で、前年とあまり変わらなかった。

〔流行予測、感染症サーベイランスと病原細菌検出情報〕

流行予測事業：厚生省委託の百日咳とジフテリアは前年同様該当年ではなく、県単独事業である溶血連鎖球菌のみ実施した。病院で分離された溶連菌を型別すると、A群では3型が昨年から増加し、今年是最優勢となり、B群では、昨年同様JM9とNT6が多かった。一方、黒部市の一施設では、6月に溶連菌感染症と診断された患者が2名(最終的には15名)発生したので、この流行防止対策を本事業の中で行った。即ち、施設等の職員、児童267名について本菌の検査を行い、患者分離菌と同じA群3型菌保菌者を17名発見し、本菌型を流行原因菌と推定し、この結果を流行防止対策の資

料として、保健所等へ提出した。

感染症サーベイランスと病原細菌検出情報：感染症サーベイランスによれば、前年に比べて、百日咳様疾患は激減、溶連菌感染症と異型肺炎は前年比120～130%の増加であった。腸管系病原細菌検出情報に関しては黄色ブドウ球菌分離数は1991年から1993年にかけて著しく増加したが、この一年間は前年比107%とあまり高くなかった。サルモネラ、カンピロバクター、腸炎ビブリオの分離数も前年並であった。しかし、大腸菌は大きな食中毒事例があったため、前年比220%の増加率であった。

〔調査研究〕

科学技術庁の生活・地域流動研究の一環として、昨年度からウイルス部と共同で「病原微生物の分子疫学的研究」が始まった。細菌部では、2年次分として、B群溶連菌の疫学的研究を行った。B群溶連菌は血清学的に分けられるが、その型別数は少なく、疫学を実施するには、限界があったので、先ずパルスフィールド電気泳動法(PFGE)を用いた染色体DNA制限酵素切断パターンによって、この菌を型別する手技を検討し、次に、検討した方法で多数のB群溶連菌の型別を行った。その結果、B群菌はPFGEによって多くの型に分けられること、また、病院内では患者から患者へあまり伝播しないこと等が明かになった。

コレラ菌については、前年、*V. cholerae* 01をPFGEで型別し、一定の知見を得たが、今年度は同法で0139を型別し、この菌はインドからタイへ侵入する過程でやや変異したこと、また、コレラ毒素陰性の0139は陽性の0139とややクローンを異にすること等を明らかにした（第68回日本感染症学会総会）。

サルモネラについては、都市河川水からの本菌分離と病院分離株の血清型別を実施し、ヒトでは、本菌（特に*S. Enteritidis*）分離数が増加しているのに反し、河川では、浄化対策や下水道の普及が進み、本菌は減少している傾向を把握した。また、本菌の疫学には、多くの血清型の菌について、PFGEが利用出来ることを明らかにし、発表した（第68回日本感染症学会総会）。

氷見農業改良普及所から、氷見市のスポーツ・レクリエーションゾーンの傍にある農業用の溜池で、藻類が繁茂したため相談を受け調査を行った。異常発生藻は緑藻類の*Spirogyra* 属で、施設の排水の影響よりむしろ、自然の富栄養化現象と推定されることなど、第30回日本水処理生物学会で報告した。

近年、DNA技術が発達し、多くの病原菌の診断がPCR法等で行われるようになった。当研究所にDNA合成機が入ったのを機会に、カンピロバクター、結核菌、レジオネラ、ウェルシュ菌、リステリア、マイコプラズマ、侵入性大腸菌について、迅速な検査対応がPCR法で出来るよう、他研究者の報告を参考にプライマーを作製した。現在すべてについて良い結果が得られていないので、その原因を究明中である。

化 学 部

〔行政および依頼検査〕

1. 実施計画に基づく食品等の行政検査

(1) 食品の成分および添加物等の検査および規格試験

清涼飲料水10件につき保存料（安息香酸およびオキシ安息香酸エステル類など）4種ならびに成分規格試験（ヒ素、鉛など）4項目につき検査をしたところ、すべての項目が基準に適合していた。また、煮干し等魚介乾燥品10件につき酸化防止剤（BHA, BHT）2種を検査したところ、すべて不検出であった。他に、めん類など20件について、品質保持剤（プロピレングルコール）を検査したところ、含量は不検出～1.56%で、すべて使用基準（2%以下）を下回っていた。無菌充てん食品10件につき残留過酸化水素の検査をしたところ、すべて不検出であった。富山湾産魚介類24種（トビウオ、アジおよびイカなど）の水銀の含量の検査をしたところ、不検出～0.3mg/kgで、暫定的規制値0.4mg/kgに適合していた。

(2) 食品中の残留農薬検査

県内産の農産物16品目（りんごなどの果物とキャベツなどの野菜など）を対象に、農薬15品目（有機リン系10種、ピレスロイド系5種、計15種）を分析したところ、きゅうりにジクロルボス0.05ppm（残留基準0.2ppm）を検出した。

2. 実施計画に基づかない食品の検査

年度当初の計画とは別に依頼されて、次のような行政検査を行った。

平成5年12月に、小杉保健所管内のY食品工業㈱製造の「ヤングコーン水煮」について、横浜市がエチレンジアミン四酢酸カルシウム二ナトリウム（EDTA）を35ppm検出したとの連絡を受け、再確認のために当研究所でも検査を行った。Y食品工業㈱はコーン原料（輸入品、缶詰）に酸化防止剤（アスコルビン酸）とpH調整剤（クエン酸）を添加後、ポリエチレン製袋に小分け包装し販売していた。検体としてはコーン原料（1.5kg入り缶詰、タイ国よりの輸入品で、EDTA使用の表示はなく、本品は問題の「ヤングコーン水煮」の原材料と同一のロット番号品ではなく、当該品の製造に配合された輸入缶詰は無かった）、ヤングコーン水煮（ポリ袋入り、140g入り、平成5年3月製造、横浜市での検査品と同一のロット番号品はすでに在庫品が無かった）およびY食品工業㈱の使用水、以上3検体を対象にHPLC法（公定法）で検出限界を5ppmとして分析した。結果はコーン原料、ヤングコーン水煮（ポリ袋入り）および使用水いずれからもEDTAは検出されなかった。

3. 家庭用品検査

除菌消臭スプレーや繊維保護用スプレーなどの家庭用エアゾル製品5種につきテトラクロロエチレンおよびトリクロロエチレンを各々検査したところ、いずれからも検出されなかった。

4. 水質検査

(1) ゴルフ場使用農薬による井戸水汚染検査

ゴルフ場使用農薬検査として、各ゴルフ場付近の市町村などからの行政および一般依頼検査として、各々57, 30件を行った。行政検査のうち、11月にはTゴルフ場付近のI町の井戸水から殺菌剤のイソプロチオランを1.4μg/l（水質目標40μg/l）とフルトラニル2.0μg/l（水

質目標 $200\mu\text{g}/\text{l}$)を検出した。また、一般依頼検査のうち、6月には、Kゴルフ場付近のK町およびTゴルフ場付近のI町の井戸水から除草剤のシマジンを各々 0.6 、 $1.4\mu\text{g}/\text{l}$ (水質目標 $3\mu\text{g}/\text{l}$)を検出した。

(2) 新水質基準の基準項目検査

平成5年12月から施行された新水質基準の基準項目のうち、揮発性有機化合物質や農薬など19項目について、行政検査2件(原水)および一般依頼検査41件(原水6, 浄水35)を行ったが、すべて基準に適合していた。

(3) 特殊項目検査(トリハロメタンなど)

次に、トリハロメタンやテトラクロロエチレン(PCE)などの特殊項目について、依頼検査310件を行ったが、以前にPCEに汚染されたI町の井戸水44件から基準をこえてPCEが検出された。

5. 温泉分析

中分析7件を行ったが、すべて温泉に該当した。

[調査研究]

1. 食品中の成分および添加物に関する調査研究

- (1) 魚肉ねり製品の製造工程におけるポリリン酸塩の消長(Ⅲ)－坐り工程温度の影響について
魚肉ねり製品の原料の冷凍すり身には、その保存・流通中のタンパク質の変性防止および最終製品の弾力増強などのため、ピロリン酸塩(P2)とトリポリリン酸塩(P3)の混合製剤が添加されている。既に同ねり製品の製造工程におけるこれらポリリン酸塩(PP)の消長の検討を行ってきたが、本年度は坐り工程におけるPPの分解に及ぼす温度の影響を検討した。その結果、P3の分解については、坐りの温度が $10\sim 20^{\circ}\text{C}$ では分解は速く、 $30\sim 40^{\circ}\text{C}$ ではゆっくり進行した。一方、P2では、 $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ では分解は速く、 10 および 40°C では遅い傾向がみられ、両者がともに分解し易い坐りの温度は 20°C 前後と推定された。

(2) 食品中の銅クロロフィルについて

既に、食品や銅クロロフィル(銅クロ)製剤中の銅クロ含量が低く、その類似化合物が数種、多量に存在することを明らかにした。今年度は類似化合物の構造と生成原因を検討し、10位に水酸基が付いた銅クロであることを見出し、またフェオフィチンの保管、運搬時、あるいは銅クロの合成時に酸化され生成したものであると推定した。

2. 食品中の残留農薬およびその他の有害物質に関する調査研究

(1) 米中残留農薬の系統的分析法について

ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)とフロリジルまたはシリカゲルのミニカラムクロマトグラフィーを用いた米中の有機窒素系、有機塩素系、ピレスロイド系および有機リン系農薬77成分の系統分析法を検討し、良好な結果を得た。本法は米以外の農産物にも適用できる分析法と考えられる。

3. 飲料水に関する調査研究

(1) パージ・トラップ／キャピラリーGC／MS法による飲料水中の揮発性有機化合物の定量(Ⅱ)

昨年度、クライオフォーカス装置を使用しないパージ・トラップ／キャピラリーGC／MS法による飲料水中の揮発性有機化合物16種の基準項目の一斉分析法を報告した。本年度はオートサンプラーを使用して、より効率的に一斉分析する条件を検討し、日常分析に適する方法と

した。

(2) フォトダイオードアレイ検出HPLCを用いた、農薬の新しい多重ピーク解析法

化合物の紫外吸収スペクトルの高次微分スペクトルグラムを描くと、次数が高くなるにつれて鋭いピークになる。農薬混合物のフォトダイオードアレイ検出HPLCを行い、目的農薬毎に高次微分スペクトルにおける極値波長を選んでクロマトグラムを作成することにより、他の農薬の影響を除いた選択的分析が可能となった。

4. 温泉に関する調査研究

(1) 富山県の温泉中の金属含有量について

温泉中の微量金属は生体中に吸収された後、各種臓器に生理活性を与えるものと考えられている。富山県の温泉中の金属含有量について、亜鉛、鉄およびマンガン等10元素の調査を行ったところ、その分析結果は概ね地殻中濃度を反映していると推定された。

環 境 保 健 部

[行政検査]

カドミウム環境汚染にかかわる地域住民の健康調査として、次の検査を行った。

(1) 神通川流域住民健康調査

平成2年度より実施された45～55歳の若い年齢層について4年目の調査が実施され、対象者1,282名中811名が受診した。その後1次B検診に118名、2次検診に14名が受診し、延べ943名の検査を行った。

この他、昭和54年から59年までの調査結果に基づき、腎尿細管機能のgrade分けされたものについて追跡調査が行われ、130名の検査を実施した。

(2) イタイイタイ病要観察者および要観察解除者を対象とした管理検診は4名、また同病の認定申請に伴うもの2名についてそれぞれに該当する検査を実施した。

[調査研究]

1. イタイイタイ病に関する研究

骨障害の診断時における血清骨型アルカリフォスファターゼ活性の評価に資するため、カドミウム非汚染地域に住む健康女性について同酵素を測定したところ、50歳以上の閉経女性では、30、40歳代の未閉経女性に比べ高値を示すことが判明した。

2. 成人病予防に関する疫学的研究

(1) 骨粗しょう症に関する研究

骨粗しょう症のリスクが高い中高年女性について、骨密度低下の実態と骨代謝指標の経年変化を2年間追跡調査し、年齢、閉経との関係を検討した。骨密度は30歳代後半から低下していることが分かり、特に閉経直後に大きく低下した。この変化は、閉経前に尿中ハイドロキシプロリンが高値を示し、骨吸収の亢進と関連があるものと考えられた。

特異性の高い骨代謝指標の開発に関する研究として、血清酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ活性の有用性を検討した。同酵素の変動は、他の骨吸収の指標や腰椎骨密度の変化と関連が

みられ、骨吸収の指標として利用可能である（科学技術庁生活・地域流動研究費による）。

(2) 血清尿酸値に関する追跡調査

高尿酸血症に起因する成人病を予防する目的で、血清尿酸値の評価に資するため、健康女性における生理的变化を2年間追跡調査した。その結果、閉経期の年齢層で高値を示し、閉経者が未閉経者より高い値を示したが、追跡期間中に閉経したものの上昇はみられなかった。

3. 環境汚染物質の生体影響に関する研究

環境汚染物質による生体内微量必須金属への影響を明らかにする目的で、健康男性における喫煙と血清セレン濃度との関係を調べた。その結果、血清セレンは喫煙習慣により低値を示したが、セレン含有酵素であるグルタチオン・ペルオキシダーゼの活性値も喫煙習慣を有するもので有意に低下していることが判明し、抗酸化能への影響が示唆された。

(7) 検 査 状 況

() 内項目数

部 名	区 分	行 政 検 査	依 頼 検 査
がん研究部	先天性代謝異常等検査	11,194 (78,358)	
	染色体検査	110 (110)	36 (36)
	衛生動物等検査	2,233 (3,277)	206 (566)
	小 計	13,537 (81,745)	242 (602)
ウイルス部	感染源検査	1,805 (1,805)	
	血清学的検査	1,459 (2,355)	
	病原微生物の動物試験	120 (120)	
	小 計	3,384 (4,280)	
細 菌 部	伝染病にかかわる検査	624 (627)	
	食中毒にかかわる検査	717 (813)	
	血清学的検査	21 (21)	
	食品検査	35 (145)	145 (390)
	医薬品検査		51 (217)
	水質検査	354 (618)	312 (584)
	その他の検査		135 (270)
	小 計	1,751 (2,224)	643 (1,461)
化 学 部	食品にかかわる検査	158 (1,066)	
	家庭用品検査	5 (10)	
	水質検査	36 (996)	381 (2,664)
	温泉分析		7 (182)
	小 計	199 (2,072)	388 (2,846)
環境保健部	カドミウム住民健康調査	1,083 (5,121)	
	小 計	1,083 (5,121)	
合 計		19,954 (95,442)	1,273 (4,909)

検 査 内 容

() 内項目数

が ん 研 究 部

[行政検査]

1. 先天性代謝異常等検査	11,194 (78,358)
2. 染色体検査	
(1) 血液・骨髓液	89 (89)
(2) 羊 水	14 (14)
(3) 胎 児	6 (6)
(4) 絨 毛	1 (1)
3. 衛生動物等検査	
(1) 衛生・不快動物	2,226 (3,270)
(2) 食品混入異物	7 (7)

[一般依頼検査]

1. 染色体検査	
(1) 血 液	1 (1)
(2) 羊 水	32 (32)
(3) 胎 児	3 (3)
2. 衛生動物等検査	
(1) 衛生・不快動物	196 (566)
(2) 食品混入異物	10 (10)

ウ イ ル ス 部

[行政検査]

1. 感染源検査	
(1) インフルエンザ	102 (102)
(2) ポリオ	140 (140)
(3) その他のウイルス	1,169 (1,169)
(4) リケッチア	190 (190)
(5) ライム病ボレリア	204 (204)
2. 血清学的検査	
(1) インフルエンザ	186 (558)
(2) ポリオ	232 (696)
(3) 日本脳炎：ブタ	240 (240)
ヒト	2 (2)
(4) 風 疹	337 (337)
(5) その他のウイルス	422 (422)
(6) リケッチア	40 (100)
3. 病原微生物の動物試験	120 (120)

() 内項目数

細 菌 部

[行政検査]		[一般依頼検査]	
1. 伝染病にかかわる検査		1. 食品検査	145 (390)
(1) 溶連菌	617 (617)	2. 医薬品検査	51 (217)
(2) チフス	2 (4)	3. 水質検査	
(3) コレラ菌	2 (2)	(1) 海 水	40 (40)
(4) 赤痢菌	1 (2)	(2) 飲料水	224 (448)
(5) その他	2 (2)	(3) 河川水	48 (96)
2. 食中毒にかかわる検査		4. その他の検査	
(1) 病原大腸菌	274 (362)	空調ダクト菌数	135 (270)
(2) サルモネラ	174 (182)		
(3) カンピロバクター	151 (151)		
(4) 腸炎ビブリオ	111 (111)		
(5) その他	7 (7)		
3. 血清学的検査			
梅毒蛍光抗体法	21 (21)		
4. 食品検査			
収去食品	35 (145)		
5. 水質検査			
(1) 海域水	268 (268)		
(2) 河川水	66 (330)		
(3) 湖 水	20 (20)		

() 内項目数

化 学 部

[行政検査]

1. 食品にかかわる検査

(1) 食品添加物	97 (287)
(2) 食品中の残留農薬	37 (755)
(3) 食品中の重金属	24 (24)

2. 家庭用品検査

(1) テトラクロロエチレン	
およびトリクロロエチレン	5 (10)

3. 水質検査

(1) ゴルフ場使用農薬検査	34 (960)
(2) 基準項目 (8項目のみ)	2 (36)

[一般依頼検査]

1. 水質検査

(1) ゴルフ場使用農薬等検査	30 (780)
(2) 基準項目 (18項目のみ)	41 (738)
(3) 特殊項目検査 (トリハロメタン等)	310 (1,146)

2. 温泉分析

7 (182)

環 境 保 健 部

[行政検査]

1. カドミウムにかかわる検査

(1) 神通川流域住民健康調査

1次検診 A 尿検査	811 (1,622)
“ B “	118 (354)
2次検診	
尿, 血液, 腎機能検査	104 (2,732)

短期入院検査

尿検査	44 (263)
-----	-----------

(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診

尿, 血液, 腎機能検査	4 (116)
--------------	----------

(3) イタイイタイ病患者認定申請に基づく検査

尿, 血液, 腎機能検査	2 (34)
--------------	---------

(8) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
微 生 物 学	石 倉 康 宏	総 合 衛 生 学 院 第 1 看 護 学 科	平. 5. 4~7, 10~ 平. 6. 1, 週 1 回	総合衛生学院
微 生 物 学	児 玉 博 英	総 合 衛 生 学 院 第 2 看 護 学 科	平. 5. 4~9 週 1 回	総合衛生学院
微 生 物 学	井 山 洋 子	富 山 市 医 師 会 準 看 護 学 科	平. 5. 4~9 週 1 回	富山市医師会
微 生 物 学	品 川 保 弘	厚生連高岡看護専門学校	平. 5. 4~9 週 1 回	厚生連高岡 看護専門学校
統 計 学	松 浦 久 美 子	総 合 衛 生 学 院 第 2 看 護 学 科	平. 5. 4~8 週 1 回	総合衛生学院
発 育 発 達 論	庄 司 俊 雄	富山健康科学専門学校	平. 5. 4~6 週 1 回	富山健康科学 専 門 学 校
食品衛生学および公衆 衛生学	児 玉 博 英	関 西 資 格 研 修 所 調 理 師 研 修 会	平. 5. 5. 16	金 沢 市 観 光 会 館
食品衛生最近の話題	児 玉 博 英	科学技術庁生活・地域 流 動 研 究 懇 話 会	平. 5. 6. 11	衛生研究所
食品衛生学および公衆 衛生学	児 玉 博 英	関 西 資 格 研 修 所 調 理 師 研 修 会	平. 5. 7. 4	富山県民会館
エイズの正しい理解と その予防	児 玉 博 英	富山健康科学専門学校 公開ウェルネス講座	平. 5. 7. 14	富山健康科学 専 門 学 校
最近の害虫駆除法	渡 辺 護	石川県ビル管理協会 研 修 会	平. 5. 7. 21	金 沢 市
微 生 物 学	石 倉 康 宏	高岡市立看護専門学校	平. 5. 8~平. 6. 3 週 1 回	高岡市立看護 専 門 学 校
H I V - 2 について	森 田 修 行	保健所臨床衛生検査 担 当 者 研 修 会	平. 5. 8. 10	富山保健所

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
生 化 学	品 川 保 弘	高岡市立看護専門学校	平. 5. 9～平. 6. 1 週1回	高岡市立看護 専 門 学 校
公 衆 衛 生 学	庄 司 俊 雄	富山健康科学専門学校	平. 5. 10～11 週1回	富山健康科学 専 門 学 校
食 品 衛 生 学	児 玉 博 英	富山女子短期大学 食 物 栄 養 学 科	平. 5. 10～ 平. 6. 2 週1回	富山女子短期 大 学
最近話題の感染症	児 玉 博 英	県厚生部感染症研修会	平. 5. 10. 8	富山保健所
食 品 衛 生 学	児 玉 博 英	富 山 県 栄 養 士 会 管理栄養士受験講座	平. 5. 10. 24	富山栄養専門 学 校
衛 生 動 物 学	渡 辺 護	富山医科薬科大学医学部	平. 5. 10. 27	富山医科薬科 大 学
カメムシやアブの防除を 中心として	渡 辺 護	第3回日本ペストロジー 学 会 若 手 談 話 会	平. 5. 11. 4	札 幌 市 ポールスター 札 幌
衛 生 管 理	児 玉 博 英	富 山 県 栄 養 士 会 栄養士生涯教育講座	平. 5. 11. 13	富山女子短期 大 学
エンテロウイルス学	森 田 修 行	富山医科薬科大学医学部	平. 6. 1. 12	富山医科薬科 大 学
食 品 衛 生 学	児 玉 博 英	富 山 県 栄 養 士 会 栄養士実力養成コース	平. 6. 1. 23	富山女子短期 大 学
地下水を汚染する物質, 食品に添加される物質 あれこれ	水 上 英 一	富山医科薬科大学医学部	平. 6. 1. 26	衛生研究所
カメムシの駆除	渡 辺 護	平成5年度ねずみ・衛生 害虫駆除研究協議会	平. 6. 2. 15	浜 松 市 フォーテル ホ ー ル
細菌学と細菌性食中毒	刑 部 陽 宅	自家製ソーセージ食品 衛生責任者講習会	平. 6. 3. 3	富山保健所

(9) 研 修 指 導

対象者および所属	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
富 山 保 健 所 茶 木 淑 子	平. 5. 5. 24~28 6. 14~18 7. 12~13	保存料, 品質保持剤および残留農薬の分析法について	化 学 部
保 健 所 予 防 課 防 疫 担 当 者	平. 5. 6. 18	日本脳炎流行予測調査における蚊の分類技術	がん研究部
東興薬品工業(株) 奥 野 妙 子	平. 5. 6. 28 ~ 7. 27	医薬品の品質管理業務	細 菌 部
ブラジル国サンパウロ 州政府保健庁アドール フォ ルチス病理研究 院 マリア コンセイソン マルチンス	平. 5. 7. 7~30	染色体検査, 先天性代謝異常マスキ リーニング	がん研究部
	平. 5. 8. 2~13	飲料水の化学分析 (GC, GC-MS), 食 品中の添加物および脂肪酸の分析 (高 速液体クロマトグラフィ)	化 学 部
	平. 5. 8. 16~31	生体材料の重金属分析 (原子吸光光度 計), 生化学的指標の測定 (オートア ナライザー), 尿中の低分子蛋白分離 (ディスク電気泳動), 尿中および血 清中のアミノ酸分析 (高速液体クロマ トグラフィ)	環境保健部
	平. 5. 9. 1 ~ 12. 27	水, 食品, 医薬品の細菌検査, 食中毒 菌の同定法, 細菌の抗生物質感受性試 験, 細菌感染症の血清学的検査, 細菌 感染症のDNA診断, 免疫学的手技に よる細菌毒素検出, 細菌感染症の分子 疫学	細 菌 部
	平. 6. 1. 4 ~ 2. 28	ELISA法によるロタウイルス血清型別, RT-PCRによるウイルス遺伝子検出, PCRによる結核菌の迅速検査法	ウイルス部
富山医科薬科大学 公衆衛生学講座 院 生 樊 建 軍	平. 5. 8. 26~30	尿中および血中カドミウムの測定	環境保健部

対象者および所属	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
富山保健所 茶 木 淑 子 高岡保健所 大 谷 真由美	平. 5. 10. 15	保存料, 甘味料の分析法について	化 学 部
石川県 保健環境センター 尾 西 一 恵 小 坂 恵	平. 5. 12. 15~17	PCRによるウイルス遺伝子の検出について	ウイルス部
富士化学工業(株) 立 花 晴 美	平. 6. 1. 10 ~ 2. 10	医薬品に関連する微生物試験法	細 菌 部
アースコンサル(株) 定 村 裕 子 荒 木 克 昌	平. 6. 1. 12	底生動物による環境アセスメント法	細 菌 部
高校教諭 虎 石 尚 子	平. 6. 3. 14	最近の機器分析について	化 学 部
富山市水道局 北 野 勤	平. 6. 3. 16	GC-MSによる分析法について	化 学 部

(10) 研 修 受 講

受講者氏名	研修期間	研修内容	研修機関	講師所属氏名
渡 辺 護	平. 5. 6. 21 ～28	カメムシ類の生物学的 防除に関する技術習得	九 州 大 学	教養部生物学教室 助教授 嶋 洪先生
森 田 修 行	平. 5. 7. 22	H I V - 2 について	厚生省保健医療局 エイズ結核感染症 課	国立予防衛生研究所 所長 山崎修道先生 他
細呂木 志 保	平. 5. 8. 30 ～9. 3	病原因子の基礎 手技と応用	大 阪 大 学 微生物病研究所	本田武司先生 他
中 山 喬	平. 5. 10, 22	H I V - 2 検査技術研 修	厚生省保健医療局 エイズ結核感染症 課	国立予防衛生研究所 吉原なみ子先生 他
本 田 幸 子	平. 5. 11. 22 ～29	小核試験技術研修	国立衛生試験所	変異遺伝部 林 真先生
田 中 大 祐	平. 5. 12. 6 ～8	溶血レンサ球菌の検査	神奈川県衛生研究所	滝沢金次郎先生 鈴木理恵子先生
林 美貴子	平. 5. 12. 16 ～17	染色体検査技術 (染色 体ペインティング法) 習得	国立衛生試験所	変異遺伝部 松岡厚子先生
高 橋 雅 子	平. 6. 2. 17 ～18	先天性代謝異常検査技 術者研修 (酵素法によるアミノ 酸等の分析法)	総合母子保健センター	所長 坂元正一先生
石 倉 康 宏 渡 辺 宏 護	平. 6. 2. 24 ～25	希少感染症診断技術研 修	国立予防衛生研究所	細菌部全身性感染 室長 森 守先生 他
小 玉 修 嗣	平. 6. 3. 28 ～31	高速液体クロマトグラ フィによる分析法	(株) 島 津 製 作 所	京都分析センター
坂 田 薫 代	平. 6. 3. 28 ～31	パージトラップGC- MSによる揮発性有機 化合物の分析法	ジーエルサイエンス(株)	営業技術部分析セン ター 宮林武司先生

(11) 客員研究員等招へい

客員研究員招へい事業

客員研究員氏名	所 属 職 名	招へい期間	指 導 内 容
河 野 俊 一	金沢医科大学 公衆衛生学講座 教授	平. 5. 6. 23~24	高尿酸血症と成人病発症予測の 評価について
伊 藤 誉志男	国立衛生試験所大阪支所 食品試験部長	平. 5. 6. 30 ~7. 2	食品中の残留農薬の分析法等に ついて
井 上 栄	国立予防衛生研究所 感染症疫学部長	平. 6. 1. 25~26	花粉症に関する疫学的研究の展開 最近のスギ花粉症の 多発要因について

(12) セミナーの開催

衛生研究所、薬事研究所、公害センター3研究機関合同セミナー

演 題	講師氏名	所属職名	年月日
最近の食品衛生の諸問題	伊 藤 誉志男	国立衛生試験所大阪支所 食品試験部長	平. 5. 6. 30
「エイズを考える」第2話 ウイルスによる宿主細胞の修飾	植 竹 久 雄	京都大学名誉教授・ 元富山県衛生研究所長	平. 5. 9. 22
花粉症の発症機序とその予防対策	井 上 栄	国立予防衛生研究所 感染症疫学部長	平. 6. 1. 25

2. 調 査 研 究 報 告

先天性代謝異常等マススクリーニングの 成果について

高橋 雅子 川幡 映二¹ 本田 幸子 林 美貴子
柏樹 久雄² 武田 幸子³

A Survey Report on Neonatal Mass Screening
for Inborn Errors of Metabolism,
Congenital Hypothyroidism and
Congenital Adrenal Hyperplasia
in Toyama Prefecture

Masako TAKAHASHI, Eiji KAWAHATA¹, Sachiko HONDA,
Mikiko HAYASHI, Hisao KASHIWAGI²
and Sachiko TAKEDA³

要 旨 今年度の検体総数は11,194 件で、スクリーニングの結果、クレチン症 5 名の患者が発見された。また、スクリーニング開始当初から現在までの患者数は、代謝異常症が17 年間で44名、クレチン症が14年間で47名、副腎過形成症が5年間で6 名となり、クレチン症は全国に比べその発生率が高い。

先天性代謝異常マススクリーニングは代謝異常症を早期に発見し、早期に治療することにより、心身の障害を未然に防止するという目的で全国的に実施されている。富山県においては、昭和52年10月より富山県先天性代謝異常等検査事業実施要綱に基づき、フェニールケトン尿症等の5 疾患についてマススクリーニングを開始した。昭和55年4 月には先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）、平成元年4 月には先天性副腎過形成症の検査が追加された。なお、平成4 年8 月26日付で厚生省が「先天性代謝異常検査等の実施について」の一部改正としてヒスチジン血症を対象疾患から削除するとの通達を出したことを受けて、富山県では、ヒスチジン血症を平成5 年度より実施要綱の対象

疾患から削除することとした。しかし、富山県でのヒスチジン血症の患者発見率が全国に比べ有意に高いことから、当所では、引き続きヒスチジン血症のスクリーニングを行うこととし、今年度は7 疾患について検査を実施した。

実 施 方 法

1. 対象疾患

フェニールケトン尿症、ホモシスチン尿症、メイプルシロップ尿症、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）、先天性副腎過形成症、ヒスチジン血症の7 疾患を対象とした。

2. 対象者

県内で出生した新生児のうち、保護者がこの検査を希望した者を対象とした。

3. 検査期間

本報では、平成5年4月より、平成6年3月までの検査実施状況をまとめた。

4. スクリーニング方法

(1) 検査検体

県内の各医療機関において採血されたろ紙血液を用いた。

(2) 検査方法

①アミノ酸代謝異常症

フェニルケトン尿症等の4疾患については、枯草菌を用いる Guthrie法(Bacterial inhibition assay-BIA法)で行った。

なお、ヒスチジン血症については薄層クロマト

グラフィーを併用し、ウロカニン酸の有無を確認した[1]。

②ガラクトース血症

Beutler 法と Paigen・Phage (吉田) 法を併用した[2, 3]。なお、Paigen・Phage 法については、アルカリフォスファターゼを1プレートにつき5mg/ml原溶液で1.5 μ l加えることにより、ガラクトース-1-リン酸を含めたガラクトース量を測定した[4]。

③先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)

委託機関((財)石川県予防医学協会)において、ELISA 法によりTSH(Thyroid-stimulating hormone)値の測定を行った。なお、一部の検体については、FT₄(遊離Thyroxine)の測定を(財)神奈川県予防医学協会に依頼した。

④先天性副腎過形成症

委託機関((財)石川県予防医学協会)において、ELISA 法により17- α -OHP(17- α -hydroxy

表1. 判定基準

対 象 疾 患	測 定 物 質	疑 陽 性	緊急に精密検査を要する
フェニルケトン尿症	Phenylalanine	2mg/dl 以上	
ホモシスチン尿症	Methionine	1mg/dl 以上	
ヒスチジン血症	Histidine	4mg/dl以上で ウロカニン酸が痕跡 または検出されない	
メイプルシロップ尿症	Leucine	2mg/dl 以上	4ng/dl 以上
ガラクトース血症Ⅰ型	Galactose (Gal) Galactose-1-Phosphate (Gal-1-P)	Gal+Gal-1-P 6mg/dl 以上	Gal+Gal-1-P 6mg/dl 以上で ボイトラー法で 蛍光のない場合
Ⅱ型	Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase	ボイトラー法で 蛍光のない場合	
Ⅲ型	Galactose Galactose-1-Phosphate	Gal+Gal-1-P 6mg/dl 以上 Gal+Gal-1-P 6mg/dl 以上	
先天性甲状腺機能 低下症 (クレチン症)	Thyroid-Stimulating Hormone(TSH)	8 μ U/ml以上	30 μ U/ml以上
先天性副腎過形成症	17- α -hydroxy progesterone(17- α -OHP)	直接法30ng/ml 以上 抽出法 7ng/ml 以上	直接法30ng/ml 以上で何 らかの症状がある場合 抽出法10ng/ml 以上

progesterone) 値の測定を行った。

(3) 判定基準

カットオフ値を表1に示した。疑陽性と判定した検体は再採血を依頼し、再検査を行った。再検査でも疑陽性となった場合は、直ちに精密検査機関を受診するよう主治医に報告した。

結果および考察

1. 検査実施状況

今年度の受付総数は、11,194件で、県内69か所の医療機関（おもに産婦人科医院）より送付されてきたものである。

表2および表3に年度別、月別検査実施状況を示した。

今年度の出生数は9,723人であり、受検率は100.8%となった。100%を越えているのは、里帰り分娩が増加したためで、県内の新生児のほとんどが、この検査を受けているものと思われる。

また、再採血検体数は709件で、受付検査総数の6.3%にあたり、そのうち350件（49.4%）が疑陽性になったための再採血検体であった。再採血を依頼したもののうち、疑陽性の理由以外では検体不良が74件（10.4%）と多かった。74件の内訳は採血後日数が経ちすぎているものが44件、血液が十分しみ込んでいないものが9件、汚染が7件であった。これらは、直ちに再採血を依頼した。

表2. 先天性代謝異常等検査実施状況

区 分 期 間	受付総数 (件)	検 査 実人員数 (人)	対象者 (出生数) (人)	受検率 (%)	疑陽性数 (人)			要精検数 (人)		
					代 謝 異常症	ルチン 症 副 腎 過形成症	副 腎 過形成症	代 謝 異常症	ルチン 症 副 腎 過形成症	副 腎 過形成症
52年10月 ～53年 3月	3,449	3,285	7,987	41.1	33	—	—	0	—	—
53年 4月 ～54年 3月	11,972	11,658	16,319	71.4	105	—	—	5(3)	—	—
54年 4月 ～55年 3月	13,808	13,507	15,382	87.8	124	—	—	1(1)	—	—
55年 4月 ～56年 3月	14,142	13,519	14,513	93.2	189	113	—	8(6)	6(4)	—
56年 4月 ～57年 3月	14,198	13,599	13,998	97.1	148	54	—	6(2)	7(3)	—
57年 4月 ～58年 3月	14,297	13,532	13,821	97.9	213	37	—	9(6)	8(2)	—
58年 4月 ～59年 3月	14,389	13,531	13,658	99.1	194	125	—	10(3)	33(3)	—
59年 4月 ～60年 3月	13,948	13,087	13,278	98.6	242	64	—	13(6)	14(2)	—
60年 4月 ～61年 3月	13,744	12,603	12,680	99.4	222	129	—	6(2)	20(4)	—
61年 4月 ～62年 3月	13,415	12,367	11,977	103.3	184	130	—	7(1)	20(2)	—
62年 4月 ～63年 3月	12,294	11,545	11,477	100.6	195	83	—	10(4)	7(1)	—
63年 4月 ～1年 3月	12,434	11,652	11,554	100.8	224	106	—	6(2)	15(4)	—
1年 4月 ～2年 3月	11,633	10,859	10,802	100.5	228	129	84	12(4)	29(2)	14(1)
2年 4月 ～3年 3月	11,356	10,594	10,122	104.7	187	190	71	5(1)	35(4)	16(1)
3年 4月 ～4年 3月	11,546	10,780	10,613	101.6	172	219	58	14(3)	26(5)	20(3)
4年 4月 ～5年 3月	11,311	10,577	9,840	107.5	183	141	80	7(0)	26(6)	22(1)
5年 4月 ～6年 3月	11,194	10,485	9,723	107.8	142	124	68	6(0)	28(5)	14(0)
計	209,110	197,180	207,744	—	2,985	1,644	361	125(44)	274(47)	86(6)

() は 患者数

表3. 月別検査実施状況

年 月		平 成 5 年									平 成 6 年			計	
		4	5	6	7	8	9	1 0	1 1	1 2	1	2	3		
受付検体総数（件）		896	999	952	958	1,049	923	873	874	770	1,078	836	986	11,194	
内	初回検査数（件）	831	928	906	905	988	877	810	826	698	1,006	779	931	10,485	
	再採血総数（件）	65	71	46	53	61	46	63	48	72	72	57	55	709	
訳	再 採 血 内 訳	2回目	54	69	45	49	57	42	58	45	67	66	53	52	657
		3回目	11	2	1	4	4	4	5	3	5	5	4	3	51
		4回以上	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
出 生 数 （ 人 ）		815	847	806	869	862	835	769	771	788	802	751	808	9,273	

また哺乳状態のよくないものが76件(10.7%), 抗生物質の使用等で枯草菌の発育が阻害されるヌケ現象を示し, 判定不能となったものが52件(7.3%)あり, 期間を置いて(哺乳不良の場合は哺乳状態が良くなってから)再採血を依頼した。以上の理由で再採血を依頼した検体のうち, 回収できなかったのは10件で, 95.0%の回収率となった。一方, 疑陽性の理由で再採血を依頼した分については, 回収できなかったのは9件で, そのうち, 死亡が1件, 病院のほうで再検, 追跡するというケースが3件あった。回収率は97.4%であった。

低出生体重児(2000g以下)の場合には, 哺乳が不十分であったり機能が未熟であったりするので, 2000gに達した時か1か月時のうち, いずれか早い時期に再採血を依頼し, 2度の検査を行っている。本年度は122人(1.2%)に再採血を依頼したが, そのうち31人は哺乳不良であった。これらの回収率は96.7%であった。

採血は, 生後5~7日目に行うことになっているが, 4日以内に行われたものが32件(0.3%)あり, これらのほとんどが生後4日目の採血であった。

採血日から受付までの日数は, ほとんどが7日以内であるが, 昨年に比べると4~5日かかっている検体が増え, 811件(7.2%)もあった。これは, 今年度から週休2日制が導入され, 木曜日や

金曜日に採血された検体が, 月曜日から火曜日に当所に到着するというケースが増えたためと思われる。また, 8日以上もかかっている検体は, 29件(0.3%)あった。この中には, 原因は不明だが23日かかったものが, 3件あった。特に先天性副腎過形成症は, 診断の迅速性を要するため, 初回採血は必ず生後5~7日目に行い, 採血後は直ちに郵送してもらうよう更に徹底する必要が認められた。

2. 検査結果

検査成績について, 表2には年度別, 表4には月別の疑陽性および要精密検査数を示した。今年度の疑陽性人数は, 代謝異常症が142人(1.4%), クレチン症が124人(1.2%), 先天性副腎過形成症が68人(0.6%)であり, そのうちそれぞれ6人, 28人, 14人に精密検査の必要が認められた。

表5には, 要精密検査児の検査状況をまとめて示した。

症例1~3は, いずれもメチオニン高値で, 要精密検査となったもので, 検査の結果, 症例1は正常, 症例2、3はその後の検査でメチオニン値が低くなっており, 経過観察中とのことであった。

症例4~6は, ガラクトース血症の疑いで, 精密検査が必要となった。症例4は, ボイトラー法は正常であったが, ガラクトースが異常高値であり, ガラクトース血症Ⅱ型が疑われたが, 酵素活

性は正常で、一過性と診断された。なお、この症例の兄（元 5.30生）も今回と全く同じスクリーニング結果で、要精密検査となっており、同じように、一過性と診断されている。症例5、6は経過観察中である。

症例7～34は、いずれもクレチン症の検査でTSH高値のため、要精密検査となったものである。クレチン症と診断されたのは、症例10、11、17、19および32であった。このうち、症例10と32は、TSHが比較的低値で発見されている患児であるが、いずれも1か月近くたってから徐々に高くなった例である。また、症例17は、在胎28週、出生時体重1,200gで、新生児集中治療室に入っており、約2か月半経ってからようやく初回のスクリーニング検体が送られてきたもので、すでにTSHは異常高値で、FT₄も低値を示した。最近、このような低出生体重児の場合に、体重がある程度に増加するまで、スクリーニング検査のための採血をしない病院が何か所かみられる。そのため、今回の症例のように1か月以上も経ってから患児が発見され、手遅れになる可能性がある。低体重児であっても、初回検査は必ず、生後5～7日目に受けるよう周知徹底する必要が認められた。

症例35～48は、副腎過形成症の疑いで精密検査

を要した例である。症例35、38、39、40、41、43、44、46および47は、正常であった。要精検となった14人のうち、2,000g以下の低出生体重児は10人であった。

また、今年度、ヒスチジン血症のスクリーニングを実施した結果、異常値を示す検体が無く、患児は発見されなかった。

全国および富山県の患児発見状況は表6に示した。

富山県における現在までの患児発見率は、代謝異常症が1/4,200、クレチン症が1/3,600、副腎過形成症が1/7,100である。全国の患児発見率と比較すると、クレチン症について、その発生頻度が有意に高いといえる（ $P<0.05$ ）。

精度管理については、アミノ酸は当所において検査し、TSHについては委託機関へ送付した。アミノ酸については正答率100%であった。TSHについては、異常検体は全てカットオフ値以上で拾い上げられており、問題はなかった。

現在、これらの代謝異常症の簡便迅速なスクリーニング法として、マイクロプレートを用いた酵素法が開発されている。今後、同法を導入することで、患児の早期発見、早期治療による心身障害発生の予防対策はさらに充実すると思われる。

表4. 月別擬陽性件数および要精密検査数

年 月	平成 5 年									平成 6 年			計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
対象疾患													
フェニールケトン尿症		1		1	1				1				4
ホモシスチン尿症	(1)	1			1	1(1)	2	1		1(1)			7(3)
ヒスチジン血症													0
メイプルシロップ尿症	1	2	2	4	6	2	3	3	3	3	1	3	33
ガラクトース血症	8(1)	11	4	8(1)	7		10	10	15	21	13(1)	5	112(3)
クレチン症	13(3)	13(3)	9(1)	6(1)	9(1)	5	7(2)	14(4)	11(4)	14(4)	11(3)	12(2)	124(28)
副腎過形成症	9(2)	5(2)	4(2)	4(2)	7(2)	2	6	5	6	8(1)	10(2)	4(1)	70(14)
計	31(7)	33(5)	19(3)	23(4)	31(3)	10(1)	28(2)	33(4)	36(4)	47(6)	35(6)	24(3)	350(48)

() は 要精密検査数

表5. 要精密検査児の検査状況と結果

*; 患児

対 象 疾 患	症 例	性 別	生 年 月 日	採 血 月 日	日 令	検 査 成 績	精 検 結 果
ホモシスチン尿症	1	男	5. 3.13	5. 3.19 3.29 4. 1	6 16 19	Met 1 mg/dl弱 Met 1~2 mg/dl Met 1~2 mg/dl	正 常
	2	男	5. 8.18	5. 8.23 8.30 9. 7	5 12 20	Met 1~2 mg/dl Met 1~2 mg/dl Met 2 mg/dl	経過観察中
	3	女	6. 1. 8	6. 1.13 1.24	5 16	Met 1 mg/dl Met 2 mg/dl	経過観察中
ガラクトース血症	4	女	5. 4.12	5. 4.18 4.23	6 11	Gal+Gal-1-P 20 mg/dl ボイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 20 mg/dl以上 ボイトラー 正常	一過性 高ガラクトース血症
	5	女	5. 6.18	5. 6.23 6.30 7. 8	5 12 20	Gal+Gal-1-P 6 mg/dl ボイトラー 蛍光微弱 Gal+Gal-1-P 8 mg/dl ボイトラー 蛍光無 Gal+Gal-1-P 8 mg/dl ボイトラー 蛍光無	経過観察中
	6	男	6. 1.18	6. 1.24 1.31 2. 2	6 13 15	Gal+Gal-1-P 8~10 mg/dl ボイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 8~10 mg/dl ボイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 8 mg/dl ボイトラー 正常	正 常
クレチン症	7	女	5. 3.18	5. 3.24 4. 1	6 14	TSH 16.4 μ U/ml 16.1 μ U/ml TSH 20.7 μ U/ml FT4 1.5 ng/dl	一過性 高TSH血症
	8	男	5. 3.28	5. 4. 3 4. 8	6 11	TSH 15.3 μ U/ml 18.1 μ U/ml TSH 14.5 μ U/ml FT4 1.9 ng/dl	一過性 高TSH血症の疑い
	9	男	5. 3.25	5. 3.31 4. 8	6 14	TSH 14.8 μ U/ml 14.1 μ U/ml TSH 22.1 μ U/ml FT4 1.1 ng/dl	一過性 高TSH血症
	10*	女	5. 4. 6	5. 4.11 5. 5	5 29	TSH 13.7 μ U/ml 13.7 μ U/ml TSH 24.0 μ U/ml FT4 1.1 ng/dl	クレチン症
	11*	女	5. 5. 1	5. 5. 6	5	TSH 80 μ U/ml 以上 FT4 0.6 ng/dl	クレチン症 (異所性 上頸部)

平成6年10月1日

表5. つづき

対 象 疾 患	症 例	性 別	生 年 月 日	採 血 月 日	日 令	検 査 成 績	精 検 結 果
	12	女	5. 5.14	5. 5.20 5.26	6 12	TSH 11.4 μ U/ml 12.0 μ U/ml TSH 8.6 μ U/ml FT4 1.7 ng/dl	一過性 高TSH血症
	13	男	5. 6. 9	5. 6.14 6.18	5 9	TSH 10.4 μ U/ml 11.7 μ U/ml TSH 9.6 μ U/ml FT4 2.2 ng/dl	一過性 高TSH血症
	14	女	5. 6.29	5. 7. 5 7. 9	6 10	TSH 9.6 μ U/ml 9.0 μ U/ml TSH 10.6 μ U/ml FT4 1.4 ng/dl	一過性 高TSH血症
	15	女	5. 8. 4	5. 8.10 8.17 8.23	6 13 19	TSH 5.1 μ U/ml 21.1 μ U/ml 25.6 μ U/ml TSH 18.9 μ U/ml FT4 2.1 ng/dl	一過性 高TSH血症
	16	男	5. 9.24	5. 9.29 10. 5	5 11	TSH 20.3 μ U/ml 16.8 μ U/ml TSH 12.4 μ U/ml FT4 1.5 ng/dl	一過性 高TSH血症
	17*	男	5. 7.31	5.10.18	79	TSH 80 μ U/ml 以上 FT4 0.2 ng/dl	クレチン症
	18	女	5.10.22	5.10.28 11. 4	6 13	TSH 9.7 μ U/ml 8.6 μ U/ml TSH 8.9 μ U/ml FT4 1.2 ng/dl	一過性 高TSH血症
	19*	女	5.11. 4	5.11. 9	5	TSH 80 μ U/ml 以上 FT4 0.4 ng/dl	クレチン症 (異所性 舌根部)
	20	女	5.11.10	5.11.16 11.26	6 16	TSH 15.0 μ U/ml 14.3 μ U/ml TSH 22.7 μ U/ml FT4 1.0 ng/dl	一過性 高TSH血症
	21	女	5.11.11	5.11.21 11.28	10 17	TSH 10.1 μ U/ml 9.8 μ U/ml TSH 17.0 μ U/ml FT4 1.4 ng/dl	一過性 高TSH血症
	22	女	5.11.23	5.11.29 12. 3	6 10	TSH 12.0 μ U/ml 13.7 μ U/ml TSH 10.1 μ U/ml FT4 1.8 ng/dl	一過性 高TSH血症

表5. つづき

対 象 疾 患	症 例	性 別	生 年 月 日	採 血 月 日	日 令	検 査 成 績	精 検 結 果
	23	女	5.11.18	5.11.24 12.6	6 18	TSH 19.4 μ U/ml 20.1 μ U/ml TSH 10.2 μ U/ml FT4 1.0 ng/dl	一過性 高TSH血症
	24	男	5.11.28	5.12.5 12.13	7 15	TSH 13.0 μ U/ml 16.3 μ U/ml TSH 12.7 μ U/ml FT4 1.2 ng/dl	一過性 高TSH血症
	25	女	5.12.8	5.12.13 12.20	5 12	TSH 12.2 μ U/ml 12.2 μ U/ml TSH 9.5 μ U/ml FT4 1.5 ng/dl	一過性 高TSH血症
	26	男	5.12.29	6.1.4 1.11	6 13	TSH 18.6 μ U/ml 18.3 μ U/ml TSH 35.7 μ U/ml FT4 0.6 ng/dl	一過性 高TSH血症
	27	女	6.1.5	6.1.10	5	TSH 37.6 μ U/ml 39.0 μ U/ml	経過観察中
	28	男	6.1.13	6.1.18 1.24	5 11	TSH 15.3 μ U/ml 15.1 μ U/ml TSH 14.4 μ U/ml FT4 1.5 ng/dl	一過性 高TSH血症
	29	男	6.1.3	6.1.8 1.25	5 22	TSH 8.3 μ U/ml 8.7 μ U/ml TSH 13.6 μ U/ml FT4 1.6 ng/dl	一過性 高TSH血症
	30	男	6.1.29	6.2.3 2.14	5 16	TSH 12.3 μ U/ml 14.6 μ U/ml TSH 8.5 μ U/ml FT4 1.4 ng/dl	一過性 高TSH血症
	31	女	6.2.2	6.2.8 2.14	6 12	TSH 10.5 μ U/ml 13.7 μ U/ml TSH 15.4 μ U/ml FT4 1.6 ng/dl	一過性 高TSH血症
	32*	女	6.2.6	6.2.11 2.18	5 12	TSH 9.9 μ U/ml 10.2 μ U/ml TSH 13.2 μ U/ml FT4 1.5 ng/dl	クレチン症
	33	女	6.2.16	6.2.21 2.28	5 12	TSH 13.6 μ U/ml 13.6 μ U/ml TSH 9.9 μ U/ml FT4 1.7 ng/dl	一過性 高TSH血症

平成6年10月1日

表5. つづき

対象疾患	症例	性別	生年月日	採血月日	日令	検査成績	精検結果
	34	男	6. 2.28	6. 3. 6 3.10	6 10	TSH 13.7 μ U/ml 11.3 μ U/ml TSH 9.7 μ U/ml FT4 2.5 ng/dl	一過性 高TSH血症の疑い
副腎過形成症	35	女	5. 3.16	5. 3.24 3.31 4. 5	8 15 20	17- OHP (直接法) 23.8 ng/ml 23.7 ng/ml (抽出法) 5.9 ng/ml 17- OHP (直接法) 38.0 ng/ml 43.1 ng/ml (抽出法) 8.1 ng/ml 17- OHP (直接法) 37.8 ng/ml 43.0 ng/ml (抽出法) 8.7 ng/ml	正 常 在胎週数 34週 生下時体重 2010g
	36	女	5. 3.28	5. 4. 7 4.14 4.21	10 17 24	17- OHP (直接法) 30.8 ng/ml 28.2 ng/ml (抽出法) 7.5 ng/ml 17- OHP (直接法) 29.2 ng/ml 27.7 ng/ml (抽出法) 9.4 ng/ml 17- OHP (直接法) 26.0 ng/ml 18.6 ng/ml (抽出法) 8.3 ng/ml	正 常 在胎週数 27週 生下時体重 940g
	37	女	5. 4. 6	5. 4.11 5. 5	5 29	17- OHP (直接法) 40.3 ng/ml (抽出法) 8.6 ng/ml 17- OHP (直接法) 51.6 ng/ml 42.4 ng/ml (抽出法) 10.5 ng/ml	経過観察中 在胎週数 29週 生下時体重 1062g
	38	男	5. 5.20	5. 5.25	5	17- OHP (直接法) 35.1 ng/ml 32.4 ng/ml (抽出法) 15.2 ng/ml	正 常 在胎週数 32週 生下時体重 2240g
	39	女	5. 5.11	5. 6.16	36	17- OHP (直接法) 42.9 ng/ml 44.0 ng/ml (抽出法) 12.8 ng/ml	正 常 在胎週数 28週 生下時体重 1300g
	40	男	5. 6.22	5. 6.29	7	17- OHP (直接法) 73.5 ng/ml 69.2 ng/ml (抽出法) 28.3 ng/ml	正 常 在胎週数 30週 生下時体重 1774g

表5. つづき

対 象 疾 患	症 例	性 別	生 年 月 日	採 血 月 日	日 令	検 査 成 績	精 検 結 果
	4 1	女	5. 6. 28	5. 7. 5 7. 28	7 30	17- OHP (直接法) 29.3 ng/ml 35.0 ng/ml (抽出法) 9.1 ng/ml 17- OHP (直接法) 31.9 ng/ml 38.9 ng/ml (抽出法) 8.0 ng/ml	正 常 在胎週数 28週 生下時体重 1124g
	4 2	男	5. 7. 18	5. 7. 28	10	17- OHP (直接法) 80 ng/ml以上 (抽出法) 56.4 ng/ml	正 常 在胎週数 24週 生下時体重 816g
	4 3	男	5. 8. 2	5. 8. 9 8. 17	7 15	17- OHP (直接法) 37.9 ng/ml 40.8 ng/ml (抽出法) 11.3 ng/ml 17- OHP (直接法) 47.4 ng/ml 47.0 ng/ml (抽出法) 7.9 ng/ml	正 常 在胎週数 36週 生下時体重 2810g
	4 4	女	5. 8. 15	5. 8. 23	8	17- OHP (直接法) 30.2 ng/ml 34.7 ng/ml (抽出法) 11.6 ng/ml	正 常 在胎週数 31週 生下時体重 1538g
	4 5	女	5. 12. 26	6. 1. 10 1. 17	15 22	17- OHP (直接法) 62.3 ng/ml 80.2 ng/ml (抽出法) 36.2 ng/ml 17- OHP (直接法) 80 ng/ml以上 (抽出法) 36.8 ng/ml	正 常 在胎週数 27週 生下時体重 1004g
	4 6	男	6. 1. 25	6. 1. 30	5	17- OHP (直接法) 59.4 ng/ml 54.0 ng/ml (抽出法) 11.6 ng/ml	正 常 在胎週数 34週 生下時体重 1452g
	4 7	男	6. 1. 25	6. 1. 30	5	17- OHP (直接法) 62.3 ng/ml 54.0 ng/ml (抽出法) 10.6 ng/ml	正 常 在胎週数 34週 生下時体重 2034g
	4 8	男	6. 3. 5	6. 3. 14 3. 24	9 19	17- OHP (直接法) 29.5 ng/ml 25.7 ng/ml (抽出法) 7.3 ng/ml 17- OHP (直接法) 81.5 ng/ml (抽出法) 16.6 ng/ml	正 常 在胎週数 26週 生下時体重 1208g

表6. マスクリーニングによる全国および富山県の患者発見状況

区 分	全 国		富 山 県					
実 施 人 数 (期 間)	21,119,892 人 (S52. 4 ~H5. 3)		186,695 人 (S52.10~H5.3)		10,485 人 (H5.4 ~H6.3)		197,180 人 (S52.10~H6.3)	
患者数, 発見率 病 名	患 者 (人)	発 見 率	患者	発見率	患者	発見率	患者	発見率
フェニールケトン尿症	263	1 / 80,300	4	1/ 46,700	0		4	1/ 49,300
ホモシスチン尿症	123	1 / 171,700	0		0		0	
ヒスチジン血症	2,177*	1/ 9,100*	33	1/ 5,700	0		33	1/ 6,000
メイプルシロップ尿症	49	1 / 431,000	1	1/ 186,700	0		1	1/ 197,200
ガラクトース血症	494	1 / 42,800	0		0		0	
そ の 他	271	1 / 77,900	6	1/ 31,100	0		6	1/ 32,900
計	3,377	1 / 6,300	44	1/ 4,200	0		44	1/ 4,500
実 施 人 数 (期 間)	17,789,963 人 (S54. 4 ~H5. 3)		158,245 人 (S55.4 ~H5.3)		10,485 人 (H5.4~H6.3)		168,730 人 (S55.4 ~H6.3)	
ク レ チ ン 症	3,098	1 / 5,700	42	1/ 3,800	5	1/ 2,100	47	1/ 3,600
実 施 人 数 (期 間)	6,239,130 人 (S63. 4 ~H5. 3)		42,810 人 (H1.4~H5.3)		10,485 人 (H5.4~H6.3)		53,295 人 (H1.4~H6.3)	
先天性副腎過形成症	304	1/ 20,500	6	1/ 7,100	0		6	1/ 8,900

*全国のヒスチジン血症の患者数および発見率は平成4年3月までの結果

富山県においても、早急に酵素法の導入を検討すべきと考えられる。

文 献

1. 本田幸子, 林美貴子, 西田義雄, 林圭子 (1977). 富山衛研年報, 昭和52年度, 22- 26.
2. 本田幸子, 林美貴子, 森田修行, 林圭子, 西田義雄, 渡辺正雄 (1978). 富山衛研年報, 昭和53年度, 122- 125.
3. 本田幸子, 林美貴子, 徳満尚子, 吉川俊夫, 植竹久雄, 中島千賀子, 木下清美 (1981). 富山衛研年報, 昭和56年度, 125-131.
4. 先天性代謝異常検査技術者研修会研修テキスト (1986). p65-74. 総合母子保健センター編.

ヒト染色体に関する調査研究—血液, 骨髓液—

林 美貴子 本田 幸子 柏樹 久雄¹

Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells

Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA
and Hisao KASHIWAGI¹

要 旨 平成5年度の染色体検査件数は血液89人と骨髓液1人の90人で, うち染色体異常は血液9人であった。検査受付時の依頼理由は反復流産または習慣性流産が61人と最も多く, 続いて先天異常児の家族, 低身長, 精神発育遅延等であった。発見された染色体異常の内訳は, 均衡転座型染色体保因者5人, ダウン症候群2人, モザイク型の転座型18トリソミー症候群1人とモザイク型ターナー症候群1人の9人であった。

また, 昭和48年度から平成5年度までに検査を行った1,073件(実人数1,054人)中, 1,042件(同1,029人)が検査可能であり, そのうち185人に染色体異常がみられ, その異常率は18.0%であった(実人数)。その主なものはダウン症候群(21トリソミー)96人, 次いで, ターナー症候群17人, 18トリソミー症候群11人, 均衡転座型染色体保因者22人, 白血病による多彩な染色体異常14人などであった。

細胞遺伝学の進歩, 染色体分染法の発展にともない, 染色体分析の精度も向上し, 現在, 染色体検査は先天異常児, 流産を繰り返す夫婦, 白血病, 悪性腫瘍組織, ハイリスク妊婦の羊水検査や流産の原因検索等の目的で広く行われている。

一般に, 新生児集団の約0.6%が何らかの染色体異常を有することが報告されている[1, 2]。また, 最近の富山県の年間出生数は約1万人であることから, 単純に計算すると約60人の染色体異常児が毎年生まれ, それが年々加算されていくことになる。このことは, 出生率の低下が問題になってきている少産時代での母子衛生上, かなり大きな比重を占めると考えられる。このようなことから, 染色体検査の需要は潜在的なものも含め

るとかなり多いと思われる。

当所では, 富山県総合母子保健対策の一環として先天異常児の発生を予防する目的で, 染色体異常の有無を検査し, 適正な指導を行うため, 昭和48年度より染色体検査研究事業実施要領にしたがい, 染色体検査を行ってきた。

ここに, 平成5年度の血液と骨髓液の染色体検査の内容とともに過去21年間に検査を行った1,073件の検査内容について報告する。

実 施 方 法

平成5年度の染色体依頼検査件数は血液89件

(人)、骨髓液1件(人)の計90件(人)であった。全て県内の病院よりの依頼で、その内訳については、表1に示した。

検査方法は通常の方法にしたがったが、その詳細については前報のとおりである[3]。

結 果

昭和48年度から平成5年度までの血液、骨髓液

表1. 検査依頼病院内訳
(昭和48～平成5年度)

県別	病院名	年 度	
		H.5	S.48～H.5
県内	県立中央病院	59	530(5)
	富山赤十字病院	16(1)	195(34)
	高志学園	5	83
	富山市民病院		75
	富山医科薬科大学	5	50
	厚生連高岡病院		17
	富山保健所		17
	砺波総合病院		9
	済生会富山病院		6
	富山通信病院		6
	国立富山病院		6
	社会保険高岡病院		2
	黒部市民病院		2
	済生会高岡病院	1	2
	小杉保健所		1
	他	4	24
	小計(件)	90(1)	1,025(39)
県外	国立金沢病院		42
	福井愛育病院		4
	他		2
	小計(件)	0	48
計(件)		90(1)	1,073(39)

() : 骨髓液

の染色体検査受付状況について、表2に示した。

平成5年度は血液89件(人)、骨髓液1件(人)の計90件(人)であった。また、昭和48年度からの合計件数は血液1,034件、骨髓液39件の計1,073件になったが、白血病等の血液疾患による重複分19件を除くと、実人数は血液1,020人、骨髓液34人の計1,054人であった。

平成5年度の検査受付時の依頼理由と染色体異常の有無等について表3に示したが、依頼理由の主なものは、血液では、反復流産が61人と最も多く、次いで、先天異常児の家族6人、低身長5人、精神発育遅延4人、ダウン症候群の疑い3人等であった。骨髓液は白血病1人であった。

染色体異常は、均衡転座型染色体保因者5人、ダウン症候群2人、モザイク型で転座型18トリソミー症候群1人とモザイク型ターナー症候群1人の計9人であった(表4)。

依頼理由のうちで、最も多かった反復流産または習慣性流産の原因検索のために検査を行った61人(30組夫婦+妻1人)中5人が均衡転座型染色体保因者(図1～5、表4中の症例1～5)で、さらに3人が9番染色体動原体部逆位保因者であった。5人のうち2人は夫婦であり、自然流産を3回繰り返したため、3回目の流産時にその胎児を原因追及のために染色体検査を行ったところ、1番染色体長腕末端部の部分欠損(核型46,XY,del(1)(q42))が認められた[4]。さらに夫婦の染色体検査を行ったところ、夫は1と12番染色体の相互転座、妻は13と14番染色体のロバートソン型の相互転座であった。このように両親の両方に染色体異常がある場合、染色体的に正常な子を生産する確率は非常に低くなる。その割合について計算すると、染色体的に正常が1に対して、外見は正常であるが染色体的には均衡転座保因者であるが3と、染色体的には完全に異常である(トリソミー、モノソミー)が12となり、トリソミー児、モノソミー児は流産に終わることが多いと思われる。また、夫婦の両親および兄弟の染色体検査はいずれも行われなかった。

先天異常児の家族6人はモザイク型の転座型18トリソミー症候群、モザイク型ターナー症候群と

精神発育遅延児の家族であったが、いずれにも染色体異常は見られなかった。

低身長5人の内訳は3人が下垂体性小人症でターナー症候群との鑑別のため、残る2人は成長ホルモン分泌試験に低反応のため、低身長を主訴として検査を行ったが、いずれにも染色体異常は見られなかった(表3)。

ダウン症候群の疑い3人のうち、2人が21トリソミー型のダウン症候群であった(表3)。表4の症例6は特異な顔貌、耳介低位、両眼隔離、眼裂斜位(つり上がり目)、鞍鼻、巨大舌、猿線、心奇形(-)等の症状を示した。症例7は在胎39

週(2876g, 45cm)で出生し、特異な顔貌、両眼隔離、眼裂斜位、鞍鼻、鼻根扁平、硬口蓋高位、巨大舌、猿線、筋緊張低下等の症状を示した。また、残る1例は両眼隔離、眼裂斜位、鞍鼻、鼻根扁平等の症状は観察されたが染色体異常は見られなかった。

精神発育遅延の3人には軽度精神発育遅滞、発語不明瞭、低身長、けいれん発作等がみられたが、脆弱X染色体検査も含め、染色体異常は見られなかった(表3)。

ロキタンスキー症候群(Rokitansky-Kuster-Hauser症候群)は、先天性膈欠損症として知

表2. 検査受付状況(昭和48~平成5年度)

年度	血 液			骨髄液			合 計		
	受付数	不能数*1	異常数*2	受付数	不能数*1	異常数*2	受付数	不能数*1	異常数*2
昭和48	26	1	5				26	1	5
49	40		10				40		10
50	20	2	9				20	2	9
51	63		18	1		1	64		19
52	50	2	6				50	2	6
53	55	3	10				55	3	10
54	46	1	9				46	1	9
55	51	2	11				51	2	11
56	49	1	9				49	1	9
57	60	2	12	1	1		61	3	12
58	47	2	16	1	1		48	3	16
59	37	1	8	1		1	38	1	9
60	32		2				32		2
61	33	1	5	2		1	35	1	6
62	39	1	9				39	1	9
63	49	2	7	7	2	1	56	4	8
平成元	50	1	7	3	1		53	2	7
2	60		7	9	2	1	69	2	8
3	52		2	4			56		2
4	86	1	10	9		3	95	1	13
5	89	1	9	1			90	1	9
計(件)	1,034	24	181	39	7	8	1,073	31	189

*1 染色体分析不能数

*2 染色体異常有数

表3. 染色体検査内容(平成5年度)

依頼理由	検査数	判定数	異常数
血液	89	88	9

内訳			
反復流産	61	61	5
先天異常児の家族	6	6	0
低身長	5	5	0
ダウン症候群の疑い	3	3	2
精神発育遅延	3	3	0
ロキタンスキー症候群	3	3	0
ターナー症候群の疑い	2	2	1
18トリソミー症候群の疑い	1	1	1
発育遅延	1	1	0
水頭症	1	1	0
胎児異常の疑い	1	1	0
糖尿病	1	1	0
白血病	1	0	0
骨髄液	1	1	0

内訳			
急性リンパ性白血病	1	1	0
計(件)	90	89	9

られている[5]が、検査を行った3人にはいずれも染色体異常は見られなかった(表3)。

ターナー症候群の疑い2人のうち、1人は低身長(5歳, 98.5cm, 16.3kg), FSH高値, 骨X線(手根骨)3歳6か月等の症状を示し、染色体検査では45,X/46,X,r(X)(p22q22)(1:3)のモザイク型ターナー症候群であった(表4;症例8, 図6)。残る1人は低身長(6歳, 104cm, 14.8kg)両眼隔離, 鼻根扁平, 軽度の精神発達遅延等を示したが、染色体異常は見られなかった。

18トリソミー症候群の1人は出生時, 在胎40週, 2500g, 仮死5分間, 現在3歳で言語発達遅滞, 低身長(90.3cm), 右耳介奇形, 右外耳動脈狭窄, 心奇形, 内反足, 左第1指バネ指等の症状を示した。染色体検査で、モザイク型の転座型18トリソミー, 46,XX/46,XX,-18,+dic(18)(pter→q23::q23→pter(1:1)の核型であった(表4;症例9, 図7)。

発育遅延(子宮内にいる時から, 強い発育遅延がみられたため), 水頭症, 胎児異常の疑い(妊娠35週の胎児血, 羊水過多, 切迫早産, 胎児消化管閉塞等), 糖尿病の各1人にはいずれも染色体異常は見られなかった。また, 白血病の1人は細胞分裂像が少なく, 検査不能であった(表3)。

骨髄液の1人は急性リンパ性白血病のため検査を行ったが, 染色体異常は見られなかった(表3)。

表4. 染色体異常の内訳(平成5年度)

症例	疾患名	核型	主要症状等
血液			
1.	均衡転座保因者	46,XY,t(1;4)(q11;p15.2)	自然流産2回
2.	均衡転座保因者	46,XY,t(1;7)(q45;q11)	自然流産3回
3.	均衡転座保因者	46,XX,t(10;18)(q23.2;q11.2)	自然流産3回
4.	均衡転座保因者	46,XY,t(1;12)(q42;p13)	自然流産3回 夫婦, 第3回目の流産胎児染色体異常
5.	均衡転座保因者	45,XX,t(13q14q)	自然流産3回 (46,XY,del(1)(q42))
6.	ダウン症候群	47,XX,+21	口内小, 鞍鼻, 鼻根扁平, 巨大舌, 猿線等
7.	ダウン症候群	47,XX,+21	鞍鼻, 鼻根扁平, 両眼隔離, 筋緊張低下, 猿線等
8.	ターナー症候群	45,X/46,X,r(X)(p22q22)	低身長, FSH高値
9.	18トリソミー症候群	46,XX/46,XX,-18,+dic(18)(pter→q23::q23→pter)	言語発達遅滞, 低身長, 耳介奇形, 心奇形, バネ指等

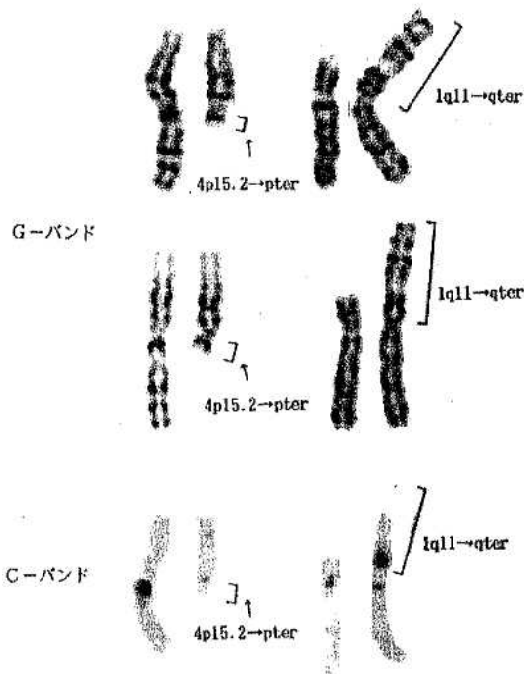


図1. 症例1の部分核型
46, XY, t(1;4)(q11;p15.2)

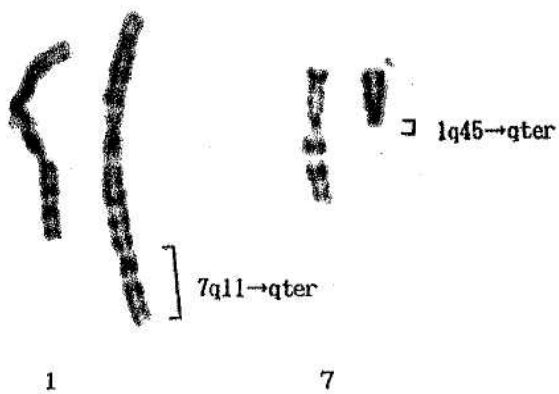


図2. 症例2の部分核型
46, XY, t(1;7)(q45;q11)

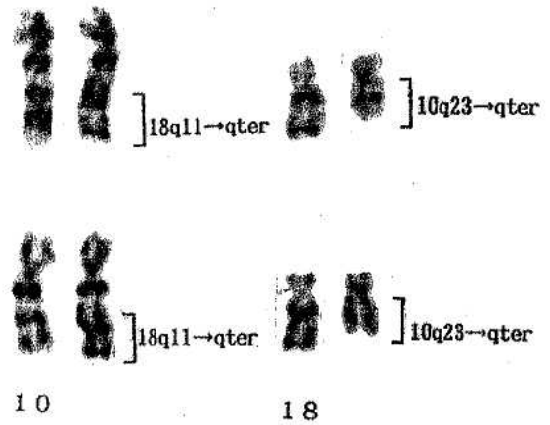


図3. 症例3の部分核型
46, XX, t(10;18)(q23.2;q11.2)

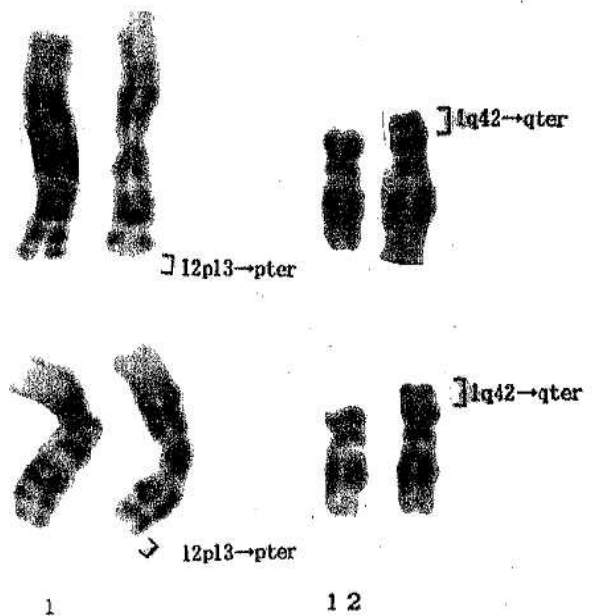


図4. 症例4の部分核型
46, XX, t(1;12)(q42;p13)

表5に昭和48年度から平成5年度までに検査を行った1,054人(実人数)の依頼理由と染色体異常の有無等についてまとめて示した。検査可能であった1,029人中185人に染色体異常(異常率18.0

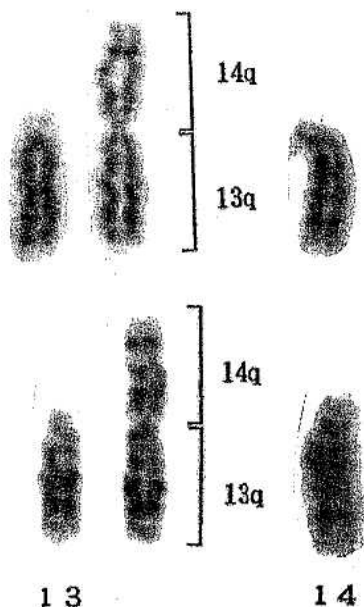


図5. 症例5の部分核型
45, XX, t(13q14q)

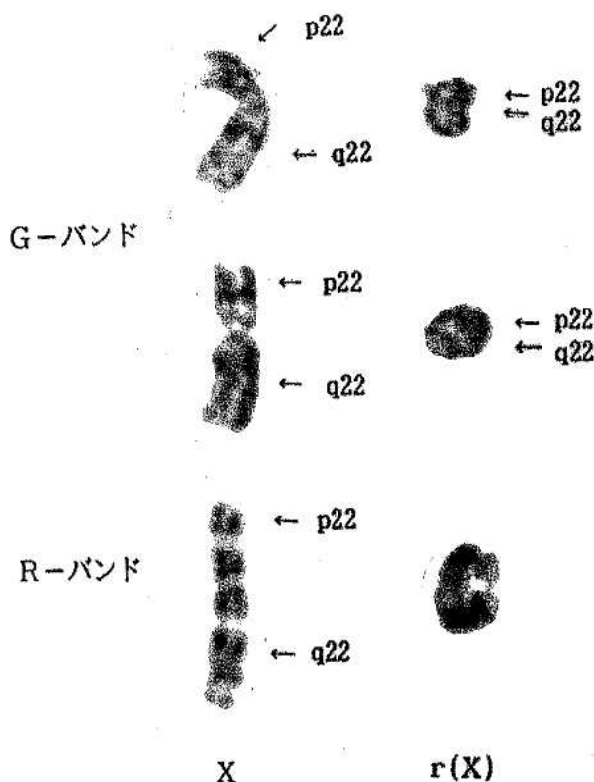


図6. 症例8の部分核型
46, X/46, X, r(X)(p22q22)

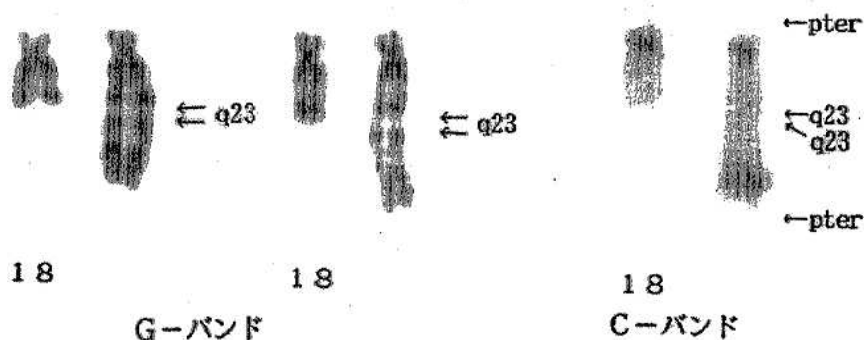


図7. 症例9の部分核型
46, XX/46, XX, -18, +dic(18)(pter→q23::q23→pter)

%) がみられた。染色体異常の内訳については、表6に常染色体異常の内訳(異常率16.8%), および表7に性染色体異常の内訳(異常率26.5%)を示した。常染色体異常のなかではダウン症候群が最も多く、60.8%(96/158)をしめ、以下、18トリソミー症候群7.0%(11/158)、13トリソ

ミー症候群等2.5%(4/158)、均衡転座保因者があわせて13.9%(22/158)、白血病等8.9%(14/158)とその他が6.9%であった。一方、性染色体異常ではターナー症候群63.0%(17/27)、クラインフェルター症候群22.2%(6/27)等であった。ターナー症候群の疑い75人中17人が45,

表5. 染色体検査結果一覧(実人数*)

依頼理由	検査数	判定数	異常有数	その他*
血液				
染色体異常者の家族	137	137	7	
その他の先天異常者の家族	83	83	0	
反復流産	236	235	14	3
ダウン(21トリソミー)症候群の疑い	123	121	96	
先天奇形				
┌13(D)トリソミー症候群の疑い	4	4	4	
└18トリソミー症候群の疑い	11	11	11	
└他の奇形症候群の疑い	93	88	8	
猫なき症候群(5p部分モノソミー)の疑い	6	6	1	
発育不良、発育遅延	43	43	0	2
脆弱X染色体症候群の疑い	4	4	0	
副腎性器症候群の疑い	4	4	1	
白血病	37	32	5	
ファンコニー貧血	1	1	1	1
色素性乾皮症	1	1	1	
クラインフェルター症候群の疑い	6	6	5	
半陰陽	13	11	3	
ターナー症候群の疑い	21	21	13	5
無月経	27	27	2	
低身長	14	14	0	
不妊、卵巣機能不全	3	3	0	1
生理不順	3	3	1	
膣欠損・鎖膣	7	7	0	
他の性染色体異常の疑い	6	6	0	
心臓病	9	9	1	
胎児血液	9	9	0	
その他	119	113	2	
小計	1,020	999	176	12
骨髓液				
白血病等	34	30	9	
計(人)	1,054	1,029	185	12

実人数* : 白血病等の理由による再検査は除く

その他* : 9番染色体逆位保因者、睾丸性女性化症候群

Xあるいは多彩なモザイク型の染色体異常だったが、その核型については表8にまとめた。

考 察

昨年度に引き続き、依頼理由として最も多かったのは反復流産夫婦であり、年々増加傾向にあり、昨年度の41人に比べ、今年度は61人と大幅に増加している。また、当所で、妊娠初期に自然流産を

繰り返す理由で検査を行った236人中14人に染色体異常が発見されたことになり、その異常率は6.0%になった。さらに夫婦単位別によると112組中13組11.6%となり、約10組に1組の夫婦に染色体異常がみられたことになった(表5)。表9にその14人の染色体核型を表したが、トリプルXの1人を除いて、他は均衡転座型染色体保因者であった。また、発端者である均衡転座型染色体保因者の両親、兄弟などの家系についての染色体検査は行われなかった。また、以上の我々の経験例

表6. 常染色体異常と主な核型

疾患名	人数	主な核型
ダウン症候群	96	
(トリソミー型 91)		47,XY,+21 47,XX,+21
(モザイク型 3)		46,XY/47,XY,+21
(転座型 3)		46,XX,-13,+t(13;21) 46,XX,-21,+t(21;21)
13トリソミー症候群等	4	
(トリソミー型 2)		47,XY,+13 47,XX,+D
(モザイク型 1)		46,XX/47,XX,+D
(転座型 2)		47,XY,-13,+t(13;13)
18トリソミー症候群	11	
(トリソミー型 9)		47,XY,+18 47,XX,+18
(転座型 1)		46,XX,-18,+iso psu dic(18) (p113)
(モザイク型 1)		46,XX/46,XX,-18,+dic(18)
13リング症候群等	2	46,XX,r(13) 46,XX,r(D)
9pトリソミー症候群	1	46,XX,t(9;21)
2pトリソミー	1	46,XY,t(2;17)
猫なき症候群(5p 部分モノソミー)	1	46,XX,del(5) (qter → p14:)
由来不明部分過剰	4	47,XY,+mar 46,XX,t(9;?)
均衡転座保因者	22	45,XX,t(14;21) 45,XX,t(13;15) 45,XX,t(13;21) 46,XY,t(1;7) 46,XY,t(2;17) 46,XX,t(9;21)
ファンコニー貧血	1	切断、ギャップが多い
白血病	14	46,XY,t(9;22) (q34;q11) 46,XX/46,XX,Ph ⁺ 47,XX,+19 47,XXX,t(4;11) 48,XX,+21,+mar
悪性腫瘍を持つ	1	不特定の染色体異常を持つ
計 (人)	158	

(158人/943人 異常率16.8%)

表7. 性染色体異常と主な核型

疾患名	人数	主な核型
クラインフェルター症候群	6	
(トリソミー型 5)		47,XXY
(モザイク型 1)		46,XY/47,XXY
ターナー症候群	17	
(モノソミー型 5)		45,X
(モザイク型 12)		45,X/46,XX 45,X/47,XXX 45,X/46,X,r(X) 45,X/46,X,del(X)
トリプルX(超女性)	1	47,XXX
半陰陽	3	45,X/46,XY
計 (人)	27	

(27人/102人 異常率26.5%)

表 8. ターナー症候群17例の核型

核型	例数
45, X	5 例
45, X/46, XX	4 例
45, X/47, XXX	1 例
45, X/46, X, del (X) (qter → p11:)	1 例
45, X/46, X, r (X) (p11q28)	1 例
45, X/46, X, r (X) (p22q22)	1 例
45, X/46, X, dic (X) (qter → p11::p11→qter)	1 例
45, X/46, X, dic (X) (pter → q24::q24→pter)	1 例
45, X/46, X, +mar (由来不明の小型染色体)	1 例
45, X/46, X, +mar (由来不明の大型染色体)	1 例

では、男性7人、女性7人の男女同数であり、従来いわれているように習慣性流産の場合には男性よりも女性の方に染色体均衡転座保因者が多い[6]ということは認められなかった。昨年までは、白血病またはその疑いの依頼、特に骨髓液の検査依頼が年々増加する傾向にあったが、今年度は血液、骨髓液各1人と少なかった。昨年度(平成4年度)から、出生前診断を目的とする胎児血液の染色体検査の依頼があるが、これは胎児異常が疑われるが、羊水による検査には妊娠週数が進み過ぎ、不適当などの理由のためで、積極的に延命を行う必要があるか、あるいは出産方法の選択等の問題に対応するために行われている。胎児血液による染色体検査は羊水による染色体検査に比較すると、約半分の期間(ほぼ1週間以内)で検査結果が報告できる長所があるが、反面、母体血液の混入の可能性という問題点が残った。

今年度受付けた90件のうち89件の検査が可能で、うち9人が染色体異常であり、単純に異常率を計算すると10.1%であった。さらに、当所で過去21年間に検査を行った1,054人(実人数)について染色体異常の頻度を計算したところ、検査が可能であった1,029人中185人に染色体異常が認められ、その異常率は18.0%であった。これは検査対象者の約5.5人に1人は何らかの染色体異常を有していたことになる。これは一般集団中の染色体異常率0.6%[7]に比較すると、非常に高率になる

表 9. 染色体異常のあった習慣性流産患者14例の核型と既応歴

核 型	既 応 歴
46, XY, t(1;4) (q11;p15.2)	2回流産
46, XY, t(1;7) (q45;q11)	3回流産
46, XY, t(1;12) (q425;p13)	3回流産
46, XY, inv(9) (p11q13), t(4;10) (q31;q25)	3回流産
46, XY, t(5;16) (p13;p13)	3回流産2回生産
46, XY, t(8;14) (p11;q32)	4回流産
46, XY, t(8;21) (q24.2;q21.2)	4回流産

45, XX, t(13q14q)	3回流産
45, XX, t(13q21q)	2回流産
46, XX, t(1;15) (q42;q26)	2回流産
46, XX, t(3;4) (p13;p16)	3回流産
46, XX, t(3;10) (q29;q22)	3回流産
46, XX, t(10;18) (q23;q11.2)	3回流産
47, XXX	2回流産1回胎児死亡

が、染色体検査は臨床像から異常の疑われる例のみを検査しているためである。また、常染色体、性染色体別に分けると常染色体異常は158人で異常率15.4%(158/1,029)になり、同じく、性染色体異常は27人で異常率2.6%(27/1,029)になった。横沢[9]は、全検査数の22.8%に染色体異常が発見され、そのうち常染色体異常は5.5%、性染色体異常は17.3%であったと報告している。我々の今報告と常染色体異常、性染色体異常の割合が逆であるが、検査母数と対象者の違いが影響していると思われた。

染色体検査結果の報告は、患者とその家族に大きな影響をあたえると考えられるため、検査にあたっては十分な注意を払い、また、患者のプライバシー保護にも配慮をする必要がある。さらに、検査を行う側にたって重要なことは精確な判断をするため、臨床との連携プレーが大切であると考えられる。

謝辞：各症例の臨床像の提供と採血等について御協力頂きました各依頼病院と保健所の関係の方々に深く感謝いたします。

平成6年10月1日

文 献

1. 前田徹 (1988). 慶応医学, 65(5), 649-655.
2. 美甘和哉 (1978). 染色体異常, 外村晶編, 196-197, 朝倉書店, 東京.
3. 林美貴子, 本田幸子, 柏樹久雄 (1993). 富山衛研年報, 16, 44-55.
4. 本田幸子, 林美貴子, 柏樹久雄 (1994). 富山衛研年報, 17, 46-55.
5. 舟本寛, 大口昭英, 佐竹紳一郎, 村田雅文, 丘村誠, 中野隆, 南幹雄, 鎗野政也. (1990). 産科と婦人科, 57, 501-505.
6. G. Bourrouillou, P. Colombies, N. Dastugue (1986), Hum Genet., 74, 399-401.
7. 池内達郎 (1978). 染色体異常, 外村晶編, 183-186, 朝倉書店, 東京.
8. 横沢拓郎 (1987). 医学のあゆみ, 121, 787-797.

ヒト染色体に関する調査研究 —羊水・流産胎児—

本田幸子 林美貴子 柏樹久雄¹

Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells and Fetal Cells

Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI
and Hisao KASHIWAGI¹

要 旨 平成5年度の羊水および自然流産胎児の染色体の検査は、受付件数が羊水46件、流産胎児9件で、昭和49年度から併せると、羊水615件、流産胎児62件となった。検査の結果、今年度は染色体異常が羊水と流産胎児にそれぞれ1件、および4件みられ、その核型は、前者が47, XX, +13/46, XX, 後者が46, XY, del(1)(pter→q42), 45, X, 69, XXX, 47, XX, +13/46, XXであった。羊水では、全年度で19件の異常がみられ、流産胎児では20件の異常がみられている。染色体検査依頼の理由（主訴）は、羊水では高齢妊娠、流産胎児では流産を繰り返すため等が多かった。

最近の染色体研究の進歩により、羊水による胎児の出生前診断や、流産胎児の細胞遺伝学はめざましい発展をしている。

富山県においては、昭和48年度から、富山県総合母子保健対策の一環として、染色体検査事業が実施され、当研究所においては、48年度から血液、49年度からは羊水、さらに50年度からは自然流産胎児組織、絨毛組織等による染色体検査を行ってきた。

ここに平成5年度の羊水、流産胎児の検査結果とともに昭和49年度からの結果をまとめ報告する。

実 施 方 法

1. 羊 水

昭和50年1月（49年度）より平成6年3月（平成5年度）までに検査依頼のあった病院名および依頼検査件数は表1に示した。

染色体標本作成法はそのつど改良を加えてきているが、現在行っている方法の詳細は、概ね表2に示す通りである。羊水約10mlは静置後、沈澱した細胞に培養液を加え再浮遊し、2.5ml/シャーレ2枚になるようにし、炭酸ガス培養を行った。5～7日間静置培養後、倒立顕微鏡で細胞の増殖状況を観察し、適当な時期に、培養液の交換を行い、コロニーの増大を待ち、分裂中期細胞が多いことを確認してコルセミド処理を行った。トリプシン液で細胞を遊離した後、遠心分離し、細胞を集め、低張処理を行った。固定液は2回交換し、パスツールピペットでスライド上に滴下し、蒸気乾燥した。染色は通常のギムザ染色およびGパン

1. 現 富山県総合健康増進事業団

表1. 検体区分(昭和49～平成5年度)

県	病 院	羊 水		流産胎児	
		平 5	昭49～平5	平 5	昭49～平5
富山県	県立中央病院	5	75		10
	富山医科大学	5	56	6	21
	富山赤十字病院	4	48		
	富山市民病院	2	16		
	高岡市民病院		13	1	1
	黒部市民病院	2	7		1
	家城産婦人科医院	7	7	1	1
	あわの産婦人科医院	1	5		
	社会保険高岡病院	1	4		
	舌野産婦人科医院	1	4		
	氷見市民病院	1	3	1	1
	北陸中央病院	1	2		
	菅田産婦人科医院	1	1		1
	その他		58		18
	小 計 (件)	31	299	9	54
石川県	珠洲総合病院	5	13		
	公立石川中央病院	2	6		
	金沢聖霊病院	1	2		
	その他		258		4
	小 計 (件)	8	279		4
福井県	福井愛育病院	2	18		
	春日クリニック	1	3		
	その他		8		4
	小 計 (件)	3	29		4
新潟県	糸魚川病院	4	8		
	小 計 (件)	2	8		
計 (件)		46	615	9	62

表2. 染色体標本作成法(羊水)

羊水	羊水10ml以上を無菌試験管に入れ3時間～1晩静置し、羊水細胞を収集
培養液	Chang Medium (Hana Media, Inc.)
培養	シャーレ (Falcon plastic petri dish 35 × 10 ml) で、37℃ 5% CO ₂ 培養
細胞遊離	0.025 % トリプシン・EDTA 37℃ 5分
遠心	1,000 rpm 5分
低張処理	0.075 M 塩化カリウム 3 : 0.9 % クエン酸ナトリウム 1
コルセミド処理	最終濃度 0.1 γ/ml 37℃ 4時間
固定	カルノア液 (メタノール 3 : 酢酸 1)
蒸気乾燥	細胞浮遊液をバスツールピペットでスライドグラス上に落とし、 恒温水槽 (60℃) の蒸気上で乾燥し、その後自然乾燥

ド分染を行い、必要により、Cバンド法による分染も行った。1検体につき10個以上の中期核板の顕微鏡写真を撮り、判定した。

2. 自然流産胎児

昭和50年度より平成5年度までに検査依頼のあった病院名および依頼検査件数は表1に示すと

おりである。

検体はおもに流産胎児の皮膚、肺等の組織、および胎児の付属物として、絨毛、羊膜等の組織であった。これらは、大きさによりハサミで細切し、シャーレ(Plastic petri dish 35x10mm)の上に並べ、培養液を添加し、培養を行った。小さな組織片はピペットで攪拌し、細胞懸濁液を作り、それをシャーレに分注し、同様に培養した。培養液はEagle MEM・20%牛胎児血清を用い、炭酸ガス培養を行った。倒立顕微鏡下で細胞の増殖状況を観察しながら、適当な時期に培養液の交換を行った。以下は羊水細胞と同様の方法で標本作成を行い、染色体分析を行った。

結果および考察

1. 羊 水

今年度依頼された検体は、ほとんどが富山県の公立病院(表1)からで、受付件数は46件(受付

総件数: 615件)で、すべて染色体分析が可能であった。表3に年度別の受付件数、染色体異常数等の検査状況を示した。今年度は分析不能はなかったが、この染色体分析不能の原因は、主に検体採取時の羊水量および細胞の不足や、検体採取の注射器のガス滅菌による細胞の死滅等が考えられた。

平成5年度および検査開始時から平成5年度までの検査依頼理由(主訴)とその検査結果は表4に示したが、今年度は下記の染色体異常1件がみられた。

症例: 検査依頼の理由は、高齢妊娠で、今回が9回目の妊娠であった。2人の女兒があり、過去に自然流産3回、人工流産2回、部分胎状奇胎1回の既往がある。母親の年齢は38歳、父親も38歳で、検体の採取時は妊娠18週であった。核型分析の結果、47, XX, +13/46, XXの13トリソミーモザイク症と判明した。その割合は47:46=10:14であった。そのため、妊娠21週で人工流産をし、その胎児の皮ふの染色体検査をしたところ、以下の流産

表3. 検査状況(昭和49~平成5年度)

年度	受付数		分析不能数		分析数		異常数	
	羊水	胎児	羊水	胎児	羊水	胎児	羊水	胎児
昭和49	1		0		1		1	
50	5	3	2	1	3	2	0	
51	8	4	0	2	8	2	0	
52	1	2	1	1	0	1	0	1
53	10	1	1		9	1	1	1
54	15	1	1	1	14		2	
55	16		2		14		0	
56	23	7	5	1	18	6	3(1)	5
57	32	2	6	1	26	1	1	
58	26	1	4		22	1	0	
59	37	2	1	1	36	1	1	1
60	66	1	2		64	1	0	
61	59	2	3	1	56	1	1	
62	40	1	1		39	1	0(1)	
63	65	3	8	2	57	1	0	1
平成元	48	7	3	2	45	5	4(2)	
2	43	1	0		43	1	1	1
3	33	5	1		32	5	1	1
4	41	10	1	2	40	8	2	5
5	46	9	0	2	46	7	1	4
計(件)	615	62	42	17	573	45	19(4)	20

() モザイク等

表4. 羊水検査の依頼理由とその結果 (昭和49～平成5年度)

理由 (主訴)	昭和49～平成5年度			平成5年度			染色体異常の核型
	受付数	分析数	異常数	受付数	分析数	異常数	
高齢妊娠	311	297	2 (3*)	31	31	1	47, XX, +18, 47, XX, +13/46, XX, (46, XX/46, XY) 2件, (46, XX, inv (9)/46, XY)
羊水過多症	25	23	4				47, XY, +E, 47, XX, +D, 46, XX, iso psu dic (18), 47, XY, +21
親類にダウン症や障害児がいる	16	15	(1*)				(46, XX/47, XX, +2)
近親婚歴がある	15	13	2	2	2		69, XXX, 46, XX, t(5;6) (q31p23)
近親婚である疑い	4	4					
風疹に感染の疑い	4	3					
本人の強い希望	3	3					
本人のソニアスマ症の疑い	2	2					
トキソプラズマ症の疑い	6	4					
その他	12	8					
不明							
親が染色体異常を保有							
転座型	5	5	2				45, XY, t(14q21q), 46, XY, -D, +t(DqGq)
D/G	3	3	2				45, XX, t(13q15q) 2件
D/D	2	1	1				46, XX, inv (3)
inv 3	1	1					
3/4	1	1					
7/14	1	1					
2/17	1	1	1				46, XX, t(2;17) (p23;q25)
父親に9p-の疑い	1	1					
母親にXX/XXの疑い	1	1					
前子が de novo の染色体異常を保有							
ダウン症 (トリソミー型)	106	101	3	3	3		47, XX, +G 2件, 47, XY, +E
転座型	1	1					
18トリソミー	8	8		2	2		
13トリソミー	2	2		1	1		
その他	8	8					
胎児異常の疑い							
胎児水腫	7	6	1				45, X
無脳児	4	4					
血友病	4	3					
胎児リンパ管腫	2	2	1				47, XX, +21
臍胎症	2	2		1	1		
その他 (奇形 等)	22	20		2	2		
前子が異常 (染色体異常を除く)							
代謝異常	4	2					
先天性心臓病	3	2					
その他 (奇形 等)	28	26		4	4		
計 (件)	615	573	19 (4*)	46	46	1	

(*) : モザイク等、

胎児の項でも述べるが同じモザイクの核型が得られた。なお、父、母、女兒等の染色体検査は行われていない。

49年度からの異常症例の詳細は既報[1-7]で述べた。

今年度、検査依頼の理由の中で一番多かったのは、高齢妊娠のため、ということで31件あり、受付件数の67%にあたる。その年齢は32歳から44歳で、49年度からの年齢分布では、36歳から38歳が一番多くなっている。母親の加齢と共に異常の出生率が高くなることはよく知られているとおりで、今年度までに当所においてみられた染色体異常19件のうち、高齢妊娠を主訴とした検体は2件であるが、他の主訴による染色体異常5件が高齢妊娠(35歳以上)であった。特に40歳を越えると、染色体異常は約5%にもなるといわれている[8]。厚生省の人口動態統計などから、高齢出産は増加する一方で、今後は、全国的にますます検査希望が増加すると言われている。実際、当所においても、依頼件数は急激に多くなってきており、場合により断らざるを得ない状況である。にもかかわらず今年度、32歳で高齢妊娠という依頼や、34歳以下の依頼がかなりある等の問題もあった。

依頼理由で次に多いのは、以前に染色体異常児(両親由来ではない染色体異常)を出産した経験者で6件検査依頼があった。前児の染色体異常の内訳はダウン症(21トリソミー)3件、18トリソミー2件、18トリソミー1件であった。今年度、異常はみられなかったが、当所におけるトリソミー型ダウン症候群児を出産した母親の再発危険率は、Tonomuraら[8]の1%、藤田[9]の2%等と比較して、3/101で3%と高い率を維持しており、羊水診断の必要性が認められた。以下、前子が染色体異常ではないが、奇形等の異常があるためで4件、胎児に奇形等の異常が疑われるという理由で3件、流産、死産歴があるという理由で2件依頼があった。

今年度、依頼はなかったが、羊水過多は胎児の異常が原因で起こることが多く、当然ながら49年度から、判定可能23件中、4件に染色体異常がみられている。

羊水等の染色体検査には、母体細胞混入の危険性があること、染色体異常がすべて把握されるわけではないこと、異常を発見してもほとんどが治療困難であること、などの問題もあり、さらに倫理的、社会的な問題等も多く残されている。従って、今後は、これらのことを念頭に置き、医師の適切な指導や遺伝相談による染色体検査の運用や、検査体制を整える必要があると思われる。

2. 自然流産胎児

今年度、依頼された検体はほとんどが富山県の公立病院からで、受付件数は9件であった(表1)。そのうち分析可能であったのは7件で、その割合は78%である。

細胞培養が成功すれば、100%染色体分析は可能となった。牧野[10]は流産胎児組織ならびに、その付属物(羊膜、卵膜、絨毛、臍帯等)の組織培養の成功率は、24~78%と開きがあり、平均60%前後としている。当所における不成功の原因の主なもの、細菌の混入によるものであった。これは流産過程や検体送付中の汚染と考えられた。

平成5年度および検査開始時からの検査依頼の理由および受付件数、検査結果等は表3および表5に示した。今年度分析7件中、下記の染色体異常4件がみられた。

症例1. 過去2回流産をし、今回も8週で流産をした検体で、検査は絨毛を培養して行った。母親は35歳であった。核型分析の結果、45,Xのターナー症候群であった。

症例2. 過去にも2回流産をし、今回は8週で流産をした。分析の結果、この流産胎児は、1番染色体の部分欠失で、その核型は、46,XY,del(1)(pter→q42)であることが判明した。そのため、父親(32歳)、母親(33歳)の血液による染色体検査を行うことにし、同時に、家族について問い合わせたところ、父親の姉が染色体異常らしいことがわかった。この夫婦の検査結果は父親が46,XY,t(1;12)(q42;p13)、母親が45,XX,t(13q14q)で、それぞれが転座型染色体保因者であることが判明した[11]。偶然、両者とも違う染色体転座保因者であったが、今回の胎児は父親由来の異常

表5. 胎児検査の依頼理由および分析結果(昭和50～平成5年度)

理由(主訴)	昭和50～平成5年度			平成5年度			染色体異常の核型
	受付数	分析数	異常数	受付数	分析数	異常数	
過去にも流早産をした	21	14	8	2	2	2	45,X ¹ 、46,XY,del(1)(pter→q42:) ² 46,XX,del(5)(p13)、47,XX,+21 47,XX,+B、47,XX,+E(2件)、47,XX,+16 69,XXX(2件) ³ 、47,XY,+F、47,XY,+G 47,XX,+D、47,XY,+E、47,XY,+18 69,XXY、45,X
初めての流早産(原因不明)	20	13	7	1	1	1	
流産胎児に奇形等があった	9	9	2	1	1		
胞状奇胎	4	4		2	2		
子宮内胎児死亡	3	2	1	1			46,XX,t(15/D)
羊水検査で染色体異常があった	1	1	1	1	1	1	47,XX,+13/46,XX ⁴ 48,XX,+15,+16
前子が染色体異常	1	1	1				
母が染色体異常	1	1					
妊娠中に風疹に罹った	1						
理由不明	1			1			
計(件)	62	45	20	9	7	4	

¹, ², ³, ⁴: 症例1, 2, 3, 4

であることがわかった。なおこの夫婦のように、両者とも転座型染色体保因者であることは非常に珍しいと思われる。

症例3. 妊娠11週で流産した胎児で、検査の結果は69, XXXの3倍体であった。

症例4. この症例は、前述した羊水の異常症例の検体である。前にも詳しく述べたのでここでは省略するが、21週の胎児で、核型は47, XX, +13/46, XXで羊水と一致し、モザイクの割合は47:46=6:3であった。

検査開始依頼、検査理由で一番多かったのは、過去にも流早産をしたことがあるためと、初めてではあるが原因不明の流産をしたためで、それぞれ、62件中21件、19件あり、そのうち5回流産している症例が2件あった。分析可能は、前者が14件で、その8件に異常があり、このうち6件はトリソミー型、モノソミー型の異常であった。前の流産胎児については検査をしていないため、確たることは言えないが、羊水の項でも述べたように、再発の可能性も考えられる。他の2件はNo.5の部分欠失の猫泣き症候群とNo.1部分欠失で、両者とも父親が転座染色体保因者と判明した。初めての流産の分析は13件で、7件に異常がみられた。これはすべて、トリソミー型と3倍体の異常であった。次に多い理由は、流産した胎児に奇形等が

あったための9件で、そのうち2件に数的異常がみられた。そのほか子宮内胎児死亡に1件転座型異常がみられたが、両親の核型分析は実施できず、不明であった。また前子が染色体異常(核型は不明)という主訴で1件数的異常がみられ、これも再発の可能性があった。

依頼された流産胎児の月数は2か月の終りから9か月までにわたっていたが、みつけられた異常検体は、ほとんどが3か月までの胎児であった。自然流産において報告されている染色体異常胎児の率は、研究者によりかなりの開きがあり、それは研究材料、集め方、研究方法による違いであるが、妊娠初期に起こった流産胎児の染色体異常の割合が大きいことは一般に認められている。牧野[10]によると、一般に妊娠の15%は流産で終り、その流産の約80%は妊娠3か月以内に起こるとし、自然流産の約28%は染色体異常を持つと報告していることから、例数はまだ少ないが、当所における傾向は、これにほぼ一致していると考えられる。

当所における流産胎児の染色体分析はまだ症例数が少ないためこれらの結果から、確たる結論等は論じられないが、最近検査依頼数も増えつつあり、また一般にいわれているように、かなり染色体異常もみられることから、この検査を進めていくことが、母子保健対策事業に必要と思われる。

謝辞：ここに発表した症例の検体採取や調査に御協力を頂いた、各病院の関係の方々に深謝いたします。

文 献

1. 本田幸子, 林美貴子, 吉川俊夫, 植竹久雄, (1986)
富山衛研年報 9, 51-56.
2. 本田幸子, 林美貴子, 吉川俊夫, 植竹久雄, (1987)
富山衛研年報 10, 50-54.
3. 本田幸子, 林美貴子, 吉川俊夫, 植竹久雄, (1988)
富山衛研年報 11, 48-51.
4. 本田幸子, 林美貴子, 井山一郎, 佐藤茂秋, (1990)
富山衛研年報 13, 47-54.
5. 本田幸子, 林美貴子, 井山一郎, 佐藤茂秋, (1991).
富山衛研年報 14, 44-48.
6. 本田幸子, 林美貴子, 柏樹久雄, 佐藤茂秋, (1992).
富山衛研年報 15, 52-58.
7. 本田幸子, 林 美貴子, 柏樹久雄, (1993). 富山衛
研年報 16, 56-61.
8. Tonomura, A., Aoki, H. and Kisii, K (1975). Jap. J.
Hum. Genet., 20, 73.
9. 藤田弘子 (1977). 人遺誌 23, 257.
10. 牧野佐二郎 (1979). 染色体、人類の細胞遺伝, 医学
書院, 東京.
11. 林 美貴子, 本田幸子, 柏樹久雄, (1994). 富山衛
研年報 17, 56-62.

姉妹染色分体交換におよぼす培養酸素濃度の影響 2. ヒト末梢血リンパ球について

林 美貴子 本田 幸子 山上 孝司¹
成瀬 優知¹ 鏡森 定信¹

Effect of Oxygen Concentration in Culture on the Frequency of Sister Chromatid Exchanges in Human Lymphocytes Cells

Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA, Takashi YAMAGAMI¹,
Yuchi NARUSE¹ and Sadanobu KAGAMIMORI

要 旨 ヒトリンパ球を用い、培養中の酸素濃度が姉妹染色分体交換 (SCE) におよぼす影響を検討した結果、通常の組織培養法で用いられている条件の20%O₂下よりも、末梢血中のO₂分圧にほぼ等しいと推定される5%O₂下ではSCE誘発頻度が有意に低かった。高酸素濃度である40%O₂下では細胞分裂の明らかな遅延が認められ、さらに、SCE誘発頻度は20%O₂下より、有意に高かった。また、60%O₂下と80%O₂下では細胞数が少なく細胞分裂像は観察されなかった。

高酸素濃度下では生物に種々の影響をおよぼすことが知られており、培養細胞に対しても、染色体異常や姉妹染色分体交換の頻度を増加させる [1, 2]。しかし、低酸素圧下での培養細胞に対する細胞学的影響を研究した報告は少ない。前回、我々はDNA障害の鋭敏な指標としてよく知られている姉妹染色分体交換 (SCE) 法を用い、培養酸素濃度の違いが、チャイニーズハムスター細胞 (CHL 細胞) のSCE誘発におよぼす影響を検討し、培養酸素濃度を低くすることによって、細胞あたりのSCE誘発頻度が有意に減少することを明らかにした [3]。

今回、我々は、ヒトリンパ球を用い、培養酸素濃度の違いが、SCE誘発におよぼす影響を検討した。また、培養酸素濃度の違いが、抗癌剤のMito-

mycin C (MMC)、および、ヒト女性リンパ球でSCEを増加させ [4]、発ガン物質としても知られている合成女性ホルモン剤Diethylstilbestrol (DES) が誘発するSCEへの影響も検討した。

材料および方法

- ・ヒトリンパ球：健康な女性8人 (22~49歳) から、末梢血液10mlをヘパリン (NOVO HEPARIN; 小玉) 採血し、使用した。
- ・培養：培養液は牛胎児血清 (Gibco) 15%加 RPMI1640 (日水製薬) を用い、全血培養法による通常の染色体検査方法に従い、各培養ガス室 (37℃) で72時間培養した。

¹ 富山医科薬科大学医学部保健医学教室

・試薬：5-ブromo-2'-デオキシウリジン (BrdU, Sigma) は最終濃度を $20\mu\text{g}/\text{ml}$ とした。陽性対照としてMMC (最終濃度 $1\times 10^{-8}\text{M}$, Sigma) を用いた。DES (Sigma) はDimethylsulfoxide (DMSO, Merck) に溶解し、最終濃度は予備実験により、 $2\times 10^{-5}\text{M}$ にした。溶媒対照としてのDMSOは最終濃度を $1\mu\text{g}/\text{ml}$ にした。いずれも培養開始時より添加した。

・培養ガス：酸素濃度は5, 20, 40, 60, 80%とし、いずれも、炭酸ガス濃度5%, 窒素バランスとした (日本酸素調整)。

・染色体標本作製：培養終了2時間前にコルセミドを添加 ($0.1\mu\text{g}/\text{ml}$) した。培養終了後、通常の方法により、低張処理、固定を行い、染色体標本作製した [5]。

・SCE染色法 (fluorescence plus Giemsa; FPG分染法)：Kuriharaらの方法 [6] にしたがったが、その概要は以下の通りである。

1. $5\times 10^{-7}\text{M}$ Hoechst 33258 (pH6.8)液で10分間染色。
2. トレー (約 $20\times 20\text{cm}$) の中に標本を並べ、 $2.5\times 10^{-7}\text{M}$ Hoechst 33258 (pH6.8)液を加え、ラッピングフィルムで封入。

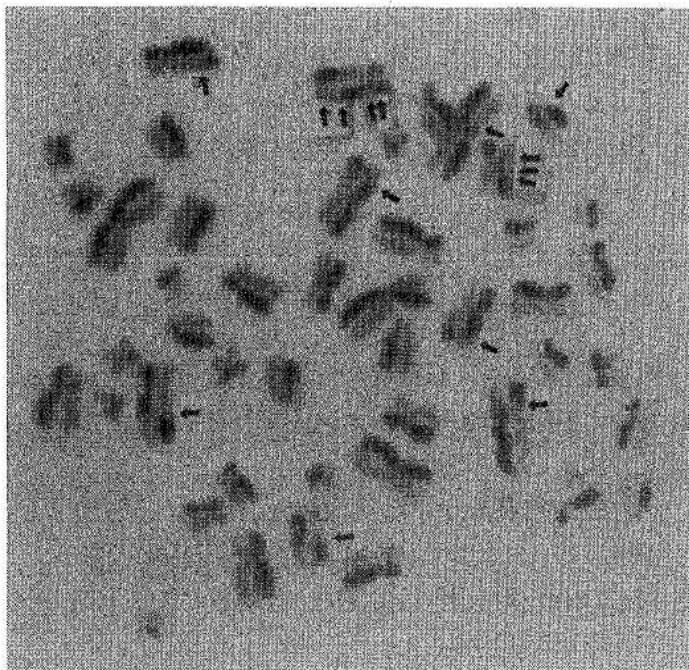


Fig. 1. Sister Chromatid Exchanges in Human Lymphocytes ($\rightarrow$; SCE)

3. Black Light にて約90分間照射し、その後、水洗。

4. 60°C の $2\times \text{SSC}$ (0.3M 塩化ナトリウム/ 0.03M クエン酸ナトリウム) 液に60分間、その後、水洗。

5. 4% Giemsa液で10分間染色、その後、水洗、自然乾燥。

・観察細胞数：SCEの計数方法は広瀬ら [7] の方法により、各20個の中期分裂像を観察した (Fig. 1)。また、細胞分裂の1回目 (X_1), 2回目 (X_2), および3回目以降 (X_3+) の相対頻度は各100個の中期細胞分裂像の合計によった。

・統計検定法：分散分析法によった [8]。

結果および考察

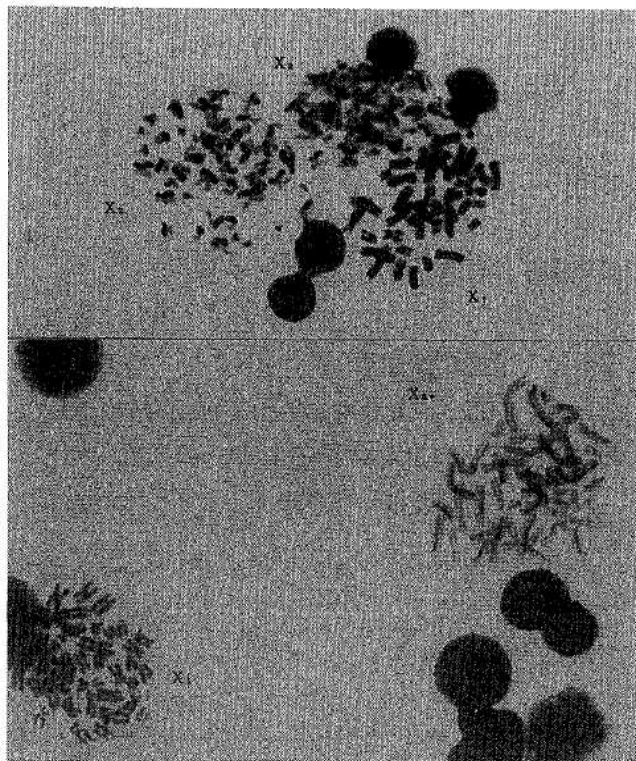
細胞分裂像は、 $60\%O_2$ 下と $80\%O_2$ 下では全く観察されず、また、 $40\%O_2$ 下でも少なく、高酸素濃度下では強い細胞増殖阻害が認められた。しかし、 $20\%O_2$ 下と $5\%O_2$ 下では正常に観察された。また、細胞あたりのSCE頻度 (SCEs/cell) を比較すると、対照は $5\%O_2$ 下の $5.8\pm 2.4\text{SCEs}/\text{cell}$ に比較し、 $20\%O_2$ 下の $6.7\pm 2.8\text{SCEs}/\text{cell}$ と $40\%O_2$ 下の $8.3\pm 2.6\text{SCEs}/\text{cell}$ には有意な差があった ($P<0.001$)。さらに、 $5\%O_2$ 下、 $20\%O_2$ 下ともに対照群とMMC群間、DMSO群とDES群間に有意な差があった ($P<0.001$, $P<0.01$, Table 1)。しかし、対照群とMMC群間、DMSO群とDES群間の $5\%O_2$ 下、 $20\%O_2$ 下での各の増加率に変化はみられなかった。GilleらはHeLa細胞 [9] とCHO細胞 [10] を用い、高酸素圧下でのSCE頻度の増加を報告しているが、低酸素圧下でのSCEの研究報告はまだない。

また、Table 1でSCEs/cellの記載の無いものは $5\%O_2$ 、 $20\%O_2$ では染色の具合が悪く観察不可能であったため、また、 $40\%O_2$ では細胞分裂像が少な過ぎ、SCEの観察ができなかったためであった。

ヒトリンパ球培養における細胞分裂動態は、かなり特殊といわれ、PHA (phytohemagglutinin) 添加培養開始後72時間に観察すると、細胞分裂の1回目 (X_1), 2回目 (X_2), および3回目以降

Table 1. Sister Chromatid Exchanges of Human Lymphocytes by Oxygen Concentration in Culture Room

Treatment Individual	Age (years)	5 % O ₂				20 % O ₂				40 % O ₂
		Control	MMC	DMSO	DES	Control	MMC	DMSO	DES	Control
Female 1	22	—	—	—	—	6.7±2.9	11.8±3.5	6.9±2.5	—	7.9±2.5
Female 2	23	6.5±1.8	11.8±3.4	7.8±3.1	8.9±2.7	8.1±3.2	13.6±3.4	9.3±2.6	8.5±3.0	8.5±2.6
Female 3	27	5.6±2.3	10.4±3.7	6.3±2.2	6.2±2.9	6.2±3.0	9.0±2.6	5.9±2.4	7.2±2.6	—
Female 4	29	5.8±2.7	10.3±3.4	5.3±1.6	7.9±2.1	6.8±2.5	10.6±3.1	6.2±2.3	7.5±3.4	9.4±2.7
Female 5	32	5.6±2.0	9.9±3.5	5.8±2.5	6.2±2.0	5.8±2.1	11.6±4.2	5.9±2.1	8.0±3.4	—
Female 6	42	6.0±2.9	9.7±3.2	6.5±2.8	—	6.6±2.7	10.7±3.7	6.6±3.6	7.1±2.1	8.9±2.1
Female 7	45	5.4±2.4	11.9±3.2	6.2±2.4	7.2±3.0	6.5±3.1	14.1±4.3	7.5±2.3	8.0±3.0	7.0±2.5
Female 8	49	5.8±2.5	—	—	—	7.0±2.1	11.2±3.2	6.2±2.1	8.1±2.4	—
Mean ±SD (SCEs/Cell)		5.8±2.4	10.7±3.6	6.3±2.6	7.3±2.8	6.7±2.8	11.5±3.9	6.8±2.7	7.7±2.9	8.3±2.6

Fig. 2. Metaphases in the First(X₁), Second (X₂) and Third or Subsequent(X₃₊) Generation Cycle Following Culture for 72 Hours

(X₃₊)の分裂期にある細胞が混在している特徴がある (Fig. 2)。また、X₂細胞の相対頻度は培養56時間目にピークに達するといわれている [11]。

そのため、培養酸素濃度の違いが細胞分裂動態におよぼす影響をみるため、X₁、X₂、およびX₃₊細胞の相対頻度を観察した結果、40%O₂下とDES処理群では明らかな細胞分裂の遅延がみられ、X₁細胞の頻度で比較すると有意な差があった (P<0.001, P<0.01) (Table 2, Fig. 3)。しかし、5%O₂下と20%O₂下を比較すると、20%O₂下の方がやや細胞分裂の速度が早いと思われた。一方、Maedaら [12] は血球幹細胞を用い、10%と19%O₂下で比較を行い、低酸素圧下でコロニー形成の増加を報告しており、用いた細胞と酸素濃度の違いがこのような結果の差異をもたらす理由のひとつと考えられる。

DES処理群においては、Banduhnら [13] が報告しているように、紡錘体阻害剤により誘発されるC分裂が多数観察された。そのため、SCEの観察に必要な第2回目の分裂期にある細胞が少なかった。

また、高酸素圧下では細胞分裂の遅延が認められたことから、40%O₂下、60%O₂下と80%O₂下において、通常の3日間培養をさらに延長し、各4日間、5日間培養を行い、染色体標本を作製した。その結果、80%O₂下では細胞数が極端に少なく、分裂像は観察されず、60%O₂下では細胞数、分裂像ともに少なかった。そのため、60%O₂下と80%O₂下の条件ではSCEの観察はできなかった。また、

Table 2. Total Cells Scored and Relative Frequencies among the Number of X_1 , X_2 and X_{3+} Cells

O ₂ Concentration		5 % O ₂												20 % O ₂												40 % O ₂					
Treatment		Control			MMC			DMSO			DES			Control			MMC			DMSO			DES			Control					
Generation Cycle		X ₁	X ₂	X ₃₊	X ₁	X ₂	X ₃₊	X ₁	X ₂	X ₃₊	X ₁	X ₂	X ₃₊	X ₁	X ₂	X ₃₊	X ₁	X ₂	X ₃₊	X ₁	X ₂	X ₃₊	X ₁	X ₂	X ₃₊	X ₁	X ₂	X ₃₊			
Individual																															
Female	1	4	86	10	39	58	3	18	80	2	15	66	18	9	34	56	9	48	43	7	50	43	3	47	50	79	21	0			
Female	2	9	55	36	12	63	25	14	55	31	52	48	0	6	29	65	9	27	64	9	30	61	18	69	13	66	34	0			
Female	3	23	71	6	45	53	2	23	72	5	83	17	0	16	79	5	29	69	3	19	73	8	74	26	1	90	10	0			
Female	4	8	33	59	5	44	51	12	46	42	42	58	0	14	16	70	6	25	69	3	20	77	7	43	51	37	63	0			
Female	5	17	80	3	24	73	3	18	80	3	75	25	0	13	48	39	14	58	28	5	29	66	35	62	3	96	4	0			
Female	6	20	60	20	15	66	19	14	51	35	87	12	1	5	55	40	8	34	58	9	36	55	52	41	7	62	38	0			
Female	7	28	47	25	26	65	9	34	62	4	42	52	8	16	66	18	27	68	5	21	67	12	23	61	16	83	17	0			
Female	8	27	49	24	35	65	0	22	69	9	76	24	0	11	66	24	16	59	25	13	73	14	55	44	1	91	9	0			
Cells Scored		136	481	183	201	487	112	155	514	131	472	301	27	90	393	317	118	388	294	86	378	336	267	392	141	604	196	0			
Total Cells Scored		800			800			800			800			800			800			800			800			800			800		
Relative Frequencies (%)		17	60	23	25	61	14	20	64	16	59	28	3	11	49	40	15	48	37	11	47	42	33	49	18	76	24	0			

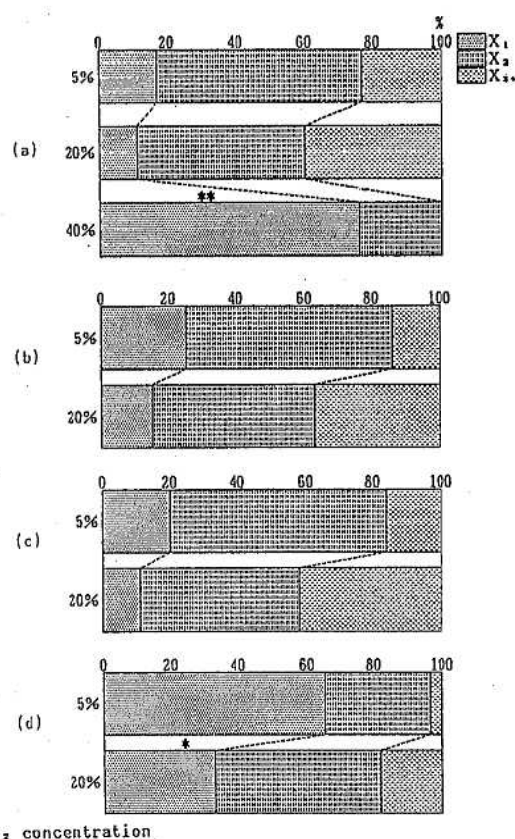


Fig. 3. Relative Frequencies among the Number of X_1 , X_2 and X_{3+} Cells
 (a) Control (b) MMC (1×10^{-8} M)
 (c) DMSO ($1 \mu\text{g/ml}$) (d) DES (2×10^{-5} M)
 * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$

40%O₂下でも分裂像の増加はみられなかった。

一般に、姉妹染色分体交換法は DNA障害の鋭敏な指標としてよく知られている。今回、我々は、ヒト末梢血リンパ球を用い、培養酸素濃度がSCEにおよぼす影響を検討した結果、通常の組織培養で用いられている20%O₂下よりも、末梢血中のO₂分圧にほぼ等しいと推定される5%O₂下ではSCE誘発頻度が有意に低くなることを明らかにした。また、40%O₂下では細胞分裂の有意な遅延が認められ、SCE誘発頻度も20%O₂下より、有意に高かった。一方、60%と80%O₂下では細胞分裂像は観察されず、高酸素状態ではDNAへの損傷が大きく、低酸素状態ではそれが小さいと考えられた。

文 献

- Gille, J. J. P., Mullaart, E., Vijg, J., Leyva, A. L., Arwert, F. and Joenje, H. (1989). *Mut. Res.*, 219, 17 - 28.
- Joenje, H. and Oostra, A. B. (1986). *Hum. Genet.*, 74, 438 - 440.
- 林美貴子, 本田幸子, 品川保弘, 佐藤茂秋, 成瀬優知, 鏡森定信 (1993). 富山衛研年報, 16, 170 - 172.
- Hill, A. and Wolff, S. (1982). *Cancer Res.*, 42, 893 - 896.

平成6年10月1日

5. 林美貴子, 本田幸子, 柏樹久雄 (1993). 富山衛研年報, 16, 44-55.
6. Kurihara, T., Tatsumi, K., Takahashi, H. and Inoue, M. (1987). Mut. Res., 183, 197-202.
7. 広瀬三智子, 鏡森定信, 牧野哲也, 藤田孝子, 渡辺正男 (1984). 北陸公衛誌, 11, 33-39.
8. 大崎 純 (1979). 公衆衛生における実践統計学, 62-77, 講談社サイエンティフィック, 東京.
9. Gille, J. J. P. and Joenje, H. (1989). Mut. Res., 219, 225-230.
10. Gille, J. J. P., Mullaart, E., Vijg, J., Leyva, A. L., Arwert, F. and Joenje, H. (1989). Mut. Res., 219, 17-28.
11. 森本兼義 (1984). 組織培養, (10), 260-265.
12. Maeda, H., Hotta, T. and Yamada, H. (1986). Exp. Hematol., 14, 930-934.
13. Banduhn, N. and Obe, G. (1985). Mut. Res., 156, 199-218.

富山県のマダニ相と マダニからのライム・ボレリア検索

渡辺 護 石倉康宏 品川保弘 荒川 良¹

Survey on the Tick Fauna and Detection of *Lyme Borrelia* from Ticks in Toyama Prefecture

Mamoru WATANABE, Mitsuhiro ISHIKURA
Yasuhiro SHINAGAWA and Ryo ARAKAWA¹

要 旨 富山県内において1991年から、マダニ類の分布状況とライム・ボレリアの検索を行っている。本報告は1991～1993年までの成績である。マダニ類の採集は旗摺り法で行い、県内8地点（域）で合計49回実施した。その結果、2属9種類484個体のマダニ類が採集された。その中には、ライム・ボレリアを人に伝播することが知られているシュルツエマダニも含まれ、6地点から77個体採集された。

マダニ類からのライム・ボレリア検索では、1991年（培養法）はヤマトマダニからのみ検出され（4/26）、1992年（間接蛍光抗体法、H5332 モノクローナル抗体使用）はシュルツエマダニから1例（4.5%）、ヤマトマダニから32例（39.5%）が検出された。1993年は市販のポリクローナル抗体を用いて、シュルツエマダニから11例（25%）、ヤマトマダニから55例（41%）、キチマダニから2例（10.5%）、ヤマトチマダニから1例（12.5%）が検出された。1993年はさらにPCR法での検出も行い、13例（11.4%）のヤマトマダニからライム・ボレリアDNAを検出した。

ライム病（Lyme disease）は、*Borrelia burgdorferi*を起因菌として、*Ixodes*属マダニがヒトへの媒介者になるスピロヘータ感染症であるとされ[1]、国内でも1987年に長野県から初めて報告されて以来、北海道を中心に約50例の患者が見出されている[2, 3]。最近、ライム病起因菌が国内外において4種類に整理され[4, 5, 6]、さらに遺伝的性質として制限酵素切断多型（RFLP-ribotype）が明らかにされ[7]、抗原性の多様性も示された。しかしながら、国内における患者の実態把握、および媒介マダニとヒトへの伝播など不明な点も多い。とくに、富山県はマダニの生

息に適した環境が多く、本病の実態を知る必要がある。そこで、富山県におけるライム病菌の存在を確認するために、県内のマダニ相とその分布、およびそれらマダニのライム・ボレリア保有率の調査を1991年から開始し、2、3の知見を得たので報告する。

調査地および調査方法

1. 調査地：Fig. 1, Table 1に示した様に、富山県内の比較的標高が高い8地点を選びマダニ

1. 富山医科薬科大学医学部寄生虫学研究室

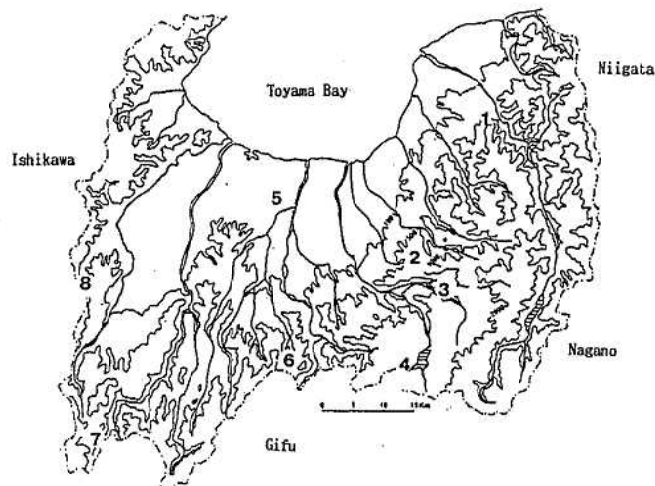


Fig. 1. Survey Location of Ticks Collected by Flagging in Toyama Prefecture. Numbers correspond to the locations in Table 1.

Table 1. Survey Locations and Their Altitude.

No.	Name of Location	Altitude (m)	Year of Survey
1	僧ヶ岳口 Sougatake-guchi	850	1991
2	馬場島 Banbajima	900	1992, 1993
3	立山美女平 Tateyama bijodaira	1,000	1991, 1992, 1993
4	有峰地区 Around Lake Arimine	1,100 1,290	1991, 1992, 1993
5	富山城山 Toyama Jyoyama	100	1992
6	白木峰 Shirakimine	750	1991
7	ブナオ峠 Bunatouge	750	1991, 1993
8	医王山 Iouzen	980	1991, 1992, 1993

を採集した。

2. マダニの採集方法：90×150cmのネル布を各地点の登山道・林道でほぼ1時間、2～4人で引きずる“旗摺り(Flagging)法”により行った。採集されたマダニ類は吸虫管で回収して、そのまま研究室に持ち帰り、冷蔵庫に保存し、後日ボレリア検出作業時に分類を行った。

3. マダニからのボレリア検出方法：①培養法；中尾[8]に従い、1991年にのみ行った。②間接蛍光抗体法；1992年は*B. burgdorferi* B31株由来の菌体表層蛋白特異的H5332単クローン抗体を用い、1993年は市販の、*B. burgdorferi*に特異的なポリクローナル抗体(Kirkegaard & Perry Lab.)を用い、生マダニ中腸の塗抹標本から、ボレリアを検出した。③PCR法；中腸が間接蛍光抗体法に用いるために、除去されたダニを、Fig. 2に示した手順に従い、破碎し、DNAの抽出・精製を行いPCRの鋳型DNAとした。プライマーはPicken[9]によって、*B. burgdorferi*のflagellin遺伝子から作成された276bpのものを用いた。このプライマーは*B. burgdorferi* 22株に対してはPCR陽性であ

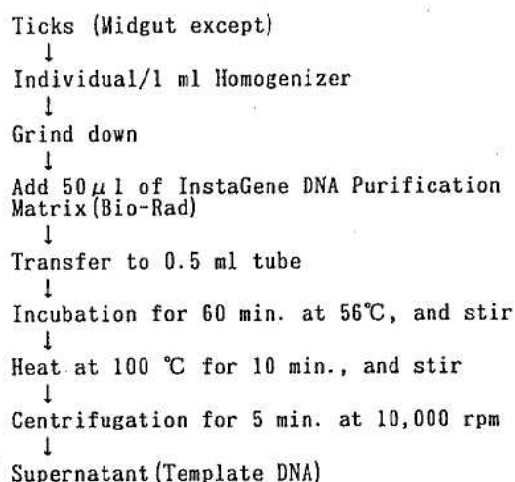


Fig. 2. Method of DNA Extraction and Purification from Ticks.

るが、*B. hermsii* 5株、その他の*Borrelia* 5種、*Toreponema* 5種、*Leptospira* 3種、

E.coli, *S.typhi*, *Shigella* sp., *Proteus* sp., *Ps.aeruginosa*, *Stp.aureus*, *K.pneumoniae*, *Ser. marcescens*, *Ent. aerogenes*, *St. pyogenes*(A), *Spirochaeta* sp. に対してはPCR陰性である。

PCRの条件はTakara GeneAmp PCR Reagent Kit を使用して, 94°C 1分, 72°C 2分, 72°C 3分を30回繰り返す, 最後に72°C 7分を行った。得られたPCR産物は2%アガロースゲルで電気泳動を行い, エチジウムブロマイドで染色して判定した。

調 査 結 果

1. 富山県におけるマダニの種類と分布状況

Table 2 に示す様に, 3年間の合計52回の調査で, マダニ属(*Ixodes*) 5種類, チマダニ属(*Haemaphysalis*) 4種類の計536個体のマダニ類が採集された。

各年度別にみると, 1991年は6地点, 19回の調査から, マダニ属3種類87個体が採集され, 1992年

は6地点20回の調査で, マダニ属3種類129個体, チマダニ属3種類56個体が採集された。1993年は5地点13回の調査で, マダニ属3種類213個体, チマダニ属4種類51個体が採集された。

種類別では, ヤマトマダニ(*Ixodes ovatus*)は調査を行った全ての調査地点で採集され, シュルツェマダニ(*I. persulcatus*)は馬場島, 立山美女平, 有峰, ブナオ峠, 医王山で採集された。また, ヒトツトゲマダニ(*I. monospinosus*)は僧ヶ岳登山口, タネガタマダニ(*I. nipponensis*)は富山城山, トガリマダニ? (*I. angustus*)は有峰でのみ少数が採集された (Table 2)。

チマダニ属はキチマダニ(*H. flava*)とヤマトチマダニ(*H. japonica*)が6地点で採集されたが, ヒゲナガチマダニ(*H. kitaokai*)は馬場島, フタトゲチマダニ(*H. longicornis*)は美女平でのみ採集された。

2. マダニ類からのライム・ボレリア検出

1991年の培養法では, 僧ヶ岳登山口のヒトツトゲマダニとヤマトマダニ, 美女平, 有峰, 白木峰のヤマトマダニとシュルツェマダニ, 医王山のヤ

Table 2. Records of Ticks Collected by Flagging in Toyama Prefecture in 1991-1993.

Species	Location No. and Altitude								Total
	1 850 m	2 900 m	3 1,000m	4 1,200m	5 100 m	6 750 m	7 980 m	8 800 m	
<i>Ixodes</i>									
monospinosus	3	0	0	0	0	0	0	0	3
nipponensis	0	0	0	0	1	0	0	0	1
persulcatus	0	14	15	40	0	2	5	1	77
ovatus	2	79	77	48	25	4	11	58	304
angustus ?	0	0	0	1	0	0	0	0	1
<i>Haemaphysalis</i>									
longicornis	0	0	1	0	0	0	0	0	1
flava	+	0	20	0	31	+	1	20	72 ⁺
japonica	+	5	11	2	0	+	0	4	22 ⁺
kitaokai	0	3	0	0	0	0	0	0	3
Total	5	101	124	91	57	6	17	83	484 ⁺
Numbers/Survey	1	51	12.4	18.2	14.3	6	8.5	27.7	12.1

+ Not counted.

Table 3. Isolation of *Borrelia* from Ixodes Ticks in Toyama Prefecture in 1991.

Locality No.	Date of Survey	Positive Rate of Lyme <i>Borrelia</i> ¹												
		<i>Ixodes monospinosus</i>				<i>I. ovatus</i>				<i>I. persulcatus</i>				
		♂	♀	Total	Rate(%)	♂	♀	Total	Rate(%)	♂	♀	N ²	Total	Rate(%)
1	5.29	0/0	0/3	0/3	0.0	0/1	0/1	0/2	0.0	0/0	0/0	0/0	0/0	-
3	6.18	0/0	0/0	0/0	-	1/9	0/8	1/17	5.9	0/0	0/1	0/0	0/1	0.0
4	6.14	0/0	0/0	0/0	-	0/0	0/2	0/2	0.0	0/1	0/2	0/1	0/4	0.0
6	6.2	0/0	0/0	0/0	-	0/3	0/1	0/4	0.0	0/0	0/1	0/1	0/2	0.0
8	6.6	0/0	0/0	0/0	-	1/4	2/5	3/9	33.3	0/0	0/0	0/0	0/0	-
Total		0/0	0/3	0/3	0.0	2/17	2/17	4/34	11.8	0/1	0/4	0/2	0/7	0.0

¹ Cultivation of midgut tissue. ² Nymphal stage.Table 4. Detection of *Borrelia* from Ticks in Toyama Prefecture in 1992.

Location No.	Date of Survey	Detection rate of Lyme Borrelia ¹										
		Ixodes ovatus				I. persulcatus					Haemaphysalis ³	
		♂	♀	Total	Rate (%)	♂	♀	N ²	Total	Rate (%)	Total	Rate (%)
2	6.10	8/19	5/15	13/34	38.2	0/0	0/0	0/3	0/ 3	0.0	0/ 5	0.0
3	6.18	2/ 8	1/ 2	3/10	30.0	0/0	0/0	0/1	0/ 1	0.0	0/14	0.0
4	6. 2	1/ 6	6/12	7/18	38.9	0/7	0/9	0/1	0/17	0.0	0/ 1	0.0
8	4.28	0/ 1	1/ 2	1/ 3	33.3	0/0	1/1	0/0	1/ 1	100.0	0/ 1	0.0
	5.29	2/ 3	1/ 1	3/ 4	75.0	0/0	0/0	0/0	0/ 0	0.0	0/ 1	0.0
	6.16	3/ 9	2/ 3	5/12	41.7	0/0	0/0	0/0	0/ 0	0.0	0/ 3	0.0
Total		16/46	16/35	32/81	39.5	0/7	1/10	0/5	1/22	4.5	0/25	0.0

¹ Indirect immunofluorescence assay by the monoclonal antibody, H5332.² Nymphal stage.³ Include *H. flava*, *H. kitaokai* and *H. japonica*.

マトマダニの合計44個体について検出を行なった。その結果、美女平 (1/17) と医王山 (3/9) のヤマトマダニからライム・ボレリアが検出された (Table 3)。1992年のB31株H 5332モノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法では、5地点で検出を試み、ヤマトマダニの30~75%からライム・ボレリアが検出された。とくに、医王山では調査を行った4~6月の3ヶ月とも検出された (Table 4)。シュルツェマダニからは医王山の1個体のみから検出された。チマダニ属からは検出されなかった。

1993年はポリクローナル抗体を用いた蛍光抗体

法で、5地点で検出を行ったところ、ヤマトマダニの31.8~50%、シュルツェマダニの0~46.7%、トガリマダニの100% (1個体) からライム・ボレリアが検出された (Table 5)。また、美女平と医王山のキチマダニ、美女平のヤマトマダニの各1個体からライム・ボレリアが検出された (Table 5)。

さらに、PCR法によるライム・ボレリアの検出では、ヤマトマダニのみから0 (ブナオ峠) ~17.5% (馬場島) のライム・ボレリア DNAが検出された。Fig. 3にはPCR産物の電気泳動の結果を示した。レーン1と13はマーカーDNA, 2 (pc)は

Table 5. Detection Rate of Lyme Borrelia¹ from Ticks in Toyama Prefecture

Species	Location No .					
	2	3	4	7	8	Total
<i>I. persulcatus</i>	1/10 (10.0)	1/13 (7.7)	7/15 (46.7)	2/5 (40.0)	0/ 1 (0.0)	11/ 44 (25.0)
<i>I. ovatus</i>	20/40 (50.0)	7/22 (31.8)	9/23 (39.1)	3/7 (42.9)	16/42 (38.1)	55/134 (41.0)
<i>I. angustus?</i>	0 -	0 -	1/ 1 (100)	0 -	0 -	1/ 1 (100)
<i>H. longicornis</i>	0 -	0/ 1 (0.0)	0 -	0 -	0 -	0/ 1 (0.0)
<i>H. flava</i>	-	1/15 (6.7)	0 -	0/1 (0.0)	1/ 2 (50.0)	2/ 19 (10.5)
<i>H. japonica</i>	0/ 5 (0.0)	1/ 2 (50.0)	0/ 2 (0.0)	0 -	0 -	1/ 8 (12.5)
<i>H. kitaokai</i>	0/ 1 (0.0)	0 -	0 -	0 -	0 -	0/ 1 (0.0)
Total	21/56 (37.5)	10/53 (18.9)	17/41 (1.5)	5/13 (38.5)	17/45 (37.7)	70/208 (33.7)

¹ Indirect immunofluorescence assay by the polyclonal antibody (Kirkegaard & Perry Lab.).

Table 6. Detection Rate of Lyme Borrelia from Ticks by Method of PCR in Toyama Prefecture in 1992.

Species	Location No .					
	2	3	4	7	8	Total
<i>I. persulcatus</i>	0/ 3 (0.0)	0/ 5 (0.0)	0 -	0 -	0/ 1 (0.0)	0/ 9 (0.0)
<i>I. ovatus</i>	7/27 (25.9)	1/15 (6.7)	2/15 (13.3)	0/1 (0.0)	3/30 (10.0)	13/88 (14.8)
<i>I. angustus?</i>	0 -	0 -	0 -	0 -	0 -	0 -
<i>H. longicornis</i>	0 -	0 -	0 -	0 -	0 -	0 -
<i>H. flava</i>	0 -	0/ 6 (0.0)	0 -	0 -	0/ 2 (0.0)	0/ 8 (0.0)
<i>H. japonica</i>	0/ 5 (0.0)	0/ 2 (0.0)	0/ 2 (0.0)	0 -	0 -	0/ 9 (0.0)
<i>H. kitaokai</i>	0 -	0 -	0 -	0 -	0 -	0 -
Total	7/35 (20.0)	1/28 (3.6)	2/17 (14.3)	0/ 1 (0.0)	3/33 (9.1)	13/114 (11.4)

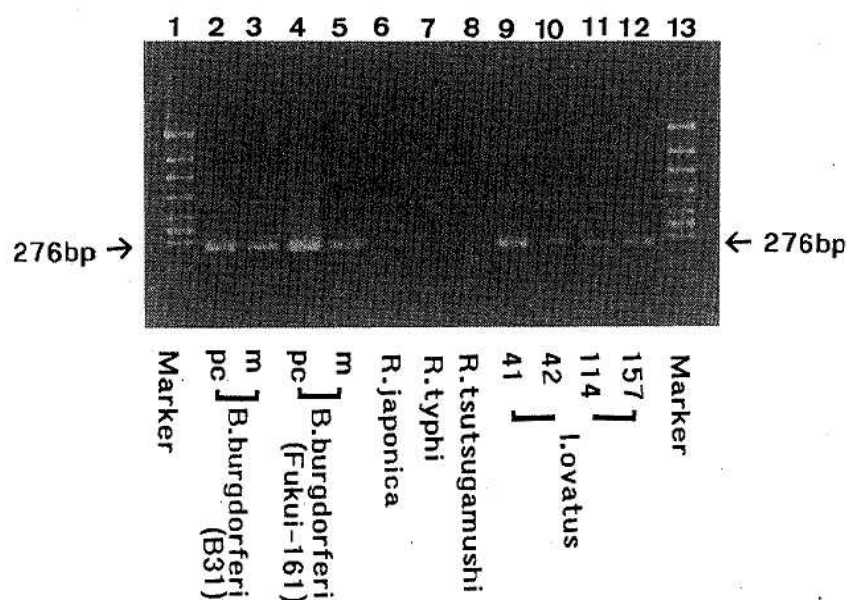


Fig. 3. Agarose Gel Electrophoresis of PCR Products(276bp) using Lyme Borrelia Specific Primer.

フェノール・クロロホルム法[10]で、3(m)はInstaGene Matrix(Bio-Rad)でB31標準株のDNAを抽出・精製したものである。レーン4, 5はFukui-161株(ヤマトマダニ由来)から同様の抽出・精製を行ったものである。レーン6~8はダニ類から分離された各種のリケッチアを泳動したが、DNAは検出されなかった。レーン9~12が今回採集したヤマトマダニから増幅したDNAである(9, 10は医王山, 11は有峰, 12は馬場島で採集された個体)。

考 察

富山県のマダニ相(9種類)は福井県の13種類[11]よりも少なく、しかも個体数も少ない。この理由は現段階では明らかに出来ない。また、ライム病患者の発生が続いている長野県の調査[12]と比較しても、ヤマトマダニ、シュルツエマダニとも採集個体数が少ない。今後さらに調査を行い、富山県固有の環境などが原因なのかを明らかにしたい。

マダニ類からのライム・ボレリアの検出は、ライム・ボレリアの分類が整理され[4-6]、ヤマトマダニから分離されるボレリアが*B. japonica* [6]とされ、ヒトに対する病原性がほとんどないことが明らかにされている。ヒトとの関係では、患者皮膚から分離されるライム・ボレリアのうちRFLP-ribotype IV[7]が重要と思われる。このタイプに属するボレリアはシュルツエマダニ、アカネズミおよび野鳥から最も多く分離されている[13]。また、ヤマトマダニから*B. japonica*以外のライム・ボレリアが分離されることは極めてまれであり、しかも他のライム・ボレリアを体内に取り込ませてもすぐに死亡する[14]。以上のことから、今後、ライム病とマダニの関係を調査するのは、シュルツエマダニがスクリーニング的な調査の中心になると思われる。その方法としては、今回著者らが行った市販のポリクローナル抗体を用いる間接蛍光抗体法が、モノクローナル抗体を用いるのに比べ、ライム・ボレリアを広

く捕捉する点から優れていると思われる。しかし、将来的には各ribotypeに対するモノクローナル抗体を用いる蛍光抗体法、また、各ribotypeに特異的なプライマーを用いたPCR分析が必要になると考えられる。

1993年の調査でPCR法によるボレリアDNAの検出を行ったが、PCR法の検出率が蛍光抗体法に比べ、低率に止まったのは、PCRに用いたマダニ類がライム・ボレリアが増殖する中腸を除去した個体を試料にしたことが原因と考えられた。

今回のライム・ボレリア検索の結果、富山県のシュルツエマダニからライム・ボレリアが検出され、本県でも患者発生の可能性が示唆された。そのために、今後はシュルツエマダニの分布と、それらからのライム・ボレリアの検出、とくにribotype IVの存在の有無を確認すると共に、患者発生を監視する必要が認められる。

謝 辞：本調査を進めるに当たり、ご協力をいただいた旭川医科大学の中尾 稔博士、宮本健司博士、国立予防衛生研究所の森 守博士、およびボレリア標準株とヤマトマダニからの分離株の分与をいただいた福井県衛生研究所石畝 史氏に深謝する。

文 献

1. Steere, A. C. (1989). N. Engl. J. Med., 321, 586-596.
2. 川端真人(1994). ライム病検査の手引き, P. 9, 希少感染症診断技術向上事業, 国立予研。
3. 村松紘一、山岸智子、内川公人、仲間秀典(1994) 平成5年度希少感染症診断技術研修会 資料, p. 7.
4. Baranton, G., Postic, D., Girons, I. S., Boerlin, P., Piffaretti, J. C., Assous, M. and Grimont, P. A. D. (1992). Int. J. Syst. Bacteriol., 42, 378-283.
5. Canica, M. M., Nato, F., du Merle, L., Mazie, J. C., Baranton, G. and Postic, D. (1993). Scand. J. Infect. Dis., 25, 441-448.
6. Kawabata, H., Masuzawa, T. and Yanagihara, Y. (1993). Microbiol. Immunol., 37, 843-848.

7. Fukunaga, M., Sohnaka, M. and Yanagihara, Y.
(1993). J. Gen. Microbiol., 139, 1141-1146.
8. 中尾 稔(1992). 化学の領域, 8 (6), 17-24.
9. Picken, (1992), J. Clin. Microbiol., 30, 99-114
10. Webb, (199),
11. 石畝 史, 飯田英侃, 波多野基一, 矢野泰弘,
高田伸弘(1992) : 日本ダニ学会誌, 1:27-35.
12. Uchikawa, K., Muramatsu, K., Miyamoto, . and
Nakao, M. (1991). Jpn. Sanit. Zool., 42:293-299.
13. Fukunaga, M., Nakao, M., Miyamoto, K. and Sato, F.
(1994). J. Clin. Microbiol., 32,
14. Nakao, M., Miyamoto, K. Uchikawa, K. and Fujita, H.
(1992). Am. J. Trop. Med. Hyg., 47, 505-511.

中部山岳国立公園立山の観光ルート沿いで発生する
蚊類の季節消長(1993年度)

渡辺 護 荒川 良¹ 上村 清¹

Seasonal Prevalence of Mosquitoes Breeding
along the Sight-seeing Route of Mts. Tateyama
in Chubu Sangaku National Park in 1993

Mamoru WATANABE, Ryo ARAKAWA¹,
Kiyoshi KAMIMURA¹

要 旨 中部山岳国立公園立山の観光道路沿いで発生する蚊類の季節消長について、1989-1992年に引き続き調査した。1993年は1992年と同様立山山麓部の横江(標高250m)の民家付近、千寿ヶ原(標高500m)のスギ林林縁部に設置した古タイヤ、標高980mの美女平のブナの樹洞、放置古タイヤ、標高1,200mのブナ坂のブナの樹洞、標高1,900mの弥陀ヶ原追分の地上水溜まりで発生する蚊類を4月より毎月1回調べたが、6月は道路通行止めで調査できなかった。調査地の内、横江では蚊類の産卵消長を明らかにすべく、調査日毎にタイヤの回収交換を行った。その結果、ヤマトヤブカを中心とした蚊類は5月中旬以降から産卵を行い、10月中旬まで継続することがわかった。また、エセチョウセンヤブカがこの地域では初めて得られた。千寿ヶ原ではマラリア媒介能を有するオオモリハマダラカがこの地域で初めて得られた。山地帯の美女平の樹洞、放置古タイヤからは、これまでの調査結果と同様、春から初夏にかけてブナノキヤブカ、ヤマトヤブカを中心に個体数が最も多かった。ブナ坂で1992年に発見した樹洞からは、前年に加えてミスジシマカが得られ、8種類の蚊が確認されたが、美女平の樹洞に比べてブナノキヤブカ以外の個体数は少なかった。弥陀ヶ原追分の道路脇雪解け水溜まりからは、これまで同様7月にハクサンヤブカと多数のエゾヤブカが採集され、8月以降はハマダライエカが採集された。何れの調査地でも8、9月の蚊類個体数は昨年に比べて少なく、1993年の気象の特徴であった冷夏の影響を受けたためと考えられた。調査地域で得られたヤブカ類の多くとキンパラナガハシカは野外でヒトから吸血する事が知られており、特にヤマトヤブカ、キンパラナガハシカは山地帯～低山帯にかけて個体数が多く、ヒトへの吸血被害が懸念されるため、これらの蚊類の発生動向を常に監視する必要がある。

富山県下の観光のメッカである中部山岳国立公園の立山-黒部アルペンルートを訪れる観光客は年間100万人を越えるようになった。交通網が

益々発達し、観光キャンペーンも繰り返される昨今、立山を訪れる人が今後さらに増加していくと考えられる。これら観光客や登山者に、観光ルー

ト沿いで発生する蚊やブユなどの吸血昆虫による刺咬被害が増加することが従来から懸念されてきた。この地域での蚊類の発生源は樹洞、雪解け水溜まり、人工容器などが挙げられ、これらはアルペンルート沿いに多数存在する。著者らはこれらの発生源から発生する蚊類の季節消長を調査して、その生態を明らかにし、今後の発生の予測と対策を考えるための基礎データを得ることを目的に、1989年より調査を行ってきた〔1, 2, 3, 4〕。本報では1993年の調査結果を報告する。

調 査 方 法

現地調査は、1993年4月から11月まで毎月1回行った。ただし、6月は調査を予定していた中下旬の間、崖崩れによって道路が通行止めになり、調査できなかった。立山山麓部では、横江（標高250m）の水田地帯と民家に挟まれた狭いスギ林内に1991年より設置した古タイヤについて、1994年4月に内部の溜まり水と蚊幼虫、落ち葉や木屑を採集し、タイヤ共々持ち帰った。さらに同日新たなタイヤを設置し、以降毎月1回の調査日毎にタイヤ内の蚊幼虫等の回収と同時にタイヤそのものも持ち帰り、新しいタイヤの設置を行った。持ち帰ったタイヤには、富山医科薬科大学内の実験室で、汲み置き水を入れ、新たに孵化してきた蚊幼虫の回収作業を1カ月間継続した。千寿ヶ原（標

高500m）ではスギ林内に1991年秋より設置した古タイヤより、内部の溜まり水と蚊幼虫、落ち葉や木屑を採集した。標高980mの美女平では、ブナの木の新樹洞（地上2mの新樹幹分岐部にあり、幅12x35cm、深さ30cm）、ブナ林の林縁部の地上に1988年秋以前より放置されたままの古タイヤそれぞれについて、山麓部同様内部の溜まり水と蚊幼虫等を採集した。標高1,200mのブナ坂では、1991年10月に発見したブナの木の新樹洞（地上2.5mの新樹幹分岐部にあり、幅10x30cm、深さ45cm）から採集した。弥陀ヶ原追分の料金所近くの道路沿い水溜まり（標高1,900m）からは、柄杓を用いて蚊幼虫を適宜採集した。採取した材料の処理方法は既報〔1〕に準じた。

結果および考察

山麓部の横江（標高250m）での蚊類採集飼育結果をTable 1に示した。横江では、4月16日の調査で多数のヤマトヤブカ *Aedes japonicus* が採集され、他にキンパラナガハシカ *Tripteroides bambusa*、ヤマダシマカ *Ae. flavopictus* が採集された。しかし、4月に新たに設置し5月20日に回収したタイヤからは蚊幼虫を採集できず、この時期はまだ蚊類の産卵時期ではないことが推察された。5月に設置したタイヤは7月に回収作業を行ったが、上記3種に加えて多数のクシヒゲカ

Table 1. Seasonal Prevalence of Mosquito in a Piece of Tire on the Edge of Cedar Forest at Yokoe (250m alt.) in 1993.

	Apr.16	May 20	Jul.22	Aug.24	Sep.21	Oct.21	Nov.16
<i>Toxorhynchites towadensis</i>	0	0	0	0	1	0	0
<i>Tripteroides bambusa</i>	46	0	30	3	42	5	0
<i>Uranotaenia bimaculata</i>	0	0	0	6	18	6	0
<i>Aedes japonicus</i>	231	0	319	15	45	2	0
<i>Ae. koreicoides</i>	0	0	0	0	11	21	0
<i>Ae. flavopictus</i>	20	0	6	10	11	21	0
<i>Culex sasai</i> and <i>Cx. kyotoensis</i>	0	0	458	12	31	186	0

幼虫が採集された。昨年同様この地域のクシヒゲカはヤマトクシヒゲカ *Culex sasai* とキョウトクシヒゲカ *Cx. kyotoensis* が混在し、成虫での識別が困難なため、Table 1 では両者を一括して示した。8月24日回収分以降はフタクロホシチビカ *Uranotaenia bimaculata* が加わったが、10月回収分のクシヒゲカ類を除いて、何れも個体数は少なかった。この間、蚊類幼虫捕食性のトワダオオカ *Toxorhynchites towadensis* も9月21日回収分で1頭採集されただけで、これによる捕食の影響だけでなく、冷夏の影響で蚊類の産卵活動が抑制された可能性が考えられる。また、10月21日回収分では美女平が主たる分布域と考えられ、昨年ここでは得られられなかったエセチヨウセンヤブカ *Ae. koreicoides* が採集されたが、これも冷夏によりエセチヨウセンヤブカの分布域の標高

が下がった可能性が考えられる。

千寿ヶ原での蚊類採集飼育結果をTable 2 に示した。4月16日回収分では、多数のヤマトヤブカが採集され、その他キンパラナガハシカ、ブナノキヤブカ *Ae. oreophilus*、ヤマダシマカが採集され、5月回収分でも同様であった。7月22日回収分ではヤマトヤブカとヤマトクシヒゲカのみが多数採集された。8月には捕食性のトワダオオカ4令幼虫が1度に10頭採集された。回収した時点ではトワダオオカによる捕食のため他の蚊類幼虫はほとんど見られなかったが、採取したタイヤ内の落ち葉等を含んだ水を実験室内で放置しておくともヤマトヤブカ、ヤマダシマカが孵化してきた。これらは回収した時は卵の状態であったと思われる。トワダオオカ除去後孵化してきたためと思われる。また、フタクロホシチビカが8月にこの地

Table 2. Seasonal Prevalence of Mosquito Species in a Piece of Tire on the Ground at the Edge of Cedar Forest at Senjugahara (500m alt.) in 1993.

	Apr.16	May 20	Jul.22	Aug.24	Sep.21	Oct.21	Nov.16
<i>Anopheles omorii</i>	0	0	0	0	42	3	1
<i>Toxorhynchites towadensis</i>	0	0	0	10	2	0	0
<i>Tripteroides bambusa</i>	22	10	0	12	57	18	18
<i>Uranotaenia bimaculata</i>	0	0	0	2	0	0	0
<i>Aedes japonicus</i>	198	139	429	120	37	85	69
<i>Ae. oreophilus</i>	7	2	0	0	8	4	3
<i>Ae. koreicoides</i>	0	0	0	0	0	0	1
<i>Ae. flavopictus</i>	18	18	0	66	9	4	0
<i>Culex sasai</i>	0	0	148	0	203	127	65

Table 3. Seasonal Prevalence of Mosquito Species in the Tree Hole of Beach Tree at Bijodaira (980m alt.) in 1993.

	May 20	Jul.22	Aug.24	Sep.21	Oct.21	Nov.16
<i>Toxorhynchites towadensis</i>	0	0	1	1	0	0
<i>Tripteroides bambusa</i>	1	1	1	2	0	0
<i>Aedes japonicus</i>	10	38	8	0	3	0
<i>Ae. oreophilus</i>	131	142	50	18	5	6
<i>Ae. kobayashii</i>	17	18	19	30	1	3
<i>Ae. koreicoides</i>	0	0	2	6	1	0
<i>Ae. flavopictus</i>	0	3	0	0	0	0
<i>Culex sasai</i>	0	0	65	77	197	96

域で初めて採集された。9月21日回収分ではこの地域で初めてオオモリハマダラカ *Anopheles omorii* が採集された。個体数も42頭と、美女平の樹洞等でもかつて経験のないほど多くの個体が採集された。オオモリハマダラカもその主たる分布域は美女平周辺と考えられ、冷夏の影響で分布域の標高が下がった可能性があり、今後の推移を見守る必要がある。なお、採集されたオオモリハマダラカを元に室内で累代飼育を試みたところ、成功し、1994年3月現在5代に達している。

美女平のブナ樹洞での蚊類の採集飼育結果をTable 3に示した。4月は積雪による通行止めのため、調査できなかった。5月20日回収分ではブナノキヤブカを中心にキンバラナガハシカ、ヤマトヤブカ、コバヤシヤブカ *Ae. kobayashii* が採集されたが、個体数は過去に比べて少なかった。

その後、7月22日回収分でブナノキヤブカ、8月から11月までの回収分でヤマトクシヒゲカの個体数が多かったが、他の蚊類は年間を通じて採集数は少なく、毎年記録されていたオオモリハマダラカも採集できなかった。

美女平の地上の放置タイヤでの蚊類採集飼育結果をTable 4に示した。5月20日採集分では、例年同様ヤマトヤブカが多数採集された。その後はヤマトヤブカとヤマトクシヒゲカが10月まで多かった。8月24日はヤマトヤブカとヤマトクシヒゲカのみ採集され、他の蚊類幼虫はまったく採集できなかった。11月回収分ではキンバラナガハシカの個体数が多くなった。

ブナ坂の樹洞での採集結果をTable 5に示した。ここは7月22日から調査を開始した。この7月は多数のブナノキヤブカと少数のキンバラナガハシ

Table 4. Seasonal Prevalence of Mosquito Species in Tire on Ground at the Edge of Beach Forest at Bijodaira in 1993.

	May 20	Jul.22	Aug.24	Sep.21	Oct.21	Nov.16
<i>Anopheles lindesayi</i>	0	0	0	0	3	0
<i>Toxorhynchites towadensis</i>	0	1	0	0	0	0
<i>Tripteroides bambusa</i>	1	0	0	17	27	42
<i>Aedes japonicus</i>	409	360	196	116	41	20
<i>Ae. oreophilus</i>	36	0	0	9	3	6
<i>Ae. kobayashii</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Ae. koreicoides</i>	13	0	0	0	20	4
<i>Cx. sasai</i>	0	0	137	161	76	44

Table 5. Seasonal Prevalence of Mosquito Species in the Tree Hole of Beach Tree at Bunazaka (1,200m alt.) in 1993.

	Jul.22	Aug.24	Sep.21	Oct.21	Nov.16
<i>Toxorhynchites towadensis</i>	0	0	1	0	0
<i>Tripteroides bambusa</i>	7	0	4	4	1
<i>Aedes japonicus</i>	2	0	17	0	0
<i>Ae. oreophilus</i>	312	2	2	7	3
<i>Ae. kobayashii</i>	7	1	1	1	0
<i>Ae. koreicoides</i>	0	0	9	11	0
<i>Ae. flavopictus</i>	0	0	0	4	0
<i>Ae. galloisi</i>	0	0	1	0	0

Table 6. Seasonal prevalence of mosquito species in the ground pool at Oiwake (1,900m alt.) in 1993.

	Jul.22	Aug.24	Sep.21	Oct.21	Nov.16
<i>Aedes hakusanensis</i>	2	0	0	*	*
<i>Ae. esoensis</i>	80	0	0		
<i>Culex orientalis</i>		17	3		

* : The ground pool dried up.

カ、ヤマトヤブカ、コバヤシヤブカが採集された。8月24日はブナノキヤブカとコバヤシヤブカがわずかに採集されたのみであった。9月21日は8種類の蚊が採集されたが、個体数は少なかった。10月以降も少数の蚊が採集されたが、何れも個体数は少なかった。ここでは今回初めてミスジシマカが記録された。この樹洞での蚊類の種構成は美女平の樹洞と酷似しているが、昨年同様美女平の樹洞よりはるかに個体数が少なかった。これは樹洞のあるブナが美女平では林縁部にあるのに対して、ブナ坂ではブナの林内に位置しており、日当たりなどの関係によるものと思われる。

弥陀ヶ原追分の道路沿いの水溜まりでの蚊類採集飼育結果をTable 6に示した。ここは例年同様、5月の調査の時点では雪に覆われていた。7月には多数のエゾヤブカ *Ae. esoensis* と少数のハクサンヤブカ *Ae. hakusanensis* が採集された。8月、9月にはハマダライエカ *Cx. orientalis* が得られたが、10月は水溜まりが干上がってしまい、11月には雪に覆われた。

以上の結果から、立山の観光ルート沿いの蚊の個体群は今年も種数には大きな変動はなかったが、ヤマトヤブカとヤマトクシヒゲカを除く蚊類の個体数は特に夏場に例年より少なく、93年の冷夏がこれら蚊類の個体数の増加を抑制したと思われる。これまで美女平が主たる棲息地と考えられていたオオモリハマダラカが千寿ヶ原で、エセチョウセ

ンヤブカが横江で今回初めて得られたのも、冷夏により分布域が標高の低いところまで降りてきた可能性も考えられ、今後の推移を見守りたい。また、標高250mの横江では古タイヤの設置交換を毎月行うことで蚊類の産卵消長を明らかにしたが、キンバラナガハシカやヤブカ類などヒトを吸血する蚊類は4月中旬から10月中旬まで継続的に産卵することがわかった。特に秋以降に産卵されたものはそのまま越冬し、翌春に一斉に羽化してくることが考えられ、春から夏にかけてこれら蚊類の刺咬被害が生じることが懸念される。

謝辞：立山での野外調査にあたって、調査に協力していただいたがん研究部の各位、富山医科薬科大学の学生諸氏に深謝致します。

文 献

1. 荒川 良, 渡辺 護, 上村 清 (1990). 富山衛研年報, 13, 70-75.
2. 渡辺 護, 荒川 良, 岡沢孝雄, 上村 清 (1991). 富山衛研年報, 14, 62-66.
3. 渡辺 護, 荒川 良, 岡沢孝雄, 上村 清 (1992). 富山衛研年報, 15, 76-80.
4. 荒川 良, 渡辺 護, 上村 清 (1993). 富山衛研年報, 16, 78-83.

日本脳炎流行予測調査

渡辺 護 長谷川 澄代 森田 修行 上村 清¹
 荒川 良¹ 南部 厚子² 橋爪 淑子³ 布野 純子⁴
 草山 真由美⁵ 遠藤 京子⁶ 斉藤 尚仁⁷

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 1993

Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Osayuki MORITA,
 Kiyoshi KAMIMURA¹, Ryo ARAKAWA¹, Atsuko NANBU²,
 Yoshiko HASHIZUME³, Junko NUNO⁴, Mayumi KUSAYAMA⁵,
 Kyoko ENDO⁶ and Naohito SAITO⁷

要 旨 日本脳炎の発生および流行を監視する目的で、富山県内8か所の定点（畜舎）で、6月から9月まで、コガタアカイエカの捕集調査を行うと共に、豚のHI抗体保有調査を行った。

蚊の捕集数は、福野で前年度よりもわずかに増加したが、富山月岡、富山萩原、婦中友坂、黒部、上市、小矢部、氷見の7定点では減少した。発消長は各定点で異なっていたが、例年の如く7月下旬に捕集数が最高になった定点は富山月岡のみで、他の7定点では8月中旬、もしくは9月上旬に最高になった。

豚血清の日本脳炎ウイルスHI抗体調査は、7月13日から9月28日まで調査を行ったが、まったく陽性例が認められなかった。

以上の様に、蚊の発生数が少なかったことと、豚でのウイルス感染が拡まらなかったことが原因で、1993年も日本脳炎患者は発生しなかったと考えられる。

富山県における近年の日本脳炎真性患者の発生は、1982年の1例のみである。1982年には、コガタアカイエカに非常に強度な殺虫剤抵抗性の発現が認められた[1, 2]。それが主因で、近年はコガタアカイエカ発生量も多い傾向にある[3～6]。そして、コガタアカイエカの発生量が7月から多くなる年には、日脳ウイルスの浸淫の時期が早く、しかも拡大も早いことが明らかになって

きた[5]。このことは1960年代のように、ウイルスの侵入が7月中・下旬に始まると日本脳炎の流行が起こる可能性を示す。そこで、それらの危険を未然に防ぐ目的で、1992年に引き続き日本脳炎を媒介するコガタアカイエカおよび日脳ウイルスの動態を、6月から9月まで監視してきたので報告する。

1. 富山医薬大 2. 黒部保健所 3. 上市保健所 4. 福野保健所 5. 小矢部保健所 6. 氷見保健所
 7. 県健康課

I. 蚊の発生調査

1. 調査地と調査方法

蚊の捕集定点は表1に示す通りである。上市は家畜の飼養を止めたために、1992年までの定点を移動した。調査期間、調査方法ともに前年と同じで、富山月岡、富山萩原、婦中友坂の3定点は連日捕集を、他の5定点は週1回の捕集調査を行った[3, 4]。

2. 調査結果と考察

表2に各調査定点別の捕集成績を、図1に定点別年間捕集数の過去24年間の変動を示した。各定点とも調査開始の6月中旬から前年に比べ発生数はやや多い傾向にあったが、7～8月の捕集数は逆に減少した。その結果、年間捕集数は福野を除いて前年よりも明瞭に少なくなった。全定点を合計した総捕集数は、前年に比べ63%に減少した。以下、各定点別に捕集結果を述べる。

表1. 平成5年度(1993)調査地点、トラップ設置畜舎の概要

番 号	地点名	類 別	地 点 の 概 要
1	富山月岡	牛 舎	富山市大井、合田初男所有。乳牛15頭。 平野部水田地帯、約1km離れたところに他牛舎あり。 300m南に熊野川が流れ、対岸は水田、そして丘陵に連なる。
2	富山萩原	牛 舎	富山市萩原、愛場正治所有。乳牛12頭。 平野部の水田と人家など混在した地域。 脇に高速道路。東100mに熊野川、西300mに神通川が流れる。
3	婦中友坂	豚 舎	婦中町友坂、数井白三郎所有。親豚14頭、肥育豚40頭。 丘陵部縁の水田地帯、集落の外れ。近くに他畜舎なし。 丘陵の雑木林、竹林および杉植林地まで約100m。
4	上 市	牛 舎	上市町湯上野、稲葉新三所有。乳・肉牛12頭。 丘陵部畑作地帯。近くに上市高校の畜舎あり、牛、鶏飼養。 畜舎裏手は雑木、杉植林。全面は100m程離れて水田あり。
5	福 野	牛 舎	福野町二日町、河合精一所有。乳牛26頭。 平野部水田地帯、人家点在。 近くに他畜舎なし。
6	小矢部	牛 舎	小矢部市金屋本江、西田芳夫所有。乳牛50頭。 平野部水田地帯、人家点在。近くに他畜舎なし。 西150mに小矢部川が流れる。
7	黒 部	牛 舎	黒部市植木、松村 彰所有。乳牛11頭。 平野部水田地帯、人家点在。近くに他畜舎なし 北300mに海岸、東200mに黒部川。
8	氷 見	牛 舎	氷見市加納、桜打 寛所有。乳牛44頭。 丘陵部の縁、集落内。 前面は水田、裏手は雑木林および杉植林。

表2-1. 平成5年度(1993) 8定点における蚊雌成虫の捕集数-1.

(毎週水曜日ライトトラップ一晩捕集)

定点 種類 調査日	① 富 山 月 岡					② 富 山 萩 原				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 16	0	88	4	0	92	0	96	0	0	96
23	0	728	15	0	743	0	42	0	0	42
30	0	256	7	0	263	0	127	0	0	127
7. 7	0	1,358	7	0	1,365	0	252	0	0	252
14	0	742	5	0	747	0	151	0	0	151
21	0	1,537	3	0	1,540	0	199	1	0	200
28	0	280	0	0	280	0	419	1	0	420
8. 4	0	524	4	0	528	0	46	0	0	46
11	0	636	4	0	640	0	43	0	0	43
18	0	612	1	0	613	0	1,014	0	0	1,014
25	0	487	0	0	487	0	345	0	0	345
9. 1	0	459	2	0	461	0	369	0	0	369
8	0	449	0	0	449	0	427	0	0	427
15	0	449	5	0	454	0	199	0	0	199
22	0	110	2	0	112	0	25	0	0	25
29	0	112	0	0	112	0	4	0	0	4
計	0	8,827	59	0	8,886	0	3,758	2	0	3,760

定点 種類 調査日	③ 婦 中 友 坂					④ 上 市 青 井 出 新				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 16	0	75	0	0	75	0	0	1	0	1
23	0	186	3	0	189	0	3	2	0	5
30	0	107	0	0	107	1	42	3	1	47
7. 7	0	250	0	0	250	2	190	6	0	198
14	0	160	1	0	161	3	70	16	0	89
21	0	196	1	1	198	0	59	2	0	61
28	0	429	1	0	430	0	55	1	0	56
8. 4	0	53	0	1	54	1	48	0	0	49
11	0	45	1	0	46	4	219	1	1	225
18	0	970	0	2	972	0	33	1	0	34
25	0	368	1	0	369	0	29	0	0	29
9. 1	0	408	0	0	408	0	75	3	0	78
8	0	469	1	0	470	1	47	2	0	50
15	0	224	0	2	226	2	70	0	0	72
21	0	57	0	0	57	0	86	1	0	87
29	0	4	0	0	4	2	74	0	0	76
計	0	4,064	9	5	4,078	16	1,100	39	2	1,157

注1. 種類はAs=*Anopheles sinensis* シナハマダラカ、Ct=*Culex tritaeniorhynchus* コガタアカイエカ、Cp=*Culex pipiens* アカイエカを表し、その他にはカラツイエカ、オオクロヤブカ、ヒトスジャブカなどが含まれる。

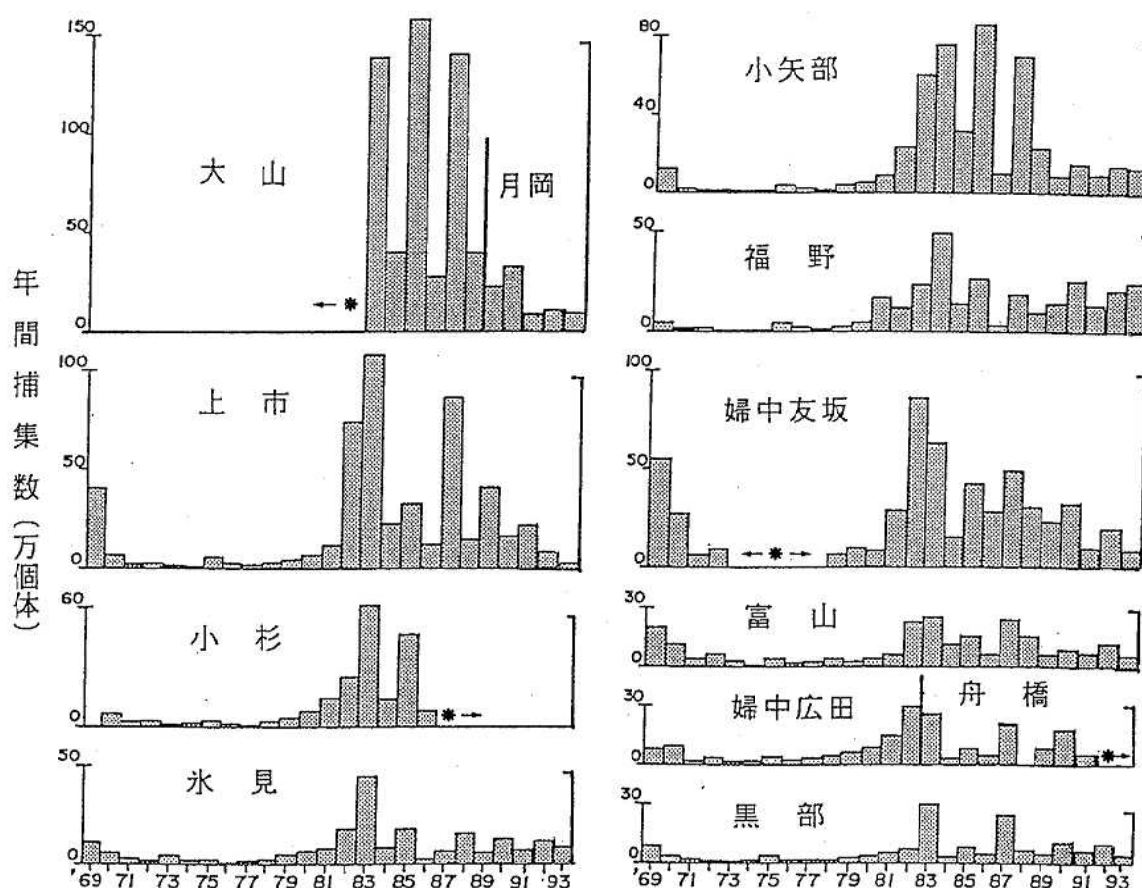


図1. 富山県の各調査定点におけるコガタアカイエカ捕集数の年変動

(大山、月岡、婦中友坂、婦中広田の各定点は6～9月の毎日、その外の定点は週1回の調査を行った。*印は調査が出来なかったことを示す。)

〔富山月岡〕表3に連日捕集成績を示した。調査開始の6月上旬から捕集数は前年よりも多かったが、7～8月は逆に少なくなり、年間捕集数は前年の88%に減少した。日最高捕集数は8月27日の2,811個体であり、前年に比べ20日間遅れた。

〔富山萩原〕年間捕集数は、前年度の42%に減少した。日最高捕集数は8月23日に2,253個体捕集され、前年とほぼ同じであった(表3)。

〔婦中友坂〕捕集数は6月上旬から前年度よりも多い傾向がみられたが、年間捕集数は前年度の37%に極端に減少した。日最高捕集数は前年度の3,504個体(8月10日)に対し、今年度は1/2の1,756個体(8月27日)であった(表3)。

〔黒部植木〕前年度の年間捕集数は、1,968個体

と近年の中では少ない方に属していたが、今年度はさらに少なく、前年度の33%, 642個体になった(表2-2)。発消長は9月に年間捕集数の約50%が捕集される、初秋発生型の消長を示した。

〔上市湯上野〕8月11日に主ピーク(219個体)、7月7日に副ピーク(190個体)を持つ年2峰性を示した。年間捕集数の1,100個体は、黒部に次いで2番目に少なかった。この定点は例年捕集数が他の定点よりも多い傾向がみられていたが、今年度は少なく調査畜舎の移動が、影響した可能性が示唆される。

〔福野二日〕年間捕集数は前年度の1.1倍に増加した。日最高捕集数は前年度の1,496個体(9月2日)とほぼ同じの1,456個体(8月11日)で

表2-2. 平成5年度(1993)8定点における蚊雌成虫の捕集数-2.

(毎週水曜日ライトトラップ一晩捕集)

定点 種類 調査日	⑤ 福 野 二 日					⑥ 小 矢 部 金 屋 本 江				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 16	0	9	22	0	31	0	35	7	0	42
23	0	37	53	0	90	0	100	7	0	107
30	0	75	70	1	146	0	81	7	0	88
7. 7	0	194	81	0	275	0	226	29	0	255
14	0	201	74	0	275	0	186	16	0	202
21	0	375	99	0	474	0	131	4	0	135
28	0	331	57	0	388	0	756	15	0	771
8. 4	0	1,105	92	0	1,197	0	301	5	0	306
11	0	1,456	125	0	1,581	0	204	0	0	204
18	0	129	15	0	144	0	6	4	0	10
25	0	139	7	0	146	0	20	16	0	36
9. 1	0	1,406	69	0	1,475	0	709	26	0	735
8	0	1,073	46	0	1,119	0	1,144	6	0	1,150
15	0	397	22	0	419	0	598	8	0	606
21	0	104	12	0	116	0	378	13	0	391
29	0	81	10	0	91	0	218	19	0	237
計	0	7,112	854	1	7,967	0	5,093	182	0	5,275

定点 種類 調査日	⑦ 黒 部 植 木					⑧ 氷 見 加 納				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 16	0	2	1	0	3	3	34	9	2	48
23	0	6	0	0	6	12	15	17	2	46
30	0	8	0	0	8	8	59	18	0	85
7. 7	0	18	0	0	18	15	124	13	2	154
14	0	12	0	0	12	14	38	18	0	70
21	0	40	0	0	40	40	480	10	3	533
28	0	121	0	0	121	12	218	11	0	241
8. 4	0	67	0	0	67	9	292	17	0	318
11	0	44	5	0	49	84	469	12	0	565
18	0	10	0	0	10	102	1,025	5	2	1,134
25	0	25	0	0	25	178	548	4	2	732
9. 1	0	36	0	0	36	23	440	8	0	471
8	0	223	0	0	223	13	591	11	2	617
15	0	21	1	0	22	12	311	11	3	337
21	0	3	0	0	3	2	94	16	3	115
29	0	6	0	0	6	5	70	2	0	77
計	0	642	7	0	649	532	4,808	182	21	5,543

注1. 蚊の種類はAs=Anopheles sinensis シナハマダラカ、Ct=Culex tritaeniorhynchus コガタアカイエカ、Cp=Culex pipiens アカイエカを表し、その他にはカラツイエカ、オオクロヤブカ、ヒトスジヤブカなどが含まれる。

表 3-1. 1993年3定点におけるライトトラップ連日捕集による蚊雌成虫の捕集数 -1.

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎				富山萩原牛舎				婦中友坂豚舎						
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 1	0	22	10	0	32	0	3	0	0	3	-	-	-	-	-
2	0	45	2	0	47	0	4	0	0	4	-	-	-	-	-
3	0	86	3	0	89	0	3	0	0	3	0	4	2	1	7
4	0	28	5	0	33	-	-	-	-	-	0	8	4	0	12
5	0	4	8	0	12	-	-	-	-	-	0	6	0	0	6
6	0	20	2	0	22	0	21 ^b	3 ^b	0	24 ^b	0	9	0	0	6
7	0	40	5	0	45	0	10	0	0	10	0	13	1	0	10
8	0	91	6	0	97	0	13	1	0	14	0	13	0	0	14
9	0	93	4	0	97	0	24	0	0	24	0	18	0	0	13
10	0	59	1	0	60	0	27	1	0	28	0	26	1	1	20
11	0	58	2	0	60	-	-	-	-	-	0	27	0	0	27
12	0	25	3	0	29	-	-	-	-	-	0	17	0	0	17
13	0	4	2	0	6	0	55 ^b	1 ^b	0	56 ^b	0	13	1	0	14
14	0	120	3	0	123	0	31	0	0	31	0	13	0	0	13
15	0	151	12	0	163	0	45	0	0	45	0	43	0	0	43
16	0	88	4	0	92	0	96	0	0	96	0	75	0	0	75
17	0	51	3	0	54	0	30	0	0	30	0	29	0	0	29
18	0	115	6	0	121	-	-	-	-	-	0	23	1	0	24
19	0	133	6	0	139	-	-	-	-	-	0	26	0	0	26
20	1	20	5	0	26	0	148 ^b	4 ^b	0	152 ^b	0	62	0	0	62
21	0	20	3	0	23	0	33	0	0	33	0	61	2	0	63
22	-	-	-	-	-	0	29	0	0	29	-	-	-	-	-
23	0	728 ^a	15 ^a	0	743	0	42	0	0	42	0	186 ^b	3 ^b	0	189 ^b
24	0	250	6	0	256	0	120	0	0	120	0	169	0	0	169
25	0	508	4	0	512	-	-	-	-	-	0	153	2	0	155
26	0	858	2	0	860	-	-	-	-	-	0	58	1	1	60
27	0	520	3	0	523	0	227 ^b	2 ^b	0	229 ^b	0	108	2	0	110
28	0	891	4	0	895	0	177	1	0	178	0	185	0	0	185
29	0	474	2	0	476	0	196	0	0	196	0	107	0	0	107
30	0	256	7	0	263	0	127	0	0	127	0	107	0	0	107
計	1	5,759	138	0	5,898	0	1,461	13	0	1,474	0	1,452	23	3	1,478

注. 1. As = *Anopheles sinensis*, シナハマダカ, Ct = *Culex tritaeniorhynchus* コガタアカイエカ, Cp = *Culex pipiens* アカイエカを示し、その他にはカラツイエカ、オオクロヤブカ、ヒトスジシマカなどが含まれる。捕集数は雌のみを示す。

2. 一印はトラップなどの故障による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。

3. * の数値は前日との2日分、^b の数値は前々日、前日と3日分の捕集数を示す。

表 3-2. 1993年3定点におけるライトトラップ連日捕集による蚊雌成虫の捕集数 -2-

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎				富山萩原牛舎				婦中友坂豚舎						
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
7. 1	2	382	8	0	392	0	145	1	0	146	0	147	2	0	149
2	0	1,705	9	0	1,714	-	-	-	-	-	0	167	0	0	167
3	0	415	5	0	420	-	-	-	-	-	0	431	0	1	432
4	0	615	3	0	618	0	928 ^b	0	0	928 ^b	0	195	1	0	196
5	0	610	2	0	612	0	327	0	0	327	0	274	0	0	274
6	0	441	4	0	445	0	159	0	0	159	0	158	0	0	158
7	0	1,358	7	0	1,365	0	252	0	0	252	0	250	0	0	250
8	0	535	5	0	540	0	192	0	0	192	0	176	0	0	176
9	0	1,087	5	0	1,092	-	-	-	-	-	0	317	1	0	318
10	0	1,320	5	0	1,325	-	-	-	-	-	0	199	0	0	199
11	0	157	0	0	157	0	943 ^b	2	0	945 ^b	0	158	2	0	160
12	0	409	3	0	412	0	461	0	0	461	0	432	2	0	434
13	0	577	4	0	581	0	85	1	0	86	0	74	3	0	77
14	0	742	2	0	744	0	151	0	0	151	0	160	1	0	161
15	0	818	3	0	821	0	163	0	0	163	0	161	2	0	163
16	0	1,242	3	0	1,245	0	-	-	-	-	0	166	2	0	168
17	0	746	1	0	747	-	-	-	-	-	0	291	2	0	293
18	0	1,762	3	0	1,765	0	863 ^b	5	0	868 ^b	0	285	2	0	287
19	0	368	2	0	370	0	229	0	0	229	0	268	3	0	271
20	0	604	4	0	608	0	164	0	0	164	0	178	0	0	178
21	0	1,537	3	0	1,540	0	199	1	0	200	0	196	1	0	197
22	0	948	5	0	953	0	274	0	0	274	0	318	1	0	319
23	0	1,209	3	0	1,212	-	-	-	-	-	0	288	1	0	289
24	0	1,208	2	0	1,210	0	-	-	-	-	0	407	0	0	407
25	0	1,525	4	0	1,529	0	1,052 ^b	3	0	1,055 ^b	0	501	0	0	501
26	0	1,660	3	0	1,663	0	345	0	0	345	0	356	1	0	357
27	0	967	1	0	968	0	518	0	0	518	0	531	1	0	532
28	0	280	0	0	280	0	419	1	0	420	0	429	1	0	430
29	0	1,459	3	0	1,462	0	325	0	0	325	-	-	-	-	-
30	0	1,744	5	0	1,749	0	-	-	-	-	0	522 ^a	0	0	522 ^a
31	0	1,067	13	0	1,080	-	-	-	-	-	0	93	0	0	93
計	2	29,497	120	0	29,619	0	8,194	14	0	8,208	0	8,128	31	1	8,160

注. 1. As = *Anopheles sinensis* シナハマダカ, Ct = *Culex tritaeniorhynchus* コガタアカイエカ, Cp = *Culex pipiens* アカイエカを示し、その他にはカラツイエカ、オオクロヤブカ、ヒトスジシマカなどが含まれる。捕集数は雌のみを示す。

2. 一印はトラップなどの故障による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。

3. ^a の数値は前日との2日分、^b の数値は前々日、前日と3日分の捕集数を示す。

表 3-3. 1993年3定点におけるライトトラップ連日捕集による蚊雌成虫の捕集数 -3.

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎				富山萩原牛舎				婦中友坂豚舎						
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
8. 1	0	786	2	0	788	0	863 ^b	3 ^b	0	866 ^b	0	69	3	1	73
2	0	924	10	0	934	0	72	0	0	72	0	79	1	0	80
3	0	608	1	0	609	0	106	0	0	106	0	106	1	0	107
4	0	524	4	0	528	0	46	0	0	46	0	53	0	1	54
5	0	758	1	0	759	0	29	0	0	29	0	33	0	0	33
6	0	658	7	0	665	0	-	-	-	-	0	127	0	0	127
7	0	871	1	0	872	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	0	22	0	0	22	0	325 ^b	0	0	325 ^b	-	-	-	-	-
9	0	124	2	0	126	0	192	0	0	192	0	182	1	0	183
10	0	299	2	0	301	0	181	0	0	181	0	200	0	0	200
11	0	636	4	0	640	0	43	0	0	43	0	45	1	0	46
12	0	21	1	0	22	0	67	0	0	67	0	65	0	0	65
13	0	1,542	1	0	1,543	-	-	-	-	-	0	18	0	0	18
14	0	301	0	0	301	-	-	-	-	-	0	181	0	0	181
15	0	775	0	0	775	0	963	2 ^b	0	965 ^b	0	914	0	3	917
16	0	1,300	0	0	1,300	0	1,219 ^b	0	0	1,219	0	1,102	2	5	1,109
17	0	1,565	0	0	1,565	0	1,081	0	0	1,081	0	952	0	2	954
18	0	612	1	0	613	0	1,014	0	0	1,014	0	970	0	0	970
19	0	2,485	4	0	2,489	0	862	0	0	862	0	814	0	1	815
20	0	1,854	2	0	1,856	-	-	-	-	-	0	1,059	0	0	1,059
21	0	209	0	0	209	-	-	-	-	-	0	911	1	0	912
22	0	279	0	0	279	0	2,508 ^b	1 ^b	0	2,509 ^b	-	-	-	-	-
23	0	690	0	0	690	0	2,253	0	0	2,253	0	2,304 ^a	1 ^a	0	2,305 ^a
24	0	1,690	2	0	1,692	0	982	0	0	982	0	904	0	0	904
25	0	487	0	0	487	0	345	0	0	345	0	368	1	0	369
26	0	1,599	3	0	1,602	0	1,087	0	0	1,087	0	1,169	0	1	1,170
27	0	2,811	3	0	2,814	-	-	-	-	-	0	1,756	0	0	1,756
28	0	735	7	0	742	-	-	-	-	-	0	261	0	0	261
29	0	538	5	0	543	0	2,606 ^b	2 ^b	0	2,608 ^b	0	539	0	0	539
30	0	495	2	0	497	0	210	0	0	210	0	197	1	0	198
31	0	626	5	0	631	0	359	0	0	359	0	376	0	0	376
計	0	26,824	70	0	26,894	0	17,413	8	0	17,421	0	14,696	13	14	14,723

注. 1. As = Anopheles sinensis シナハマダカ, Ct = Culex tritaeniorhynchus コガタアカイエカ, Cp = Culex pipiens アカイエカを示し、その他にはカラツイエカ、オオクロヤブカ、ヒトスジシマカなどが含まれる。捕集数は雌のみを示す。

2. 一印はトラップなどの故障による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。

3. °の数値は前日との2日分、°の数値は前々日、前日と3日分の捕集数を示す。

表 3-4. 1993年3定点におけるライトトラップ連日捕集による蚊雌成虫の捕集数 -4.

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎				富山萩原牛舎				婦中友坂豚舎						
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
9. 1	0	459	2	0	461	0	369	0	0	369	0	408	0	0	408
2	0	679	2	0	681	0	517	0	0	517	0	554	0	0	554
3	0	1,088	2	0	1,090	0	-	0	-	-	0	109	0	0	109
4	0	536	4	0	540	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	0	401	1	0	402	0	572 ^b	1 ^b	0	573 ^b	0	88	0	0	88
6	0	315	1	0	316	0	11	0	0	11	0	19	0	0	19
7	0	534	2	0	536	0	134	0	0	134	0	143	0	0	143
8	0	449	0	0	449	0	427	0	0	427	0	469	1	0	470
9	0	590	0	0	590	0	252	0	0	252	0	276	0	0	276
10	0	605	1	0	606	0	-	-	-	-	0	101	2	0	103
11	0	466	6	0	472	-	-	-	-	-	0	107	0	0	107
12	0	315	5	0	320	0	381 ^b	2 ^b	0	383 ^b	0	83	0	0	83
13	0	594	1	0	595	0	24	0	0	24	0	26	0	0	26
14	0	627	2	0	629	0	172	0	0	172	0	177	0	0	180
15	0	449	5	0	454	0	199	0	0	199	0	224	0	2	226
16	0	563	1	0	564	0	101	0	0	101	0	120	1	0	130
17	0	45	1	0	46	-	-	-	-	-	0	134	0	4	138
18	0	498	0	0	498	-	-	-	-	-	0	57	0	1	58
19	0	239	2	0	241	0	466 ^b	1 ^b	0	467 ^b	0	173	0	3	176
20	0	221	2	0	223	0	71	0	0	71	0	74	1	1	76
21	0	152	1	0	153	0	52	0	0	52	0	57	0	0	57
22	0	110	2	0	112	0	25	0	0	25	0	27	0	1	28
23	0	87	1	0	88	0	28	0	0	28	0	32	0	0	32
24	0	102	0	0	102	0	-	-	-	-	0	15	0	0	17
25	0	38	4	0	42	-	-	-	-	-	0	16	0	2	16
26	0	25	0	0	25	0	41 ^b	0	0	41 ^b	0	7	0	0	7
27	0	62	3	0	65	0	3	0	0	3	0	2	0	0	3
28	0	21	0	0	21	0	10	0	0	10	0	9	0	1	9
29	0	112	0	0	112	0	4	4	0	8	0	4	0	0	4
30	0	47	1	0	48	0	14	0	0	14	0	17	0	0	17
計	0	10,429	52	0	10,481	0	3,873	8	0	3,881	0	3,528	5	27	3,560

注. 1. As = Anopheles sinensis シナハマダカ, Ct = Culex tritaeniorhynchus コガタアカイエカ, Cp = Culex pipiens アカイエカを示し、その他にはカラツイエカ、オオクロヤブカ、ヒトスジシマカなどが含まれる。捕集数は雌のみを示す。

2. 一印はトラップなどの故障による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。

3. a の数値は前日との2日分、b の数値は前々日、前日と3日分の捕集数を示す。

表 3-5. 1993年3定点におけるライトトラップ連日捕集による蚊雌成虫の捕集数 -5-

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎					富山萩原牛舎					婦中友坂豚舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
10. 1	0	31	0	0	31	-	-	-	-	-	0	7	0	0	7
2	0	33	0	0	33	-	-	-	-	-	0	15	0	0	15
3	0	24	0	0	24	0	13 ^a	0	0	13 ^a	-	-	-	-	-
4	0	20	1	0	21	0	5	0	0	5	-	-	-	-	-
5	0	11	1	0	12	0	16	0	0	16	0	15	0	0	15
6	0	9	0	0	9	0	8	0	0	8	-	-	-	-	-
7	0	2	1	0	3	0	1	0	0	1	-	-	-	-	-
8	0	5	2	0	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	0	9	2	0	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	0	14	2	0	16	0	45 ^a	0	0	45 ^a	-	-	-	-	-
11	0	4	1	0	5	0	-	-	-	-	0	6	0	0	6
12	0	162	10	0	172	0	88	0	0	88	0	42	0	0	42
計	0	162	10	0	172	0	88	0	0	88	0	42	0	0	42

注. 1. As = *Anopheles sinensis*, シナハマダカ, Ct = *Culex tritaeniorhynchus* コガタアカイエカ, Cp = *Culex pipiens* アカイエカを示し、その他にはカラツイエカ、オオクロヤブカ、ヒトスジシマカなどが含まれる。捕集数は雌のみを示す。
 2. 一印はトラップなどの故障による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。
 3. 〃の数値は前日との2日分、の数は前々日、前日と3日分の捕集数を示す。

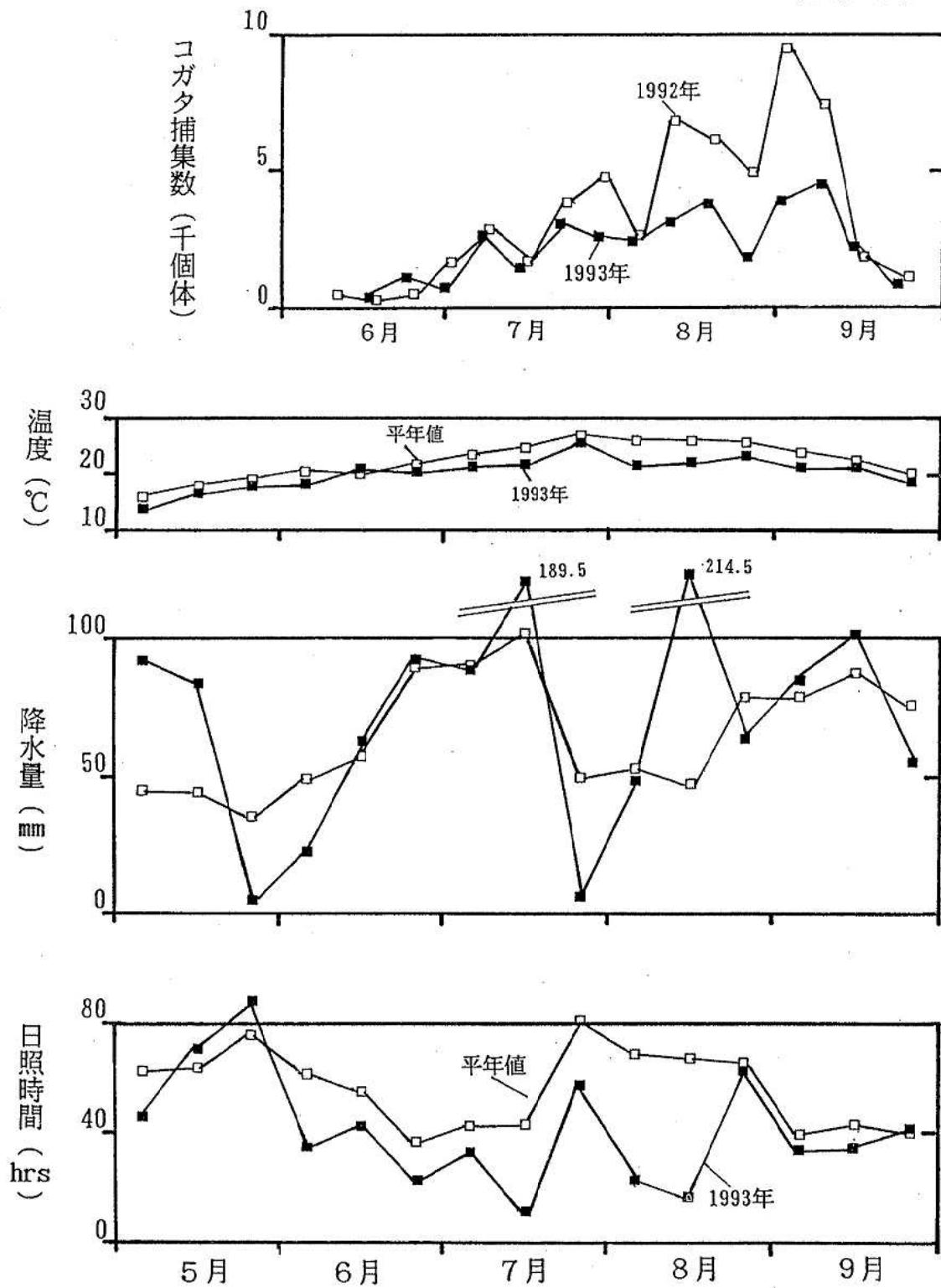


図1. コガタアカイエカ捕集数の季節変動の1993年と1992年の比較
および旬別気象要因の1993年と平年値との比較。

あった。(表2-2)。発消長は8月上旬と9月上旬にピークを示す2峰性を示した。

〔小矢部金屋〕この定点はほぼ毎年福野と発生消長、捕集傾向も酷似しているが、今年度は異なっ

ていた。すなわち、小矢部の日最高捕集日は9月8日の1,144個体に対し、福野は8月11日の1,456個体、年間捕集数は5,093個体に対し7,112個体であった(表2-2)。

平成6年10月1日

表4. 平成5年度（1993）豚血清における日本脳炎ウイルスのHI抗体保育状況

検 体 採取日	抗 体 価								2-ME 感受性 陽性数
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320	≥640	
7. 13	20								
14	(100)								
20	20								
	(100)								
27	20								
30	(100)								
8. 3	20								
	(100)								
10	20								
	(100)								
17	20								
18	(100)								
23	20								
24	(100)								
31	20								
9. 1	(100)								
7	20								
	(100)								
14	20								
	(100)								
20	20								
21	(100)								
28	20								
	(100)								
計	240 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

- 注. 1. 抗体価10倍以上を陽性とみなし、さらに40倍以上を示した血清について2-メルカプトエタノール（2-ME）処理を行ない、ウイルスの新鮮感染を検討した。
2. 表中の数字は観察実数を表わし、括弧内の数字はパーセントを示す。

〔氷見加納〕捕集数は前年度の約69%に減少した。日最高捕集数は8月18日の1,025個体で、前年度の8月7日1,788個体の57%に減少した(表2-2)。

近年は各定点とも、おおむね7月中・下旬と8月中旬に発生数の山がみられる年2峰型が多い傾向にあったが〔4〕,今年度は各定点によりマチマチの消長を示した。しかし、これは本来多数の個体が捕集されるべき7月下旬に、温度・日照不足、農薬一斉散布などの影響で捕集されず、結果的にこのような消長になったとも考えられる。

年間捕集数はここ数年、1年ごとに増減を繰り返す動きを示し(図1),近年のコガタアカイエカの発生状況には年変動がみられる。その原因については気象状況(図2,1993年は気温が平年値よりも低く、日照量も少なく米の不作を導いた),発生源の水田の状況(休耕田の増加)など2,3考えられ、現在検討中である。今後は、気象状況と発生源の水田および吸血源の畜舎などと、コガタアカイエカ自身の生産性(繁殖能力)を細部にわたって調査・研究を行い、コガタアカイエカの発生量におよぼす要因を明らかにしたい。

II. 豚血清の日本脳炎HI抗体保有調査

1. 調査対象と検査方法

7月13日から9月28日まで、毎週火曜日に富山食肉総合センターに搬入される生後6か月の県内産(主として高岡市と氷見市)の豚を対象として、毎回20頭から血液を採取して、日本脳炎抗体の保有状況を調査した。抗体価の測定は、例年の如く伝染病流行予測検査術式〔7〕に従った。被検血清は2回アセトン処理を行って、非特異阻止物質(インヒビター)を除去し、市販の日本脳炎ウイルスJaGAr 01株(デンカ生研)を抗原として、赤血球凝集抑制反応(HI)で抗体価を測定した。血球は1日齢のニワトリの赤血球を用い、反応はマイクロタイター法で行った。

2. 調査結果と考察

採血日とHI抗体価の測定結果を表4に示した。調査開始の7月13日から、終了の9月28日まで、抗体を保有する例は全くみられなかった。

このことは、豚の間で日本脳炎ウイルスの感染があったかもしれないが、拡大は起こらなかったことを示していると思われる。ちなみに、福井では9月28日に保有率55%,2ME 20%,石川(能登)では9月13日に保有率30%,2ME 100%であった。

以上のことを総合的に考察すると、蚊の発生数が1970年代と同レベルまでに減少したことが(図1),日本脳炎ウイルスが豚の間で拡大しなかった原因と思われる、患者の発生も抑えられたと考えられる。

国内における患者の発生は、1992年の真性患者4名、疑似3名に対し、1993年は真性患者5名、疑似3名であり、大きな変化はみられなかった。この少ない患者発生は1970年代後半と同じ傾向である。

謝 辞: 本調査の実施にあたり、御協力を頂いている各定点畜舎および食肉検査所の関係各位に深謝致します。

参 考 文 献

1. 上村 清,丸山由紀子(1983),衛生動物,34,33-37.
2. 渡辺 護,竹部幸子,荒川 良,上村 清,小橋恭一(1985),富山衛研年報,8,33-37
3. 渡辺 護,長谷川澄代,森田修行,南部厚子,橋爪淑子,松原勝博,布野純子,草山真由美,布村洋子,金木 潤(1993),富山衛研年報,16,81-91.
4. 富山県厚生部編(1992),平成4年度伝染病流行予測調査報告書,36-51,富山県.
5. 渡辺 護(1988),生活と環境,1988年5月号,33-38.
6. 渡辺 護,荒川 良,上村 清(1990),衛生動物,41,51-58.
7. 厚生省保健医療局結核難病感染症課感染症対策室(1986),伝染病流行予測検査術式,57-80,東京.

ポリオ流行予測調査

中山 喬 松浦 久美子 長谷川 澄代 森田 修行
草山 真由美¹ 南部 厚子² 吉田 慶子³ 田中 桂子⁴
橋爪 淑子⁵ 小池 美奈子⁶ 川越 久美子⁷ 水木 路男⁸
遠藤 京子⁹ 布野 純子¹⁰

Epidemiological Surveillance for Poliovirus in Toyama Prefecture

Takashi NAKAYAMA, Kumiko MATSUURA, Sumiyo HASEGAWA
Osayuki MORITA, Mayumi KUSAYAMA¹, Atsuko NAMBU²,
Keiko YOSHIDA³, Keiko TANAKA⁴, Yoshiko HASHIZUME⁵,
Minako KOIKE⁶, Kumiko KAWAGOSHI⁷, Michio MIZUKI⁸,
Kyoko ENDOH⁹ and Junko NUNO¹⁰,

要 旨 平成5年度は、感染源調査および感受性調査を実施した。感染源調査は、0歳から6歳までの乳幼児を対象とし、ワクチン接種後2か月以上経過した時点で採便した検体140件についてウイルス分離検査を実施した。その結果、ポリオウイルスは分離できなかったが、ポリオ以外の腸管系ウイルスを50株分離した。内訳は、コクサッキーウイルスA9型(Cox. A9)が18株、コクサッキーウイルスB2型(Cox. B2)が1株、コクサッキーウイルスB5型(Cox. B5)が1株、エコーウイルス6型(Echo 6)が1株、エコーウイルス7型(Echo 7)が4株、エコーウイルス11型(Echo 11)が9株、エコーウイルス22型(Echo 22)が9株、型別同定不能ウイルスが7株であった。

感受性調査は、全年齢層を対象として232名から採血し、中和抗体価を測定した。各型の抗体保有率は、1型が85.8%、2型が96.6%、3型が75.9%で、前年度の調査結果と同様であった。また、抗体保有者の平均抗体価は、1型が67.6倍、2型が82.1倍、3型が21.9倍で、抗体保有率と同様に2型、1型、3型の順であった。

ポリオウイルスの動向を監視するために毎年実施している調査であるが、平成5年度はウイルス分離による感染源調査と、住民抗体保有状況を把握するための感受性調査を実施した。

I 感染源調査 調査および検査方法

調査地区は、県東部の魚津保健所管内および県西部の小矢部保健所管内とした。調査時期は春期

-
1. 小矢部保健所 2. 黒部保健所 3. 富山保健所 4. 魚津保健所 5. 上市保健所 6. 八尾保健所
7. 小杉保健所 8. 高岡保健所 9. 氷見保健所 10. 福野保健所

生ワクチン投与後2か月以上経過した時点とし、6歳以下の乳幼児から糞便を採取した。採取した糞便を、Eagle-MEM培養液で約10%乳剤とし、その遠心上清に抗生物質を加えたものを検体とした。培養細胞はVero細胞およびMA-104細胞を用い、細胞変性効果(CPE)を指標としてウイルス分離検査を実施した。ウイルス分離陽性の場合、エンテロウイルス混合血清(国立予防衛生研究所(以下予研)、およびデンカ生研KK.)、シュミットプール血清(予研)および型特異抗血清(予研、デンカ生研KK、日本ポリオ研究所および自家製)を用いた中和反応によりウイルスの型を同定した。なお、ウイルスの同定試験では、前記の細胞に加えてRD-18S細胞も使用した。

結果および考察

小矢部保健所管内で75名、魚津保健所管内で65名の合計140名から糞便を採取し、ウイルス分離検査を実施した。その結果はTable 1に示すとおりである。検査した140検体から50株(分離率35.7%)の腸管系ウイルスを分離したが、ポリオウイルスは分離できなかった。分離ウイルスの内訳は、コクサッキーウイルスA9型(Cox. A9)が18株、コクサッキーウイルスB2型(Cox. B2)が1株、コクサッキーウイルスB5型(Cox. B5)が1株、エコーウイルス6型(Echo 6)が1株、エコーウイルス7型(Echo 7)が4株、エコーウイルス11型(Echo 11)が9株、エコーウイルス22型(Echo 22)が9株、型別同定不能ウイルスが7株であった。分離した50株の内、小矢部地区では31株、魚津

Table 1. Virus Isolation from Feces of Children

Area	Age (years)	No. of feces	Virus isolation positive		Identification of isolates*							
			No.	Rate(%)	CA-9	CB-2	CB-5	E-6	E-7	E-11	E-22	unidentified
Oyabe	0	23	3	13.0	1			1			1	
	1	0										
	2	10	6	60.0	3						3	
	3	14	10	71.4	4				3		3	
	4	15	5	33.3	5							
	5	13	7	53.8	5				1		1	
	6	0										
Total		75	31	41.3	18			1	4		8	
Uozu	0	15	4	26.7		1					1	2
	1	9	1	11.1								1
	2	8	4	50.0						4		
	3	12	7	58.3						3		4
	4	15	2	13.3			1			1		
	5	6	1	16.7						1		
	6	0										
Total		65	19	29.2		1	1			9	1	7
Total		140	50	35.7	18	1	1	1	4	9	9	7

Date of survey : Oyabe ; Aug. 23~Sep. 30, 1993, Uozu ; Sep. 24~Oct. 8, 1993

* CA-9:Coxsackievirus type A9, CB-2:Coxsackievirus type B2, CB-5:Coxsackievirus type B5, E-6:Echovirus type 6, E-7:Echovirus type 7, E-11:Echovirus type 11, E-22:Echovirus type 22

地区では19株を分離し、分離率は小矢部地区41.3%、魚津地区29.2%で両地区の分離率に有意差は見られなかった。しかし、Table 1に示すとおり、小矢部地区ではCox. A9が18株、Echo 22が8株分離されたのに対し、魚津地区ではEcho 11が9株分離され、ウイルスの種類によっては両地区間での分離率のばらつく傾向が見られた。これらのウイルスは主に夏期を中心に発熱、上気道炎、髄膜炎などの有症者から分離されるウイルスで、本年も各地で分離されている[1]。両地区での分離ウイルスの種類の違いは、検体採取時期におけるウイルス流行の相違であって、年間をとおしてみればこれらのウイルスは県内に広く侵淫していたものと思われる。

魚津地区の分離ウイルス19株の内7株については型別同定ができなかった。このウイルスはMA-104細胞でのみCPEを認めたもので、CPEの出現が比較的早くウイルスタイターが $10^4 \sim 10^5$ を示すウイルス3株と、CPEがやや遅く出現しウイルスタイターが $10^2 \sim 10^3$ を示すウイルス4株である。これらのウイルスはともにシュミットプール血清で中和されなかった。また、予研から分与されたエンテロプール血清や、デンカ生研Kのエンテロプール血清を用いても中和されなかった。このウイルスについて、エンテロウイルスに広いホモロジーを示すプライマー(Echo 2, Echo 22ではホモロジーは少ない)[2]を用いたPCRで検討したところ、CPE出現の遅いウイルス4株において特異cDNAの増幅を認めたが、他の3株ではバンドを認めなかった。バンドを認めなかったウイルスについて、アデノウイルスの可能性を検討したが、HEp-2細胞でCPEの出現を認めず、また、電子顕微鏡像では直径28nmの球形粒子を認めたが、アデノウイルスは否定された。これらの同定不能ウイルスについては現在検討中である。

以上の結果、本年度はCox. A9, Echo 11, Echo 22の他、多くの腸管系ウイルスが県内に侵淫していたものと考えられる。

II 感受性調査 調査および検査方法

黒部、富山、高岡、福野、魚津、八尾、小杉、上市、氷見の各保健所管内において、乳児から成人までの全年齢層を対象として採血した。実施時期は平成5年7月から10月までで、0歳から9歳までの年齢については、この期間中に県内4か所の病医院小児科を受診した患者の血清を利用した。

中和抗体価の測定方法は、伝染病流行予測調査検査術式[4]に従った。細胞はVero細胞を用い、抗原ウイルスは1型、2型、3型とも昭和59年度に予研から分与されたSabin株を、当研究所でVero細胞に7代継代したウイルスを使用した。

結果および考察

採血された血清は0歳から65歳までの合計232件である。検体の年齢区分とその検査件数およびポリオウイルスの各型に対する中和抗体価の測定結果をTable 2に示す。年齢区分別に見た抗体価4倍以上の抗体保有率は、1型は57.5%~100%、2型では75.0%~100%、3型では60.0%~96.0%であった。ワクチン接種月齢に満たない乳児を含む0~1歳を除けば、1型の15~19歳、3型の15~24歳など一部の年齢区分にやや低い保有率が見られるものの、全体的には各年齢区分とも集団免疫として十分高い抗体保有率を示していた。対象者全体の抗体保有率は、1型は85.8%、2型は96.6%、3型は75.9%を示し、2型が最も高く、次いで1型、3型の順で、この結果は前年度の調査結果と同様な傾向であった[5]。年齢区分別抗体保有者の平均抗体価は(抗体価512倍以上は512倍として計算)、1型は19.7倍~344.9倍で平均67.6倍、2型は45.3倍~226.0倍で平均82.1倍、3型は9.5倍~68.6倍で平均21.9倍であり、3型の低年齢層の平均抗体価は他の型の同年齢に比べて低い傾向がみられた(Table 2)。

検査した232人の中で、1型、2型、3型のすべての型に対する抗体を保有している人は159人

Table 2. Distribution of Neutralizing Antibodies against Poliovirus by Age Groups

Type 1												
Age group (years)	Total	No. of serum with neutralizing antibody titer									Positive rate(%)	Geometric* mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512		
0~1	20	6	0	0	1	0	0	1	1	11	70.0	344.9
2~3	22	0	0	0	0	0	2	2	7	11	100.0	300.2
4~6	21	0	0	0	0	3	4	4	3	7	100.0	160.9
7~9	20	1	1	0	1	2	5	5	2	3	95.0	92.4
10~14	19	1	0	1	2	2	5	5	3	0	94.7	69.1
15~19	40	17	3	6	3	7	1	2	1	0	57.5	19.7
20~24	20	1	1	3	5	5	3	1	0	1	95.0	26.7
25~29	25	5	2	1	5	7	1	2	1	1	80.0	30.9
30~39	20	1	0	2	4	2	5	5	1	0	95.0	46.2
40~	25	1	1	0	4	9	6	3	0	1	96.0	41.6
Total	232	33	8	13	25	37	32	30	19	35	85.8	67.6
Rate(%)	100	14.2	3.4	5.6	10.8	15.9	13.8	12.9	8.2	15.1	—	—
Type 2												
Age group (years)	Total	No. of serum with neutralizing antibody titer									Positive rate(%)	Geometric* mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512		
0~1	20	5	1	1	0	0	0	2	5	6	75.0	184.8
2~3	22	0	0	0	0	0	4	4	6	8	100.0	226.0
4~6	21	0	0	0	0	1	5	9	3	3	100.0	137.2
7~9	20	0	0	0	1	2	5	7	2	3	100.0	111.4
10~14	19	1	0	0	0	2	12	4	0	0	94.7	69.1
15~19	40	0	0	1	1	10	13	9	3	3	100.0	75.1
20~24	20	0	0	2	0	6	6	6	0	0	100.0	52.0
25~29	25	1	1	0	2	9	5	3	4	0	96.0	53.8
30~39	20	0	1	2	4	1	4	6	1	1	100.0	48.5
40~	25	1	0	3	2	7	5	6	1	0	96.0	45.3
Total	232	8	3	9	10	38	59	56	25	24	96.6	82.1
Rate(%)	100	3.4	1.3	3.9	4.3	16.4	25.4	24.1	10.8	10.3	—	—
Type 3												
Age group (years)	Total	No. of serum with neutralizing antibody titer									Positive rate(%)	Geometric* mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512		
0~1	20	7	0	1	2	0	6	2	2	0	65.0	60.5
2~3	22	3	0	0	2	1	12	2	1	1	86.4	68.6
4~6	21	4	2	5	2	4	2	1	1	0	81.0	20.4
7~9	20	4	1	7	5	1	1	1	0	0	80.0	14.0
10~14	19	6	2	5	3	1	0	2	0	0	68.4	14.4
15~19	40	16	2	11	6	3	2	0	0	0	60.0	12.7
20~24	20	8	3	5	2	2	0	0	0	0	60.0	9.5
25~29	25	4	4	7	3	3	1	3	0	0	84.0	15.5
30~39	20	3	0	3	4	3	6	0	1	0	85.0	30.7
40~	25	1	0	5	6	7	4	2	0	0	96.0	25.5
Total	232	56	14	49	35	25	34	13	5	1	75.9	21.9
Rate(%)	100	24.1	6.0	21.1	15.1	10.8	14.7	5.6	2.2	0.4	—	—

* Titer of ≥512 was calculated as 512

(68.5%)であった(Table 3)。逆に1, 2, 3型すべてに対して抗体を持たない人は7人(3.0%)であった。その他の66人(28.4%)は3種の型のうち1種または2種の型に対してのみ抗体を保有していた。1, 2, 3型全てに対する抗体保有者の割合を年齢区分別に比較してみると、ワクチンを接種していない乳児を含む0～1歳と、ワクチン接種制度実施以前に生まれた人の多い40歳以上の年齢区分を除けば、15～19歳の全型抗体保有者は40人中14人(35.0%)、20～24歳では20人中11人(55.0%)であり、その割合は他の年齢区分より低い傾向を示した。これは1型の15～19歳、3型の15～19歳と20～24歳での抗体保有率が低い傾向を示したことを反映したものである。

ワクチン接種歴と抗体保有状況について検討した。Table 4に示すとおり、ワクチン接種者165人の抗体保有率は、1型では89.7%(165人中148人)、2型では99.4%(165人中164人)、3型が78.2%(165人中129人)で、各型の抗体保有率の間に有意差が認められた($P<0.01$)。ワクチン非接種者17人の抗体保有率は1型が17人中10人で58.8%、2型が17人中12人で70.6%、3型は17人中11人で64.7%であった。17人のうち40歳以上の9人(44～65歳)は全員が3種の型に対する抗体を保有していたが、この年齢層はワクチン接種制度実施以前に

生まれており、当時流行していた野生株に不顕性感染して抗体を獲得していたものと考えられる。残りの8人のうち5人(0～1歳4人、14歳1人)は全型抗体陰性であり、他の3人(0～1歳2人、17歳1人)は1型と2型あるいは2型と3型の抗体のみを保有しており、全型抗体陽性者はいなかった。現在の日本ではポリオの野生株の流行は認められず、衛生環境も良好に保たれているため、ワクチン以外にポリオ抗体獲得の機会はなく、ワクチン接種は不可欠と考えられる。

以上の結果から、ポリオウイルスに対する抗体保有率は1型、2型、3型とも高く、国内においてはポリオ流行の可能性は少ないと考えられる。しかし、Table 2, Table 3で見られるように、年齢区分によっては抗体保有率がやや低い年齢層が見られ、それにともない1, 2, 3型ともに抗体を保有する人の割合も低くなっている。現在国内には野生株のポリオウイルスの流行は認められず、衛生環境も良好に保たれているため、高年齢層に見られるような不顕性感染による抗体獲得は起こり得ない。ワクチン接種以外にポリオ抗体獲得の機会はなく、ポリオウイルス常在国から輸入感染症として国内に持ち込まれる危険性もあり、ワクチン接種は不可欠であると考えられる。

Table 3. Distribution of Neutralizing Antibodies against Each Type of Poliovirus

Age group (years)	No. of sera	Negative against all types	Positive against						
			Type1	Type2	Type3	Types1&2	Types2&3	Types1&3	Types1,2&3
0～1	20	5	0	0	0	2	1	0	12
2～3	22	0	0	0	0	3	0	0	19
4～6	21	0	0	0	0	4	0	0	17
7～9	20	0	0	1	0	3	0	0	16
10～14	19	1	0	0	0	5	0	0	13
15～19	40	0	0	7	0	9	10	0	14
20～24	20	0	0	0	0	8	1	0	11
25～29	25	1	0	1	0	2	3	0	18
30～39	20	0	0	1	0	2	0	0	17
40～	25	0	0	0	0	1	1	1	22
Total (%)	232 (100)	7 (3.0)	0 (0)	10 (4.3)	0 (0)	39 (16.8)	16 (6.9)	1 (0.4)	159 (68.5)

Table 4. Positive Rate of Neutralizing Antibodies by History of Vaccination

Type 1	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
	Age group (years)	No.*	Twice Rate#	No.	Once Rate	Unknown No.	Rate	No.	Rate	No. Rate
	0~1	4/4	100.0	9/10	90.0			1/6	16.7	
	2~3	19/19	100.0	2/2	100.0					1/1 100.0
	4~6	19/19	100.0	2/2	100.0					
	7~9	18/18	100.0	1/2	50.0					
	10~14	17/17	100.0	1/1	100.0			0/1	0	
	15~19	15/24	62.5	3/3	100.0	0/3	0	0/1	0	5/9 55.6
	20~24	10/10	100.0			5/6	83.3			4/4 100.0
	25~29	10/11	90.9	1/1	100.0	2/3	66.7			7/10 70.0
	30~39	3/3	100.0			6/6	100.0			10/11 90.9
	40~			1/1	100.0			9/9	100.0	14/15 93.3
Total		115/125	92.0	20/22	90.9	13/18	72.2	10/17	58.8	41/50 82.0
		148 / 165 , 89.7 %								
Type 2	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
	Age group (years)	No.*	Twice Rate#	No.	Once Rate	Unknown No.	Rate	No.	Rate	No. Rate
	0~1	4/4	100.0	9/10	90.0			2/6	33.3	
	2~3	19/19	100.0	2/2	100.0					1/1 100.0
	4~6	19/19	100.0	2/2	100.0					
	7~9	18/18	100.0	2/2	100.0					
	10~14	17/17	100.0	1/1	100.0			0/1	0	
	15~19	24/24	100.0	3/3	100.0	3/3	100.0	1/1	100.0	9/9 100.0
	20~24	10/10	100.0			6/6	100.0			4/4 100.0
	25~29	11/11	100.0	1/1	100.0	3/3	100.0			9/10 90.0
	30~39	3/3	100.0			6/6	100.0			11/11 100.0
	40~			1/1	100.0			9/9	100.0	14/15 93.3
Total		125/125	100.0	21/22	95.5	18/18	100.0	12/17	70.6	48/50 96.0
		164 / 165 , 99.4 %								
Type 3	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
	Age group (years)	No.*	Twice Rate#	No.	Once Rate	Unknown No.	Rate	No.	Rate	No. Rate
	0~1	4/4	100.0	8/10	80.0			1/6	16.7	
	2~3	16/19	84.2	2/2	100.0					1/1 100.0
	4~6	16/19	84.2	1/2	50.0					
	7~9	15/18	83.3	1/2	50.0					
	10~14	13/17	76.5	0/1	0			0/1	0	
	15~19	16/24	66.7	2/3	66.7	2/3	66.7	1/1	100.0	3/9 33.3
	20~24	5/10	50.0			5/6	83.3			2/4 50.0
	25~29	11/11	100.0	1/1	100.0	2/3	66.7			7/10 70.0
	30~39	3/3	100.0			5/6	83.3			9/11 81.8
	40~			1/1	100.0			9/9	100.0	14/15 93.3
Total		99/125	79.2	16/22	72.7	14/18	77.8	11/17	64.7	36/50 72.0
		129 / 165 , 78.2 %								

* : Number of positive sera (≥ 4) / Number of tested sera

: Percentage

文 献

1. 国立予防衛生研究所, 厚生省保健医療局疾病対策課
結核・感染症対策室編(1994). 病原微生物検出情報月
報, 15, 4, 20-24.
2. Harley A. Rotbart(1990). J. Clin. Microbiol., 18,
438-442.
3. 厚生省保健医療局結核難病感染症課感染症対策室編
(1986). 伝染病流行予測調査検査術式, 1-18.
4. 中山 喬, 松浦久美子, 森田修行, 草山真由美,
南部厚子, 吉田慶子, 田中桂子, 橋爪淑子, 大垣由香
里, 川越久美子, 水木路男, 遠藤京子, 布野純子
(1993). 富山衛研年報, 16, 94-102.

風 疹 流 行 予 測 調 査

庄 司 俊 雄 吉 田 慶 子¹ 橋 爪 淑 子² 南 部 厚 子³
小 池 美 奈 子⁴ 川 越 久 美 子⁵ 布 野 純 子⁶ 田 中 桂 子⁷
水 木 路 男⁸ 遠 藤 京 子⁹

Epidemiological Surveillance for Rubella Antibodies

Toshio SHOJI, Keiko YOSIDA¹,
Yoshiko HASHIZUME², Atsuko NAMBU³,
Minako KOIKE⁴, Kumiko KAWAKOSI⁵, Junko NUNO⁶,
Keiko TANAKA⁷, Michio MIZUKI⁸ and
Kyoko ENDOH⁹

要 旨 平成5年度風疹流行予測調査は、風疹流行の影響を検討することと、女性に対する風疹生ワクチン接種の効果をみることを目的に、富山県内の女性を対象に9年齢区分で風疹抗体調査が実施された。その結果は次のとおりである。

風疹抗体陰性率は0～4歳で74%、5～14歳は32%、15歳以上の年齢層は3～12%であった。風疹ワクチン接種の目的はほぼ達成されているが、今後0～4歳の年齢層に患者が多発することが予測される。

風疹流行予測調査は対象者の風疹抗体価を測定し、抗体価分布を疫学的に観察することにより、風疹ワクチンの効果を明らかにするとともに、風疹の浸淫状況の把握および流行予測のための資料とすることを目的として行われている [1]。

調査対象と検査方法

平成5年度は厚生省の実施要領 [2] によって、県内に居住する女性を対象に全年齢を9区分に分け実施された。年齢区分は0～4歳、5～9歳、

10～14歳、15～19歳、20～24歳、25～29歳、30～34歳、35～39歳、および40歳以上である。県内の各保健所が年齢区分別に検体採取を分担し、対象者全員の風疹ワクチン接種の有無を調査した。各保健所が担当した年齢区分と調査数内訳は以下のとおりである。富山42名 (0～4歳10名、5～9歳7名、30～34歳25名)、上市20名 (30～34歳6名、35～39歳14名)、黒部29名 (0～4歳7名、5～9歳7名、25～29歳14名、他1名)、八尾32名 (15～19歳)、小杉58名 (15～19歳22名、20～24歳31名、25～29歳3名、他2名)、魚津26名 (10～14歳19名、15～19歳7名)、福野24名 (0～4歳

-
1. 富山保健所 2. 上市保健所 3. 黒部保健所 4. 八尾保健所 5. 小杉保健所
6. 福野保健所 7. 魚津保健所 8. 高岡保健所 9. 氷見保健所

7名, 5～9歳7名, 25～29歳10名), 高岡29名(0～4歳7名, 5～9歳7名, 35～39歳15名), 氷見25名(40歳以上)であり, 調査数は合計285名であった。血清中の風疹抗体価測定は, 伝染病流行予測調査検査術式[3]に準じ, マイクロタイター法による赤血球凝集抑制(HI)試験で行なった[4]。HI抗体価が8倍かそれ以上の場合は風疹抗体陽性とし, 8倍未満を抗体陰性とした。

結果と考察

Table 1. に対象者285名の年齢区分別風疹抗体価分布状況および陰性率を示す。陰性率を年齢区分別に若い順にみると, 0～4歳では74%と高い陰性率であり, 風疹に対する感受性者がこの年齢では多いことが明らかになった。5～9歳, 10～14歳はともに陰性率32%を示した。一方, 15～19歳, 20～24歳, 25～29歳では抗体陰性率はそれぞれ10%, 3%, 7%と非常に低率であった。さらに30歳以

上の陰性率をみると, 30～34歳は9%, 35～39歳は3%, 40歳以上は12%とやはり低い抗体陰性率を示した。以上の成績によって, 抗体陰性率から年齢群を3つに大きく分けてみることができる。すなわち, 高い陰性率74%を示す0～4歳, 低い陰性率3～12%を示す15歳以上の年齢層と, 両群の中間の陰性率32%を示す5～14歳の各グループである。

我が国では風疹ワクチン接種は女子中学生に対して定期接種として, また妊娠可能年齢女性に対して任意接種として, 昭和52年より行われている。風疹ワクチン定期接種を受けた女性の年齢層は, 今回の調査年齢区分では15～34歳に及んでいる。Table 1. に示すとおり, ワクチン接種者は, 15～19歳に61名中31名(接種率51%), 20～24歳に32名中22名(69%), 25～29歳に27名中15名(56%), 30～34歳に32名中14名(44%), 35～39歳に30名中5名(17%)であることが示された。過去に風疹ワクチン接種の対象となった年齢層と, 風疹抗体陰性率の低い年齢層とが重なり合っていること

Table 1. Distribution of Rubella Antibody Titers and Rate of Rubella Vaccination by Age Groups

Age group (years)	Number of examinees	Rubella HI antibody titer								Negative rate (%)	Rubella vaccination	
		<8	8	16	32	64	128	256			Number	Rate(%)
0～4	31	23	1			2		5	74		0	0
5～9	28	9			5	6	8		32		0	0
10～14	19	6			2	5	6		32		0	0
15～19	61	6		8	19	17	7	4	10		31	51
20～24	32	1	1	7	12	10	1		3		22	69
25～29	27	2	1	1	14	7	2		7		15	56
30～34	32	3		1	10	14	2	2	9		14	44
35～39	30	1	2	3	7	12	5		3		5	17
40～	25	3	2	8	8	4			12		0	0
Total	285	54	7	28	77	77	31	11	19		87	31

がTable 1. から明らかになり、ワクチンによる抗体獲得者が多いものと考えられる。風疹ワクチン接種の目的は、妊娠初期に母体中の胎児が風疹に感染して引き起こされる危険性のある先天性風疹症候群の発生を、母体側の免疫によって予防することにある。この意味でTable 1. の成績は、ワクチン接種の目的がほぼ達成されていることを示している。しかし、Table 1. から風疹抗体陰性者が妊娠可能年齢に依然としてみられるように、妊婦の抗体陰性者は、風疹流行があれば感染の危険に曝されることとなる。したがって、特に妊娠可能女性においては、風疹抗体陰性者の風疹ワクチン接種による個別の予防対策が重要と考えられる。

今後の風疹の流行を予測する場合、0～14歳の年齢層の抗体陰性率が重要な指標となる。その理由は、風疹に感染するのは大部分が子供であり、特に集団生活に入る頃に多くの患者発生をみるからである[5]。0～4歳の陰性率が74%と高いのは、この年齢層の乳幼児が前回の全国的な風疹流行期であった昭和61～63年以降に生まれたことに起因しており、再び流行が起これば、この年齢層に患者が多発することが予測される。一方、5～14歳の陰性率32%は過去3年間の同年齢層の成

績に比べて差異はなく、0～4歳と5～14歳との間の陰性率の差はほぼ一定に推移しているものと考えられる。すなわち、風疹患者発生が常にみられる状況が続いていると考えられる。

本調査成績から、風疹患者発生が常にみられる状況なので、風疹抗体陰性である女性においては、個別の予防対策が必要であると言える。

文 献

1. 宮村紀久子(1993). 平成2年度伝染病流行予測調査報告書, 94-110.
2. 富山県伝染病流行予測調査委員会議(1993), 平成5年度伝染病流行予測調査事業実施要領.
3. 厚生省保健医療局結核難病感染症課感染症対策室(1986). 伝染病流行予測調査検査術式. 81-94.
4. 庄司俊雄, 田中桂子, 高藤 昭, 園家敏雄, 城野晃, 柴 利子, 梅沢照明, 林 淑子(1987). 富山衛研年報, 10, 84-86.
5. 社団法人予防接種リサーチセンター刊(1989). 最新予防接種の知識, 102-113.

インフルエンザ流行予測調査

松浦 久美子 中山 喬 森田 修行 吉田 慶子¹
水木 路男² 竹田 享代³ 南部 厚子⁴

Epidemiological Surveillance for Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture

Kumiko MATSUURA, Takasi NAKAYAMA, Osayuki MORITA,
Keiko YOSHIDA¹, Michio MIZUKI², Michiyo TAKEDA³
and Atsuko NAMBU⁴

要 旨 1993年11月から1994年4月にかけてのインフルエンザ様疾患の散発例と集団発生例の患者108名について、咽頭拭い液中のウイルス検索と血清インフルエンザH I抗体を調べた結果、A (H 3) 型インフルエンザウイルスの罹患者が36名認められた。患者より分離された29株のウイルスに対する抗A/北九州/159/93 (H 3 N 2) 血清のH I価は512~1024倍 (ホモ: 1024倍) であり、分離株はA/北九州/159/93株に類似していると推定される。今冬のインフルエンザの流行規模は小さく、集団発生例が3月まで認められず、4月末に1集団発生したのみであった。

本調査は、インフルエンザ様疾患について定点観測と集団発生例を調査することによりインフルエンザの発生および流行状況を把握し、インフルエンザの流行予測、予防に資することを目的とするものである。インフルエンザ様疾患の患者の咽頭拭い液からのインフルエンザウイルス分離と血清抗体の測定を実施した。

調査および検査方法

1. 調査期間

1993年11月~1994年4月

2. 調査対象

定点観測として館小児科医院 (高岡市)、正木

医院 (福光町) および小児科諸橋医院 (富山市) を訪れたインフルエンザ様患者、さらに集団発生が起きた場合の患者から咽頭拭い液と血液を採取した。

3. 検査方法

1) ウイルス分離: インフルエンザウイルスの分離は咽頭拭い液をMDCK細胞に接種して行い、分離ウイルスの同定は、日本インフルエンザセンターから分与された抗A/山形/32/89 (H 1 N 1) 血清、抗A/北九州/159/93 (H 3 N 2) 血清および抗B/バンコク/163/90血清を用いて行った。

2) インフルエンザウイルスH I抗体: 急性期血清と回復期血清について、インフルエンザH I抗体価を測定した。H I抗体価測定用の抗原は、デンカ生研より市販されている今期のワクチン株

のA/山形/32/89 (H1N1) 株, A/北九州/159/93 (H3N2) 株およびB/バンコク/163/90株を用いた。

結 果

1. インフルエンザ様疾患の発生状況

インフルエンザ様疾患の患者は、1993年11月中旬頃より散発的に発生していたが、1994年1月20日に発病した患者からA (H3) 型ウイルスが分離され、この患者が今冬の富山県内で確認した最初のインフルエンザ患者であった。その後、患者数の増加傾向は認められず、また学級閉鎖等の措置をした集団発生例もなく、3月末までにインフルエンザは終息した様子であった。しかし、4月下旬にU中学校で、A (H3) 型ウイルスによる集団風邪が発生した。この学校の学年閉鎖した4月25日における1年生の罹患率は70.1% (54/77) と高かった。

2. インフルエンザウイルスの分離

定点観測における患者や集団発生例の患者から採取した咽頭拭い液108検体について、インフルエンザウイルスの分離を試みた成績をTable 1 に示す。1月24日採取した検体よりA (H3) 型ウイルスが分離され、その後、4月末までに合計29株のウイルスが分離された。これらの分離株は、ヒトO型赤血球とは凝集したが、ニワトリ赤血球とはほとんどの株が凝集しなかった。ニワトリ血球と凝集した株も不完全な凝集であり、しばらく時間が経つと陰性化した。

分離株に対するインフルエンザ抗血清のHI価を、ヒトO型赤血球を用いて測定するとTable 2 に示すようであった。分離された29株に対する抗A/北九州/159/93血清のHI価は512～1024倍であり、そのうち23株はホモの株のHI価 (1024倍) と一致した。A (H1N1) 型とB型の抗血清のHI価は、全分離株に対して32倍未満であった。

3. 患者の血清HI抗体価

急性期血清108件、回復期血清91件について、HI抗体価を測定した (Table 1)。ペアで揃っ

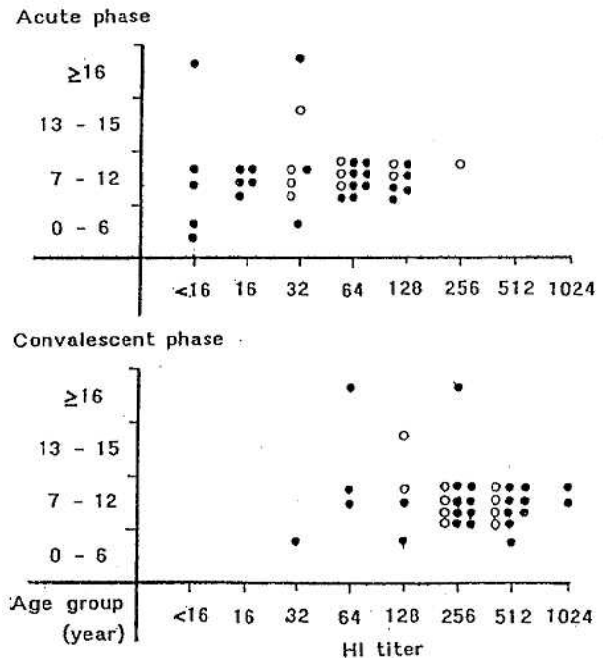


Fig. 1. Distribution of HI Antibody Titers against A/Kitakyushu/159/93 (H3N2) among Influenza Type A(H3N2) Patients.

○ : Vaccinee; ● : Non-vaccinee

た例において、ワクチン株のA/北九州/159/93 (H3N2) 抗原に対して急性期から回復期にかけて有意上昇 (4倍以上) したのが31件認められた。A/山形/32/89 (H1N1) とB/バンコク/163/90抗原に対して有意上昇したものはなかった。

ウイルス分離陽性、または血清HI抗体価の有意上昇によって、インフルエンザの罹患患者と診断されたのは、108名の検査中36名 (33.3%) であった。A (H3) 型罹患患者の急性期と回復期血清について、年齢別、ワクチン接種別にHI価をプロットした結果、Fig. 1の様な分布を得た。A/北九州/159/93 (H3N2) 抗原に対して急性期のHI価は<16～256倍、回復期のHI価は32～1024倍の範囲で、罹患患者の約半数 (19/36) は急性期に64倍以上の抗体保有者であった。ウイルス分離陽性にもかかわらず、抗体価の有意上昇を示さなかった例が3名いたが、これらの急性期抗体価は128～256倍と高かった。罹患患者のワクチン歴をみると、ワクチン接種者が10名、非接種者が26名で、接種者の人数は少なかった。

Table 1. Virological and Serological Examinations of Patients with Influenza-like Disease

Sampling station	Virus isolation			HI antibody examination				No. of influenza patients	Type			
	Throat swab	No. of isolates	Type	No. of sera			No. of significant increase ¹⁾					
				Date of sampling	No. of samples	Conva-lescent				A(H1N1)	A(H3N2)	B
Sporadic case												
Morohashi pediatric clinic(Toyama)	Nov.15,1993 ~Feb.28,1994	42	2	A(H3)	42	31	0	2	0	2	A(H3)	
Masaki internal clinic(Fukumitsu)	Nov.18,1993 ~Feb.22,1994	31	16	A(H3)	31	29	0	13	0	16	A(H3)	
Tachi pediatric clinic(Takaoka)	Jan.19,1994 ~Mar.16,1994	23	5	A(H3)	23	20	0	9	0	10	A(H3)	
Sango primary school(Toyama)	Mar.9,1994	6	1	A(H3)	6	5	0	2	0	2	A(H3)	
Epidemic case												
Unazuki junior high school(Kurobe)	Apr.25,1994	6	5	A(H3)	6	6	0	5	0	6	A(H3)	
Total		108	29	A(H3)	108	91	0	31	0	36	A(H3)	

1) Antigen. A(H1N1): A/Yamagata/32/89, A(H3N2): A/Kitakyushu/159/93, B: B/Bangkok/163/90

Table 2. HI titers of reference antisera against isolated virus strains

Antigen ¹⁾	Passage history	HI titer of ²⁾			
		Anti-A/yamagata/32/89 (H1N1)	Anti-A/Kitakyushu/159/93 (H3N2)	Anti-B/Bangkok/163/90	Anti-B/Mie/1/93
A/yamagata/32/89		1024	- ³⁾	-	-
A/Kitakyushu/159/93		-	1024	-	-
B/Bangkok/163/90		-	-	1024	256
B/mie/1/93		-	-	256	2048
A/Toyama/1/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/2/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/3/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/4/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/5/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/6/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/7/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/8/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/9/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/10/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/11/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/12/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/13/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/14/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/15/94	MDCK1	-	512	-	-
A/Toyama/16/94	MDCK1	-	512	-	-
A/Toyama/17/94	MDCK1	-	512	-	-
A/Toyama/18/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/19/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/20/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/21/94	MDCK1	-	512	-	-
A/Toyama/22/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/23/94	MDCK1	-	512	-	-
A/Toyama/24/94	MDCK1	-	512	-	-
A/Toyama/25/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/26/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/27/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/28/94	MDCK1	-	1024	-	-
A/Toyama/29/94	MDCK1	-	1024	-	-

1) A/Yamagata/32/89, A/kitakyushu/159/93, B/Bangkok/163/90, and B/Mie/1/93 antigens were supplied from Japan Influenza Center. A/Toyama/1/94 ~ A/Toyama/29/94 antigens were isolated from throat swabs of patients with influenza-like disease in Toyama Prefecture from January to April 1994.

2) HI titers of antisera were examined with human type O erythrocytes. Antisera were supplied from Japan Influenza Center.

3) - : less than 32.

考 察

今シーズンの国内におけるインフルエンザ様疾患の発生状況は、1993年12月21日に大阪府でA (H3N2) 型ウイルスが、徳島県でB型ウイルスが散发例から分離され、流行の始まりが確認されたが、1994年5月21日までの累計患者数は75,144人(集団発生事例)であり、昨年に比べて1/10以下の小さい流行であった[1]。富山県でも1月下旬にA (H3N2) 型が分離されたが、集団風邪は4月末に1例発生したのみであった。

国内で分離されたウイルスはA (H3N2) 型が主流で、B型は一部の地域に混在していた。富山県ではA (H3) 型ウイルスのみが分離されたが、分離株(29株)に対する抗A/北九州/159/93血清のHI価はホモのHI価と多くの株が一致したことから、今シーズンの流行株はワクチン株のA/北九州/159/93株に近いと考えられる。この流行株がワクチン株に近いこと、昨シーズンにおけるA (H3N2) 型の大きな流行による多くの抗体保有者の存在などが、今シーズンの流行規模が小さかったことの一因とも考えられる。しかし、今回調査した罹患者の約半数はワクチン株に対して64倍以上の抗体価を保有していたが、感染、発病しており、HI抗体だけでは感染防御はむづかしいことを示した。

今シーズンのA (H3N2) 型分離株はヒトO型赤血球とは凝集するが、ニワトリ赤血球とは凝集しないか、または弱く凝集した。昨シーズンのA (H3N2) 型、また1991/92シーズンに分離されたA (H1N1) 型分離株にもこのような性状を持つ株が多く分離された。この性質の株は、他の県での分離株にも認められている[2, 3, 4]。森下ら[5]は、A (H1N1) 型分離株の赤血

球凝集性の変化とHA遺伝子レベルでの検討を試み、ニワトリ赤血球凝集陽性株と陰性株ではHA遺伝子のアミノ酸シーケンスに違いは認められなかったことを報告し、この現象に関してまだ検討中である。インフルエンザウイルスはMDCK細胞継代、発育鶏卵継代によって抗原変異種が分化して行く、すなわち宿主にかかわる変異が報告されている[6]。近年、ウイルスの分離方法は発育鶏卵法よりMDCK細胞を用いる場合が多く、このことが血球凝集活性が異なったウイルス株が分離されるのに関与しているかもしれない。従来、ニワトリ赤血球を用いてHA価、そしてHI価を測定していたが、困難な状況になりつつある。

謝辞：検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力頂いた小児科諸橋医院、正木医院および館小児科医院の関係各位に感謝いたします。

文 献

1. 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課(1994). インフルエンザ様疾患発生報告。
2. 中田高史, 小野哲郎, 小河正雄, 阿南久美子(1992). 大分県衛生環境研究センター年報, 20, 124-126.
3. 山岡政興, 堀田博, 本間守男(1993). 第41回日本ウイルス学会総会抄録, 233.
4. 森下高行, 小林慎一, 三宅恭司, 石原佑一, 中島節子, 中島捷久(1993). 第41回日本ウイルス学会総会抄録, 233.
5. Morishita, T., Kobayashi, S., Miyake, T., Ishihara, Y., Nakazima, S. and Nakazima, K. (1993). Microbiol. Immunol., 37, 661-665.
6. 根路銘国昭(1986). 獣医学, 78-87.

河川水中のウイルス：富山県内河川の ウイルス汚染に関する定点観測

松浦 久美子 石倉 康宏 中山 喬 森田 修行

Viruses in River Water: Epidemiological Surveillance for Viral Pollution of Rivers in Toyama Prefecture

Kumiko MATSUURA, Mitsuhiro ISHIKURA,
Takashi NAKAYAMA and Osayuki MORITA

要 旨 1993年10月より3河川におけるウイルス汚染の実態調査を行った結果、河川水から多くのウイルスが分離され、3河川はウイルスによってかなり汚染されていた。レオウイルスは頻繁に分離され、前回の調査（1979年～1985年）での分離状況と同様であったが、前回の調査で多く分離されたポリオウイルスは、今回は1河川からのみで、分離数も1株だけであった。

飲料水または貝類に起因したA型肝炎やウイルス性急性胃腸炎の患者が発生し、問題となっている。これらの感染症の予防のためには、人の生活環境を取り巻く水系の糞便汚染の監視が必要である。水の糞便汚染は、大腸菌を指標として監視されているが、ウイルスを指標としては殆ど監視されていないのが現状である。しかし、大腸菌を指標とする基準では、腸管系ウイルス汚染の指標としては不十分であることが指摘されている。水系のウイルス汚染の状況を把握し、水中のウイルスの生態を解明することは、腸管系ウイルスによる水系感染症の予防上重要である。これらの観点から、我々はこれまでに生活水とかかわりの深い河川についてのウイルス汚染に関して1979年から1981年にかけて第1回目の実態調査〔1, 2, 3〕、次に1983年から1985年にかけて第2回目の実態調査〔4, 5〕を行った結果、富山県内の河川は、多種類の腸管系ウイルスでかなり汚染されていることを報告してきた。今回、第3回目の実態調査を

1993年10月から開始したので、この調査結果について中間報告をする。

調 査 方 法

(1) 調査地点と試料： Fig. 1に示した富山県内の3河川のI, S, O定点で毎月2回（原則として第2週と第4週）試料を採取した。I定点は富山市の中心部を流れる「いたち川」の最も下流地域（前調査報告のI 2定点）、S定点は高岡市内に流れる「千保川」の下流地域およびO定点は県の西部に流れる「小矢部川」の下流地域に設定した。なお、「千保川」はS定点より下流地域で「小矢部川」に合流している。これらの定点にタンポン（約50g脱脂綿）2個を2日間河川水中に浸漬し、そのタンポンから絞り出した河川水700～800mlを調査試料とした。これらの河川水調査と並行して、人のウイルス感染状況を把握するた

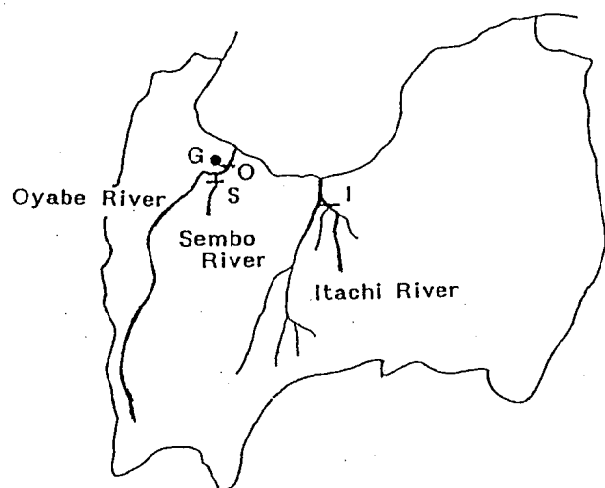


Fig. 1. Rivers Examined and Sampling Stations in Toyama Prefecture.
Station I: Itachi River; Station S: Sembo River; Stations O: Oyabe River; Station G: Sewage treatment plant.

めに下水処理場（G 定点）における未処理水1,000～2,000mlを採取した。この下水処理場は「小矢部川」のO 定点付近にあるが、ここでの処理水はO 定点より下流地点で「小矢部川」に放水されている。

(2) 調査期間： 1993年10月から開始し、ここでは1994年3月までの成績について述べる。

(3) ウイルス分離： 採取した河川水や下水試料をFig. 2のように処理して濃縮試料を作製し、Vero細胞とRD-18S細胞に接種、また一部の試料はMK細胞にも接種して培養を行い、CPEやヒトO型赤血球との凝集性を指標としてウイルス分離を行った。分離されたウイルス株の同定には、今回、RT-PCR法を用いて分離株からエンテロウイルス群、またはレオウイルス群の遺伝子検出を試み、ウイルス群鑑別をまず行った。次に、エンテロウイルス群であった株については、抗ポリオ血清（1, 2, 3 型混合）で中和を試みてポリオウイルスの同定を行った。エンテロウイルス群、レオウイルス

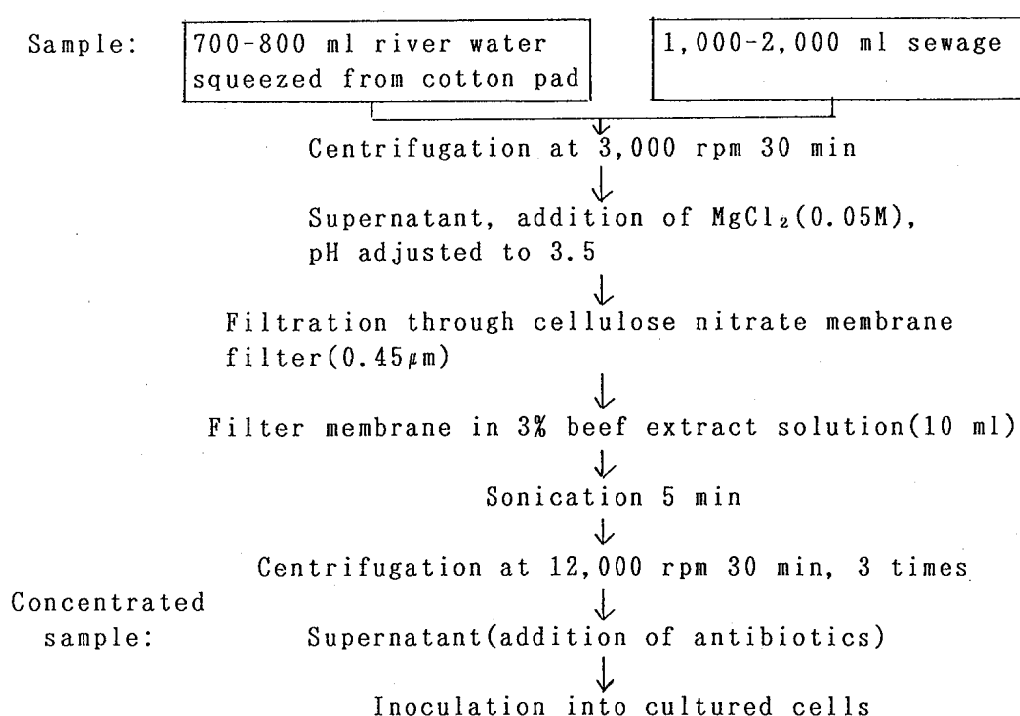


Fig. 2. Procedure for Virus Isolation from River Water and Sewage

ス群内の型同定は現在検討中であり、次回の報告で述べる予定である。

RT-PCR法に用いる分離株のRNA試料は、分離株試料100 μ lとRNAzol™ B(Biotex Laboratories社)900 μ lとを混合し、次いでクロロホルム・イソアミルアルコール100 μ lを加え、攪拌してRNA

を抽出、遠心した後、RNAを含む水液層(上層)に等量のイソプロパノールを加えてRNAを沈澱、75%エタノールで洗って作製した。次に、RNA試料からcDNAの作製、そしてPCRはFig. 3のプロトコールのように行った。なお、エンテロウイルスとレオウイルスでは反応条件が異なる部分がある

1. cDNA synthesis

RNA sample(template) 4.0 μ l

Heat for 5 min at 99 °C, immediately chill in an ice bath

↓
 ← Enterovirus : downstream primer 0.5 μ l,
 ← Reovirus: downstream, upstream primer 0.5 μ l each

Heat the primer-template for 5 min at 65 °C, slowly cool until 45 °C

↓
 ← MgCl₂ solution 3 μ l(1.5mM), 10X PCR buffer II 5 μ l,
 dATP, dCTP, dGTP, dTTP 1 μ l(1 mM) each,
 RNase inhibitor 0.5 μ l(1 U/ μ l), Distilled water 31.5 μ l,
 Reverse transcriptase 0.5 μ l(2.5 U/ μ l).¹⁾

Mixed

↓
 ← Mineral oil 50 μ l

Enterovirus: 37 °C 90 min → 99 °C 5 min → 4 °C 5 min
 Reovirus: 42 °C 90 min → (cDNA sample)

2. Polymerase chain reaction(PCR)

cDNA sample

↓
 ← Taq polymerase 0.25 μ l(1.25 U)
 ← Enterovirus: upstream primer 0.5 μ l,

Mixed

↓
 Thermal cycler

Enterovirus: 95 °C 30 sec → 45 °C 1 min → 72 °C 2 min
 Reovirus: 94 °C 1 min → 40 °C 2 min → 72 °C 3 min
 └────────────────────────────────── 35 cycle ───────────────────────────────────┘
 → 72 °C 7 min → 4 °C

Fig. 3. Protocol for cDNA Synthesis and Polymerase Chain Reaction.

¹⁾ GeneAmp RNA PCR Kit(TaKaRa)

ので、別々にPCRを行った。そのPCR産物15 μ lを2.0%アガロースゲルで電気泳動を行った後、エチジウムブロマイド染色により、エンテロウイルスまたはレオウイルスの遺伝子バンドを検出した。エンテロウイルス群のプライマーはRotbart [6]が確立したプライマー [upstream primer: position 450-474, 5'-CCTCCGGCCCTGAATGCGGCTAAT-3'; downstream primer: position 584-603, 5'-ATTGTCACCATAAGCAGCCA-3']を用い、レオウイルス群のプライマーはWienerら [7]が報告したS3 genome segmentの塩基配列を基にして17塩基のプライマー [upstream primer: position 28-44, 5'-ATGGCTTCCTCACTCAG-3'; downstream primer: position 1123-1139, 5'-TCACTCACCCATTACAC-3']を選定し、作製した。

結 果

河川水、下水分離株について、エンテロウイルス群、レオウイルス群のプライマーを用いてRT-PCR法で遺伝子を増幅し、電気泳動像で検出する

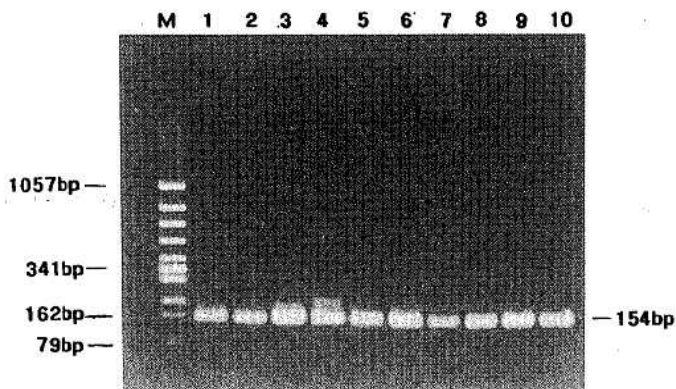


Fig. 4. Detection of Enterovirus Gene in Virus Strains Isolated from River Water and Sewage Samples by RT-PCR.

Lane M: DNA size marker(ϕ X 174/Hinf I digest); Lane 1: Polio 2; Lane 2: Polio 3; Lane 3: Echo 7; Lane 4: Echo 11; Lane 5: Coxsackie A9; Lane 6: Coxsackie B5; Lane 7-10: Strains isolated from river water and sewage samples

とFig. 4, Fig. 5に示すようにエンテロウイルス群は154bp, レオウイルス群は1112bpの明瞭なDNAバンドが検出された。RT-PCR法による分離株の群別同定, そして抗ポリオ血清での中和による同定を行った結果を, 河川の定点別, 採取年月別にまとめるとTable 1のようであった。3定点の河川水から多くのウイルスが分離されたが, レオウイルスの分離頻度はエンテロウイルスより高く, 3定点とも頻繁に検出された。エンテロウイルスはS定点の河川水からの分離回数が他の2定点より多かった。下水からは毎回エンテロウイルス, レオウイルスが分離された。10月は乳幼児へのポリオ生ワクチン投与時期であるが, ポリオウイルスは10月にO定点の河川水から1株分離され, 下水では10月から次年の1月上旬まで毎回分離された。

考 察

1979年から1985年に行った河川水中のウイルス汚染に関する調査により, これまでに以下のことを明らかにしてきた [1~4, 8~12]。(1) 富山県内の河川は, 多種類の腸管系ウイルスでかな

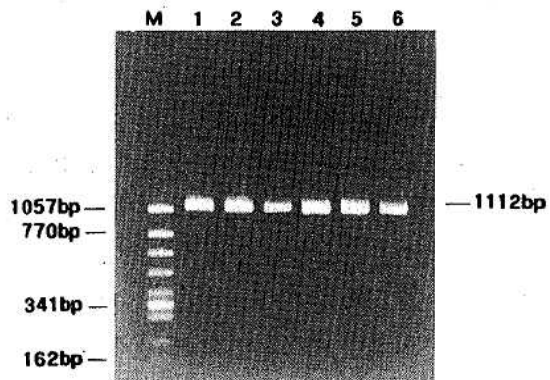


Fig. 5. Detection of Reovirus Gene in Virus Strains Isolated from River Water and Sewage Samples by RT-PCR.

Lane M: DNA size marker(ϕ X 174/Hinf I digest); Lane 1: Reo 1; Lane 2: Reo 2; Lane 3: Reo 3; Lane 4-6: Strains isolated from river water and sewage samples

Table 1. Virus Isolation from River Water and Sewage Samples

station	Viruses isolated from water samples											
	1993						1994					
	Oct.	Nov.		Dec.			Jan.	Feb.		Mar.		
	1 ¹⁾	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Itachi River(I)		R ²⁾	R	R E	R E			R	R E		R	R E
Sembo River (S)	R	R	R	R E	R E	R E			R E	R E	R E	R
Oyabe River (O)	R	R P	R	R	R	R		R E	R E	R E	R	
Sewage treatment plant (G)	R P	R P	R P	R P	R P	R P	R P	R E	R E	R E	R E	R E

1) Sample number, 2) R: Reovirus group, E: Enterovirus group, P: Poliovirus.

り汚染されており、なかでも最も高頻度に分離されたのはレオウイルス(特に2型)で、次いでポリオウイルスであった。レオウイルスは年間を通して頻繁に分離され、ポリオウイルスは乳幼児への生ワクチン投与後の時期(2~3ヵ月間)に分離された。(2) 河川水250ml中のウイルス量として、最高値を示したのはコクサッキーウイルスB2型の5PFUで、ポリオウイルスは1PFUであった。(3) 人や動物のレオウイルス抗体保有状況調査と河川からの分離株のRNA electropherotype分類による分子疫学的調査を行い、河川水中のレオウイルスは動物由来も含まれるだろうが、多くは人由来であることが判明した。このことはレオウイルスが河川の糞便汚染の指標として利用できる可能性を示唆する。(4) 採取した河川水にポリオウイルス、レオウイルスを添加して実験的にウイルス生存期間を調べたところ、両ウイルスは15℃の水温中で10ヵ月後でも生存し、これらのウイルスは環境条

件によっては、水中でかなり長期間生存が可能である。

今回の調査は、上記の成績の再確認をすることと、第1回目の調査時期(1979年~1981年)における下水道普及率が30%台であったのに対し、現在(1993年)の下水道普及率は50%台になり、河川水のウイルス汚染の度合いを前回と比較することに主点をおいた。今回と前回の調査を比較し、ウイルス分離状況に変化のみられたのはポリオウイルスであった。前回ではポリオウイルスはレオウイルスに次いで多く分離されており、I定点においてはポリオ生ワクチンの実施後、ポリオウイルスが必ず分離されていたのが、今回は分離されなかった。分離されたのはO定点から10月に1株のみであった。下水からは10月から1月まで4ヵ月間も分離された。このポリオウイルスの分離数が少なかったことは、1979年~1985年頃に比べて現在の河川のウイルス汚染度は低くなった様にも推

測されるが、まだ短期間の調査であり、判断は早い。一方、レオウイルスは3河川とも頻繁に分離され、前回と同じような分離状況であった。下水からは毎回分離された。このことは、河川水中のレオウイルス汚染度はまだ高いことを示し、レオウイルスが汚染の指標として注目すべきウイルスであることを今回の調査でも示唆するものと考えられる。

河川水は水道水源として利用される場合が多く、平田[13]は、水の衛生を考える上で、ウイルスの汚染問題は避けて通れない状況にあり、安全な水(水道水)確保の視点から細菌だけでなく、ウイルスや原虫類を含めた微生物的水質の評価方法を再検討する時期に来ていることを述べている。我々のデータをみると、河川はまだウイルスによってかなり汚染されており、生活排水や下水の完全処理を望むとともに、飲料水などにおける水質基準にウイルスに関する基準も必要と考える。

分離株の型別同定は現在検討中であるが、従来、ウイルスの同定には分離株のクローニング、物理化学的性状、抗血清との中和などによる検討のため長時間必要である。今回RT-PCR法を用いてエンテロウイルス群、レオウイルス群の群同定が出来るようになり、少し迅速になったと考える。しかし、Rotbart[6]が確立したエンテロウイルス群のプライマーは、全エンテロウイルス共通のプライマーとは言えないようである。我々が調べたエンテロウイルス8株のうち7株(ポリオ2, ポリオ3, エコー7, エコー11, コクサッキーA9, コクサッキーB5; Fig. 4)はこのプライマーで遺伝子増幅が可能だったが、1株(エコー22)は出来なかった。一方、栄ら[14]はビオチン標識PCR, そしてStringent hybridizationによりエンテロウイルス群内の型鑑別を試みているが、この場合も鑑別出来ない株が認められた。検討すべき点が残されているが、一つの鑑別法として有益と思われる。我々は、レオウイルス群についての群鑑別プライマーを確立し、さらにS1 genome segmentの塩基配列を基にして型鑑別のプライマーの選定を試みたが、今のところ作製出来なかった。今後、

他のウイルス群のプライマーについても検討したい。また、河川水、下水、さらに飲料水から直接ウイルス遺伝子の検出が可能ならば、簡便かつ迅速化するであろう。

文 献

1. 松浦久美子, 長谷川澄代, 中山 喬, 森田修行, 植竹久雄(1981). 昭和55年度富山衛研年報, 166-171.
2. 松浦久美子, 長谷川澄代, 中山 喬, 森田修行, 植竹久雄(1982). 昭和56年度富山衛研年報, 157-159.
3. Matsuura, K., Hasegawa, S., Nakayama, T., Morita, O. and Uetake, H. (1984). Microbiol. Immunol. 28, 575-588.
4. 松浦久美子, 長谷川澄代, 中山 喬, 森田修行, 植竹久雄(1982). 富山衛研年報, 7, 38-49.
5. Matsuura, K., Hasegawa, S., Nakayama, T., Morita, O. and Uetake, H. (1988). Microbiol. Immunol. 32, 1221-1234.
6. Rotbart, H. A. (1990). J. Clin. Microbiol. 28, 438-442.
7. Wiener, J. R. and Jokik, W. K. (1987). Virology, 161, 332-339.
8. 松浦久美子, 森田修行, 城野 晃, 香取幸治(1985). 富山衛研年報, 8, 154-157.
9. 松浦久美子, 森田修行, 植竹久雄(1986). 富山衛研年報, 9, 72-76.
10. 松浦久美子, 石倉康宏, 渡辺 護, 中山 喬, 長谷川澄代, 森田修行, 植竹久雄(1987). 富山衛研年報, 10, 93-97.
11. 松浦久美子, 石倉康宏, 中山 喬, 長谷川澄代, 森田修行(1991). 富山衛研年報, 14, 92-97.
12. Matsuura, K., Ishikura, M., Nakayama, T., Hasegawa, S., Morita, O., Katori, k. and Uetake, H. (1993). Microbiol. Immunol. 37, 305-310.
13. 平田 強(1993). 水道協会雑誌, 62, 2-6.
14. 栄賢司, 山下照夫, 石原佑弐(1993). 衛生微生物技術協議会, 第14回研究会講演抄録, 78.

急性胃腸炎におけるA群ヒトロタウイルス血清型 の疫学的解析 (1991.7~1994.4)

長谷川 澄代 森田 修行 館 一 矩¹
正木 明夫² 金兼 弘和³

An Epidemiological Analysis on the Serotype of Group A Human Rotavirus in Acute Gastroenteritis from July 1991 to April 1994.

Sumiyo HASEGAWA, Osayuki MORITA
Kazunori TACHI¹, Akio MASAKI²
and Hirokazu KANEGANE³

要 旨 1991年7月から1994年4月までの34か月間、おもに冬季急性胃腸炎の小児の患者糞便から主な病原体と見なされているA群ヒトロタウイルス (HRV) の検出を試み、その血清型について調査した。患者糞便499件のうち227例 (45.5%) が、逆受身赤血球凝集反応 (RPHA法) でA群HRV陽性と確認された。さらにモノクローナル抗体によるELISA法で血清型別をおこなったところ、1型が最も多く162例 (71%) 2型が43例 (19%)、3型が8例 (4%)、型不明は14例 (6%) であった。血清型の経時的推移をみると、1992年1月から6月にかけての流行シーズンは、1型42例、2型35例と同頻度認められたが、3型は5例とわずかであった。1992年12月から1993年5月にかけての流行シーズンは1型が64例と多く、2型は2例のみであった。1994年1月から4月にかけては1型が55例、2型は6例、3型は3例であった。今回の調査では、3シーズン中、A群HRVの血清型1型が優勢であったが、流行シーズンにより血清型分布に変動が見られた。患者年齢は2歳未満が8割以上を占めた。

冬季急性胃腸炎は毎年乳幼児の間で流行を繰り返している。これらの病因としてウイルスが関与している場合が多い。起因ウイルスとしては、ヒトロタウイルス (HRV)、小型球形ウイルス (SRV)、アデノウイルスなどが知られている。これらウイルスのなかでも、HRVが主たる病因であり [1, 2], HRVはA~Eの5群に分類されているが、現在まで唯一、細胞培養で分離可

能になったHRVはA群に属している。A群には2種の亜群と複数の血清型が報告され、ヒト間の感染には血清型1~4型が流行の主役を占めている。本邦ではA群が流行主体を担っており、稀にC群の散発も報告されているが、他の群の報告は無い。

我々は平成3年度から厚生科学医療研究課題「A群ヒトロタウイルス (HRV) 流行における

1. 館小児科医院 2. 正木医院 3. 新湊市民病院 (現: 金沢大学小児科)

血清型疫学解析研究」のもとに、関越、中部、山陰、山陽（日本横断面）8県の衛生研究所の研究分担者が共同研究班を組織し、冬季急性胃腸炎を対象に、A群HRVとその血清型について疫学的調査研究を実施した。そのうち富山県での調査について述べる。

は、A群共通抗原の確認と血清型別を行なった。これらは、全て研究班で標準化した「各血清型特異単クローン抗体によるELISA血清型別法」の術式に従って行なった。検査試薬も研究班で標準化したものを使用した。

結果および考察

材料と方法

糞便検体は、高岡市、新湊市、福光町、およびその周辺、主として県西部に居住する小児を対象に、急性胃腸炎患者から糞便を採取した。A群HRVスクリーニングは、糞便を10～20%乳剤とし、市販のロタウイルス逆受身赤血球凝集反応（RPHA）のキット（デンカ生研）を用いて、ロタウイルス抗原を検出した。A群HRV陽性例の検体

急性胃腸炎患者の発生状況およびA群HRVの検出状況：1991年10月から1994年4月までの間に、急性胃腸炎患者499名から糞便を採取した。月平均気温と患者発生状況およびA群HRVの検出状況をFig. 1に示す。患者は毎年、冬春季に多発し、夏秋季には減少する傾向が見られた。どの流行シーズンも患者は月平均気温が10℃近くになる11月頃から出現したが、A群HRVの陽性例が確

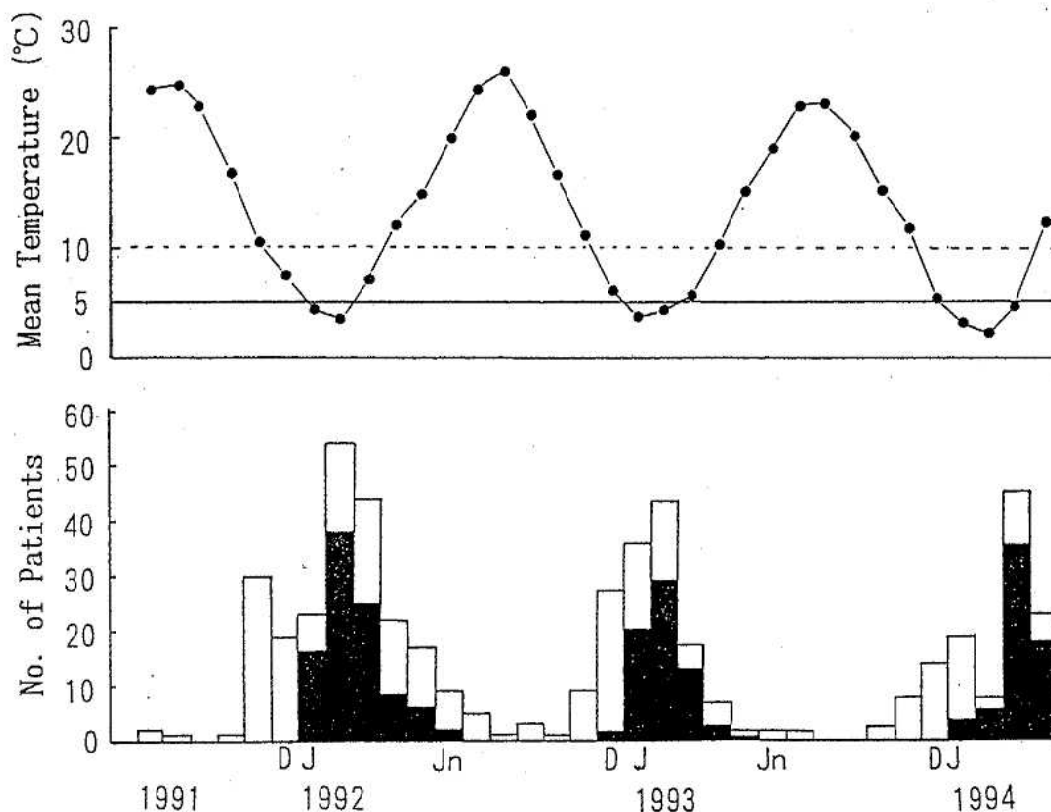


Fig. 1. Monthly Distribution of Rotavirus Gastroenteritis Among Acute Non-bacterial Gastroenteritis Cases and Monthly Atmospheric Temperature in Toyama Prefecture from July 1991 to April 1994.

認められ始めたのは、1992年1月、1992年12月、1994年1月であった。ヒトロタウイルスの流行は気温の低下と患者の発生とに相関がみられ、川本〔3〕らは中部地域以北で摂氏10℃を境に流行開始・終息が起きると報告している。今回の富山県での調査では、3回の流行シーズンの開始月の月平均気温は1992年1月の4.2℃、1992年12月の6.1℃、1994年1月の3.1℃でこれらの平均は4.5℃で5℃以下であった。A群HRVの陽性例が確認されたのは、1992年1月～6月、1992年12月～1993年5月、1994年1月～4月の、いわゆる冬春季で総数227例（45.5%）であった。一方、1991年7月～12月、1992年7月～11月、1993年6月～12月の夏秋季には検出されなかった。

34か月間のA群HRVの月別分布（Table 1）をみると、1月40例（17.6%）、2月73例（32.2%）、3月74例（32.8%）、4月29例（12.8%）、5月7例（3.1%）、6月2例（0.8%）、12月2例（0.8%）であった。3回の流行シーズンをまとめてみるとA群HRVは冬季から春季にかけて検出され、1、2、3月で8割以上を占めており、7月から11月にかけては全く検出されなかった。

A群HRVの血清型分布：RPHA法でA群

HRV陽性が確認された227例についてELISA法で血清型別を行なったところ213例（93.8%）が1～3型に型別された。その内訳は1型162例（76.1%）、2型43例（20.2%）、3型8例（3.8%）であった。これら血清型別の月別分布をみると（Fig. 2）、1992年1月～6月の流行シーズンは1型42例、2型35例、3型5例で、4型はなかった。1992年12月～1993年5月の流行シーズンでは1型65例、2型2例で、3型と4型はなかった。1994年1月～4月の場合は1型55例、2型6例、3型3例で、4型はなかった。3回の流行シーズン中1型が優勢であったが、1992年1月～6月の流行シーズンには2型が1型と同頻度検出されたが、3型は3回の流行シーズンを通して例数は少なく、4型は全く確認されなかった。A群HRVの血清型分布は調査年、場所によって優勢型が違ふ〔3、4〕ことは知られている。今回の調査結果より血清型分布が、シーズンごとに変動することが示唆された。このことよりA群HRVが流行した後では、その血清型に対する集団免疫が成立したことが示唆される。しかし、本県の調査では毎年の流行で主役を演じて居るのは1型であることが示唆された。

Table 1. Monthly Distribution of Rotavirus Serotypes Determined by Monoclonal Antibodies from July 1991 to April 1994

Month	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total
Serotype													
1	27	45	58	22	6	2						2	162
2	7	22	9	4	1								43
3	6			2									8
4													
Unknown		6	7	1									14
Total	40	73	74	29	7	2						2	227
(%)	(17.6)	(32.2)	(32.8)	(12.8)	(3.1)	(0.8)						(0.8)	(100)

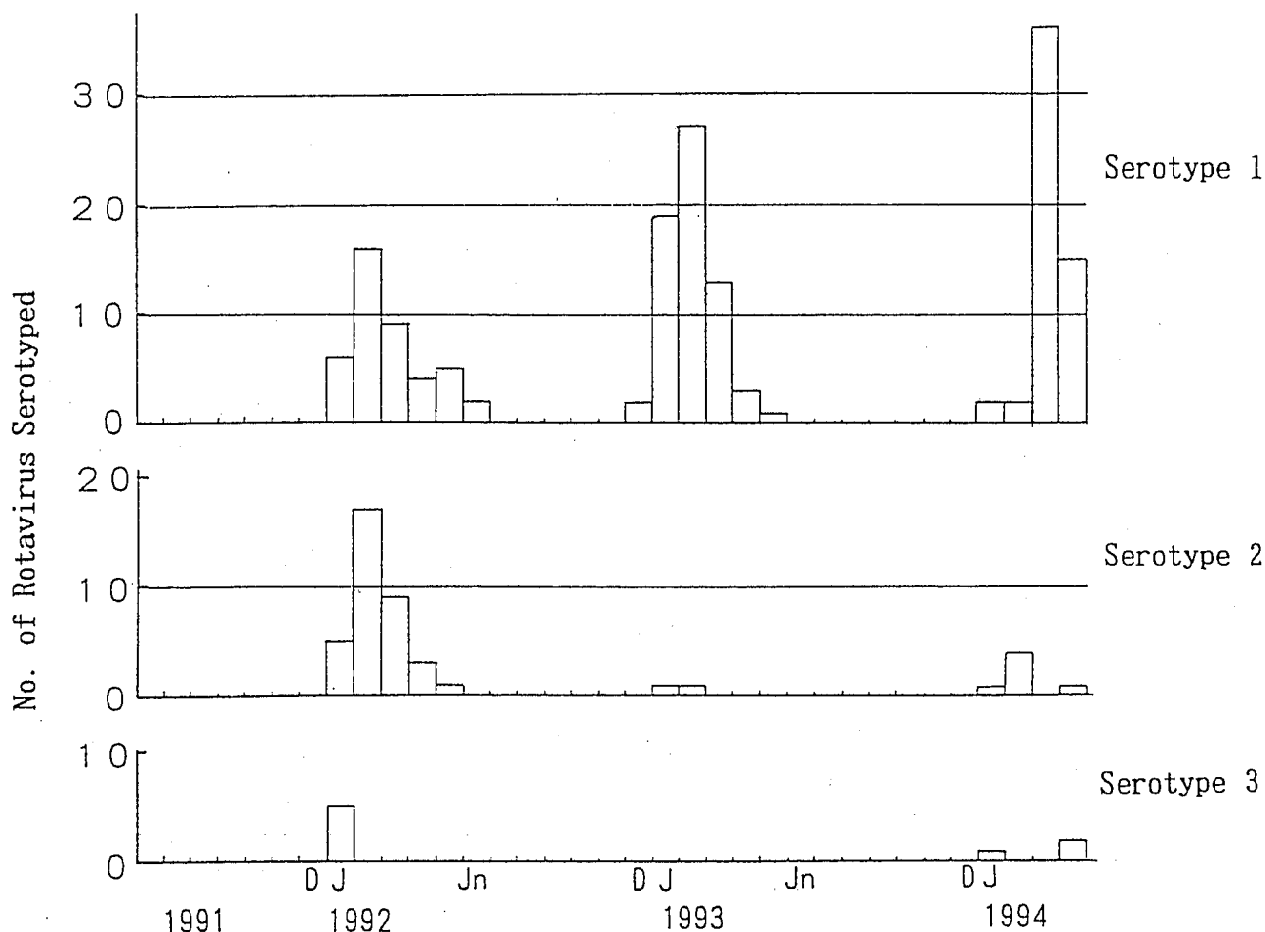


Fig. 2. Monthly Distribution of Serotype of Group A Human Rotavirus.

A群HRVの血清型別年齢分布：血清型別年齢（月齢）群別分布をTable 2に示す。血清型1は6～11か月49例（30%）12～17か月54例（33%），18～23か月31例（19%）で，6か月から2歳未満が全体の82%であった。血清型2では6～11か月15例（35%），12～17か月15例（35%），18～23か月5例（12%）であり，6か月から2歳未満が全体の81%であった。一方，血清型3は例数が少なかったが，6～11か月4例（50%）12～17か月2例（25%），18～23か月2例（25%）で全て1歳に含まれていた。これらA群HRVの血清型の年齢分布は，いずれの型も顕著な偏りはなく，全体として6か月から2歳未満までが8割を占めていたが，1型と2型で2歳以上の患者が確認され12

%を占めた。HRVは2歳以下の乳幼児に多く検出されている〔1〕報告が多いが，今回の調査でも2歳以下が8割であったが，2歳以上の感染例が1割以上確認された。

A群HRVの血清型別による臨床症状：臨床症状が明らかになっている214名についての血清型別の臨床症状についてTable 3に示す。症状別にみると，下痢198例（98.5%），嘔吐147例（73.1%）発熱119例（59.2%），腹痛3例（1.5%）吐き気2例（1.0%）であった。血清型別には症状の大きな違いはなく，全体として主な症状は下痢と嘔吐であったが，発熱も6割を占めた。

小児の急性胃腸炎は毎年流行を繰り返す，ウイルスが関与していることが多い。その主なる起因

Table 2. Age Distribution of Rotavirus Serotypes Determined by ELISA

Age (Months)	No. of serotypes of HRV					Total (%)
	1	2	3	4	Unknown	
0 ~ 5	8	2			2	12 (5.3)
6 ~ 11	49	15	4		6	74 (32.6)
12 ~ 17	54	15	2		2	73 (32.2)
18 ~ 23	31	5	2			38 (16.7)
24 ~ 29	7	2			2	11 (4.8)
30 ~ 35	5	2				7 (3.1)
36 ≤	8	2			2	12 (5.3)
Total	162	43	8		14	227 (100)

Table 3. Clinical Symptoms of Patients by Rotavirus Serotypes

Serotype	No. of Patients	No. (%) of cases with following Symptoms				
		Diarrhea	Vomiting	Fever	Nausea	Stomachache
1	156	153 (98.1) ¹⁾	114 (73.1)	96 (61.5)	1 (0.6)	3 (1.9)
2	37	37 (100)	27 (73.0)	19 (51.4)	1 (2.7)	
3	8	8 (100)	6 (75.0)	4 (50.0)		
4	0					
Unknown	13	12 (92.3)	9 (69.2)	12 (92.3)	1 (7.7)	
Total	214	210 (98.1)	156 (73.0)	131 (61.2)	3 (1.4)	3 (1.4)

1) (%) : No. of positive cases / No. of patients

ウイルスはHRVで、本邦ではA群が流行主体になっており、ヒトの感染には血清型1～4型が流行の主役をになっているので、A群とその血清型に着目し流行期間の抗原検出と型別をおこなった。これらの血清型は調査年、場所により異なりかつ優勢型があることは示されている。今回は3シーズンにわたり調査をおこなったが、富山県西部では全シーズン1型が、優勢であったが、2型、3型は、シーズンにより消長変動をし、調査年の違いによる血清型分布の変動が示唆された。血清型による年齢分布には大きな偏りはなく、患者は2歳未満が8割を占めたが、2歳以上の患者も少なくなく1割以上を占めた。

文 献

1. 病原微生物検出情報 (1988), 月報, 5, 1 - 20
2. 病原微生物検出情報 (1991), 月報 5, 1 - 22
3. 厚生科学医療研究事業平成3年度研究報告書
4. Urasawa, S., T. Urasawa, K. Taniguchi, F. Wakasugi, H. Kobayashi, S. Chiba, N. Sakurada, M. Morita, O. Morita, M. Tokieida, H. Kawamoto, Y. Minekawa, and M. Ohseto (1989). J. Infect. Dis., 160, 44-51.

富山県における溶血レンサ球菌分離株の菌型と 薬剤感受性の推移

田中大祐 細呂木志保 児玉博英¹ 香取幸治²
赤間美德³ 柏木義勝⁴

Changes in Serotype Distribution and Drug Sensitivity among Hemolytic *Streptococcus* Isolates in Toyama Prefecture

Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI, Hirohide KODAMA¹,
Koji KATORI², Yoshinori AKAMA³ and
Yoshikatsu KASHIWAGI⁴

要 旨 富山県で分離された臨床材料由来溶血レンサ球菌の一部について、材料別の群別分布、A、B両群の型別分布および分離株の薬剤感受性の推移を調べた。結果は次のようであった。

1. 分離株の群別分布では、1990年からはA群とB群が逆転してB群が最優勢になり、次いでA群で、両者が全体の80%以上を占めた。G群は全体の10~18%であり、C群は極めて少なく1~2%であった。主としてA群は小児の咽頭から、B群とG群は高齢者の喀痰、化膿巣や尿から分離された。
2. A群の型別分布の変遷を見ると、4型は1983年以来一貫して主流行菌型であった。一方、1980年代に長期間流行した12型は、1990年から再び増加したが1992年には減少した。1993年は3型が最優勢となったが、1型と4型も多く分離された。
3. B群では、1993年には近年増加してきたJM-9型、NT-6型の順に多く分離された。
4. 薬剤感受性の推移に関して、全体として耐性菌の比率が減少しているが、依然A群4型がテトラサイクリンに対しほとんど全株単独耐性を示し、B群とG群の一部もテトラサイクリンに耐性であった。また、エリスロマイシンに対してはA群は総て感受性になったが、B群とG群の一部は依然として高度耐性であった。

富山県では、1980年6月と10月の大山町での幼稚園、保育所を中心とした流行[1]以来、溶血レンサ球菌（以下溶レン菌）感染症の集団発生は13年間なかった。しかし、1993年の5月に黒部市の精薄施設でA群3型による溶レン菌感染症の発生

があった。A群溶レン菌は扁桃炎、気管支炎、しょう紅熱、などの原因となり、最も重要な溶レン菌感染症の起炎菌である。最近では、壊死性筋膜炎、筋炎等の軟部組織の壊死を伴い、病状の進行が早く、死亡率は30%といわれる劇症型A群レ

1. 富山女子短期大学 2. 富山県立中央病院 3. 富山市民病院 4. 東京都立衛生研究所

ンサ球菌感染症が、海外、国内で報告されている。富山県ではこのような症例を経験していないが、五十嵐ら〔2〕は本年になってから3月中旬までに東京都立衛生研究所に20例の精検依頼があったと述べている。B群溶レン菌は新生児の敗血症や髄膜炎、高齢者の日和見感染の原因菌として注目されている。

著者らは、本菌感染症の流行を未然に防いだり、流行の拡大を阻止することを目的として、健康者、患者の両面から本菌の生態を調べてきた。ここでは、1980年以来富山県下で臨床材料から分離された溶レン菌の一部について、流行菌型の変遷と分離株の薬剤感受性の推移を調べた結果を報告する。

材 料 と 方 法

病原微生物検出情報収集定点である県内12か所

の公立病院のうちの2病院の細菌検査室から分与を受けた溶レン菌を用いた。群別はストレプトLA「生研」（デンカ生研）を用いた感作ラテックス凝集反応によって実施し、A、B両群の型別はそれぞれの型別血清（デンカ生研）を用いて、トリプシン処理菌体との凝集反応により行った。B群のNT-6、WH07271およびJM-9型については、デンカ生研からそれぞれ対応する抗血清の分与を受け、同様の方法で行った。

結 果 と 考 察

1993年までの5年間について、分離材料、患者の平均年齢と分離株の群の関係をTable 1に示す。分離株中に占めるA群の比率は年々減少し、B群が増加の傾向である。1990年からはB群が最も多く分離されるようになり、50%前後を占めている。

Table 1. Relationship between Mean Age of Host and Serogroup of Clinical Isolates of Hemolytic Streptococci

Year	Specimen	Group distribution of isolates				total
		A	B	C	G	
1989	Throat swab	11(114)*	15(14)	10(3)	22(15)	(146)
	Sputum	63(12)	66(56)		61(30)	(98)
	Pus, exudate etc.	23(24)	53(13)		43(14)	(52)
	Urine etc.		56(50)		71(4)	(54)
	Total	(150;42.8%)	(134;38.3%)	(3;0.9%)	(63;18.0%)	(350)
1990	Throat swab	9(92)	34(11)	34(2)	13(6)	(111)
	Sputum	50(2)	72(59)	48(3)	56(13)	(77)
	Pus, exudate etc.	26(22)	43(30)		37(8)	(60)
	Urine etc.	35(1)	58(65)	63(2)	61(5)	(73)
	Total	(117;36.4%)	(165;51.4%)	(7;2.1%)	(32;10.0%)	(321)
1991	Throat swab	12(102)	19(6)	23(2)	25(11)	(121)
	Sputum	44(7)	65(51)	62(1)	62(17)	(76)
	Pus, exudate etc.	19(26)	47(33)		48(15)	(74)
	Urine etc.		61(73)		57(3)	(76)
	Total	(135;38.9%)	(163;46.9%)	(3;0.9%)	(46;13.2%)	(347)
1992	Throat swab	13(67)	16(11)	6(2)	26(11)	(91)
	Sputum	53(3)	75(38)	78(1)	50(10)	(52)
	Pus, exudate etc.	22(23)	47(30)		48(9)	(62)
	Urine etc.	56(2)	63(38)			(40)
	Total	(95;38.8%)	(117;47.8%)	(3;1.2%)	(30;12.2%)	(245)
1993	Throat swab	9(70)	47(13)		25(5)	(88)
	Sputum	46(6)	64(38)	70(2)	63(19)	(65)
	Pus, exudate etc.	20(20)	46(51)	37(1)	55(13)	(85)
	Urine etc.	63(1)	63(44)		79(5)	(50)
	Total	(97;33.7%)	(146;50.7%)	(3;1.0%)	(42;14.6%)	(288)

*Figures indicate mean age of host and those in parentheses number of isolates and percentage occupied by the corresponding group

A群は1990年から40%以下となった。G群は10～18%，C群は極めて少なく1～2%で、1993年は3株、1.0%であった。分離株の群別と患者の年齢、材料の由来との関係は毎年極めて類似しており、A群が咽頭から分離される場合は圧倒的に小児である。他のB、C、G群が咽頭から分離される場合も、患者の平均年齢は比較的低い。それに対して、喀痰からはB群やC群が高頻度に分離され、その場合は患者の平均年齢は極めて高い。化膿巣・分泌物などからはA、B、G群が分離されるが、A群の場合は、B、G群に比べて患者の平均年齢が比較的低いのが特徴である。尿からは殆どが尿路感染症の原因となるB群であるが、この場合も平均年齢は

喀痰同様極めて高い。次に、1993年のA群分離株のT型別分布をTable 2に示す。表中の最下段の数字は定点12か所の医療機関からの上気道及び下気道からのA群菌の毎月の報告数である。全体として、この年は冬から梅雨時期にかけて報告数が多く、夏に少なかった。型別結果をみると、昨年に比べ3型が多くなり、最も多く分離された。5月に黒部市の福祉施設で起こった集団発生の原因菌も3型であった。また、1型と4型も昨年同様多く分離された。当研究所は溶レン菌の東海北陸ブロックのレファレンスセンターとして、県外からの分離株の型別依頼が多いが、福井県の一医療機関の臨床材料由来株では、表には示していない

Table 2. Monthly Distribution of Types of Group A Isolates in 1993

Month	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total	(Total in 1991)
Type														
1	2	2	4	2	3	1	1			1		2	18	(21)
3			7	3	1					2	3	5	21	(14)
4	3	2	1		1		2	3		2	1	3	18	(19)
8			1				1						2	(1)
9			1										1	(0)
11	1			1									2	(2)
12	1	1	2		2	1	1				2	4	14	(6)
13													0	(3)
18													0	(4)
28			3						1	1	1		6	(4)
B3254			1	2		1				1		1	6	(15)
UT		1	1	1	1	2					2	1	9	(13)
Total	7	5	21	9	8	4	7	3	1	7	9	16	97	(102)
Reported number of strains from 12 Hospitals	50	72	120	71	67	71	50	18	54	56	87	99	815	711

Table 3. Monthly Distribution of Types of Group B Isolates in 1993

Month	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total	(Total in 1993)
Type														
I a	2	3	1	1	2		2	2	1			1	15	(16)
I b	2	1		1		1		1	2	1	2	1	12	(10)
II	1						1				1	1	4	(1)
III	1	1	1	1					2		1	1	8	(13)
IV													0	(1)
V		1							2			1	4	(9)
NT-6		1	3	5	3	1	2	5	4	1	1	2	28	(31)
WHO-7271													0	(0)
JM-9	6	3	4		2	6	3	10	8	7	2	6	57	(31)
UT	2	3	3	2	1			2	1	1	2	1	18	(24)
Total	14	13	12	10	8	8	8	20	20	10	9	14	146	(136)

が1993年は4型と1型が多かった。また、愛知県の一医療機関におけるA群の型別情報[3]では、1型と2型が多かった。菌株数が少ないので、愛知県、福井県、富山県の型別分布の比較は困難であるが、1型と4型が多い点は類似していた。しかし、富山県に多い3型は愛知県と福井県では分離されず、愛知県に多い2型は富山県と福井県では分離されなかった。1993年のB群分離株の月別の型別分布をTable 3に示す。近年増加の傾向にあるJM-9型、NT-6型の順に多く分離された。次いで従来から多いIa型、Ib型の順であった。型別不能株の比率は12.3%であった。

1980年以来のA群の菌型分布をTable 4にまとめた。最優勢菌型の変遷を見ると、12型(1980~84年)→3型(1985~86年前半)→12型(86後半~87年)→1型(88年)→4型(89~90年)→12型(91年)→1型(92年)→3型(93年)となっていた。全体的にみると、4型と12型のみが長期

間流行している様相がうかがえる。表示しなかったが、14年間に型別に供した2090株の中では、①12型 576株、②4型 380株、③1型 249株、④3型 156株、⑤28型 131株、⑥6型 104株、⑦B3264型72株、⑧13型 61株、⑨18型 45株、⑩11型 37株の順に多く、上位10菌型が全体の87%を占めた。その間型別不能株は9.6%であった。

A群の主な優勢菌型とB群、G群について、1980年代の前期(1981~84, 表中のI), 中期(1985~88, 表中のM) および後期から1990年代初期(1989~93, 表中のF)に分け、3種抗生剤の最小発育阻止濃度(MIC)を集計した結果をTable 5に示す。TC(テトラサイクリン)に対しては、A群の中で4型が一貫して殆ど全株単独耐性(MIC $\geq 25 \mu\text{g/ml}$)であり、B群およびG群の一部も依然耐性であった。また、1型、12型および28型も一部耐性だが、その比率は年々低下していた。CP(クロラムフェニコール)に対して、A群の総て

Table 4. Type distribution of Clinical Isolates of Group A Strains in Toyama since 1980

Year	T type distribution														Dominant				
	1	3	4	5	6	8	9	11	12	13	18	22	28	B3264	Imp.19	14/49	UT	Total	type
1980	9 ^a *	1	6		33 ^a				97 ^a				1	4			14	182	12;6;1
	(4.9)**				(18.1)				(53.3)										
1981	29 ^a		4						29 ^a			2	1	5 ^a			27	97	12.1;B3264
	(29.9)								(29.9)					(5.2)					
1982	20 ^a		2						27 ^a	4		3	2	3	6 ^a		9	76	12;1;Imp.19
	(26.3)								(35.5)						(7.9)				
1983	2		69 ^a						41 ^a	22 ^a		1	11	6			10	162	4;12;13
			(42.6)						(25.3)	(13.6)									
1984	6	8	30 ^a	1		1		2	42 ^a	9		1	10 ^a	3	1		11	125	12;4;28
			(24.0)						(33.6)				(8.0)						
1985	3	55 ^a	26 ^a		1			3	31 ^a	8	1	1	7	2			5	143	3;12;4
		(38.5)	(18.2)						(21.7)										
1986	1	64 ^a	27 ^a	1	1	6		11	125 ^a	8	8	1	15				9	277	12;3;4
		(23.1)	(9.7)						(45.1)										
1987	29 ^a	13	44 ^a	1	17	1		5	69 ^a	4	22		22	2			15	244	12;4;1
	(11.9)		(18.0)						(28.3)										
1988	66 ^a	2	43 ^a		15 ^a	1		1	14		7		6				24	179	1;4;6
	(36.9)		(24.0)		(8.4)														
1989	11		46 ^a		29 ^a			4	8	2	2		18 ^a	8			22	150	4;6;28
			(30.2)		(19.3)								(12.0)						
1990	14	1	26 ^a		8		1	3	22 ^a		1		16 ^a	3			23	118	4;12;28
			(22.0)						(18.6)				(13.6)						
1991	20 ^a		20 ^a			1	3	4	51 ^a	1			12	15		2	9	138	12;4;1
	(14.5)		(14.5)						(36.9)										
1992	21 ^a	14	19 ^a			1		2	6	3	4		4	15 ^a			13	102	1;4;B3264
	(20.6)		(18.6)											(14.7)					
1993	18 ^a	21 ^a	18 ^a			2	1	2	14				6	6			9	97	3;1;4
	(18.6)	(21.6)	(18.6)																

* Order of prevalence

** Percentage occupied by the corresponding type

Table 5. Group and Type of Streptococcus Isolates and Their Antibiotic Sensitivity

Group & type	A-1			A-3			A-4			A-6			A-11			A-12			A-28			A-B3264			B			G		
MIC ($\mu\text{g/ml}$)	I*	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F
TC																														
≥ 25	14	1	1		5		49	103	108				1	12	52	37	6	4	5	2					26	75	84	9	15	49
12.5															1	1	6											1	9	12
6.25	1																											1	2	11
3.13					1											1											2		2	5
1.56	1	1	4		1	1	4					1			4	2	1	1		5					1	45	9	1	8	4
0.78	2	64	13		44		2	5			13	7	1	1	1	71	23	1	18	23				3	5	123	186	3	30	57
0.39	2	13	48		41	4	2	2	1		12	29			1	3	46	47	3	12	15			25	33	95	209	4	17	28
0.20	2				2	9										1	1		1	2				15	1		1	1	1	
CP																														
≥ 25				1	1									1	12	3									4	9	14			1
12.5																									2	4		7	1	
6.25	3	1	3		3		1	8	3			2	1	1	4	5	1	2	3	4					8	58	15	9	30	47
3.13	19	71	56		86	9	32	67	80		19	33	1	9	39	133	82	8	31	36				19	49	267	456	4	52	116
1.56		7	5		4	5	24	35	26		6	2			2	6	18	1	2	7				24	3	2	4			3
0.78			1												1															
EM																														
≥ 25							1								24	4									1	2	8	4	7	17
12.5				1	1										2												5		3	
6.25							2								1				1						1	5	10		1	1
3.13															2	1										1	1			1
1.56															3										1			1		1
0.78																														
0.39																														
0.20																														
0.10	15	1	9		6	1	15	3	15		15			5	7	9	10	5	3	14					1	2	2	2	1	
0.05	7	60	56		81	11	39	63	75		13	22	2	8	22	123	73	5	24	30				3	57	177	78	13	43	109
0.025		18			6	2		44	19		12			1		22	1		8	3				11	67	1		5		
Number of strains examined	22	79	86	0	94	14	57	110	109	0	25	37	0	2	14	61	159	84	10	36	47	0	0	43	66	340	488	20	83	167

* I: strains from 1981 to 84; M: strains from 1985 to 88; F: strains from 1989 to 92

とG群は1980年代後期より殆ど感受性となった。但しB群は少数ではあるが、依然として耐性株があった。EM（エリスロマイシン）に対して、1980年代後期よりA群分離株は全株感受性となったが、B群のごく一部とG群の一部は依然耐性を示していた。藤田らの報告〔4〕によれば、EM耐性のA群溶レン菌は1983年以後激減して、1986年以降はほとんどないという。なお、表には示していないが、供試した菌株はB群の2株を除いて総てPCG（ペニシリンG）、ABPC（アミノベンジルペニシリン）、CER（セファロジン）とCEX（セファレキシン）に感受性であった。1992年の菌株より調査を始めたOL（オレアンドマイシン）とLCM（リンコマイシン）に対してはB群とG群のごく一部が耐性を示した。また、黒部市の集団発生したA群3型菌は、PC、CEX、ABPC、EM、CP、TCの総てに感受性であった。

謝辞：貴重な抗血清を分与して頂いたデンカ生研 横尾 裕博士、溶レン菌分離株の分与を受けた 富山市民病院と県立中央病院の検査担当各位、そして薬剤感受性測定をして頂いた東京都立衛生研究所 柏木義勝先生に深謝します。

文 献

- 児玉博英, 刑部陽宅, 岡田伊津子, 畑 祥子, 山崎 茂一, 久保義博, 高藤 昭, 橋爪淑子, 尾崎一郎 (1983). 感染症誌, 57, 1060~1066.
- 国立予防衛生研究所編 (1994). 病原微生物検出情報, 15巻3号, 3~4.
- 斎藤 真 (1993). 私信.
- 藤田晃三, 吉河道人, 室野晃一, 村井貞子, 稲積 温子, 岸下雅通, 山崎伸二, 竹田美文 (1993). 感染症 誌, 67, 臨時増刊号, 29.

環境に分布する *Vibrio cholerae* のパルスフィールド電気泳動

刑部陽宅 細呂木志保 児玉博英¹ 島田俊雄²

Pulsed-Field Gel Electrophoresis of *Vibrio cholerae* O1 Distributing in the Environment

Yotaku GYOBU, Shiho HOSOROGI, Hirohide KODAMA¹
and Toshio SHIMADA²

要 旨 国内各地の河川あるいは海水から分離されたコレラ毒素陰性の *Vibrio cholerae* O1 について、パルスフィールド電気泳動法 (PFGE) を用いた染色体 DNA 制限酵素切断パターンによる型別を少数のヒト由来菌を対照として実施した。結果は次のようであった。

- 1) 環境由来菌と海外旅行後患者由来菌は Sfi I 処理後の PFGE 像で 360~500Kb の DNA 断片が認められるか認められないかで異なっていた。
- 2) 国内の環境由来菌 24 株は Sfi I 処理後の PFGE で多数の型、即ち 12 型に分けられた。これらの中には、富山と神奈川のように、分離場所が異なっているにもかかわらず、PFGE 型は同じという菌株が認められた。

わが国におけるコレラ患者数は、この 15 年間、1 年に 28~102 名と報告されている。その感染原因は海外旅行あるいは外国から輸入された食品にあると考えられている。我々 [1] は、国内の河川や海水に多数の *Vibrio cholerae* が分布することを明らかにする過程で、まれに *V. cholerae* O1 (コレラ菌) が分離されることを経験したが、このようなコレラ菌による患者発生報告は見あたらない。わが国の環境に分布するコレラ菌は海外から侵入するコレラ菌とは質的に異なることが推定される。本研究は第 1 に、パルスフィールド電気泳動によって、コレラ菌を型別する手技を確立し、第 2 に確立した手技によって国内の環境に分布するコレラ菌とコレラ患者から分離されるコレラ菌が、染色体 DNA 制限酵素切断パターンによってどのように異なるか、を明らかにすることを目的と

した。

材 料 と 方 法

1. 菌 株

河川および海水由来菌は国内各地で分離された小川型の菌 6 株、稲葉型の菌 18 株、計 24 株を用いた。一方、ヒト由来菌は全国各地で、海外 (タイ、フィリピン、インドネシア、インド、台湾) 旅行後の患者から分離された小川型の菌 4 株、稲葉型の菌 4 株、計 8 株を用いた。これらはいずれも国立予防衛生研究所で保存されていた。

2. パルスフィールド電気泳動

トリプティケースソイ寒天平板、37℃、1 夜培養菌を 4 ml の SE バッファー (75mM NaCl, 25mM

EDTA, pH7.4) に浮遊し, マクファランド4の菌濃度とした。遠心分離後, 菌体に0.5mℓのSEバッファを加え, 63°C, 7分加熱し, 次に等量の2%低融点Agaroseを加えサンプルブロックを作った。ブロックはGrothuesら[2]の溶菌液で, 56°C1夜処理後7mℓの10mM Tris-HCl, 10mM EDTA (pH7.4)で3回洗浄し, 同バッファに使用まで保存した。ブロックは, ほぼ4×4mmのサイズにしてMicroplateに移し, Phenylmethylsulfonyl Fluoride液 (50mM Tris-HCl, 5mM EDTA, pH8.0で0.175mg/mℓ) で1回, 2時間, 制限酵素溶解バッファ (ニッポンジーン社製) で1回, 1時間洗浄後, 10単位/60μℓのSfi Iを加え47°Cで1夜処理した。

パルスフィールド電気泳動はCHEF DR II (Bio Rad社) を用い, 同社のマニュアルを参考にして, バッファ: 1/2濃度TBE, 温度: 14°C, 電圧: 150 V, パルスタイム: 3から70秒, 泳動時間: 24時間の条件で行った。泳動後, Ethidium Bromideで洗色し, UV照射下で写真を撮った。

3. CT遺伝子

小林ら[3]のPCR法で調べた。

結 果

1. パルスフィールド電気泳動条件の検討

コレラ菌 NIH 160-90のサンプル (染色体DNA) を制限酵素 Apa I, Not I, Sma I, Spe I, Ssp I, Sfi I, Pvu II, Nhe I, Nco I, Sac I, Hind III, EcoR I, Pst I, Bam H I, Dra IあるいはXba Iで処理し, 200V, パルスタイム10から80秒, 温度14°Cで20時間泳動した。結果は示さなかったが, Sfi IあるいはNot I処理したときに, 150~600kbの範囲の比較的大きなDNA断片が数個生じた。このことから, 以下制限酵素として, Sfi Iを使用することにし, 次に電気泳動の条件について検討した。その結果, 電圧: 150V, パルスタイム: 3から70秒, 温度14°C, 24時間の泳動で, 大きなDNA断片の分離が良い泳動像が得られた。以下, 全株この条件で調べた。

2. 小川型菌の型別

河川, 海水由来の6株, ヒト由来の4株, 計10株についてパルスフィールド電気泳動を行ったところ, 供試菌はFig. 1に示す7つの泳動パターンのいずれかに分けられた。それぞれのパターンに仮の記号をつけ, パルスフィールド電気泳動における型 (PFGE型) とした。Table 1は各菌株のPFGE型を示す。富山湾沿岸海水および富山市内を流れる河川水分離の3菌株はいずれも, E型であったが, 神奈川県海水から分離された菌も, 同じE型であった。これに対して, 東京の河川, 尼崎市の河川から分離された菌は, 互いに異なり, F型, G型であった。一方, ヒト由来菌はA型, B型, C型, D型となり, いずれも河川由来菌とその型は異なっていた。

3. 稲葉型菌の型別

河川, 海水由来の18株, ヒト由来の4株, 計22株はパルスフィールド電気泳動によって, Fig. 2に示す11の型に分けられた。

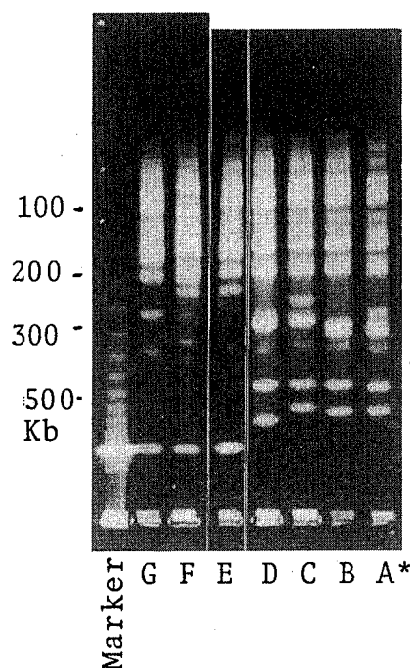


Fig. 1. Pulsed field gel electrophoresis of 01 *V. cholerae*, serotype Ogawa.
*Provisional type

Table 2は各菌株のPFGE型を示す。神奈川と北海道（札幌市）の河川から分離された菌はK型で一致し、神奈川の河川と東京湾の海水から分離された菌はN型で一致した。しかし、宮崎、沖縄、千葉および神奈川の河川から分離された菌はそれぞれ、L型、M型、O型、Q型で、互いに異なっていた。一方、ヒト由来菌はH型、I型、J型、B型でい

ずれも互いに異なる型であり、稲葉型の場合同様、ヒト由来菌と河川由来菌に共通する型は認められなかった。

なお、泳動像（Fig. 2）の観察では、360～500KbのDNA断片はヒト由来菌に認められるのに対して、河川海水由来菌にはあまり認められず、700Kb以上のDNA断片は河川、海水由来菌の多くに認めら

Table 1. PFGE type and CT gene of *Vibrio cholerae* O1 isolates, serotype Ogawa, from environment and human

Isolates	Source	PFGE type	CT gene
NIH 505-85	River water (Toyama)	E	-
NIH 570-87	" (Tokyo)	F	-
NIH 490-85	Sea water (Kanagawa)	E	-
NIH 507-85	" (Toyama)	E	-
NIH 571-85	" (Toyama)	E	-
NIH 742-87	" (Hyogo)	G	-
HVC-91-5	Human (Saitama)	A	+
NIH 791-82	" (Akita)	B	+
NIH 69-90	" (Ibaragi)	C	+
NIH 26-92	" (Shizuoka)	D	+

Table 2. PFGE type and CT gene of *Vibrio cholerae* O1 isolates, serotype Inaba, from environment and human

Isolates	Source	Number of isolates	PFGE type	CT gene
NIH 1270-79	River water (Kanagawa)	1	K	0/1*
NIH 1397-1398-79	" (")	2	K	0/2
NIH 1964-1965-79	" (Hokkaido)	2	K	0/2
NIH 924-925-79	" (Chiba)	2	O	0/2
NIH 1682-1684-80	" (Miyazaki)	3	L	0/3
NIH 760-762-80	" (Okinawa)	3	M	0/3
NIH 1984-80	" (Kanagawa)	1	N	0/1
NIH 1097-81	" (")	1	Q	0/1
NIH 318-319-87	Sea water (Osaka)	2	P	0/2
NIH 803-88	" (Tokyo)	1	N	0/1
NIH 1856-79	Human (Fukuoka)	1	H	1/1
NIH 17-81	" (Fukushima)	1	I	1/1
NIH 378-82	" (Kyoto)	1	J	1/1
NIH 9016	" (Saitama)	1	B	1/1

* No. of positives / No. of isolates examined

考 察

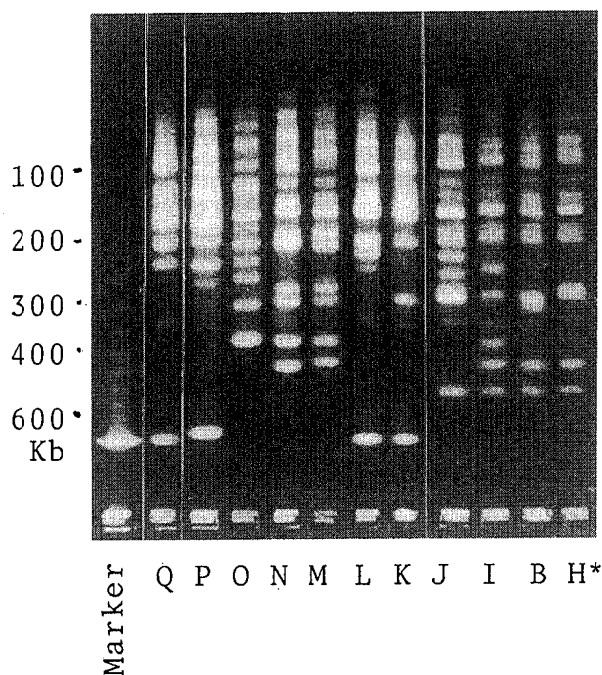


Fig. 2. Pulsed field gel electro-phoresis of 01 *V. cholerae*, serotype Ogawa.
*Provisional type

れヒト由来菌には認められなかった。この傾向は、小川型菌の泳動像 (Fig. 1) を観察した場合にも認められた。

4. CT遺伝子

結果はTable 1～2に示した。調べた河川および海水由来の稲葉型18株、小川型6株、計24株はすべてCT遺伝子陰性であるのに対して、ヒト由来の小川型4株、稲葉型4株、計8株はすべて陽性であった。

国内の河川や海水からは稀ではあるが、コレラ菌が分離される。これら分離菌の多くは、CT非産生性であるとされているが、今回、遺伝子の検査によって、改めて、これらの菌株はCT陰性で、法定伝染病の対象にならないことが明確になった。パルスフィールド電気泳動像で環境株とヒト由来株を比較すると、Fig. 1. 2にみられるように、360～500kbのDNA断片はヒト由来菌にみられ、大部分の環境由来菌にはみられない。このことは、国内の環境に分布するCT陰性のコレラ菌は、海外から持ち込まれるヒト由来CT陽性のコレラ菌とそのクローンが異なることを示す。Chenら[4]はMultilocus enzyme electrophoresisでアメリカの環境分離株を解析した結果から、多くの環境株の起源はさまざまであると述べているが、日本においても環境に分布するコレラ菌のクローンはさまざまであることが、PFGE型別の結果から考えられる。しかし、札幌市と神奈川の河川で同じK型が、また富山と神奈川の河川で同じE型がみられるので、さまざまな型の中には全国的に共通の型があることを否定できない。

文 献

1. Kodama, H., Gyobu, Y., Tokuman, N., Uetake, H., Shimada, T. and Sakazaki, R. (1988). Advances in Research on Cholera and Related Diarrheas, 6:eds, N. Ohtomo, R. B. Sack, P. 79-88.
2. Grothues, D., Koopmann, U., Hardt, H. and Tümmler, B. (1988). J. Clin. Microbiol, 26, 1973-1977.
3. 小林一寛 (1992). 日本臨床. 642号. 361-367.
4. Chen, F., Evans, G. M., Cook, W. L., Almeida, R., Hargrett-Bean, N. and Wachsmuth, K. (1991). Epidemiol. Infect. 107, 225-233.

サルモネラの疫学へのパルスフィールド電気泳動の利用について

刑 部 陽 宅 磯 部 順 子 田 中 大 祐

Use of Pulsed Field Gel Electrophoresis for Epidemiology of *Salmonella*

Yotaku GYOBU, Junko ISOBE and
Daisuke TANAKA

要 旨 パルスフィールド電気泳動 (PFGE) によるサルモネラの型別について検討し、以下の結果を得た。

- 1) 使用する制限酵素はSpe Iが良かった。また、CHEF DR II (Bio Rad社) を用いたPFGEでは、電圧: 150V, 緩衝液: 1/2 TBE, パルスタイム: 3から40秒, 温度: 14°C, 泳動時間: 24時間という条件が菌の型別に適していた。
 - 2) 1973~1993年の間に、富山県で発生したS. Schwarzengrunde, S. Javiana, S. Stanley, S. Typhimurium, S. Infantis, S. Havana, S. Paratyphi B, S. Enteritidis, S. Montevideo各食中毒事例分離菌についてPFGEを実施すると, S. TyphimuriumとS. Javianaを除く, 他のサルモネラでは, 分離菌のPFGE像は事例毎に同じであった。
- 以上の結果から, PFGEは大部分の血清型のサルモネラの疫学的研究に利用できると考えられる。

わが国におけるサルモネラ食中毒は, 1990年までは事例数でも, 患者数でも第2位以下であったが, 1989年から増加し, 1991年には, 事例数, 患者数ともに, 全食中毒事例の第1位を占めるようになった [1]。このため, サルモネラ食中毒原因菌の由来を追究するための調査が多くなっている。サルモネラ菌の型別法としては, ファージ感受性, プラスミドプロファイル, 薬剤感受性等を調べる方法があり, これらがこの菌の由来の追究に利用されてきた。一方, 近年DNA技術が進歩し, パルスフィールド電気泳動を用いた染色体DNA制限酵素切断パターンが, 多くの菌の型別に利用されるようになった [2]。このことより本研究は本法をサルモネラの疫学に利用する方法と, その利用における問題点を明らかにすることを目的と

した。

材 料 と 方 法

1. 菌 株

1973~1993年の20年間に, 富山県内で発生したサルモネラを原因とする食中毒10事例から分離された42株と散発下痢患者から分離されたS. Typhimurium 1株を用いたが, 食中毒由来菌の内訳は, 1973年分離のS. Schwarzengrunde 5株, 1975年分離のS. Javiana 5株, 1979年分離のS. Stanley 4株, 1979年分離のS. Typhimurium 4株, 1980年分離のS. Infantis 5株, 1984年分離のS. Montevideo 5株, 1987年分離のS. Havana 4株, 1988年

分離の*S. Paratyphi* B 5株, 1993年分離の*S. Enteritidis* 5株, 1993年分離の*S. Typhimurium* 4株であった。これらはいずれも分離後, Cooked meat 培地に保存されていた。

2. パルスフィールド電気泳動(PFGE)

トリプチケースソイ寒天平板, 37°C, 1夜培養菌を4mlのSEバッファー (75mM NaCl, 25mM EDTA, pH7.4)に浮遊し, マックファーランド4の菌濃度とした。遠心分離後, 菌体に0.5mlのSEバッファーを加え, 63°C, 7分加熱し, 次に等量の2%低融点アガロースを加え, サンプルブロックを作った。ブロックはGrothuesら[3]の溶菌液で, 56°C, 1夜処理後, 7mlの10mM Tris-HCl, 10mM EDTA (pH7.4)で3回洗浄し, 同バッファーに使用時まで保存した。ブロックは, ほぼ4×4mmのサイズにしてMicroplateに移し, Phenylmethylsulfonyl fluoride液 (50mM Tris-HCl, 5mM EDTA, pH8.0で0.175mg/ml)で1回, 2時間, 制限酵素溶解バッファー (ニッポンジーン社製)で1回, 1時間洗浄後, 10単位/60μlのSpe Iを加え, 47°Cで1夜処理した。パルスフィールド電気泳動はCHEF DR II (Bio Rad社)を用い, 同社のマニュアルを参考にして, バッファー: 1/2濃度TBE, 温度: 14°C, 電圧150V, パルスタイム: 3から40秒, 泳動時間: 24時間の条件で行った。泳動後, Ethidium bromideで染色し, UV照射下で写真を撮った。

結 果

1. パルスフィールド電気泳動条件の検討

サルモネラのサンプルブロック (染色体DNA)を制限酵素Apa I, Not I, Sma I, Spe I, Ssp I, Sfi I, Pvu II, Nhe I, Nco I, Sac I, Hind III, Eco RI, Pst I, Bam HI, Dra IあるいはXba Iで処理し, 200V, パルスタイム10から100秒, 温度14°C, 24時間の条件で泳動した。結果はFig 1に示すように, Spe I処理したときに, 比較的大きなDNA断片が多く生じた。このことから, 以下, 制限酵素として, Spe Iを使用することにし, 次に, 電気泳動条件について検討し

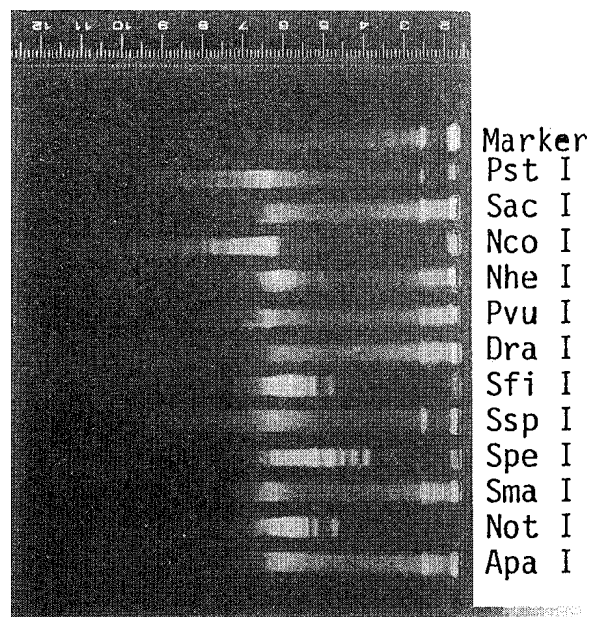


Fig 1. Pulsed field gel electrophoresis of restriction-enzyme-cleaved genomic DNA of *S. Typhimurium*.

た。結果は図示しなかったが, 電圧: 150V, パルスタイム: 3から40秒, 温度14°C, 24時間の泳動で, 大きなDNA断片の分離の良い泳動像が得られた。以下, 全株, この条件で調べた。

2. 食中毒集団発生例由来菌のPFGE像

結果はFig 2～3に示した。*S. Schwarzengrunde*, *S. Stanley*, *S. Infantis*, *S. Havana*, *S. Paratyphi* B, *S. Enteritidis*および*S. Montevideo*の各食中毒事例では, 事例ごとに, 分離菌株のPFGE像は同じであった。しかし, 1975年の*S. Javiana*と1979年の*S. Typhimurium*食中毒例では, 分離株のPFGE像は一致しなかった。*S. Typhimurium*については1993年発生の食中毒例分離菌についても調べたが, 同様であった。

考 察

PFGEを用いた染色体DNA制限酵素制切断パター

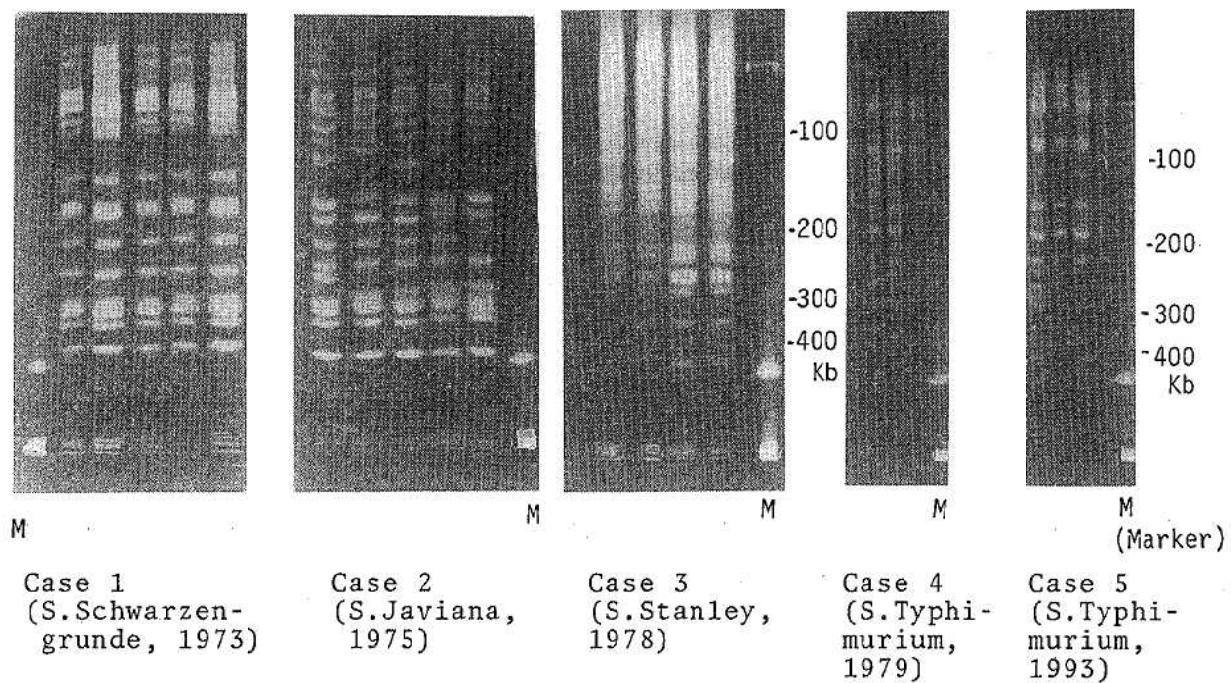


Fig 2. Pulsed field gel electrophoresis of Spe I-cleaved genomic DNA of S. Schwarzengrunde, S. Javiana, S. Stanley and S. Typhimurium from food poisoning cases occurred in Toyama prefecture.

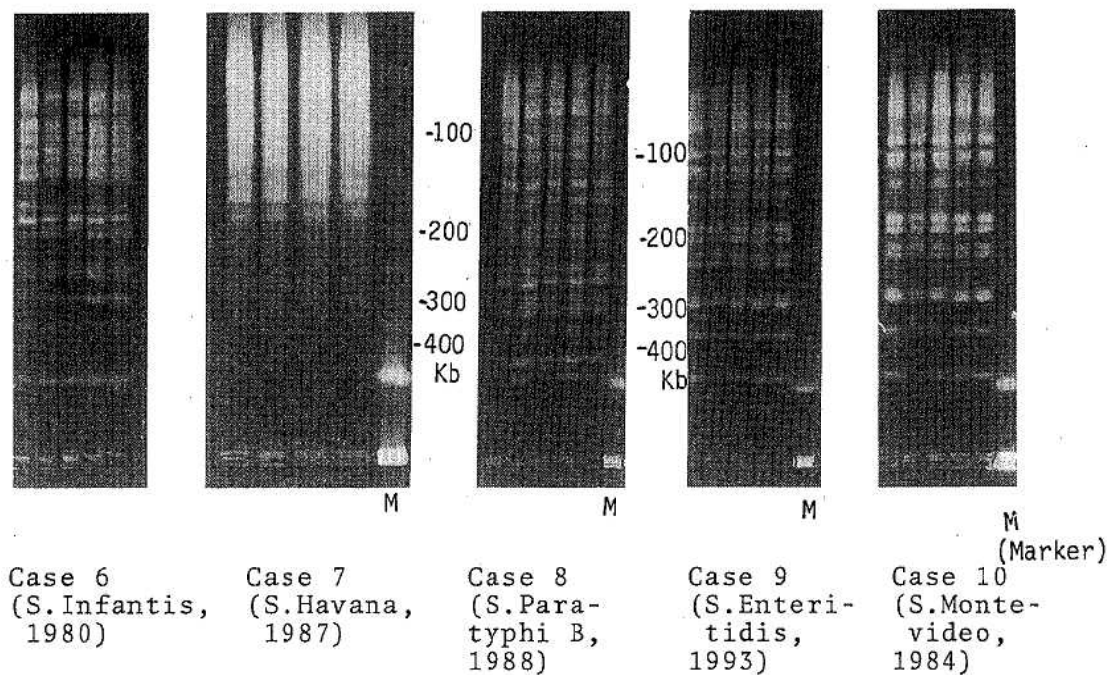


Fig 3. Pulsed field gel electrophoresis of Spe I-cleaved genomic DNA of S. Infantis, S. Havana, S. Paratyphi B, S. Enteritidis and S. Montevideo from food poisoning cases occurred in Toyama prefecture.

ンはメチシリン耐性ブドウ球菌の院内感染経路の追究の他、多くの病原菌の疫学的追究に利用されている [2]。我々も、O1 *V. cholerae* の型別に本法を利用してきたが、その過程で良い知見が得られるためには、適当な制限酵素と泳動条件の選定が重要であることを経験した。サルモネラについてこの点を見ると、制限酵素に関して、鈴木ら [4] は *Xba* I と *Not* I、中村ら [5] は *Bln* I を使用している。我々が散発例由来の *S. Typhimurium* 1 株について検討すると *Spe* I が、目的に合致していた。いずれの制限酵素が最もよいかは今後の検討課題であるが、この *Spe* I を使用して食中毒由来株を分析すると、*S. Javiana* と *S. Typhimurium* を除く、他の 7 つの血清型のサルモネラでは、各事例毎に、分離菌は、同じ泳動パターンを示した。

この結果は、PFGE は、これらの血清型のサルモネラの疫学的追究に充分利用できるが、*S. Javiana* と *S. Typhimurium* 食中毒のそれにはまだ問題があり、他の制限酵素の使用など、更に多くの検討が

必要なことを示すものであろう。

なお、*S. Typhimurium* 食中毒では、分離菌株の型が一致しない理由は保存中の変異か、その他の理由か明らかでない。

文 献

1. 国立予防衛生研究所編 (1993). 病原微生物検出情報, 14, 1-2.
2. 一山 智, 太田美智雄 (1992). 日本臨床1992年, 特別号, 143-148.
3. Grouthues, D., Koopmann, U., Hardt, H. and Tummler, B. (1988). *J. Clin. Microbiol.*, 26, 1973-1977.
4. 鈴木康元, 石原政光, 船橋 満 (1994). 日細菌誌, 49, 271.
5. 中村明子, Ratchtrachenchai, O., 寺島 淳, 前川 純子, 渡辺治雄 日細菌誌, 49, 272.

都市河川水のサルモネラ定点観測

磯部 順子 井山 洋子 田中 大祐

Salmonella Surveillance on River Water in an Urban Area

Junko ISOBE, Yōko IYAMA
and Daisuke TANAKA

要 旨 昭和54年から平成5年までの過去15年間、富山市内を流れる河川において、11定点を定め定期的に採水して、サルモネラの分布状況を調べ、次のような成績を得た。

1. 平成5年の調査では、サルモネラの検出率は13/66(19.7%)と、15年間で最低であった。分離菌は、*Salmonella* Typhimurium 3株、*S. Paratyphi* B 3株など、7血清型13株であった。昭和56年、59年以外は毎年分離されていたS. III 48:1, v:1, 5は、本年は分離されなかった。
2. 15年間の調査のなかで、昭和54年から60年までの前半の7年間は、サルモネラ検出率が60~80%と非常に高かったが、昭和61年以降は常に50%以下と低く、特に平成3年からの3年間は20%台とさらに低下していた。これは、河川浄化の目的で、上流部で他の河川から本格的に取水を始めた時期(昭和61年)と一致しており、それに加えて、最近の富山市周辺部の下水道の普及が、サルモネラ汚染率を低下させた主な原因と考えられた。
3. 平成5年にヒトから分離されたサルモネラは16血清型74株で、その内*S. Enteritidis*が39株(52.7%)であり、全体に占める割合は平成3年から3年連続で最も高かった。

サルモネラは、自然界に広く生息し、ヒトや家畜などを含めてあらゆる種類の哺乳動物、鳥類、は虫類および両棲類から分離される。近年は、海外旅行者、輸入飼料および輸入畜肉が激増し、日本国内に外国からも本菌が持ち込まれる機会が増加しており、これらがサルモネラ感染症の増加の一因にもなっているように思われる。われわれは、環境のサルモネラ汚染の実態を把握する目的で、都市河川水の定点観測を実施し、その分離状況、血清型分布について、ヒト由来菌のそれと比較してきた。本報告では、平成5年の成績とともに、過去15年間のデータについて述べる。

調査定点および方法

調査定点は、図1に示した富山市内を流れる3河川、いたち川(I)、松川(M)、赤江川(A)に設けた10定点とし、昭和54年6月から56年5月までは毎月1回、その後は隔月に調査を行った。又、昭和58年からは、河川Mの浄化のために分水を受けた土川(D)に1定点を追加し、合計11定点とした。

検査方法は既報[1]のとおりである。

ヒト由来サルモネラは、15年間に県内の公立病院および保健所で、患者および保菌者から分離さ

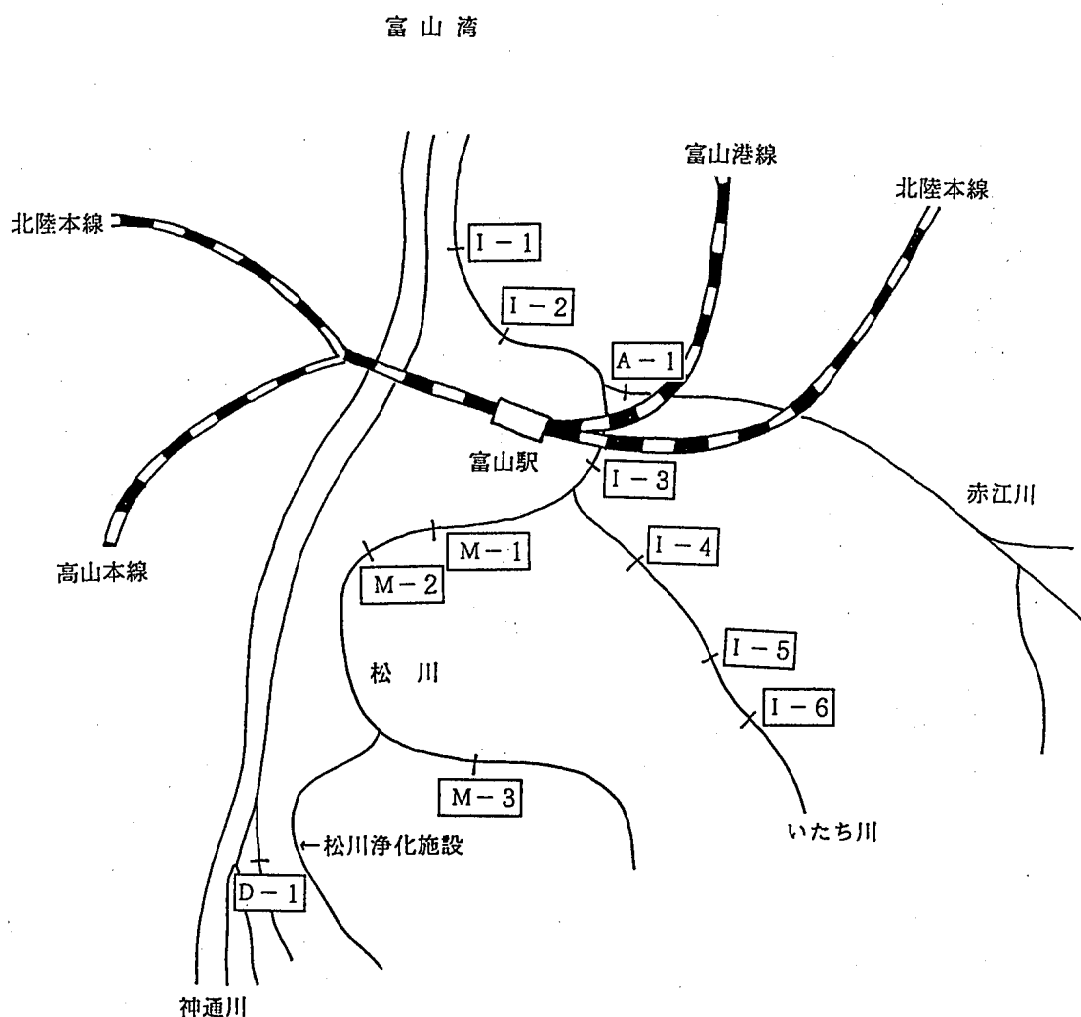


図1. 各河川における採水場所

れ、同定のため当所に送付された961株である。

結果および考察

表1は本年の各定点からの月別のサルモネラ分離状況を示したものである。各定点からの分離数は極めて少なく、最も多かったのはD-1の4株であった。毎年7～9月に多く分離されたS. III48:1, v:1, 5は、本年は分離されなかった。定点別にみると、I水系の上流部にあたるI-1～I-3では1株も分離されなかった。前年まで、分離率が最も低かったD-1で4菌型4株と最も多く分離され、次いで、I-5で3株3菌型が分離された。月別にみると、11月に4菌型5株、9月に2菌型3株と、

水温の高い時期に分離率が高くなるという今までの傾向とは、少し異なった。本年の分離菌型のなかで、最も多かったのは、S. Typhimurium, S. Paratyphi Bの各3株で、次いでS. Butantan 2株, S. Enteritidis, S. Montevideo, S. Blockleyの各1株の順であった。S. Paratyphi Bは平成元年以来4年ぶりの分離であった。S. Butantanは、この調査を始めてから、ヒトおよび河川から初めて分離された血清型であるが、S. Butantan以外は、ヒトからよく分離される血清型であった。従来よく分離されたS. Typhiは、これで4年間分離されなかったことになる。

表2は、過去15年間のサルモネラ分離状況を年別、定点別を示したものである。河川M水系浄化のために、河川Dから本格的に取水が行われるよ

平成6年10月1日

表1. 都市河川水のサルモネラ定点観測成績 (平成5年)

定 点	1 月	3 月	5 月	7 月	9 月	11 月
1-1						
1-2						
1-3						
1-4	S. Typhimurium					
1-5	S. Typhimurium			群不明		S. Paratyphi-B
1-6						S. Paratyphi-B
M-1						S. Typhimurium
M-2		S. Enteritidis				
M-3		群不明				
A-1					S. Butantan	
D-1					S. Butantan S. Paratyphi-B	S. Montevideo S. Blockley

表2. 年別・定点別サルモネラ分離状況

年	定 点	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5	1-6	M-1	M-2	M-3	A-1	D-1	計 (%)
昭和	54年	7/7	7/7	7/7	6/7	4/7	5/7	5/7	3/7	6/7	7/7		57/70 (81.4)
	55年	10/12	11/12	11/12	7/12	6/12	10/12	11/12	9/12	10/12	9/12		94/120 (78.3)
	56年	8/8	8/8	7/8	4/8	2/8	7/8	6/8	6/8	8/8	5/8		61/80 (76.3)
	57年	5/6	5/6	4/6	4/6	4/6	3/6	2/6	4/6	4/6	4/6		40/60 (66.7)
	58年	6/6	6/6	5/6	3/6	4/6	4/6	4/6	4/6	3/6	2/6	2/3	43/63 (68.3)
	59年	5/6	5/6	3/6	3/6	3/6	3/6	3/6	5/6	4/6	3/6	5/6	41/66 (62.1)
	60年	5/6	6/6	5/6	5/6	4/6	5/6	6/6	6/6	3/6	5/6	3/6	53/66 (80.3)
	小 計	46/51 (90.2)	49/51 (96.1)	42/51 (82.4)	28/51 (54.9)	26/51 (51.0)	36/51 (70.6)	37/51 (72.5)	41/51 (80.4)	33/51 (64.7)	35/51 (68.6)	10/51 (19.6)	339/525 (64.6)
	61年	2/6	3/6	3/6	2/6	4/6	2/6	3/6	2/6	4/6	4/6	1/5	30/65 (46.2)
	62年	1/6	3/6	0/6	3/6	2/6	0/6	4/6	2/6	2/6	3/6	2/6	22/66 (33.3)
	63年	0/6	2/6	3/6	2/6	0/6	2/6	3/6	4/6	2/6	4/6	2/6	24/66 (36.4)
平成	元 年	4/6	4/6	3/6	3/6	3/6	2/6	3/6	1/6	2/6	6/6	1/6	32/66 (48.5)
	2 年	2/6	3/6	4/6	4/6	3/6	1/6	3/6	2/6	1/6	2/6	3/6	28/66 (42.4)
	3 年	2/6	1/6	0/6	2/6	4/6	0/6	1/6	2/6	2/6	3/6	1/6	18/66 (27.3)
	4 年	1/6	1/6	2/6	0/6	4/6	1/6	2/6	0/6	4/6	0/6	1/6	16/66 (24.2)
	5 年	0/6	0/6	0/6	1/6	3/6	1/6	1/6	1/6	1/6	1/6	4/6	13/66 (19.7)
	小 計	12/48 (25.0)	17/48 (35.4)	15/48 (31.3)	17/48 (35.4)	23/48 (47.9)	9/48 (18.8)	20/48 (41.7)	14/48 (29.2)	18/48 (37.5)	23/48 (47.9)	15/48 (31.3)	183/528 (34.6)
	計 (%)	58/99 (58.6)	66/99 (66.7)	57/99 (57.6)	45/99 (45.5)	49/99 (49.5)	45/99 (45.5)	57/99 (57.6)	55/99 (55.5)	51/99 (51.5)	58/99 (58.6)	25/63 (39.7)	566/1053 (53.4)

表3. 河川水およびヒト由来サルモネラの血清型分布 (昭和54~平成5年)

血 清 型		河 川 水 由 来		ヒ ト 由 来	
		昭54-平4年	平成5年	昭54-平4年	平成5年
02 群	S. Paratyphi A			7	1
04 群	S. Paratyphi B	107	3	124	2
	S. Stanley	13		8	
	S. Schwarzengrund	4		7	1
	S. Saintpaul	2		3	
	S. Chester	8		2	
	S. Sandiego	9		4	
	S. Derby	14		5	
	S. Agona	29		15	
	S. Typhimurium	52	3	109	6
	S. Gloucester	1			
	S. Fyris	1			
	S. Bredeney	3		5	
	S. Brandenburg			1	2
	S. Heidelberg	1		4	
	S. Haifa			8	1
	S. I	11			
	S. I 4:-:-			2	
	S. I 4:d:-	2			
	S. II 4:b:-			1	
07 群	S. Ohio	6		4	
	S. Isangi	8		5	
	S. Livingstone	4		3	
	S. Norwich	1			
	S. Braenderup	21		38	4
	S. Montevideo	15	1	45	4
	S. Galiema				1
	S. Menston	2		1	
	S. Oranienburg	11		10	
	S. Thompson	20		15	
	S. Singapore	5		4	2
	S. Escanaba	1			
	S. Bonn	3		2	
	S. Potsdam	1		1	
	S. Virchow	3		5	
	S. Infantis	58		45	
	S. Bareilly	21		7	
	S. IV 7:z ₄ , z ₂₃ :-	1			
	S. Mbandaka	4		4	
	S. Tennessee	20		7	
	S. I	2			
	S. I 7:-:-			1	

平成6年10月1日

血清型	河川水由来		ヒト由来	
	昭54-平4年	平成5年	昭54-平4年	平成5年
08 群 S. Narasino	2		5	
S. Nagoya	8			
S. Muenchen	8		6	
S. Manhattan	5		4	
S. Newport	7		7	
S. Emek			1	
S. Blockley	4	1	5	
S. Kottbus	1			
S. Litchfield	31		54	4
S. Loanda	1			
S. Bovismorbificans	2		3	
S. Chailey			1	
S. Duesseldorf			2	
S. Istanbul			1	
S. Hadar	7		21	
S. I 6, 8:Z ₃₂ :-	1			
09 群 S. Typhi	31		76	3
S. Enteritidis	31	1	112	39
S. Mendoza	1			
S. Panama	3		3	1
S. I	4			
S. Dublin			1	
S. Javiana			1	
S. Lexington	1			
03, 010 群 S. Butantan		2		
S. Anatum	7		4	2
S. London	9		4	1
S. Give	22		3	
S. Orion	5			
S. I	2			
S. Meleagridis	1		1	
S. Weltevreden			1	
S. I 3, 10:r:-			1	
01, 3, 10 群 S. Senftenberg	4		3	
S. Krefeld	2		1	
S. Putten			1	
011 群 S. Rubisaw	1			
013 群 S. Havana	8		37	
S. Worthington	3		4	
S. Poona	2		1	
S. I 13:y:-	1			
S. Cubana			1	
016 群 S. Hvittingfoss			1	
S. Saphara	2			
S. I 16:K:1, 5	2			
018 群 S. Cerro	3		8	
030 群 S. Giessen			1	
035 群 S. Alachua			1	
040 群 S. Johannesburg			1	

血 清 型	河 川 水 由 来		ヒ ト 由 来	
	昭54-平4年	平成5年	昭54-平4年	平成5年
群不明 S. I	34	2		
S. I - :g, z ₅₁ :-			1	
S. I - :k:1, 5			2	
S. III 41:z ₂₃ :-	4			
48:l, v:-	2			
48:z ₃₅ :-	1			
? :z ₃₅ :-	1			
4:z ₁₀ :z ₅₃	1			
38:i:z	1			
38:z ₁₀ :z ₅₁	1			
38:z ₁₀ :z ₅₂	4			
38:z ₁₀ :z ₅₃	28			
38:z ₅₂ :z ₅₃	5			
48:i:z	1			
48:k:z ₃₅	2			
48:l, v:1, 2	1			
48:l, v:1, 5(7)	30		2	
48:l, v:z ₅₃	1			
48:l, z ₁₃ :1, 5(7)	14		1	
48:l, v, z ₁₃ :1, 5	6			
48:z ₁₀ :1, 5	1			
48:z ₁₀ :z ₅₃	3			
60:r:z	1			
60:z ₆ :z ₅₃	1			
60:z ₁₀ :z ₅₃	1			
? :l, z ₁₃ :1, 5	3			
S. III 群不明	6			
S. IV 40:z ₄ , z ₂₃ :-	3			
S. IV 44:z ₄ , z ₂₄ :-	2			
S. IV 40:g, z ₅₁ :-			1	
群不明 R変異			1	
計	96血清型 844 株	7血清型 13 株	74血清型 887 株	16血清型 74 株

うになった昭和61年で前後に分けて、その分離率を比較してみた。前半の7年間は、1年間の平均分離率が、常に60～80%台（平均74.1%）と非常に高率であり、定点別の平均分離率も、最も低いI-5で51%、最も高いI-2では96.1%と、各地点で高かった。それに対し、昭和61年からの後半の8年間は平均分離率は10～40%台（平均34.6%）であり、本年、過去最低の19.6%であった。定点別の平均分離率についても、10～40%と低く、特に、

河川Dの取水の影響を受けるM-1, M-2, I-1, I-2およびI-3について比較してみると、前半、最も分離率の高かったI-2の96.1%が、半分以下の35.4%に低下し、M-1についても72.5%が41.7%へと低下していた。この低下は、既報〔2〕に報告したとおり、流水量の増加による希釈効果が原因と考えられる。それに比べ、取水の影響のないI水系の上流部（I-4, I-5, I-6）やM-3およびA-1においては、大きな変化は見られなかった。

しかし、これらの定点においても、昭和61年以降の分離率をみると、この3年間、分離率の著しい低下がみられるので、最近の富山市周辺部の下水道普及率の向上など河川のサルモネラ汚染低下の原因になっているものと思われる。

表3は、15年間の調査について河川水およびヒトから分離されたサルモネラの血清型を示したものである。河川水からは合計97血清型857株が分離され、*S. Paratyphi B*の110株、*S. Infantis*の58株、*S. Typhimurium*の55株の順に多く、分離菌型の順位は昨年と同様であった。毎年7～9月に分離されていた*S. III*のグループは1株も分離されなかった。ヒトからは、74血清型61株の分離があり、*S. Enteritidis*の151株、*S. Paratyphi B*の126株、*S. Typhimurium*の115株の順に多かった。平成5年は平成4年と異なり、ついに、*S. Enteritidis*が1位になった。これは、本年分の分離株16血清型74株の内、*S. Enteritidis*が39株（ヒト分離株の52.7%）と圧倒的に多かったためで、これで*S. Enteritidis*は、3年連続でヒトから最も多く分離されたことになる。この数のなかには、北海道でおきた食中毒に関連した株も含まれている。県内での散発例から分離された*S. Enteritidis*については、9月下旬から11月上旬の1か月半に19株が集中して分離されたが、由来をつきとめるには至らなかった。この血清型は、全国的に1989年に急増して以来、高い分離率が続いている[3]。河川とヒトから分離されたサルモネラの血清型を比較

すると、多少の不一致はあるものの、河川から多く分離される血清型はヒトからも比較的多く分離されており、河川のサルモネラ汚染にヒトが関係していると思われる。

富山市周辺部の下水道の整備に伴い、河川水のサルモネラ汚染率も低下しつつある。しかし、食中毒に関しては、全国統計で平成4年は件数、患者数ともにサルモネラが1位を占めるに至り[4]、富山県においても、ヒトからのサルモネラの分離数が増加している。この増加は、全国的に鶏卵の*S. Enteritidis*汚染が関係しているといわれている。しかし、中には、海外旅行帰りのヒトからのサルモネラも含まれており、富山空港の国際路線開設等の国際化時代でもあるので、ヒトの本菌感染症と食品や環境の本菌による汚染との関係は今後も把握する必要がある。

文 献

1. 山崎茂一、園家敏雄、畑 祥子（1981）. 富山衛研年報, 4, 221-226.
2. 磯部順子、安井伊津子、児玉博英、山崎茂一（1991）. 富山衛研年報, 14, 142-149.
3. 国立予防衛生研究所編, 病原微生物検出情報（1993）. 1, 1-4.
4. 厚生省生活衛生局食品保健課統計情報部, 平成4年食中毒発生状況.

魚肉ねり製品の製造工程におけるポリリン酸塩の消長 (Ⅲ) —— 坐り工程温度の影響について ——

松永明信 山本 敦 水上英一
大泉 徹¹ 川崎賢一² 松川雅仁³

Degradation of Polyphosphates during Manufacturing Process of Surimi-Based Products (Ⅲ) - Effect of Temperature during Setting Process -

Akinobu MATSUNAGA, Atsushi YAMAMOTO, Eiichi MIZUKAMI,
Tooru OOIZUMI¹, Ken-ichi KAWASAKI²
and Masahito MATSUKAWA³

要 旨 スケトウダラを原料としたすり身を用いて肉糊を実験的に調製し、坐り工程におけるポリリン酸塩(PP)の分解に及ぼす温度の影響を調べた。

トリポリリン酸塩(P3)の分解については、坐りの温度が10～20℃の場合には分解は速く進行し、30～40℃の場合には分解はゆっくり進行した。一方、ピロリン酸塩(P2)については、20～30℃の場合には分解は速く進行し、10℃および40℃では遅い傾向がみられた。両者が共に分解し易い坐りの温度は20℃前後であることが示唆された。

昭和32年に食品添加物として指定されたポリリン酸塩(PP)は、金属イオン封鎖、結晶生成防止、pH緩衝およびタンパク質の保水性増大、結着力や伸展性の増大作用等を有し、水産缶詰、清涼飲料水、チーズ、魚肉ねり製品および畜肉加工品等の広範な食品の製造に使用されている[1]。それぞれの食品への使用目的に応じた特定の作用を最大に発揮させるために、PPは複数の化合物の混合製剤として用途別に市販されている。

魚肉ねり製品の主原料である冷凍すり身には、ピロリン酸塩(P2)とトリポリリン酸塩(P3)の混合製剤が添加されており、冷凍すり身の貯蔵中における筋原線維タンパク質、特にミオシン等の冷凍変性防止、塩すり操作におけるミオシンの溶出促

進、また坐り操作におけるミオシン重鎖の多量化反応の制御に寄与していると報告されている[2]。魚肉タンパク質へのPPの作用、魚肉ねり製品の製造工程におけるPPの役割については、数多くの研究がある。しかしながら、製造工程においてPPがどのように変化、分解しているかを研究した報告はほとんどみられない。このことは、食品中のPPを簡便に分別定量する方法が無いことに起因すると考えられる。

著者らは、ポストカラム反応高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を利用し、食品中のPPの簡便かつ迅速な分別定量法を開発し、各種食品中のPP含有量調査を行なった。食品の種類によりPPの組成(縮合度の分布パターン)が異なることを確認し

た[3-5]。また、すり身に添加されるPP製剤の組成あるいは市販冷凍すり身中のPP組成と、最終製品(市販かまぼこ)中PPのそれが著しく異なることを、著者らが初めて明らかにした[6, 7]。さらに、製造工程におけるPPの分解とその要因を解明するために、魚肉からかまぼこを実験的に製造して検討を行ない、次のことを明らかにした[6, 8, 9]。①塩ずりされた肉糊の坐り工程で、P3はP2とオルトリン酸塩(P1)に、P2は2分子のP1に、それぞれ酵素的に分解されること、②加熱工程でPPは熱分解されるが、坐り工程における酵素的分解量に比較して、その分解量は小さいこと、③P3およびP2分解酵素の活性発現にはマグネシウム(Mg)が必須であること、④魚肉の水晒し操作により、筋肉中のP2分解酵素やMgは洗浄液へ徐々に溶出されるが、P3分解酵素は全く溶出されないこと、等である。

魚肉ねり製品の製造工程におけるPPの消長に関する研究の一環として、坐り工程の温度がPPの消長にどのような影響を及ぼすかを実験的に検討した。

材料および実験方法

材料：スケトウダラ *Walleye pollack Theragra chalcogramma*は鮮魚を購入して用いた。P3はSigma社の製品(純度98%)、P2は和光純薬工業(株)の特級品を、その他の試薬は原則として特級品を用いた。

すり身の調製：スケトウダラの筋肉を採取して細切した。落し身に対して3倍量の0.16M KCl, 0.04M Tris-HCl(pH7.5)溶液を加え、時々攪拌して10分間洗浄した後、遠心分離を行なって脱水肉を得た。脱水肉に対して5%のソルビトールを加え、5℃で5分間混合してすり身を調製し、-20℃で保存した。本研究では、このすり身をすり身MW1と称する。前報[9]に準じて、すり身の成分、水分、粗タンパク質、筋原線維粗タンパク質およびマグネシウム(Mg)を測定したところ、それぞれ80.3%, 12.8%, 7.6%および4.8mmol/kgであった。

坐り工程でのポリリン酸塩の分解反応条件：解凍した4gのすり身MW1に最終濃度2.3%の食塩、4mmol/kgのP3およびP2並びに水を加えて攪拌して5gの肉糊を調製した。なお、すり身MW1はMgを含有するが、MgCl₂を添加して最終濃度を5mmol/kgに調整した。この肉糊を10~40℃の恒温に保持し、所定時間後(0~14時間)に氷冷した6%トリクロロ酢酸(TCA)を加えて反応を停止させた。残存するP2とP3は著者らの方法を用いて定量した[4]。

酵素活性の温度依存性の測定：ピロおよびトリポリリン酸塩分解酵素(EC 3.6.1.1; P2aseおよびEC 3.6.1.25; P3ase)の活性は、粗酵素としてすり身MW1を用い、次の条件で測定した。0.16M KCl, 40mM Tris-HCl(pH7.5), 10mM MgCl₂, 2.3%食塩, 4mM P2あるいは4mM P3, および1gのすり身MW1から成る5mlの混合液を20℃において5~20分間反応させ、6%TCAを加えて反応を停止させ、残存するP2あるいはP3を定量した。酵素活性は分解量から、 $\mu\text{mol P2(あるいはP3)}/\text{h}\cdot\text{g}$ (すり身MW1)で表示した。

実験結果および考察

塩ずりされた肉糊を成型し、所定の温度に保持することが「坐り」工程である。筋肉タンパク質の主成分であるミオシンは塩ずりにより分散し、更にこの重鎖が相互に反応して網目状の多量体を生成し、肉糊はゲル状態へ変化する。坐りの温度と時間は多量化反応すなわちゲル化反応の速度および機構に大きく影響を及ぼし、魚肉ねり製品の重要な物性の一つである弾力性を左右する[10]。

坐り工程中にPPが酵素分解することを、著者らが初めて明らかにしたことは前述した。坐りの温度や時間が、PPの分解にどのような影響を及ぼすかを調べるために、肉糊の坐り温度を10℃, 20℃, 30℃および40℃に設定してPPの分解を経時的に測定し、Fig. 1~2に示した。P3については、Fig. 1に示すように、10℃および20℃(低温)では、30℃および40℃の場合(高温)に比較して、速やかに減少した。高温では徐々に減少し、14時間後にも約

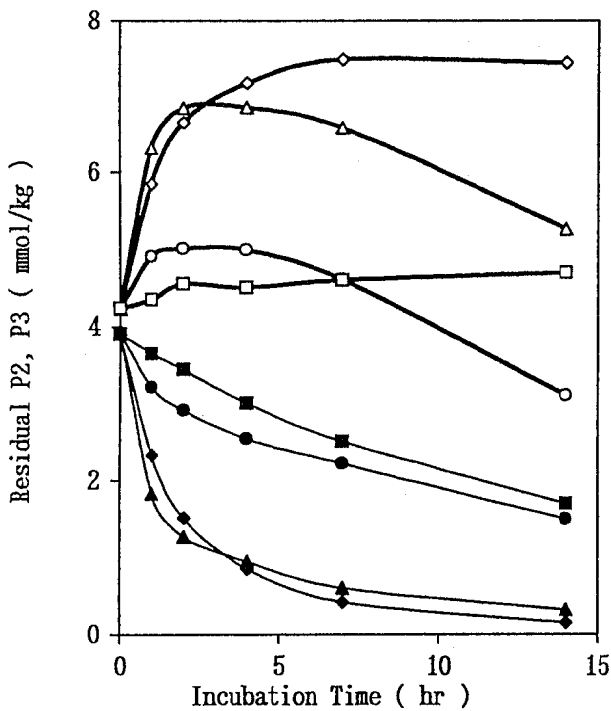


Fig. 1. Effect of Temperature on Polyphosphates Degradation in the Salted Meat Paste during Setting Process

P2: $\diamond$; 10°C, $\triangle$; 20°C, $\circ$; 30°C, $\square$; 40°C
P3: $\blacklozenge$; 10°C, $\blacktriangle$; 20°C, $\bullet$; 30°C, $\blacksquare$; 40°C

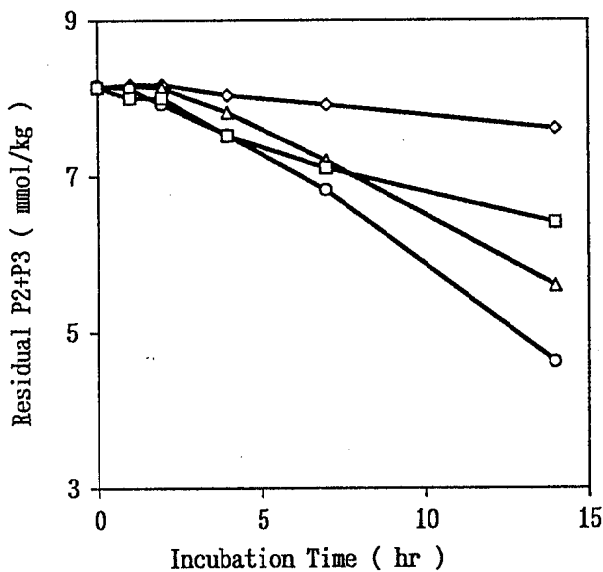


Fig. 2. Effect of Temperature on Pyrophosphate Degradation in the Salted Meat Paste during Setting Process

$\diamond$; 10°C, $\triangle$; 20°C, $\circ$; 30°C, $\square$; 40°C

半量残存した。P2の変化についてもFig. 1に示したが、P3の分解によるP2の生成と、P2の分解による消失を反映したものが残存量となる。P2の分解量は、Fig. 2に示すように、P3とP2量の和の減少から換算できる。温度の上昇とともにP2の分解速度は大きくなった。しかしながら、40°Cでは時間の経過につれて分解速度は減少した。次に、スケトウダラのP3aseおよびP2ase活性の温度依存性を調べた。実験方法で記載した条件、すなわち肉糊中ではなくて水溶液中で、熱失活の影響を小さくするために短時間での反応量から、活性を算出してFig. 3に示した。P3aseおよびP2ase活性の至適温度は25°Cおよび40°Cであった。これらの結果から、肉糊中でのP3およびP2の分解の温度依存性が異なる理由は、両分解酵素活性の至適温度が異なるためであることが示唆された。またP3ase活性は25°C以上で、P2ase活性では40°C以上で、活性の著しい低下が起こったが、この結果も肉糊の場合と類似していた。これらの活性低下は両分解酵素の熱失活に起因すると考えられる。

肉糊中のMg濃度を5mmol/kgに設定した今回の研究では、P3の残留を少なくする坐りの温度は10°C~20°Cであり、P2の分解を促進する温度は20°C~

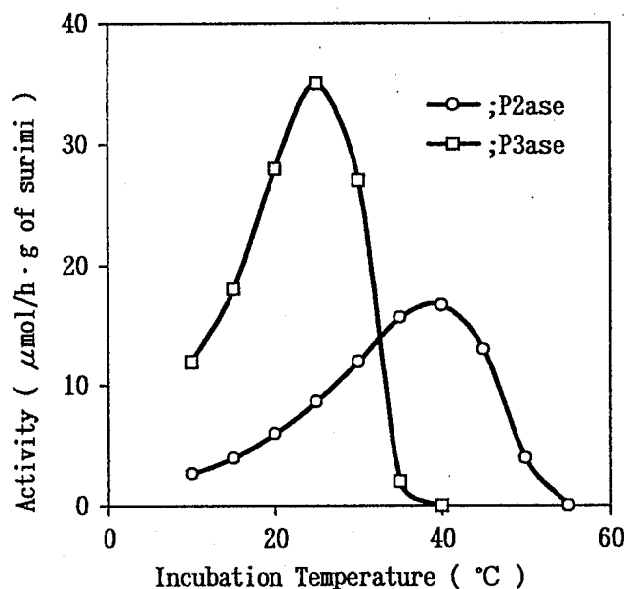


Fig. 3. Temperature Dependency of Enzyme Activity

30℃であり、両者の条件を満たす温度は20℃前後であることが明らかになった。今後は、両分解酵素の活性発現因子であるMgの影響についても検討を続ける予定である。

魚肉練製品の品質の保持・向上等のために、PPは製造の各工程で種々の役割を担っている[2]。食品の製造に際しては、でき得るならば、PPなどの食品添加物を使用しないことが好ましい。しかしながら、使用が避けられない場合には、最終製品には残留しないように、製造工程を工夫することは、食品衛生学的に重要なことであると考えられる。

文 献

1. 石館守三, 谷村顕雄監修 (1987). "食品添加物公定書解説書" pp D-883-893, pp D-903-913 広川書店.
2. 新井健一 (1988). 水産ねり製品技術研究会誌, 14, 97-104.
3. 松永明信, 山本 敦, 水上英一, 早川和一, 宮崎元一 (1988). 衛生化学, 34, 70-74.
4. 松永明信, 山本 敦, 水上英一, 川崎賢一, 大泉 徹 (1990). 日食工誌, 37, 20-25.
5. 松永明信, 山本 敦, 水上英一 (1991). 富山衛研年報, 14, 150-153.
6. 松永明信, 大泉 徹, 山本 敦, 川崎賢一, 水上英一 (1990). 日水誌, 56, 2077-2082.
7. 松永明信, 山本 敦, 水上英一 (1993). 富山衛研年報, 16, 206-209.
8. 大泉 徹, 松永明信 (1991). 水産ねり製品技術研究会誌, 17, 161-167.
9. 松永明信, 大泉 徹, 山本 敦, 川崎賢一, 水上英一 (1992). 日水誌, 58, 79-83.
10. 加藤 登, 橋本昭彦, 野崎 恒, 新井健一 (1984). 日水誌, 50, 2103-2108.

米中残留農薬の系統的分析法について

齊藤 行雄 山本 敦 松永 明信 水上 英一

Studies on Systematic Analysis of
Pesticide Residues in RiceYukio SAITO, Atsushi YAMAMOTO,
Akinobu MATSUNAGA and Eiichi MIZUKAMI

要 旨 ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) とフロリジルまたはシリカゲルのミニカラムクロマトグラフィーを用いた米中の有機窒素系, 有機塩素系, ピレスロイド系及び有機リン系農薬77成分の系統分析法を検討し, 以下の結果を得た。

1. 米からのアセトン抽出後の転溶溶媒としては, ジクロルメタンが最適であった。
2. GPCによる米中農薬の精製では, 脂質の97%以上が農薬と分離できた。但し, シハロトリン, プレチラクロール及びフルバリネートでは脂質画分に7%, 10%及び16%程度混入した。
3. GPCの農薬画分については, 有機リン系を対象とする場合は直接GC測定が可能であった。しかしながら, 外の農薬測定には微量の脂質や妨害成分の除去が必要であり, 有機塩素系及びピレスロイド系ではフロリジルミニカラムを, 有機窒素系ではシリカゲルミニカラムを用いた精製法を導入した。
4. 農薬添加回収実験から得られた回収率については, 玄米では, デルタメトリンとテルブホスの2農薬で50%程度であったが, その他の75農薬については61~125%であった。精白米では, 77農薬について58~122%であった。

本法は農薬77成分の系統的分析法として良好な回収率が得られ, 米以外の農産物にも適用できる分析法と考えられる。

昨年の冷夏と日照不足の影響によって我国の米収穫量が激減したため, 現在, 外国産米が大量に輸入されている。国内では米は主食であるため, 消費者から特に, 輸入米の残留農薬に対する安全性に関心が持たれている。この残留農薬の安全性確保のため, 短期間に多くの農薬を分析することが必要である。現在, 米には50種類の農薬残留基準が設定されているが, 分析法では各個分析が多く, 短期間に多くの農薬を分析するには多大の労力が必要となる。このため, 多成分一斉分析法の

開発が求められている。著者らは既に輸入果実中有機リン農薬22種の多成分一斉分析法の検討を行い [1], 更にゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) を用いた有機リン農薬の精製法が優れていることを報告した [2]。そこで, 今回, GPCの適用範囲を有機窒素系, 有機塩素系及びピレスロイド系農薬まで拡大し, 米について基準のある36農薬及び基準はないが使用されていると思われる34農薬の合計70農薬 (77成分) を対象として, 迅速に系統分析できる方法を検討した。

実験方法

1. 試料

アメリカ産の玄米及びタイ産の精白米を用いた。

2. 試薬

各種農薬及び有機溶媒：和光純薬工業(株)の残留農薬試験用を使用した。但し、ベンダイオカルブ、シベルメトリン、フェンバレーレート、フェンプロパトリン、デルタメトリン、オメトエート、モノクロトホス、テルブホス、キナルホスはリーデル・デ・ヘーン社の農薬標準品を使用した。シハロトリン、エトリムホスは林純薬工業(株)、ペルメトリン、フェンスルホチオンはナノゲン社のそれぞれ農薬標準品を使用した。

各農薬標準原液：各農薬標準品10mgをアセトン又はヘキサンに溶かして全量100mlとした。

各農薬グループ標準混合溶液：それぞれのグループの農薬のGC感度に応じて、標準原液を適宜混合しアセトン又はヘキサンで希釈して調製した。但し、有機リン農薬では極性農薬のキャピラリーカラムへの吸着を防ぐため[3, 4]、ポリエチレングリコール(PEG) 200を50ppm含ませたアセトン溶液とした。

水：蒸留水500mlをジクロロメタン100mlで2回振盪洗浄したものを使用した。

飽和塩化ナトリウム溶液：塩化ナトリウム175gを水500mlに溶かし、この溶液をジクロロメタン100mlで2回振盪洗浄したものを使用した。

フロリジルミニカラム：日本ミリポア(株)のセップパックフロリジル(内径1cm, 長さ2cm, フロリジル0.9g入り)を予め酢酸エチルーヘキサン(15:85) 10mlで洗浄したものを用いた。

シリカゲルミニカラム：日本ミリポア(株)のセップパックシリカ(内径1cm, 長さ2cm, シリカゲル0.7g入り)を予めアセトン-ヘキサン(30:70), 次いでヘキサンの各10mlで順次洗浄したものを使用した。

3. 装置

粉砕器：三紳工業(株)の水冷式小型粉砕器

ブレンダー：日音医理科器械製作所製ヒスコトロンNS50(シャフトNS-20TP, ジェネレーターNS-20G)

GPC装置及びGPC条件：既報[2]のとおり条件で行なった。

ガスクロマトグラフ(GC)：(株)島津製作所製タンデムGC-14A(FTD, ECD, FPD検出器付き)に同社製のオートインジェクターAOC14, クロマトパックC-R4Aを接続した機種と同社製のGC-15A(ECD検出器付き)にクロマトパックC-R3Aを接続した機種をそれぞれ併用して用いた。

4. GCの測定条件

(1)有機窒素系農薬

FTD-GC(GC-14A)で測定し、カラムはJ&W社のDB-1又はDB-17(各々同じサイズ, 0.25mm i. d. × 30m, 膜厚0.25 μ m)を使用した。カラム温度は両カラム共に50℃で2分間保持後, 毎分10℃で200℃にまで昇温し, 更に毎分8℃で280℃に上げて18分間保持した。注入口及び検出器温度は250℃及び280℃に設定した。キャリアーガス(He), 水素ガス及び合成空気ガス(窒素79%, 酸素21%)は, 1ml/分, 3.5ml/分及び160ml/分にそれぞれ設定した。注入は, 待時間2分のスプリットレス法で2 μ lをGCに注入した。

(2)有機塩素系農薬

ECD-GC(GC-15A)で測定し、カラムはJ&W社のDB-17(0.25mm i. d. × 30m, 膜厚0.25 μ m)を使用した。カラム温度は初期温度200℃で開始し, 次いで毎分1℃で220℃にまで昇温し, 更に毎分10℃で250℃に上げて17分間保持した。注入口及び検出器温度は(1)と同様に設定した。キャリアーガス(He)は, 1ml/分で使用した。注入は, ソルベントレス導入法で2 μ lをGCに導入した。

(3)ピレスロイド系農薬

ECD-GC(GC-14A)で測定し、カラムにHP社のHP-1(0.53mm i. d. × 5m, 膜厚2.65 μ m)を使用した。カラム温度は250℃に設定した。注入口及び検出器温度は260℃及び280℃に設定した。キャリアーガス(He)は, 7ml/分で使用した。注入は, 待時間0.5分のスプリットレス法で1 μ lをGCに導入した。

(4)有機リン系農薬

FPD-GC(GC-14A)で測定し、カラムにHP社のウルトラ1(0.2mm i. d. × 30m, 膜厚0.33 μ m)を使

用した。カラム温度は50℃で2分間保持後、毎分8℃で180℃にまで昇温し、更に毎分4℃で280℃に上げて7分間保持した。注入口及び検出器温度は(1)と同様に設定した。キャリアガス(He)、水素ガス及び合成空気ガス(窒素79%, 酸素21%)は、1ml/分、180ml/分及び70ml/分にそれぞれ設定した。注入は、待時間2分のスプリットレス法で2 μ lをGCに導入した。

5. 試験溶液の調製

(1) 農薬抽出及び抽出物中の脂質の分離

採取試料(約300g)の全量が篩(420 μ m)に通過するまで粉碎器で粉碎し、均一に混合した。この粉碎試料20.0gをトールビーカー(300ml)にとり、水40mlを加えて2時間放置した。アセトン100mlを加えて3分間ホモジナイズし、セライト545約3gを混ぜてからガラス繊維ろ紙でろ過した。ろ液をKD濃縮器で減圧濃縮して40mlとし、残留液を分液漏斗に移し、飽和塩化ナトリウム溶液100mlを加えた。これをジクロロメタン100mlで2回抽出した。有機層を合わせて無水硫酸ナトリウム30gで脱水後、ガラスウールろ過して、減圧濃縮した。残留物をジクロロメタン-シクロヘキサン(1:1)混液5mlに溶かした後にGPCカラムに注入し、ジクロロメタン-シクロヘキサン(1:1)混液で展開して最初の流出液0~100mlまでを除去し、後の100~200mlを分取した。分取液を減圧濃縮して得られた残留物を5mlのアセトンに溶解した。

(2) GC測定妨害物の除去

有機窒素系農薬: 5. (1)で得られた溶液の1mlを取り、気流下で溶媒を留去し、ヘキサン1mlに置換後にシリカミニカラムに通した。このカラムに20mlのヘキサンを流して洗浄を行い、次にアセトン-ヘキサン(30:70)混液を流して流出液15mlを分取した。分取液を気流下で溶媒を留去し、1mlのアセトンに溶かして、GC分析用の試験溶液とした。

有機塩素系及びピレスロイド系農薬: (1)液1mlを取り、気流下で溶媒を留去し酢酸エチル-ヘキサン(15:85)混液1mlに置換した後に、フロリジルミニカラムへ通した。このカラムに酢酸エチル-ヘキサン(15:85)混液を流して流出液10ml

をとった。分取液を気流下で溶媒を留去し、ヘキサンに溶かして1mlとした。

有機リン系農薬: (1)液1mlを取り、PEG200の50ppmアセトン溶液1mlを添加した。次に、気流下で溶媒を留去し、残留物をアセトンに溶かして1mlとした。なお、試験溶液調製の概略をScheme 1に示した。

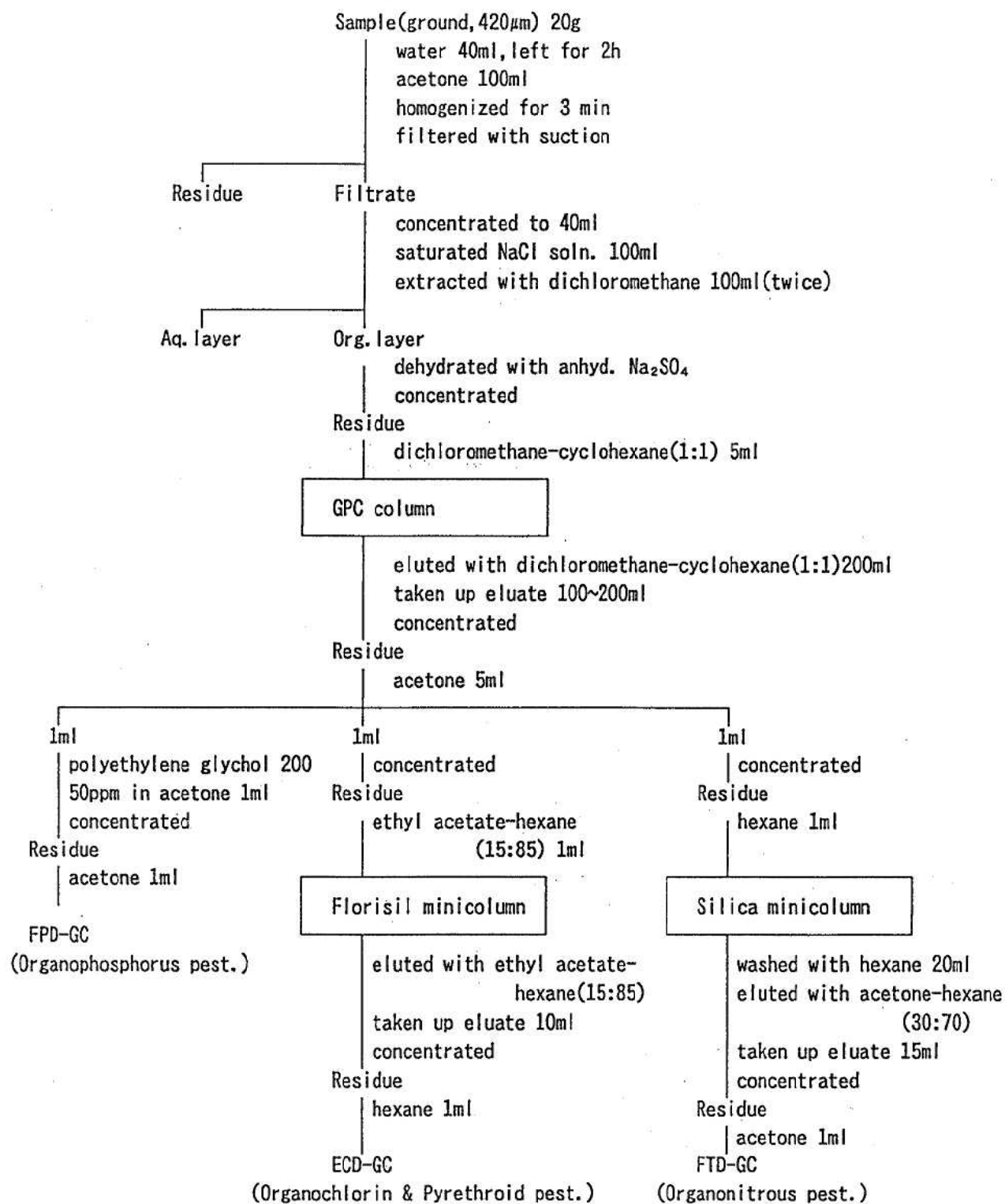
結果及び考察

1. アセトン抽出後の転溶溶媒の検討

試料についてアセトンによる農薬抽出を行なうと、抽出液に多量の植物成分が微量の農薬と共に混入してくる。一般に、抽出液中に含まれる水分、糖分、蛋白質を分離除去するために有機溶媒による農薬転溶操作が行なわれる。この転溶溶媒の検討を有機リン農薬やピレスロイド系農薬を用いて行なった。転溶溶媒として酢酸エチルではフェンチオン(0%), デルタメトリン(46%)の2農薬の回収が低く、ヘキサンではオメトエート(0%), モノクロトホス(0%), デルタメトリン(30%), フェンスルホチオン(50%), ジメトエート(53%)と回収率の低い農薬が増えた。ジクロロメタンでは、これらの農薬を含め、有機窒素系及び有機塩素系農薬でも回収率が良好であり、試験した全ての農薬(77成分)について高い回収率であった。ジクロロメタンについては、その毒性面から使用を避ける傾向にあるが、今回は農薬の多成分分析を目的としたため、使用することとした。

2. GPCによる脂質類と農薬の分離

既報[2]では、キャピラリーカラムや検出器の性能劣化を引き起こす野菜・果実中の脂質類の分離除去にGPCが最良であることを報告した。今回もGPCを用いて輸入玄米抽出液に含まれる脂質と農薬の分離を検討した。Fig. 1にGPCパターンを示した。玄米脂質はジクロロメタン-シクロヘキサン(1:1)混液の溶出画分10まで(0~100ml)に97%以上流出し、画分11には3%以下であった。これに対して農薬では、プレチラクロール、シハ



Scheme 1. Systematic Determination Procedure of Pesticide Residues in Rice

ロトリン及びフルバリネートが画分10に10%, 7%及び16%程度流出した。これらの農薬が早く流出するのは、分子量312のプレチラクロールではアセトアニリド構造が関与するのかもしれない。シハロトリンやフルバリネートでは分子量が450及び503と外の農薬よりも大きく、いずれも分子末端にトリフルオロメチル基を有しており、GPC保持能との関連性があるのではないかと興味をもたれる。

これらの農薬以外は、画分11から画分19までに流出した。得られた結果から、既報[2]と同様に画分10まで(0~100ml)の脂質画分を除去し、画分11から画分20まで(100~200ml)の農薬画分を分取することにした。

3. ミニカラム吸着剤によるクリーンアップ

GPCの農薬画分については、有機リン系農薬を対象とする場合は直接GC測定が可能であった。しかしながら、有機塩素系、ピレスロイド系及び有

機窒素系農薬については、GPC後に残る微量の脂質や妨害成分の除去が必要であり、フロリジルまたはシリカゲルによるクリーンアップを検討した。

フロリジルミニカラムでは、シリカゲルミニカラムに比較して野菜中のクロロフィルや玄米抽出油等の脂質除去効果があったので、フロリジルを用いた検討から入った。

最初に、有機塩素系及びピレスロイド系について、フロリジルによる農薬の溶出状況を調べた。Table 1に有機塩素系及びピレスロイド系農薬のデータを示した。有機塩素系農薬は、ヘキサンのみによる展開では20mlまでにBHC異性体(δ -BHCを除く)、DDT類、PCNBなど100%流出した。ピレスロイドでは吸着剤に吸着されており流出しなかった。酢酸エチル-ヘキサン(15:85)混液による展開では、有機塩素系農薬やピレスロイド系農薬はそれぞれ10ml及び5mlまでに流出した。従って、今回は有機塩素系やピレスロイド系農薬

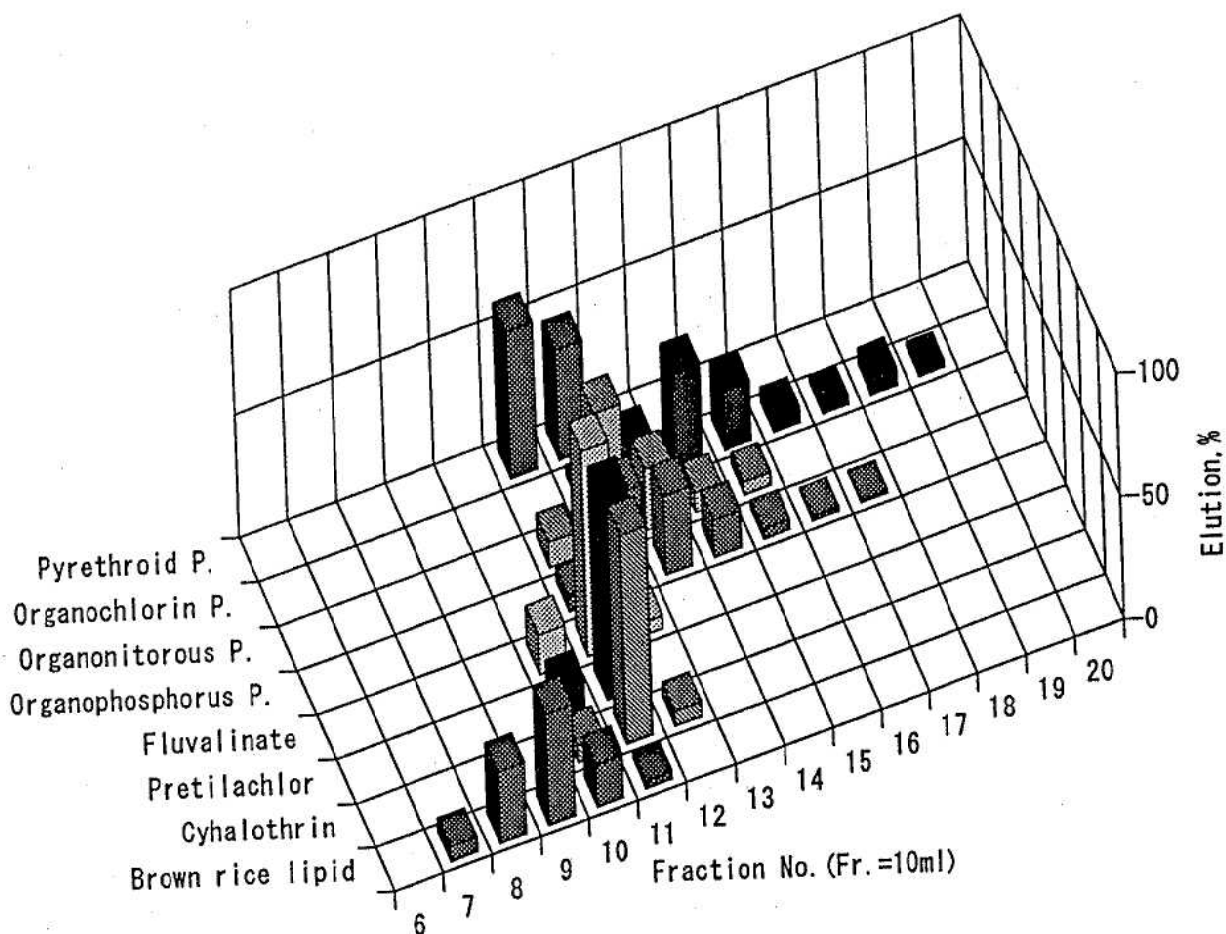


Fig. 1. GPC Patterns of Brown rice lipid and Pesticides

Table 1. Elution Patterns of 15 Organochlorin and 10 Pyrethroid Pesticides by Florisil Minicolumn Chromatography for Cleanup

Pesticide	Amount added (μg)	Elution(%)			
		Hexane	Ethyl Acetate-Hexane(15:85)		
		0~20 ^{ml}	0~5	5~10	10~15 ^{ml}
1 α -BHC	0.1	109	79	1	0
2 β -BHC	0.2	106	93	1	0
3 γ -BHC	0.1	103	84	2	0
4 δ -BHC	0.1	8	93	1	0
5 Aldrin	0.04	84	85	0	0
6 Dieldrin	0.06	0	98	0	0
7 Endrin	0.1	0	100	0	0
8 pp'-DDE	0.06	95	93	0	0
9 pp'-DDT	0.06	105	103	0	0
10 pp'-DDD	0.1	102	92	0	0
11 Dicofol	0.6	37	78	0	0
12 Chlorbenzilate	1.0	0	99	19	0
13 Fthalide	0.1	0	78	35	0
14 Chlornitrofen	0.1	0	98	2	0
15 PCNB	0.1	102	78	1	0
16 Cyhalothrin	0.1	0	93	0	0
17 Permethrin	1.0	0	94	0	0
18 Cypermethrin	0.4	0	100	0	0
19 Fenvalerate	0.4	0	110	0	0
20 Deltamethrin	0.4	0	70	0	0
21 Fenpropathrin	0.4	0	95	0	0
22 Cyfluthrin	0.4	0	88	0	0
23 Flucythrinate	0.4	0	103	0	0
24 Fluvalinate	0.4	0	98	0	0
25 Cycloprothrin	2.0	0	95	0	0

Two ml of standard solution containing 0.02~1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of each pesticide in hexane was loaded on Sep-pak Florisil.

The pesticides were eluted with hexane or ethyl acetate-hexane mixture, respectively.

の両方を対象としているので、ヘキサン洗浄による農薬以外の溶出物の除去は不可能であり、最初から酢酸エチル-ヘキサン混液による展開で農薬画分である流出液10mlをとることとした。しかしながら、玄米試料のフロリジルカラム処理後のECDガスクロマトグラムでは、処理前にみられた妨害ピークが消失した。

これに対して、フロリジルを用いた有機窒素系農薬の溶出状況は、ピレスロイドと同様にヘキサン20mlによる展開では流出せず、アセトン-ヘキ

サン(30:70)混液で展開すると流出液30mlまでに溶出した。しかしながら、フロリジルではオキサミル(34%)やアルジカルブ(52%)の溶出率が低かった。フロリジルではオキサミル等の吸着が強く、吸着剤表面での分解も考えられるため、シリカゲルを用いて有機窒素系農薬の溶出状況を調べた。その結果をTable 2に示した。フロリジルに比べて吸着力が弱いシリカゲルを用いた場合でも、ヘキサンによる展開では農薬の流出がみられなかった。次にアセトン-ヘキサン(30:70)

Table 2. Elution Patterns of 19 Organonitrous Pesticides by Silicagel Minicolumn Chromatography for Cleanup

Pesticide	Amount added (μ g)	Elution(%)			
		Hexane	Acetone-Hexane(30:70)		
		0~20 ^{ml}	0~5	5~10	10~15 ^{ml}
1 Aldicarb	1.0	0	96	0	0
2 Isoprocab	0.6	0	91	2	0
3 Oxamyl	2.0	0	0	80	14
4 Bendiocarb	0.6	0	98	1	0
5 Pirimicarb	0.2	0	108	0	0
6 Esprocarb	1.0	0	103	0	0
7 Thiobencarb	1.0	0	105	0	0
8 Pendimethalin	1.0	0	86	0	0
9 Pretilachlor	2.0	0	102	0	0
10 Flutolanil	3.0	0	110	0	0
11 Chinomethionate	1.0	0	105	0	0
12 Mepronil	4.0	0	106	0	0
13 Propiconazole	2.0	0	103	2	0
14 Mefenacet	2.0	0	105	0	0
15 Chlorpropham	1.0	0	87	0	0
16 Diethofencarb	0.5	0	99	0	0
17 Carbaryl(NAC)	0.3	0	100	0	0
18 Triadimenol	0.5	0	90	5	0
19 Bitertanol	1.0	0	62	19	0

Two ml of standard solution containing 0.1~2 μ g/ml of each pesticide in hexane was loaded on Sep-pak Silica. The pesticides were eluted with hexane or acetone-hexane mixture, respectively.

混液による展開を行なうと、流出液15mlまでにオキサミル、アルジカルブなど全ての窒素系農薬が溶出し溶出率も良好であった。そこで有機窒素系農薬のクリーンアップは、試料をシリカゲルミニカラムへ通した後、ヘキサン20mlで洗浄して農薬以外の溶出物を除去後、アセトン-ヘキサン混液で農薬を溶出することにした。実際に、精白米及び玄米試料のシリカゲルカラム処理後のFTDガスクロマトグラムは、処理前に比べて妨害ピークが消失し、クリーンアップ効果があった。

4. 添加回収実験

輸入玄米及び精白米に農薬を添加後、GPC及びミニカラムクリーンアップを用いた本法による各

農薬の回収率を求め、結果をTable 3~5に示した。

有機窒素系農薬の回収率 (Table 3) は、玄米ではジェットフェンカルブの62%からベンダイオカルブの109%の範囲であり、精白米ではジェットフェンカルブの60%からメフェナセットの108%の範囲にあっていずれも良好な回収率であった。GC測定時の輸入米の試験溶液からは、DB-17カラムで測定するとイソプロカルブ、チオベンカルブの位置にピークが出現した。しかしながら、DB-1カラムでは両農薬は検出されなかったことから、これらのカラムを併用すると定性、定量が可能であった。

有機塩素系農薬の回収率 (Table 4) は、玄米

Table 3. Recoveries of 19 Organonitrogen Pesticides Spiked to Imported Rice

Pesticide	Spiked level ($\mu\text{g/g}$)	Detection limit ($\mu\text{g/g}$)	Recovery(%)	
			Brown rice (USA)	Polished rice (Thailand)
1 Aldicarb	0.1	0.005	69.0	66.5
2 Isoprocarb	0.06	0.01	94.4	82.8
3 Oxamyl	0.1	0.005	87.0	104.0
4 Bendiocarb	0.06	0.005	109.4	100.0
5 Pirimicarb	0.02	0.005	90.0	87.5
6 Esprocarb	0.1	0.01	95.7	87.0
7 Thiobencarb	0.1	0.01	91.7	82.0
8 Pendimethalin	0.1	0.01	92.8	82.9
9 Pretilachlor	0.2	0.01	69.8	93.8
10 Flutolanil	0.3	0.01	80.1	101.0
11 Chinomethionate	0.1	0.01	93.7	76.0
12 Mepronil	0.4	0.01	96.6	99.2
13 Propiconazole	0.2	0.01	89.5	99.8
14 Mefenacet	0.2	0.01	95.0	108.0
15 Chlorpropham	0.1	0.01	98.8	94.0
16 Diethofencarb	0.1	0.01	62.5	60.0
17 Carbaryl (NAC)	0.1	0.01	100.0	102.5
18 Triadimenol	0.1	0.01	92.5	97.2
19 Bitertanol	0.2	0.01	100.0	100.0

ではアルドリン及びジコホルの83%からエンドリンの118%であり、精白米では α -BHCの60%からエンドリンの105%の範囲にあって良好な回収率であった。

ピレスロイド系農薬の回収率 (Table 4) は、玄米ではデルタメトリンを除き、シクロプロトリンの61%からフェンバレーートの97%の範囲となって良好な回収率であった。しかし、デルタメトリンは47%と低率であった。これは、ミニカラ

ムクリーンアップ時のフロリジルへの吸着が一因と考えられる。宮田ら [5] もピレスロイド系農薬の回収率がフロリジルカラム処理により、かなり低下 (デルタメトリンの大豆, たまねぎ添加で41%, 49%) したと報告しており、今回、同様の結果が得られた。精白米では、シハロトリン58%からベルメトリンの95%と良好な回収率であった。

有機リン系農薬の回収率 (Table 5) については、玄米ではテルブホスの50%からイソキサチオ

Table 4. Recoveries of 15 Organochlorin and 10 Pyrethroid Pesticides Spiked to Imported Rice

Pesticide	Spiked label ($\mu\text{g/g}$)	Detection limit ($\mu\text{g/g}$)	Recovery(%)	
			Brown rice (USA)	Polished rice (Thailand)
1 α -BHC	0.01	0.002	100.0	60.0
2 β -BHC	0.02	0.004	108.8	79.0
3 γ -BHC	0.01	0.002	98.8	68.0
4 δ -BHC	0.01	0.002	95.0	78.0
5 Aldrin	0.006	0.005	83.3	67.5
6 Dieldrin	0.006	0.005	100.0	90.0
7 Endrin	0.01	0.005	118.0	105.0
8 pp'-DDE	0.006	0.002	106.2	90.7
9 pp'-DDT	0.01	0.002	110.0	90.0
10 pp'-DDD	0.01	0.002	102.5	98.0
11 Dicofol	0.06	0.01	83.3	103.3
12 Chlorbenzilate	0.1	0.02	95.0	102.0
13 Fthalide	0.01	0.002	110.0	89.0
14 Chlornitrofen	0.01	0.002	102.5	88.0
15 PCNB	0.01	0.002	103.8	64.0
16 Cyhalothrin	0.01	0.01	76.2	58.0
17 Permethrin	0.1	0.02	96.0	95.0
18 Cypermethrin	0.04	0.01	97.5	87.5
19 Fenvalerate	0.04	0.01	97.5	81.5
20 Deltamethrin	0.04	0.01	47.5	77.5
21 Fenpropathrin	0.04	0.01	75.0	91.5
22 Cyfluthrin	0.04	0.005	85.0	91.0
23 Flucythrinate	0.04	0.005	75.0	90.0
24 Fluvalinate	0.04	0.01	62.5	80.0
25 Cycloprothrin	0.2	0.02	61.5	80.0

Table 5. Recoveries of 33 Organophosphorus Pesticides
Spiked to Imported Rice

Pesticide	Spiked label ($\mu\text{g/g}$)	Detection limit ($\mu\text{g/g}$)	Recovery(%)	
			Brown rice (USA)	Polished rice (Thailand)
1 Dichlorvos(DDVP)	0.1	0.01	80.0	63.0
2 Salithion	0.1	0.005	97.5	84.0
3 Dimethoate	0.1	0.01	110.0	122.0
4 Cyanophos(CYAP)	0.1	0.01	102.0	90.0
5 Diazinon	0.1	0.01	97.5	89.0
6 Dichlofenthion(ECP)	0.1	0.01	100.0	92.0
7 Chlorpyrifos methyl	0.1	0.005	105.0	91.0
8 Fenitrothion(MEP)	0.1	0.01	93.8	93.0
9 Pirimiphos methyl	0.1	0.01	100.0	90.4
10 Malathion	0.1	0.01	102.5	94.0
11 Fenthion(MPP)	0.1	0.005	65.0	80.0
12 Chlorpyrifos	0.1	0.01	102.5	98.0
13 Phenthoate(PAP)	0.1	0.005	112.5	88.0
14 Methidathion(DMTP)	0.1	0.01	105.0	92.0
15 Prothiophos	0.1	0.01	100.0	96.0
16 Isoxathion	0.1	0.01	125.0	112.0
17 Ethion	0.1	0.005	106.5	92.0
18 Edifenphos(EDDP)	0.2	0.01	72.5	81.5
19 Pyridaphenthion	0.2	0.01	62.5	109.0
20 EPN	0.2	0.01	61.3	115.5
21 Phosalone	0.2	0.01	107.5	111.1
22 Omethoate	0.16	0.01	125.0	100.0
23 Ethoprophos	0.1	0.005	111.2	68.0
24 Monocrotophos	0.2	0.005	104.4	61.0
25 Terbufos	0.2	0.005	50.0	74.0
26 Etrimfos	0.1	0.01	101.2	101.0
27 Parathion methyl	0.1	0.01	95.0	100.4
28 Parathion	0.1	0.01	90.0	85.0
29 α -Chlorfenvinphos	0.2	0.01	105.0	99.0
30 β -Chlorfenvinphos	0.2	0.01	106.8	107.0
31 Quinalphos	0.1	0.01	100.0	74.0
32 Fensulfothion	0.2	0.02	83.1	105.0
33 Phosmet(PMP)	0.2	0.02	103.1	108.0

ン及びオメトエートの各125%の範囲にあり、精白米ではモノクロトホスの61%からジメトエートの122%の範囲にあった。

以上の結果から得られた添加回収率は、有機窒素系、有機塩素系、ピレスロイド系及び有機リン系農薬の77成分分析法として充分満足できる数値であり、今回、検討した分析法は、輸入米及び国産米などの穀類のみでなく、農産物一般に適用できる簡易で迅速な分析法と考えられる。

文 献

1. 齊藤行雄, 山本 敦, 水上英一(1992). 富山衛研年報, 15, 139-146.
2. 齊藤行雄, 山本 敦, 水上英一(1993). 富山衛研年報, 16, 210-214.
3. 奥村為男(1993). 水環境学会誌, 16, 155-159.
4. 奥村為男(1991). 第32回大気汚染学会講演要旨集, 161-162.
5. 宮田昌弘, 鎌倉和政, 平原嘉親, 成田美加子, 岡本浩一郎, 長谷川真住, 鯉口 智, 山名孝善, 外海泰秀, 伊藤誉志男(1993). 食衛誌, 34, 496-507.

健康女性における腰椎骨塩量の変化と骨代謝指標に 関する追跡調査

西野 治身 田中 朋子 堀井 裕子 伊木 雅之¹
日下 幸則¹ 梶田 悦子² 鏡森 定信³

Relationship between the Lumbar Vertebral Bone
Loss and the Mean Values of Biochemical Markers
of Bone Metabolism in Healthy Middle-aged and
Aged Women Evaluated by a Longitudinal Study

Harumi NISHINO, Tomoko TANAKA, Yuko HORII,
Masayuki IKI¹, Yukinori KUSAKA¹, Etsuko KAJITA²
and Sadanobu KAGAMIMORI³

要 旨 中高年女性における腰椎骨密度 (BMD) と骨代謝回転の生化学指標を、2 年間追跡調査し次の結果を得た。

1. BMDは35～39歳の若年齢層で、2年後に有意に低下していた。
2. 骨代謝指標は、骨吸収の指標とされる尿中ハイドロキシプロリン (Hyp/Cr) が、35～39歳の若年齢層で初回時に高値を示したが、骨形成の指標とされる血清骨型アルカリフォスファターゼ (B-AIP) に有意な変化はみられなかった。
3. 閉経との関係では、BMDは閉経後2年未満群、すなわち追跡期間中に閉経を迎えた群で最大の低下率を示した。
4. 閉経群の骨代謝指標について、未閉経群と比較すると、Hyp/Crは、閉経後2年未満群の初回時に有意に高値を示したが、B-AIPは、閉経後2年以上群で有意に高値を示した。

以上の結果から、中高年女性の腰椎骨密度は35歳以前に最大骨量に達し、その後閉経直後に大きく低下するが、その低下の機序は、閉経前に先ず骨吸収の亢進が始まることによる可能性が示唆された。

骨粗しょう症の危険性が高い中高年女性における骨量減少要因を、骨代謝回転の生化学指標を通して明らかにするため、これまで、骨吸収の指標として尿中ハイドロキシプロリン (Hyp)、骨形成の指標として血清骨型アルカリフォスファター

ゼ (B-AIP) および血清オステオカルシン (BGP) を測定し、それぞれの変動と年齢および閉経との関連を検討してきた。その結果、Hyp、B-AIP、BGPはいずれも年齢と有意な正の相関を示したが、この関係は直線的ではなく、特に30

歳代に比べ50歳代での上昇が顕著であることを報告した [1, 2]。一方, 同一対象者における腰椎骨密度は30歳代に比し40歳代では有意差はなく, 50歳代で有意に低下していた。そして骨代謝指標の急激な上昇時期と一致していることも報告した [2]。

そこで今回は, 2年間の追跡調査を行い, 35歳以上での骨密度低下の実態を明らかにするとともに, 骨代謝指標の経年変化と骨密度低下との関係, さらに年齢, 閉経との関係を解析したので報告する。

対象および方法

福井県在住の35歳以上の女性169人について1990年から2年間, 第2～第4腰椎骨密度 (Bone mineral density; 以下BMD) の変化をDual energy X-ray absorptiometry (Hologic社, QDR-1000/W) によって追跡した。同時に, 1990年の初回時と1992年の追跡時における骨代謝指標, すなわち骨形成の指標として血清B-AIP, 骨吸収の指標として早朝第1尿のHypを測定し, その変化を追跡した。血清B-AIPはRosalky法

[3] の改良法 [4] により, 尿中Hypは池田らの方法 [5] で測定し, クレアチニン (Cr) はFolin-Wu法に従った。解析にあたり, 尿中HypはCr補正值 (Hyp/Cr) で表した。

結 果

1. BMDと年齢との関係

Table 1に, 初回時の年齢階級別に, 初回時 (1990年) と追跡時 (1992年) のBMDを平均値と標準偏差で表した。

BMDは加齢に伴い低下傾向を示した。隣り合わせの年齢層間では, 初回時は40歳代と50歳代, 50歳代と60歳代の間で有意差があり (各々 $p<0.001$, $p<0.05$), 追跡時では40歳代と50歳代間で有意差がみられた ($p<0.001$)。初回と追跡時を比較すると, 70歳代を除く全年齢階級で追跡時に有意に低下していた。

Table 2は, 初回時の各年齢階級におけるBMD変化率を示したものである。

平均低下率は年間1.75%であったが, 10歳階級別では, 特に50歳代で年間2.57%の著しい低下を示し, その後低下の程度は鈍化した。

Table 1. Bone Mineral Density(g/cm²) of 10-year Age Groups in 1990 and 1992.

Age group in 1990	n	1990		1992		t-test
		Mean	SD	Mean	SD	
35-39	13	1.017 ± 0.149		0.995 ± 0.143		*
40-49	24	1.031 ± 0.142	] †††	1.002 ± 0.146	] †††	***
50-59	58	0.836 ± 0.160		0.793 ± 0.155		***
60-69	60	0.770 ± 0.147	] †	0.749 ± 0.149		***
70-81	14	0.700 ± 0.149		0.681 ± 0.145		ns
All subject	169	0.843 ± 0.184		0.813 ± 0.182		***

*, *** ; Significantly different from the value in 1990 by paired t-test, at $p<0.05$, $p<0.001$, respectively.

† ; $p<0.05$, ††† ; $p<0.001$

ns ; Not significant.

2. 骨代謝指標と年齢との関係

骨密度の低下が著しい年齢階級近辺では骨代謝指標は大きく変動する可能性がある。

そこでTable 3に、骨吸収の指標とされる尿中Hyp/Crの値を初回時の年齢階級別に示し、各年齢層間で比較を行なった。初回時では40歳代に比べて50歳代が有意に高値 ($p<0.001$) を示し、

Table 2. Percentage Rate of Change in BMD per Year at the Time of Follow-up Study of 10-year Age Groups.

Age group in 1990	n	Change of BMD(%)	
		Mean	SD
35-39	13	-1.033	1.662
40-49	24	-1.465	1.825
50-59	58	-2.567	1.817
60-69	60	-1.350	2.643
70-81	14	-1.261	3.235
All subject	169	-1.752	2.350

†† ; $p<0.01$

追跡時では30歳代に比べ40歳代、さらに40歳代に比べ50歳代がそれぞれ有意に高値を示した (各々 $p<0.05$, $p<0.01$)。初回と追跡時を比較すると、30歳代、50歳代および60歳代のHyp/Crはいずれも初回時に高い値を得た。

Table 4に、骨形成の指標とされる血清B-AIPの変化を初回時の年齢階級別に示した。各年齢層別の比較では、どの調査時においても50歳代が40歳代より有意に高値 (各 $p<0.001$) を示した。初回時と追跡時を比べると、50歳代、60歳代の値は追跡時に高値を示した。

3. BMDと閉経との関係

50歳代のBMDは40歳代より明らかに低値を示し、変化率も最大であった (Table 1, Table 2)。一方、70歳以上の高齢者では有意な変化がみられなかったことから、BMDは閉経期に大きく低下し、その後低下率は鈍化するだろうと思われる。そこで、閉経期におけるBMD低下の状況をさらに詳細に検討するため、追跡調査時の閉経後年数別に、BMD低下率をTable 5に示した。閉経後2年未満、すなわち、追跡期間中に閉経したものでは、平均 3.14%と最大の低下率を示した。その後低下の割合は小さくなり、閉経後10年

Table 3. Mean Values and Standard Deviations of Urinary Hyp/Cr(mg/gCr) in Age Groups in 1990 and 1992.

Age group in 1990	n	1990		1992		t-test
		GM	GSD	GM	GSD	
35-39	12	25.4	1.233	18.6	1.43	†
40-49	24	27.9	1.531	27.2	1.656	
50-59	58	42.1	1.393	36.6	1.432	††
60-69	60	42.2	1.449	34.0	1.466	
70-81	14	42.2	1.445	35.1	1.291	ns
All subject	168	37.7	1.493	32.4	1.528	***

*, *** ; Significantly different from the value in 1990 by paired t-test, at $p<0.05$, $p<0.001$, respectively.

† ; $p<0.05$, †† ; $p<0.01$, ††† ; $p<0.001$

GM ; Geometric mean

GSD ; Geometric standard deviation

ns ; Not significant

以上では有意な低下が認められなくなった。

4. 骨代謝指標と閉経

次に各骨代謝指標の上昇と閉経との関係を調べた。未閉経群と閉経群に分け、前者は初回時年齢階級別に (Table 6), 後者は追跡時の閉経後年

数別 (Table 7) に示した。

未閉経群について初回と追跡時を比較したところ、尿中Hyp/Crは35~39歳群で初回時に高値を示した (Table 6-(1))。一方、血清B-AIPではどの年齢群でも変化はみられなかった (Table

Table 4. Mean Values and Standard Deviations of Serum Bone-AIP(BLU) in Age Groups in 1990 and 1992.

Age group in 1990	n	1990	1992	t-test
35-39	13	0.84 ± 0.24	1.04 ± 0.33	ns
40-49	23	1.06 ± 0.26	1.11 ± 0.29	ns
50-59	51	1.50 ± 0.45	1.65 ± 0.44	**
60-69	54	1.45 ± 0.44	1.57 ± 0.51	**
70-81	11	1.48 ± 0.27	1.44 ± 0.32	ns
All subject	152	1.36 ± 0.45	1.47 ± 0.48	***

, * ; Significantly different from the value in 1990 by paired t-test, at $p < 0.01$, $p < 0.001$, respectively.

††† ; $p < 0.001$

ns ; Not significant.

Table 5. The Rate of Bone Loss per Year by Menopausal Status and Postmenopausal Duration at the Time of Follow-up Study.

Years(y) after menopause	n	Change of BMD(%) Mean	SD	
< 2 y	8	-3.141	1.417	*
2 y—	12	-2.735	1.839	*
5 y—	23	-2.622	1.640	*
10 y—	21	-1.760	2.200	
15 y—	28	-1.233	2.681	
20 y—	27	-1.565	3.132	
Pre	41	-1.444	1.880	

* ; Significantly different from the premenopausal women, at $p < 0.05$.

Table 6. The Biochemical Markers of Bone Resorption (1) and Bone Formation (2) of Premenopausal Women by Age-group in 1990 and 1992.

(1) Hyp/Cr(mg/gCr)					
Age group in 1990	n	1990 GM	1990 GSD	1992 GM	1992 GSD
35-39	12	25.4 ± 1.245		19.7 ± 1.466	
40-49	20	27.9 ± 1.545		27.5 ± 1.622	
50—	8	36.6 ± 1.250		34.3 ± 1.416	
(2) B-AIP(BLU)					
Age group in 1990	n	1990	1992	t-test	
35-39	13	0.84 ± 0.24	1.04 ± 0.32	ns	
40-49	19	1.06 ± 0.26	1.07 ± 0.27	ns	
50—	7	1.21 ± 0.30	1.64 ± 0.47	ns	

* ; Significantly different from the value in 1990 by paired t-test, at $p < 0.05$.

ns ; Not significant

Table 7. The Biochemical Markers of Bone Resorption (1) and Bone Formation (2) of Postmenopausal Women Divided by Period After Menopause in 1990 and 1992.

(1) Hyp/Cr[mg/gCr]				
Years after menopause	n	1990 GM GSD	1992 GM GSD	
<2y	8	38.1 ± 1.306 [†]	31.3 ± 1.380	
2y-	12	31.4 ± 1.282	37.4 ± 1.578 [†]	
5y-	23	48.2 ± 1.439 ^{††}	39.2 ± 1.426 ^{††}	
10y-	21	47.3 ± 1.384 ^{††}	33.3 ± 1.510 [†]	
15y-	28	40.1 ± 1.426 ^{††}	34.7 ± 1.449 [†]	
20y-	27	38.5 ± 1.413 [†]	33.0 ± 1.315 [†]	
Pre	40	28.7 ± 1.439	25.6 ± 1.618	

(2) B-AIP[BLU]			
Years after menopause	n	1990	1992
<2y	7	1.11 ± 0.23	1.49 ± 0.47
2y-	12	1.36 ± 0.35 ^{††}	1.71 ± 0.48 ^{††}
5y-	20	1.51 ± 0.51 ^{††}	1.58 ± 0.58 ^{††}
10y-	18	1.53 ± 0.48 ^{††}	1.77 ± 0.52 ^{††}
15y-	27	1.49 ± 0.43 ^{††}	1.49 ± 0.37 ^{††}
20y-	22	1.46 ± 0.37 ^{††}	1.49 ± 0.42 ^{††}
Pre	41	1.02 ± 0.30	1.15 ± 0.39

†, ††, †††; Significantly different from the premenopausal women at p<0.05, p<0.01, p<0.001.

6-(2))。

閉経群について、閉経後年数別に各指標を未閉経群と比較したところ、Hyp/Crは、初回時に2年未満群と5年以上群で高値を示し〔Table 7-(1)〕、追跡時に2年以上群で高値を示した。B-AIPは初回、追跡時とも2年未満群では変化がみられず、2年以上群で高値を示した〔Table 7-(2)〕。

考 察

腰椎BMDは、これまでの断面調査では、30歳代と40歳代の平均値に有意差がなく、この年代での骨量減少は観察できなかった。しかし、今回追跡調査の結果、35～39歳代の若年齢層で2年間にBMDは有意に低下していることが明らかとなっ

た (Table 1)。それ故、35歳までに女性の骨量は最大に達しているものと思われる。この時期の骨代謝指標は、35～39歳代では、Hyp/Crはすでに初回時に高く、骨吸収が促進されている可能性が考えられたが、B-AIPに有意な変化がみられず、骨形成は伴っていないものと推測される。従って、30歳代での骨リモデリングは骨吸収にやや傾いた状態にある可能性が示唆され、このような骨代謝にみられる変化と、30歳代におけるBMD低下の事実とは合致していると思われる。

一方、50歳代で認められた顕著なBMD低下率は、その後高齢者で小さくなることから (Table 2)、骨密度の低下は、50歳付近で最大となりその後は鈍化すると考えられる。50歳代は閉経期に相当するため、この変化を閉経との関連においてさらに詳細に検討した。閉経後年数別にBMD低下率を比較した結果 (Table 5)、2年未満、すなわち追跡期間中に閉経となった閉経直後の群でBMDは最も大きく低下し、その後も10年までの間、低下の亢進が続いていることを示唆する。

BMDがこのような大きく変化していた時期の骨代謝は、他の時期とはかなり様相が異なるだろうと考えられる。そこで、尿中Hyp/Crおよび血清B-AIPの値を通して、骨吸収と骨形成の変化を推測し、骨リモデリングへの影響を考察した。

Hyp/Crは、閉経後2年未満群の初回時 (未閉経) に高値を示し〔Table 7-(1)〕、骨吸収が閉経前から亢進している可能性が示唆された。一方、B-AIPは初回時、追跡時とも2年未満群の上昇は認められなかった。それ故、閉経後2年未満群では骨吸収が亢進しているが、骨形成に変化がみられず、相対的に骨吸収優位なアンカップリング状態にあることを示唆する。腰椎BMDが閉経直後に大きく低下したのは、このようなアンカップリング状態で骨代謝回転が加速された結果を反映するものと解釈された。

今後追跡調査を継続することにより、閉経前からのBMDと骨代謝指標の変化を詳細に調べ、指標を通してBMDに影響する要因を解析し、より効果的な予防対策の確立に貢献したいと考える。

文 献

1. 西野治身, 田中朋子, 梶田悦子, 伊木雅之, 緒方 昭 (1992). 富山衛研年報 15, 156-160.
2. 西野治身, 田中朋子, 林 徹雄, 土肥祥子, 梶田 悦子, 伊木雅之 (1993). 富山衛研年報, 16, 146-151.
3. Rosalki, S. B. and Foo, A. Y. (1984). Clin. Chem., 30, 1182-1186.
4. 窪田一男 (1989). J. Nara Med. Ass., 40, 202-217.
5. 池田真吾, 大澤誠喜, 鈴木孝人, 加納堯子, 溝口 勲 (1987). 東京衛研年報, 38, 277-281.
6. 折茂 肇 (1987). カルシウム・ビタミンと骨粗鬆症, 35-38, メジカルビュー社

骨代謝指標としての血清酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ

堀井 裕子 田中 朋子 西野 治身
梶田 悦子¹ 伊木 雅之² 日下 幸則²

Serum Tartrate Resistant Acid Phosphatase as a Biochemical Marker of Bone Metabolism

Yuko HORII, Tomoko TANAKA, Harumi NISHINO,
Etsuko KAJITA¹, Masayuki IKI²
and Yukinori KUSAKA²

要 旨 中高年女性について血清酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ(Tr-ACP)を測定し、年齢、閉経による変動を解析した。さらに、尿中ヒドロキシプロリン(Hyp)および腰椎骨密度(BMD)との関連性を検討し、以下の結果を得た。

1. Tr-ACPは30, 40歳代に比べ50歳以上で高値を示した。
2. 閉経との関連では、閉経期である45~54歳のグループにおいて、閉経者のTr-ACPは未閉経者に比べ有意に高値であった。
3. Tr-ACPと尿中Hypの間には有意な正の相関が認められた。
4. Tr-ACPの上昇はBMDの低下と関連がみられた。

加齢に伴う骨粗しょう症予防の見地から、我々は骨粗しょう症のリスクが高いと考えられる中高年女性について骨代謝の生化学指標を測定し、その変動要因の検討を行ってきた。これまでの調査では尿中ヒドロキシプロリン(Hyp)は50歳代の閉経後に増加していることがわかり、骨吸収の程度を反映する指標として有効であることが示された[1]。

一方、酸性フォスファターゼ(Acid phosphatase, ACP)は生体内の様々な臓器に分布しており、特に前立腺に多く存在するため、主として前立腺癌の診断や予後の判定に用いられてきた[2]。しかし、ACPは骨組織にも存在し、悪性腫瘍が骨転移した場合にも高値を示すことが明らかに

なった[3]。また、ACPには酒石酸に対する感受性のちがいによりいくつかのタイプが存在する。すなわち酒石酸により酵素活性が抑制される酒石酸阻害性ACP(Tartrate inhibited ACP, Ti-ACP)と抵抗性を示す酒石酸抵抗性ACP(Tartrate resistant ACP, Tr-ACP)に分けられる[4]。Ti-ACPは前立腺に多く存在するのに対し、Tr-ACPは骨組織、特に破骨細胞に存在が認められることから骨吸収との関連が推測された[5]。

そこで今回は、中高年女性について血清中Tr-ACP活性の加齢変化を把握すると共に、骨吸収の指標とされる尿中Hypおよび腰椎BMDとの関係を解析した。

対象及び方法

対象は、福井県内の2地区に住む37～83歳の健康な女性（婦人科手術による閉経者を除く）165名である。

血清中ACP活性はp-ニトロフェニルリン酸基質法（酸性フォスファターゼテストワコー）により測定し、酒石酸存在下で測定したACP活性をTr-ACP、それを総ACP活性から差し引いたものをTi-ACPとした。尿中のHypは尿を6N-塩酸酸性下115℃で一晩加水分解後、池田らの方法〔6〕に従い中和処理を行い、Bergman-Loxley法に準じて測定した。クレアチニンの測定はFolin-Wu法に従った。以下の検討でHyp値はクレアチニン補正值（Hyp/Cr）を用いた。BMDは第2から第4腰椎骨（L₂～L₄）を二重エネルギーX線吸収法（Dual-energy X-ray absorptiometry, DXA）により測定し、その平均値で表した。

結果及び考察

1. 血清ACP活性について

血清中の各ACP活性値は全て正規型に近い分布を示した。

各ACP活性を年齢階層別にTable 1に示した。

総ACP活性値は全体で平均0.54±0.09（最低0.31, 最高0.83）Bessey Lowry Unit（以下BL

U）であった。隣り合う年齢層間で比較すると、30歳代と40歳代の間で有意差はなかったが、40歳代に比べ50歳代は有意に高い値を示し（ $p<0.001$ ）、60歳代以後も高い値を持続した。

Tr-ACPの平均値は0.45±0.09（最低0.25, 最高0.78）BLUであった。年齢階層別でみると、30歳代と40歳代は変わらなかったが、50歳代では有意に高くなり（ $p<0.001$ ）、それ以上の年代でも高値であった。

Ti-ACPについては平均0.09±0.03（最低0.03, 最高0.16）BLUで、年齢による違いはなかった。

総ACP、Tr-ACP、Ti-ACPの三者間の関連についてみると（Fig. 1）、総ACPとTr-ACPには高い相関がみられ（ $r=0.96, p<0.001$ ）、これはTr-ACPが総ACPの約80%を占めるためと考えられる。さらに、総ACPはTi-ACPとの間にも有意な相関があり（ $r=0.37, p<0.001$ ）、総ACPの値はTr-ACPとTi-ACPの両方の値の影響を受けることが示された。しかし、Tr-ACPとTi-ACPの間には関連が認められず、これらは別の因子で変動するものと思われる。

2. 閉経との関連について

以下の検討はTr-ACPとTi-ACPについておこなった。

先の年齢階層別での比較でTr-ACPに変化があった女性の50歳代は閉経期に相当するためTr-ACPの高値には閉経が影響していることが推測された。そこで、次に閉経との関連を検討する

Table 1. Serum Acid Phosphatase Activity by Age Groups

Age Group	Number	T-ACP(BLU) Mean±S. D.	Tr-ACP(BLU) Mean±S. D.	Ti-ACP(BLU) Mean±S. D.
37～39	4	0.40±0.07	0.32±0.06	0.08±0.01
40～49	26	0.45±0.08	0.35±0.06	0.09±0.03
50～59	51	0.55±0.08	0.46±0.07	0.09±0.02
60～69	61	0.57±0.09	0.48±0.08	0.09±0.03
70～83	23	0.57±0.07	0.47±0.05	0.09±0.03
Total	165	0.54±0.09	0.45±0.09	0.09±0.03

S. D.; Standard deviation *** $p<0.001$

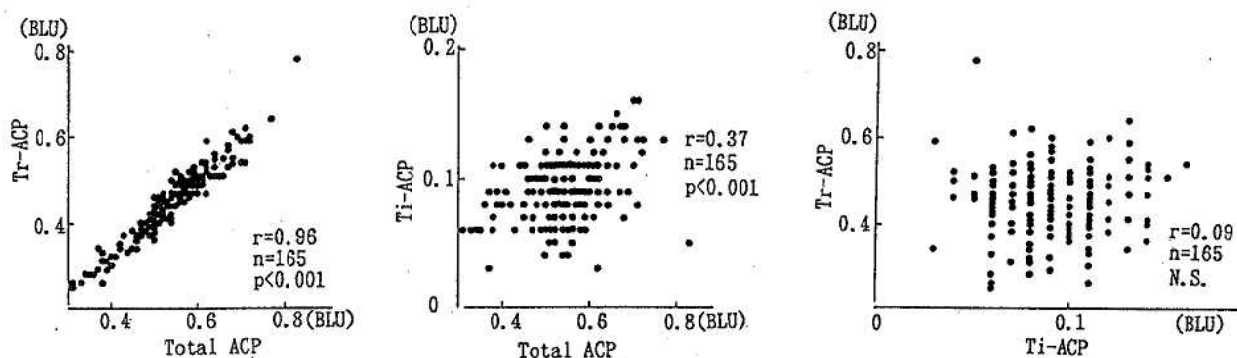


Fig. 1. Relationship between Any of the Two among Total, Tr- and Ti-ACPs

Table 2. Comparison of ACP Activity between the Premenopausal and the Postmenopausal Groups (45~54 year group)

	Premenopausal (n=12)	Postmenopausal (n=16)
Tr-ACP (BLU)	0.36±0.06	0.47±0.07***
Ti-ACP (BLU)	0.09±0.03	0.10±0.03

*** Significantly different from the premenopausal at $p<0.001$

ため、対象者のうち閉経前後の45~54歳の者を抽出し、未閉経者と閉経者に分け両者を比較した (Table 2)。その結果、閉経者のTr-ACPは未閉経者に比べて有意に高く ($p<0.001$)、50歳前後における高値は閉経に関係することが示唆された。Ti-ACPでは未閉経者と閉経者間での違いはなかった。閉経の影響については、今後対象者を追跡調査し閉経前後の変動を検討したいと考えている。

3. 尿中Hyp/Crとの関連

Fig. 2にTr-ACPと尿中Hyp/Crとの関係を示す。Hyp/Crは対数正規に近い分布をしていたため、対数変換した数値で解析した。Tr-ACPはHyp/Crと有意な正の相関を呈し ($r=0.37$, $p<0.001$)、Tr-ACPとHyp/Crの上昇は互いに関連していることが示された。

4. 腰椎BMDとの関連

Tr-ACPとBMDとの相関図をFig. 3に示す。BMDとは有意な負の相関 ($r=-0.26$, $p<0.001$)

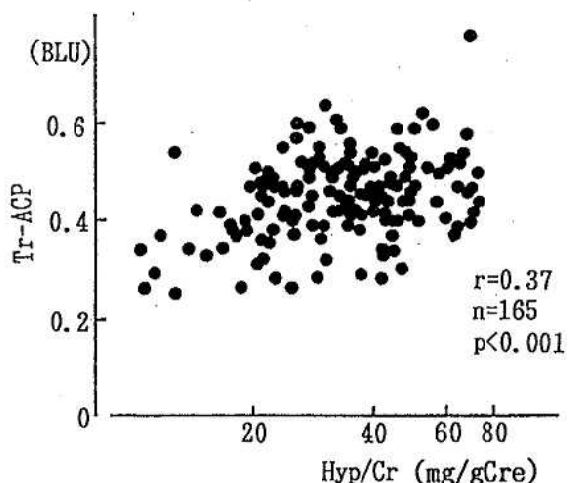


Fig. 2. Relationship between Tr-ACP Activity and Urinary Hydroxyproline

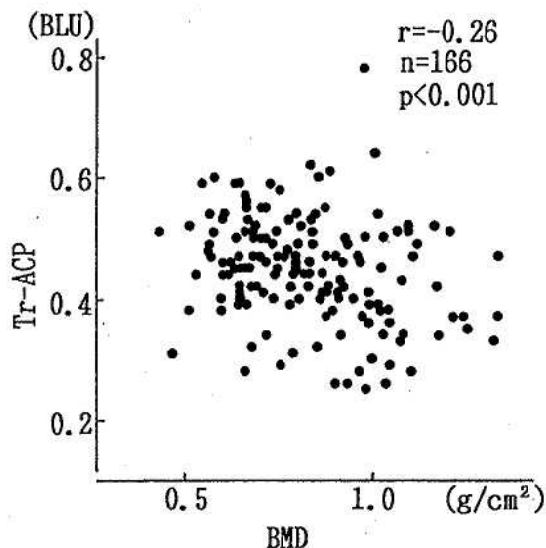


Fig. 3. Relationship between Tr-ACP Activity and Bone Mineral Density

文 献

を示し、尿中Hyp/CrとBMDとの関係($r=-0.24$, $p<0.01$)と類似していた。Ti-ACPについてはHyp/Cr, BMDとの間に共に相関はなく(Hyp/Cr: $r=0.05$, $n=165$, BMD: $r=0.01$, $n=165$)骨代謝との関連はみられなかった。

我々は50歳代の閉経後にBMDが有意に減少することを報告した[7]。Tr-ACPはこのBMDの減少時期に上昇しており、また、BMDの低下と関係していることが示された。従って、Tr-ACPの上昇は閉経期のBMDの減少を反映していると考えられた。

これまでに骨吸収の指標として尿中Hypが有用であることを示したが、Tr-ACPは尿中Hyp/Crと同様の変化を示し、骨吸収の指標として有効であろうと考えられる。

1. 西野治身, 梶田悦子, 伊木雅之, 城石和子, 緒方昭(1991). 富山衛研年報, 14, 164-169.
2. 石部知行(1980). 日本臨床, 38, 春季臨時増刊号, 1340-1349.
3. Scarnecchia, L., Minisola, S., Pacitti, M.T., Carnevale, V., Romagnoli, E., Rosso, R. and Mazzuoli, G. F. (1991). Scand. J. Lab. Invest., 51, 517-524.
4. 菰田二一, 長田篤雄(1988). 臨床検査MOOK 31, 98-106, 金原出版.
5. 今井利夫(1993). 臨床検査, 37(4), 373-377.
6. 池田真吾, 大澤誠喜, 鈴木孝人, 加納堯子, 溝口勲(1987). 東京衛研年報, 13, 171-176.
7. 西野治身, 田中朋子, 林 徹雄, 土肥祥子, 梶田悦子, 伊木雅之(1993). 富山衛研年報, 16, 146-151.

中高年女性における尿酸値と 閉経に関する追跡調査

田中 朋子 堀井 裕子 西野 治身
梶田 悦子¹ 伊木 雅之²

A Follow-up Study on Serum Levels of Uric Acid around the Menopause in Middle-aged and Elderly Women

Tomoko TANAKA, Yuko HORII, Harumi NISHINO,
Etsuko KAJITA¹ and Masayuki IKI²

要 旨 35歳以上の女性について血清尿酸値(UA)を2年後に追跡調査し、閉経および生化学検査値との関連を検討した結果、以下の事がわかった。

1. 閉経期の45～54歳の年齢層について

- (1) この年齢層のUAは前後の年齢層に比べ高く、2年後も高い傾向にあった。
- (2) 初年度閉経者のUAは35～44歳の未閉経の年齢層に比べ初年度、2年後とも高かった。
- (3) 初年度未閉経者(2年間に閉経となった者を含む)のUAは2年間で低下し、2年後には閉経者に比し低値を示した。UAとヘモグロビン(2年後のみ測定)の間には正の相関があった。

2. 65歳以上の高齢者について

UAは追跡期間中に増加傾向を示し、その変化量は若齢者に比べ大きく、血清クレアチニンの増加と関連していた。

前報[1]で中高年女性における尿酸値(UA)と閉経との関連を検討した。一般に、UAは、閉経期に上昇すると言われているが[2, 3], 前回の断面調査では、加齢による上昇傾向は認められたものの、月経の有無との関連をみいだすことはできなかった。今回は、同一対象者について2年後に追跡調査を実施できたのでUAの変化量と閉経との関連、期間内に新たに閉経となった人についての解析を加えた。さらに、我々のこれまでの調査[4]によりUAとの関連が示唆される腎機能、

肝機能検査項目と閉経期におけるUAの変動との関連を解析した。また、2年後の調査では貧血との関連についても検討した。

対象および方法

対象は前報と同一であり、2回ともUAを測定できた162名である。

生化学データについては、UAは自動分析装置で

1. 福井県立大学地域看護学

2. 福井医科大学環境保健学

クニコンSSR-XTにより、その他の生化学項目は自動分析装置東芝TBA50-Sにより測定した。

月経の有無、閉経後年数は聞き取り調査によった。なお、閉経者については、手術による者を除いた自然閉経者のみを用い解析を行なった。

結 果

年齢との関連

Table 1に10歳毎の年齢階層別の初年度(1990年)のUA(UA' 90)、2年後(1992年)のUA(UA' 92)および2年間の変化量[UA' 92からUA' 90を引いたもの=UA(' 92-' 90)]の平均値±S. D.を示した(年齢区分は2年後の年齢による)。年齢層別の比較では、UA' 90については、45～54歳の年齢層は35～44歳および55～64歳の年齢層に比べ高く($p<0.05$)、UA' 92についても、有意差はないがUA' 90とよく似た傾向を示していた。各年齢層についてUA(' 92-' 90)をみると45～54歳では低下傾向があり、65歳以上の年齢層ではやや増加していた。その結果、両者のUA(' 92-' 90)には差が認められた($p<0.05$)。また、UA(' 92-' 90)と年齢との間には正の相関が認められた($r=0.221$ $p<0.01$)。

閉経との関連

各年齢階層毎の追跡期間中の閉経の状況をTable 2に示した。2年間に新しく閉経となった者(以下新閉経者)は9人(45～54歳7人、55～64歳2人)であった。35～44歳まではすべて未閉経者、65歳以降は初年度すでに閉経していた者(閉経者)のみであった。45～54歳は未閉経者、新閉経者、閉経者が混在していたので、この年齢層を未閉経、新閉経、閉経の3群に分けUAを比較した(Table 3)。UA' 90、UA' 92はともに閉経群がやや高い傾向を示したが、3群間に違いは認められなかった。そこで、各群を35～44歳の年齢層と比較すると、未閉経群、新閉経群に違いは認められなかったが、閉経群はUA' 90、UA' 92とも高かった($P<0.05$)。そこで未閉経群、新閉経群をあわせ、初年度未閉経群としたところ、初年度未閉経群は2年間で有意に低下し($p<0.05$)、UA' 92は閉経群に比べ低値を示した($p<0.05$)。

他の検査項目との関連

腎機能検査項目として、クレアチニン(Cre)、肝機能検査項目として、GOT、GPT、貧血検査としてヘモグロビン(Hb)の4項目について、UA' 92、UA(' 92-' 90)との関連を検討した(Table 4)。Hbを除く各検査値は、2年後のデータと2年後から初年度を差し引いたものの2変数を解析に用い、Hbは2年後のデータのみを用いた。全対象者との

Table 1. Serum Levels of Uric Acid in 1990 and 1992

Age(year) [#]	N	Serum uric acid		
		UA' 90 Mean±S. D.	UA' 92 Mean±S. D.	UA(' 92-' 90) Mean±S. D.
35～44	21	4.1±0.7	4.1±0.9	-0.1±0.4
45～54	28	4.8±1.2	4.6±1.0	-0.3±0.9
55～64	66	4.3±1.0	4.4±0.9	0.1±0.9
65～	47	4.5±0.9	4.6±1.0	0.2±0.8
Total	162	4.4±1.0	4.4±0.9	0.0±0.8

N ; Number of subjects , S. D. ; Standard deviation

; Age in 1992 , * ; $p<0.05$

UA' 90 ; Serum levels of uric acid in 1990

UA' 92 ; Serum levels of uric acid in 1992

UA(' 92-' 90) ; UA' 92-UA' 90

Table 2. Number of the Pre- and Postmenopausal Women in 1990 and 1992 Examinations

Age(year) [#]	Pre-Pre	Pre-Post*	Post-Post
35~44	21	0	0
45~54	11	7	8
55~64	0	2	57
65~83	0	0	40
Total	32	9	105

; Age in 1992

Pre-Pre ; Premenopause in 1990 and in 1992

Pre-Post ; Premenopause in 1990 and postmenopause in 1992

Post-Post ; Postmenopause in 1990

* ; Natural(neither ovariectomy or uterectomy)

関連が認められたのは, UA' 92とCre' 92, UA' 92とHb' 92, UA(' 92-' 90)とCre(' 92-' 90)であった。これらの項目について, 年齢階層毎の相関係数をみたところ, UA' 92はCre' 92と55~64歳, 65歳以上で正の相関があり, Hb' 92とは45~54歳で正の相関が認められた。UA(' 92-' 90)とCre(' 92-' 90)とは65歳以上で正の相関があった。GOT, GPTについては, 全対象者においても, 各年齢層においても相関は認められなかった。次に, 先の45~54歳の年齢層における未閉経, 新閉経, 閉経の3群について, Cre, HbとUAとの関係を見た (Table 5)。UA' 92とCre' 92との間には3群とも関連は認められなかった。一方, UA' 92とHb' 92については未閉

Table 3. Serum Levels of Uric Acid in 45~54 Age-group

		UA' 90 Mean±S. D.	UA' 92 Mean±S. D.	UA(' 92-' 90) Mean±S. D.
Pre-Pre	11	4.5±0.9	4.2±0.5	-0.3±0.9
Pre-Post	7	4.7±1.3	4.0±0.8	-0.7±1.0
(Pre-Pre)+ (Pre-Post)	18	4.5±1.1	4.1±0.9	-0.5±0.9
Post-Post	8	5.1±1.4	4.9±1.0	-0.2±0.8

Pre-Pre ; Premenopause in 1990 and in 1992

Pre-Post ; Premenopause in 1990 and postmenopause in 1992

Post-Post ; postmenopause in 1990

* ; p<0.05

Tabl 4. Correlation Coefficients between Uric Acid and Blood Indices

Age(year) [#]	n	UA' 92 v.s.				UA(' 92-' 90) v.s.		
		GOT' 92	GPT' 92	Cre' 92	Hb' 92	GOT (' 92-' 90)	GPT (' 92-' 90)	Cre (' 92-' 90)
35~44	21	-0.000	0.037	0.096	0.127	0.273	0.163	0.292
45~54	28	-0.175	0.082	0.250	0.571**	0.165	0.196	0.219
55~64	66	0.113	0.207	0.350**	0.084	0.053	-0.102	0.237
65~83	47	-0.015	0.023	0.349*	0.217	0.142	0.218	0.367*
Total	162	0.028	0.111	0.319***	0.227***	0.119	0.037	0.284***

(' 92-' 90) ; Difference between 1990 and 1992

Cre ; Creatinine

Hb ; Hemoglobin

; Age in 1992, * ; p<0.05, ** ; p<0.01, *** ; p<0.001

Table 5. Correlation Coefficients between Uric Acid and Creatinine or Hemoglobin in 45~54 Age-group

	n	UA' 92		UA(' 92-' 90)
		Cre' 92	Hb' 92	Cre(' 92-' 90)
Pre-Pre	11	0.319	0.676*	0.156
Pre-Post	7	0.580	0.794*	-0.049
Post-Post	8	0.111	0.364	0.735*

Pre-Pre ; Premenopause in 1990 and in 1992
Pre-Post ; Premenopause in 1990 and postmenopause in 1992

Post-Post ; postmenopause in 1990

* ; $p < 0.05$

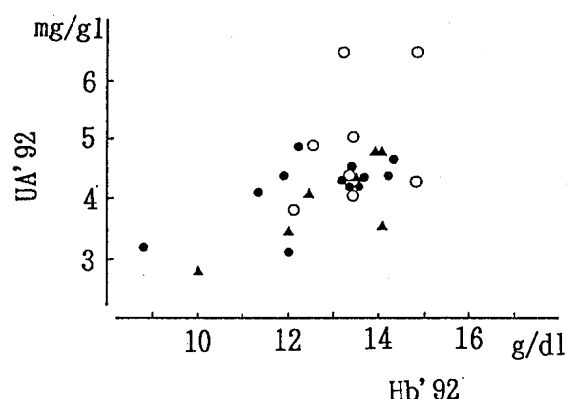


Fig. 1. Relationship between UA' 92 and Hb' 92 in 45~54 Age Group

- ; Pre-Pre $r=0.676$ $p < 0.05$
- ▲ ; Pre-Post $r=0.794$ $p < 0.05$
- ; Post-Post $r=0.364$ N.S.

UA' 92 ; Serum uric acid in 1992

Hb' 92 ; Hemoglobin in 1992

Pre-Pre ; Premenopause in 1990 and 1992

Pre-Post ; Premenopause in 1990 and postmenopause in 1992

Post-Post ; postmenopause in 1990 and 1992

経群, 新閉経群で正の相関があったが ($p < 0.05$), 閉経群では認められなかった (Fig. 1)。UA(' 92-' 90) と Cre(' 92-' 90) については閉経群で正の相関が認められた ($p < 0.05$)。

考 察

UAは閉経期に約0.5mg/dl程度上昇するといわれている [2, 3]。我々のこれまでの調査でも50歳代から高値を示していた [5]。しかし, 前回の断面調査ではUAは50歳ごろから高い傾向は示したものの月経の有無との関連は明らかにすることはできなかった。今回, 年齢区分を5歳スライドさせ, 平均的閉経年齢と考えられる45~54歳を一つの年齢層にまとめて, 年齢との関係を再検討したところ, その年代のUAは初年度, 2年後共に (有意差があったのは初年度のみ) 前後の年齢層より高かった (Table 1)。さらに, この年齢層を未閉経, 新閉経, 閉経の3つの群に分け比較したところ, 初年度, 2年後ともに閉経群は35~44歳の若年齢層より高く, この年代のUAが高かったのは閉経群の高値を反映しているものと思われる。さらに, 今回, 新閉経群ではUAの上昇は認められなかったことから, これまで言われている閉経期におけるUAの上昇は必ずしも閉経直後に見られる現象ではないのかもしれない。

一方, UAの変化量と年齢との間に正の相関が認められたが, この相関は55歳以上の年齢層のみにについても認められ ($n=113$, $r=0.200$ $p < 0.05$), 高齢者のUAが増加したことによると考えられた。2年後のUAとCreとの相関が55歳以上で認められたことや, UAの変化量とCreの変化量との相関が65歳以上で認められたことから (Table 4), 高齢者におけるUAの増加は閉経との関連というよりは, 加齢に伴う腎機能の低下との関連が示唆された。

Hbとの関連について, 45~54歳の閉経期と考えられる年齢層で相関があり (Table 4), 中でも未閉経者, 新閉経者で相関が認められた (Table 5, Fig. 1)。これらの未閉経者, 新閉経者ではこの2年間にUAの低下が認められており, UAの低下は貧血と関わりをもっていると推測された。今後, 本調査を継続する予定であり, UAの変動, 閉経状況の追跡のほか, 貧血についてもさらに調査し, 未閉経者, 新閉経者におけるUA低下がHbの変動とどのように関わっているのかを解析したいと考えている。

平成6年10月1日

文 献

1. 田中朋子, 西野治身, 林 哲雄, 梶田悦子, 伊木雅之(1993). 富山衛研年報, 16, 218-221.
2. 七川勸次(1979). 痛風. 織田敏次ら編, 永井書店.
3. 松本美富士(1990). 痛風クリニック, 新興医学出版社.
4. 堀井裕子, 田中朋子, 中崎美峰子, 城石和子(1990). 富山衛研年報, 13, 183-189.
5. 城石和子, 田中朋子, 中崎美峰子, 堀井裕子(1989). 富山衛研年報, 12, 189-192.

健康成人における喫煙・飲酒習慣と血清グルタチオン・
ペルオキシダーゼ活性

新村 哲夫 中崎 美峰子 林 徹雄
中川 秀昭¹ 成瀬 優知² 鏡森 定信²

Effects of Smoking and Drinking on
Glutathione Peroxidase Activity in Serum
of Healthy Adults

Tetsuo SHIMMURA, Mineko NAKAZAKI, Tetsuo HAYASHI,
Hideaki NAKAGAWA¹, Yuchi NARUSE²
and Sadanobu KAGAMIMORI²

要 旨 成人病危険因子とされている喫煙や飲酒などの生活習慣によって、セレン (Se) 含有酵素であるグルタチオン・ペルオキシダーゼ (GSHpx) の血清中活性値がどのような影響を受けるかを明らかにするため、健康な男性工場従業員を対象に調査を行った。血清GSHpx活性は、20歳代から50歳代において年齢による差異はみられず、血清Se濃度との間に正の相関がみられた。血清GSHpx活性は、喫煙習慣によって、血清Se濃度と同様に低値を示した。一方、飲酒習慣では血清GSHpx活性は高値を示さず、血清Se濃度とは異なる傾向を示した。

健康成人の血清セレン (Se) 濃度は、喫煙習慣によって低値を示し、飲酒習慣によって高値を示すことを前報 [1] で報告した。そこで今回は、Se 含有酵素であり生体内で生成したフリーラジカルや過酸化脂質の消去系酵素であるグルタチオン・ペルオキシダーゼ (GSHpx) の血清中活性値を測定し、喫煙・飲酒習慣との関係について検討した。また、肝機能や腎機能および血清脂質の検査を行い、血清GSHpx活性との関係についても検討したので報告する。

材 料 と 方 法

調査の対象は、富山県東部のアルミサッシ工場の健康な男性従業員163名である。前報 [1] と同様に、20歳代から50歳代の各年代から約40名ずつを無作為に抽出し対象とした。

調査は、1993年の10月から11月に行った。また、調査項目として、血清GSHpx活性とSe濃度の測定を行った。測定方法は既報 [2, 3] に記載したとおりである。

そのほかの項目として、肝機能検査は血清GOT, GPTおよび γ -GTP, 血清脂質はT-CHOL, HDL-CHOLの検査を行い、アテローム性動脈硬化指数 (AI) [HDL-CHOLに対する (T-CHOL - HDL-CHOL) の比] を求めた。腎機能は、24時間尿をもちいた内因性クレアチニン・クリアランスを求め体表面積

で補正した。また、身長、体重から体格指数 (BMI) を求めた。喫煙習慣については、一日あたりの喫煙本数の調査を行った。飲酒習慣については、一週間の飲酒量を調査しアルコール重量に換算した [1]。

結果の検定には、統計学パッケージHALBAUを用いた。

結 果

対象者163名について、血清GSHpx活性の分布を Fig. 1 に示した。血清GSHpx活性は正規分布を示し、また今回、血清Se濃度も正規分布を示したので、以下の検討では両者とも算術平均値を用いた。

調査を行った項目の平均値、標準偏差および範囲をTable 1 に示した。

対象者163名の血清GSHpx活性の平均値±標準偏差は、 $394 \pm 48 \Delta \text{nmolNADPH}/\text{min} \cdot \text{ml}$ であった。同じ測定法を用いた伊藤ら [4] は、血漿中の GSHpx 活性について、男性の平均値を $5.35 \Delta \text{nmolNADPH}/\text{min} \cdot \text{mgprotein}$ と報告している。今回、血清の蛋白量を測定していないので直接の比較はできない

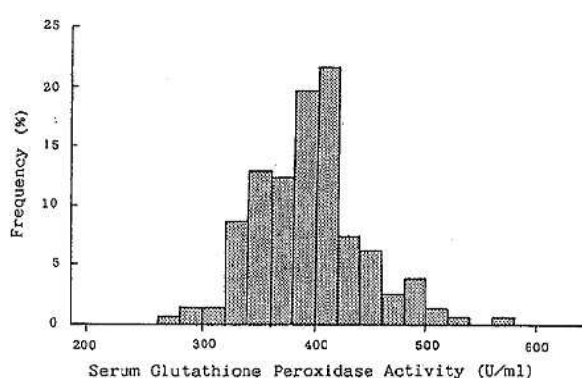
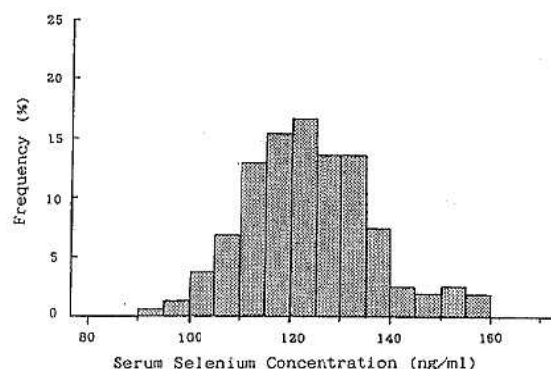


Fig. 1. Distributions of Glutathione Peroxidase Activity and Selenium Concentration in Serum.

Table 1. Outline of Subjects.

	Mean	S. D.	Range
Serum GSHpx ($\Delta \text{nmolNADPH}/\text{min} \cdot \text{ml}$)	394	48	279 - 577
Se (ng/ml)	123	13	91 - 159
GOT (U/l)	22*	1.0*	10 - 92
GPT (U/l)	20*	1.1*	6 - 171
γ -GTP (U/l)	23*	1.2*	9 - 202
T-CHOL (mg/dl)	194	34	117 - 287
HDL-CHOL (mg/dl)	48	13	25 - 88
Atherogenic index	3.3	1.3	1.0 - 8.1
Creatinine clearance (ml/min)	102	19	27 - 166
Body mass index (kg/m^2)	23.1	3.1	16.2 - 34.9
Cigarettes smoked per day	11	11	0 - 40
Alcohol drunk per week (g ethanol/week)	160	153	0 - 705
Age (years)	40	11	20 - 58

Data are means of 163 subjects.

*, geometric mean and standard deviation.

が、血清総蛋白の正常値 (6.7~8.3g/dl) [5] を用いて推測すると、今回の血清 GSHpx活性は伊藤らの値と同レベルにあるものと思われる。今回の血清Se濃度の平均値は、123ng/mlであり、前回 [1] と変わらない値を示した。

Table 2 に、血清GSHpx活性の年齢別の平均値と標準偏差および範囲を示した。調査を行った年齢層では有意の差はみられなかった。

Fig. 2 は、血清Se濃度とGSHpx活性の関係をみたものである。両者の間には相関係数0.338の正

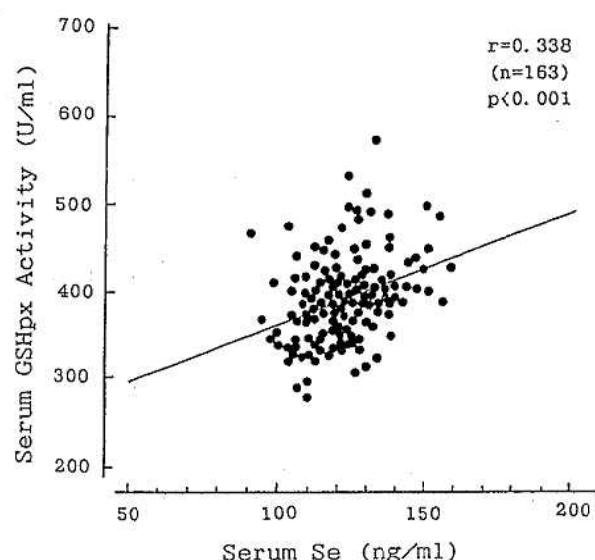


Fig. 2. Relationship between Glutathione Peroxidase Activity and Selenium Concentration in Serum.

の相関 ($p<0.001$) がみられた。

次に、喫煙と飲酒の習慣別の血清GSHpx活性について検討した。Table 3 は、喫煙習慣別の測定結果を表したもので、非喫煙者と一日一本以上の喫煙者との比較を行った。その結果、喫煙者の血清GSHpx活性は、血清Se濃度と同様に、非喫煙者に比べ有意に低かった ($p<0.01$)。

Table 4 は、飲酒習慣別にみたものである。非飲酒者と一週間に飲酒した者の比較を行ったが、血清Se濃度とは異なり、血清GSHpx 活性には有意な差はみられなかった。

そこで、次に飲酒習慣について喫煙習慣別に検討した。Table 5 は、喫煙習慣のレベルを、非喫煙と一日タバコ1~19本の軽度喫煙とそれ以上の重度喫煙の3段階に分け、飲酒習慣のレベルを、非飲酒と1週間あたりアルコールに換算して200g未満の軽度飲酒とそれ以上の重度飲酒の3段階の合計9グループに分けて、血清GSHpx活性を表したものである。その結果、非喫煙群では、血清GSHpx活性はアルコール摂取量との間に正の相関がみられたが ($r=0.265$, $n=65$, $p<0.05$)、非飲酒群と飲酒群との間に有意の差はみられなかった。喫煙群では、血清GSHpx活性はアルコール摂取量との相関を示さず、非飲酒群と飲酒群との差異もみられなかった。Table 5の群分けに基づいて二元配置分散分析を行ったところ、血清GSHpx活性

Table 2. Glutathione Peroxidase Activity and Selenium Concentration in Serum.

Age (years)	No.	S-GSHpx (U/ml*)		S-Se (ng/ml)	
		Mean $\pm$ S. D.	Range	Mean $\pm$ S. D.	Range
20~29	39	389 $\pm$ 42	292 - 495	123 $\pm$ 13	104 - 156
30~39	42	394 $\pm$ 48	317 - 532	123 $\pm$ 11	100 - 150
40~49	40	395 $\pm$ 45	299 - 500	125 $\pm$ 12	104 - 156
50~59	42	399 $\pm$ 53	279 - 577	123 $\pm$ 14	91 - 159
Total	163	394 $\pm$ 48	279 - 577	123 $\pm$ 13	91 - 159

No., number of subjects; S-Se, serum Se concentration.

S-GSHpx, serum glutathione peroxidase activity.

*U/ml, Δ nmolNADPH/min·ml.

Table 3. Glutathione Peroxidase Activity and Selenium Concentration in Serum between Smokers and Non-smokers.

	Smokers			Non-smokers			Total		
	No.	Mean $\pm$ S. D.		No.	Mean $\pm$ S. D.		No.	Mean $\pm$ S. D.	
S-GSHpx	98	385 $\pm$ 43 $\downarrow$ **		65	406 $\pm$ 53		163	394 $\pm$ 48	
S-Se		121 $\pm$ 12 $\downarrow$ **			127 $\pm$ 13			123 $\pm$ 13	

No, number of subjects; S-Se, serum Se concentration (ng/ml).

S-GSHpx, serum glutathione peroxidase activity (Δ nmolNADPH/min $\cdot$ ml).

**, Significant difference ($p < 0.01$) compared with non-smokers.

Table 4. Glutathione Peroxidase Activity and Selenium Concentration in Serum between Drinkers and Non-drinkers.

	Drinkers			Non-drinkers			Total		
	No.	Mean $\pm$ S. D.		No.	Mean $\pm$ S. D.		No.	Mean $\pm$ S. D.	
S-GSHpx	133	394 $\pm$ 47		30	397 $\pm$ 51		163	394 $\pm$ 48	
S-Se		124 $\pm$ 12 $\uparrow$ *			119 $\pm$ 16			123 $\pm$ 13	

*, Significant difference ($p < 0.05$) compared with non-drinkers.

Table 5. Glutathione Peroxidase Activity in serum of Subjects Devided into 9 Groups according to Smoking and Drinking Habits.

	Non-drinkers		Light drinkers (~ 200 g ethanol/week)		Heavy drinkers (200g $\sim$ ethanol/week)		Total	
	No.	Mean $\pm$ S. D.	No.	Mean $\pm$ S. D.	No.	Mean $\pm$ S. D.	No.	Mean $\pm$ S. D.
Non-smokers	10	401 $\pm$ 47	39	400 $\pm$ 56	16	425 $\pm$ 47	65	406 $\pm$ 53
Light smokers (Cigarettes 1 $\sim$ 19/day)	7	425 $\pm$ 67	24	386 $\pm$ 32	11	386 $\pm$ 57	42	392 $\pm$ 47
Heavy Smokers (Cigarettes 20 $\sim$ /day)	13	378 $\pm$ 39	21	385 $\pm$ 45	22	379 $\pm$ 33 $\downarrow$ **	65	381 $\pm$ 39 $\downarrow$ **
Total	30	396 $\pm$ 51	84	392 $\pm$ 47	49	396 $\pm$ 47	163	394 $\pm$ 48

No., number of subjects; Unit of glutathione peroxidase activity, Δ nmolNADPH/min $\cdot$ ml.

**, Significant difference ($p < 0.01$) compared with non-smokers.

は、喫煙習慣によって有意に低値を示したが ($P < 0.01$), 飲酒習慣による影響は明らかではなかった。

次に、血清GSHpx活性と他の調査項目との関係について検討した。Table 6 は、血清GSHpx活性

Table 6. Correlation Coefficients between Glutathione Peroxidase Activity and Selenium Concentration in Serum and Another Items.

	S-GSHpx	S-Se
Age (years)	0.082	0.005
Serum S-GSHpx (U/ml)	-----	0.338 ***
S-Se (ng/ml)	0.338 ***	-----
GOT (U/l)	0.098	0.011
GPT (U/l)	0.019	-0.006
γ -GTP (U/l)	-0.050	0.005
T-CHOL (mg/dl)	0.013	0.168 *
HDL-CHOL (mg/dl)	0.168 *	0.246 **
Atherogenic index	-0.161 *	-0.108
Creatinine clearance (ml/min)	0.021	0.011
Body mass index (kg/m ²)	-0.160 *	0.015
Cigarettes smoked per day	-0.175 *	-0.190 *
Alcohol drunk per week (g ethanol/week)	0.087	0.228 **

Data are correlation coefficients of 163 subjects.

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

およびSe濃度と各項目との相関係数を示したものである。血清GSHpx活性は、肝機能や腎機能とは相関がみられなかったが、タバコの本数とは負の相関 ($p < 0.05$) が、またHDL-CHOLとは正の相関 ($p < 0.01$) が認められた。これらの項目は、血清Se濃度との間に同様の相関が認められた。一方、血清Se濃度と相関が認められたアルコール摂取量やT-CHOLと血清GSHpx活性の間には相関がみられなかった。また、血清Se濃度とは相関のみられなかったBMIやAIとは負の相関 (いずれも $p < 0.05$) が認められた。すなわち肥満傾向のある人やAIの高い人では血清GSHpx 活性は低い傾向を示した。

考 察

今回の調査によって、喫煙習慣によって血清Se濃度とともにGSHpx活性も低値を示すことが明らかとなり、血清GSHpx活性は喫煙習慣によって影響されるものと考えられた。

喫煙習慣は、がんとともに日本で大きな死因と

なっている脳卒中や心筋梗塞といった循環器障害の危険因子とされている。これらの循環器障害の主因は動脈硬化とくにアテローム性 (粥状) 硬化と考えられている。アテローム性硬化の発症機構には、血中の低密度リポ蛋白 (LDL) の増加とともにフリーラジカルや過酸化脂質の関与が示唆されている [6]。今回の対象者においても、従来から言われているように、喫煙習慣によってHDL-CHOLは低値を示し、アテローム性硬化指数 (AI) は高値を示した。一方、喫煙習慣によって、過酸化水素や過酸化脂質の消去系酵素であるGSHpxの血清中の活性値は低いことが明かとなった。このことは、生体内脂質の過酸化を防御するという面で、喫煙習慣が悪影響を与えている可能性を示唆するものである。今後、血清Se濃度やGSHpx活性が低下したと喫煙習慣との関連性や、血清中のSeやGSH pxと生成されたフリーラジカルや過酸化脂質との関係についてさらに検討し明らかにしていく必要があるものと思われる。

今回の調査においても、血清Se濃度は、喫煙習慣にかかわらず、飲酒習慣によって高値を示した。

平成6年10月1日

一方、血清GSHpx活性は、飲酒習慣によって高値を示すことはなく、血清Se濃度とは異なる傾向を示した (Table 4～6)。この飲酒習慣による血清Se濃度とGSHpx活性との挙動の違いについては、今後、重度飲酒者を中心にさらに検討をくわえていきたい。

文 献

1. 新村哲夫, 中崎美峰子, 林 徹雄, 成瀬優知, 鏡森定信 (1993). 富山衛研年報, 16, 156-161.
2. 新村哲夫, 中崎美峰子, 林 徹雄, 成瀬優知, 鏡森定信 (1993). 富山衛研年報, 16, 225-227.
3. 新村哲夫, 中崎美峰子, 城石和子 (1991). 富山衛研年報, 14, 175-181.
4. 伊藤敬三, 斉藤 健, 蔵崎正明, 斉藤和雄 (1983). 日衛誌, 38, 581-588.
5. 金井正光編 (1983). 臨床検査法提要改訂 第29版, 金原出版.
6. 松尾光芳 (1992). フリーラジカル体内動態と生体障害機序 (近藤元治編), メジカルビュー社, 東京, 84-91.

3. 資 料

マイクロプレートを用いた酵素法による 先天性代謝異常症マススクリーニングの検討

高橋 雅子 柏樹 久雄¹

Basic Study for Neonatal Mass Screening of Inborn Errors of Metabolism using Microplate

Masako TAKAHASHI and Hisao KASHIWAGI¹

先天性代謝異常症の新生児マススクリーニングは、1977年より実施されており、心身障害発生予防に大きな成果をあげている。

スクリーニングの検査法は、微生物学的半定量法であるガスリー法が用いられているが、試薬や培地作成条件の影響を受けやすいことと、検査結果の判定が肉眼によるため、かなりの熟練を要する。そのため、最近、ガスリー法にかわる検査法の開発が行われ、検体処理能力に加え、簡便迅速で、検査結果を客観的に記録、保存することが可能なマイクロプレートを用いた酵素法による定量法が確立された[1, 2]。

今回、酵素法によるフェニルケトン尿症、ガラクトース血症のマススクリーニング用キットである「エンザプレート N-PKU」（チバコーニング社）と「エンザプレート N-GAL」（チバコーニング社）を使用する機会を得たので、検討結果を報告する。

方法：1) 検体；平成5年度に受付をした先天性代謝異常等マススクリーニング検査済濾紙血液の一部を用いた。

2) 測定原理；表1に示すように、NAD⁺(nicotinamide adenine dinucleotide酸化型)と脱水素酵素を用い、フェニルアラニン、ガラクト

ースの脱水素反応により生成したNADH(NAD還元型)を測定するものである。NADH自身の蛍光測定は可能であるが、今回は比色測定用のキットで検討を行った。比色法の原理は、生成したNADHが酸化型1-methoxy PMS(1-methoxy-5-methylphenazinium methylsulfate)を介してコバルトⅢ価をⅡ価に還元する。コバルトⅡ価は高感度金属指示薬である5-Br PAPS(2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-(N-propyl-N-sulfo propylamino)phenol)と、589nmに吸収極大をもつ有色キレート化合物を形成する。得られる吸光度は、検体中のフェニルアラニンあるいはガラクトース量を反映することから、検量線により、濃度の算出をおこなう。

3) 試薬の構成および調製法；キットの試薬構成は、表2に示すとおりである。

①酵素試薬の調製(100テスト分)

PKU：補酵素剤1バイアルに、緩衝液を11mlと酵素液100μlを加えて溶解した。

GAL：酵素剤1バイアルを、緩衝液を11mlと補助酵素液100μlを加えて溶解した。

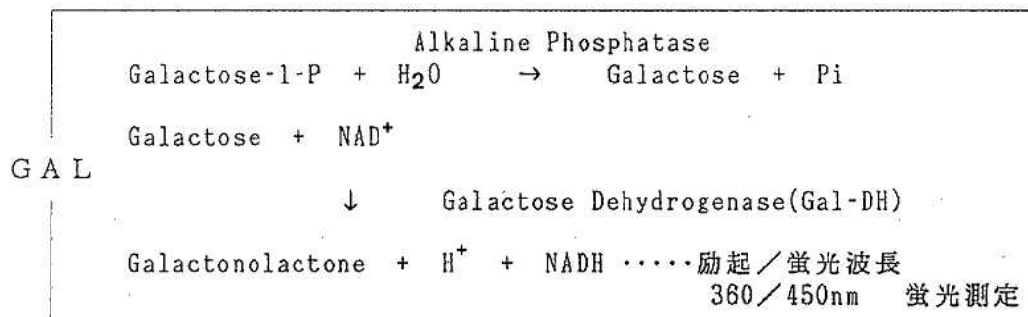
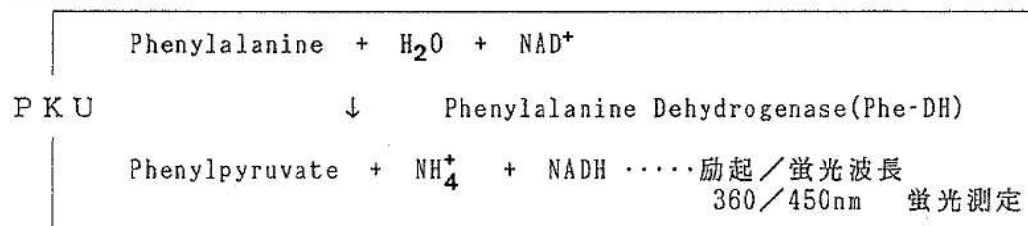
いずれも用時調製し、溶解後は30分以内に使用した。

②発色試薬-2の調製(100テスト分)

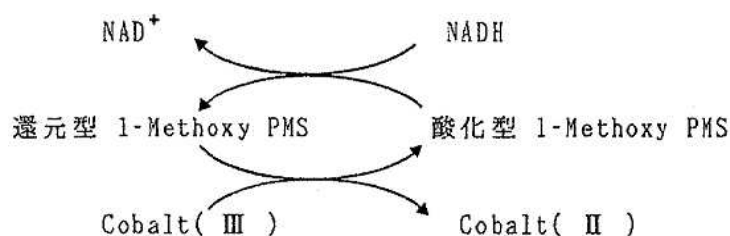
1mlの発色試薬-2aと5mlの発色試薬-2bを

表1. 測定原理

脱水素反応



電子伝達共役反応



錯体形成反応

+

5BrPAPS

↓

Cobalt(II)/5BrPAPS complex

波長 590nm

比色測定

混和した。用時調製した。

4) 測定手順；概略を表3に示した。

5) 吸光度測定；

PKU：MTP120(コロナ)

GAL：MICRO PLATE READER A4i (TOSOH)

を用い、波長590nmで測定した。

結果：1)標準曲線；図1にPKU，図2にGALの標準曲線を示した。

2) 再現性；キットに添付された3濃度の精度管理用コントロール濾紙血液を用いて、測定内および測定間の変動を検討した(表4)。

① PKU：測定内の低濃度で少しばらつきが見られたが、個々の測定値は表示濃度範囲内であった。その他は変動係数が1.8～8.3%となり良好な再現性が得られた。

② GAL：変動係数が3.0～10.5%となり良好な再現性が得られた。

表2. 試 薬 構 成

	ENZAPLATE N - P K U	ENZAPLATE N - G A L
除 蛋 白 試 薬	0.2 N T C A	
酵 素 剤	-	24 μ mol NAD ⁺ 0.88 U Gal-DH (1 バイアル中)
補 酵 素 剤	28 μ mol NAD ⁺ (1 バイアル中)	-
緩 衝 液	0.2 M CAPSO · NaOH (pH10.5)	0.2 M Tris · HCl (pH 9.0)
補 助 酵 素 液	-	330 U/ml Al-P
酵 素 液	50 U/ml Phe-DH	-
発色試薬-1	2.0 mM Cobalt (Ⅲ) アセチルアセトネート	
発色試薬-2 a	1.5 mM 1-MethoxyPMS	
発色試薬-2 b	0.5 mM 5BrPAPS	
反 応 停 止 液	25 mM EDTA	
標 準 濾 紙 血 液	Phe 含 有 人 血 液 (4 濃 度)	Gal 含 有 人 血 液 (4 濃 度)

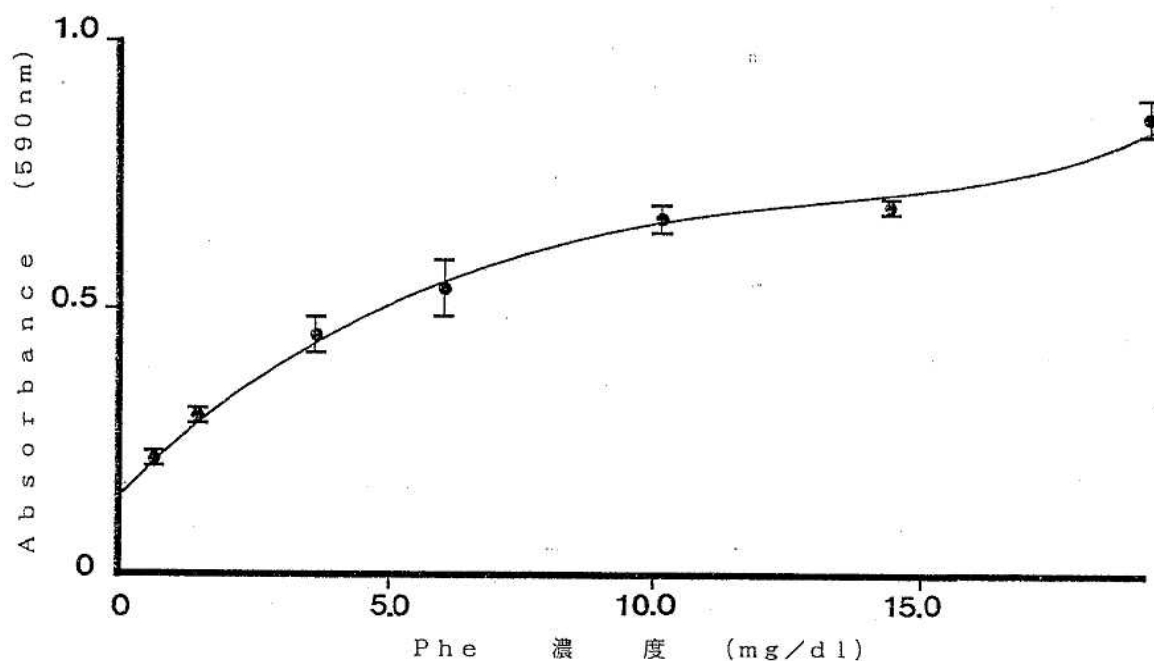


図1. 酵素法によるPheの標準曲線

表3. 測定手順

乾燥濾紙血液

3 mm Disc (U底マイクロプレート)

— 0.2N TCA (トリクロ酢酸) 70 μ l...除蛋白試薬

振とう 室温 60 分..... 除蛋白および Phe, Galの抽出

50 μ l 分取(平底マイクロプレート)100 μ l 酵素液 PKU: Phe-DH + NAD⁺ + Buffer pH 10.5
 GAL: Gal-DH + NAD⁺ + Al-p + Buffer pH 9.0— 25 $^{\circ}$ C 60 分.....酵素反応

蛍光測定 360/450 nm

50 μ l Cobalt (III).....発色試薬 150 μ l 1-Methoxy PMS + 5BrPAPS.....発色試薬 2— 25 $^{\circ}$ C 10 分.....発色反応50 μ l EDTA.....反応停止液

比色測定 590 nm

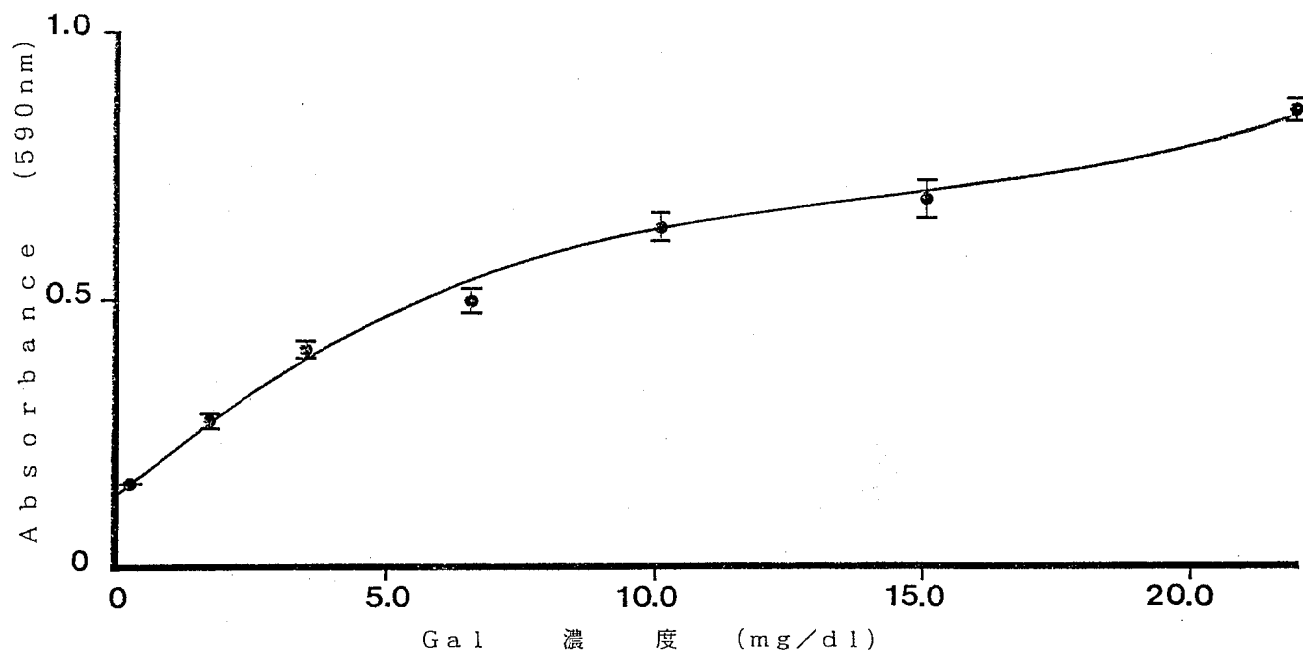


図2. 酵素法によるGalの標準曲線

表4. 再現性

PKU

	測定内 (n= 9)			測定間 (n= 5)		
	C 1	C 2	C 3	C 1	C 2	C 3
Mean	1.33	3.49	8.80	3.76	6.54	10.77
SD	0.26	0.18	0.73	0.20	0.16	0.63
CV	19.12	5.25	8.31	5.37	1.77	5.85
Min - Max	1.0-1.7	3.1-3.7	7.8-9.8	3.5-4.0	6.4-6.7	9.8-11.3
表示濃度	1.4±0.4	3.6±0.9	10.1±2.5	3.5±0.9	6.0±1.5	11.4±2.9

GAL

	測定内 (n= 6)			測定間 (n= 5)		
	C 1	C 2	C 3	C 1	C 2	C 3
Mean	2.75	6.58	11.82	2.79	5.18	10.72
SD	0.24	0.61	1.24	0.08	0.34	0.74
CV	8.85	9.29	10.50	3.03	6.48	6.93
Min - Max	2.6-3.2	5.5-7.2	10.0-13.7	2.7-2.9	4.9-5.7	9.9-11.9
表示濃度	2.7±0.5	6.7±1.3	12.1±2.4	2.9±0.6	5.5±1.1	10.6±2.1

3) スクリーニング結果および考察；

① PKU：図3に酵素法で測定した一般新生児165人のフェニルアラニンの濃度分布を示した。正規分布となり、平均値は1.23mg/dlであった。これらの検体は、従来法であるBIA法ではすべてカットオフ値（2mg/dl）以下であったが、酵素法では4件が2mg/dl以上の値を示した（最高値は2.6 mg/dl）。

酵素法でのカットオフ値は、BIA法の2mg/dlをそのまま用いるのではなく、一般新生児の測定値の分布を参考に設定しなければならない。今回の検討では、平均値+2SD（95.4%値）が2.0mg/dl、+2.58SD（99.0%値）で

2.2mg/dlとなり、2.2mg/dlで設定するのが良いと思われた。

ところで、我々が以前検討を行った際、新生児124人の平均値が2.11mg/dlと高値となったことがあった。検討の結果、抽出液の分取に使用していた8連マイクロピペットの各チャンネルで吸引する液量にムラがあったために、測定値にバラツキが生じたものであった。このようなことを避けるには、8連のマイクロピペットを使用する際に各チャンネルの液量はチェックする必要があると思われた。また、藤本ら[3, 4]が考案したトランスファープレートを使用した改良法では、抽出

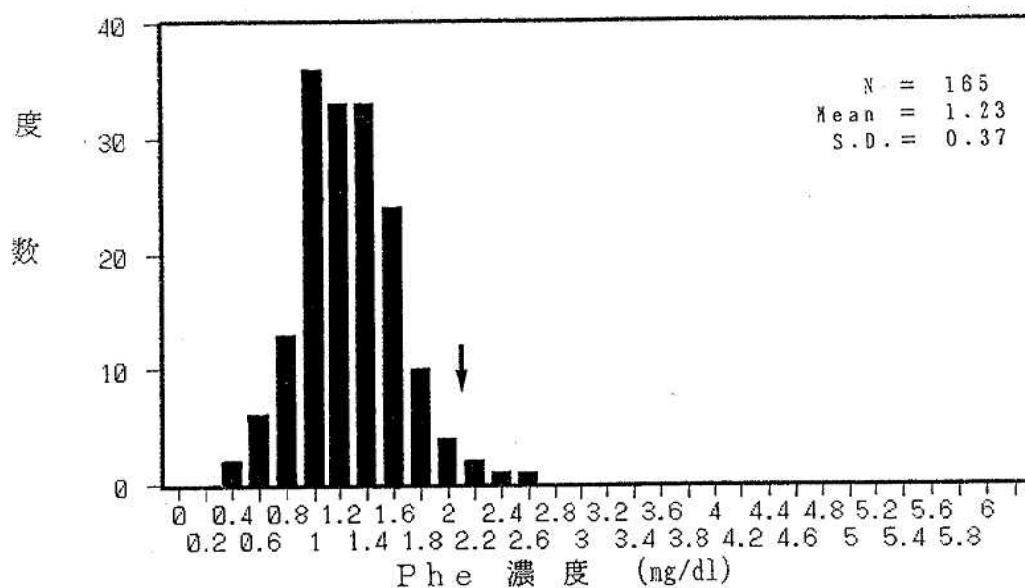


図3. 一般新生児のPhe濃度分析

↓: BIA法でのカットオフ値 (2 mg/dl)

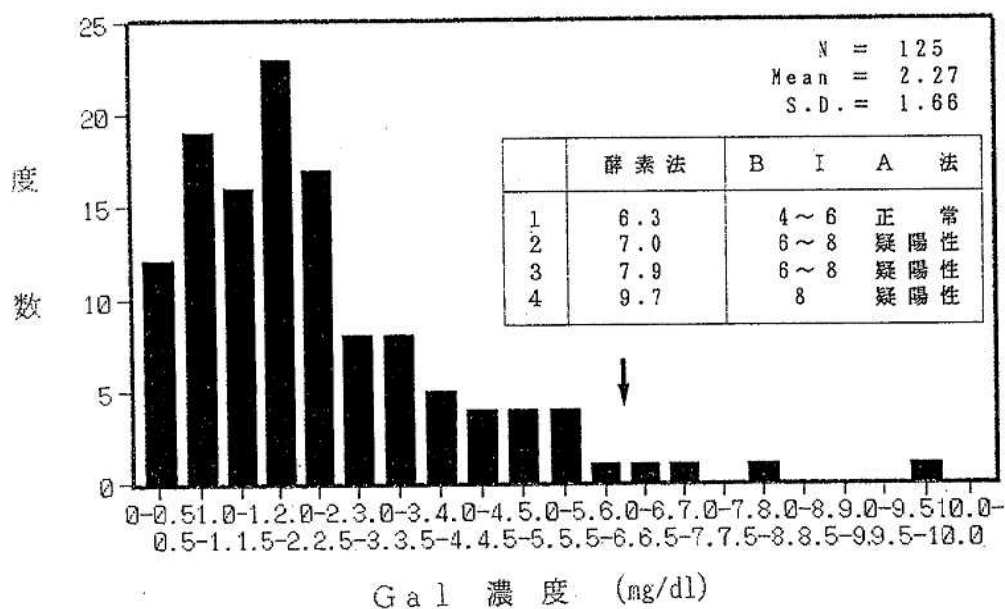


図4. 一般新生児のGal濃度分布

↓: BIA法でのカットオフ値 (6 mg/dl)

液の分取の操作が無くなるので、このようなバラツキは生じなくなると思われた。

なお、杏林大の代謝異常研究施設から定期的に送付されてくる外部精度管理用検体を酵

表5. 酵素法とB I A法の比較

酵 素 法	B I A 法
定量反応であり、結果の判定が容易である。	肉眼による半定量法であり、確実に陽性検体を検出するにはかなりの熟練を要する。
客観的に記録できる。	検査結果が保存できない。
測定時間は約2時間30分	バイオアッセイのため菌の発育に約16時間要する。

素法で測定した結果、表示濃度3.6mg/dlの検体の平均値±SDは、 $3.96 \pm 0.3 \text{ mg/dl}$ (N=12) となり、変動係数は7.7%であった。

- ② GAL：図4に酵素法で測定した一般新生児125人のガラクトースの濃度分布を示した。対数正規分布となり、平均値は 2.27 mg/dl であった。これは吉田ら[5]が報告した 2.34 mg/dl (N=507) とほぼ一致した。

また、従来のカットオフ値である6mg/dl以上の値を示した検体は4件あったが、これらの検体の酵素法での測定値と、BIA法での判定を比較して図中の表に示した。ほぼ一致する結果であった。なお、検体No. 2～4は、再検査の結果、正常であった。

酵素法でのカットオフ値は、5%タイル値で 5.3 mg/dl 、3%タイル値で 6.3 mg/dl となり、今回の検討では、3%タイル値に設定するのが良いと思われた。

まとめ：酵素法と従来法であるBIA法の特徴を表5で比較した。

酵素法は、定量反応で客観的に記録ができ、測定時間は2時間30分で検体が到着したその日のうちに結果判定が可能である。BIA法では翌日でないと判定ができないため、ガラクトース血症のような緊急性を要する疾患のスクリーニング法として、非常に有用である。またBIA法では検出しにくかった、アミノ酸や糖の増大が著明でない症例についても、容易に検出できると思われる。さら

に他のアミノ酸代謝異常症についても酵素法の開発が行われており、将来的にはスクリーニングにおけるBIA法は酵素法にかわっていくといわれている。しかし、項目数が増えた場合、酵素反応のため時間に追われることによるマンパワーの問題、コスト面では1件当たりの検査費は従来法より高くなることは確実であることから、これらについても更に検討が必要と思われる。

終わりに試薬および測定機器の提供をいただきましたチバ・コーニング、東ソー、栄研化学の各社に深謝いたします。

文 献

1. Naruse, H., Ohashi, Y.Y., Tsuji, A., Maeda, M., Nakamura, K., Fujii, T., Yamaguchi, A., Matsumoto, M. and Shibata, M. (1992). Screening, 1, 63-66.
2. 成瀬浩, 大橋雄子, 辻章夫, 前田昌子, 中村健治, 藤井正, 山口昭弘, 松本勝, 柴田実 (1991). 日本マス・スクリーニング学会誌, 1 (2), 47-48.
3. 藤本昭栄, 大浦敏明, 長谷豊 (1991). 日本マス・スクリーニング学会誌, 1 (1), 211-212.
4. 藤本昭栄 (1991). 第9回日本マス・スクリーニング学会技術部会西日本ブロック研究会講演要旨集, p7.
5. 吉田加寿子, 小黒祐子, 金成篤子, 植田ヤイ子, 斉藤君江, 古関正意 (1993). 福島県衛生公害研年報, No. 10, 70-75.

カドマルカツオブシムシによる建造物の 穿孔被害の一例

渡 辺 護 水 本 克 夫¹ 荒 川 良²

A House Boring - Damaged by Larder Beetle, *Dermestes haemorrhoidalis* KÜSTER

Mamoru WATANABE, Katsuo MIZUMOTO¹ and Ryo ARAKAWA²

ハラジロカツオブシムシ属(*Genus Dermestes*)の幼虫が蛹化の際に、木材を穿孔することは広く世界で知られており[1-4], 国内においてもハラジロカツオブシムシ(*Dermestes maculatus*)が動物性乾物や穀物類の倉庫の羽目板や床材を穿孔することで知られている[5-7]。

今回、富山県小矢部市のS養鶏場でいままでに木材への穿孔が確認されていないと思われる、カドマルカツオブシムシによる鶏舎の穿孔被害が観察されたので報告する。

観察経過：1994年1月15日に、富山県木材試験場に、木材を穿孔する“ムシ”の問い合わせがあり、次いで幼虫と穿孔被害がみられる鶏舎の梁の、筋交い材(杉)が1月18日に衛生研究所に持ち込まれた(写真1, 2)。幼虫を原田[5]および林[7]に従い、分類同定を行ったところ、トビカツオブシムシ(*Dermestes ater*)と考えられた。しかし、正確な同定を行うために、成虫での分類を試みるために飼育を行った。幼虫が潜んでいる筋交い材を研究室(室温8~25℃)で保持し、成虫の羽化を待った。同時に、発生・穿孔被害状況を把握するために1月28日および5月17日に現地調査を行った。

被害地：富山県小矢部市菅ヶ野の低山地帯(標高約200m)に建設された16棟の、大規模養鶏場の鶏

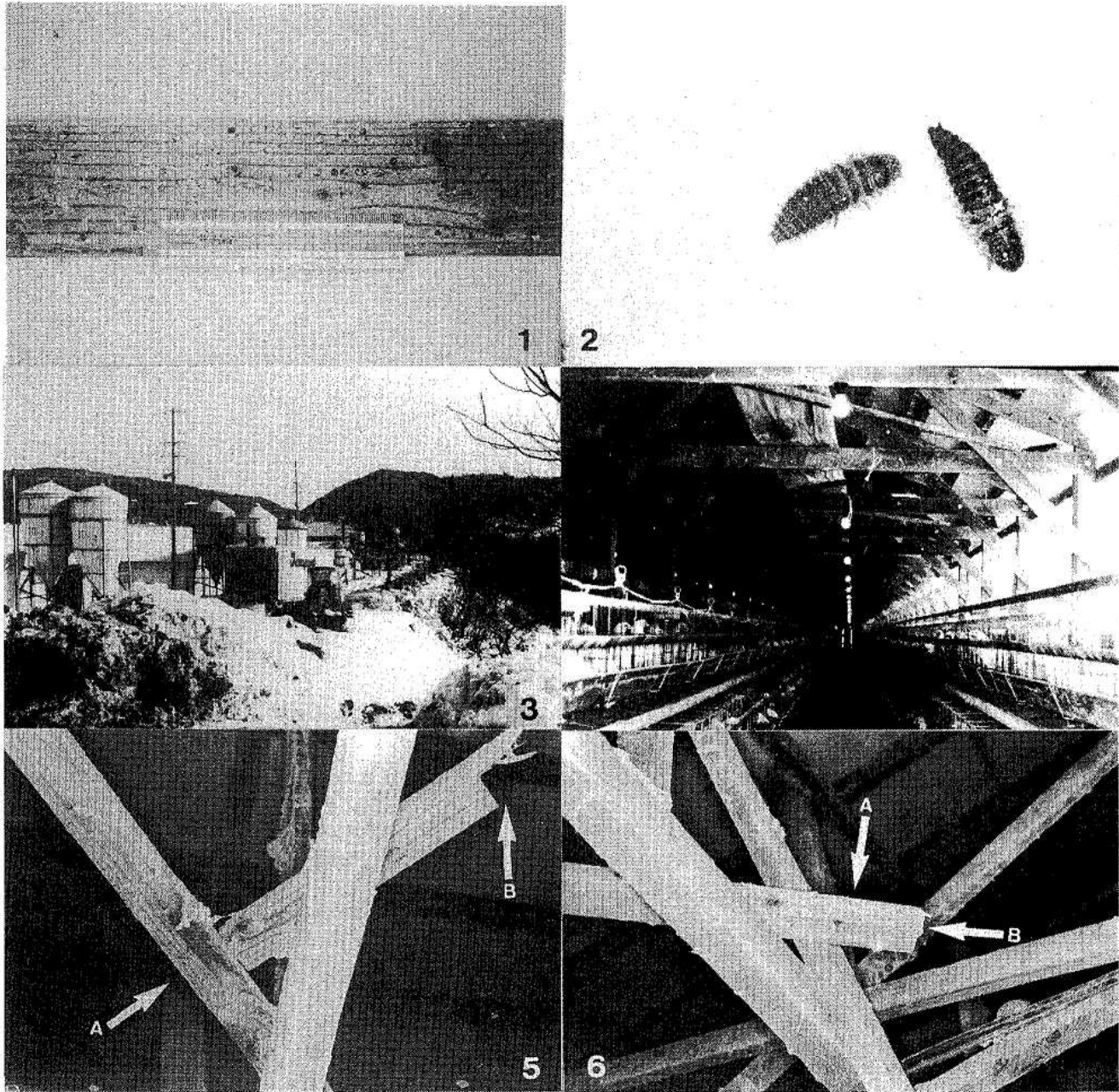
舎群である(写真3)。本養鶏場は高床式で、鶏卵生産が目的である(写真4)。なお、本養鶏場は低山帯の尾根に設置され、周囲は比較的若い雑木または杉の植林のみで、付近には他の建築物はない。建築後約20年を経過している。

被害の状況：被害が顕著にみられたのは16棟の鶏舎のうち、山の尾根の上方(北側)の3棟のみであった。穿孔は鶏舎の柱、壁板、ウレタン壁、梁などあらゆる所にみられたが、梁が最も多くの被害を受けており(写真5, 6)、最も多い所で5.7×10cmの範囲に30個の穿孔穴が観察された(写真1)。

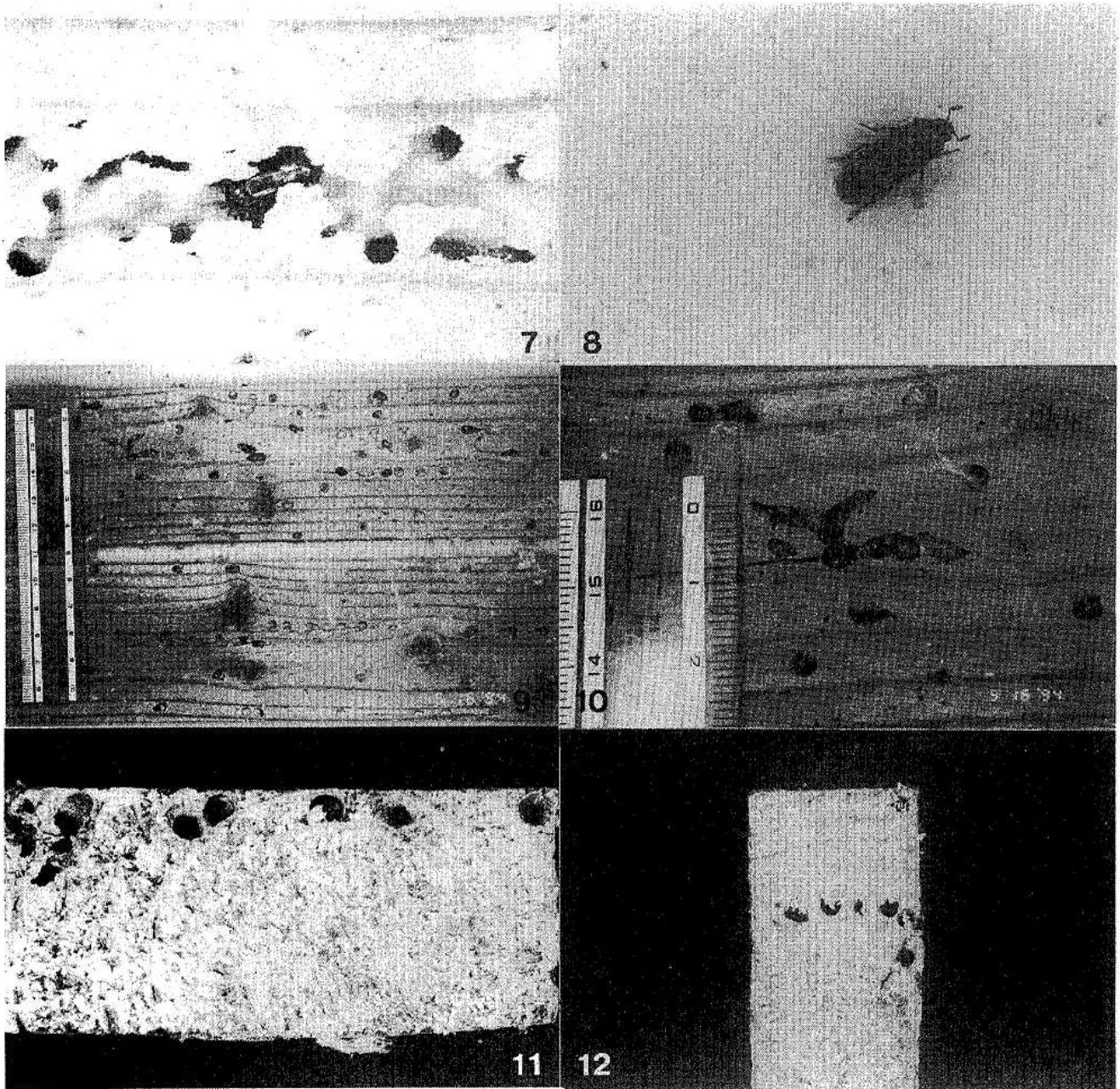
成虫の羽化と分類同定：杉材(幅5.7×厚さ2.4の長さが35.7, 37, 61cmの3本)からは4月28日に始めて羽化がみられ、約1ヵ月間に雄42個体、雌47個体が羽化した(写真7, 8)。渡辺[8]に従い成虫の分類同定を行ったところ、トビカツオブシムシに近似のカドマルカツオブシムシ、*Dermestes haemorrhoidalis* Küsterと同定された。体長8~12mm, 体幅3~4mmで、雄の方が雌に比べ、やや小さい。体色は背面が黒に近い黒褐色、腹面は茶褐色で黄褐色の毛で被われる。日本を含む全世界に分布するが、ヨーロッパ、日本への侵入は比較的新しいと考えられている[4]。本種はあらゆる材料を噛むとされているが[4],

1. 富山県林業センター, 木材試験場製品開発課

2. 富山医科薬科大学医学部寄生虫学教室



1. 穿孔被害のみられる“梁”，写真6の切断部分。
2. 穿孔加害の“幼虫”カドマルカツオブシムシ。
3. 穿孔被害がみられた鶏舎群。
4. 被害が顕著にみられた鶏舎内部。
5. 穿孔被害が顕著な“梁”。矢印Aが穿孔群，Bは衛生研究所に持ち込まれた部分を示す。
6. 同上。



7. 穿孔トンネルで羽化した成虫。
8. カドマルカツオブシムシ成虫 (*D. haemorrhoidalis*)。
9. 羽化後の穿孔被害木材，穿孔口が明瞭になった。
10. 穿孔口に残された幼虫（蛹）脱皮殻。
11. 春材部分にのみみられた穿孔口。
12. 同上。

国内における建物（木材）穿孔被害の確認は初めてと思われる。

カドマルカツオブシムシの2, 3の生態：幼虫が潜んでいる材は、穿孔口が木屑様のもので覆われており（写真1），原田〔5〕がハラジロカツオブシムシで報告したと同じであった。この覆いは羽化時に破壊され、穿孔口が明瞭になった（写真7, 9, 10）。孔口の大きさは3～4mmの円形が一般的と思われるが、写真7, 10に示す様に連なった場合も観察された。蛹化は終令幼虫の中で行われる様で、羽化時にその蛹殻が終令幼虫の脱皮殻の中に残されていた（写真10）。穿孔は年輪と年輪の間の春材部分にみられ（写真11, 12）、深さは10cmにも達する場合がみられた。

羽化した成虫を煮干しで飼育したところ（4月下旬～5月上旬に羽化した個体）、5月中旬に初令幼虫がみられる様になり、6月上・中旬に新成虫が出現した。

なお、5月17日に現地調査を行った時に、鶏舎の中で成虫がみられ、2, 3個体が糞とこぼれ餌の混合物の表面でみられた。産卵はそこで行われ、幼虫も同じ所で過ごし、蛹化の際に壁、柱、梁などに移動、穿孔すると考えられた。しかし、梁の部分に、なぜ穿孔被害が多いのか？、木材は本当に、蛹化のためだけなのか？、は明らかに出来なかった。実験室で環境条件を変えて、飼育を継続

続中であるので、木材の“真”の必要性が明らかに出来るかも知れない。

文 献

1. Murano, J.W. (1966). Pests of Stored Products, p.85-88, Hotchinson, London.
2. Hicken, N.E. (1972). The Woodworm Problem, 2nd ed., p.110, Hotchinson, London.
3. Hicken, N.E. (1974). Household Insect Pests, 2nd ed., p.94-96, Associated Business Programmes, London.
4. Mourier, H., Winding, O. and Sunesen, E. (1975). Wild Life in House and Home, p.25, p.73, p.104, p.120, p.139, Collins, London.
5. 原田豊秋(1971). 食料害虫の生態と防除, p.358-363, 光琳書院, 東京.
6. 林 晃史(1983). 害虫防除の実際と殺虫剤, p.213-214, 南山堂, 東京.
7. 林 長閑(1988). 家屋・食品に見られる鞘翅目（甲虫目）の形態と生態, 家屋害虫, 日本家屋害虫学会編, 第4刷, p.24-47, 井上書店, 東京.
8. 渡辺 直(1991). 甲虫・ガ類の実用的な識別法, 図説貯蔵食品の害虫, 吉田敏治・渡辺 直・尊田望之著, 第2刷, p.60-67, 全国農村教育協会, 東京.

富山県におけるウイルス検査状況

森田 修行 長谷川 澄代 松浦 久美子 中山 喬
水木 路男¹ 吉田 慶子² 南部 厚子³

Virological Examination in Infectious
Diseases in Toyama Prefecture

Osayuki MORITA, Sumiyo HASEGAWA, Kumiko MATSUURA
Takashi NAKAYAMA, Michio MIZUKI¹, Keiko YOSHIDA²
and Atsuko NAMBU³

平成5年度の富山県結核・感染症サーベイランス事業および行政依頼検査と一般依頼検査で、ウイルス検出を行った結果について報告する。

急性胃腸炎の検査では、患者から採取された糞便を約10%の乳剤とし、デンカ生研から市販されている診断用キット「ロタRPHA」を用いてA群ロタウイルスを検索した。エンテロウイルス感染症の検査は、疾患の種類に応じて適当な検査材料を採取し、ウイルス分離検査を行った。検査材料の糞便は約10%の乳剤とした後、咽頭ぬぐい液および水泡内容はそのまま高速遠心によって除菌処理を行った。これら処理材料および髄液のそれぞれは培養細胞に接種された。培養細胞として、RD-18S細胞、Vero細胞およびMA-104細胞を用い、細胞変性効果(CPE)を指標にウイルス分離を行った。分離されたウイルスはエンテロ混合抗血清(国立予防衛生研究所、デンカ生研)および型特異抗血清(デンカ生研、自家製)を用いて中和試験により同定した。患者から急性期と回復期の血清が得られた場合、分離ウイルス株および標準ウイルス株を抗原にして中和抗体価を測定した。

平成5年4月から平成6年3月までに行った検

査状況を疾病別、月別にTable 1に示す。

急性胃腸炎(Gastroenteritis) 館小児科医院のご協力を得て、前年に引き続き小児の急性胃腸炎についてロタウイルスの関与を調査した。4月から7月にかけて少数ながら患者が発生し、糞便を採取したが、ロタウイルスが検出されたのは4~5月のみであった。8~9月は患者発生もみられなかった。10月から再び患者発生が始まり、平成6年3月にかけて発生数は増加した。そのうちロタウイルス陽性例は1~3月にみられ、特に2~3月には陽性率が高くなる傾向であった。これらの結果は平成4年度の調査結果[1]とほぼ同様であったが、ロタウイルスの最盛期が遅れて現れ、平成5年は2月であったものが、平成6年は3月にずれ込んでいた。ロタウイルスの消長は気温に依存していると言われている[2]ので、平成5年12月が温暖に経過したことが影響したものと考えられる。

平成6年1月に急性胃腸炎を主徴とする3件の集団発生の届出があった。3件ともに飲食に伴う発病なので、細菌学的検査(保健所、衛生研究所細菌部)と同時に、電子顕微鏡観察によるウイルス学的検査を行った。その結果、2件の事例にお

1. 高岡保健所 2. 富山保健所 3. 黒部保健所

いて、各3名の患者から採取された糞便のそれぞれ1例にノーワークウイルス様の小型球形ウイルス (Small round structured virus: SRSV) が電顕観察により検出された。これらウイルス陽性便から半精製したSRSVを抗原にして、患者血清の抗体を免疫電顕法で検索した結果、急性期から回復期にかけSRSV凝集抗体価の有意上昇がみられた。これらのことから、原因はSRSVであったと推定された。他の1件はウイルスが検出されず、細菌学的検査で分離された病原性細菌が原因と推定された。

無菌性髄膜炎 (Aseptic meningitis) 前年度と同様に検査件数は少数であった。7～8月には、やや多めに検査依頼があった。この期間中に分離されたウイルスは、コクサッキーウイルスB2型 (Cox. B2), エコーウイルス7型 (Echo7) およびエンテロウイルス71型 (Ent.71) であった。12月にはエコーウイルス9型 (Echo9) が分離された。Cox. B2は2～3年間隔で断続的に少数検出されているが、Echo7は昭和61年の流行以来7年ぶりの出現であった。Echo9は平成2年に散発した発疹症患者から分離されて以来のことである。

Table 1. Virus Detection from Infectious Disease Patients

Illnesses	Viruses	No. of viruses detected												
		1993						1994						
		Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Total
Gastroenteritis		(7)	(2)	(2)	(2)			(3)	(9)	(14)	(29)	(8)	(46)	(122)
	Rota	3	1								3	6	36	49
	SRSV										2			2
Aseptic meningitis					(7)	(8)				(1)	(1)			(17)
	Cox. B2				2	1								3
	Echo 7					1								1
	Echo 9									1				1
	Ent. 71				3	2								5
Encephalitis				(1)	(1)	(1)								(3)
	Ent. 71				1									1
Epidemic parotitis				(2)	(1)			(2)	(1)					(6)
	Mumps				2	1		2						5
Hand, foot and mouth disease				(4)	(8)	(5)								(17)
	Ent. 71			4	3	3								10
	Echo 7				1									1
Others					(2)	(2)	(1)				(1)			(6)

1) SRSV: small round structured virus

Figures in parentheses are the numbers of patients examined.

一方, Ent. 71は, 患者の咽頭ぬぐい液や糞便から分離されたが, 髄液からはまったく分離されず, 髄膜炎の原因ウイルスとして断定できなかった。

脳炎 (Encephalitis) 手足口病に罹患した後, 脳炎症状を示した例が2件あった。6月発病の1例は脳炎発症2日目に死亡したので, 採取された検査材料は髄液のみであった。その髄液からウイルスを分離できなかったため, 原因は明かでない。7月発病の1例は, 髄液と咽頭ぬぐい液からウイルスは分離されなかったが, 糞便からEnt. 71が分離された。Ent. 71が脳炎に関与していることを示唆する報告 [3] があるので, 本症例の場合も原因はEnt. 71であった可能性が考えられる。8月の症例は手足口病とは無関係で, ウイルスも分離されず, 原因不明であった。

流行性耳下腺炎 (Epidemic parotitis) この疾患は臨床診断が容易なので, ウイルス学的検査を行うことはほとんどないが, 髄膜炎を伴った患者の髄液について検査依頼があった。6例中5例の髄液からおたふくかぜウイルス (Mumps) が分離された。これらのウイルスは野生型と推測され, 遺伝子分析によるワクチンウイルスとの鑑別は行わなかった。

手足口病 (Hand foot and mouth disease) 6月頃から患者発生が増加傾向となり, 7月から8月にかけて検査依頼数も増加した。被検者の大部分は髄膜炎を伴った例であった。したがって,

検査材料は咽頭ぬぐい液, 糞便に髄液が加わるが多かった。17名の患者のうち10名は髄膜炎を併発していた。分離されたウイルスはすべてEnt. 71であった。しかし, 髄液からはまったく分離することができなかったため, 髄膜炎の原因は明らかでない。Ent. 71は平成2年に流行した手足口病の原因ウイルスの一つであるが, その時の患者に髄膜炎を伴った例は極めて少数であった。

1例の髄膜炎を伴った患者の咽頭ぬぐい液と糞便からEcho 7が分離された。このウイルスは手足口病症状に関与したとは考えられないので, 単なるパセツジャーウイルスであろう。

その他 (Others) 7月に咽頭炎2例, 8月に発疹症1例と上気道炎1例, 9月に熱性疾患1例, 平成6年2月にライ症候群1例の検査依頼があったが, ウイルスを分離することはできなかった。

文 献

1. 森田修行, 長谷川澄代, 水木路男, 吉田慶子, 布野純子, 南部厚子 (1993). 富山衛研年報, 16, 177-178.
2. Kawamoto, H., Tanaka, H., Urasawa, S., Urasawa, T., and Taniguchi, K. (1990). Microbiol. Immunol., 34, 675-681.
3. Tagaya, I., Takayama, R., and Hagiwara A. (1981). Japan. J. Med. Sci. Biol., 34, 191-196.

富山県における恙虫病患者発生状況（1993年）

森田 修行 石倉 康宏 南部 厚子¹ 橋爪 淑子²

Incidence of Tsutsugamushi Disease in Toyama Prefecture in 1993

Osayuki MORITA, Mitsuhiro ISHIKURA,
Atsuko NAMBU¹ and Yoshiko HASHIZUME²

恙虫病は新潟県、山形県および秋田県の限られた地域に発生する地方病であったが、1975年頃から群馬県など従来患者がまったく見られなかった地域でも患者が発生するようになった。これは、恙虫の病原体である *Rickettsia tsutsugamushi* (Rt) の分布と感染様式などの変化を示唆している [1]。富山県では、婦負郡山田村で1968年に恙虫病患者が発生した記録がある [2] が、一時的な発生にすぎなかった。1976年から入善町および黒部市など黒部川扇状地で、熱性発疹性疾患が発生するようになり、1978年に恙虫病患者が血清学的検査によって確認された [3]。それ以来、県東部では毎年患者の発生が続いている。今年も9名の恙虫病患者を確認したので、その概要について報告する。

臨床的に恙虫病を疑われた患者について、すでに報告した検査法 [4] によって血清学的に確認検査を行った。多くの患者は2回以上の採血で抗体価の有意上昇を確認して診断したが、Rtに対する特異的なIgM抗体が検出された場合は、恙虫病に罹患したものと判断した。これらの患者について、発病約2週間前の行動など感染状況や治療の様子を調査した。

Table 1は、恙虫病であることを血清学的検査によって確認するようになった1978年からの患者発生状況（臨床症状のみによって診断された患者

を含む）を市町村別に示す。1978～1981年の4年間は累積患者数を示すが、1978～1979年は入善町と黒部市のみに発生し、1980～1981年は入善町、黒部市および宇奈月町の3市町で発生した。1993年までの累積患者数は194名であるが、入善町の患者数は109名で、全体の56%を占め、黒部市は60名で、31%を占めている。入善町の場合、患者は町の全域で発生しているが、黒部市では黒部川左岸に多いが、布施川の流域ではほとんど発生していない。このことは、Rtを媒介しているツツガムシの生息が黒部川扇状地に限られていることを示唆している。宇奈月町の場合も、愛本橋より下流の地域に多く発生している。1985年頃から黒部川扇状地以外の上市町や魚津市、立山町などでも患者を認めるようになった。1985年に小矢部市興法寺および上市町の西種地区と大岩地区で行った野外調査では、患者が感染したと推定された場所で捕獲した野ネズミからRtが分離されたので [5]、Rt保有ツツガムシの生息地域が黒部川扇状地だけでなく、確実に県内各地へ広がっていると推測していた。しかし、これらの地域での患者発生数は極めて少なく、毎年連続して発生することがないので、黒部川扇状地と比較し、Rtの感染様式が異なるのか、あるいは感染の機会が少ないために、恙虫病として認識されることがほとんどないのかもしれない。

Table 1. Numbers of Tsutsugamushi Disease Patients in Toyama Prefecture

Area	1978~1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	Total
Asahi		1								1				2
Nyuzen	35	6	1	16	6	5	5	5	3	8	6	7	6	109
Kurobe	25	3	2		4	4	4		1	3	5	8	1	60
Unazuki	3	1			1		1	1			2			9
Uozu						1				1				2
Kamiichi					2	1					1		1	5
Tateyama									1				1	2
Toyama				1	1						1			3
Oyabe					1									1
Himi							1							1
Total	63	11	3	17	15	11	11	6	5	13	15	15	9	194

Table 2. Clinical Findings of Tsutsugamushi Disease Patients

No.	Age (years)	Sex	Occupation	Residence	Date of onset	Clinical findings			
						Fever (°C)	Rash	Lymphonode swelling	Eschar
1	67	M	Teacher	Kamiichi	May 8	38.6	+	+	Knee
2	76	M	None	Nyuzen	Oct 22	40.5	+	+	Elbow
3	66	F	None	Nyuzen	Oct 23	39.6	+	-	Armpit
4	37	M	Employee	Nyuzen	Oct 28	39.0	+	+	Knee
5	58	M	Employee	Tateyama	Oct 29	39.7	+	+	Jaw
6	64	F	None	Nyuzen	Nov 4	39.7	+	-	Groin
7	18	M	High-school student	Nyuzen	Nov 6	38.4	+	+	Forearm
8	10	M	Junior-school student	Nyuzen	Nov 16	37.8	+	+	Breast
9	58	F	Housewife	Kurobe	Nov 29	39.0	+	+	Breast

Table 3. Serological Examinations of Tsutsugamushi Disease Patients

Days No. after onset	Serum antibody titers against			PCR ¹⁾	
	Kato	Karp	Gilliam	1st	2nd
1.	3	320	640	160 ²⁾	nt ⁴⁾
	13	160	640	160	nt
	16	320	640	160	nt
	18	320	640	160	nt
2.	3	20	20	40	- +++
		(20)	(20)	(40) ³⁾	
	13	1,280	640	1,280	nt
3.	5	10	10	10	- +++
		(10)	(10)	(10)	
	12	2,560	2,560	2,560	nt
4.	18	80	80	160	- +++
		(40)	(40)	(80)	
	31	160	160	160	- -
5.	4	<10	<10	<10	+ +++
		(<10)	(<10)	(10)	
	11	80	80	80	- ++
		(80)	(80)	(80)	
	29	160	320	160	- -
6.	4	<10	<10	<10	- +++
		(<10)	(<10)	(<10)	
	11	640	640	640	nt
7.	6	20	20	20	- +++
		(20)	(20)	(20)	
	13	320	320	320	- -
8.	1	<10	<10	<10	
		(<10)	(<10)	(<10)	
		80	80	320	- -
9.	8	<10	<10	<10	- -
		(<10)	(<10)	(<10)	
	15	320	320	640	- -

- 1) Polymerase chain reaction (PCR) was performed as follows : as primers for PCR, a pair of 20 mers of oligonucleotides were synthesized by a DNA-synthesizer according to DNA sequence of the genome coding 56K-protein of *Rickettsia tsutsugamushi*. The bloods from patients were treated with SDS and protenase K, and template DNA were extracted by phenol-chloroform method. 78bp-length of DNA were amplified by PCR of 35 cycles of 94°C for 30 sec, 57°C for 2 min, 72°C for 2 min in a thermal cycler.
- 2) Immuno-fluorescent antibody titers of total immunoglobulin (IgG and IgM) specific to each strains of *Rickettsia tsutsugamushi*.
- 3) Figures in parentheses are specific IgM antibody titer.
- 4) Not tested.

Table 2は、1993年に発生した恙虫病患者の年齢、職業、臨床症状などを示す。5月に1名、10月に4名、11月に4名の患者の届出があった。市町村別の患者数は入善町が6名で相変わらず最も多く、上市町、立山町および黒部市はそれぞれ1名であった。年齢は10歳から76歳に分布し、性別は男6名、女3名であった。職業は、無職3名、会社員2名の他に教員、高校生、小学生、主婦がそれぞれ1名であった。臨床症状は、37.8℃から40.5℃の間であり、発疹は淡紅色の小丘疹で、全例が軀幹にみられたが、さらに多くの患者では顔面や四肢にも認められた。9名中7名に顎下や鼠けい部などのリンパ節腫脹がみられた。ツツガムシ幼虫の刺し口は全例に認められた。

恙虫病はRt感染後約2週間の潜伏期を経過して発病すると言われている。したがって、これら上記の患者の感染場所や感染機会を推定するために、10日から2週間前の行動、特に屋外での作業や行楽などについて調査した。患者No.1の場合は、当初、常願寺川の川原を散歩した時に感染したものと推測されたが、自宅近くでの畑仕事、あるいは毎日の墓参り時に感染した可能性が高いと考えられる。しかし、患者自宅の近辺にRt保有のツツガムシ幼虫が生息しているかどうかは不明である。患者No.2は田園地帯に居住しているが、特に農作業はしていない。従来から患者が多発している地域ではないが、患者宅から数百メートル離れた地点で、以前われわれが野ネズミ調査を行い、Rtが感染していることを確認しているため、自宅周辺での感染であると推測される。患者No.3は住宅街に住んでいる。時折ではあるが、畑仕事をしているので、その時に感染したのであろう。患者No.4は板金業関係の会社に勤務し、出張が多い。自宅は黒部川扇状地の田園地帯にあり、家族は農業を営んでいるが、本人は手伝っていない。自宅周辺で感染したと考えられる。患者No.5は建設会社に勤務し、生コンのオペレーターである。自宅は田園地帯にあるが、農業や畑仕事には従事していない。生コン工場と自宅周辺にRt保有ツツガムシが生息しているかどうかは不明なので、感染場所を推測することはできなかった。患者No.6は従来か

ら患者が多く発生している田園地帯に住んでいる。足が不自由であり、特別な仕事はしていない。庭の花の世話をしたり、たまに畑仕事をしているので、その時の感染であろう。患者No.7は高校生である。高校へ通う以外、農作業を手伝うことはないが、自宅が患者No.4と同じ地内にあり、自宅周辺で感染したものと考えられる。患者No.8は小学生である。特記すべき行動は見られないので、自宅（黒部川扇状地の患者多発地帯）の周辺か通学途中で感染したのであろう。発病の1週間程前に胸に痒みのある虫刺されの痕があるのに気付く。黒部市民病院で診察を受けた時は、痂皮を形成しており、ツツガムシ幼虫の刺し口と診断された。患者No.9は会社に勤めているが、農繁期は農作業に従事し、平素は畑仕事をすることがある。自宅は従来から患者が発生している地域にあり、感染場所は自宅周辺または田畑であると推測される。

Table 3はこれら患者のRt標準株に対する血清抗体価を間接蛍光抗体法で測定した結果とPolymerase chain reaction (PCR)で患者血液中のRt遺伝子を検索した結果を示す。No.1, No.2, No.4, No.7の患者は、1回目の採血で高い抗体価、または特異的IgMが認められた。その他の5名の場合は2回目の採血で抗体価が有意上昇を示した。これらの結果から、全例が恙虫病と確定診断された。3種類のRt標準株を用いて抗体価を測定したが、それぞれの抗原に対する抗体価を比較して、ほとんど差は認められなかった。

No.1を除くすべての患者について、血清とともに血餅を入手し、Table 3の脚注に示したPCR法でRt遺伝子を検索した。No.2～No.7の患者では、発病後の比較的早期で、抗体価がまだ十分に上昇していない時期にPCRの結果が陽性を示した。特異的IgM抗体が検出されるよりも早い時期に診断し得ることは、早期治療の上からもPCRは非常に有効である。また、No.4とNo.5のように、発病後10日以上経過していても、抗体価が比較的低値で推移する場合、血液中にRtが存在し続けていることが示唆された。このことは、抗生物質の投与などの治療を継続すべきかどうかを判断するためにも利用し得るものと考えられる。

平成6年10月1日

謝辞：患者の臨床所見などのご提供と採血にご協力頂きました上市厚生病院の守田万寿夫先生，坂本病院の太田 斉先生，黒部市民病院の竹田 慎一先生，福井米正先生，池野恒久先生，済生会富山病院の渋谷敏幸先生ならびに関係各位に深く感謝いたします。

文 献

1. 川村明義 (1979). 日細菌誌, 34, 375-393.
2. 上村 清, 渡辺 護, 香取幸治, 鈴木 博, 和田芳武, 白坂昭子, 坪井義昌, 久保田憲太郎 (1972). 衛生動物, 23, 83-87.
3. 森田修行, 石倉康宏, 渡辺 護, 西永慧次, 徳満尚子, 中山 喬, 植竹久雄, 清水宗則, 松原勝博, 有沢義夫, 笠木清孝, 山崎義時, 倉本安隆, 尾崎一郎, 富田良一, 坂田龍光 (1982). 富山県農村医学研究会誌, 13, 79-85.
4. 石倉康宏, 渡辺 護, 西永慧次, 森田修行, 植竹久雄, 清水宗則, 松沢孝信, 笠木清孝, 小川寿人, 野崎理貞, 山崎義時, 松原勝博, 松原昌世, 小島正作, 倉本安隆 (1981). 富山衛研年報, 4, 44-57.

エンテロウイルス71型感染による 髄膜炎を伴った手足口病の発生

森田 修行 中山 喬 水木 路男¹
吉田 慶子²

An Outbreak of Hand, Foot and Mouth Disease and/or Aseptic Meningitis Associated with Enterovirus Type 71 Infection

Osayuki MORITA, Takashi NAKAYAMA,
Michio MIZUKI¹ and Keiko YOSHIDA²

エンテロウイルス71型(Ent. 71)は、手足口病患者から最も頻繁に分離されるウイルスの一つであるが、髄膜炎を起こすことでもよく知られている。Schmidtらは、1969～72年に米国カリフォルニアで多発した髄膜炎、脳炎の患者から分離したnew enterovirusについて報告し [1]、Deibelらも1972年に米国ニューヨーク州で発生した髄膜炎9名、脳炎1名、手足口病1名の患者からのウイルス分離を報告した [2]。これらのウイルスは1974年にEnt. 71として登録された。わが国では、1973年と1978年に全国的な規模で発生した手足口病は、主にEnt. 71感染によるものであった。しかし、患者の主な臨床症状は手足口病であり、髄膜炎や脳炎の合併はあまり見られなかった [3]。1981年に感染症サーベイランス事業が始まって以来、毎年手足口病患者の発生が報告されている。一方、ウイルス検出情報では、コクサッキーウイルスA16型(CA16)とともに、Ent. 71が多数分離されているが、その大部分は手足口病からであり、髄膜炎や脳炎からのものは少ない。1991年、本県西部で多発した手足口病は、CA16とEnt. 71の感染によるものであったが、髄膜炎の合併例はほとんど見られなかった [4]。

1993年6月、2歳の女兒が手足口病に罹患した2日後に髄膜炎症状が現れ、さらに翌日脳炎に進展してその2日後に死亡する症例が発生した。Ent. 71の感染が疑われたが、患者が髄膜炎を呈した時に採取された髄液からはウイルスが分離されなかった。この症例を機に、患児の周囲に散発していた手足口病患者についてウイルス学的検索を試みた。Table 1に示した結果のうち、患者No. 1は上述の死亡例であり、患者No. 2～5は患者No. 1と同じ地区内で発病した4名の所見と検査結果である。4名ともに糞便や咽頭ぬぐい液からEnt. 71が分離されたので、手足口病の原因ウイルスとしてこの地区に広がっていたことが明らかになった。その後、7～8月に富山県結核・感染症サーベイランス事業の患者調査で手足口病が増加するにつれて、髄膜炎を併発した手足口病患者や髄膜炎患者についてウイルス検査の依頼が増えた。これら被検患者の多くは38℃以上の発熱があった点で、過去に発生した手足口病とは異なっていた。

ウイルス分離にはVero細胞とRD-18S細胞を用いた。検査結果をTable 1に示す。22名のうちウイルスが分離されたのは、手足口病のみの患者5名、髄膜炎を伴った手足口病患者5名、脳炎を

1. 高岡保健所 2. 富山保健所

Table 1. Clinical Findings and Virological Examinations of Patients with Hand, Foot and Mouth Disease and/or Aseptic Meningitis

No.	Patient	Age	Date of onset	Clinical findings			No. (%) of lymphocytes in CSF ³⁾	Virus isolated from		
				Fever (°C)	HFMD ¹⁾	AM ²⁾		Feces	Throat-swab	CSF ³⁾
1	A. U.	2Y	Jun 9	40.0	+	E ⁴⁾	>1,000	nt ⁵⁾	nt	—
2	O. N.	5Y	Jun 20	37.6	+	—	nt	Ent71 ⁶⁾	—	nt
3	A. M.	4Y	Jun 21	39.0	+	—	nt	Ent71	—	nt
4	S. R.	2Y	Jun 23	37.7	+	—	nt	Ent71	Ent71	nt
5	M. T.	10M	Jun 29	38.0	+	—	nt	Ent71	Ent71	nt
6	N. M.	5Y	Jul 5	39.0	+	+	220 (62)	—	—	—
7	H. T.	5Y	Jul 7	39.6	+	+	137 (35)	—	—	—
8	H. T.	8Y	Jul 12	39.1	+	+	249 (29)	Ent71	—	—
9	M. K.	2Y	Jul 14	39.0	—	+	42 (23)	Ent71	—	nt
10	U. S.	10M	Jul 16	38.0	+	E	863 (89)	Ent71	—	—
11	T. S.	8Y	Jul 18	39.4	+	+	233 (77)	Ent71	—	—
12	Y. S.	U ⁷⁾	Jul 18	39.0	—	+	1,690 (92)	—	Ent71	—
13	M. M.	6M	Jul 19	38.0	+	—	nt	—	—	nt
14	I. E.	4Y	Jul 20	38.8	+	+	258 (61)	Ent71	—	—
15	Y. M.	13Y	Jul 26	39.9	—	+	976 (80)	Ent71	—	—
16	S. T.	8M	Aug 1	39.0	—	+	109 (19)	Ent71	—	—
17	Y. M.	11M	Aug 1	38.8	—	+	67 (96)	Ent71	—	—
18	Y. A.	2Y	Aug 3	38.5	+	+	232 (90)	Ent71	—	—
19	I. Y.	5Y	Aug 15	40.0	+	+	U	—	—	nt
20	T. S.	2Y	Aug 23	39.8	+	+	200 (5)	nt	—	—
21	S. K.	1Y	Aug 25	36.0	+	—	nt	Ent71	Ent71	nt
22	M. T.	1Y	Aug 28	39.0	+	+	230 (63)	Ent71	Ent71	—

Abbreviation:

- 1) HFMD; symptoms of hand, foot and mouth disease.
- 2) AM; symptoms of aseptic meningitis.
- 3) CSF; cerebrospinal fluid.
- 4) E; development to encephalitis.
- 5) nt; not tested.
- 6) Ent71; enterovirus type 71 isolated from clinical specimen.
- 7) U; unknown

伴った手足口病患者1名、髄膜炎のみの患者5名であった。残り6名の検体からウイルスを分離できなかった。これら患者からの検体採取は、第1病日から第6病日の間に行われたが、早期採取の検体からのウイルス分離率が高い傾向であった。検体別の分離率は、糞便75%(15/20)、咽頭ぬぐい液24%(5/21)であったが、14検体の髄液からはまったく分離されず、髄膜炎や脳炎の原因をはっきりさせることはできなかった。ほとんどの髄液採取が第4～6病日に行われたので、ウイルス分離が困難であったと考えられる。コクサッキーウイルスやエコーウイルスなどのエンテロウイルス感染による無菌性髄膜炎の場合、第2病日までに採取された髄液からはかなり高率にウイルスが分離されるが、第3病日以後のものからの分離率は非常に低下することを経験している[4]。16名の患者の20検体からVero細胞で、明瞭な細胞変性効果(CPE)を示して増殖するウイルスが分離された。これらのウイルスは、Ent. 71の標準株であるBrCr株に対する自家製抗血清によって容易に中和され、Ent. 71と同定された。患者から水泡内容がほとんど採取されず、検査していないので、確定的ではないが、これらEnt. 71が手足口病の原因であったものと推定される。さらに、Ent. 71感染が髄膜炎を併発することはよく知られているが、脳炎に進展する危険性のあることが示唆された。

2年前の1991年にも、県西部にEnt. 71による手足口病の流行があった[5]。その時の患者に、髄膜炎の併発例がほとんど見られなかったので、今度の分離株と1991年の流行時に分離した株との抗原性を比較した。両群の各ウイルス株の間で、標準株の抗血清に対する中和抗体価に有意な差がみられなかった。このことから、中和に関与する抗原の性状は変化していないものと考えられる。向神経性が異なっているウイルスなのかもしれない。欧米では、Ent. 71の分離は髄膜炎の患者から多く、手足口病は少ない[1, 2, 6]。わが国で分離されたEnt. 71は抗原性が均一であっても、向神経性において異なる株の存在することが示唆されている[3]。この度、県西部に発生したEnt.

71感染では、手足口病と髄膜炎の併発例を多く検査したが、髄膜炎のみの患者もかなり見られた。後者の場合、手足口病の症状がまったくなかったのかどうか確かではない。また、同時期にコクサッキーウイルスB2型やエコーウイルス7型の感染による無菌性髄膜炎が散発的に発生していたので、髄膜炎症状はEnt. 71感染とは直接関係のない原因によるかもしれない。

上述のように、1991年の夏、Ent. 71が流行してから2年の短い間隔で、同じ地域に再びEnt. 71が流行するのは珍しいことである。しかもウイルスの抗原性に著しい変化は認められなかった。そこで、1992年の7～9月に健康な住民から採取された血清を用いて、今年のEnt. 71分離株に対する抗体の保有状況を調べた。中和抗体価が4倍以上のものを陽性とした保有率は、0～4歳21%(9/43)、5～9歳38%(9/24)、10～14歳27%(10/37)、15～19歳45%(14/31)であった。この結果は、Ent. 71の流行直後にもかかわらず、意外に住民の抗体保有率が低いことを示している。特に4歳以下の年齢層に感受性者が多い。1991年の流行時には、1～5歳の患者が多く小児科外来を受診していた。しかし、これはEnt. 71が県内の幼児童に広く蔓延したことの反映ではなく、かなり限られた地域での患者多発にすぎなかったものと考えられる。

謝辞：患者の臨床所見提供および検査材料採取にご協力頂きました厚生連高岡病院小児科の粕井先生、沼田先生、丸山先生、岩口先生、国立療養所富山病院の犀川先生、富山医科薬科大学小児科の浜道先生、久保田先生、八木先生、新湊市民病院小児科の上原先生、富山市民病院小児科の岡部先生ならびに関係各位に厚く感謝いたします。

文 献

1. Schmidt, N. J., Lennette, E. H. and Ho, H. H. (1974). J. Infect. Dis., 129, 304-309.
2. Deibel, R. Gross, L. L. and Collins, D. N. (1975).

生ガキが推定原因食と考えられるSRVによる 急性胃腸炎の集団発生

長谷川 澄代 森田 修行 西部 健治¹ 城石 将幸²

Outbreaks of Gastroenteritis Caused by Oysters Contaminated with Small Round Virus

Sumiyo HASEGAWA, Osayuki MORITA, Kenzi NISHIBU
and Masayuki SHIROISHI²

1994年1月、急性胃腸炎の集団発生が、富山県内で2件、引き続いて起きた。事例1は、新湊市内の民宿で生ガキを摂食した事がわかった。事例2も富山市内の旅館で生ガキを摂食していた事がわかった。細菌とウイルスの両面から検査が行なわれた。原因と考えられる病原性細菌は全く検出されなかったが、患者の糞便を粗精製し、電子顕微鏡でウイルス粒子の検索を行なったところ、小型球形ウイルス (small round virus : SRV) が検出されたので、その概要について報告する。

材料：事例1は1994年の1月8日、新湊市内の民宿で会食し、9日の午後から11日にかけて13名中8名が発症した。発症者は全員酢ガキを食べていた。この集団からは11日～12日に糞便4件、急性期の血清は11日に6件、回復期の血清を2月1日に4件採取した。

事例2は1994年の1月21日、富山市内の旅館で会食し、103名中40数名が22日夕方から23日にかけて発症した。発症者は全て酢ガキを摂食していた。この集団からは27日～28日に糞便3件、急性期の血清は1月27日に2件、回復期の血清は3月7日に3件採取した。

いずれの場合もSRV陽性試料を用いて免疫電子顕微鏡法 (immune electron microscopy: IEM) で患者血清の抗体測定を行なった。

結果および考察：①電子顕微鏡によるSRVの検出—事例1では、患者3名からの糞便にSRVが検出された (3/4) (Table 1)。事例2では、患者1名からの糞便にSRVが検出された (1/3) (Table 1)。いずれの場合も電子顕微鏡観察でSRVの直径は35～40nmで辺縁に突起状構造物がある形態をしていた。

②IEMによる抗体測定—事例1は患者O. K. の糞便から粗精製した抗原を用いてIEMで患者血清の抗体を測定したところ、急性期と回復期の対で血液がとれた4名で有意な抗体レベルの上昇が見られた (Table 2)。事例2は患者T. M. の糞便から粗精製した抗原を用いてIEMで急性期と回復期の血清の抗体を測定したところ、対で血清がとれた2名で有意な抗体の上昇が認められた (Table 2)。

これらのことから今回の急性胃腸炎の集団発生の2事例はSRVの感染によるものと判定された。

近年、我が国において、生ガキの摂食が原因と考えられる急性胃腸炎が、冬季に多発しており、患者糞便からのSRVの検出が相次いでいる [1～9]。川本らは生ガキを摂食しない場合は発症しないが、少量摂食した場合は発症しなくてもIEMでは抗体反応が認められたと報告している。今回の場合、いずれの事例も、発症者は生ガキを

Table 1. Detection of SRV Particles in Feces by Electron Microscopy

Case	Patient	Age (years)	Days after onset	Detection of SRV
1	N. N.	21	1	—
	O. K.	21	2	+
	K. M.	32	2	+
	S. Y.	22	2	+

2	K. R.	58	4	—
	I. T.	52	6	+
	T. M.	45	6	+

+ : SRV was detected

Table 2. Antibody Development in Paired Sera by IEM

Case	Patient	Rating of serum antibody response	
		Acute	Convalescent
1 ^a	N. N.	0	4+
	Y. M.	0	
	O. K.	0~1+	3~4+
	H. S.	0	
	K. M.	0	3~4+
	S. Y.	0~1+	3~4+

2 ^b	K. R.	1+	4+
	I. T.	1+	4+
	T. M.		3~4+

a:SRVs from patient O.K.were used as antigen.

b:SRVs from patient T.M.were used as antigen.

摂食したものに限られていた。

患者の糞便から電子顕微鏡で検出されたSRVは形態学的特徴より Caul and Appleton[10]の分類によれば Small round structured virus (SRSV)に属すると考えられる。

文 献

1. 安東民衛, 関根整治, 林 志直, 寺山 武, 大橋 誠, 岡田正次郎 (1987). 病原微生物検出情報, 月報, 8, 90.
2. 春木孝祐, 村上 司, 簗城昇次, 木村輝男 (1987) 病原微生物検出情報, 月報 8, 112 -113.
3. 近平雅嗣, 木村英二 (1988). 病原微生物検出情報, 月報, 9 , 82-83.
4. 林 志直, 関根整治, 安東民衛, 藪内 清 (1988) 病原微生物検出情報, 月報, 9 , 105.
5. 安東民衛, 藪内 清 (1989). 病原微生物検出情報, 10, 48 -49.
6. 川本尋義, 三輪智恵子, 長谷川澄代, 森田修行, 小林信行, 後藤判友 (1989). 病原微生物検出情報, 月報, 160 -173.
7. 豊川安延, 佐藤充武, 佐藤真理子, 三星陽子, 梅津浩司, 山本 仁 (1989). 病原微生物検出情報, 月報, 10, 178 -179.
8. 長谷川澄代, 森田修行, 蔦 靖男, 柚木正博, 高附庸志 (1989). 富山衛研年報, 12, 236 -238
9. 長谷川澄代, 森田修行, 西川不二夫, 荒谷 考一 (1990). 富山衛研年報, 13, 203 -205.
10. Caul, E. O. and Appleton, H. (1982). J. Med. Virol., 9, 257-265.

県内1地区におけるC型肝炎ウイルス抗体調査

中山 喬 森田 修行 垣内 孝子¹ 高柳 礼子¹
 土井 ちえ子¹ 表 とし美¹ 森田 桂子¹
 大森 美千代¹ 藍 口 陽子¹ 横川 博¹

Prevalence of Antibody against Hepatitis C Virus
 in a District in Toyama Prefecture

Takashi NAKAYAMA, Osayuki MORITA,
 Takako KAKIUCHI¹, Reiko TAKAYANAGI¹, Chieko DOI¹,
 Toshimi OMOTE¹, Keiko MORITA¹, Michiyo OHMORI¹,
 Youko AIGUCHI¹, Hiroshi YOKOGAWA¹,

K保健所管内A地区において実施された肝臓病検診で、C型肝炎ウイルス抗体を調査する機会をえた。受診者は100人で、平均年齢は 56.3 ± 9.1 歳(33~75歳)であった。このうち男性は35人で平均年齢 57.3 ± 8.3 歳(36~75歳)、女性は65人で平均年齢 55.8 ± 9.7 歳(33~73歳)であった。この検診では問診、内診、血圧、身長、体重、尿検査、血液生化学的検査、心電図検査、眼底検査、ウイルス性肝炎検査、およびアンケート調査を行ったが、当研究所ではウイルス性肝炎マーカー検査を担当した。実施した検査項目は、B型肝炎ウイルス(HBV)についてはs抗原(HBs抗原)およびs抗体(HBs抗体)、C型肝炎ウイルス(HCV)については第2世代抗体検出キットによるHCV抗体を測定した。HBs抗原陽性者についてはe抗原(HBe抗原)・e抗体(HBe抗体)の検出を行った。各マーカーの検出に使用した検査キットは、HBs抗原はマイセルHBsAg(特殊免疫研究所)、HBs抗体はマイセルantiHBs(特殊免疫研究所)、HCV抗体はHCV・PHA(ダイナボット)、HBe抗原・HBe抗体はHBe・EIA(ダイナボット)を使用し、結果は各キットの測定基準にしたがって判定した。

受診者100人のうち、HBs抗原は1人(1%)、HBs抗体は41人(41%)、HCV抗体は19人(19%)が陽性であった。なお、HBs抗原陽性者はHBe抗原が陽性で、HBe抗体は陰性であった。HCV抗体陽性率は年齢が高くなるにしたがって陽性率も高くなることが知られており[1]、また、地域的に高い陽性率を示す場合のあることが報告されている[2]。A地区におけるHCV抗体陽性率19%は極端に高率とは言えないが、守屋ら[3]が同年齢層で報告している陽性率2~7%より高いと思われるので、問診票、アンケートおよび生化学的血液検査項目のなかから肝臓疾患に関係のあると思われる項目について検討を加えた。なおHCVについてはPCRによるウイルス核酸の検出を行っていないので、HCV抗体陽性者をHCV感染者、HBVについてはHBs抗原陽性者とHBs抗体陽性者をまとめてHBV既感染者として集計した。また、血液生化学的検査のGOT、GPT、 γ -GTPの3項目のうちどれか1項目以上で、GOTが40単位以上、GPTが45単位以上、 γ -GTPが60単位以上の値を示した場合を肝機能異常とした。

年齢区分別にみたHBV既感染者の陽性率を表1に、HCV感染者の陽性率を表2に示した。HBV既感

感染者は100人中42人(42.0%)であり、男性が45.7% (35人中16人)、女性が40.0%(65人中25人)で、男女間の陽性率に有意差は認められなかった。また年齢が増すにしたがって陽性率が高くなる傾向がみられた。一方HCV感染者については100人中19人(19.0%)であり、男性が14.3%(35人中5人)、女性が21.5%(65人中14人)で、HBV同様男女間に有意差は認められず、高年齢層において高率を示す傾向がうかがえた。両ウイルスについて感染状況

をみると(表3、表4)、HBV、HCV共に陽性の人は13人(13%)、HBVのみ陽性の人は29人(29%)、HCVのみ陽性の人は6人(6%)、両ウイルスとも陰性の人は52人(52%)であり、HBV、HCVのいずれかに感染していた人は48人、48%を占めていた。この場合も男女間に有意差は認められず、年齢が増すと共に肝炎ウイルス既感染者が多くなる傾向がみられた。

肝炎ウイルスの既感染者が高率を示す背景を採

表1. 年齢別HBV感染状況

年齢区分	男 性			女 性			合 計		
	人数	陽性	(%)	人数	陽性	(%)	人数	陽性	(%)
～39	1	1	(100.0)	3	1	(33.3)	4	2	(50.0)
40～49	6	1	(16.7)	16	6	(37.5)	22	7	(31.8)
50～59	12	5	(41.7)	21	8	(38.1)	33	13	(39.3)
60～69	15	8	(53.3)	20	9	(45.0)	35	17	(48.6)
70～	1	1	(100.0)	5	2	(40.0)	6	3	(50.0)
合計	35	16	(45.7)	65	26	(40.0)	100	42	(42.0)

表2. 年齢別HCV感染状況

年齢区分	男 性			女 性			合 計		
	人数	陽性	(%)	人数	陽性	(%)	人数	陽性	(%)
～39	1	0	(0)	3	0	(0)	4	0	(0)
40～49	6	0	(0)	16	2	(12.5)	22	2	(9.1)
50～59	12	1	(8.3)	21	7	(33.3)	33	8	(24.2)
60～69	15	4	(26.7)	20	2	(10.0)	35	6	(17.1)
70～	1	0	(0)	5	3	(60.0)	6	3	(50.0)
合計	35	5	(14.3)	65	14	(21.5)	100	19	(19.0)

るため、肝機能検査結果とアンケート項目のうち肝疾患既往歴、手術歴、輸血歴、肝疾患家族歴について検討した(表5)。まず、血液生化学的検査項目のうち、GOT、GPTおよび γ -GTPのいずれか1項目以上で異常を示した人は20人であったが、肝機能異常の有無と肝炎ウイルス感染との間に有意差は認められなかった。本人の肝疾患既往歴のある人は17人で、内訳は急性肝炎6人、慢性肝炎2人、C型肝炎2人、アルコール性肝炎3人、脂

肪肝1人、その他3人であった。肝疾患既往歴と肝炎ウイルス感染との間においても有意差は認められなかったが、これをHBVとHCVとに分けてみると、HBVでは $\chi^2=1.006$ 、HCVでは $\chi^2=6.545$ で、HCVにおいて有意差が認められた($P<0.05$)。輸血歴と肝炎ウイルス感染との間においては有意差が認められた($P<0.05$ 、 $\chi^2=8.445$)。輸血歴のある人は11人、ない人は85人、輸血歴不明者は2人、未記入者2人であったが、この場合もHCVが $\chi^2=10.449$

表3. HBV, HCV感染状況

性別	感 染 状 況								合計
	HBV(+), HCV(-)		HBV(+), HCV(+)		HBV(-), HCV(+)		HBV(-), HCV(-)		人数
	人数	(%)	人数	(%)	人数	(%)	人数	(%)	
男	12	(34.3)	4	(11.4)	1	(2.9)	18	(51.4)	35
女	17	(26.2)	9	(13.8)	5	(7.7)	34	(52.3)	65
合計	29	(29.0)	13	(13.0)	6	(6.0)	52	(52.0)	100

表4. 年齢区分別感染状況

年齢区分	感 染 状 況								合計 人数
	HBV(+), HCV(-)		HBV(+), HCV(+)		HBV(-), HCV(+)		HBV(-), HCV(-)		
	人数	(%)	人数	(%)	人数	(%)	人数	(%)	
～39	2	(50.0)	0	(0)	0	(0)	2	(50.0)	4
40～49	7	(31.7)	0	(0)	2	(9.1)	13	(59.1)	22
50～59	6	(18.2)	7	(21.2)	1	(3.0)	19	(57.6)	33
60～69	13	(37.1)	4	(11.4)	2	(5.7)	16	(45.7)	35
70～	1	(16.7)	2	(33.3)	1	(16.7)	2	(33.3)	6
合計	29	(29.0)	13	(13.0)	6	(6.0)	52	(52.0)	100

表5. HBV, HCVの感染状況とその背景

調査項目		合計 人数	感 染 状 況				検定 (χ^2)
			HBV(+), HCV(-) 人数 (%)	HBV(+), HCV(+) 人数 (%)	HBV(-), HCV(+) 人数 (%)	HBV(-), HCV(-) 人数 (%)	
検診総数		100	29 (29.0)	13 (13.0)	6 (6.0)	52 (52.0)	
肝機能異常	あり	20	6 (30.0)	2 (10.0)	3 (15.0)	9 (45.0)	NS
	なし	80	23 (28.8)	11 (13.8)	3 (3.8)	43 (53.8)	
輸血歴 [#]	あり	11	2 (18.2)	4 (36.4)	2 (18.2)	3 (27.3)	P<0.05* ($\chi^2=8.445$)
	なし	85	27 (31.8)	9 (10.6)	3 (3.5)	46 (54.1)	
手術歴	あり	41	13 (31.7)	6 (14.6)	3 (7.3)	19 (46.3)	NS
	なし	59	16 (27.1)	7 (11.9)	3 (5.1)	33 (55.9)	
肝疾患既往歴	あり	17	5 (29.4)	4 (23.5)	3 (17.6)	5 (29.4)	NS*
	なし	83	24 (28.9)	9 (10.8)	3 (3.6)	47 (56.6)	
肝疾患家族歴	あり	13	5 (38.5)	4 (30.8)	1 (7.7)	3 (23.1)	NS [§]
	なし	87	24 (27.6)	9 (10.3)	5 (5.7)	49 (56.3)	

輸血歴不明者2人:[HBV(-)HCV(+)]1人、HBV(-)HCV(-)1人]

輸血歴未記入2人:[HBV(-)HCV(-)2人]

* HBV:NS, HCV:P<0.01($\chi^2=10.449$)※ HBV:NS, HCV:P<0.05($\chi^2=6.545$)§ HBV:P<0.05($\chi^2=4.548$), HCV:NS

($P<0.01$)で有意差が認められたが、HBVでは有意差は認められなかった($\chi^2=0.588$)。手術歴については、ある人が41人、ない人は59人であったが、手術歴の有無とHBVおよびHCV感染との間には有意差は認められなかった。家族内に肝疾患既往者のある人は13人、ない人は87人であった。肝疾患既往家族の内訳は配偶者4人、子供3人、父母3人、祖父母1人、義父母1人であった。肝疾患既往家族を有する13人のうち2人は夫婦で、夫はHBs抗体HCV抗体ともに陽性、妻はHBs抗原陽性で、その子供は慢性肝炎既往者であった。この肝疾患既往家族の有無と肝炎ウイルス感染との間においても有意差は認められなかったが、HBV、HCV各々について検討すると、HBVにおいて有意差が認められた($P<0.05$, $\chi^2=4.548$)が、HCVにおいては有意差は認められなかった($\chi^2=3.677$)。受診者100人中に夫婦で受診した人が8組あったが、配偶者の両方ともHBV陽性でさらにどちらか一方のみが

HCV陽性の夫婦が2組、配偶者のどちらかがHBVのみ陽性の夫婦が2組で、あとの4組では肝炎ウイルス陰性であり、夫婦間における肝炎ウイルスとの関連に関しての傾向はつかめなかった。

HCV抗体保有率に関して、地域により高い保有率を示す場合のあることが報告されている[4, 5]。また過去の肝炎流行地における住民の抗体保有率が高く、HCVとの関連を示唆する報告もある[6]。HCVの感染経路で血液を介する感染は明らかにされているが、それ以外の感染経路については種々の可能性について論じられている[7, 8]。今回の住民検診におけるA地区のHCV抗体陽性率は19%で、杉山ら[4]の44.5%に比べてとくに高率とは言えないものの、献血者における同年齢の抗体保有率2~7%[3]よりは高かった。またHCV抗体陽性率は本人の肝疾患既往歴および輸血歴を有する群での保有率はそれぞれ41.2%(17人中7人)、54.5%(11人中6人)で、無い群の保有率が

それぞれ14.5%(83人中12人), 14.1%(85人中12人)であるのに対し有意差が認められた。肝疾患既往家族の有無においては, 家族歴を有する群ではHBV陽性率が69.2%(13人中9人), HCV陽性率が38.5%(13人中5人)で, 家族歴の無い群がそれぞれ37.9%(87人中33人), 16.1%(87人中14人)を示し, HBVにおいて有意差が認められたが, HCVでは有意差は認められなかった。以上のことから, HBVにおいては肝疾患既往家族歴において有意差が認められたのみであるが42%と比較的高率で, 門奈ら[9]によれば過去に地域的なHBV汚染が推測され, HBV, HCVの両肝炎ウイルス既感染者が48%を占めるなんらかの要因があるものと推測されるが, 今回の調査ではその要因を特定することは出来なかった。

謝辞 この調査にご協力いただいたA地区の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 飯野四郎(1993), ウイルス肝炎の正しい知識(日本メディカルセンター), 29-50.
2. 清澤研道, 田中栄司, 渡辺庸子(1993). ウイルス, 43, 339-344.
3. 守屋 尚, 佐々木登美子, 田中純子(1992). Pharma Medica, 10, 45-51.
4. 杉山照幸, 時田 元(1993). 肝臓, 34(Suppl.2), 33(S1-3).
5. 周防武昭, 川崎寛中(1993). 肝臓, 34(Suppl.2), 33(S1-4).
6. 荒牧琢己, 若山葉子, 赤池正博, 古明地弘和, 筒井 仁, 里村克章, 勝田悌実, 奥村英正(1991). 肝臓, 32, 125-130.
7. 木村公憲(1993). 肝臓, 34, 187-193.
8. 田和良行(1994). 肝臓, 35, 1-9.
9. 門奈丈之, 羽生大記(1989). 医学のあゆみ, 151, 745-749.

富山県における1993年の病原微生物検出情報

細呂木 志保 刑部 陽宅 児玉 博英¹

Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 1993

Shiho HOSOROGI, Yotaku GYOBU
and Hirohide KODAMA¹

県内12か所の医療機関、10か所の保健所と衛生研究所から病原微生物検出情報を従来どおり収集した。保健所、衛生研究所からの情報はほとんどが糞便材料からの分離例であるが、それらを医療機関からの情報に含めた。表-1～8に1993年1月から12月までに収集した情報を、材料別・菌種別に示した。表中の○で囲んだ数字は、食中毒など同一フォーカスからの分離株が含まれていることを示し、()内の数字は、海外旅行者分の再掲である。なお1月から医療機関の各材料から分離された黄色ブドウ球菌について、メシチリン等に対する薬剤感受性試験結果の情報も併せて収集した。その集計結果は総株数に対する耐性株数の比(%)で本文中に示した。以下、菌検出状況を材料別に述べる。

糞便：分離株総数891株、前年比112%。前年同様、黄色ブドウ球菌(MRSAの割合は67%)が全体の約半数を占めた。大腸菌は7月に毒素原性大腸菌による大規模な食中毒が発生し、前年比222%と増加した。また腸管出血性大腸菌が3株分離された。サルモネラは全国的にも急増している血清型 Enteritidisが前年比180%と増加した。カンピロバクター、腸炎ビブリオは前年並であった。

法定伝染病関係では、チフス菌1株、赤痢菌3株が分離された。チフス菌は胆汁由来であった。

海外からの持ち込みは、非O-1コレラ菌1株、

赤痢菌、サルモネラ各2株、大腸菌4株、腸炎ビブリオ5株の計14株で、推定感染国はいずれもアジア諸国であった。4月に分離された腸炎ビブリオは、1人の患者から同時に血清型の異なる菌が3株分離された珍しい例であった(表-1)。

穿刺液：分離株総数233株、前年比100%。最も多かったのは、大腸菌、次いで黄色ブドウ球菌(MRSAは50%)、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌であった。その他は肺炎桿菌、緑膿菌、嫌気性菌などであった(表-2)。

髄液：分離株総数10株、前年比77%。約半数が黄色ブドウ球菌(MRSAは50%)であった。7月には *Listeria monocytogenes* が1株分離された。その他は大腸菌、*Haemophilus influenzae*、肺炎球菌であった(表-3)。

血液：分離株総数293株、前年比108%。黄色ブドウ球菌(MRSAは50%)、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌、大腸菌が多く、次いで緑膿菌、嫌気性菌などであった。法定伝染病のチフス菌とパラチフスA菌が1株ずつ分離されている(表-4)。

咽頭および鼻咽喉：分離株総数1,549株、前年比113%。A群溶血レンサ球菌の分離数が多く、5月には黒部地区の精神薄弱児童収容施設でA群3型菌による集団発生が起こった。その他では、*Haemophilus influenzae*、肺炎球菌が多かった(表-5)。

表 月別・菌種別の病原微生物検出状況

1) 分離材料: 糞便

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Salmonella Typhi								1					1
Salmonella ParatyphiA													
Salmonella O4	3				1	4	3	1	5	4	5	3	29
Salmonella O7	1	1		1		4	2	5		1	1	3	19
Salmonella O8				1	1	4				1			7
Salmonella O9	2	1	1		(9)	6	3	4	6	13	6(1)	3	54(1)
Salmonella その他			1		1	1	2	2		4		2	13
Salmonella 群不明			1(1)		1								2(1)
Yersinia enterocolitica				1			2	2					5
Y. pseudotuberculosis													
Vibrio cholerae O1 Ogawa													
Vibrio cholerae O1 Inaba													
Vibrio cholerae non-O1					1		1	2(1)					4(1)
Vibrio parahaemolyticus			2(1)	3(3)		4	9	(6)(1)	2	2			26(5)
Vibrio fluvialis													
Vibrio mimicus							1						1
Aeromonas			1				1	1					3
Plesiomonas shigelloides													
Campylobacter	5		2	3	13	15	6	(18)	5	6	5	5	83
Staphylococcus aureus	35	36	53	46	34	28	39	45	33	33	27	43	452
Clostridium perfringens													
Clostridium botulinum													
Bacillus cereus													
Entamoeba histolytica													
Escherichia coli 細菌侵入性										2	1	1	4
" 毒素原性			3	3	1	8	(90)	9		1	4(2)		119(2)
" 病原大腸菌血清型	6		5	9	4	1	4		5	3	7	5	49
" EHEC/VTEC								3					3
" その他・不明	3	1					3	1	3		2(2)	1	14(2)
Shigella				1(1)	1			1(1)					3(2)
合 計	55	39	69(2)	68(4)	67	75	166	101(3)	59	68	58(5)	66	891(14)
Edwardsiella tarda				1									1
Citrobacter										1			1

2) 分離材料: 穿刺液(胸水、腹水、関節液など)

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Escherichia coli	4	3	8	7	7	2	5	6	6	2	5	4	59
Klebsiella pneumoniae	4	2	2	3	5	2	2	1	3	1	1	3	29
Haemophilus influenzae													
Neisseria meningitidis													
Pseudomonas aeruginosa	2			3		5	2	3	2	2	3	4	26
Mycobacterium spp.													
Staphylococcus aureus	4	4	1	6	3	2	5	8	9	3	2	3	50
Staphylococcus, J777-陽性	4	3	1	2	5	4	7	9	2	1	3	4	45
Streptococcus pneumoniae				2									2
Anaerobes	4		4	3	4	1	2	1				3	22
Mycoplasma pneumoniae													
合 計	22	12	16	26	24	16	23	28	22	9	14	21	233
Enterobacter aerogenes	1												1
Streptococcus, A											1		1

平成6年10月1日

3) 分離材料：髄液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Escherichia coli	2												2
Haemophilus influenzae				1									1
Neisseria meningitidis													
Staphylococcus aureus			2	1						1	2		6
Streptococcus, B													
Streptococcus pneumoniae					1								1
合計	2	0	2	2	1	0	0	0	0	1	2	0	10
Enterobacter aerogenes	1												1
Listeria monocytogenes							1						1

4) 分離材料：血液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Escherichia coli	2	2	7	4	6	5	5	12	7	8	3	2	63
Salmonella Typhi	1												1
Salmonella ParatyphiA		1											1
Salmonella spp.													
Haemophilus influenzae					1						1		2
Neisseria meningitidis													
Pseudomonas aeruginosa	2	3	2	3	3	2	3	3	5	3			29
Staphylococcus aureus	6	7	6	6	8	13	7	1	8	5	10	7	84
Staphylococcus, 37/79-陽性	8	3	4	4	7	2	6	15	8	5	13	6	81
Streptococcus, B		1		1				1		1			4
Streptococcus pneumoniae	3				1	1					1	2	8
Anaerobes	2		1	3	2	3	1	3	2	2		1	20
合計	24	17	20	21	28	26	22	35	30	24	28	18	293
Klebsiella pneumoniae	1												1
Streptococcus pyogenes	1												1
Serratia		1											1
Campylobacter fetus									1				1
Candida									1				1

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Bordetella pertussis													
Haemophilus influenzae	43	48	66	64	76	69	53	29	41	49	56	52	646
Neisseria meningitidis													
Streptococcus, A	46	58	111	67	(95)	64	42	19	48	51	78	95	774
Streptococcus pneumoniae	8	10	14	16	21	14	7	4	8	8	7	12	129
C. diphtheriae													
合計	97	116	191	147	192	147	102	52	97	108	141	159	1549
Streptococcus, B	1		3		1	1							6
Streptococcus, G			3										3
Staphylococcus aureus			4	2			4						10

7) 分離材料：喀痰、気管吸引液および下気道からの材料

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>M. tuberculosis</i>	6	5	5	7	6	9	7	12	1	11	5	3	77
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	54	53	58	55	46	71	63	59	72	80	59	57	727
<i>Haemophilus influenzae</i>	31	30	28	32	34	40	38	25	38	41	20	22	379
<i>Legionella pneumophila</i>													
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	112	107	112	96	99	96	99	109	111	109	97	71	1218
<i>Staphylococcus aureus</i>	181	216	269	225	161	183	153	143	141	181	126	136	2115
<i>Streptococcus, A</i>	7	14	9	4	4	7	8	6	6	5	9	4	83
<i>Streptococcus, B</i>	13	15	10	11	9	5	6	14	9	8	15	6	121
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	31	41	31	35	24	25	34	30	23	19	32	22	347
Anaerobs													
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													
合計	435	481	522	465	383	436	408	397	401	454	363	321	5067
<i>Streptococcus, G</i>	1	3	1	1	1	2	1						10
<i>Streptococcus, C</i>					1								1
抗酸菌							1						1

8) 分離材料：尿

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	156	132	147	146	148	142	162	146	145	155	148	167	1794
<i>Enterobacter spp.</i>	19	20	16	19	13	27	39	26	28	21	27	32	287
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33	29	34	25	31	41	52	42	42	41	41	27	438
<i>Acinetobacter spp.</i>	7	10	6	7	4	10	8	16	12	9	15	10	114
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	97	84	71	56	68	68	87	103	98	86	75	83	976
<i>Staphylococcus aureus</i>	55	52	60	69	51	53	50	46	51	41	66	73	667
<i>Staphylococcus, グラム陽性球菌</i>	26	32	29	27	33	24	35	41	39	32	36	37	391
<i>Enterococcus spp.</i>	91	95	90	78	78	102	89	86	88	72	90	94	1053
<i>Candida albicans</i>	34	26	39	28	55	56	42	39	37	44	35	21	456
合計	518	480	492	455	481	523	564	545	540	501	533	544	6176
<i>Streptococcus, B</i>	3		2	3	3	1							12
グラム陽性球菌	7	5	2	5	2	4	8	10	9	9	10	15	86
グラム陰性桿菌	12	12	13	10	15	4	12	25	14	10	4	16	147
真菌	3	5	7	3	2	1	2	8	8	26	2	2	69

9) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>				2	2			1	2	1		1	9
<i>Streptococcus, B</i>	30	12	22	16	18	13	16	11	6	8	9	13	174
<i>Chlamydia trachomatis</i>	8	14	13	16	8	6	7	9	4	11	15	11	122
<i>Ureaplasma</i>													
<i>Candida albicans</i>	92	81	107	116	94	133	160	134	142	142	129	101	1431
<i>Trichomonas vaginalis</i>	3	1	4	2	4	4	7	8	2	8	3	8	54
合計	133	108	146	152	126	156	190	163	156	170	156	134	1790

注：（ ）内は海外旅行者分再掲、○で囲んだ数字は同一フォーカスからの分離株を含む。

各表の合計より下の欄は、全国集計には入れていないが、各機関から報告された菌種等についての記載。

平成6年10月1日

喀痰，気管吸引液および下気道：分離株総数5,067株，前年比101%。多く分離されたのは，黄色ブドウ球菌（MRSAは60%）と緑膿菌で，この2菌種で過半数を占めていた。その他は肺炎桿菌，*Haemophilus influenzae*，肺炎球菌などであった（表-6）。

尿：分離株総数6,176株，前年比96%。多く分離されたのは，大腸菌，次いで腸球菌，緑膿菌などであった。その他黄色ブドウ球菌（MRSAは68%），*Candida albicans*などが分離された（表-7）。

陰部尿道頸管擦過（分泌物）：分離株総数1,790株，前年比90%。*Candida albicans*が全体の80%近くを占め，その他は*Chlamydia trachomatis*，B群溶血レンサ球菌であった。なお，*Chlamydia trachomatis*，*Trichomonas vaginalis*は抗原検出数である（表-8）。

謝辞：毎月の集計にご協力頂いている県内12か所の公立病院と10か所の保健所の検査担当各位に感謝します。

黒部市の一施設における溶血レンサ球菌感染症の流行

刑 部 陽 宅 田 中 大 祐 細 呂 木 志 保 磯 部 順 子
井 山 洋 子 児 玉 博 英¹ 南 部 厚 子² 小 川 寿 人²
平 田 久 美 子² 飯 田 恭 子²

An Epidemic Outbreak of Hemolytic
Streptococcal Infection at a Public Institution
in Kurobe City

Yotaku GYOBU, Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI,
Junko ISOBE, Yoko IYAMA, Hirohide KODAMA¹,
Atsuko NANBU², Hisato OGAWA², Kumiko HIRATA²
and Kyoko HANDA²

平成5年5月11日、黒部保健所へK学園より、同園の11才の男子1名と、9才の女子1名、計2名が、黒部市民病院で、しょう紅熱とまぎらわしい溶血レンサ球菌（以下溶レン菌）感染症と診断された旨、電話があった。同園は知能発達に障害がある児童の福祉施設で、患者は隣接するN校通学生でもあることから、黒部保健所を中心に、溶レン菌感染症集団発生拡大防止のためのさまざまな対策がとられた。この施設における溶レン菌感染症発生の概要を述べる。

K学園は黒部市にあり、原則として6～18才の障害者が生活し、88名の職員が勤務している。また、隣接するN校には、K学園生を含む77名の児童が通学し、68名の教職員が勤務している。

初発患者の発生報告があった5月11日より、それまでとその後の患者発生状況を調査したところ、表1に示す15名が5月1～20日の間に黒部市民病院あるいは近くの開業医を受診していることが判明した。15名中14名に発熱がみられ、7名（47％）にのどの発赤、2名（13％）にいちご舌がみられた。黒部市民病院ではほとんどの患者について溶

レン菌検査を実施していた。検査は投薬前に実施されたかどうか明らかでないが、15名中5名が溶レン菌陽性であった。衛生研究所が入手し得たのは、これらの内の1株（大○良○株）のみであった。この株を型別したところ、A群M3型であった。

患者発生は5月11日以降もみられたので、関係機関（黒部保健所、衛生研究所、健康課、K学園、N校）が協議し、K学園とN校の児童、生徒、職員の溶レン菌検査を5月21日から28日にかけて実施した。菌検査は衛生研究所が担当したが、菌分離は咽頭をぬぐった綿棒を血液寒天平板に直接塗抹する直接培養法で行い、分離菌の型別は前報〔1〕の手技で実施した。結果は表2に示した。溶レン菌検出率はK学園の場合、園生で16/75（21％）、職員で2/87（2％）、また、N校の場合、児童で4/38（11％）、教職員で1/67（1％）であった。表3は分離菌の菌型を示している。分離菌は1例を除く22例すべてがA群で、その内M3型が17/22（77％）を占め、他の5例はUT（型別不能）であった。また、表には示していないが菌陽性23名の内12名には、発熱、のどの発赤あるいは咳他の症状

表1. 医療機関受信者の症状と溶レン菌検査結果

施設 学校	氏 名	性 年 別 令	症 状	発症日	溶レン菌	型	服 薬 等
K 学園	☆藤○ 和○	女 9	発熱(38.2) のどの発赤 発疹 食欲不振 指先の落屑 いちご舌	5/1	2日 (+)		5/2~5/23服薬
	☆松○ 大○	男 11	発熱(37.1) 咳 鼻水 いちご舌 指先の落屑	5/2	7日* (-)		*治療後に検査実施 5/3~5/13服薬
	内○ 健○	男 16	発熱	5/12	12日 (-)		
	内○ 智○	女 18	発熱(38.1) のどの発赤	5/13	14日(+) 19日(-)		5/14~5/28服薬
	山○ 健○	男 18	発熱(37.8)	5/15	検査せず		5/25~6/1服薬
	☆井○ 義○	男 13	発熱(39.1) のどの発赤	5/17	17日(-)		*近医受診 服薬?
	大○ 慎○	男 18	発熱(38.2) のどの発赤	5/17	19日(-)*		
	梅○ 修○	男 16	のどの痛み 嘔吐	5/20	20日(-)		
	☆大○ 良○	女 12	発熱(37.8) のどの痛み	5/20	20日(+)	A M3	5/20~5/31服薬
	☆横○ 和○	男 12	発熱(37.1) 扁桃炎 のどの発赤	5/20	20日(-)		
	五○ 英○	男 15	発熱(37.2) 扁桃炎 のどの発赤	5/20	20日(-)		
	山○ 和○	男 19	発熱(37.1) のどの発赤	5/20	20日(-)		
N校	☆高○ 健○	男 13	発熱(38.1) 咳 鼻汁 (5/20PM3~) (5/13~) (5/6~)	5/20	20日 G群(+)		5/20~6/2服薬
	古○ 孝○	男 8	発熱 発疹(体表部) (風疹で休んでいた)	5/17	(+)		近医受診 溶連菌感染症疑
	松○ 弘○	男 13	発熱 せき	5/17			近医受診

☆N校通学生

表2. 溶血レンサ球菌検出状況

対象		検査月日(5月)					計
		21日	25日	26日	27日	28日	
K 学園	学園生	15/60*	1/15				16/75(21%)
	職員		2/63	0/17	0/6	0/1	2/87(2%)
N校	児童		4/38				4/38(11%)
	教職員		1/65		0/2		1/67(1%)

*陽性数/検査数

表 3. 分離溶レン菌の菌型

施設	症状	菌陽性者数	菌型		
			A群M3型	A群UT	B群UT
K	+※	9	7	2	
学園	—	9	6	3	
N校	+	3	3		
	—	2	1		1

※のどの発赤、発熱または咳が陽性

があり、11名は無症状であった。また、菌陰性244名の内6名に発熱がみられた。分離したA群M3型菌、3株の薬剤感受性を調べたところ、すべてがペニシリン、セファレキシン、アミノベンジルペニシリン、エリスロマイシン、クロラムフェニコール、テトラサイクリンに感受性であった。

患者発生施設では、次の5項目の対策を実施した。

- 1) 有症者の早期発見,
- 2) 5月11日以降、アノン(両面活性消毒剤)等による居室、教室、トイレ、遊具等の消毒,
- 3) 児童、職員のうがいと手洗いの励行,
- 4) 野外活動の延期,
- 5) 有症者の個室での静養。

なお、表1、3に示す有症者および溶レン菌保菌者の大部分には抗生物質が医療機関で投与された。

5月1～2日の初発患者2名には、発熱、いちご舌がみられ、抗生物質投与前の検査で溶レン菌陽性であったことから、この2名は溶レン菌感染症と診断された。その後20日までに、両施設で計13名が何らかの症状を呈し病院あるいは近医を受診している。これらのすべてが溶レン菌感染症であったとする証拠はないが、咽頭の発赤や溶レン菌陽性の患者がみられるので溶レン菌感染症は、初発患者以降も断続的に発生していたものと思われる。21日と25日に実施したK学園生の検査でバックグラウンドの保菌率が16/75(21%)と低

くなかったことはこのことを支持している。

病院が患者から分離した原因菌の内、衛生研究所が入手し得たのは、1株のみであったが、この株はA群M3型であった。この株と同じ型が、K学園およびN校分離菌に高率(17/23, 74%)に認められたことも、これらの施設における小規模なA群M3型による溶レン菌感染症の流行を裏付けている。

我々は、昭和55年に大山町で溶レン菌感染症集団発生に遭遇し、集団発生ではバックグラウンドの溶レン菌保菌者が多いことを経験した[2]。今回K学園園児で保菌率は21%と比較的高く、分離菌の多くはこの年富山県で最も多いM3型[1]であった。これが大きな集団発生に発展しなかった原因があったとすれば、それは発生施設が、流行防止のため、本文に示したさまざまな感染源、感染経路対策を講じ、更に医療機関が菌陽性者に抗生物質を投与し、除菌したことが重要であったと考えられる。

文 献

1. 田中大祐, 細呂木志保, 児玉博英, 香取幸治, 赤間美徳, 柏木義勝(1994). 富山衛研年報.
2. 児玉博英, 刑部陽宅, 岡田伊津子, 畑 祥子, 山崎茂一, 久保義博, 高藤 昭, 橋爪淑子, 尾崎一郎(1983). 感染症誌, 57, 1060~1066.

毒素原性大腸菌0148:H28による食中毒事例

磯部 順子 刑部 陽宅 細呂木 志保 田中大 祐
井山 洋子 川越 久美子¹ 西部 健治¹ 西川 不二夫¹
溝口 豊明²

An Outbreak Caused by Enterotoxigenic *Escherichia coli* O148:H28

Junko ISOBE, Yotaku GYOBU,
Shiho HOSOROGI, Daisuke TANAKA,
Yōko IYAMA, Kumiko KAWAGOSHI,
Kenji NISHIBU, Fujio NISHIKAWA and
Toyoaki MIZOGUCHI

大腸菌は、自然界に広く分布し、ヒトや動物の腸内常在菌で、その大部分は非病原性である。その一部が病原性を有し、病原性大腸菌、腸管起病性大腸菌などといわれ、更に、その起病メカニズムにより、腸管病原性大腸菌 (EPEC)、細胞侵入性大腸菌 (EIEC)、毒素原性大腸菌 (ETEC)、腸管出血性大腸菌 (EHEC) などに分類されている [1]。これらの内、毒素原性大腸菌は、わが国においては旅行者下痢症の原因菌として知られ、東南アジアなどへの旅行者の下痢症の20%前後が、毒素原性大腸菌であると報告されている [2]。われわれは、1993年7月に本菌による、患者802名という大規模な食中毒を経験したので、その概要、特に細菌学について述べる。

発生状況：平成5年7月、新湊市を中心に2件の食中毒が発生した。表1に示すように、一つは7月28日にT社の社員食堂を原因施設として発生した患者数137名という事例であり、他の一つは7月28日午後から30日午前にかけて、S給食センターの弁当を原因とする147の事業所で発生した患者数665名という事例であった。患者の症状は、

いずれも頻回の下痢、腹痛が主で、発熱も42%にみられた。なお、この社員食堂はS給食センターが経営しており、後述するように、これら2事例は1事例として取り扱って良いと考えられるので、以下、まとめて述べる。

食中毒原因菌検索：T社社員食堂およびS給食センターのふきとり、検食、従業員および患者便の細菌検査を成書 [3] 記載の方法により実施した。その結果、表2に示すように、患者123名中71名より、調理者57名中12名より毒素原性大腸菌0148:H28を検出した。しかし、検査することができた7月26～27日のT社社員食堂の検食8検体、7月27～28日のS給食センターの検食30検体、計38検体およびふきとり材料20検体から当該菌は検出されなかった。また、表示しなかったが、患者便および調理者便から他の食中毒起病菌は検出されなかった。

分離大腸菌の諸性状：分離された大腸菌0148:H28を任意に2～5株選び、各種の性状を調べた。検査法は、PCR法による遺伝子検出の場合、LT、VTについては、伊藤ら [4] の塩基配列で著者ら

表1. 食中毒の概要

原因施設	T社新湊工場社員食堂	S給食センター
届け出日時	7月28日 高岡保健所	7月29日 小杉保健所
発病月日	7月27日～7月31日	7月26日～8月1日
喫食者数	377名 (1事業所)	1909名 (147事業所)
患者数	137名	665名
原因食品	昼定食	仕出し弁当
原因物質	毒素原性大腸菌O148:H28	毒素原性大腸菌O148:H28
潜伏時間	不明	不明
主症状	下痢(頻回), 腹痛, 発熱, 頭痛	下痢(頻回), 腹痛, 発熱, 頭痛
原因菌陽性者	患者 31/71 ¹⁾ 調理員 9/50	患者 40/52 調理員 3/7

1) 原因菌陽性者/検便件数

表2. 食中毒原因菌検出状況

検 体	検体数	毒素原性大腸菌O148H28 陽 性 数 (%)
患 者 便	123	71 (57.7)
調 理 員 便	57	12 (21.1)
食 品	38	0
ふ き と り	20	0

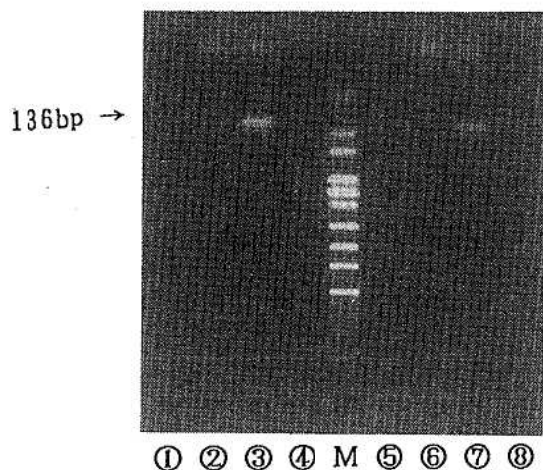
が合成したプライマーを使用し、STについては、タカラ(株)製のSThおよびSTp用プライマーを使用した。PCRの温度条件は94℃, 1分, 55℃, 1分, 72℃, 2分とし、PCR産物はTAE緩衝液で作った3.5%アガロースで50V, 1時間泳動後確認した。STの検出は、デンカ生研(株)製の大腸菌耐熱性エンテロトキシン検出用キットを用いたEIA法により、LTの検出は、デンカ生研(株)製の大腸菌易熱性エンテロトキシン検出用キットを用いたRPLA法によった。

表3は分離された大腸菌の生化学性状と薬剤感受性を示す。分離菌は生化学性状に関して、珍しい菌ではなかった。また、薬剤感受性は、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、エリスロマイシン耐性であった。図1は毒素遺伝子をPCR法で調べた結果を示す。患者株、調理者株ともに、SThに増幅したDNAバンドが見られ、LT、VTには増幅したバンドは見られなかった。図示しなかったが、STの産生はEIA法でも確認できた。また、LTの産生はRPLA法でも確認できなかった。

表3. 分離大腸菌の性状

T S I	A / A G	炭水化物からの酸産生
S I M	-, +, +	グルコース +
M R	+	ラクトース +
V P	-	マンニット +
アミノ酸(シメン)	-	サリシン -
S T 産生	+	ソルビット +
L T 産生	-	アラビノース +
V T 産生	-	セロビオース -
薬剤感受性	クロラムフェニコール S ²⁾	ラフィノース -
	テトラサイクリン R ³⁾	ラムノース +
	ストレプトマイシン R	サッカロース +
	カナマイシン S	トレハロース +
	コリスチン S	キシロース +
	アンピシリン S	アドニット +
	ナリジクス酸 S	ズルシット +
	ゲンタマイシン S	イノシット +
	セファロチン I ⁴⁾	
	エリスロマイシン R	
	セファゾリン S	

2) S : 感受性 3) R : 耐性 4) I : 中間感受性 を示す。



① 患者株 L T	⑤ 調理員株 L T
② " S T h	⑥ " S T h
③ " S T p	⑦ " S T p
④ " V T	⑧ " V T
M Marker 5 (φX174/Hinc II digest)	

考察：記述した食中毒2事例は、1)原因施設の経営者が同じであること、2)患者の発病月日はほとんど一致し、原因菌はいずれも毒素原性大腸菌0148:H28であることなどから、事実上1事例と考えられる。患者802名という事例は統計の正確な昭和42年以降、富山県で最も大きい。本事例では、発病前日および当日の食品のうち、検食として残っていたものについて詳細に検査したが、原因菌は検出されなかった。このことから考えて、原因食品は発病前日の検査できなかった少数の食品（野菜の煮物等）、あるいは、発病前々日の食品ではないかと思われる。患者の発病日に2日以上ずれがみられることは、本菌が、ヒト腸管内で時間をかけて増殖したため、潜伏時間が長くなったことを支持している。また、この毒素原性大腸菌が、海外旅行者下痢症からよく分離されるテトラサイクリン耐性0148であったことは興味深い。

図1. PCRによる増幅DNAの検出

文 献

1. 塚本定三 (1988). 臨床と微生物, 15, 69-74.
2. 竹田美文 (1985). 臨床と微生物, 12, 260-266.
3. 伊藤文明, 荻野武雄, 伊藤健一郎, 渡辺治雄
(1992). 日本臨床, 50, 343-347.
4. 坂崎利一編集 (1991) 食水系感染症と細菌性食中毒,
81-486. 中央法規出版.

農業用溜池のプランクトン調査

井山 洋子

A Survey of the Plankton Occurring in Irrigation Ponds

Yōko IYAMA

富山県の北西部に位置する氷見市の山間部に1991年5月から93年4月にかけてテニスコート、ファミリーゴルフ場等のスポーツ施設が完成、オープンしたが、その下に点在する農業用溜池の1つに藻が異常に繁茂したため、その発生機序、種類と毒性、駆除対策等について調査依頼された。

調査実施日は1993年4月30日、5月21日、6月21日、8月30日の4回で、細菌試験と生物相の調査を行った。細菌検査は上水試験方法(1985)に準じた。プランクトンは池が浅いため、網地No. 25の小型ネットで水平採集を行い、ナンノプランク

トンは1,000mlを採水して3,000rpm、10分間遠心分離後の沈殿物を試料とした。

調査地点の概要

調査地点は図1に示すように、石川県境に近い宝達丘陵地帯の山頂にテニスコート、管理センターがあり、その北東部の斜面にファミリーゴルフ場、更にその横に藻が発生した溜池No. 1があり、すこし離れてNo. 2, No. 3が点在する。

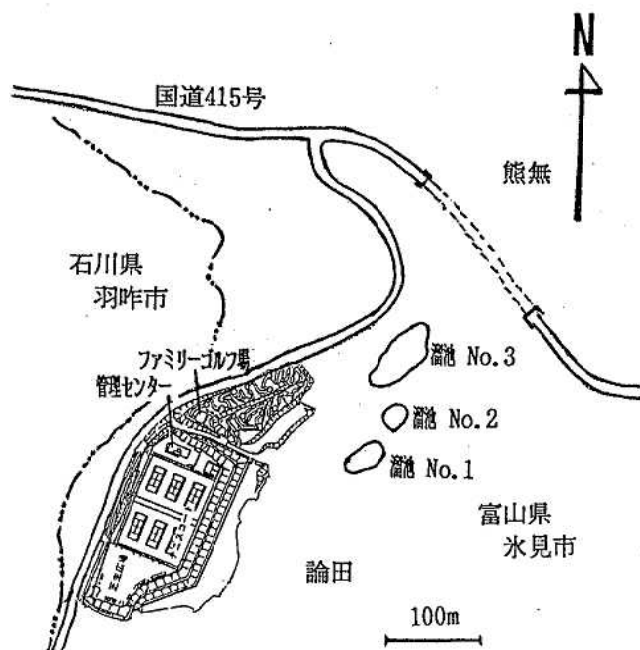


図1. 調査地点概略図

管理センターからの排水は尿尿は50人槽、雑排水は15人槽の合併式でここから下へU字溝で放流されている。もし、放流水がオーバーフローした場合No. 1の池への流入が懸念された。

5月21日の調査では、No. 1は周囲130m、湖心部の深度1.2mで、ヘドロが更に約0.6m堆積しており、湛水量は5,600m³と推定された。透明度は底までである。

No. 2は杉林の傍にあり、周囲47mの一番小さい

池で水深0.8m、湛水量140m³、腐植質が堆積して、湖心近くまでヨシ帯が侵入している。プランクトンネットは使えないので採水だけ行った。

No. 3は周囲190mの一番大きい池で、湖心部の水深は1.4m、湛水量13,000m³で底まで透明である。西側はヨシ帯が侵入しており、国道415号線に合流する道路沿いにある。なお3つの池はそれぞれ独立していて繋がっていない。

表1. 水質分析結果

(21, Apr. 1993)

採水場所	W.T. ℃	pH	DO(%) mg/l	COD mg/l	BOD mg/l	SS mg/l	T-N mg/l	T-P mg/l	E.C. μm/cm
溜池 No.1	20.0	8.9	8.9(100)	13	0.3	5	0.96	0.04	170
溜池 No.2	18.0	6.5	6.8(74)	9.3	0.5	6	1.0	0.06	170
溜池 No.3	19.5	7.6	9.5(110)	10	0.5	7	0.91	0.03	240
管理センター放流水	12.5	7.8	10.2(99)	16	3.0	3	6.9	1.3	410

(21, May 1993)

採水場所	W.T. ℃	pH	DO(%) mg/l	COD mg/l	BOD mg/l	SS mg/l	T-N mg/l	T-P mg/l	E.C. μm/cm
溜池 No.1	17.0	6.3	9.1(97)	5.4	2.0	7	0.31	0.03	140
溜池 No.2	16.5	6.0	6.3(67)	3.4	1.7	8	0.29	0.03	180
溜池 No.3	18.0	7.5	9.0(98)	4.5	2.7	11	0.33	0.04	260
管理センター放流水	15.0	6.3	10.3(110)	6.9	0.3	3	14	1.9	6900

調査：氷見市建設部土木課

調 査 結 果

表1の水質分析は氷見市が行ったものである。

pHについてはNo.1は藻類が繁茂しているわりにはpHは低く4月21日の調査時の8.9を除けば、6.0～6.4の範囲であった。No.2はpH 5.6～6.5の酸性で腐植型の栄養湖といえる。No.3はpH 6.8～7.6の中性湖であった。CODについてはNo.1がやや高いが、SSとE.C.についてはNo.3が高く、これは道路沿いに位置するためと思われる。

T-NとT-Pについては各池で差はなく、従ってゴ

ルフ場の芝生の施肥による影響は考えられない。

細菌検査については、表2に示すように、各池とも5, 6, 8月の3回の平均値は、生菌数で 10^2 /ml, 大腸菌群数で 10^2 /100ml, 大腸菌数で1～2/100ml程度と特に各池で差はみられなかった。また管理センターからの放流水の菌数は非常に少なく、処理機能は適性に行われていると考えられる。

生物相についてはNo.2はプランクトンネットが引けなかったので採水だけで、他は採水とネットの両方のデータを表3に示した。

No.1で異常に大発生した藻は緑藻類の*Spiro-*

表2. 細菌検査結果(1993年)

採水場所	採水月日	一般細菌数 (個/ml)	BGLB法(MPN) 大腸菌群数	特定酵素基質法(MPN)	
				大腸菌群数	大腸菌数
溜池 No.1	5・21	1.4×10^2	7.9×10	2.3×10^2	2.3×10
	6・21	NT	2.8×10^2	5.4×10^2	0
	8・30	2.1×10^3	2.4×10^3	$\geq 2.4 \times 10^3$	0
	(M)	(5.4×10^2)	(3.8×10^2)	(6.7×10^2)	(2.8)
溜池 No.2	5・21	3.4×10^2	1.7×10^2	2.3×10^2	2.0
	6・21	NT	3.3×10^2	9.2×10^3	4.5
	8・30	3.7×10^2	9.2×10^2	1.6×10^3	0
	(M)	(3.5×10^2)	(3.7×10^2)	(1.5×10^3)	(2.1)
溜池 No.3	5・21	1.2×10^2	7.9×10	2.3×10^2	0
	6・21	NT	1.4×10^3	9.2×10^2	4.5
	8・30	2.5×10^2	1.6×10^3	1.6×10^3	0
	(M)	(1.7×10^2)	(5.6×10^2)	(6.9×10^2)	(1.7)
管理センター放流水	5・21	4.0	6.8	4.5	0
	6・21	NT	2.0	0	0
	8・30	7.0	0	0	0
	(M)	(5.3)	(2.4)	(1.7)	(0)

NT : 実施せず

(M): 幾何平均値

表3. 各池の主なプランクトン相 (1993年)

Species	Date	No. 1			No. 2			No. 3		
		4/30	5/21	8/30	4/30	5/21	8/30	4/30	5/21	8/30
(CYANOPHYCEAE)										
<i>Aphanocapsa</i> sp.			+++							
(CHRYSTOPHYCEAE)										
<i>Dinobryon sertularia</i>			+++							
<i>D. cylindricum</i>		+								
<i>D. divergens</i>				++					+++	
<i>D. bavaricum</i>								+++++	+++	
(XANTHOPHYCEAE)										
<i>Ophiocytium capitatum</i> var. <i>longi</i> .				+					+++	+
(BACILLARIOPHYCEAE)										
<i>Melosira granulata</i>								++	+++	+++
<i>M. italica</i>									++	+++++
<i>Cyclotella stelligera</i>								+++		++
<i>Tabellaria fenestrata</i>					++++	++		+		
<i>Asterionella gracillima</i>		+++						++	+	
<i>Synedra ulna</i>		++++	++++	+	+++	+++	++	++	+	++++
<i>S. acus</i>		+++	+++							
<i>S. rumpens</i>		+++								
<i>Eunotia flexuosa</i>					++	+++	+			
<i>E. lunaris</i>				+		++				
<i>E. subalpina</i>								+++		
<i>E. sudetica</i>			+							+
<i>E. spp.</i>				+	++	+	++	+		+
<i>Achnanthes linearis</i>		++						++++		++
<i>Stauroneis</i> sp.							+			
<i>Gyrosigma acuminatum</i>								++++	+	++
<i>Navicula cryptocephala</i> var. <i>crypt.</i>								+		+
<i>N. cryptocephala</i> var. <i>veneta</i>								+		
<i>N. sp.</i>					+	+	+			++
<i>Pinnularia interrupta</i>							+			
<i>P. Braunii</i>							+			
<i>P. microstauron</i>			+							
<i>P. sp.</i>				+	++	++	++	+		+
<i>Cymbella aspera</i>				+						
<i>C. ventricosa</i>		+						++		
<i>Gomphonema acuminatum</i>				+						+
<i>G. acuminatum</i> var. <i>coronata</i>				++	+	+++	+	+		+
<i>G. angustatum</i> var. <i>producta</i>										++
<i>G. constrictum</i>						+++				
<i>G. sp.</i>						++			+	++
<i>Rhopalodia</i> sp.										+
<i>Nitzschia acuta</i>								+		
<i>N. actinastroides</i>		++	++							
<i>N. palea</i>				+				++		
<i>N. filiformis</i>								+++		
<i>N. parvula</i>								+		
<i>N. sp.</i>		+++	+++			+				
<i>Cymatopleura solea</i>								++++		
<i>Surirella</i> sp.			+					++		

(CHLOROPHYCEAE)									
<i>Pediastrum duplex</i> var. <i>reticulatum</i>								+++	+
<i>P. tetras</i> var. <i>tetras</i>								+	
<i>Coelastrum sphaericum</i>								+	
<i>Scenedesmus quadricauda</i> var. <i>quad.</i>				+		+		+++	
<i>S. acuminatus</i>								+	
<i>S. sp.</i>				++	+++	++		++	++
<i>Oedogonium</i> sp.									++
<i>Bulbochaete</i> sp.	+								
<i>Spirogyra</i> sp.	+++++	+++++	+						
<i>Cosmarium botrytis</i>	++								+
<i>Staurastrum</i> sp.	+	++							+
(PROTOZOA)									
<i>Coleps hirtus</i>									+
<i>Aspidisca</i> sp.						+			+
<i>Vorticella</i> sp.									++
<i>Ciliata</i>				++		++++			++
<i>Arcella vulgaris</i>						+			
<i>Diffugia</i> sp.	+								+
<i>Centropyxis aculeata</i>						+			
<i>Euglypha acanthophora</i>			+						
<i>E. sp.</i>				++					
<i>Actinophrys</i> sp.		+						+	+
<i>Gymnodinium</i> sp.				+++		++		++	
<i>Peridinium</i> sp.	+++	++		+					++
<i>Ceratium hirundinella</i>									+
<i>Euglena acus</i>		++++						++	
<i>E. spp.</i>	+	+		+++	++	+++++		+	
<i>Phacus longicauda</i> var. <i>insecta</i>									+
<i>P. helikoides</i>						++		++	
<i>P. pleuronectes</i>						+++		+	
<i>P. sp.</i>		++	+	+		+	+	+	+
<i>Trachelomonas hispida</i> var. <i>hispida</i>		+++						+	
<i>T. spp.</i>	+++	+++				+		+++	++
<i>Monas</i> group	++	++		+++		+		+	++
(EUROTATOREA)									
<i>Keratella cochlearis</i> var. <i>tecta</i>								++	+
<i>Colurella</i> sp.	+++								
<i>Lepadella</i> sp.	++								
<i>Monostyla</i> sp.									+
<i>Asplanchna priodonta</i>			++++						+
<i>Polyarthra vulgaris</i>			+++					+++	+++
<i>Synchaeta</i> sp.									+
(GASTROTRICHA)									
<i>Chaetonotus nodicaudus</i>									++
(CRUSTACEA)									
<i>Cyclops vicinus</i>								++	
<i>C. strenuus</i>				++					
Cyclopidae	+	+++		+++	+++				+++
Copepodid (Cyclopidae)	+	++							
Nauplius (Cyclopidae)	+	++++		+	+				++
Cladocera						++			

+: very rare, ++: rare, +++: common, ++++: rich, +++++: very rich

gyra sp.であった。5月の調査時には浮上した藻体が湖面の90%以上を覆っていたが、6月には60%位に減少し、8月にはほとんど消滅していた。珪藻では*Synedra ulna*, *S. acus*が優占的であった。動物プランクトンでは、4月は渦鞭毛虫類の*Peridinium* sp., *Trachelomonas hispida*, 輪虫では*Colurella* sp.がみられ、5月は*Euglena acus*が多かった。8月になると、輪虫類の*Asplanchna priodonta*や橈脚類のケンミジンコ類が多く出現した。

優占的に出現した*Spirogyra* sp., *Synedra ulna*は生物指標としては一般的に広適応性の耐汚濁性種であり、また*Asplanchna priodonta*は貧腐水性からβ中腐水性の水域に出現する[1]ことから、3池の中では最も富栄養化の傾向が窺われる。

No. 2では珪藻類の*Eunotia*属, *Pinnularia*属, *Gomphonema*属が多くみられた。これらの多くは腐植質に富む有機酸性水域の特徴として挙げられる種類[2]であった。8月になると、動物性プランクトンが増え繊毛虫類や鞭毛虫の*Euglena* sp.が多くなった。

このことから、夏期には一時的に沈積した腐泥により水質は、No. 3の黄色鞭毛藻型より多少汚れた中間型の池[3]に移行することがあると考えられる。

No. 3は4月に黄色鞭毛藻類の*Dinobryon bavaricum*が優占種で、そのため水色は茶褐色を呈していた。本種は北方系で冬から早春にかけて出現する[4]貧腐水性の浮遊性種である[5]。5月は同じく*D. divergens*が多く、8月は珪藻類の*Melosira italica*, *M. granulata*, *Synedra ulna*が多く出現した。動物プランクトンでは優占的なものはなく、5月は鞭毛虫類の*Trachelomonas* sp., 8月は輪虫類の*Polyarthra vulgaris*がやや多くみられた。従ってこの池は黄色鞭毛藻型で、汚染されていない自然そのままの池であるといえる。

以上の調査から、1993年春、No. 1の池で異常に発生した藻は緑藻類のアオミドロと呼ばれる*Spirogyra*属であった。本属は水田、池沼、湖水周辺の浅い水域に広くみられ、貯水池では特に地下水、伏流水を水源にするところでは繁殖が著しい[6]といわれており、No. 1に湧水がでることとあるいは関係しているのかも知れない。毒性についてはこれまで報告されていないが、農業用水として使用した場合、気泡をつけて浮上した藻類が水稻に覆い被さり、そのため植え直しを余儀なくされたという被害がある[7]。また今回は防除策を講じる前に消滅したが、必要ならば硫酸銅もしくは塩素剤の散布で比較的容易に処理できる。ただし、農業用水として利用する場合は、放流水の銅の農作物に与える影響をなくするため、農業用水基準0.02mg/l以下にする必要がある[6]。

謝辞：本調査にご協力頂いた氷見農業改良普及所の堀田敬三課長および氷見市役所の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 日本水道協会(1985). 上水試験方法. 803-861.
2. 山岸高旺, 小林 弘(1971). 日本大学農獣医学部教養紀要, 7, 32-38.
3. 津田松苗(1964). 汚水生物学, 219-223, 北隆館.
4. 水野壽彦(1964). 日本淡水プランクトン図鑑, 6, 保育社.
5. 日本生態学会環境問題専門委員会編(1975). 環境と生物指標2, 86, 共立出版株式会社.
6. 日本水道協会(1993). 日本の水道生物, 224-228.
7. 山岸 淳, 橋爪 厚(1974). 雑草研究, 18, 39-43.

高速液体クロマトグラフィーによる米中の総臭素定量

小玉修嗣 山本 敦 松永明信 水上英一

Determination of Total Bromine in Rice by High Performance Liquid Chromatography

Shuji KODAMA, Atsushi YAMAMOTO,
Akinobu MATSUNAGA and Eiichi MIZUKAMI

最近、外国産米等の輸入に伴い、ポストハーベスト農薬への関心が高まっている。ポストハーベスト農薬として広く世界中で使用されている薰蒸剤の中に、臭化メチルがある[1]。臭化メチルは揮散しやすく、そのまま残留するよりは、むしろ、食品成分と反応および分解した臭素化合物として残留するため、米の残留基準は臭素として50 ppmに設定された[2]。

米中の臭素定量法として、我が国では①フルオレセインを発色試薬として用いた比色法[3]、および②チオ硫酸ナトリウム溶液を用いたヨウ素滴定法[4]が利用されてきた。しかし、①の方法では、呈色が不安定なことから誤差を生じやすく、かつ、検出感度の低い欠点がある。また、②の方法では、操作が煩雑であり、操作に熟練を要する欠点がある。さらに、この煩雑さの一因に次亜塩素酸ナトリウムの調製がある。この点を解消するために、松永ら[5]は市販の5社の次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いたところ、空試験値の最小のものでも15ppmの臭素が検出された。臭素の定量限界値が1 ppmであることを考えると、市販の次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いることは、測定感度の点からも好ましくない。

田口ら[6]は、イオンクロマトグラフィーを用いて、米中の総臭素を簡便かつ高感度で定量する方法を報告した。また、臭素イオン以外の塩化物イオン等の妨害物質の影響を抑えるために、電気伝導度検出器ではなく、紫外吸収検出器を用い

た。ただし、この方法ではサブプレッサ方式を採用しているため、専用のイオンクロマトグラフィー装置を必要とする。

そこで、我々はこのような装置を必要としないノンサブプレッサ方式を用いて、簡便、高感度、かつ妨害物質の影響を受けずに、米中の総臭素を測定したので、その結果について報告する。

実験方法：試料；精白米6検体および玄米2検体を用いた。試薬；臭化ナトリウム（特級試薬）128.8mgを精秤し、水に溶かして100mlとしたものを臭素イオン標準原液（1000ppm）とした。硝酸ナトリウム（特級試薬）137.1mgを精秤し、水に溶かして100mlとしたものを硝酸イオン標準原液（1000ppm）とした。上記2種類の標準原液を水で適宜一定量に希釈して標準溶液とした。水はAUTO STILL MODEL WA-52G（ヤマト科学製）で調製し、試薬はすべて特級品を用いた。装置；島津製作所製の液体クロマトグラフ LC-4A、紫外・可視吸収検出器SPD-6AV、データ処理装置Chromatopac C-R 5Aを連結して使用した。分析カラムとしては、昭和電工製のAsahipak ES-502N、東ソー製のTSK-gel QAE 2SW、TSK-gel SAX、TSK-gel DEAE-5PW、ウォーターズ製のProtein pak G-QA、Protein pak G-DEAEの6種類について検討した。測定条件；移動相には5-100mMの硫酸ナトリウム溶液を用い、流量を1ml/minに設定し、210nmの吸収により臭素イオン濃度を測定した。なお、カラム温度は室温とした。また、標準溶液または試験溶液、各50

μl を分析に供した。試験溶液の調製；田口らの方法〔6〕に準じて行なった。すなわち、採取試料（約 300g）の全量が篩（420 μm ）に通過するまで粉碎し、均一に混合した。この粉碎した精白米および玄米 5 g をニッケル・ルツボに秤取し、1%水酸化ナトリウム・90%エタノール溶液40mlを加え、混和し、一夜放置した。砂浴上で蒸発乾固し、さらに、炭化させた後、電気炉に入れ、徐々に昇温し、500°Cで灰化させた。残渣に約20mlの水を加え、超音波発生装置を用いて溶解後、50 mlにメスアップした。これを一部分取し、0.45 μm のメンブランフィルター（ミリポア製）に通した濾液 3 mlに1 N硫酸溶液を0.6 ml加えて中和し（pH 6.5-6.8）、試験溶液とした。

実験結果および考察：試験溶液には高濃度の塩が存在するため、通常、イオンクロマトグラフィーに用いられている交換容量の低いカラムを除外し、比較的交換容量の高い6種類のカラム（0.1-3.7 meq/ml）について検討した。これらのカラムは、交換容量だけでなく、官能基として第4級アミンと第3級アミンをもつもの、および基材としてシリカゲル系とポリマー系から成るものなどの点でそれぞれ異なる。その結果、ピークの形状、保持時間の長さ、および共存する硝酸イオンとの分離能などから、Asahipak ES-502Nカラムが分析に最も適していることがわかった。つぎに、移動相について検討した。試験溶液には多種類の塩が共存するため、臭素イオン以外の塩についても短時間で溶出できなければ、分析に長時間を要することになる。そこで、移動相としては1価の塩ではなくて2価の塩で、紫外吸収のない硫酸ナトリウムを選択した。硫酸ナトリウムの濃度について検討したところ、50mM以下の濃度ではベース・ラインが不安定であり、しかも、目的とする臭素イオンが溶出した後にもシステム・ピークがみられたのに対し、移動相が100mMの濃度では上記のことがすべて解消され、再現性のよいクロマトグラムが得られた（Fig. 1）。したがって、以下の実験には、移動相として100mM硫酸ナトリウムを用いた。図には示さないが、この移動相にアセトニトリルを添加するにつれて、臭素イオンと硝酸イオンの

ピークが接近し、10%アセトニトリルの添加で完全に重なった。以上のことから、Asahipak ES-502Nカラムを用いた分析では、第3級アミンによるイオン交換作用と基材の多孔質ポリマーによる疎水相互作用の組合せによって分離が行なわれていると推定された。

つぎに、標準溶液を用いて検量線を作製した（Fig. 2）。その結果、2 ppmまでの範囲において、相関係数0.9998の原点を通る良好な直線が得られた。また、臭素イオン濃度0.128ppmの標準溶液を7回分析したところ、そのCV値は1.1%であり、良好な再現性が得られた。この検量線における測定下限値は0.05ppmであり、米中の臭素濃度に換算すると0.6ppmとなり、臭素の検出限界値（1 ppm）まで測定できることが確認された。

玄米からの試験検体を上記の分析条件に供したときのクロマトグラムを Fig. 3 に示した。その

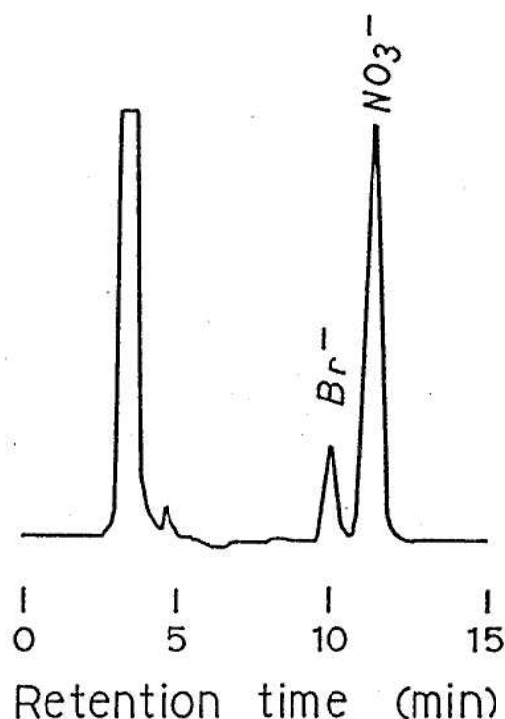


Fig. 1. Chromatogram of standard solution.

Standard solution containing 0.32ppm Br^- and 0.32ppm NO_3^- was applied.

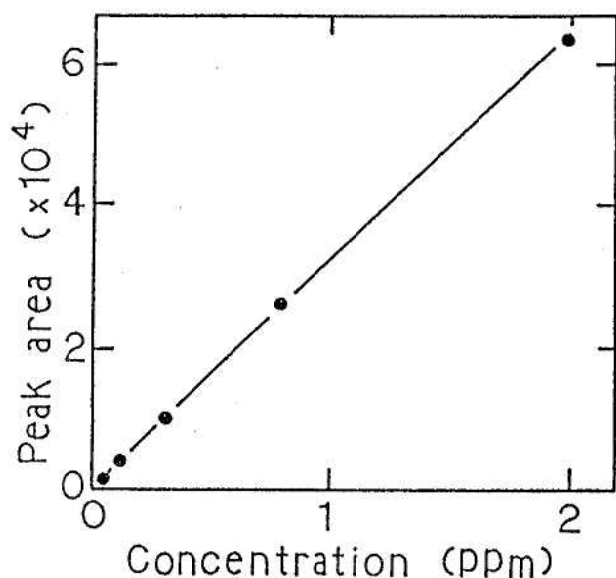


Fig. 2. Calibration curve of Br^- monitoring UV absorption.

結果、妨害ピークの出現もなく、臭素イオンを定量できることがわかった。また、図には示さないが、精白米からの試験検体のクロマトグラムも Fig. 3 のクロマトグラムと同様であった。

つぎに、臭素イオン定量値の再現性について検討した。すなわち、同一の精白米から試験溶液を5回調製して分析したときのCV値は3.7%であり、良好な再現性が得られた。また、精白米および玄米に臭素標準溶液を添加したときの回収率について検討した (Table 1)。その結果、回収率は精白米および玄米とも約80%であった。

本分析法を用いて、市販の精白米6検体および玄米2検体における総臭素量を測定した。なお、対照として、検体を入れずに、1%水酸化ナトリウム・90%エタノール溶液だけを灰化して分析したところ、0.8ppmであったため、各測定値から差し引いた。その結果、総臭素濃度は精白米で0.8-2.0ppm、玄米で1.8-2.3ppmであり、両者に大きな差は認められず、基準値の1/10以下であった。

以上のように、臭素イオンの有する紫外吸収を直接検出する本イオンクロマトグラフ法は、特別な装置を必要とすることなく、汎用型高速液体クロマトグラフィー装置を使用して構成できた。また、試料の灰化抽出液を中和するだけで、高濃度

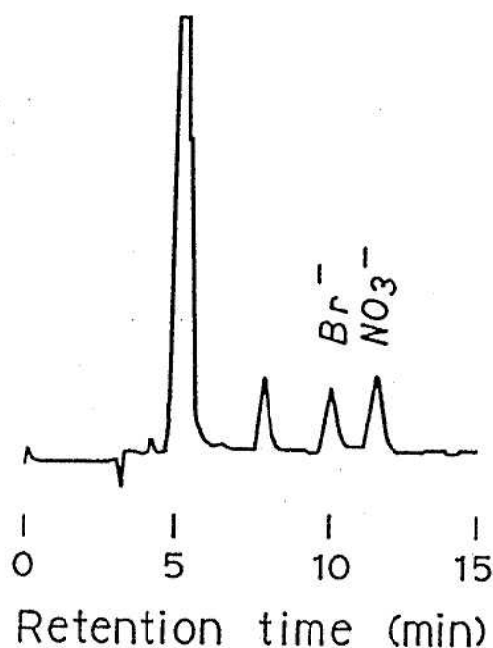


Fig. 3. Chromatogram of sample solution.

Sample solution prepared from unpolished rice was applied.

Table 1. Recovery of bromine added to polished and unpolished rices.

Sample	Bromine added (ppm)	Found (ppm)	Recovery (%)
Polished rice	0	0.8	-
	10	8.9	81.0
	30	25.0	80.2
Unpolished rice	0	1.8	-
	10	9.4	76.0

の塩を含んでいても、妨害成分となるのは硝酸イオンだけであり、条件設定も容易であった。本法は、米のみならず、野菜や果実にも適用できる簡便かつ迅速な分析法であり、日常の検査業務に適している方法である。

文 献

1. 農林水産省食品総合研究所編集 (1994). “食糧—その科学と技術” pp25-51.
2. 平成四年十月二十七日 厚生省告示第二百三十九号.
3. 昭和五十九年六月十六日 環食化第一二一号・環食化第三十号 厚生省環境衛生局食品衛生・食品化学課長連名通知.
4. 平成四年十月二十七日 官報 (号外第百六十号)
5. 松永明信, 穴山道子, 小林寛 (1981). 富山衛研年報, 233-235.
6. 田口信夫, 平田恵子, 天川映子, 大西和夫, 西島基弘, 坂井千三, 濱田昭 (1992). 衛生化学, 38, 289-294.

ページ・トラップ／キャピラリーGC／MS法による
飲料水中の揮発性有機化合物の定量（Ⅱ）

坂田 薫代 松永 明信 高柳 信孝

Determination of Volatile Organic Compounds
in Tap Water using Purge and Trap/
capillary-GC/MS Method (Ⅱ)

Shigeyo SAKATA, Akinobu MATSUNAGA
and Nobutaka TAKAYANAGI

平成5年12月より新水質基準省令〔1〕の施行に先立ち、昨年、健名ら〔2〕は、クライオフォーカス装置を使用しないページ・トラップ／GC／MS法により、揮発性化合物に関する16の基準項目のうち、総トリハロメタンを除く15項目（1,1-ジクロロエチレン、ジクロロメタン、シス-1,2-ジクロロエチレン、クロロホルム、1,1,1-トリクロロエタン、四塩化炭素、1,2-ジクロロエタン、ベンゼン、トリクロロエチレン、ブromoジクロロメタン、1,3-ジクロロプロペン、1,1,2-トリクロロエタン、テトラクロロエチレン、ジブromoクロロメタン、ブromoホルム）の一斉分析法を確立した。今回著者らは、新たにオートサンプラーを導入したので、分析条件の再検討を行なった。

実験方法：（1）試薬；標準原液としてGLサイエンス社製の15項目各50mg/mlメタノール混合溶液を用いた。希釈用のメタノールは和光純薬工業社製の残留農薬試験用を用いた。ブランク水としては、GLサイエンス社製標準水Ⅰを用いた。オートサンプラー用洗浄水は、加藤らの方法〔3〕を準用して、ミリポア社製MILLI Q SP.TOCで調製した超純水4ℓを約1時間で2ℓまで蒸発させ、揮発性化合物を取り除いたものを用いた。

（2）装置；オートサンプラー（AS）：TEKMAR AQUATek50、ページ・トラップ装置（P&T）：

TEKMAR LSC2000、ガスクロマトグラフ（GC）：SHIMADZU GC-14A、質量分析計（MS）：SHIMADZU QP2000GF、データ処理装置：SHIMADZU GC-MSPAC 200S

（3）測定条件；AS、P&T装置及びGC／MSの主な測定条件をTable 1に示した。なお、その他の条件は前報〔2〕に記載されているとおりとした。

（4）標準試料水溶液の作成；標準原液をメタノールで段階的に希釈して0.5, 5, 50mg/lを調製した。次にAS用バイアルにブランク水を満たし、所定の標準液を一定量添加して0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 30μg/lの標準水溶液を調製し、空気が入らないように栓をして充分混和したのち、ASにセットした。

結果及び考察：ASの導入にともない、P&TやGCの条件の再検討が必要となった。すなわち、ASからページ管への試料を移送する流路であるトランスファーライン及びページ管の洗浄は、デソープ操作の進行する時間内に行なわれる。そのため洗浄回数はデソープ時間に依存することになる。キャリアオーバーを少なくすることを考慮すると、洗浄は3回以上が望ましいとされ、そのためにはデソープ時間は3分以上必要となる。

（1）GC条件の検討；クライオフォーカス装置を使用しない本法では、デソープで脱離した成分

を含む高温の He が多量にキャピラリーカラムに導入されてくる。高温の He 量が多くなればなるほど、目的成分をキャピラリーカラム先端に濃縮捕集するためには、キャピラリーカラムの初期温度を低く設定することが必要となる。カラムオープンの初期温度を30~50°Cに変化させて測定を行なったところ、カラムオープンの初期温度が50°Cではデソープ時間を2, 3, 4分と長くすると、デソープ3分で1,1-ジクロロエチレンとジクロロメ

タンの応答値の低下がみられた。40°Cを初期温度に設定した場合には、1,1-ジクロロエチレンはデソープ3分まで、ジクロロメタンは6分まで応答値の低下は見られなかった。なお30°Cでは、40°Cと同じデソープ時間では応答値の低下は見られなかったものの、分析時間が長くなった。そこで応答値が高く、かつ分析時間が短時間であった40°Cを初期温度に設定した。その他、分離カラムの昇温プログラム等、GCの条件はTable 1 に示した

Table 1. Analytical Conditions

(1)GC/MS ; SHIMADZU GC14A-SHIMADZU QP2000GF

Column	VOCOL(60m,0.32mmID,3.0 μ m film thickness)
Carrier gas	He 0.7 kgf/cm ² (about 1.2 ml/min)
Oven temperature	40°C(1min)→(10°C/min)→220°C(5min)
Transfer line temperature	250°C
Ion source temperature	250°C

(2)Purge and Trap Concentrator ; TEKMAR LSC2000

Trap column	VOCARB4000
Sample volume and temperature	5 ml, 40°C
Trap column standby temperature	30°C
Purge	10 min, He 40 ml/min
Dry Purge	3 min
Desorb preheat	245°C
Desorption	3 min at 250°C
Bake	5 min at 270°C
Valve,Line,Cryounion temperature	100°C
Mount temperature	50°C

(3)Auto Sampler ; TEKMAR AQUATek50

Settle	10 min
Prepurge	30 sec
Sample transfer	30 sec
Backflush filter	1 min
Backflush needle	45 sec
Sample loop fill/rinse	1 min
Transfer line rinse	3 rinses

条件を設定した。

(2) P & T装置条件の検討；P & T装置の各操作における温度、時間等の条件により、試料の各成分の測定精度、感度は大きく影響されるが、このうち、パージ時間、デソープ温度、デソープ時間の3条件について、 $30\mu\text{g/l}$ の標準水溶液を用いて検討を行なった。

パージ時間を1～20分へ変化させた場合の応答値を測定し、対象とした15項目のうち5つの化合物について、パージ時間と応答値の関係をFig. 1に示した。その結果、どの化合物も6分までには応答値はほぼ一定となったが、更なるパージの継続においては、10分まで若干応答値の上がる傾向にあった。なお、その他の成分はプロモジクロロ

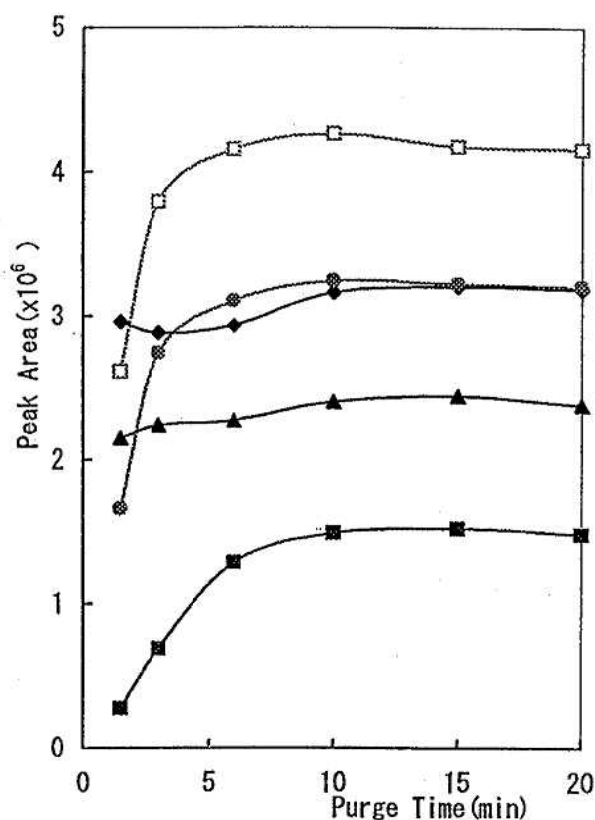


Fig. 1. Effect of Purge Time on Response

- ◆— 1,1-Dichloroethylene
- Dichloromethane
- ▲— 1,1,1-Trichloroethane
- Bromodichloromethane
- Bromoform

メタンと同様な応答値の変化を示した。そこで、パージ時間は10分に設定した。

次に、デソープ温度を150～270℃へ変化させた場合の応答値をFig. 1と同様、5つの化合物について、Fig. 2に示した。ジクロロメタンは240℃まで応答値が直線的に上昇し、250℃以上は一定となった。ベンゼンは、図示していないが、180℃で応答値が一定となった。その他の化合物はほとんどデソープ温度による変化がみられなかったが、1,1-ジクロロエチレンと1,1,1-トリクロロエタンはデソープ温度を260℃まで上げた場合応答値が減少する傾向にあったことより、デソープ温度は250℃に設定した。

デソープ温度を250℃に設定した場合の、デソープ時間による応答値の変化を、デソープ時間を1～8分へ変化させて調べてみた結果をFig. 1, 2同様、5つの化合物について、Fig. 3に示した。

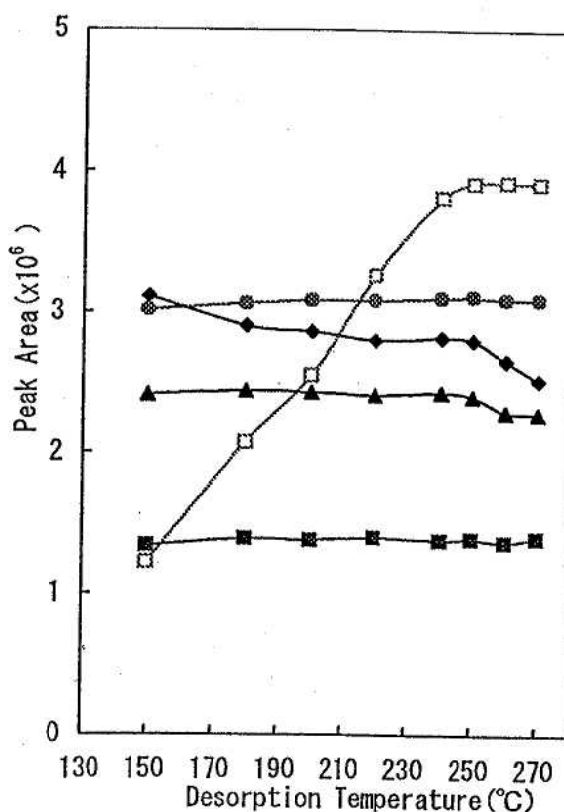


Fig. 2. Effect of Desorption Temperature on Response

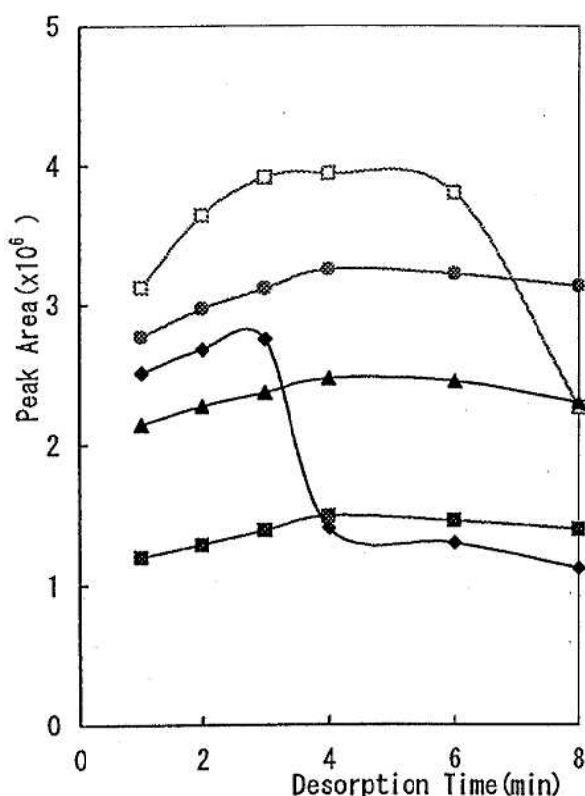


Fig. 3. Effect of Desorption Time on Response

健名らは $1.0 \mu\text{g/l}$ の水溶液で行い、0.5分で応答値がほぼ一定となり、0.5～5分間で変化はみられなかったと述べているが、 $30 \mu\text{g/l}$ ではほとんどの化合物で3分まで応答値の上昇がみられた。さらに1,1-ジクロロエチレンでは、3分すぎに急激に応答値の低下が見られ、ジクロロメタンは6分すぎに低下した。これは、クライオフォーカス装置を使用しないため、デソープ時間を長くすると脱着した成分がGC内への注入時に充分濃縮されず応答値の低下を来したと考えられる。ASからP&T装置へのトランスファーラインの洗浄回数はデソープ時間によって決まるため、デソープ時間はできるだけ長いほうが望ましいが、測定結果よりデソープ時間は3分とした。以上の検討の結果、P&T装置の測定条件を、Table 1に示した条件に設定した。

(3) 検量線の作成；測定したデータから得られ

た検量線は、15成分ともに $0.1 \sim 30.0 \mu\text{g/l}$ の濃度範囲において直線性が確認された。また、 $0.1 \mu\text{g/l}$ を検出限界として測定することが可能であった。なお7回測定時の値の変動は、 $30.0 \mu\text{g/l}$ の場合、AS使用時に1.6～3.4%と良好な値であった。

(4) キャリーオーバー； $30.0 \mu\text{g/l}$ の標準水溶液の測定後にブランク水を測定したところ、そのピーク面積値は、AS使用時には $0.1 \mu\text{g/l}$ の面積値の1/3～1/5であった。AS未使用時には同じく1/5～1/10であり、これは、AS未使用時には、10mlのブランク水でパージ管を洗浄する際、一たんパージ管にブランク水を満たしてからドレインをかけ洗浄するが、AS使用時には洗浄水を蓄めることなくオートドレインがかかり、AS未使用時の方がパージ管内の洗浄効果が高まるためと考えられた。しかし、いずれの場合もキャリーオーバーによるデータへの影響は無視できる程度であった。また、P&T装置の条件でデソープ時間を3分としたことから、トランスファーラインの洗浄回数は、最大値の3回とした。その他のAS条件は、Table 1に示した条件に設定した。

(5) 検体の測定；公定法に従って採水された浄水及び原水93検体について、本法により揮発性有機化合物を測定した。トリハロメタン4成分については、クロロホルム48件（検出率51.6%，最高濃度 $18.3 \mu\text{g/l}$ ）、ブロモジクロロメタン52件（同55.9%， $8.2 \mu\text{g/l}$ ）、ジブロモクロロメタン63件（同67.7%， $5.3 \mu\text{g/l}$ ）、ブromoホルム44件（同47.3%， $1.4 \mu\text{g/l}$ ）が検出された。その他の揮発性有機化合物については、トリクロロエチレン4件（同4.3%， $2.2 \mu\text{g/l}$ ）、1,1,1-トリクロロエタン5件（同5.4%， $2.2 \mu\text{g/l}$ ）、1,2-ジクロロエタン2件（同2.2%， $0.2 \mu\text{g/l}$ ）が検出された。なお、トリハロメタン4成分について、ヘッドスペース/GC法を用いて測定した結果と比較したところ、その測定値は良く一致した〔4〕。

以上、オートサンプラーを使用して、パージ・トラップ/キャピラリーGC/MS法により、水道水質基準項目中の揮発性有機化合物をより効率的に一斉分析することが可能であった。またこの方法は、一たん条件を設定すれば、測定操作は比

平成6年10月1日

較的簡便であり、データの再現性も極めて良好なことから、日常分析に適する方法であると考えられた。

文 献

1. 厚生省(1992).平成4年12月21日厚生省令第69号.
2. 健名智子, 松永明信, 高柳信孝(1993). 富山県衛生研究所年報, 16, 139-145.
3. 加藤寛久, 邢大栄, 平田綾子, 神野透人, 埴岡伸光, 安藤正典, 小嶋茂雄(1993). 水道協会雑誌, 62 (9), 41-50.
4. 大戸幹也, 松永明信, 坂田薫代, 高柳信孝, 水上英一(1994). 富山県衛生研究所年報, 17, 234-236

パージ・トラップ/GC-MS法とヘッドスペース/GC法による 水道水中のトリハロメタン測定値の比較

大戸 幹也 松永 明信 坂田 薫代
高柳 信孝 水上 英一

Comparison of Measured Values of Trihalomethanes in Tap Water by Purge and Trap / GC-MS Method with by Head Space / GC Method

Mikiya OHTO, Akinobu MATSUNAGA, Shigeyo SAKATA,
Nobutaka TAKAYANAGI and Eiichi MIZUKAMI

平成5年12月1日から水質基準等に関する省令（平成4年厚生省令第69号及び第70号，以下新省令）が施行され，昭和53年厚生省令第56号（以下旧省令）は廃止された。これに伴い，水道水中の低沸点有機塩素化合物の検査方法を示した部長通知〔1〕も廃止され，飲料水中のトリハロメタンの測定は，ヘッドスペースーガスクロマトグラフ（GC）分析からパージ・トラップ等ーGCー質量分析（MS）〔2〕となった。分析法の変更により前処理操作，検出器の応答特性に由来する測定値の変化も考えられる。新旧両公定法による分析値の比較は，経時的な追跡調査等，旧省令下での膨大な量の分析値を今後利用する上で重要なことである。そこで著者等は，実試料（水道水）を用いて新旧両公定方法による測定値の比較を行った。

実験方法：新旧両公定方法に従い，平成6年1～3月に，富山県内の51水道水を採取してトリハロメタン4項目（クロロホルム，ジブロモクロロメタン，ブロモジクロロメタン及びブromoホルム）の分析を行った。ただし，新公定方法での分析は，クライオフォーカス装置を使用しないパージ・トラップーGCーMS法（P&T/GC-MS）により行い，オートサンプラーを併用した〔3〕。また旧公定方法によるヘッドスペース／

GC分析（HS/GC）では，少なくとも新公定方法での定量下限値0.1 $\mu\text{g/l}$ が満たせるように，GC条件のカラム温度条件をクロロホルム，ジブロモクロロメタン及びブロモジクロロメタン分析では120 $^{\circ}\text{C}$ に，ブromoホルム分析では160 $^{\circ}\text{C}$ に変更した。

結果と考察：両公定方法によって分析した水道水中のクロロホルム測定値を，Fig. 1のAに相関図で示し比較した。クロロホルムの含有量が0.1 $\mu\text{g/l}$ 以上（最高7.6 $\mu\text{g/l}$ ）あった35検水のそれぞれの分析値は，相関係数(r)が0.9896，回帰直線式は $y=1.182x+0.056$ で，ほぼ原点を通る良好な直線関係が得られた。回帰直線の傾きは1以上であり，新法の分析値が高い傾向であった（ $t=6.52$ ， $P<0.01$ ）。ジブロモクロロメタンについては，最高濃度が5.3 $\mu\text{g/l}$ までの36検水の比較を行った。その相関図をFig. 1のBに示したが，良好な直線関係が得られ，相関係数は0.9956，回帰直線式は $y=1.071x-0.103$ であった。回帰直線の傾きは，ほぼ1であり，両公定方法間の差の検定を行っても差は無く（ $t=0.02$ n. s.），非常に良く一致した。ブロモジクロロメタンについては，最高濃度が8.2 $\mu\text{g/l}$ までの37検水を比較した。相関図をFig. 1のCに示したが，相関係数は0.9897，回帰直線式は $y=1.142x-0.044$ で良好な直線関係が得られた。

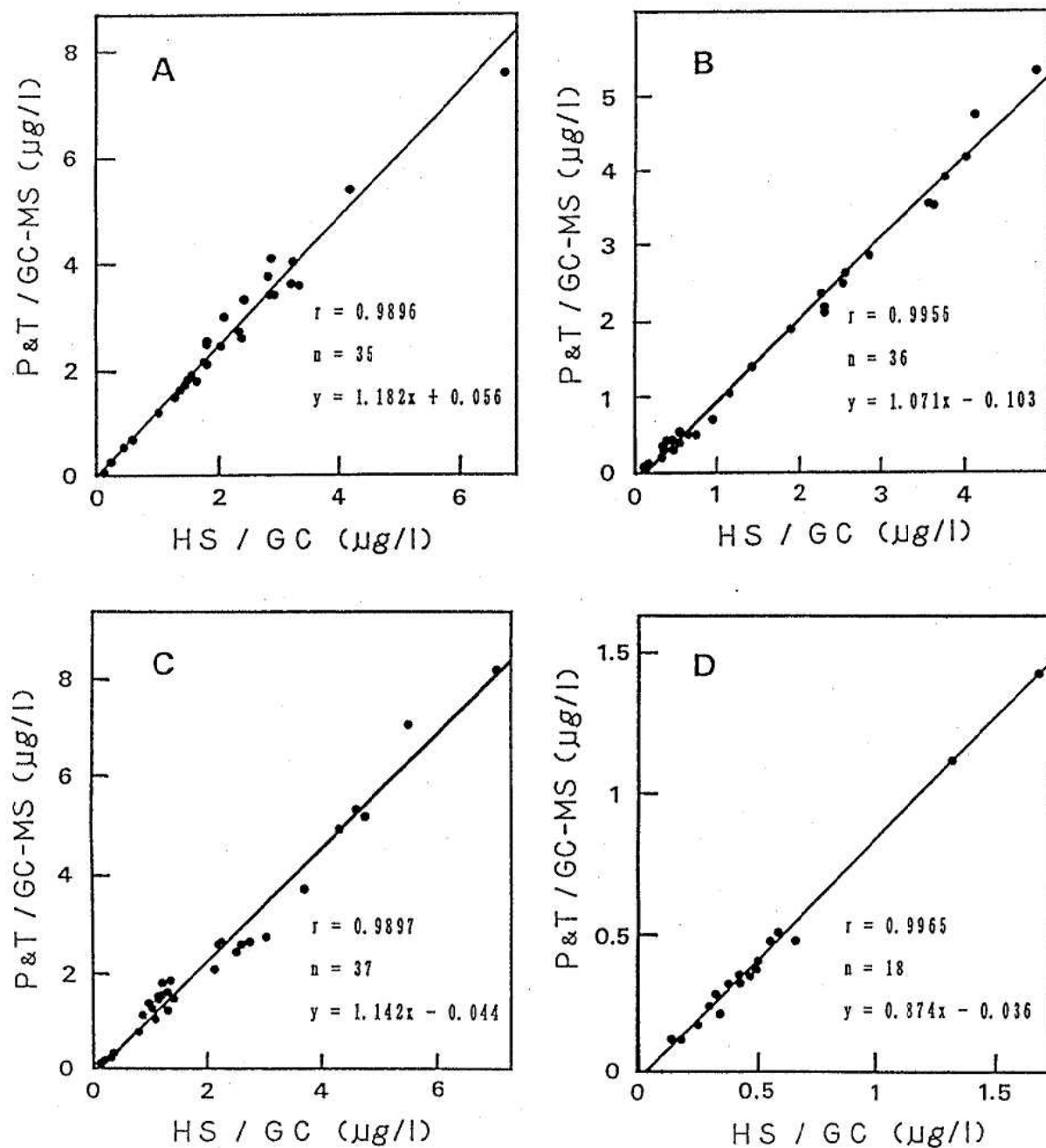


Fig. 1. Comparisons of Measured Values of Trihalomethanes in Tap Water by Purge and Trap (P & T)/GC-MS Method with by Head Space(HS) /GC Method

A, Chloroform; B, Dibromochloromethane; C, Bromodichloromethane; D, Bromoform

ただし、回帰直線の傾きは1より大きく、新法による分析値が高い傾向 ($t=3.29$, $P<0.01$) であった。プロモホルムについては、最高濃度が1.67 $\mu\text{g/l}$ までの18検水について比較を行った。相関図をFig. 1のDに示したが、相関係数は0.9965、回帰直線式は $y=0.874x-0.036$ で良好な直線関係が得られた。他の3種類のトリハロメタンと異なり、回帰直線の傾きは1より小さく、旧法による分析値の方が高い傾向であった ($t=7.87$, $P<0.01$)。

トリハロメタン4種類の回帰直線式の傾きは、0.87から1.18の範囲にあったが、新法の測定精度は変動係数で20%を確保する方法〔2〕である点を考慮すれば、新旧両公定方法による測定値は良く一致している。当所には旧法で分析されたトリハロメタン分析データが多く保管されている。ま

たトリハロメタン等で汚染された井戸、地下水等の経時的な追跡調査も現在継続中である。今後は、新公定方法により測定するが、旧公定方法による分析値を継承して利用することに問題は無いと考えられる。

文 献

1. 厚生省(1984). 昭和59年2月18日環水第15号 厚生省環境衛生局水道環境部長通知.
2. 厚生省(1992). 平成4年12月21日衛水第264号厚生省生活衛生局水道環境部長通知.
3. 坂田薫代, 松永明信, 高柳信孝, 水上英一 (1994). 富山県衛生研究所年報, 17, 229-233.

富山県の温泉中の金属含有量について

高柳 信孝

Concentration of Metals in Thermal Springs in Toyama Prefecture

Nobutaka TAKAYANAGI

温泉水中の各種イオン成分は、入浴により経皮的に吸収され、様々な特異的作用を及ぼすことが知られている [1]。特に、温泉中の微量金属は、生体に吸収されたのち各種臓器に生理活性を与えるものと考えられている。そこで、富山県の温泉水中の微量金属含有量を把握するために調査を行った。測定金属は、鉱泉分析法指針に掲げられているもののうち、亜鉛、鉄、マンガン、銅、鉛、ヒ素、その他に必須金属であるコバルトおよびセレン、動物での必須性が証明されているニッケル [2]、毒性元素であるカドミウムを加えて10元素とした。

実験方法：測定方法と装置はつぎのとおりである。

亜鉛、鉄、マンガン：フレイム-原子吸光法（日本ジャーレル・アッシュ製原子吸光度計AA-860）
ヒ素、セレン：水素化物発生-原子吸光法（上記原子吸光度計、ジャーレル・アッシュ製水素化物発生装置HYD-1および水素化物加熱原子化装置HYD-2）

銅、鉛、コバルト、ニッケル、カドミウム：フレイムレス-原子吸光法（日立製偏光ゼーマン原子吸光度計Z-8000）

試料水は、採取後直ちに塩酸（和光純薬工業㈱製有害金属測定用）を加え、pHを約1として保存した。

フレイムおよびフレイムレス-原子吸光法の試験溶液の調製は、鉛以外については、試料水 100 mlを用いオキシ法 [3] に準じて行った。ただ

し、ミニカートリッジカラムはSEP-PAK tC18を用いた。またpH調整時に沈殿を生ずるものは、1時間以上放置後ろ紙でろ過し、ろ液をミニカートリッジカラムに通液し、2 M-塩酸で溶出した。ろ紙上の沈殿は2 M-塩酸で溶解し、カラムからの溶出液に合わせ試験溶液とした。なお、コバルトについては、2 M-塩酸では溶出しにくいので、さらにメタノール 2 mlで溶出し、エバポレーターで乾固したのち、残渣を1 M-塩酸 4 mlで溶解したものも測定し、両画分の測定値の合算値を含有量とした。鉛については、保存試料水をそのまま用いた。

水素化物発生-原子吸光法で測定するものは、保存試料水をそのまま用いた。

結果および考察：精製水 100 mlに銅、コバルト、ニッケル、カドミウム 0.1~0.4 μ g を添加して回収実験を行ったところ、いずれも90%以上の回収率が得られた。

富山県の温泉のうち20泉源について分析した結果をTable 1に示した。亜鉛は3試料から0.02~0.50 mg/l、鉄は10試料から0.05~14.8 mg/l、マンガンは14試料から0.018~21.5 mg/l、銅は3試料から0.002~0.019 mg/l、ニッケルは2試料から0.001 mg/lずつ、コバルトは2試料から0.002, 0.003 mg/l、ヒ素は8試料から0.001~0.038 mg/l 検出された。カドミウム、鉛およびセレンは検出されなかった。以上の結果をTable 2の金属の地殻中濃度 [2] の順位と比較してみると、地殻中濃度が1000 ppm 以上のものは、検出濃度レベルも高く、数十 ppm のものは低濃度ではあるが検出さ

Table 1. Concentration of Metals in Thermal Springs (mg/l)

No.	Zn	Fe	Mn	Cd	Cu	Ni	Co	Pb	As	Se
1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.009	nd
2	nd	2.21	0.187	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.029	nd
4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0.038	nd
5	nd	0.05	0.022	nd	nd	nd	nd	nd	0.006	nd
6	nd	nd	nd	nd	0.007	nd	nd	nd	0.003	nd
7	nd	nd	0.022	nd	nd	nd	nd	nd	0.009	nd
8	nd	nd	0.030	nd	nd	nd	nd	nd	0.012	nd
9	0.50	1.86	0.062	nd	nd	nd	0.002	nd	nd	nd
10	0.05	14.8	0.641	nd	0.002	nd	nd	nd	nd	nd
11	nd	0.26	0.959	nd	nd	0.001	nd	nd	nd	nd
12	nd	6.86	21.5	nd	nd	0.001	nd	nd	nd	nd
13	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
14	nd	0.49	0.095	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
15	nd	0.06	0.134	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
16	0.02	10.4	10.6	nd	0.019	nd	0.003	nd	0.001	nd
17	nd	nd	0.021	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
18	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
19	nd	nd	0.018	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
20	nd	1.05	0.075	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

nd: Zn<0.01, Fe<0.05, Mn<0.005, Cd<0.0001, Cu<0.001, Ni<0.001, Co<0.001,
Pb<0.01, As<0.001, Se<0.001mg/l

Table 2. Concentration of Metals in the Crust(ppm)

Fe	56300	Co	25
Mn	1000	Pb	10
Ni	75	As	1.8
Zn	70	Cd	0.2
Cu	55	Se	0.05

Quotation from the literature [2]

れるものがあり、10ppm 以下のものはヒ素以外は検出されなかった。このように、分析結果は概ね地殻中濃度を反映していると推定される。

文 献

1. 大島良雄 (1984). ぶんせき, 1, 20-26.
2. 和田 攻 (1985). 金属とヒト, pp34-35, pp28, 朝倉書店.
3. 高柳信孝, 大浦 徹 (1986). 富山衛研年報, 9, 158-161.

4. 業 績

4. 業 績

(1) 受 賞

山本 敦

日本分析化学会イオンクロマトグラフィー奨励賞

受賞日

平成5年10月28日

受賞事項

「イオンクロマトグラフィーにおける分離機構の理論的解析に関する研究」の業績

(2) 誌 上 発 表

[原 著]

1) Ecological Studies on Reovirus Pollution of Rivers in Toyama Prefecture.

II. Molecular Epidemiological Study of Reoviruses Isolated from River Water

Kumiko MATSUURA, Mitsuhiro ISHIKURA, Takashi NAKAYAMA,
Sumiyo HASEGAWA, Osayuki MORITA and Hisao UETAKE*

Microbiology and Immunology, 37(4), 305~310, 1993

In order to clarify the source of reovirus pollution in river water, comparative surveys have been carried out between reovirus isolates from river water and those from sewage, human or animal, by making use of the analysis of genomic RNA-migration pattern of reovirus in polyacrylamide gel electrophoresis (electropherotype). The strains of reovirus serotype 1 and 2 isolated from river water were classified into 3 and 9 electropherotypes, respectively, and 8 out of these 12 types were also found among strains isolated from sewage or human. When the monthly distribution of the river isolates classified by electropherotypes was compared with that of the sewage isolates, there were cases in which strains of the same electropherotype were simultaneously isolated from both sources. The electropherotypes of 3 isolates from pig and field rodents were different from those of the other isolates. The electropherotype of an oyster isolate coincided with that of some of the isolates from humans and river water. These results indicate that the major sources of reoviruses polluting river water may be the human excretion.

2) Adsorption Isotherm of Undissociated Eluent Acid and its Relation to the Retention of System Peaks in Non-suppressed Ion Chromatography

Atushi YAMAMOTO, Akinobu MATSUNAGA and Eiichi MIZUKAMI
Kazuichi HAYAKAWA* and Motoichi MIYAZAKI*

Journal Chromatography, 644, 183~187, 1993

The formation of a system peak in non-suppressed ion chromatography is related to

the adsorption of undissociated eluent acid onto the functionalized resin surface. To clarify the elution behaviour of system peaks, a new method for determining the isotherms from the capacity factors of system peaks using low-pH eluents free from sodium ions was developed. The isotherms for adsorption of undissociated salicylic and phthalic acids as eluents onto an IC-Anion-PW column, measured by the present method, showed two-site biLangmuir correlations. The capacity factors of system peaks calculated from the equations based on these isotherms were in good agreement with those from actual chromatograms with the acidic eluent conditions.

3) 有機リン剤散布による生体影響と尿中代謝物の排泄状況

大浦 栄次*, 寺中 正昭*, 中橋美峰子, 宇田 秋子*, 藤塚由紀子*, 前田 正則*,
猪上 富子*, 能沢 夏子*

富山県農村医学研究会誌, 24, 34~40, 1993

約1カ月間に散布回数10日~2週間, 散布面積100.0ha以上, 散布時間50時間以上に及ぶラジコンヘリによる水田農薬散布者2名の散布期間前および散布期間終了直後の肝機能を中心とする13項目の血液生化学的検査を行なった。散布した農薬は殺虫剤のスミチオン, トレボン乳剤, 殺菌剤のラブサイドモンガードゾル, カスラブバリダゾルの4種である。

その結果, コリンエステラーゼ活性値がわずかに低下したものの, ほとんど変化が認められず, 暴露量は動力散布機等の他の散布方法に比較して少ないと考えられた。

しかし, 風向きや圃場の条件によっては大量暴露を受ける可能性もあり, また, 無線で会話するためマスクをすることが出来ず, 今後この散布方法は急速に普及すると考えられるので十分な防護方法について早急に開発することが必要と思われる。

一方, この2名の農薬散布期間終了後13日目から29日目まで早朝尿に有機リン剤の尿中代謝物であるDMP, DMTPが検出され, 農薬暴露量が少ない場合でも有機リン剤の体内残留が一ヵ月以上続いていると考えられ, 体内での蓄積部位は脂肪が考えられ, 今後有機塩素剤と同様, 脂肪中の有機リン剤の分析および生体影響の検討が必要と考えられた。

4) アルミサッシのモデル実験装置を用いたカメムシに対する薬剤の効果判定

渡辺 護, 品川 保弘, 荒川 良*, 稲岡 徹*

ペストロジー学会誌, 8(1), 6~9, 1993

クサギカメムシに対する薬剤効果判定試験のために, 幅30×高20cmの小型アルミサッシを取り付けたアルミフレーム・透明アクリル板製のアルミサッシ箱による試験装置を作製した。この装置を用いて, 窓枠重点処理法に用いる殺虫剤の適否を試験したところ, 本装置はクサギカメムシの隙間に潜む性質を容易に利用出来, 小型で扱い易く, しかも試験結果の再現性も確認された。

1%シフェノトリンを処理したサッシに潜んだクサギカメムシは, 確実に仰転・死亡することが確かめられ, 速効性に優れ, 掃除の回数も少なく済む利点が認められた。しかし, シフェノトリン濃度が低いとサッシの隙間で死亡する固体よりも, サッシ箱の内部で死ぬ固体が多くなることが観察された。また, deetの忌避効果も, 本装置を用いて確認することが出来た。

5) 炭酸ガスとシフェノトリンの混合ガス(ブンガノン)によるイヨシロオビアブの誘殺

渡辺 護, 荒川 良*, 小菅 喜昭*

ペストロジー学会誌, 8(1), 28~30, 1993.

イヨシロオビアブの緊急的, もしくは一時的な駆除法として, 美術館や博物館での害虫駆除用が開発された, 炭酸ガスとシフェノトリンの混合ガス(商品名:ブンガノン)を用いて誘殺を試みた。

その結果, 本混合ガスには, イヨシロオビアブを誘引し, 仰転・殺虫する効果が認められた。また, このガスの影響は風下15mまではほぼ確実にみられた。

6) 手足口病の臨床的・ウイルス学的検討

金兼 弘和*, 森田 修行

臨床とウイルス, 21(3), 163~166, 1993

1991年7月を中心として6月から10月にかけて新湊市周辺で63例の手足口病患者の発生をみた。

年齢分布をみると3・4歳児を中心として0歳から8歳にわたっていた。41例からウイルス分離を試みたところ、非分離が3例であり、CA16とEV71がそれぞれ11例、26例同定できた。糞便、水疱内容液、咽頭ぬぐい液からのウイルス分離率はそれぞれ91%、47%、78%であった。CA16は毎月のようにみられたが、EV71は6・7月に集中していた。患者を3歳以下と4歳以上の年齢群に分けて、その臨床症状を比較すると、3歳以下の群では発熱ならびに下半身の発疹の頻度が高かった。また、病原ウイルス別にみると、EV71の方がCA16に比べて発熱の頻度が高かった。12組の同胞発症例があり、発症日のずれは0日から6日であった。8例の再罹患例があり、ウイルス学的に証明できた2例はいずれも異なるウイルスの感染であった。

7) 北海道の一小学校における家屋侵入性カメムシの生態と防除

1. 襲来するカメムシの種構成と季節消長

稲岡 徹*, 渡辺 護, 小菅 喜昭*, 小浜 卓司*

衛生動物, 44(4), 341~347, 1993

越冬するカメムシが毎年大量に侵入する北海道朝日町の一小学校で、襲来するカメムシの種構成と、活動の季節消長を、1991・1992年にわたって調べた。採集した14種の中では、スコットカメムシが圧倒的に優占し全体の80%以上を占め、ヨツモンカメムシとマダラナガカメムシがこれについだ。この小学校におけるカメムシによる被害は、これら3種によって引き起こされている。越冬のためのカメムシの校舎への侵入行動は9月に始まり11月に終わる。最初に出現するのはマダラナガカメムシで、9月中にはこの種が最も多い。優占種のスコットカメムシは9月下旬に現れ、10月中旬の数日間にきわめて顕著な活動のピークを形成した。この間の気象条件は、快晴ないし曇り、日最高気温はほぼ平年なみの15℃であった。ヨツモンカメムシの出現と活動最盛期はスコットカメムシよりさらに約1週間遅れた。本州のクサギカメムシの活動状況の監視や誘殺に有効な隙間トラップは、スコットカメムシが優占種となっている。ここでの適用は困難であった。

8) Small Round-Structured Viruses(SRSVs) Associated with Acute Gastroenteritis Outbreaks in Gifu, Japan

Hiroyoshi KAWAMATO*, Sumiyo HASEGAWA, Seiko SAWATARI*,
Chieko MIWA*, Osayuki MORITA, Takehiko HOSOKAWA* and Hiroshi TANAKA*

Microbiology and Immunology, 37(12), 991~997, 1993

Two outbreaks of non-bacterial gastroenteritis occurred in Gifu Prefecture in January 1989 and in January 1991. Both outbreaks were closely related to the consumption of raw oysters, and showed similar clinical features. Small, round-structured virus particles were found in patient stools in both outbreaks by electron microscopy. The role of these particles as the causative agents of the outbreaks were strongly suggested by immune electron microscopy and/or western-blotting immunoassay. When compared with SRSV-9(Tokyo/SRSV/86-510) reported previously(Hayashi et al, J.Clin.Microbiol.,27:1728-1733,1989), it was found that these viral particles were antigenically similar to SRSV-9, and had a major structural protein of 63 kilodaltons(kDa). Further, the prevalence of this agent in Gifu area was examined by western blot antibody assay using 67 serum samples collected from the inhabitants in 1991. The results indicated the circulation of the same or antigenically similar agent in this area.

9) オンライン固相抽出高速液体クロマトグラフィーによる飲料水中のゴルフ場使用農薬4種類(メコプロップ, オキシシン銅, シマジン, チウラム)の同時定量

木戸 幹也, 山本 敦, 松永 明信, 水上 英一

分析化学, 43(1), 71~74, 1994

飲料水中のメコプロップ, オキシシン銅, シマジン, チウラムの4種類のゴルフ場農薬の公定検査方法はそれぞれ異なるため, これらを簡便かつ迅速に同時定量する方法を開発した。HPLCの試料注入部に組み込んだ濃縮カラムに, 試料2mlを注入した後, 流路を切り替えて分析した。分析カラムに, Shodex RSpak DE-613, 移動相に0.5mMリン酸を含む50%アセトニトリル溶液を用いたところ, 4農薬はすべて10分以内に溶出し, かつそれぞれ完全に分離した。飲料水へ4農薬を添加した場合の回収率は, 93~101%で良好であった。本法を, 井戸水等の飲料水に適用したところ, 分析に要する時間, 経費, 労力も少なく済み, 非常に良い日常分析法と考えられる。

10) Methylthiouracil Does not Induce Micronuclei in Mouse Reticulocytes

Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI, Yasuhiro SHINAGAWA, Shigeaki SATO*,
Yuchi NARUSE*, and Sadanobu KAGAMIMORI*

Mammalian Mutagenicity Study Group Communications, 2 (1), 37~40, 1994

MNRET frequencies induced by MTU were $0.05 \pm 0.05\%$ to about $0.15 \pm 0.08\%$ in the single intraperitoneal injection group, $0.06 \pm 0.09\%$ to about $0.20 \pm 0.16\%$ in the double intraperitoneal injection group and $0.14 \pm 0.11\%$ to about $0.24 \pm 0.18\%$ in the single oral administration group. In the negative control (olive oil), the MNRET frequencies were $0.08 \pm 0.08\%$ to about $0.28 \pm 0.08\%$. MMC showed a significantly positive response. These data indicate that there is no significant difference between any experimental group and the negative control. Therefore, under the present experimental conditions, MTU did not induce MNRETs.

11) 富山県におけるツツガムシの分析とつつがむし病

渡辺 護, 石倉 康宏, 森田 修行

ダニと疾患のインターフェイス (SADI組織委員会編), p. 84~92, YUKI書房, 福井, 1994

富山県において1978年から, つつがむし病患者の発生地を中心に, ツツガムシの種類, 季節消長などを調査してきた。患者が毎年発生する地域では, つつがむし病リケッチアを媒介するフトゲツツガムシが最も多く採集され, 同じく媒介種のタテツツガムシも採集された。それらは10~12月に多く, とくに後者は10~1月にのみ採集された。また, 患者家屋周辺のドブネズミからタテツツガムシが, フトゲツツガムシより多数採集された。一方, 患者非発生地でタテツツガムシは全くみられず, フトゲツツガムシも少なかった。

なお, 患者のRt(Gilliam N)とネズミのそれは, 患者発生地では良く一致した。

12) PCRによる紅斑熱リケッチアDNAのマダニからの検出の試み

石倉 康宏, 渡辺 護, 品川 保弘, 松浦久美子, 森田 修行

ダニと疾患のインターフェイス (SADI組織委員会編), p. 137~140, YUKI書房, 福井, 1994

わが国に生息する野鼠は、抗紅斑熱群(SFG)リケッチア抗体を高率に保有している。この理由を明らかにするためにベクターとして疑われるマダニのSFGリケッチアDNAの保有状況をPCR法で検索した。富山県下の山岳地で採取したマダニでは、マダニ属が54%, チマダニ属が60%, 平地で採取したチマダニ属では79%がそれぞれSFGリケッチアのDNAを保有していた。ヤマトマダニから増幅したDNAの制限酵素切断パターンは*Rickettsia japonica*のそれとは異なっていた。

13) クサギカメムシの家屋などへの越冬飛来消長

渡辺 護, 荒川 良*, 岡沢 孝雄*, 品川 保弘

衛生動物, 45(1), 25~31, 1994

1988年から1992年まで、毎年クサギカメムシの越冬飛来がみられる富山県宇奈月温泉で、本種の飛来消長を観察した。

建物の壁へのクサギカメムシの飛来は、毎年ほぼ9月下旬から始まり、10月中・下旬に最高に達し、11月下旬には終息する消長を示した。これらの飛来消長は年度により1~2週間のズレが観察されたが、それらには気温の関与が示唆された。すなわち、飛来開始は最低気温がほぼ15℃以下になった後の、最高気温が25℃前後になる晴れた暖かい日に始まり、最多飛来は最低気温が10℃以下になった後の、小春日よりの暖かい日にみられた。

隙間トラップへの潜み数は、トラップ面を山側に向けたものより川側に向けたほうが多い傾向にあり、トラップの表面の色は黒や白に塗色したものより、ベニア板の地色(透明ラッカー)に最も多くのクサギカメムシが潜むのが観察された。また、軒下に設置したトラップに、屋上に設置したトラップよりも多くの個体が潜み、トラップの設置位置が重要であることが示唆された。なお、潜みは壁への飛来よりも1~2週間遅れてみられた。

[総説・解説]

1) 家屋侵入性カメムシの防除

渡辺 護

Pest Control TOKYO, 25, 45～54, 1993

家屋侵入性カメムシの防除について、本研究所で行なっている各種試験、および開発した隙間トラップ、殺虫剤窓枠重点処理法などの実験成績を中心に、最新の駆除法を総説した。

2) オロロ —小さな吸血鬼たちの生活—

渡辺 護

とやまと自然, 16巻夏の号, 4～7, 1993

富山県の標高300～500mのきれいな水が流れる、比較的河原が広いところで、ヒトを集団で襲うオロロ（イヨシロオビアブ）の生理、生態について解説した。

3) カメムシの防除

渡辺 護

平成5年度ねずみ・衛生害虫駆除研究協議会資料集, 129～143, 1994

クサギカメムシを中心に、家屋侵入性カメムシの生態と駆除について、本研究所で開発した隙間トラップ、殺虫剤窓枠重点処理法などの最新の駆除法を、実験成績を示して解説した。

4) 衛生化学領域における分析技術の最近の進歩シリーズⅢ イオンクロマトグラフィーにおける最近の進歩

早川 和一*, 山本 敦, 宮崎 元一*,

衛生化学, 40(1), 1~12, 1994

1975年に誕生したイオンクロマトグラフィー (IC) は, イオン成分の高感度一斉分析装置として広く普及している, 初期の IC は分析カラム, 除去カラムおよび電気電導度検出器から構成されていた。この系では特に除去法の進歩が著しく, 最も普遍的な IC 装置となっている。一方, 紫外外部吸収検出器を用いた間接吸光度検出 IC も広く普及するようになり, HPLC で使用されるあらゆる検出器も取り入れられるようになった。現在 IC は, イオン成分分析のための液体クロマトグラフィーの範疇に組み入れられている。ここでは, 1990年以降に報告された論文から, 最近の IC の進歩ならびに応用例を紹介する。

[報 告]

1) 県内主要 4 河川 (小矢部川, 神通川, 常願寺川, 黒部川) の底生動物

井山 洋子, 安田 郁子*

富山県公害センター研究報告, 21~38, 1993

1987年8月から1992年2月までの5年間にわたり, 小矢部川, 神通川, 常願寺川, 黒部川の4河川37地点について, 底生動物の調査を行い次の結論を得た。

(1) 4河川に共通に見られた優占種は蜉蝣目では *Epeorus latifolium*, *Ecdyonurus yoshidae* で, 毛翅目では *Stenopsyche marmorata*, *Hydropsyche orientalis* であった。

また各河川に特徴的な種類としては, 小矢部川は蜉蝣目で *Ephemerella basalis*, 毛翅目では *Cheumatopsyche brevilineata* であり, 神通川は *Ephemerella cryptomeria* と毛翅目の *Micrasema quadriloba* であった。常願川と黒部川では蜉蝣目の *Baetis yamatoensis* と毛翅目の *Glossosoma* sp. が優占的で, フアウナの上からは両河川は類似性が高かった。

(2) 各河川のベントスの構成種類の目別比率をみると蜉蝣目が最も多く, 小矢部川では41.5%, 神通川では39.3%, 常願寺川では35.7%, 黒部川では43.1% であった。第2構成種は神通川と常

願寺川は毛翅目であった。小矢部川は水生昆虫以外のベントスが21.5%で積翅目は3.1%と最も少なかった。それに対し黒部川では積翅目が20.7%を占めており、その他のベントスは3.4%と最低であった。このことは小矢部川と黒部川の水質の違いを如実に物語るものである。

2) 病原細菌の分子疫学的研究

児玉 博英, 刑部 陽宅, 細呂木志保

平成4年度科学技術庁委託調査研究, 調査研究成果報告書, 63~75, 富山県, 1993

染色体DNA制限酵素切断パターンによってコレラ菌を型別し, 国内の環境から分離されるコレラ菌はCT遺伝子陰性でヒト由来コレラ菌と異なること, 1992年のペルー流行株は東南アジアでの流行株と似ていること等を述べた。

3) ウイルスの遺伝子検出による疫学的研究

森田 修行, 中山 喬, 長谷川澄代, 庄司 俊雄

平成4年度科学技術庁委託調査研究, 調査研究成果報告書, 76~89, 富山県, 1993

非細菌性の急性胃腸炎には, ロタウイルス, SRVおよびアデノウイルスが主たる病因をなしていることを明らかにした。そのうちロタウイルスが最も多く, 全体の61%を占めていた。モノクローナル抗体を用い, A群ヒトロタウイルス(AHRV)の血清型別を行ったところ, 優勢を占める型が流行シーズンごとに変動していた。しかし, 約30%の検体は型を決めることができなかった。そこで, RT-PCRによる血清型別を検討し, AHRV標準株および糞便AHRVの血清型別に良好な結果が得られた。一方, 富山県内の主に20~34歳の女性について, C型肝炎ウイルス抗体とB型肝炎ウイルスs抗原の保有率を調査し, 母体血ではそれぞれ0.8%, 2.1%であり, 一般女性ではそれぞれ0.2%, 0.9%の成績が得られた。

4) 骨粗しょう症の発症要因に関する疫学的研究

西野治身, 田中朋子, 堀井裕子

平成4年度科学技術庁委託調査研究, 調査研究成果報告書, 90~102, 富山県, 1993

イタイイタイ病患者および要観察者を含むカドミウム(Cd)暴露者群と寝たきり老人群での尿および血清中ヒドロキシプロリン(Hyp)濃度の変動を比較検討した。

Cd暴露者群では, 遊離型Hypは, 尿と血清のいずれにおいても対照群に比較して有意に高値を示したが, ペプチド型Hypの増加はみられなかった。一方, 寝たきり老人群では, ペプチド型Hypは対照群に比較して有意に増加していたが, 遊離型Hypは対照群と同じレベルの低値であった。

このようなCd暴露者群と寝たきり老人群におけるHyp増加の違いは, 各々の骨病態を反映しているのではないかと考えられた。

5) パルスフィールド電気泳動によるコレラ菌の型別

刑部陽宅, 細呂木志保, 児玉博英, 島田俊雄*

病原微生物検出情報, 14(5), 97~98, 1993

パルスフィールド電気泳動法を用いた染色体DNA制限酵素切断パターンによるコレラ菌の型別法と, これを利用して得られた2~3の結果について述べた。

6) 液体クロマトグラフィーに用いる新吸光度検出法の開発

宮崎元一*, 早川和一*, 山本 敦, 西村雅之*

平成5年度科学研究費補助金研究成果報告書(平成6年3月)

液体クロマトグラフィーの高感度化と進歩を計るため, 間接吸光度検出法の「試料の分離カラム内挙動解析の理論」を構築し, ついで本検出法を新たに偏光現象に適用して「偏光吸光度検出法」の概念を見いだすと共に, 併せてその応用である装置化を試みた研究報告である。

(3) 学 会 発 表

1) 家屋侵入性カメムシ4種類の数種殺虫剤に対する感受性

渡辺 護, 稲岡 徹*, 荒川 良*, 小浜卓司*, 小菅喜昭*

第45回日本衛生動物学会大会, 平. 5. 4. 2~3, 愛知県長久手町

2) 北海道の一小学校におけるスコットカメムシの襲来の実態とその防除対策

稲岡 徹*, 渡辺 護, 小菅喜昭*, 小浜卓司*

第45回日本衛生動物学会大会, 平. 5. 4. 2~3, 愛知県長久手町

3) 中高年女性における骨代謝指標と生活習慣

西野治身, 田中朋子, 梶田悦子*, 伊木雅之*, 土肥祥子*

第63回日本衛生学会総会, 平. 5. 4. 6~7, 東京都

4) 学童期における尿中ハイドロキシプロリンと運動

堀井裕子, 西野治身, 田中朋子, 山上孝司*, 成瀬優知*, 鏡森定信*

第63回日本衛生学会総会, 平. 5. 4. 6~7, 東京都

5) 食品中のクロロフィルについて(Ⅱ) クロロフィル化合物の自動酸化

大戸幹也, 山本 敦, 松永明信, 水上英一

日本食品衛生学会第65回学術講演会, 平. 5. 5. 12~14, 東京都

6) 家屋侵入性カメムシの侵入・潜みの実験的検討

渡辺 護, 荒川 良*, 稲岡 徹*

第11回北陸病害動物研究会大会, 平. 5. 5. 30, 福井市

7) 各種系統マウスの自然小核出現頻度に及ぼす加齢の影響

本田幸子, 佐藤精一*

哺乳動物試験分科会第22回定例会, 平. 5. 6. 4~5, 鳴門市

8) セレンと成人病危険因子との関係(2) 飲酒・喫煙習慣ならびに肝機能と血清セレン濃度

新村哲夫, 中崎美峰子, 林 徹雄, 中川秀昭*, 成瀬優知*, 鏡森定信*

第4回日本微量元素学会, 平. 5. 7. 3~4, 南河内町

9) *V. cholerae* non-01及び*V. mimicus*による集団下痢症

刑部陽宅

衛生微生物技術協議会第14回研究会, 平. 5. 7. 8~9, 横浜市

- 10) 富山県の溶血レンサ球菌感染症の集団発生事例と最近の同菌感染症の動向
児玉博英, 刑部陽宅, 田中大祐, 細呂木志保, 南部厚子*
第23回富山県小児保健学会, 平. 5. 8. 22, 富山市

- 11) クライオ・フォーカス装置を使用しないページ・トラップ/キャピラリーGC・MS法による
水道水中の揮発性有機化合物の定量について
健名智子, 松永明信, 高柳信孝
平成5年度地研東海北陸支部衛生化学部会, 平. 5. 9. 16~17, 鳥羽市

- 12) 富山県におけるツツガムシの分布とつつがむし病
渡辺 護, 石倉康宏, 森田修行
ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー第1回集会, 平. 5. 9. 16~18, 阿南市

- 13) PCRによる紅斑熱リケッチアDNAの検出法 —— ダニからの検出の試み ——
石倉康宏, 渡辺 護, 品川保弘, 松浦久美子, 森田修行
ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー第1回集会, 平. 5. 9. 16~18, 阿南市

- 14) 健康成人における血清セレン濃度の変動要因について
新村哲夫
平成5年度地研東海北陸支部環境保健部会, 平. 5. 9. 21~22, 輪島市

- 15) 骨代謝指標としての血清中酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ
堀井裕子
平成5年度地研東海北陸支部環境保健部会, 平5. 9. 21~22, 輪島市

- 16) オンライン固相抽出HPLCによる飲料水中のゴルフ場使用農薬4種類(メコプロップ, オキシ
ン銅, シマジン, チウラム)の一斉分析
大戸幹也, 山本 敦, 松永明信, 水上英一
日本薬学会衛生化学調査委員会北陸部会第7回学術講演会, 平5. 9. 24, 新潟市

- 17) フォトダイオードアレイ検出HPLCを用いた新しい多重ピーク解析法
山本 敦, 大戸幹也, 松永明信, 水上英一, 早川和一*, 宮崎元一*
日本分析化学会第42年会, 平. 5. 10. 5~7, 東広島市

- 18) 多価塩基を対イオンに用いた陰イオンクロマトグラフィー (第4報)
西村雅之*, 林 守正*, 山本 敦, 早川和一*, 宮崎元一*
日本分析化学会第42年会, 平. 5. 10. 5~7, 東広島市

平成6年10月1日

19) ラジコンヘリによる農薬散布者の健康調査

大浦栄次*, 中崎美峰子, 寺西正昭*

第42回日本農村医学会総会, 平. 5. 10. 7~8, 横浜市

20) 急性胃腸炎患児におけるA群ヒトロタウイルスの血清型分布

森田修行

第36回日本感染症学会中日本地方会総会, 平. 5. 10. 15~16, 大阪市

21) 中高年女性における血清酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ活性と骨塩量

西野治身, 堀井裕子, 伊木雅之*, 日下幸則*, 梶田悦子*

第52回日本公衆衛生学会総会, 平. 5. 10. 20~22, 北九州市

22) 腰椎骨塩量のいわゆるFast losersの特徴

伊木雅之*, 梶田悦子*, 西野治身, 土肥祥子*, 飛田芳江*, 出口洋二*, 日下幸則*

第52回日本公衆衛生学会総会, 平. 5. 10. 20~22, 北九州市

23) 高齢妊娠を主訴とする羊水の染色体検査の状況について

本田幸子, 林 美貴子, 児玉博英, 成瀬優知*, 鏡森定信*

第52回日本公衆衛生学会総会, 平. 5. 10. 20~22, 北九州市

24) 反復流産経験者の染色体異常保有率についての一考察

林 美貴子, 本田幸子, 児玉博英, 成瀬優知*, 鏡森定信*

第52回日本公衆衛生学会総会, 平. 5. 10. 20~22, 北九州市

25) クサギカメムシとスコットカメムシの多飛来地点の地形的特徴

渡辺 護, 荒川 良*, 稲岡 徹*

第45回日本衛生動物学会東日本支部大会, 平. 5. 10. 21, 東京都

26) スコットカメムシの卵巣発育について

渡辺 護, 稲岡 徹*, 荒川 良*

日本衛生動物学会第48回西日本, 第43回南日本合同大会, 平. 5. 10. 23~24, 長崎市

27) シングルカラム I Cにおけるシステムピークの保持挙動 (2)

山本 敦, 松永明信, 水上英一, 早川和一*, 宮崎元一*

第10回イオンクロマトグラフィーフォーラム, 平. 5. 10. 28~29, 京都市

28) スポーツ施設周辺溜池の生物相調査

井山洋子

第30回日本水処理生物学会, 平. 5. 10. 28~30, 高岡市

29) 印刷工場における飛翔性昆虫の侵入実態

渡辺 護, 荒川 良*, 小浜卓司*, 小菅喜昭*

第9回日本ペストロロジー学会大会, 平. 5. 11. 4~5, 札幌市

30) 市販エアゾル剤を用いた窓枠重点処理によるカメムシの侵入阻止実地試験

渡辺 護, 荒川 良*, 品川保弘, 小浜卓司*, 小菅喜昭*

第9回日本ペストロロジー学会大会, 平. 5. 11. 4~5, 札幌市

31) 加齢による骨変化と血清酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ活性について

堀井裕子, 西野治身, 伊木雅之*, 日下幸則*, 梶田悦子*

第21回北陸公衆衛生学会, 平. 5. 11. 5, 福井市

32) パルスフィールド電気泳動によるコレラの疫学的追究

刑部陽宅, 細呂木志保, 児玉博英, 島田俊雄*

第2回日本細菌学会中部関西合同支部総会, 平. 5. 11. 16~17, 奈良市

33) 中高年女性における骨塩量の変化に影響する要因

伊木雅之*, 梶田悦子*, 三田村純枝*, 西野治身, 土肥祥子*, 飛田芳江*, 出口洋二*, 日下幸則*

第2回日本骨粗鬆症研究会, 平. 5. 11. 19~20, 東京都

34) マイクロプレートを用いた比色定量法 (ENZAPLATE) による先天性代謝異常症のマスクリーニングの検討

高橋雅子, 柏樹久雄

北陸先天異常研究会第14回学術集会, 平. 6. 1. 22, 石川県内灘町

35) 当所における染色体検査の現況—特に, 流産胎児の分析結果について—

本田幸子, 林 美貴子, 柏樹久雄, 児玉博英

北陸先天異常研究会第14回学術集会, 平. 6. 1. 22, 石川県内灘町

36) 健常者における血清尿酸値と生活習慣との関連について

堀井裕子, 田中朋子, 中崎美峰子, 西野治身, 林 徹雄

第4回北陸尿酸談話会, 平. 2. 5. 金沢市

37) パージ・トラップGC-MS法による水道水中の揮発性有機化合物の定量

健名智子, 松永明信, 高柳信孝

第28回富山県公衆衛生学会, 平. 6. 2. 16, 富山市

平成6年10月1日

38) 小児下痢症の起因ウイルスの動態について

長谷川澄代, 森田修行, 舘 一矩, 金兼弘和

第28回富山県公衆衛生学会, 平. 6. 2. 16, 富山市

39) マイクロプレートを用いた酵素法による先天性代謝異常症のマススクリーニングの検討

高橋雅子

平成5年度富山県先天異常研究会, 平. 6. 3. 3, 富山市

40) 富山県における1993年の腸管系病原細菌検出情報と食中毒発生状況

細呂木志保

平成5年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 6. 3. 3~4, 富山市

41) 毒素原性大腸菌による食中毒事例

磯部順子

平成5年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 6. 3. 3~4, 富山市

42) パルスフィールド電気泳動によるコレラ菌0139の型別

刑部陽宅

平成5年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 6. 3. 3~4, 富山市

43) パルスフィールド電気泳動によるB群溶血レンサ球菌の型別

田中大祐

平成5年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 6. 3. 3~4, 富山市

44) 劇症溶連菌感染症

児玉博英

平成5年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 6. 3. 3~4, 富山市

45) 感染症サーベイランス・ウイルス検査状況

森田修行, 中山 喬

平成5年度東海北陸支部ウイルス部会, 平. 6. 3. 10~11, 名古屋市

46) 県内1地区におけるC型肝炎ウイルス抗体調査

中山 喬

平成5年度地研東海北陸支部ウイルス部会, 平. 6. 3. 10~11, 名古屋市

47) 小児下痢症の起因ウイルスの動態について

長谷川澄代

平成5年度東海北陸支部ウイルス部会, 平. 6. 3. 10~11, 名古屋市

48) 偏光吸光度検出法—スプリット型セルの試作と評価

山本 敦, 松永明信, 水上英一, 早川和一*, 宮崎元一*, 西村雅之*, 北岡光夫*
藤田登美雄*

日本薬学会第114年会, 平. 6. 3. 29~31, 東京都

49) 偏光吸光度検出法—HPLC用フローセルの試作と評価

綿谷敏彦*, 早川和一*, 宮崎元一*, 山本 敦, 松永明信, 水上英一, 西村雅之*
北岡光夫*, 藤田登美雄*

日本薬学会第114年会, 平. 6. 3. 29~31, 東京都



編 集 委 員

委 員 長	森 田 修 行
委 員	刑 部 陽 宅
	石 倉 康 宏
	西 野 治 身
	松 永 明 信
	渡 辺 護
	牛 谷 博 信

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成4年度(1992)

1993年9月1日 発行

発 行 富 山 県 衛 生 研 究 所

〒939-03

富山県射水郡小杉町中太閤山 17-1

電 話 (0766) 56-5506

F A X (0766) 56-7326

印 刷 あ け ぼ の 企 画 ㈱

富山市住吉町1丁目5-18

電 話 (0764) 24-1755 代

F A X (0764) 23-8899