

ISSN 0917-0707

富山県衛生研究所年報

(平成20年度)

第32号

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH

(APRIL 2008~MARCH 2009)

NO. 32

2009



富山県衛生研究所

富山県衛生研究所年報

(平成20年度)

第32号

富山県衛生研究所

は　じ　め　に

2008年から2009年にかけて、H5N1（高病原性鳥インフルエンザ）がパンデミックをおこすとして騒いでいたのは日本だけである。EUの主たる国々も米も、“H5N1の病態は、パンデミックを起こすかどうか不明。パンデミックとして何が出現してきても不思議はない”と、360度のとらえ方をしてきていた。この疾患が登場して早12年（1997年～）が過ぎており、病理学的には肺胞に主病変があり、上気道を場として感染拡大するインフルエンザとは大きく異なる。今春突然、メキシコ、米を中心として4月末から5月にかけて感染拡大し、パンデミックをおこしたブタ由来インフルエンザ（H1N1）は、またたく間に世界を制覇してしまった。言うまでもなく、このウイルスの登場と感染拡大を予測した人は、インフルエンザウイルスの変異、遺伝学を仕事としている方々を含めて誰も存在しない。

近い過去に発生したSARS（2003年）、高病原性鳥インフルエンザ（H5N1）（1997年）、この15年間にアフリカ地域で頻発してきているウイルス性出血熱、ニッパウイルス感染症（1998年）等々、事前に予測された疾患はひとつもない。そういう意味では、日本における地震の予知と同じで全くあたらないし、次はココかな？という場所に発生したことは、筆者がものごころついてからは一度もない。10秒前にわかっても遅すぎる。

では、これらの疾患への備えはどうしたらよいのであろうか？ 地震と異なり、感染症ではまだ時間の余裕がある。ウイルス、細菌、寄生虫・原虫、真菌等、重要な疾患については診断系を確立して、日本全国どこでも実施できるようにしておく、それに必要な施設を確立しておくこと、何よりもそれを実施できる有能な人材を育て（研究を含めて）配置しておき、日常のたゆまざる研究を重ね、より高度な技術開発を行うべきである。さらに、過去に世界でみられた重要疾患（生命にかかわる）について、臨床領域で対応しうる感染症専門家を養成していかなければならない。また、感染症の修羅場に若い研究者を放り込み、真のサーベイランス（机上の数字遊びではなく）のやり方をたたき込み、真の対応しうる専門家を育てなければならない。さらに、対応に必要なワクチン、治療薬剤の開発はより重要である。これらの総合が、いわゆる備えである。その充実が、何がとび出してもバタバタしない対応力である。これが国民の生命を守る安全保障である。この辺の基本的考え方が、わが国の政治、メディア、有識者等には最も欠けているようである。発生した後に“何しているんだ”と行政を責めても遅いのである。

平成21年12月

富山県衛生研究所長

倉 田 毅

目 次

1. 運 営

(1) 沿 革	1
(2) 施 設 の 概 要	2
(3) 組 織 及 び 業 務	2
(4) 職 員 数	3
(5) 職 員 一 覧	3
(6) 予 算 及 び 決 算	4
(7) 重 要 備 品 一 覧	5
(8) 各 部 の 業 務 概 要	6
(9) 検 査 状 況	16
(10) 科 学 研 究 費 補 助 金	19
(11) 講 師 派 遣	21
(12) 研 修 指 導	22
(13) 研 修 受 講	22
(14) 客 員 研 究 員 招 へ い	23
(15) 各 種 規 程 等	24

2. 調査研究報告

富山県における新生児マス・スクリーニングの成果について（平成20年度の検査成績）	25
九曜雅子 米田 豊 前多隆志 吉田智子	
ボイトラー試験陽性例における異常酵素の確認法	37
米田 豊 九曜雅子	
ヒト染色体に関する調査研究 ―血液― （平成20年度）	42
林 美貴子 品川保弘 本田幸子 前多隆志	
ヒト染色体に関する調査研究 ―羊水― （平成20年度）	48
本田幸子 品川保弘 林 美貴子 前多隆志	
ヒト染色体に関する調査研究 ―流産胎児― （平成20年度）	53
林 美貴子 品川保弘 本田幸子 前多隆志	
日本脳炎流行予測調査（感染源調査）2008年	55
山内健生 小原真弓 長谷川澄代 渡辺 護 林 達哉	
日本脳炎流行予測調査（感受性調査）2008年	65
小原真弓 長谷川澄代 堀元栄詞 岩井雅恵 中村一哉 滝澤剛則 倉田 毅 高田厚史 南部厚子 原田慎太郎 清原美千代 嶋尻悟志	
ポリオ流行予測調査（平成20年度）	68

岩井雅恵 堀元栄詞 小原真弓 中村一哉 長谷川澄代 滝澤剛則 倉田 毅 原田慎太郎 高田厚史 南部厚子 清原美千代 嶋尻悟志	
インフルエンザ流行予測調査	74
堀元栄詞 長谷川澄代 中村一哉 小原真弓 岩井雅恵 滝澤剛則 倉田 毅 高田厚史 南部厚子 原田慎太郎 清原美千代 嶋尻悟志	
富山県の肥育豚におけるカリシウイルス、E型肝炎ウイルスの浸潤状況	83
中村一哉 堀元栄詞 岩井雅恵 小原真弓 長谷川澄代 倉田 毅 滝澤剛則	
ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について	90
長谷川澄代 小原真弓 中村一哉 岩井雅恵 堀元栄詞 倉田 毅 滝澤剛則	
富山県で分離された腸管出血性大腸菌のパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）パターンのデータベース 化と解析	97
木全恵子 嶋 智子 清水美和子 金谷潤一 磯部順子 倉田 毅 綿引正則	
富山県における公衆浴場浴槽水中のレジオネラ属菌汚染状況（2006-2008年）	105
金谷潤一 磯部順子 木全恵子 嶋 智子 清水美和子 倉田 毅 綿引正則	
大量注入方式ガスクロマトグラフ／質量分析計を用いた魚介類中の有機スズ化合物（MBT, DMT, MPT, DPT） の残留実態調査（平成20年度）	110
山下智富 小玉修嗣 大戸幹也 中山恵理子 高柳信孝	
中高齢者の継続的な運動実施が血液性状および骨量、骨代謝指標に及ぼす影響	116
堀井裕子 中崎美峰子 田中朋子 金木 潤 明神三枝子	
健康教室に参加した若年肥満者の運動による生活習慣病予防効果について	121
田中朋子 堀井裕子 金木 潤 板鼻広美 塚本浩次 河村幹治 高島寧子 櫻田惣太郎	
中国・内モンゴル自治区の成長期および閉経期の女性におけるフッ素曝露の骨量および骨代謝に 及ぼす影響	126
新村哲夫 堀井裕子 中崎美峰子 長瀬博文 桑守豊美 森田明美 王紅兵 胡莉珍 孫迎春 賈 光 海 栄 蘇秀蘭 常 虹 畢力夫 鏡森定信	

3. 資 料

富山県における平成20年度のウイルスおよびリケッチア検出状況	133
岩井雅恵 堀元栄詞 小原真弓 中村一哉 長谷川澄代 倉田 毅 滝澤剛則	
富山県における下水流入水中の腸管系ウイルス検出状況（平成20年度）	135
岩井雅恵 中村一哉 小原真弓 長谷川澄代 堀元栄詞 倉田 毅 滝澤剛則	
富山県における腸管出血性大腸菌感染症発生状況（2008）	138
木全恵子 嶋 智子 清水美和子 金谷潤一 磯部順子 倉田 毅 綿引正則	
平成20年度富山県食品衛生検査の精度管理調査－微生物学的検査－	145
磯部順子 清水美和子 金谷潤一 嶋 智子 木全恵子 綿引正則 前多隆志	
漁港における腸炎ビブリオ調査（2008年）	148
嶋 智子 磯部順子 木全恵子 清水美和子 金谷潤一 倉田 毅 綿引正則 堂高一彦	
富山県内で分離された溶血性レンサ球菌の血清型（2008年）	152

嶋 智子 清水美和子 金谷潤一 木全恵子 磯部順子 綿引正則 林 喜代志 加藤陽子 中村政雄
奥野ルミ

オンライン銅錯体形成を用いたジュース混入グリホサートの迅速キャピラリー電気泳動分析156

小玉修嗣 大戸幹也 健名智子 中山恵理子 山下智富 村元達也

富山県内で流通している中国産輸入加工食品中の残留農薬検査158

大戸幹也 山下智富 村元達也 小玉修嗣 健名智子 高柳信孝

平成20年度水道水質検査の精度管理事業について161

健名智子 村元達也 高柳信孝

イオンクロマトグラフィーによる塩素酸及び陰イオンの一斉分析法の検討166

村元達也 健名智子 小玉修嗣 高柳信孝

4. 業 績

(1) 誌 上 発 表169

(2) 特 別 講 演 等183

(3) 学 会 発 表 等184

(4) 受賞, 学位授与, 資格取得等191

Reports

Results of the Neonatal Mass Screening in Toyama Prefecture (April 2008~March 2009)	25
Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Takashi MAEDA and Tomoko YOSHIDA	
Qualitative Method of Abnormal Enzyme for the Positive Case of Beutler Test	37
Yutaka YONEDA and Masako KUYO	
Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells	42
Mikiko HAYASHI, Yasuhiro SHINAGAWA, Sachiko HONDA and Takashi MAEDA	
Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells	48
Sachiko HONDA, Yasuhiro SHINAGAWA, Mikiko HAYASHI and Takashi MAEDA	
Chromosome Analysis of Abortus Cells	53
Mikiko HAYASHI, Yasuhiro SHINAGAWA, Sachiko HONDA and Takashi MAEDA	
Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 2008	55
Takeo YAMAUCHI, Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Mamoru WATANABE and Tetsuya HAYASHI	
Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese Encephalitis virus in Toyama Prefecture in 2008	65
Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI, Kazuya NAKAMURA, Takenori TAKIZAWA, Takeshi KURATA, Atsushi TAKATA, Atsuko NANBU, Shintaro HARADA, Michiyo KIYOHARA, Satoshi SHIMAJIRI	
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2008	68
Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Kazuya NAKAMURA, Sumiyo HASEGAWA, Takenori TAKIZAWA, Takeshi KURATA, Shintaro HARADA, Atsushi TAKATA, Atsuko NANBU, Michiyo KIYOHARA, and Satoshi SHIMAJIRI	
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2008-2009	74
Eiji HORIMOTO, Sumiyo HASEGAWA, Kazuya NAKAMURA, Mayumi OBARA, Masae IWAI, Takenori TAKIZAWA, Takeshi KURATA, Atsushi TAKATA, Atsuko NANBU, Shintaro HARADA, Michiyo KIYOHARA and Satoshi SHIMAJIRI	
Prevalence of Swine Caliciviruses and Hepatitis E virus in Toyama	83
Kazuya NAKAMURA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI, Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Takeshi KURATA and Takenori TAKIZAWA	
Outbreaks of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2008	90
Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Kazuya NAKAMURA, Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Takeshi KURATA and Takenori TAKIZAWA	
Database Construction of Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) of Enterohemorrhagic <i>Escherichia</i> <i>coli</i> Isolated in Toyama Prefecture and Its Outcomes	97
Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Miwako SHIMIZU, Junichi KANATANI, Junko ISOBE, Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI	
Surveillance of <i>Legionella</i> Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2006-2008	105

Junichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Miwako SHIMIZU, Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI	
Analysis of Organotin Compounds in Fishes Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Large Volume Injection (2008)	110
Tomohisa YAMASHITA, Shuji KODAMA, Mikiya OHTO, Eriko NAKAYAMA, Nobutaka TAKAYANAGI	
Effect of Continual Exercises on Blood Characteristics, Bone Metabolic Indices and the Quantitative Ultrasound Parameters at Calcaneus in Middle-aged and Elderly Subjects	116
Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Jun KANAKI and Mieko MYOJIN	
Efficacy of Exercise Program for Prevention of Lifestyle Related Diseases in Obese Young Adults	121
Tomoko TANAKA, Yuko HORII, Jun KANAKI, Hiromi ITAHANA, Koji TUKAMOTO, Kanji KAWAMURA, Yasuko TAKASHIMA and Sotaro SAKURADA	
Influence of Fluoride Exposure on Bone Mass and Bone Metabolism in Growing and Menopausal Women of Inner Mongolia, China	126
Tetsuo SHIMMURA, Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Hirofumi NAGASE, Toyomi KUWAMORI, Akemi MORITA, Hongbing WANG, Lizhen HU, Yingchun SUN, Guang JIA, Rong HAI, Xiulan SU, Hong CHANG, Lifu BI and Sadanobu KAGAMIMORI	

Notes

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2008	133
Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Kazuya NAKAMURA, Sumiyo HASEGAWA, Takeshi KURATA and Takenori TAKIZAWA	
Enteric Viruses in Raw Sewage in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2008	135
Masae IWAI, Kazuya NAKAMURA, Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Eiji HORIMOTO, Takeshi KURATA and Takenori TAKIZAWA	
The Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> Infections Detected in Toyama Prefecture, 2008	138
Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Miwako SHIMIZU, Junichi KANATANI, Junko ISOBE, Takeshi KURATA, and Masanori WATAHIKI	
Quality Control of the Bacterial Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture (2008)	145
Junko ISOBE, Miwako SHIMIZU, Junichi KANATANI, Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA, Masanori WATAHIKI and Takashi MAEDA	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> Surveillance at Fishing Ports in Toyama Prefecture, 2008	148
Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU, Junichi KANATANI, Takeshi KURATA, Masanori WATAHIKI and Kazuhiko DOTAKA	
Stereotypes of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2008	152

Tomoko SHIMA, Miwako SHIMIZU, Junichi KANATANI, Keiko KIMATA, Junko ISOBE, Kiyoshi HAYASHI, Yuko KATO, Masao NAKAMUARA and Rumi OKUNO	
A Fast and Simple Analysis of Glyphosate in Fruit Juices by Capillary Electrophoresis with On-Line Copper (II)-Glyphosate Complex Formation	156
Shuji KODAMA, Mikiya OHTO, Tomoko KEMMEI, Eriko NAKAYAMA, Tomohisa YAMASHITA, Tatsuya MURAMOTO	
Survey of Pesticide Residues in Imported Processed Food made in China	158
Mikiya OHTO, Tomohisa YAMASHITA, Tatsuya MURAMOTO, Shuji KODAMA, Tomoko KEMMEI and Nobutaka TAKAYANAGI	
The External Quality Control of the Quantification of Hardness and Chlorate Ion in Water	161
Tomoko KEMMEI, Tatsuya MURAMOTO and Nobutaka TAKAYANAGI	
A Study of Simultaneous Determination of Anion and Chlorate Ion Using Ion Chromatography	166
Tatsuya MURAMOTO, Tomoko KEMMEI, Shuji KODAMA and Nobutaka TAKAYANAGI	

1. 運 営

1 運 営

(1) 沿 革

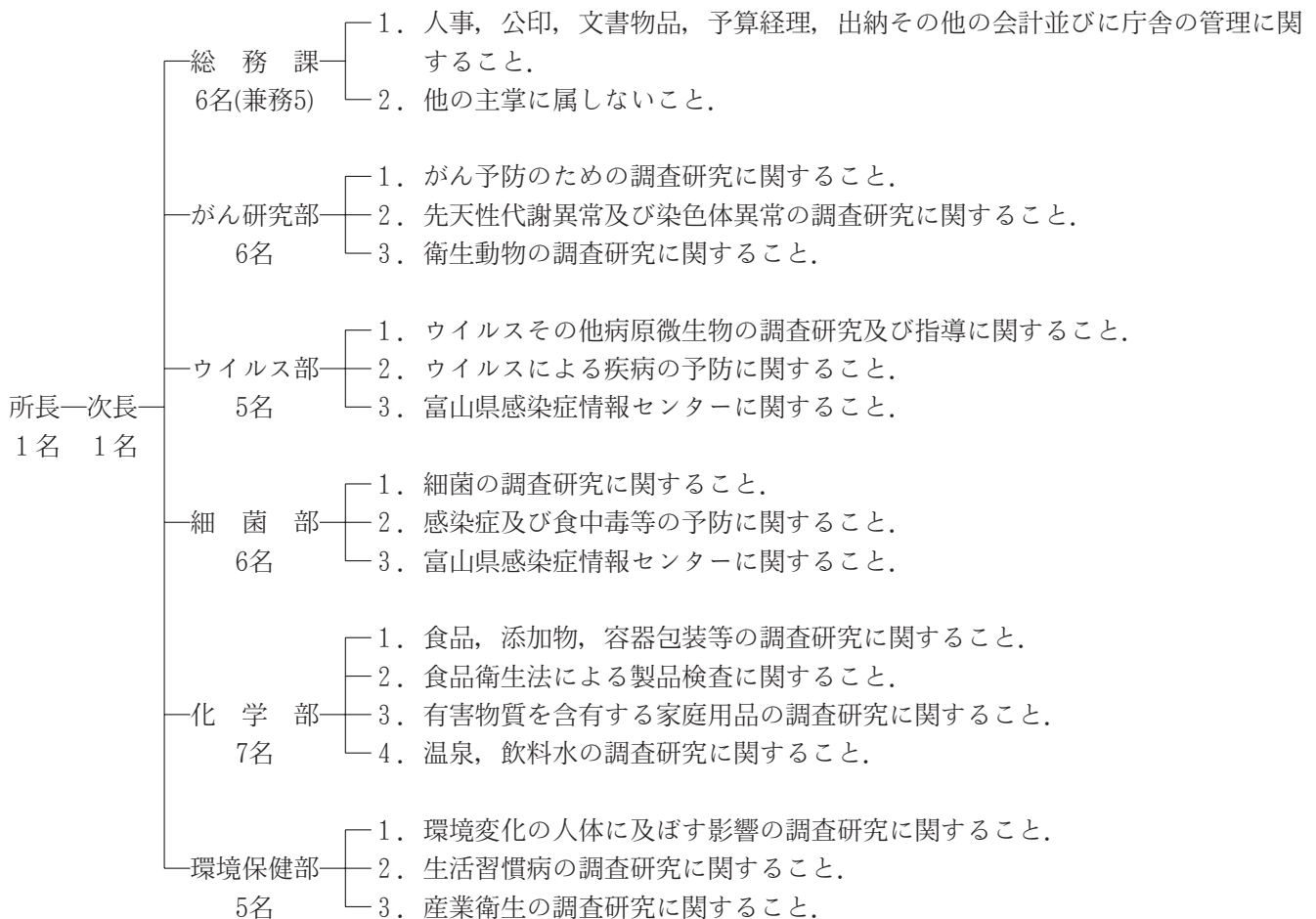
昭和35年 4月 1日	職員9名の構成で発足.
昭和36年 4月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 課・係制が設けられ職員17名に拡充強化(庶務係, 細菌課, ウイルス血清課, 食品衛生課, 生活環境課).
昭和37年11月30日	旧研究所の増築.
昭和38年 4月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 所長代理制が設けられ, また, 課名の一部(庶務係を庶務課に, ウイルス血清課をウイルス病理課)を変更.
昭和39年10月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 公害調査課を新設.
昭和44年 4月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 従来の課制を廃止し, 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.
平成12年 7月 1日	衛生研究所内に富山県感染症情報センターを設置.
平成14年 9月 4日	文部科学省から科学研究費補助金取扱規定第2条第4号の研究機関に指定.
平成15年 5月28日	富山県衛生研究所倫理審査委員会, 富山県衛生研究所研究評価委員会を設置.

(2) 施 設 の 概 要

建 物	構 造	延 面 積(m ²)
研 究 棟	鉄筋コンクリート造3階（1部4階）建	3,044.59
動 物 飼 育 棟	〃 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) 組 織 及 び 業 務

（平成21年5月1日）



(4) 職 員 数

(平成21年 5 月 1 日現在)

区分	所・次長 部・課長	主 幹 研究員	副主幹	副主幹 研究員	主任	主 任 研究員	再任用 主 任	主事	研究員	業務技師	計
所 長	1										1
次 長	1										1
総 務 課	1 (注1)		2 (注1)		1 (注1)			1		1 (注2)	6 (兼5)
がん研究部	次 長 事務取扱			3			2		1		6
ウイルス部	1					2			2		5
細 菌 部	所 長 事務取扱	1		1		3			1		6
化 学 部	1	1		2		2			1		7
環境保健部	1			2		1			1		5
合 計	6	2	2	8	1	8	2	1	6	1	37 (兼5)

* 総務課の(注1)は環境科学センター・薬事研究所を兼務。

(注2)は環境科学センターを兼務

(5) 職 員 一 覧

(平成21年5月 1 日現在)

職 名		氏 名		職 名		氏 名	
所 長		倉 田 毅		細菌部	部 長	所長事務取扱	
次 長		前 多 隆 志			主 幹 研 究 員	綿 引 正 則	
総務課	総 務 課 長（兼）	尾 崎 孝 嗣			副 主 幹 研 究 員	磯 部 順 子	
	副 主 幹（兼）	後 藤 郁 子			主 任 研 究 員	木 全 恵 子	
	副 主 幹（兼）	春 山 和 則			〃	嶋 智 子	
	主 任（兼）	真 木 雅 子			〃	清 水 美 和 子	
	主 事	関 井 久 代			研 究 員	金 谷 潤 一	
業 務 技 師（兼）		前 川 諭		化学部	部 長	齊 藤 尚 仁	
がん研究部	部 長	次長事務取扱			主 幹 研 究 員	小 玉 修 嗣	
	副 主 幹 研 究 員	米 田 豊			副 主 幹 研 究 員	健 名 智 子	
	〃	品 川 保 弘			〃	大 戸 幹 也	
	〃	九 曜 雅 子			主 任 研 究 員	中 山 恵 理 子	
	再 任 用 主 任	本 田 幸 子			〃	山 下 智 富	
	〃	林 美 貴 子			研 究 員	村 元 達 也	
	研 究 員	山 内 健 生		環境保健部	部 長	金 木 潤	
ウイルス部	部 長	滝 澤 剛 則			副 主 幹 研 究 員	新 村 哲 夫	
	主 任 研 究 員	堀 元 栄 詞			〃	田 中 朋 子	
	〃	岩 井 雅 恵			主 任 研 究 員	中 崎 美 峰 子	
	研 究 員	小 原 真 弓			研 究 員	高 橋 直 人	
	〃	中 村 一 哉					

注 総務課は環境科学センターおよび薬事研究所を兼務

(6) 予 算 及 び 決 算

平成21年度予算概要（当初）

事業名	予算額 (千円)	財 源 内 訳				備 考
		使用料 手数料 (千円)	国支出金 (千円)	受託事業 (千円)	一般財源 (千円)	
衛生研究所費	68,823	2,720			66,103	所の運営、維持管理、試験検査等
試験研究費	9,450				9,450	調査研究
設備充実費	2,916				2,916	試験研究及び検査用機械器具
感染症対策特別研究費	1,609				1,609	
がん等特別研究費	7,100		322		6,778	調査研究
合 計	89,898	2,720	322	0	86,856	

平成20年度 歳入・歳出決算 (歳 入)

科 目	決 算 額 (円)	
衛生手数料	10,186,372	衛生研究所費 4,349,022 環境衛生検査 5,837,350
財産運用収入	21,216	特許権等運用収入
雑 入	5,468	
合 計	10,213,056	

(歳 出)

科 目	結核対策費	
人事管理費	743,447	嘱託職員の雇用
財産管理費	6,000	特許管理料
児童福祉対策費	10,970,000	先天異常児の早期発見
公衆衛生総務費	1,806,515	再任用職員の保険料
結核対策費	179,022	研修費用
予防費	10,826,435	感染症関連調査
環境保健対策費	8,675,211	カドミウム環境汚染地域住民関連調査
衛生研究所費	92,337,569	試験検査・研究及びそれに伴う維持管理
医務総務費	2,000	研修受講料
環境衛生総務費	7,087,118	温泉・飲料水等検査
食品衛生指導費	8,270,830	食品安全対策検査
公害防止対策費	316,346	海水浴場細菌検査
工鉱業総務費	1,589,720	海洋深層水研究・知的クラスター・科学技術振興
合 計	142,810,213	

(7) 重 要 備 品 一 覧

品 名	型 式	購入年月
分光光度計	UV-2200	H 2. 9
分光蛍光光度計	日本分光 FP-777	H 3.11
ガスクロマトグラフ	GC-14APSC タンデム GC システム	H 2. 3
ガスクロマトグラフ	島津製作所 GC-14B	H 4.11
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津製作所 QP-1100WA	H 5.11
ガスクロマトグラフシステム	島津製作所	H 9. 3
ガスクロマトグラフ	ヒューレットパッカード HP6890	H10. 8
ガスクロマトグラフ	Agilent 6890N	H15. 6
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津製作所 QP-2010	H17.10
大量注入方式ガスクロマトグラフ質量分析計	Agilent Technologie 5975	H19.11
高速液体クロマトグラフ	日立製作所 L-6300	H 5.12
高速液体クロマトグラフ	ウォーターズ	H 7.10
高速液体クロマトグラフ	ヒューレットパッカード Agilent 1100	H12. 6
高速液体クロマトグラフタンデム四重極質量分析装置	waters Quattro micro API システム	H15.12
高速液体クロマトグラフ用分光蛍光検出器	島津製作所 FR-550	H 4. 3
イオンクロマトグラフ	日本ダイオネックス DX-500	H 9.11
全自動ニンヒドリン法アミノ酸分析システム	日本分光	H 9. 3
キャピラリー電気泳動システム	ヒューレットパッカード	H 7. 9
全自動ゲル浸透クロマトグラフ	O.I.ANALYTICAL AP-512	H11. 3
全有機炭素計（TOC計）	島津製作所 TOC-V CSH	H18. 1
マイクロウェーブ分解装置	アステック MARS 5	H11.12
原子吸光光度計	島津製作所 AA-6700	H 8.11
マイクロプレートリーダー	コロナ	H 9. 2
マイクロプレートリーダー	BIO-RAD Benchmark	H12. 9
分離用超遠心機	日立製作所 CP 101 MX	H12.11
透過型電子顕微鏡	日立製作所 H-7600	H13. 3
万能顕微鏡	オリンパス VANOXAHBT3-512	H 4. 9
落射蛍光顕微鏡	ニコン	H 9. 8
リアルタイムPCRシステム	アプライドバイオシステム	H20.12
蛍光式DNAシーケンサー	パーキンエルマー 310-1-TI	H 9.12
EUSA 測定システム	BIO-RAD 社	H10. 2
定量PCR（遺伝子増幅機器）	ABI PRISM 7000 Sequence	H15.10
キャピラリー型遺伝子解析システムデータ処理装置	ABI PRISM 3130XL	H19. 9
超音波骨密度測定装置	C E横河メディカルシステム A-1000	H18. 7

（平成21年3月31日現在）

(8) 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

平成20年度の検体総数は9,926件で、県内40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93.6%（里帰り分娩を含めると108.5%）であり、前年同様高い割合であった。検査項目は、フェニルケトン尿症、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および先天性副腎過形成症の6疾患である。検査の結果、要精密検査として38人（フェニルケトン尿症疑い3人、ホモシスチン尿症疑い1人、ガラクトース血症疑い4人、先天性甲状腺機能低下症疑い16人、先天性副腎過形成症疑い14人）がスクリーニングされ、先天性甲状腺機能低下症の患者8人が発見された。

染色体検査

平成20年度の検体数は、羊水79件、血液50件、自然流産胎児20件と皮膚組織1件の計150件で、うち、染色体異常を示したものは、羊水12件（21トリソミー症候群5件、18トリソミー症候群2件、モザイク型18トリソミー症候群1件、ターナー症候群2件、13トリソミー症候群1件と均衡転座保因者1件）、血液5件（均衡転座保因者3件、21トリソミー症候群1件とウイリアムズ症候群1件）、流産胎児11件（16トリソミー4件、18トリソミー症候群2件、転座由来13トリソミー症候群1件、15トリソミー1件、21トリソミー症候群1件、22トリソミー1件とターナー症候群1件）の計28件であった。染色体検査の依頼理由（主訴）は、羊水では高齢妊娠および胎児異常の疑い、血液・流産胎児では流産を繰り返すが最も多かった。

衛生動物検査

厚生センターなどから依頼のあった衛生害虫（食品混入昆虫を含む）の同定検査を59件実施した。同定対象にはダニ類、クモ類、昆虫類、爬虫類など多様なグループが含まれていた。

行政検査として、日本脳炎流行予測事業における媒介蚊の発生調査は平成18年度と同様に7ヶ所の畜舎において6月から10月まで実施し、コガタアカイエカ雌成虫650,000個体以上を採集した。平成20年度のコガタアカイエカの捕集数は昨年度と同様で非常に多かった。

動物由来感染症予防体制整備事業として、マダニ類の季節消長を調査するため、都市周辺の山野においてフロンネル法を用いて毎月一回マダニ類の調査を実施し、2属7種1,128個体を採集した。その結果、春季にはマダニ人体刺咬症の原因となることの多いヤマトマダニが高密度で分布することが明らかとなった。

〔調査研究〕

がん発生要因に関する研究

富山県の地域がん登録システムで集積され、厚生部より毎年公表されているデータを用い、消化器系がん、特に胃がんと大腸がんの県内4医療圏別の罹患率や死亡率の差異を検討している。これと並行して、当所で実施したがん疫学調査のデータを医療圏単位で再解析中である。

先天性代謝異常症等のマス・スクリーニング検査法に関する研究

ガラクトース血症Ⅰ型の原因酵素であるガラクトース-1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ（GALT）活性を調べるボイトラー試験では、GALT以外のガラクトース代謝に関連する3種の酵素の活性低下でも、陽性になる場合がある。従って、ボイトラー試験が陽性の場合、確認試験が必要である。今回、初回採血時はボイトラー試験陽性で、再採血時は陰性の検体に遭遇したことから、ボイトラー試験法を改良し、GALT活性の確認を行う方法を試みた。本法は、簡易なGALT活性の確認試験であると共に、グルコース-6-リン酸脱水素酵素（G6PD）スポット試験としても利用可能である。

フェニルケトン尿症（PKU）と同様に血液中のフェニルアラニンが上昇する疾患として、テトラヒドロbioプテリン（BH4）欠乏症があるが、フェニルケトン尿症とは治療法が異なり、早期に鑑別する必要がある。BH4欠乏症は主にジヒドロプテリジンリダクターゼ（DHPR）が欠損していることから、引き続き、新生児マス・スクリーニング用の血液濾紙を利用したPKUとの簡易鑑別法としてのDHPR活性の短時間測定法の検討を行っ

た。

染色体に関する研究

単染色によるバンド検出を基本とする通常の染色体分析法では、微細欠失、転座、合併異常、モザイク等の複雑な染色体異常について正確な判定を下せないことがあり、fluorescence in situ hybridization (FISH) 法を併用して判定する例が増加している。実際に微細な欠失の検出や両親の遺伝相談、複雑な異常核型を示したモザイク症例に FISH 法を応用し、判定可能とした。

突然変異原性に関する研究

小核試験は、染色体切断片の発生を指標とした変異原性試験法である。当所ではこれまでマウス末梢血赤血球を用いた in vivo (生体内) 法を用いてきたが、動物試験代替法として、培養細胞を使用する in vitro (試験管内) 法の導入を図っている。

衛生動物に関する研究

1991-2007年に富山県において実施したフランネルによるマダニ調査の結果を整理し、リケッチア症媒介動物としての危険性を考察した。この期間の調査で採集されたマダニ類は3,519個体で、これらは次の2属9種に分類された：キチマダニ、ヤマトチマダニ、ヒゲナガチマダニ、フタトゲチマダニ、オオトゲチマダニ、ヒトツトゲマダニ、タネガタマダニ、ヤマトマダニ、シュルツェマダニ。ヤマトマダニは標高401 m以上の地域における最優占種で、それより低い標高域においても少なからぬ密度で分布することが示された。キチマダニは標高400 m以下の地域における最優占種であった。ヒゲナガチマダニ、オオトゲチマダニ、およびヒトツトゲマダニは富山県における新記録種であった。ヒトツトゲマダニから *Rickettsia helvetica* の近縁リケッチアが検出され、富山県における紅斑熱患者発生の可能性が示された。この研究は、ウイルス部と共同で行った。

捕食性の水生昆虫を用いて蚊類幼虫の駆除実験を実施した。トンボ目、カメムシ目、コウチュウ目に属する複数種において好成績が得られた。

ウ イ ル ス 部

【行政および依頼検査】

感染症発生動向調査

「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」および「感染症発生動向調査実施要領」に基づき、県内の医療機関や厚生センター・保健所から依頼を受けた検体について、ウイルスおよびリケッチアの検査を行った。インフルエンザおよび呼吸器系疾患については、528症例中464症例からウイルスが検出された（A H1型インフルエンザウイルス203名、AH3型インフルエンザウイルス120名、B型インフルエンザウイルス131名、パラインフルエンザウイルス3型1名）。脳炎・脳症では、6症例中2症例からヒトヘルペスウイルス6型が検出された。無菌性髄膜炎では、7症例中1症例からエコーウイルス4型が検出された。感染性胃腸炎では271症例の依頼があり、このうち136症例においてウイルスが検出された（ノロウイルス Genogroup I; NVGI23名、NVGII95名、NVGI+NVGII1名、アデノ41型ウイルス2名、A 群ロタウイルス10名、A 群ロタウイルス+アデノウイルス1名、アストロウイルス2名）。麻疹疑い例（発疹症）からは、6症例中3症例からウイルスが検出された（エコーウイルス18型2名、コクサッキーウイルス A9型 (CA9) 1名。手足口病では、38症例中34症例から CA16が、1症例から CA16+CB2が、1症例から CA16+ポリオウイルス3型が検出された。デング熱では、1症例からデングウイルス1型が検出された。つつが虫病では、つつが虫病リケッチアが4症例中2症例から検出された。

H I V抗体検査

平成20年4月から平成21年3月までの1年間に272件の血液について HIV 抗体検査を行ったところ、すべて陰性であった。

感染症流行予測調査

日本脳炎：県内の日本脳炎ウイルスの状況を把握するために、感染源調査と感受性調査を実施した。

感染源調査：日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカは、調査を開始した6月第2週から各定点において

捕集され、8月中旬～9月上旬に発生のピークを形成した。一方、豚の抗体保有調査では、7月に3頭が新鮮感染を示し、8月後半から9月には、新鮮感染を示す豚が毎週みられた。10月には新鮮感染率は0～14%となり、流行は終息に向かったと考えられた。蚊と豚から、8月26日～10月8日の間に日本脳炎ウイルスが分離された。すなわち、20年度の日本脳炎ウイルスの浸淫は7月中旬より始まり10月まで続いた。豚の抗体保有状況を「日本脳炎ブタ情報」として富山県感染症情報センターのホームページに毎週掲載した。

感受性調査：日本脳炎流行予測調査（感受性調査）として、県内住民318名の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査した。その結果、抗体陽性者の割合は全体として44.0%であった。10～19歳では90%以上が抗体を保有していたが、0～4歳で2.9%、30～39歳で22.6%、40～49歳で22.6%、50～59歳で15.9%と抗体保有率が特に低い年齢群があった。「予防接種歴なし」の割合は、0～4歳で最も多く68.6%であったが、5歳以上では2007年より大幅に増加し52.9%となった。予防接種歴別の抗体保有率は、「接種歴なし」で20.8%、「接種歴不明」で34.1%であったのに対し、1回以上接種歴のある対象者では77.3%であった。

ポリオ：県内のポリオウイルスの動向を把握するために、感染源調査と感受性調査を実施した。

感染源調査：平成21年1月、平成20年9月に、新川厚生センター管内、砺波厚生センター管内における健康な乳幼児66名の糞便を採取し、ウイルス分離を行った。その結果、パレコウイルス1型とアデノウイルス5型がそれぞれ1名から検出されたが、ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査：平成20年6月～9月に、0歳から76歳までの317名の血清について、ポリオウイルスに対する中和抗体価を測定した。ポリオウイルス各型に対して4倍以上の中和抗体価を保有する割合は、1型では95.9%、2型では98.1%、3型では84.9%であった。また、各型に対する平均抗体価は、1型は109.9倍、2型は96.2倍、3型は27.2倍であり、集団免疫としては良好な抗体保有状況であった。これらの結果から、本県においては、野生型ポリオウイルスの侵淫や、ポリオ流行の可能性は少ないと考えられた。

インフルエンザ：インフルエンザの予防と流行状況の把握のために、ヒト感受性調査（2008年6～9月）と感染源調査（2008年9月～2009年6月）を実施した。

感受性調査：インフルエンザ流行期前における富山県住民318名の抗体保有状況について、6種類のインフルエンザ抗原を用いて調べた。血球凝集抑制（HI）抗体価40倍以上の力価を示す抗体保有率は、2008/09シーズンワクチン株のA/Brisbane/59/2007（H1N1）、A/Uruguay/716/2007（H3N2）、B/Florida/4/2006（山形系統）および参考株として2007/08シーズンワクチン株のB/Malaysia/2506/2004（ビクトリア系統）、A/Solomon Islands/3/2006（H1N1）、A/Hiroshima/52/2005（H3N2）に対して各々36.8%、18.6%、36.2%、24.5%、56.0%、40.6%であった。

感染源調査：インフルエンザウイルスは、AH1型が210株、AH3型が131株、B型が169株、新型インフルエンザウイルス（AH1pdm）が1株の合計511株が検出された。シーズン前半はAH1型とAH3型が主に検出されたが、後半はB型が中心となった。6月下旬にAH1pdmが1株検出された。

〔調査研究〕

ウイルスウォッチプログラム

富山県における環境水のウイルス汚染実態調査は、河川、下水流入水および名水を対象に、1979年から断続的に実施している。これまでの調査で、富山県内の河川は多種類の腸管系ウイルスで汚染されていること、検出されたウイルスはほとんどヒト由来であることなどが判明した。平成18年度からは、地域住民におけるウイルス流行状況を把握するため、下水流入水のウイルス調査を実施している。平成20年度は、県西部と県東部の2箇所の下水処理場に定点を設置し、地区別の腸管系ウイルス感染状況を比較した。

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について

富山県内で2008年4月から2009年3月までの1年間に発生届けのあった、ウイルス性の感染性胃腸炎の集団発生事例についてまとめた。2008年度中に調査したウイルス性胃腸炎の集団発生は19事例であった。これらのうち4事例でノロウイルス（NV）GenogroupI（GI）が、13事例でNVGenogroupII（GII）が、1事例でNVGI及びNVGIIが、1事例でアデノウイルス41型が検出された。NVGIのうち、GI/4型が4事例、GI/8型が1事例、NVGIIのうち、GII/4型が9事例、GII/13型が2事例（GI/4との混合含む）、GII/6型が2事例、GII/2型が1事例であった。

発生施設別にみると、飲食店（旅館含む）が最も多く5事例、幼稚園または保育園が4事例、老人保健施設が3

事例、小学校が2事例であった。高校生の合宿での発生が2事例あったが、この2事例の間には関連があった。他に家族内発生と推測されるものが2事例、病院での発生が1事例であった。19事例中14事例の検出ウイルスの遺伝子配列が各事例内で100%一致し、少なくともこれらの集団発生は、同一のウイルス由来である可能性が高いことがわかった。また、高校生の合宿での2事例は遺伝子配列が一致した。3事例では複数の配列の NVGII が検出され、それぞれの相同性は99.7% (302塩基中1塩基の相違) であった。

動物由来感染症実態調査（動物由来感染症予防体制整備事業）

富山県内のつつが虫病および紅斑熱、腎症候性出血熱等の浸淫状況を調査するため、野生動物およびマダニ類の調査を行った。野生げっ歯類3種14頭から腎症候性出血熱の病原体に対する抗体は検出されなかったが、1頭（7%）がつつが虫病リケッチアに対する抗体を保有していた。イノシシ等から紅斑熱群リケッチア及び日本紅斑熱リケッチアの遺伝子は検出されなかった。都市周辺の山野で採集したマダニ類より紅斑熱群リケッチアの遺伝子が検出されたが、日本紅斑熱リケッチアは検出されなかった。以上のことから、日本紅斑熱リケッチア及び腎症候性出血熱の県内における浸淫の可能性は少ないことが示唆された。

現時点での富山県内の蚊媒介性感染症の浸淫状況を把握するため、蚊及び豚におけるウイルス保有状況を調査した。調査した蚊421プール（14,402個体）からウエストナイルウイルスは検出されなかった。一方、畜舎周辺で捕集したコガタアカイエカ27プールより、日本脳炎ウイルスが分離された。豚血清340検体についてもウイルス分離を行ったところ、1検体より日本脳炎ウイルスが分離された。さらに、ドバトの抗体保有状況及びイノシシ等からのウイルス検出を行った。ドバトからウエストナイルウイルスに対する抗体は検出されなかったが、42.9%が日本脳炎ウイルスに対する抗体を保有していた。イノシシ等から日本脳炎ウイルスは検出されなかった。県内における蚊ウイルス保有状況について平成16～20年度の結果をまとめた。

これらの研究は、がん研究部と共同で行った。

【富山県感染症情報センター】

富山県感染症情報センターでは、感染症発生動向調査実施要領に基づき、全数把握感染症については各管内の全医療機関から、定点把握感染症については県内延べ70定点医療機関から各厚生センターおよび富山市保健所へ週報および月報として報告されたデータを集計・解析した。

県内および全国の感染症発生動向の情報は、速報あるいは週報の印刷物として関係機関へ毎週送付するとともに、富山県感染症情報センターホームページで一般公開している。

また、本年度も「富山県感染症発生動向調査事業報告書」を作成し、関係機関に配布した。

細菌部

【行政および依頼検査】

行政検査

3類感染症：平成20年度に発生した腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症感染事例30件（感染者77名）について全て分離株を収集した。これらの分離株の PFGE 等分子疫学的解析、および細菌学的精査を行い、その結果を関連機関に還元した。このうち、6月～8月にかけて発生した集団感染事例、10月の散发事例においては薬剤感受性試験も実施した。また、上記事例代表株について、国立感染症研究所（パルスネット）に全国分離株との比較を依頼し、これらの分離株の送付事務及び結果の還元を行った。また、コレラ疑いの事例についてコレラ菌の同定およびコレラ毒素遺伝子の検出を2事例行った。その結果、1事例はコレラ毒素を産生しない non-O1 *Vibrio cholerae* であり、他の1事例はコレラ毒素産生性の *Vibrio cholerae* O1 Ogawa であった。

細菌性食中毒：4月に発生した食中毒発生時に、患者由来糞便13検体から黄色ブドウ球菌及びセレウス菌の毒素遺伝子を標的とする PCR 検査を行ったが、結果は陰性であった。また、7月に、患者由来糞便9検体、黄色ブドウ球菌2株から、黄色ブドウ球菌の毒素遺伝子を標的とする PCR 検査を行ったが結果は陰性であった。

レジオネラ症検査：4事例の患者分離株および浴用水から分離された株について、血清型および PFGE による分子疫学的解析により、感染源調査をおこなった。

食品検査：7月にミネラルウォーター31件の成分規格試験を行った。すべての検体で大腸菌群陰性であった。

また、食品の夏期一斉取締りの一環として、生食用魚介類（刺身等）32検体について腸炎ビブリオの定量検査を行った。すべての検体が成分規格基準に合致していた。7～11月に、牛生レバー10検体について、一般生菌数、大腸菌群数、腸管出血性大腸菌 O157・O26・O111、カンピロバクターの検査を行った。腸管出血性大腸菌はすべて陰性であった。カンピロバクターは1検体が陽性であった。6～7月に発生した腸管出血性大腸菌 O26による集団感染の際に、原因と疑われた食品102検体から腸管出血性大腸菌 O26の検査を行ったが、結果はすべて陰性であった。

海水浴場水検査：生活環境文化部および富山市の依頼で海水浴場水（8定点、のべ128検体）の糞便性大腸菌群数測定を行った。いずれも水質が良好な「AA」または「A」ランクで「適」であった。このうち26検体について腸管出血性大腸菌 O157検査を行ったがすべて陰性であった。

水道水源水検査：今年度から新しい事業「水道水源周辺の耐塩素性病原微生物に係る検査」として、水道水源周辺の水系および水道水源周辺で採取されたクマ等の野生動物の糞便の検査を実施した。搬入された糞便は2検体、いずれもクリプトスポリジウムおよびジアルジアは検出されなかった。また、水道水源水でジアルジアが検出された水道浄水について、ジアルジアおよびクリプトスポリジウムの検査を実施したが、いずれも検出されなかった。

腸炎ビブリオ検査：平成8年度より始まった通称「VP マリン」事業として、6月から10月にかけて県内5漁港の海水40検体および魚介類販売業2施設で市販されている魚介類48検体の腸炎ビブリオを定期的に調べた。その結果、海水からは $<3\sim 4.3\times 10^3/100\text{ml}$ 、市販魚介類からは $<30\sim 1.5\times 10^3/100\text{g}$ の腸炎ビブリオが検出された。

名水調査：県内で飲用されているいわゆる「名水」について、細菌学的な調査を行なった。調査は7月、10月の2回、採水地点はそれぞれ6か所、計18検体について、生菌数、大腸菌定量、病原性大腸菌定性と嫌気性芽胞菌を実施した。3検体で大腸菌数が1.0、1.0、3.1 MPN/100ml であった。嫌気性芽胞菌、病原性大腸菌はすべての検体で陰性であった。

依頼検査

食品中のブドウ球菌毒素およびカビ様物質混入疑いの苦情食品に関する2件の検査依頼があった。いずれの検査も陰性であった。

[病原細菌検出情報]

県内10か所の病院と4か所の富山県厚生センター、富山市保健所、衛生研究所における糞便からの病原菌検出数は、1,265株、前年比97.7%であった。最も多かったのは大腸菌582株で、以下、黄色ブドウ球菌の350株、カンピロバクター243株、エロモナス32株、サルモネラ31株の順であった。

[調査研究]

サルモネラの薬剤感受性動向調査

県内の病院、保健所でヒトから分離された菌株の収集解析を行った。平成20年1月～12月までに当所に送付された菌株は22株で、すべて医療機関で分離された。これらの血清型の内訳は *S. Enteritidis* が5株、*S. Infantis* が3株、*S. Agona* が2株、その他12株であった。これらについて薬剤感受性試験を実施した。多くのサルモネラが何らかの薬剤に耐性を示した。

腸管出血性大腸菌のベロ毒素遺伝子型調査

富山県で分離された腸管出血性大腸菌361株についてパルスフィールドゲル電気泳動によるDNAパターンによる比較を行った。また、富山県内で発生した腸管出血性大腸菌感染症231事例についてベロ毒素2型遺伝子の多型の検出状況を調査した。その結果富山県では1999年以降ではベロ毒素2型遺伝子の多型 *stx2c* 保有 EHEC 感染事例がベロ毒素2型遺伝子保有 EHEC 感染事例の25%と増加していた。

溶連菌の血清型別調査

平成20年に県内2ヶ所の病院で分離された溶連菌を型別した。A群36株のうち検出率が高いT型は、順にT12型、T1型、T4型であった。B群29株のうち検出率が高い型は、VI（NT6）型であった。

腸炎ビブリオ汚染実態調査

平成20年6～10月にかけて、県内の5漁港海水についてPCR法と免疫磁気ビーズ法により耐熱性溶血毒素（TDH）産生性腸炎ビブリオの分布を調べた。その結果、海水40検体のうち10検体（25%）から *tdh* 遺伝子が検

出された。しかし、TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6は分離されなかった。

カンピロバクターの臨床分離株の薬剤感受性に関する調査

県内2か所の病院で分離されたカンピロバクターの収集解析を行った。当所に搬入された菌株は33株で、内訳は *C. jejuni* 32株、*C. coli* 1株であった。分離菌について薬剤感受性試験、Penner 型血清型別を行った。

浴用水中のレジオネラ属菌汚染実態調査

県内浴用施設の浴用水53件について、レジオネラ属菌による汚染状況について調査した。培養法で20検体、PCR 法で37検体、LAMP 法で30検体がレジオネラ属菌陽性となった。培養法と遺伝子検査法の結果の違いは死菌 DNA を検出することによると考えられることから、EMA を用い、生菌のみ検出する方法について検討した。PCR 法では多くの死菌 DNA を不活化できたが、実際の浴用水では培養法と必ずしも相関しなかった。

〔精度管理〕

内部精度管理：富山県食品関係試験検査業務管理要綱に示される精度管理規定に基づき、県内4厚生センター、食肉検査所、富山市保健所および衛生研究所の7機関について、内部精度管理調査を行った。試料は当所で作製しそれぞれに配布した。調査項目は、牛乳の一般生菌数測定および模擬食品中の黄色ブドウ球菌の検出とした。なお、模擬食品は洋生菓子とし、あらかじめ黄色ブドウ球菌が陰性であることを確認した。コアグラゼ陽性ブドウ球菌接種、コアグラゼ陰性ブドウ球菌接種、接種菌なしの3検体を各機関に配布した。回答結果は、一般生菌数測定、黄色ブドウ球菌の検出ともにすべての機関で良好であった。この回答結果については本年報にその詳細を掲載している。

外部精度管理：前述の精度管理規定に基づき、外部精度管理調査に参加した。

〔レファレンスセンター事業〕

溶連菌感染症の東海・北陸支部レファレンスセンター（衛生微生物協議会、希少感染症研究事業）。

2008年1～12月の分離株について、A 群溶連菌は愛知県衛生研究所32株および富山県衛生研究所36株、計68株の T 型別結果を報告した。また、東海北陸地区で発生した8例の劇症型溶連菌感染症例および B 群溶連菌29株の型別結果についても報告した。

レジオネラの東海・北陸支部レファレンスセンター（衛生微生物協議会、希少感染症研究事業）。

2007年10月から支部のレファレンスセンターとして、情報の還元、菌株の収集等をおこなっている。2008年12月に富山県で分離された患者由来22株をセンターに送付した。

結核の東海・北陸支部レファレンスセンター（衛生微生物協議会、希少感染症研究事業）

全国結核分子疫学情報データベース構築研修会に向けて、レファレンスセンターとしてブロック内の取りまとめを行った。12月には大阪で打ち合わせ会議、また1月には結核研究所での研究会へ参加した。その後、分子疫学解析ができるよう、各地研ヘスターキットが配布され、その取りまとめをおこなった。3月には薬剤感受性の精度管理に参加し、結果は良好であった。

〔腸炎ビブリオシンポジウム〕

平成20年10月23、24日に、富山県民会館において第42回腸炎ビブリオシンポジウムが開催され、事務局として本シンポジウムを運営した。一般演題27演題、特別講演および記念講演から成るプログラムで開催された。2日間にわたり、県内および全国から42名の参加があり、最新の研究発表および活発な意見交換がなされた。

化 学 部

〔行政および依頼検査〕

食品等の検査

添加物及び成分規格等：県内で製造されたミネラルウォーターの成分規格試験（混濁、沈殿物、ヒ素、鉛、カドミウムおよびスズ）、煮干し等魚介乾製品中の酸化防止剤（BHA、BHT）、惣菜等の保存料（安息香酸、ソルビン酸）、甘味料（サッカリンナトリウム）及び生めん類等の品質保持剤（プロピレングリコール）等の56検体

(総項目数226)の検査を行ったところ、いずれの検体も規格基準または使用基準に適合していた。

残留農薬等：県内産主要農産物の玄米、トマト、小松菜等の9種22検体について、有機リン系（フェニトロチオン等）、ピレスロイド系（ペルメトリン等）、有機塩素系（ディルドリン等）、含窒素系（フルトラニル等）の約90農薬を調査した。ぶどう（品種：巨峰）からシベルメトリンが0.046ppm、及びぶどう（品種：キャンベル）からシベルメトリンが0.163ppm 検出されたが、検出量は基準の1/10以下であった（基準：2.0ppm）。平成19年12月から平成20年1月の間に中国産冷凍加工食品中の農薬による食中毒事件が発生したことを受け、県内で市販されている中国産冷凍加工食品32検体について、メタミドホス、ジクロロボスを含む有機リン系化合物等56農薬を調査したところ、いずれも検出されなかった（定量下限値：0.2ppm）。

平成20年5月、厚生労働省から缶入りの乳飲料に殺虫剤プロボキスルが検出された異物混入事例報告を受けた直後の5月、県内でも乳飲料製品を飲用後身体の不調を訴え、健康被害が疑われた製品について、コリンエステラーゼ阻害キットを用いた有機リン系農薬類のスクリーニング検査及び有機リン系農薬、プロボキスル、グリホサート等92成分の定量検査を実施したが、農薬は検出されなかった。

この他、摂食者が健康被害を訴えたサトイモ冷凍品、餃子冷凍加工食品について、有機リン系化合物等56農薬を調査したが、いずれも検出されなかった（定量下限値：0.2ppm）。

また、食肉検査所から豚脂肪中のマクロライド系駆虫薬イベルメクチンの検査依頼があり、高速液体クロマトグラフ質量分析計を用いて確認検査を行った。

重金属等：富山湾産魚介類について、18魚種20検体（カマス、カツオ等）の総水銀を測定したところ、全ての検体から検出され、濃度は0.01～0.16 ppm（暫定的規制値0.4 ppm）であった。また10魚種10検体のトリブチルスズオキシド、ジフェニルスズオキシド（いずれも規制値なし）を測定したところ、すべての検体でいずれの化合物も不検出であった（定量限界0.02 ppm）。

家庭用品検査

消臭、洗浄スプレーや家具用ワックススプレーなどの家庭用洗浄剤、エアロゾル製品10検体について、テトラクロロエチレン及びトリクロロエチレン並びにメタノールの規格試験を、また羊毛製品（衣類）5検体についてディルドリンの試験を行ったところ、いずれの製品からも検出されず、規格基準に適合していた。

水質検査

管理目標設定項目：水道水源の水質監視に伴い、水道原水33検体及び浄水30検体について、亜硝酸態窒素、アンチモン、トルエン等13項目（総項目数318）の検査を行った。また農薬類としてシマジン等42項目（総項目数476）の検査を行った。うち3検体についてウラン（0.0002 ～ 0.0005mg/L：目標値0.002mg/L）が、1件についてニッケル（0.001mg/L：目標値0.01mg/L）が、検出された。その他の項目はいずれも不検出であった。

要検討項目：水道水源の水質監視に伴う水道原水35検体及び浄水35検体について、銀など重金属類、スチレンなど揮発性有機化合物、フタル酸ジ(n-ブチル)などフタル酸エステル類、プロモクロロ酢酸などハロ酢酸類及びトリクロロアセトニトリルなどハロアセトニトリル類等24項目（総項目数832）の検査を行った。すべての検体はいずれの項目も不検出であった。

ゴルフ場使用農薬：県内におけるゴルフ場周辺の飲用井戸水について、平成20年5月（21件）および11月（21件）にゴルフ場使用農薬（シマジン等43項目）の検査（総項目数550）を行ったところ、どの井戸水からも農薬は検出されなかった。

温泉分析

中分析7件（再分析5件及び浴槽水2件）を行ったところ、温泉法第2条に適合するものは5件（浴槽水を除く）であり、そのうち3件は療養泉であった。泉質は、ナトリウム－カルシウム・塩化物泉、ナトリウム－塩化物泉、ナトリウム－炭酸水素塩泉、単純硫黄泉、ナトリウム－塩化物・炭酸水素塩泉であった。また温泉資源保護を目的として、平成7年度から温泉密集地域の17源泉（平成20年度1源泉追加）の主要成分等について、経年変化調査を行っている。うち1源泉は集中豪雨による床上浸水のため、平成20年度は調査できなかった。平成19年度に大幅な成分濃度低下が認められた源泉について、本年度も同じ傾向が続いている。これは、揚湯量が影響しているものと推定される。

〔調査研究〕

食品中の成分及び添加物に関する調査研究

茶業界では、産地銘柄の表示についての自主基準を設けており、緑茶の産地を判別できる方法が重要となっている。茶にはカテキン類が代謝産物として大量に含まれるため、カテキン類の分析による産地判別法の可能性を検討した。国内生産高の最も多い静岡県、鹿児島県及び三重県産の緑茶（やぶきた茶）を試料とし、カテキンとエピカテキンの光学異性体を含めたカテキン類9種類を分析した後、統計処理を行った。その結果、高い精度で上記3群を判別できることがわかった。

食品等中の残留農薬及びその他の有害物質に関する調査研究

グリホサート混入茶飲料のキャピラリー電気泳動分析法の開発：グリホサートの分析は、高速液体クロマトグラフィーで分離した後、蛍光試薬で誘導体化して検出する方法、いわゆる HPLC ポストカラム蛍光誘導体化法が採用されている。この方法は測定感度が高い反面、迅速性を欠く。平成20年4月に起こった茶飲料へのグリホサート混入事件を受け、簡便かつ迅速にグリホサートを検出するため、グリホサートをオンラインで銅と錯体を形成させて分析できるキャピラリー電気泳動法を開発した。

飲料水及び温泉に関する調査研究

飲用されている「とやまの名水」の調査：平成15年度から、飲用されている「とやまの名水」の環境保全や衛生管理・飲用対策の基礎資料とするための水質調査を行っている。平成20年度は名水16箇所について水質基準48項目及び主要成分（溶性ケイ酸、硫酸イオン等）6項目の検査を行った（総項目数864）。水質基準項目については検査したすべての名水が基準に適合していた。今回採水を行った名水の主要成分濃度を H15、16、18年度に行った1回目の主要成分調査データと比較すると、各名水の主要成分濃度に大差はなく名水の水質は安定しているといえた。

日常の検査業務に適する簡便、迅速な多成分一斉分析法の開発

キャピラリー電気泳動法による光学異性体の分析：タバコには光学活性なニコチンアルカロイド類が含まれる。主要なニコチンアルカロイドであるニコチン、ノルニコチン、アナタビン及びアナバシンのキャピラリー電気泳動による光学異性体分析法を検討し、5種類のタバコの分析に適用した。（－）ニコチンはいずれも高い濃度（17.8-24.5 g/kg）で検出されたが、（＋）ニコチンは検出されなかった。ノルニコチン、アナタビン及びアナバシンはニコチン量の1-3%の範囲で検出され、（－）体の占める割合はそれぞれ58-70%、81-85% 及び59-65%であった。タバコの煙では、（－）ニコチンの他、タバコで検出されなかった（＋）ニコチンが検出され、（＋）体の占める割合は4%であった。この（＋）体の生成は（－）ニコチンの加熱による異性化と考えられる。

【精度管理調査】

食品検査の精度管理：「富山県食品衛生検査業務管理要綱」の制定（平成10年12月）によって、平成11年度から県内の厚生センター等の公立食品衛生検査機関に対して、検査水準の維持・向上を目的とした精度管理調査を実施している。今年度は5機関において、果実ソース中の保存料（ソルビン酸及びパラオキシ安息香酸 n-ブチル）の定量試験の調査を実施したところ、全ての検査機関の検査結果は良好で、「十分管理されている」と判断できる結果が得られた。

水質検査の精度管理：「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づき、平成20年度は県内の水道水質検査を実施する機関を対象に、硬度と塩素酸について精度管理調査を実施した。硬度については自然水（湧水）を、塩素酸については標準液を添加（0.25mg/L）した超純水を精度管理用試料とした。

硬度は24機関が参加し、うち1機関が2通りの測定方法により報告したことから25機関として統計処理を行った。測定値の平均値±標準偏差は38.18±0.52mg/L、室間変動係数は1.4%、室内変動係数は0.0～2.7%であった。Grubbsの異常値検定（危険率5%）の結果、1機関の測定値が棄却され、棄却された機関を除く24機関の測定値の平均値±標準偏差は38.26±0.30mg/Lであった。硬度の測定方法として ICP/AES 法を用いた機関は4機関、イオンクロマトグラフ法（陽イオン）6機関、滴定法14機関であったが、測定方法間（棄却された機関は除いて統計処理を行った）に有意な差はなかった。

塩素酸の精度管理には19機関が参加した。測定値の平均値±標準偏差は0.250±0.007 mg/L、室間変動係数は2.8%、室内変動係数は0.0～4.5%であった。Grubbsの異常値検定（危険率5%）の結果、1機関の測定値が棄却され、棄却された機関を除く18機関の測定値の平均値±標準偏差は0.249±0.005mg/Lであった。

硬度、塩素酸ともに、棄却された機関を除いた機関の測定値の平均値を真の値と仮定した場合の回収率が0.9～1.1の範囲をはずれた機関はなく、機関内・機関間のばらつきはともに小さく、また塩素酸については調製濃

度とよく一致しており、報告された検査結果は概ね良好であった。

環 境 保 健 部

〔行政検査〕

カドミウム汚染地域住民健康調査（神通川流域住民健康調査）

1次検診：昭和54年度から実施してきた環境省（庁）委託の健康調査方式が、平成9年度から新しい方式に改められた。平成20年度は、対象者1,939名中687名が1次検診を受診した。

精密検診：1次検診の結果、尿中 β_2 -ミクログロブリン濃度が5.0mg/gCr以上または尿検査で尿蛋白（±）以上の陽性を示した者130名が精密検診の対象となった。精密検診は指定医療機関である富山大学附属病院、富山県立中央病院、富山市民病院の3医療機関で行われ、受診者104名の尿、血液について所定の検査を行った。

管理検診：イタイイタイ病要観察者1名に対して、管理検診が実施され、該当する尿及び血液検査を実施した。

イタイイタイ病認定申請に伴う検査：申請のあった1名について、該当する尿および血液検査を実施した。

〔調査研究〕

骨粗鬆症予防法の確立に関する研究 ―骨粗鬆症予防に効果的な運動についての検討―

日常の身体活動が骨粗鬆症予防に与える効果を明らかにするために、運動教室に約1年間継続的に参加した健康な中高齢者の身体活動量（歩数、速歩時間）、生活習慣病にかかわる血液生化学検査値、骨量及び骨代謝指標の9ヶ月間の変化及び関連を検討した。その結果、継続的に運動することで身体活動量の増加が見られた。特に、活動量が“歩数1,000歩以上増加”または“強度〔中以上〕の活動時間10分以上増加”した者や教室で指導された運動を自宅で週3回以上実施している者では、骨量の維持が認められ、骨粗鬆症予防に効果があることが示唆された。さらに、血清脂質レベルの改善も認められた。

肥満体質遺伝子と生活習慣病予防に関する疫学的研究

3ヶ月間の健康教室に参加した20～30歳代の若年肥満者について、運動状況と身体状況及び生化学指標の変化との関連を調べた。その結果、過去に行った中高年肥満者調査に比べて、運動量が少なかったにもかかわらず、女性では体重、腹囲の減少傾向がみられた。また、男性では、中高年肥満者では体重減少が認められなかった運動量で、若年肥満者は有意な減少を認めた。これらのことから、若年肥満者では中高年に比べやすい可能性が示唆された。

生化学指標では男女ともLDLコレステロールの低下が認められ、さらに運動量の多いものではHDLコレステロールの上昇もみられ、脂質代謝の改善が認められた。

これらのことから、運動による肥満解消のプログラムは若い年代から実施することにより大きな効果が得られ、将来の生活習慣病予防にも有用と考えられた。

環境汚染物質の生体影響に関する研究

有機リン系農薬の曝露指標として測定される尿中のアルキルリン酸について、インドネシア西ジャワ地域の農村住民を対象として分析を行った。これまでに、インドネシア農村住民では日本人に比べて尿中アルキルリン酸の検出率が低いこと、検出されるアルキルリン酸の組成が両者で異なることなどがわかった。現在、西ジャワ地域農村の生業形態の異なる複数の集落について、成人男女および学童の尿サンプルを分析中であり、アルキルリン酸検出状況の集落間差、家族集積性等について検討する予定である。

中国内蒙古フッ素汚染地域における血中ビタミンD₃著高と骨吸収亢進に関する調査研究（文部科学省科学研究補助金基盤研究B海外学術調査）

これまでフッ素曝露による骨への影響は、骨芽細胞刺激による骨硬化症（骨過形成）とされてきたが、先の富山大学医学部および中国内蒙古医学院との共同研究により、飲料水中フッ素汚染がみられた中国・内モンゴル自治区草原地域の中年女性に骨吸収の亢進を観察した。そこで、フッ素曝露が成長期および閉経期の骨量と骨代謝

へ及ぼす影響を明らかにし、フッ素摂取量の基準設定への科学的データの提供を目的として、中国・内モンゴル自治区に平成19年夏に調査団を派遣し、現地の研究者とともに疫学調査を行った。20年度は、前年度に実施できなかった超音波による踵骨骨量の測定を行った。

対象者はフッ素汚染地域である草原地域と対照地域で、これまで調査を行ってきた中高年女性および未閉経中年女性とその娘の成長期女性である。飲料水、タン茶浸出液および早朝尿のフッ素測定を行い、フッ素の曝露指標とした。尿中の骨吸収マーカー、血中の骨形成マーカー、活性型ビタミンD₃などの測定を行い、フッ素の曝露指標や骨量指標等との関係について解析した。

測定した超音波測定装置による踵骨の骨量指標は、19年度におこなった二重X線装置による骨密度とよい相関を示した。フッ素の曝露指標である飲料水およびタン茶浸出液のフッ素濃度は、対照地域に比べて汚染地域が有意に高かった。尿中フッ素濃度は汚染地域が対照地域に比べて有意に高く、年齢が高いほど増加した。フッ素汚染地域の成長期女性の骨代謝マーカー、骨密度（骨量指標）は対照地域と変わらなかったが、30歳代以上では骨吸収マーカーの上昇がみられ、40歳代以上では骨形成マーカーも増加する傾向がみられた。閉経前後で比較すると、フッ素汚染地域の閉経女性において骨密度（骨量指標）が有意に低値を示した。フッ素曝露による骨吸収の亢進と閉経後にさらに骨密度（骨量指標）が減少する可能性が示唆された。（平成18年度から20年度の3年計画）

メタボリック症候群に対する海洋深層水温浴の効果に関する研究

海洋深層水を用いた運動浴のメタボリック症候群対策を検討するため、海洋深層水と水道水の温浴や運動浴について、酸素消費量と深部体温に与える影響について比較検討した。

健康な男女7名（40歳～60歳代）を対象者として、深層水体験施設「タラソピア」で実験を行った。海洋深層水および水道水の温水（34℃）において水中歩行器による歩行浴または水中バイクを用いた運動（運動浴）を15分間行い、運動浴の前から後まで、酸素消費量と深部体温の変化を観察した。その結果、水中バイクの運動浴では明らかでなかったが、水中歩行器を用いた海洋深層水の歩行浴では、水道水浴に比べ、酸素消費量が増加する傾向や、深部体温が高くなる傾向、また心房性及び脳性Na利尿ホルモンも増加する傾向がみられた。

（富山大学医学部との共同研究、平成20年度から22年度の3年計画）

(9) 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	先天性代謝異常検査	9,926 (59,556)	
	染色体検査	39 (39)	111 (111)
	衛生動物検査	461 (15,565)	14 (14)
	小 計	10,426 (75,160)	125 (125)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	1,375 (1,375)	46 (46)
	血清学的検査	1,606 (3,216)	
	小 計	2,981 (4,591)	46 (46)
細 菌 部	感染症にかかわる検査	208 (441)	()
	食中毒にかかわる検査	116 (189)	
	食品検査	227 (283)	3 (3)
	水質検査	196 (355)	49 (56)
	小 計	747 (1,268)	52 (59)
化 学 部	食品にかかわる検査	148 (4,343)	
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	186 (2,555)	45 (640)
	温泉分析	18 (220)	5 (150)
	小 計	367 (7,138)	50 (790)
環 境 保 健 部	カドミウム環境汚染にかかわる 地域住民健康調査	793 (2,958)	
	小 計	793 (2,958)	

検 査 内 容

() 内項目数

が ん 研 究 部

[行政検査]

1. 先天性代謝異常検査 9,926 (59,556)
2. 染色体検査
 - (1) 血 液 21 (21)
 - (2) 羊 水 14 (14)
 - (3) 胎 児 3 (3)
 - (4) 皮膚組織 1 (1)
3. 衛生動物等検査
 - (1) 衛生・不快動物 461 (15,565)

[依頼検査]

1. 染色体検査
 - (1) 血 液 29 (29)
 - (2) 羊 水 65 (65)
 - (3) 胎 児 17 (17)
2. 衛生動物等検査
 - (1) 衛生・不快動物 9 (9)
 - (2) 殺虫剤 5 (5)

ウ イ ル ス 部

[行政検査]

1. 感染源検査
 - (1) インフルエンザ 528 (528)
 - (2) ポリオ 66 (66)
 - (3) その他ウイルス 574 (574)
 - (4) リケッチア 4 (4)
 - (5) 食中毒および集団発生 203 (203)
2. 血清学的検査
 - (1) インフルエンザ ヒト 318 (1272)
 - (2) ポリオ 317 (951)
 - (3) 日本脳炎 ヒト 340 (340)
 - ブタ 318 (318)
 - (4) エイズ 272 (273)
 - (5) その他のウイルス 36 (36)

[依頼検査]

1. 感染源調査
 - (1) ふん便等 46 (46)

細菌部

[行政検査]

1. 感染症にかかわる検査

(1) 結核菌	3 (3)
(2) コレラ	1 (1)
(3) 腸管出血性大腸菌	76 (230)
(4) レジオネラ	38 (116)
(5) 溶連菌	85 (85)
(6) 病原性大腸菌	1 (2)
(7) 肺炎球菌	3 (3)
(8) その他	1 (1)

2. 食中毒にかかわる検査

(1) 病原性大腸菌	15 (27)
(2) カンピロバクター	55 (55)
(3) サルモネラ	22 (44)
(4) 黄色ブドウ球菌	2 (2)
(5) 糞便検査	22 (61)

3. 食品検査

(1) 収去検査	121 (171)
(2) 食中毒検査	102 (102)
(3) 苦情食品	1 (1)
(4) 苦情食品	3 (9)

4. 水質検査

(1) 海水	40 (40)
(2) 海水浴場	80 (100)
(3) 水道水源周辺調査	2 (4)
(4) 浴槽水	53 (106)
(5) 名水	21 (105)

[依頼検査]

1. 食品検査

(1) 食品検査	3 (3)
----------	---------

2. 水質検査

(1) 飲用水	1 (2)
(2) 海水浴場	48 (54)

化学部

[行政検査]

1. 食品にかかわる検査

(1) 食品成分および添加物	57 (230)
(2) 残留農薬	61 (4,083)
(3) 重金属類	30 (30)

2. 家庭用品検査

(1) メチルアルコール	5 (5)
(2) テトラクロロエチレン及びトリクロロエチレン	5 (10)
(3) ディルドリン	5 (5)

3. 水質検査

(1) 水質基準項目	25 (777)
(2) 管理目標設定項目	55 (594)
(3) 要検討項目	66 (792)
(4) ゴルフ場使用農薬	21 (275)
(5) その他	19 (117)

4. 温泉分析

(1) 中分析	2 (60)
(2) その他	16 (160)
	16 (160)

[依頼検査]

1. 水質検査

(1) 水質基準項目	5 (100)
(2) 管理目標設定項目	8 (200)
(3) 要検討項目	4 (40)
(4) ゴルフ場使用農薬	21 (275)
(5) その他	7 (25)

2. 温泉分析

中分析	5 (150)
-----	-----------

環 境 保 健 部

[行政検査]

[依頼検査]

1. カドミウム環境汚染にかかわる地域住民健康調査
 - (1) 神通川流域住民健康調査
 - 1次検診 尿検査 687 (1,374)
 - 精密検診 尿、血液検査 104 (1,552)
 - (2) イタイイタイ病要観察者の管理検診
 - 尿、血液検査 1 (16)
 - (3) イタイイタイ病患者認定申請に基づく検査
 - 尿、血液検査 1 (16)

(10) 科学研究費補助金

研 究 課 題	所 属	研 究 者	補助金等事業名
寄生虫を生物標識として活用した海産栽培漁業種の生態解明	がん研究部	山内 健生	文部科学省 基盤研究 A 分担研究者
新生児マスキングの精度管理体制に関する研究	がん研究部	九 曜 雅 子	厚生労働科学研究費補助金 子ども家庭総合研究事業 タンデムマス等の新技術を導入した新しい新生児スクリーニング体制の確立に関する研究
戸建住宅において簡便な防蚊対策を行った場合の効果	がん研究部 ウイルス部	山内 健生 小原 真弓	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 節足動物媒介感染症の効果的な防除などの対策研究
富山県におけるつつが虫病に関する調査とマダニ類調査及び東海北陸地域のリケッチア感染症について	ウイルス部 がん研究部	倉 田 毅 小原 真弓 山内 健生 品川 保弘 中村 一哉 堀 元栄 詞 長谷川澄代 岩井 雅恵 滝澤 剛 則	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築
イノシシと共に分布を拡大しつつあるマダニ類	ウイルス部 がん研究部	滝澤 剛 則 山内 健生 小原 真弓	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 地球温暖化に伴い変化する感染症に対する早期防御法確立に関する研究
感染症患者情報と病原体情報の評価について (非流行期のインフルエンザサーベイランス)	ウイルス部	倉 田 毅 堀 元栄 詞	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 効果的な感染症サーベイランスの評価並びに改良に関する研究
地方衛生研究所の疫学機能強化に関する研究	ウイルス部	堀 元栄 詞	厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業 地域における健康危機に対応するための地方衛生研究所機能強化に関する研究
環境水サーベイランスによるポリオウイルス伝播の監視	ウイルス部	岩井 雅恵	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討
富山県におけるノロウイルス・サポウイルスの検出状況	ウイルス部	滝澤 剛 則 中村 一哉 岩井 雅恵 小原 真弓 長谷川澄代 堀 元栄 詞 倉 田 毅	厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 ウイルス性食中毒の予防に関する研究

研 究 課 題	所 属	研 究 者	補助金等事業名
富山県におけるノロウイルス、サポウイルスの 浸淫状況調査	ウイルス部	滝澤剛則 中村一哉 小原真弓 岩井雅恵 長谷川澄代 堀元栄詞 倉田毅	内閣府食品安全委員会 食品健康影響評価技術研究 生食用カキに起因するノロウイル スリスク評価に関する研究
食品における微生物迅速検査法の開発およびそ の精度評価システムに関する研究-標準検査法 を尺度として迅速検査法を評価する方法の検討	細菌部	磯部順子	厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事 業
循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の 最適化に関する研究	細菌部	磯部順子	厚生労働科学研究費補助金 地域健康危機管理研究事業
地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する 細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する 研究	細菌部	倉田毅 綿引正則 磯部順子	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業
病原体保管，輸送，廃棄における一括管理シス テムの開発	細菌部 ウイルス部	倉田毅 滝澤剛則 綿引正則	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業
植物及び食品中における L-糖の探索	化 学 部	小玉修嗣	文部科学省（日本学術振興会） 基盤研究 C 研究代表者
大量に排出される金属キレート剤が重金属の環 境動態をどう変化させるか？	化 学 部	健名智子 小玉修嗣	文部科学省（日本学術振興会） 基盤研究 C 研究代表者
シリカナノ細孔薄膜を利用した光学異性体分離 精製膜の開発	化 学 部	山下智富	文部科学省 若手研究 B 研究代表者
日常食の汚染物質摂取量及び汚染物モニタリン グ調査研究	化 学 部	調 査 協 力	厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事 業
内蒙古フッ素汚染地域における血中ビタミン D ₃ 著高と骨吸収亢進に関する調査研究	環境保健部	新 村 哲 夫 堀 井 裕 子	文部科学省 基盤研究 B（海外学術） 研究代表者
インドネシア西ジャワ農村部における地域の持 続可能性と健康	環境保健部	新 村 哲 夫 中崎美峰子	文部科学省 基盤研究 A（海外学術） 分担研究者
深部体温，体動，心拍連続モニターによる食事・ 運動・睡眠の基本的生活習慣の包括評価	環境保健部	新 村 哲 夫	文部科学省 基盤研究 B 分担研究者

(11) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
疫学（感染症）	堀 元 栄 詞	保健学科講義	平20.4.17～ 5.7（計4回）	県総合衛生学院
動物由来感染症	堀 元 栄 詞	ネット3（CATV）「健康サロン」	平20.4.21	上市町役場
衛生害虫について	山 内 健 生	第3回射水市環境衛生協議会定期総会 記念講演	平20.5.30	アイザック小杉文化ホール
ノロウイルスによる食中毒とその予防	中 村 一 哉	平成20年度射水市学校給食衛生管理研修会	平20.8.11	アイザック小杉文化ホール
細菌による食中毒について	金 谷 潤 一	平成20年度射水市学校給食衛生管理研修会	平20.8.11	アイザック小杉文化ホール
ヒトの遺伝	本 田 幸 子 林 美 貴 子	きらめきエンジニア事業	平20.10.1	富山市立月岡中学校
インフルエンザウイルスについて	堀 元 栄 詞	防除作業従事者研修会	平20.10.16	テクノホール
先天性代謝異常症等の新生児マス・スクリーニング検査	九 曜 雅 子	平成20年度長期療養児研修会	平20.11.12	富山県民会館
ノロウイルスによる食中毒とその予防	中 村 一 哉	平成20年度 高岡市食品衛生指導員研修会	平20.11.18	北陸健康センター アラピア
最近注目される感染症とその対応について	堀 元 栄 詞	平成20年度養護教諭1/5研修会	平20.11.25	富山県総合教育センター
感染症について -主にインフルエンザ、ノロウイルスによる感染性胃腸炎について-	滝 澤 剛 則	財団法人富山県老人クラブ連合会「健康づくりリーダー」養成研修会	平20.11.27	富山県総合福祉会館
先天性副腎過形成症マス・スクリーニング	九 曜 雅 子	第20回新生児マス・スクリーニングワークショップ	平20.11.29	シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス(株)
ウイルスの基礎知識 細菌の基礎知識	滝 澤 剛 則 磯 部 順 子	富山県消防学校特殊災害科（第3期）講義	平20.12.4	富山県消防学校
インフルエンザパンデミックに備えて	堀 元 栄 詞	大谷製鉄株式会社職員研修会	平20.12.10, 12.17（計4回）	大谷製鉄株式会社 研修室
ウイルスの特性について	堀 元 栄 詞	富山県消防学校救急科（第11期）講義	平20.12.15	富山県消防学校
富山湾深層水を利用したスキнка アとメタボ対策	新 村 哲 夫	富山湾に学ぶ会	平20.12.20	とやま市民交流館
日常生活の身近な細菌	磯 部 順 子	きらめきエンジニア事業	平21.1.23	富山県立滑川高等学校
パンデミックに備えた対応について	堀 元 栄 詞	射水市職員研修会	平21.2.16	射水市消防本部
バイオセーフティについて	小 原 真 弓	バイオセーフティ研修会	平21.3.12	富山市保健所

(12) 研 修 指 導

所属および対象者	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
高岡厚生センター受入れ 臨床研修医	平20.5.14 平20.7.2 平20.7.30 平20.8.13 平20.9.10 平20.10.8 平20.12.10 平21.1.14	衛生研究所の役割を把握し HIV 検査を体験する	ウイルス部
富山市保健所衛生検査担当者	平20.5.26～30	パルスフィールド電気泳動研修	細菌部
富山市保健所職員	平20.6.9～10, 16～17	ノロウイルス検査法	ウイルス部
高岡厚生センター受入れ 臨床研修医	平20.7.8 平20.8.12 平20.9.9 平20.9.30	腸炎ビブリオ汚染実態調査に関する検査	細菌部
夏休み子供科学教室	平20.7.29	身のまわりの昆虫を観察しよう	がん研究部
食品衛生検査業務管理作業部会－リステリア研修会	平20.11.27	リステリア検査方法	細菌部
富山市保健所職員	平20.12.10	加工食品中の有機リン系農薬検査の前処理方法について	化学部
新潟検疫所富山空港出張所 上田泰史	平21.3.16～3.31	動物由来感染症病原体を媒介する動物の侵淫状況の調査に関する研修	ウイルス部 がん研究部

(13) 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
倉田 毅 綿引 正則 磯部 順子 木全 恵子 小原 真弓 岩井 雅恵	平20.6.24 ～25	衛生微生物技術協議会 第29回研究会	タワーホール船堀 (東京都)	国立感染症研究所 宮村達男 他
磯部 順子 山下 智富	平20.7.31 ～8.1	食品衛生検査施設信頼性確保部門 責任者研修会	厚生労働省講堂	厚生労働省医薬品食品 局食品安全部監視安全 課長 加地祥文
堀元 栄詞	平20.8.20 ～22	高病原性 H5N1 鳥インフルエンザ ウイルス感染診断技術研修会	国立感染症研究所 村山庁舎	国立感染症研究所 小田切孝人 他
木全 恵子	平20.8.29	第40回東海北陸ブロック食品衛生 監視員研修会	四日市市総合会館 (三重県)	三重県健康福祉部 庄司 正
清水美和子	平20.8.29 ～9.2	平成20年度抗酸菌検査実習コース (応用)	財団法人結核予防会 結核研究所 (東京都)	結核研究所 御手洗 聡 他
本田 幸子 林 美貴子	平20.8.30 ～31	第15回臨床細胞遺伝学セミナー	家の光会館(東京都)	日本人類遺伝学会 東京医科歯科大学 池内達郎 他
堀元 栄詞	平20.9.18 ～19	感染症危機管理研修会	国立感染症研究所 戸山庁舎	国立感染症研究所 宮村達男 他

受講者氏名	研修期間	研 修 内 容	研 修 機 関	講師所属氏名
中 村 一 哉	平20.9.29 ～10.30	国立保健医療科学院 平成20年度短期研修 ウイルス研修	国立感染症研究所 村山庁舎	国立感染症研究所 木村博一他
堀 元 栄 詞 小 原 真 弓	平20.10.31	平成20年度動物由来感染症対策 (狂犬病予防含む) 技術研修会	北里大学薬学部コン ベンションホール (東京都)	厚生労働省 梅田浩史 他
米 田 豊 九 曜 雅 本 田 幸 林 美 貴 子	平20.11.11	平成20年度新生児死亡改善対策講 習会	富山県医師会館	国立成育医療センター 研究所 原田正平
米 田 豊 九 曜 雅 本 田 幸 林 美 貴 子	平20.11.12	平成20年度長期療養児研修会	富山県民会館	国立成育医療センター 研究所 原田正平
磯 部 順 子 金 谷 潤 一	平21.1.16	地研全国協議会結核データベース 事業研修会	財団法人結核予防会 結核研究所 (東京都)	東京都健康安全研究セ ンター 前田秀雄
米 田 豊 九 曜 雅 子	平21.2.21	日本マス・スクリーニング学会第 27回技術部会研修会	岩手県予防医学協会	東北大学大学院医学系 研究科小児病態学分野 藤原幾麿 他
中 村 一 哉 磯 部 順 子	平21.2.24 ～25	平成20年度希少感染症診断技術研 修会	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 宮村達男 他
清 水 美 和 子	平21.3.10	平成20年度臨床衛生検査研修会	サンシップとやま (富山市)	金沢大学医薬保健研究 域保健学系病態検査学 藤田信一

(14) 客 員 研 究 員 招 へ い

客員研究員氏名	所 属 職 名	招へい期間	指 導 内 容 等
原 田 正 平	国立成育医療センター 研究所成育政策科学研 究部成育医療政策科学 研究室室長	平20. 11. 11～12	先天性代謝異常症等検査についての講演及び技 術指導

(15) 各 種 規 程 等

名 称	施 行	最 終 改 訂
放射線障害予防規程	昭和44年 8月 1日	
実験動物管理運営規程・動物実験施設利用規程	昭和59年 4月 1日	平成14年9月1日
研修生規程	昭和63年 4月 1日	平成4年4月1日
研修生受入審査会要綱	昭和63年 4月 1日	平成16年4月 1日
病原体等安全管理規程	平成10年 4月 1日	平成17年 7月1日
毒物及び劇物取扱い規程	平成11年 4月 1日	平成12年12月15日
機種選定委員会要綱	平成13年 7月 1日	
研究評価実施要領	平成15年 5月28日	
倫理審査委員会設置要綱	平成15年 5月28日	
組換えDNA実験安全管理規程	平成15年 9月18日	
感染症発生予防規程	平成19年 6月 1日	
競争的研究資金等に関する取扱規程	平成19年11月15日	

2. 調 査 研 究 報 告

富山県における新生児マス・スクリーニングの成果について (平成20年度の検査成績)

九曜 雅子 米田 豊 前多 隆志 吉田 智子¹

Results of the Neonatal Mass Screening in Toyama Prefecture
(April 2008~March 2009)

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Takashi MAEDA and Tomoko YOSHIDA¹

要 旨 平成20年度の検体総数は9,926件で、スクリーニングの結果、先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）の患者8人および高フェニルアラニン血症の患者1人が発見された。これで、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32年間で39人（フェニルケトン尿症5人、メイプルシロップ尿症1人、ホモシスチン尿症0人、ガラクトース血症0人、ヒスチジン血症33人）、先天性甲状腺機能低下症が29年間で131人、先天性副腎過形成症が20年間で12人となった。また、その他の疾病については、今年度までに、高フェニルアラニン血症13人、チロジン血症2人、グルコース-6-リン酸脱水素酵素（G6PD）異常症2人、シトリン欠乏症2人が発見されている。

先天性代謝異常マス・スクリーニングは、昭和52年4月に厚生省母子保健事業の一環として導入され、都道府県および政令市が主体となり、代謝異常症の早期発見、早期治療により心身の障害を未然に防止するという目的で実施されてきた。

富山県では、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、検査料公費負担で、フェニルケトン尿症等6疾病を対象に検査を実施している。平成20年度のスクリーニング結果について報告する。

実 施 方 法

1. 対象疾病

フェニルケトン尿症、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の6疾病を対象とした。

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20年4月より、平成21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濾紙血液を用いた。

(2) 検査方法

①アミノ酸代謝異常症

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により、濾紙血中のフェニルアラニン、ロイシンおよびメチオニンを迅速分析法（7分法）で測定した[1,2]。

②ガラクトース血症

Microplate・酵素法（バイエルメディカル社製キット「GAL-R」使用）により、濾紙血中のガラクトースを測定した。ガラクトースの抽出には、トランスファープレートを使用する改良法[3]を用いた。また、全検体について、自家調製試薬[4]による Beutler 法で、Galactose-1-phosphate uridyl transferase 活性の有無を検査した。なお、判定用の濾紙は、短時間でも判定可能である Watman D E81を使用した[5]。

③先天性甲状腺機能低下症

ELISA（栄研化学社製キット「クレチン TSH E LISA II ‘栄研’」使用）による TSH（Thyroid stimulating hormone）値の測定を行った。

④先天性副腎過形成症

ELISA（平成20年5月までは栄研化学社製キット「17-OHP D-EISA ‘栄研’ II」使用、6月以降はシー

1. 富山県厚生部健康課

メンスメディカルソリューションズ・ダイアグノスティクス社製キット「エンザプレート Neo-17 α -OHP」使用）による17-OHP（17-hydroxy progesterone）値の測定を行った。

(3) 検体のサンプリング

栄研化学社製血液濾紙自動パンチャー「RP-96」で、検体をマイクロプレートにサンプリングした。

(4) 判定基準

表1に示した。

先天性副腎過形成症については、平成20年6月から測定用キットを変更したことに伴い、抽出法での疑陽性の判定基準値を4.0ng/mlに変更した。

表1の判定基準に従い、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。緊急に精密検査を要する場合は、初回検査でも、直ちに主治医に連絡し、小児科受診を勧奨した。

(5) 結果報告

毎週金曜日に、その前週の月～金曜日に受付したすべての検体の検査結果を各医療機関に郵送で報告した。

(6) データ処理

検査検体の受付事務処理、検査結果の報告、月報集計、年度集計などのデータ管理は、当所で開発した動的データ管理システム[6]を用いた。

結 果

1. 検査実施状況

(1) 検査件数と検査結果の概要

今年度の受付総数は、9,926件で、県内40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。

図1に検査の流れと検査件数の概要を示した。今年度の出生数は8,723人であり、初回検体数9,466件（人）から計算すると受検率は108.5%となるが、初回検体のうち県内在住者は8,163人、県外在住者は1,303人であることから、いわゆる「里帰り分娩」を含めない受検率は93.6%であった。また、県内在住者が他県で受検するケースも考えられるため、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。

初回検体のうち9,041件（95.5%）は正常と判定されたが、282件（3.0%）は疑陽性のため、135件（1.4%）は採血後日数が経っている等の不備検体のため、再採血を依頼した。また、8件（0.08%）は初回検査で直ちに精密検査が必要（直接精査）と判定された。また、疑陽性で再採血を依頼したが回収できなかった検体のうち、病院での再検査の結果患者と診断された例（図1:点線）が2件あった。

再採血検体として受付した460件のうち、30件（6.5%）が要精検と判定された。今年度の要精検数は、直接精査の8件と合わせて、38件となった。

(2) 疑陽性による再採血

表2に疾患別の疑陽性による再採血依頼数を示した。

表 1 判定基準

対象疾病	検査法	測定物質	判定基準値	
			疑陽性	緊急に精密検査が必要
フェニルケトン尿症	HPLC	Phenylalanine (Phe)	$\geq 2.0\text{mg/dl}$	
ホモシスチン尿症	HPLC	Methionine (Met)	$\geq 1.0\text{mg/dl}$	
メイプルシロップ尿症	HPLC	Leucine (Leu)	$\geq 3.0\text{mg/dl}$	$\geq 7.0\text{mg/dl}$
ガラクトース血症	Microplate 酵素法 ボイトラー法	Galactose (Gal) Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase	$\geq 3.0\text{mg/dl}$ 蛍光がない	Gal 3.0mg/dl 以上で ボイトラー法で蛍光がない
先天性甲状腺機能低下症	ELISA	Thyroid-Stimulating Hormone (TSH)	$\geq 8.0\mu\text{U/ml}$	$\geq 30\mu\text{U/ml}$
先天性副腎過形成症	ELISA	17- α -Hydroxy Progesterone (17-OHP)	直接法 $\geq 10\text{ng/ml}$ 抽出法 (H20.4～5) $\geq 3.0\text{ng/ml}$ (H20.6～) $\geq 4.0\text{ng/ml}$	直接法 10ng/ml 以上で 何らかの症状がある 抽出法 $\geq 10\text{ng/ml}$

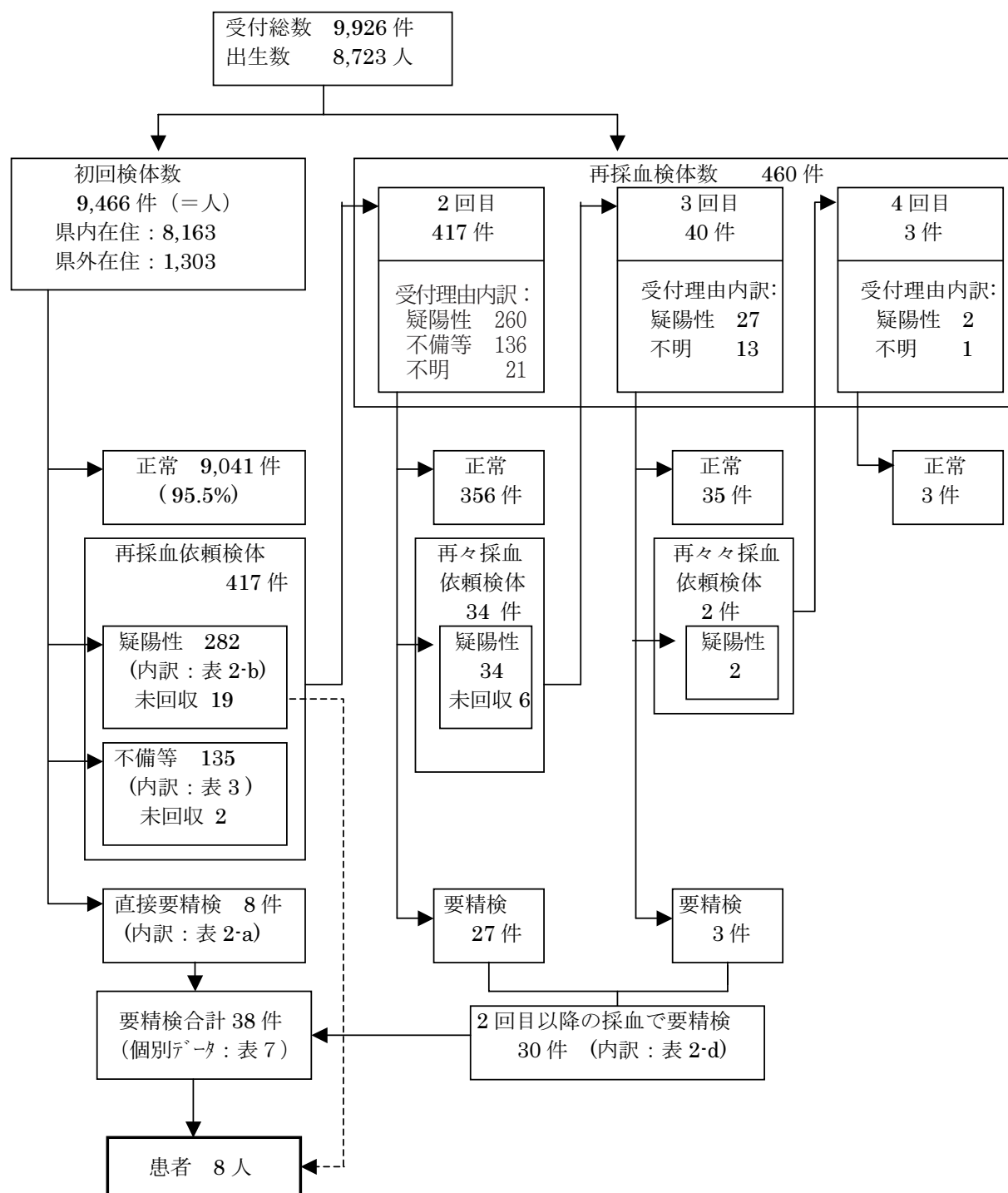


図1 検査の流れおよび検査件数の概要

再採血率は代謝異常症4疾患で0.5%，クレチン症と副腎過形成症はそれぞれ1.4%となり，合計3.3%であった。なお，再採血率の目安は代謝異常症4疾患で0.5%程度，クレチン症は0.5～1.0%，副腎過形成症は0.3～0.5%で6項目合わせて2%程度が適当とされている[7]。これに比較すると，副腎過形成症の再採血率が2～3倍高いが，表2に示したように，疑陽性で再採血依頼した例のうち約半数が，17-OHPが高値となりやすい低出生体重

児であったためと考えられた。

また，1検体で2疾患が重複して疑陽性となった検体が5件あった。内訳は，フェニルケトン尿症とホモシスチン尿症が1件，フェニルケトン尿症とガラクトース血症が1件，ホモシスチン尿症と副腎過形成症が1件，メイプルシロップ尿症と甲状腺機能低下症が1件，甲状腺機能低下症と副腎過形成症が1件であった。

疑陽性のため再採血を依頼した件数は合計318件で，

表2 疑陽性による再採血依頼数および要精密検査検体数の内訳

	採血回数					総受付検体 〔 〕:患者数		
	初回			2回以上				
	直接精査	疑陽性による 再採血依頼数	再採血率 (%)	要精検数	疑陽性による 再採血依頼数	要精検合計 〔患者数〕	疑陽性 総件数	再採血率 (%)
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)=(a)+(d)	(g)=(b)+(e)	(h)
フェニルケトン尿症	0	3	0.03	3	1	3	4	0.04
ホモシスチン尿症	0	1	0.01	2	5	2	6	0.06
メイプルシロップ尿症	0	7	0.07	0	0	0	7	0.07
ガラクトース血症	0	24	0.25	4	5	4	29	0.29
先天性甲状腺機能低下症	2	136	1.44	14	4	16〔6〕	140〔2〕	1.41
先天性副腎過形成症 (うち低出生体重児数)	6 (4)	114 (45)	1.20	8 (4)	23 (16)	14 (8)	137 (61)	1.38
合計	8	285	3.01	31	38	39〔6〕	323〔2〕	3.25
《うち2疾患が重複している数》		《3》		《1》	《2》	《1》	《5》	

表3 疑陽性で再採血を依頼し回収できなかったが、病院で再検査され、患者と診断された例

症例1 (男児)	日齢	結果および経過
	5	総合病院小児科 NICU で採血
	6	検体受付 低体重児 (出生時910g) のため再採血要求 検査結果 TSH 1.27 $\mu\text{U}/\text{m l}$
	29	総合病院小児科 NICU で再採血 (採血時体重1138g)
	30	再採血検体受付 検査結果 TSH 11.6 $\mu\text{U}/\text{m l}$ 13.7
	36	検査結果連絡、再採血要求 担当医より連絡 先天性甲状腺機能低下症として治療中
症例2 (男児)	日齢	結果および経過
	5	総合病院産婦人科で採血
	6	検体受付 検査結果 TSH 10.2 $\mu\text{U}/\text{m l}$ 12.6
	8	検査結果の連絡、再採血要求 治療開始しているとの連絡
	26	総合病院小児科で再採血
	27	再採血検体受付 検査結果 TSH 1.6 $\mu\text{U}/\text{m l}$ 1.4

表4 疑陽性以外の理由による再採血依頼

不備理由	件数
3日以内に採血	5
血液量不足	6
古い	4
哺乳不良	15
低体重、哺乳不良	4
低体重	101
合 計	135

表5 月別検査実施状況

年		平成20年									平成21年			計
月		4	5	6	7	8	9	1 0	1 1	1 2	1	2	3	
受付検体総数（件）		810	835	737	884	830	1,008	884	754	725	937	740	782	9,926
内	初回検査数（件）	772	805	714	841	791	964	838	720	686	892	702	741	9,466
	再採血総数（件）	38	30	23	43	39	44	46	34	39	45	38	41	460
訳	再採血内訳													
	2回目	35	27	23	42	35	39	42	31	34	42	32	35	417
	3回目	3	3	0	1	4	5	3	3	4	3	5	6	40
	4回以上	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	3
疑陽性件数（要精検数）	フェニルケトン尿症	0	1	0	1(1)	1	0	0(1)	0	0	0	0	1(1)	4(3)
	ホモシスチン尿症	0	0	0	0	1	0	0(1)	1	0	0	4(1)	0	6(2)
	メイプルシロップ尿症	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	7
	ガラクトース血症	3	1	0	1	3(1)	3	1	0	4	3(1)	4	6(2)	29(4)
	先天性甲状腺機能低下症	11(4)	11(2)	9(1)	12(1)	11	16	17(3)	5	12(2)	13(1)	7(2)	16	140(16)
	先天性副腎過形成症	14	3	12(2)	14(3)	13(1)	12(1)	8(4)	9	13	16(1)	9	14(2)	137(14)
計		28(4)	16(2)	22(3)	29(5)	30(2)	31(1)	26(9)	15	30(2)	33(3)	25(3)	38(5)	323(39)

そのうち、平成21年6月16日現在293件の再採血検体を回収した。回収率は92.1%であった。

再採血を依頼しても1か月以上検体を送られてこない場合は再依頼しているが、疑陽性で再採血依頼し回収できなかった症例のうち、結果報告時には死亡していた例が1件、病院で再検査された例が5件あった。また、前述したように、病院での再検査の結果、先天性甲状腺機能低下症と診断された例が2例あった。この症例の結果および経過を表3に示した。その他の未回収検体のほとんどは、NICUや小児科からの送付された検体であり、これらについては医療機関でフォローアップされていると考えられる。

(3) 疑陽性以外の理由による再採血

表4に疑陽性以外の理由による再採血依頼数を示した。3日以内に採血された検体が5件、血液量が不足している検体が6件、採血後日数が経ち過ぎている古い

検体が4件（最長 13日）あった。

2,000g未満の低出生体重児については、①生後1か月時②体重が2,500gに達した時期③医療施設を退院する時期のうち、いずれか早い時期に再採血を依頼している[8]。今年度は105件に対して再採血を依頼した。このうち哺乳不良が4件あった。また、哺乳不良のみの検体は15件であった。

疑陽性以外の理由で再採血を依頼した検体の総数は135件で、このうち再検査できたのが133件（回収率98.5%）であった。

(4) 月および年度別推移並びに全国結果との比較

検査実施状況の月別比較、年度推移並びに全国集計との比較をそれぞれ表5、表6および表8に示した。

なお、全国集計は、特殊ミルク情報[9]より引用した。富山県における現在までの患者発見率は、検査対象の代謝異常症が1/9,000、甲状腺機能低下症が1/2,500、

表 6. 先天性代謝異常等検査実施状況

区分	受付総数	検査 実人員数	出生数	受検率	疑陽性数			要精検数		
期間	(件)	(人)	(人)	(%)	代謝 異常症	甲状腺 機能低下症	副腎 過形成症	代謝 異常症	甲状腺 機能低下症	副腎 過形成症
昭和52年度 ～54年度	29,229	28,450	39,688	71.7	262	—	—	6 (4)	—	—
昭和55年度 ～63年度	122,841	115,435	116,956	98.7	1,811	841	—	75 (27)	130(25)	—
平成元年度 ～14年度	161,613	151,296	142,021	106.5	2,190	2,104	1,341	138 (7)	381(63)	229(11)
平成15年度	11,046	10,374	9,509	109.1	52	134	98	8 (0)	25(4)	13(0)
平成16年度	10,582	10,003	9,168	109.1	30	112	90	4 (1)	16(4)	7(0)
平成17年度	10,382	9,827	9,079	108.2	33	131	123	8 (0)	26(13)	8(0)
平成18年度	10,216	9,711	9,445	102.8	39	135	95	5 (0)	25(6)	10(0)
平成19年度	10,067	9,550	9,326	102.4	64	136	118	6 (0)	22(8)	21(1)
平成20年度	9,926	9,466	8,723	108.5	46	140	137	9 (0)	16(8)	14(0)
計	375,902	354,112	353,915	—	4,527*	3,733	2,002	259*(39**)	641(131)	302(12)

() は、対象疾病患者数
*、**：昭和52年度～平成5年度分のヒスチジン血症の数（疑陽性137人、要精検39人、患者33人）を含む
* *：この他に対象疾病以外の患者17人あり（高フェニルアラニン血症11人、チロジン血症2人、G6PD 異常症2人、シトリン欠乏症2人）

表 8. 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	富 山 県		全 国	
期 間	平成20年度	昭和52年度～平成20年度	平成19年度	昭和52年度～平成19年度
受検者数	9,466人	354,112人	1,166,739人	39,093,547人
患者数, 発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率
患者数, 発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率
疾病名	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率
フェニルケトン尿症	0	5 1/ 70,800	19 1/ 61,400	517 1/ 75,600
ホモシスチン尿症	0	0	5 1/233,300	193 1/202,600
ヒスチジン血症	—	33 1/ 6,000 ¹⁾	—	2,200 1/ 9,600 ⁴⁾
メイプルシロップ尿症	0	1 1/354,100	2 1/583,400	78 1/501,200
ガラクトース血症	0	0	32 1/ 36,500	1,075 1/ 36,400
先天性甲状腺機能低下症	8 1/1,200	131 1/ 2,500 ²⁾	580 1/ 2,000	10,649 1/ 3,400 ⁵⁾
先天性副腎過形成症	0	12 1/ 17,500 ³⁾	76 1/ 15,400	1,404 1/ 16,500 ⁶⁾

1) 昭和52年度～平成 5年度 受検者数 197,180人 4) 昭和52年度～平成 4年度 受検者数 21,119,892人
2) 昭和55年度～平成20年度 受検者数 325,662人 5) 昭和54年度～平成19年度 受検者数 35,751,188人
3) 平成元年度～平成20年度 受検者数 210,227人 6) 昭和63年度～平成19年度 受検者数 23,097,570人

表7. 要精検患者の検査状況と結果 (1)

疾病名	症 例	患 者	性 別	日 齢	検査成績	診断名等
フェニルケトン尿症	1	*	男	5	Phe 2.03 mg/dl Gal 3.12 mg/dl 2.21 2.91	高フェニルアラニン血症 (軽症型疑い)
				10	Phe 2.57 mg/dl 2.58 2.54	
	2		女	5	17-OHP 11.94ng/ml 17-OHP 1.01ng/ml 直接法 12.61 抽出法 Phe 0.50 mg/dl Met 0.37 mg/dl	アミノ酸を主体とした栄養 による高アミノ酸血症
				101	Phe 2.30 mg/dl Met 8.80 mg/dl 2.84 10.53	
				166	Phe 2.90 mg/dl Met 6.61 mg/dl 2.62 6.63 2.51 6.69	
	3		男	5	Phe 2.16 mg/dl 2.27	経過観察中
				10	Phe 2.83 mg/dl 2.56	
ホモシチン尿症	2		女	5	Met 1.07 mg/dl 1.18	一過性高メチオニン血症
				11	Met 1.27 mg/dl 1.36	
ガラクトース血症	1		男	6	Gal 11.93 mg/dl ボイトラー法正常 14.89	異常なし
				8	Gal 16.48 mg/dl ボイトラー法正常 17.45	
	2		女	4	Gal 4.33 mg/dl ボイトラー法正常 4.46	異常なし
				13	Gal 3.82 mg/dl ボイトラー法正常 3.89 3.64	
	3		女	7	Gal 5.58 mg/dl ボイトラー法正常 5.57	異常なし
				21	Gal 5.30 mg/dl ボイトラー法正常 5.43 5.20	
				35	Gal 5.53 mg/dl ボイトラー法正常 5.35 4.98	
	4		男	5	Gal 3.85 mg/dl ボイトラー法正常 3.37	異常なし
				14	Gal 6.50 mg/dl ボイトラー法正常 6.31	
甲状腺機能低下症	1		女	5	TSH 9.34 μ U/ml 9.75	甲状腺機能低下症の疑い (治療開始)
				21	TSH 19.74 μ U/ml 18.03 17.99	
	2		女	4	TSH 10.00 μ U/ml 10.63	高TSH血症の疑い
				14	TSH 10.79 μ U/ml 9.77	
	3		女	6	TSH 8.06 μ U/ml 9.32	経過観察中
				12	TSH 11.19 μ U/ml	

表7. 要精検患者の検査状況と結果 (2)

疾病名	症 例	患 者	性 別	日 齢	検査成績	診断名等
甲状腺機能低下症	4		女	5	9.18 TSH 16.3 $\mu\text{U/ml}$ 13.7	高TSH血症、先天性甲状腺機能低下症疑い
				11	TSH 20.45 $\mu\text{U/ml}$ 23.84	
	5 *		男	5	TSH 173.76 $\mu\text{U/ml}$	先天性甲状腺機能低下症
	6		男	5	TSH 8.17 $\mu\text{U/ml}$ 8.73	高TSH血症（経過観察中）
				14	TSH 8.74 $\mu\text{U/ml}$ 8.54	
	7		女	4	TSH 8.88 $\mu\text{U/ml}$ 9.10	先天性甲状腺機能低下症疑いで通院中
				11	TSH 15.21 $\mu\text{U/ml}$ 14.71 14.22	
	8 *		女	5	TSH 9.36 $\mu\text{U/ml}$ 11.89	先天性甲状腺機能低下症
				13	TSH 11.46 $\mu\text{U/ml}$ 11.91	
	9 *		男	5	TSH 8.84 $\mu\text{U/ml}$ 10.06	先天性甲状腺機能低下症
				13	TSH 17.10 $\mu\text{U/ml}$ 18.47	
	10		女	5	TSH 9.3 $\mu\text{U/ml}$ 8.60	一過性高TSH血症
				12	TSH 11.79 $\mu\text{U/ml}$ 9.55 9.44	
	11 *		女	5	TSH 90 $\mu\text{U/ml}$ 以上	先天性甲状腺機能低下症
	12		女	5	TSH 9.41 $\mu\text{U/ml}$ 8.15	一過性高TSH血症
				33	TSH 13.26 $\mu\text{U/ml}$ 13.12 12.91	
	13		女	4	TSH 15.62 $\mu\text{U/ml}$ 15.54	先天性甲状腺機能低下症疑い
				8	TSH 19.35 $\mu\text{U/ml}$ 18.41	
	14		男	5	TSH 8.24 $\mu\text{U/ml}$ 8.29	一過性高TSH血症疑い（先天性甲状腺機能低下症否定できず）
				12	TSH 13.03 $\mu\text{U/ml}$ 12.34	
	15 *		男	5	TSH 10.19 $\mu\text{U/ml}$ 9.83	先天性甲状腺機能低下症
				15	TSH 9.52 $\mu\text{U/ml}$ 9.27 8.68	
	16 *		女	5	TSH 9.20 $\mu\text{U/ml}$ 9.10	先天性甲状腺機能低下症として治療開始
				16	TSH 14.75 $\mu\text{U/ml}$ 12.25	
先天性副腎過形成症	1		女	5	17-OHP 71.18ng/ml 17-OHP 29.98ng/ml 直接法 67.07 抽出法	異常なし 在胎週数 31 週 生下時体重 2014 g
	2		男	5	17-OHP 6.55ng/ml 17-OHP 5.03ng/ml	要経過観察

表7. 要精検患者の検査状況と結果 (3)

疾病名	症 例	患 者	性 別	日 齢	検査成績		診断名等
先天性副腎過形成症					直接法 7.1	抽出法	在胎週数 35 週 生下時体重 2240 g
	2		男	8	17-OHP 5.48ng/ml 直接法 5.63	17-OHP 5.43ng/ml 抽出法	要経過観察 在胎週数 35 週 生下時体重 2240 g
	3		男	6	17-OHP 18.61ng/ml 直接法 16.57	17-OHP12.82ng/ml 抽出法	経過観察中 在胎週数 30 週 生下時体重 1660 g
	4		男	7	17-OHP 67.16ng/ml 直接法 65.52	17-OHP22.93ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 31 週 生下時体重 1654 g
	5	女		5	17-OHP 9.85ng/ml 直接法 9.98	17-OHP 4.62ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 37.5 週 生下時体重 2760 g
				14	17-OHP 6.56ng/ml 直接法 6.47	17-OHP 4.29ng/ml 抽出法	
	6		男	6	17-OHP 27.45ng/ml 直接法 24.14	17-OHP14.89ng/ml 抽出法	早産児による偽陽性の疑い 在胎週数 33 週 生下時体重 2000 g
	7	女		5	17-OHP 10.39ng/ml 直接法 8.41	17-OHP 6.27ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 37 週 生下時体重 2660 g
				12	17-OHP 7.16ng/ml 直接法 7.3	17-OHP 6.41ng/ml 抽出法	
	8	男		5	17-OHP 3.34ng/ml 直接法		感染症で死亡 在胎週数 27.1 週 生下時体重 1022 g
				30	17-OHP 47.36ng/ml 直接法 42.84	17-OHP10.17ng/ml 抽出法	
	9		男	5	17-OHP 22.38ng/ml 直接法 29.03	17-OHP17.30ng/ml 抽出法	早産児、極低出生体重児のため 在胎週数 28.5 週 生下時体重 1078 g
	10		女	5	17-OHP 29.00ng/ml 直接法 34.05	17-OHP17.28ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 29 週 生下時体重 1446 g
	11	女		5	17-OHP 10.26ng/ml 直接法 10.33	17-OHP 3.69ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 28 週 生下時体重 1336 g
				51	17-OHP 11.23ng/ml 直接法 10.81 12.83	17-OHP 4.00ng/ml 抽出法	
	12	女		8	17-OHP 6.27ng/ml 直接法 8.93	17-OHP 4.91ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 35 週 生下時体重 1804 g
				17	17-OHP 11.78ng/ml 直接法 12.27 12.73	17-OHP 6.11ng/ml 抽出法	
	13	男		5	17-OHP 13.80ng/ml 直接法 17.53 TSH 1.58 μ U/ml	17-OHP 7.45ng/ml 抽出法	経過観察中 在胎週数 31 週 生下時体重 1522 g
				12	17-OHP 10.30ng/ml 直接法 9.02 TSH 3.0 μ U/ml	17-OHP 4.54ng/ml 抽出法	
				32	17-OHP 11.04ng/ml 直接法 12.58 TSH 10.44 μ U/ml 11.08	17-OHP 5.13ng/ml 抽出法	
	14		男	6	17-OHP 10.59ng/ml 直接法 8.75	17-OHP 4.89ng/ml 抽出法	先天性副腎過形成症の疑い 在胎週数 41 週

表7. 要精密検査者の検査状況と結果 (4)

疾病名	症例	患者	性別	日齢	検査成績				診断名等
先天性副腎過形成症	14		男	16	17-OHP 8.28ng/ml 直接法 8.91	17-OHP 4.11ng/ml 抽出法			生下時体重 4508 g 先天性副腎過形成症の疑い 在胎週数 41 週 生下時体重 4508 g

副腎過形成症が1/17,500である。全国の患者発見率と比較すると、甲状腺機能低下症の発生頻度が有意に高いといえる ($P<0.01$)。

2. 要精密検査者の検査結果

今年度の疑陽性人数は、代謝異常症が46人、甲状腺機能低下症が140人、副腎過形成症が137人であった。このうち、精密検査の必要が認められたのは、代謝異常症9人、クレチン症16人、先天性副腎過形成症14人であった。

表7に要精密検査者の検査状況と結果をまとめた。当所では、精密検査が必要となった場合には、スクリーニング結果連絡の際に、診断結果記入用紙を同封し、精密検査実施病院名、主治医名、精密検査結果及び診断名を記入し返送してもらうシステムをとっている。この回収率は、平成21年6月16日現在、68.4% (26例/38例) であった。また、診断結果記入用紙を回収できず、精密検査実施機関が不明の症例については、家庭訪問を行い、主治医への連絡により要精密検査者の状態を把握している担当の保健師に問い合わせることにより、情報を得た。表7には、主治医から報告された診断名及び保健師から得られた情報を記した。

また、当所では、要精密検査者のフォローアップ検体を受け入れているが、今年度の要精密検査者38例のうちでは、19例についてフォローアップ検査を行った。

(1) 代謝異常症

フェニルケトン尿症の疑いで3人、ホモシスチン尿症の疑いで1人、ガラクトース血症の疑いで4人が要精密検査となった。

フェニルケトン尿症の疑いの症例1は、Phe 値が2～3mg/dl で持続しており、高フェニルアラニン血症と診断された。診断後も定期的にフォローアップ検体が当所に送付されてきている。症例2は、日齢5の初回検査で17-OHP 値が直接法で10ng/ml 以上で高値となり再検査が必要となったが、2回目採血時(日齢101)には、Phe と Met が高値となったため、3回目の採血による再々検査を行った。その結果、Phe も Met も依然高値であり、フェニルケトン尿症及びホモシスチン尿症の2項目の疑いで要精密検査となった。この児は、小児科 NICU に入院中であり、結果報告時に主

治医より、腸切除のため特殊ミルクを使用しているための高アミノ酸血症との報告があった。

ホモシスチン尿症の疑いの症例1は、一過性と診断された。

ガラクトース血症の疑いの4症例とも異常なしと診断された。

(2) 先天性甲状腺機能低下症

要精密検査となった16人のうち、患者と診断されたのは、症例5, 8, 9, 11, 15, 16の6人であった。

このうち、初回検査で直接精査となったのは、症例5と11であり、いずれも先天性甲状腺機能低下症と診断され、日齢10以内には治療開始された。

症例1は、日齢21の再採血検体による再検査の結果 TSH 値は上昇しており、要精密検査となった。1か月時の検査でも TSH28.5 μ U/ml (血清), FT4 0.77ng/dl で、甲状腺機能低下症の疑いがあるということで治療が開始された。

症例4は、日齢11の再検査の結果で、TSH 値が20 μ U/ml 以上であり、要精密検査となった。日齢20の検査でも TSH 36.22 μ U/ml (血清), FT4 1.01ng/dl であり、継続フォローが必要とのことであった。

症例6は、日齢5の初回検査時も日齢14の再検査時も TSH の値にバラツキが認められた。表7には平均値で示したが、実際の測定値は初回検査時、再検査時のいずれも7～10 μ U/ml の間で変動した。判定基準値いわゆるカットオフ値 (8 μ U/ml) 前後の変動であったが、再検査で TSH 値の明らかな低下は認められなかったため、要精密検査とした。その結果、日齢35で TSH 13.81 μ U/ml (血清), FT4 1.10ng/dl であり、高 TSH 血症として経過観察中である。

症例12は、姉 (H17生) も同じように、先天性甲状腺機能低下症疑いで要精密検査となり、一過性高 TSH 血症と診断されている。

症例13は、再検査で TSH 値が高くなっており、要精密検査となった。1か月時の検査の結果では TSH 50.94 μ U/ml (血清) とさらに上昇、FT4 は1.0ng/dl であり、甲状腺機能低下症の疑いがあるとのことであった。

症例14は、日齢5の初回検査では、カットオフ値の8

考 察

$\mu\text{U/ml}$ をわずかに超える程度であったが、再検査では $10\mu\text{U/ml}$ 以上となり、要精密検査となった。1か月時では、TSH $24.44\mu\text{U/ml}$ （血清）、FT4 1.23ng/dl であり、先天性甲状腺機能低下症は否定できないが、一過性高 TSH 血症疑いとしてフォローアップされている。

症例15は、日齢15の再検査の結果、TSH 値は上昇していないものの、依然カットオフ値以上であったことから、要精密検査とした。その結果、TSH $18.19\mu\text{U/ml}$ （血清）、FT4 1.2ng/dl 、大腿骨遠位端骨端核がやや小さいことから、先天性甲状腺機能低下症として、日齢22より治療が開始された。

症例7及び症例16については、医療機関から情報を得ることができなかったため、所轄の厚生センター（保健所）の担当保健師に問い合わせた。保健師からの情報では、症例7については、先天性甲状腺機能低下症の疑いで通院中であり、症例16については、先天性甲状腺機能低下症として日齢25より治療を開始しているとのことであった。

(3) 副腎過形成症

要精検となった14人のうち、8人が $2,000\text{g}$ 未満の低出生体重児であった。

症例2は、日齢8の再検査時でも17-OHP は抽出法で 5.4ng/ml と低下せず、要精密検査の連絡をしたが、1か月健診時まで小児科を受診しなかった。日齢34でようやく小児科を受診し、検査されたが、17-OHP 値は 5.4ng/ml であり、臨床症状はないが、先天性副腎過形成症は否定できないとのことで経過観察されている。

症例8は、初回検査では、17-OHP 直接法で 3.34ng/ml と正常値であったが、出生時体重 1.022g の低体重児のために要再検査となった。日齢30で再採血された再検査の結果で、17-OHP が抽出法で 10ng/ml 以上となり、要精密検査となったが、その結果連絡時（日齢34）には感染症で死亡したとのことであった。

3. 精度管理

精度管理センターから毎月10件ずつ送付されてくる精度管理検体については、アミノ酸、ガラクトース、TSH、17-OHP の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、見逃しはなかった。また、事務処理上の記入もれ、記入間違いもなかった。

また、昨年度に引き続き、ブラインドサンプルによる外部精度管理[10, 11]を実施した。今年度は、2検体が2か所の病院から送付された。これらについては、異常項目を見逃すことなく発見し、迅速に確実に病院に連絡した。

富山県では、全国に比べ、先天性甲状腺機能低下症の患者の発見率が高くなっているが、表7に示した診断名は当所に報告があった時点のものであり、確定診断されるまでに時間を要する疾患であるため、表8に示した患者数が、真の患者数を反映しているかどうかは確かではない。一時的に治療されていてもその後は機能が正常化し一過性と診断される例や疾患の疑いとして治療しながら経過を追っている例もあり、今後、新たに調査すると患者数の増減があると考えられる。真の患者数を把握するためには、継続的なフォローアップ体制の構築が必要である。そのためには、関係機関相互の連携を強化し、密な連絡体制のもとで、それぞれの情報を共有できるような追跡調査システムでなければならないと考えられる。

また、今年度は、先天性副腎過形成症の疑いが認められたため、日齢13の時点で要精密検査の連絡を医療機関に行ったが、医療機関の判断により小児科受診が日齢34時点と遅れてしまい、臨床症状はないものの疾患を否定できず経過を追っている例があった。このような例も、関係機関の連携を密にすることにより、早期に小児科受診はできたと考えられた。

新生児マス・スクリーニングに携わるのは、医師、看護師、助産師、検査担当者その他、保健師の役割も大きく[12]、これらが連携して、密に連絡を取り合い、継続的に追跡調査ができるようなスクリーニング体制の早急な整備が必要である。

文 献

1. 米田 豊, 九曜雅子(2004). 日本マス・スクリーニング学会誌, 14(3), 29-39.
2. 米田 豊(2007). 日本マス・スクリーニング学会技術部会第25回研修会資料, 基礎講座.
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. 米田 豊, 九曜雅子(2005). 富山衛研年報, 28, 23-32.
5. 美澄博雄, 高坂睦年, 和田 洋, 川上幹子, 二宮福子, 末石照香, 市場洋三(1980). 代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 46-47.
6. 米田 豊(1999). 富山衛研年報, 22, 54-57.
7. 市原 侃, 鈴木 健, 青木菊麿(1998). 日本マス・スクリーニング学会誌, 8 Supplement 2, 73-81.
8. 猪股弘明, 楠田 聡, 大関武彦, 藤枝憲二, 山口清次, 黒田泰弘, 戸苅 創(2006). 日本マス・ス

平成21年12月 1 日

クリーニング学会誌, 16(3), 6-7

9. 先天性代謝異常検査等検査状況 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課(2008). 特殊ミルク情報, 44, 81-83
10. 原田正平(2007). 平成18年度厚生労働科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)分担研究報告書, 161-164.
11. 鈴木恵美子, 渡辺倫子, 前田昌子, 成瀬 浩, 望月孝一, 山上祐次, 安片恭子, 田崎隆二, 九曜雅子, 園山京子, 吉井千代子, 平原史樹, 加藤忠明, 松井 陽, 原田正平(2008). 平成19年度厚生労働科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)総括・分担研究報告書, 123-126.
12. 大浦敏博, 原田正平, 宮寄雅則, 吉田智子, 山口清次, 成瀬 浩(2009.2). 公衆衛生情報, 39(2), 6-20.

ボイトラー試験陽性例における異常酵素の確認法

米田 豊 九曜 雅子

Qualitative Method of Abnormal Enzyme for the Positive Case of Beutler Test

Yutaka YONEDA and Masako KUYO

要 旨 ガラクトース血症 I 型の原因酵素であるガラクトース-1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ(GALT)活性を調べるボイトラー試験では、GALT 以外のガラクトース代謝に関連する3種の酵素の活性低下でも、陽性になる。従って、ボイトラー試験が陽性の場合、確認試験が必要である。今回、初回採血時はボイトラー試験陽性で、再採血時は陰性の検体に遭遇したことから、ボイトラー試験法を改良し、GALT 活性の確認を行った。本法は、簡易な GALT 活性の確認試験であると共に、グルコース-6-リン酸脱水素酵素(G6PD)スポット試験としても利用可能である。

ガラクトース血症の新生児マス・スクリーニングで用いられるボイトラー試験[1]は本来の検査対象酵素である galactose-1-phosphate uridyltransferase (GALT) の他、その代謝下流域で働く phosphoglucomutase (PGM), phosphohexose isomerase (PHI) 及び glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) の活性低下でも、酵素反応が阻害されボイトラー試験陽性となる (図1)。従ってボイトラー試験陽性の場合、これらの関連酵素活性と GALT 活性との鑑別が重要となる。G6PD の検査法としては3 (4, 5 dimethylthiazolyl 1-2)2, 5 diphenyltetrazolium bromide (MTT) のフォルマザンが呈する紫色を観察するスポット法[2], NADPH の蛍光を観察する方法[3]およびその改良法[4]が報告されているが、上記の4種の酵素が関連するボイトラー法の確認試験を目的とした方法は見当たらない。今回、ボイトラー法の試薬原液を利用し、基質の組合せを変更することで、GALT の他、PGM, PHI 及び G6PD 活性を調べる簡易な確認試験法の検討を行った。また、本法を初回採血時 (日令5) にボイトラー法陽性で、再採血時 (日令10) に陰性となった新生児検体についても適用した。

実 験 方 法

1 試薬

uridine-5'-diphosphoglucose (UDPG) はシグマ社 U4525, α -D-ガラクトース1リン酸2ナトリウム5水和物 (Gal-1P) はシグマ社 G0380, グルコース-6-リン酸ナトリウム塩はシグマ社 G7879 を用い、NADP2 ナトリウム (NADP) はロッシュ社 128058 を用いた。サポ

ニンは ICN バイオメディカル社 102855 を用いた。

1% サポニン溶液：サポニン 250mg を 0.75M トリス緩衝液 (pH8.0) 25ml に溶解後、ろ過して用いた。

また、各検査試液 (ボイトラー法, A 法, B 法, CD 法及び E 法) の調製法は表1及び2にまとめた。なお、ボイトラー法の検査試液は表3に示す簡易調製法により調製した。

ガラクトース測定キットはシーメンス社製エンザプレート GAL-R を用いた。

2 装置

蛍光はアズワン社製 UV 照射装置 SL UV-6 を用いて観察した。

3 操作法

予め行ったボイトラー試験で異常の認められなかった正常検体20検体 (No71501-71520) 及び初回採血時にボイトラー試験が陽性となった検体 (No71329) 並びに同児の再採血検体 (No71411) を用い、1/8 インチ径に打ち抜いた濾紙血液1枚をマイクロプレートに入れボイトラー法, A 法, B 法, CD 法及び E 法の検査試液を各々 100 μ l ずつ添加し、37°C, 3 時間反応後、通常のボイトラー法の手法で蛍光を観察した。

実 験 結 果

表4に示すように、正常検体では A 法, B 法, CD 法及び E 法のいずれの方法でも、蛍光が観察された。児 A の初回採血検体では A 法のみ、蛍光が認められず B 法, CD 法及び E 法で蛍光が認められることか

平成21年12月 1 日

ら、GALT 活性の低下により、ボイトラー法陽性となったことが、確認できた。また、児 A の再採血検体では、A 法、B 法、CD 法及び E 法並びにボイトラー法共陰性を示したことから、一過性の GALT 活性低下と考えられた。

考 察

GALT 活性の有無を調べるボイトラー試験は図 1 に示すように、GALT、PGM、PHI 及び G6PD の 4 種の酵素を介して、生成される NADPH の蛍光を観察する方法であるため、ボイトラー試験が陽性であることが、直接 GALT 活性の低下を意味しない欠点がある。そこで、ボイトラー法の基質を表 1 及び表 2 のように組み合わせて検査を行い、全体像から活性低下酵素を調べた。 α -G1P(図2)は単体の試薬が入手可能であるが、1位の炭素の立体配置の異なる α -G6P 及び β -G6P(図3)は単体試薬としては存在しないため、D-G6P を用いた。また、ボイトラー法の専用試薬は、かつては市販されていたが、現在は製造中止されているため、自家調製する必要がある。個々の保存試薬原液を混合し、ボイトラー試験溶液を調製している。従って、この調製段階で基質の種類を選択し、試薬調製を行うことは比較的容易であり、本法は日常検査への導入は容易と考えられる。

文 献

- 1) Beutler E, Baluda M.C. (1996), J. Lab. Clin Med 68, 137-141.
- 2) Fairbanks V.F., Beutler E.(1962). Blood 20, 591-601.
- 3) Beutler E. (1966). Blood 28,553-562
- 4) Beutler E., Mitchell M. (1968). Blood 32, 816-818
- 5) 米田 豊, 九曜雅子 (2007). 日本マス・スクリーニング学会誌 17(3)53-58.

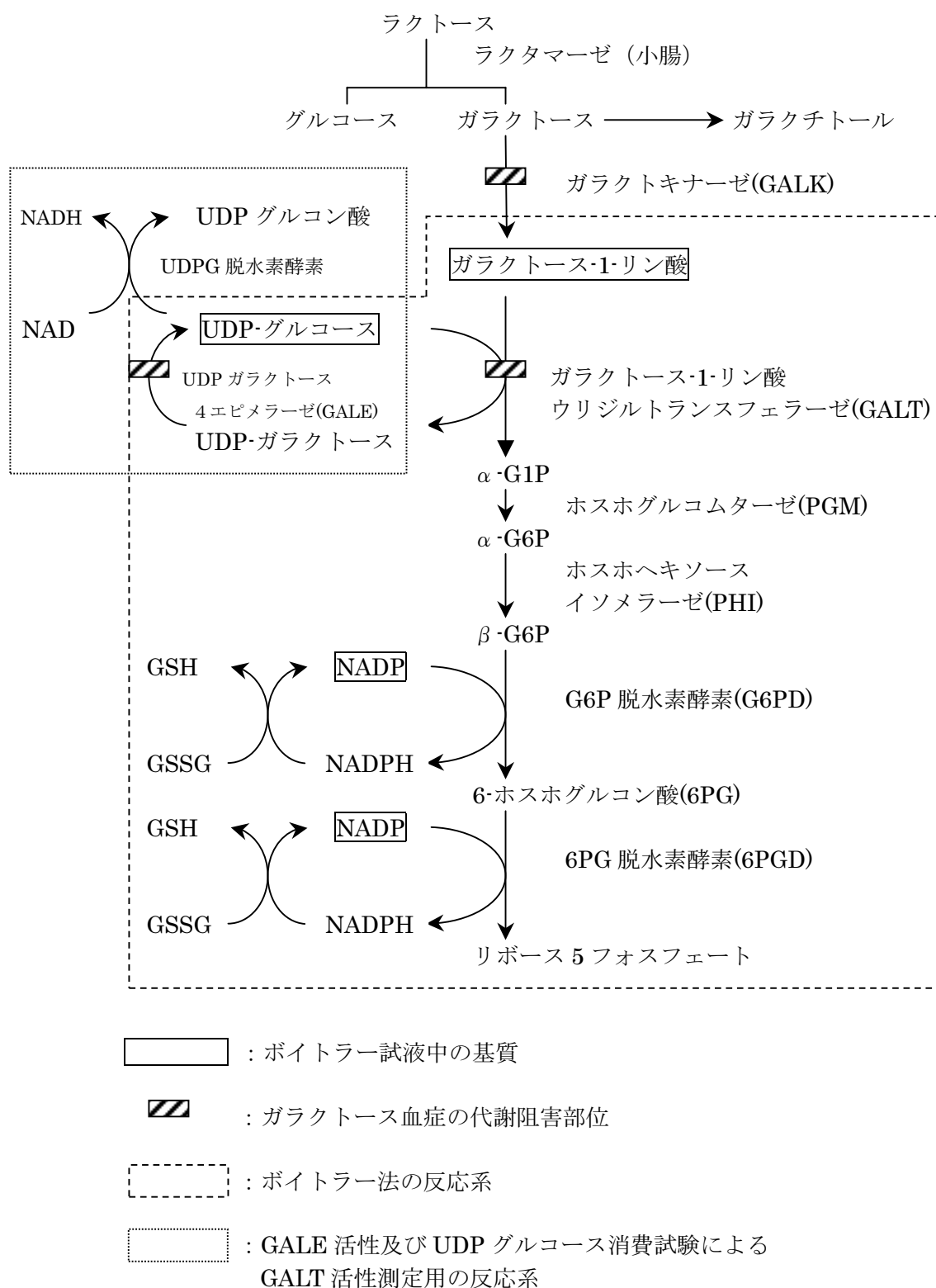


図1 ボイトラー法の原理

表 1 試験溶液中の基質と検査対象酵素

測定法名	A 法	B 法	C 法	D 法	E 法
	ボイトラー法		CD 法		
基質	Gal-1-P UDPG	α -G1P	α -G6P	β -G6P	6PG
			D-G6P		
検査対象 酵素	GALT				
	PGM	PGM			
	PHI	PHI	PHI		
	G6PD	G6PD	G6PD	G6PD	
					6PGD

表 2 試薬の組成

	物質名	原液濃度 (mM)	原液混合比				
			ボイト ラー法 (簡易法)	A 法	B 法	CD 法	E 法
基質 1	UDPG	5.7	1.0	1.0	—	—	—
	Gal-1-P	32.4	1.0	1.0	—	—	—
	α G1P	30		—	1.0	—	—
	G6P	30		—	—	1.0	—
	6PG	30		—	—	—	1.0
基質 2	NADP	11.9	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
その他	トリス緩衝液	750	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	サポニン溶液	(1%)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	EDTA 溶液	27	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	精製水		7.9	19.9	20.9	20.9	20.9
	全量		18.0	30.0	30.0	30.0	30.0

表 3 ボイトラー試薬の組成

	物質名	簡易調製法			オリジナルの調製法		
		原液濃度 (mM)	原液 混合比	最終濃度 (mM)	原液濃度 (mM)	原液 混合比	最終濃度 (mM)
基質 1	UDPG	5.7	1.0	0.32	9.5	0.2	0.32
	Gal-1-P	32.4	1.0	1.8	27	0.4	1.8
基質 2	NADP	11.9	1.0	0.66	6.6	0.6	0.66
その他	トリス緩衝液	750	6.0	250	750	2.0	250
	サポニン溶液	1(%)	1.0	(0.056%)	1(%)	0.8	(0.13%)
	EDTA 溶液	27	0.1	0.15	27	0.03	0.135
	精製水		7.9			1.97	
	全量		18.0			6.0	

表4 検査結果パターンと結果の判定 ●：蛍光なし，○：蛍光あり

	測定法名	A 法	B 法	CD 法	E 法	備考
理論 パターン	正常検体	○	○	○	○	
	異常例 1	●	○			GALT 失活
	異常例 2		●	○		PGM 失活
	異常例 3			●	○	G6PD 失活
	異常例 4				●	6PGD 失活
実測 パターン	正常検体	○	○	○	○	No71501・71520 (20 検体)
	No71329	●	○	○	○	児 A の初回採血検体
	No71411	○	○	○	○	児 A の再採血検体

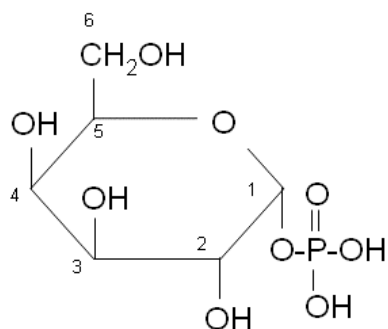


図2 D-α-G1P

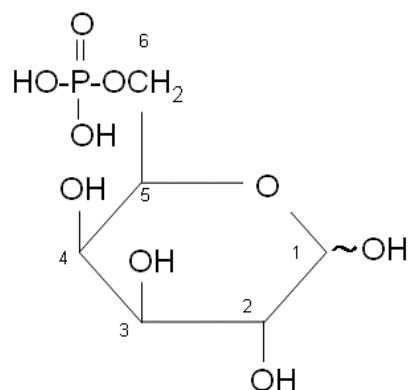


図3 D-G6P

ヒト染色体に関する調査研究 ―血液― (平成20年度)

林 美貴子 品川 保弘 本田 幸子 前多 隆志

Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells

Mikiko HAYASHI, Yasuhiro SHINAGAWA, Sachiko HONDA and Takashi MAEDA

要 旨 平成20年度の血液（皮膚組織含む）の染色体検査依頼数は51件、染色体異常数は5件であった。依頼理由は「流産を繰り返す夫婦」が最も多く、75%をしめた。染色体異常の内訳は均衡転座保因者が3件、ダウン症候群が1件とウィリアムズ症候群1件であった。

当所では富山県総合母子保健対策の一環として、先天異常の発生原因を明らかにし、その発生を減少させる目的で染色体分析法の研究を行うとともに昭和48年から染色体検査を行ってきた。

一般に出生児の約0.6%が何らかの染色体異常を有すると報告されている[1]。これを富山県に単純に当てはめると年間出生数1万人に対し、約60人の染色体異常児が毎年出生することになる。さらに年々加算されていくことを考えるとこれは母子衛生上大きな位置を占めると考えられている。上記の0.6%のなかには性染色体異常（ターナー症候群やクラインフェルター症候群等）のように新生児時期には発見困難なものや、均衡転座保因者のように流産の原因検索の際に発見されるものもある。また、遺伝相談の普及や、不妊治療の発達に伴った染色体検査も増加している現状である。また、高精度分染法の発達や染色体の部分や特定の遺伝子近傍のDNAプローブを用いた蛍光 in situ ハイブリダイゼーション（FISH）法等の開発により、最近の染色体分析技術は従来に比較し、著しく向上してきている。

ここに、平成20年度の検査内容について報告する。

実 施 方 法

主に県内の病医院より染色体検査依頼のあった末梢血液（ヘパリン採血）を通常の方法により、3～4日間培養し、染色体標本作製した[2]。また、染色法は通常のG分染法と高精度分染法[3]を併用した。核型分析は中期分裂像を5個以上、数の分析は20個以上について行った。性染色体異常を疑われた場合はモザイクの可能性を考え、観察数を50個以上に増やした。また、FISH法はモザイクおよび微細な異常が疑われた場合に併用した。

平成20年度の染色体検査依頼数は51件で、依頼病院内訳は表1に示した。

結 果

平成20年度の依頼数は血液50件（人）と皮膚組織1件の51件であった。最も多い依頼理由は「流産を繰り返す夫婦」で38件であった。その他は胎児に異常が認められたため、低身長（ターナー症候群の疑い）等であった。うち、染色体異常は均衡転座保因者3人、ダウン

表 1. 染色体検査依頼病院（平成20年度）

病 院	血 液	皮 膚 組 織
富山大学附属病院	21	
富山赤十字病院	12	
済生会富山病院	8	
済生会高岡病院	4	
レディースクリニックむらた	3	
富山市民病院	2	
富山県立中央病院	0	1
計	50	1

表2. 血液の染色体検査依頼理由と結果

依頼理由	検査数	判定数	異常数	症例
流産を繰り返す夫婦	38	38	2	症例1,2
内訳 流産1回		4	4	
流産2回		16	16	1
流産3回		4	4	
生産児1人と流産2回		2	2	
生産児1人と流産3回		10	10	1
生産児1人と流産6回		2	2	
胎児に異常の疑いがあるため	5	5	1	症例3
低身長等	1	1	0	
ダウン症候群の疑い	1	1	1	症例4
ウィリアムズ症候群の疑い	1	1	1	症例5
同上両親（遺伝相談のため）	2	2	0	
軽度発達遅滞	1	1	0	
新生児奇形	1	1	0	
計(人)	50	50	5	

表3. 流産回数と染色体異常の有無

児の有無 流産回数	児無し			児有り		計 人	異常率
	夫婦	夫のみ	妻のみ	夫婦	妻のみ		
1	56 (1)		2	12		70 (1)	1.43%
2	478 (12)	1	3	94 (4)	1 (1)	577 (17)	2.95%
3	210 (13)	1	4 (1)	90 (5)	1	306 (19)	6.21%
4	34 (3)			18		52 (3)	5.77%
5	6		1	6	1	14 (0)	0.00%
6	4			4		8 (0)	0.00%
7	2					2 (0)	0.00%
8	4					4 (0)	0.00%
計 人	794 (29)	2 (0)	10 (1)	224 (9)	3 (1)	1,033 (40)	3.87%

() 内染色体異常数

症候群1人とウィリアムズ症候群1人の計5人であった(表2)。皮膚組織は性染色体異常症例の確認であったが、正常核型だった。各症例の核型分析結果と臨床症状の概要は下記のとおりである。

症例1. 均衡転座保因者(夫)

核型；46,XY,t(2;14)(q35;q22) (図1)

既往歴；自然流産2回(1回目不明, 2回目7週)

第2回目の流産胎児の核型；46,XX

妻；正常核型

症例2. 均衡転座保因者(妻)

核型；46,XX,t(5;10)(p14;q11.2) (図2)

既往歴；生産1, 自然流産3回(初期)

夫；正常核型

症例3. ロバートソン転座保因者(妻)

核型；45,XX,der(13;14)(q10;q10) (図3)

既往歴；初回妊娠, 胎児(31w)全前脳胞症疑いあり

胎児の核型；46,XY,der(13;14)(q10;q10),+13,mat
(転座型13トリソミー)

夫；正常核型

症例4. ダウン症候群(生後5日女児)

核型；47,XX,+21

症状；出生時, 在胎38週1日, 2,472g, 特徴的な顔ぼう等

表4. 流産を繰り返す夫婦中染色体異常のあった40例の核型と既往歴

No.	核型	検査時既往歴
夫		
1	45,XY,der(13;14)(q10;q10)	流産 2
2	46,XY,t(1;4)(q11;p15.2)	流産 2
3	46,XY,t(1;7)(q42;q32)	生産 1 ・ 流産 3
4	46,XY,t(1;7)(q45;q11)	流産 3
5*	46,XY,t(1;12)(q42;p13)	生産 1 ・ 流産 6 ・ 妊娠中
6	46,XY,t(1;12)(q42;p13)	生産 1 ・ 流産 3
7	46,XY,t(1;12)(q42;q14)	流産 1
8	46,XY,t(2;14)(q35;q22)	流産 2
9	46,XY,t(3;6)(q29;p22)	流産 3
10	46,XY,inv(9)(p11q13),t(4;10)(q31;q25)	流産 3
11	46,XY,t(4;15)(q12;q24)	流産 2
12	46,XY,t(4;18)(q31.3;q21.3)	流産 2
13	46,XY,t(5;16)(p13;p13)	生産 2 ・ 流産 3
14	46,XY,t(8;14)(p11;q32)	流産 4
15	46,XY,t(8;15)(q11.2;q15)	流産 3
16	46,XY,t(8;21)(q24.2;q21.2)	流産 4
17	46,XY,inv(8)(p21q24.2)	流産 4
18	46,XY,t(9;17)(q34.1;q21)	流産 2
19	46,XY,t(11;14)(p15.5;q32.1)	流産 2
20	46,XY,t(14;20)(q24;q13.1)	流産 4
21	46,XY,t(14;20)(q24;q13.1)	流産 2
妻		
1	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	生産 1 ・ 流産 2 ・ 妊娠中
2*	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	生産 1 ・ 流産 6 ・ 妊娠中
3	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	生産 1 ・ 死産 1 ・ 流産 3 ・ 妊娠中
4	45,XX,der(13;21)(q10;q10)	流産 2
5	45,XX,der(14;21)(q10;q10)	生産 1 ・ 流産 3
6	46,XX,t(1;15)(q42;q26)	流産 2
7	46,XX,t(3;4)(p13;p16)	流産 3
8	46,XX,t(3;10)(q29;q22)	流産 3
9	46,XX,t(3;13)(q25;q11.2)	流産 4
10	46,XX,t(3;21)(q27;q11.2)	流産 2
11	46,XX,t(4;15)(q33;q15)	生産 3 ・ 流産 2
12	46,XX,t(5;10)(p14;q11.2)	生産 1 ・ 流産 3
13	46,XX,t(5;12)(p14;p12)	胎児死亡 2
14	46,XX,t(7;20)(p23.1;q11.2)	流産 3
15	46,XX,t(8;15)(q11.2;q26.1)	流産 2 ・ 死産 1
16	46,XX,t(10;18)(q23;q11.2)	流産 3
17	46,XX,t(12;19)(p13.1;p13.1)	流産 2 ・ 妊娠中
18	47,XXX	流産 2 ・ 胎児死亡 1
19	47,XX,+mar	流産 2

* ; 夫婦

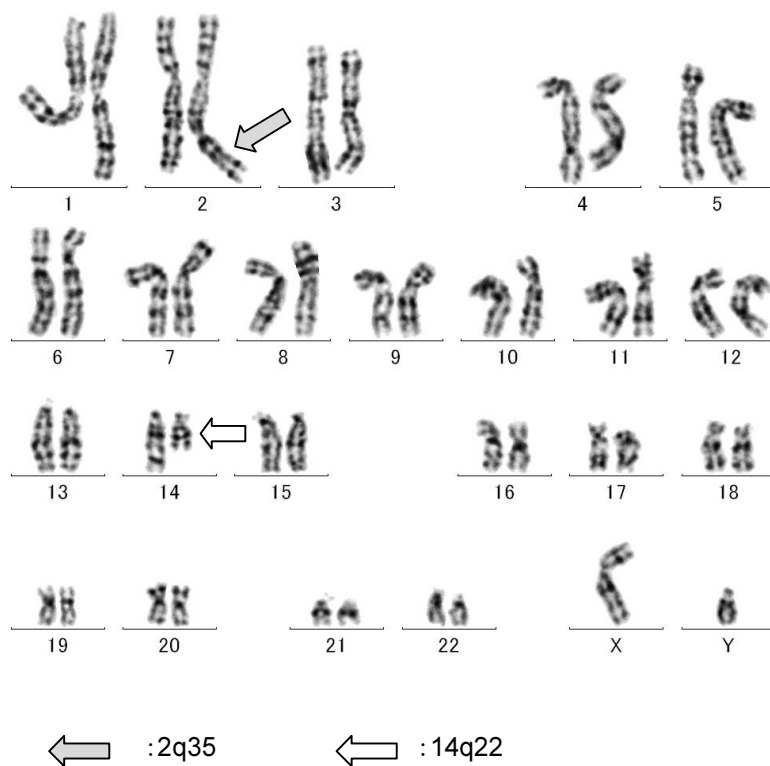


図1. 症例1の核型 46,XY,t(2;14)(q35;q22)

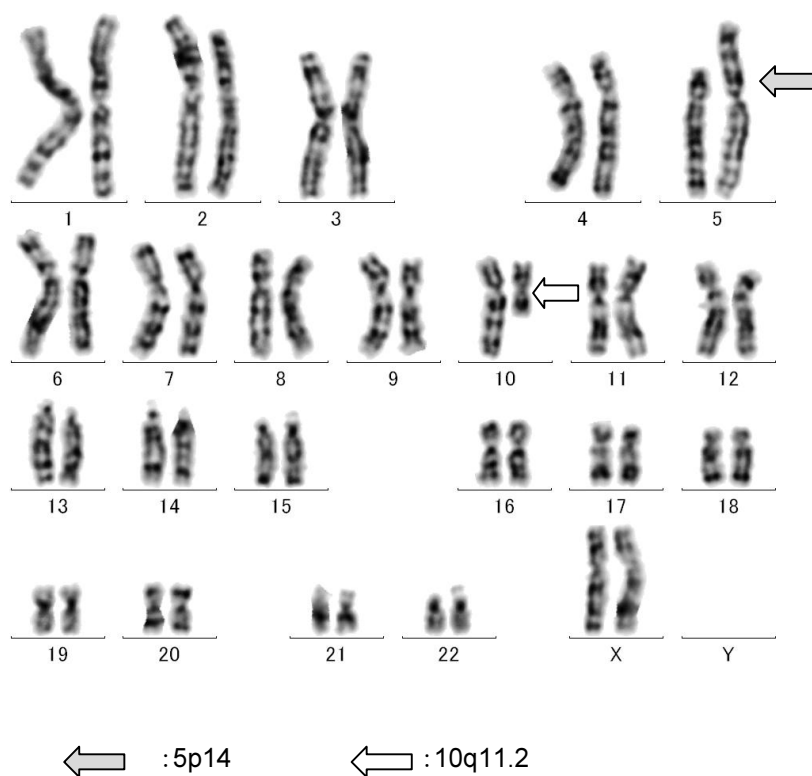


図2. 症例2の核型 46,XX,t(5;10)(p14;q11.2)

平成21年12月 1 日

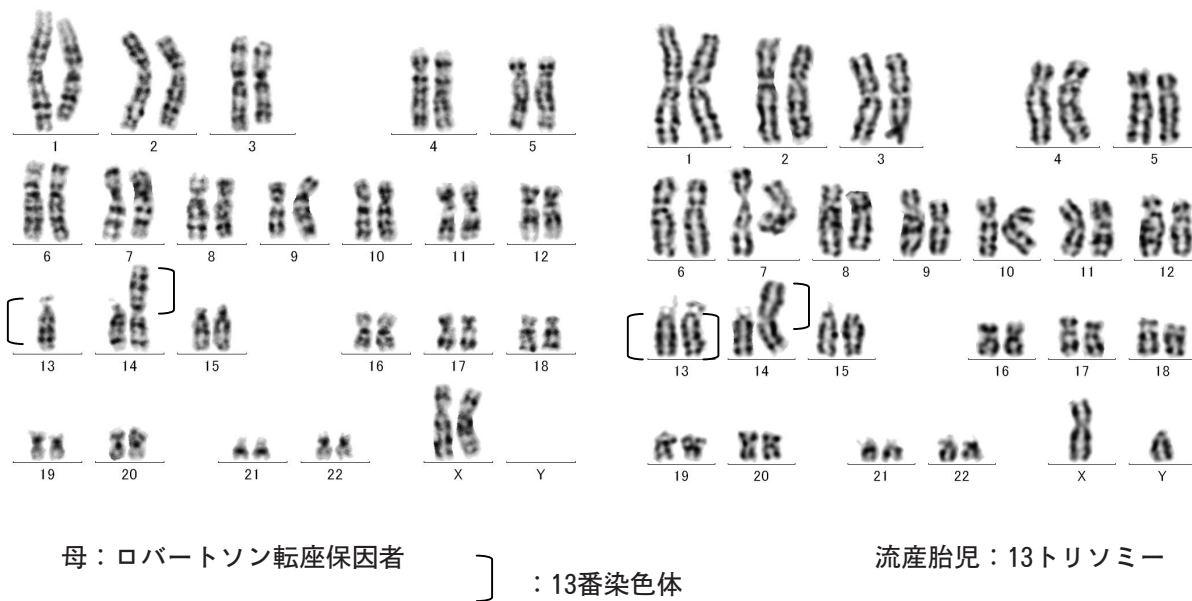


図3. 症例3の核型
母 : 45,XX,der(13;14)(q10;q10)
流産胎児 : 46,XY,der(13;14)(q10;q10),+13,mat

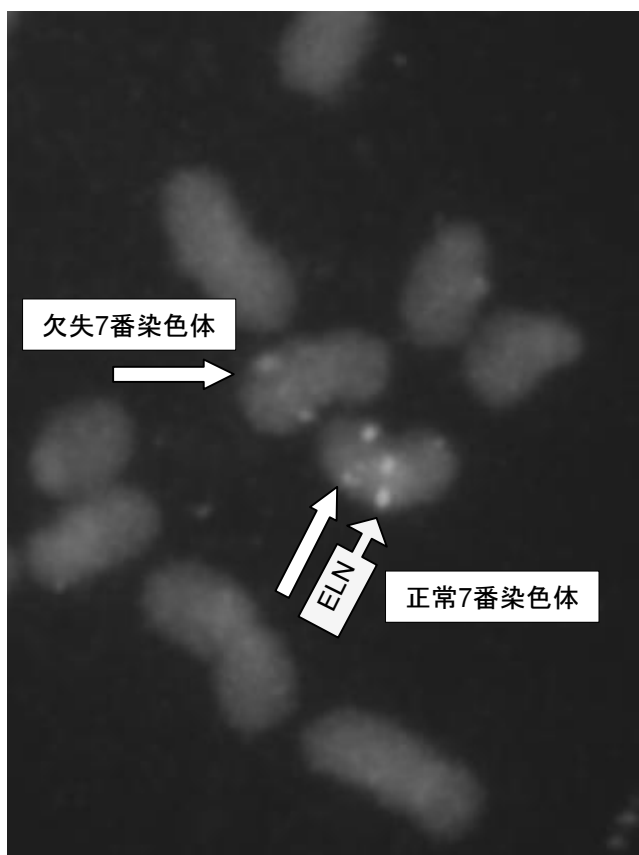


図4. 症例5の核型 46,XY,ish del(7)(q11.23q11.23) (ELN-)

症例5. ウィリアムズ症候群 (4ヶ月男児)
 核型; 46,XY,ish del(7)(q11.23q11.23)(ELN-)
 7q11.23部分の微小欠失 (エラスチン遺伝子の欠失) (図4)
 両親; 正常核型, エラスチン遺伝子の欠失無し

考 察

近年、当所における検査依頼理由の中で最も多いものは「流産を繰り返す」であり、今年度は依頼理由中の78%を占めたが、過去を含めた全体では約52.3%になった。これは染色体検査が当初、先天異常児の原因追求のために行われることが多かったのに対し、最近では生まれる前、挙児を望むための検査が多くなってきたためであり、これには近年の少子化、晩婚化の影響もあると考えられた。

流産回数と染色体異常の有無について、過去の検査結果を表3にまとめた。判定可能であった1,033人中40人に染色体異常が発見され、異常率は3.87%になった。夫婦単位にすると524組中39組、つまり、13.4組に1組が染色体均衡転座保因等を理由とした、染色体異常が確認された40人は男性21人：女性19人と男女ほぼ同じ割合であった。また、2回流産を経験した時点で染色体検査を受けている人が最も多く、約55.9%を占め、次いで3回流産を経験した時点では約29.6%を占めた。流産歴2～4回に染色体異常のある人は集中していた。その染色体異常の核型と流産歴については表4に示した。一般に流産を繰り返す夫婦（不育症）で発見される染色体異常の男女比は1:2とされることが多いが [4]、当所での検査では年々ほぼ同数で推移していた。その

ため、女性の方に染色体異常が多いという偏見をなくし、夫婦同時の染色体検査を受けることが望まれた。また、流産を繰り返す（不育症）理由が染色体均衡転座保因者による場合は他の理由が原因であるよりも児を得る可能性が高いといわれているため、不育症夫婦の染色体検査を行うことは今後の妊娠指導や遺伝相談に大きな役割を果たすものと考えられた。

また、染色体異常の確定診断は人や家族に大きな影響を与えるため、染色体検査に基づいて行われるものであり、重要な臨床検査として位置づけられている。そのため、日本人類遺伝学会では平成6年度より、臨床細胞遺伝学認定士制度を設け、人材育成に積極的に携わっている。当所では2人が臨床細胞遺伝学認定士として認められ、その認定士の中からさらに指導士として2人とも委嘱されている現状である。

謝 辞

各症例の臨床像のご提供と採血に対しご協力いただきました方々に深謝いたします。

文 献

1. 大濱紘三, 三春範夫 (1996). 染色体異常の発生頻度, 64-74, 臨床染色体診断法, 金原出版.
2. 林美貴子, 本田幸子, 大江浩, 北村敬 (2001). 富山衛研年報, 24, 56-60.
3. Yunis, J. J., Sawyer, R. and Ball, D. W. (1978). Chromosoma, 67, 293-307.
4. De Braekeleer MD, Dao TN (1990). Hum. Reprod., 5, 519-528.

ヒト染色体に関する調査研究 ―羊水―
(平成20年度)

本田 幸子 品川 保弘 林 美貴子 前多 隆志

Chromosome Analyses of Amniotic Fluid Cells

Sachiko HONDA, Yasuhiro SHINAGAWA, Mikiko HAYASHI and Takashi MAEDA

要 旨 平成20年度の羊水の染色体検査は、受付件数が79件で、昭和49年度からの累計件数では1,647件となった。今年度は18トリソミー症候群3件、ダウン症候群5件、ターナー症候群2件と13トリソミー症候群と転座型異常(9;20)がそれぞれ1件で、計12件の染色体異常がみとめられた。今年度までの累計件数では96件の異常がみとめられている。染色体検査の依頼理由(主訴)は、「高齢妊娠」、「胎児に異常が疑われる」等が大半を占めた。

富山県においては、昭和48年度から、総合母子保健対策の一環として、染色体検査事業が開始された。当所における染色体検査は、昭和48年度から血液を対象として始まり、49年度からは羊水、さらに50年度からは自然流産胎児、絨毛等が加わり、今日にいたっている。

最近では、晩婚化傾向にともなう高齢妊娠の増加や、超音波診断装置等の発達により胎児の異常が発見されることが多くなり、染色体検査の要望が高くなっている。また遺伝子診断等の高度な技術も要求されるようになってきている。ここに平成20年度の羊水の検査状況、結果等を報告する。

レ(Falcon Tissue Culture Dish 35×10mm) 2枚以上を作製して炭酸ガス培養(5%CO₂ 37℃)を行った。培養期間は9～12日間で、その間、細胞の増殖(コロニー形成)を確認しながら培養液交換を1～2回行った。細胞分裂が十分に行われていることを確認した後、染色体標本作成を行った(表1)。

染色は通常のギムザ染色およびGバンド分染を行い、必要により、Cバンド法による分染やクロモゾームペインティング法等のFISH法を用いて行った。1検体につき20個以上の中期核板の顕微鏡写真を撮り、判定した。

実 施 方 法

結果および考察

染色体標本作成は、主に妊娠15～17週に採取された羊水15ml～20mlを静置または軽く遠心(800～900rpm 5分)し、沈殿した細胞に培養液(AmnioMAX™ GibcoSRL)を加え、再浮遊し、1検体につきシャー

レ今年度の染色体検査受付総数は79件で、すべて富山県内の医療施設からの依頼であった(表2)。染色体分析はすべて可能であった。分析の結果、染色体異常12件がみられた。依頼理由、結果等は表3に示した。

表1. 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	AmnioMAX™ (GibcoBRL)
培養	シャーレ(Falcon Tissue Culture Dish 35×10mm)で、37℃ 5% CO ₂ 培養
細胞遊離	0.025% トリプシン・EDTA 37℃ 5分
遠心	1,000rpm 5分
低張処理	0.075M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 0.1γ/ml 37℃ 2-4時間
固定	カルノア液(メタノール 3: 酢酸 1)
蒸気乾燥	細胞浮遊液をパ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(65℃)の蒸気上で乾燥し、その後自然乾燥

表2. 染色体検査依頼病院 (羊水)

(平成20年度)	
病 院	件数
黒部市民病院	18
富山県立中央病院	14
富山市民病院	11
おとぎの森レディースクリニック	9
富山赤十字病院	6
済生会高岡病院	5
厚生連高岡病院	4
富山大学附属病院	3
砺波総合病院	3
済生会富山病院	2
高岡市民病院	2
さたけ産婦人科	2
計	79

表3. 羊水の染色体検査依頼理由と結果 (平成20年度)

依頼理由 (主訴)	受付数	異常数	染色体異常の核型
高齢妊娠	33	2	
34歳以下	0	0	
35-39歳	21	2	47,XY,+13(症例1) 47,XX,+21(症例2)
40歳以上	12	0	
胎児異常の疑い	29	8	
Nuchal translucency	24	4	47,XY,+21,inv9(症例3),46,XX/47,XX,+18(症例4),47,XY,+21(症例5,6)
胎児発育遅延	2	2	47,XY,+18(症例7), 47,XX,+18(症例8)
頸部リンパ腫	2	2	45,X(症例9,10)
部分奇胎	1	0	
血液テスト	5	1	
トリプルマーカーテスト	3	0	
クアトロテスト	2	1	47,XY,+21(症例11)
前児(子)異常(染色体異常除く)	5	0	
転座型保因	2	1	
t(5;14)	1	0	
t(9;20)	1	1	46,XX,t(9;20)(p13;p13)mat(症例12)
強い希望	2	0	
染色体異常児妊娠・出産既往	1	0	
前子+18	1	0	
双子の一児	1	0	
親類にダウン症	1	0	
計	79	12	

検査事業開始時から平成20年度までの検査受付総数1,647件のうち、分析可能数は1,600件で、分析率としては97.1%であった。また、異常累計数は96件で、異常率としては6.0%となった。

今年度検査依頼の理由として一番多いのは「高齢妊娠」の33件で、受付総数の41.8%にあたる。その年齢は35歳から45歳であった。今年度、高齢妊娠を主訴とする依頼検体を検査・分析した結果、13トリソミー症候群(症例1)1件、ダウン症候群1件(症例2)の染色体数的異常が計2件みられた。症例の詳細は下記に

記した。母親の加齢とともに、ダウン症候群のようなトリソミー型染色体異常の発生率が高くなることはよく知られている。今年度の主訴が高齢妊娠中の異常は2件であるが、他の主訴で依頼された検体中の異常10件のうち4件(症例1, 2)は35歳以上の高齢妊娠で、ともにトリソミー型の染色体異常であった。

次に多いのは、「胎児に奇形等の異常が疑われる」という理由で29件の依頼があり、このうち8件に染色体異常がみられた。依頼の内訳では、胎児に Nuchal translucency (NT) の肥厚(3~10mm)がみられた

平成21年12月 1 日

とするものが24件ともっとも多く、このうち3件にダウン症候群（症例3, 5, 6）、1件に18トリソミーモザイク（症例4）の異常がみられた。これは最近の超音波診断の進歩により、胎児の状況がよく診られるようになったからと考えられる。特に、妊娠10～14週胎児のNTの肥厚が異常の判断の指標として採用され、トリプルマーカ等々の検査より正確ともいわれてきている[1]。当所においても、近年NTにかかわる依頼が増加しており、異常率も高い傾向にあった[2]。また子宮内胎児発育遅延がみられた2件は18トリソミー症候群（症例7,8）、頸部リンパのう胞がみられた2件はターナー症候群（症例5）の異常がみられた。そのほか、部分奇胎が疑われた1件には染色体異常はみられなかった。

主訴が「トリプルマーカテスト、クアトロテストが高値」でそれぞれ3件と2件の計5件の依頼があった。これは母体の血液中の α -プロテイン等の3または4種をマーカとして測定し、胎児の染色体異常を発見しようとするものである。このうちクアトロテストで1/4の値であった1件（症例11）がダウン症候群であった。前述したNT肥厚を主訴とした症例6（ダウン症候群）ではトリプルマーカの値が1/75と高値であった。

「前子に異常（染色体異常以外）」を主訴とする依頼が5件あったが異常は見られなかった。

妻または夫が転座型保因者（5；14，9；20）であることを理由に各1件依頼があり、症例12の検体で親と同じ均衡転座型染色体異常（9；20）がみとめられた。

「本人の強い希望」という理由で依頼が2件あったが、異常はみられなかった。

その他に、「前子が18トリソミー」「双体の一児」「親類にダウン症あり」の理由でそれぞれ1件あったが、異常は見られなかった。

〈症例1〉

年齢・妊婦：39歳

夫：38歳

羊水採取時の妊娠週数：16週

主訴・依頼理由：高齢妊娠

既往歴・他：今回は2回目の妊娠

分析結果：46,XX,+13（13トリソミー症候群）

経過・予後等：

〈症例2〉

年齢・妊婦：41歳

夫：歳

羊水採取時の妊娠週数：16週

主訴・依頼理由：高齢妊娠

既往歴・他：前2回の妊娠・出産

分析結果：47,XX,+21（ダウン症候群）

経過・予後等：

〈症例3〉

年齢・妊婦：29歳

夫：29歳

羊水採取時の妊娠週数：16週

主訴・依頼理由：NT肥厚（5mm）

既往歴・他：今回2回目の妊娠，第1，3，4回目の妊娠は自然流産

分析結果：47,XY,+21,inv9（ダウン症候群）（9番逆位・正常変異）

経過・予後等：

〈症例4〉

年齢・妊婦：36歳

夫：34歳

羊水採取時の妊娠週数：16週

主訴・依頼理由：NT肥厚（4.2mm）

既往歴・他：今回2回目の妊娠

分析結果：

核型分析

46,XX/47,XX,+18（18トリソミーモザイク）

46/47(+18)=32ヶ/2ヶ

FISH法（cep18）

分裂像46/47(+18)=247ヶ/10ヶ

休止核（cep18）2ヶ（正常）/3ヶ(+18)=200ヶ/9ヶ

経過・予後等：流産

流産胎児付属物の分析

FISH法（cep18）

分裂像46/47(+18)=39ヶ/2ヶ

休止核（cep18）2ヶ（正常）/3ヶ(+18)=983ヶ/17ヶ

〈症例5〉

年齢・妊婦：39歳

夫：39歳

羊水採取時の妊娠週数：15週6日

主訴・依頼理由：Nuchal translucency（NT）の肥厚あり

既往歴・他：1回目の妊娠

分析結果：47,XY,+21（ダウン症候群）

経過・予後等：

〈症例 6〉

年齢・妊婦：25歳
夫：31歳
羊水採取時の妊娠週数：17週
主訴・依頼理由：Nuchal translucency (NT) 3.2mm
既往歴・他：1回目の妊娠
トリプルマーカーテスト 1/75
分析結果：47,XY,+21 (ダウン症候群)
経過・予後等：

〈症例 7〉

年齢・妊婦：37歳
夫：34歳
羊水採取時の妊娠週数：33週
主訴・依頼理由：子宮内胎児発育遅延，小脳低形成
既往歴・他：1回目の妊娠
分析結果：47,XY,+18
経過・予後等：

〈症例 8〉

年齢・妊婦：28歳
夫：31歳
羊水採取時の妊娠週数：29週2日
主訴・依頼理由：子宮内胎児発育遅延，羊水過多，他
既往歴・他：1回目の妊娠
分析結果：47,XY,+18
経過・予後等：

〈症例 9〉

年齢・妊婦：24歳
夫：39歳
羊水採取時の妊娠週数：19週
主訴・依頼理由：頸部リンパのう胞 (cystic hygroma)
既往歴・他：2回目の妊娠
分析結果：45,X (ターナー症候群)
経過・予後等：胎児死亡

〈症例10〉

年齢・妊婦：23歳
夫：22歳
羊水採取時の妊娠週数：18週
主訴・依頼理由：頸部リンパのう胞 (cystic hygroma)
既往歴・他：3回目の妊娠
分析結果：45,X (ターナー症候群)
経過・予後等：胎児死亡

〈症例11〉

年齢・妊婦：37歳
夫：37歳
羊水採取時の妊娠週数：17 週
主訴・依頼理由：クアトロテスト 1/4
既往歴・他：今回6回目の妊娠
分析結果：47,XY,+21 (ダウン症候群)
経過・予後等：

〈症例12〉

年齢・妊婦：35歳
夫：36歳
羊水採取時の妊娠週数：16 週3日
主訴・依頼理由：均衡転座型保因者 46,XX,t(9;20)
既往歴・他：今回4回目の妊娠，第1,2,3回目妊娠は自然流産
分析結果：46,XX,t(9;20)(p13;q13)mat 均衡転座保因者
経過・予後等：

羊水穿刺等による出生前診断は，日本人類遺伝学会等から示されている「出生前診断に関するガイドライン・遺伝カウンセリング」等に従い，次のようなケースについて実施されている。

- ・ 夫婦のいずれかが染色体異常の保因者
- ・ 染色体異常児を分娩した既往がある
- ・ 高齢妊娠
- ・ 妊婦が重篤な X 連鎖遺伝病のヘテロ接合体
- ・ 夫婦のいずれもが重篤な劣性 or 優性遺伝病のヘテロ接合体
- ・ その他，重篤な胎児異常のおそれがある

今年度は検査の依頼理由がこのガイドラインに該当しない症例が2件あった。前にも述べたが，本人が強く希望したということで，その詳細は不明である。以前に同じ依頼理由の中から染色体異常が認められたこともあるので，これらの対処には苦慮している。

検査にあたっては，最近の遺伝子診断技術の急激な進歩に伴い，高精度分染法やクロモゾームペインティング法，FISH 法等により分析精度を上げるよう努力し，異常が疑われる検体については，これらの技術を導入した。

しかし出生前診断としての羊水等の染色体検査には，母親細胞混入の危険性があること，培養細胞を分析していること，微細な染色体異常やモザイク症がすべて把握されるわけではないことなどの課題がある。今年

平成21年12月 1 日

度の検査検体のなかにも XX/XY のモザイクが疑われる症例が2件あった。しかしこれらは培養等の状況と分析結果から判断して真性モザイクとは考えにくく、母親細胞の混入と考えられたが、判定に苦慮した症例であった。

また染色体異常が発見されてもほとんどが治療困難であること等多くの問題がある。さらに、倫理的、社会的な問題も残されており、臨床の場において、十分なインフォームドコンセントがなされたうえでの検査が必要である。

謝辞：ここに発表しました症例の調査にご協力をいただきました各医療施設の関係者の方々に、深謝いたします。

文 献

1. 佐藤孝道 (2001). 臨床検査, 45(2), 161-166, 医学書院.
2. 本田幸子, 林美貴子 (2003). 富山衛研年報, 26, 149-151.

ヒト染色体に関する調査研究—流産胎児— (平成20年度)

林 美貴子 品川 保弘 本田 幸子 前多 隆志

Chromosome Analysis of Abortus Cells

Mikiko HAYASHI, Yasuhiro SHINAGAWA, Sachiko HONDA and Takashi MAEDA

要 旨 平成20年度の流産胎児の染色体検査受付件数は20件で、11件に染色体異常を認めた。検査依頼理由(主訴)は、流産を繰り返す、子宮内胎児死亡、胎児奇形等であった。

一般に自然流産胎児の約半数に染色体異常がみとめられるが [1]、これまでの当所での結果からも同様の結果を得ている。このことから、自然流産胎児の染色体検査を行うことによって原因不明であった流産の原因を明らかにし、次回の妊娠の指針とすることができる。富山県では、昭和48年度から、総合母子保健対策の一環として、染色体検査事業が開始され、昭和50年度から自然流産胎児の染色体検査が実施されている。平成20年度の流産胎児の検査状況および結果を報告する。

実 施 方 法

検体はおもに、流産胎児の皮膚組織、および流産胎児の付属物である絨毛組織等であった。検査依頼病院は表1に示した。

検体の培養は2通りの方法で行った。その①：これらの組織をハサミで細切後、シャーレの上に並べ、培養液を添加し、炭酸ガス培養を行った。その②：組織

をハサミで細切後、トリプシン処理、コラゲナーゼ処理を行った細胞を①と同様に培養した。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い、標本作成した。培養液は Amnio MAXTM (Gibco) を用いた。詳細は既年報[2]に従った。

結果および考察

平成20年度の受付検体数は20件で、すべて分析可能であった。依頼された流産胎児の週数は7週から31週であった。20件中11件(55%)に染色体異常がみとめられた。また今回の流産時点の母体年齢は24歳～40歳(平均 32.4 ± 4.4 歳)で、トリソミー、モノソミーなどの数的異常を持つ症例では24～36歳(平均 31.6 ± 3.3 歳)であった。21トリソミー症候群は母体年齢が高齢になるに従い、発生率が高くなることが知られているが、当所においては症例数がまだ少なく、母体年齢と染色体異常および流産の関係についてはまだ明らかでない。

検査理由は、「過去にも流産をしたことがある」(8件)、

「子宮内胎児死亡」(4件)、「胎児奇形」(3件)等であった。表2に依頼理由と結果および異常を確認したすべての核型と検査時妊娠週数を示した。20件中9件については両親の染色体検査も行った。うち2人が均衡転座保因者であった。うち、1例は父が(2;14)均衡転座で流産2回目の胎児(7w)は正常核型であった。もう1例は胎児全前脳胞症疑い(31w)で検査を行い、母が(13;14)のロバートソン型転座、胎児は転座由来の13トリソミーであった。

上記1例目のように流産胎児が正常核型であった場合、両親の検査を行わないことが多く、両親の均衡転

表 1. 流産胎児の染色体検査依頼病院

病医院名	件数
富山赤十字病院	5
済生会富山病院	4
富山大学附属病院	3
黒部市民病院	3
済生会高岡病院	2
県立中央病院	1
富山市民病院	1
砺波総合病院	1
計	20

表 2. 流産胎児の染色体検査依頼理由と結果

依 頼 理 由		受付・分析数	異常数	染色体異常の核型(妊娠週数)	
出産歴なし	流産1回目	1	1	47,XY,+16(9)	
	2回目	2	1	47,XX,+16(10)	
	3回目	2	2	47,XX,+15(7)	47,XY,+16(9)
	6回目	1			
出産歴あり	流産2回目	1			
	3回目	2	2	47,XX,+16(8)	47,XY,+22(7)
子宮内胎児死亡		4	2	47,XX,+18(12)	47,XX,+21(28)
胎児奇形		3	1	46,XY,der(13;14)(q10;q10),+15,mat(31)	
頸部肥厚		2			
頸部リンパ腫		1	1	45,X(21)	
心音消失		1	1	47,XX,+18(9)	
計(人)		20	11		

座を見落とすことがあると考えられた。流産胎児の結果が単純にトリソミー、モノソミーであった場合も同様のことが考えられた。

一般的に、流産の原因が母体側にあると思われていることがまだ多いが、原因が染色体異常によるものと判明することによって、その精神的負担を軽減している部分もあると考えられた。このように、流産胎児の染色体分析は今後の遺伝相談の資料として次回妊娠につながるなど、母子医療に役立つと思われた。

謝辞：ここに発表しました症例の調査にご協力をいただきました各医療施設の関係者の方々に、深謝いたします。

文 献

1. 前田徹 (1996) 臨床染色体診断法, 256-259, 金原出版.
2. 本田幸子, 林美貴子, 大江浩, 北村敬 (2001). 富山衛研年報, 24, 54-60.

日本脳炎流行予測調査（感染源調査）2008年

山内 健生 小原 真弓 長谷川 澄代 渡辺 護¹ 林 達哉²Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis
in Toyama Prefecture in 2008Takeo YAMAUCHI, Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA,
Mamoru WATANABE¹ and Tatsuya HAYASHI²

要 旨 富山県内において、コガタアカイエカの発生消長、豚血清の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況、蚊と豚の日本脳炎ウイルス保有状況を調査した。コガタアカイエカは、調査を開始した6月第2週から各定点において捕集され、8月中旬～9月上旬に発生のピークを形成した。豚の抗体保有調査では、7月に3頭が新鮮感染を示し、8月後半から9月には、新鮮感染を示す豚が毎週みられた。10月には新鮮感染率は0～14%となり、流行は終息に向かったと考えられた。全体として、新鮮感染を示す豚の数は31頭、抗体価640倍以上の豚は36頭であった。蚊と豚から、8月26日～10月8日の間に日本脳炎ウイルスが分離され、この時期にウイルスが濃厚に存在したと考えられた。これらの状況から、日本脳炎患者が発生する可能性は高いと考えられたが、県内において患者は発生しなかった。

近年の国内における日本脳炎患者発生数は少なく推移している。しかしながら、全国での日本脳炎流行予測調査の結果から、ウイルスは確実に活動しているといえる[1,2]。富山県においても毎年ウイルスの流行が確認されており[3-8]、日本脳炎の脅威は続いている。そこで、2008年にも本研究を継続し、日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生状況とウイルスの浸淫状況を調査したので報告する。

1. 蚊の発生調査

1. 調査地と調査方法

蚊の捕集定点は2007年[8]とほぼ同様であった（表1、図1）。調査期間および調査方法も2007年とほぼ同様であった。すなわち、「3. 黒牧」と「4. 大井」では6月1日から10月18日まで、ライトトラップ（東京エース製、15W 捕虫円型管）による連日捕集を行なった。なお、ライトトラップの作動は照度感受スイッチ（EE8113K ニュー EE スイッチ、National 松下電工）によってコントロールされるため、捕集時間帯は日没（照度約40ルクス）から日の出（照度約120ルクス）までである。他の5定点では6月11日（第2週）から10月29日（第5週）まで、毎週水曜日にトラップを一晩点灯し、捕集を行なった。なお、前2定点では、畜舎管理者が毎朝トラップ捕集籠の捕獲物を酢酸エチルで麻

酔した後、70%エタノールの入った500ml ポリ瓶に移した。後5定点では毎週水曜日に畜舎管理者が電源コンセントを差し込み、木曜日の朝に筆者らが電源コンセントを抜き、捕集籠を回収・交換した。このようにして得られた捕集籠内の蚊類を、検査室にて分類・計数した。なお、「2. 上市」では、2007年までの定点



図1. コガタアカイエカ捕集定点(2008年)
1. 黒部, 2. 上市, 3. 黒牧, 4. 大井,
5. 小矢部, 6. 婦中, 7. 射水

1. 国立感染症研究所 2. 富山県厚生部健康課

表1. コガタアカイエカ捕集定点（畜舎）の概要（2008年）

地点番号	略号	地名	飼育家畜
1	黒部	黒部市荻生	豚
2	上市	立山町四谷尾	和牛
3	黒牧	富山市東黒牧上野	乳牛
4	大井	富山市大井	乳牛, 和牛
5	小矢部	小矢部市鷺ヶ島	乳牛
6	婦中	富山市婦中町友坂	馬
7	射水	射水市山本新	肉牛

表2. 7 定点（畜舎）のライトトラップによるコガタアカイエカ雌成虫の捕集数（2008年）

調査日	調査地点							合計
	1. 黒 部	2. 上 市	3. 黒 牧	4. 大 井	5. 小矢部	6. 婦 中	7. 射 水	
6月11日	12	141	-	1,532	159	61	16	1,921
18日	0	659	480	2,393	610	318	68	4,528
25日	389	709	835	2,750	481	136	356	5,656
7月2日	-	57	784	1,806	714	453	902	4,716
9日	-	-	16	1,477	397	250	1,489	3,629
16日	-	665	37	4,316	401	470	1,697	7,586
23日	-	560	16	5,460	742	615	3,200	10,593
31日	-	1,952	57	4,026	832	397	-	7,264
8月6日	274	-	84	1,863	935	5,238	-	8,394
13日	1,402	883	897	9,356	688	8,052	23,022	44,300
20日	4,731	7,280	466	3,334	1,348	7,360	6,248	30,767
27日	2,508	-	273	2,921	997	-	15,291	21,990
9月3日	-	8,166	501	31,436	2,206	-	12,747	55,056
10日	-	8,497	95	3,540	4,408	-	8,242	24,782
17日	435	5,082	73	1,110	863	204	4,286	12,053
24日	338	827	17	732	418	27	1,004	3,363
10月1日	65	97	5	310	167	19	424	1,087
8日	2	340	1	94	146	21	200	804
15日	0	8	1	10	0	1	17	37
22日	0	12	-	-	119	3	29	163
29日	0	-	-	-	1	0	0	1
計	10,156	35,935	4,638	78,466	16,632	23,625	79,238	248,690

（畜舎）とは異なる定点（畜舎）で調査を実施した。

2. 結果

表2に、全調査定点における毎週水曜日の捕集成績を、表3に「3. 黒牧」と「4. 大井」における連日捕集の成績を示した。コガタアカイエカは、調査を開始し

た6月第2週から各定点において捕集され、全体的には8月中旬～9月上旬に発生のピークがみられた。週1日捕集での年間捕集数は「7. 射水」が最も多く、「4. 大井」「2. 上市」と続いた。

表4に、1991年からのコガタアカイエカの定点別捕集数を示した。「2. 上市」と「5. 小矢部」において、

表3-1. 2定点のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集数 (2008年6月)

調査日	3. 黒 牧					4. 大 井				
	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計
6月 1日	1	29	0	2	32	0	484	12	1	497
2日	1	17	0	1	19	0	555	11	3	569
3日	0	35	0	3	38	1	340	9	1	351
4日	0	35	0	7	42	0	484	20	1	505
5日	0	65	0	7	72	0	613	12	4	629
6日	0	51	0	3	54	0	529	28	3	560
7日	1	45	0	4	50	4	521	13	0	538
8日	3	184	0	8	195	0	511	22	2	535
9日	8	134	0	6	148	0	293	11	0	304
10日	6	73	1	6	86	0	756	37	4	797
11日	-	-	-	-	0	0	1,532	48	1	1,581
12日	5	223	0	2	230	0	885	32	0	917
13日	5	66	0	0	71	0	1,594	21	1	1,616
14日	5	332	1	6	344	0	1,000	17	0	1,017
15日	2	91	0	0	93	0	1,382	9	0	1,391
16日	2	65	0	2	69	0	1,354	17	1	1,372
17日	3	168	0	3	174	0	457	25	0	482
18日	3	480	1	1	485	0	2,393	48	0	2,441
19日	4	1,235	2	7	1,248	0	598	30	7	635
20日	11	991	1	8	1,011	0	148	112	19	279
21日	3	795	1	15	814	0	1,523	108	1	1,632
22日	0	619	1	6	626	0	395	12	3	410
23日	2	423	0	7	432	0	1,976	117	0	2,093
24日	7	645	2	10	664	0	760	23	0	783
25日	8	835	2	7	852	0	2,750	53	0	2,803
26日	4	371	0	4	379	0	1,471	56	0	1,527
27日	0	541	1	8	550	0	1,442	37	3	1,482
28日	0	985	1	0	986	0	4,555	95	0	4,650
29日	0	749	1	0	750	0	3,529	93	1	3,623
30日	0	749	0	8	757	-	-	-	-	0
計	84	11,031	15	141	11,271	5	34,830	1,128	56	36,019

「-」 はトラップの故障等による欠測，または次日，次々日にまとめて捕集したことを示す。

*オオクロヤブカ，ハマダライエカ，ヤマトヤブカ，トラフカクイカ。

表3-2. 2定点のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集数 (2008年7月)

調査日	3. 黒 牧					4. 大 井				
	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計
7月 1日	15	799	0	1	815	0	26	0	0	26
2日	3	784	0	0	787	0	1,806	66	0	1,872
3日	1	75	0	0	76	0	5,284	103	0	5,387
4日	0	40	0	3	43	0	4,267	96	1	4,364
5日	3	47	2	1	53	0	7,523	93	0	7,616
6日	0	45	2	0	47	0	2,814	98	0	2,912
7日	0	25	3	0	28	0	3,049	208	4	3,261
8日	-	-	-	-	0	2	3,717	178	0	3,897
9日	0	16	1	0	17	0	1,477	171	0	1,648
10日	1	41	1	1	44	0	3,271	183	0	3,454
11日	0	6	1	0	7	0	1,678	199	1	1,878
12日	0	4	1	0	5	0	2,933	68	0	3,001
13日	0	13	0	0	13	1	6,278	33	0	6,312
14日	0	8	1	1	10	1	4,789	42	0	4,832
15日	0	23	0	0	23	1	4,708	68	0	4,777
16日	0	37	0	0	37	0	4,316	41	0	4,357
17日	0	62	3	0	65	0	6,908	68	0	6,976
18日	0	40	1	0	41	0	4,035	27	0	4,062
19日	0	74	0	0	74	0	5,206	47	1	5,254
20日	0	14	0	0	14	0	1,508	8	0	1,516
21日	0	20	0	1	21	1	3,570	18	0	3,589
22日	0	22	1	0	23	0	5,221	75	0	5,296
23日	0	16	0	0	16	0	5,460	56	0	5,516
24日	-	-	-	-	0	0	3,044	50	1	3,095
25日	0	41	0	3	44	0	4,497	50	0	4,547
26日	0	15	2	0	17	0	1,988	31	0	2,019
27日	0	26	0	0	26	1	2,001	23	0	2,025
28日	0	21	1	1	23	0	2,073	20	0	2,093
29日	0	65	1	0	66	0	4,160	27	1	4,188
30日	1	45	0	1	47	0	2,756	13	0	2,769
31日	0	57	0	1	58	1	4,026	16	1	4,044
計	24	2,481	21	14	2,540	8	114,389	2,176	10	116,583

「-」 はトラップの故障等による欠測, または次日, 次々日にまとめて捕集したことを示す.

*オオクロヤブカ, ヤマトヤブカ, ハマダライエカ, トラフカクイカ.

表3-3. 2定点のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集数 (2008年8月)

調査日	3. 黒 牧					4. 大 井				
	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計
8月 1日	0	157	1	0	158	1	8,089	33	0	8,123
2日	1	48	1	0	50	0	5,263	29	0	5,292
3日	0	64	1	0	65	0	13,106	12	0	13,118
4日	1	31	0	0	32	0	6,248	17	0	6,265
5日	0	79	0	1	80	0	2,814	15	0	2,829
6日	2	84	0	0	86	0	1,863	10	0	1,873
7日	0	42	0	0	42	0	357	3	0	360
8日	0	68	0	0	68	0	481	2	0	483
9日	0	29	0	0	29	0	278	1	0	279
10日	0	28	1	0	29	0	299	1	0	300
11日	0	294	0	0	294	0	1,132	2	0	1,134
12日	1	404	0	0	405	0	2,215	7	0	2,222
13日	0	897	0	0	897	0	9,356	15	0	9,371
14日	1	1,121	0	0	1,122	1	1,776	20	0	1,797
15日	0	452	0	0	452	2	8,120	11	0	8,133
16日	0	559	0	0	559	1	4,991	2	0	4,994
17日	1	234	0	1	236	5	3,959	0	0	3,964
18日	1	1,189	0	1	1,191	1	2,976	4	0	2,981
19日	0	468	0	0	468	3	5,054	8	0	5,065
20日	0	466	0	2	468	0	3,334	0	0	3,334
21日	1	304	0	1	306	1	8,390	0	0	8,391
22日	3	883	1	4	891	0	5,936	3	0	5,939
23日	0	262	1	0	263	0	20,980	1	0	20,981
24日	0	93	0	1	94	0	10,896	0	0	10,896
25日	0	257	0	2	259	0	8,670	0	0	8,670
26日	1	278	0	3	282	0	1,891	1	0	1,892
27日	2	273	0	2	277	0	2,921	0	0	2,921
28日	1	281	0	0	282	0	72,752	0	0	72,752
29日	0	562	1	1	564	0	8,367	4	0	8,371
30日	2	144	0	0	146	0	7,580	16	0	7,596
31日	0	446	0	0	446	2	5,750	9	0	5,761
計	18	10,497	7	19	10,541	17	235,844	226	0	236,087

「-」 はトラップの故障等による欠測，または次日，次々日にまとめて捕集したことを示す。

*オオクロヤブカ，ヤマトヤブカ，ハマダライエカ，トラフカクイカ。

表3-4. 2定点のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集数 (2008年9月)

調査日	3. 黒 牧					4. 大 井				
	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計
9月 1日	2	311	0	1	314	0	5,125	1	0	5,126
2日	1	165	0	0	166	0	7,167	3	0	7,170
3日	0	501	0	1	502	0	31,436	0	0	31,436
4日	1	374	0	0	375	0	5,639	3	0	5,642
5日	1	272	1	0	274	0	3,989	3	0	3,992
6日	0	128	0	0	128	3	4,487	7	0	4,497
7日	0	218	0	0	218	0	7,625	0	0	7,625
8日	2	73	0	1	76	0	1,966	5	0	1,971
9日	1	147	0	2	150	0	1,010	2	0	1,012
10日	0	95	0	0	95	0	3,540	4	0	3,544
11日	3	177	1	0	181	0	2,795	0	0	2,795
12日	1	144	0	0	145	0	4,134	2	0	4,136
13日	0	54	0	0	54	0	2,553	0	0	2,553
14日	0	49	1	0	50	0	1,159	2	0	1,161
15日	-	-	-	-	0	0	1,294	3	0	1,297
16日	0	46	0	1	47	0	462	0	0	462
17日	0	73	0	0	73	0	1,110	0	0	1,110
18日	0	95	0	0	95	0	1,169	1	0	1,170
19日	0	33	0	0	33	0	607	1	0	608
20日	0	41	0	0	41	0	3,198	1	0	3,199
21日	0	78	0	0	78	0	9,052	0	0	9,052
22日	0	37	0	0	37	0	1,316	3	0	1,319
23日	0	32	0	3	35	0	873	0	0	873
24日	1	17	0	0	18	0	732	0	0	732
25日	0	28	0	1	29	0	1,818	2	0	1,820
26日	0	8	0	0	8	0	684	0	0	684
27日	0	7	0	1	8	0	369	0	0	369
28日	0	5	0	0	5	0	962	0	0	962
29日	0	2	0	0	2	0	743	0	0	743
30日	0	14	0	0	14	0	540	0	0	540
計	13	3,224	3	11	3,251	3	107,554	43	0	107,600

「-」 はトラップの故障等による欠測，または次日，次々日にまとめて捕集したことを示す。

*オオクロヤブカ，ハマダライエカ，ヤマトヤブカ。

表3-5. 2定点のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集数 (2008年10月)

調査日	3. 黒 牧					4. 大 井				
	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計
10月 1日	0	5	0	0	5	0	310	0	1	311
2日	0	6	0	0	6	0	76	0	0	76
3日	2	9	0	2	13	0	166	2	1	169
4日	0	1	0	0	1	0	139	0	1	140
5日	0	4	0	0	4	0	115	0	0	115
6日	0	6	0	0	6	1	198	1	0	200
7日	-	-	-	-	0	0	150	0	0	150
8日	0	1	0	0	1	0	94	0	0	94
9日	0	0	0	1	1	0	92	0	0	92
10日	0	0	0	1	1	0	40	0	0	40
11日	0	0	0	1	1	0	10	0	0	10
12日	0	0	0	0	0	0	12	0	0	12
13日	0	1	0	0	1	0	13	1	0	14
14日	0	1	0	0	1	-	-	-	-	0
15日	0	1	0	1	2	0	10	1	0	11
16日	0	0	0	0	0	1	5	2	0	8
17日	-	-	-	-	0	0	15	0	0	15
18日	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2
計	2	35	0	6	43	2	1,446	8	3	1,459

「-」はトラップの故障等による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。

*オオクロヤブカ、ハマダライエカ、ヤマトヤブカ。

2008年の捕集数は2007年のそれに比べて大幅に減少した。ただし、「2. 上市」では、調査定点が2007年とは異なるため、過去の結果と単純に比較を行うことはできない。「2. 上市」を除くと、全体的としての捕集数は、2007年とほぼ同様で、非常に多かった。

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1日から10月28日までの約4ヶ月間、富山食肉総合センターに搬入された生後6か月の県内産（小矢部市、南砺市、上市町、黒部市）の豚を対象として、毎週15～20頭から血液を採取し、合計340頭の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査した。抗体価の測定は例年と同様に感染症流行予測調査事業検査術式[9]に従った。すなわち、アセトン処理を2回行うことにより、被検血清から非特異的赤血球凝集抑制物質を除去した後、日本脳炎 CF、HI 試薬「生研」

JaGAr01株（デンカ生研）を抗原として、赤血球凝集抑制（HI）反応により抗体価を測定した。血球はガチョウの赤血球を用い、マイクロタイター法で行った。

2. 結果および考察

HI 抗体価の測定結果を表5に示した。7月1日の調査で、抗体陽性の豚が3頭みられた。7月14日には1頭、7月29日には2頭の豚が新鮮感染を示した。8月19日以降9月末までには新鮮感染を示す豚が毎週確認された。10月には新鮮感染率は0～14%となり、流行は終息に向かったと考えられた。全体として、新鮮感染を示す豚の数は31頭、抗体価640倍以上の豚は36頭であった。

以上のことから、2008年は、調査を開始した7月には既に一部の豚が日本脳炎ウイルスに感染していたが、本格的な流行は8月後半から始まり、少なくとも10月後半まで続いたと推測される。

表4. 7 定点のライトトラップにおける過去18年間のコガタアカイエカ雌成虫の年間捕集数

年	6月2週から 9月30日までの毎週水曜日に捕集した総数							6月1日から 9月30日まで連日	
	1. 黒 部 ¹⁾	2. 上 市 ²⁾	3. 黒 牧	4. 大 井	5. 小矢部 ³⁾	6. 婦 中	7. 射 水	3. 黒 牧	4. 大井
1991	1,702	14,322	-	7,640	4,318	-	-	-	51,218
1992	1,968	5,025	-	9,998	5,992	-	-	-	59,735
1993	642	1,100	-	8,827	5,093	-	-	-	72,509
1994	13,655	3,527	-	26,275	94,055	-	-	-	169,307
1995	6,398	1,790	-	26,247	21,751	-	-	-	161,391
1996	2,034	1,562	-	36,305	7,683	-	-	-	275,957
1997	7,054	1,466	-	23,743	45,250	-	-	-	172,373
1998	6,250	5,620	1,843	96,196	31,158	-	-	11,814	657,900
1999	1,954	2,676	1,319	52,436	27,944	-	-	11,379	344,498
2000	1,181	2,965	965	67,757	19,477	-	-	9,147	495,004
2001	1,443	6,574	1,819	78,846	12,877	-	-	10,433	504,862
2002	2,187	1,288	802	62,135	1,330	-	-	7,979	465,957
2003	2,181	195,869	496	60,527	17,963	8,555	25,219	2,644	469,460
2004	4,880	225,945	3,206	90,578	12,758	12,733	20,421	18,526	468,459
2005	8,392	295,817	3,974	88,321	12,088	11,424	34,968	13,291	735,891
2006	891	16,462	544	15,295	4,569	3,780	10,909	2,916	117,306
2007	13,819	203,488	4,143	73,227	50,777	16,337	104,019	22,118	516,504
2008	10,089	35,478	4,631	78,052	16,199	23,581	78,568	27,233	492,617

1) 「1.黒部」では1998年に定点（畜舎）の場所を変更した。

2) 「2.上市」では1994年と2008年に定点（畜舎）の場所を変更し、2003年に畜舎が30m ほど移設された。

3) 「5.小矢部」では2003年に定点（畜舎）を変更した。

Ⅲ. 蚊と豚からの日本脳炎ウイルス分離

1. 調査対象と検査方法

2008年4月から10月にかけて、県内の富山空港、港湾地区、畜舎の計6地点で捕集した蚊をウイルス分離に用いた。また、抗体調査に用いた豚血清340検体についてもウイルス分離を行った。分離には、ヒトスジシマカ由来の C6/36細胞とアフリカミドリザル由来の Vero9013細胞を用いた。細胞変性が現れた検体の培養上清について、フラビウイルス NS3領域または日本脳炎ウイルスエンベロープ領域を対象とした RT-PCR を実施した。蚊と豚から得られた、日本脳炎ウイルスエンベロープ領域の PCR 産物について、ダイレクトシーケンス法を用いて遺伝子配列の解析を行った。

2. 結果および考察

捕集蚊421プール（14,402個体）を調査し、畜舎

（牛舎および豚舎）のコガタアカイエカ27プール（1,326個体）より日本脳炎ウイルスが分離された。ウイルス陽性であった蚊の捕集日は8月26日から10月8日であった。豚血清については、1検体より日本脳炎ウイルスが分離され、採血日は9月30日であった。分離ウイルスは、エンベロープ領域346bp を比較した遺伝子解析により、いずれも I 型であると考えられ、2005年、2007年の結果[7, 8]に引き続き、富山県では I 型日本脳炎ウイルスが広く分布していることが示唆された。ウイルスの分離された時期は9～10月を中心としており、8月中旬～9月上旬にコガタアカイエカのピークがみられたことから、豚と蚊の間でウイルスが増幅を繰り返した後に、9～10月を中心としてウイルスが分離されるようになると考えられた。

これまでの調査結果[4-8]より、ウイルスが濃厚に存在している年と、不活発な年があると考えられ、2008年はウイルスが活発な年であったと思われる。

表5. 豚血清における日本脳炎ウイルスの HI 抗体保有状況（平成20年，2008年）

検体 採取日	抗体価								2-ME 感受性 陽性数/検査数
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320	≥640	
7月1日	12 (80)	1 (7)	2 (13)						
7～9日	14 (70)	5 (25)	1 (5)						
14,15日	15 (75)	2 (10)	2 (10)	1 (5)					1/1 (100.0)
22日	5 (33)	8 (53)	2 (13)						
28,29日	5 (25)	11 (55)	2 (10)	2 (10)					2/2 (100.0)
8月4,5日	13 (65)	7 (35)							
11,12日	14 (93)		1 (7)						
18,19日	5 (25)	8 (40)	6 (30)	1 (5)					1/1 (100.0)
25,26日	11 (55)	4 (20)	1 (5)				1 (5)	3 (15)	4/4 (100.0)
9月1,2日	12 (60)	1 (5)	2 (10)					5 (25)	5/5 (100.0)
8,9日	13 (65)	1 (5)	1 (5)				2 (10)	3 (15)	4/5 (80.0)
16日	5 (33)	3 (20)	4 (27)	1 (7)				2 (13)	3/3 (100.0)
22日	11 (55)					2 (10)	2 (10)	5 (25)	5/9 (55.6)
29,30日	9 (45)	3 (15)	1 (5)		1 (5)		3 (15)	3 (15)	2/7 (28.6)
10月6,7日	7 (35)	2 (10)	1 (5)				6 (30)	4 (20)	0/10 (0.0)
14日	2 (10)	2 (10)	2 (10)	1 (5)			8 (40)	5 (25)	2/14 (14.3)
20,21日	6 (30)					3 (15)	7 (35)	4 (20)	2/14 (14.3)
27,28日		4 (20)	5 (25)		1 (5)	1 (5)	7 (35)	2 (10)	0/11 (0.0)
計	159 (37.1)	62 (14.5)	33 (7.7)	6 (1.4)	2 (0.5)	6 (1.4)	36 (8.4)	36 (8.4)	31/86 (36.0)

- 注 1. 表中の数字は検体数を表し，括弧内の数字はパーセントを示す。
 2. 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）処理を行い，ウイルスの新鮮感染を検討した。
 3. 平成17年度から，2-ME 処理により抗体価40倍から10倍未満に低下した時は2-ME 感受性陽性とした。

まとめ

コガタアカイエカの捕集数は2007年とほぼ同様に、非常に多かった。豚の抗体保有調査では、7月中旬から新鮮感染を示す豚が確認され始めたが、本格的な流行は8月後半から始まったと考えられた。また、蚊と豚からは、8月下旬～10月上旬にウイルスが分離され、この時期にウイルスが濃厚に存在したと考えられた。これらの状況から、日本脳炎患者が発生する可能性は高いと考えられたが、患者発生はみられなかった。

謝 辞

本調査の実施にあたり、ご協力を頂いている各定点畜舎、関係厚生センター・支所および食肉総合センター、食肉検査所の各位に深謝する。

文 献

1. 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症情報センター（2006）．平成16年度感染症流行予測調査報告書，93-114.
2. 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症情報センター（2007）．平成17年度感染症流行予測調査報告書，100-112.
3. 渡辺 護，長谷川澄代，小原真弓，安藤秀二（2004）．富山県における日本脳炎流行予測調査35年間のまとめ，82p 図版+46pp，富山県衛生研究所・富山県厚生部健康課.
4. 渡辺 護，長谷川澄代，小原真弓，米道暁彦（2004）．富山衛研年報，27，56-67.
5. 渡辺 護，長谷川澄代，小原真弓，米道暁彦（2005）．富山衛研年報，28，52-64.
6. 渡辺 護，長谷川澄代，小原真弓，道谷真由美（2006）．富山衛研年報，29，56-68.
7. 渡辺 護，長谷川澄代，小原真弓，道谷真由美（2007）．富山衛研年報，30，62-74.
8. 山内健生，小原真弓，長谷川澄代，渡辺 護，川尻千賀子（2008）．富山衛研年報，31，65-75.
9. 厚生労働省健康局結核感染症課（2002）．感染症流行予測調査事業検査術式，27-39，東京.

日本脳炎流行予測調査（感受性調査）2008年

小原 真弓 長谷川 澄代 堀元 栄詞 岩井 雅恵 中村 一哉
 滝澤 剛則 倉田 毅 高田 厚史¹ 南部 厚子²
 原田 慎太郎³ 清原 美千代⁴ 嶋尻 悟志⁵

Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese Encephalitis virus in Toyama Prefecture in 2008

Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI,
 Kazuya NAKAMURA, Takenori TAKIZAWA, Takeshi KURATA, Atsushi TAKATA¹,
 Atsuko NANBU², Shintaro HARADA³, Michiyo KIYOHARA⁴, Satoshi SHIMAJIRI⁵

要 旨 日本脳炎流行予測調査（感受性調査）として、富山県住民の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査した。その結果、抗体陽性者の割合は全体として44.0%であった。10～19歳では90%以上が抗体を保有していたが、0～4歳で2.9%、30～39歳で22.6%、40～49歳で22.6%、50～59歳で15.9%と抗体保有率が特に低い年齢群があった。「予防接種歴なし」の割合は、0～4歳で最も多く68.6%であったが、5歳以上では2007年より大幅に増加し52.9%となった。予防接種歴別の抗体保有率は、「接種歴なし」で20.8%、「接種歴不明」で34.1%であったのに対し、1回以上接種歴のある対象者では77.3%であった。

本調査は、日本脳炎ウイルスに対する中和抗体保有状況を調べ、今後の流行の可能性を推定し、感染予防に役立てることを目的として実施した。

調査および検査方法

2008年6月から10月に、新川、中部、高岡、砺波の各厚生センターおよび富山市保健所管内で、合計318名について採血と予防接種歴、罹患歴の調査を行った。

日本脳炎ウイルスに対する中和抗体価の測定は、peroxidase-anti-peroxidase (PAP) 法を応用したフォーカス計数法にて行った。血清を56℃30分間非働化した後、10倍から2倍階段希釈し、ウイルス液（日本脳炎Beijing-1株）と混合した。37℃、1時間の中和反応ののち、Vero Osaka細胞に接種した。37℃で1時間ウイルスを吸着させたのち、培養液を追加し、37℃で46時間培養した。細胞を洗浄・固定後、抗日本脳炎ウイルスウサギ血清を用いたPAP法によってウイルスフォーカスを染色した。被検血清を加えていないコントロールに比較して、フォーカス数が50%以上減少した最大希釈倍数を中和抗体価とした。抗体価10倍以上を抗体陽性とした。

結果および考察

318名のうち、日本脳炎ウイルスに対する抗体陽性者は140名（44.0%）であった。図1に年齢群別の抗体保有率を示した。10～19歳では90%以上と高い抗体保有率を示し、5～9歳では41.2%、20～29歳で73.9%、60歳以上では65.4%の保有率を示したのに対して、0～4歳で2.9%、30～39歳で22.6%、40～49歳で22.6%、50～59歳で15.9%と低い保有率を示す年齢群が存在した。結果として、抗体保有率はN字型の曲線を描いていた。このような傾向は2007年の結果[1]や全国の結果と同様であった[2]。5～9歳の抗体保有率は2007年の78.9%から41.2%に減少した。乳幼児における抗体保有率の低さは、ワクチン未接種のためと考えられる。30～59歳の低い抗体保有率の原因は不明であるが、この年齢群は調査年とともに高年齢へ推移している[2]。

調査対象者の予防接種歴を年齢群別に示した（図2）。「接種歴あり」の割合は、10～14歳での93.9%をピークに山型を描いていた。また、「接種歴なし」の割合は、0～4歳で最も多く68.6%であったが、5～9歳では52.9%と、5.3%であった2007年[1]より大幅に増加した。また、2007年の調査と同様に、50歳以上で再び増加する傾向であった。日本脳炎の定期予防接種は、「1期3回

1. 新川厚生センター、2. 中部厚生センター、3. 高岡厚生センター、4. 砺波厚生センター、5. 富山市保健所

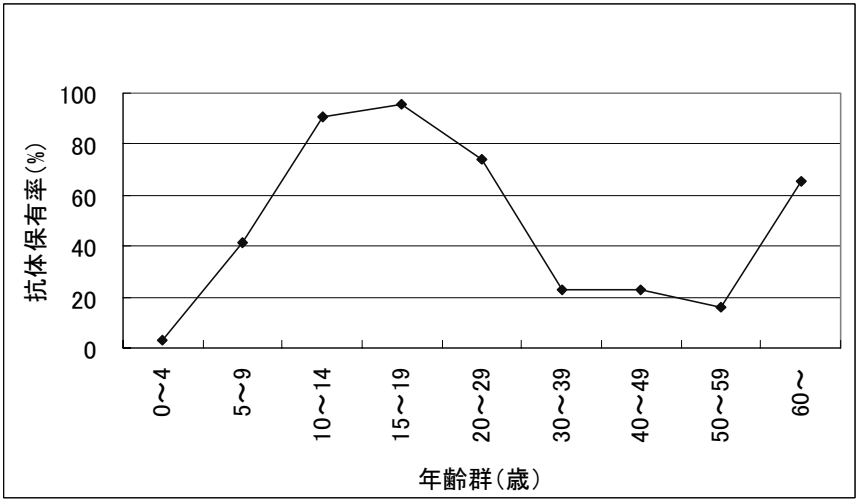


図 1. 年齢群別の中和抗体保有率

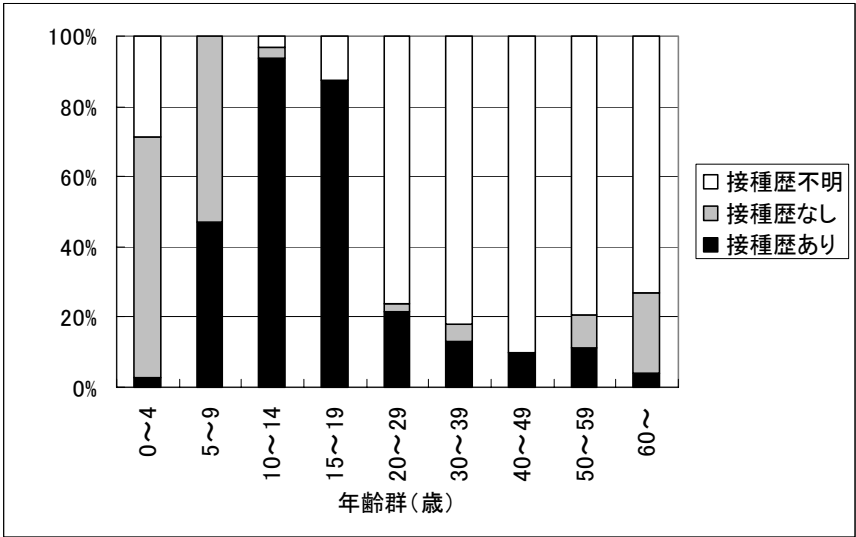


図 2. 年齢群別のワクチン接種歴

表 1. ワクチン接種歴別の中和抗体保有率

年齢群 (歳)	接種歴あり		陽性率	接種歴なし		陽性率	接種歴不明		陽性率	合計		陽性率
	陽性数	検査数		陽性数	検査数		陽性数	検査数		陽性数	検査数	
0～4	1	1	100.0%	0	24	0.0%	0	10	0.0%	1	35	2.9%
5～9	7	8	87.5%	0	9	0.0%	0	0	0.0%	7	17	41.2%
10～14	29	31	93.5%	1	1	100.0%	0	1	0.0%	30	33	90.9%
15～19	21	21	100.0%	0	0		2	3	66.7%	23	24	95.8%
20～29	9	10	90.0%	1	1	100.0%	24	35	68.6%	34	46	73.9%
30～39	1	8	12.5%	2	3	66.7%	11	51	21.6%	14	62	22.6%
40～49	0	3	0.0%	0	0		7	28	25.0%	7	31	22.6%
50～59	0	5	0.0%	2	4	50.0%	5	35	14.3%	7	44	15.9%
60～	0	1	0.0%	4	6	66.7%	13	19	68.4%	17	26	65.4%
計	68	88	77.3%	10	48	20.8%	62	182	34.1%	140	318	44.0%

(2回+追加1回), 生後6~90 か月未満 (標準3~4歳)」、「Ⅱ期1回, 9~13 歳未満 (標準9 歳)」、「Ⅲ期1回, 14~16 歳未満 (標準14 歳)」というスケジュールで行われていたが, 2005年5月30日に「日本脳炎ワクチン接種の積極的勧奨の差し控え」が通知された。富山県の予防接種率は, 2004年までは80%前後[3,4]であったが, 2005年には10~20%となり[5], 2006年度は数%にとどまっている[6]。すなわち, 本調査時の0~4歳は接種歴のない子供がほとんどになったと思われる。また, 5~9歳にもこのような未接種の子供が加わって, 2007年の調査に比べこの年齢群の接種率も低くなったと思われる。予防接種歴別の抗体保有率は, 「接種歴なし」で20.8%, 「接種歴不明」で34.1%であったのに対し, 1回以上接種歴のある対象者では77.3%と有意に高かった (表1)。これは, 予防接種の効果により抗体を獲得したためと考えられる。しかしながら, 年齢群別にみると, 1回以上接種歴のある対象者のうち, 抗体陽性者の割合は, 年齢が上がるにつれ少なくなっており (表1), 年齢とともにワクチンの効果が減弱していると思われる。

「接種歴なし」のうち, 抗体陽性者が20.8%存在した (表1)。年齢群別にみると, 0~9歳では0%であったのに対し, 10歳以上では50~100%であった。これは自然感染によるものと推測されるが, 罹患歴は全て「なし」または「不明」であり, 多くは不顕性感染であったと思われる。また, 0~9歳では, 自然感染する機会がまだあまりなかったと考えられる。

今回の調査により, 2007年と同様, 県民の抗体保有率は5割程度であること, 予防接種歴のある人は8割程度抗体を保有していること, 乳幼児及び30~59歳の年齢群で抗体保有率が特に低いこと, 不顕性な自然感染をしている人が2割程度いることなどが判明した。一

方, 日本脳炎流行予測調査の感染源調査において, 県内での日本脳炎ウイルスの存在が確認されている[7]。日本脳炎ワクチンの勧奨中止以来, ワクチン接種率は顕著に低くなった。2009年2月には新しい日本脳炎ワクチンが承認されたため, 今後の接種率の回復が期待される。しかしながら, 集団免疫が低下したことで, しばらく患者発生の危険が高い状態は続くと考えられる。ワクチン未接種の乳幼児, 30~59歳の抗体保有率が低い年齢群, 及び発症リスクの高い高齢者は, 特に蚊に刺されないための注意が必要である。

謝 辞

本調査の実施にあたり, 検体採取等にご協力いただいた関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 中村一哉, 滝澤剛則, 倉田毅, 田中桂子, 南部厚子, 田中有易知, 上田順子, 嶋尻悟志(2008). 富山衛研年報, 31, 76-78.
2. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター (2008). 平成18年度感染症流行予測調査報告書, 81-96.
3. 富山県厚生部 (2005). 保健統計年報 (平成15年度), 55, 306-307.
4. 富山県厚生部 (2006). 保健統計年報 (平成16年度), 56, 306-307.
5. 富山県厚生部 (2007). 保健統計年報 (平成17年度), 57, 304-305.
6. 富山県厚生部 (2008). 保健統計年報 (平成18年度), 58, 311-313.
7. 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺護, 林達哉(2009). 富山衛研年報, 32, 55-64.

ポリオ流行予測調査（平成20年度）

岩井 雅恵 堀元 栄詞 小原 真弓 中村 一哉 長谷川 澄代 滝澤 剛則
倉田 毅 原田 慎太郎¹ 高田 厚史² 南部 厚子³ 清原 美千代⁴ 嶋尻 悟志⁵

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2008

Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Kazuya NAKAMURA,
Sumiyo HASEGAWA, Takenori TAKIZAWA, Takeshi KURATA, Shintaro HARADA¹,
Atsushi TAKATA², Atsuko NANBU³, Michiyo KIYOHARA⁴, and Satoshi SHIMAJIRI⁵

要 旨 平成20年度ポリオ流行予測調査として、感染源調査と感受性調査を実施した。

感染源調査は、0歳から5歳までの乳幼児66名について、ポリオワクチン接種後2カ月以上経過した時点で、糞便を採取し、ウイルス分離を実施した。その結果、パレコウイルス1型とアデノウイルス5型がそれぞれ1名から検出された。ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査は、乳児から成人（0歳～76歳）の317名の血清について、ポリオウイルスに対する中和抗体価を測定した。ポリオウイルス各型に対して4倍以上の中和抗体価を保有する割合は、1型では95.9%、2型では98.1%、3型では84.9%であった。また、各型に対する平均抗体価は、1型は109.9倍、2型は96.2倍、3型は27.2倍であった。

富山県におけるポリオ流行予測調査は、国内のポリオウイルスの動向を監視するために、厚生労働省感染症流行予測事業のひとつとして国からの依頼を受け、昭和38年から毎年実施している。本年度は感染源調査および感受性調査が委託された。両調査結果を合わせて報告する。

富山県における過去25年間の感染源調査では、1983年度にポリオウイルス1型が1株、1992年度に同3型が1株、1999年度に同2型が1株、2001年度に同2型が2株、2004年度に同2型が1株、それぞれ分離された。これら6株はすべてワクチン由来であり、野生型は分離されなかった。一方、感受性調査では、1～3型すべてに対する抗体を保有している人は、県民の約4分の3であると推定された。

1988年から世界保健機関（WHO）によって開始されたポリオ根絶計画により、世界のほとんどの地域でポリオウイルスが駆逐されている[1]。日本の属する西太平洋地域においても、2000年10月に根絶が宣言された[2]。しかしながら、2008年の時点でアフガニスタン、インド、ナイジェリア、パキスタンの4カ国では、野生株ポリオウイルスの伝播が続いている[1]。また、ポリオの根絶が宣言されたアフリカやアジアの国々において、流行地からの野生株ポリオウイルスの

輸入に由来する流行が報告されている[1]。ワクチン由来ポリオウイルス（VDPV）についても、地域で循環する circulating VDPVs（cVDPVs）や、免疫不全者の体内に長期間残存する immunodeficiency-associated VDPV（iVDPVs）の感染による発症例が、世界各地で報告されている [3]。このような海外からの野生株の侵入や VDPV の伝播を阻止するために、県民の抗体保有状況を把握し、集団および個人レベルの感染防御を保つことは重要であると考えられる。なお、検体を採取するにあたり、本調査の主旨、およびプライバシーの保護に対する適切な予防措置が行われることなどについて説明し、承諾の得られた場合にのみ検査を行った。

Ⅰ 感染源調査 調査および検査方法

砺波厚生センター管内の小矢部市では、春期ポリオワクチン投与後2ヶ月以上経過した平成20年9月に、新川厚生センター管内の黒部市では、秋期ポリオワクチン投与後2ヶ月以上経過した平成21年1月に、それぞれ、健康な乳幼児から採取された糞便について、ウイルス分離検査を実施した。年齢区分ごとの検査対象者数は、

1. 高岡厚生センター 2. 新川厚生センター 3. 中部厚生センター 4. 砺波厚生センター 5. 富山市保健所

小矢部市では0歳児9名、黒部市では0歳児2名、1歳児7名、2歳児4名、3歳児15名、4歳児6名、5歳児23名の計57名、両市の合計は66名であった。当該地区のワクチン接種率は、予防接種の手引き[4]に従い、接種者数を対象人員{(0歳の人口の9/12+1歳の人口の6/12)×12/15}で除して求めた。

ウイルスの検索は、「感染症流行予測調査事業検査術式」[5]に準じて行った。すなわち、採取した糞便に Eagle-MEM 培養液(日水製薬)を加えて約10%乳剤を作製し、10,000rpm、15分間遠心後、フィルター(Pore size 0.45 μm)でろ過して雑菌を除いた。得られたろ液を4種類の培養細胞(VeroE6, MA104, RD-18S, HEp-2)に接種し、細胞変性効果の有無を指標としてウイルス分離を行なった。ウイルスは、抗ポリオウイルス抗血清(デンカ生研)を用いた中和試験により同定した。

結果および考察

小矢部市の0歳児1名からパレコウイルス1型が、黒部市の5歳児1名からアデノウイルス5型がそれぞれ検出された。両市の乳幼児からポリオウイルスは検出されなかった(表1)。糞便採取日は、それぞれの市のワクチン集団接種日からは、3~4ヶ月経過した時期であった。当該地区のワクチン接種率は、95.3%~105.2%と高かった。

このように、今年度の調査では野生株や VDPV は検出されなかったため、これらの地域でのポリオウイルス野生株の侵入や VDPV の伝播の可能性は少ないと考えられた。

II 感受性調査 調査および検査方法

平成20年6月から10月にかけて、高岡、新川、中部、砺波の各厚生センターおよび富山市保健所管内で、乳児から成人まで合計317名(0~76歳)について、採血と予防接種歴の調査を行った。

中和抗体価の測定は、「感染症流行予測調査事業検査術式」[5]に準じて行った。すなわち、被験血清を Eagle-MEM 培養液で4倍希釈し、56℃30分間非働化した後、その50 μl を96穴マイクロプレート上で2段階希釈した。希釈血清それぞれに、100TCID₅₀/50 μl となるように調製した1~3型の弱毒セービンウイルス50 μl を加えてよく混和し、37℃、3時間の中和反応を行った。中和後、Vero 細胞浮遊液(1~2×10⁵細胞/ml)を100 μl ずつ加え、37℃、5%CO₂の条件下で培養した。細胞変性効果を1週間観察し、中和抗体価を測定した。各検体は同時に2回ずつ測定した。弱毒セービンウイルスは、国立感染症研究所から分与され、当研究所において HEp-2細胞1代継代後、さらに Vero 細胞で1代継代したものを使用した。

表1. 健康な乳幼児からのウイルス検出状況

調査地区	年齢 (歳)	検体数	ウイルス検出		ウイルス内訳*	
			陽性数	(%)	パレコ1	アデノ5
黒部市	0	2				
	1	7				
	2	4				
	3	15				
	4	6				
	5	23	1	(4.3)		1
	小計	57	1	(1.8)		1
小矢部市	0	9	1	(11.1)	1	
	1					
	2					
	3					
	4					
	5					
	小計	9	1	(11.1)	1	
合計		66	2	(3.0)	1	1

調査期間： 黒部市、平成21年1月24-28日。小矢部市、平成20年9月17-18日。

*： パレコ1、パレコウイルス1型; アデノ5、アデノウイルス5型。

表2. ポリオウイルス（セービン株）に対する各中和抗体価の年齢区分別保有状況

1型														
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者総数	保有率(%)	平均抗体価
0～1	15	1	0	0	2	2	2	1	0	0	7	14	(93.3)	199.9
2～3	15	0	0	0	0	1	0	0	2	3	9	15	(100)	588.1
4～9	21	1	0	0	1	0	1	2	5	6	5	20	(95.2)	337.8
10～14	33	0	0	1	0	0	2	10	4	6	10	33	(100)	296.5
15～19	24	0	0	1	1	1	3	4	5	4	5	24	(100)	203.2
20～24	23	0	2	1	1	2	3	5	3	3	3	23	(100)	106.8
25～29	23	0	0	1	1	3	3	7	1	3	4	23	(100)	140.1
30～34	30	4	1	3	5	5	5	3	1	0	3	26	(86.7)	47.7
35～39	32	1	4	1	7	10	3	2	2	0	2	31	(96.9)	33.5
40～49	31	4	2	2	4	5	5	3	4	1	1	27	(87.1)	50.8
50～59	44	1	0	1	4	11	9	7	6	4	1	43	(97.7)	78.9
60～	26	1	0	2	6	5	2	4	2	3	1	25	(96.2)	60.5
合計	317	13	9	13	32	45	38	48	35	33	51	304	(95.9)	109.9
(%)		(4.1)	(2.8)	(4.1)	(10.1)	(14.2)	(12.0)	(15.1)	(11.0)	(10.4)	(16.1)	(95.9)		

2型														
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者総数	保有率(%)	平均抗体価
0～1	15	2	0	1	0	0	0	0	0	2	10	13	(86.7)	633.7
2～3	15	0	0	0	0	0	0	1	3	3	8	15	(100)	588.1
4～9	21	0	0	0	0	1	4	5	5	4	2	21	(100)	196.6
10～14	33	0	0	2	3	5	7	11	4	1	0	33	(100)	71.1
15～19	24	0	1	0	0	3	6	9	4	1	0	24	(100)	93.2
20～24	23	0	1	0	1	3	3	7	6	1	1	23	(100)	106.8
25～29	23	0	0	1	2	2	8	7	2	0	1	23	(100)	76.7
30～34	30	0	0	1	5	4	6	5	6	1	2	30	(100)	82.5
35～39	32	1	1	1	5	3	9	5	4	2	1	31	(96.9)	68.4
40～49	31	1	0	2	5	3	6	5	5	3	1	30	(96.8)	78.8
50～59	44	0	3	4	4	8	6	8	6	4	1	44	(100)	60.1
60～	26	2	2	1	3	3	3	6	6	0	0	24	(92.3)	60.4
合計	317	6	8	13	28	35	58	69	51	22	27	311	(98.1)	96.2
(%)		(1.9)	(2.5)	(4.1)	(8.8)	(11.0)	(18.3)	(21.8)	(16.1)	(6.9)	(8.5)	(98.1)		

3型														
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者総数	保有率(%)	平均抗体価
0～1	15	8	0	1	0	0	0	0	1	2	3	7	(46.7)	344.6
2～3	15	2	1	1	1	1	5	2	0	0	2	13	(86.7)	64.0
4～9	21	3	2	1	7	2	2	2	1	1	0	18	(85.7)	29.6
10～14	33	5	7	6	6	7	0	2	0	0	0	28	(84.8)	13.5
15～19	24	1	2	4	5	4	5	2	0	1	0	23	(95.8)	26.7
20～24	23	6	2	4	4	2	3	0	2	0	0	17	(73.9)	22.2
25～29	23	4	7	5	3	0	4	0	0	0	0	19	(82.6)	10.7
30～34	30	7	5	7	4	4	2	1	0	0	0	23	(76.7)	13.4
35～39	32	9	4	6	3	4	4	2	0	0	0	23	(71.9)	18.0
40～49	31	3	2	6	5	6	3	2	2	2	0	28	(90.3)	30.5
50～59	44	0	0	5	8	10	5	10	5	1	0	44	(100)	48.2
60～	26	0	2	2	5	5	7	3	1	0	1	26	(100)	37.6
合計	317	48	34	48	51	45	40	26	12	7	6	269	(84.9)	27.2
(%)		(15.1)	(10.7)	(15.1)	(16.1)	(14.2)	(12.6)	(8.2)	(3.8)	(2.2)	(1.9)	(84.9)		

表3. ワクチン接種歴別 抗体保有状況

1型											
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	ワクチン接種歴						ワクチン歴なし		ワクチン歴不明	
		2回接種		1回接種		回数不明		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)				
0～1	15	6 / 6	(100)	6 / 6	(100)			1 / 1	(100)	1 / 2	(50.0)
2～3	15	13 / 13	(100)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)				
4～9	21	18 / 19	(94.7)			2 / 2	(100)				
10～14	33	29 / 29	(100)	4 / 4	(100)						
15～19	24	24 / 24	(100)								
20～24	23	5 / 5	(100)			2 / 2	(100)			16 / 16	(100)
25～29	23	1 / 1	(100)					1 / 1	(100)	21 / 21	(100)
30～34	30			1 / 2	(50.0)	2 / 2	(100)	1 / 1	(100)	22 / 25	(88.0)
35～39	32					2 / 2	(100)	1 / 1	(100)	28 / 29	(96.6)
40～49	31					1 / 1	(100)	0 / 1	(0)	26 / 29	(89.7)
50～59	44					7 / 7	(100)	3 / 3	(100)	33 / 34	(97.0)
60～	26							7 / 7	(100)	18 / 19	(94.7)
合計	317	96 / 97	(99.0)	12 / 13	(92.3)	17 / 17	(100)	14 / 15	(93.3)	165/175	(94.3)
		125/127 (98.4 %)									

2型											
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	ワクチン接種歴						ワクチン歴なし		ワクチン歴不明	
		2回接種		1回接種		回数不明		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)				
0～1	15	6 / 6	(100)	6 / 6	(100)			0 / 1	(0)	1 / 2	(50.0)
2～3	15	13 / 13	(100)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)				
4～9	21	19 / 19	(100)			2 / 2	(100)				
10～14	33	29 / 29	(100)	4 / 4	(100)						
15～19	24	24 / 24	(100)								
20～24	23	5 / 5	(100)			2 / 2	(100)			16 / 16	(100)
25～29	23	1 / 1	(100)					1 / 1	(100)	21 / 21	(100)
30～34	30			2 / 2	(100)	2 / 2	(100)	1 / 1	(100)	25 / 25	(100)
35～39	32					2 / 2	(100)	1 / 1	(100)	28 / 29	(96.6)
40～49	31					1 / 1	(100)	1 / 1	(100)	28 / 29	(96.6)
50～59	44					7 / 7	(100)	3 / 3	(100)	34 / 34	(100)
60～	26							6 / 7	(85.7)	18 / 19	(94.7)
合計	317	97 / 97	(100)	13 / 13	(100)	17 / 17	(100)	13 / 15	(86.7)	171/175	(97.7)
		127/127 (100 %)									

3型											
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	ワクチン接種歴						ワクチン歴なし		ワクチン歴不明	
		2回接種		1回接種		回数不明		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)				
0～1	15	4 / 6	(66.7)	3 / 6	(50.0)			0 / 1	(0)	0 / 2	(0)
2～3	15	11 / 13	(84.6)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)				
4～9	21	16 / 19	(84.2)			2 / 2	(100)				
10～14	33	25 / 29	(86.2)	3 / 4	(75.0)						
15～19	24	23 / 24	(95.8)								
20～24	23	2 / 5	(40.0)			1 / 2	(50.0)			14 / 16	(87.5)
25～29	23	1 / 1	(100)					1 / 1	(100)	17 / 21	(81.0)
30～34	30			2 / 2	(100)	2 / 2	(100)	0 / 1	(0)	19 / 25	(76.0)
35～39	32					2 / 2	(100)	0 / 1	(0)	21 / 29	(72.4)
40～49	31					1 / 1	(100)	1 / 1	(100)	26 / 29	(89.7)
50～59	44					7 / 7	(100)	3 / 3	(100)	34 / 34	(100)
60～	26							7 / 7	(100)	19 / 19	(100)
合計	317	82 / 97	(84.5)	9 / 13	(69.2)	16 / 17	(94.1)	12 / 15	(80.0)	150/175	(85.7)
		109/127 (85.8 %)									

表4. 1・2・3型ポリオウイルスに対する中和抗体の年齢区分別保有状況

年齢区分 (歳)	検体数 (人)	1,2,3型 ともに 抗体陰性	中和抗体の型別保有者数						
			1型	2型	3型	1,2型	2,3型	1,3型	1,2,3型(%)
0～1	15	1	1			6		7	(46.7)
2～3	15					2		13	(86.7)
4～9	21					3	1	17	(81.0)
10～14	33					5		28	(84.8)
15～19	24					1		23	(95.8)
20～24	23					6		17	(73.9)
25～29	23					4		19	(82.6)
30～34	30			2		5	2	21	(70.0)
35～39	32		1	1		7		23	(71.9)
40～49	31				1	3	3	24	(77.4)
50～59	44						1	43	(97.7)
60～	26						1	2	23 (88.5)
合計	317	1	2	3	1	42	8	2	258
(%)	(100)	(0.3)	(0.6)	(0.9)	(0.3)	(13.2)	(2.5)	(0.6)	(81.4)

結果および考察

ポリオウイルス各型に対する中和抗体の保有状況をウイルス型別、年齢区分別にまとめて表2に示した。4倍以上を陽性とした抗体保有率は、2型が98.1% (311/317) で最も高く、次いで1型が95.9% (304/317)、3型が84.9% (269/317) であり、ポリオウイルスに対する集団免疫が高く維持されていると考えられた[7]。各年齢区分をみると、1型では30～34歳が86.7%で最も低く、次いで40～49歳が87.1%であったが、それ以外の年齢区分では、90%以上の人々が抗体を保有していた。2型では、0～1歳が86.7%であったが、それ以外の年齢区分では、90%以上の抗体保有率であった。一方、3型は0～1歳が46.7%と最も低く、次いで35～39歳が71.9%、20～24歳が73.9%、30～34歳が76.7%、それ以外の年齢区分が80%以上であり、1型や2型に比べて低かった。

一方、抗体保有者の平均抗体価（幾何平均）は、1型では35～39歳の33.5倍から2～3歳の588.1倍までを示し、平均は109.9倍であった。2型では50～59歳の60.1倍から0～1歳の633.7倍までを示し、平均は96.2倍であった。一方、3型では25～29歳の10.7倍から0～1歳の344.6倍までを示し、平均は27.2倍であり、1型や2型に比べて低かった。

表3にワクチン接種回数別にみた抗体保有状況を示した。ワクチン接種者全体の抗体保有率は、1型98.4% (125/127)、2型100% (127/127)、1回のみの抗体保有率は、1型92.3% (12/13)、2型100% (13/13) であり、

1回でも十分な抗体獲得率を示していた。しかしながら、3型の場合の陽性率は、ワクチン接種者全体で85.8% (109/127)、1回のみの接種では69.2% (9/13) にとどまり、1型や2型と比べて低かった。なお、ポリオ生ワクチンは、日本では1961年から全国の乳幼児を対象に一斉に投与が開始され、1963年からは2回接種が定期的に行われている[6]。

各年齢層における複数の型に対する抗体保有状況を表4に示した。1～3型のすべての型に対する抗体を保有している人の割合は、全体では81.4% (258/317) であったが、保有率が比較的低い年齢としては、0～1歳の46.7% (7/15)、30～34歳の70.0% (21/30) および35～39歳の71.9% (23/32) であった。一方、残りの18.6% (59/317) の人がいずれかの型に対して抗体を持っていないことになり、このうち2回の接種が済んでいる人は16名、1回が5名、0回が5名、回数不明が1名、接種不明が32名であった（表に記載していない）。野生型ポリオウイルスは、インドやアフリカなどで依然として感染が続いており、これらの地域からウイルスが侵入する可能性があるため、その監視は続けなければならない[1]。一方、生ワクチン株が腸管内で増殖する過程で毒性が復帰する可能性も考慮しておかなければならない。毒性復帰株に由来する二次感染は、約580万回に1回発生するといわれており[7]、子供から二次感染によって家族がポリオ麻痺を発症した事例も報告されている[8]。ワクチン由来のポリオウイルスは、通常、ワクチン接種後約1ヶ月間便に排泄され、免疫不全者ではさらに長期間にわたることがある[9-1

2]. ウイルス増殖が繰り返されるほど変異は蓄積される可能性があるため、生ワクチンを使用している限り、高い集団免疫状況を保つことが大切であると考えられる。今回の調査では、18.6%の人が3種類のポリオウイルスのうち、いずれか、あるいはすべての型に対する抗体を持っていないことが判明した。特に、20～39歳の2～3割の人がポリオウイルス3型に対する免疫を有しておらず、これらの人は、海外渡航時や育児に携わる期間には注意が必要であると考えられる。

ま と め

感染源調査：平成21年1月、平成20年9月に、それぞれ新川厚生センター管内、砺波厚生センター管内における健康な乳幼児合計66名を対象に調査した。その結果、パレコウイルス1型およびアデノウイルス5型がそれぞれ1名から検出された。ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査：0歳から76歳までの317名の血清について、ポリオウイルス(弱毒セービンウイルス)に対する中和抗体価を測定した。抗体価4倍以上の抗体保有率は1型95.9%、2型98.1%、3型84.9%であった。また、平均抗体価(幾何平均)は1型109.9倍、2型96.2倍、3型27.2倍を示し、集団免疫としては良好な抗体保有状況であった。

これらの結果から、本県においては、野生型ポリオウイルスの侵淫や、ポリオ流行の可能性は少ないと考えられた。しかしながら、いずれか、あるいはすべての型の抗体を保有していない人が18.6%おり、海外からのポリオウイルス侵入に対する警戒や、海外渡航や育児従事にあたっての注意が必要である。

謝 辞

本調査を実施するにあたり、検体採取等にご協力いただいた保育所、学校、病院、その他関係各位に感謝いたします。

文 献

1. WHO (2009). Weekly epidemiological record, No.19, 84, 17-28
2. WHO (2000). Weekly epidemiological record, No.49, 75, 397-408
3. WHO (2007). Weekly epidemiological record, No.39, 82, 337-344
4. 予防接種の手引き<第11版>. 木村三生夫ら編, p60 近代出版.
5. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所流行予測調査事業委員会 (平成14年). 感染症流行予測調査事業検査術式, 1-8
6. 厚生労働省, 国立感染症研究所 (2001). 感染症発生動向調査週報, 3 (26), 8-11
7. 日本ポリオ研究所, 日本薬局方・経口生ポリオワクチン (セービン) I・II・III型混合添付文書.
8. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2001). 病原微生物検出状況月報, 22, 63
9. WHO (2001). Polio Laboratory Manual, 13
10. Cherkasova EA, Korotkova EA, Yakovenko ML, et. al. (2002). J. Virol., 76, 6791-6799
11. Kew, O.M., Sutter, R.W., Nottay, B.K., et. al. (1998). J. Clin. Microbiol., 36, 2893-2899
12. Martin, J., Dunn, G., Hull, R., et. al. (2000). J. Virol., 74, 3001-301

インフルエンザ流行予測調査

堀元 栄詞 長谷川 澄代 中村 一哉 小原 真弓
岩井 雅恵 滝澤 剛則 倉田 毅 高田 厚史¹ 南部 厚子²
原田 慎太郎³ 清原 美千代⁴ 嶋尻悟志⁵

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2008-2009

Eiji HORIMOTO, Sumiyo HASEGAWA, Kazuya NAKAMURA, Mayumi OBARA,
Masae IWAI, Takenori TAKIZAWA, Takeshi KURATA, Atsushi TAKATA¹,
Atsuko NANBU², Shintaro HARADA³, Michiyo KIYOHARA⁴, Satoshi SHIMAJIRI⁵

要 旨 インフルエンザ流行期前の富山県住民の抗体保有状況，および流行期のインフルエンザ様患者からのウイルス分離を実施した．その結果，以下の成績を得た．

1. インフルエンザ流行期前における富山県住民318名の抗体保有状況について，6種類のインフルエンザ抗原を用いて調べた．血球凝集抑制（HI）抗体価40倍以上の力価を示す抗体保有率は，2008/09シーズンワクチン株の A/Brisbane/59/2007（H1N1），A/Uruguay/716/2007（H3N2），B/Florida/4/2006（山形系統）および参考株として2007/08シーズンワクチン株の B/Malaysia/2506/2004（ビクトリア系統），A/Solomon Islands/3/2006（H1N1），A/Hiroshima/52/2005（H3N2）に対して各々36.8%，18.6%，36.2%，24.5%，56.0%，40.6%であった．
2. インフルエンザ患者の報告は2008年第45週から始まり，2009年第1週まで定点あたり1～2人を前後した．第2週から報告数は急激に増加し，第5週で最初のピーク（31.54人/定点）を迎えた．その後，緩やかに減少に転じたが，第10週には再度増加に転じ，第12週で2度目のピーク（25.0人/定点）を迎えた．その後，報告数は減少し，第20週に流行は終息した．
3. インフルエンザウイルスは，AH1型が210株，AH3型が131株，B型が169株，新型インフルエンザウイルス（AH1pdm）が1株の合計511株が検出された．シーズン前半はAH1型とAH3型が主に検出されたが，後半はB型が中心となった．6月下旬にAH1pdmが1株検出された．

本調査は，インフルエンザウイルスに対する集団免疫の現状把握（Ⅰ感受性調査）とウイルス検索（Ⅱ感染源調査）を行い，ワクチン株選定を含めたインフルエンザ流行の予測と予防に資することを目的としている．厚生労働省健康局結核感染症課が主体となり，全国の地方衛生研究所，保健所，医療機関等が協力して実施した．

Ⅰ 感受性調査

インフルエンザ流行期前の県民の抗体保有状況を調べ，県民の免疫状況とインフルエンザ流行の実態を把握し，今後の流行予測および感受性者に対する注意を喚起する為の資料とする．

調査および検査方法

1. 調査期間
2008年6～9月
2. 調査対象者数および年齢別構成
本年度は県内住民318名について調査を行った．年齢群別調査数は0～4歳：35名，5～9歳：17名，10～14歳：33名，15～19歳：24名，20～29歳：46名，30～39歳：62名，40～49歳：31名，50～59歳：44名，60歳以上：26名であった．
3. 検査方法
調査対象者から採血し，血清中のインフルエンザウイルス赤血球凝集抑制（HI）抗体価を測定した．抗体価の測定は，「感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年発行）」に準じて行い，血清希釈10倍を最低

1. 新川厚生センター， 2. 中部厚生センター， 3. 高岡厚生センター， 4. 砺波厚生センター， 5. 富山市保健所

表 1. 年齢群別インフルエンザ HI 抗体保有状況

A/Brisbane/59/2007 (H1N1)

年齢群	人数	各 HI 抗体価別人数										40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%
0-4	35	20	4	1	1	3	4	1	0	1	0	10	28.6
5-9	17	2	2	0	4	5	2	1	0	1	0	13	76.5
10-14	33	3	2	8	5	4	5	3	2	1	0	20	60.6
15-19	24	1	2	2	4	2	9	3	1	0	0	19	79.2
20-29	46	18	7	4	6	4	5	1	1	0	0	17	37.0
30-39	62	33	11	5	6	5	1	1	0	0	0	13	21.0
40-49	31	10	7	3	5	4	1	1	0	0	0	11	35.5
50-59	44	18	11	6	6	2	0	1	0	0	0	9	20.5
≥60	26	13	6	2	2	2	0	0	1	0	0	5	19.2
合計	318	118	52	31	39	31	27	12	5	3	0	117	36.8

A/Uruguay/716/2007 (H3N2)

年齢群	人数	各 HI 抗体価別人数										40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%
0-4	35	30	1	1	0	2	0	1	0	0	0	3	8.6
5-9	17	4	3	1	2	4	2	1	0	0	0	9	52.9
10-14	33	12	7	2	8	3	1	0	0	0	0	12	36.4
15-19	24	7	3	3	6	4	1	0	0	0	0	11	45.8
20-29	46	27	7	3	4	4	1	0	0	0	0	9	19.6
30-39	62	43	11	3	1	3	1	0	0	0	0	5	8.1
40-49	31	20	4	4	2	1	0	0	0	0	0	3	9.7
50-59	44	29	9	1	3	0	2	0	0	0	0	5	11.4
≥60	26	17	5	2	2	0	0	0	0	0	0	2	7.7
合計	318	189	50	20	28	21	8	2	0	0	0	59	18.6

B/Florida/4/2006(Yama.)

年齢群	人数	各 HI 抗体価別人数										40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%
0-4	35	33	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
5-9	17	9	2	3	1	2	0	0	0	0	0	3	17.6
10-14	33	6	6	5	6	7	2	1	0	0	0	16	48.5
15-19	24	5	0	3	6	7	3	0	0	0	0	16	66.7
20-29	46	7	3	8	15	8	3	1	1	0	0	28	60.9
30-39	62	18	11	12	13	6	2	0	0	0	0	21	33.9
40-49	31	6	6	2	11	3	2	1	0	0	0	17	54.8
50-59	44	21	6	7	7	2	0	1	0	0	0	10	22.7
≥60	26	18	3	1	2	2	0	0	0	0	0	4	15.4
合計	318	123	38	42	61	37	12	4	1	0	0	115	36.2

B/Malaysia/2506/2004(Vic.)

年齢群	人数	各 HI 抗体価別人数										40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%
0-4	35	33	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
5-9	17	6	4	0	4	1	2	0	0	0	0	7	41.2
10-14	33	16	7	4	3	2	0	0	1	0	0	6	18.2
15-19	24	6	7	4	6	1	0	0	0	0	0	7	29.2
20-29	46	12	5	15	7	6	1	0	0	0	0	14	30.4
30-39	62	9	10	16	14	10	3	0	0	0	0	27	43.5
40-49	31	6	9	7	6	2	1	0	0	0	0	9	29.0
50-59	44	18	15	6	3	2	0	0	0	0	0	5	11.4
≥60	26	19	2	2	3	0	0	0	0	0	0	3	11.5
合計	318	125	60	55	46	24	7	0	1	0	0	78	24.5

A/Solomon Islands/3/2006(H1N1)

年齢群	人数	各 HI 抗体価別人数										40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%
0-4	35	19	3	3	3	1	4	1	0	1	0	10	28.6
5-9	17	3	1	4	2	2	3	1	1	0	0	9	52.9
10-14	33	0	2	4	12	5	2	5	2	1	0	27	81.8
15-19	24	0	1	0	2	1	10	4	4	2	0	23	95.8
20-29	46	5	5	2	8	9	4	3	7	3	0	34	73.9
30-39	62	18	9	2	11	4	7	8	3	0	0	33	53.2
40-49	31	8	3	5	4	4	3	2	1	1	0	15	48.4
50-59	44	11	4	10	11	3	2	3	0	0	0	19	43.2
≥60	26	11	3	4	2	4	1	0	1	0	0	8	30.8
合計	318	75	31	34	55	33	36	27	19	8	0	178	56.0

A/Hiroshima/52/2005(H3N2)

年齢群	人数	各 HI 抗体価別人数										40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%
0-4	35	27	4	1	1	1	1	0	0	0	0	3	8.6
5-9	17	1	3	4	1	4	3	1	0	0	0	9	52.9
10-14	33	3	5	5	7	8	4	1	0	0	0	20	60.6
15-19	24	1	1	2	5	5	2	5	2	1	0	20	83.3
20-29	46	11	6	4	8	11	6	0	0	0	0	25	54.3
30-39	62	32	7	5	9	6	3	0	0	0	0	18	29.0
40-49	31	14	1	5	7	4	0	0	0	0	0	11	35.5
50-59	44	15	9	3	10	3	1	2	1	0	0	17	38.6
≥60	26	11	5	4	3	1	2	0	0	0	0	6	23.1
合計	318	115	41	33	51	43	22	9	3	1	0	129	40.6

希釈倍数とした。

抗原は、次の6種類を使用した。この内、1, 2, 3は2008/09シーズンの、4, 5, 6は2007/08シーズンのワクチン株である。

1. A/Brisbane/59/2007 (H1N1)
2. A/Uruguay/716/2007 (H3N2)
3. B/Florida/4/2006 (山形系統)
4. B/Malaysia/2506/2004 (ビクトリア系統)
5. A/Solomon Islands/3/2006 (H1N1)
6. A/Hiroshima/52/2005 (H3N2)

抗原については、全てデンカ生研製のものを使用した。血球は全ての抗原に対し0.5%ニワトリ血球浮遊液を使用した。

結果および考察

1. 年齢群別抗体保有状況

HI 抗体価10倍未満から2560倍の抗体保有状況について年齢群別に示した(表1)。また HI 抗体価40倍以上の抗体保有率について、年齢群別に示した(図1)。なお、本書においては、抗体保有率の高低について60%以上を「高い」、40～59%を「比較的高い」、25～39%を「中程度」、10～24%を「比較的低い」、5～9%を

「低い」、5%未満を「極めて低い」として以下の表現に用いた。

A/Brisbane/59/2007 (H1N1)に対する抗体保有率：本株に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有率は平均36.8%であった。年齢群別では、5～9歳、10～14歳、15～19歳の群でそれぞれ76.5%、60.6%、79.2%と高く、0～4歳、20～29歳、40～49歳の群でそれぞれ28.6%、37.0%、35.5%と中程度であった。また30～39歳、50～59歳、60歳以上の群でそれぞれ21.0%、20.5%、19.2%と比較的低かった。

A/Uruguay/716/2007 (H3N2) に対する抗体保有率：本株に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有率は平均18.6%であった。年齢群別では、5～9歳、15～19歳の群でそれぞれ52.9%、45.8%と比較的高く、また10～14歳の群では、36.4%と中程度であった。20～29歳、50～59歳の群ではそれぞれ19.6%、11.4%と比較的低かった。0～4歳、30～39歳、40～49歳および60歳以上の群ではそれぞれ8.6%、8.1%、9.7%、7.7%と低かった。

B/Florida/4/2006(山形系統)に対する抗体保有率：B型インフルエンザウイルスには、抗原性および遺伝学的に異なる2つの系統(山形系統とビクトリア系統)がある。本株に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有

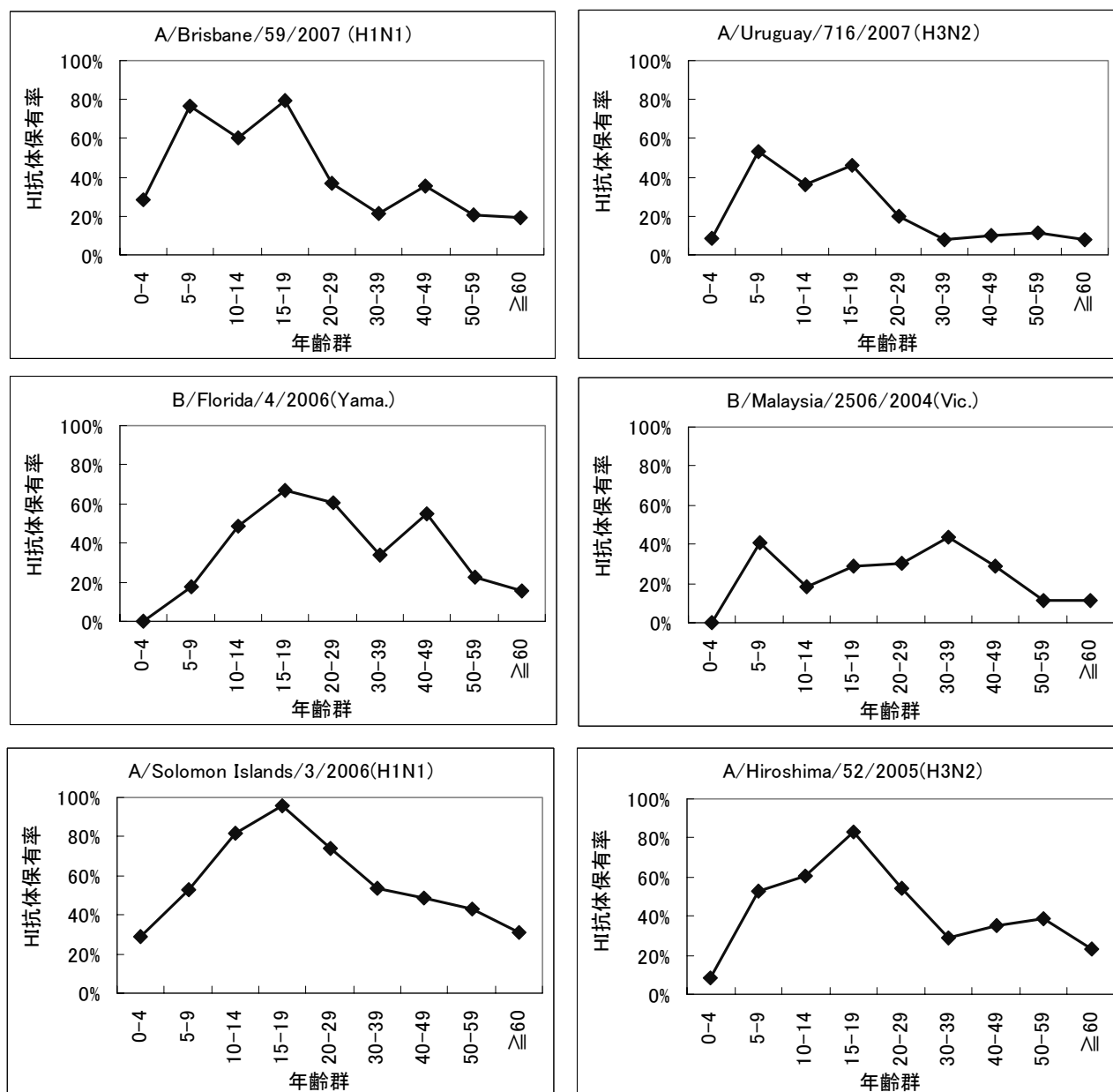


図1. 年齢群別 HI 抗体保有率（抗体価40倍以上）

率は平均36.2%であった。年齢群別では、15～19歳、20～29歳の群で66.7%，60.9%と高く、10～14歳、40～49歳の群では、48.5%，54.8%と比較的高かった。30～39歳の群で33.9%と中程度で、5～9歳、50～59歳および60歳以上の群では、それぞれ17.6%，22.7%，15.4%と比較的低く、0～4歳では0.0%と極めて低かった。

B/Malaysia/2506/2004（ビクトリア系統）に対する抗体保有率：本株に対する HI 抗体価40以上の抗体保有率は平均24.5%であった。年齢群別では、5～9歳、30～39歳の群で41.2%，43.5%と比較的高く、15～19歳、20～29歳、40～49歳でそれぞれ29.2%，30.4%，29.0%と中程度であった。10～14歳、50～59歳、

60歳以上の群ではそれぞれ18.2%，11.4%，11.5%と比較的低く、0～4歳の群では0.0%と極めて低かった。

A/Solomon Islands/3/2006（H1N1）に対する抗体保有率：本株に対する HI 抗体価40以上の抗体保有率は平均56.0%であった。年齢群別では、10～14歳、15～19歳、20～29歳の群でそれぞれ81.8%，95.8%，73.9%と高く、5～9歳、30～39歳、40～49歳、50～59歳でそれぞれ52.9%，53.2%，48.4%，43.2%と比較的高かった。0～4歳および60歳以上の群ではそれぞれ28.6%，30.8%と中程度であった。

A/Hiroshima/52/2005（H3N2）に対する抗体保有率：本株に対する HI 抗体価40以上の抗体保有率は平均40.6%であった。年齢群別では、10～14歳、15～

表 2. 予防接種歴別 HI 抗体保有率（抗体価40倍以上）

抗原		A/Brisbane /59/2007 (H1N1)		A/Uruguay /716/2007 (H3N2)		B/Florida/4 /2006 (Yama.)		B/Malaysia /2506/2004 (Vic.)		A/Solomon Islands/3 /2006(H1N1)		A/Hiroshima /52/2005 (H3N2)	
		有	無	有	無	有	無	有	無	有	無	有	無
年齢区分	0-4	30.8%	33.3%	7.7%	13.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	23.1%	33.3%	7.7%	13.3%
	5-9	63.6%	100.0%	45.5%	60.0%	9.1%	40.0%	36.4%	40.0%	45.5%	60.0%	45.5%	60.0%
	10-14	91.7%	42.9%	66.7%	19.0%	75.0%	33.3%	41.7%	4.8%	83.3%	81.0%	100.0%	38.1%
	15-19	92.9%	60.0%	57.1%	30.0%	78.6%	50.0%	35.7%	20.0%	100.0%	90.0%	100.0%	60.0%
	20-29	64.3%	25.0%	42.9%	9.4%	92.9%	46.9%	50.0%	21.9%	100.0%	62.5%	85.7%	40.6%
	30-39	36.0%	11.1%	16.0%	2.8%	52.0%	22.2%	84.0%	16.7%	76.0%	38.9%	56.0%	11.1%
	40-49	76.9%	5.6%	7.7%	11.1%	53.8%	55.6%	30.8%	27.8%	69.2%	33.3%	61.5%	16.7%
	50-59	26.5%	0.0%	14.7%	0.0%	26.5%	10.0%	11.8%	10.0%	52.9%	10.0%	44.1%	20.0%
	≥60	23.5%	11.1%	5.9%	11.1%	23.5%	0.0%	17.6%	0.0%	35.3%	22.2%	17.6%	33.3%
平均		49.7%	25.0%	25.5%	12.2%	43.8%	30.8%	34.6%	15.4%	64.1%	49.4%	54.9%	28.2%

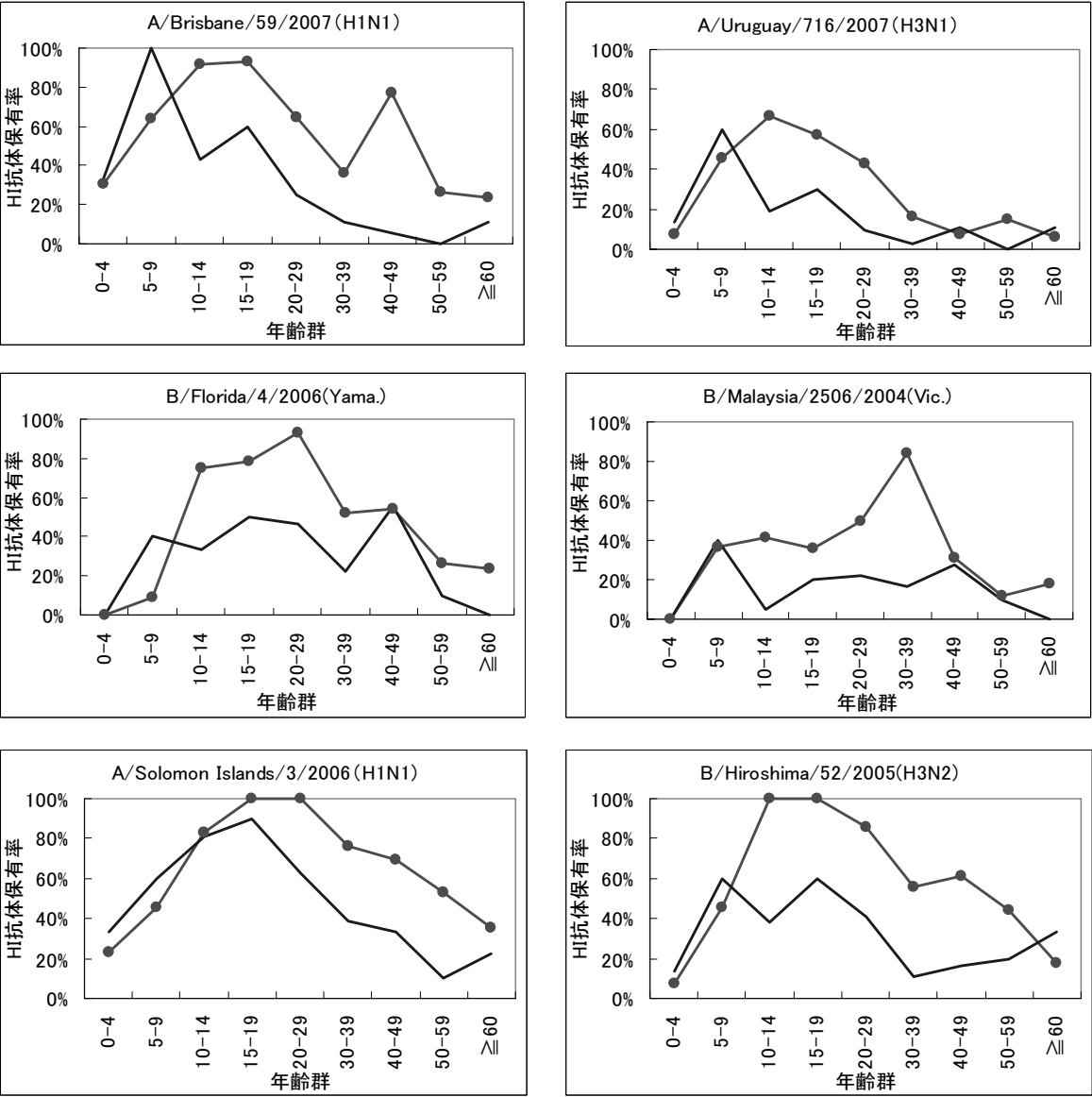
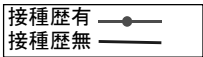


図 2. 予防接種歴別 HI 抗体保有率（抗体価40倍以上）



19歳群がそれぞれ60.6%, 83.3%と高く, 5~9歳, 20~29歳の群ではそれぞれ52.9%, 54.3%と比較的高かった。30~39歳, 40~49歳, 50~59歳の群ではそれぞれ29.0%, 35.5%, 38.6%と中程度であった。60歳以上では23.1%と比較的低く, 0~4歳では8.6%と低かった。

2. 予防接種率および予防接種歴別抗体保有状況

各年齢群における抗体保有状況を予防接種歴別に表2および図2に示した。調査対象者318名中, 予防接種歴不明の9名を除く309名におけるインフルエンザワクチン接種率(採血時点で2007年度にワクチン接種歴ありと回答した者)は49.5%(153名)であった。年齢群別の接種率は30.4~77.3%と, 各年齢群間で最大46.9ポイントの差が見られた。

全年齢群における平均抗体保有率について予防接種歴別に見ると, A/Brisbane/59/2007 (H1N1)で49.7%:25.0%(接種歴有群:接種歴無群, 以下同), A/Uruguay/716/2007 (H3N2)で25.5%:12.2%, B/Florida/4/2006(山形系統)で43.8%:30.8%, B/Malaysia/2506/2004(ビクトリア系統)で34.6%:15.4%, A/Solomon Islands/3/2006 (H1N1)で64.1%:49.4%, A/Hiroshima/52/2005(H3N2)で54.9%:28.2%と, 全ての調査株で接種歴有群は無群と比較して13.0~26.7ポイント高かった。

2008年度の調査の結果, A/Brisbane/59/2007 (H1N1)とB/Florida/4/2006(山形系統)に対する抗体保有率は中程度であったのに対し, A/Uruguay/716/2007 (H3N2)に対しては比較的低く, 同型の流行が危惧された。B/Malaysia/2506/2004(ビクトリア系統)以外については, 10~29歳の群での抗体保有率が他の年齢群に比較して高く, この傾向は2007年度の調査とほぼ同じであった。これは, この年齢層が学校等の集団生活においてインフルエンザウイルスの暴露を頻回に受けることによるものと思われた。また, 前シーズン予防接種歴の有無の比較では全ての調査株で接種歴有の群が高く, 年齢群別でも多くの年齢群でこの傾向が認められた。AH1型及びAH3型については, 今シーズンワクチン株が変更しているが, 前シーズンワクチン株との抗体保有率の比較ではそれぞれ, 19.2ポイント, 22.0ポイント減少していた。また, 全ての調査株に対する0~4歳の抗体保有率は十分といえず, 注意が必要である。

II 感染源調査

インフルエンザ様患者からウイルスを分離すること

により, 流行株の性状を把握し, それに基づく次シーズンのワクチン株の選定や, 新型インフルエンザ出現監視に資することを目的に調査を行った。なお, 本年度は厚生労働省科学研究として「非流行期におけるインフルエンザサーベイランス」を行ったが, そのデータと合わせて解析している。また, 2009年4月に発生した新型インフルエンザ A/H1N1の検査についても合わせて集計している。

調査および検査方法

1. 調査期間

2008年9月~2009年6月

2. 調査対象

定点医療機関として, 二本垣医院(黒部市), 池田内科医院(上市町), 小栗小児科医院(高岡市), パスコこどもクリニック(射水市), 力耕会金井医院(砺波市), 正木医院(南砺市), 中島こどもクリニック(富山市), むらかみ小児科(富山市)の協力を得た。また, 他の研究事業として柳下小児科内科医院(砺波市), 平野クリニック(魚津市)においても検体採取できたので, その分も含めた。更に, 2009年4月に発生した新型インフルエンザ A/H1N1を受けて, 5月以降に発熱外来を受診した者の検体, および強化サーベイランスとして定点外医療機関で検体採取された検体も含め解析した。

3. 検査方法

ウイルス分離は, 患者から採取した咽頭・鼻腔拭い液をMDCK細胞に接種して行った。分離したウイルスの型別同定は, 国立感染症研究所(感染研)から配布された次の血清を用いてHI抗体価を測定することにより行った。

1. 抗 A/Brisbane/59/2007 (H1N1)血清
2. 抗 A/Uruguay/716/2007 (H3N2)血清
3. 抗 B/Brisbane/3/2007 (山形系統)血清
4. 抗 B/Malaysia/2506/2004 (ビクトリア系統)血清

血球は全て0.75%モルモット血球浮遊液を使用した。新型インフルエンザ A/H1N1の遺伝子検査は, 感染研の検査マニュアルに従い, リアルタイム RT-PCR法で行った。

結果および考察

1. インフルエンザ患者の報告状況

富山県感染症発生動向調査によると, インフルエンザ患者の報告は2008年第45週(11/3~9)から始まり,

表 3. 施設別インフルエンザウイルス分離状況

管轄厚生 センター・ 保健所等	検体採取施設	区分	ウイルス検査						
			咽頭（鼻腔）ぬぐい液		検出数	ウイルス検出			
			採取日	検体数		型別内訳			
						AH1	AH3	B	AH1pdm
新川	二本垣医院	定点	2008.11.6～ 2009.5.8	29	27	2	8	17	0
中部	池田内科医院	定点	2008.12.9～ 2009.4.27	6	6	2	2	2	0
高岡	小栗小児科医院	定点	2009.1.6～ 5.28	37	37	18	5	14	0
高岡	パスコこどもクリニック	定点	2009.1.5～ 4.24	41	37	8	6	23	0
砺波	力耕会 金井病院	定点	2008.11.27～ 2009.5.27	195	166	88	33	45	0
砺波	正木医院	定点	2008.12.3～ 2009.5.21	98	92	34	31	27	0
富山市	中島こどもクリニック	定点	2009.1.11～4.13	15	15	7	4	4	0
富山市	むらかみ小児科	定点	2008.11.27～4.27	71	62	14	24	24	0
砺波	柳下小児科内科医院	定点外	2008.12.9～12.29	34	26	25	1	0	0
新川	平野クリニック	定点外	2009.1.～ 2008.3.18	31	25	9	3	13	0
新型インフルエンザ強化サーベイランス			2009.5.18～6.29	41	18	3 (注1)	14 (注2)	0	1
合計				598	511	210	131	169	1

(注) 検体は1人1検体ずつ採取

(注1) 内2検体は遺伝子検出のみ

(注2) 内4検体は遺伝子検出のみ

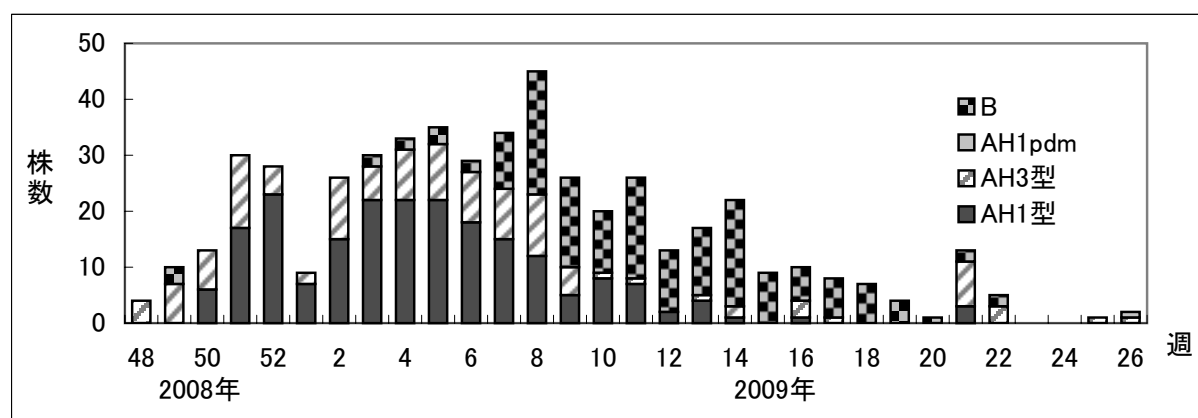


図 3. 週別・型別インフルエンザウイルス検出状況

2009年第1週（12/29～1/4）まで定点あたり1～2人を前後した。第2週（1/5～11）から報告数は急激に増加し、第5週（1/26～2/1）で最初のピーク（31.54人/定点）を迎えた。その後、緩やかに減少に転じたが、第10週（3/2～8）には再度増加に転じ、第12週

（3/16～22）で2度目のピーク（25.0人/定点）を迎えた。その後、報告数は減少し、第20週（5/11～17）には0.6人/定点となり流行は終息した。

「集団かぜ」による学級閉鎖等の措置は、2008年12月2日の小学校での学年閉鎖に始まり、2009年5月20日

までに136施設でとられた。シーズン中の累積患者数は3746名であった。

県内で初めて確認された新型インフルエンザ A/H1N1患者は、6月26日に米国から帰国した30歳代の男性であった。

2. インフルエンザウイルス検出状況

2008年10月～2009年6月までに、定点・定点外医療機関、新型インフルエンザの発熱外来で採取された598検体についてインフルエンザウイルスの分離・遺伝子検出を試みた。成績を表3に示す。

ウイルス検出は AH1型が210株、AH3型が131株、B 型が169株、新型インフルエンザウイルス (AH1pdm) 1株の合計511株検出された。シーズン前半は AH1型と AH3型が多数を占めていたが、後半は B 型の割合が増加した。AH1pdm は第26週 (6/22～28) に1株検出している (図3)。なお、第21～22週に検出数が増加しているが、これは新型インフルエンザ対策として、強化サーベイランスが導入された為である。

標準抗血清に対する分離株の HI 抗体価を表4に示す。抗 A/Brisbane/59/2007 (H1N1)血清に反応する AH1型の分離株 (208株) の HI 抗体価は、40～320倍 (ホモ価640倍) であった。分離株のほとんどが80倍と160倍を示していたことから、今シーズンの分離株の抗原性は類似していたのではないかと推測された。抗 A/Uruguay/716/2007 (H3N2) 血清に反応する AH3型の分離株 (127株) の HI 抗体価は、40～2560倍 (ホモ価1280倍) であった。分離株の HI 抗体価の幅が広く、また、ホモ価と8倍以上違う HI 抗体価を示した株が約3割程度あった。

抗 B/Brisbane/3/2007 (山形系統) 血清に反応す

る B 型分離株 (4株) の HI 抗体価は、320～640倍 (ホモ価1280倍) であった。また、抗 B/Malaysia/2506/2004 (ビクトリア系統)血清に反応する B 型分離株 (165株) の HI 抗体価は、それぞれ160～320倍 (ホモ価2560倍) であった。今シーズン分離された B 型分離株のほとんどはビクトリア系統であった。

今シーズンの富山県におけるインフルエンザの流行は、シーズン総患者報告数では昨シーズンよりかなり多くなり [1]、過去10シーズンでは3番目に多い報告数となった。流行は昨シーズン同様比較的早く始まったが、年末の流行は小規模に推移し、年明けから1月下旬と3月中旬にピークに持つ二峰性の曲線を描いた。流行が二峰性になることは近年珍しく、ウイルス検出状況から前半の流行は A 型が流行し、後半は B 型が流行したことが事が確認された。

ウイルス分離については、AH1型が41.1%、AH3型が25.6%、B 型が33.1%、Apdm が0.2%であった。全国の集計では、2009年6月末の集計で、AH1型が40.9%、AH3型が27.5%、B 型が23.2%、AH1pdm が8.4%であった。全国に比べ富山県では B 型の割合が多く、Apdm の割合が少ない傾向にあった [2]。富山県のシーズン後半の流行が全国に比べ大きく、そのため B 型の割合が多くなったと思われる。また、新型インフルエンザ A/H1N1患者の探知が、富山県は都道府県別で42番目と遅れたことが AH1pdm の割合が少なくなった理由と考えられた。

分離株の抗原解析の結果、AH1型、AH3型、B 型でワクチン株との抗原性が異なることが示唆された。しかし、WHO によれば、抗原解析の結果、AH1型、A

表 4. 標準抗血清に対する分離株の HI 価

(単位：株)

		標準抗血清			
		AH1型	AH3型	B/山形系統	B/ビクトリア系統
		A/Brisbane/59/2007	A/Uruguay/716/2007	B/Brisbane/3/2007	B/Malaysia/2506/2004
分離株の HI 抗体価	ホモ価	640	1280	1280	2560
	40	2	2		
	80	137	6		
	160	67	32		83
	320	2	36	3	82
	640		26	1	
	1280		24		
	2560		1		
合計		208	127	4	165

平成21年12月 1 日

H3型については、ワクチン株に類似していることコメントしている[3]。このように抗原解析の結果が異なる原因となったことについては、MDCK 細胞由来の分離株は、鶏卵由来の分離株と抗原性が異なることが影響していると考えられる。そのため、現在では地方衛生研究所において分離株とワクチン株の抗原性を比較することは困難になった。

WHO は2009/10インフルエンザシーズン（北半球の冬）のワクチン推奨株について、A/HI 型と A/H3型は A/Brisbane /59/2007類似株と A/Brisbane/10/2007類似株として前シーズンのまま変更せず、B 型については B/Brisbane/60/2008類似株に変更した[3]。

謝 辞

検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力いただい

た二本垣医院，池田内科医院，小栗小児科医院，パスコこどもクリニック，力耕会金井医院，正木医院，中島こどもクリニック，むらかみ小児科，柳下小児科内科医院，平野クリニックに深謝いたします。また，ご協力いただいた多数の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 富山県衛生研究所編集・発行（2009）. 富山県感染症発生動向調査事業報告書（平成20年）
2. 国立感染症研究所感染症情報センター（2009）. IASR, <http://idsc.nih.go.jp/iasr/prompt/graph-kj.html>
3. 国立感染症研究所編（2009）. 病原微生物検出情報, 30, 190

富山県の肥育豚におけるカリシウイルス、E型肝炎ウイルスの浸潤状況

中村 一哉 堀元 栄詞 岩井 雅恵 小原 真弓 長谷川 澄代
倉田 毅 滝澤 剛則

Prevalence of swine caliciviruses and hepatitis E virus in Toyama

Kazuya NAKAMURA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI, Mayumi OBARA,
Sumiyo HASEGAWA, Takeshi KURATA and Takenori TAKIZAWA

要 旨 富山県域の肥育豚を対象にノロウイルス、サポウイルス、E型肝炎ウイルスの感染状況を調査した。調査実施期間を通じ、GII群ノロウイルス、サポウイルスが検出された。低頻度ではあるがE型肝炎ウイルスも検出された。農場によってウイルス検出率に差が認められ、飼養形態とウイルス保有状況の関連が示唆された。検出されたGII群ノロウイルスの多くは従来豚を宿主としていたノロウイルスであったが、ヒト型ノロウイルスも稀に捕捉された。サポウイルスは、旧来より存在していた豚型GIII群に加え、最近新たに報告された遺伝子群のクラスターに属する株が複数検出された。また、ヒトのGV群サポウイルスに近縁な株も検出された。E型肝炎ウイルスは、日本の野生動物や肥育豚から検出が報告されているGIII遺伝子型のクラスターに属していた。本調査によって、ノロウイルス、サポウイルス、E型肝炎ウイルスが地域の豚に感染、維持されていることが示唆された。人獣共通感染症としての可能性が注目されるこれらウイルスの環境中での変遷を正確に把握するために、豚を監視対象に含めた継続的な調査が有用だと思われる。

ノロウイルスは食品媒介性の急性感染性胃腸炎の原因ウイルスとして、E型肝炎ウイルスはイノシシや鹿肉の生食に起因する肝炎の原因ウイルスとして、ともに公衆衛生上重要視されるウイルスである[1, 2]。

豚は多くの人獣共通感染症の病原体に対して感受性を持ち、人獣共通感染症の感染拡大に相応の役割を担うことが少なくない。一方、豚から検出されるノロウイルスは、ヒトから検出されるノロウイルスとの遺伝的な関連性が着目されている[3]。また、E型肝炎ウイルスに関しても、同じ遺伝子型のウイルスがヒトと豚の両方から検出されている[4]。これらウイルスの豚における分布状況の監視は、環境中のノロウイルスやE型肝炎ウイルスの動向を把握するために、意義があると思われる。

そこで、富山県域の肥育豚を対象に、ノロウイルス、近年ノロウイルス同様に急性感染性胃腸炎の原因として注目されているサポウイルス、およびE型肝炎ウイルスの浸潤状況を調査した。

材料と方法

1. 豚糞便検体

県食肉検査所に搬入された出荷齢豚の腸内容物を採材し、後の乳剤作製に供した。検体数は20件/月とし、

2008年8月期および2009年1月期には、任意選定した農場について採取数を増加し、農場ごとの侵淫状況を検討した。

2. RT-PCR とクローニングおよび塩基配列解析

便乳剤からQIAamp Viral RNA mini Kitを用いてRNAを抽出した。抽出したRNAについて、DNase処理を行った後、SuperscriptIII逆転写酵素とランダムヘキサマーを用いてcDNAを合成した。ノロウイルス検出はG1SKF/RまたはG2SKF/Rプライマーを用いたPCR法[5]で行った。ヒトサポウイルス検出にSV-F11, SV-R1, SV-F2, SV-R2プライマーを用いたPCR法[6]、ブタサポウイルス検出にPEC66とPEC65プライマー[7]を用いたPCR法を実施した。また、カリシウイルスを広範に検出できるp290とp289プライマーを用いたPCR法も併せて行った。E型肝炎ウイルス検出にはプライマーHE040, HE044, HE041, HE110 [9]を用いた。検出されたウイルスについては塩基配列決定後、系統樹解析により遺伝子型の決定を行った。

結 果

豚の便からはGII群ノロウイルス、サポウイルス

Table 1. The number of pigs positive for NoV and SaV (April 2008 to March 2009).

	Time of sampling	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep
Viruses							
NoV GI		0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20
NoV GII		2/20	3/20*	4/20*	2/20	2/20	1/20
SaV PEC66/65		3/20	4/20	4/20	4/20	2/20	1/20
SaV p290/289		1/20	1/20	3/20	1/20	1/20	0/20
SaV SVF2/R2		0/20	1/20	0/20	0/20	0/20	0/20
HEV		0/20	1/20	1/20	2/20	1/20	1/20
	Time of sampling	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar
Viruses							
NoV GI		0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20
NoV GII		1/20	6/20*	6/20*	7/20	4/20	2/20
SaV PEC66/65		5/20	5/20	5/20	5/20	4/20	0/20
SaV p290/289		2/20	3/20	2/20	1/20	1/20	2/20
SaV SVF2/R2		0/20	0/20	1/20	0/20	0/20	0/20
HEV		0/20	1/20	0/20	0/20	0/20	0/20

positive/tested pigs, *:The month human NoV was detected

Table 2. Virus detection in voluntary chosen farms

August 2008	The number of positive pigs		
	Farm A	Farm B	Farm C
NoV GI	0/20	0/20	0/20
NoV GII	4/20	1/20	0/20
SaV PEC66/65	9/20	13/20	0/20
SaV p290/289	2/20	3/20	0/20
SaV SVF2/R2	0/20	0/20	0/20
HEV	0/20	2/20	0/20
January 2009	The number of positive pigs		
	Farm A	Farm B	Farm C
NoV GI	0/20	0/14	0/20
NoV GII	4/20	7/14	3/20
SaV PEC66/65	15/20	0/14	1/20
SaV p290/289	1/20	0/14	0/20
SaV SVF2/R2	0/20	0/14	0/20
HEV	0/20	0/14	0/20

positive/tested pigs

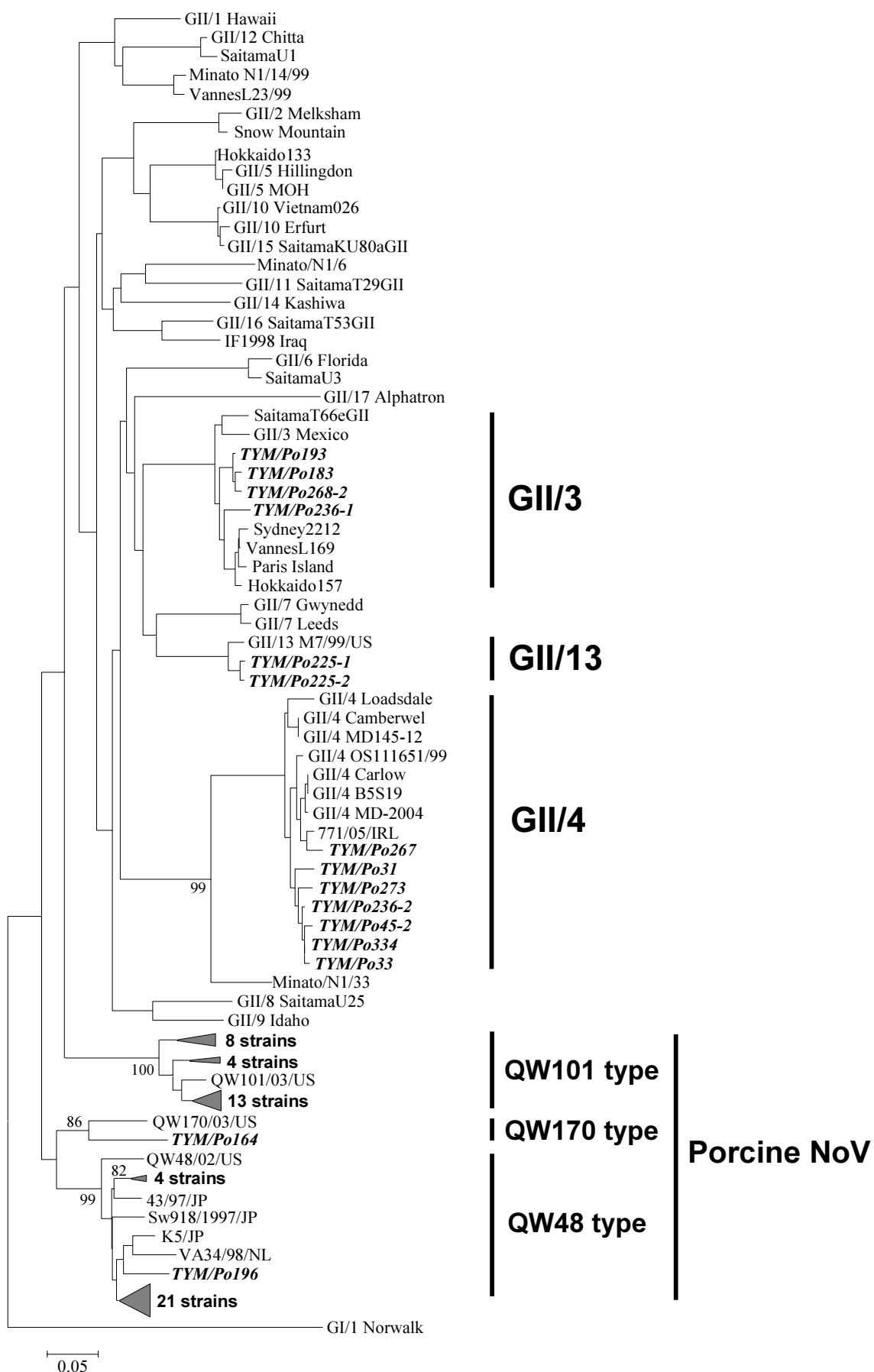


Fig. 1. NoVs detected from swine - Phylogenetic tree based on partial VP1 gene -

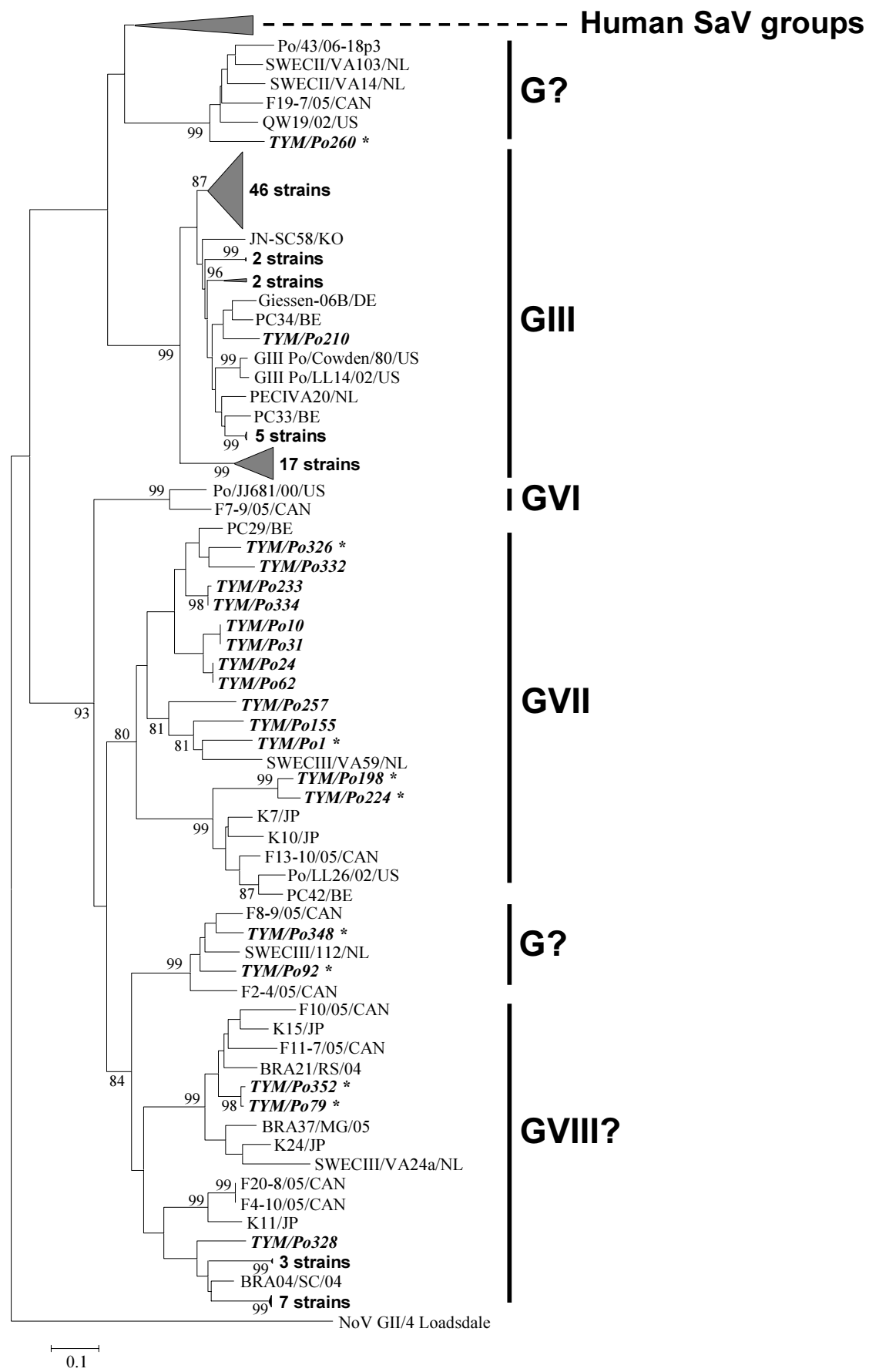


Fig. 2. SaV detected from swine - Phylogenetic tree based on partial RdRp gene -

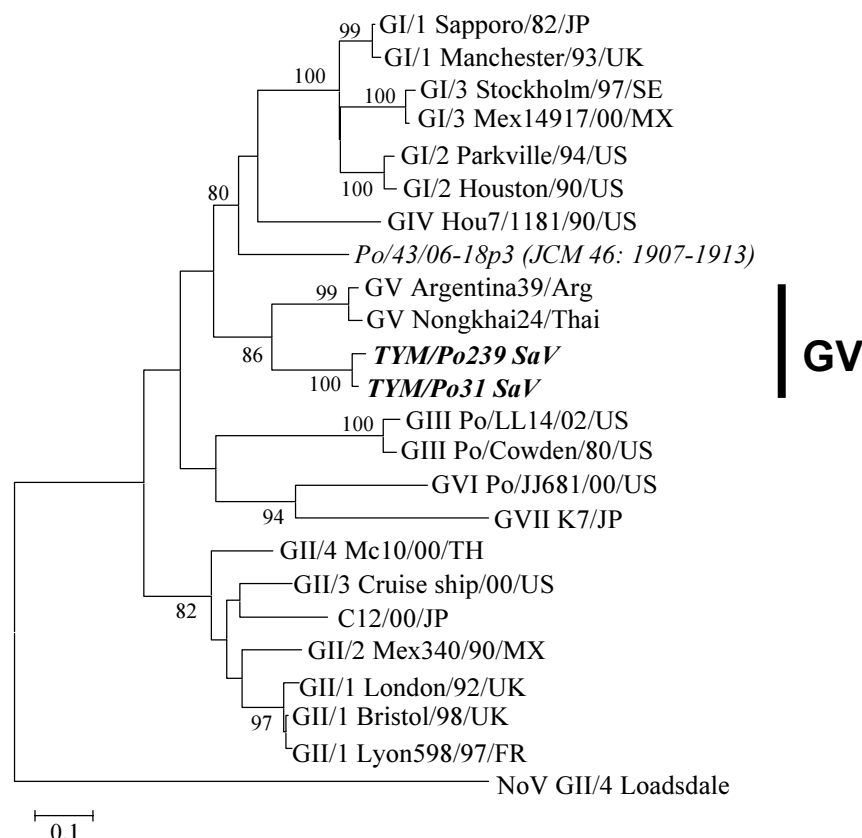


Fig. 3. Detection of SaV that is genetically close to human SaV
- Phylogenetic tree based on partial VP1 gene -

が毎月検出された。GI 群ノロウイルスは調査期間中において検出されなかった。E 型肝炎ウイルスは低頻度ながら検出され、検出される農場は限られている傾向にあった (Table 1)。任意選定した農場を対象に行った調査では、農場によってウイルス検出率に差が観察され、飼養形態とウイルス保有状況の関連が疑われた (Table 2)。豚から検出された GII 群ノロウイルスについて塩基配列決定後、系統樹解析を行った結果、多くは従来豚を宿主としていたノロウイルスであったが、2008年5, 6, 12月期, 2009年1, 2月期に GII/4, 2008年11, 12月期, 2009年1月期に GII/3, 2008年12月期に GII/13と、ヒト型ノロウイルスも時折確認された (Fig.1)。人におけるノロウイルスの流行期との関連は現時点では不明である。サポウイルスに関しては、旧来より存在していた GIII 群が優勢的な分布を示していたものの、最近新たに報告された GVII および GVIII 群[10,11]とクラスターを構成する株も検出された。また、これら遺伝子群とは異なるクラスターを形成する株[12]も複数検出された (Fig.2)。2008年5月期と12月期にヒトサポウイルス検出用プライマーで検出される株が存在していた (Table 1)。塩基配列に基づく系統樹解析の結果、この2株は GV 群サポウイルス

に近縁なものであることが分かった。しかし、昨年報告された、豚から検出されたヒトサポウイルスに近縁な株[13]とは異なる分岐枝を形成しており、新規の遺伝子群あるいは遺伝子型である可能性も考えられた (Fig.3)。E 型肝炎ウイルスは、従来日本の野生動物や肥育豚から検出が報告されている GIII 遺伝子型のクラスターに属していた (Fig.4)。

考 察

今回、ノロウイルスやサポウイルス、および E 型肝炎ウイルスの豚における感染状況に着目し、豚の便を対象にした調査を行った。調査の結果、豚には依然ブタ型ノロウイルスが支配的に侵淫している状況であったが、ヒト型ノロウイルスも稀に捕捉された。しかし、これら豚から検出されたヒト型ノロウイルスは PCR 法によって、増幅産物がわずかに観察されたに過ぎず、豚の体内で活発に増殖を行っている証拠とは考えにくかった。現時点では、ヒト型ノロウイルスが偶発的に豚群に侵入する機会があったとしても、豚体内で優勢に増殖するブタ型ノロウイルスに駆逐される状況だと思われる。今後、豚の体内でヒト型ノロウイルスが活

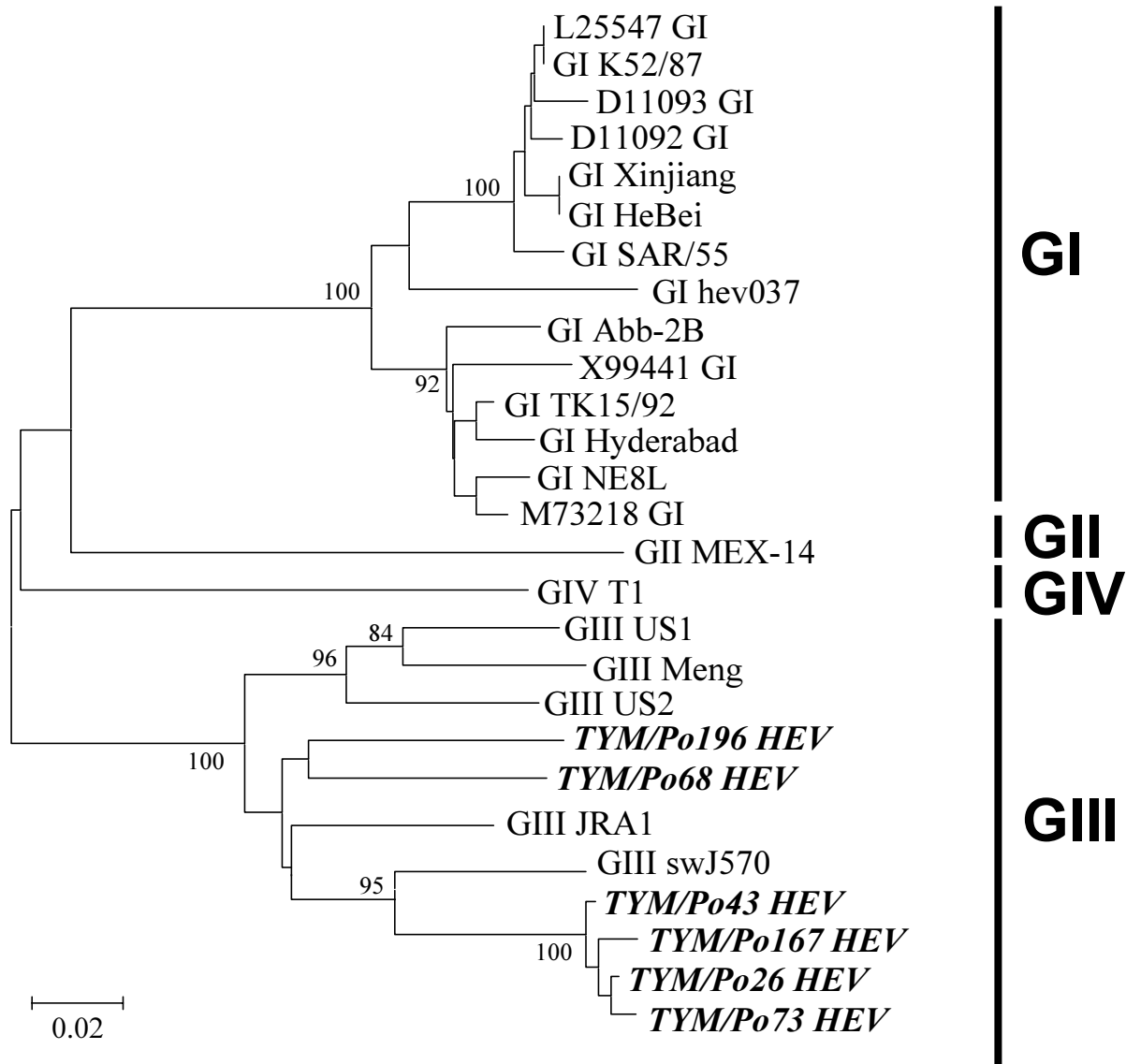


Fig. 4. Phylogenetic analysis of HEV detected from swine

発に増殖する現象を捉えた場合、旧来のウイルス株と比較することで、ノロウイルスの宿主域決定機構解明に向けた知見が得られるかもしれない。また、ヒト型ノロウイルスとブタ型ノロウイルスの共感染の存在は、株間組換えによって新規ウイルスが出現する可能性も否定できない。今後もブタを対象とした定期的な監視を行っていくべきである。

サボウイルスは、高い頻度で検出されたことから、豚群に広く蔓延しているものと推察された。さらに、検出されたサボウイルスは高度な遺伝的多様性を示しており、サボウイルスの豚群における持続的な変化が示唆された。また、ヒトサボウイルスと遺伝的に近縁な株の存在が明らかになったが、このタイプのサボウイルスが、どこから派生してきたのかは現時点では不明である。ノロウイルス同様サボウイルスも、豚にお

ける変異や組換えにより、ヒトに対して感染性を有する新たなウイルス出現の可能性に留意する必要があると思われる。

本調査では、頻度は低いながら E 型肝炎ウイルスも検出された。通常、豚は移行抗体消失期の生後 1 ～ 2 ヶ月頃に E 型肝炎ウイルスに感染する。その後、血中抗体価の上昇に伴い体内からウイルスが消失し、生後 5 ヶ月齢以降の豚がウイルスを保有していることは稀であると考えられている[4]。出荷齢に至った豚がウイルスを保持していることについて、宿主側、あるいはウイルス側要因について検討を重ねることで、肥育豚における E 型肝炎ウイルスの感染挙動に関するさらなる知見が得られるものと考えられる。

謝 辞

豚糞便検体の採材に快く協力してくださった富山県食肉検査所のスタッフの皆様に深謝いたします。

文 献

1. Atmer, R.L. and Estes, M.K. (2001). *Clin. Microbiol. Rev.* 14: 15-37.
2. Mushahwar, I.K. (2008). *J. Med. Virol.* 80: 646-658.
3. Wang, Q.-H., Han, M.G., Cheetham, S., Souza, M., Funk, J.A. and Saif, L.J. (2005). *Emerg. Infect. Dis.* 11: 1874-1881.
4. Takahashi, M., Nishizawa, T., Miyajima, H., Gotanda, Y., Ito, T., Tsuda, F. and Okamoto, H. (2003). *J. Gen. Virol.* 84: 851-862.
5. Kojima, S., Kageyama, T., Fukushi, S., Hoshino, F.B., Shinobara, M., Uchida, K., Natori, K., Takeda, N. and Katayama, K. (2002). *J. Virol. Methods* 100: 107-114.
6. Okada M, Shinozaki K, Ogawa T, Kaiho I. (2002). 147: 1445-1451.
7. Wang, Q.-H., Souza, M., Funk, J.A., Zhang, W. and Saif, L.J. (2006). *J. Clin. Microbiol.* 44: 2057-2062.
8. Jiang, X., Huang, P.W., Zhong, W.M., Farkas, T., Cubitt, D.W. and Matson, D.O. (1999). *J. Virol. Methods* 83: 145-154.
9. Mizuo, H., Suzuki, K., Takizawa, Y., Sugai, Y., Tokita, H., Akahane, Y., Itoh, K., Gotanda, Y., Takahashi, M., Nishizawa, T. and Okamoto, H. (2002). *J. Clin. Microbiol.* 40: 3209-3218.
10. Mauroy, et al., Scipioni, A., Mathijs, E., Miry, C., Ziant, D., Thys, C. and Thiry, E. (2008). *Arch. Virol.* 153: 1927-1931.
11. Barry, A.F., Alfieri, A.F. and Alfieri, A.A. (2008). *Vet. Microbiol.* 131: 185-191.
12. L'Homme, Y., Sansregret, R., Plante-Fortier, E., Lamontagne, A.-M., Lacroix, G., Ouardani, M., Deschamps, J., Simard, G. and Simard, C. (2009). *Arch. Virol.* 154: 581-593.
13. Martella, V., Lorusso, E., Banyai, K., Decaro, N., Corrente, M., Elia, G., Cavalli, A., Radogna, A., Costantini, V., Saif, L.J., Lavazza, A., Di Trani, L. and Buonavoglia, C. (2008). *J. Clin. Microbiol.* 46: 1907-1913.

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について (2008年度)

長谷川 澄代 小原 真弓 中村 一哉 岩井 雅恵
堀元 栄詞 倉田 毅 滝澤 剛則

Outbreaks of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2008

Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Kazuya NAKAMURA, Masae IWAI,
Eiji HORIMOTO, Takeshi KURATA and Takenori TAKIZAWA

要 旨 2008年4月から2009年3月までの1年間に検査したウイルス性の感染性胃腸炎の集団発生事例についてまとめた。

1. ウイルス性の急性胃腸炎の集団発生は19事例であった。これ等のうち4事例でノロウイルス (NV) Genogroup I (G I) が、13事例で NV Genogroup II (G II) が、1事例で NVG I 及び NVG II が、1事例でアデノウイルス41型が検出された。
2. 発生施設別にみると、飲食店（食堂、旅館等）5件、保育所・幼稚園4件、小学校2件、高校生合宿2件、老人保健施設3件、病院1件、家族内2件であった。
3. 飲食店はカキの喫食によるものは全く無く、感染者（従業員）からのノロウイルスで食品等が汚染されることによって発生したと考えられた。
4. 小学校、保育所・幼稚園、老人保健施設、病院、高校生合宿等での発生は、手指が感染者の吐物や糞便で汚染されてヒトからヒトへ直接伝播したと考えられた。
5. 検出された NV の型は、NVG I のうち G I / 4 が4事例、G I / 8 が1事例、NVG II のうち G II / 4 が9事例、G II / 13 が2事例 (G I / 4 との混合を含む)、G II / 6 が2事例、G II / 2 が1事例であった。

はじめに

ノロウイルス (Norovirus:NV) は、冬季に散発および集団発生する感染性胃腸炎の主たる原因ウイルスである。乳幼児から高齢者までの全年齢層に経口感染する [1]。NV は遺伝子解析により、Genogroup I (G I) と Genogroup II (G II) にわけられる。さらに、それぞれが、複数の遺伝子型に分類される [2, 3, 4, 5]。

NV はヒトの小腸で増殖し、吐物や糞便中に排泄され、吐物には1g あたり103～106個、糞便には109個もの NV が含まれている [6]。NV は、感染者から2週間以上にわたり排泄され [7]、環境中でも長期間感染性を維持し、100個以下で感染・発病させるといわれている [8]。このため、調理従事者が感染すると、その手指を介して食品が NV で汚染され、急性胃腸炎の集団発生を引き起こすことがある [9]。ヒトから排泄された NV は、海に入り、カキなどの2枚貝の中腸腺に蓄積される [10]。2枚貝を生あるいは不十分な加

熱で喫食することによって起こる急性胃腸炎は、NV による食品媒介事例の約40%を占めている [6]。一方、NV は食中毒のみならず、冬季に小児の間で散発、あるいは集団発生する感染性胃腸炎の流行も引き起こしている。しかし、冬季以外にも NV の流行が認められるようになっており [11]、富山県でも2004年には5、6月に NV が検出されている [12, 13]。近年、本県ではウイルス性胃腸炎の集団発生が2004年度には20事例、2005年度には17事例、2006年度には28事例、2007年度には20事例と年々増加傾向にある。それらの殆どが、NV によるものであるが、原因ウイルスの特徴と発生傾向を把握するために、ウイルス性胃腸炎の集団発生事例の個別調査を実施した。

材料と方法

検査対象事例および検査材料

- (1) 2008年4月～2009年3月までに発生した集団発生事例28事例を対象とした。検体採取と疫学的調査は

表 1. ウイルス性胃腸炎集団発生事例 (2008年度)

事例番号	発生時期	発生地区・状況 患者数	ウイルス検出		推定 伝播経路
			検出数/検査数	NV 遺伝子型	
1	2008年3月26日 ～29日	高校生合宿 (柔道) (県外) 17	患者 14/17 1名のみ	G I /4 G I /4, G II /13	ヒト→ヒト
2	4月1日 ～2日	高校生合宿 (ハンドボール) 13	患者 1/1	G I /4	ヒト→ヒト
3	4月10日 ～21日	老人保健施設 14	患者 1/1	G II /4	ヒト→ヒト
4	4月30日 ～5月5日	老人保健施設 13	患者 調理員 3/3 0/1	G II /4	ヒト→ヒト
5	5月4日 ～13日	飲食店 (ラーメン店) 15	患者 従業員 10/10 3/3	G II /4	食品
6	5月14日 ～16日	小学校 14	患者 2/2	G I /8	ヒト→ヒト
7	5月23日 ～27日	小学校 25	患者 調理員 6/8 0/7	G II /13	ヒト→ヒト
8	8月25日 ～26日	保育園 6	患者 2/4	A deno 4 1 *	ヒト→ヒト
9	11月3日	飲食店 3	患者 従業員 3/3 2/4	G I /4	食品
10	11月5日	家族内 2	患者 2/2	G I /4	ヒト→ヒト
11	11月21日 ～22日	保育園 11	患者 5/7	G II /6	ヒト→ヒト
12	12月7日 ～10日	飲食店 (結婚式) 引き出物 45	患者 従業員 (旅館) 従業員 (菓子屋) 食品 16/22 0/5 3/3 2/2	G II /4	食品
13	12月7日 ～8日	飲食店 (旅館) 石川県 14 (1グループ)	患者 6/9	G II /4	ヒト→ヒト
14	12月17日 ～20日	幼稚園 18	患者 調理員 4/4 0/6	G II /6	ヒト→ヒト
15	12月15日 ～19日	保育園 18	患者 (園児) 患者 (保育士) 1/1 1/1	G II /4	ヒト→ヒト
16	12月22日 ～25日	家族内 5	患者 2/2	G II /2	ヒト→ヒト
17	2009年1月8日 ～12日	病院 14	患者 (入院患者) 患者 (職員) 4/4 2/2	G II /4	ヒト→ヒト
18	1月18日 ～26日	老人保健施設 15	患者 6/8	G II /4	ヒト→ヒト
19	3月4日	食堂 (事業所) 23	患者 従業員 10/10 1/7	G II /4	食品

G I, G II は NVG I, NVG II を表す。

*: アデノウイルス

各事例の管轄保健所，厚生センターで実施した。
(2) ロタ，アデノ，アストロ等のウイルスの検出は，市販のキットを用いた。

(3) NV の検出方法

糞便からの RNA 抽出法，RT-PCR 法，リアルタイム PCR 法については，厚生労働省通知 [14] に準じて行った。PCR 産物の一部は，ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した [13]。

結果および考察

感染性胃腸炎の集団発生28事例のうち，19事例からウイルスが検出された（表1）。本年も昨年同様カキ関連の事例はなかった。

1. 施設別発生事例数（図1）

飲食店・宿泊施設等での発生は，4月，5月，11月に各1件，12月に2件，3月に1件であった。老人保健施設等での発生は，4月に2件，1月に1件であった。病院は1月に1件，保育園・保育所は8月，11月に各1件で，12月に2件であった。他に高校生の合宿で4月に1件，家族内で11，12月に各1件であった。

2. 月別発生事例数（図2）

平成16年度～20年度の月別発生状況を示した（図2）。本年度の集団発生は4，5，8，11，12，1，3月に発生し，12月が5件と最多であった。平成16，17年度は，1月にピークが見られたが，18年度は他の年とくらべ1～2ヶ月早い11月に他の年の倍近くのピークがみられ

た。19年は12，1月がピークで，20年度は12月に高いピークが見られた。

3. 施設別発生状況とウイルス検出状況

1) 高校生合宿（No. 1，2）

事例 No. 1，2：事例 No. 1は東京の K 学園で，3月25～31日まで柔道合宿が行われた。本県から3校が参加し，25～29日にかけて17名が吐気，嘔吐，下痢，発熱等の食中毒症状を呈した。14名から NVG I / 4 が検出され，これ等の塩基配列は一致した。また1名からは NVG I / 4 と NVG II / 13が同時に検出された。合宿中の共通食は26日の夕食のみで，26日の発症者は午前中に出ていたことなどから，食中毒とは考えがたく，NV が持ち込まれ，ヒト→ヒト感染したと考えられた。

事例 No. 2では4月2日，本県に来ていた埼玉県の手ボール部員の高校生5名が，嘔吐，下痢等の症状で医療機関を受診したとの連絡が入り，患者1名から，NVG I / 4 が検出された。部員は3月30，31日には前述の事例 No. 1 のと同じ合宿所で宿泊していることがわかった。最初の患者は4月1日9時に発症していることから，県内施設での感染ではなく，合宿所で生徒達と接触することにより NV に感染したと考えられた。これ等2事例からの NV の塩基配列が一致した。

2) 老人保健施設（No. 3，4，18）

病院（No. 17）

事例 No. 3：4月10日に通所者1名が下痢，嘔吐等の症状を呈した。その後，通所者内で次々と患者が発生し，21日には合計14名になった。患者1名の糞便を検

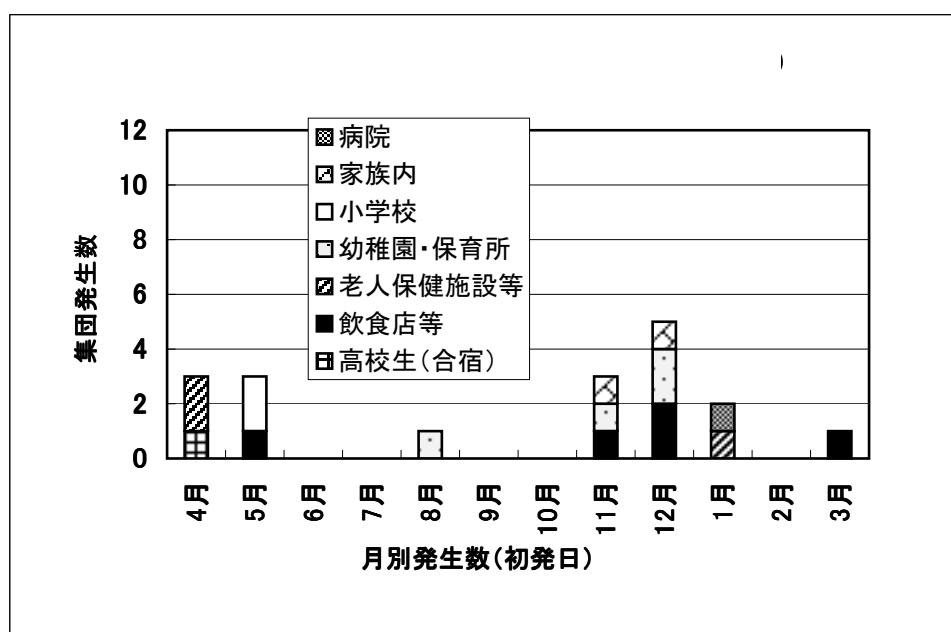


図1. 平成20年度ウイルス性胃腸炎集団発生（施設別）

査したところ NVGⅡ/4が検出された。本事件は通所者間でのヒトーヒト感染と考えられた。

事例 No. 4：4月30日に、入所者1名が下痢（水様便）の症状を呈した。その後5月1日に3名が、嘔吐、下痢の症状を呈し5月3日までに合計13名の患者が出た。患者3名と調理人1名の糞便を検査したところ、患者3名から NVGⅡ/4が検出され、これ等の塩基配列は一致した。本事件は介護人等の手を介してのヒトーヒト感染と考えられた。

事例 No. 18：1月18日にショートスティ利用者1名が入所して間もなく下痢の症状を呈し、その後、患者と同室の入所者2名が嘔吐、下痢の症状を呈し、1月26日までに15名が発症した。患者8名の糞便のうち6名から NVGⅡ/4が検出された。本事件は初発のショートスティ利用者によって NV が持ち込まれ、介護等によりヒトーヒト感染で流行が広がったと考えられた。

事例 No. 17：1月8日に胃腸炎症状の患者1名が入院し、その後、同病棟内で1月12日までに14名（入院患者6名、職員5名）の患者が発症した。患者6名の糞便、全てから NVGⅡ/4が検出され、これ等の塩基配列は一致した。本事例は、1名の入院患者が NV を病院内に持ち込み、ヒトーヒト感染で広がったと考えられた。

3）飲食店（No. 5, 9, 10, 12, 13, 19）

事例 No. 5：5月9日に中華料理店を利用した1グループ20名中15名が食中毒症状を呈した。更に、同料理店を5月3日に利用した2名、5月8日に利用した1名、5月11日に利用した1名が発症した。患者10名、従業員3名の糞便から NVGⅡ/4が検出され、遺伝子型は一致した。従業員は全く症状が無かったが、食品を汚染させていたと考えられた。

事例 No. 9：11月2日夕方レストランを利用した家族4人のうち3名が、3日に吐気、嘔吐、腹痛、下痢、発熱の食中毒症状を呈した。患者3名、従業員2名から NVGⅡ/4が検出され、塩基配列は一致した。NVに感染した従業員が食品を汚染させることにより発生したと考えられた。

事例 No. 12：12月7日、結婚披露宴に出席した1グループ54名中30名が7～10日にかけて下痢、嘔吐、吐気等の食中毒症状を呈した。患者22名中16名、菓子製造業従業員3名の便から NVGⅡ/4が検出された。

更に饅頭（あんこ）からも NVGⅡ/4が検出され、これ等の塩基配列は一致した。

菓子製造業の従業員1名が12月6日昼頃から発症していたことがわかった。

共通食が12月7日の料理および菓子しかないこと、

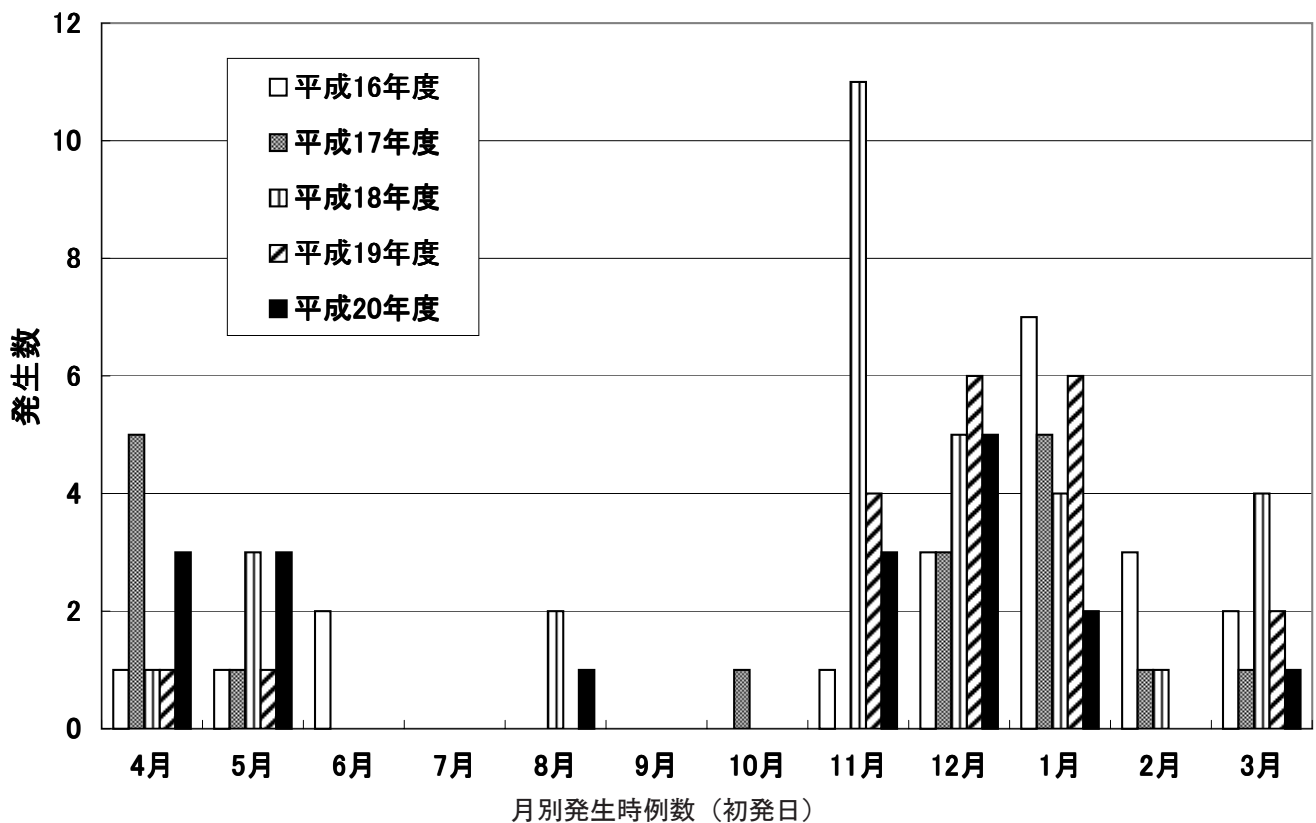


図2. ウイルス性胃腸炎集団発生（平成16～20年度）

また、菓子製造業の従事者から NVG II / 4 を検出したことから、汚染した菓子による食中毒と断定された。当該菓子（饅頭、羊羹）と同一ロットのものが別の飲食店において提供され、その関係者に発症者が15名いることも判明した。

本事件は NV に感染した菓子製造業の従業員が菓子を汚染させることにより発生したと考えられた。

事例 No. 13：12月5日、6日に隣県へ旅行した34名中11名が嘔吐、下痢等の食中毒症状を呈した。このグループが利用した旅館ではこの1グループのみが不調を訴えているとのことであった。患者9名の糞便中、6名から NVG II / 4 が検出され、5名は遺伝子型が一致した。初発患者は、少なくとも旅行以前に感染していたと考えられ、宿泊先で同一グループ内に、ヒトーヒト感染で広がったと考えられた。

事例 No. 19：3月2日～3日に事業所内の食堂で夕食を摂った60～70名のうち23名が3月3日から4日にかけて下痢、吐気等の食中毒症状を訴えた。患者11名、調理従事者1名から NVG II / 4 が検出され、これ等の遺伝子配列は一致した。調理従事者は3月2日に発症していることから、本事件は NV 感染者の調理従事者によって食品が NV で汚染され発生したと考えられた。

4) 小学校 (No. 6, 7)

事例 No. 6：5月14日から15日までに、1年生1名、5年生4名、6年生9名、合計14名が吐気、嘔吐、腹痛で、欠席、早退をしていることが判った。患者2名の糞便から NVG I / 8 が検出され、これ等の塩基配列は一致した。5月13日に町内の小学校の5、6年生で陸上球技記録会が行われていた事がわかった。同町内の他の2校で、9日1名、12日1名の感染性胃腸炎の患者が発生していたことから、陸上競技記録会でヒトーヒト感染で広がったと考えられた。

事例 No. 7：5月26日から27日に合計22名が下痢、嘔吐で欠席した。5月23日に2名の児童が、発症し、更に教師3名が発症した。調理従事者6名、栄養士1名、患者8名の糞便を検査したところ、患者6名から NVG II / 13 が検出された。本事件は、ヒトーヒト感染で広がったと考えられた。

5) 保育所・幼稚園 (No. 8, 11, 14, 15)

事例 No. 8：8月26日、園児63名中5名（0歳～2歳児）が発症していることが判った。患児4名の糞便中2名からアデノウイルス41が検出され、これ等の塩基配列は一致した。患児らは2歳未満で、オムツを使用しており、介護者の手などを介してヒトーヒト感染で広まったと考えられた。

事例 No. 11：11月22日（土）保育所の園児6名が嘔吐、腹痛等の症状を呈した。11月23日、園児計8名が

発症した。患者7名の吐物2件、糞便5件を検査したところ、吐物1件、糞便4件から NVG II / 6 が検出された、これら等の塩基配列は一致した。この保育所では、21日（金）は誕生会のために、0～2歳、3～5歳児がそれぞれ、一堂に会したとのことであった。誕生会当日の朝、1名の園児が6回嘔吐し、その世話をした保育士が22日に体調不良を訴えていることもわかった。行事を介してヒトーヒト感染で広がったと考えられた。

事例 No. 14：12月17日の帰宅時に4歳児が園内で嘔吐し、翌日午前に餅つき大会があった。19日、園児16名、職員1名が発症した。患者4名の糞便の検査を行ったところ、全員から NVG II / 6 が検出され、これ等の塩基配列は一致した。汚物等の処理が不適切なため、園内の行事で感染が広がったと考えられた。

事例 No. 15：K 保育園で12月15～19日までに、園児14名、保育士2名が嘔吐、下痢の症状を呈した。患者2名（園児1名、保育士1名）の糞便を、検査したところ、2名から NVG II / 4 が検出され、これ等の塩基配列は一致した。12月15日初発の患者からヒトーヒト感染で広がったと考えられた。

6) 家族内 (No. 10, 16)

事例 No. 10：1月5日に、4人家族のうち大人2名が下痢をしたため、糞便を検査したところ、2名から NVG I / 4 が検出され、これ等の塩基配列は一致した。4ヶ月の子供が10月末に2～3日ほど、軟便気味であったとのことであったことから、家族内でヒトーヒト感染したと考えられた。

事例 No. 16：12月24日夜、家族5人のうち大人4人が、嘔吐、下痢を呈した。2名の患者糞便をから NVG II / 2 が検出され、これ等の塩基配列は一致した。5歳の子供が通っている幼稚園で、感染性胃腸炎が流行しており、この子供は22日に嘔吐を呈していた。このことから、子供が通園している幼稚園から家族内に NV を持ちこみ、広がったと考えられた。

4. 無症状者からのウイルス検出

飲食店での発生は NV に感染した調理人等による食品の2次汚染によるものが4事例あった(表1)。NV 陽性の従業員は22名中9名（41%）で、そのうち発症者は2名（2/22=9%）で、無症状者が7名（7/22=32%）であった。昨年[15]と同様に食品の二次汚染による事例では無症状の NV 陽性の従業員が3割以上含まれていた。

5. 検出ウイルスの遺伝子解析 (図3)

集団発生事例のうち19事例からウイルスが検出された。1事例がアデノウイルス41によるものであった。18事例が NV によるもので、そのうち14事例で、各事例内で検出されたウイルスの遺伝子配列が100%一

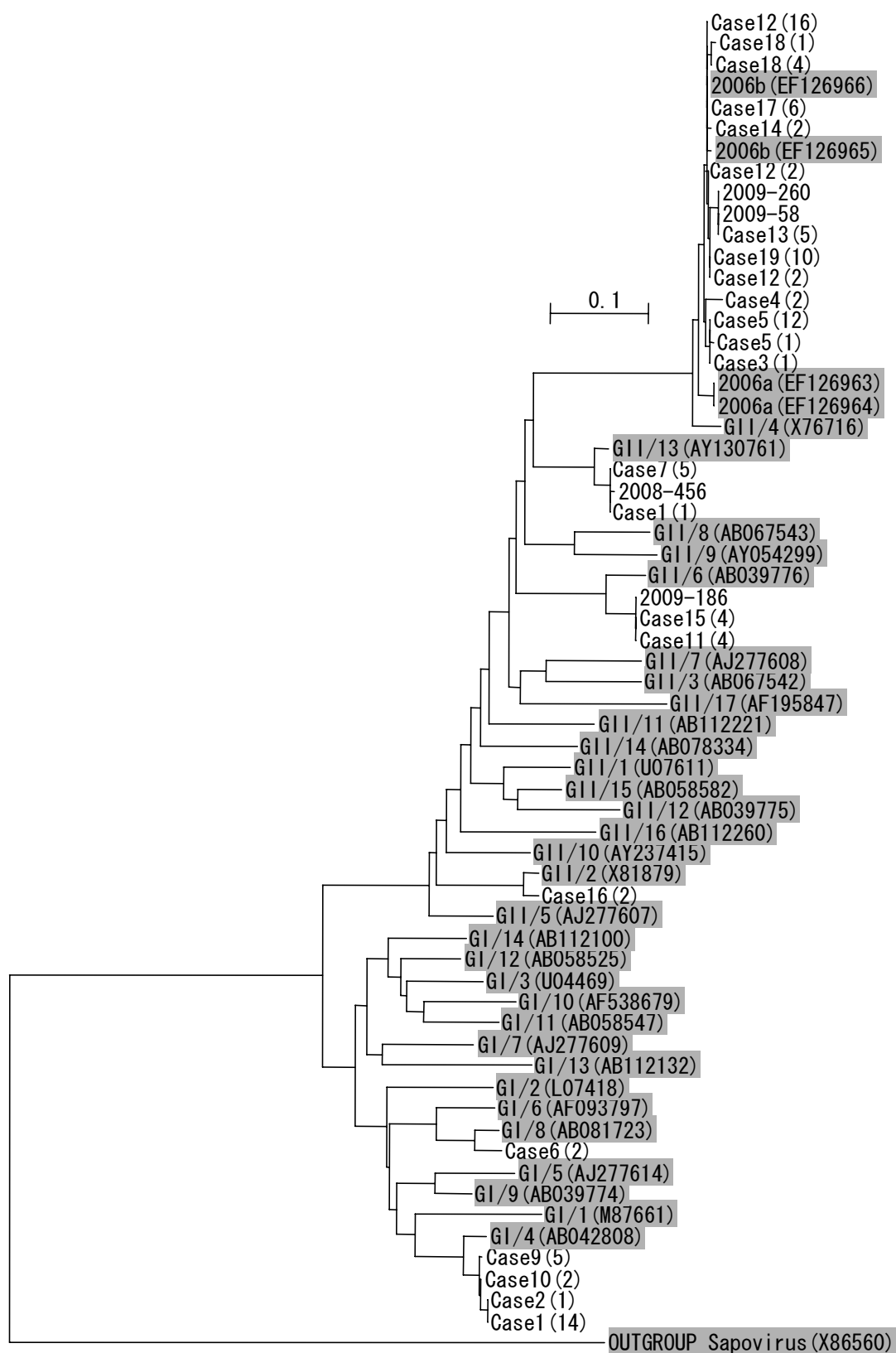


図3. 2008年度に得られたノロウイルスの系統樹

集団発生事例の検体は「事例番号(検体数)」, 散発例の検体は「年-検体番号」で示す. 参考株については「遺伝子型(accession No.)」で示す.

致し、これ等の集団発生が同一のウイルス由来であることがわかった。本年度の NV の事例で得られた遺伝子配列は22種類で G I が2種、G II が4種のクラスターに分かれた。図3は散発例についても記載した。2006年度、2007年度は殆んど G II / 4 が主流であったのに対して、2008年の集団発生例では、G I / 4 が4件、G I / 8 が1件、G II / 4 が9件、G II / 6 が2件、G II / 2 が1件、G II / 13 が1件、散発例では、G II / 6 と G II / 13 が各1例と多種であった。

本年も昨年度と同様に NV の集団発生は冬季、春季に多く発生していたが、8月に保育園でアデノウイルス41によるものが1事例あった。

富山県感染症発生動向調査によると、本年度も感染性胃腸炎の患者の報告数は多く、第1位を占めていた。これ等の発生は感染性胃腸炎が多発していた時期と一致していた。

我々は、一昨年、調理人などが、NV に感染しても発症しない場合や、発症後に回復した場合でも長い人で2ヶ月近く糞便中にウイルスを排泄していることを経験した[13, 16]。本年度も、昨年同様[15]に、感染経路が食品の2次汚染と考えられる事例で症状が無い従業員等の糞便から NV を検出した。これ等のことから NV に感染した場合は、発症の有無にかかわらず、長期に渡りウイルスを糞便中に排泄し続け感染源となりうる可能性があることが示唆された。今後も感染症発生動向調査情報により患者発生状況を監視し、食中毒と感染症の両方の観点から事例ごとの個別調査研究を積み重ねていくことが重要と考えられた。

謝 辞

検体採取等にご協力いただきました富山市保健所、高岡厚生センター、高岡厚生センター射水支所、中部厚生センター、新川厚生センター、新川厚生センター魚津支所、砺波厚生センター、砺波厚生センター小矢部支所の関係者各位に感謝します。

文 献

1. 食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究班：国立予防衛生研究所（1995）。

2. Ando, T., Noel, JS., Fankhauser, RL. (2000). J. Infect. Dis., 181, S336-348
3. Kawamoto, H., Yamazaki, K., Utagawa, E., Ohyama, T., (2001). J. Med. Virol., 64, 569-576
4. Katayama, K., Sirato-Horikoshi, H., Kojima, S., Kageyama, T., T., Oka, T., Hoshino, F., Fukushi, S., Shinohara, M., Uchida, K., Suzuki, Y., Gojobori, T., Takeda, N., (2002) Virology, 299, 225-223
5. Vinje, J., Green, J., Lewis, DC., Gallimore, CI., Brown, DW., Koopmans, MP. (2000). Arch. Virol., 145, 223-241
6. 西尾 治, 新川奈緒美(2002). 日本医事新報, 4105, 6 - 9.
7. 杉枝正明, 新川奈緒美, 大瀬戸光明, 徳竹由美, 山口 卓, 秋山美穂, 西尾 治 (2004). 臨床とウイルス, 32, (3), 189 - 194.
8. Glass, R. I., Noel, J., Ando, T., Fankhauser, R., Belliot, G., Mounts, A., Parashar, U. D., Bress, J. S., Monroe, S. S. (2000). J. Infect. Dis. 2, S254, 181.
9. 長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子, 安藤秀二, 永井美之 (2004). 富山衛研年報, 27, 106 - 111.
10. 染谷雄一 (2000) ウイルス, 50, (2), 173.
11. 2005年病原微生物検出情報, 月報, 12, 1 - 2.
12. 長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子, 堀元栄詞, 永井美之 (2005). 富山衛研年報, 28, 93 - 98
13. 小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 倉田 毅 (2007). 富山衛研年報, 30, 98 - 104.
14. 厚生労働省医薬食品局食品案全部監視安全課長 (2003) 食安監初115001号.
15. 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 倉田 毅, 滝澤剛則 (2008), 富山衛研年報, 31, 104 - 110.
16. Obara, M., Hasegawa, S., Iwai, M., Hori moto, E., Nakamura, K., Kurata, T., Saito, N., Oe, H., Takizawa, T. (2008). J. Clin. Microbiol. 46. 3397 - 3403.

富山県で分離された腸管出血性大腸菌のパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)

パターンのデータベース化と解析

木全 恵子 嶋 智子 清水 美和子 金谷 潤一
磯部 順子 倉田 毅 綿引 正則

Database Construction of Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Isolated in Toyama Prefecture and its Outcomes.

Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Miwako SHIMIZU, Junichi KANATANI,
Junko ISOBE, Takeshi KURATA, and Masanori WATAHIKI

要 旨 1991-2008年に富山県において発生した腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症313事例の臨床分離株及び環境・動物・食品由来分離株を用い、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) と解析ソフト Finger PrintingII による PFGE パターンの解析を行い、361株の血清型、保有ベロ毒素型、分離由来、PFGE パターンから構成されるデータベースを構築した。その内訳は、EHEC 感染事例由来株：O157 230事例 (267株)、O26 65事例 (73株)、O111 10事例 (10株)、上記以外の血清型 EHEC 8事例 (8株)及び非臨床分離株3株であった。

これらのデータベースを用いたデンドログラム解析より、分離された EHEC が同一 PFGE パターンを示した事例の割合は、EHEC O157 (*stx1 stx2*)で70/174事例 (40.2%)と最も多かった。EHEC O157 (*stx2*)及び O26ではそれぞれ8/56事例 (14.3%)、5/65事例 (9.2%)であった。

O157 (*stx1 stx2*)における同一 PFGE パターン (若しくは極めて類似した PFGE パターン) 株による事例の多くは、他県においても複数分離された広域流行株であった。富山県でのこのような広域流行株による感染事例の多発は2001年、2007年に顕著であり、同一 PFGE パターン株による感染事例は2005年以降増加傾向であることが判明した。また、これらの同一 PFGE パターン株の県内の流行状態はそれぞれのパターンごと、発生年ごとに異なっており、今後 EHEC 感染症発生時に広域流行株を含めた同一 PFGE パターン株の関与に関して注意が必要であると考えられた。

ある感染事例 (特に集団感染事例) が起きた場合、疫学的解析と細菌学的解析の2面からの迅速な判断は重要である。このうち、細菌学的知見から疫学的な情報を与えることができる解析方法として PFGE による遺伝子型別法がよく用いられる [1]。

PFGE は多くの細菌種について、菌株間の類似性を解析する標準的解析法である。その原理は複数の細菌の染色体 DNA の制限酵素処理断片を電気泳動により分離し、得られた電気泳動像 (PFGE パターン) を比較し、その同一性を調べる方法である。しかし、PFGE では一度に電気泳動を行う菌株数に限度があるうえ、電気泳動によって得られる多くの PFGE パターンについて目視による比較は困難である。このため、多数の菌株を PFGE により比較・解析するには解析ソフトウェアによる画像解析が期待された。

近年、電子データの蓄積、画像解析による系統樹 (デンドログラム等) 解析ソフトなどの解析技術の飛

躍的な向上により、上記のような異なるゲル間での各菌株の PFGE パターンの比較・解析を容易に行うことが可能となった。さらに、各種細菌の PFGE 標準プロトコルの検討が行われ、多くの検査機関において共通の PFGE 条件が導入された。例えば、EHEC においては、米国 CDC プロトコルと互換性のある PFGE 標準プロトコルが2003年より導入された。この標準プロトコルでは *Salmonella* Braenderup H9812株の安定した PFGE パターンを標準マーカーに用いており、異なるゲル間での比較をより正確に行うことが可能となった [2]。また、国内では国立感染症研究所及び地方衛生研究所を中心に Pulse Net Japan による PFGE 解析情報ネットワークが整備され、全国で発生した EHEC 感染症について分離株の PFGE パターン解析が行われている [3]。

富山県衛生研究所ではおよそ18年間にわたり県内で発生した EHEC 感染症の分離株とその疫学データの

収集を行ってきた。同時に EHEC 感染症発生時に PFGE を実施し、その結果を関係機関に還元してきた。そこで本研究では本県で分離された EHEC について標準プロトコールによる PFGE を行い、得られた画像のデータベース化を行った。このデータベースを用いて富山県で発生した EHEC 感染症についてデンドログラム解析を行ったので報告する。

材料と方法

供試菌株及び培養：1991-2008年までの18年間に富山県において発生した EHEC 感染症の発生病件数、感染者数及び当所保存の分離株数の概要は表1、図1A および B に示した。総事例数322件、感染者数845名である。これらの感染事例322件のうち、O157感染事例6件、O26 感染事例3件を除く313件（総事例数の97.2%）について、感染者分離株746株を当所に保存している。これらの保存株のうち、1991-2005年に発生した EHEC 感染事例については各事例代表分離株を、2006-2008年に発生した EHEC 感染事例については感染者分離株全てを解析対象とした。また集団感染事例のうち、PFGE 解析から異なる PFGE パターン株が報告された事例については、異なる PFGE パターン株も再解析の対象とした。これらの臨床分離株509株のほか、動物・環境由来分離株20株、食品由来分離株43株をあわせた EHEC568株の解析を行った。

保存株を BBL™ Trypticase™ Soy Agar（ベクトン・ディッキンソン）で35℃一晩培養し、生育した平

板上のコロニーを Bacto™ Brain Heart Infusion 培地 3ml に接種し、35℃一晩静置培養した。この培養液を以下の実験に用いた。

PFGE 泳動のサイズマーカーとして PFGE 標準プロトコール [4] により、*Salmonella* Braenderup H9812 PulseNet Standard Strain（国立感染症研究所より分与）を用い、上記と同様に培養を行った。

パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）：上述の BHI 培養液3ml を遠心（3000rpm, 20分）し、得られた菌体を滅菌水1ml に懸濁し、原液とした。PFGE 標準プロトコール [4] による菌体のアガロース包埋・溶菌処理を以下の手順で行った。

菌体のアガロース包埋処理は1% SeaKem Gold Agarose（タカラ）150ml に上述の原液の10倍希釈液120ml を混合し、Bio-Rad サンプルプラグキャスターを用いて固化した。得られたアガロースブロック（以下プラグという）を Lysis buffer（1mg/ml proteinase K, 1% N-Lauryl sarcosine, 0.5M EDTA pH8.0）、50℃で一晩振とうし、プラグ内の菌体の溶菌・DNA 抽出を行った。作成したプラグは Lysis buffer 1ml に浸し、4℃で保存した。

Lysis buffer 中のプロテアーゼの失活処理として、4mm×4mm に切り出したプラグ小片を96穴平底プレートに移し、Pefabloc SC 液（4mM Pefabloc SC Roche, TE pH 8.0, ニッポンジーン）300ml を加え、50℃30分反応させた（2回）。反応液を TE（pH 8.0）300ml に置換し、氷上20分間静置した。その後、この TE を制限酵素 *Xba*I 反応 buffer（ニッポンジーン

表 1. 富山県における O 血清型別 EHEC 感染症発生状況と当初保存分離

O血清型	事例数(件)	感染者(名)	保存分離株(株)
O157(<i>stx1+stx2</i>)	179	404	396
O157(<i>stx2</i>)	57	112	113
O26	68	292	201
O111	10	29	28
上記以外	8	8	8
合計	322	845	746

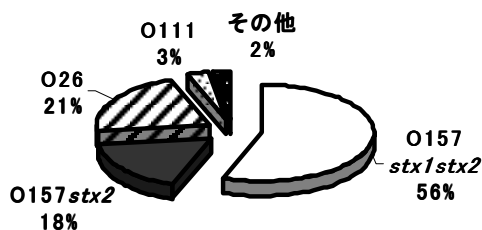


図 1 A. 富山県における各血清型 EHEC 感染事例内訳 (1991～2008)

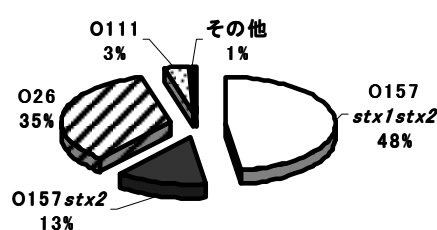


図 1 B. 富山県における各血清型 EHEC 感染者数内訳 (1991～2008)

M buffer) 200ml に置換し、氷上20分間静置、平衡化した。平衡化後、反応 buffer を取り除き、制限酵素 *Xba*I 液 (*Xba*I 30U, M buffer, ニッポンジーン) 100ml をプレート内のプラグ片が浸るように加えた。プレートを37℃一晩保温し、プラグに包埋された DNA の制限酵素処理を行った。

制限酵素処理後、0.5×TBE buffer, 200ml を制限酵素反応液と置換し、室温にてプラグ片を平衡化した。このプラグ片を電気泳動用コームに貼り付け、電気泳動用ゲル (1% Pulsed Field Certified Agarose, Bio-Rad, 50 μ M チオ尿素 和光, 0.5×TBE) 内に固化した。Bio-Rad CHEF DRR III を用い、泳動条件: 電圧 6V/cm, パルスタイム 2.2-54.2秒, 泳動時間 19 時間, 泳動温度 12℃ で電気泳動を行った。泳動後ゲルを 0.3 μ g/ml Ethidium bromide 300ml (0.5×TBE) に浸し、30分染色後、蒸留水で30分脱色処理を行った。電気泳動像は Bio-Rad ChemiDoc XRS にて撮影し、画像解析ソフト QuantityOne (Bio-Rad) にて画像をデータとして電子化、保存した。

FingerPrinting II によるデータベースの構築: 得られた PFGE 画像の解析およびデンドログラムの作成は解析ソフト FingerPrinting II (Bio-Rad) を用いて行った。FingerPrinting II によるデンドログラム解析には UPGMA 法と Dice 係数を用いて行い、トレランス値は 1.2% とした。

また、多くの PFGE パターンの正確な比較を行うため、以下の手順で補正を行った。第一に、標準マーカーを対象菌株の隣に泳動した。FingerPrinting II でこの標準マーカーの PFGE パターンを一致させることにより、ゲル内での泳動レーン間のゆがみを解消し、全ての泳動像の補正を行った (図2)。第二に、ソ

フトに取り込む泳動ゲルの画像サイズを統一し、画質をほぼ一定にした。この作業により多くの PFGE パターンについて解析ソフト上で同程度のレベルでの正確なバンド認識を行うことが可能となった。第三に、このパターン解析においてゲル上の低分子量のバンド (28.8kb 以下) は解析対象から除外した。O157 に関しては共通に検出されるバンドを解析の内部コントロールとした。

これらの各 PFGE パターンの補正、電子データ化を行い、最終的には O157 (*stx1 stx2*) 197 株, O157 (*stx2*) 70 株, O26 74 株, O111 10 株, それ以外の血清型 EHEC 10 株からなるデータベース (表2) を構築

表2. 富山県で発生した EHEC 株の PFGE パターンのデータベースの概要

		データベース
O血清型	由来	解析株数(株)
O157(<i>stx1+stx2</i>)	臨床分離株	177
	動物・環境由来	14
	食品由来	6
	計	197
O157(<i>stx2</i>)	臨床分離株	67
	動物・環境由来	2
	食品由来	1
	計	70
O26	臨床分離株	72
	動物・環境由来	2
	食品由来	0
	計	74
O111	臨床分離株	10
	動物・環境由来	0
	食品由来	0
	計	10
上記以外	臨床分離株	8
	動物・環境由来	2
	計	10
合計		361

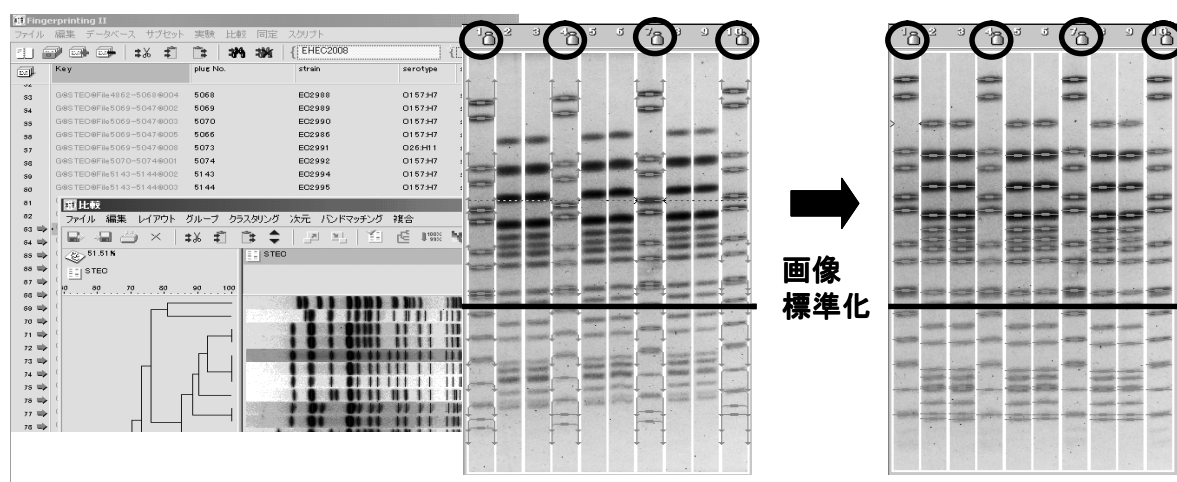


図2. FingerPrinting II における PFGE 泳動像の補正
○ *Salmonella* Braenderup H9812 PFGE パターン

築し、デンドログラム解析を行った。なお、O26、O111については *stx1* 保有型以外のベロ毒素保有型がそれぞれ6株、2株のみであったため、各ベロ毒素保有型の解析は省略した。

結 果

EHEC O157 (*stx1 stx2*) におけるデンドログラム解析：1991-2008年までに富山県で発生した EHEC 感染事例322件のうち179件 (55.6%) は O157 (*stx1 stx2*) によるものであった (図1)。O157 (*stx1 stx2*) による感染事例のうち、集団感染事例は16件、家族内感染事例は39件である。我々はこれらの O157 (*stx1 stx2*) 感染事例のうち174事例由来の臨床株177株及び当所保存の臨床由来以外の20株の PFGE、デンドログラム解析を行った。臨床株177株のうち同一事例において複数の PFGE パターン株が分離された3事例3株も解析対象に含めた。

上記のデンドログラム解析により、他の事例の分離株と PFGE パターンが一致 (類似度99%以上) した事例は70件 (O157 (*stx1 stx2*) 感染事例の40.2%)、75株、PFGE パターン数は22パターンであった。なかでも2001年および2005-2008年に発生した O157 (*stx1 stx2*) 感染事例の50%以上を占めていた (図3)。以下に2001年及び2005-2008年のこれらの事例について述べる。

2001年に発生した O157 (*stx1 stx2*) 感染事例の45.6% (16事例) は他の事例と PFGE パターンが一致した。このうち12事例の分離株は3つの PFGE パターンに集積した (図4 レーン1~13)。これら PFGE 3パターンは1バンド程度異なる極めて類似したパターンであり、1つのクラスターを形成していた。これら3つの PFGE パターンを示す分離株は2001年5月以降41都府県にて検出されている広域流行株であった [5]。

2005年以降、富山県内で発生した O157 (*stx1*

stx2) 感染事例について事例間で分離株の PFGE パターンが一致する事例が急増し、各年の O157 (*stx1 stx2*) 感染事例の50%以上を占めた (図3)。

デンドログラム上では、2005年・2006年発生事例分離株のみクラスター形成などの集積が見られた (図4 レーン19~28)。このことから、2005年・2006年の2年間にかけて富山県内では非常に PFGE パターンの近似した株による感染事例が発生していたことが推察された。このうち3つのクラスター (併せて7事例) は国立感染症研究所 PulseNet により報告された2005年、2006年の全国的な広域流行株の PFGE パターンであった (図4 レーン27~33)。これらの広域流行株の PFGE パターンはそれぞれ、5県、28県、8県で検出されていた [6, 7]。

2007年に県内で発生した O157 (*stx1 stx2*) 感染事例26件のうち69.2% (18事例) は他の事例分離株と PFGE パターンが一致した。このうち1つの PFGE パターンは事例11件の分離株について一致し、大きなクラスターを形成していた (図4レーン36~46)。これは上述の2001年感染事例14件の分離株によるクラスターに次ぐ大きさであった。このクラスターを形成した PFGE パターンは2007年4月-11月に北陸・関東を中心とする11県で検出された広域流行型であった [8]。また、2007年に22県で検出された広域流行型 PFGE パターンも、2007年県内で3件検出されていた。これらの事例は散発・家族内感染事例であり、発生時期は近接していた [9]。

2008年においては、県内で発生した O157 (*stx1 stx2*) 感染事例20件のうち、分離株の PFGE パターンが一致した事例は11件 (55%) であった。これらの PFGE パターン数は5パターンであり、そのうち3パターンは2007年に県内で発生した事例と一致した。さらに2008年4月・5月に発生した散発、家族内感染4件は同一 PFGE パターンを示したが、疫学的関連性は不明であった。上述の2007年の事例11件と同一 PFGE パターンの分離株は2008年8月発生の事例3件から検

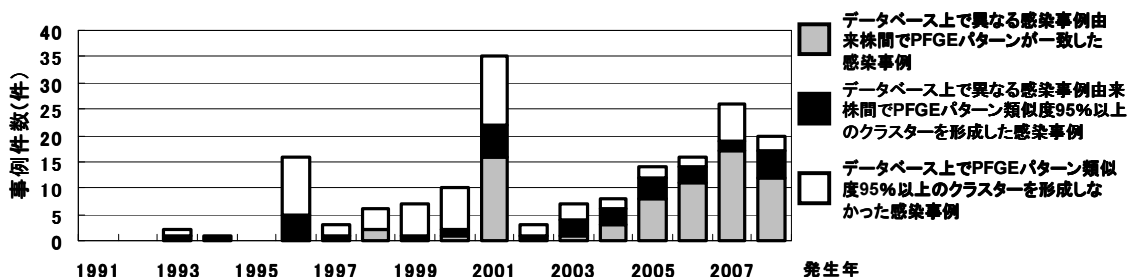


図3. データベースにおいて他の感染事例分離株と類似 PFGE パターンを示した EHEC O157 *stx1 stx2* 感染事例推移

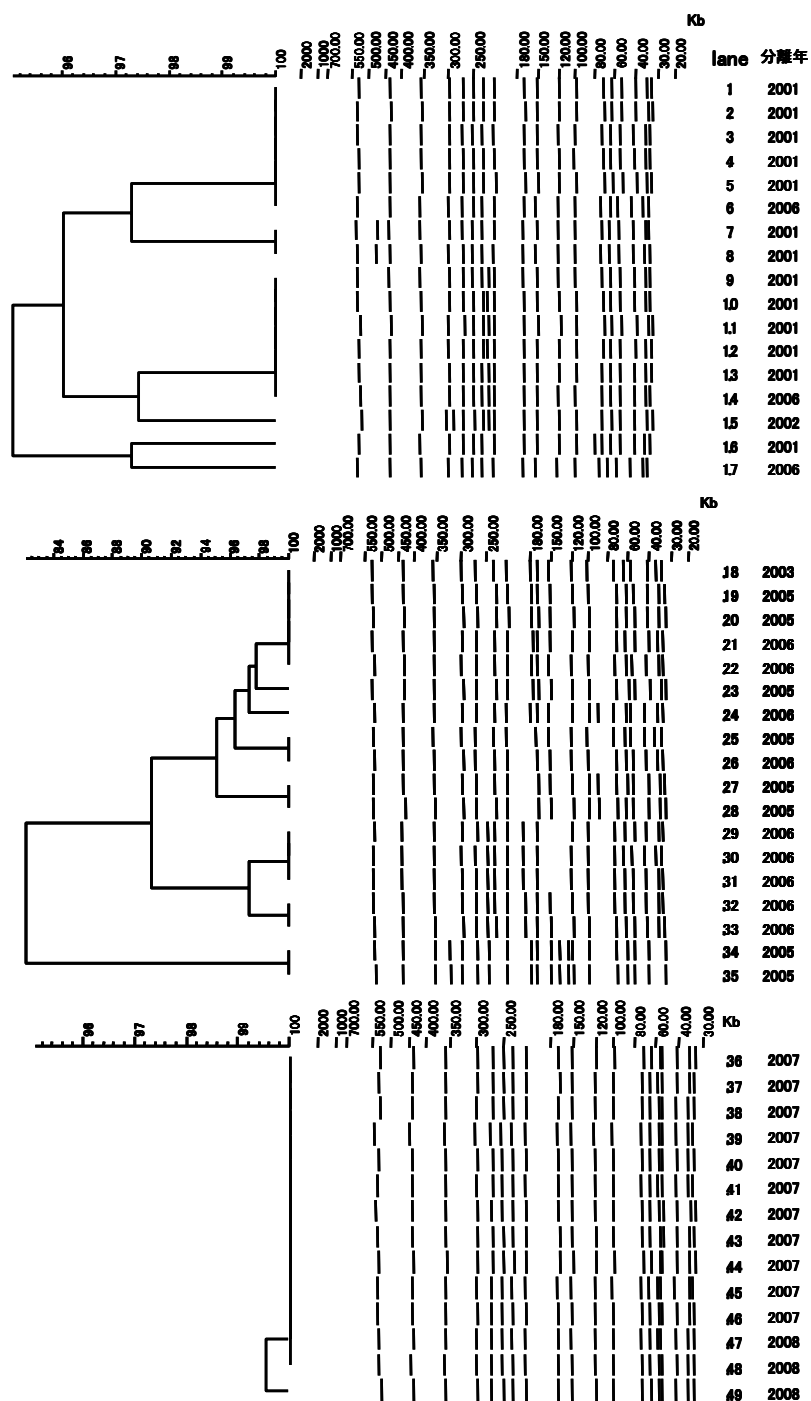


図4. EHEC O157 *stx1 stx2* ノデンドログラム解析

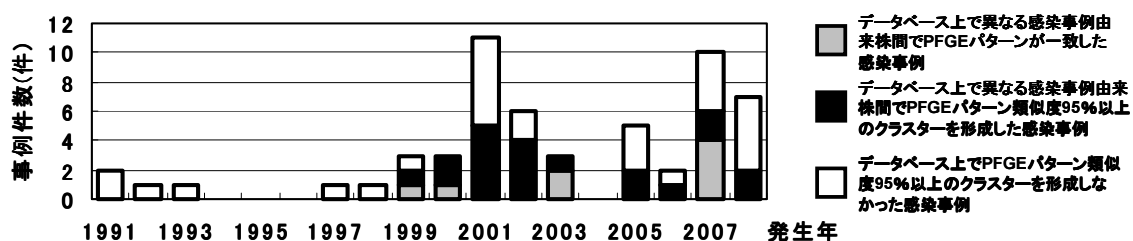


図5 A データベースにおいて他の感染事例分離株と類似 PFGE パターンを示した EHEC O157 *stx2* 感染事例推移



図5 B. EHEC O157 *stx2* のデンドログラム解析（一例）

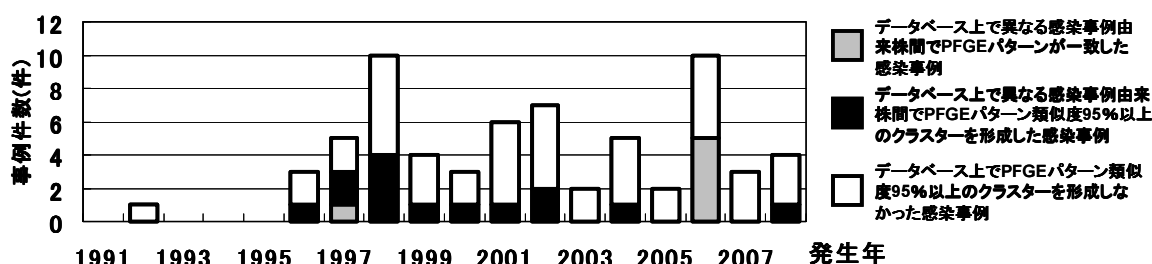


図6. データベースにおいて他の感染事例分離株と類似 PFGE パターンを示した EHEC O26 感染事例推移

出された（図4レーン47～49）。しかし、この PFGE パターンを含め、2008年発生の感染事例ではその分離株の PFGE パターンが一致する事例数は各 PFGE パターンで2-3件と少なく、前年のように県内での同一 PFGE パターンの流行は検出されなかった。

EHEC O157 (*stx2*) におけるデンドログラム解析：O157 (*stx2*) 感染事例は集団感染6件、家族内感染9件を含む57件（感染者数112名）が1991-2008年で発生した。我々はこのうちの56事例由来の臨床株67株及び当所保存の臨床由来以外の3株のデータベースを構築した。なお、臨床株67株のうち同一感染事例において複数の PFGE パターン株が分離された5事例、16株も解析対象に含めた。

デンドログラム解析の結果、1999年・2000年に分離された散発2事例の分離株は PFGE パターンが一致した（図5B レーン3, 4）。また、2003年に分離された散発2事例の分離株も PFGE パターンが一致した（図5B レーン1, 2）。この2003年の散発事例の発生時期は近接しており、同時期近県で発生した散発事例由来株とも PFGE パターンが一致していた。

2007年発生の散発事例由来株3株と家族内感染事例由来株1株は同一パターンを示し、発生時期も6月・7月に近接していた（図5B レーン5～8）。同じ PFGE パターンを示す O157は2007年に東京都にて大規模な食中毒事例の原因菌として検出されている [8]。また、この PFGE パターンを示す O157は他の22都道府県

より検出された広域流行株であった [8, 9]。しかし、調査からこれらの事例の疫学的関連性はみられなかった。

また、他の感染事例分離株との PFGE パターンの類似度95%以上のクラスターを形成した EHEC 分離株は27株であり、解析対象株の38.6%を占めた。これらの株が分離された感染事例は1999-2003年及び2007年に発生しており、感染事例の年間発生件数の50%以上を占めていた（図5A）。

EHEC O26におけるデンドログラム解析：EHEC O26データベース（表2）をもとにデンドログラム解析を行った。

デンドログラム解析により感染事例間での PFGE パターンが一致したのは PFGE 3パターンで6事例7株であった。このうち PFGE パターンの一致した5事例は2006年に富山県内で発生した散発・家族内感染事例であり、1事例を除き、発生時期が近接していたが、疫学的関連性は調査からみとめられなかった。これらの分離株と同じ PFGE パターンを示す O26株は他の都道府県からは検出されなかった。

また、他の感染事例分離株との PFGE パターンの類似度95%以上のクラスターを形成した EHEC 分離株は22株であり、解析対象株の29.7%を占めた。これらの株の分離頻度は1997年、1998年、2006年が高かったが、発生地域の地理的な偏在はみられなかった（図6）。

O111およびその他の血清型 EHEC におけるデンドログラム解析：1991-2008年に富山県において発生した EHEC O111感染事例10件（集団感染2件を含む）について PFGE パターンを解析した（図5）。その結果，2004年に発生した散発2件を除き，これらの菌株間の類似性は認められなかった。富山県における EHEC O111による集団感染事例は2000年と2006年に各1件発生している。これらの事例は保育所を中心とする集団感染事例であるが，これらの集団感染事例由来株と類似する分離株は県内発生事例からは検出されなかった。

また，O157，O111，O26以外の血清型 EHEC による感染症は，富山県では1991-2008年に散発8事例が発生している。血清型による内訳は O63:H6，O91:H UT，O103:H2，O161:H16，O165:H25各1事例，O128:HNM 3事例であるが，O128:HNM 散発2事例（1997，2002；類似度93.9%）を除き，これらの分離菌株の PFGE パターンの類似性は認められなかった（data not shown）。

考 察

EHEC 感染症は，溶血性尿毒症症候群（HUS）等の重篤な症状をしばしば併発することやその感染力の強さより3類感染症に位置づけられており，感染探知後積極的疫学調査が行われ，蔓延防止のための対応がとられる。我が国では2004年以降 EHEC 感染者の増加傾向が続いており，2007年・2008年における EHEC 感染者数はそれぞれ4,617名，4,330名と1996年以降1番目，3番目の感染者数であった [10]。また，本県においても2005年以降感染事例数・感染者数は増加傾向であり，2007年・2008年における県内で発生した EHEC 感染事例数はそれぞれ38事例，32事例と1996年以降過去2番目，3番目の発生頻度と近年発生が増加している（本年報；富山県内での腸管出血性大腸菌感染症発生状況（2008）参照）。EHEC はヒト-ヒト間感染による集団感染のほか，食品を介した食中毒，diffuse outbreak などが報告されており，これらの探知や原因究明や感染拡大の防止といった対応策において PFGE により得られる知見は重要である。

今回，我々は当所に保存されている EHEC 株について標準プロトコールに基づいた PFGE 解析を行い，PFGE パターンのデータベースを構築した。最終的には1991-2008年までに富山県内で発生した EHEC 感染症313事例の臨床分離株及びヒト以外より分離された EHEC 株，併せて361株についてその PFGE パターンのデータベース化を行った（表2）。

データベースに基づいたデンドログラム解析の結果，事例間において同一 PFGE パターンとして検出される割合は各血清型により大きく異なっていた。この同一 PFGE パターンの検出率は O157 (*stx1 stx2*)，O157 (*stx2*)，O26で，各血清型における感染事例総数の40.2%，14.3%，9.2%であり，O157 (*stx1 stx2*)でその検出率が高かった ($p<0.05$)。一方，感染事例間においてその分離株がデータベース上類似度95%以上の PFGE パターン（同一 PFGE パターンを除く）を示した事例は O157 (*stx1 stx2*)，O157 (*stx2*)，O26，O111においてそれぞれ21.3%，35.7%，21.5%，20%であり，類似 PFGE パターンについては血清型（O157に関してはベロ毒素遺伝子保有型）に関して大きな差はみられなかった。

これらの背景には O157 (*stx1 stx2*) について広域流行株の存在が挙げられる。すなわち，感染事例分離株間での PFGE パターンの一致及び類似性が示されたこれらの分離株は，同一感染源（もしくは同一菌汚染源）から広く国内に拡散した株であると推察される。PFGE パターンは，その感染症発生年ごとに2001年，2005-2008年に発生した感染事例由来株によってデンドログラム上クラスターを構成しており（図4レーン1-13），いずれも複数県において検出される「広域流行株」であった。しかし，これらのクラスターを形成した感染事例の発生時期等の疫学的な様態については各感染症発生年において大きく異なっていた。2001年に発生した EHEC 感染事例12事例は3つの極めて類似した PFGE パターンに集積し，大きなクラスターを形成した。これらの感染事例は全て2001年8月を中心に発生した散発もしくは家族内感染であったが，疫学的関連性はみられなかった。また，このクラスターに属する PFGE パターンの1つは2001年8月に首都圏で発生した集団感染事例（和風キムチによる食中毒事例）で検出されていた。この事例は O157に汚染された食品の地域限定的な流通が原因であった [5，11，12]。

2007年に発生した感染事例11件においてもデンドログラム上クラスターを構成していた（図4レーン36-46）。しかし，これらの感染事例が多発した発生状況は2001年の散発・家族内感染の多発による場合と異なり，食中毒2事例を含む集団感染事例5事例を含み，発生時期は2007年4月-9月と長期間に及んでいた（全国においてもこの PFGE パターン株は2007年4月-11月まで検出された）。また，上記の11事例のうち，食中毒1事例では食品より原因菌も分離されたが，その汚染経路を明らかにすることはできなかった [9]。

2005年以降，本県では広域流行株を中心とした同一 PFGE パターン株による EHEC 感染症が多発傾向に

ある(図3)。しかしこれら同一パターン株(もしくはその類似パターン株)が関与する複数の感染事例の感染源が共通であるかどうかは多くの場合、明らかにすることはできなかった。今回、我々はPFGEにより得られたDNAパターンのデータベースを構築した。その結果、全国で広域に流行している株が富山県内でも流行しており、その変化の様態を詳細に示すことができた。

近年、牛レバー、ユッケ等の生肉や加熱不十分な肉類の喫食を原因とする(若しくは原因と推察される)O157の感染が多発しており、これらの食品のO157による汚染が指摘されている[13]。いったんこのような病原細菌に汚染された食品や原材料が流通した場合、現在の食品流通形態では短期間に広範囲に原因細菌の拡散が生じる。今回我々は構築したデータベースを利用し、過去の事例におけるこのような広域流行株の動態について把握した。今後は、感染事例発生時に、過去の感染事例との類似性をデータベースにおいて照合することにより、県内のEHEC感染症の流行形態、および広域流行株との関連性をとらえることにより、感染拡大防止に向けた迅速な対応に利用可能であると考えられる。

さらに、O157を含めたEHEC感染症は時代とともに変化しており、今回の我々のデータは将来発生する本感染症の変化の検出に利用され、早期の対策に役立つものと考えられる。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、国立感染症研究所寺嶋淳先生並びに関係機関の方々のご協力に深く感謝致します。

参 考 文 献

1. 満田年宏(2002)感染対策のための分子疫学入門, 2-29, 71-85 メディカ出版
2. 甲斐明美, 高木英, 長則夫, 黒澤肇, 倉園貴至, 依田清江他(2003)厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業「食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究」平成15年度総括・分担研究報告書, 58-79.
3. 寺嶋淳(2005)厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業「食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究」平成17年度総括・分担研究報告書, 1-12.
4. Watanabe, H., Terajima, J., Izumiya, H., Iyoda, S. and Tamura, K. (2002) J. Jpn. Assoc. Infect. Dis., 76, 842-848.
5. 寺嶋淳, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 三戸部治郎, 田村和満, 渡辺治雄(2002)病原微生物検出情報, 23, 137-139.
6. 寺嶋淳, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 三戸部治郎, 田村和満, 渡辺治雄(2006)病原微生物検出情報, 27, 144-145.
7. 寺嶋淳, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 三戸部治郎, 田村和満, 渡辺治雄(2007)病原微生物検出情報, 28, 134-135.
8. 寺嶋淳, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 三戸部治郎, 石原朋子, 渡辺治雄(2008)病原微生物検出情報, 29, 117-120.
9. 木全恵子, 嶋智子, 清水美和子, 金谷潤一, 磯部順子, 倉田毅, 綿引正則(2008)富山県衛生研究所年報, 31, 178-181.
10. 腸管出血性大腸菌感染症 2009年4月現在(2009)病原微生物検出情報, 30, 119-121.
11. 田崎達明(2002)病原微生物検出情報, 23, 139-141.
12. 寺嶋淳, 泉谷秀昌(2002)厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業「パルスフィールドゲル電気泳動の標準化及び画像診断を基盤とした分散型システムの有効性に関する研究」平成13年度総括・分担研究報告書, 16-32.
13. 寺嶋淳(2007)日本食品微生物学会誌, 24, 74-79.

富山県における公衆浴場浴槽水のレジオネラ属菌汚染状況（2006－2008年）

金谷 潤一 磯部 順子 木全 恵子 嶋 智子
清水 美和子 倉田 毅 綿引 正則

Surveillance of *Legionella* Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture,
2006 - 2008

Junichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA,
Miwako SHIMIZU, Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI

要 旨 2006年から2008年にかけて、富山県内の公衆浴場48施設から採取した浴槽水169検体について、レジオネラ属菌による汚染実態を調査した。3年間における浴槽水のレジオネラ属菌検出率は43.8%（74/169検体）であった。採水日の遊離残留塩素濃度を調査した結果、遊離残留塩素濃度0.2 mg/l未満の浴槽水では、75.0%（45/60検体）の検体からレジオネラ属菌が検出された。浴槽水100 mlあたりのレジオネラ属菌数が5,000 CFU以上であった7検体のうち、6検体が遊離残留塩素濃度0.2 mg/l未満であった。レジオネラ属菌が検出された74検体について、分離された株の血清型別を実施した結果、*L. pneumophila* SG1の検出率が47.3%（35/74検体）と最も高かった。従って今後、公衆浴場を原因とするレジオネラ症の集団感染事例が発生する可能性は否定できない。また、複数年にわたりレジオネラ属菌が検出された公衆浴場が6か所で確認され、衛生管理の徹底が望まれる。

レジオネラ属菌は土壌や淡水の湖沼、温泉などの自然環境に生息している。しかし、近年は冷却塔、加湿器、循環式浴場などの人工的な水環境にもその生息域を広げている。この菌によって引き起こされるレジオネラ症は劇症型の肺炎、あるいは軽い熱性疾患の病型を示すが、重篤な場合は死に至ることから、もっとも注意しなければならない経気道感染症のひとつである。レジオネラ症は1976年の米国フィラデルフィアで発生した集団感染事例 [1] 以来注目されるようになった。

日本における集団感染事例は、2002年に発生した宮崎県の事例をはじめいくつか報告されているが、その多くは浴槽水が原因である [2]。富山県においては集団感染事例こそ発生していないが、レジオネラ症の散发事例は増加傾向にあり、2005年には死亡例も発生している [3]。そこで我々は、レジオネラ症の発生原因のひとつが浴槽水のレジオネラ属菌汚染であると考え、2006年から公衆浴場浴槽水の管理状況とレジオネラ属菌検出率との関連を調査している。今回、2006年から2008年にかけて富山県内の公衆浴場48施設から採取した浴槽水169検体について、レジオネラ属菌による汚染実態を調査したので報告する。

材料と方法

1. 材料

2006年から2008年にかけて富山県内の公衆浴場48施設から採取した浴槽水169検体を試料とした。採水は厚生センターの担当者に依頼した。浴槽水は採取後直ちにチオ硫酸ナトリウムの入った滅菌採水瓶に入れ、採水当日あるいは翌日に当所へ搬入された。

2. 浴槽水の濃縮

浴槽水500 mlをポリカーボネート製メンブレンフィルター（直径47 mm, 0.22 μ m, 日本ミリポア）で吸引ろ過し、さらに滅菌蒸留水50 mlでメンブレンフィルターおよびろ過用ファンネルを洗浄、吸引ろ過した。吸引後フィルターを50 ml滅菌コニカルチューブに入れ5 mlの滅菌蒸留水を加え、ボルテックスで5分間振とうし、濃縮試料とした。

3. 培養

濃縮試料のうち、1 mlをヒートブロックで50℃20分間加熱処理した。冷却後、GVPC寒天培地（日本ビオメリュー）およびWYO α 寒天培地（栄研化学）に、濃縮試料原液および10倍希釈した試料100 μ lをそれぞれ2枚に塗抹した。これらの培地を乾燥しないよう湿潤箱に入れ、37℃で10日間培養した。

4. 同定および菌数測定

生育した灰白色のレジオネラ様コロニーすべてを血液寒天培地（栄研化学）および BCYE α 寒天培地（日本ビオメリュー）に培養した。そこで BCYE α 寒天培地のみに発育したコロニーはグラム陰性桿菌であることを確認し、レジオネラ属菌とした。その同定されたコロニー数をもって浴槽水100 ml あたりのレジオネラ属菌数に換算した。ただし、発育したコロニー数が極めて多い場合は10-20コロニーのみを同定し、そのレジオネラ属菌の割合をもって、全レジオネラ属菌数を計算した。培地上にレジオネラ属菌を認めない場合は計算上、菌数10未満とした。

5. 血清型別試験

浴槽水1検体あたり1-20コロニーのレジオネラ属菌を用いて、病原体検出マニュアル [4] に従い、加熱抗原を作製した。試薬はレジオネラ免疫血清（デンカ生研）および Legionella Latex Test Kit（オキソイド）を用いた。

結 果

1. 浴槽種別のレジオネラ属菌検出浴槽数

3年間に浴槽水169検体のレジオネラ属菌検査をした結果、74検体（43.8%）からレジオネラ属菌が分離された（表1）。2006年から2008年にかけて、レジオネラ

属菌検出率は51.9%（27/ 52検体）から37.7%（20 / 53検体）と、毎年少しずつ減少していた。浴槽水169検体の内訳は、循環式が145検体、掛け流し方式が15検体、併用が9検体であった。浴槽種別のレジオネラ属菌検出率は、循環式浴槽が39.3%（57/ 145検体）であったのに対し、検体数は少ないものの掛け流し浴槽は66.7%（10/ 15検体）であった（表2）。

2. 換水頻度とレジオネラ属菌検出浴槽数

レジオネラ症防止指針 [5] によると、浴槽水は毎日換えることが原則である。そこで、調査可能であった145検体について、最終換水日から採水日までの経過日数とレジオネラ属菌検出浴槽数との関係を図1に示した。その結果、換水日からの経過日数に関わらずレジオネラ属菌が検出された。

3. 遊離残留塩素濃度とレジオネラ属菌数

浴槽水の遊離残留塩素濃度とレジオネラ属菌検出率との関係については、レジオネラ症防止指針 [5] の中で望ましいとされる遊離残留塩素濃度0.2-0.4 mg/l 以上1.0 mg/l 以下を基準に、結果を表3に示した。調査可能であった166検体のうち、遊離残留塩素濃度0.2 mg/l 未満の浴槽水については、75.0%（45/60検体）の検体からレジオネラ属菌が検出された。

レジオネラ属菌が検出された検体について、浴槽水の遊離残留塩素濃度とレジオネラ属菌数との関係を図2に示した。浴槽水100 ml あたりのレジオネラ属菌数

表 1. レジオネラ属菌検査浴槽数

	検体数	陽性数 (%)
2006 年	52	27 (51.9)
2007 年	64	27 (42.2)
2008 年	53	20 (37.7)
計	169	74 (43.8)

表 2. 浴槽種別のレジオネラ属菌検出浴槽数

	検体数	陽性数 (%)
循環式浴槽	145	57 (39.3)
掛け流し浴槽	15	10 (66.7)
併用	9	7 (77.8)
計	169	74 (43.8)

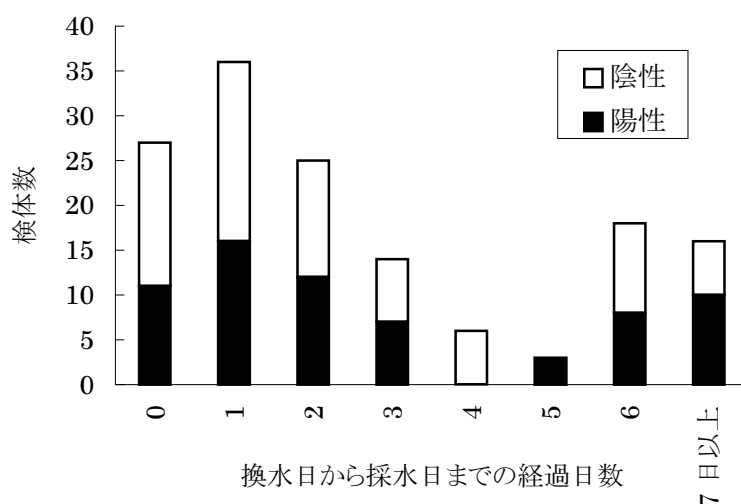


図 1. 換水頻度とレジオネラ属菌検査浴槽数

表 3. 浴槽水の遊離残留塩素濃度とレジオネラ属菌検出浴槽数

遊離残留塩素濃度 (mg/l)	検体数	陽性数 (%)
0.2 <	60	45 (75.0)
0.2 - 0.4	25	8 (32.0)
0.5 - 1.0	38	16 (42.1)
< 1.0	43	3 (7.0)
計	166	72 (43.4)

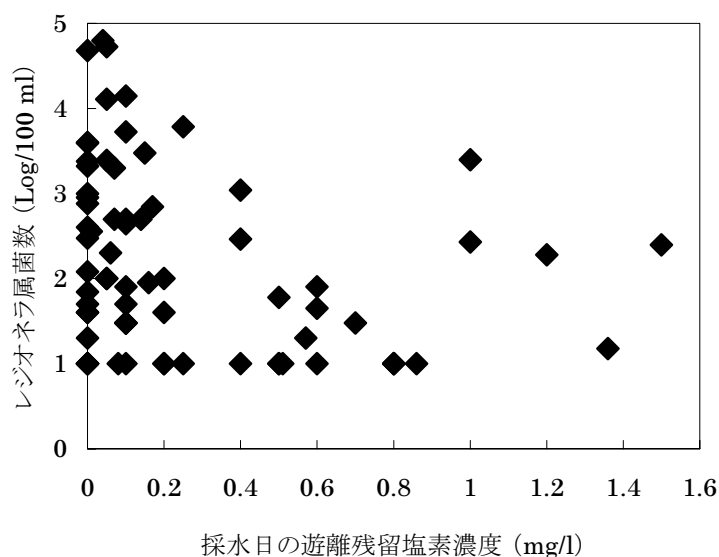


図 2. 浴槽水の遊離残留塩素濃度とレジオネラ属菌数

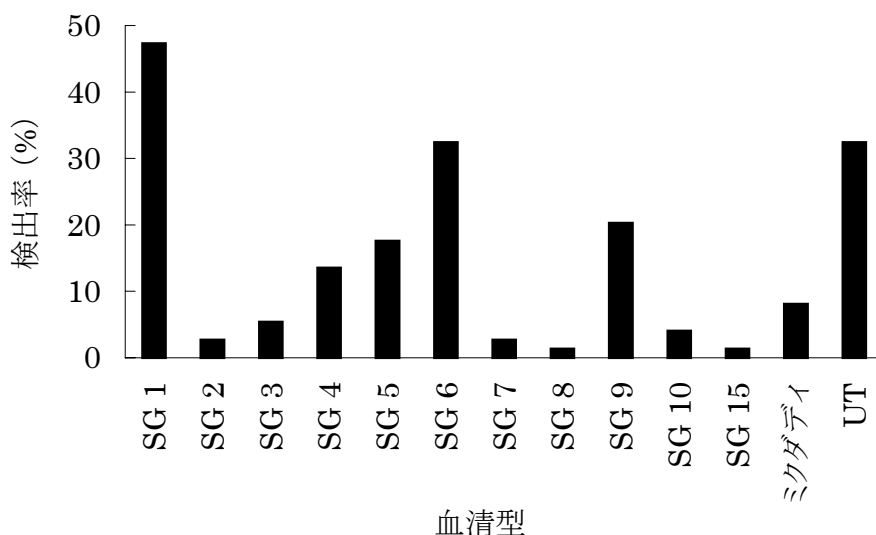


図 3. 血清型別のレジオネラ属菌検出率

が5,000 CFU 以上であった7検体のうち、6検体が遊離残留塩素濃度0.2 mg/l 未満であった。また、遊離残留塩素濃度が1.0 mg/l 以上であった5検体から、レジオネラ属菌が検出された。

4. 分離菌の血清型別

レジオネラ属菌が検出された浴槽水74検体について、分離菌の血清型別の検出率を図3に示した。分離菌の

血清型は12種類であった。最も多かったのは *L. pneumophila* SG1で、47.3% (35/74検体) であった。ついで *L. pneumophila* SG6で、32.4% (24/74検体) であった。また、32.4% (24/74検体) から市販抗血清に凝集しない UT 株が分離された。

5. 複数年にわたりレジオネラ属菌が検出された施設
8か所の公衆浴場について、複数年にわたりレジオ

表 4．複数年にわたりレジオネラ属菌が検出された公衆浴場施設

施設 No.	検体 No.	方式	分離年	換水頻度	採水日の遊離 残留塩素濃度 (mg/l)	レジオネラ属 菌数 (CFU/100ml)	分離菌の血清型	
A	1	循環	2006	毎日	0.1	440	SG 5	SG 6
	2		2007	毎日	0.6	20	SG 5	SG 6
B	3	循環	2006	1 回 / 2 日	0.25	6100	SG 1	SG 5 SG 6
	4			1 回 / 7 - 10 日	0.05	100		SG 8
	5		2007	1 回 / 7 - 10 日	0.08	10		SG 6
	6			1 回 / 7 日	0.06	200	SG 1	
	7			1 回 / 7 日	0.01	360		
C	8	併用		1 回 / 3 日	0	120		SG 6
	9			1 回 / 3 日	0	2100		SG 4
	10			1 回 / 3 日	0	70		SG 4
	11			1 回 / 3 日	0	400		SG 4 SG 5 SG 6
	12			1 回 / 3 日	0	2400	SG 3 SG 4	SG 6
	13			1 回 / 4 日	0.1	14000	SG 4	SG 6
	14			1 回 / 4 日	0.4	1100	SG 4	SG 7
	15			1 回 / 15 日	1	270	SG 1	SG 9
D	16	循環	2006	1 回 / 15 日	0.6	80	SG 1	UT
	17			1 回 / 15 日	0.4	290	SG 1	SG 9 ミクダディ
	18			1 回 / 5 日	0.86	10	SG 1	
E	19	循環	2006	1 回 / 7 日	0.1	30	SG 1	SG 7
	20			1 回 / 3 日	0.8	10		SG 6
	21		2007	1 回 / 3 日	1.5	250	SG 1	SG 5
F	22	循環	2007	毎日	0.04	62700	SG 1	
	23		2008	毎日	0.15	3000	SG 1 SG 2	SG 6 SG 9

ネラ属菌の検査をした。このうち、6か所で複数年にわたりレジオネラ属菌が検出され、施設によっては特定の血清型の菌が毎年分離された（表4）。

考 察

3年間浴槽水のレジオネラ属菌について検査した結果、検出率は51.9%から37.7%に少しずつ減少していたが、依然として約4割の浴槽水にレジオネラ属菌が存在していた。レジオネラ属菌は、バイオフィーム内の微生物（主にアメーバ）の中で増殖する。バイオフィームとは、壁面などに付着した微生物が粘液性物質を産出し、混在して形成されたものである [6]。浴槽の壁面や配管にはこのバイオフィームが形成され易く、そこで増殖したレジオネラ属菌がエアロゾルとともに飛散することによりヒトに感染する [5]。今回の調査では、最終換水日から採水日までの経過日数とレジオネラ属菌検出率が相関せず、掛け流し方式の浴槽水からもレジオネラ属菌が検出された。このことは、換水だけではレジオネラ属菌を除去できないことを示す。従って、浴槽水のレジオネラ属菌除去には、浴槽水の消毒、バイオフィームの除去が不可欠であると考えられる。レジオネラ属菌が検出された浴槽水の多くが、遊離残留塩素濃度が0.2 mg/l未満であった。これらには、100 mlあたりのレジオネラ属菌数が5,000 CFU以上あった浴槽水のほとんど（6 / 7検体）も含まれていた。5,000 CFU/100 mlを超える菌数に達すると集団発生はいつ起きても不思議でないことから [7]、遊離残留塩素濃度を推奨される濃度に保つことが重要である。しかし一方で、遊離残留塩素濃度が1.0 mg/l以上の浴槽水からもレジオネラ属菌が検出された。原因として、配管・ろ過装置などの洗浄・消毒が不十分であることが考えられたが、今回の調査ではこの点は明らかではない。

富山県内の浴槽水においては、*L. pneumophila* SG1の検出率が47.3%と最も高かった。古畑らの調査においても、温泉水からは*L. pneumophila* SG1が最も多く分離されている [8]。*L. pneumophila* SG1は、過去に発生した集団感染事例の原因菌のほとんどがこの血清型であることから、病原性のある菌として最も注意しなければならない。従って今後、公衆浴場を原因とするレジオネラ症の集団感染事例が発生する可能性は否定できない。

6か所の公衆浴場から分離された同じ血清群の*L. pneumophila* は、その一部がPFGEで同一パターンを示した（データ未発表）。これは、その浴槽に固有種として存在している可能性を示している。しかし、

パターンが異なる、すなわちクローンが異なる*L. pneumophila* も多く存在することから、*L. pneumophila* と浴槽水の関連については今後検討していきたい。いずれにせよこれらの施設は、レジオネラ属菌の菌数が高い傾向にあり、適切な衛生管理が必要である。

近年、増加が続くレジオネラ症を防止させるためには、感染源の究明と対策が不可欠である。しかし現在のところ、半数以上は感染源が特定されていない。感染源のひとつである浴槽水のレジオネラ属菌汚染状況を把握し、レジオネラ属菌の分布やその遺伝的関係を調べることは、感染源を特定する際の貴重な情報となるだけでなく、バイオフィームを除去するような工程を含む衛生管理を適切に行う上で重要である。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、検体採取にご協力いただきました公衆浴場施設、厚生センター、富山市保健所および生活衛生課の関係各位に心より感謝いたします。

文 献

1. Fraser D. W., Tsai T. R., Orenstein W., Parkin W. E., Beecham H. J., Sharrar R. G., Harris J., Mallison G. F., Martin S. M., McDade J. E., Shepard C. C. and Brachman P. S. (1977). N. Engl. J. Med. 297: 1189-1197.
2. 国立感染症研究所感染症情報センター (<http://idsc.nih.go.jp/disease/legionellosis/sokuho0718.html>)
3. 富山県厚生部（平成18年）. 富山県感染症発生動向調査事業報告書 12.
4. 病原体検出マニュアル 国立感染症研究所 全国地方衛生研究所 平成15年改定版.
5. 厚生労働省健康局（2009）. レジオネラ症防止指針 第3版 財団法人 ビル管理教育センター.
6. Marshall K. C. (1992). The prokaryotes In: A handbook on the biology of bacteria Springer-Verlag.
7. 岡田美香, 河野喜美子, 倉 文明, 前川純子, 渡辺治雄, 八木田健司, 遠藤卓郎, 鈴木 泉 (2005). 感染症誌 79: 365-374.
8. 古畑勝則, 原 元宣, 吉田真一, 福山正文 (2004). 感染症誌 78: 710-716.

大量注入方式ガスクロマトグラフ/質量分析計を用いた魚介類中の 有機スズ化合物（MBT, DMT, MPT, DPT）の残留実態調査 （平成20年度）

山下 智富 小玉 修嗣 大戸 幹也 中山 恵理子 高柳 信孝

Analysis of Organotin Compounds in Fishes Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Large Volume Injection
(2008)

Tomohisa YAMASHITA, Shuji KODAMA, Mikiya OHTO, Eriko NAKAYAMA,
Nobutaka TAKAYANAGI

要 旨 大量注入方式ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS with large volume injection）を用いた有機スズ化合物の分析法によって平成20年度に水揚げされた魚介類中に残留しているモノブチルスズ（MBT）、ジブチルスズ（DBT）、モノフェニルスズ（MPT）、ジフェニルスズ（DPT）の残留濃度を測定した。

はじめに

有機スズ化合物は、主に船底塗料や漁網の生物付着防汚剤として利用されてきた。しかし、非常に低濃度でも生物に対して毒性と内分泌攪乱作用を示すことが明らかとなっている[1,2]。海底の堆積物中には長期間にわたり有機スズ化合物が残留することが報告されており、この海底からの溶出が新たな汚染源になることが懸念されている。有機スズ化合物の環境中における動態については未だ不明な点が多い。有機スズ化合物は魚介類に残留するため、食物連鎖による移行および濃縮により海洋生物に慢性的な影響を及ぼす可能性がある。よって、魚介類中における有機スズ化合物の残留量を調査することは、生物に対する残留実態という観点のみならず環境中における動態を知る上でも非常に有用である。

有機スズ化合物としてはトリブチルスズ（TBT）およびトリフェニルスズ（TPT）が有名であり、国内のみならず世界中で残留実態が定期的に調査されているが[1,3]、TBT、TPTの分解物であるモノブチルスズ（MBT）、ジブチルスズ（DBT）、モノフェニルスズ（MPT）、ジフェニルスズ（DPT）の残留実態についての報告例は多くない。TBT、TPTと同様にMBT、DBT、MPT、DPTも毒性を有している。そのため、MBT、DBT、MPT、DPTの残留実態を明らかにすることは重要である。

著者らは近年開発した大量注入方式 GC/MS[4]

（Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Large Volume Injection）を用いて、平成20年度に富山県内で水揚げされた魚介類中の MBT、DBT、MPT、DPT の残留実態を調査した。その結果を報告する。

大量注入方式 GC/MS 法では、100 mL の試料溶液を装置に注入し、濃縮操作を胃袋型ライナー内で行なうため、前処理操作の過程を簡略にすることが可能である（図1）。また、分析精度を向上させるために、安定同位体（サロゲート物質）を内標準として使用した。サロゲート物質には、目的の物質と化学的性質が同じで、質量数が異なっているという性質がある。このサロゲート物質を試料採取または前処理段階の試料に添加することによって、添加段階以降から測定までの分析操作に由来する測定値の変動を補正することができる。

方 法

1 試料

平成20年に富山県の魚津港および氷見港で水揚げされた魚介類の可食部を細切したものを使用した。

種類：カワハギ、メジマグロ、ふくらぎ、タチウオ、カマス、しろふぐ、マサバ、ヤガラ、カイワリ、シマダイ

2 試薬

標準品：Butyltin trichloride (Sigma-Aldrich), Di-n-butyltin dichloride (東京化成工業), Phenyltin trichloride (水質検査用, 林純薬工業), Diphenyltin dichloride (水質検査用, 林純薬工業)

内標準物質：Butyltin trichloride- d_9 (水質検査用, 林純薬工業), Dibutyltin dichloride- d_{18} (水質検査用, 林純薬工業), Phenyltin trichloride- d_5 (水質検査用, 林純薬工業), Diphenyltin dichloride- d_{10} (水質検査用, 林純薬工業)

測定時内標準物質：Tetrabutyltin- d_{36} (TeBT- d_{36}) (環境分析用, 関東化学), Tetraphenyltin- d_{20} (TePT- d_{20}) (環境分析用, 関東化学), Tetraphenyltin- d_{20} (TePT- d_{20}) (環境分析用, 関東化学)

テトラエチルほう酸ナトリウム (林純薬工業) は水質試験用, アセトン (和光純薬工業) およびヘキサン (和光純薬工業) は残留農薬・PCB 試験用, 水はTORAYPURE LV-05超純水製造装置 (東レ株式会社) で精製したものを用了。

フロリジルカートリッジカラム：Sep-pak Plus Florisil (Waters) を用了。使用する直前にヘキサン10 mL を通して洗浄した。

3 ガラス器具の洗浄

試料前処理に用いたガラス器具は, 1 mol/L 塩酸を含むエタノール, 精製水, アセトンで洗浄したものを使用した。その他の器具は, 精製水, アセトンで洗浄した。

4 溶液調製

混合標準液の調製：それぞれ標準品を量り, アセトンを加えて定容したものを標準原液とした。それぞれの標準原液から分取して合わせ, アセトンで100

mL としたものを混合標準液とした ($1 \mu\text{g/mL}$)。さらにその混合標準液から10 mL を分取しアセトンで100 mL とした溶液を調製した ($0.1 \mu\text{g/mL}$)。

内標準物質混合溶液の調製：それぞれ内標準物質を量り, アセトンを加えて定容したものを内標準物質原液とした。それぞれの内標準物質原液から分取して合わせ, アセトンで100 mL としたものを内標準物質混合溶液とした ($1 \mu\text{g/mL}$)。さらに, その内標準物質混合標準液から10 mL を分取しアセトンで100 mL とした溶液を調製した ($0.1 \mu\text{g/mL}$)。

測定時内標準物質溶液：それぞれ測定時内標準物質を量り, 少量のアセトンに溶解後, ヘキサンを加えて定容したものを測定時内標準物質原液とした。それぞれの測定時内標準物質原液を分取して合わせ, ヘキサンで100 mL としたものを測定時内標準物質混合溶液とした ($1 \mu\text{g/mL}$)。さらにその混合液から2 mL を分取しヘキサンで20 mL とした溶液を調製した ($0.1 \mu\text{g/mL}$)。

酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 (pH5) : 2 mol/L 酢酸及び2 mol/L 酢酸ナトリウム溶液を pH5 になるように混合した。

5 装置

GC/MS 装置：GC-17A/QP-5000 (島津株式会社)

注入装置：Lavi Stoma (エミネット株式会社)

6 GC/MS 分析条件 カラム：HP-5MS (HP), 内径0.25 mm, 長さ30 m, 膜厚0.25 μm

注入口温度； 50 $^{\circ}\text{C}$ — 100 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ $\rightarrow$ 280 $^{\circ}\text{C}$ (28.7 min) Total 31 min (100 μL 試料注入時間；34秒,

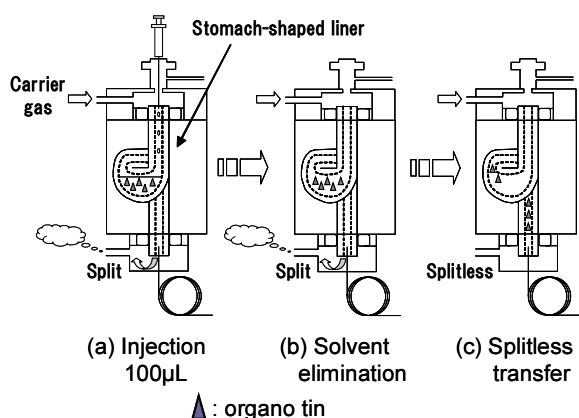


図1 大量試料導入法の概念図

表1 SIM 分析におけるモニターイオン

有機スズ化合物 (エチル体)	モニターイオン ^a	内標準物質 (エチル体)	モニターイオン ^a
MBT	235, (233)	MBT- d_9	244, (242)
DBT	261, (263)	DBT- d_{18}	279, (281)
		TeBT- d_{36}	318, (316)
MPT	253, (255)	MPT- d_5	260, (258)
DPT	303, (301)	DPT- d_{10}	313, (311)
		TePT- d_{20}	366, (364)

^a () 内は確認用イオンの質量数

平成21年12月 1 日

溶媒蒸発時間；22秒 合計56秒. この後に急速に昇温.
スプリット流量；150 mL/min, スプリットレス時間；
6 分)

カラム槽温度；50 °C(4 min)—25 °C/min → 130
°C — 10 °C/min → 300 °C (9.5 min)

Total 34min (図2)

キャリアーガス；He 1.1 mL/min

注入；溶媒除去注入法, 100 μ L

インターフェース温度；230°C

圧力設定： 60 kPa (3 min) — 5.5 kPa/min →
170 kPa (11 min) Total 34 min

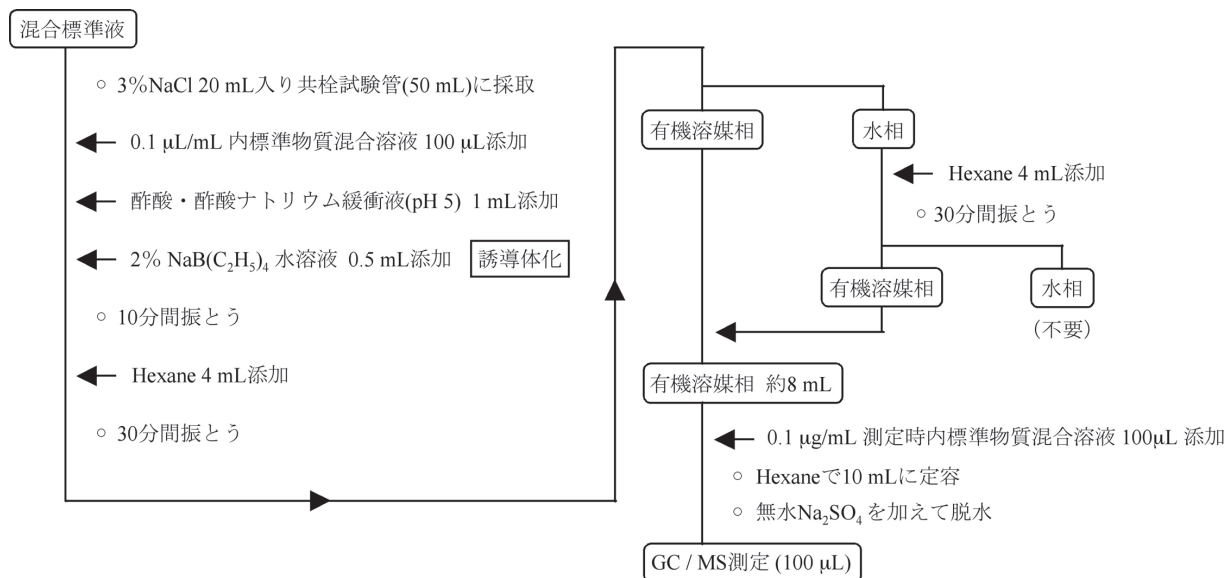


図2 有機スズ化合物分析における検量線溶液の調製

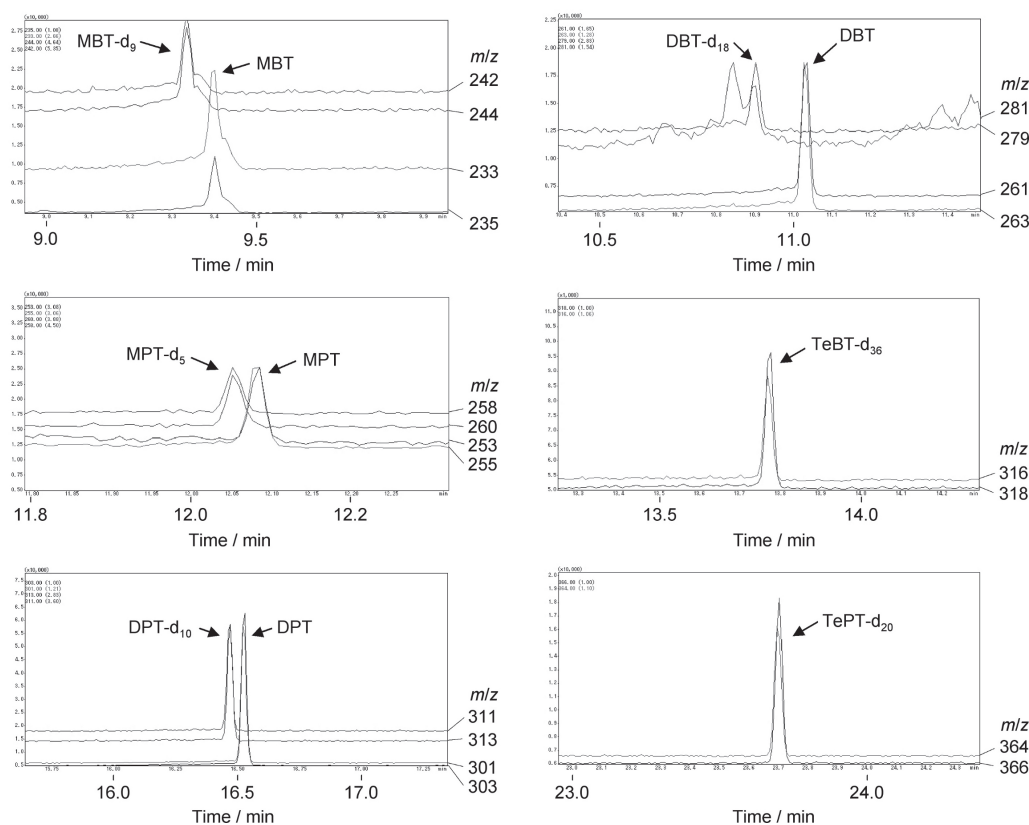


図3 標準混合溶液 3 ppb (内標準混合溶液 1 ppb を含む)のクロマトグラム

試料：魚介類 可食部を細切均一化後、5.0 gを量り採る。

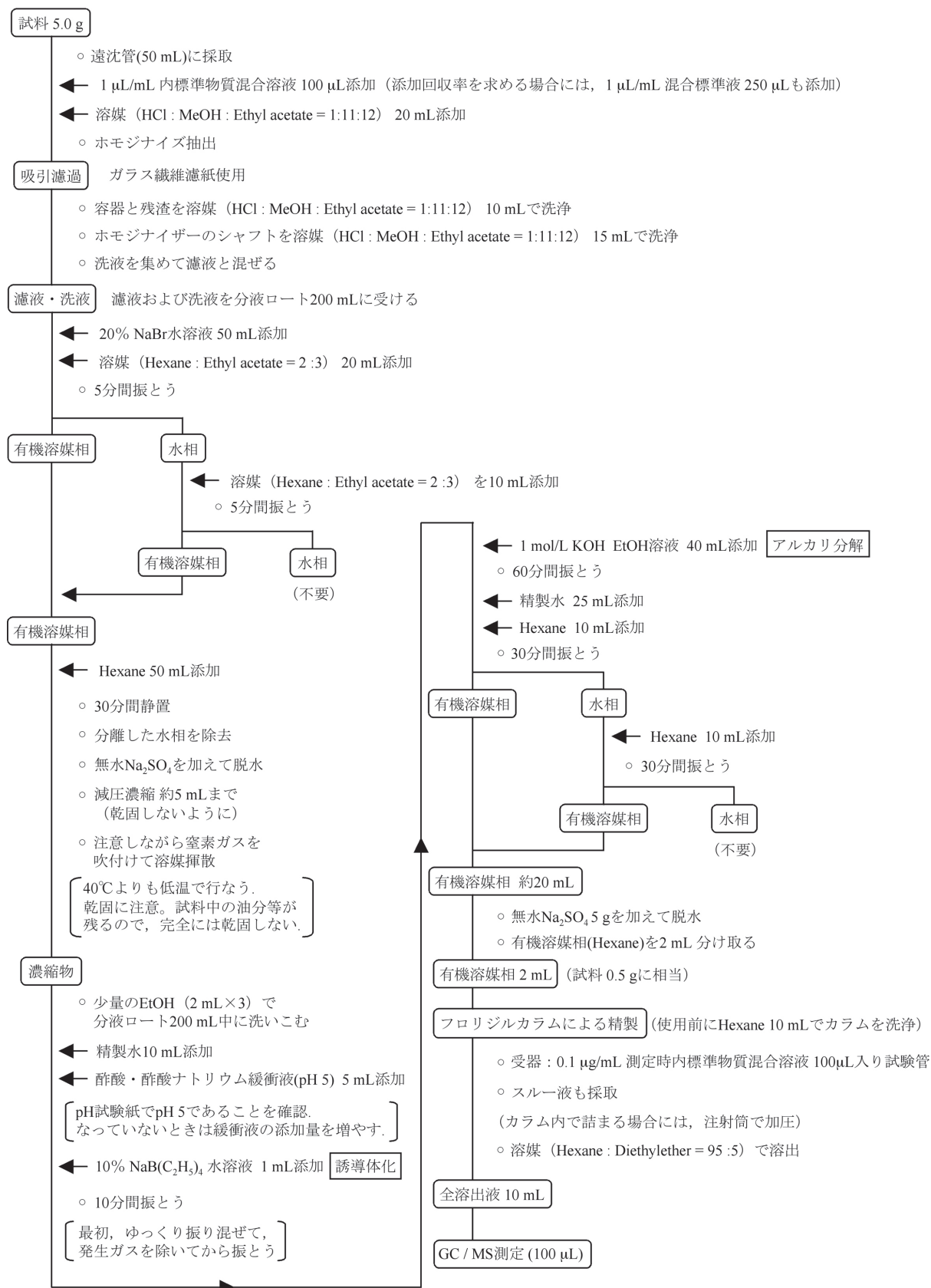


図4 有機スズ化合物分析における試料前処理

SIM 分析におけるモニターイオン：表1に示す。

7 検量線溶液の調製および試料前処理

検量線溶液の調製方法を図2、試料前処理の方法を図4に示す。解析時にはサロゲート物質のピークを用いて補正を行なう。

したがって、いずれの過程においても、サロゲート物質を添加した後に調製および前処理を行なった。検量線作成に用いた標準混合溶液 3 ppb（内標準混合溶液 1 ppb を含む）のクロマトグラムを図3に示す。目的物質および内標準物質ともに良好なピークが観測された。

結果および考察

1 測定結果

測定結果を表2に示す。いくつかの魚種から、わずかなではあるが MBT, DBT, MPT が検出された。日本国内の他の地域においても魚介類中から有機スズ化合物が検出されている例が多数存在することから [1, 7-10]、富山県においても有機スズ化合物が検出されることは十分にありうる。

富山湾における海底堆積物中には TBT が微量ながら存在していることが報告されている [3]（最小値 0.0002 mg/g 未満（不検出）、最大値 0.0087 mg/g: 海洋汚染調査報告第32号(海上保安庁海洋情報部2006)）。よって、海中に存在している有機スズが魚介類中に生物濃縮という形で蓄積された結果が現れたものと考えられる。

ただし、ほとんどの測定値は検出下限付近の値であった。有機スズ化合物は、ガラス器具等に吸着する特性

があるため、前処理等に用いる器具は念入りに洗浄する必要がある。しかし、洗浄後もわずかに検出されることがあるということが報告されている [9,11]。今回、ガラス器具に付着している有機スズ化合物を極力除去するために、前処理に用いたガラス器具はすべて 1 mol/L 塩酸を含むエタノール、精製水、アセトンで洗浄した。その他の器具は、精製水とアセトンで洗浄した。しかし、前処理の操作が長いことと使用するガラス器具の数が多いことから、わずかに残っていたものが検出された可能性もある。

2 添加回収率

MBT, DBT, MPT, DPT の添加回収率を表3に示す。いずれも約90～120%の範囲内にあり、良好であった。サロゲート物質を用いた内部標準法を適用したことによって、分析操作の変動を補正することができたためと考えられる。

表 3 添加回収率

MBT	DBT	MPT	DPT
104%	99%	116%	94%

ま と め

大量注入方式ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS with large volume injection) を用いた有機スズ化合物の分析法を用いて、魚介類中の有機スズ化合物を測定した。その結果、微量ではあるが魚介類に存在すると推測される MBT, DBT, MPT を検出した。

参考文献

1. 中西 準子, 堀口 文男: "詳細リスク評価書シリーズ8「トリブチルスズ」", (平成18年), (丸善株式会社)
2. 国際簡潔評価文書 No. 14 トリブチルスズオキシド (2005) 国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部
3. 海洋汚染調査報告第32号 (海上保安庁海洋情報部 2006)
4. Y. Saito, S. Kodama, A. Matsunaga J. AOAC Int. 87, 1356 (2004)
5. 衛生試験法・注解2005, 432-434, (2005), (金原出版)

表 2 測定結果

	濃度 (μg/g)			
	MBT	DBT	MPT	DPT
カワハギ	—	—	—	—
メジマグロ	—	—	—	—
ふくらぎ	0.002	—	—	—
タチウオ	0.002	—	0.003	—
カマス	0.003	—	—	—
しろふぐ	0.005	0.002	—	—
マサバ	0.005	0.002	—	—
ヤガラ	0.004	0.002	—	—
カイワリ	0.008	—	—	—
シマダイ	0.003	—	—	—

検出下限 0.002 μg/g

— : 不検出 (<0.002 μg/g)

6. 岩村 幸美, 門上希和夫, 陣矢 大助, 棚田京子 :
分析化学, 49, 523
7. 大橋正孝, 陰地義樹, 田中 健, 玉置守人, 奈良
県衛生研究所年報, 第34号, p41
8. 山辺真一, 武 志保, 肥塚加奈江, 今中 雅章,
(2005) 岡山県環境保健センター年報, 29, 117
9. 菅谷京子, 中澤芳子, 北林雪枝, 廣田久美子, 石
原島栄二, 大森牧子, 世取 山守, 栃木県保健環
境センター年報, 第8号
10. 飯島正雄, 星野庸二 : 衛生化学, 44, 371 (1998)
11. 要調査項目等調査マニュアル (水質, 底質, 水生
生物), (平成14年) (環境省水環境部企画課)

中高齢者の継続的な運動実施が血液性状および骨量、骨代謝指標に及ぼす影響

堀井 裕子 中崎美峰子 田中 朋子 金木 潤 明神三枝子¹

Effect of Continual Exercises on Blood characteristics, Bone Metabolic Indices and the Quantitative Ultrasound Parameters at Calcaneus in Middle-aged and Elderly Subjects

Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Jun KANAKI
and Mieko MYOJIN¹

要 旨 運動教室に約1年間継続的に参加した者の身体活動量、生活習慣病にかかわる血液生化学検査値、骨量および骨代謝指標の9ヶ月間の変化を検討した。その結果、継続的に運動することで身体活動量の増加がみられた。とくに、活動量が“歩数1,000歩以上増加”または“強度〔中以上〕の活動時間10分以上増加”した者や教室で指導された運動を自宅で週3回以上実施している者では、血清脂質レベルの改善および骨量の維持が認められ、生活習慣病予防および骨粗鬆症予防に効果があることが示唆された。

身体活動・運動は生活習慣病や骨粗鬆症、肥満に対して予防効果があるといわれ、運動習慣づくりのために様々な運動教室が開催されている。我々は前報で〔1〕運動教室参加者の身体活動量と骨量・骨代謝指標との関連を調べ、身体活動量が多いものでは骨量は高く、骨吸収指標は低値を示すことを報告した。今回は、この対象者の追跡調査を実施し、身体活動量、骨量の変化とそれらの関連について検討した。さらに、生活習慣病の危険因子とされる血液生化学検査値についても検討したのでその結果を報告する。

対象および方法

対象は、射水市主催の中高齢者のための健康運動教室、パワーアップ貯筋教室（期間1年間）に継続して参加した“いみず1期生”（平成18～19年実施），“いみず2期生”（平成19～20年実施）のうち調査に同意した男性21人（年齢61～80歳、平均67.5歳）、女性122人（54～80歳、平均62.8歳）である。教室の内容、調査項目は前報〔1〕に示したとおりであり、今回はさらに血液生化学検査（HDL コレステロール：HDLc、LDL コレステロール：LDLc、ヘモグロビン A1c：HbA1c、尿酸：UA）についても検討を行った。教室開始から約1か月後（初回）に初回調査を、その約9か月後（追跡）に追跡調査を実施し、2回の調査に参加したのは男性16人、女性99人であった。

解析方法は、体格（体重、BMI）、身体活動量（歩

数、強度〔弱〕および〔中以上〕活動時間）体力（握力、上体起こし、長座体前屈、開眼片足立ち、10m障害物歩行、6分間歩行、体力得点）、血液生化学検査、骨量（超音波伝搬速度：SOS、超音波減衰係数：BUA、Stiffness）、骨代謝指標（血中骨型アルカリフォスファターゼ：BAP、尿中ピリジノリン：PYD、デオキシピリジノリン：DPD）の各測定値について初回と追跡を比較した。次に、血液生化学検査、骨量、骨代謝指標について初回と追跡時の差（追跡－初回値）をもとめ、身体活動量変化との関連を調べた。さらに、身体活動量増加群（歩数差1,000歩以上、速歩時間差10分以上増加）、非増加群（歩数差1,000歩未満、速歩時間差10分未満）の2群に分け、初回と追跡時の血液生化学検査、骨量、骨代謝指標値を比較した。また、自記式アンケートで調査した、教室で指導された運動の自宅での実施回数で2群に分け（週3回以上、週2回以下）、初回と追跡時の検査値を比較した。

解析に際して血液生化学検査の集計には脂質代謝、糖代謝、尿酸値に影響を与える薬剤の服用者を除く男性14人、女性69人を対象とし、骨量、骨代謝指標の集計には骨代謝に影響を与える薬剤の服用者および術後閉経者を除く男性15人、女性63人を対象とした。また、PYD、DPDについては対数変換した値を用い、幾何平均値、幾何標準偏差を求めた。

なお、本調査は富山県衛生研究所の倫理審査委員会の承認を受け、対象者には調査について文書で説明を行い同意書を得た。

1. 射水市小杉保健センター

結 果

表1に初回時と追跡時の体格、体力測定値、身体活動量を示す。体格では女性において体重、BMI が有意に減少していたが（ともに $p<0.01$ ），その差は小さかった（体重 -0.5kg ）。体力テスト結果は男女ともに全ての項目で体力測定値が向上し、体力得点が高くなっていた。身体活動量では、歩数は男性では約1,000歩増加し（ $p<0.05$ ），女性では増加傾向は認められたが有意差はなかった。活動時間については、強度〔中以上〕時間は男女ともに有意な変化はなかったものの、強度〔弱〕の時間が男女ともに有意に増加した（男性 67 vs 75分，女性 73 vs 76分，ともに $p<$

0.05）。

表2に血液生化学検査、骨量、骨代謝指標の初回と追跡時の値を示す。血液生化学検査では、男性はUAが、女性ではLDLCが有意に低下した（ともに $p<0.05$ ）。骨代謝では、女性の骨量指標のBUAが有意に低下し（ $p<0.01$ ），骨代謝指標のPYD（ $p<0.05$ ），DPD（ $p<0.01$ ）も有意に低下していた。

身体活動量差と生化学検査、骨量、骨代謝指標値の差との関連をみたところ、男性のHDLC差と歩数差（ $r=0.70$ $p<0.01$ ），〔中以上〕活動時間差（ $r=0.732$ $p<0.01$ ）とに正の相関が認められた。

さらに、身体活動量（歩数，〔中以上〕活動時間）の差を増加群，非増加群の2群に分け生化学検査、骨量、骨代謝指標値を比較した（表3，4）。歩数増加群

表1 初回時と追跡時の体格、体力、身体活動量の比較

		男性 16人				女性 99人			
		初回時		追跡時		初回時		追跡時	
		平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
体格									
身長		166.4	4.9			152.1	6.1		
体重	kg	62.4	5.9	61.9	5.7	54.4	7.4	53.9	7.2 **
BMI	kg/m ²	22.5	1.9	22.3	1.9	23.6	3.3	23.4	3.1 **
体力測定									
握力	kg	37.7	6.2	40.7	6.3 **	24.4	3.2	25.7	3.9 ***
上体起こし	cm	13.4	5.2	16.5	4.6 *	7.9	5.2	11.6	6.2 ***
長座体前屈	cm	35.3	7.8	44.3	9.6 ***	40.3	7.8	47.0	7.1 ***
開眼片足立ち	秒	63.4	43.7	106.6	30.3 **	87.4	40.0	106.3	26.4 ***
10m障害物歩行	m	6.3	1.1	5.1	0.9 **	6.6	0.8	5.4	0.9 ***
6分間歩行	m	595.9	63.4	673.8	69.9 ***	570.4	38.0	646.5	44.1 ***
体力得点		38.6	4.9	48.3	6.2 ***	40.7	5.2	48.5	5.6 ***
身体活動量									
平均歩数	歩	9067.2	2286.1	10105.9	2370.8 *	9667.7	2587.2	9914.5	2779.8
弱活動時間	分	66.7	13.3	74.7	15.0 *	73.0	19.8	75.6	19.5 *
中以上活動時間	分	29.0	16.3	32.4	16.5	28.7	13.7	29.1	15.4

初回と追跡時の比較 *, **, *** $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$

表2 初回時と追跡時の血液生化学検査、骨量、骨代謝指標の比較

			男性				女性					
			初回時		追跡時		初回時		追跡時			
			人数	平均	標準偏差	平均	標準偏差	人数	平均	標準偏差	平均	標準偏差
血液生化学検査												
Tchol	mg/dl		14	183.3	29.2	190.9	28.2	69	218.1	22.0	222.0	27.4
HDLc	mg/dl		14	49.8	10.6	51.9	11.2	69	59.5	13.1	59.7	13.7
LDLC	mg/dl		14	114.8	24.0	114.3	21.9	69	144.2	24.8	138.4	26.2 *
UA	mg/dl		14	5.9	1.3	5.4	1.1 *	69	4.5	0.9	4.5	0.9
HbA1c	%		14	4.9	0.6	4.9	0.4	69	5.0	0.4	5.0	0.3
骨量												
Stiffness			15	82.0	13.2	79.8	11.8	63	70.1	10.5	69.2	10.6
SOS	m/sec		15	1523.5	25.3	1523.2	21.6	63	1515.6	19.4	1517.2	20.5
BUA	dB/MHz		15	113.1	10.5	110.0	11.4	63	98.7	11.0	96.6	11.1 **
骨代謝指標												
BAP	U/l		15	145.2	42.5	156.9	47.7	63	172.2	68.0	173.6	71.0
PYD [#]	nmol/mmolCr		15	15.7	1.3	15.2	1.3	63	25.1	1.3	23.4	1.3 *
DPD [#]	nmol/mmolCr		15	2.9	1.3	2.7	1.3	63	5.8	1.5	5.2	1.5 **

初回と追跡時の比較 *, **, *** $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$

[#]: 幾何平均、幾何標準偏差

表3 歩数増加群, 非増加群における初回時と追跡時の血液生化学検査値, 骨量, 骨代謝指標の比較

		増加群						非増加群					
		初回時			追跡時			初回時			追跡時		
		人数	平均	標準偏差	平均	標準偏差		人数	平均	標準偏差	平均	標準偏差	
男性	Tchol	mg/dl	5	180.40	21.62	194.40	27.65		9	184.89	33.79	188.89	29.95
	HDLc	mg/dl	5	52.50	11.86	60.54	10.29	*	9	48.36	10.34	47.17	8.97
	LDLC	mg/dl	5	111.80	21.00	115.60	25.69		9	116.44	26.64	113.56	21.13
	UA	mg/dl	5	6.56	0.81	5.96	0.94		9	5.48	1.34	5.13	1.11
	HbA1c	%	5	4.84	0.51	4.76	0.39		9	4.91	0.67	4.94	0.36
	Stiffness		5	77.14	13.48	76.57	12.93		10	84.37	13.06	81.39	11.52
	SOS	m/sec	5	1509.44	24.97	1512.95	29.10		10	1530.54	23.46	1528.36	16.16
	BUA	dB/MHz	5	111.78	10.49	109.46	7.40		10	113.83	11.02	110.27	13.34
	BAP	U/l	5	152.98	36.66	168.52	43.19		10	141.38	46.54	151.13	51.03
	PYD [#]	nmol/mmolCr	5	16.0	1.3	15.6	1.3		10	15.5	1.2	15.1	1.3
	DPD [#]	nmol/mmolCr	5	3.0	1.3	2.7	1.4		10	2.8	1.2	2.6	1.3
女性	Tchol	mg/dl	21	218.24	29.38	219.05	28.62		48	218.10	18.20	223.35	27.05
	HDLc	mg/dl	21	60.52	12.87	59.82	12.17		48	59.12	13.24	59.60	14.42
	LDLC	mg/dl	21	144.86	29.04	136.57	28.53	*	48	143.98	23.03	139.25	25.42
	UA	mg/dl	21	4.54	0.97	4.60	0.91		48	4.42	0.90	4.42	0.97
	HbA1c	%	21	4.94	0.34	4.97	0.34		48	5.01	0.42	4.99	0.34
	Stiffness		16	70.89	9.61	70.80	10.10		47	69.86	10.86	68.64	10.79
	SOS	m/sec	16	1511.90	17.15	1515.59	15.95		47	1516.81	20.11	1517.81	22.02
	BUA	dB/MHz	16	101.37	12.48	99.71	14.50		47	97.79	10.39	95.54	9.59
	BAP	U/l	16	155.27	60.11	154.86	56.17		47	178.03	70.09	179.93	74.85
	PYD [#]	nmol/mmolCr	16	26.0	1.4	25.0	1.2		47	24.8	1.3	22.9	1.3
	DPD [#]	nmol/mmolCr	16	5.9	1.5	5.3	1.4		47	5.8	1.5	5.1	1.5

増加群: 歩数差1,000歩以上、非増加群: 歩数差1,000歩未満

#: 幾何平均、幾何標準偏差

初回と追跡時の比較 *, ** p<0.05, p<0.01

表4 中以上活動時間増加群, 非増加群における初回時と追跡時の血液生化学検査値, 骨量, 骨代謝指標の比較

		増加群						非増加群						
		初回時		追跡時				初回時		追跡時				
		平均	標準偏差	平均	標準偏差			平均	標準偏差	平均	標準偏差			
男性	Tchol	mg/dl	4	186.50	19.36	204.00	20.12	10	182.00	33.14	185.60	30.09		
	HDLc	mg/dl	4	52.30	13.69	61.35	11.70	*	10	48.85	9.87	48.18	9.05	
	LDLC	mg/dl	4	116.75	20.61	124.25	19.52		10	114.00	26.28	110.30	22.42	
	UA	mg/dl	4	6.55	0.93	6.25	0.79		10	5.59	1.32	5.10	1.06	
	HbA1c	%	4	5.01	0.42	4.85	0.38	*	10	4.84	0.67	4.89	0.38	
	Stiffness		4	74.03	13.34	73.07	11.88		11	84.84	12.49	82.22	11.28	
	SOS	m/sec	4	1502.02	21.56	1504.57	25.73		11	1531.31	22.40	1530.00	16.27	
	BUA	dB/MHz	4	110.20	11.41	107.69	7.23		11	114.21	10.54	110.84	12.79	
	BAP	U/l	4	141.05	29.03	163.98	48.47		11	146.77	47.63	154.36	49.59	
	PYD [#]	nmol/mmolCr	4	15.4	1.4	15.4	1.3		11	15.8	1.2	15.2	1.3	
	DPD [#]	nmol/mmolCr	4	2.9	1.4	2.6	1.5		11	2.9	1.2	2.7	1.3	
女性	Tchol	mg/dl	12	220.50	31.29	221.58	33.30		57	217.65	19.81	222.14	26.34	
	HDLc	mg/dl	12	58.28	8.81	56.05	6.11		57	59.82	13.83	60.43	14.72	
	LDLC	mg/dl	12	152.67	29.76	140.92	31.22	*	57	142.47	23.54	137.91	25.33	
	UA	mg/dl	12	4.87	0.79	4.96	0.89		57	4.37	0.93	4.38	0.94	
	HbA1c	%	12	4.95	0.52	4.89	0.36		57	5.00	0.37	5.01	0.33	
	Stiffness		9	67.73	8.78	68.34	8.50		54	70.52	10.76	69.33	10.95	*
	SOS	m/sec	9	1506.68	17.37	1512.50	14.86	*	54	1517.04	19.46	1518.04	21.35	
	BUA	dB/MHz	9	98.81	11.15	97.30	12.22		54	98.68	11.04	96.48	10.98	**
	BAP	U/l	9	164.51	35.17	164.99	47.49		54	173.54	72.14	174.99	74.44	
	PYD [#]	nmol/mmolCr	9	25.8	1.3	24.2	1.2		54	25.0	1.3	23.3	1.3	*
	DPD [#]	nmol/mmolCr	9	5.7	1.4	5.3	1.4		54	5.8	1.5	5.1	1.5	**

増加群: 中以上活動時間差10分以上、非増加群: 中以上活動時間差10分未満

#: 幾何平均、幾何標準偏差

初回と追跡時の比較 *, ** p<0.05, p<0.01

では、初回時に比べ追跡時には、男性では HDL コレステロールが有意に上昇し (p<0.05)、女性では LDL コレステロールが低下した (p<0.05)。一方、非増加群では男性では変化はみられず、女性では追跡時に骨量指標の stiffness (p<0.05)、BUA (p<0.01) が有意に低下し、PYD (p<0.05)、DPD (P<0.01) も低下した。

〔中以上〕活動時間については、男性の増加群は初回時に比べ追跡時は HDL コレステロールが有意に増

加し (p<0.05)、HbA1c が有意に低下した (p<0.05)。女性の増加群では追跡時に LDL コレステロールが低下し、骨量指標の SOS が増加した。非増加群では、女性において追跡時に stiffness (p<0.05)、BUA (p<0.01)、PYD (p<0.05)、DPD (P<0.01) の有意な低下がみられた。

表5に自宅での運動回数で週2回以下と3回以上に分け比較した。自宅運動週3回以上群では男性は追跡時に HDL コレステロールが上昇し (p<0.05)、女性で

表5 自宅での運動回数別、初回時と追跡時の血液生化学検査値、骨量、骨代謝指標の比較

		自宅運動週3回以上						自宅運動週2回以下					
		初回時			追跡時			初回時			追跡時		
		人数	平均	標準偏差	平均	標準偏差		人数	平均	標準偏差	平均	標準偏差	
男性	Tchol	mg/dl	4	191.00	33.26	185.00	31.84	10	180.20	28.70	193.20	28.08	
	HDLC	mg/dl	4	49.45	6.16	52.50	9.47	10	49.99	12.28	51.72	12.35	
	LDLC	mg/dl	4	125.25	27.58	113.25	30.20 *	10	110.60	22.65	114.70	19.66	
	UA	mg/dl	4	5.58	1.94	5.00	1.81	10	5.98	1.01	5.60	0.73	
	HbA1c	%	4	5.08	1.00	4.93	0.56	10	4.81	0.40	4.86	0.29	
	Stiffness		5	86.18	17.63	86.11	15.81	10	79.85	10.85	76.62	8.45	
	SOS	m/sec	5	1533.17	31.79	1534.56	26.64	10	1518.67	21.56	1517.55	17.40	
	BUA	dB/MHz	5	115.46	13.52	114.76	14.40	10	111.99	9.29	107.62	9.56	
	BAP	U/l	5	178.84	54.95	179.36	64.50	10	128.45	23.03	145.71	35.73 *	
	PYD [#]	nmol/mmolCr	5	18.2	1.2	18.2	1.1	10	14.6	1.2	13.9	1.2	
	DPD [#]	nmol/mmolCr	5	3.3	1.3	3.2	1.2	10	2.7	1.2	2.4	1.3	
女性	Tchol	mg/dl	12	220.33	15.03	225.75	18.90	57	217.68	23.25	221.26	28.94	
	HDLC	mg/dl	12	60.02	11.09	58.73	11.76	57	59.45	13.52	59.86	14.14	
	LDLC	mg/dl	12	148.50	19.20	139.83	19.48 *	57	143.35	25.87	138.14	27.56	
	UA	mg/dl	12	4.41	0.77	4.53	0.59	57	4.46	0.95	4.47	1.01	
	HbA1c	%	12	5.15	0.40	5.02	0.34	57	4.95	0.39	4.98	0.34	
	Stiffness		11	73.81	10.98	74.38	11.49	52	69.34	10.32	68.09	10.15 *	
	SOS	m/sec	11	1525.64	23.76	1531.25	20.86	52	1513.43	17.88	1514.28	19.41	
	BUA	dB/MHz	11	100.02	9.99	98.55	12.28	52	98.42	11.23	96.18	10.87 **	
	BAP	U/l	11	161.39	95.13	163.05	100.16	52	174.55	61.72	175.79	64.28	
	PYD [#]	nmol/mmolCr	11	21.2	1.5	21.1	1.5	52	26.1	1.3	23.9	1.3 **	
	DPD [#]	nmol/mmolCr	11	4.6	1.6	4.5	1.7	52	6.1	1.4	5.3	1.4 **	

#:幾何平均、幾何標準偏差

初回と追跡時の比較 *, ** p<0.05, p<0.01

は LDL コレステロールが低下した (p<0.05)。週2回以下群では男性では BAP が上昇し (p<0.05)、女性では stiffness (p<0.05)、BUA (p<0.01)、PYD (p<0.01)、DPD (P<0.01) が有意に低下していた。

考 察

初回時における身体活動量と骨量、骨代謝指標との関連については、歩数が多い者では骨量が高く、〔中以上〕活動時間が多い者では骨量の高値に加え、骨吸収指標が低値を示したことを前報で報告した [1]。今回は同一対象者を追跡調査し、約9か月後の骨量、骨代謝指標の変化、さらに血液生化学検査値の変化について検討した。

追跡期間中の身体活動量の変化は、歩数については男性で平均約1000歩の有意な増加、女性では約250歩の増加であった。一方、強度別の活動時間については、〔弱〕活動時間で男性は8分、女性は約3分の有意な増加がみられたが、〔中以上〕活動時間については男性で約3分、女性0.4分と増加量は少なく、中高齢者では身体活動量を増やしても大部分は弱い活動であることが示された。

体力測定値については全ての項目で平均測定値が向上し、体力を総合して得点化した体力得点は男性では全員、女性では99人中94人が上昇した。体力得点変化と身体活動量変化との相関をみたところ、有意な関連はみられなかった。このことは、教室での運動が筋力トレーニング、ストレッチ、エアロバイクなどを主体

としたものであり、今回身体活動量測定に使用した歩数計ではとらえにくい運動の効果が体力得点の上昇につながっているものと思われる。

血液生化学検査値の変化については、全体では男性で尿酸、女性では LDLC の低下がみられた。この変化を調査期間中の活動量別でみたところ、特に歩数、〔中以上〕活動時間が増加した者や自宅での運動が週3回以上と運動量が多い者で、男性では HDLC が上昇、女性では LDLC が低下し、脂質代謝の改善がみられた。女性については、全体で追跡期間中にわずかながら体重の減少がみられたため、それが LDLC 低下に影響している可能性が考えられた。そこで身体活動量増加群について初回時と追跡時の体重を比較したが有意な減少はみられなかった。運動の血液生化学検査値に及ぼす影響について中江らは、高齢男女について1年間の歩数増加の運動介入を実施し、全体で HDLC が上昇、さらに歩数増加量が1000歩以上群では LDLC が低下したことを報告しており [2]、本調査でも同様な結果を得た。このことから、高齢者では1000歩程度であっても運動量の増加が脂質代謝改善に効果があると考えられた。さらに〔中以上〕活動時間が増加した男性では HbA1c が低下し糖代謝の改善もみられた。先の中江らの報告では HbA1c についても検討しているが変化はみられていない。今回の調査でも歩数増加群では HbA1c に変化はみられなかったが、〔中以上〕活動時間増加群においては低下がみられ、中等度以上という強度が重要である可能性がある。

骨量および骨代謝指標については、全体では女性に

平成21年12月 1 日

において追跡期間中に BUA と骨吸収指標 (PYD, DPD) が低下していた。女性の骨量については思春期から20歳ぐらいまでに最大値に達し、その後40歳ぐらいまではその値が保たれ、その後減少するとされている。このことから、女性で BUA が低下したのは加齢による生理的な変化と考えられる。また、骨代謝指標については、初回時の調査で〔中以上〕活動時間が多い者では骨吸収指標が低い傾向がみられた。今回の対象者は全員が運動教室に継続参加した者であり、運動量を増やしたために全体で骨吸収指標が低下したものと推測された。さらに活動量別では、身体活動量を増やした者や週3回以上自宅で運動していた者では Stiffness, BUA に減少はみられず、特に〔中以上〕活動時間増加群では SOS が増加した。運動は骨量の維持や増加に効果的であり、衝撃の強い運動が有効であると報告されている [3]。今回の調査結果からは1000歩程度の活動量増加でも中高齢者の骨量維持に効果が

あり、さらに強度の強い活動（中等度以上の強度）を増やすことで骨量を増加させることも可能であることが示唆された。

謝辞：本調査の実施にあたり、ご協力いただいたパワーアップいみず貯筋教室参加者のみなさん、射水市小杉保健センター、新湊保健センターの関係各位に対し、心から感謝いたします。

文 献

1. 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 明神三枝子 (2007). 富山衛研年報, 31, 152-157.
2. 中江悟司, 千葉仁志, 石井好二郎 (2007). 肥満研究, 13, 130-136.
3. 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン2006年版, ライフサイエンス出版, 67-69.

健康教室に参加した若年肥満者の運動による 生活習慣病予防効果について

田中 朋子 堀井 裕子 金木 潤 板鼻 広美¹
塚本 浩次¹ 河村 幹治¹ 高島 寧子² 櫻田惣太郎²

Efficacy of Exercise Program for Prevention of Lifestyle Related
Diseases in Obese Young Adults

Tomoko TANAKA, Yuko HORII, Jun KANAKI, Hiromi ITAHANA,
Koji TUKAMOTO, Kanji KAWAMURA, Yasuko TAKASHIMA
and Sotaro SAKURADA

要 旨 3か月間の健康教室に参加した20～30歳代の若年肥満者について、運動状況と身体状況及び生化学指標の変化との関連を調べた。その結果、過去に行った中高年肥満者調査に比べて、運動量が少なかったにもかかわらず、女性では体重、腹囲の減少傾向がみられた。また、男性では、中高年肥満者では体重減少が認められなかった運動量で、若年肥満者は有意な減少を認めた。これらのことから、若年肥満者では中高年に比べやすい可能性が示唆された。

生化学指標では男女とも LDL コレステロールの低下が認められ、さらに運動量の多いものでは HDL コレステロールの上昇もみられ、脂質代謝の改善が認められた。

これらのことから、運動による肥満解消のプログラムは若い年代から実施することにより大きな効果が得られ、将来の生活習慣病予防にも有用と考えられた。

平成20年度から始まった特定検診は40歳～74歳が対象となっている。我々もこれまで中高年を対象とした肥満教室参加者の運動による減量に関する調査を実施してきた〔1, 2〕。しかし、40歳を機に肥満、メタボリックシンドロームになるわけではなくそれ以前の生活習慣が蓄積された結果であり、若年からのアプローチは将来の生活習慣病予防のためには重要であると考えられる。

そこで、健康課主催事業である20歳代、30歳代の肥満者を対象とした3か月間の健康教室「脱メタボ！ウェルネス講座」に参加した男女について、運動状況と体重、腹囲、生化学指標の変化との関連を検討した。

対象および方法

対象は開始時、終了時とも教室に参加した男性19名、女性7名である。開始時と終了時に身体計測（身長、体重、腹囲）、血液検査、メディカルチェックを実施した。参加者は期間中「富山健康パーク」での運動を週1～2回以上実施すること、月に1～2回の講座を受

講することを最低限の目標とした。また、開始時、終了時には問診票により生活状況、健康状態を調査した。期間中は長期間記録型歩数計（ライフコーダ）を装着し歩数、速歩以上の時間（分、以下速歩時間）を調べた。

結 果

表1に男女別の基本特性の変化を示した。男性では終了時には体重、BMI、腹囲の有意な減少が認められた。女性についても有意ではないが減少傾向がみられた。

3か月間の歩行状態を表2に示した。歩数と速歩時間の平均値は男性がそれぞれ8505±2662歩/日、33.9±16.4分/日、女性は7963±3235歩/日、26.0±17.2分であり男女差はみられなかった。

血液生化学検査結果を表3に示した。男性では LDL コレステロールが有意に低下していた他（133±28.1 mg/dl から113±28.6mg/dl $p<0.01$ ）、 γ GTP、空腹時血糖、空腹時インスリンの低下傾向とアディポネ

1. 富山県健康課 2. 富山県国際健康プラザ

表 1 調査前後の基本特性の変化

	開始時		終了時		paired t-test
男性(n=19)	平均値	S.D.	平均値	S.D.	
体重(kg)	84.9	13.2	81	12.4	***
BMI	28.3	3.41	27	3.33	***
腹囲(cm)	96.1	8.7	92	9.4	***
	開始時		終了時		paired t-test
女性(n=7)	平均値	S.D.	平均値	S.D.	
体重(kg)	63.9	10.5	61.9	10.7	N.S.
BMI	25	5.14	24.1	4.9	N.S.
腹囲(cm)	87.9	6.1	85.5	8.5	N.S.

表 2 期間中の歩行状況

男性(n=19)	平均値	S.D.	最大値	最小値
歩数(/日)	8505	2662	13132	3231
速歩時間(分/日)	33.9	16.4	75.4	7.3
女性(n=7)	平均値	S.D.	最大値	最小値
歩数(/日)	7964	3235	12665	4424
速歩時間(分/日)	26	7.2	62.4	10.6

表 3 生化学検査値の変化

男性(n=19)	開始時		終了時		paired t-test
	平均値	S.D.	平均値	S.D.	
GOT (U/l)	26	9.5	25	10.7	N.S.
GPT (U/l)	41	25.8	35	28.9	N.S.
γ GTP (U/l)	41	22.1	33	17.6	p<0.1
中性脂肪(mg/dl)	161	72.0	150	80.4	N.S.
総コレステロール(mg/dl)	197	34.5	188	33.6	N.S.
HDLコレステロール(mg/dl)	47.4	8.69	49.1	9.06	N.S.
LDLコレステロール(mg/dl)	133	28.1	113	28.6	**
尿酸(mg/dl)	7.0	1.13	6.9	1.24	N.S.
空腹時血糖(mg/dl)	92.9	6.43	90.6	7.60	p<0.1
空腹時インスリン(μ U/l)	8.19	5.32	6.79	3.96	p<0.1
HbA1c(%)	4.79	0.19	4.7	0.29	N.S.
HOMA指数	1.9	2.85	1.58	1.03	N.S.
アディポネクチン(μ g/ml)	5.28	2.32	5.7	2.23	p<0.1

女性(n=7)	開始時		終了時		paired t-test
	平均値	S.D.	平均値	S.D.	
GOT (U/l)	20	5.3	20	6.0	N.S.
GPT (U/l)	17	10.3	18	10.8	N.S.
γ GTP (U/l)	15	10.0	15	8.2	N.S.
中性脂肪(mg/dl)	92	29.4	96	15.9	N.S.
総コレステロール(mg/dl)	185	18.3	185	15.8	N.S.
HDLコレステロール(mg/dl)	63.0	8.12	63.2	7.26	N.S.
LDLコレステロール(mg/dl)	110	16.4	100	10.2	*
尿酸(mg/dl)	4.5	1.14	4.5	1.06	N.S.
空腹時血糖(mg/dl)	88.1	6.52	36.1	3.72	N.S.
空腹時インスリン(μ U/l)	9.64	11.58	6.51	6.39	N.S.
HbA1c(%)	4.74	0.23	4.41	0.23	*
HOMA指数	2.23	2.85	1.44	1.47	N.S.
アディポネクチン(μ g/ml)	11.4	4.14	11.1	3.96	N.S.

表4 問診票によるライフスタイルの変化

	開始時		終了時		paired t-test
	平均値	S.D.	平均値	S.D.	
男性(n=19)					
総活動相対値	71.0	9.1	77.9	13.4	*
スポーツ運動相対値	24.9	31.6	88.3	112.3	*
食生活の相対値	56.0	9.4	59.8	9.9	p<0.1
女性(n=7)					
総活動相対値	82.1	12.9	84.0	12.2	N.S.
スポーツ運動相対値	21.6	31.6	53.9	57.5	*
食生活の相対値	62.2	9.3	67.6	7.8	N.S.

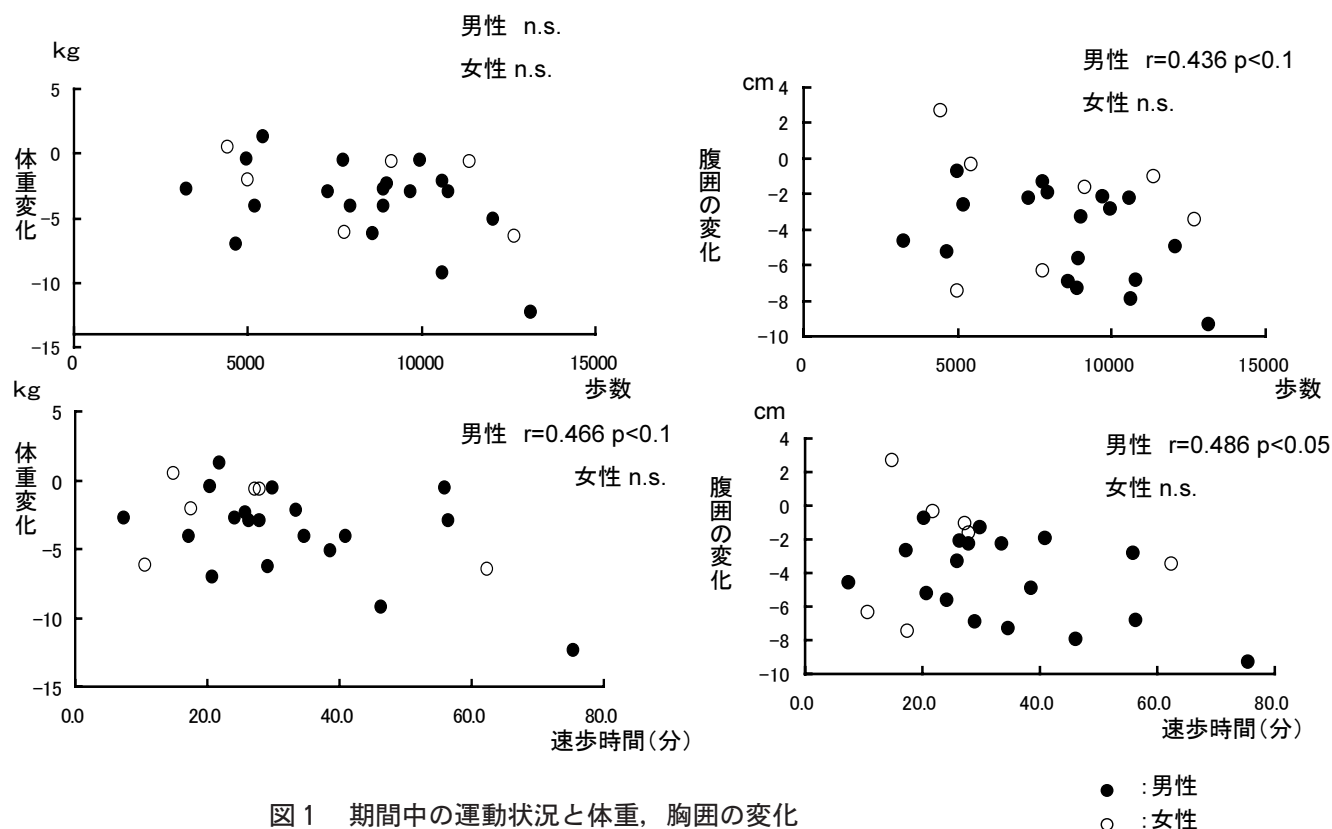


図1 期間中の運動状況と体重、胸囲の変化

クチンの増加傾向が認められた。女性でも LDL コレステロールは 110 ± 16.4 mg/dl から 100 ± 10.2 mg/dl, ヘモグロビン A1c は $4.74 \pm 0.23\%$ から $4.41 \pm 0.23\%$ と有意に低下していた (各々 $p < 0.05$)。

問診票から開始時、終了時の総活動量の相対値、スポーツ運動量の相対値、食生活の相対値を求め前後を比較すると (表4) 男性では総活動量、スポーツ運動量ともに有意な増加が認められ (各々 $p < 0.05$, $p < 0.01$), 女性でもスポーツ運動量の増加が認められた ($p < 0.05$)。しかし、食生活については、男性で改善傾向が認められたのみであった ($p < 0.1$)。

・運動状況と身体状況の変化との関連

歩数、速歩時間と体重減少量、腹囲減少量との関連を図1に示した。男性では体重変化量と速歩時間との

間には負の傾向がみられた ($r = -0.466$ $p < 0.1$)。腹囲については歩数と負の傾向を示し ($r = -0.436$ $p < 0.1$)、速歩時間とは負の相関が認められた ($r = -0.486$ $p < 0.05$)。

・運動状況と生化学指標の変化との関連

歩数、速歩時間と HDL コレステロールの変化量の間には男女とも関連が認められた (図2, 男性: vs 歩数 $r = 0.457$ $p < 0.1$, vs 速歩時間 $r = 0.469$ $p < 0.05$, 女性: vs 歩数 $r = 0.701$ $p < 0.1$, vs 速歩時間 $r = 0.807$ $p < 0.05$)。しかし、期間中に有意な低下を認めた LDL コレステロールについては男性で歩数との間に負の傾向がみられたのみであった ($r = -0.413$ $p < 0.1$)。

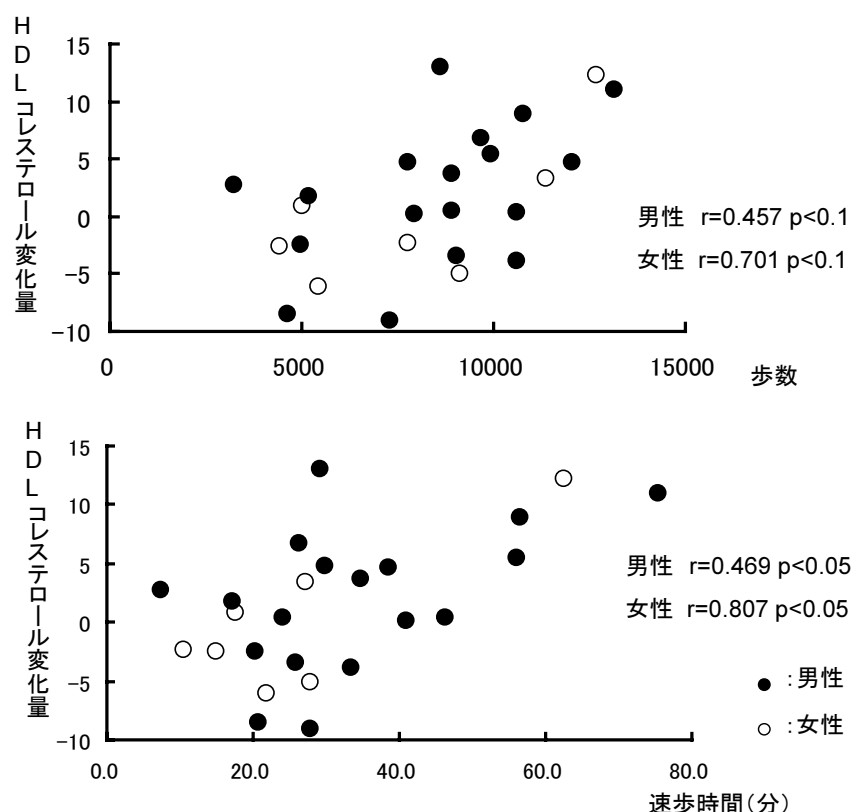


図2 歩数、速歩時間と HDL コレステロールの変化

考 察

運動状況と体重、腹囲の減少について

今回の男性は3.9kgの体重減少、4.1cmの腹囲の減少を認めた。我々のこれまでの調査結果と比較すると、中年男性肥満者を対象とした調査〔1〕では4か月の期間中に有意な体重減少は認められなかった。しかし、運動状況は、歩数が8991±3083歩/日 (n=36)、速歩時間は36.0±20.4分/日 (n=36)であり、今回の調査と有意な違いは認められなかった。先の調査ではウォーキングを中心としたプログラムであるが、今回は施設での運動を実施しているためライフコードで把握できない運動が含まれている可能性はある。しかし、同じBMIでも中高年は若年に比べ、除脂肪体重が少なく〔3〕、基礎代謝が低下していることが考えられる〔4〕。このように、中高年と若年では体組成や代謝が異なることから、同程度の運動に対するやせやすさも異なる可能性を示したものと考えられる。

一方、女性についても中高年肥満女性の3か月間の調査〔2〕と比較してみると、中高年女性では1.3kgの体重減少と3cmの腹囲の有意な減少を認めている。今回の若年女性も、例数が少なく有意ではないが、2kgの体重減少と2.4cmの腹囲の減少がみられた。そこで、両者の歩数、速歩時間を比較してみると、中高

年女性の歩数は10540±2830歩/日 (n=37)、速歩時間は30.8±17.8分/日 (n=37)であり、歩数については中高年女性のほうが多かった (p<0.001)。このことから、中高年肥満女性では、体重減少には若年より多い運動量が必要ではないかと推察できる。

日本人におけるやせやすさと年代の違いについての報告は少ない。笹井らは60歳以上の高齢者と50歳未満の中年男性肥満者について3か月間の運動プログラムによる体重減少、内臓脂肪減少を比較し、両者に違いはなかったと報告しているが〔5〕、若年との比較はされていない。

今回の我々の結果は若年では体重減少に有効な運動量が少ない可能性を示したものと思われ、運動による肥満解消のプログラムは若い年代から実施することにより大きな効果が得られ、将来の生活習慣病予防にも有用であると考えられた。

・運動状況と生化学指標の変化について

男女ともLDLコレステロールの有意な低下が認められ、男性では運動量との関連が認められた。さらに、歩数、速歩以上とHDLコレステロールの変化は男女ともに関連を示したことから、運動量の増加により脂質代謝が改善したものと考えられる。糖代謝については、男女とも改善傾向を示しているが、いずれも有意ではないため、さらに例数を増やし検討したいと考え

ている。

今回、食生活については、開始時、終了時の問診票から、点数化した食生活の相対値を求め、前後で比較しているが、同様にして求めたスポーツ運動相対値、総活動相対値に比べ、その変化量は少なかった。さらに、体重、腹囲の減少や、生化学指標の変化との関連も認められなかった。これらのことから、今回の体重、腹囲の減少や脂質代謝の改善は運動による効果が大きいと考えられた。

謝辞：本調査の実施にあたり、ご協力いただいた「脱メタボ！ウェルネス講座」参加者のみなさん、富山健康パークの関係各位に対し、心から感謝いたします。

文 献

1. 田中朋子, 堀井裕子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 大下喜子, 山上孝司 (2006). 富山衛研年報, 29, 149-151.
2. 田中朋子, 堀井裕子, 渋谷直美, 大浦栄次 (2008). 富山衛研年報, 31, 158-161.
3. DeNino WF, Tchernof A, Dionne IJ, et al (2001). Diabetes Care, 14, 20-39.
4. 日本人の食事摂取基準 (2005). 厚生労働省 (第一出版).
5. 笹井浩行, 中田由夫, 片山靖富, 大河原一憲, 大久保寛之, 田中喜代次 (2008). 肥満研究, 14, 258-263.

中国・内モンゴル自治区の成長期および閉経期の女性における

フッ素曝露の骨量および骨代謝に及ぼす影響

新村 哲夫 堀井 裕子 中崎美峰子 長瀬 博文¹ 桑守 豊美²
森田 明美³ 王 紅兵⁴ 胡 莉珍⁵ 孫 迎春⁵ 賈 光⁶ 海 榮⁷
蘇 秀蘭⁷ 常 虹⁷ 畢 力夫⁷ 鏡森 定信⁶

Influence of fluoride exposure on bone mass and bone metabolism
in growing and menopausal women of Inner Mongolia, China

Tetsuo SHIMMURA, Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Hirofumi NAGASE¹,
Toyomi KUWAMORI², Akemi MORITA³, Hongbing WANG⁴, Lizhen HU⁵,
Yingchun SUN⁵, Guang JIA⁶, Rong HAI⁷, Xiulan SU⁷, Hong CHANG⁷, Lifu BI⁷
and Sadanobu KAGAMIMORI⁶

要 旨 先に、中国・内モンゴル自治区の草原地域において、未閉経中年女性の尿中骨吸収マーカーが高く、その地域の飲料水中フッ素濃度が高いことをみいだした。さらに、草原地域で飲用されているタン茶浸出液中のフッ素濃度が高いことを報告した。引き続き行った同地域の若年女性の調査で、骨量指標が都市地域に比べて低く、骨形成マーカーとともに、各種の尿中骨吸収マーカーの上昇がみられ、これまで報告されてきたフッ素による骨芽細胞刺激による骨の過形成とは異なる病態の存在が示唆された。今回は、このようなフッ素曝露が成長期、閉経前および閉経期の女性の骨および骨代謝へ与える影響について検討するため調査を行った。フッ素曝露による成長期女性への影響は明らかではなかったが、30歳代以上で尿中骨吸収マーカーが有意に増加し、40歳代以上では骨形成マーカーの増加もみられた。閉経女性において骨密度の低値が観察され、高齢者におけるフッ素曝露による骨への影響に関してさらに検討する必要がある。

先に、1996年から富山医科薬科大学（現富山大学医学部）および中国内蒙古医学院との共同で、ライフスタイルが異なる中国・内モンゴル自治区の都市、農村、草原地域に住むモンゴル人と日本人の中年未閉経女性を対象に、骨および骨代謝に影響する要因分析のため疫学調査を行った [1, 2]。調査の結果、草原地域では乳製品中心の食生活で十分なカルシウム摂取と運動量が多いにもかかわらず骨吸収マーカーが高値を示し、骨量は減少傾向であり、血中活性型ビタミン D₃ の上昇を伴っていた [1, 2]。中国の同地域は微量元素の過不足が問題とされる地域であり [9]、セレン、ヨード、ヒ素、フッ素などについて調査を行ったところ、飲料水から日本の水道水の基準（0.8 mg/L）を超えるフッ素が検出され（1mg/L～10mg/L）、フッ素曝露が明らかとなった [3, 4]。そこでフッ素曝露と骨代謝機能の関係をみたところ、尿中フッ素濃度と骨吸収マーカーとの間に正の相関がみられ、フッ素曝露が

骨吸収に影響を与えることが示唆された [3, 4]。さらに、2002年に同地域の20歳代の若年女性について、フッ素曝露の影響について検討を行ったところ、若年女性においても、複数の骨吸収マーカーが高値を示し、骨量は低値を示した [5, 6]。新たに、草原地域で飲用されているタン茶（レンガのように固めたお茶）浸出液のフッ素濃度が高いことが判明し、飲料水のフッ素汚染とともにタン茶の飲用による影響が危惧された [5, 6]。

今回は、飲料水のフッ素汚染とともにタン茶飲料が常飲されている中国・内モンゴル自治区の草原地域の成長期および閉経期の女性を対象に調査を行ったので報告する。

対象および方法

2007年の7月下旬から8月にかけて、中国・内モンゴ

1 現富山県厚生部健康課 2 富山短期大学 3 国立健康・栄養研究所 4 広島大学医学部公衆衛生学
5 富山大学大学院医学薬学研究部保健医学 6 中国北京大学医学部 7 中国内蒙古医学院

ル自治区に調査員を派遣し、現地の研究者とともに疫学調査を行った。対象者および対象地域は次のとおりである。

1) 対象者

①1996年、1998年および2002年の骨密度調査に参加した内モンゴル自治区草原地域44名および都市地域35名（年齢40～59歳、閉経期女性）

②成長期（年齢15歳まで）の女性、草原地域40名と都市地域21名（成長期女性）

③②の母親で未閉経女性および2002年の調査対象者、草原地域40名と都市地域21名（安定期女性）

2) 調査地域

①内モンゴル自治区都市地域（呼和浩特市）

②内モンゴル自治区草原地域（包頭市達茂旗）

調査項目は以下のとおりである。

1) 尿の測定項目

① 骨吸収マーカー：I型コラーゲン架橋 C-テロペプチド（ β -クロスラップス, CL), ヒドロキシプロリン (Hyp), クレアチニン (Cr), デオキシピリジノリン (DPD), ピリジノリン (PYD)

② フッ素 (F)

2) 血液の測定項目

① 骨形成マーカー：血清骨型アルカリフォスファターゼ (BAP)

② カルシウム代謝関連指標：血清中カルシウム、無機リン, 1,25-(OH) $_2$ ビタミン D $_3$, 25-OH ビタミン D $_3$, 副甲状腺ホルモン

③ 肝臓、腎臓機能関連指標：GPT, GOT, クレアチニン

3) 骨密度測定 (DXA 法), 踵骨骨量 (超音波測定法)

4) 飲料水, タン茶中のフッ素

5) アンケート調査 (初経, 閉経, 栄養, 運動, 罹患歴, 定住性, 井戸水と水道水の飲用歴, 食品の嗜好性, など)

6) 斑状歯の検査

7) 一般検査

① 体格検査：身長, 体重, 体脂肪率, 握力, 血圧

② 尿定性試験：糖, 蛋白

③ 貧血検査：ヘモグロビン (Hb), 赤血球数 (RBC)

④ 医師による個人健康指導

このうち、血中の骨形成マーカー (BAP), カルシウム代謝関連指標 (活性型ビタミン D $_3$ など), 肝臓, 腎臓機能などの測定については、北京大学医学部公共衛生学院へ依頼して行った。一般検査は現地で実施した。超音波測定装置 (GE Lunar A-1000 InSight) による踵骨骨量の測定は、2008年10月に、前年に疫学調査を行った対象者について、実施した。

調査結果の統計学的解析には、統計ソフト SPSS を用いた。

本研究は、富山県衛生研究所倫理委員会の承認を得て実施した。本研究の対象者に研究の目的を中国語で説明し、書面により同意の署名を得た。

結 果

調査結果の概略は以下のとおりである。調査対象者のフッ素濃度の測定結果を Table 1, 2に示した。

飲料水およびタン茶浸出液のフッ素濃度は、対照 (都市) 地域に比べて汚染 (草原) 地域が有意に高かった。尿中フッ素濃度は、いずれの年代においても草原地域が対照地域に比べて有意に高く、年齢が高くなるにつれて増加する傾向がみられた。

尿中の骨吸収マーカーの測定結果を Table3に示した。尿中骨吸収マーカーである CL と Hyp はこれまで報告してきたように30歳代から40歳代の汚染 (草原) 地域女性では、対照地域に比べて有意に高く、閉経期である50歳代女性でさらに顕著となった。

骨形成マーカーである血清の BAP や活性型ビタミン D $_3$ など血清の測定結果を Table 4および Table 5に示した。骨形成マーカーである BAP は、草原 (汚染) 地域の40歳代以上で対照地域に比べ高かった。血清の1,25-VitaminD $_3$ は成長期で違いがみられたが、30歳代以上では草原 (汚染) 地域と対照地域に差はみられなかった。25-Vitamin D $_3$ は40歳代以上で草原

Table 1. Fluoride concentrations in drinking water, brick tea infusion in Inner Mongolian women.

Area	Water F (mg/L)			Brick tea F (mg/L)	
	n	AM±SD		n	AM±SD
Urban	1	0.31	p<0.001	42	2.28±2.17
Grassland	68	2.20±1.31		30	3.51±1.53
p, t-test.					

Table 2. Fluoride concentration in urine of Inner Mongolian women.

Age (years)	Area	Urinary F (mg/gCr)		
		n	GM(GSD)	
9-14	Urban	21	1.00 (1.54)	p<0.001
	Grassland	40	2.65 (1.61)	
30-39	Urban	16	0.86 (1.90)	p<0.001
	Grassland	36	3.67 (1.39)	
40-49	Urban	21	1.13 (1.53)	p<0.001
	Grassland	25	5.85 (1.73)	
50-59	Urban	17	1.51 (1.49)	p<0.001
	Grassland	21	8.47 (1.47)	

p, t-test.

Table 3. Bone resorption markers in urine of Inner Mongolian women.

Age (years)	Area	Urinary CL (mg/mMCr)			Urinary Hyp (mg/gCr)		
		n	GM(GSD)		n	GM(GSD)	
9-14	Urban	21	1519 (1.39)	ns	21	252.6 (1.35)	ns
	Grassland	40	1528 (1.57)		40	258.2 (1.51)	
30-39	Urban	16	138 (1.62)	p<0.01	16	31.9 (1.41)	p<0.001
	Grassland	36	243 (1.94)		36	61.0 (1.62)	
40-49	Urban	21	145 (1.95)	p<0.01	21	39.0 (1.49)	p<0.01
	Grassland	25	303 (1.94)		25	68.1 (1.78)	
50-59	Urban	17	187 (1.65)	p<0.001	17	45.9 (1.55)	p<0.001
	Grassland	21	494 (1.89)		21	78.4 (1.46)	

p, t-test. ns, no significant difference.

Table 4. Bone formation marker in serum of Inner Mongolian women.

Age (years)	Area	B-ALP (U/L)		
		n	AM $\pm$ SD	
9-14	Urban	20	151.3 $\pm$ 70.9	ns
	Grassland	40	149.1 $\pm$ 58.3	
30-39	Urban	15	25.6 $\pm$ 7.1	ns
	Grassland	36	29.8 $\pm$ 10.6	
40-49	Urban	23	28.8 $\pm$ 14.7	p<0.05
	Grassland	25	42.1 $\pm$ 24.9	
50-59	Urban	16	30.1 $\pm$ 9.3	p<0.01
	Grassland	20	44.5 $\pm$ 15.39	

p, t-test. ns, no significant difference.

Table 5. Metabolites of vitamin D and i-PTH in serum of Inner Mongolian women.

Age (years)	Area	1,25-(OH)2VD (pg/ml)			25-OHVD(nmol/L)			i-PTH(pg/mL)		
		n	AM $\pm$ SD		n	AM $\pm$ SD		n	AM $\pm$ SD	
9-14	Urban	20	80.7 $\pm$ 74.0	p<0.05	20	28.6 $\pm$ 12.7	ns	16	38.6 $\pm$ 16.8	ns
	Grassland	40	39.5 $\pm$ 23.5		40	34.3 $\pm$ 14.1		30	39.0 $\pm$ 15.6	
30-39	Urban	15	46.4 $\pm$ 16.8	ns	16	55.0 $\pm$ 23.4	ns	16	42.6 $\pm$ 10.8	p<0.01
	Grassland	36	39.5 $\pm$ 23.5		36	47.8 $\pm$ 11.9		26	33.6 $\pm$ 11.0	
40-49	Urban	23	40.1 $\pm$ 12.4	ns	23	42.8 $\pm$ 11.9	p<0.05	23	44.9 $\pm$ 18.8	ns
	Grassland	25	37.9 $\pm$ 20.6		25	34.6 $\pm$ 14.9		25	36.8 $\pm$ 12.4	
50-59	Urban	15	35.3 $\pm$ 8.5	ns	15	45.1 $\pm$ 13.3	p<0.001	13	31.1 $\pm$ 11.8	ns
	Grassland	20	36.2 $\pm$ 29.0		20	25.9 $\pm$ 10.0		20	36.0 $\pm$ 11.4	

p, t-test. ns, no significant difference.

Table 6. Bone mineral density in Inner Mongolian women.

Age (years)	Area	BMD (g/cm ²)		
		n	AM $\pm$ SD	
9-14	Urban	21	0.286 $\pm$ 0.045	ns
	Grassland	39	0.309 $\pm$ 0.050	
30-39	Urban	16	0.494 $\pm$ 0.050	ns
	Grassland	36	0.517 $\pm$ 0.068	
40-49	Urban	23	0.499 $\pm$ 0.071	ns
	Grassland	25	0.503 $\pm$ 0.087	
50-59	Urban	17	0.459 $\pm$ 0.083	ns
	Grassland	21	0.441 $\pm$ 0.092	

ns, no significant difference.

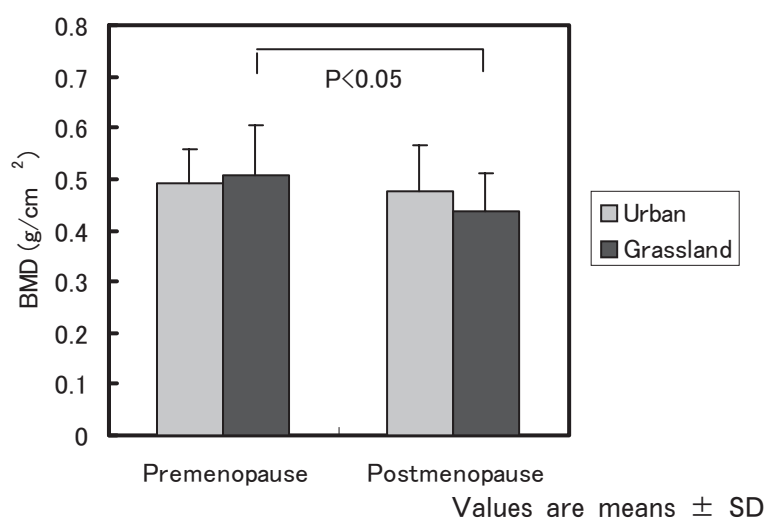


Fig. 1 BMD of Pre- and Post-menopausal women aged 40-59 years in Inner Mongolia.

(汚染) 地域が低値を示した。副甲状腺ホルモン (i-PTH) は30歳代で草原 (汚染) 地域が高値を示したが、40歳代以上では変わらなかった。

二重 X 線装置 (DXA) による前腕の骨密度 (BMD) の測定結果を Table 6 に示した。草原 (汚染) 地域と都市 (対照) 地域について閉経前と閉経後に分けて検討した図が Fig. 1 である。成長期および30歳代では、草原 (汚染) 地域が対照地域に比べて差はみられなかった。草原 (汚染) 地域の閉経後女性のみが低値を示した。図表には示していないが、超音波測定装置による踵骨の骨量指標は、二重 X 線装置 (DXA) による骨密度 (BMD) とよい相関を示し、同様の結果を示した。成長期は、骨形成とともに骨吸収が活発であり、尿中骨吸収マーカーと血清骨形成マーカーは他の年齢層に比べて高値を、BMD は低値を示した。草原 (汚染) 地域の成長期女性の尿中フッ素濃度は都市 (対照) 地域に比べ高値を示したが、骨吸収マーカー、骨形成マーカー、BMD に差はみられず、成長期におけるフッ素曝露の影響は明らかでなかった。

考 察

今回の調査により、飲料水のフッ素汚染地域における成長期の骨代謝への影響について明らかにすることはできなかったが、これまで報告してきたように、フッ素汚染地域では30歳代以降に複数の骨吸収マーカーの増加がみられ、骨吸収の亢進が確認された。40歳代以降は骨形成マーカーも増加しており、骨代謝が高回転となっている可能性が示唆された。

前報において [6]、フッ素汚染地域の20歳代の女性について調査を行い、骨量指標が低いことを報告したが、今回の成長期および30歳代の BMD の調査では対照地域と有意な差はみられず、汚染地域における骨量指標への影響について一致した結果は得られなかった。今回の成長期およびその母親の、飲料水およびタン茶浸出液のフッ素濃度は、前回の対象者 [6] や閉経期の対象者に比べ低かった (飲料水の平均フッ素濃度は 1.6 mg/L、タン茶は 3.1 mg/L、前回は、飲料水 2.4 mg/L、タン茶 4.9 mg/L)。草原地域のフッ素汚染地域ではフッ素濃度の高いタン茶浸出液を飲まないように衛生機関から保健指導がされるようになり、他方、対照 (都市) 地域では、濃度は低いが、タン茶浸出液を飲用するものがかなりの割合でみられ、このことが前回の結果と異なる要因かもしれない。

フッ素汚染地域における閉経後女性の BMD は低値を示した。日本の健康な女性においても閉経後に骨量指標が低下することが報告されており [7, 8]、閉経

後にみられた骨量指標の低下にフッ素曝露が関連するのか、さらに詳細な検討が必要と思われる。

草原地域のフッ素汚染地域にみられた骨代謝亢進の検討のため、活性型ビタミン D₃ および i-PTH を測定した。先に草原 (汚染) 地域の閉経前の女性で血清の 1,25-Vitamin D₃ の高値がみられたことを報告したが [1]、今回は差がみられなかった。前回は、25-Vitamin D₃ については、対照地域と変わらなかったが [1]、今回は低い値をとっており、そのため、1,25-Vitamin D₃ が変わらなかったのかもしれない。先に草原 (汚染) 地域の20歳代で i-PTH が高いことを報告したが [6]、30歳代でも高かった。40歳代以上では対照地域と変わらないことから、年代でフッ素曝露の影響が異なるのかもしれない。さらに検討を要する。今後、飲料水、タン茶浸出液だけでなく食事および生活習慣などの個人データを解析し、フッ素曝露の骨代謝への影響について、また、今回検討できなかったフッ素曝露と斑状歯の症状との関係について、さらに検討する予定である。

謝辞 本研究は、文部科学省科学研究費 (基盤研究 B、海外学術) によった。本研究の遂行にあたってご協力いただいた中国内蒙古医学院の院長欧陽曉暉教授はじめ大学関係者、ならびに調査にご協力いただいた中国内モンゴル自治区地方衛生機関の皆様に深謝いたします。

文 献

1. 西野治身, 梶田悦子, 伊木雅之, 畢力夫, 劉仲玉, 鏡森定信 (1999). 富山衛研年報, 22, 152-157.
2. 劉仲玉, 畢力夫, 梶田悦子, 西野治身, 伊木雅之, 新村哲夫, 関根道和, 笠島茂, 張森, 桑森豊美, 原田澄子, 鏡森定信 (2000). 民族衛生, 66, 14-27.
3. 新村哲夫, 西野治身, 田中朋子, 中崎美峰子, 伊木雅之, 梶田悦子, 劉仲玉, 鏡森定信, 畢力夫 (1999). Biomed Res Trace Elements, 10, 185-186.
4. 新村哲夫, 西野治身, 田中朋子, 中崎美峰子, 伊木雅之, 梶田悦子, 劉仲玉, 張森, 鏡森定信, 畢力夫 (2000). 富山衛研年報, 23, 184-186.
5. 新村哲夫, 張森, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 西野治身, 梶田悦子, 江藤真紀, 王紅兵, 鏡森定信, 畢力夫 (2003). 富山衛研年報, 26, 136-139.
6. 新村哲夫, 張森, 西野治身, 中崎美峰子, 堀井裕子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 畢力夫, 梶田悦子, 江

- 藤真紀，賈光，王紅兵，鏡森定信（2004）．富山衛研年報，27，142-148.
- 7．梶田悦子，伊木雅之，西野治身，土肥祥子，森山忠重，飛田芳江，出口洋二，日下幸則，緒方昭（1994）．日衛誌，49，674-683.
- 8．西野治身，伊木雅之，田中朋子，堀井裕子，土肥祥子，梶田悦子，日下幸則，鏡森定信（1995）．北陸公衛誌，22，78-85.
- 9．新村哲夫，田中朋子，西野治身，桑守豊美，劉仲玉，鏡森定信，畢力夫（1999）．富山衛研年報，22，158-162.

3. 資 料

富山県における平成20年度のウイルスおよびリケッチア検出状況

岩井 雅恵 堀元 栄詞 小原 真弓 中村 一哉
長谷川澄代 倉田 毅 滝澤 剛則

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2008

Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Kazuya NAKAMURA,
Sumiyo HASEGAWA, Takeshi KURATA, Takenori TAKIZAWA

富山県衛生研究所ウイルス部では、感染症発生動向調査や行政依頼検査、一般依頼検査など、種々の目的によって検査を行っている。ここでは、平成20年度に検出されたウイルスおよびリケッチアの検査の概要を報告する。検査は、検体の種類や状態に応じて、常法に従い実施した。

平成20年4月から平成21年3月までに受け付けた被検者は延べ929例、検体別では便371、咽頭拭い液70、鼻腔拭い液509、髄液12、水疱内容物8、痂皮3、尿7、血液17、吐物3の計1000件であった。また、食中毒事例に関連した食材7件についても検査を行った。被検者929例中638例からウイルスあるいはリケッチアが検出された。

以上の成績を疾患別、患者別に表1に示し、若干の解説を加えた。

インフルエンザおよび上気道疾患：県内の定点医療機関を受診した患者528症例（咽頭拭い液19、鼻腔拭い液509）について検査を行った。

昨シーズン（平成19/20）終期の4～5月には、6症例からAH3型インフルエンザウイルスが、14症例からB型インフルエンザウイルスが、7月には1症例からパラインフルエンザウイルス3型が検出された。

今シーズン（平成20/21）は、11月から3月にかけて、203症例からAH1型インフルエンザウイルスが、114症例からAH3型インフルエンザウイルスが、117症例からB型インフルエンザウイルスが検出された。

気管支炎：12月に1症例（咽頭拭い液1）の検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

脳炎・脳症：8、10、11、1、3月に計6症例（便1、咽頭拭い液2、髄液6、血液2、尿2）の検査を行ったところ、8月および10月の突発性発疹を併発した2症例の髄液からヒトヘルペスウイルス6型が検出された。

無菌性髄膜炎：7、8、9、11月に計7症例（髄液6、

便1、咽頭拭い液3）の検査を行ったところ、7月の1症例からエコーウイルス4型が検出された。

感染性胃腸炎：集団発生事例では、食中毒および有症苦情事例を含む31事例（延べ250症例、糞便247、吐物3）について検査を行ったところ、5事例の23症例からノロウイルス Genogroup I (GI) が、13事例の92症例からノロウイルス GII が、1事例の2症例からアデノウイルス41型が検出された。また、ノロウイルス GI が原因と推定された4月の事例では、ノロウイルス GI と GII の重感染者が1名確認された。さらに4事例においては、無症状者からもノロウイルス GI または GII が検出された。月別では、平成20年4月に4事例、5月に4事例、6月に1事例、7月に3事例、8月に1事例、9月に3事例、10月に2事例、11月に4事例、12月に6事例、平成21年1月に2事例、3月に1事例それぞれ発生した。

小児科定点医療機関からは、平成20年4、5月、平成21年1、2、3月に計21症例（糞便21）の散发例の検査依頼があった。これらのうち、10例と最も多く検出されたのが、A群ロタウイルスであった。1月および2月の計3症例からノロウイルス GII が検出された。また、サポウイルスが1月と3月の2症例から、アストロウイルスが4月と1月の2症例からそれぞれ検出された。

麻疹疑い：6、1、2、3月に、計6症例（咽頭拭い液6、血液6、尿3）の検査を行ったが、いずれも麻疹ウイルスは検出されなかった。このうち、6月の2症例からエコーウイルス18型が、1月の1症例からコクサッキーウイルス A9型 (CA9) が検出された。

手足口病：5、6、7、11月に、計38症例（便34、咽頭拭い液38、水疱内容物8）の検査を行った。これらのうち、34症例からコクサッキーウイルス A16型 (CA16) が検出された。6月の1症例では、便からCA16とともにポリオウイルス3型が検出されたが、型内型鑑別試験としてポリオウイルスのVP1領域の塩基

表1. 平成20年度 疾患別、月別ウイルスおよびリケッチア検出状況

検出病原体		平成20年（2008年）										平成21年（2009年）				合計
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月			
インフルエンザ 及び上気道疾患	（被検者数）	33	7		1				8	99	131	150	99	528		
	AH1型インフルエンザ									53	77	49	24	203		
	AH3型インフルエンザ	5	1						3	34	38	35	4	120		
	B型インフルエンザ	12	2						1	2	7	50	57	131		
	パラインフルエンザ3型				1									1		
気管支炎	（被検者数）									1				1		
脳炎・脳症	（被検者数）					1		2	1		1		1	6		
	ヒトヘルペス6型					1		1						2		
無菌性髄膜炎	（被検者数）				3	1	1		2					7		
	エコー4型				1									1		
感染性胃腸炎 (集団発生事例)	（延べ被検者数）	32	37	15	27	4	16	3	19	60	16		21	250		
	ノロGI*	14	2						7					23		
	ノロGII	1	23						5	38	13		12	92		
	ノロGI+ノロGII	1												1		
	アデノ41型					2								2		
感染性胃腸炎 (散発例)	（被検者数）	4	2								4	2	9	21		
	ノロGII										2	1		3		
	サボ										1		1	2		
	A群ロタ	2	1									1	6	10		
	A群ロタ+アデノ												1	1		
	アストロウイルス	1									1			2		
麻疹疑い	（被検者数）			2							1	1	2	6		
	エコー18型			2										2		
	CA9**										1			1		
手足口病	（被検者数）		6	18	11				3					38		
	CA16**		6	16	11				1					34		
	CA16+CB5			1										1		
	CA16+ポリオ3型***			1										1		
デング熱	（被検者数）										1			1		
	デング1型										1			1		
川崎病	（被検者数）							1						1		
つつが虫病	（被検者数）								2	1		1		4		
	つつが虫病リケッチア								2					2		
無症状	（被検者数）						9				57			66		
	アデノ5型										1			1		
	パレコ1型						1							1		
症例合計	（被検者数）	69	50	35	42	6	26	6	36	161	211	154	133	929		
	病原体検出者数	36	35	20	13	3	1	1	19	127	142	136	104	637		
食材	（検体数）									2			5	7		
	ノロGII									1						

■：集団発生事例を含む。

*, ノロGI: ノロウイルス Genogroup I. **, CA9: コクサッキーウイルス A9型。

***, ポリオウイルス3型は、型内型鑑別試験の結果、ワクチン由来株であった。

配列を解析したところ、ワクチン由来株であると判定された。5月のポリオワクチン接種に関連して検出されたものと考えられた。

デング熱：1月に、東南アジアから帰国した1症例（血液1，尿1）の検査を行ったところ、デングウイルス1型が検出された。

川崎病：10月に発疹を伴う1症例（便1，咽頭拭い液1，血液1，尿1）の検査依頼を受けたが、ウイルスは検出されなかった。

つつが虫病：11，2月に3症例（血液2，痂皮3）の検査を行ったところ、11月の2症例からつつが虫病リケッチア（Kawasaki 型）が検出された。

無症状：ポリオ流行予測調査事業により、0～6歳ま

での健康な乳幼児の糞便を対象にウイルス検査を行った。9月および1月に計66名の検査を行ったが、ポリオウイルスは検出されなかった。パレコウイルス1型とアデノウイルス5型がそれぞれ1名から検出された。

食材：12月および3月の食中毒事例に関連して、計7検体の食材についてウイルス検査を行ったところ、1検体からノロウイルス GII が検出された。

ウイルス分離検査は結果が判明するまでに時間がかかりますが、今後の感染症の発生動向を知るうえで貴重な資料となります。ご多忙の中でご理解、ご協力をいただいた多くの医療機関および防疫機関の関係各位に深く御礼申し上げます。

富山県における下水流入水中の腸管系ウイルス検出状況（平成20年度）

岩井 雅恵 中村 一哉 小原 真弓 長谷川澄代
堀元 栄詞 倉田 毅 滝澤剛則

Enteric viruses in raw sewage in Toyama Prefecture in the fiscal year 2008

Masae IWAI, Kazuya NAKAMURA, Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA,
Eiji HORIMOTO, Takeshi KURATA, Takenori TAKIZAWA

エンテロウイルスなどの腸管系ウイルスは、主に経口感染によってヒトの間を伝播し、上気道炎や、無菌性髄膜炎、脳炎、感染性胃腸炎等、種々の疾患の原因となる [1-4]。これらの流行状況は年ごとに様々であり、ウイルスの種類によって病原性が異なることも報告されているため、流行しているウイルスを把握することは、公衆衛生上重要であると考えられる。一方で、腸管系ウイルスには不顕性感染例も多い。これらのウイルスは、ヒトの小腸などで増殖した後に便中に排泄されるため、下水流入水中には様々な種類の腸管系ウイルスが存在する。これまでの調査で、下水流入水中には、地域で流行しているウイルスや、それ以外にも多種類のウイルスが存在することなどが明らかになった [5]。平成20年度は、県西部と県東部の2箇所の下水処理場に定点を設置し、地区別の腸管系ウイルス感染状況を比較したので、報告する。

材料と方法

1) 下水流入水の採取と濃縮

2008年4月～2009年3月の間に、県東部と西部に位置する下水処理場において、月1回、下水流入水を2リットル採取した。採取した下水流入水は、3000rpm、30分間遠心し上清を回収後、既報 [5] と同様に濃縮した。

2) ウイルス分離・同定

ウイルス濃縮液を、24ウェルプレートの培養細胞（Vero, MA104, RD-18S, HEp-2）に接種し、細胞変性効果やヒトO型血球との凝集性を指標としてウイルス分離を行った。分離ウイルスの同定は、抗エンテロウイルス血清（国立感染症研究所分与、デンカ生研）、抗アデノウイルス血清（デンカ生研）、抗レオウイルス血清（自家製）を用いた中和試験あるいは赤血球凝集抑制試験によって行った。

RT-PCR は、分離ウイルス、または、濃縮処理後の下水流入水からRNAを抽出し、既報と同様に実施した [5]。また、ウイルスの塩基配列はダイレクトシーケンス法で決定した。

3) 大腸菌群数の測定

滅菌水で10倍希釈した下水流入水を1ml ずつ直径90mmのディッシュに入れ、20mlのデソキシコレート培地を加えて混合した。次いで、7mlのデソキシコレート培地を重層した後、35℃で一晩培養した。培養後、出現した赤色のコロニー数を計測して、大腸菌群数（CFU/ml）とし、2枚のディッシュのコロニー数を平均した。

結果および考察

表1に、下水流入水から検出されたウイルスの種類を月別に示した。東部地区と西部地区の下水道処理施設におけるウイルス検出状況を比較すると、ウイルスの種類は類似していたが、西部地区の方が、特にエンテロウイルス {ポリオ、ヒトエンテロウイルスB群 (HEV-B)} で、ウイルスの種類と検出数が多かった。下水流入水中の大腸菌群数は、採水時に雨天であった7月と11月では西部地区の方が東部地区よりも約10倍多かったが、その他の調査月では東部と西部で値が類似していた（図1）。一方、基幹定点医療機関における無菌性髄膜炎の患者数は、東部地区が3人、西部地区が5人であり、両地区ともに少なかった（図2）。また、小児科定点医療機関における感染性胃腸炎の患者数は、両地区で大きな差は見られなかった（図2）。さらに、流域管内に住む0歳から6歳までの乳幼児の人数は、東部地区が13,971人、西部地区が約10,200人であり、東部地区の方が若干多かった。これらのことから、東部の下水処理場が一部合流式、西部が分流式であることで、雨水等による下水流入水の希釈の程度が異なるこ

表 1. 下水流入水からのウイルス検出状況（平成20年度）

東部地区																西部地区															
ウイルス		2008年												計	ウイルス		2008年												計		
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月				4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月			
ポリオ	1型								1					1	ポリオ	1型		3					3	2	1				9		
	2型			2						1				3		2型		1					2	1					2		
HEV-B	CoxB2						3	2		3	3	1	1	1	HEV-B	CoxB2						1	8	3	6	4	6	2	1		
	CoxB3															CoxB3													29		
																CoxB4													8		
																CoxB5			1				2			1			2		
																Echo3						1							1		
																Echo5							1						1		
																Echo9				1									1		
	Echo11								1							Echo11					10						1		11		
	Echo18			2	1	3										Echo18												1	1		
	Echo25					1										Echo25								4		1			5		
	Echo30							1	1							Echo30		3	5				1	8	1	1			19		
レオ	1型					1						1	15	13	2	レオ	1型										3		4		
	2型	7				3	2	2	1	9					55		2型	1			1		5		1	4		11	23		
アデノ	1型	2						1		1	3			2	9	アデノ	1型		3	1		1				1	2	2	10		
	2型		1							1				3	3		2型	2	1		5		1	1	2		1	3	16		
ノロ	5型		1												1	ノロ	5型	2											2		
	GI/3														1		GI/4													8	
	GI/4														9		GI/8													1	
	GI/5														1		GI/11													1	
																	GII/2													2	
	GI/14														1		GII/4													5	
	GII/3														1		GII/15													1	
	GII/4														8		サポ	GI/1													5
	GII/13														1																

表中の数値は、ウイルスの分離株数。灰色の四角はノロウイルスまたはサポウイルスが検出された調査月。HEV-B, ヒトエンテロウイルスB群；CoxB, コクサッキーウイルスB群；Echo, エコーウイルス；G, 遺伝子型。

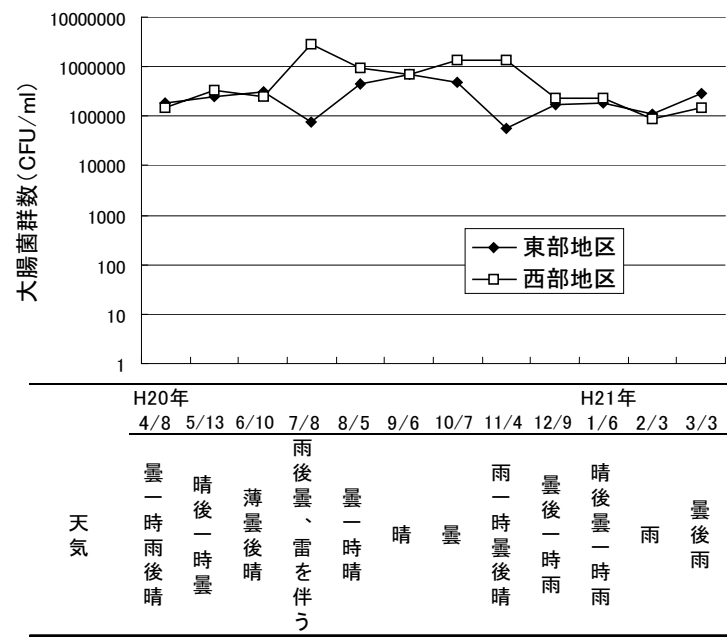


図 1. 下水流入水中の大腸菌群数と調査日の天気

とが、エンテロウイルスの検出率に差が生じた一因として推測された。

ノロウイルスは、東部西部ともに Genogroup(G) I /4が最も検出頻度が高く、次いで GII/4が頻繁に検

出された。これらのウイルスは、今年度の食中毒や感染性胃腸炎の患者、健康な乳幼児からも検出されており、平成18, 19年度から引き続き富山県内で流行していたことが推測された（図3） [5]。その他、東部地区

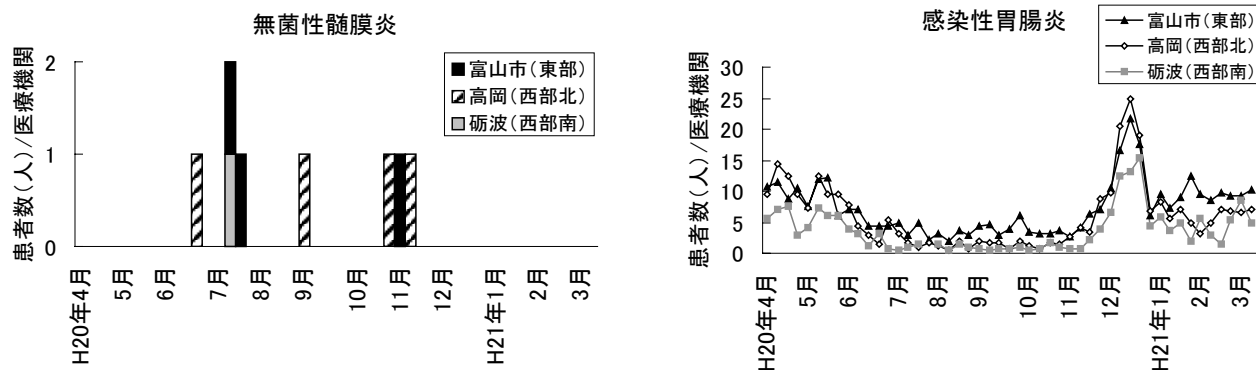


図2. 富山県内の定点医療機関における患者発生状況(平成20年度)

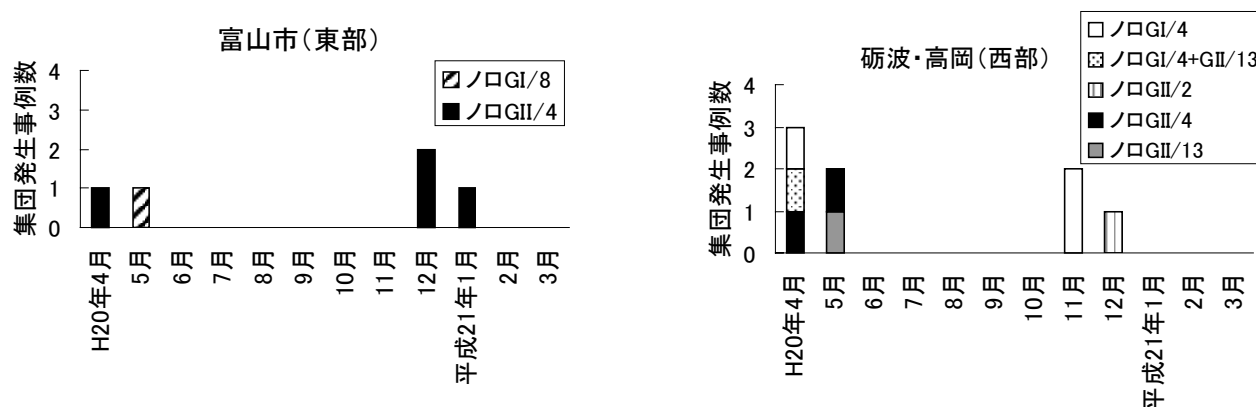


図3. 感染性胃腸炎集団発生事例(ヒト-ヒト感染および食中毒事例)発生状況

ではGI/3, GI/5, GI/14, GII/3, GII/13が, 西部地区ではGI/8, GI/11, GII/2, GII/15が散発的に検出され, 流域の住民の一部はこれらのウイルスに感染していたものと考えられる. ノロウイルス GII/4は, 平成18~19年の冬季に全国的に感染性胃腸炎の大流行を起こし, 平成20年度においてもヒトおよび下水から検出が続いている. 今後の動向にも注意が必要と考えられる.

ポリオウイルスは, 乳幼児へのワクチン接種時期(春期:4月21日~5月30日, 秋期:9月16日~10月31日)から約2ヶ月の間に, 計26株検出された. これらのウイルスのVP1領域塩基配列(1型906塩基, 2型903塩基, 3型900塩基)は, ワクチン株と1%未満の差であったため, WHOの基準によるOPV-like poliovirusであった. このことから, 富山県においては, ポリオ流行国からの強毒型の野生株の輸入・伝播の可能性は低いと考えられた. ポリオウイルスは, 感染時の麻痺発症率が0.1%と低く, 不顕性感染性が多い[1, 2]. 下水流入水中のウイルスを調べることで, 不顕性感染例も含めた地域住民のポリオウイルス感染状況の把握に役立てることができるものと考えられる.

謝 辞

本調査を実施するにあたり, 検体採取等にご協力いただいた下水道処理施設, 医療機関, 厚生センター, 保健所, 保育所, その他関係各位に深謝いたします.

文 献

- White, D.O. and Fenner, F.J. (1996). 医学ウイルス学<第4版>(北村敬訳), p349-352 近代出版.
- Hedberg, C.W. and Osterholm, M.T. (1993). Clin. Microbiol. Rev., 6, 199-210
- 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課(2000). 病原微生物検出情報月報, 21, 211-213
- Chiba, S., Nakata, S., Numata-Kinoshita, K., Honma, S. (2000). J. Infect. Dis., 181, S303-308
- 岩井雅恵, 中村一哉, 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 倉田毅, 滝澤剛則. (2009). 富山県衛生研究所年報, 31, 96-103

富山県内での腸管出血性大腸菌感染症発生状況（2008）

木全 恵子 嶋 智子 清水 美和子 金谷 潤一
磯部 順子 倉田 毅 綿引 正則

The Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected
in Toyama Prefecture, 2008

Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Miwako SHIMIZU, Junichi KANATANI,
Junko ISOBE, Takeshi KURATA, and Masanori WATAHIKI

2008年1月から12月までに富山県において発生した腸管出血性大腸菌（EHEC）感染事例は32件であり、感染者は77名であった。その内訳は O157感染症が25件（感染者37名）、O26感染症が4件（感染者37名）、O111感染症が1件（感染者1名）、O103、O91感染症が各1件（それぞれ感染者1名）であった（表1）。以下にこれらの感染事例についてその概要、疫学的解析結果を報告する。

2008年における EHEC 感染症発生状況：2008年の富山県における EHEC 感染事例は前年（38件，81名）に比べ，事例件数，感染者数はそれぞれ前年比84%，95.1%とやや減少した。感染症の発生形態は集団感染が2件，家族内感染が7件であった（表1）。各感染事例数及び感染者数の月別動向を図1に示した。年間事例数の21.9%（7事例）が3月～5月に発生しており，前年の2.6%（1件）に比べて多かった（図1）。また，6月～8月の事例数及び感染者数はそれぞれ17件，59名と年間事例数・感染者数の53.1%，76.6%であった。6月には散発3件，7月には散発4件，家族内感染1件，

集団感染1件（感染者6名）発生した。8月には散発4件，家族内感染3件と年間を通じて最も多かった（年間事例数の21.9%）。また，6月～8月にかけて保育所における O26集団感染事例1件（感染者34名）が発生した。詳細は後に述べる。

感染者の年齢層は10歳未満が53.0%（前年9.9%），30歳代が全体の13.0%（前年12.3%），次いで20歳代が9.1%（23.5%）と，保育所における O26集団感染事例の発生により全感染者に占める10歳未満感染者の割合が高かった。性別では感染者全体における男女比は男性57.1%，女性42.9%であったが，20歳未満では男性の割合が64.4%とやや高かった。

感染者全体における有症者の割合は50.6%（有症者39名，うち HUS 1名を含む）であった。0歳～10歳代における有症者の割合は39.0%であり，前年の80.7%より低下していた。これは，保育所における O26集団感染事例の発生によると考えられる（O26感染事例では感染者症状は O157に比べて比較的軽症，若しくは無症状保菌者である場合が多い）。20歳代では有症者の割合は，42.9%（前年78.9%）であったが，30

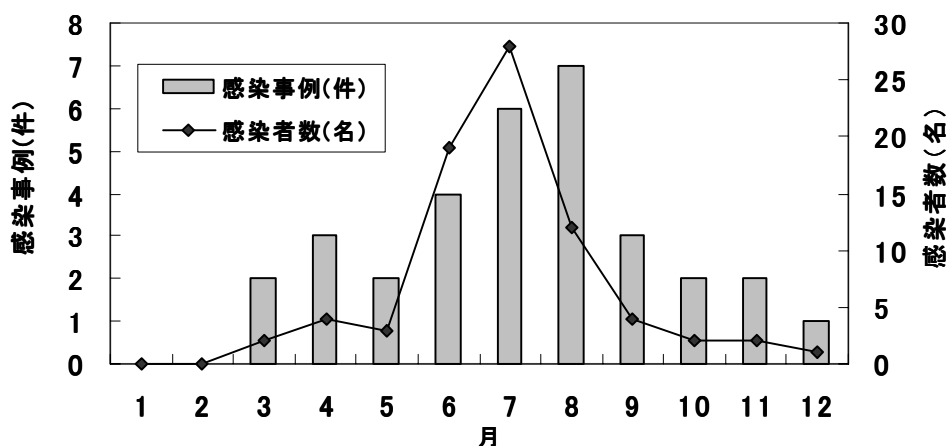


図1 腸管出血性大腸菌感染症月別発生動向

表 1 2008年における腸管出血性大腸菌感染症発生状況

事例No.	発生時期	感染者数 (名)	発生態様	血清型	ベロ毒素遺伝子	
					stx1	stx2
1	2008.3	1	散発	O157:H7	+	+
2	2008.3	1	散発	O26:H11	+	—
3	2008.4	2	家族内感染	O157:H7	+	+
4	2008.4	1	散発	O157:H7	+	+
5	2008.4	1	散発	O26:H11	+	—
6	2008.5	1	散発	O157:H7	+	+
7	2008.5	2	家族内感染	O157:H7	+	+
8	2008.6	1	散発	O157:H7	+	+
9	2008.6	1	散発	O103:H2	+	—
10	2008.6	1	散発	O157:H7	+	+
11	2008. 6～8	34	集団感染	O26:H11	+	—
12	2008.7	1	散発	O26:H11	+	—
13	2008.7	6	集団感染	O157:H7	—	+
14	2008.7	1	散発	O157:H7	+	+
15	2008.7	1	散発	O157:H7	—	+
16	2008.7～8	2	家族内感染	O157:H7	+	+
17	2008.7	1	散発	O157:H7	+	+
18	2008.8	2	家族内感染	O157:H7	+	+
19*	2008.8	2	家族内感染	O157:H7	+	+
				O157:H7	—	+
20	2008.8	1	散発	O157:H7	+	+
21	2008.8	2	家族内感染	O157:H7	+	+
22	2008.8	1	散発	O157:H7	—	+
23	2008.8	1	散発	O157:HNM	+	+
24	2008.8	1	散発	O111:HNM	+	+
25	2008.9	1	散発	O157:H7	+	+
26	2008.9	1	散発	O157:H7	+	+
27	2008.9	2	家族内感染	O157:H7	+	+
28	2008.10	1	散発	O157:H7	—	+
29	2008.10	1	散発	O157:H7	+	+
30	2008.11	1	散発	O157:H7	+	+
31	2008.11	1	散発	O91:HUT	+	—
32	2008.12	1	散発	O157:H7	—	+
O157 25件(37名).O26 4件(37名).O111 1件(1名).O103 1件(1名).O91 1件(1名)					計 32件(77名)	

*事例19ではベロ毒素遺伝子保有状況の異なるパターンの2種類の菌株が分離された。

歳代及び50歳代ではそれぞれ70.0%（前年40.0%），100.0%（前年54.5%）であった（図2）。

分離株の薬剤感受性：EHEC 分離株について薬剤感受性試験を行った。今回感受性試験の対象とした12薬剤（NFLX, OFLX, NA, KM, GM, FOM, ABPC, ST, TC, CL, CEZ, CP）について CLSI のプロトコールに準拠し，Kirby- Bauer 法に基づいた

ディスク法（センシ・ディスク，日本ベクトン・ディッキンソン）による薬剤感受性試験を行った [1, 2]。解析の対象は O157感染事例25件（26株），O26感染事例4件（11株），O111, O103, O91感染事例それぞれ1件（1株）である。

解析対象株のうち，上記12薬剤のいずれかに耐性を示した株は4株で全て血清型は O157であった。内訳は TC・CP 耐性1株，ABPC・TC 耐性1株，ST・TC

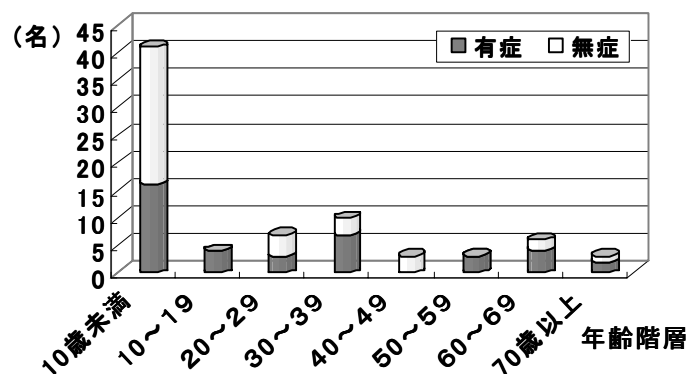
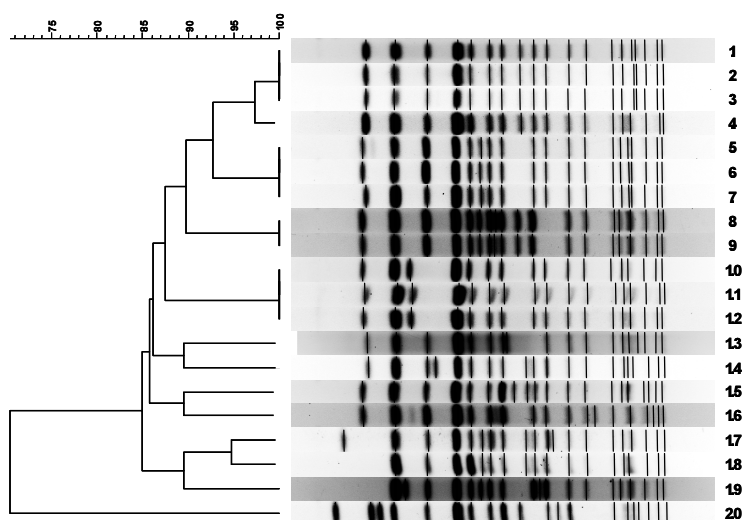
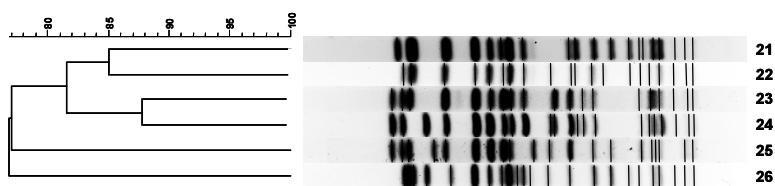


図2 感染者の各年齢階層における有症者・無症者数 (n = 77, P < 0.05)

A. O157 (*stx1+*, *stx2+*)



B. O157 (*stx2+*)



C. O26 (*stx1+*)

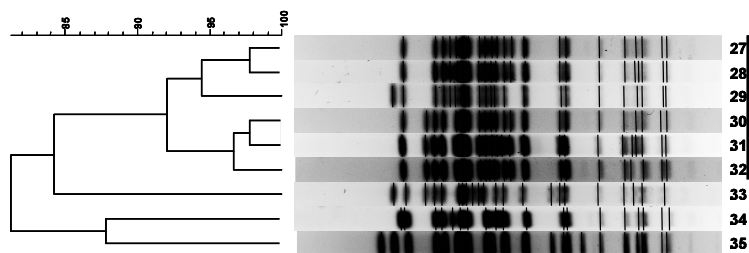


図3 2008年に富山県において発生した感染事例代表分離株における PFGE パターンとデンドログラムのクラスター解析
(下線部レーン27～32は同一集団感染事例由来分離株である.)

耐性2株であり、解析対象とした O157株の15.4%であった。

分離株の病原因子：各事例より分離された代表株について病原因子遺伝子の確認を行った。病原因子遺伝子の確認については既報[3]に従い、CVD432, *eaeA*, *aggR*, ベロ毒素遺伝子 *stx1* (VT1遺伝子), *stx2* (VT2遺伝子), *invE*, *elt* (LT 遺伝子), *esth* (STh 遺伝子), *estp* (STp 遺伝子), *bfp*, EAF, *astA* についてマルチプレックス PCR による検索を行った。

各事例分離株におけるベロ毒素遺伝子の保有状況は表1のとおりであり、*stx1*・*stx2*保有型 EHEC が21件、*stx2*保有型 EHEC が6件、*stx1*保有型 EHEC が6件より分離された（このうち事例 No. 19は同一患者より *stx1*・*stx2*保有型 EHEC と *stx2*保有型 EHEC の2つのベロ毒素遺伝子保有株が単離された）。また、事例 No. 31を除く全ての事例の分離株は接着性病原因子遺伝子 *eaeA* を保有していた。事例 No. 23分離株については *astA* 遺伝子が検出された。*eaeA*, *stx1*, *stx2*及び *astA* 以外の上記病原因子遺伝子は今回の分離株は全て陰性であった。

パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による DNA 解析：分離された EHEC77株について PFGE を行った。PFGE は制限酵素 *Xba*I を用いた標準化プロトコールに基づいて行った [4]。得られた PFGE パターンの解析は解析ソフト FingerPrinting II (Bio-Rad) を用いて行った。FingerPrinting II によるデンドログラム解析には UPGMA 法と Dice 係数を用いて行い、トレランス値は1.2%とした。

分離株の PFGE パターンとデンドログラム解析を図3に示した。2008年に県内で発生した *stx1*・*stx2* 保有型 O157による事例20件では分離株の PFGE パターンは13パターンに分岐した (図3A)。

このうち、各事例間で分離株の PFGE パターンが一致した事例は併せて PFGE4パターン、11件であり、*stx1*・*stx2*保有型 O157感染事例の55%を占めていた。これらの複数の事例で一致した PFGE パターンのうち、3つの PFGE パターンはそれぞれ4月～5月発生の3件、7月発生の2件、8月発生の3件と近接した発生時期の事例に集中していた。しかし、これらの事例における疫学的関連性は不明であった。

また、*stx2* 保有型 O157による事例6件、O26による事例4件では、分離株の PFGE パターンはいずれも一致しなかった (図3B, 図3C)。このうち、2008年6月～8月にかけて発生した O26集団感染においては異なる PFGE パターンを示す株が分離された (図3 レー

ン27～32)。この事例については後に述べる。

発生状態：2008年に富山県で発生した EHEC 感染事例について概要を述べる。

1) 散発及び家族内感染事例

富山県で発生した家族内感染事例は7件、散発は23件であった。PFGE 解析の結果、4月～5月に発生した散発2件、家族内感染事例1件の分離株 PFGE パターンが一致した。また、7月～8月に発生した散発・家族内感染事例11件のうち5件 (散発2件、家族内感染事例3件) の分離株の PFGE パターンが2つのパターンに集積した。また、3月、9月、11月に発生した散発事例株のパターンが一致した。しかし、これらの事例間における患者の喫食等に共通性はなかった。散発、家族内感染事例間における PFGE パターンの一致事例、もしくはパターンの極めて近似している事例は、前年では散発・家族内感染事例の56.3% (18件/32件) であったが、2008年では40.0% (12件/30件) とわずかに減少した。検便等による無症状保菌者の探知は散発3件であった。

また、O157, O26, O111以外の稀な血清型 EHEC による散発事例が2件報告された (表1, 事例9, 事例31)。事例9の分離株は O103:H2 (*stx1*, 以下 O103) であり、患者は有症であった。この O103は溶血性毒素遺伝子 *hlyA* を保有していた。事例31の分離株は O91:HUT (*stx1*, 以下 O91) であり、感染者は無症状保菌者であった。アビ50CH (ビオメリュー) を用いた炭水化物代謝試験では、O103はソルボース代謝陰性、シュクロース、ラフィノース代謝陽性であった。O91はソルボース代謝陰性、シュクロース、ラフィノース、5-ケト-グルコン酸代謝陽性、サリシン、ゲンチオビオース遅発酵性を示した。

2) 集団発生事例

富山県で発生した集団感染は2件でそのうち1件は保育所における O26集団感染事例であった (表1 事例 No. 11)。以下にその概略を述べる。

事例11. 2008年6月から8月にかけて、富山県 Y 市の保育所において腸管出血性大腸菌 O26:H11 (*stx1*, 以下 O26) による集団感染が発生した。感染者総数34名であり、その内訳は園児30名、家族等接触者4名であった。この事例では検便にて感染判明後、治療による菌陰性化が一度確認されにも関わらず再び菌が検出された再陽性者3名が報告され、初発患者の届出から最終陰性確認まで52日間を要した。初発探知以降の経緯は以下のとおりである。

2008年6月24日、県内医療機関より3歳保育園児の O26感染症発生届が提出された。患児の通う A 保育

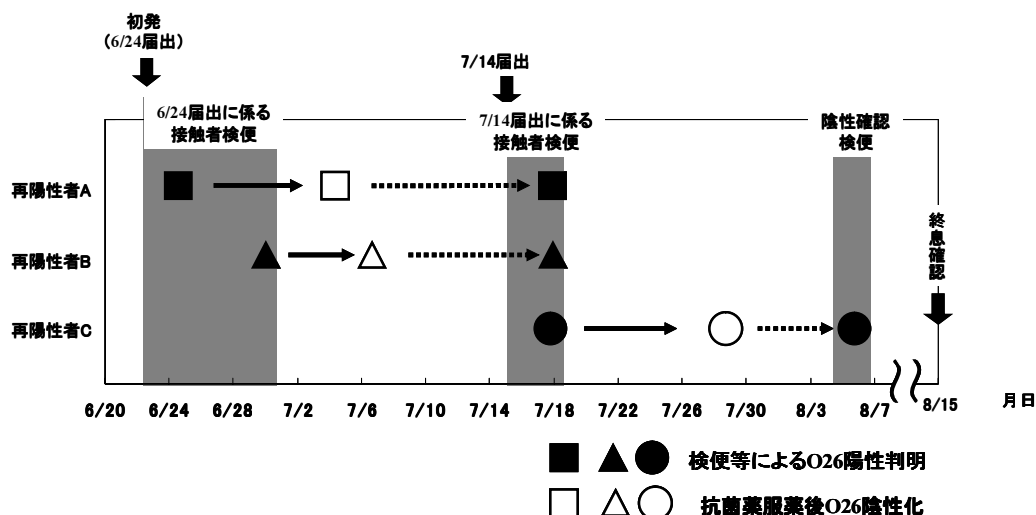


図 4 事例11における O26再陽性者の検出

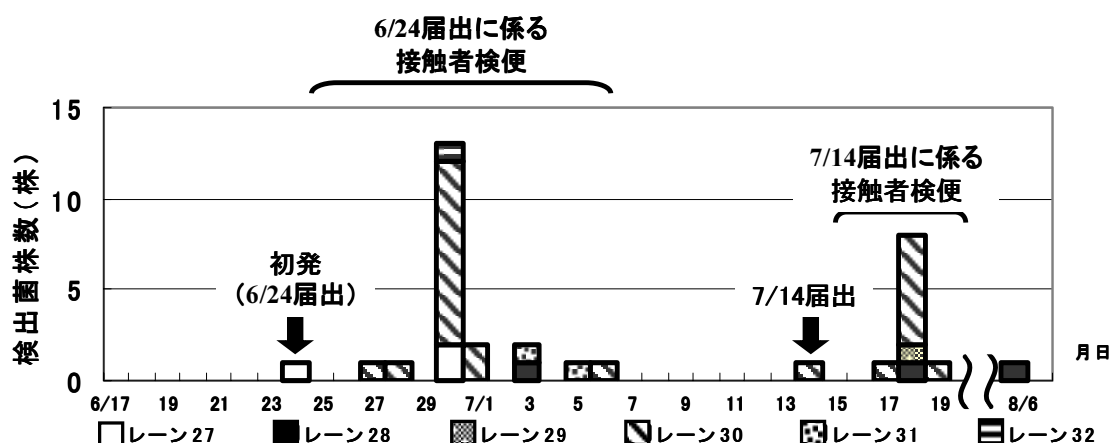


図 5 事例 No.11における O26検出状況

園関係者（園児、職員、家族）について接触者検便を実施し、園児18名、園児家族4名の O26感染が判明した。7月14日、上記医療機関から A 保育園通園の1歳患児について新たに届出が提出された。この患児は6月24日届出に伴う接触者検便では陰性が確認されていた。この7月14日届出に伴う接触者検便により、新たに園児11名から O26が検出された。その後7月29日に感染者全員の菌陰性化が確認された。そして8月4日に再度 A 保育園園児・職員の菌陰性化確認目的の検便が実施された。その結果、2歳園児の O26感染が確認された。この患児は7月14日届出に伴う接触者検便で O26が検出され、29日に菌陰性化が確認されていた。8月15日にこの患児の菌陰性化が確認され、その後新規発症者がみられないことから、A 保育園における O26集団感染の終息を確認した（図4）。

本事例の感染者3名の再陽性化については O26の抗菌薬に対する耐性が疑われた。しかし、先述の薬剤感

受性試験では、これらの株について12薬剤に対する耐性は認められなかった。

感染者34名の分離株の PFGE 解析を行った結果、分離株は図3、レーン27～32に示す6つのパターンに分類され、うち分離株の71.0%はレーン30のパターンであった。これらの6つの PFGE パターンのうち、レーン27、31のパターン株は前半（6月24日届出とその接触者検便）に分離された。一方レーン28とレーン30は全般にわたり検出された（図3、図5）。また、レーン27はレーン29と近似度94.4%であった。

さらに抗菌薬投与による治療・菌陰性化後、再陽性化した3名の感染者分離株について PFGE パターンを比較した。その結果、2名からは治療前と同一 PFGE パターンの株が検出された。しかし、1名からは治療前はレーン27の株が、治療後はレーン29の株が検出された。この理由として、別のパターン株に感染した可能性、あるいは初回感染菌が感染者の腸内から完全に

表2 A 保育園園児感染者の内訳

クラス	園児数 (人)	年齢	6/24 届出に よる接触者 検便	7/14 届出に よる接触者 検便	感染者数合計 (感染率%)
			感染者数 (感染率%)	感染者数 (感染率%)	
A	19	0歳～2歳	0(0)	0(0)	0(0)
B	18	0歳～2歳	2(11)	4(22)	6(33)
C	38	3歳～5歳	6(16)	4(10)	10(26)
D	36	3歳～5歳	10(28)	2(6)	12(33)
E	32	3歳～5歳	0(0)	2(6)	2(6)
F	32	3歳～5歳	0(0)	0(0)	0(0)
合計	175		18(10)	12(7)	30(17)

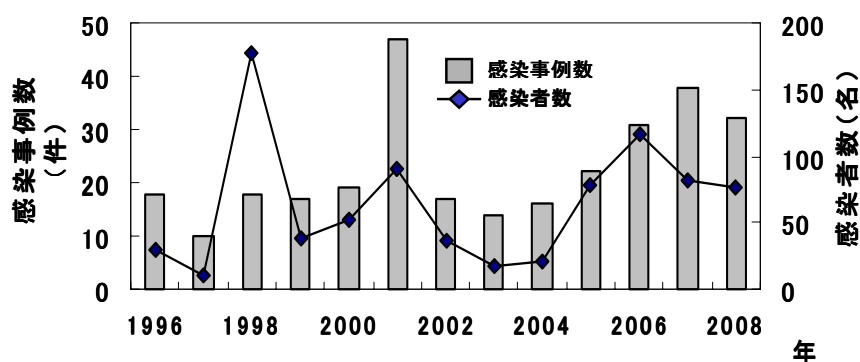


図6 腸管出血性大腸菌感染症発生年次推移

排除されず変異した形で排出された可能性等が考えられた。本事例を含め、O26集団感染事例では感染者の除菌が困難である場合や、初回の検便では陰性であったが、その後新規感染が確認される例が多く報告されている [5, 6]。

本事例の有症者の割合は24% (34名中8名) であり、全て保育園児であった。無症状病原体保有者 (76%) は届出に伴う接触者検便によって感染が判明した。従って、初発探知時には既に感染が拡大していたと考えられる。保育園の給食や環境調査の結果、O26は検出されず、感染源・感染経路を特定することはできなかった。しかし、6月24日届出に伴う接触者調査の結果、互いにトイレを共用した2クラスの園児に感染者が集中していたことが判明した (表2, クラスC及びクラスD)。これらのことからトイレを介して保育園内の感染が拡大したと推察された。

管轄厚生センターはA保育園に対して給食調理の自粛、有症者及び感染者の登園自粛、手洗い消毒設備の整備と職員と園児の手洗い消毒の徹底などについて

指導し、感染者宅には個々に訪問指導を行った。また、管轄厚生センターではケーブルテレビなどで地域住民にEHECに対する感染予防策を呼びかけたほか、Y市と連携し、市内全保育所・幼稚園に対する感染予防研修会を行い、衛生管理の徹底を指導した [7]。

考察：2008年の全国におけるEHEC感染症届出数は4,330件であり、1999年に感染症発生動向調査が開始されて以来、過去3番目に多かった [7, 8]。2008年の富山県におけるEHEC感染発生状況は事例数32件、感染者77名であり、1996年以降において事例数は3番目に、感染者数は6番目に多かった (図6)。人口10万対発生数を見ると、富山県は6.99で、全国平均 (3.39) に比べると2倍強と多く、石川県 (8.06)、福井県 (9.49) と、北陸地方は昨年につづき全国的に発生数の多い地域の1つであった [9, 10]。また、0歳から4歳までのEHEC感染者の人口10万対発生数では富山県は2.45と全国平均 (0.76) に比べて多かった。これは保育園におけるO26集団感染事例の発生によるものであ

る。

近年、国立感染症研究所パルスネットによる解析から全国10県以上から同一の PFGE パターンを示す広域流行株が報告されている。前年富山県内では3タイプの広域流行株について、同一もしくはそれらと相同性の高い株が県内の広域・長期にわたり検出されていた。2008年においても、国立感染症研究所パルスネットによる解析から多くの都道府県（11か所以上）から広域流行株が報告されていた。しかし、富山県内での2008年の広域流行株の検出は前年の検出状況と大きく異なり、散発1件のみであった [9, 11]。

本年の感染事例に関して O157, O111, O26以外の血清型 EHEC による感染事例としてそれぞれ O103:H2 (*stx1*, 表1, 事例9), O91:HUT (*stx1*, 表1, 事例31) による散発1件が報告された。IASR に報告されたヒト由来 EHEC の分離株の全国集計では2000年～2008年における O103:H2 (*stx1*), O91:HUT (*stx1*) の臨床分離株数はそれぞれ93株, 13株で、特に O103:H2 (*stx1*) は毎年分離されている [12]。また、国内でのこれらの血清型 EHEC による感染事例について集団感染事例も含めて詳細に報告されている [13, 14, 15]。本県における O157, O111, O26以外の血清型の EHEC による感染事例は8事例であるが、このうち6事例は2002年以降の事例と、やや増加の傾向にある。これらの EHEC の検出に際しては血清型からの推測が困難であり、ベロ毒素産生性もしくはベロ毒素遺伝子の検出が必須である。また同時に、国内における O157, O111, O26以外の血清型 EHEC 感染事例についてその分離状況、株の生化学的性状に関する情報を収集し、これらの EHEC 分離・検出に備えることも重要であると考えられる。

謝辞：本稿を終えるにあたり、菌株収集にご協力頂きました厚生センター、富山市保健所、健康課の関係各位ならびに国立感染症研究所パルスネット寺嶋淳先生に深く感謝致します。

文 献

1. CLSI. (2005) Performance standards for antimicrobial susceptibility test. M100-S15
2. Kim, S.-R., Nonaka, L., Suzuki, S. (2004). FEMS Microbiol. Lett., 237, 147-156.
3. Kimata, K., Shima, T., Shimizu, M., Tanaka, D., Isobe, J., Gyobu, Y., Watahiki, M., and Nagai, Y. (2005) Microbiol. Immunol., 49, 485-492.
4. Watanabe, H., Terajima, J., Izumiya, H., Iyoda, S. and Tamura, K. (2002) J. Jpn. Assoc. Infect. Dis., 76, 842-848.
5. 川内保典, 中島歌与子, 堀部俊一, 仲井宏充, 甘利祐美子, 吉田緑他 (2007) 病原微生物検出情報, 28, 14—15.
6. 河合常明, 廣地敬, 坂本裕美子, 土屋英保, 大川一美, 藤田晃三 (2005) 病原微生物検出情報, 26, 308.
7. 木全恵子, 嶋智子, 清水美和子, 金谷潤一, 磯部順子, 倉田毅, 綿引正則 (2009) 病原微生物検出情報, 30, 126-127.
8. 寺嶋淳, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 三戸部治郎, 石原朋子, 渡辺治雄 (2008) 病原微生物検出情報, 29, 117—120.
9. 木全恵子, 嶋智子, 清水美和子, 金谷潤一, 磯部順子, 倉田毅, 綿引正則 (2008) 富山県衛生研究所年報, 31, 178-181.
10. 厚生労働省, 国立感染症研究所 (2008) 感染症週報, 10 (52), 26.
11. 厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」平成20年度総括・分担研究報告書及び平成18年度～20年度総合研究報告書 (2009)
12. 病原微生物検出情報ホームページ <http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html>
13. 八柳潤, 齊藤志保子, 佐藤晴美 (2002) 病原微生物検出情報, 23, 323-324.
14. 横山栄二, 内村眞佐子, 土屋純子, 鷹野サナエ, 林真砂子, 村山美枝子他 (2004) 病原微生物検出情報, 25, 150-151.
15. Muraoka, R., Okazaki, M., Fujimoto, Y., Jo, N., Yoshida, R., Kiyoyama, T. et al. (2007) Jpn. J. Infect. Dis., 60, 410-411.

平成20年度富山県食品衛生検査の精度管理調査

－微生物学的検査－

磯部 順子 清水 美和子 金谷 潤一 嶋 智子
木全 恵子 綿引 正則 前多 隆志Quality Control of the Bacterial Testing of Food for Good Laboratory Practice
in Toyama Prefecture (2008)Junko ISOBE, Miwako SHIMIZU, Junichi KANATANI, Tomoko SHIMA,
Keiko KIMATA, Masanori WATAHIKI and Takashi MAEDA

富山県食品衛生検査業務管理要綱[1]に基づき、平成11年から県内の食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的として微生物学的精度管理調査を実施している。平成20年度の微生物学的検査の精度管理調査項目は、牛乳中に添加した細菌数の測定及び食品の黄色ブドウ球菌検査とした。検査用試料は、当研究所で調製、各検査機関に配布し、各々の検査結果の報告を受けて集計と評価を行ったので報告する。

材料及び方法

(1) 参加機関

新川厚生センター、中部厚生センター、高岡厚生センター、砺波厚生センター、食肉検査所、富山市保健所および衛生研究所

(2) 調査日程

平成20年1月26日～平成20年2月6日

(3) 配布試料

①枯草菌を加えた牛乳 10 ml [菌数測定]：菌数が100～1,000cfu/mlとなるよう市販品「枯草菌6633『栄研』」を調製し、牛乳(常温保存可)に添加した。なお、牛乳原液の生菌数は0 cfu/mlであった。
②模擬食品 A～C 各50 g [黄色ブドウ球菌検出]：黄色ブドウ球菌培養液を希釈し、市販カステラに添加した。カステラは予備検査において該菌が検出されないことを確認した。また、対照として、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌を用い、同様の手順で検体を作製した。

添加した菌株は次のとおりである。	
試料名	添加細菌
模擬食品 A	コアグラーゼ陰性 ブドウ球菌
模擬食品 B	未接種
模擬食品 C	コアグラーゼ陽性 ブドウ球菌

(4) 検査方法

- ①菌数測定：各機関の検査実施標準作業書（SOP）に準拠して行うこととする。
②各機関の検査実施標準作業書（SOP）に準拠して行うこととする。（昭和54年6月29日環食第161号参照）

(5) 解析方法

- ①牛乳中細菌数の測定値の集計
各機関の2回の測定値について、実測値(D)とその平均の測定値(E)の両方で解析した。解析は標準偏差(SD)、変動係数(CV)、Zスコアを活用して行った。
②模擬食品中の黄色ブドウ球菌検出結果
各機関の結果について検体別にまとめた。

集計と評価

(1) 牛乳の細菌数測定

各機関の成績は表1（別紙）に示した。報告された測定値 E（各機関の実測値2回を平均した値）の平均は 9.93×10^3 cfu/ml、最大値 1.24×10^4 cfu/ml、最小値 7.80×10^3 cfu/ml、であった。標準偏差（SD）1,774（log10表記0.081）となり、各機関の結果は平均値 $\pm 2 \times SD$ （3,828～4,152）の範囲内であった。変動係数（CV）は17.865（log表記2.02）と良好であった。一方、データのばらつき度合を評価するため、Zスコアを算出した。Zスコアは別名「標準測定」と呼ばれ、「 $Z = (\text{定値} - \text{測定値平均}) / \text{測定値標準偏差}$ 」の計算式で求められ、その絶対値によって各機関の測定値の評価をおこなうことができる。判断基準は $|Z| \leq 2$ のとき「良好」、 $2 < |Z| < 3$ のとき「改善が必要かどうかの検討必要」、 $3 \leq |Z|$ のとき「改善措置を要する」

表 1. 平成20年度富山県食品衛生精度管理調査結果

機関名	牛乳の生菌数					模擬食品黄色ブドウ球菌検出	
			log	偏差	Z スコア	検体名	結果
A	1.24×104	12400	4.09	0.103	1.272	食品 A	陰性
						食品 B	陰性
						食品 C	陽性
B	1.16×104	11600	4.06	0.074	0.913	食品 A	陰性
						食品 B	陰性
						食品 C	陽性
C	9.85×103	9850	3.99	0.003	0.032	食品 A	陰性
						食品 B	陰性
						食品 C	陽性
D	1.05×104	10500	4.02	0.030	0.376	食品 A	陰性
						食品 B	陰性
						食品 C	陽性
E	9.05×104	9050	3.96	-0.034	-0.424	食品 A	陰性
						食品 B	陰性
						食品 C	陽性
F	7.8×103	7080	3.85	-0.141	-1.746	食品 A	陰性
						食品 B	陰性
						食品 C	陽性
G	9.05×104	9050	3.96	-0.034	-0.424	食品 A	陰性
						食品 B	陰性
						食品 C	陽性
平均値 (X)		9933	3.99				
標準偏差 (S)		1774	0.081				
C.V.(変動係数)		17.865	2.02				

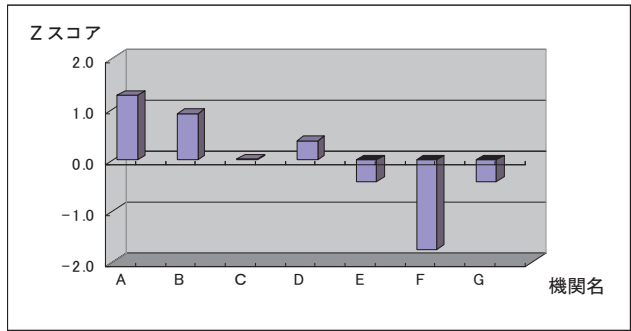


図 1 生菌数測定における機関別 Z スコア

となっている。今回の調査において、機関 F のスコアが1.75とやや低かったが、全機関の Z スコアはいずれも2未満で、測定は「良好」と判断された。

さらに、各機関の実測値 D (2回) で解析すると、平均は 1.00×10^4 cfu/ml、標準偏差 (SD) 1,552となり、各機関の結果は平均値 $\pm 2 \times$ SD の範囲内であった。変動係数 (CV) は0.068 (log 対数計算) ときわめて良好であった。また、Z スコアはいずれも2未満

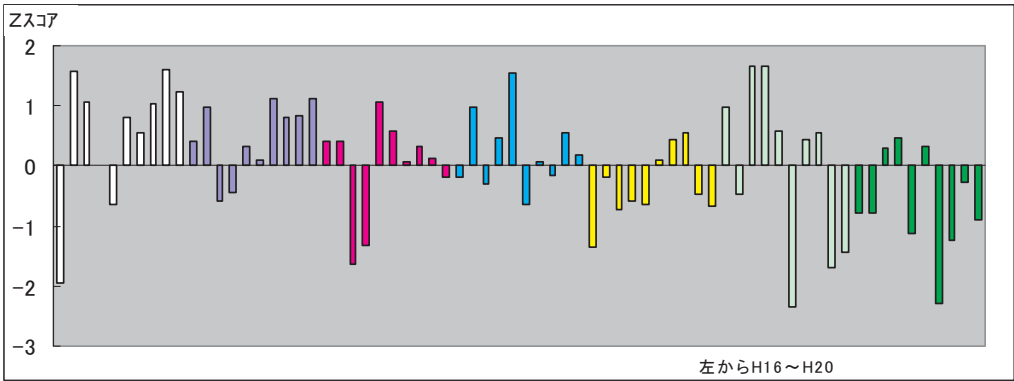


図 2 生菌数 2 回測定値の機関別 Z スコア

で、測定値のばらつき度合いは良好と判断された（図1）。昨年度このZスコアが2を超えた機関が見られたが、今回はその機関のZスコアは0.27, 0.90で、ばらつき度合いに改善がみられた（図2）。

（2）模擬洋生菓子中の黄色ブドウ球菌の検出

各機関の成績は表1に示した。すべての機関が食品Cから黄色ブドウ球菌を分離した。接種されていたのはレシチナーゼ反応・コアグララーゼ反応ともに陽性のブドウ球菌で、これらの試験もすべて正しく検査されていた。食品Aにはレシチナーゼおよびコアグララーゼ反応陰性のブドウ球菌が接種してあったが、すべての機関で選択分離培地上のブドウ球菌がレシチナーゼを産生していないことを根拠に、黄色ブドウ球菌不検出と判断した。食品Bは全ての機関で選択分離培地に菌の発育を認めなかった。

最終的にすべての機関で、食品Cから黄色ブドウ球菌を検出し、食品AとBから黄色ブドウ球菌を検出できなかったと正しく報告した。

次に試料別に成績を示す。

食品A：レシチナーゼ・コアグララーゼ陰性のブドウ球菌が模擬食品に 2.4×10^5 cfu/50g となるよう接種してあった。この菌は選択分離培地に発育するが、レシチナーゼ反応が陰性であることから、この段階で黄色ブドウ球菌陰性を判断できる。すべての機関でコアグララーゼ陰性ブドウ球菌と判断された。

食品B：ブドウ球菌は接種されていなかった。すべての機関で未検出であった。

食品C：レシチナーゼ・コアグララーゼ陽性のブドウ球菌が模擬食品に 1.4×10^5 cfu/50g となるよう接種してあった。すべての機関で菌を分離できた。

（考 察）

平成16年から平成20年までの5年間における、生菌数の変動係数の年次変化（表2）をみると、いずれの年も「良好」とされる範囲内であり、問題はなかった。ただし、機関毎に2回の実測値の年次別Zスコア（図2）をみると、2機関がそれぞれ1度その範囲を超えて

表2 一般生菌数2回測定値による変動係数の経年変化

	H16	H17	H18	H19	H20
C.V.	0.062415	0.072182	0.062842	0.096098	0.154939

いた。これはその年の報告の中で指摘しているところであるが、いずれもこの検査を担当して間もない初心者者が測定していた。そして、いずれも翌年には2回の測定値がすべて範囲内に入る結果に改善されていた。初心者者が担当者となった場合には、実際の検査に携わる前に何回も練習するべきであり、機関としての対応が必要であることが示された。担当者の変更等があり、この経年変化をどのように解釈するかは難しいところであるが、機関として変動係数が範囲をこえないよう、経験者であっても日常の精度管理が必要であると思われる。

黄色ブドウ球菌による食中毒は、日本の衛生管理水準が高くなってから減少しているため、食中毒の検査としてブドウ球菌を検出することはまれになった。しかし、洋生菓子からこの菌を検出してはいけないこととなっているため、この検査の必要性は高く、レシチナーゼおよびコアグララーゼの産生性は必ず判定できなければならない。黄色ブドウ球菌は選択培地での発育が遅い場合もあり、また、市販生培地での発育形態に特徴があることから、使用する培地での陽性コントロールの発育状況を確認すべきである。

最後に、今後の精度管理に関するアンケートの結果については、試料数は現在の3検体が良いという回答がほとんどであったことから、今後の精度管理も3検体を基本に実施する予定である。検査項目についてはウェルシュ、リステリア、冷凍食品中のE. coli に対して要望があった。これらの要望については順次盛り込む形で実施していきたい。

文 献

1. 富山県厚生部長通知，菓食1，229号，平成10年12月16日

漁港における腸炎ビブリオ調査（2008年）

嶋 智子 磯部 順子 木全 恵子 清水 美和子 金谷 潤一
倉田 毅 綿引 正則 堂高 一彦¹

Vibrio parahaemolyticus Surveillance at Fishing Ports in Toyama Prefecture, 2008

Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU,
Junichi KANATANI, Takeshi KURATA, Masanori WATAHIKI
and Kazuhiko DOTAKA¹

富山県厚生部では、夏期に全国的に発生する腸炎ビブリオ食中毒防止のため、飲食店等に対する衛生指導に加え、富山湾における腸炎ビブリオの汚染実態調査を実施している。富山県衛生研究所では、1996年より「Vp（腸炎ビブリオ）マリン実態調査」として、県内漁港の海水、海泥等を検体として腸炎ビブリオの実態調査を行い、県民への食中毒注意報発令や効率的な監視指導のための基礎資料としている。

2008年の全国の食中毒発生状況 [1] によると、腸炎ビブリオによる食中毒は、病因物質別の発生件数では第9位、患者数別では第10位であった。腸炎ビブリオは海水中に生息している細菌であり、環境中の菌数を制御することは困難である。腸炎ビブリオ食中毒は全国的に非常に減少しているが、食中毒を予防するためにはその分布状況を把握しておく必要があると思われる。

現在、県内の市場には紫外線殺菌海水装置が設置され、漁港海水を魚介類の洗浄などにそのまま使用することはなくなっている。そこで、実際に魚介類販売業

で市販されている魚介類の腸炎ビブリオ汚染状態がどれくらい改善されているかを把握するため、本年は漁港海水に加え市販魚介類について1979～1995年実施時と同条件で調査を実施した。

材料と方法

1. 調査定点

(1) 漁港海水

富山県内の主要5漁港（生地、魚津、四方、新湊および氷見）の海水について調査した（Fig. 1）。各漁港では併設市場前を検体採取場所とした。

(2) 市販魚介類

富山県内の魚介類販売業2施設（県東部 A 施設および県西部 B 施設を選定）から魚介類を購入し、検体とした。

2. 調査期間

6～10月に実施した。6月および10月は月1回、7～9月は隔週で月2回、計8回実施した。

3. 検体採取

(1) 漁港海水

各漁港の表層海水を柄杓で採取し、4時間以内に検査した。

(2) 市販魚介類

調査1回につき、2施設から3魚種ずつ6検体、合計48検体を購入し、冷蔵下で搬入した。

4. 腸炎ビブリオ数の測定

(1) 漁港海水

食塩ポリミキシンプイヨン（日水製薬）を用いたMPN法（3本×5段階）で測定した [2] 。

(2) 市販魚介類

エラ、ヒレおよびウロコなどの魚体表面を10g 秤取

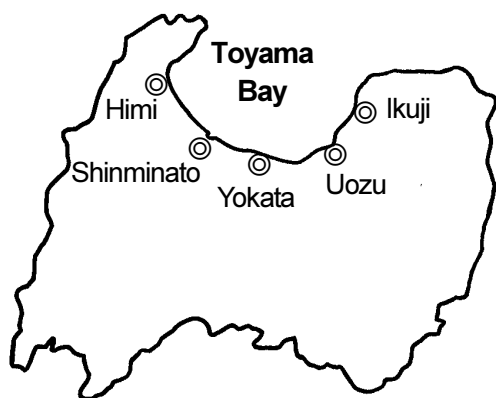


Fig.1. Location of fishing ports for sampling seawater in Toyama Prefecture

し細切した後、90mlの食塩ポリミキシンブイオンを加え、1分間手揉みしたものを試料原液とした。1979～1995年実施時はストマッカー処理していたが、袋が破損するおそれがあるため処理法を変更した。空試験管に試料原液を10ml接種したものを1段階目としたMPN法（3本×5段階）で測定した。腸炎ビブリオの同定および菌数の算出については、海水と同様に行った。

5. 海水の塩分濃度の測定

赤沼式比重計を用いて測定した [3]。

6. 海水からの耐熱性溶血毒遺伝子 (*tdh*) および耐熱性溶血毒類似毒素遺伝子 (*trh*) の検出

海水1,000mlを0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過し、ろ過フィルターを3%NaCl 含 Trypticase soy broth（ベクトン・ディッキンソン）に入れ、タイマー機能付フランシス器で37℃6時間培養後4℃に一晩おいた。培養液1mlを12,000rpmで5分間遠心し、沈査にキレックス緩衝液（5%W/V Chelex-100, バイオラド, 10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH8.0）を100 μ l添加後、100℃10分間処理した。12,000rpmで5分間遠心し、上清を新しいチューブに移してPCR用のDNA溶液とした。*tdh*の検出にはTDF-1,-2プライマー [4]を、*trh*の検出には耐熱性溶血毒類似毒素遺伝子 (*trh1* & 2) 検出用 Primer set VPR-1,-2（タカラ）を用いてPCRを行った。

7. 海水からのTDH産生性腸炎ビブリオの分離

*tdh*が検出された検体について、既報 [5] に従い、

血清型 O3 : K6 を対象とし、K6免疫磁気ビーズ処理 [6]を行って菌の分離を行った。

結 果

1. 漁港海水中的腸炎ビブリオ菌数の月別変動

6～10月の漁港海水中的腸炎ビブリオ菌数は、 $<3 \sim 4.3 \times 10^2$ /100mlであった（Table 1）。菌数は、海水温が20℃以上となった7月頃から増加し始め、8～9月にかけてピークとなった。

2. 市販魚介類の腸炎ビブリオ菌数

6～10月に富山県内2施設で市販されていた魚介類48検体中26件（54.2%）から腸炎ビブリオが検出された。菌数は、 $<3.0 \times 10 \sim 1.5 \times 10^3$ /100gであった（Fig. 2）。A施設では、調査した6月から10月にかけて腸炎ビブリオが検出されたが、同じ調査日でも検体により菌数にバラツキがみられた。B施設では、6月から8月上旬までは1検体をのぞき $<3.0 \times 10$ /100gであったが、8月下旬からはすべての検体で $4.0 \times 10 \sim 1.2 \times 10^3$ /100gの腸炎ビブリオが検出された。なお、魚体表面温度の平均値は、A施設では買取時14.1℃、搬入時7.7℃、B施設では買取時6.0℃、搬入時7.8℃であった。

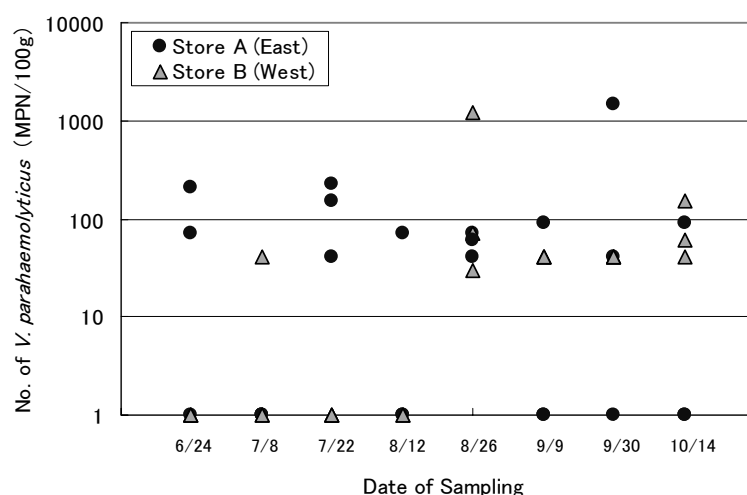
3. 漁港海水からの *tdh* 検出と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6の分離状況

漁港海水からの *tdh* および TDH 産生性腸炎ビブリオ O3 : K6の検出状況を Table 2に示した。*tdh* は、

Table 1. The number of *V. parahaemolyticus*, water temperature (WT) and salinity in seawater of fishing ports

Fishing Port		Date							
		6 / 24	7 / 8	7 / 22	8 / 12	8 / 26	9 / 9	9 / 30	10 / 14
Ikuji	V.p	< 3 *	< 3	1.5×10^1	9.0	9.3×10^1	2.3×10^1	1.5×10^2	9.3×10^1
	WT (°C)	16.8	22.1	22.3	23.6	20.0	20.3	19.9	18.9
	Salinity (‰)	6.0	7.5	8.9	9.3	10.8	7.7	13.5	15.4
Uozu	V.p	< 3	< 3	3.6×10^1	4.3×10^1	6.0	9.3×10^1	< 3	4.3×10^1
	WT (°C)	18.3	23.2	25.7	27.3	23.7	23.0	21.6	20.7
	Salinity (‰)	8.1	6.6	25.5	27.7	21.1	15.8	19.3	24.0
Shin-minato	V.p	7.0	2.4×10^2	2.9×10^1	4.3×10^2	9.3×10^1	1.5×10^2	1.1×10^2	7.0
	WT (°C)	19.0	23.0	30.3	30.0	26.0	26.0	26.0	21.0
	Salinity (‰)	25.7	27.3	27.2	25.3	33.9	29.6	33.7	35.5
Himi	V.p	7.0	1.5×10^1	< 3	3.8×10^1	9.0	1.5×10^2	9.0	4.0
	WT (°C)	20.0	22.0	29.2	30.0	26.0	26.0	22.0	22.0
	Salinity (‰)	35.4	32.3	34.8	32.4	34.6	33.3	35.1	34.8
Yokata	V.p	4.0	2.1×10^1	7.0	9.0	2.3×10^1	9.3×10^1	4.3×10^1	4.0
	WT (°C)	24.0	25.2	29.1	30.1	26.6	27.3	24.6	22.5
	Salinity (‰)	28.7	30.2	22.9	26.9	32.8	30.2	34.6	34.8

* No. of V. p (*V. parahaemolyticus*) in 100 ml of seawater by MPN method

Fig. 2. Distribution of *V. parahaemolyticus* in fish samples marketed in Toyama PrefectureTable 2. Detection of *tdh* gene and TDH+ *V. parahaemolyticus* O3:K6 in seawater of fishing ports

Fishing Port		Date								Ratio
		6 / 24	7 / 8	7 / 22	8 / 12	8 / 26	9 / 9	9 / 30	10 / 14	
Ikuji	<i>tdh</i>	—	—	+	+	+	+	—	—	4 / 8**
	TDH+ O3:K6	N.E*	N.E	—	—	—	—	N.E	N.E	0 / 4
Uozu	<i>tdh</i>	—	—	+	—	—	—	—	—	1 / 8
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	—	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	0 / 1
Shin-minato	<i>tdh</i>	—	+	—	—	—	—	—	—	1 / 8
	TDH+ O3:K6	N.E	—	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	0 / 1
Himi	<i>tdh</i>	+	—	—	—	+	—	—	—	2 / 8
	TDH+ O3:K6	—	N.E	N.E	N.E	—	N.E	N.E	N.E	0 / 2
Yokata	<i>tdh</i>	+	+	—	—	—	—	—	—	2 / 8
	TDH+ O3:K6	—	—	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	0 / 2
Ratio	<i>tdh</i>	2 / 5	2 / 5	2 / 5	1 / 5	2 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5	10 / 40
	TDH+ O3:K6	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 1	0 / 2	0 / 1	N.E	N.E	0 / 10

* Not examined. ** No. of positive / No. of samples examined.

Table 3. Detection of *tdh* and *trh* gene in seawater of fishing ports

Fishing Port	gene	Date								Ratio
		6 / 24	7 / 8	7 / 22	8 / 12	8 / 26	9 / 9	9 / 30	10 / 14	
Ikuji	<i>tdh</i>	—	—	+	+	+	+	—	—	4 / 8*
	<i>trh</i>	—	—	—	+	+	+	—	—	3 / 8
Uozu	<i>tdh</i>	—	—	+	—	—	—	—	—	1 / 8
	<i>trh</i>	+	+	—	+	+	+	—	—	5 / 8
Shin-minato	<i>tdh</i>	—	+	—	—	—	—	—	—	1 / 8
	<i>trh</i>	+	+	+	+	—	+	+	+	7 / 8
Himi	<i>tdh</i>	+	—	—	—	+	—	—	—	2 / 8
	<i>trh</i>	+	+	—	+	+	+	+	+	7 / 8
Yokata	<i>tdh</i>	+	+	—	—	—	—	—	—	2 / 8
	<i>trh</i>	+	—	—	—	—	—	—	—	1 / 8
Ratio	<i>tdh</i>	2 / 5	2 / 5	2 / 5	1 / 5	2 / 5	1 / 5	0 / 5	0 / 5	10 / 40 (25.0 %)
	<i>trh</i>	4 / 5	3 / 5	1 / 5	4 / 5	3 / 5	4 / 5	2 / 5	2 / 5	23 / 40 (57.5 %)

* No. of positive / No. of samples examined.

6月から9月にかけて5漁港すべての海水から検出された。検出率は10/40検体（25%）であった。*tdh* 陽性であった10検体について K6免疫磁気ビーズ処理を行ったが、TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6は分離されなかった。

4. 漁港海水からの *trh* 検出

漁港海水からの *tdh* (Table 2より再掲) および *trh* の検出状況を Table 3に示した。*trh* は5漁港すべての海水から検出され、検出率は23/40検体（57.5%）であった。新湊及び水見漁港では、6～10月にかけて8検体中7件で *trh* が検出された。また、*tdh* が検出された10検体中7件において、同時に *trh* も検出されていた。

考 察

前報では、富山県における2000～2007年のヒト由来腸炎ビブリオ分離数と漁港海水からの *tdh* 検出率は良く相関しており、*tdh* は腸炎ビブリオ食中毒発生の一指標として有用であることを示した [7]。2008年は漁港海水の25%から *tdh* が検出されたが、県内では腸炎ビブリオによる集団食中毒の発生はなく、また、富山県感染症情報センターの「病原微生物検出情報」に報告されたヒト由来腸炎ビブリオ分離数も6株で、例年と比べて非常に少なかった。

市販魚介類の腸炎ビブリオ検出率は54.2%で、1979～1989年調査時の検出率66.8%[8]と比べて減少していた。さらに検出された菌数をみると、 $10^3/100\text{g}$ 以上検出された検体は1979～1989年の平均30.0%に対し2008年は4.2%、 $10^4/100\text{g}$ 以上検出された検体は1979～1989年の平均15.1%に対し2008年は0.0%であった。今回調査の市販魚介類の腸炎ビブリオ検出率は以前と比較して減少していたが、検出された検体でもその菌数自体が非常に減少していた。このことは、海水中に腸炎ビブリオ (*tdh* 陽性菌) が分布していても、適切な取扱いにより魚体への腸炎ビブリオの付着を防ぐことで、食中毒の発生を大幅に抑制することができることを示唆している。

一方、今回調査した漁港海水の57.5%から *trh* が検出された。国内では、*trh* 陽性菌は1999年に東北地方沿岸海水の1.2%[9]、2002年に島根県沿岸海水の9.1%[10]から検出されたとの報告がある。今回の検出率は、これらの報告例に比べきわめて高かった。県内では過去に *trh* 保有腸炎ビブリオによる食中毒事例は発生していない。*trh* が高率に検出された原因について

は、地域の特徴なのか本年に限った傾向であったのかなど詳細は不明であるが、TRH 産生菌が多く分布しているとすれば食中毒起因菌となり得るため注意が必要である。今後は、TDH 産生菌に加えて TRH 産生菌についても調査を行っていく予定である。

謝 辞

本調査の検体採取は、富山県生活衛生課で作成された計画に基づき、県内各厚生センター及び富山市保健所の担当者により行われました。これらの方々に深謝いたします。

文 献

1. 厚生労働省 HP：食中毒に関する情報 <http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/10hassei/xls/H20joukyou.xls>
2. 細呂木志保, 田中大祐, 平田清久, 磯部順子, 刑部陽宅, 城石将幸, 長沢憲嗣 (1997). 富山衛研年報, 20, 184-186
3. 小久保清治 (1969). 海洋生物学, 恒星社厚生閣水産学全集11, 200-202
4. 伊藤文明, 吉野谷進, 平野千春, 石村勝之, 山岡弘二, 松石武昭, 荻野武雄, 島田俊雄, 伊藤健一郎, 渡辺治雄, 沖津忠行, 滝沢金次郎 (1993). 感染症誌, 67 (臨時増刊号), 181
5. 刑部陽宅, 細呂木志保, 嶋 智子, 田中大祐, 木全恵子, 香取幸治, 磯部順子, 綿引正則, 永井美之 (2004). 富山衛研年報, 27, 129-137
6. 刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 北村敬 (2000). 日食微誌, 17, 5-10
7. 嶋 智子, 磯部順子, 木全恵子, 清水美和子, 金谷潤一, 倉田 毅, 綿引正則 (2008). 富山衛研年報, 31, 125-134
8. 安井伊津子, 高田厚史 (1990). 富山衛研年報, 13, 123-127
9. 八柳 潤, 齊藤志保子, 宮島嘉道, 原田誠三郎, 鈴木紀行, 大友良光, 熊谷 学, 齋藤幸一, 佐藤卓, 菅原喜弘, 小林良雄, 高橋智子, 須藤正英, 大谷勝実, 山口友美, 畠山 敬, 齋藤紀行, 白石廣行, 廣瀬昌子, 熊谷 進, 品川邦汎 (2004). 日食微誌, 21, 30-37
10. 福島 博 (2007). 感染症誌, 81, 138-148

富山県内で分離された溶血性レンサ球菌の血清型 (2008年)

嶋 智子 清水 美和子 金谷 潤一 木全 恵子 磯部 順子 綿引 正則
林 喜代志¹ 加藤 陽子² 中村 政雄² 奥野 ルミ³

Serotypes of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2008

Tomoko SHIMA, Miwako SHIMIZU, Junichi KANATANI, Keiko KIMATA,
Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI, Kiyoshi HAYASHI¹, Yoko KATO²,
Masao NAKAMURA² and Rumi Okuno³

A 群溶血性レンサ球菌 (溶連菌) は、咽頭炎、膿痂疹など様々な感染症の起因菌となり、感染症法では、本菌による咽頭炎が小児科定点報告の5類感染症に位置づけられている。さらに近年、本菌による重篤な劇症型溶血性レンサ球菌感染症や食品を介した集団発生も報告されている[1]。また、B 群溶連菌は、新生児の敗血症や髄膜炎の原因となる。

2008年の富山県における A 群溶連菌咽頭炎患者報告数は、年間4,073人 (140.45人/定点) であった[2]。ここでは、2008年に富山県内で患者から分離された溶連菌について調査した結果を報告する。

材料と方法

分離菌株：

2008年に富山県内2か所の公立病院で患者から分離された溶連菌 (A 群36株および B 群29株、計65株) について、A 群の T 型別および B 群の型別を実施した。A 群の T 型別および B 群の型別は、それぞれの型別用抗血清 (デンカ生研) を用いてスライド凝集反応にて行った。

薬剤感受性試験：

アンピシリン (ABPC)、セファレキシン (CEX)、セフジニル (CFDN)、セフトレキシム (CDTR)、テトラサイクリン (TC)、クロラムフェニコール (CP)、エリスロマイシン (EM)、クラリスロマイシン (CAM)、クリンダマイシン (CLDM)、リンコマイシン (LCM) の10薬剤について、MIC-2000を用いた微量液体希釈法で測定した。測定は東京都健康安全研究センターにて行った。判定は、CLSI (M-02-A10) 等に従った。

結果と考察

1. A 群溶連菌の T 型別

2008年に分離された A 群36株の T 型別結果を Table 1および Fig. 1に示した。分離率が高い T 型は、順に T12型 (13株, 36.1%), T1型 (5株, 13.9%), T4型 (5株, 13.9%) であった。昨年と比較して T12型が増加し、T1型、T4型および TB3264型が減少していた。T1型と T4型で63.9%と調査株の半数以上を占めた。

2. B 群溶連菌の型別

2008年に分離された B 群29株の型別結果を Table 2に示した。分離率が高かったのは VI (NT6) 型 (9株, 31.0%) であった。VI型の分離率は1996年以来毎年最も高く、本年も同様の結果であった。

3. 溶連菌の薬剤感受性

2008年に分離された溶連菌のうち50株 (A 群28株, B 群22株) について実施した薬剤感受性の結果を Table 3に、またその薬剤耐性パターンを Table 4に示した。

A 群28株では、 β -ラクタム系薬剤 (ABPC, CEX, CFDN, CDTR) に対してはすべて感受性を示したが、EM および CAM に対して60.7%, TC に対して35.7%, LCM に対して25.0%, CLDM に対して21.4%が耐性を示した。マクロライド系薬剤の EM および CAM に対する耐性株が前年より増加傾向を示しており、また、その MIC 値も上昇していた。薬剤耐性パターンは、EM および CAM の2剤耐性が35.7% (T1型5株, T12型4株, T 型別不能1株, 計10株), TC, EM, CAM, LCM および CLDM の5剤耐性が21.4% (T12型6株), TC 単剤耐性が14.3% (T4型3株, T 型別不能1株, 計4株) であり、T25型の1株が EM,

1. 富山県立中央病院 2. 富山市民病院 3. 東京都健康安全研究センター

Table 1. Monthly Distribution of T Serotypes of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in Toyama, 2008

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
T-1	1		3				1						5	13.9
T-2													0	0.0
T-3													0	0.0
T-4		1	1			1	1				1		5	13.9
T-6													0	0.0
T-8													0	0.0
T-9													0	0.0
T-11													0	0.0
T-12	1		2		3	2	1		1	1	1	1	13	36.1
T-13													0	0.0
T-18													0	0.0
T-22													0	0.0
T-23													0	0.0
T-25												1	1	2.8
T-28													0	0.0
T-B3264	1					1							2	5.6
T-Imp.19													0	0.0
T-5/27/44													0	0.0
T-14/49													0	0.0
Untypable		1	2			1	2	3		1			10	27.8
Total	3	2	8	0	3	5	5	3	1	2	2	2	36	100.0

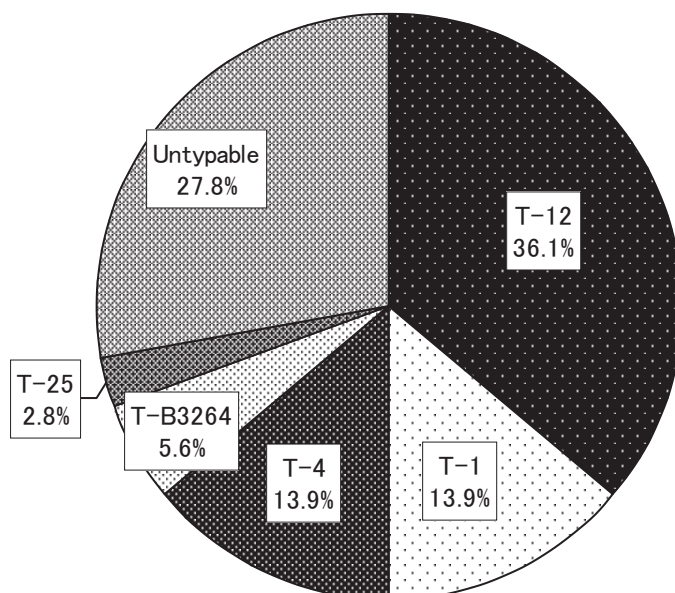
Fig. 1. Proportion of T Serotypes of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in Toyama, 2008

Table 2. Monthly Distribution of Serotypes of Clinical Group B Hemolytic *Streptococci* in Toyama, 2008

Type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
I a						1			1				2	6.9
I b					1	1							2	6.9
II					1								1	3.4
III	1						1					2	4	13.8
IV													0	0.0
V	1	1											2	6.9
VI	1	2	1	1				1			1	2	9	31.0
VII													0	0.0
VIII		1		1			1						3	10.3
II, III										1			1	3.4
Untypable	1			2						1	1		5	17.2
Total	4	4	1	4	2	2	2	1	1	2	2	4	29	100.0

Table 3. Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic *Streptococci* in 2008

Group	MIC (μ g/ml)	Antibiotics									
		ABPC	CEX	CFDN	CDTR	TC	CP	EM	CAM	CLDM	LCM
A	>64							6			6
	64					1					
	32					8					
	16					1		1	6*		
	8						7	10	10		
	4						15		1	6 †	
	2						5				
	1					1	1				1
	0.5		19			8				22 ‡	17
	0.25		9			9					4
	0.12							5			
	0.06	1						6	8		
	0.03	27							3		
	0.015										

Group	MIC (μ g/ml)	Antibiotics									
		ABPC	CEX	CFDN	CDTR	TC	CP	EM	CAM	CLDM	LCM
B	>64										1
	64					4					
	32					2					
	16					3					
	8						7	1	1		
	4		4				15			1 †	
	2		17								
	1		1			4					15
	0.5					8		1	1	21 ‡	5
	0.25	2				1		7			1
	0.12	19						11	14		
	0.06	1						2	6		
	0.03			17	13						
	0.015			5	9						
	0.0075										

* : >16 μ g/ml, † : >4 μ g/ml, ‡ : $\leq$ 0.5 μ g/ml

二重線以上：耐性 (CLSI 基準)

点線以下：感受性

Table 4. Antibiotic Resistance Patterns of Clinical Hemolytic *Streptococci* in 2008

Resistance pattern	No. of strains (%)	
	Group A	Group B
TC, EM, CAM, LCM, CLDM	6 (21.4)	1 (4.5)
EM, CAM, LCM	1 (3.6)	
EM, CAM	10 (35.7)	
TC, LCM		6 (27.3)
TC	4 (14.3)	2 (9.1)
LCM		9 (40.9)
Susceptible	7 (25.0)	4 (18.2)
Total	28 (100.0)	22 (100.0)

CAM および LCM の3剤に対して耐性を示した。

B 群22株では、 β -ラクタム系薬剤に対してはすべて感受性を示したが、LCM に対して72.7%，TC に対して40.9%，EM, CAM および CLDM に対して4.5%が耐性を示した。LCM 耐性株が非常に増加していたが、MIC 値は1株 ($>64 \mu\text{g/ml}$) を除き、すべて $1 \mu\text{g/ml}$ であった。薬剤耐性パターンは、LCM 単剤耐性が40.9% (Ⅵ型4株, Ⅷ型3株, I b 型2株, 計7株), TC および LCM の2剤耐性が27.3% (Ⅲ型3株, I a 型, II 型および V 型が各1株, 計6株) であり、Ⅲ型の1株

が TC, EM, CAM, LCM および CLDM の5剤に対して耐性を示した。

文 献

1. 国立感染症研究所編 (2004). 病原微生物検出情報, 25巻10号, 252-253
2. 富山県衛生研究所編集 (2009). 富山県感染症発生動向調査事業報告書 (平成20年)

オンライン銅錯体形成を用いたジュース混入グリホサートの迅速キャピラリー電気泳動分析

小玉 修嗣 大戸 幹也 健名 智子 中山 恵理子 山下 智富 村元 達也

A Fast and Simple Analysis of Glyphosate in Fruit Juices by Capillary Electrophoresis with On-Line Copper(II)-Glyphosate Complex Formation

Shuji KODAMA, Mikiya OHTO, Tomoko KEMMEI, Eriko NAKAYAMA,
Tomohisa YAMASHITA, Tatsuya MURAMOTO

平成20年4月、茶飲料にグリホサートを混入した事件が数回起こった。グリホサートの分析法としては、誘導体化 GC/MS 法や HPLC-ポストカラム誘導体化法などがあり、高感度分析が可能である [1,2]。しかし、これらの分析法は煩雑な前処理等を必要とし、かつシステムを起動してから分析するまでに長時間を要する。農薬混入事件では高感度分析の必要はなく、簡便性及び迅速性が求められる。グリホサートは銅イオンと紫外吸収の大きい錯体を形成することが知られている [3]。我々はすでに、銅イオンを加えた泳動緩衝液を用いることにより、紫外吸収の乏しいグリホサートのキャピラリー電気泳動分析法を検討し、茶飲料に混入されたグリホサートを簡便かつ迅速に分析できることを報告した [4]。今回はジュース類にグリホサートが混入された場合を想定し、前処理を含めた分析法を検討した。

害物質等を除去するために茶飲料を SepPak Plus tC18 カートリッジに供し、非吸着画分をキャピラリー電気泳動分析した [4]。リンゴジュースの原液を SepPak Plus tC18 カートリッジに供し、その非吸着画分をキャピラリー電気泳動で分析したところ、グリホサートが検出されるピーク近傍に妨害物質が検出された (図1-B)。これは、SepPak Plus tC18 カートリッジで除去されず、かつ銅イオンと錯体形成する有機酸類が多いためと考えられる。そこで、リンゴジュースを精製水で10倍に希釈したところ、妨害物質の影響はほとんどなくなることがわかった (図1-C)。さらに、リンゴジュースにグリホサートを添加したときの回収率は、98.8-99.6 % と良好であった。また、オレンジジュース及びブドウジュースでも同様の結果であった。本分析法の定量下限値は、試料を10倍希釈するため50 ppm となるが、農薬混入事件のように高濃度のグリ

材料及び方法

(1) 試薬

グリホサート、硫酸銅及びその他の試薬は和光純薬製を用いた。

(2) 分析法

アジレントテクノロジー製のキャピラリー電気泳動システムで分析した。ジョエルサイエンス製スルホン化キャピラリー (FunCap-CE Type S, 50 mm i.d., 有効長 40 cm) を用いた。泳動緩衝液は5 mM 硫酸銅を含む40 mM 酢酸緩衝液 (pH 5.9) を用いた。印加電圧は+15 kV、キャピラリー温度は25℃とし、250 nm の吸光度を測定した。

結果及び考察

グリホサートを添加した茶飲料を分析する場合、妨

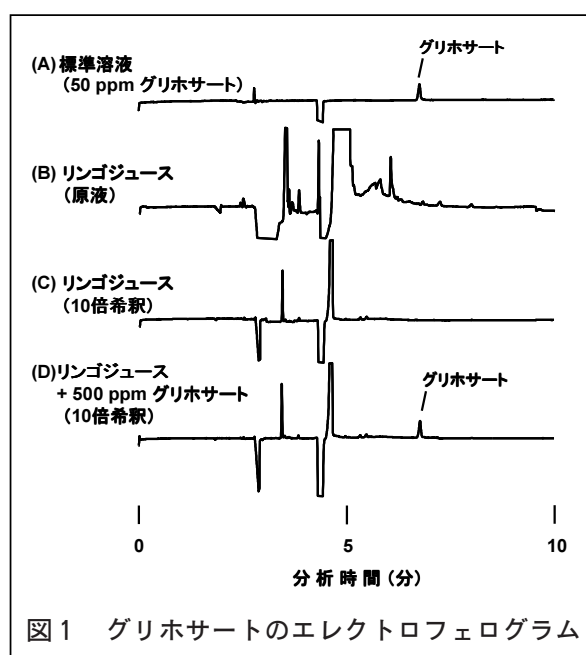


図1 グリホサートのエレクトロフェログラム

ホサートを分析するには十分な感度であると思われる.

1. Tseng, S.-H., Lo, Y.-W., Chang, P.-C., Chou, S.-S., Chang, H.-M. (2004) J. Agric. Food Chem., 52, 4057-4063.
2. de Llasera, M.P., Gomez-Almaraz, L., Vera-Avila, L.E., Pena-Alvarez, A. (2005) J. Chromatogr. A, 1093, 139-146.
3. Subramaniam, V., Hoggard, P.E. (1988) J. Agric. Food Chem., 36, 1326-1329.
4. Kodama, S., Ito, Y., Taga, A., Nomura, Y., Yamamoto, A., Chinaka, S., Suzuki, K., Yamashita, T., Kemmei, T., Hayakawa K. (2008) J. Health Sci., 54, 602-606.

富山県内で流通している中国産輸入加工食品中の残留農薬検査

大戸 幹也 山下 智富 村元 達也 小玉 修嗣
健名 智子 高柳 信孝

Survey of Pesticide Residues in Imported Processed Food made in China

Mikiya OHTO, Tomohisa YAMASITA,
Tatsuya MURAMOTO, Shuji KODAMA,
Tomoko KEMMEI and Nobutaka TAKAYANAGI

平成19年12月及び平成20年 1 月に千葉県と兵庫県で中国製輸入冷凍食品による 3 家族10名の有機リン中毒患者が発生し、中国産の加工食品の安全性が大きな社会問題となった。輸入食品については、検疫所等の監視等により、その安全性の確保が図られているが、全数量の検査は不可能であり、本事件により、食の安全・安心への信頼は大きく損なわれる事態となった。そのため本県でも県民の安全・安心を確保するため、県内に流通している輸入食品の残留農薬検査を実施した[1]。

調査方法

(1) 試料：平成20年6月及び同12月に富山県内で市販されている中国産冷凍加工食品32検体（野菜の加工品8検体、惣菜の半製品24検体）を購入し、試験に供した。

(2) 測定農薬、分析装置及び条件：検査対照農薬は、有機リン系農薬45種類、及び有機リン系以外の農薬12種類の合計57種類の残留農薬を測定した。これらを表1にまとめた。測定は、メタミドホス及びアセフェートは、高速液体クロマトグラフタンデムマス質量分析計（LC/MS/MS）により、これら以外の55種類の農薬は、ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）によって測定した。

LC/MS/MS 装置は、日本ウオーターズ社製 QuattroMicro APIシステムタンデムマス質量分析計を用いて測定した。測定の条件は、平成20年3月7日付け厚生労働省医薬食品局安全部基準審査課事務連絡「食品中に残留する有機リン系農薬に係る試験法」（以下厚労省法）に準拠し、以下のように行った。カラムは Atlantis dC18(内径2.1mm, 長さ150mm, 粒径3 μ m), 移動相は、A 液 [メタノール50mL+5 (w/v)

表 1. 測定した冷凍加工食品中の農薬 (57種)

有機リン系農薬 (45種)

アセフェート (殺虫剤)	イソキサチオン (除草剤)	イソフェンホス (殺虫剤)	エチオン (殺ダニ剤)	エディフェンホス (殺菌)
エトプロホス (殺虫剤)	エトリムホス (殺虫剤)	オメトエート (殺虫剤・殺ダニ剤)	カズサホス (殺虫剤)	キナルホス (殺虫・殺ダニ)
クロルピリホス (殺虫剤)	クロルピリホスメチル (殺虫剤)	クロルフェンビンホス (殺虫剤・殺ダニ剤)	シアノホス (殺虫剤)	ジクロルボス (殺虫・殺ダニ)
ジスルホトン (殺虫剤・殺ダニ剤)	ジメチルビンホス (殺虫剤)	ジメトエート (殺虫剤・殺ダニ剤)	ダイアジノン (殺虫剤)	チオメトン (殺虫)
テルブホス (殺虫剤)	トルクロホスメチル (殺菌剤)	バラチオン (殺虫剤)	バラチオンメチル (殺虫剤)	ピラクロホス (殺虫)
ピリダフェンチオン (殺虫剤)	ピリミホスメチル (殺虫剤)	フェナミホス (殺虫剤)	フェニトロチオン (殺虫剤)	フェンスルホチオン (殺虫)
フェンチオン (殺虫剤)	フェントエート (殺虫剤)	ブタミホス (除草剤)	プロチオホス (殺虫剤)	プロフェノホス (殺虫)
ホサロン (殺虫剤・殺ダニ剤)	ホスチアゼート (殺虫剤)	ホスファミン (殺虫剤・殺ダニ剤)	ホスメット (殺虫剤)	ホレート (殺虫)
馬拉チオン (殺虫剤・殺ダニ剤)	メタミドホス (殺虫剤・殺ダニ剤)	メチダチオン (殺虫剤)	モノクロトホス (殺ダニ剤)	アジンホスメチル (殺虫剤・殺ダニ剤)

有機リン系以外の農薬 (12種)

シハロトリン (殺虫剤)	シベルメトリン (殺虫剤)	トリフルラリン (除草剤)	ピリダベン (殺虫剤)	ピンクロソリン (殺菌)
プロシドン (殺菌剤)	ベルメトリン (殺虫剤)	ベンディメタリン (除草剤)	チオベンカルブ (除草剤)	テフルトリン (殺虫)
ベンコナゾール (殺菌剤)	ピリフェノックス (殺菌剤)			

%酢酸1mL+0.5M 酢酸アンモニウム10mL+精製水940mL]とB液[メタノール800mL+5(w/v)%酢酸1mL+0.5M 酢酸アンモニウム10mL+精製水190mL]の2液グラジエント溶離法(B液:0%→100%, 15分間, 直線グラジエント後, 10分間保持)により行い, 0.3mL/分で送液した。また, カラム温度:40℃, 注入量:20 μ Lで行った。質量分析計の条件は, イオン化モード:ESI, イオン源温度:120℃, 脱溶媒ガス(窒素)温度及び流量:350℃, 500L/時, 高純度アルゴンガスを用いてMRM測定を行った。メタミドホスは, コーン電圧:20V, コリジョンエネルギー:15eVでモニタリングイオン(m/z):142>94及び142>112, アセフェートは, コーン電圧:15V, コリジョンエネルギー:8eVでモニタリングイオン(m/z):184>143, コーン電圧:15V, コリジョンエネルギー:15eVでモニタリングイオン(m/z):184>113で検出した。

GC/MS装置は, (株)アイスティサイエンス社製大量注入装置LVI S200を装着したAgilent Technologies社製7890A GC/5975C(MSD)ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)を用いた。GC/MS測定条件は, カラムはHP-5MS(内径0.25mm, 長さ30m, 膜厚0.25 μ m), カラム温度は, 70℃(2分)→25℃/分→150℃→3℃/分→200℃→8℃/分→280℃(10分)→10℃/分→300℃, キャリアーガスは, ヘリウム1.1mL/分, イオン源温度は230℃, イオン化方法はEI法, 注入はPTV装置[注入量;100 μ L, 注入口温度;70℃(0.5分保持)→120℃/分→250℃→50℃/分→280℃, ベントページ流量150mL/分(0.8分), スプリットベントへのページ流量50mL/分(開始時間3.5分)]で測定した。測定イオンは, 厚生労働省「食品に残留する農薬, 試料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」(通知試験法)のGC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)の別表の測定イオン(m/z)を用いた。(3)標準試薬等:LC/MS/MSによって測定するメタミドホス及びアセフェートは, 和光純薬工業製のLC/MS用アセトニトリルでそれぞれ溶解後, これらを合わせて100ppm混合標準溶液を調製した。これをアセトニトリルで段階的に希釈して1~30ppbの検量線溶液を調製した。GC/MS測定農薬については, 林純薬工業製PL2005農薬GC/MS Mix I 農薬混合標準液, 及び同社製PL2005農薬GC/MS Mix III 農薬混合標準液を用いた。これらをそれぞれアセトン:ヘキサン(1:1)溶液で段階的に希釈した後, 和光純薬製酵母エキスをを用いた厚労省法によるマトリックス添加の3~30ppbの検量線溶液を調製した。

(4)試験溶液等の調製:厚労省法に準拠して, 均一化

した試料10.0gから酢酸エチルで抽出した。次に, 地方衛生研究所全国協議会により推奨された方法(以下地研法)[2]によるカートリッジカラム精製[カラム溶出液20mLで洗浄済みのスペルコ社製ENVI-Carb/LC-NH₂(500mg/500mg)カラムに, 厚労省法による試験溶液2mLを負荷後, トルエン/アセトニトリル(1:3)溶液20mLで溶出]を行った。その後①LC/MS/MS測定用に2mLを分取して窒素ガスで溶媒を除去後, 水/メタノール(4:1)溶液2mLに溶解してLC/MS/MS測定用試験溶液を調製し, ②GC/MS測定用に2mLを分取して窒素ガスで溶媒を除去後, アセトン/ヘキサン(1:1)溶液2mLに溶解してGC/MS測定用試験溶液を調製した。

(5)添加回収試験:冷凍加工食品「つくね串」に, 農薬それぞれ2 μ g添加し, 5回の併行試験による回収試験を行った。

結果と考察

(1) 検量線

LC/MS/MSで測定するメタミドホス及びアセフェートの検量線は, それぞれ全てのモニタリングイオンで原点を通る良好な直線性が得られた。GC/MSで測定する農薬については, 定量値に及ぼす食品中のマトリックスの影響は大きいと考えられており, これらを排除するためマトリックス添加検量線が用いられることも多い[3-6]。厚労省法が推す酵母エキスによるマトリックス添加検量線を作製したところ, 全ての成分はほぼ原点を通る良好な直線性が得られた。

(2) 試験溶液の調製

地研法では, カラム精製後, 濃縮操作を行なう。しかし, 本法のGC/MS分析では通常の注入量の約50倍に当たる100 μ L注入する「大量注入法」[3]を用いていることや, 高感度に測定できるタンデムマス装置(LC/MS/MS)を使用していることから, この濃縮操作なしでも充分な農薬の感度が見込まれた。このような理由から, 濃縮操作を省略して測定した。LC/MS/MSでは1ppb, GC/MSでは3ppbの標準溶液を注入しても全ての農薬ピークがs/n=10以上得られ, 感度は充分確保できた。また, 精度試験も良好で地研法に示されているカラム精製処理後の濃縮操作を省略しても地研法の試料中の定量限界0.2mg/kgは充分確保できることが判明した。

(3) 添加回収試験

当所では, 通常の農産物中の残留農薬多成分一斉分析法の添加レベルは0.05または0.1mg/kgで実施している。しかし, 厚労省法を改良した地研法での定量限

界は0.2mg/kg としていることから[2]，添加レベルは0.2mg/kg で行った。

LC/MS/MS で測定するメタミドホス及びアセフェートについては，それぞれ $79.2 \pm 2.49\%$ （平均±標準偏差）， $81.5 \pm 3.31\%$ であり，ほぼ良好な回収率が得られた。

一方 GC/MS で測定する農薬については，回収率が70%以上80%未満の農薬は2種類，80%以上90%未満の農薬は7種類，90%以上100%未満の農薬は5種類，100%以上110%未満の農薬は17種類，110%以上120%未満の農薬は23種類，及び120%以上の農薬はアジンホスメチルの165%であった。回収率が100%以上120%未満の農薬は40種類（GC/MS 測定農薬全体の73%）を占めており，回収率が高い傾向であったが，54種類は70～120%の範囲に入っており，ほぼ満足する結果が得られた。また，併行試験の精度については，5回の分析結果に基づいて行った。47種類（GC/MS 測定農薬数の82%に相当）の農薬では変動係数が5%未満であり，最も高いペンディメタリンの標準偏差は12.0%であった。これ以外は10%未満であり，併行精度は小さく良好であった。

ジクロロボスは，有機リン系農薬の中では比較的揮発性が高く，検体によっては前処理での濃縮操作などで多くが消失する報告もあり[7]，回収率が低いことが予想されたが， $84.4 \pm 5.49\%$ （平均±標準偏差）の良好な回収率が得られ，ほぼ満足な結果が得られた。厚労省は，残留農薬検査での良好な回収率の目安を70%以上120%未満の範囲としている[8]。今回の加工食品の検査では，回収率が $165 \pm 7.16\%$ （平均±標準偏差）と高かったアジンホスメチルは，定量成分から除外した。

(4) 実試料の測定

富山県内で市販されている32検体について，アジンホスメチルを除く56種類の農薬の定量を行った。検体が加工食品の場合，農産物のような単一材料のものと異なり，たんぱく質や脂質含有量の高い材料や種類が多く含まれている。このため検体の種類によっては，定量を妨害する検体も予想された。しかし，クロマトグラム上に現れる含有成分ピークも農産物に比べて比較的多く観察される傾向であったものの，妨害成分による定量への影響は無く，全ての検体で定量ができた。成績書への定量下限値は，地研法の前処理を用いていることから，地研法が示している定量限界値の0.2 mg/kg とした。当所の農産物中の農薬検査は，ポジ

ティブリスト制度後，原則0.01mg/kg まで測定している。今回の成績書の定量下限値はこれより高いが，有害なレベルにある加工食品を迅速に検出するものであり，健康危機管理上の観点からは問題にならないと考えられた。ところで，仮に農薬が検出された場合，農産物の場合は，基準値が設定されているため，法令違反か否か直ちに判定が可能である。しかし，加工食品の場合，ほとんどの加工食品は基準値が設定されていない。このため，違反食品か否かは，原材料の農産物に使用が許されている量を超えているか否かにまで遡って判断しなければならず，判定が難しい上，時間もかかることになる。消費者保護の立場からは早期の加工食品の基準の設定が望まれる。

LC/MS/MS の使用や，大量注入 GC/MS 法を用いたことで，地研法の前処理の濃縮操作をカットでき，前処理時間を少し短縮できた。またこれに伴う使用器具，洗浄溶媒も減少し，利点も多かった。本県では県民のために平成21年度も輸入食品の検査を実施する予定である[9]。本検査法により引き続き食の安心・安全確保に貢献して行きたい。

文 献

1. 富山県厚生部長通知，生衛第302号。平成20年4月30日。
2. 地方衛生研究所全国協議会，平成20年3月21日付け事務連絡。
3. Saito, Y., Kodama, S. and Matsunaga, A. (2004). Journal of AOAC International., 87, No.6, 1356-1367.
4. 氏家愛子，長谷部洋，佐藤 勤（2008）。宮城県保健環境センター年報，26，57-62。
5. 織田敏郎，初瀬裕，吉村瑞江，砺波和子（2008）。石川保環研報，45，32-41。
6. 松本苗緒，吉川真弓，江田邦章，小林あゆみ，横島真澄，村上正人，金来広文（2008）。食衛誌，49，211-222。
7. 北川陽子，岡本 葉，高取 聡，起橋雅浩，村田弘，住本建夫，田中之雄，雄花裕孝（2008）。大阪府立公衛研所報，35-43。
8. 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知，食安発第11150001号。平成19年11月15日。
9. 富山県厚生部生活衛生課長通知，生衛第302号。平成21年4月22日。

平成20年度水道水質検査の精度管理事業について

健名 智子 村元 達也 高柳 信孝

The External Quality Control of the Quantification of Hardness
and Chlorate ion in Water

Tomoko KEMMEI, Tatsuya MURAMOTO and Nobutaka TAKAYANAGI

富山県水道水質検査精度管理実施要領に基づく精度管理事業は、富山県内の水道水等の水質検査を行う機関の参加により平成8年度から継続して実施されており、平成20年度は硬度および塩素酸について行われた。当所は配布試料の作成、参加機関から報告されたデータの集計及び解析を担当しており、今回その結果をまとめたので報告する。

調査方法

- (1) 試料の配布年月日：平成21年1月22日
- (2) 参加機関：富山県内の水道水等の水質検査を行う24機関で、その内訳は水道事業体1機関、水道用水供給事業体2機関、水道法第20条に規定する登録検査機関15機関、厚生センター・保健所5機関及び当所である。
- (3) 検査項目：硬度、塩素酸
- (4) 配布試料：硬度測定用試料は、平成21年1月21日に採取した自然水（湧水）である。1L角型ポリ瓶に採取した試料40本のうち4本について硬度を測定したところ、そのビン間変動係数は1.7%であった。配布に際し、硬度の濃度範囲は、1.0～100.0mg/Lであると明示した。
- 塩素酸測定用試料は、平成21年1月21日に超純水（Sartorius アリウム611UV）に市販塩素酸標準液（関東化学製 ClO_3^- 1000）を0.25mg/Lとなるよう添加して15L調製した（1Lにつきエチレンジアミン50mg/mlを1ml含む）。これを500mL丸型ポリ瓶24本に小分けしたが、そのうち3本について塩素酸を測定したところ、そのビン間変動係数は0.7%であった。配布に際し、塩素酸の濃度範囲は、0.06～0.6 mg/Lである明示した。
- (5) 検査方法及び検査結果：検査は当該検査項目の検査担当者が日常の検査業務と同じ方法を用いて行うこととした。また測定は、5回の併行測定とし、その併行測定値を検査結果として報告することとした。

結果および考察

(1) 硬度

硬度については、参加24機関のうち1機関が2通りの測定方法により参加したことから25機関として統計処理を行った。

各機関から小数点以下1桁で報告された5回の併行測定値より、平均値を小数点以下2桁まで求め各機関の測定値とした。表1に測定値の小さいものから順に示した。全機関の測定値の平均値±標準偏差は $38.18 \pm 0.052 \text{ mg/L}$ で、室間変動係数は1.4%と10%を下回った。Grubbsの異常値検定（危険率5%）の結果、a機関の測定値が棄却された。各機関内での併行測定における室内変動係数は0.0～2.7%とすべて10%未満で、機関内のばらつきは小さかった。

棄却されたa機関を除く24機関の測定値の平均値±標準偏差は $38.26 \pm 0.30 \text{ mg/L}$ であった。この値をもとに硬度の $\bar{X}$ -R管理図を図1に示した。a, b機関以外の機関の測定値が平均値±2標準偏差の範囲（37.67～38.86mg/L）内に収まった。R管理図において4機関がUCL（0.97mg/L：上方管理限界）を超えた。硬度におけるzスコアの順位を図2に示した。a, b機関以外の機関の|z|は2未満で「満足」と評価された。

硬度の精度管理では1機関がGrubbsの検定で棄却されたが、その機関を除く24機関の測定値の平均値 38.26 mg/L を真の値と仮定した場合の回収率が0.9～1.1である範囲（34.44～42.09mg/L）をはずれた機関はなく、機関内・機関間のばらつきはともに小さく、報告された検査結果は概ね良好であった。

測定方法として、誘導結合プラズマ発光分光分析法（ICP/AES法）を用いた機関は4機関、イオンクロマトグラフ（陽イオン）法（IC法）を用いた機関は6機関、滴定法を用いた機関は15機関であった。測定方法ごとの測定値の平均値±標準偏差を求めた（a機関は除いて統計処理を行った）が、測定方法間に有意な差

表 1 硬度検査結果

検査機関	測定値 (mg/L)	変動係数 (%)	回収率 (=測定値/平均値)	測定方法
a	36.12	2.7	0.94	滴定法
b	37.66	1.8	0.98	ICP-AES法
c	37.78	0.5	0.99	滴定法
d	37.88	0.1	0.99	滴定法
e	37.92	1.0	0.99	滴定法
f	37.94	0.3	0.99	滴定法
g	37.94	0.7	0.99	IC法
h	38.00	0.0	0.99	滴定法
i	38.18	1.0	1.00	IC法
j	38.22	0.2	1.00	滴定法
k	38.28	0.2	1.00	IC法
l	38.28	0.2	1.00	IC法
m	38.28	0.3	1.00	滴定法
n	38.28	0.3	1.00	IC法
o	38.30	0.6	1.00	滴定法
p	38.42	0.7	1.00	ICP-AES法
q	38.42	0.1	1.00	ICP-AES法
r	38.42	0.3	1.00	ICP-AES法
s	38.46	0.1	1.01	滴定法
t	38.50	1.5	1.01	IC法
u	38.52	0.5	1.01	滴定法
v	38.60	0.4	1.01	滴定法
w	38.60	0.5	1.01	滴定法
x	38.64	0.4	1.01	滴定法
y	38.78	0.2	1.01	滴定法
測定機関数	25	25	25	
最大値(mg/L)	38.78	2.7	1.01	
最小値(mg/L)	36.12	0.0	0.94	
(a機関を除いて)	24	24	24	
平均値(mg/L)	38.26	0.51	1.000	
標準偏差(mg/L)	0.30	0.45	0.008	
変動係数(%)	0.8	—	0.8	

はなかった。

ICP/AES法を用いた4機関はすべて酸を加えた加熱処理を行っていた。機関により希釈の有無、希釈の倍率は異なっていたが、全機関が検量線の範囲内で定量を行っていた。

滴定法を用いた15機関のうち、EDTA溶液を自己調製している機関は5機関であり、市販品を利用して

いる機関が10機関であった。告示法[1]には、硬度を算出する式に0.01 mol/L EDTA溶液のファクターに関する記述はないが、自己調製液、市販品にかかわらず、ファクターを考慮して硬度を算定している機関が4機関あった。そのうち1機関の算出式でのファクターの用い方に誤りがあった[2]。

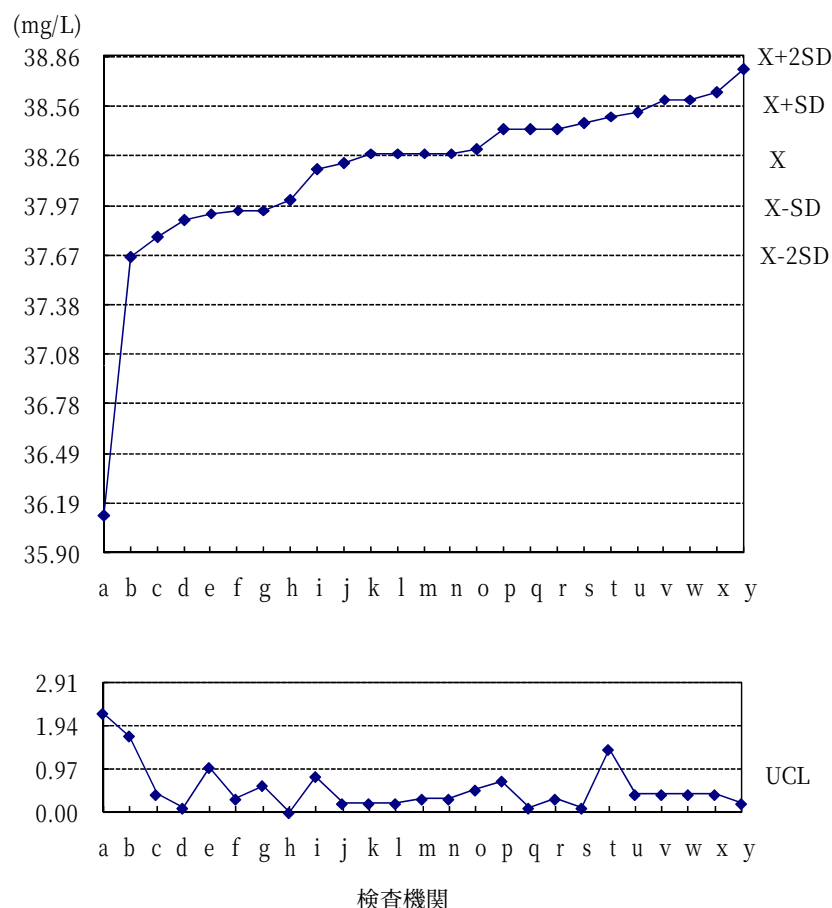


図1 硬度の $\bar{X}$ -R 管理図

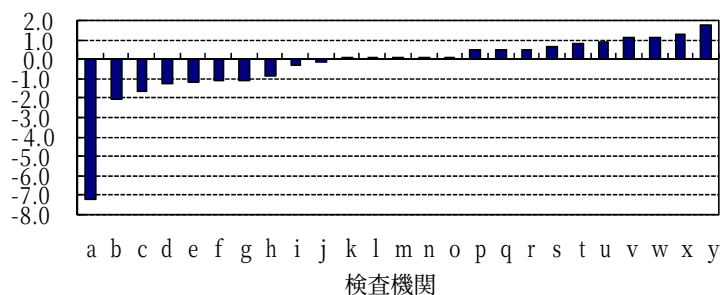


図2 硬度の z-スコアの順位

(2) 塩素酸

塩素酸については19機関がイオンクロマトグラフ法により参加した。

各機関から小数点以下2桁で報告された5回の併行測定値より、平均値を小数点以下3桁まで求め各機関の測定値とした。表2に測定値の小さいものから順に示した。全機関の測定値の平均値 $\pm$ 標準偏差は 0.250 ± 0.007 mg/Lであり、室間変動係数は2.8%と10%を下回っていた。Grubbsの異常値検定(危険率5%)の結果、S機関の測定値が棄却された。各機関内での併

行測定における室内変動係数は、0.0~4.5%とすべて10%未満であった。

棄却されたS機関を除く18機関の測定値の平均値 $\pm$ 標準偏差は 0.249 ± 0.005 mg/Lであった。この値をもとに塩素酸の $\bar{X}$ -R 管理図を図3に示す。検査機関A, Sの2機関以外の機関の測定値が平均値 $\pm$ 標準偏差の範囲内(0.238~0.260mg/L)に収まった。R管理図において3機関がUCL(0.011mg/L: 上方管理限界)を超えた。塩素酸におけるzスコアの順位を図4に示した。検査機関A, S以外の機関の $|z|$ は2未

表 2 塩素酸検査結果

検査機関	測定値 (mg/L)	変動係数 (%)	回収率 (=測定値/0.25)
A	0.236	2.3	0.94
B	0.240	0.0	0.96
C	0.246	2.2	0.98
D	0.246	2.2	0.98
E	0.248	1.8	0.99
F	0.248	1.8	0.99
G	0.250	0.0	1.00
H	0.250	0.0	1.00
I	0.250	0.0	1.00
J	0.250	0.0	1.00
K	0.250	0.0	1.00
L	0.250	0.0	1.00
M	0.250	0.0	1.00
N	0.250	0.0	1.00
O	0.250	0.0	1.00
P	0.254	3.5	1.02
Q	0.258	3.2	1.03
R	0.260	0.0	1.04
S	0.270	4.5	1.08
測定機関数	19	19	19
最大値(mg/L)	0.270	4.5	1.08
最小値(mg/L)	0.236	0.0	0.94
(S機関を除いて)	18	18	18
平均値(mg/L)	0.249	0.95	0.997
標準偏差(mg/L)	0.005	1.29	0.022
変動係数(%)	2.2	—	2.2

満で「満足」と評価された。

塩素酸の精度管理では1機関が Grubbs の検定で棄却されたが、調製濃度0.25mg/L に対する回収率が0.9～1.1である範囲（0.225～0.275mg/L）をはずれた機関はなく、機関内・機関間のばらつきはともに小さく、報告された検査結果は概ね良好であった。

今回、検量線を作成する際の参考となるよう、あら

かじめ塩素酸濃度範囲を0.06～0.6mg/L と明示した。17機関の標準列の最小濃度は0.04～0.2mg/L で、うち13機関が定量下限値を最小濃度としていた。最小濃度が試料より高い濃度である機関が2機関（0.3，0.5mg/L）あった。また16機関の最大濃度は0.15（2.5倍希釈）～0.8mg/L であった。その他の2機関が最大濃度を1.2mg/L，1機関が5mg/L としていた。試

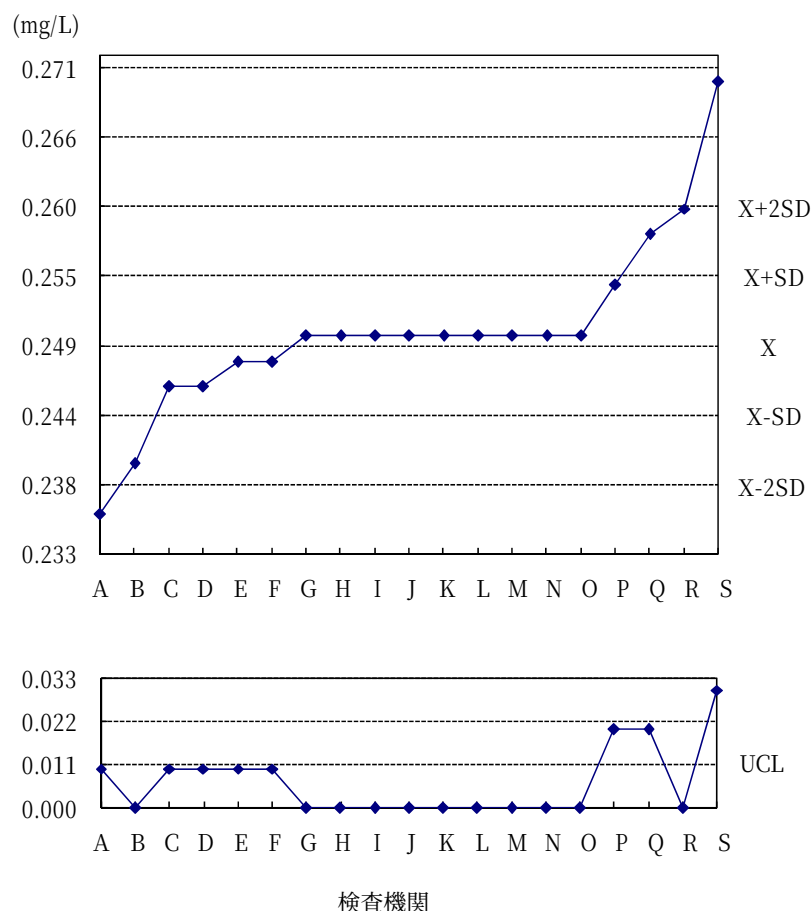


図3 塩素酸の X bar-R 管理図

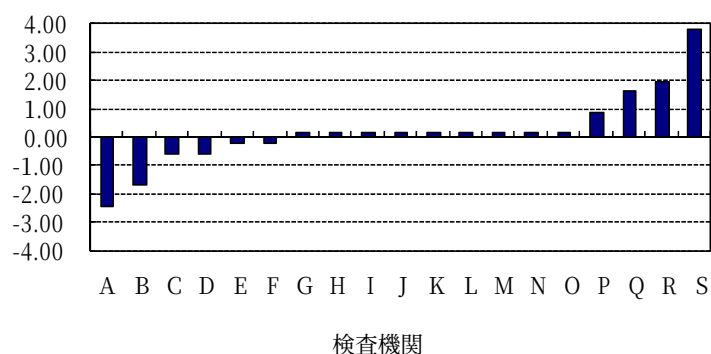


図4 硬度の z-スコアの順位

料の濃度が検量線の25～75%の範囲にあるような検量線の作成が望ましく、これら3機関は25%未満の範囲で定量していた。標準列の点数は、6点が9機関、5点6機関、4点3機関、3点1機関であった。水道水質検査精度管理に関する研修会[3]において、精度管理に関する留意事項として適切な検量線の作成が挙げられている。適切な濃度範囲と標準列の点数の検量線を作成することが求められる。

文 献

1. 厚生労働省告示第261号 (2003). 平成15年7月22日.
2. 日本薬学会編(2005).衛生試験法・注解. P714-717.
3. 水道水質検査精度管理に関する研修会資料(2008). 平成20年8月26日. 厚生労働省健康局水道課.

イオンクロマトグラフィーによる塩素酸及び陰イオンの一斉分析法の検討

村元 達也 健名 智子 小玉 修嗣 高柳 信孝

A Study of Simultaneous Determination of Anion and Chlorate Ion Using Ion Chromatography

Tatsuya MURAMOTO, Tomoko KENMEI, Syuji KODAMA
and Nobutaka TAKAYANAGI

はじめに

水道水は一般に次亜塩素酸ナトリウムを用いた塩素注入により消毒されている。近年、次亜塩素酸ナトリウムを長期間貯蔵すると、酸化により塩素酸濃度が上昇することがあり、それを消毒に用いると水道水中の塩素酸濃度の上昇が起こることが明らかになった。そこで厚生労働省は、水質基準省令などを改正して、平成20年4月1日より塩素酸を水道水の水質基準項目に追加することとした。その基準値は、「0.6mg/L以下であること」とされた。

塩素酸の測定はイオンクロマトグラフィー法で行うが、従来の陰イオンの一斉分析法では塩素酸と臭素のピークが重なるため、溶離液、カラムなどの条件を変えた測定法を必要とする。また、水道水に亜塩素酸が含まれていると残留塩素等との酸化反応により塩素酸が生成される可能性がある。そのため、塩素酸の発生を抑制する前処理としてエチレンジアミン(EDA)の添加が必要となる。これら新しい条件で前処理を行い、塩素酸及び陰イオンの一斉分析法の検討を行ったので報告する。

材料と方法

- イオンクロマトグラフィーの装置構成と測定条件
ポンプ；東ソー CCPD ポンプ
インジェクター；島津 SIL-10AXL オートインジェクター
恒温槽；島津 CTO-6A
検出器；東ソー CM-8010電気伝導度検出器（ノンサプレッサ方式）
分析カラム；Shodex IC NI-424 (4.6mm I.D×10cm)
流速；1.0ml/min.

溶離液；4-ヒドロキシ安息香酸/Bis-Tris/フェニル
ほう酸/CyDTA (8,2.8,2,0.0005mmol/L)

データ処理装置；島津 C-R4A

カラム温度；40℃

注入量；200 μ l または 50 μ l

- EDA 溶液添加時の塩素酸の保存性
先に述べたように、亜塩素酸の酸化により塩素酸が精製される。この酸化反応を抑制するためには、EDA を添加することが有効である。EDA による塩素酸の保存性を確認するために、以下のような実験を行った。精製水に塩素酸および亜塩素酸を各0.1 mg/L 添加し、200ml とした。一方はそのままで、他方には EDA 溶液 50mg/mL を 0.2ml 添加した。その後冷暗所に保存し、1週間おきにイオンクロマトグラフィーで測定を行いその推移を見た。
- 混合標準液の調製と EDA 添加試験
これまで陰イオン測定の際には、フッ素イオン、塩素イオン、臭素イオン、亜硝酸イオン、硝酸イオン、硫酸イオンの一斉分析を行ってきた。これらと同時に塩素酸イオンも測定するために、混合標準液を調製し、EDA を添加した時のクロマトグラムの各ピークを確認した。各々の濃度は、 F^- ；1.003 mg/L, Cl^- ；10.04 mg/L, NO_2^- ；0.998mg/L, ClO_3^- ；0.499mg/L, Br^- ；0.500mg/L, NO_3^- ；10.01 mg/L, SO_4^{2-} ；10.03 mg/L である。
- 添加回収試験
水道水に上で調製した濃度の塩素酸を含む混合標準液を添加し、添加回収試験を行った。
- 定量下限値の確認
塩素酸の基準値は0.6mg/L と定められている。浄水において基準値の1/10まで測定できる必要があるため、当所の測定条件における定量下限値を求めるために、塩素酸0.06～0.01mg/L を調製して並行試験を行った。変動係数が10%にあたる濃度から、定量下限値を算出した。

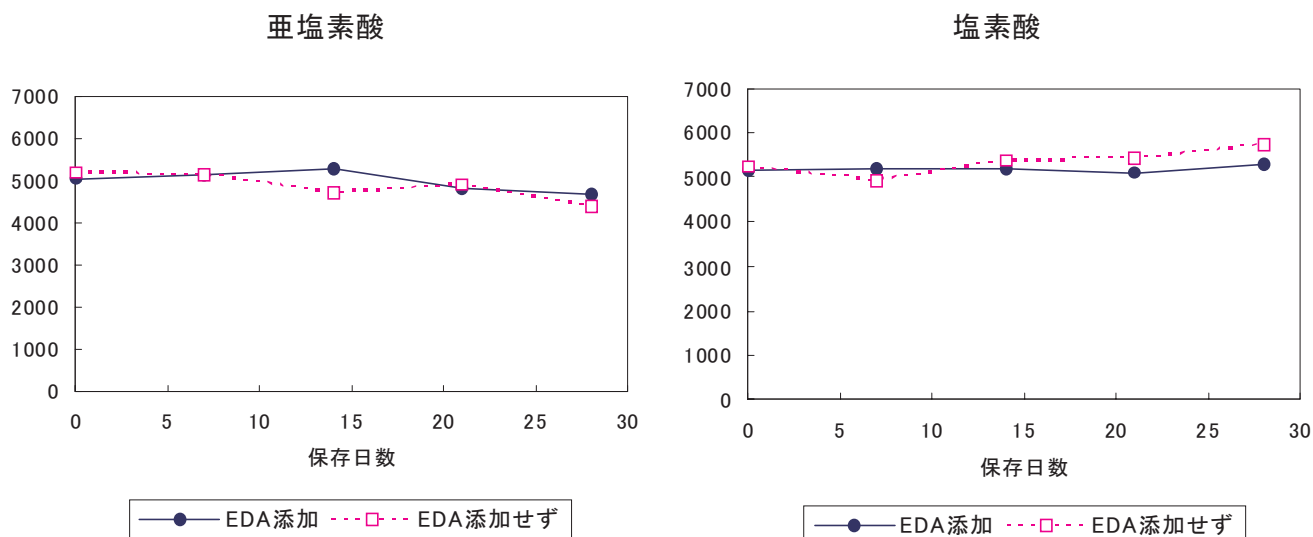


図1. 精製水から調製した亜塩素酸、塩素酸のピーク面積値の推移

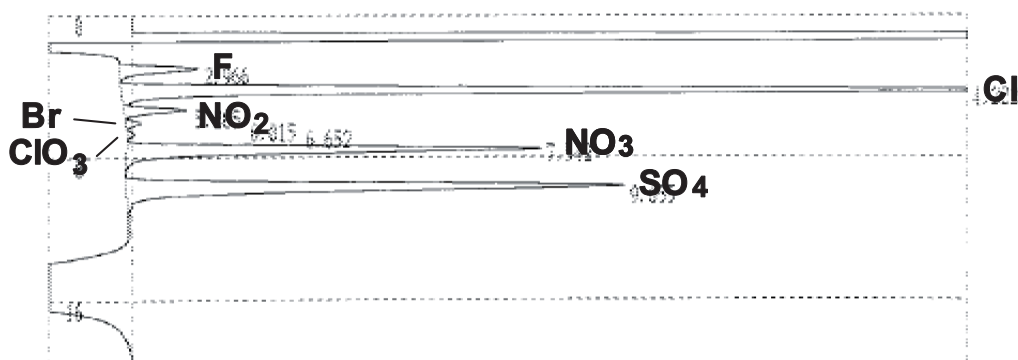


図2. 塩素酸を含む混合標準液のクロマトグラム (EDA 添加)

結果と考察

1. EDA 添加試験

1週間おきに測定した亜塩素酸、塩素酸のピーク面積の推移をグラフにして図1に示す。これを見ると、EDA を添加しない場合は、塩素酸のピーク値が徐々に上がる傾向がみられた。一方、亜塩素酸は徐々に減少した。これらの結果は、亜塩素酸の酸化反応により塩素酸が増加したためと考えられる。EDA を添加した混合標準液の場合、塩素酸は1ヶ月間ほぼ同じ数値を保っていた。このことから、EDA の添加は亜塩素酸の酸化反応を抑制し、塩素酸の保存に有効であると言える。

2. 混合標準液

新しいカラムや溶離液を用いた条件で混合標準液の各ピークを確認したところ、塩素酸イオンピークが臭素イオンと硝酸イオンのピークのにきれいな形状で現れている。フッ素イオンピークはウォーターディップから十分離れており、他のイオンのピーク

形状も良好であったことから、陰イオンの一斉分析が可能となった。得られたクロマトグラムを図2に示す。EDA を添加した混合標準溶液について、添加前の混合標準溶液とピーク面積を比較したところ、フッ素、臭素、塩素酸イオンにおいて若干の減少はあるものの、ほぼ同じレスポンスと保持時間が得られた。また、2週間を経過した後もそれぞれのイオンについて同じレスポンスが得られたため、EDA

表1 水道水に対する添加回収率

	添加量 (mg/L)	添加前 (mg/L)	添加後 (mg/L)	回収率 (%)
F ⁻	1.00	0.031	1.019	99
Cl ⁻	10.0	0.762	1.677	92
NO ₂ ⁻	1.00	ND	0.974	97
Br ⁻	0.50	ND	0.981	98
ClO ₃ ⁻	0.50	ND	0.940	94
NO ₃ ⁻	10.0	0.114	1.117	100
SO ₄ ²⁻	10.0	0.600	1.547	95

による塩素酸の保存性も確認された。

3. 添加回収試験

水道水に混合標準液を添加して添加回収試験を行ったところ、表1のような結果が得られた。すべてのイオンで添加回収率が90-110%の範囲に収まっているため、添加回収試験は良好な結果が得られたと言える。

4. 定量下限

5回の並行測定により各濃度における変動係数を求めた（表2）。このことから、本所での装置構成、測定条件による塩素酸の定量下限値は0.03mg/Lであり、これは塩素酸の基準値の1/10にあたる0.06mg/Lに比べ十分低い値と言える。

表2 塩素酸イオンの測定値

調製濃度(mg/L)	測定値(mg/L)	変動係数(%)
0.06	0.052	5.9
0.05	0.049	5.8
0.04	0.043	8.4
0.03	0.035	8.2
0.02	0.025	22.1
0.01	0.014	20.5

ま と め

- (1) 適切なカラム，溶離液を用いることで，塩素酸を含む陰イオンの陰イオンの一斉分析が可能であることを確認した。
- (2) この陰イオン一斉分析法では EDA50mg/L を添加することによって，冷暗所で約4週間塩素酸の保存安定性を確認した。
- (3) 水道水を用いた添加回収試験は良好な結果が得られた。
- (4) 塩素酸の定量下限値は0.03mg/L で，これは基準値の1/10（0.06mg/L）より十分低い値であった。

文 献

1. 平成19年厚生労働省令第135号
2. 平成19年厚生労働省告示第386号
3. 日本水道協会 上水試験法2001
4. 日本水道協会 第58回全国水道研究発表会講演集

4. 業

績

(1) 誌 上 発 表

[原 著]

1) 富山県衛生研究所における同定依頼検査で記録した富山県内のノミ被害

山内健生, 渡辺 護*

昆虫 (ニューシリーズ), 11(2): 95-98, 2008

Twenty-nine cases of injury caused by flea in Toyama Prefecture from 1973 to 2006 were reported based on the evidence of identification service by the Toyama Institute of Health. Causative flea species were *Ctenocephalides canis* (1 case), *Ctenocephalides felis felis* (22 cases), *Ctenocephalides* sp. (3 cases), *Monopsyllus anisus* (2 cases) and *Nosopsyllus fasciatus* (1 case). Most of injuries were of human infestation or flea appearance in the room. Other rare cases were contamination of *C. f. felis* into a commercial product, human infestation by *M. anisus*, and larvae of *M. anisus* as a nuisance pest.

2) *Stibarobdella macrothela* (Annelida: Hirudinida: Piscicolidae) from elasmobranchs in Japanese waters, with new host records

Yamauchi, T., Ota, Y.* & Nagasawa, K.*

Biogeography, 10: 53-57, 2008

The piscicolid leech *Stibarobdella macrothela* (Schmarda, 1861) was collected from three elasmobranchs (ornate eagle ray *Aetomylaeus vespertilio*, banded houndshark *Triakis scyllium*, and tiger shark *Galeocerdo cuvier*) in Japanese waters. The first two species (*A. vespertilio* and *T. scyllium*) are new hosts, and *G. cuvier* is newly recorded as a host in Japan. The external morphology of the smallest leech specimen (total length 16 mm) is figured.

3) Geographical distribution of *Ozobranchus jantseanus* (Annelida: Hirudinida: Ozobranchidae) in Japan

Yamauchi, T. & Suzuki, D.*

Medical Entomology and Zoology, 59(4): 345-349, 2008

The geographical distribution of the ozobranchid leech *Ozobranchus jantseanus*, a parasite of freshwater turtles, was investigated via field surveys in Honshu, Shikoku, and Kyushu, Japan. As a result, new distributional records were found in Honshu (south of Ishikawa Pref.) and northern Shikoku. The host species of *O. jantseanus* were the Reeve's pond turtle *Chinemys reevesii* and the Japanese pond turtle *Mauremys japonica*. Most of the leeches were found in the folds of soft tissue

平成21年12月 1 日

between the carapace and the plastron of the turtles. Some of them were found in the orbital cavity or on the carapace. Moreover, clumps of their eggs were often observed attached to the carapace.

4) 日本産ウオビル科およびエラビル科ヒル類の目録 (1895~2008年)

長澤和也*, 山内健生, 海野徹也*

日本生物地理学会会報, 63: 151-171, 2008

1895-2008年に出版された文献と琵琶湖博物館に保管されていた標本の観察等に基づき, 以下の日本産ウオビル科3亜科14属17種4未同定種, 同科6未確定種およびエラビル科1属3種1未同定種の合計20種5未同定種6未確定種に関する情報を種ごとに整理した: キタノカニビル (新称) *Johanssonia arctica*, ヒダビル *Limnotrachelobdella okae*, マミズヒダビル (新称) *L. sinensis*, ニホンウミビル (新称) *Orientobdella japonica*, ナミウオビル *Piscicola geometra*, エゾビル (新称) *Taimenobdella amurensis*, カザリビル *Trachelobdella livanovi*, カザリビル属の未同定種 *Trachelobdella* sp. 1, *Trachelobdella* sp. 2 (以上, ウオビル亜科 [新称] Piscicolidae); ウオビル *Beringobdella rectangulata*, ゴマフウオビル (新称) *Crangonobdella maculosa*, モンツキウオビル (新称) *C. orientalis*, ムチウオビル *Heptacyclus virgatus*, カニビル *Notostomum cyclostomum*, カキビル *Ostreobdella kakibir*, キタノウオウオビル (新称) *Platybdella olriki*, キタノウオビル属の未同定種 *Platybdella* sp. 1, *Platybdella* sp. 2, エイビル *Pterobdella amara* (以上, キタノウオビル亜科 [新称] Platybdellinae); アカメウミビル *Stibarobdella macrothela*, メナシウミメビル *S. moorei* (以上, ウミビル亜科 [新称] Pontobdellinae); ヨツメカニビル *Carcinobdella bimaculata*, ムツメカニビル *C. tigrina*, ツツウオビル *Ichthyobdella pagri*, タテヤマウオビル *Pontobdella tatejamensis*, ウオビル科の未確定種 Piscicolidae gen. sp. 1, Piscicolidae gen. sp. 2 (以上, ウオビル科未確定種); ウミエラビル *Ozobranchus branchiatus*, スマエラビル *O. jantseanus*, マルゴエラビル *O. margoi*, スマエラビル類似種 *Ozobranchus* sp. cf. *jantseanus* (以上, エラビル科). 本目録で, マルタをヒダビルのわが国における新宿主として認めるとともに, 西表島産海水魚に寄生していたカザリビル属の未同定種 *Trachelobdella* sp. 2を新たに追加した.

5) Occurrence of epidermoptid mites (Acari: Astigmata: Epidermoptidae) in Japan, with its hyperparasitic record on the louse fly *Ornithomya avicularia aobatonis* (Diptera: Hippoboscidae)

Yamauchi, T. & Kuroki, T.*

Comparative Parasitology, 76 (1): 93-99, 2009

This report describes the hyperparasitism of *Hemimyialges macdonaldi* (Evans, Fain, and Bafort) (Acari: Astigmata: Epidermoptidae) on louse flies *Ornithomya avicularia aobatonis* (Matsumura) (Diptera: Hippoboscidae) found on a Eurasian Sparrowhawk *Accipiter nisus nisosimilis* (Tickell) (Falconiformes: Accipitridae) in western Honshu, Japan. This is the first record of the family Epidermoptidae in Japan. Moreover, this is the first case of hyperparasitism on louse flies in Japan and the first record of mite/fly and mite/bird host. Gravid female, nongravid female, immature male, and the egg of *H. macdonaldi* are figured.

6) Survey of tick fauna possessing the ability to act as vectors of rickettsiosis in Toyama Prefecture, Japan

Yamauchi, T., Obara, M., Watanabe, M.*, Ando, S.*, Ishikura, M.*, Shinagawa, Y., Hasegawa, S., Nakamura, K., Iwai, M., Kurata, T. & Takizawa, T.

Medical Entomology and Zoology, 60 (1): 23-31, 2009

During 1991-2007 a total of 3,562 ixodid ticks were collected by flagging at altitudes from 20 to 1,470 m in Toyama Prefecture. Two genera and nine species were identified as follows: *Haemaphysalis flava*, *H. japonica*, *H. kitaokai*, *H. longicornis*, *H. megaspinosa*, *Ixodes monospinosus*, *I. nipponensis*, *I. ovatus*, and *I. persulcatus*. *Ixodes ovatus* was the most dominant species at elevations of 400 m and above, but was also distributed at the low altitudes. *Haemaphysalis flava* was predominant below 401 m above sea level. *Haemaphysalis kitaokai*, *H. megaspinosa*, and *I. monospinosus* were newly recorded in Toyama Prefecture. Rickettsial DNA detected from *I. monospinosus* was closely related to *Rickettsia helvetica*, indicating a potential threat of spotted fever group rickettsial infection in Toyama Prefecture.

7) コクサッキーウイルス B2型によると考えられた手足口病様発疹症の集団発生

正木明夫*, 中山亜希代*, 岩井雅恵, 滝澤剛則

小児感染免疫, 20, 301-305, 2008

2007年7月から8月にかけて、富山県内の1保育園で発熱、水疱性の発疹を主訴とする感染症が流行した。0歳児クラス15名中7名が発症し、続いて約1週間後に1歳児クラス10名中3名が発症した。発疹は、0歳児では前腕、膝、足背に出現し、1歳児では主として膝、または臀部、硬口蓋にごく少数の発疹があった程度で、0歳児クラスの患児ほどはっきりとした発疹ではなかった。いずれの年齢でも発疹は、手掌、足底には認められなかった。1名の患児の糞便からコクサッキーウイルス B2型（以後 CB2と略す）が検出されたことから、CB2感染が原因となった可能性のある手足口病様発疹症の集団発生と考えられた。

8) Characterization of neutralizing epitopes of varicella-zoster virus glycoprotein H.

Akahori Y*, Suzuki K*, Daikoku T*, Iwai M, Yoshida Y*, Asano Y*, Kurosawa Y*, Shiraki K.*

Journal of Virology, 83, 2020-2024, 2009

Varicella-zoster virus (VZV) glycoprotein H (gH) is the major neutralization target of VZV, and its neutralizing epitope is conformational. Ten neutralizing human monoclonal antibodies to gH were used to map the epitopes by immunohistochemical analysis and were categorized into seven epitope groups. The combinational neutralization efficacy of two epitope groups was not synergistic. Each epitope was partially or completely resistant to concanavalin A blocking of the glycomoiety of gH, and their antibodies inhibited the cell-to-cell spread of infection. The neutralization epitope comprised at least seven independent protein portions of gH that served as the target to inhibit cell-to-cell spread.

平成21年12月1日

- 9) Continuous presence of noroviruses and sapoviruses in raw sewage reflects infections among inhabitants of Toyama, Japan (2006 to 2008)

Masae Iwai, Sumiyo Hasegawa, Mayumi Obara, Kazuya Nakamura, Eiji Horimoto, Takenori Takizawa, Takeshi Kurata, Shun-ichi Sogen*, Kimiyasu Shiraki*

Applied and Environmental Microbiology, 75, 1264-1270, 2009

Various genotypes of norovirus (NoV) (genogroup I genotype 1 [GI.1], -2, -4, -5, -8, -11, -12, and -14; GII.3, -4, -6, -7, -10, -13, -14, and -15), and sapovirus (SaV) (GI.1 and GI.2, GII.1, and GIV.1) were detected from raw sewage from April 2006 to March 2008, while limited numbers of genotypes of NoV (GI.8, GII.4, GII.6, and GII.13) and SaV (GII.3 and GIV.1) and of NoV (GI.4, GII.7, and GII.13) were detected from clinical cases and healthy children, respectively. During the winter 2006 to 2008, a large number of sporadic gastroenteritis outbreaks and many outbreaks caused by NoV GII.4 occurred among inhabitants in Toyama, Japan. The copy number of genomes of NoV GII detected from raw sewage changed in relation to the number of outbreaks. NoV strains of the same genotypes observed in both raw sewage and human specimens belonged to the same cluster by phylogenetic analysis and had almost identical nucleotide sequences among each genotype. These data suggest that NoVs and SaVs detected from raw sewage reflect the viruses circulating in the community, irrespective of symptoms, and that subclinical infections of NoV are common in Japan. Combined surveys of raw sewage with those of clinical cases help us to understand the relationship between infection of these viruses and gastroenteritis.

- 10) Identification of Monomorphic and Divergent Haplotypes in the 2006-2007 Norovirus GII/4 Epidemic Population by Genomewide Tracing of Evolutionary History

Kazushi Motomura*, Tomoichiro Oka*, Masaru Yokoyama*, Hiromi Nakamura*, Hiromi Mori*, Hirotaka Ode*, Grant S. Hansman*, Kazuhiko Katayama*, Tadahito Kanda*, Tomoyuki Tanaka*, Naokazu Takeda*, Hironori Sato*, and the Norovirus Surveillance Group of Japan

Journal of Virology, 82, 11247-11262, 2008

Our norovirus (NoV) surveillance group reported a >4-fold increase in NoV infection in Japan during the winter of 2006-2007 compared to the previous winter. Because the increase was not linked to changes in the surveillance system, we suspected the emergence of new NoV GII/4 epidemic variants. To obtain information on viral changes, we conducted full-length genomic analysis. Stool specimens from 55 acute gastroenteritis patients of various ages were collected at 11 sites in Japan between May 2006 and January 2007. Direct sequencing of long PCR products revealed 37 GII/4 genome sequences. Phylogenetic study of viral genome and partial sequences showed that the two new GII/4 variants in Europe, termed 2006a and 2006b, initially coexisted as minorities in early 2006 in Japan and that 2006b alone had dominated over the resident GII/4 variants during 2006. A combination of phylogenetic and entropy analyses revealed for the first time the unique amino acid substitutions in all eight proteins of the new epidemic strains. These data and computer-assisted structural study of the NoV capsid protein are compatible with a model of antigenic drift with tuning of the structure and functions of multiple proteins for the global outgrowth of new GII/4 variants. The availability of comprehensive information on genome sequences and unique protein

changes of the recent global epidemic variants will allow studies of diagnostic assays, molecular epidemiology, molecular biology, and adaptive changes of NoV in nature.

11) 当医院における最近3シーズン（2005/06～2007/08）のインフルエンザ発生状況

正木明夫*, 堀元栄詞, 松浦久美子*, 滝澤剛則

小児感染免疫 20, 451-463, 2008

当医院におけるインフルエンザ患者について調査した結果, 2005/06～2007/08までの3シーズンとも3種類のウイルス (AH1型, AH3型, B型) による混合流行であった. 2005/06シーズンはAH3型が主流を占め, 2006/07シーズンはAH3型とB型の同時流行であり, 2007/08シーズンではAH1型が主流を占めた. AH1型分離株では2007/08年にワクチン株と抗原性のずれ (ホモ HI 価と8倍以上の差) が著明であった. AH3型分離株では2006/07年にワクチン株との抗原性のずれが目立った. B型では2005/06, 2007/08年にワクチン株とは系統の異なる株が分離された. また3シーズン中のインフルエンザ罹患患者におけるワクチン接種および非接種を調査したところ, ワクチン株と分離株の抗原性が類似したシーズンにおいてもウイルス分離者の24～50%にワクチン接種者が認められた.

12) Single Base Substitutions in the Capsid Region of the Norovirus Genome during Viral Shedding in Cases of Infection in Areas Where Norovirus Infection Is Endemic

Mayumi Obara, Sumiyo Hasegawa, Masae Iwai, Eiji Horimoto, Kazuya Nakamura, Takeshi Kurata, Naohito Saito, Hiroshi Oe*, and Takenori Takizawa

Journal of Clinical Microbiology, 46, 3397-3403, 2008

Norovirus (NoV) infections are the major cause of food- and waterborne nonbacterial gastroenteritis in Japan. Some individuals showed long-term excretion of the virus into feces in 29 outbreaks of acute nonbacterial gastroenteritis that occurred in Toyama Prefecture, Japan, in fiscal year 2006. In one of these cases, single base substitutions from A to G in the capsid region of the NoV genome were commonly detected in two individuals during virus shedding by direct sequencing of PCR products. The A-to-G substitution was accompanied by an N-to-S amino acid change. The population of clones that possessed A at the corresponding site was gradually replaced by those with G during the infectious course. Although other substitutions were observed in the complete open reading frame-2 sequence, they were not common in these two individuals. NoVs are capable of evolving in the gastroenteric tract.

13) An optical rotatory detector for high-performance liquid chromatography using polarization modulation

Atsushi Yamamoto*, Mio Kawai*, Mitsunori Sakamoto*, Shuji Kodama, Kazuichi Hayakawa*

Anal. Sci., 24, 361-364, 2008

平成21年12月 1 日

A sensitive and variable-wavelength optical rotatory (OR) detector for high-performance liquid chromatography is presented. This design is entirely different from that of conventional OR detectors consisting of a crossed polarizer pair. By placing a polarizing prism and a retardation plate into a commercial circular dichroism (CD) detector, the OR signal was obtained. The Mueller matrix approach was used to prove the principle of the OR signal appearance. Sugars and 4-androstene-3,17-dione were chosen as test compounds. The limit of detection was below 0.5 mg of injected sucrose at 260 nm, which was superior to that obtained with a conventional OR detector. For 4-androstene-3,17-dione, which is CD active, and shows a large anomalous OR dispersion curve, our detector gave a large OR signal with approximately half the intensity of the CD signal at 340 nm.

14) Analysis of an antibody pharmaceutical, tocilizumab, by capillary electrophoresis using a carboxylated capillary

Atsushi Taga*, Soichiro Kita*, Kaori Nishiura*, Tomonori Hayashi, Mitsuhiro Kinoshita*, Atsushi Sato*, Kentaro Suzuki*, Shuji Kodama, K Kakehi*

J. Sep. Sci., 31, 853-858, 2008

Antibody pharmaceuticals are becoming more and more prevalent due to their excellent effectiveness in clinical medications, and are expected to allow tailor-made medical treatment for rheumatic diseases, immunosuppression in cardiac transplantation, and cancer. Antibody-type pharmaceuticals of immunoglobulin G (IgG) commonly have N-glycosylated carbohydrate chains attached to heavy chains. The carbohydrate chains play important roles in the effectiveness of antibodies. Therefore evaluation of a glycosylated species is important in the first step of quality control of antibody pharmaceuticals. In the present work, we examined capillary electrophoresis with a newly developed, chemically modified capillary, the inner surface of which is modified with carboxyl groups, for evaluation of IgG molecular species which have carbohydrate chains; tocilizumab was used as a model. The analytical system developed in the present study is useful for determining the content of non-glycosylated peptides. In the analysis of tocilizumab, the ratio of non-glycosylated peptide was estimated to be 1.23 % with a relative standard deviation of 3.05 %. The method affords high reproducibility with simple operation, and analysis can be completed within 6 min.

15) Determination of adulteration in apple juice by HPLC with novel optical rotation detector

Atsushi Yamamoto*, Mio Kawai*, Toshio Miwa*, Tomoyasu Tsukamoto*, Shuji Kodama, Kazuichi Hayakawa*

J. Agric. Food Chem., 56, 7302-7304, 2008

A simple HPLC method for the determination of adulteration in apple juice was developed. The method is based on the detection of D-malate, derived from racemic malic acid, which is added as an acidulant. A variable-wavelength optical rotation detector was used to determine the enantiomeric excess (ee). Using anion-exchange chromatography with a phosphate buffer eluent and UV (210 nm) detection, the limit of detection for L-malate was 2 mg. With an injection of 13.4 mg of malate, the standard deviation of the ee calibration curve was 2.5 %. Several apple juice samples were analyzed according to the proposed procedure, and the results agreed with those

obtained using enzymatic kits for food analysis.

- 16) A fast and simple analysis of glyphosate in tea beverages by capillary electrophoresis with on-line copper(II)-glyphosate complex formation

Shuji Kodama, Yuji Ito*, Atsushi Taga*, Yoko Nomura*, Atsushi Yamamoto*, Satoshi Chinaka*, Kenraro Suzuki*, Tomohisa Yamashita, Tomoko Kemmei, Kazuichi Hayakawa*

J. Health Sci., 54, 602-606, 2008

Glyphosate is an herbicide used for many plants that can be toxic to humans in high doses. Current methods for measuring glyphosate are slow and expensive. Here we describe a fast and simple method for measuring glyphosate in tea beverages by capillary electrophoresis with on-line formation of copper (II) -glyphosate complex. The optimum running conditions were found to be 40 mM acetate buffer (pH 5.0) containing 5 mM CuSO₄ with an effective voltage of +15 kV using a sulfonated capillary (FunCap-CE Type S) and direct UV detection at 250 nm. Linearity ($r^2 > 0.999$) was demonstrated in the range 5-1000 mg/L of glyphosate. Good reproducibilities of peak area (relative standard deviation < 1.2 %) and migration time (relative standard deviation < 0.2 %) were obtained. Recovery of glyphosate was between 98 and 100 %. With this method, a tea beverage that was mixed with a glyphosate formulation was successfully analyzed.

- 17) Study of solid-phase extraction for the determination of sequestering agents in river water by high-performance liquid chromatography

Tomoko Kemmei, Shuji Kodama, Tatsuya Muramoto, Hironori Fujishima*, Atsushi Yamamoto*, Yoshinori Inoue*, Kazuichi Hayakawa*

J. Chromatogr. A, 1216, 1109-1114, 2009

Anion-exchange solid-phase extraction accompanied with high-performance liquid chromatography has been developed for the determination of six kinds of aminopolycarboxylic acids (APCAs) in river water [N-(2-hydroxyethyl) ethylenediaminetriacetate (HEDTA), ethylenediaminetetraacetate (EDTA), 1,3-propane-diaminetetraacetate (PDTA), diethylenetriaminepentaacetate (DTPA), 1,2-propane diaminetetraacetate (MeEDTA), and O,O'-bis (2-aminoethyl) ethyleneglycoltetraacetate (GEDTA)]. The enrichment of APCAs using an anion-exchange cartridge was successfully done by the removal of anions, which competed with APCAs in anion-exchange processes. Barium chloride solution was added to river water and the mixture was passed through On Guard II Ag and H cartridges and then a Bond Elut Jr. SAX cartridge to enrich APCAs. After elution, APCAs were analyzed on two reversed phase C30 columns connected in series and detected with ultraviolet detection. The enrichment using solid-phase extraction permitted the determination of APCAs in river water at concentrations as low as 1 nM. Good recoveries (83-111%) were obtained for each APCA by the standard addition method on three river water samples with high accuracy (RSD 1.8-9.5%). Applying this method, two kinds of APCAs, EDTA and DTPA, were determined in samples from the Oyabe and Senbo Rivers in Japan.

18) Dietary intake and urinary excretion of selenium in the Japanese adult population: the INTERMAP Study Japan

S. Yoneyama*, K. Miura*, K. Itai*, K. Yoshita*, H. Nakagawa*, T. Shimmura, A. Okayama*, K. Sakata*, S. Saitoh*, H. Ueshima*, P. Elliott* and J. Stamler*, for the INTERMAP Research Group

European Journal of Clinical Nutrition 62, 1187-1193, 2008

Objective: This study is to examine the relationship between dietary selenium intake and 24-h urinary selenium excretion in Japanese population samples participating in the INTERMAP study.

Method: Using standardized methods, we assessed individual dietary selenium intake from four 24-h dietary recalls and measured urinary selenium excretion in two timed 24-h urine collections in 1145 Japanese participants (574 men and 571 women) ages 40-59 years in four areas of Japan.

Results: The medians of dietary selenium intake were 177.5 mg/day in men and 139.8 mg/day in women; the median of 24-h urinary selenium excretion were 127.9 mg/day in men and 109.4 mg/day in women, that is, urinary excretion was estimated to be 73% of dietary intake in men and 77% in women. Dietary selenium intake was significantly correlated with 24-h urinary selenium excretion ($r=0.24$ in men, $r=0.18$ in women; $P<0.001$). With dietary selenium intake and urinary selenium excretion expressed per kg of body weight, values were similar for men and women (dietary intake, 2.7 mg/kg body weight in men and 2.5 mg/kg body weight in women; urinary excretion of selenium, 2.0 mg/kg body weight in men and 2.0 mg/kg body weight in women).

Conclusion: Dietary intake and 24-h urinary excretion of selenium are related in Japanese adult population.

[著書・総説・解説]

1) 富山県における環境水ウイルスサーベイランスの疫学的意義

岩井雅恵, 松浦久美子*, 滝澤剛則

臨床とウイルス, 36, 127-133, 2008

富山県では、約30年間にわたって、河川水や下水流入水など環境水中のウイルスサーベイランスを行い、エンテロウイルス、ポリオウイルス、レオウイルスなど様々なウイルスを分離同定し、それらの経年変化や個々のウイルスの調査を行ってきた。ポリオウイルスの検出頻度は、1980年から1990年代の間に顕著に減少したが、その要因として、下水道や紙おむつが普及し衛生環境が整備されたことや、出生数が減少傾向にあることなどが考えられた。ヒトエンテロウイルス B 群 (HEV-B) は、年ごとに様々な型が検出された。特に、2002年に河川水とヒトから検出されたエコーウイルス13型 (E13) は、VP1 領域の相同性が極めて高いことが判明した。2000年と2003年の間で E13 に対する若年層の抗体保有率が顕著に上昇していたことから、河川から検出された E13 は、地域住民間の流行を反映していることがわかった。このように、HEV-B の河川からの検出頻度が経年で減少傾向を示さないのは、地域の衛生環境よりもむしろ住民の感染状況に影響されるためと考えられた。1993年以降に分離されたポリオウイルスのなかに、強毒株に類似した抗原性状を示す株が存在した。これらの分離株に対する住民の抗体保有状況を検討したところ、抗体保有率はワクチン株に対する保有率と同等であり、感染防御に十分であることが判明した。以上のように、環境水調査は、地域住民のウイルス感染状況の

把握や、不顕性あるいは感染の恐れのあるウイルスの性状解析が可能であり、疫学的に有意義であると考えられた。

2) Mechanisms and consequences of phagocytosis of influenza virus-infected cells

Yoshinobu Nakanishi*, Yumi Hashimoto*, Takenori Takizawa, Akiko Sihratsuchi*

Anti-inflammatory & anti-allergy agents in medicinal chemistry, 7, 97-100, 2008

Influenza virus-infected cells are induced to undergo apoptosis and become susceptible to phagocytosis. Data from our in vitro and in vivo experiments have suggested that 1) alveolar macrophages and neutrophils phagocytose influenza virus-infected cells in an apoptosis-dependent manner, 2) the membrane phospholipid phosphatidylserine and viral neuraminidase-processed carbohydrates at the surface of target cells and phagocytes, respectively are involved in the association of the two types of cells; and 3) phagocytic elimination of virus-infected cells leads to a reduction in the pathogenesis of influenza. These findings could lead to the development of a novel antiviral agent against influenza.

[報 告]

1) 平成17年度～平成19年度科学研究費補助金（基盤研究（C））研究成果報告書

「キラル配位子交換法の新展開ーボロスピラン形成に基づく光学分割法の開発」(課題番号 17550092)

研究代表者：小玉修嗣，研究分担者：山本敦*，會澤宣一*

ホウ酸イオンを中心イオンに用いた新規なキラル配位子交換キャピラリー電気泳動法を開発し、種々のジオール化合物の他、ポリオール構造を有する単糖類の光学異性体分析に適用できることをみいだした。

2) イノシシと共に分布を拡大しつつあるマダニ類に関する研究

分担研究者：滝澤剛則，協力研究者：山内健生，小原真弓，渡辺 護*

厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 地球温暖化に伴い変化する感染症に対する早期防御法確立に関する研究（H20-新興-一般-015） 平成29年度総括・分担研究報告書. pp. 63-65.

2008年に富山県内で捕獲されたイノシシの外部寄生虫を調査したところ、富山県では初の記録となるタカサゴチマダニと野外において未確認であったタカサゴキラマダニを含む5種のマダニ類が採集された。タカサゴチマダニは、南西諸島や東南アジアなどに広く分布する南方系の種であり、富山県が本種の分布北限となる。タカサゴキラマダニは、南西諸島や東南アジアなどに広く分布する南方系の種であり、富山県では本種による1例の人体刺咬症例が報告されていたが、野外での採集例はなかった。両種は、富山県衛生研究所が1991年から実施している富山県内のマダニ調査で一度も発見されていないことから、近年のイノシシの分布拡大に伴って富山県へ分布を拡大しつつあるのかもしれない。

平成21年12月1日

3) 富山県におけるつつが虫病に関する調査とマダニ類調査及び東海北陸地域のリケッチア感染症について

分担研究者：倉田 毅，協力研究者：小原真弓，山内健生，渡辺 護*，品川保弘，中村一哉，堀元栄詞，長谷川澄代，岩井雅恵，滝澤剛則

厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築 平成20年度総括・分担研究報告書. pp. 67-72.

富山県内のつつが虫病および紅斑熱の浸淫状況を調査するため，野生げっ歯類およびマダニ類の調査を行った．東海北陸ブロック内におけるつつが虫病および日本紅斑熱の患者発生状況を調査した．

4) 戸別民家における蚊の発生状況と簡便な発生抑止策の検討

分担研究者：小林睦生*，協力研究者：渡辺 護*，山内健生

厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 節足動物媒介感染症の効果的な防除等の対策研究 (H18-新興-一般-009) 平成20年度総括・分担研究報告書. pp. 137-144.

地方都市の都市部と農村部の2箇所に，昨年同様にドライアイス誘引トラップ（CDC 型）を用いて，蚊の発生状況の観察を行ったところ，都市部ではヒトスジシマカとアカイエカがほぼ同量，農村部ではコガタアカイエカが圧倒的に多数捕集された．

その都市部の戸建民家においてベランダなどに吊るす，市販防虫用品を設置し蚊に対する効果を実験したところ，明瞭な抑止効果はみられなかった．そこで設置3週間後に，昨年試験を行ったファン式携帯蚊取り器に変更したところ，昨年同様の効果が観察された．

一方，農村部の民家の庭に，容量15Lのバケツに水3Lを入れた4個を一組として，3組用意しそれを庭の北側，南側，西側に1週間放置した．放置後，4個のバケツにそれぞれヒメダカ1対，蚊取り線香3cm，市販蒸散型防虫用品（小型），何もしない（対照）を行い，それ以後の蚊幼虫の発生状況を観察した．ヒメダカを入れたバケツは全てで幼虫の発生は観られなかったが，蚊取り線香ではヒトスジシマカ1回，防虫用品ではアカイエカ1回，ヒトスジシマカの1回の発生が観られた．対照では5ヶ月の間にアカイエカ，ヤマトヤブカ，ヒトスジシマカなどが多数発生した．

5) 戦前戦後のマラリア流行地における蚊の発生状況調査

分担研究者：小林睦生*，協力研究者：渡辺 護*，米島万有子*，大橋 眞*，二瓶直子*，澤邊京子*，山内健生，及川陽三郎*，津田良夫*

厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 節足動物媒介感染症の効果的な防除等の対策研究 (H18-新興-一般-009) 平成20年度総括・分担研究報告書. pp. 145-152.

太平洋戦争の前後にマラリアが流行した滋賀県琵琶湖東岸地域と石川県河北潟において，現時点での蚊の発生状況を把握する調査を行った．琵琶湖東岸地域では8月1日から10月12日まで，3週間おきの2晩ずつ計8夜の捕集調査を行った．3軒の牛舎にはライトトラップを，周辺の環境12地域にはドライアイス誘引 CDC トラップを設置することで行った．一方，河北潟では，干拓地の東端の豚舎に6月から10月まで，毎週水曜日にライトトラップによる捕集調査と，8月9日と30日にドライアイス誘引 CDC トラップを周辺環境に設置することで行った．

琵琶湖東岸地域の3軒の牛舎では合計233,604個体の蚊が捕集され、その93.7%をコガタアカイエカが占めたが、シナハマダラカも6.2%捕集された。CDCトラップでは全体で7888個体が捕集され、その92.9%がコガタアカイエカで、シナハマダラカは1.6%であった。一方、河北潟干拓地東端の豚舎では、13348個体の蚊が捕集されたが、その98.4%がコガタアカイエカであり、シナハマダラカは僅かに0.07%の捕集であった。CDCトラップでは766個体が捕集されたが、その73.4%がコガタアカイエカ、25.9%がアカイエカであり、シナハマダラカは皆無であった。なお、琵琶湖東岸地域および河北潟干拓地東端で得られたシナハマダラカの内、形態的にオオツツルハマダラカと同定された個体の遺伝子解析を行ったところ、全てシナハマダラカと判定された。

6) 戸建住宅において簡便な防蚊対策を行った場合の効果

分担研究者：小林睦生*, 協力研究者：渡辺 護*, 山内健生, 小原真弓

厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 節足動物媒介感染症の効果的な防除等の対策研究 (H18-新興-一般-009) 平成18~20年度総合研究報告書. pp. 71-74.

2003~5年に蚊の発生状況を調査して来た戸建住宅（民家）において、2006年から2008年に、容易に用品が入手出来、作業が簡便で、個人で防蚊対策が行える方法とその効果について検討を行った。2006~7年には、農村部新興住宅団地の住宅において幼虫の発生阻止を主体とする防蚊対策を行い、2007~8年には都市部住宅街の住宅において、成虫の発生阻止を主体とする防蚊対策を行った。さらに、2008年には農村部住宅団地の住宅庭において、バケツを用いたモデル的な蚊の発生抑止実験を行った。

農村部の団地住宅1軒、都市部住宅2軒とも蚊の発生が少なくなった成績が得られ、対策を行わなかった住宅に比べ、防蚊効果が認められた。とくに、ヒトスジシマカに対する効果が、アカイエカに比べ大きく表われた。しかし、これらの効果は絶対的なものでは無く、さらに検討を要することが示唆された。

バケツを用いたモデル実験では、ヒメダカの蚊の発生抑止効果が顕著で、庭などの水溜容器への利用が考えられる。また、市販の蚊取り線香の蚊幼虫の発生抑止効果も認められ、入手と作業の簡便な事から、植木鉢の受け皿や戸別雨水桝など様々な溜水環境への利用が考えられ、日常の蚊の発生抑止に推奨できると思われる。

7) 野鳥類を主とした生態系におけるライム病ボレリア等の存在様式に関する研究

分担研究者：川端寛樹*, 協力研究者：武藤麻紀*, 高野 愛*, 小笠原由美子*, 渡辺治雄*, 坂田明子*, 安藤秀二*, 岸本壽男*, 倉根一郎*, 鶴見みや古*, 尾崎清明*, 藤田博己*, 角坂照貴*, 清島真理子*, 和田康夫*, 馬場俊一*, 千種雄一*, 田原研司*, 山内健生

厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 国内生態系におけるライム病ボレリア等の存在様式に関する研究 平成20年度総括・分担研究報告書

昨年度に引き続き、国内生態系、特に野鳥生態系による病原体拡散を日本全国で行った。

1. 野鳥捕獲は国内31都道府県で行った。野鳥56種より採取されたマダニ1,376個体中のうち、インターナルコントロール-PCR（マダニ mt-rrs PCR）陽性の1,250個体について病原体検索を行い、87個体（7.0%）で *Borrelia* DNA が検出された。この内、ライム病病原体 *B. garinii*（52個体、59.8%）および病原性不明のライム病群ボレリア *B. turdi*（28個体、32.2%）が主なマダニ保有のボレリアとして見いだされた。
2. ライム病ボレリア種は媒介マダニにおいて経卵感染しないとされている。このことから、間接的にはあるが、マダニ幼虫保有ボレリアを調べることで、野鳥が感染しているボレリア種を知ることができる。本研究では、野鳥寄生幼虫から見いだされたボレリア49株については、鞭毛抗原遺伝子 *flaB* による系統解析を

平成21年12月1日

行った。結果、欧州で見いだされるボレリアと同タイプのボレリアが国内にも浸潤していることが明らかとなった。このことは欧州と日本の間で近い過去、ボレリアの移動があったことを示すとともに、これらボレリアが野鳥類に感染していることから、野鳥類を介したボレリアの広域拡散があった可能性が極東諸国で初めて示された。

3. 海外では見いだされないが国内で広く分布しているボレリア *B. japonica* とその媒介ベクターであるヤマトマダニは野鳥類からは見いだされなかった。このことから野鳥の移動に付随して拡散しやすいマダニ種とこれを媒介種とするボレリア種が存在することを示した。

Southern tick associated rash illness (STARI) 型ボレリア感染が疑われた症例を見いだした。

8) 平成18年度～20年度の富山県におけるノロウイルス、サポウイルスの浸淫状況調査

西尾 治*, 中村一哉, 小原真弓, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 倉田 毅, 滝澤剛則

内閣府食品安全委員会 健康影響評価技術研究「生食用カキに起因するノロウイルスリスク評価に関する研究」研究者報告書 pp. 151-166

富山県におけるノロウイルス浸淫状況を知るために、2006年4月から2008年3月の間に、富山県内で発生したウイルス性胃腸炎の集団発生事例、氷見海域で採取された岩ガキ、流入下水、健康者便、養豚糞便中のノロウイルス、サポウイルスを検索し、それらを比較検討した。事例は冬季を中心に発生し、GII/4が主に検出されたが、それ以外の遺伝子型も検出された。流入下水からは、事例から検出された型を含む多種類のGI群、GII群ノロウイルスおよびサポウイルスが、一年を通じて検出された。事例と流入下水から検出される時期は、必ずしも一致しなかった。岩ガキからは検出されなかった。健康者便からは、138検体中1件のみノロウイルスGII群が検出された。健康乳幼児便からは、134検体中GII/4、7、13がそれぞれ3、6、8検体検出された。豚の便からはGII群ノロウイルス、サポウイルスが毎月検出された。これらの多くは従来豚を宿主とするウイルスであったが、ヒト型ウイルスも時に検出された。以上から、地域には多種類のノロウイルス、サポウイルスが多くは不顕性で維持されていること、流入下水はそれらを網羅的に含むこと、海域の汚染の程度は低いことが考えられた。また、これらのウイルスの環境中での維持には、健康者も関わっている可能性が示唆された。豚からもヒト型のノロウイルス、サポウイルスが検出されたが、豚体内での増殖性は不明であり、環境中のウイルス維持における豚の役割は今後の検討課題である。以上から、集団感染事例以外に対象を広げた調査を行うことで、臨床的には探知されにくいながらも、環境に存在しているノロウイルスの動向把握が可能であると考えられた。

9) 富山県におけるノロウイルス・サポウイルスの検出状況

滝澤剛則, 中村一哉, 岩井雅恵, 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 倉田 毅, 田中智之*

厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業「食品中のウイルスの制御に関する研究」平成20年度研究協力報告書 pp. 173-179

本年度は、富山県西部地域に加えて東部地域の浄水場の下水流入水を調査した。その結果、両地域の浄水場の下水流入水から、一年を通じて様々な遺伝子型のノロウイルスが検出された。下水流入水には、主に不顕性に感染して地域に存在するウイルスが含まれるものと考えられた。GI/4、GII/4遺伝子型は両浄水場に共通に検出され、それ以外の様々な遺伝子型は、調査年度や浄水場で検出状況が異なっていた。集団感染事例からはGI/4、8、GII/2、4、6、13と多種の遺伝子型が検出され、昨年度のGII/4が大多数を占めた状況とは異なっ

ていた。下水流入水中のノロウイルス由来を探索するために、健常者として調理従事者及び健常乳幼児の検便の調査を行ったところ、調理従事者延べ120人の検便から GII 群が1件、乳幼児検便134検体から GII/4, 7, 13 がそれぞれ3, 6, 8件検出された。サポウイルスは、集団感染事例、健常者からは検出されなかったが、下水流入水から複数の遺伝子群・型が検出された。

10) ノロウイルス感染症蔓延防止を目指した分子疫学的研究と感染リスク評価系の作製

倉田 毅, 飛梅 実*, 滝澤剛則, 小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 中村一哉, 堀元栄詞

(財) すかいらくフードサイエンス研究所 平成19年度 食に関する助成研究報告書, pp. 77-84

ノロウイルス（以下 NoV）は、世界的に多発している急性感染性胃腸炎の集団発生事例の主な原因ウイルスである。本研究では、感染蔓延の防止、及び感染リスク評価系作成を目的として、富山県における NoV による感染性胃腸炎の集団発生事例、下水処理場の流入水、および下水処理場下流海域のイワガキから検出される NoV の検出状況と遺伝子型とを比較検討した。高度に保存されているカプシド及びポリメラーゼ遺伝子領域を、塩基配列及び系統樹解析に用いた。事例は主に冬季に発生し、それらから GII/13の1事例以外すべて GII/4が検出された。流入下水からは、事例から検出された型を含む多種類の GI 群, GII 群 NoV が、一年中検出された。また、新規遺伝子組換え型 NoV も検出された。イワガキからは NoV は検出されなかったことから、海域の汚染の程度は低いと推定された。以上から、地域住民の間で多種類の NoV が、変化しながら多くは不顕性で維持されており、流入下水はそれらを網羅的に含むと考えられた。したがって、不顕性感染の実態を把握し、遺伝子型と発症との相関を明らかにすることが、感染蔓延の予防と感染リスク評価系構築に有用であると考えられた。

11) 感染症患者情報と病原体情報の評価について（非流行期におけるインフルエンザサーベイランス）

分担研究者：倉田 毅, 協力研究者：堀元栄詞

厚生労働科学研究費補助金：新興・再興感染症研究事業；効果的な感染症サーベイランスの評価並びに改良に関する研究 平成20年度総括・分担研究報告書

非流行期における新型インフルエンザの発生が危惧されていることから、富山県において非流行期（8～11月）におけるインフルエンザサーベイランスを行った。

12) 地方衛生研究所の疫学機能強化に関する研究

研究分担者：前田秀雄*, 研究協力者：神谷信之*, 阿保 満*, 岸本 剛*, 尾関由姫恵*, 小澤邦寿*, 加藤政彦*, 森田幸雄*, 鈴木智之*, 堀元栄詞, 小野塚大介*

厚生労働科学研究費補助金：健康安全・危機管理対策総合研究事業；地域における健康危機に対応するための地方衛生研究所機能強化に関する研究 平成20年度総括・分担研究報告書

自治体が多様化・複雑化する健康危機に迅速的確に対応し、事前予防型政策を推進するために、疫学機能の強化が必須である。そこで、自治体の疫学機能の強化を図るために、記述疫学、分析疫学、介入疫学の各過程における具体的な推進策を地方衛生研究所の機能強化と関連して探求した。

平成21年12月 1 日

13) 環境水サーベイランスによるポリオウイルス伝播の監視

研究分担者：岩井雅恵

厚生労働科学研究費補助金：新興・再興感染症研究事業；ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討 平成20年度総括・分担報告書

不顕性感染を含めた地域住民のポリオウイルス感染状況を把握することを目的に、下水流入水のポリオウイルス分離と型内型鑑別試験を実施した。また、環境水中のウイルス濃縮方法の「フィルター吸着溶出法」の簡便化と効率化のための条件検討を行った。

14) 自然界における動物由来感染症病原体の浸淫状況の把握

分担執筆（ウイルス部，がん研究部），富山県厚生部

平成20年度動物由来感染症予防体制整備事業結果報告書，2008

つつが虫病，紅斑熱，腎症候性出血熱などの，自然宿主および媒介動物における浸淫状況を調査した。蚊媒介性感染症について，蚊や豚，野生動物におけるウイルス浸淫状況を調査した。

15) 浴用水を用いた核酸検出法と培養法の比較検討

研究分担者：遠藤卓郎*，緒方喜久代*，中嶋 洋*，研究協力者：泉山信司*，磯部順子，佐々木美江*，

厚生科学研究費補助金 地域健康危機管理研究事業

「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究」研究代表者：倉文明，平成20年度総括・分担報告書，p 69 - 89

平成20年度は，昨年度に続き q PCR 法と LAMP 法による遺伝子検査と培養法との比較をおこなった。培養法陽性，遺伝子法陰性の検体は3件と，昨年に比べて大幅に減少した。q PCR 法と LAMP 法の一致率は79.2 %で，整合性を高める必要があると思われた。一方，同じ検体を用いて，生菌と死菌を区別する遺伝子検査法として，EMA を用いた PCR 法の検討をおこなった。標準菌を用いた予備実験で，死菌も検出される結果となり，その原因等，更なる検討が必要であることがわかった。

16) 標準検査法を尺度として迅速検査法を評価する方法の検討

分担研究者：荒川英二*，協力研究者：宮原美知子*，磯部順子，緒方喜久代*，山崎 貢*，山崎 渉*，米北太郎*

厚生科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業

「食品における微生物迅速検査法の開発およびその精度評価システムに関する研究」研究代表者：小崎俊司*，平成20年度総括・分担研究報告書，p117－133

内部陽性コントロール：PCT を利用した PCR 法で，市販生鮮魚類から腸炎ビブリオの検出を試みた。19種類

48検体の結果は、陽性となったのはPCR法で35件、培養法で27件であった。PCR法陽性で培養法<3MPN値となった検体が13件、培養法で>3MPN値、PCR法で判定保留とした検体が6件で、その一致率は34/48(70.8%)であった。PCR法のみ陽性検体には死菌DNAが含まれている可能性があり、食品検査にPCR法を用いる場合は、これらを検出しない系が不可欠であることを示した。ただし、今回はPCR反応阻害物質による偽陰性を確認できることが確認でき、今後応用されることが期待される。

17) 地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究

分担研究者：倉田 毅，協力研究者：綿引正則，磯部順子，八柳 潤*，白木 豊*，鈴木匡弘

厚生科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業「薬剤耐性菌等に関する研究」主任研究者：荒川宜親*，平成20年度総括・分担研究報告書

平成18～19年度に実施したアンケート調査の結果に基づき、平成20年6月30日に国立感染症研究所戸山庁舎において、「薬剤耐性菌解析機能強化研修会」を、全国の地方衛生研究所・細菌件担当者83名の参加のもと、開催した。

18) 東海・北陸地方9地方衛生研究所及び衛生試験所によるパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)を用いた腸管出血性大腸菌の精度管理，集団事例発生時のPFGE解析結果の還元とIS printing systemの活用

研究代表者：寺嶋 淳*，分担研究者：松本昌門*，研究協力者：鈴木匡弘*，本庄峰夫*，白木 豊*，田中保知*，木全恵子，中根邦彦*，石畝 史*，岩出義人*，藪谷充孝*

厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」平成20年度総括・分担研究報告書及び平成18年～20年度 総合研究報告書，p302-316

平成20年度東海・北陸ブロック研究班活動として、ブロック内9地研による腸管出血性大腸菌を用いたPFGE精度管理に参加した。また、平成20年度に発生した腸管出血性大腸菌集団感染事例の事例報告を行った。IS printing system ver2の検討ではO157 24株についてIS printing system サブタイプとPFGEパターンの比較を行った。その結果、IS printing system サブタイプとPFGEパターンの相関性は供試菌の75%であり、一部の株については相関性がみられなかった。このような場合の解釈とIS printing system 単独での評価について検討が必要であると考えられた。

(2) 特別講演等

1) 海洋深層水温浴を利用した健康増進について

みえ尾鷲海洋深層水の可能性を考えるセミナー

新村哲夫

平20. 6. 6, 三重県尾鷲市

(3) 学 会 発 表 等

- 1) ノロウイルスの長期排出期間中に変異がみられた例
小原真弓, 長谷川澄代, 中村一哉, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 倉田 毅, 滝澤剛則
第82回日本感染症学会 平20. 4. 17~18, 松江市
- 2) 富山県における腸管出血性大腸菌感染症の疫学的解析(1996~2007) 都集団事例の特徴
磯部順子, 木全恵子, 清水美和子, 嶋 智子, 倉田 毅, 綿引正則
第82回日本感染症学会 平20. 4. 17~18, 松江市
- 3) 海洋深層水の温冷交代手足浴による皮膚温度と血流の変化
新村哲夫, 胡 莉珍*, 鏡森定信*
第73回日本温泉気候物理医学会総会, 平20. 5. 16~17, 宮城県大崎市鳴子温泉
- 4) 飲用カプセル体温計. ポータブル心拍・体動計による日常行動の評価
鏡森定信*, 新村哲夫, 関根道和*, 王 紅兵*, 松原 勇*, 立瀬剛志*
第73回日本温泉気候物理医学会総会, 平20. 5. 16~17, 宮城県大崎市鳴子温泉
- 5) 日本海のウオノエ類(等脚類)
山内健生
第7回日本海甲殻類研究会 平20. 5. 17, 富山市
- 6) 富山県におけるインフルエンザ流行状況(2007/08シーズン)
堀元栄詞, 中村一哉, 小原真弓, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 滝澤剛則, 倉田 毅
第22回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム 平20. 5. 18~20, 東京都
- 7) 富山県のマダニ相および紅斑熱群リケッチア検出
小原真弓, 山内健生, 渡辺 護*, 安藤秀二*, 石倉康宏*, 品川保弘, 長谷川澄代, 中村一哉, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 滝澤剛則
第16回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー 平20. 5. 30~6. 1, 田辺市
- 8) 1998~2007年度に富山県衛生研究所で同定した食品混入昆虫
山内健生, 渡辺 護*
第26回北陸病害動物研究会 平20. 6. 7, 福井県吉田郡永平寺町
- 9) 富山県における日本脳炎ウイルス野外株の浸淫状況(2007年)
小原真弓, 山内健生, 長谷川澄代, 渡辺 護*, 滝澤剛則
第26回北陸病害動物研究会 平20. 6. 7, 福井県

- 10) 過去5シーズンにおけるインフルエンザワクチン接種前後の抗体価の変動について
堀元栄詞, 小原真弓, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 滝澤剛則, 倉田 毅
第49回日本臨床ウイルス学会 平20. 6. 14~15, 愛知県
- 11) 富山県における STD サーベイランスの現状
堀元栄詞
第9回北陸 STD 研究会 平20. 6. 28, 金沢市
- 12) 中国内モンゴル自治区女性におけるフッ素曝露と骨吸収マーカー
新村哲夫, 堀井裕子, 中崎美峰子, 長瀬博文*, 桑守豊美*, 森田明美*, 王 紅兵*, 胡 莉珍*, 孫 迎春*,
海 栄*, 蘇 秀蘭*, 常 虹*, 畢 力夫*, 鏡森定信*
第19回日本微量元素学会, 平20. 7. 3~4, 東京都
- 13) エコーウイルス13型の3D 領域にみられた塩基配列の多様性がウイルス性状に及ぼす影響
倉田 毅, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 小原真弓, 長谷川澄代, 中村一哉, 滝澤剛則
平成20年度北陸腸内細菌研究会研究発表会, 平20. 7. 12, 金沢市
- 14) Impaired growth ability of influenza virus in Caco-2 cells.
Takenori Takizawa, Eiji Horimoto, Kazuya Nakamura, Masae Iwai, Mayumi Obara,
Sumiyo Hasegawa, Takeshi Kurata.
第14回国際ウイルス学会, 平成20. 8. 12, イスタンブール
- 15) 過去10年間の新生児マス・スクリーニング要精密検査児の追跡調査
九曜雅子, 米田 豊, 五十嵐 登*, 二谷 武*, 津幡眞一*, 倉本 崇*, 齋藤万里子*, 三浦正義*, 松倉裕喜*,
今村博明*, 辻 隆男*
第35回日本マス・スクリーニング学会, 平20. 8. 29~30, 松江市
- 16) スクリーニング外部精度管理システムへのブラインドサンプル導入の進展
鈴木恵美子*, 渡辺倫子*, 前田昌子*, 成瀬 浩*, 望月孝一*, 山上祐次*, 安片恭子*, 田崎隆二*, 九曜雅子,
園山京子*, 吉井千代子*, 安部真理子*, 中村多加良*, 平原史樹*, 原田正平*, 加藤忠明*, 松井 陽*
第35回日本マス・スクリーニング学会, 平20. 8. 29~30, 松江市
- 17) エンザプレート Neo-17OHP 改良キットの評価
久保田倫子*, 石山 洋*, 中野光代*, 河地 豊*, 飯田仁美*, 田崎隆二*, 藤倉かおり*, 吉永美和*, 望月孝
一*, 小西 薫*, 桜井恭子*, 九曜雅子, 神田一夫*
第35回日本マス・スクリーニング学会, 平20. 8. 29~30, 松江市
- 18) 富山県における腸管出血性大腸菌食中毒発生状況
木全恵子, 嶋 智子, 清水美和子, 金谷潤一, 磯部順子, 倉田 毅, 綿引正則, 林 裕一*

平成21年12月 1 日

第40回東海北陸ブロック食品衛生監視員研修会，平20. 8. 29，三重県四日市市

19) 富山県における日本脳炎ウイルスの浸淫状況（2004年～2007年）

小原真弓，山内健生，渡辺 護*，長谷川澄代，滝澤剛則

平成20年度日本獣医三学会（中部） 平20. 8. 30～31，富山市

20) 固相抽出－HPLC 法による環境水中金属イオン封鎖剤の定量

健名智子，小玉修嗣，山本 敦*，井上嘉則*，早川和一*

日本分析化学会第57年会，平成20. 9. 10～12，福岡市

21) オンライン銅錯体形成を利用した茶飲料混入グリホサートの迅速キャピラリー電気泳動分析

小玉修嗣，伊藤勇二*，多賀 淳*，野村陽子*，山本 敦*，地中 啓*，山下智富，健名智子，高柳信孝，早川和一*

日本分析化学会第57年会，平成20. 9. 10～12，福岡市

22) 地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的，疫学的調査解析機能の強化に関する研究

綿引正則，磯部順子，八柳 潤*，白木 豊*，鈴木匡弘*，倉田 毅，荒川宜親*

第37回薬剤耐性菌研究会，平20. 9. 13，群馬県渋川市

23) 鳥類外部寄生虫からの病原体の検出－鳥類標識調査を主とした外部寄生虫採取－

鶴見みや古*，尾崎清明*，藤田博己*，坂田明子*，武藤麻紀*，高野 愛*，山内健生，川端寛樹*，安藤秀二*，岸本壽男*

日本鳥学会2008年度大会 平20. 9. 15，東京都豊島区

24) 富山県のマダニ相と紅斑熱リケッチア

山内健生，小原真弓，渡辺 護*，安藤秀二*，品川保弘，滝澤剛則，堀元栄詞，長谷川澄代，中村一哉，倉田 毅

日本昆虫学会第68回大会 平20. 9. 16，高松市

25) Bone mass and lifestyles related factors between Japanese and Inner Mongolian young women

Kagamimori S*, Shimmura T, Wang H*, Zhang M*, Nishino H*, Nakazaki M, Horii Y, Nagase H*, Kajita E*, Jia G*, Su XL*, Chang H* and Bi LF*

6th International Conference on Bone and Mineral Research & 8th International Osteoporosis Symposium, 2008, 9, 19～23, Hohhot, Inner Mongolia, China.

26) Fluoride exposure and accelerated bone resorption in Inner Mongolian women

Shimmura T, Hai R*, Wang H*, Horii Y, Nakazaki M, Nagase H*, Kuwamori T*, Morita A*, Hu L*, Sun Y*, Jia G*, Su XL*, Chang H*, Bi LF* and Kagamimori S*

6th International Conference on Bone and Mineral Research & 8th International Osteoporosis Sym

posium, 2008, 9, 19~23, Hohhot, Inner Mongolia, China

27) 神奈川県丹沢山系のニホンジカとその寄生節足動物における Bartonella DNA の検出状況

井上 快*, 壁谷英則*, 篠原ひとみ*, 小林俊元*, 高野 愛*, 山内健生, 丸山総一*

第146回日本獣医学会学術集会 平20. 9. 24, 宮崎市

28) 迅速診断キットの検査結果を利用したインフルエンザサーベイランス

堀元栄詞, 中村一哉, 小原真弓, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 滝澤剛則, 倉田 毅

平成20年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部環境保健部会, 平20. 9. 25~26, 富山市

29) 肥満体質遺伝子 (β 3アドレナリンレセプター, UCP1, FABP2) の変異の有無と身体状況

田中朋子

平成20年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部環境保健部会, 平20. 9. 25~26, 富山市

30) 富山湾海洋深層水を利用したタラソテラピー研究

新村哲夫

平成20年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部環境保健部会, 平20. 9. 25~26, 富山市

31) 海洋深層水を用いた温冷交代手足浴による皮膚血流量の増加

新村哲夫, 三井 博*, 胡 莉珍*, 鏡森定信*

第12回海洋深層水利用学会全国大会海洋深層水2008東京大会, 平20. 9. 29~30, 東京都

32) 仔猪を用いた海洋深層水温浴による成分の皮膚浸透実験

新村哲夫, 三井 博*, 吉田淑子*, 岡部素典*, 古市恵津子*, 鏡森定信*, 胡 莉珍*, 孫 迎春*, 廣瀬富雄*, 水木亮史*

第12回海洋深層水利用学会全国大会海洋深層水2008東京大会, 平20. 9. 29~30, 東京都

33) 腸炎ビブリオ食中毒の減少とその背景にある環境中の腸炎ビブリオの動態

嶋 智子, 磯部順子, 清水美和子, 金谷潤一, 木全恵子, 倉田 毅, 綿引正則

第42回腸炎ビブリオシンポジウム, 平20. 10. 23~24, 富山市

34) 長時間記録型歩数計を用いた健康教室参加者の体重および腹囲の減少について

田中朋子, 堀井裕子, 大浦栄次*, 澁谷直美*

第10回富山県薬学会, 平20. 10. 25, 富山市

35) ポリオウイルスの環境水からの効率的検出方法の検討

岩井雅恵, 中村一哉, 吉田 弘*, 帖佐 徹*, 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 倉田 毅

第56回日本ウイルス学会 平20. 10. 26~28, 岡山市

平成21年12月 1 日

36) 環境に存在するノロウイルスの遺伝的多様性

中村一哉, 岩井雅恵, 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 齊藤尚仁, 倉田 毅, 滝澤剛則
第56回日本ウイルス学会 平20. 10. 26~28, 岡山市

37) 下水調査による富山県民のノロウイルス・サポウイルス感染状況の把握 (2006~2008年)

岩井雅恵, 中村一哉, 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 滝澤剛則
第41回北陸信越薬剤師学術大会 平20. 11. 2~3, 金沢市

38) 1 民家における蚊の捕集成績 (2003~08年)

渡辺 護*, 小原真弓, 山内健生
第63回日本衛生動物学会西日本支部大会 平20. 11. 3, 神戸市

39) 富山県の住家性ネズミ類に寄生するノミ類

山内健生, 小原真弓, 渡辺 護*, 上田泰史*, 滝澤剛則
第63回日本衛生動物学会西日本支部大会 平20. 11. 3, 神戸市

40) 中高年女性の肥満体質遺伝子と運動によるやせやすさ

田中朋子, 堀井裕子, 大浦栄次*, 澁谷直美*
第67回日本公衆衛生学会総会, 平20. 11. 5~7, 福岡市

41) 富山県における非流行期のインフルエンザサーベイランスについて

堀元栄詞, 中村一哉, 小原真弓, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 滝澤剛則, 倉田 毅
北陸公衆衛生学会, 平20. 11. 11, 福井市

42) 富山県における腸管出血性大腸菌食中毒発生状況

木全恵子, 嶋 智子, 清水美和子, 金谷潤一, 磯部順子, 倉田 毅, 綿引正則, 林 裕一*
平成20年度全国食品衛生監視員研修会, 平19. 11. 13~14, 東京都中央区, 誌上発表

43) 一般成人における尿中アルキルリン酸レベルと生活環境要因

中崎美峰子, 大浦栄次*
第57回日本農村医学会学術総会, 平20. 11. 13~14, つくば市

44) 人工炭酸泉の全身浴による血圧・眼圧への影響

胡 莉珍*, 鏡森定信*, 新村哲夫
第13回人口炭酸泉研究会, 平20. 12. 12, 東京都

45) 第67回日本公衆衛生学会 (自由集会)「感染症情報の現状と展望を考える会」の概要

堀元栄詞
感染症情報センター担当者意見交換会 平21. 1. 22 神戸市

- 46) 富山県における Stx2 バリエント 腸管出血性大腸菌検出状況について
木全恵子, 磯部順子, 綿引正則
第20回日本臨床微生物学会総会, 平21. 1. 31~2. 1, 宮城県仙台市
- 47) 富山県におけるインフルエンザ抗体保有状況調査 (平成20年度)
堀元栄詞, 小原真弓, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 滝澤剛則, 倉田 毅
富山県公衆衛生学会 平21. 2. 4, 富山県
- 48) 富山県におけるレジオネラ症の発生状況 (2003~2008)
磯部順子, 金谷潤一, 清水美和子, 嶋 智子, 木全恵子, 倉田 毅, 綿引正則
第43回富山県公衆衛生学会, 平21. 2. 4, 富山市
- 49) 中高齢者の継続的な運動実施と生活習慣病リスクファクターとの関連
堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 金木 潤, 荒木保子*
第43回富山県公衆衛生学会, 平21. 2. 4, 富山市
- 50) 20~30歳代をターゲットとしたメタボリックシンドローム予防普及事業の取り組み~生活改善教室参加者の改善効果から~
板鼻広美*, 塚本浩次*, 河村幹治*, 高島寧子*, 櫻田惣太郎*, 堀井裕子, 田中朋子, 金木 潤
第43回富山県公衆衛生学会, 平21. 2. 4, 富山市
- 51) 新生児マス・スクリーニング要精密検査児の追跡調査—平成19年度—
九曜雅子, 米田 豊
第12回富山県母子医療研究会, 平21. 2. 10, 富山市
- 52) イムノクロマト法とリアルタイム PCR 法によるノロウイルス検出の比較
小原真弓
平成20年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会 平21. 3. 5~6, 金沢市
- 53) 富山県における平成20年度のウイルス性胃腸炎患者からのウイルス検出状況 (2008年4月~)
長谷川澄代
平成20年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会 平21. 3. 5~6, 金沢市
- 54) 同一患者から複数の PFGE パターンを検出したレジオネラ症事例
磯部順子
平成20年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平21. 3. 5~6, 金沢市
- 55) 富山県における平成19年度の食中毒発生状況と腸管系病原細菌検出情報

平成21年12月 1 日

木全恵子

平成20年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平21. 3. 5～6, 金沢市

56) 病原性大腸菌及びカンピロバクターが検出された鯨肉刺身を原因とする食中毒事例

綿引正則

平成20年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平21. 3. 5～6

57) レジオネラレファレンス事業報告

磯部順子

平成20年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平21. 3. 5～6

58) 結核菌レファレンス事業

綿引正則

平成20年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平21. 3. 5～6

59) 溶血レンサ球菌レファレンス事業報告

木全恵子, 嶋 智子

平成20年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平21. 3. 5～6

60) 食中毒由来ウェルシュ菌の PFGE および MLST による遺伝子解析

嶋 智子, 磯部順子, 木全恵子, 唐澤忠宏*, 山岸高由*, 芹川俊彦*, 松本昌門*, 門間千枝*, 綿引正則
第82回日本細菌学会総会, 平21. 3. 12～14, 愛知県名古屋

61) 固相抽出-HPLC 法による海水中の EDTA 分析

健名智子, 小玉修嗣, 山本 敦*, 井上嘉則*, 早川和一*

日本薬学会第129年会, 平21. 3. 26～28, 京都市

62) 中心イオンに Ni (II) イオンを用いたキラル配位子交換キャピラリー電気泳動

小玉修嗣, 多賀 淳*, 山本 敦*, 山下智富, 健名智子, 鈴木健太郎*, 菅田佳孝*

日本薬学会第129年会, 平21. 3. 26～28, 京都市

63) ナノカラムを分離媒体とした液体クロマトグラフィーによるアデニン, AMP, ATP の水溶液移動相による分離

山下智富, 小玉修嗣, 健名智子, 大戸幹也, 中山恵理子, 村元達也, 寺前紀夫*, 山口 央*, 高柳信孝

日本化学会第89春季大会, 平21. 3. 27～30, 船橋市

64) 中国内モンゴル自治区フッ素汚染地域女性における骨吸収亢進に関する調査研究 (2) - フッ素曝露と骨代謝マーカー, 骨密度について -

新村哲夫, 堀井裕子, 中崎美峰子, 王 紅兵*, 胡 莉珍*, 賈 光*, 蘇 秀蘭*, 常 虹*, 畢 力夫*, 鏡森定信*

第79回日本衛生学会総会, 平21. 3. 29~4. 1, 東京都

(4) 受賞, 学位授与, 資格取得等

1) 学位授与

健名智子

平成21年3月23日, 金沢大学から博士(薬学)の学位を授与

学位論文 「Studies on the analysis of aminopolycarboxylic acids and their distribution in the aquatic environment」

2) 受賞

1) 磯部順子

地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部長表彰

受賞日 平成20年6月20日

2) 大戸幹也

地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部長表彰

受賞日 平成20年6月20日

3) 研究助成

1) 田中朋子

平成20年度大同生命厚生事業団地域保健福祉研究助成

研究テーマ

肥満体質遺伝子の有無と運動によるやせやすさ, インスリン抵抗性の改善効果について

2) 山内健生

財団法人藤原ナチュラルヒストリー振興財団平成20年度(第17回)学術研究助成

研究テーマ

日本近海における魚類寄生虫ウオノエ科(甲殻綱:等脚目)の分類学的研究

編 集 委 員

委 員 長	金 木 潤
委 員	後 藤 郁 子
	林 美貴子
	中 村 一 哉
	磯 部 順 子
	小 玉 修 嗣
	中 崎 美峰子

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成20年度（2008）第32号

2009年12月1日

発 行 富 山 県 衛 生 研 究 所
〒939-0363

富 山 県 射 水 市 中 太 閤 山 17 - 1

電 話 （0766）56-5506(代)

F A X （0766）56-7326

印 刷 株式会社スカラファクトリー

富山市住吉町1-5-18

電 話 （076）424-1755(代)