

ISSN 0917-0707

富山県衛生研究所年報

(平成9年度)

第21号

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH
(APRIL 1997 ~ MARCH 1998)
NO. 21

1998



富山県衛生研究所

は　じ　め　に

平成9年度の年報をお送り致します。衛研各部の事業実績には記録されておりませんが、地域保健法が改正され、平成10年度より施行されるに当たり、県内の行政、衛研、保健所の各構成成分がよりよく機能するよう体制を固めるため富山県でも「地域保健強化検討委員会」が各界の専門家を集めて、時間をかけて討議を行いました。所長が親委員会に、次長が専門部会に参加して、衛研の立場、そのあるべき姿を述べて、委員会報告書では、衛生研究所を保健所に対する参照機関として、研究のみならず、保健所に対する研修・指導と、公衆衛生情報の解析と提供を行う機関として、位置づける事が出来ました。同時に、本県の特徴とされる将来の環日本海交流に当たって環境変異原性物質、動物由来感染症等も、研究対象として、我が国のみならず、韓国、中国、ロシア等の対象国の保健問題にも貢献する事を期待する事となりました。

人事的には、永年当研究所の活動を担ってきた森田修行次長・ウイルス部長と熊西忠郎環境保健部長が定年退職され、後任に、西淵富蔵が専任次長に、尾崎一郎環境保健部長が赴任し、ウイルス部長は、所長の併任となりました。また、大江浩ががん研究部長に赴任し、同部は4年ぶりに専任部長を持つこととなりました。更に、環境保健部の西野治身が骨粗鬆症に関する業績を評価されて、地研協会長表彰を受け、又、ウイルス部には国立感染症研究所より安藤秀二が採用され、今後の活躍が期待されています。

がん発生要因の疫学的研究は、大腸癌の発生要因に関する症例対照研究を行うべく、調査票の内容、協力医療機関の選定等の準備が進んでいます。胃癌発生要因は、従来の疫学的研究から浮かび上がって来た要因について、培養細胞の増殖、染色体の変化等を指標とした試験管内での変異原性実証の研究を開始しています。先天性代謝異常のマススクリーニング、染色体検査等は、従来にもまして活発に行われています。衛生動物に対する研究は、幾つかの部の職員が協力して、不快害虫防除策、リケッチア症、ライム病との関連等の研究が、平地と山地が近接して併存する本県の特徴を生かして進展し、学会の評価を受けると共に、地域社会の要請にも応えています。日本脳炎、ポリオ、インフルエンザを対象とした流行予測事業の他に、県内の学校を舞台としたC型ロタウイルスによる食中毒にも適切に対応し、効果的な解決に貢献しました。HIV等の検査体制を整備し、安全を確保するためのバイオセーフティー管理組織の確立を目指した活動も今年度から、開始しました。細菌疾患に関しては、昨年度までにO157:H7等による食中毒の遺伝子診断の体制が整備されましたが、県下の育成牧場を舞台としたO157:H7感染を迅速に診断、同定し、全国的な話題となりました。ウイルス、細菌を主な対象としたバイオセーフティー管理体制の導入と共に、県政バス、その他の見学者への実験室公開の範囲が新しい問題となり、目下慎重に検討中です。

環境保健の分野では、カドミウムに関する住民の健康調査を引き続き担当すると共に、検査内容その他を検討し、質的向上をはかるべく努力が続けられ、その成果として、骨代謝指数による骨粗鬆症の生化学的予報が可能となり、それが上記の全国表彰となりました。ダイオキシンその他、遺伝子や生理機能に緩徐に作用して、重大な結果を招く環境要因への適切な、衛研としての対応も検討中です。衛生化学的には、益々多様化する検査対象と、検査項目に適切に対応すべく、分析技術の基礎的な研究を行い、学界でも高く評価されております。

以上のように、研究内容、研究体制共に、急激に変化しております。次年度に予想される地域保健体制の確立、伝染病予防法の抜本的改正に伴う感染症対策の変化、GLPを導入した食品衛生対策、等に対応出来るよう感染症発生情報、がん疫学情報、化学分析のデータ等の他に、標準ウイルス、細菌の遺伝子組成、化学物質等のデータベースからの情報の利用、等の情報の収集、解析、利用、発信の効果的体制の整備が急がれると共に、後世に残るものを作り上げる好機であります。今後の衛生研究所の活動に御理解と、御支援を賜りますよう宜しくお願い致します。

平成10年6月

富山県衛生研究所長

北　村　敬

目 次

1. 運 営

(1) 沿革および組織機構	1
(2) 施 設 の 概 要	2
(3) 職 員 数	2
(4) 職 員 一 覧	3
(5) 予 算 概 要	5
(6) 各部の業務概要	14
(7) 検 査 状 況	25
(8) 講 師 派 遣	29
(9) 研 修 指 導	33
(10) 研 修 受 講	34
(11) 客員研究員等招へい	35
(12) セミナー開催	35

2. 調査研究報告

・ 培地調製に用いる種々の水による細胞増殖への影響の比較検討	37
品川保弘, 大江 浩, 北村 敬	
・ 先天性代謝異常等マススクリーニングの成果について	42
九曜雅子, 米田 豊, 大江 浩, 北村 敬, 井澤朋子	
・ 新生児マススクリーニング血液ろ紙中のアミノ酸とガラクトース検査における同時前処理による 効率化	59
米田 豊, 九曜雅子	
・ ヒト染色体に関する調査研究—血液, 骨髓液— (平成9年度)	66
林 美貴子, 本田幸子, 大江 浩, 北村 敬	
・ ヒト染色体に関する調査研究—羊水, 流産胎児— (平成9年度)	75
本田幸子, 林 美貴子, 大江 浩, 北村 敬	
・ オロロ (イヨシロオビアブ) の駆除試案	82
渡辺 護, 品川保弘	

・ 日本脳炎流行予測調査	90
渡辺 護, 長谷川澄代, 品川保弘, 上村 清, 田中桂子, 浦田祐子, 川越久美子, 藤崎啓子, 広明秀一	
・ インフルエンザ流行予測調査	104
松浦久美子, 中山 喬, 北村 敬, 名越雅高, 山下志をり, 田中桂子, 松原勝博, 布野純子	
・ ポリオ流行予測調査	110
中山 喬, 松浦久美子, 北村 敬, 南部厚子, 田中桂子, 浦田祐子, 安井良夫, 布野純子, 名越雅高, 浅野真由美, 川越久美子, 松原勝博	
・ 富山県における河川水や下水から分離したポリオウイルスの VP1 領域遺伝子の解析(1)	117
松浦久美子, 石倉康宏, 中山 喬, 長谷川澄代, 安藤秀二, 北村 敬	
・ インフルエンザ様患者からの <i>Coxiella burnetii</i> の検出	121
石倉康宏, 松浦久美子, 安藤秀二, 北村 敬	
・ 富山県における溶血レンサ球菌分離株の菌型と薬剤感受性	128
田中大祐, 細呂木志保, 刑部陽宅, 香取幸治, 赤間美徳, 柏木義勝	
・ 都市河川水のサルモネラ定点観測	133
磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保	
・ 富山県でヒトより分離された大腸菌における <i>eaeA</i> 遺伝子	141
田中大祐, 平田清久, 赤間美徳, 刑部陽宅	
・ 実験動物腸管における腸炎ビブリオの増殖	145
刑部陽宅, 細呂木志保, 田中大祐	
・ 健常女性における尿中ハイドロキシプロリンと踵骨骨密度およびライフスタイルとの関係	150
中崎美峰子, 西野治身, 田中朋子, 堀井裕子, 尾崎一郎, 中村志富, 加藤一之	
・ 女子大生における踵骨骨密度および骨代謝指標について—追跡調査結果—	156
田中朋子, 堀井裕子, 中崎美峰子, 西野治身, 尾崎一郎, 小島泰夫, 桑守豊美	
・ 中学生の骨量増加に及ぼす身体発育ならびにライフスタイル要因の影響	161
西野治身, 堀井裕子, 田中朋子, 尾崎一郎, 松倉知晴, 山上孝司, 鏡森定信	
・ 高校生の骨代謝指標および骨密度とライフスタイルとの関連	171
堀井裕子, 田中朋子, 西野治身, 尾崎一郎, 山上孝司, 松倉知晴, 鏡森定信	
・ 有機リン系農薬の尿中代謝物追跡調査—農薬散布時期と非散布時期を通して—	179
中崎美峰子, 西野治身, 尾崎一郎, 大浦栄次	
・ 女子大生のダイエットが血中ヘモグロビン, 脂質および微量元素濃度に及ぼす影響	184
新村哲夫, 田中朋子, 堀井裕子, 中崎美峰子, 西野治身, 尾崎一郎, 桑守豊美	

3. 資 料

・先天性副腎過形成症マススクリーニングにおうる 17α -hydroxyprogesterone (17-OHP) 測定 の基礎的検討	189
米田 豊, 九曜雅子	
・小学校で発生したC郡ロタウイルスによる急性胃腸炎の集団発生について	194
長谷川澄代, 松浦久美子, 中山 喬, 石倉康宏, 北村 敬, 安井良夫, 金子望博	
・ムンプスワクチン接種後に髄膜炎等の副反応を呈したと推測される症例のウイルス学的検索	198
安藤秀二, 松浦久美子, 中山 喬, 石倉康宏, 北村 敬	
・富山県における平成9年度のウイルスおよびリケッチアの検査状況	202
安藤秀二, 長谷川澄代, 松浦久美子, 中山 喬, 石倉康宏, 北村 敬	
・富山県内で分離された腸管出血性大腸菌O157:H7の薬剤感受性	205
平田清久, 田中大祐, 細呂木志保, 磯部順子, 刑部陽宅	
・漁港の腸炎ビブリオ実態調査について	210
細呂木志保, 田中大祐, 平田清久, 磯部順子, 刑部陽宅, 道谷真由美, 城石将幸	
・富山県における1997年の病原微生物検出情報	213
田中大祐, 細呂木志保, 刑部陽宅	
・家庭用エアロゾル製品中のメタノールのHPLC分析	217
小玉修嗣, 山本 敦, 松永明信	
・平成9年度水道水質検査の精度管理事業について	220
健名智子, 高柳信孝, 松永明信	

4. 業 績

(1) 受 賞	227
(2) 誌 上 発 表	228
(3) 特別講演等	240
(4) 学会発表等	241

Titles

Report

- Effects of Various Waters for Preparation of Culture Media on the Growth of Cultured Cell line. 37
Yasuhiro SHINAGAWA, Hiroshi OE and Takashi KITAMURA
- A Survey Report on Neonatal Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism, Congenital Hypothyroidism and Congenital Adrenal Hyperplasia in Toyama Prefecture (April 1997 - March 1998). 42
Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Hiroshi OE, Takashi KITAMURA and Tomoko IZAWA
- Simultaneous Determination of Amino Acids and Galactose in a Dried Blood Spot for a Neonatal Mass-Screening Test. 59
Yutaka YONEDA Masako KUYO
- Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells. 66
Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA, Hiroshi OE and Takashi KITAMURA
- Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells and Fetal Cells. 75
Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI, Hiroshi OE and Takashi KITAMURA
- Tentative Plans for Control in Ororo-tabanidfly. 82
Mamoru WATANABE and Yasuhiro SHINAGAWA
- Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 1997. 90
Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Yasuhiro SHINAGAWA, Kiyoshi KAMIMURA, Keiko TANAKA, Yuko URATA, Kumiko KAWAGOE, Keiko FUJISAKI and Shuichi HIROAKI
- Epidemiological Surveillance for Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture 104
Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA, Takashi KITAMURA, Masataka NAKOSHI, Shiori YAMASHITA, Keiko TANAKA, Katsuhiro MATSUBARA, and Junko NUNO
- Epidemiological Surveillance for Poliovirus in Toyama Prefecture 110
Takashi NAKAYAMA, Kumiko MATSUURA, Takashi KITAMURA, Atsuko NAMBU, Keiko TANAKA, Yuko URATA, Yoshio YASUI, Junko NUNO, Masataka NAGOSHI, Mayumi ASANO, Kumiko KAWAGOSHI and Katsuhiro MATSUBARA

• VP1 Gene Analysis of Poliovirus Isolates from River Water and Sewage in Toyama Prefecture (1)	117
Kumiko MATSUURA, Mitsuhiro ISHIKURA, Takashi NAKAYAMA, Sumiyo HASEGAWA, Shuji ANDO, Takashi KITAMURA	
• Detection of Coxiella burnetii in Patients with Influenza-Like Disease	121
Mitsuhiro ISHIKURA, Kumiko MATSUURA, Shuji ANDO, Takashi KITAMURA	
• Serotype Distribution and Drug Sensitivity among Hemolytic Streptococcus Isolates in Toyama Prefecture	128
Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI, Yotaku GYOBU, Koji KATORI, Yoshinori AKAMA, and Yoshikatsu KASHIWAGI	
• Salmonella Surveillance on River Water in an Urban Area	133
Junko ISOBE, Daisuke TANAKA and Shiho HOSOROGI	
• The eaeA Gene of Escherichia coli Isolated from Human in Toyama Prefecture	141
Daisuke TANAKA, Kiyohisa HIRATA, Yoshinori AKAMA and Yotaku GYOBU	
• Multiplication of Vibrio parahaemolyticus in intestine of laboratory animal.	145
Yotaku GYOBU, Shiho HOSOROGI and Daisuke TANAKA	
• The Relationship between Urinary Hydroxyproline and Bone Mineral Density or Lifestyle Factors in Healthy Middle-aged and Aged Women	150
Mineko NAKAZAKI, Harumi NISHINO, Tomoko TANAKA, Yuko HORI, Ichiro OZAKI, Shitomi NAKAMURA, Kazuyuki KATO	
• Bone Mineral Density of the Calcaneus and Biochemical Markers of Bone Metabolism in Students of Women's College -The Longitudinal Study-	156
Tomoko TANAKA, Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Harumi NISHINO, Ichiro OZAKI, Yasuo KOJIMA, Toyomi KUWAMORI	
• Influence of Growth of Height, Puberty Onset and Lifestyle Factors on the Increase of Bone Mass in Junior High School Students	161
Harumi NISHINO, Yuko HORII, Tomoko TANAKA, Ichiro OZAKI, Tomoharu MATSUKURA, Takashi YAMAGAMI, Sadanobu KAGAMIMORI	
• The Relationship between the Biochemical Markers of Bone Metabolism or Bone Mineral Density and Lifestyle Factors in High School Students	171
Yuko HORII, Tomoko TANAKA, Harumi NISHINO, Ichiro OZAKI, Takashi YAMAGAKI, Tomoharu MATSUKURA, Sadanobu KAGAMIMORI	
• Follow-up Study on Urinary Levels of Organophosphorus Pesticide Metabolites in Spraying Season and not Spraying Season	179
Mineko NAKAZAKI, Harumi NISHINO, Ichiro OZAKI, Eiji OOURA	

- Effects of Restrained Diet on Hemoglobin Concentration in Blood, Serum Lipid and Serum Trace Elements Concentrations in Students of Women's College 184
Tetsuo SHINMURA, Tomoko TANAKA, Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Harumi NISHINO, Ichiro OZAKI, Toyomi KUWAMORI

Notes

- Basic Study of Determination of 17-OHP for Congenital Adrenal Hyperplasia Mass Screening 189
Yutaka YONEDA and Masako KUYO
- An Outbreak of Group C Rotavirus Gastroenteritis in A Primary School 194
Sumiyo HASEGAWA, Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA, Mitsuhiro ISHIKURA, Takashi KITAMURA, Yoshio YASUI and Mochihiro KANEKO
- Virological Analysis of the Case of Aseptic Meningitis after Inoculation with Mumps Vaccine 198
Shuji ANDO, Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA, Mitsuhiro ISHIKURA, Takashi KITAMURA
- Virological and Rickettsiological Examinations of Infectious Diseases in Toyama Prefecture, April 1997 to March 1998 202
Shuji ANDO, Sumiyo HASEGAWA, Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA, Mitsuhiro ISHIKURA, Takashi KITAMURA
- Drug Sensitivity of Enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 Isolated in Toyama Prefecture 205
Kiyohisa HIRATA, Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI, Junko ISOBE, and Yotaku GYOBU
- Vibrio parahaemolyticus Surveillance at Fishing Ports in Toyama Prefecture 210
Shiho HOSOROGI, Daisuke TANAKA, Kiyohisa HIRATA, Junko ISOBE, Yotaku GYOBU, Mayumi MICHITANI, Masayuki SHIROISHI
- Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 1997 213
Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI and Yotaku GYOBU
- Analysis of Methanol in household articles of aerosol by using HPLC 217
Shuji KODAMA, Atsushi YAMAMOTO and Akinobu MATSUNAGA
- The Results of External Analytical Control on Chloride and Iron in Water 220
Tomoko KENMEI, Nobutaka TAKAYANAGI and Akinobu MATSUNAGA

1. 運 営

1. 運 営

(1) 沿革および組織機構

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

(2) 施 設 の 概 要

建 物	構 造	延 面 積
研 究 棟	鉄筋コンクリート造3階（1部4階）建	3,044.59㎡
（動物飼育）	〃 平屋建	241.76
車 庫	鉄骨造平屋建	34.56
薬 品 庫	コンクリートブロック造平屋建	20.60
ポ ン ベ 庫	〃	17.54
R I 排 水 庫	〃	26.65
廃 水 処 理 庫	〃	13.57
渡 り 廊 下	鉄 骨 造	40.50
機 械 室	鉄骨造平屋建	39.24
合 計		3,479.01

(3) 職 員 数

（平成10年5月1日現在）

区 分	所・次長 部・課長	統 括 研 究 員	副主幹 係 長	副主幹 研 究 員	主 任 研 究 員	主 事	研 究 員	主 任 業 務 技 師	嘱 託	計
所 長	1									1
次 長	1									1
総 務 課	1		1			1		1	1	5
がん研究部	1			4	2					7
ウイルス部	所 長 事務取扱			5	1					6
細 菌 部	1				2		2			5
化 学 部	1			3	4					8
環境保健部	1	1		1	2		1			6
合 計	7	1	1	13	11	1	3	1	1	39

(4) 職 員 一 覧

(平成10年5月1日現在)

職 名	氏 名	当 所 勤 続 年 数	主 な 担 当 事 務
所 長	北 村 敬	4.2	所内事務総括
次 長	西 淵 富 蔵	1.2	所内事務の連絡調整及び調査研究の企画調整
総 務 課 長 (出納員)	平 野 正 道	2.2	人事, 予算, 出納員業務及び課内事務総括
係 長 (会計員)	長 谷 玲 子	4.2	物品購入, 予算経理, 決算及び会計員業務並びに財産 管理事務
主 事 (会計員)	清 田 今日子	0.2	給与, 旅費, 賃金の支給, 収入事務及び会計員業務
主任業務技師	谷 井 富 造	5.2	実験動物の飼育管理, 滅菌洗浄室の管理
嘱 託	井 澤 徳 久	2.2	公用車の操車, 整備保全業務
がん研究部長	大 江 浩	1.2	部内事務総括及びがんの疫学研究
副主幹研究員	渡 辺 護	29.4	衛生動物の検査研究及び防除対策に関する調査研究
〃	本 田 幸 子	27.8	染色体異常(羊水)の検査及び環境変異原物質の影響調査研究
〃	林 美貴子	27.7	染色体異常(血液)の検査及び先天異常の成因の調査研究
〃	米 田 豊	4.2	先天性代謝異常マスキングの検査及び調査研究
主任研究員	品 川 保 弘	8.1	がん発生要因の実験的調査研究
〃	九 曜 雅 子	14.10	先天性代謝病の検査及び調査研究
ウイルス部長	所 長		部内事務の総括及び病原微生物の調査研究・指導
副主幹研究員	事 務 取 扱 石 倉 康 宏	34.2	リケッチア感染症の調査研究
〃	松 浦 久美子	33.2	ウイルス疾患の病因究明及び予防のための調査研究
〃	中 山 喬	28.2	ウイルス感染症の血清学的検査及び血清疫学の調査研究
〃	長谷川 澄 代	26.6	ウイルス感染症の検査及び検査法開発の研究
〃	庄 司 俊 雄	20.10	ウイルス感染症の情報収集と解析及び花粉症の疫学的調査研究
主任研究員	安 藤 秀 二	1.2	ウイルス感染症の免疫学的調査研究
細菌部長	刑 部 陽 宅	35.2	部内事務総括及び病原細菌の調査研究
主任研究員	磯 部 順 子	7.2	細菌に起因する食中毒の原因究明及び食品の細菌学的試験検査
〃	平 田 清 久	2.2	血清学的試験検査及び人獣共通伝染病の検査研究
研 究 員	田 中 大 祐	5.2	呼吸系病原細菌の調査研究及び病原細菌検出情報の収集, 還元
〃	細呂木 志 保	6.1	水, 医薬品及び環境細菌の検査研究及び細菌DNAの研究

職 名	氏 名	当 所 勤 続 年 数	主 な 担 当 事 務
化 学 部 長	松 永 明 信	24.1	部内事務総括及び食品、環境中の汚染物質の調査研究
副主幹研究員	大 浦 敏	3.2	化学物質による食中毒の検査及び食品中の有害物質の調査研究
〃	齊 藤 行 雄	20.2	食品中の添加物及び残留農薬等の調査研究
〃	高 柳 信 孝	16.2	温泉中の成分分析及び水道水中の有害物質の調査研究
主 任 研 究 員	山 本 敦	19.2	食品中の成分及び器具・容器・包装等の調査研究
〃	小 玉 修 嗣	4.4	飲料水中の残留農薬及び農薬等の分解生成物の調査研究
〃	健 名 智 子	14.2	飲料水中の揮発性有機化合物等の調査研究、水質検査の精度管理
〃	大 戸 幹 也	12.8	食品中の重金属及び家庭用品に関する調査研究
環境保健部長	尾 崎 一 郎	1.2	部内事務総括、環境化学物質の汚染及び深層水の海洋療法の研究
総 括 研 究 員	西 野 治 身	33.2	環境変化に基づく生体影響の生化学的調査及び成人病 予防に関する疫学的調査研究
副主幹研究員	新 村 哲 夫	26.1	環境汚染にかかわる生体中重金属、労働衛生に伴う重 金属代謝及び深層水の海洋療法の調査研究
主 任 研 究 員	田 中 朋 子	20.5	成人病及び各種疾病の診断に必要な生化学的検査研究
〃	中 崎 美 峰 子	13.1	生体中有害物質の検査研究
研 究 員	堀 井 裕 子	10.1	環境汚染にかかわる健康調査の生化学的検査研究

(5) 予 算 概 要

総 務 課 平成 9 年度 予算概要

事業名	予算額	財 源 内 訳		事業内容
		使、手数料	一般財源	
衛生研究所費	千円 70,926	千円 3,600	千円 67,326	衛生研究所の運営、維持管理、試験検査等
試験研究費	15,363		15,363	調査研究（15項目） 1. 染色体に関する研究 2. 突然変異原性に関する研究 3. 疾病媒介ダニ、昆虫類等の調査研究 4. ウイルス感染症の疫学的研究 5. ウイルスウオッチプログラム 6. リケッチアの感染免疫に関する研究 7. 溶血レンサ球菌の生態に関する研究 8. 河川水の微生物学的定点観測 9. 病原性海水ビブリオに関する研究 10. 細菌の病原遺伝子に関する研究 11. 飲料水及び温泉に関する調査研究 12. 食品中の成分及び添加物に関する調査研究 13. 食品中の残留農薬及びその他の有害物質に関する調査研究 14. 環境汚染物質の生態影響に関する調査研究 15. 成人病予防に関する疫学的研究
設備充実費	10,000		10,000	試験研究及び検査用機械器具の更新等
感染症対策特別研究費	2,850		2,850	
がん等特別研究費	15,688		15,688	調査研究（5項目） 1. がん発生の要因の実験的研究 2. 水質基準成分及び食品規格成分の多成分一斉分析法の開発 3. 骨粗しょう症の骨代謝指標による効率的な予防法の確立に関する研究 4. 先天異常等スクリーニング陽性者の迅速精密検査法の確立に関する研究 5. 遺伝子解析による病原微生物の分子疫学的な研究
合 計	114,827	3,600	111,227	

平成9年度 歳入決算

款 項 目 節	決 算 額	備 考
	円	
使用料及び手数料	27,162,430	
手 数 料	27,162,430	
衛 生 手 数 料	27,162,430	
衛 生 研 究 所	2,695,310	収入証紙 1,979,058 納入通知 716,252
環 境 衛 生 検 査	24,467,120	収入証紙 0 納入通知 24,467,120
諸 収 入	35,424	
雑 入	35,424	
雑 入	35,424	
納 付 金	14,424	
雑 入	21,000	
合 計	27,197,854	

平成9年度 歳出決算

款	項	目	節	決 算 額	摘 要
総 務 費	総 務 管 理 費	人 事 管 理 費		円	
				8,619,063	
				5,734,900	
				4,784,015	
			共 済 費	529,170	
			賃 金	3,779,300	
			旅 費	475,545	
			財 産 管 理 費	950,885	
			需 用 費	950,885	
				2,884,163	
	企 画 費	計 画 調 査 費		2,884,163	
			賃 金	351,000	
			報 償 費	150,000	
			旅 費	749,469	
			需 用 費	1,220,350	
			諸 費	36,980	
			役 務 費	115,836	
			使用料及び賃借料	88,528	
			負担金補助及び交付金	172,000	
				15,960,640	
民 生 費	児 童 福 祉 費	児 童 福 祉 対 策 費		15,960,640	
				15,960,640	
				15,960,640	
			賃 金	1,951,640	
			旅 費	148,000	
			需 用 費	13,781,000	
			役 務 費	80,000	
				147,151,182	
	公 衆 衛 生 費	予 防 費		128,244,028	
				10,565,425	
			賃 金	344,020	
			旅 費	331,441	
			需 用 費	9,789,964	
			役 務 費	100,000	
衛 生 費	公 衆 衛 生 費	予 防 費		100,000	

款	項	目	節	決 算 額	摘 要
				円	
		環境保健対策費		13,512,539	
			賃 金	783,000	
			旅 費	510,266	
			需用費	6,099,993	
			諸 費	15,000	
			役 務 費	21,000	
			使用料及び賃借料	6,083,280	
		衛生研究所費		104,166,064	
			共 済 費	53,748	
			賃 金	4,865,220	
			報 償 費	90,000	
			旅 費	4,974,842	
			需用費	68,909,960	
			諸 費	123,658	
			役 務 費	1,964,992	
			委 託 料	15,412,597	
			使用料及び賃借料	93,340	
			備品購入費	7,336,707	
			負担金補助及び交付金	341,000	
	環 境 衛 生 費			18,468,294	
		環境衛生総務費		12,390,225	
			賃 金	568,000	
			旅 費	8,050	
			需用費	9,195,000	
			役 務 費	22,000	
			委 託 料	1,097,775	
			備品購入費	1,499,400	
		食品衛生指導費		4,004,935	
			賃 金	106,000	
			旅 費	315,935	
			需用費	3,433,000	
			役 務 費	150,000	

款	項	目	節	決 算 額	摘 要
				円	
		環境衛生指導費		1,494,289	
			旅 費	163,789	
			需 用 費	690,000	
			備 品 購 入 費	640,500	
		水道指導費		578,845	
			旅 費	51,845	
			需 用 費	519,000	
			役 務 費	8,000	
	保 健 所 費			127,800	
		保 健 所 費		127,800	
			役 務 費	48,000	
			備 品 購 入 費	79,800	
	医 務 費			60,060	
		保健婦等指導管理費		60,060	
			旅 費	60,060	
	公 害 防 止 費			251,000	
		公害防止対策費		251,000	
			需 用 費	251,000	
合 計				171,730,885	

重 要 備 品 一 覧

(購入価格100万円以上)

品 名	購入年月日	数量	型 式
ガスクロマトグラフ	48. 2. 23	1	島津 GC-5APEE型
二波長分光光度計	49. 3. 30	1	日立 デジタル 156型
等電点分画装置	49. 9. 4	1	KLB 8100
水銀分析計	50. 3. 31	1	島津 UV-201型
倒立型顕微鏡	50. 10. 30	1	日本光学 MD型
真空凍結乾燥機	50. 10. 31	1	アトモパック 卓上型NO2003型
ガスクロマトグラフ	52. 12. 15	1	日立 163型
超低温槽	52. 12. 20	1	レブコ ULT-1275型
クリオスタット	53. 1. 10	1	アメリカンオプチカル「ADクリオカット」840C型
赤外線分光光度計	54. 1. 26	1	日立 260-0613型
原子吸光炎光分光光度計	54. 9. 19	1	島津 AA-640-12型
高速冷却遠心分離機	54. 11. 26	1	久保田
自動連続比色装置	55. 12. 15	1	パーキンエルマーモデル55E
ガスクロマトグラフ	57. 1. 8	1	島津 GC-7APrFFT型
ガンマーカウンター	57. 9. 30	1	アロカ ARC-305
全自動コロニーカウンター	57. 9. 30	1	東海医理化 COP-1000
高速冷却遠心分離機	57. 9. 30	1	久保田 KR-20000T
フレームレスアトマイザー	57. 9. 30	1	島津 GFA-4
超音波洗浄機	57. 9. 30	1	神明台 UD-2400FA
超低温槽	57. 9. 30	1	フォーマ 8107型
〃	57. 9. 30	1	〃 8200型
炭酸ガス培養装置	57. 9. 30	1	〃 3158型
〃	57. 9. 30	1	ナプコ 5200型
高速液体クロマトグラフ	57. 10. 12	1	島津 LC-4A
赤外線放射温度計	57. 10. 20	1	三栄測器 6T53
ガスクロマトグラフ	57. 10. 12	1	島津 GC-7APrFFT型
液体シンチレーションカウンター	57. 10. 14	1	アロカ SC-703
低バックグラウンド液体シンチレーションカウンター	57. 10. 14	1	アロカ LSC-LB1
超遠心機	57. 10. 15	1	日立 SCP-70H
ウサギ、マウス感染動物飼育装置	57. 10. 15	2	東洋理工 TAR-23改良型
データー処理装置	57. 10. 30	1	横河、ヒューレット、パッカーード

品名	購入年月日	数量	型式
ウサギ自動洗浄飼育機	57. 11. 12	1	日本ケージ, BAW309改良型
紫外線吸収計	57. 12. 2	1	日科機 イスコUA-5-6型
フラクシオンコレクター	57. 12. 21	1	ファルマシア・ジャパン FRARC
超低温槽	58. 3. 24	1	フォーマ 810型
〃	58. 3. 24	1	〃 8138型
高速液体クロマトグラフ	58. 3. 30	1	島津 LC-5Aシステム
炭酸ガス培養装置	58. 3. 16	1	フォーマ 3158型
酸素免疫システム	58. 3. 31	1	三光純薬 MR580 ミニウオッシャー2-315
炭酸ガス培養装置	59. 1. 10	1	フォーマ 3158型
超低温槽	59. 7. 16	1	〃 8319型
高速冷却遠心機	59. 9. 20	1	久保田 KP-20000T
ガスクロマトグラフ	59. 9. 28	1	島津 GC-7APFE
電子顕微鏡	60. 2. 28	1	日立 H-600A
超低温槽	60. 8. 30	1	レブコ ULT-1490型
ガスクロマトグラフ	61. 9. 6	1	島津 GC-15APEF
分光光度計	61. 9. 6	1	島津 UV-160
パンチ&インデクサー	62. 8. 31	1	米国ファンダメンタルプロダクツ社製 MODEL VIA
分光光度計	62. 9. 10	1	日立 U-2000
原子吸光分光光度計	62. 9. 30	1	日立偏光ゼーマン Z-8000
デンシトメーター	63. 7. 20	1	島津 二波フライングスポットスキャナーCS-9000
電気泳動装置	63. 10. 11	1	ファルマシア社ファーストシステム
高速液体クロマトグラフ	63. 10. 21	1	東ソー, CCP-8000
落射蛍光顕微鏡装置	1. 8. 11	1	オリンパス BHT-RFK-A2型
蛍光測定システム	1. 9. 8	1	島津 デンシトメータ (CS-9000)用
フォトダイオードアレイ検出器	1. 9. 14	1	島津 SPD-M6A
遠心分離機用ローター	1. 11. 19	1	日立工機 スイングローターRPS50-2
純水製造装置	1. 12. 19	1	ミリボア ミリーQSP
ガスクロマトグラフ	2. 3. 31	1	島津 GC-14APSC, タンデムGC システム
分光光度計酵素反応システム	2. 9. 20	1	島津 UV-2200
高速液体クロマトグラフクラジェント装置	2. 9. 20	1	島津 LC-9A
ガスクロマトグラフ質量分析計	2. 11. 5	1	島津 GCMS-QP2000GF

品名	購入年月日	数量	型式
超低温槽	2. 11. 6	1	レブコ ULT-2050
炭酸ガスインキュベーター	3. 2. 8	1	サンヨーフォーマMIP-3193
スローモーション解析装置付ビデオ撮影記録機	3. 9. 30	1	ソニー
パルスフィールド電気泳動装置	3. 9. 30	1	バイオラッド CHEF-DR II
分光蛍光光度計	3. 11. 30	1	日本分光 FP-777
高速液体クロマトグラフ用分光蛍光検出器	4. 3. 6	1	島津 RF-550
パラフィンブロック作製装置	4. 3. 12	1	サクラ精機 ティッシュ・エンベンディング・コンソール #4596
クリーンベンチ	4. 3. 31	1	日立冷熱 CCV-1301EC 型
万能顕微鏡	4. 9. 30	1	オリンパス
ガスクロマトグラフ	4. 11. 30	1	島津 GC-14B
DNA 合成装置	4. 11. 30	1	ファルマシアLKB ジーンアッセンブラーズスペシャル
マイクロプレートウォッシャー	5. 3. 10	1	米国ダイナテック ウルトラウォッシャー II
紫外可視分光光度計	5. 3. 25	1	島津 UV-160A
濃縮導入装置	5. 3. 25	1	テクマー社 LSC-2000
パージ&トラップ濃縮装置用自動試料注入装置	5. 11. 10	1	テクマー社 AQUA Tek 50
ガスクロマトグラフ質量分析計	5. 11. 30	1	島津 GC/MS QP-1100WA
高速液体クロマトグラフ	5. 12. 24	1	日立製作所 L-6300
デンストグラフ	6. 1. 20	1	アトー (株) プリントグラフ AE-6910型
超低温フリーザー	6. 2. 28	1	三洋電機 MDF -382AT
高速冷却遠心機	6. 2. 28	1	久保田 MODEL 6800型
炭酸ガス培養装置	6. 8. 10	1	フォーマ MIP-3139型
花粉用画像解析及び計測システム	7. 1. 31	1	入力基盤 英国John Blisshen Image Grabber24 SIMモジュール アドテック ADM-64M72F
高速液体クロマトグラフ用旋光度検出器	7. 3. 1	1	日本分光 (株) OR-990型
高速冷却遠心分離機	7. 3. 7	1	久保田 MODEL 6800型
遺伝子導入装置及び解析装置	7. 3. 22	1	バイオラッド社
有機溶媒漏出防止装置	7. 4. 28	1	東京理化 CA-1100
液体クロマトグラフ用屈折率検出器	7. 5. 16	1	Shodex RI-71, OVEN AO-30C
落射蛍光顕微鏡	7. 6. 7	1	オリンパス光学工業 BX50-34-FLA型
超低温フリーザー	7. 6. 15	1	サンヨー MDF-493型
キャピラリー電気泳動システム	7. 9. 30	1	ヒューレットパッカード製
減圧遠心濃縮機	7. 10. 2	1	東京理化製

品 名	購入年月日	数量	型 式
高速液体クロマトグラフ装置	7. 10. 13	1	ウオーターズ製
超低温フリーザー	7. 10. 13	1	サンヨー MDF-493型
感染症サーベイランスオンラインシステム	8. 3. 29	1	NEC PC-9821XT 16/R16
洗 浄 機	5. 7. 27	1	三光純薬製
オートダイリユーター	5. 7. 27	1	三光純薬製 SGR250
超低温槽	8. 10. 9	1	レプコ製 ULT-1786
超低温フリーザー	8. 8. 28	1	サンヨー MDF-592型
原子吸光度計	8. 11. 27	1	島津製作所製 AA-6700
ガスクロマトグラフシステム	9. 3. 17	1	島津製作所製
アミノ酸分析システム	9. 3. 14	1	日本分光製
染色体DNA電気泳動システム	8. 12. 26	1	バイオラッド社製 GS-700
マイクロプレートリーダー	9. 2. 26	1	コロナ社製 MTP-100F, MTP-120, カイロン社製
画像処理装置	9. 10. 13	1	アビオ製フィルムレコーダー 他
オートインジェクター	9. 7. 18	1	日本分光製 AS-950-10
ELISA 測定システム	10. 2. 26	1	バイオラッド社製
蛍光式 DNA シーケンサー	9. 12. 15	1	パーキネルマー社製 310-1-T
落射蛍光顕微鏡	9. 8. 29	1	ニコン社製 E-600-D
サブレッサー型イオンクロマトグラフ	9. 11. 27	1	日本ダイオネックス社製 DX-500

(平成10年3月31日現在)

(6) 各部の業務概要

がん研究部

[行政および依頼検査]

先天性代謝異常等マススクリーニング

平成9年度の検体総数は11,746件で、県内63カ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106.6%（里帰り分娩を含む）であり、前年度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（クレチン症）、先天性副腎過形成症の6疾患である。その結果、要精密検査児として61名（メイプルシロップ尿症疑い6名、ガラクトース血症疑い18名、クレチン症疑い25名、先天性副腎過形成症疑い12名）がスクリーニングされ、クレチン症1名、先天性副腎過形成症2名患児が発見された。

染色体検査

平成9年度の検査受付件数は血液117件、骨髄液14件、羊水73件、自然流産胎児24件の計228件で、うち、染色体異常を示したものは、血液8件（均衡転座保因者3件、モザイク型18トリソミー1件、EBウイルス感染症2件、汎血球減少症1件、白血病1件）、骨髄液6件（汎血球減少症3件、白血病3件）、羊水5件（転座保因者2件、18トリソミー1件、クラインフェルター症候群1件、3倍体1件）、流産胎児9件（18トリソミー2件、16トリソミー1件、13トリソミー1件、8トリソミー1件、20トリソミー1件、D群トリソミー2件、G群トリソミー1件）の計28件であった。

染色体検査の依頼理由（主訴）は、血液では反復流産、骨髄液では汎血球減少、羊水では高齢妊娠が最も多かった。

衛生動物検査

行政検査として、日本脳炎流行予測事業の媒介蚊の発生調査を引き続き実施した。平成9年度は前年に比べ発生数は増加した。また、ライム病の本県における侵淫状況を把握するため、前年に引き続き、立山町立山美女平・大観峰、大山町有峰、上市町馬場島などでマダニの分布調査とマダニからのボレリアの検出を行った。

この他、保健所依頼の食品混入昆虫など11件と、行政機関及び各種事業所からの分類同定分を含め、合計1,965件の検査を行った。

[調査研究]

がん発生要因に関する研究

胃癌発生背景要因の疫学的研究の結果に基づき、上水道水、及びそれ以外の自然水を溶媒とした培養液を用いた場合の、種々の培養細胞の増殖に及ぼす影響を検討している。また、アフリカミドリザル腎組織由来VERO細胞を用い、染色体の二次狭窄構造の量的変動を指標とした変異原性検出の可能性について検討している。

疫学研究として、大腸癌の発生要因に関する症例対照研究について、調査票の作成及び協力医療機関の選定等の諸準備を進めた。

先天性代謝異常検査法に関する研究

先天性代謝異常マススクリーニング検査のアミノ酸高速液体クロマトグラフィー（HPLC）とガラクトースマイクロプレート法（MP）において、血液濾紙からの抽出操作を共通化して検査効率を高める方法（同時分析法）について検討を行った。同時分析法は従来のマイクロプレート標準法と高度

の相関が認められるとともに、検査コストが削減できるため、一次検査に適した検査方法であることが明らかになり、確立した同時分析法を新生児検体に適応し、その実用性を確認した。

また、先天性副腎過形成症マススクリーニングにおける 17α -hydroxyprogesterone (17-OHP) 測定について、3位抗体キットと7位抗体キットとの測定値の比較を行うとともに、直接法と抽出法との比較検討を行った。この結果、7位抗体キットは3位抗体キットに比べて、直接法と抽出法の相関が良好で、17-OHPより特異的に測定できると考えられた。

デジタルカメラをアミノ酸およびガラクトースのBacterial inhibition assay (BIA) に利用する方法については、昨年度検討したBIA画像をコンピュータを用いて画像データベースとして管理する方法を発展させ、BIA画像を画像解析ソフトウェアで解析し、細菌の発育円の面積を測定して定量を行う方法を開発した。

姉妹染色分体交換法に関する研究

先天性心疾患の発生要因の一つとして可能性が疑われているリチウムについて、ヒトリンパ球を使った姉妹染色分体交換法 (SCE) を用い、ジェチルスチルベストロールや酸素等との相乗効果によるDNA損傷の検討を行っている。

環境汚染物質等の突然変異原性に関する研究

マウス抹消血を用いた小核試験法により、タバコ煙中の環境変異原物質の作用に対するタウリンの複合効果、抑制効果について検討している。

衛生動物に関する研究

前年度に引き続き、オロロ (イヨシロオビアブ) の駆除に関する基礎的研究を行った。特に環境に悪影響を与えない、実践的駆除対策として、①オロロトラップを使用した二酸化炭素による誘殺、②殺虫剤 (ピレスロイド剤のブラレトリン) 展着ネットによる飛来ブロック、③忌避剤 (Deet 10%以上含有) の利用が有効であると考えられた。

ウ イ ル ス 部

〔行政および依頼検査〕

富山県結核、感染症患者動向調査など保健所からの行政依頼および病院小児科などからの一般依頼によるウイルス学的検査を行った。4月から5月の間に発生した熱性疾患の患者8名のうち2名からB型インフルエンザウイルスが分離された。6月から7月に発生した発疹症患者からコクサッキーウイルスB2型が、手足口病患者からエンテロウイルス71が分離された。そして、無菌性随膜炎患者からエンテロウイルス71、エコーウイルス30の外に、未同定ウイルスが分離された。下痢症患者からはロタウイルス、小型球形ウイルス、アデノウイルスがそれぞれ検出された。ムンプスワクチン投与後に耳下腫脹を伴う無菌性随膜炎患者の髄液からウイルスは分離されなかったが、ワクチン株であるホシノ株の遺伝子がRT-PCRで検出された。

行政検査として、5月に八尾保健所管内の某小学校で集団急性胃腸炎が発生し、患者便よりC群ロタウイルスが検出された。6月に富山保健所管内の保育所で集団の急性胃腸炎が発生し、患者便から小型球形ウイルスが検出された。11月に高岡保健所管内での急性胃腸炎の原因ウイルスは小型球形ウイルスであった。平成10年1月福野保健所管内でカキが原因と思われる急性胃腸炎が発生した。患者の便とカキの中腸腺から小型球形ウイルスがそれぞれ検出された。

臨床的につつが虫病患者と疑われた8名の患者について抗体検査を行った。このうち、秋に発生した

3名がつつが虫病の患者であった。3人の患者はKawasaki型のつつが虫病リケッチアに感染していた。

〔流行予測調査〕

日本脳炎：6月から9月まで県内8定点でコガタアカイエカの発生状況を調査した。一方、7月中旬から週1回県内産で生後6か月までの豚から採血し、日本脳炎ウイルスに対する血球凝集抑制（HI）抗体を測定し、ウイルスの県内侵入を監視した。コガタアカイエカの発生数は前年度に比べて若干増加した。ブタの抗体調査では前年度と異なり、9月中旬で30%、9月末で70%のブタが日本脳炎ウイルスの抗体を保有していた。一方、ウイルスの新鮮感染を示唆するIgM抗体保有ブタも9月中旬に6頭確認され、ヒトへの感染が危惧された。9月に入り、日本脳炎の患者が15年ぶりに氷見市で発生した。

ポリオ：感染源調査は魚津保健所管内の0歳から6歳までの健康な小児を対象に実施された。71例の便から13株のウイルスが分離された。分離されたウイルスはコクサッキーウイルス、エコーウイルス、アデノウイルス、未同定ウイルスで、ポリオウイルスは1例も分離できなかった。感受性調査は0歳から62歳までの67名の血清についてポリオウイルスに対する中和抗体を測定した。各年齢層全体の抗体保有率は1型が94%、2型が97%、3型が79%であった。また、平均抗体価は1型で174倍、2型で173倍、3型で24倍であった。

インフルエンザ：1998年1月5日に発病した定点の患者から今シーズン最初にA（H3）型インフルエンザウイルスが分離された。このA（H3）型ウイルスはその後、3月中旬まで流行した。今冬の最初の“集団かぜ”は1998年1月23日の某小学校で発生した。その後、県内各地で流行が継続し、3月中旬で終息した。休校、学年または学級閉鎖の措置が合計81施設でとられ、累積患者数は3,870人に達した。今冬の流行は過去10年間の中で2番目に大きい規模であった。4施設の“集団かぜ”患者のウイルス検査を行ったところ、いずれの集団もA（H3）型のインフルエンザウイルスによる流行であることがわかった。

近年、インフルエンザウイルスの感染により脳症、脳炎患者の報告が増加している。今冬、脳症、熱性けいれんを発症した重症患者のウイルス検査をする機会があった。いずれの患者も髄液からウイルスを検出することは出来なかったが、患者の咽頭からA（H3）型のインフルエンザウイルスが分離された。このことは今後、インフルエンザウイルス感染による脳症、脳炎などの発症に注目する必要があることを示唆している。

〔調査研究〕

リケッチアに関する研究：Q熱の病原体である *Coxiella burnetii* の媒介者（ベクター）はマダニである。県内に生息するマダニがどれぐらいの率で *C. burnetii* を保有するか不明である。そこで、PCR法でマダニから *C. burnetii* 遺伝子の検出を試みた。その結果、県内に生息するマダニの43%が *C. burnetii* 遺伝子を保有することが明かとなった。

河川水のウイルス汚染調査：前年度に引き続き河川水と下水から分離したウイルスについて解析を進めている。今年度は県内の各河川と下水から分離されたポリオウイルスが野生株かワクチン由来株かをウイルスのVp1遺伝子をPCR-RFLP法で解析した。その結果、県内の河川水や下水から分離されるポリオウイルスの大多数はワクチン由来株であることが判明した。しかしながら、3株のポリオウイルスは野生株の性状を示した。これらのウイルスは現在VP1遺伝子の塩基配列を解読し、解析を進めているところである。

ウイルス感染症の疫学的研究：1997年5月13日から15日までに県内の某小学校において腹痛、下痢、嘔吐、発熱の急性胃腸炎症状のほか、一部は感冒様症状を訴える患者が46名発生した。患者の糞便、

血液を採取して各種のウイルス学的検査（電子顕微鏡による観察，血清反応，PCR によるウイルスの遺伝子検索）を行った。その結果，採取した患者糞便全例からC群ロタウイルスが検出された。検出されたウイルスを抗原として，患者のペア血清の間で血清反応を行ったところ，全例，抗体価に有意上昇が認められ，C群ロタウイルスの感染がうらづけられた。

細 菌 部

〔伝染病，食中毒発生に関わる行政検査〕

経口感染する伝染病では，アメーバ赤痢1，赤痢10，コレラ1の発生があった。患者の行動をみるとアメーバ赤痢，コレラでは海外渡航歴はなかった。しかし，赤痢では原因菌は大部分血清型ソンネで，10例中9例までが，エジプト，インド，インドネシア，タイ，ベトナム等アジア旅行による感染であった。

平成9年度中に出血性大腸菌感染を疑って当所に101株の大腸菌が病院，保健所より送付されたが，内42株はVT遺伝子を有しなかった。

出血性大腸菌感染症は1年間に144名の感染者があった。分離菌の内訳は血清型，O157が7，O26が137例であった。平成9年7月には，観光牧場において2歳の子供2名が牛と接触して，O157：H7に感染し，また平成10年3月には高岡市内の7保育園で計132名の感染者が出るO26：H11による集団発生があり，いずれも全国的に注目された。後者の事例では，分離菌についてDNAのバルスフィールドゲル電気泳動を行い，原因菌はすべての園に共通であると推定した。また，糞便1g当たり 10^{6-8} の原因菌を排出しながら，無症状の保育園児が少なからずあるという結果を得，これが2次感染の原因として，重要であると考えた。

細菌性食中毒は患者数2名以上をみると，4件の発生があった。内訳は腸炎ビブリオ（血清型03K6）が2件，患者数62名，サルモネラ（S. Enteritidis, S. Hadar）が2件，患者数9名であった。

〔その他の行政および依頼検査〕

行政検査：食品については，7～10月に清涼飲料水60件の成分規格検査を行った。すべて，細菌学的規格基準に合格していた。3月に高岡市内7保育園で発生した腸管出血性大腸菌O26感染症では，多くの保育園に保存されていた検食，食材851件について原因菌の検索を行った。内数十件についてはピーズ法，酸処理法，抗生物質加培地使用による増菌培養法も併用した。しかし，原因菌は検出されなかった。

水質関係では，県生活環境部および富山市の依頼で海水浴場（16定点，延べ96検体）の糞便性大腸菌群数測定を行った。その結果，いずれも「適」で，そのうち約40%は水質が特に良好な「AA」ランクであった。なお，海水15件について大腸菌O157の検査を行ったが，すべて陰性であった。

平成8年度より始まった通称「VPマリン」事業では，県内4漁港の海水，海泥の腸炎ビブリオを6月から10月にかけて定期的に調べた。その結果，海水中の菌数は7月から10月初旬まで，ほとんどの定点で100ml中数個から100個の範囲であった。

梅毒については，保健所でガラス板あるいはTPHAで陽性であった検体を蛍光抗体法で調べたところ，18件中2件が陽性であった。

依頼検査：民間企業あるいは公営企業体より依頼されて検査した食品，医薬品，水はそれぞれ138，0，64検体で，全体として前年比38.4%であった。

〔流行予測、感染症サーベイランスと病原細菌検出情報〕

流行予測事業：県単独事業である溶血性連鎖球菌感染源濃度調査を東西2カ所の保育園児87名を対象に実施したところ、咽頭からの菌陽性数は10（内A群T1型2，T28型3，G群5株）であった。一方、病院で分離された多くの溶連菌を型別すると、咽頭からA群，喀痰，膿分泌物からB群が多く検出され，A群ではT1，T2，T12が，B群ではNT-6とJM-9が優勢であった。

感染症サーベイランスと病原細菌検出情報：感染症サーベイランスによれば，前年に比べ，百日咳様患者は72%減，溶連菌感染症は4%増，異型肺炎は11%増であった。

一方，病原細菌検出情報によれば，糞便からの菌検出数は，前年比でみると大腸菌が94%，サルモネラが63%，カンピロバクターが139%で，腸炎ビブリオは前年並であった。

〔調査研究〕

サルモネラ：都市河川水における分布調査とヒトから分離される菌株の収集を前年に続いて行った。その結果，都市河川水からのサルモネラ分離率は，この2年間10～30%で，10年前の40～50%に比し低く，分離菌には，S. Thompsonが多かった。

一方，ヒトでは多くの血清型のサルモネラが分離され，その中では血清型 S. Enteritidis が極めて多かった。

コレラ：国内の環境から分離されたコレラ毒素非産生性コレラ菌と，ヒトから分離された毒素産生性コレラ菌について，滅菌海水中における生存性を栄養豊かな培地を用いて調べた。いずれも6ヶ月以上あまり死滅することなく生存し，両者に生存力の差は認められなかった。一方，昨年全国的に多発し，本県でも発生した海外渡航歴なしのコレラについて，原因菌の由来を知る目的でパルスフィールドゲル電気泳動を実施した。その結果，この菌株は，以前に東南アジア旅行後の患者から分離された菌と似ていることが判明した。

大腸菌：①腸管出血性大腸菌：平成10年3月に高岡市で発生した集団感染の原因となったO26：H11は，それ以前に富山県内で分離された菌とは，そのクローンが異なることをパルスフィールドゲル電気泳動によって明らかにした。一方，O157：H7は，主に1991～1997年に分離された26株について，94種の薬剤感受性を調べ，供試菌は薬剤感受性で10型に分けられること，近年新たな薬剤耐性菌が出現していること等を明らかにした。また，厚生省と共同で行ったハエのO157分布調査では，県内で採取したハエ230匹に該菌はみつからなかった。

②その他の病原性大腸菌：これまでに県内の病院等で分離された349株について eaeA 遺伝子を PCR 法で調べた。その結果，カテゴリー EPEC に属する大腸菌の病原性に関与するとされる eaeA 遺伝子は，血清型O157：H7，O26：H11を主とする15の血清型の菌に認められ，その他の血清型の菌には認められなかった。

溶連菌：溶連菌感染症の流行状況を知る目的で，M型別を東海北陸地区のレファレンスセンターとして実施している。中には型別できない菌株がある。このような菌株を染色体DNAの塩基配列で調べることで型別できるのではないかと考え，その手技を検討した。可能と思われる成績を得た。

腸炎ビブリオ：耐熱性溶血毒（TDH）産生菌は人由来に多く，環境由来に極めて少ない理由は今日でも充分証明されていない。そこで，乳呑みマウスあるいは家兎結紮腸管へTDH産生菌と非産生菌を接種し，増殖を比較した。家兎結紮腸管内では，TDH産生菌は非産生菌より，良く増殖する傾向であることが明らかとなった。

富山県では，昭和59年頃以来，腸炎ビブリオ食中毒発生予防を目的として，海産魚介や海水中の腸炎ビブリオ汚染度調査を実施してきた。これまでの結果を集計したところ，腸炎ビブリオ食中毒発生数が

多い年は、6月の魚の本菌汚染度が高い傾向であることが判明した。

ヘリコバクターピロリ：胃潰瘍から分離されるピロリ菌と健康者から分離されるピロリ菌が、DNAレベルで差があるかどうかを調べるために、パルスフィールドゲル電気泳動を行った。泳動像はしばしばスメア状になり、良い結果は得られなかった。このことより現在リボタイピングという手技で両者を比較できないか検討している。

化 学 部

〔行政および依頼検査〕

1. 食品等の検査

(1) 添加物および成分規格の検査

煮干し等魚介乾製品10検体については酸化防止剤（BHA, BHT）、魚肉ねり製品、漬け物など14検体は保存料（安息香酸、ソルビン酸）および生めん類など10検体は品質保持剤（プロピレングリコール）の検査を行ったところ、いずれも使用基準に適合していた。県内で生産されたミネラルウォーターについて、7,8,9月に延べ60検体の成分規格試験（混濁、沈殿物、ヒ素、鉛、カドミウムおよびスズ）を行ったところ、いずれの成分も検出されず、すべての検体が規格基準に適合していた。

(2) 残留農薬の検査

県内産主要農産物4種16検体について61農薬を検査した。有機リン系のアセフエートがぶどう1検体から0.13ppm（残留基準は5ppm）、含窒素系のイプロジオンがぶどう1検体から0.19ppm（基準25ppm）、N-メチルカーバメイト系のフェノブカルブが玄米1検体から0.02ppm（基準1.0ppm）検出されたが、他の農薬はいずれの検体からも検出されなかった。

(3) 重金属等の検査

富山湾産魚介類について、17魚種21検体（あじ、ハマチ等）の総水銀を測定したところ、すべての検体から検出され、濃度は0.01～0.25ppm（暫定的規制値0.4ppm）であった。また9魚種10検体のトリブチルスズオキシド（規制値なし）を測定したところ、めじまぐろ1検体から0.04ppm検出したが、他は不検出であった。

2. 家庭用品検査

除菌消臭スプレーや繊維保護用スプレーなどの家庭用エアロゾル製品14検体について、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレンあるいは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。

3. 水質検査

(1) 水質基準項目検査

水道浄水131件についてはトリハロメタン等の揮発性有機化合物およびシマジン等の農薬を合わせた19項目、水道原水37件は14項目の検査を行った。検出された成分は浄水のトリハロメタンだけであり、他の揮発性有機化合物および農薬はすべて不検出で、いずれも基準に適合していた。また井戸水等93件についてテトラクロロエチレン等の検査を行ったところ、いずれも基準に適合していた。なお総検査件数は261（総項目数2,878）であった。

(2) 監視項目検査

水源として利用されている表流水3件および地下水14件について、モリブデン、ニッケルおよびトルエン等26項目の検査を行った。ホルムアルデヒドについては3件、トリクロロ酢酸は5件及びジクロ

口酢酸は4件から検出されたが、その値は指針値の1/100～1/10程度であった。他の項目はいずれも不検出であり、監視項目検査に関しては汚染の危惧はないと推定された。

(3) 快適項目検査

臭気強度、2-メチルイソボルネオールおよびジエオスミンについて、4件の検査を行ったところ、いずれも目標値未満であった。

(4) 井戸水のゴルフ場使用農薬検査

県内ゴルフ場周辺の井戸水について、平成9年5月(22件)および11月(23件)にゴルフ場使用農薬(シマジン等40成分)の検査を行ったところ、いずれの井戸水からも農薬は検出されなかった。

4. 温泉分析

中分析10件及び小分析1件(新規分析6件、再分析5件)を行ったところ、すべて温泉法第2条に適合し、10件は療養泉であった。主な泉質はナトリウム-塩化物・炭酸水素塩泉、ナトリウム-硫酸塩泉、単純温泉などであった。また、温泉資源保護を目的として、温泉密集地域の16泉源の主要成分について、平成7年度から経年変化調査を行なっているが、本年度の測定値は前年度と大きな相違は認められなかった。

[調査研究]

1. 食品中の成分および添加物に関する調査研究

(1) イオンクロマトグラフィーによる縮合リン酸塩の分析法

食品添加物として広範な食品に使用されている縮合リン酸塩は多価リン酸塩の総称であり、従来からイオンクロマトグラフ法で個別定量する新しい分析法の開発を進めてきた。サプレッサー方式の場合には、移動相陰イオン濃度(NaOH)を上昇させてリン酸塩を順次溶出し、サプレッサーで移動相陰イオンを除去した後に検出する。サプレッサーの能力には限界があり、使用可能な移動相濃度の上限が規制され、縮合度の高いリン酸塩(価数の高い化合物)は測定できない。そこで、低濃度で溶出力の強い移動相の検討を行い、ホウ酸系溶離剤とイオン交換カラムとの相互作用の解析を進めた。錯イオン系の溶離剤(ヒドロキシフェニルボラン-マンニトール)を用いることにより、マンニトール濃度を変化させてイオン交換カラムの見かけの交換容量を制御し、縮合度1～10のリン酸塩の分離溶出が可能な条件を確立した。

2. 食品中の残留農薬およびその他の有害物質に関する調査研究

(1) 残留農薬の分析法

農産物中の残留農薬調査のために、本年度はアセトン抽出後、ケイソウ土固相カラム抽出、GPCカラム及びシリカゲルミニカラム等を用いて精製を行い、GC、HPLCで定量する厚生省農薬多成分分析法(平成9年2月6日付、事務連絡)を使用した。玄米等の脂質の多い農産物では、妨害成分が十分に除去されず、GCカラム等の劣化が著しく、かならずしも実用的ではなかった。省力化のために多成分一斉分析が、また有害試薬の使用を避けることが望まれている。しかしながら、農産物の種類や農薬の性質は複雑多岐にわたるため、検査精度を確保するためには、農産物や農薬の種類に合わせて、複数の分析法を適切に使い分けることが必要である。

3. 飲料水および温泉に関する調査研究

(1) 水質検査の効率化と検査精度の確保に関する調査

保健所では年間約6,000件の水質検査が行われている。保健所における水質検査体制の機能強化、集中化を図るために、平成10年度にイオンクロマトグラフ(IC)の導入が予定されていた。そこで、塩素イオン、硝酸性及び亜硝酸性窒素の測定について、IC法と従来の方法とを比較検討した。IC法は

従来の方法に比較して、測定値が一致すること、検査精度が優れていること、有害な試薬を使用する必要のないクリーンな方法であること、自動分析が可能なこと等の利点がある。IC装置の導入は水質検査の効率化と検査精度の確保に寄与するものと推定した。

4. 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

(1) 微分スペクトルクロマトグラム法による柑橘類中のイマザリルの分析

グレープフルーツに残留する殺菌剤（イマザリル）について、簡単な前処理（抽出、濃縮、溶媒の置換）を行うだけで試験溶液を調製し、フォトダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフで分析した。得られた三次元データを用い、微分スペクトルクロマトグラム法を適用してイマザリルを定量した。本法による測定値は公定法による値と良く一致した。本法は共存する天然成分の妨害を排除し、簡易迅速にイマザリルを分析できる実用的な方法である。

(2) キャピラリー電気泳動法による清涼飲料水中のパントテン酸光学異性体の分析

前年度は清涼飲料水中のパントテン酸の簡便・迅速な方法を確立した。本年度は引き続き、パントテン酸の光学異性体の測定法の検討を行った。誘導体化しないで光学分割するためには、一般的に、包接機能を有するシクロデキストリン（CD）を泳動液に添加して分析する。親水性の化合物であるパントテン酸を包接するCDの検索を行い、2-ヒドロキシプロピル-β-CDを用いた場合だけ、D,L-パントテン酸が光学分割されることを明らかにした。清涼飲料水に添加されているパントテン酸についてD-およびL-体を分析する方法を確立した。

(3) 偏光吸光度検出法を利用した光学異性体の分析

偏光吸光度検出法はスプリットセル（高速液体クロマトグラフの吸光度検出器のフローセルを改造し、試料側と対照側の両セルに、分析カラムからの溶出液を分岐して通過させるようにしたもの）の前後に偏光板を装着して化合物の旋光度を測定する。スプリットセル直後の偏光板の代わりに、セル前の偏光板の後に位相差板を組み込むことで、化合物の円二色性（CD）に基づく検出が可能なことを明らかにした。更に、偏光板を偏光プリズムに、ファーストオーダー位相差板の代わりに石英板を使用することによって、測定可能波長範囲を飛躍的に増大させることに成功し、検出感度が向上した。この検出系を用い、製剤中のカンフルの光学異性体を分析する方法を確立した。

(4) 農薬の分解生成物について、化学的性質の把握及び簡易分析法の開発

水質基準項目に設定されているチオベンカルブは塩素処理によって速やかに分解する。その分解生成物を同定したところ、チオベンカルブスルホキシドであった。また、チオベンカルブと同様に、この生成物には変異原性があることを明らかにした。さらに、高速液体クロマトグラフィーにより、チオベンカルブとチオベンカルブスルホキシドを同時に分析する方法も確立した。

5. 深層海水の成分分析・清浄性の評価研究

非水産分野における深層海水の利用に関する研究の一環として、富山湾の深層海水の特徴を把握するための調査を平成8年度から開始した。本年度は平成9年4月、6月、8月、10月、12月及び平成10年2月に、水産試験場に設置されている受水設備から深層海水、表層海水を採取して、理化学的性状（主要無機成分、微量金属元素など40項目及び環境汚染物質等74項目並びにアミノ酸類）及び微生物学的（細菌学的）性状について、薬事研究所、工業技術センター、(株)ゼオン高岡分析センター及び当所細菌部と分担して調査を行った。

[理化学検査の精度管理]

県内の水質検査を行う16機関が参加して、塩素イオン及び鉄について外部精度管理が実施された。当所は幹事機関として実施計画の策定に係わり、また精度管理用試料の調製、各機関から報告された分析

値の解析等を担当した。塩素イオン測定用の配布試料には市販品のミネラルウォーターを用い、鉄についてはミネラルウォーターに標準品を添加(0.27mg/L)したものを用いた。回収率(報告された測定値/真の値:各機関の値の平均値で代用)が0.9~1.1の範囲内であれば、検査は良好に実施されたと判断される。塩素イオンについては、この範囲から外れた機関は無かった。鉄については、前年度の5機関から2機関に減少した。鉄については2回目の実施であり、各機関の検査精度が向上したものと考えられる。回収率が範囲から外れた機関を含めて各機関は、検査精度に影響を及ぼす各種要因(実験室環境、器具器材、試薬、分析装置、分析操作法等)についての点検を日常的に行い、問題点を把握し、その改善を図り、検査精度の確保に努めることが必要である。

[夏休み子供科学研究室]

子供達に科学に接する機会を与えることを目的として、平成6年度から県の各試験研究機関が分担開催している事業である。本年度は当部が「食品中の着色料を調べてみよう」というテーマで企画した。県内各地から7名の中学生が参加し、食用着色料の性状の観察や食品中の含有色素の定性・定量実験を体験した。

環 境 保 健 部

[行政検査]

1. カドミウム環境汚染に関わる地域住民の健康調査(神通川流域住民健康調査)

神通川流域住民健康調査は、昭和51年度に環境庁により定められた住民健康調査方式にそって行われてきたが、平成9年7月、健康調査の今後のあり方について中間報告が環境庁において取りまとめられた。

主な変更点は、従来の1次検診A及びBを統合し、1次検診で近位尿細管機能異常のスクリーニング検査である β_2 -マイクログロブリン定量を行うことなどである。

このことから、県では環境庁の委託を受け昭和54年度から実施してきた住民健康調査方式を平成9年度からは、今回環境庁により取りまとめられた方式により実施することとなった。

(1) 1次検診

昭和50年以前に「公害健康被害の補償等に関する法律の指定地域等」に20年以上居住していた50歳以上の者で、調査実施年に50歳、55歳というように節目の年齢を迎える住民のうち、

- ① 昭和54年度から昭和59年度に実施された環境庁委託調査の対象者
- ② 環境庁委託分以外の者
- ③ 平成2年度以降の環境庁委託追跡検診対象者
- ④ 平成8年度の環境庁委託及び県単調査の2次検診対象者

を対象とした調査で、計2,960名が調査対象となった。

調査対象となった住民に対して検診案内等を送付し、受診を希望する旨の回答が得られた925名が1次検診を受診し、新たに定めた環境庁の調査方式により尿検査を実施した。

(2) 精密検診(2次、3次)

1次検診の結果、尿中 β_2 -マイクログロブリン陽性、蛋白定性陽性の者、153名が精密検診の対象となった。精密検診は、富山医科薬科大学付属病院、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112名の尿・血液が当衛生研究所に搬入され、所定の検査を行った。

(3) 管理検診

イタイイタイ病要観察者に対して、経過を観察する目的で実施されている管理検診の対象者5名のうち2名が受診し、当衛生研究所が担当する尿・血液検査18項目の検査を実施した。

〔調査研究〕

1. イタイイタイ病に関する研究

カドミウム環境汚染に関わる地域住民の健康調査（神通川流域住民健康調査）の精密検診受診者について、骨形成マーカーに対する腎機能低下の影響を検討した。

その結果、同性同年齢のカドミウム非汚染地域住民に比べ、血清骨型アルカリフォスファターゼは高い値を示したが、血清オステオカルシンは同じレベルで検出されたことから、腎機能低下が腎臓で代謝、排泄されるオステオカルシン測定値へ影響を与えるものと考えられた。

2. 骨代謝指標による骨粗鬆症の効果的な予防法の確立に関する研究

(1) 中高年女性における尿中骨吸収マーカーと踵骨骨密度・生活習慣との比較検討

骨粗鬆症予防の効果的な方法を探るため、健常な中高年女性について骨吸収マーカーである尿中ハイドロキシプロリンを閉経後も比較的低い群と高い群に分け、両群間で踵骨骨密度や生活習慣の比較を行った結果、Stiffnessには両群間に差はなかった。

しかし、1日の歩行時間を比較したところ、ハイドロキシプロリン低値群がより長時間歩行していることが認められ、軽度の運動でも骨吸収を抑制し骨密度低下の防止に役立つことが明らかとなった。

(2) 女子短大生における踵骨骨密度及び骨代謝指標

女性の最大骨量に達する時期は、十代後半から20歳頃にかけてであると言われるようになってきたが、この時期は瘦身願望が強く、ダイエットを繰り返していたり月経不順を訴える者も多い。そこで、女子短大生について18ヶ月間追跡調査を実施したところ、月経不順ありとダイエット経験有りの両因子を有する者は骨密度が低下していた。さらに、月経不順やダイエット経験を有する者でも両因子が単独であっても骨形成指標の血清骨型アルカリフォスファターゼが低く、将来の骨密度の低下を招く可能性が示された。

3. 成人病予防に関する疫学的研究

(1) 骨量増加に及ぼす身体発育ならびにライフスタイル要因の影響

骨密度に影響する要因を明らかにするため、顕著な成長段階である中学1年生から3年生までの間、体格指標、踵骨骨密度及び骨代謝マーカーを2年間追跡し、身長伸び、第二性徴、ライフスタイルとの関連を検討した。

その結果、骨密度は、男子で増加したが、女子では一定の変化は認められなかった。また、骨代謝マーカーは骨形成、骨吸収とも男子が女子より高値を示し、身長伸びと関連していた。第二性徴の影響は、女子の骨代謝マーカーに顕著に現れ、初潮発来後3年間で骨形成、骨吸収マーカーは大きく低下した。

一方、ライフスタイルのうち運動習慣がある男子では骨量増加がより大きく、女子では骨代謝マーカーが高値を示し、成長期の運動が骨塩量を増やす効果があることを示した。

(2) 骨代謝指標、骨密度と生活習慣、特に運動との関連

成長期の高校生について、将来の成人病を予防する一環として、骨代謝指標および骨密度を測定し、それらと運動などの日常生活習慣との関連を検討した。

その結果、運動と骨代謝指標との関連において、運動クラブ活動参加の男子では、骨形成指標が

高く、女子では、骨吸収指標が低い傾向を示したことから、男子では骨形成の亢進が、女子では骨吸収の抑制が示された。また、骨密度との関連において、運動による骨代謝の変化は、結果として骨密度を増加させると推測された。

運動種目別にみると、跳躍や瞬発力を伴う運動が骨量増加に良い影響を与えていると考えられた。

4. 環境汚染物質の生体影響に関する研究

(1) 有機リン系農薬の尿中代謝物追跡調査

有機リン系農薬の尿中代謝物濃度の変動と非散布時期のバックグラウンドレベルを知るため、農業者とその家族、並びにコントロールとしての非農業者について、尿中の代謝物排泄状況を農繁期、農閑期を通じて約半年間にわたって追跡した。

その結果、農薬散布作業には作業後に高濃度に代謝物排泄が観察され、作業に就かず離れた場所にいた者でも、散布量や風向きなどの気象条件によっては、暴露を受ける可能性が示された。また、農薬使用のない時期でも、農業者とその家族では散発的な濃度の上昇がみられた。

さらに、非農業者においてもコンスタントに代謝物が検出され、有機リン系農薬が体内に長期間残留している可能性が示唆された。

(2) 微量元素濃度に及ぼすダイエットの影響

環境汚染や喫煙、飲酒などのライフスタイルが生体必須微量元素の代謝に及ぼす影響研究の一環として、近年女性にブームになっているダイエットと血清亜鉛、銅、およびセレン濃度との関係について検討した。

血清亜鉛濃度は、体脂肪率に関わらずダイエット経験者が非経験者に比べ低い値を示したが、血清セレン及び血清銅濃度は、体脂肪率の低い「やせ」で、且つダイエット経験者が非経験者に比べて低い値を示した。

このことは、食生活においてダイエット経験者の魚類摂取頻度が低いこととの関連を示唆している。

(7) 検 査 状 況

() 内項目数

部 名	区 分	行 政 検 査	依 頼 検 査
がん研究部	先天性代謝異常検査	11,745 (70,470)	
	染色体検査	182 (182)	46 (46)
	衛生動物等検査	1,701 (5,647)	264 (264)
	小 計	13,628 (76,299)	310 (310)
ウイルス部	感染源検査	1,111 (1,112)	
	血清検査	586 (1,265)	
	小 計	1,697 (2,377)	
細菌部	伝染病にかかわる検査	971 (972)	
	食中毒にかかわる検査	106 (176)	
	血清学的検査	18 (18)	
	食品検査	1,174 (1,174)	138 (138)
	水質検査	351 (351)	64 (69)
	その他の検査		65 (138)
	小 計	2,620 (2,691)	267 (345)
化学部	食品にかかわる検査	213 (1,696)	
	家庭用品検査	15 (20)	4 (8)
	水質検査	105 (1,550)	228 (2,948)
	温泉分析	16 (160)	11 (317)
	小 計	349 (3,426)	243 (3,273)
環境保健部	カドミウム住民健康調査	1,039 (3,566)	
	小 計	1,039 (3,566)	
合 計		19,333 (88,359)	820 (3,928)

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	11,745	(70,470)
2. 染色体検査		
(1) 血 液	109	(109)
(2) 羊 水	35	(35)
(3) 胎 児	24	(24)
(4) 骨 髄 液	2	(2)
3. 衛生動物等検査		
(1) 衛生・不快動物	1,690	(5,633)
(2) 食品混入異物	11	(14)

[一般依頼検査]

1. 染色体検査		
(1) 血 液	8	(8)
(2) 羊 水	38	(52)
2. 衛生動物等検査		
(1) 衛生・不快動物	261	(261)
(2) 食品混入異物	3	(3)

ウ イ ル ス 部

[行政検査]

1. 感染源検査		
(1) インフルエンザ	96	(96)
(2) ポリオ	71	(71)
(3) その他のウイルス	201	(202)
(4) リケッチア, その他	743	(743)
2. 血清学的検査		
(1) インフルエンザ	38	(148)
(2) ポリオ	67	(201)
(3) 日本脳炎 (ブタ)	228	(228)
(4) エイズ (ヒト)	1	(1)
(5) その他のウイルス	83	(83)
(6) リケッチア, その他	16	(48)
(7) アレルギー	41	(328)

[一般依頼検査]

() 内項目数

細菌部

[行政検査]

1. 伝染病にかかわる検査

(1) 溶連菌	394	(394)
(2) コレラ菌・NAG	5	(5)
(3) 赤痢菌	3	(3)
(4) 結核菌	2	(3)
(5) 出血性大腸菌	569	(569)*

2. 食中毒等にかかわる検査

(1) サルモネラ	67	(67)
(2) 病原大腸菌	31	(31)
(3) 黄色ブドウ球菌	7	(9)
(4) その他	1	(2)

3. 血清学的検査

(1) 梅毒蛍光抗体法	18	(18)
-------------	----	-------

4. 食品検査

(1) 収去食品	79	(79)
(2) 集団発生原因食調査	1,095	(1,095)

5. 水質検査

(1) 海水	142	(350)
(2) 河川水	140	(258)
(3) 飲料水	59	(59)
(4) 湖沼水	10	(10)

[一般依頼検査]

1. 食品検査 138 (138)

2. 水質検査

(1) 海水	36	(41)
(2) 風呂水	24	(24)
(3) 河川水	4	(4)

3. その他の検査

(1) 空調ダクト内菌数	64	(138)
(2) 落下細菌数	1	(2)

* : 集団発生による菌検索を含む

() 内項目数

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	103	(498)
(2) 残留農薬	46	(1,004)
(3) 重金属類	49	(59)
(4) 容器包装	6	(18)
(5) 有害物質等	9	(120)

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 およびトリクロロエチレン	5	(10)
(3) デイルドリン	5	(5)

3. 水質検査

(1) 基準項目	60	(314)
(2) 監視項目	17	(442)
(3) ゴルフ場使用農薬	22	(350)
(4) 深層海水等	6	(444)

4. 温泉分析

16 (160)

[一般依頼検査]

1. 家庭用品検査

(1) テトラクロロエチレン およびトリクロロエチレン	4	(8)
--------------------------------	---	------

2. 水質検査

(1) 水質基準項目	201	(2,564)
(2) 快適水質項目	4	(12)
(3) ゴルフ場使用農薬	23	(372)

3. 温泉分析

(1) 中 分 析	10	(300)
(2) 小 分 析	1	(17)

環 境 保 健 部

[行政検査]

1. カドミウムにかかわる検査

(1) 神通川流域住民健康調査

1次検診 尿検査 925 (1,850)

精密検診 尿, 血液検査 112 (1,680)

(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診

尿, 血液検査 2 (36)

[一般依頼検査]

(8) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
微 生 物 学	石 倉 康 宏	総 合 衛 生 学 院 第 一 看 護 学 科	平 9. 4 ~ 7 週 1 回	総合衛生学院
微 生 物 学	中 山 喬	富 山 市 医 師 会 看 護 専 門 学 校 看 護 科	平 9. 4 ~ 8 週 1 回	富山市医師会 看護専門学校
生 化 学	品 川 保 弘	厚生連高岡専門学校	平 9. 4 ~ 9 週 1 回	厚生連高岡 看護専門学校
統 計 学	松 浦 久 美 子	総 合 衛 生 学 院 第 二 看 護 学 科	平 9. 4 ~ 9 週 1 回	総合衛生学院
ウイルス病の変遷	北 村 敬	富 山 県 女 子 薬 剤 師 協 会 総 会	平 9. 4. 24	薬 業 会 館 (富山市)
腸管出血性大腸菌O157等 による食中毒発生の防止	刑 部 陽 宅	富山県食中毒防止研修会	平 9. 5. 29	県教育文化 会館
エイズ治療の進歩	北 村 敬	第 38 回 日 本 臨 床 ウ イ ル ス 学 会	平 9. 6. 5	箱根ホテル小涌園 (神奈川県)
環 境 保 健 (環境と健康指標)	西 野 治 身	富山医薬大医学部	平 9. 6. 10	富山医薬大
病原性大腸菌O157等 による食中毒予防対策	刑 部 陽 宅	富山県環境衛生同業 組 合 会 員 研 修 会	平 9. 6. 12	県 民 会 館
ウ イ ル ス 学 総 論	北 村 敬	帝 京 大 学 医 学 部 微 生 物 学 講 義	平 9. 6. 16 ~ 17 (3 時 限)	帝京大学医学部 (東京都)
感染症の変遷と再興	北 村 敬	第 31 回 環 境 変 異 原 学 会 研 究 会	平 9. 6. 20	呉羽ハイツ (富山市)
ウ イ ル ス 学 各 論	北 村 敬	帝 京 大 学 医 学 部 微 生 物 学 講 義	平 9. 6. 23 ~ 24 (3 時 限)	帝京大学医学部 (東京都)

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
臨 床 遺 伝 学 遺伝スクリーニング	林 美貴子	富山医科薬科大学 医 学 部	平9. 6. 23	富山医科薬 科大学
O157をはじめとする 細菌性食中毒について	刑 部 陽 宅	金 沢 市 福 祉 保 健 部 担 当 職 員 研 修 会	平9. 6. 26	金沢市保健所
臨 床 遺 伝 学 染色体異常と遺伝病	本 田 幸 子	富山医科薬科大学 医 学 部	平9. 6. 30	富山医科薬 科大学
外 来 性 ウ イ ル ス	北 村 敬	東京大学医科学研究所 熱 帯 病 学 コ ー ス	平9. 7. 1	東京大学医 科学研究所 (東京都)
新生児マススクリー ニ ン グ	米 田 豊	先天性代謝異常症 検 査 技 術 者 研 修 会	平9. 7. 3	東京都 (総 合母子保健 センター)
食品の安全性について	斎 藤 行 雄	砺波市消費者グループ 研 修 会	平9. 7. 3	衛生研究所
微生物災害の発生要因	北 村 敬	バイオセーフティー技術講習会 主 任 管 理 者 コ ー ス	平9. 7. 9	サンプラザ中野 (東京都)
学校給食と食中毒	刑 部 陽 宅	高岡市学校給食職員 調 理 員 研 修 会	平9. 7. 30	高岡市役所
HIV研究の現状と将来	北 村 敬	第 1 回 富 山 県 HIV 感 染 症 研 究 会	平9. 8. 28	富山県医師会館 (富山市)
生 化 学	品 川 保 弘	高岡市立看護専門学校	平9.9~平10.2 週1回	高 岡 市 立 看護専門学校
微 生 物 学	石 倉 康 宏	高岡市立看護専門学校 第 一 看 護 科	平9.9~平10.3 週1回	高 岡 市 立 看護専門学校
ヘクサンボの侵入 阻 止 法	渡 辺 護	立山町千寿ヶ原害虫 駆 除 研 修 会	平9. 9. 19	立山町千寿 ヶ原公民館
微 生 物 学	庄 司 俊 雄	厚生連高岡看護専門 学 校 看 護 科	平9.10~平10.2 週1回	厚生連高岡 看護専門学校

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
衛 生 動 物 学	渡 辺 護	富山医科薬科大学 医 学 部	平9. 10. 8	富山医科 薬科大学
ダイオキシンなど有害 物質の健康影響につい て	新 村 哲 夫	きらめきエンジニア 事 業	平9. 10. 9	富山女子高校
ウイルス制下痢症 —食品と水が原因とな るもの—	北 村 敬	富 山 県 栄 養 士 会 生 涯 学 習 研 修 会	平9. 10. 9	富山県中小 企業センター (富山市)
食品の安全性について	松 永 明 信	第27回富山県女子青年の集い (富山県青年団協議会)	平9. 10. 26	富山市奥田北 地区センター
建築物における衛生・ 不快害虫について	渡 辺 護	平成9年度ねずみ・ 衛生害虫駆除技術者 研 修 会 特 別 講 演	平9. 11. 11	新潟県庁 西回廊講堂
バイオセーフティーの 原 理	北 村 敬	バイオセーフティー技術講習会 主 任 管 理 コ ー ス	平9. 11. 18	サンプラザ中野 (東京都)
衛生研究所における GLP 対応について	大 戸 幹 也	富 山 県 薬 学 公 務 員 協 会 研 修 会	平9. 11. 22	呉羽ハイツ (富山市)
HIV 感 染 症	北 村 敬	JICA国際研修コース 「臨 床 検 査」	平9. 11. 25	JICA東京研 修センター (東京都)
ダイオキシンなど有害 物質の健康影響につい て	新 村 哲 夫	きらめきエンジニア 事 業	平9. 12. 8	桜井高校
エイズ研究最新の動向	北 村 敬	富山県エイズ研修会	平9. 12. 9	とやま自遊館 (富山市)
室内ダニの生息	渡 辺 護	氷 見 保 健 所 ア ト ピ ー 教 室	平9. 12. 18 平10. 2. 3	氷見保健所
新興・再興感染症 と我国の防疫体制	北 村 敬	金沢医科大学医学部 基礎臨床総合講義	平10. 1. 22	金 沢 医 科 大学医学部 (石川県)
ウイルス疾患の制圧と 根絶	北 村 敬	富山医科薬科大学医学部 ウイルス学特別講義	平10. 1. 27	富山医科薬科 大学医学部 (富山市)

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
ウイルス性出血熱とバイオセーフティー	北 村 敬	富山医科薬科大学医学部 ウイルス学特別講義	平10. 1. 27	富山医科薬科 大学医学部 (富山市)
ダイオキシンなど有害物質の健康影響について	新 村 哲 夫	きらめきエンジニア 事 業	平10. 2. 5	魚津工業高校
室内ダニの生態とアトピー	渡 辺 護	氷見保健所管内 保 母 研 修 会	平10. 2. 10	氷見保健所
マダニのリケッチア保有状況	安 藤 秀 二	希少感染症研修会	平10.2.23~24	国立感染研
新生児マススクリーニング	米 田 豊	日本マススクリーニン グ学会技術部会	平10. 3. 13	琵琶湖ホテル (大津市)
骨密度と骨代謝指標	西 野 治 身	成 都 中 医 薬 大 学 中医学部・薬学部	平10. 3. 13	中国・成都 中医薬大学
〃	〃	内 蒙 古 医 学 院 医 学 部	平10. 3. 16	中国・内蒙 古医学院
ダイオキシンと健康	新 村 哲 夫	大島町一人一人健康 協議会研修会	平10. 3. 19	大 島 町 今開発公民館
HIV/AIDS研究最近の話題	北 村 敬	地方衛生研究所全国 協議会東海北陸支部 ウイルス部会特別講演	平10. 3. 27	鳥羽簡易保健 保養センター (三重県)

(9) 研 修 指 導

対象者および所属	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
富山市保健所 小 池 美奈子	平9. 5. 12 9. 6. 2 9. 6. 9	腸管出血性大腸菌O157のベロ毒素遺伝子検出機操作及び水のレジオネラ属菌検査	細 菌 部
安全性研究センター 三 井 和 美	平9. 5. 12 ～6. 11	腸管出血性大腸菌O157の検査	細 菌 部
高岡保健所 竹 田 享 代	平9. 5. 20～23 平9. 6. 30～7.11	食品添加物の分析 残留農薬の分析	化 学 部
福野保健所 中 川 まゆり	平9. 5. 20～23	食品添加物の分析	化 学 部
黒部保健所 松 田 和 久	平9. 5. 23	食品添加物の分析	化 学 部
星薬科大学 渡 辺 卓 穂	平9. 6. 27	偏光吸光度検出法の原理と応用技術の修得	化 学 部
富山市保健所 橋 本 妙 子	平9. 7. 7～11 平10. 1. 14, 16 平10. 3. 9	食品添加物の分析 (HPLC) 魚介類中の有機スズ化合物の分析 家庭用品中のテトラクロロエチレンの分析	化 学 部
食肉検査所 田 中 有易知	平9. 10. 21 平9. 11. 10～14	食品添加物の分析 (HPLC) 残留農薬の分析	化 学 部
丸三製薬 吉 枝 卓 郎	平10. 2. 1 ～2. 28	各種細菌検査手技の習得	細 菌 部
千葉県衛生研究所 小岩井 他1名	平10. 3. 26	溶血レンサ球菌のパルスフィールド電気泳動法について	細 菌 部

(10) 研 修 受 講

受講者氏名	研修期間	研修内容	研修機関	講師所属氏名
平 田 清 久	平9. 5. 26 ～5. 30	腸管出血性大腸菌 O157の検出・解析 等の技術研修会	国立感染症研究所	細菌部 部長 渡邊 治雄 他
小 玉 修 嗣	平9. 7. 22 ～29	魚肉及び畜肉からの 筋肉タンパク質（ミ オシン）の調製法並 びに尿素電気泳動法 による各種の判別	北海道大学 水産学部	生物化学講座 関 伸夫先生
本 田 幸 子 林 美貴子	平9. 8. 23 ～25	臨床細胞遺伝学セミ ナー	日本人類遺伝 学会	東京医科歯科大学・ 難治疾患研究所 池内達郎先生等
磯 部 順 子	平9. 9. 3 ～9. 5	クリプトスポリジウ ムの検査技術研修	神奈川県衛生研究所 埼玉県衛生研究所	黒 木 俊 郎 山 本 徳 栄
林 美貴子	平9. 10. 14 ～21	染色体ペインティン グ法に関する研究	兵庫医科大学 遺伝学講座	兵庫医科大学遺伝学講座 古山 順一先生 玉置 和子先生
磯 部 順 子	平9. 12. 1 ～12. 2	食品保健特殊技術講 習会	国立公衆衛生院	厚生省 小野生活局長 他
平 田 清 久	平10. 2. 23 ～2. 24	希少感染症診断技術 研修会	国立感染症研究所	都立駒込病院 増田 剛太 他

(11) 客員研究員等招へい

客員研究員招へい事業

客員研修員氏名	所 属 職 名	招 へ い 期 間	指 導 内 容
佐々木 均	北海道文理科短期大学 助教授	平9. 8. 18 ～ 8. 22	オロロトラップの開発及び配置戦略
彼 谷 邦 光	国立環境研究所化学環境部 化学毒性研究室長	平9. 12. 18 ～12. 19	ラン藻類の生産する有毒化合物 (ミクロシスチン) の毒性とその 分析法について

(12) セミナーの開催

衛生研究所, 薬事研究所, 環境科学センター 3研究機関合同セミナー

演 題	講 師 氏 名	所 属 職 名	年 月 日
ラン藻の生産する有毒物質 (ミクロシスチン) の毒性とその分析法について	彼 谷 邦 光	環境庁 国立環境研究所 化学環境部 化学毒性研究室長	平成9年12月18日

2. 調 査 研 究 報 告

培地調製に用いる種々の水による 細胞増殖への影響の比較検討

品川 保弘 大江 浩 北村 敬

Effects of various waters for preparation
of culture media on the growth of
cultured cell line

Yasuhiro SHINAGAWA, Hiroshi OE
and Takashi KITAMURA

要 旨 胃がん発生背景要因に関する疫学調査の結果から、胃がん発生のリスク要因の一つとして浮かび上がっている飲料水について、実験的な考察を試みた。胃がん患者では飲料水としての上水道水の利用率が低かったことから、上水道水以外の飲料水の中から、県内の名水のひとつでもあるA湧水を被検対象として選び、蒸留水との比較も含めて、培養細胞の増殖に与える影響を検討した。蒸留水に比較して、上水道水やA湧水によって調製した培養液を用いた場合には、細胞増殖に関して抑制傾向が認められたが、上水道水とA湧水との間では、大きな差異は認められなかった。

富山県に多い胃がんの発生背景要因を探るため、平成元年から5年にかけて患者対照研究調査を実施し、報告書〔1〕を刊行するとともに、当所の年報においてもその概要を報告した〔2〕。その中で「現在あるいは30年前の飲料水が上水道であること」が「胃がんのリスクを下げる」可能性が示された。つまり飲料水としての上水道利用率が、胃がん患者では健康対照者に比べて有意に低い傾向が見いだされた。

成人での体水分量は体重の50～60%であるが、1日当りの水分の摂取量の内訳をみると、体内で生じる代謝水は1割程度に過ぎず、大半は食事、飲料水として経口的に摂取されるものに由来する。日常的に、しかも多量に摂取される水は、他の食事要因と同様に、あるいはそれ以上に、生活環境要因として、腸管系の組織や臓器になんらかの変化なり、影響を与えている可能性が考えられる。

一般に試験管内での組織培養あるいは細胞培養においては、培養液調製のための溶媒として、蒸留水が用いられる。これには、施設間での培養条件の格差を減ずる、細胞培養に多用される牛血清由来の増殖因子（抑制因子の存在も否定出来ない）以外の未知の因子の排除といった理由がある。

培養細胞を用いての変異原性試験や細胞毒性試験においては、被検物質を溶質として培養液に添加して検査が実施されるが、溶媒である水そのものに注目してその細胞学的な活性等を検索した例は、多くないのではないと思われる。

以上の視点から、細胞培養液調製時の溶媒として、通常蒸留水、上水道水、上水道ではない飲料用の自然水をそれぞれ用いた場合の、これら培養液中での培養細胞の増殖動態を比較し、上記の疫学的研究調査結果の意義づけを試みた。

材 料 と 方 法

1. 被検水

蒸留水は、ヤマト科学製オートステイル WG 220により生成されたものを、上水道水は射水上水道企業団により当衛生研究所に供給されているものを、上水道水以外の飲料用自然水としては、富山県中新川郡上市町にて採水したA湧水をそれぞれ用いた。

2. 細胞と培地

培養細胞は、国立衛生試験所変異原性部（現国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部）細胞バンクより供与された、アフリカミドリザル腎組織由来VERO細胞（ATCC-CCL81）を用いた。培地は、イーグルMEM（日水製薬、Code 05900）を上記の水に溶解し、牛胎児血清（FBS: GIBCO-BRL, No.26140-087）及びL-グルタミン（1×：最終濃度2mM）を添加後、適量の炭酸水素ナトリウム溶液（7.5%）を加えてpHを調整したものを用了。培地中のFBSは最終濃度10%，2%の2種類を用意した。FBS濃度及び溶媒の水の種類により、培養液の表示は、「FBS10%・蒸留水使用」「FBS2%・蒸留水使用」を各々「10DW」「2DW」とし、同様に上水道水使用の場合は「10SW」「2SW」、A湧水については「10AW」「2AW」とした。

3. 培養法と計測

細胞は60mmφ×15mmのプラスチックシャーレ（Falcon, #3002）に 1×10^5 個づつ各種培養

液とともに植え込み、5% CO₂インキュベーター内で、開放系にて1～4日間培養した。細胞数の変動は、Burker-Turk血球計算盤を用いて経日的に調べた。細胞数は、エリスロシンB色素排除法により、生細胞のみカウントした。各群とも3～4枚のシャーレを用い、細胞数の平均と偏差を求めた。各値の統計学的処理は、t検定により行われた。また同一デザインの実験はそれぞれ3回以上行い、再現性の確認につとめた。

結 果

1. 培養液の水の種類を変更した場合の影響

10DWで長期間培養し、この培地に馴化した細胞 1×10^5 個を、10DW、10SW、10AWにて培養、72時間後の細胞数を測定した。実験1-1と1-2では全く同様の結果が得られた。すなわち10DWに比べて、10SW及び10AWでは有意な増殖抑制が認められたが、10SWと10AWの間では、差はみられなかった（Table 1）。

2. 各培養液に馴化した後の細胞数の変動

VERO細胞の培養液に、10DW、10SW、10AWの各液を用いたもの3系統を準備した。10～30倍希釈法で50回の継代を繰り返し、各培養液に十分馴化したものを用いて同様の実験を行った。細胞数測定は48時間及び72時間の時点で行った。実験1と異なり、培養液の違いによる増殖の差異は全く認められなかった（Table 2）。

Table 1. Inhibitory effect of waters upon growth of VERO cells in culture.

Medium for cultivation	Cell number(<mean $\pm$ SD> $\times 10^5$) after 72 hr cultivation	
	Expt.1-1	Expt.1-2
10DW $\rightarrow$ 10DW	10.12 $\pm$ 0.63	13.48 $\pm$ 1.32
10DW $\rightarrow$ 10SW	7.67 $\pm$ 1.01	9.96 $\pm$ 1.46
10DW $\rightarrow$ 10AW	7.74 $\pm$ 0.53	9.41 $\pm$ 1.54

NS: not significant, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.02$, ***: $p < 0.01$

Table 2. Growth kinetics of VERO cells in media prepared with various water.

Medium for cultivation	Cell number(<mean $\pm$ SD> $\times 10^5$) after cultivation	
	Expt.2 - 48 hr	Expt.2 - 72 hr
10DW $\rightarrow$ 10DW	8.32 $\pm$ 1.60	12.96 $\pm$ 1.68
10SW $\rightarrow$ 10SW	7.47 $\pm$ 0.58	14.42 $\pm$ 2.39
10AW $\rightarrow$ 10AW	6.72 $\pm$ 1.06	12.66 $\pm$ 1.44

NS: not significant

Table 3. Inhibitory effect of waters upon growth of VERO cells following the changes of FBS concentrations in culture media.

Medium for cultivation	Cell number(<mean $\pm$ SD> $\times 10^5$) after 48 hr cultivation		
	Expt.3-1	Expt.3-2	Expt.3-3
10DW $\rightarrow$ 2DW	6.03 $\pm$ 0.64	5.52 $\pm$ 0.20	4.64 $\pm$ 1.00
10DW $\rightarrow$ 2SW	3.27 $\pm$ 0.37	2.99 $\pm$ 0.51	2.39 $\pm$ 0.41
10DW $\rightarrow$ 2AW	2.11 $\pm$ 0.31	1.95 $\pm$ 0.42	2.69 $\pm$ 0.38

NS: not significant, *: $p < 0.02$, **: $p < 0.01$, #: $p < 0.005$, \$: $p < 0.001$

Table 4. Growth kinetics of VERO cells following the changes of FBS concentrations in culture media prepared with various water.

Medium for cultivation	Cell number(<mean $\pm$ SD> $\times 10^5$) after cultivation	
	Expt.4 - 48 hr	Expt.4 - 72 hr
2DW $\rightarrow$ 10DW	4.91 $\pm$ 0.32	15.10 $\pm$ 2.39
2DW $\rightarrow$ 10SW	5.03 $\pm$ 0.38	15.77 $\pm$ 2.57
2DW $\rightarrow$ 10AW	4.96 $\pm$ 0.07	15.32 $\pm$ 1.16

NS: not significant

3. 培地中の血清濃度を減少させた場合の影響

培地中のFBS濃度を減少させた場合、すなわち、FBS濃度10%培地から2%培地に置き換えた場合の細胞数の動態を調べた。10DW培地に馴化した細胞を、2DW、2SW、2AWの各培地にて培養し、48時間後の細胞数を測定した。2SW群、2AW群はともに、2DW群に比して増殖抑制傾向が認められた。2SW群と2AW群の間での比較では、3回繰り返した実験のうち2回で

は差は無かったが、最初の1回のみ、2AW群での増殖抑制傾向が強かった (Table 3)。

4. 培地中の血清濃度を増加させた場合の影響

前の実験とは逆に、培地中のFBS濃度を増加させた場合の細胞数の動態を検討した。すなわち2DW培地に馴化したVERO細胞を10DW、10SW、10AWの各培地にて培養し、48時間後、72時間後に細胞数を測定した。3群の間で有意差は

みられなかった (Table 4)。

考 察

種々の環境要因の中でも、生命活動、生命の維持にとって、水は特に重要な因子と考えられる。先に実施された「富山県における胃がん発生背景要因の疫学的研究」によれば、「現在あるいは30年前の飲料水が上水道であることが胃がん発生のリスクを下げる可能性」が示された [1]。言葉を換えるならば、胃がん患者においては、飲み水としての上水道の利用率が低かったわけである。調査対象者の回答の中で、上水道以外の飲料水源として最も多かったのは井戸水であり、これにわき水及び山水、そして川水が続いた。本調査研究においては中新川郡上市町のA湧水を被検対象としたが、その背景は、非上水道水の中では、川水は我々が調査した範囲内では現在飲用には供されていないこと、井戸水は一般的に個々の家庭単位でのみ利用されていること、A湧水はわき水の中でも「名水」として特に知名度が高く、湧出地近辺のみならず、県内外に多くの利用者あるいは愛飲家が存在することであった。このA湧水の理化学的性状に関しては、井山らによりかなり詳細に報告されている [3] が、必ずしも未知の成分の存在を否定するものではないし、また生体に対しなんらかの影響を与えうる環境因子としての生物学的な考察は、未だ成されてはいないと思われる。

実験はまず通常の血清濃度で行われた。10%の血清濃度を変えずに、水だけを替えてみたところ、10SW、10AWともに10DWに比して細胞増殖に関して有意な抑制傾向がみられた (Table 1)。しかしながら10SWと10AWとの間では、差はなかった。10DWとの差異は、蒸留水にはミネラルが基本的に含有されないことから、調製後の培養液全体として含まれるカルシウム等のミネラルの量や質の問題と推定された。

実験2では、培地調製時に溶媒としての水の種類を替えた培養液を準備し、これで長期間培養後、十分に馴化したものについて測定した。3種類の

水の間で、差は認められなかった (Table 2)。

実験1・2の結果から、10SWや10AWの培地への移行直後には増殖抑制がかかるが、これらの培地に馴化した後では、増殖能が正常に復することが窺えた。

血清濃度10%というのは、本実験に使用しているVERO細胞の場合、標準的な濃度であるが、この細胞はより低い濃度での継代維持が可能である。予備実験では血清濃度を5%、2%、1%まで変えて培養系を作製したが、2%までなら良好な増殖が長期間維持出来ることが確認された。しかしながら10%継代培養系に比較すると、増殖の立ち上がりが遅れること、継代間隔の延長あるいは継代希釈倍率の縮小も明らかであった。そこで、もし培地調製に供する水の中になんらかの増殖抑制因子あるいは促進因子が存在するならば、このような低濃度血清培地使用時に、より著明な差異が現われるのではないかと考え、実験3を行った。10DWで維持してきたVERO細胞を、2DW、2SW、2AWの各培地で培養したところ、2SW、2AWの各群で著明な増殖抑制が認められた (Table 3)。

実験3-1は48時間のみの計測であったが、実験3-2では72時間、実験3-3ではさらに96時間での計測も行った。全体に共通しているのは、2DW群に比べて、2SW群、2AW群ともに増殖抑制が示されることであった。しかしながら、2SW群と2AW群との間の比較では、若干のバラツキがみられた (data not shown)。すなわち、実験3-1の48時間や実験3-2の72時間では、2AWでの抑制傾向が2SWに比して強かったのに、実験3-3の72時間及び96時間では、逆に2SWでの抑制傾向が2AWの場合よりも、有意に強かった。詳細は不明だが、この一見矛盾した結果の解釈にあたっては、一つの可能性として、SW培地中の水、つまり上水道水の理化学的性状の変動が考えられる。上水道水は、培地作製の時々に応じて、配水されたものを使用してきたゆえ、必ずしもその内包する化学成分が常に同一である保証がない。これに対して蒸留水は、その製造工程からかなり安定したものと考えうるし、A湧水

についても、まとめて採水した同一ロットのものを使用している以上、実験間の誤差も少ないと考えられる。A湧水に関して、実験3から結論を導き出すのは早計であり、採水時期の異なる複数のサンプルについての検討が必要であろう。

なお、実験1の数値 (Table 1) から増殖抑制率を計算してみると、23~30%の範囲であるのに比して、実験3 (Table 3) では42~65%と高かったことから、なんらかの影響があるとすれば、血清濃度を減少させる実験系において、より把握が容易であろうと推測された。

2 DWに馴化した細胞を、2 DW, 2 SW, 2 AWの各培地での培養系に移行する実験は行っていないが、実験4のごとく、10 DW, 10 SW, 10 AWの各培養に移行した場合には、実験2と同様、各培養間での差は認められなかった。

実験全体を通じての狙いは、飲用に供される上水道水以外の水の一つとしてのA湧水と、上水道水との間の、培養細胞の増殖動態への影響の異同を探ることであった。A湧水のサンプルのロット差なども考慮にいれたうえでの、さらなる検討が必要であるが、現時点においては、当初もくろまれた胃がん疫学調査の結果と関連づけられるようなデータは得られていない。

資料 [4] によれば、富山県内には55件の水が「とやまの名水」として記載されており、このうち5件 (実際には4件5箇所) が「全国名水百選」にも選定されている。また17件については飲用に供されている。A湧水以外の水についても、細胞増殖に与える影響等に関して興味を持たれるところであるが、この種の実験の実施にあたっては、採水されたものがそのまま実験に使用出来ないという問題も存在する。これらの水のおそらくすべてが、生物学的には無菌ではないこと、使用に際し高圧滅菌を施すことにより、成分の消失あるいは変性が起こりうること、細胞培養という実験系のために、pHを調整する必要があることなどが

ら、サンプルの本来の自然の状態が失われていることは容易に想像できる。水に関してこのような実験と検討が成され難い理由とも言えるだろう。

実験に用いた細胞株の選択が最善であるか否かについては、この種の実験系では常に問題となりうる。VERO細胞はアフリカミドリザルの腎实质細胞由来とされる上皮様ないし線維芽様細胞である。腫瘍細胞ではないが、不死化しており、染色体レベルではもはや正常細胞とは言えない。より正常に近い細胞での同様な実験が望まれる一方で、現在すでに他の細胞株に関しても検討が続けられている。変異原性試験に多用されるチャイニーズハムスター肺由来細胞株V79や、ヒト子宮頸部癌由来細胞株HeLaでの同様の試験が進行中である。

また、長期間にわたる環境要因の作用ないしは暴露という観点から、これらの水を使用した培地のみによる培養系を維持しており、形態的な変化の有無の観察とともに、染色体核型への影響についても検討を加えている。

疫学調査によって得られた結果が絶対的なものと考えする必要はないが、実験的に検証が可能であるか否かについての作業は、さらに継続されねばならないだろう。

文 献

1. 富山県衛生研究所編 (1994). 富山県における胃がん発生背景要因の疫学的研究報告書.
2. 品川保弘, 柏樹久雄, 尾崎米厚, 箕輪眞澄, 桑守豊美, 佐藤茂秋 (1995). 富山衛研年報, 18, 33-46.
3. 井山洋子, 高柳信孝, 健名智子, 大浦敏 (1989). 富山衛研年報, 12, 170-175.
4. 富山県生活環境部環境保全課編 (平成7年度). 水質汚濁の現況, pp151-153.

先天性代謝異常等マススクリーニングの 成果について (平成9年度の検査成績)

九曜雅子 米田 豊 大江 浩
北村 敬 井澤朋子¹

A Survey Report on Neonatal Mass Screening
for Inborn Errors of Metabolism,
Congenital Hypothyroidism and
Congenital Adrenal Hyperplasia
in Toyama Prefecture
(April 1997 ~ March 1998)

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Hiroshi OE
Takashi KITAMURA and Tomoko IZAWA¹

要 旨 平成9年度から、アミノ酸代謝異常症、ガラクトース血症の検査方法を、Microplate・酵素法に変更した。また、先天性甲状腺機能低下症、先天性副腎過形成症の検査については外部委託を中止し、当所で実施することとなった。本年度の検体総数は11,746件で、スクリーニングの結果、クレチン症1名、先天性副腎過形成症2名の患者が発見された。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21年間で44名、クレチン症が18年間で56名、副腎過形成症が9年間で10名となった。それぞれの疾病の発見率を全国平均と比較したが、どの疾病についても有意差は認められなかった。

先天性代謝異常マススクリーニングは代謝異常症を早期に発見し、早期に治療することにより、心身の障害を未然に防止するという目的で全国的に実施されている。富山県においては、昭和52年10月より富山県先天性代謝異常等検査事業実施要綱に基づき、フェニルケトン尿症等の5疾病についてマススクリーニングを開始した。昭和55年4月には先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)、平成元年4月には先天性副腎過形成症の検査が追加された。ヒスチジン血症については、厚生省の

通知[1]を受けて、平成6年度からスクリーニングを取り止めており、現在は6疾病についてマススクリーニングを実施している。

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9年4月より、平成10年3月までの検査実施状況をまとめた。

4. スクリーニング方法

(1) 検査検体

県内の各医療機関において採血されたろ紙血液を用いた。

(2) 検査方法

①アミノ酸代謝異常症

フェニルケトン尿症、メイプルシロップ尿症については、検査法変更の通知[2, 3]を受けて、今年度より、Microplate・酵素法（カイロン社

製キット「PKU-R」「MSUD-R」使用）に変更した。また、ホモシスチン尿症についても、既報[4]の結果、他施設の状況、結果[5, 6, 7]および検査の効率性の問題から、Microplate・酵素法（カイロン社製キット「HCU-F」使用）に変更した。なお、これらの新検査法の試薬構成、測定手順、測定原理は、表1および図1, 2に示した。

②ガラクトース血症

アミノ酸代謝異常症と同様[2]に、Microplate・酵素法（カイロン社製キット「GAL-R」使用）に変更した（表1および図1, 2）。さらに全検体についてBeutler法を併用した[8, 9]。

③先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）

今年度より、外部委託を取りやめ、当所で検査を実施した。検査は、ELISA（栄研化学社製キット「クレチン TSH ELISA II」使用）によりTSH (Thyroid-stimulating hormone) 値の測定を行った。試薬構成、測定手順は、表2および図3に示した。なお、このキットの測定原理は、

表1. 試薬構成（アミノ酸代謝異常症およびガラクトース血症）

構成試薬名	PKU-R	MSUD-R	GAL-R
固 定 液	エタノール、アセトン、精製水		
溶 出 液	Gly・KCl・KOH 緩衝液 (pH9.6)		
緩 衝 液	Tris・HCl緩衝液 (pH8.0)、Resazurin		
酵 素 剤	Phe-DH ¹⁾ NAD Diaphorase	Leu-DH ²⁾ NAD Diaphorase	Gal-DH ³⁾ NAD Diaphorase
補助酵素液	—	—	ALP ⁴⁾

1) Phe-DH; フェニルアラニン脱水素酵素

2) Leu-DH; ロイシン脱水素酵素

3) Gal-DH; ガラクトース脱水素酵素

4) ALP; アルカリフォスファターゼ (Gal-1-p の同時測定に使用)

構成試薬名	HCU-F
固 定 液	エタノール、アセトン、精製水
酵 素 剤	L- Methionine- γ -Lyase, PLP ⁵⁾
酵素溶解液	りん酸緩衝液 (pH8.0)、DTT ⁶⁾
蛍光試薬-1	o - phthalaldehyde (OPA)
蛍光試薬-2	2 - mercaptoethanol
蛍光試薬-3	りん酸-カリウム
反応停止液	トリクロロ酢酸

5) PLP; ビリドキサールりん酸 (補酵素)

6) DTT; ジチオトレイトール (ホモシステインの遊離)

<試薬の調製>

・酵素試薬

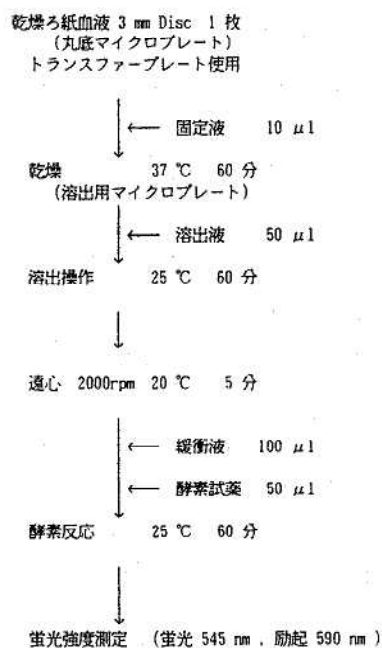
① PKU-R, MSUD-R, GAL-R — 酵素剤 1バイアルを精製水 6mlで溶解。

② HCU-F — 酵素剤 1バイアルを酵素溶解液 6mlで溶解。

・蛍光試薬 (HCU-F)

蛍光試薬-1を蛍光試薬-2で溶解し、その全量を蛍光試薬-3に加え混合する。

<PKU-R, MSUD-R, GAL-R>



<HCU-F>

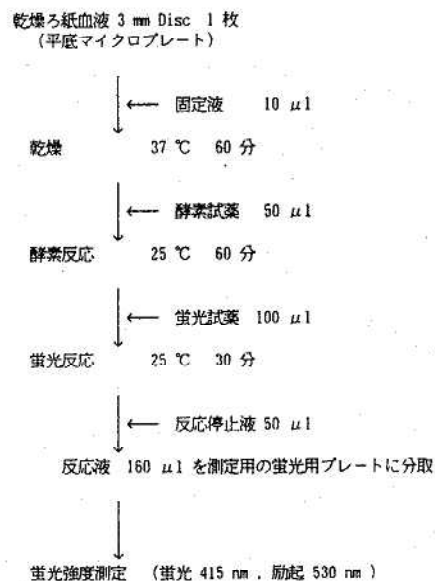
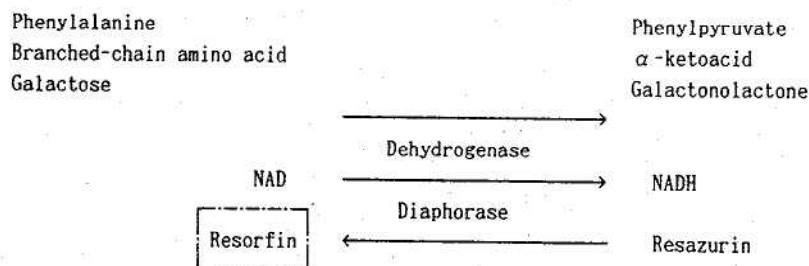


図1. 測定手順 (アミノ酸代謝異常症およびガラクトース血症)

<PKU-R, MSUD-R, GAL-R>



<HCU-F>

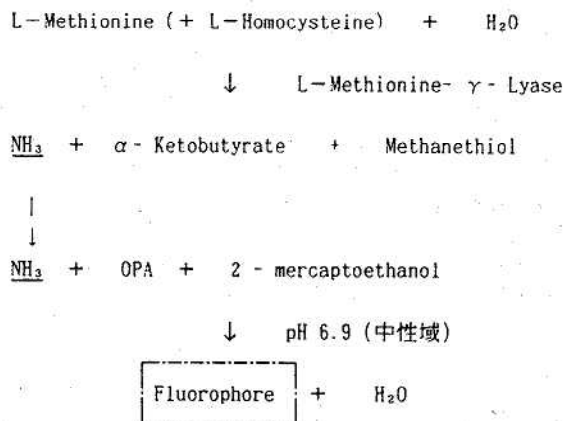


図2. 測定原理 (アミノ酸代謝異常症およびガラクトース血症)

表2. 試薬構成 (クレチン症)

構成試薬名	クレチン TSH ELISA II
プレート	抗ヒトTSH マウスモノクローナル抗体固相化プレート
酵素標識 TSH抗体	ベルオキシダーゼ標識抗ヒトTSH マウスモノクローナル抗体 350 mIU /ビン
緩衝液	りん酸水素二ナトリウム・12水塩、りん酸二水素カリウム 11ml
基質剤	0-フェニレンジアミン二塩酸塩 13mg/錠
溶解液	過酸化水素水 (30%) 6μl /12ml
反応停止液	硫酸 6.7ml /60ml
洗浄剤	モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン

<試薬の調製>

- ・酵素標識 TSH抗体液
酵素標識 TSH抗体を緩衝液全量で溶解。
- ・基質液
溶解液に基質剤 2錠を加える。
- ・洗浄液
洗浄剤に精製水を加え 2000ml にする。

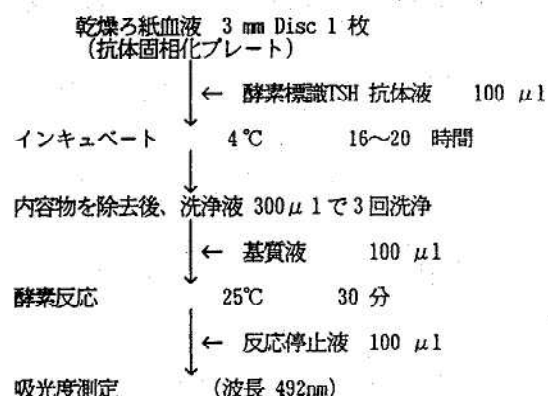


図3. 測定手順 (クレチン症)

1ステップサンドイッチ法によるものである。

④先天性副腎過形成症

クレチン症検査と同様に今年度より外部委託を取りやめ、当所で実施した。検査は、ELISA (栄研化学社製キット「17-OHP D-ELISA II」- 7位抗体-使用) により17-α-OHP (17-α-hydroxy progesterone) 値の測定を行った。試薬構成、測定手順は、表3および図4に示した。このキットの測定原理は、競合法に基づく、第二抗体固相法によるものである。

(3) 検体のサンプリング

昨年度まで Guthrie 法 (BIA 法) 等で使用し

表3. 試薬構成 (先天性副腎過形成症)

構成試薬名	17-OHP D-ELISA II
プレート	抗ウサギIgG ヤギIgG 抗体 (第2抗体) 固相化プレート
酵素標識 17-OHP	ベルオキシダーゼ標識 17-OHP 75 mIU/ビン
17-OHP抗血清	抗 17-OHP ウサギ血清 6 ml分力価相当量/ビン
基質剤	0-フェニレンジアミン二塩酸塩 13mg/錠
溶解液	過酸化水素水 (30%) 12.5μl /25ml
反応停止液	硫酸 6.7ml /60ml
洗浄剤	モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン

<試薬の調製>

- ・酵素標識 17-OHP 溶液
酵素標識 17-OHP を精製水 6mlで溶解。
- ・17-OHP抗血清溶液
17-OHP抗血清を精製水 6mlで溶解。
- ・基質液
① 2日法-溶解液に基質剤 1錠を加える。
② 短時間法-溶解液に基質剤 2錠を加える。
- ・洗浄液
洗浄剤に精製水を加え 2000ml にする。

ていたPUNCH INDEXER MODEL VII A (ファンダメンタル社) を、アミノ酸代謝異常症およびガラクトース血症の Microplate・酵素法での検査に応用した [10]。

①トレーの準備

BIA 法用トレーを用い、その中にシリコンマット (井内盛栄堂製 cat.No.56-731-02, 250×200×4 t 厚さ 4 mm ベージュ色を 17×25cm の大きさに切ったもの) を敷き、さらにその上に枠として (井内盛栄堂製 cat.No.56-611-02, 300×300×1 厚さ 1 mm 半透明を 17×25cm の大きさに切り、さらにディスクが配置される位置に 10×15mm の穴をあけたもの) を置いて、切り出すディスクのずれを防止した (図 5)。

②配置の工夫

PUNCH INDEXER MODEL VII A で切り出せるディスクは、6×12 であるため、マイクロプレートの検体配置を図 6 のように設定し、初回検

査検体 (A～F×3～12) のみを切り出すことにした (図 7)。

③トランスファープレート (マイクロプレート) への移しかえ

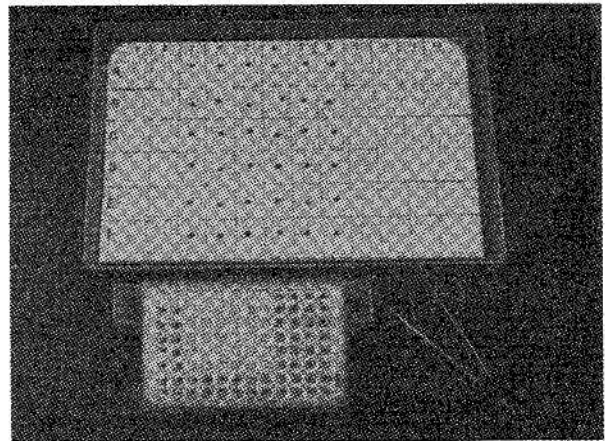


図 5. サンプリグトレー

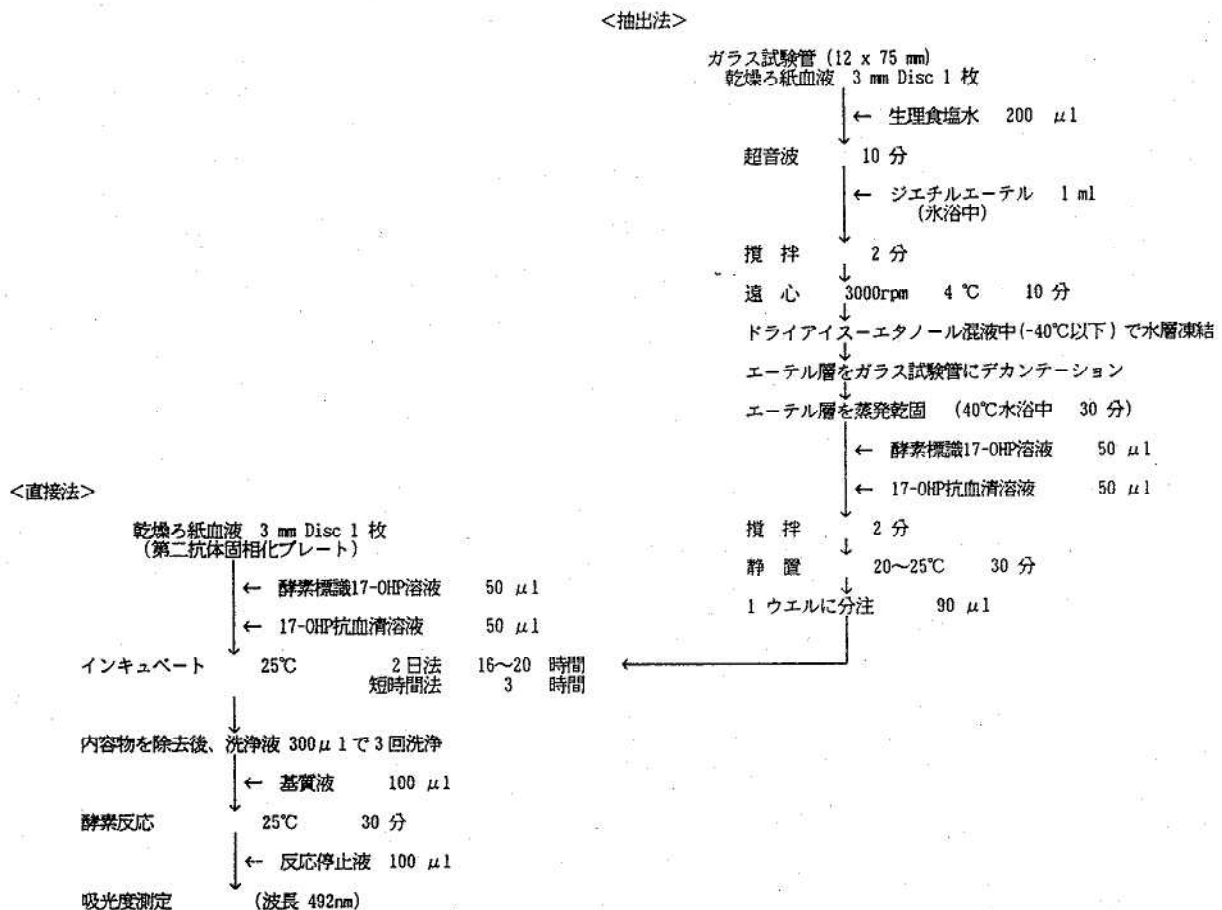


図 4. 測定手順 (先天性副腎過形成症)

平成10年10月1日

H 年 月 日 測定物質 (アミノ酸 : Phe、BCA、Gal、Met、HPLC
17-OHP、TSH、FT₄)

Kit Lot No
Std Lot No
Cnt Lot No

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B1	B1										
B	S1	S1										
C	S2	S2				初回検査検体						
D	S3	S3										
E	S4	S4										
F	S5	S5										
G	S6	S6	C1	C2	C3	確認検査検体および再検査検体						
H	S7	S7	C1	C2	C3							

図6. 検体配置図

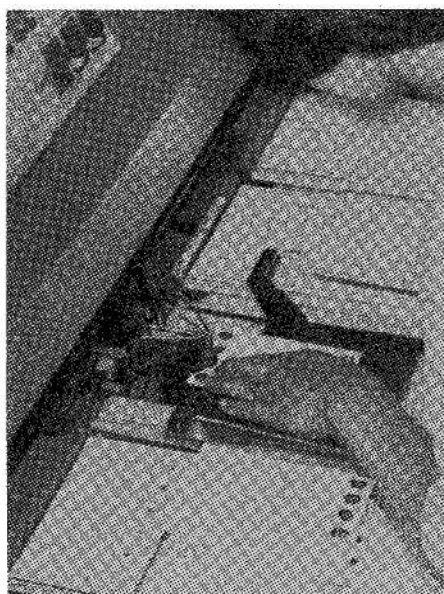


図7. 初回検査検体の切り出し

スタンダード、コントロール、確認検査検体、再検査検体は、予め、据置型パンチャーで切り出し、マイクロプレートのウエルに入れた。PUNCH INDEXERでトレーに切り出したディスクは、ピンセットで番号通りにウエルに移しかえた(図5)。

(4) 判定基準

新生児の平均値+2.5SDで算出したカットオフ値を表4に示した。疑陽性と判定した検体は再採血を依頼し、再検査を行った。再検査でも疑陽性となった場合は、直ちに精密検査機関を受診するように主治医に報告した。

(5) データ処理

マイクロプレートリーダーで測定したデータをカイロン社製ソフトウェアで各項目毎にテキストファイル形式として出力し、これらを従来から用いている当所で開発したデータ管理システム[11]に、全項目まとめて一括転送できるように改良した。

表4. 判定基準

対象疾病	検査法	測定物質	疑陽性	緊急に精密検査を要する
フェニルケトン尿症	Microplate・酵素法	Phenylalanine	≥ 1.9 mg/dl	
ホモシスチン尿症	Microplate・酵素法	Methionine	≥ 1.9 mg/dl	
メイプルシロップ尿症	Microplate・酵素法	Leucine, Isoleucine, valine	≥ 7.1 mg/dl	
ガラクトース血症	Microplate・酵素法 ポイトラー法	Galactose (Gal) Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase	≥ 1.2 mg/dl 蛍光のない場合	Gal 1.2 mg/dl以上で ポイトラー法で蛍光のない場合
先天性甲状腺機能低下症 (クレチン症)	ELISA	Thyroid-Stimulating Hormone (TSH)	≥ 7.2 μ U/ml	≥ 30 μ U/ml
先天性副腎過形成症	ELISA	17- α -hydroxy progesterone (17- α -OHP)	直接法 ≥ 6.2 ng/ml 抽出法 ≥ 4 ng/ml	直接法 10 ng/ml 以上で 何らかの症状がある場合 抽出法 ≥ 10 ng/ml

結果及び考察

1. 検査実施状況

今年度の受付総数は、11,746件で、県内63か所の医療機関（おもに産婦人科医院）より送付されてきたものである。

表5および表6に年度別、月別検査実施状況を示した。

今年度の出生数は10,235人であり、受検率は106.6%となった。100%を越えているのは、里帰り分娩が増加したためで、県内の新生児のほとんどが、この検査を受けているものと思われる。

また、再採血検体数は839件で、受付検査総数の7.1%にあたり、そのうち537件（64.0%）が疑陽性になったための再採血検体であった。

一方、再採血を依頼した理由とそれぞれの検体数を表7に示した。疑陽性のためは575件であった。これらのうち、回収できなかったのは、12件（うち病院で再検・追跡6件）で、回収率は97.9%であった。

疑陽性のため以外で再採血を依頼した110件のうち、検体不良のためが64件であった。64件の内訳は、採血後日数が経ちすぎているものが25件、採血が4日以内が20件、血液が十分しみ込んでいないものが18件、汚染が1件であった。これらは、

直ちに再採血を依頼した。また哺乳状態が不良の46件については哺乳状態が良くなってから再採血を依頼した。これら疑陽性のため以外で再採血を依頼した検体のうち、回収できなかったのは7件（うち死亡1件）で、93.6%の回収率となった。

低出生体重児（2000g以下）の場合には、哺乳が不十分であったり機能が未熟であったりするので、2500gに達した時か1か月時のうち、いずれか早い時期に再採血を依頼し、2度検査を行っている。今年度は161人（1.5%）に再採血を依頼したが、そのうち22人は哺乳不良であった。

再採血を依頼しても1か月以上検体が送られてこない場合は再依頼しているが、疑陽性で再採血を依頼した場合に比べ、回収率は悪かった。

採血は、生後5～7日目に行うことになっているが、4日以内に行われたものが20件（0.1%）あり、これらのほとんどが生後4日目の採血であった。

採血日から受付までの日数は、ほとんどが7日以内であるが、29件が8日以上（最長12日）かかっていた。これらのほとんどは、1月受付分であり、年末年始の休み期間の影響と考えられた。このような長期の休みとなる場合には、採血医療機関に対し、事前に文書で検体の取り扱いの指導を通知しており、これらの検体は、休み期間中冷蔵保存

表5. 先天性代謝異常等検査実施状況

区 分 期 間	受付総数 (件)	検査 人員数 (人)	出生数 (人)	受検率 (%)	疑陽性数 (人)			要精検数 (人)		
					代謝 異常症	ルウ 症	副腎 過形成症	代謝 異常症	ルウ 症	副腎 過形成症
52年10月 ～55年 3月	29,229	28,450	39,688	71.7	262	—	—	6(4)	—	—
55年 4月 ～ 1年 3月	122,841	115,435	116,956	98.7	1,811	841	—	75(32)	130(25)	—
1年 4月 ～ 2年 3月	11,633	10,859	10,802	100.5	228	129	84	12(4)	29(2)	14(1)
2年 4月 ～ 3年 3月	11,356	10,594	10,122	104.7	187	190	71	5(1)	35(4)	16(1)
3年 4月 ～ 4年 3月	11,546	10,780	10,613	101.6	172	219	58	14(3)	26(4)	20(3)
4年 4月 ～ 5年 3月	11,311	10,577	9,840	107.5	183	141	80	7(0)	26(6)	22(1)
5年 4月 ～ 6年 3月	11,194	10,485	9,723	107.8	142	124	68	6(0)	28(6)	14(0)
6年 4月 ～ 7年 3月	11,916	11,103	10,373	107.0	218	155	79	9(0)	30(2)	21(1)
7年 4月 ～ 8年 3月	11,502	10,718	9,945	107.8	171	218	95	3(0)	37(3)	20(0)
8年 4月 ～ 9年 3月	11,857	11,001	10,270	107.1	262	145	100	4(0)	28(3)	18(1)
9年 4月 ～10年 3月	11,746	10,907	10,235	106.6	274	142	128	24(0)	25(1)	12(2)
計	256,131	240,909	248,567	—	3,910	2,304	763	165(44)	394(56)	157(10)

() は 患者数

表6. 月別検査実施状況

年 月		平 成 9 年									平 成 10 年			計
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
受付検体総数 (件)		981	1,063	921	1,063	946	990	997	874	875	1,179	870	987	11,746
内 訳	初回検査数 (件)	900	975	865	994	891	934	926	792	801	1,091	815	923	10,907
	再採血総数 (件)	81	88	56	69	55	56	71	82	74	88	55	64	839
	2 回 目	73	81	51	55	49	49	68	72	65	80	49	53	745
	3 回 目	6	7	4	10	6	7	3	10	9	8	5	11	86
	4 回 以 上	2	0	1	4	0	0	0	0	0	0	1	0	8
出 生 数 (人)		865	941	843	880	858	813	857	784	891	904	796	803	10,235

表7. 再採血依頼の理由

疑陽性のため	575 件		
疑陽性以外	110 件		
内 訳	検体不良	64	
	内 訳	検体が古い	25
		4日以内の採血	20
		血液不足	18
		汚 染	1
	哺乳不良	46	

されていたと思われた。

2. 検査結果

検査成績について、表5には年度別、表8には月別の疑陽性および要精密検査数を示した。本年度の疑陽性人数は、代謝異常症が274人(2.5%)、クレチン症が142人(1.3%)、先天性副腎過形成症が128人(1.2%)であり、そのうち、それぞれ24人、25人、12人に精密検査の必要が認められた。

表9には、要精密検査者の検査状況と結果をまとめて示した。

症例7～24は、ガラクトース高値で要精密検査となった例で、症例7と12は肝機能障害によるものであった。症例9は、3回の採血時とも、血中

ガラクトース値は正常範囲であったがBeutler法で蛍光が認められず、Glucose-6-Phosphate De-hydrogenase (G-6-PD)の欠損が疑われた。しかしマススクリーニング対象疾患外のため、とりあえず、主治医に連絡したところ、男児であることから、要精密検査とし、酵素活性を測定することになった。検査の結果、G-6-PD-RBCは16 mU/109RBC(正常値の10%以下)でG-6-PD欠乏症と診断された。また、両親の検査結果は、父親は正常値であったが、母親は54mU/109RBCと低値であった。

症例25～49は、いずれもクレチン症の検査でTSH高値のため、要精密検査となったものである。これらのうち、クレチン症と診断されたのは、症例37の1例であった。精密検査の結果、生後19日目の採血でTSH170 μ U/ml以上、 T_4 2.9 μ g/dl T_3 128ng/dlで、患者(ホルモン合成障害の可能性)と診断された。症例25は、精密検査の結果、生後11日目でTSH 21.7 μ U/mlと上昇しているものの、 FT_4 と FT_3 は正常範囲で、高TSH血症と診断された。この児の姉(1994.12.5生)も同様の経過で高TSH血症と診断されている。現在、3歳であるがTSHのみ高値が持続しており、治療なしで経過観察中である。両親の検査は行われていないが、家族性と診断された。症例34は、生後4日目の検査で、TSH異常高値のため即精密検査となった。生後13日目の病院での検査結果は、TSH 870 μ U/ml、 T_4 3.8 μ g/dl、TSH受容

表8. 月別疑陽性件数および要精密検査数

対象疾病	年 月	平成 9 年									平成 10 年			計
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
フェニルケトン尿症		1	2	2	1	1	0	1	2	0	0	0	0	10
ホモシスチン尿症		1	1	2	1	0	2	2	0	2	0	4	2	17
メイプルシロップ尿症		4	4(1)	4(1)	5	7(1)	2	2	3	3	8	7(3)	10	59(6)
ガラクトース血症		23(1)	10(1)	15(1)	15(1)	9(1)	14(1)	20(4)	35(3)	7(1)	13(2)	13	32(2)	206(18)
クレチン症		20(2)	21(6)	7(1)	7(1)	6(3)	11(1)	21(4)	12	8(1)	16(2)	8	6(4)	143(25)
副腎過形成症		20(3)	11(3)	10	15(1)	8(1)	3	13(2)	13(1)	11	10(1)	8	7	129(12)
計		69(6)	49(11)	40(3)	44(3)	31(6)	32(2)	59(10)	65(4)	31(2)	47(5)	40(3)	57(6)	564(61)

() は 要精密検査数

表9. 要精密検査者の検査状況と結果

*:患者

対 象 疾 病	症 例	性 別	生 年 月 日	採 血 月 日	日 令	検 査 成 績	精 検 結 果
メイプルシロップ尿症	1	女	9. 4. 24	9. 4. 30 5. 7	5 12	BCA 6.0 mg/dl 7.6 mg/dl 7.7 mg/dl 8.1	正 常
	2	男	9. 6. 1	9. 6. 8 6.17	7 16	BCA 7.6 mg/dl 7.6 mg/dl 7.9 mg/dl 7.5	正 常
	3	女	9. 8. 4	9. 8.11 8.19	7 15	BCA 9.0 mg/dl 8.2 mg/dl 8.9 mg/dl 8.4	正 常
	4	女	10. 1.19	10. 1.30 2. 5	11 17	BCA 8.5 mg/dl 8.2 mg/dl 9.0 mg/dl 9.9	正 常
	5	男	10. 1.31	10. 2. 5 2.16	5 16	BCA 7.3 mg/dl 7.9 mg/dl 9.2 mg/dl 9.2	正 常
	6	女	10. 1.28	10. 2. 2 2.16 2.25	5 19 28	BCA 5.6 mg/dl 8.6 mg/dl 9.0 mg/dl 8.0 mg/dl 7.8	正 常
ガラクトース血症	7	男	9. 3. 22	9. 3. 27 4. 2	5 11	Gal 7.5 mg/dl ボイトラー法正常 Gal 17.3 mg/dl 17.6 ボイトラー法正常	乳児肝炎
	8	男	9. 4. 26	9. 5. 2 5. 8	6 12	Gal 1.3 mg/dl 1.2 ボイトラー法正常 Gal 1.5 mg/dl 1.5 ボイトラー法正常	経過観察中
	9	男	9. 5. 30	9. 6. 4 6. 6 6.10	5 7 11	Gal 0.2 mg/dl 0.2 ボイトラー法 蛍光無 Gal 0.3 mg/dl 0.3 ボイトラー法 蛍光無 Gal 0.3 mg/dl 0.4 ボイトラー法 蛍光無	G-6-PD欠乏症
	10	男	9. 6. 28	9. 7. 3 7. 8 7.15	5 10 17	Gal 3.5 mg/dl 3.4 ボイトラー法正常 Gal 2.0 mg/dl 2.1 ボイトラー法正常 Gal 2.3 mg/dl 2.3 ボイトラー法正常	正 常

表9. つづき

対 象 疾 病	症 例	性 別	生 年 月 日	採 血 月 日	日 令	検 査 成 績	精 検 結 果
	11	男	9. 7. 17	9. 7. 22 7. 30	5 13	Gal 2.7 mg/dl 2.5 ポイトラー法正常 Gal 4.3 mg/dl 5.0 ポイトラー法正常	正 常
	12	男	9. 9. 16	9. 9. 21 9. 26	5 10	Gal 2.1 mg/dl 1.8 ポイトラー法正常 Gal 4.5 mg/dl 4.5 ポイトラー法正常	肝機能障害
	13	男	9. 10. 13	9. 10. 19 10. 21	6 8	Gal 3.6 mg/dl 3.7 ポイトラー法正常 Gal 6.1 mg/dl 5.4 ポイトラー法正常	正 常
	14	男	9. 10. 8	9. 10. 14 10. 20	6 12	Gal 1.9 mg/dl 1.6 ポイトラー法正常 Gal 2.5 mg/dl 2.2 ポイトラー法正常	正 常
	15	男	9. 10. 10	9. 10. 15 10. 24	5 14	Gal 1.4 mg/dl 1.3 ポイトラー法正常 Gal 2.3 mg/dl 2.2 ポイトラー法正常	正 常
	16	女	9. 10. 12	9. 10. 19 10. 23	7 11	Gal 1.6 mg/dl 1.5 ポイトラー法正常 Gal 1.9 mg/dl 1.8 ポイトラー法正常	正 常
	17	男	9. 10. 13	9. 10. 18 10. 22 10. 30	5 9 17	Gal 1.5 mg/dl 1.6 ポイトラー法正常 Gal 1.3 mg/dl 1.4 ポイトラー法正常 Gal 1.8 mg/dl 1.8 ポイトラー法正常	正 常
	18	男	9. 10. 20	9. 10. 27 11. 6	7 17	Gal 1.5 mg/dl 1.3 ポイトラー法正常 Gal 3.7 mg/dl 3.5 ポイトラー法正常	経過観察中

表9. つづき

対 象 疾 病	症 例	性 別	生 年 月 日	採 血 月 日	日 令	検 査 成 績	精 検 結 果
	19	男	9.11.1	9.11.6 11.17 11.25	5 16 24	Gal 1.6 mg/dl 1.2 ボイトラー法正常 Gal 1.5 mg/dl 1.6 ボイトラー法正常 Gal 2.2 mg/dl 2.2 ボイトラー法正常	正 常
	20	男	9.12.8	9.12.14 12.22	6 14	Gal 1.5 mg/dl 1.2 ボイトラー法正常 Gal 2.1 mg/dl 2.5 ボイトラー法正常	正 常
	21	男	10.1.3	10.1.9 1.14	6 11	Gal 2.4 mg/dl 1.9 ボイトラー法正常 Gal 8.5 mg/dl 8.9 ボイトラー法正常	経過観察中
	22	女	10.1.14	10.1.19 1.22	5 8	Gal 3.1 mg/dl 3.1 ボイトラー法正常 Gal 3.3 mg/dl 3.4 ボイトラー法正常	一過性 高ガラクトース血症
	23	女	10.2.17	10.2.23 3.4	6 15	Gal 1.2 mg/dl 1.3 ボイトラー法正常 Gal 3.6 mg/dl 3.0 ボイトラー法正常	正 常
	24	男	10.3.6	10.3.11 3.17 3.26	5 11 20	Gal 3.1 mg/dl 3.0 ボイトラー法正常 Gal 2.1 mg/dl 1.7 ボイトラー法正常 Gal 4.4 mg/dl 4.4 ボイトラー法正常	正 常
クレチン症	25	男	9.3.23	9.3.29 4.3	6 11	TSH 8.0 μ U/ml 8.2 TSH 13.5 μ U/ml 11.8	家族性 高TSH血症
	26	男	9.4.11	9.4.16 4.27	5 16	TSH 7.2 μ U/ml 8.4 TSH 7.8 μ U/ml 8.0	一過性 高TSH血症
	27	男	9.4.17	9.4.22 5.6	5 19	TSH 8.5 μ U/ml 10.2 μ U/ml 11.6	一過性 高TSH血症
	28	男	9.4.9	9.4.21 5.2	12 23	TSH 17.7 μ U/ml 13.9 TSH 19.5 μ U/ml 20.7	一過性 高TSH血症

表9. つづき

対 象 疾 病	症 例	性 別	生年月日	採血月日	日 令	検 査 成 績	精 検 結 果
	29	男	9. 4. 19	9. 4. 24 5. 6	5 17	TSH 8.1 μ U/ml 8.2 TSH 8.3 μ U/ml 8.3	一過性 高TSH血症
	30	女	9. 4. 24	9. 4. 30 5. 9	6 15	TSH 7.8 μ U/ml 7.2 TSH 9.7 μ U/ml 10.6	一過性 高TSH血症
	31	男	9. 5. 1	9. 5. 7 5. 20	6 19	TSH 6.0 μ U/ml 7.2 TSH 9.2 μ U/ml 10.6	正 常
	32	女	9. 5. 4	9. 5. 10 5. 20	6 16	TSH 12.4 μ U/ml 12.4 TSH 9.5 μ U/ml 8.8	一過性 高TSH血症
	33	女	9. 5. 28	9. 6. 3 6. 9	6 12	TSH 9.7 μ U/ml 9.5 TSH 9.7 μ U/ml 10.2	ダウン症
	34	女	9. 7. 10	9. 7. 14	4	TSH 80 μ U/ml 以上	母体からのTBIの 移行による甲状腺機能 低下症
	35	男	9. 7. 14	9. 7. 22 7. 28 8. 4	8 14 21	TSH 11.1 μ U/ml 11.0 TSH 7.4 μ U/ml 7.3 TSH 8.5 μ U/ml 7.9	一過性 高TSH血症
	36	女	9. 7. 26	9. 7. 31 8. 6	5 11	TSH 24.2 μ U/ml 22.4 TSH 18.9 μ U/ml 19.5	一過性 高TSH血症
	37*	男	9. 8. 5	9. 8. 11 8. 18	6 13	TSH 33.6 μ U/ml 30.6 TSH 44.0 μ U/ml 41.4	クレチン症
	38	女	9. 8. 23	9. 8. 29 9. 6	6 14	TSH 9.3 μ U/ml 9.5 TSH 11.6 μ U/ml 10.3	一過性 高TSH血症
	39	女	9. 9. 21	9. 9. 27 10. 1 10. 4	6 10 13	TSH 12.0 μ U/ml 14.1 TSH 9.7 μ U/ml 10.9 TSH 14.2 μ U/ml 14.3	経過観察中
	40	女	9. 9. 30	9. 10. 6 10. 14	6 14	TSH 9.1 μ U/ml 8.6 TSH 16.5 μ U/ml 18.2	一過性 甲状腺機能低下症疑い
	41	男	9. 10. 14	9. 10. 20 10. 28	6 14	TSH 20.9 μ U/ml 21.3 TSH 27.0 μ U/ml 29.9	一過性 高TSH血症

表9. つづき

*:患者

対 象 疾 病	症 例	性 別	生年月日	採血月日	日 令	検 査 成 績	精 検 結 果
	42	男	9.10.23	9.10.28	5	TSH 74.2 μ U/ml 70.8	正 常
	43	男	9.12.10	9.12.22	12	TSH 34.6 μ U/ml 38.4	一過性 高TSH血症疑い
	44	男	10. 1. 3	10. 1. 9 1.20	6 13	TSH 8.7 μ U/ml 12.3 TSH 19.7 μ U/ml 18.3	経過観察中
	45	男	10. 1. 3	10. 1. 8 1.17	5 14	TSH 7.7 μ U/ml 6.7 TSH 9.7 μ U/ml 9.5	一過性 高TSH血症
	46	男	10. 2.21	10. 2.27	6	TSH 48.1 μ U/ml 44.7	経過観察中
	47	女	10. 3. 3	10. 3. 8 3.12	5 9	TSH 10.6 μ U/ml 8.8 TSH 9.7 μ U/ml 10.5	正 常
	48	女	10. 2.28	10. 3. 8 3.12	8 12	TSH 16.8 μ U/ml 15.9 TSH 12.7 μ U/ml 14.7	一過性 高TSH血症
	49	女	10. 3. 3	10. 3. 9 3.23	6 20	TSH 12.3 μ U/ml 15.2 TSH 22.5 μ U/ml 25.1	経過観察中
副腎過形成症	50	男	9. 3.13	9. 3.26 4. 1	13 19	17- OHP (直接法) 13.8 ng/ml (抽出法) 5.0 ng/ml 17- OHP (直接法) 17.4 ng/ml (抽出法) 17.5 ng/ml (抽出法) 6.6 ng/ml	正 常 在胎週数 34週 生下時体重 2225g
	51	男	9. 3.15	9. 3.21 4. 1	6 17	17- OHP (直接法) 10.4 ng/ml (抽出法) 4.9 ng/ml 17- OHP (直接法) 12.2 ng/ml (抽出法) 12.5 ng/ml (抽出法) 4.2 ng/ml	正 常 在胎週数 36週 生下時体重 2360g
	52*	男	9. 4.11	9. 4.16 9. 4.18	5 7	17- OHP (直接法) 100 ng/ml以上 (抽出法) 100 ng/ml以上 17- OHP (直接法) 100 ng/ml以上 (抽出法) 100 ng/ml以上	先天性副腎過形成症 (塩喪失型) 在胎週数 39週 生下時体重 2888g
	53	女	9. 4.30	9. 5. 5	5	17- OHP (直接法) 60.8 ng/ml (抽出法) 58.0 ng/ml (抽出法) 15.6 ng/ml	正 常 在胎週数 31週 生下時体重 1720g

表9. つづき

対 象 疾 病	症 例	性 別	生 年 月 日	採 血 月 日	日 令	検 査 成 績	精 検 結 果
	54	男	9. 5. 9	9. 5. 14 5. 16	5 7	17- OHP (直接法) 21.1 ng/ml 17.6 (抽出法) 3.5 ng/ml 17- OHP (直接法) 19.3 ng/ml 20.3 (抽出法) 4.3 ng/ml	正 常 在胎週数 36週 生下時体重 3716g
	55	男	9. 5. 11	9. 5. 16 5. 24	5 13	17- OHP (直接法) 8.2 ng/ml 7.7 (抽出法) 4.1 ng/ml 17- OHP (直接法) 15.3 ng/ml 14.3 (抽出法) 5.5 ng/ml	経過観察中 在胎週数 36週 生下時体重 2745g
	56	女	9. 6. 1	9. 6. 6 7. 24	5 54	17- OHP (直接法) 32.9 ng/ml 28.6 (抽出法) 8.1 ng/ml 17- OHP (直接法) 64.3 ng/ml 69.8 (抽出法) 8.0 ng/ml	正 常 在胎週数 25週 生下時体重 724g
	57*	男	9. 7. 15	9. 8. 4	20	17- OHP (直接法) 100 ng/ml以上 (抽出法) 60.5 ng/ml	先天性副腎過形成症 (塩喪失型) 在胎週数 29週 生下時体重 1400g
	58	男	9. 10. 11	9. 10. 19	8	17- OHP (直接法) 100 ng/ml以上 (抽出法) 31.5 ng/ml	経過観察中 在胎週数 27週 生下時体重 812g
	59	女	9. 10. 25	9. 10. 30	5	17- OHP (直接法) 19.4 ng/ml 19.4 (抽出法) 11.3 ng/ml	正 常 在胎週数 31週 生下時体重 1580g
	60	男	9. 10. 21	9. 10. 27 11. 4	6 14	17- OHP (直接法) 8.6 ng/ml 8.2 (抽出法) 2.8 ng/ml 17- OHP (直接法) 19.7 ng/ml 18.4 (抽出法) 6.3 ng/ml	経過観察中 在胎週数 36週 生下時体重 2370g
	61	女	10. 1. 11	10. 1. 18 1. 27	7 16	17- OHP (直接法) 2.6 ng/ml 17- OHP (直接法) 24.6 ng/ml 19.3 (抽出法) 17.7 ng/ml	正 常 在胎週数 35週 生下時体重 2246g

体抗体 (TBII) 高値のほか、気胸、哺乳不良が認められた。家族歴を調べた結果、この児の母親、祖母とも甲状腺剤を服用しており、母体のTBIIが経胎盤的に胎児に移行したための甲状腺機能低下症と診断され、投薬しながら経過観察されている。

症例50～61は、副腎過形成症の疑いで精密検査を要した例である。患者と診断されたのは、症例52と57であった。症例52は、生後5日目採血の結果、直接法が異常高値であったため、その旨を主治医に連絡 (生後7日目) したが、その時点では症状は認められなかった。直ちに再採血された検体の検査結果でも直接法が異常高値であり、結果連絡時 (生後13日目)、電解質検査は未実施であったが、外見上は症状が認められなかった。抽出法の結果連絡は生後14日目で、生後19日目の病院での精密検査の結果は、17-OHP 870ng/ml, ACTH 567pg/ml, Na 111mEq/l, K 9.3mEq/l, 17-KS 24.8mg/lであり、塩喪失型先天性副

腎過形成症と診断された。症例57は、生後すぐから呼吸窮迫症候群のためステロイド剤で治療中で、20日目に初回スクリーニングが行われた。直接法、抽出法とも異常高値であり、即精密検査となった。主治医に直接法の結果を連絡した (生後22日目) ところ、生後14日目頃より、多尿、低Na血症 (Na 118mEq/l)、高K血症 (K 6mEq/l)、脱水症状が認められたとのことで、直ちにハイドロコルチゾンによる治療が開始された。この例は、発症時期が遅いようであるが呼吸窮迫症候群の治療のため使用されていたステロイド剤が副腎過形成症の治療の役目もしていた可能性があり、主治医は電解質異常、脱水症状等が認められていても、スクリーニング結果が判明するまで、副腎過形成症とは考えていなかったようであった。マススクリーニングの正規採血時期 (生後5～7日目) に検査を実施していれば、もっと早く発見できて、早いうちから症状は改善されていたと考えられる。

最近、低出生体重児で、2回採血を行わず、

表10. マススクリーニングによる全国および富山県の患者発見状況

区 分	全 国		富 山 県					
実 施 人 数 (期 間)	25,998,227 人 (S52. 4～H9. 3)		230,002 人 (S52. 10～H9. 3)		10,907 人 (H9. 4～H10. 3)		240,909 人 (S52. 10～H10. 3)	
患者数、発見率	患 者 (人)	発 見 率	患 者 (人)	発 見 率	患 者 (人)	発 見 率	患 者 (人)	発 見 率
フェニルケトン尿症	332	1 / 78,300	4	1/ 57,500	0		4	1/ 60,200
ホモシスチン尿症	152	1 / 171,000	0		0		0	
ヒスチジン血症	2,200*	1 / 11,800	33*	1/ 7,000	0		33*	1/ 7,300
メイプルシロップ尿症	58	1 / 448,200	1	1/ 230,000	0		1	1/ 240,900
ガラクトース血症	707	1 / 36,800	0		0		0	
そ の 他	330	1 / 78,800	6	1/ 38,300	0		6	1/ 40,200
計	3,779	1 / 6,900	44	1/ 5,200	0		44	1/ 5,500
実 施 人 数 (期 間)	22,667,497 人 (S54. 4～H9. 3)		201,552 人 (S55. 4～H9. 3)		10,907 人 (H9. 4～H10. 3)		212,459 人 (S55. 4～H10. 3)	
ク レ チ ン 症	4,685	1 / 4,800	55	1/ 3,700	1	1/ 10,900	56	1/ 3,800
実 施 人 数 (期 間)	11,117,465 人 (S63. 4～H9. 3)		86,117 人 (H1. 4～H9. 3)		10,907 人 (H9. 4～H10. 3)		97,024 人 (H1. 4～H10. 3)	
先天性副腎過形成症	671	1/ 16,600	8	1/ 10,800	2	1/ 5,500	10	1/ 9,700

*ヒスチジン血症の患者数は、全国については平成4年度まで、富山県については平成5年度までの結果

2,500gになるのを待って初回採血検体を送付する医療機関が見られるが、今回のような例もあることから、さらに採血時期の徹底を図る必要があると思われた。要精検となった12人のうち、2,000g以下の低出生体重児は5人(41.7%)であった。

全国および富山県の実患者発見状況は表10に示した。

富山県における現在までの患者発見率は、代謝異常症が1/5,500、クレチン症が1/3,800、副腎過形成症が1/9,700である。全国の実患者発見率と比較した結果、どの疾病についても有意差は認められなかった。

精度管理については、アミノ酸、TSH、17-OHPとも、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。

今年度より代謝異常症の検査法が変わり、また検査を委託していたクレチン症と先天性副腎過形成症のスクリーニングも当所で実施することになった。これで、緊急検査にも迅速に対応が可能となり、患者の早期発見、早期治療による心身障害発生の予防対策はさらに充実すると思われる。

文 献

1. 厚生省児童家庭局長 (1992). 児発第764号.
2. 厚生省児童家庭局長 (1993). 児発第535号.
3. 厚生省児童家庭局長 (1995). 児発第123号.
4. 高橋雅子, 米田 豊 (1997). 富山衛研年報, 平成8年度, 165-170.
5. 山口昭弘, 福士 勝, 清水良夫, 菊地由生子, 津田脩臣, 江崎信芳, 左右田健次 (1993). 札幌市衛研年報, 20, 67-74.
6. 山口昭弘, 石橋麻里子, 中澤恵実理, 荒井 修, 福士 勝, 佐藤泰昌, 菊地由生子, 大竹治美, 藤本昭栄, 大浦敏明, 長谷 豊 (1995). 札幌市衛研年報, 22, 72-80.
7. 菊地由生子, 山口昭弘, 福士 勝, 新井純理, 市原 侃, 木村浩男, 望月孝一, 山口修一, 武村佐智子, 石黒 満, 田崎隆二, 梅橋豊蔵, 大橋雄子, 成瀬 浩 (1996). 厚生省心身障害研究 平成7年度報告書, 215-217.
8. 本田幸子, 林 美貴子, 村瀬 均, 上村 清, 村井貞子, 松島幸夫 (1977). 富山衛研年報, 昭和52年度, 22-26.
9. 本田幸子, 林 美貴子, 西田義雄, 林 圭子 (1978). 富山衛研年報, 昭和53年度, 122-125.
10. 米田 豊 (1998), インターネット URL, http://member.nifty.ne.jp/sakura_y/
11. 米田 豊, 高橋雅子 (1995). 富山衛研年報, 平成6年度, 58-65.

新生児マススクリーニング血液ろ紙中の アミノ酸とガラクトース検査における 同時前処理による効率化

米田 豊 九曜雅子

Simultaneous Determination of Amino
Acids and Galactose in Dried Blood
Spots for a Neonatal Mass-screening Test

Yutaka YONEDA and Masako KUYO

要 旨 先天性代謝異常マススクリーニング検査のアミノ酸高速液体クロマトグラフィーと、ガラクトースマイクロプレート酵素法において、血液濾紙からの抽出操作を共通化して、検査効率を高める方法について検討を行った。また、確立した同時前処理による分析法を新生児検体に適用し、その実用性を確認した。

先天性代謝異常検査ではメチオニン (Met)、ロイシン (Leu) または分岐鎖アミノ酸 (BCA) 及びフェニルアラニン (Phe) の各アミノ酸に加えガラクトース (Gal) の検査が必要である。アミノ酸の検査法として、半定量法であるガスリー法に加え、近年、迅速な検査が可能なマイクロプレート酵素法 (MFL) や自動化が可能な高速液体クロマトグラフィー (HPLC) が開発されている。また、Gal 検査法は半定量法であるペイゲン法に代わる方法として MFL が開発されている。MFL を用いた場合、Gal と BCA 及び Phe の検査は操作法が共通しているため、一斉分析は可能である。しかし、Met は反応系が異なるため、別に行う必要があり、また、MFL は一定時間毎に操作を要し、煩雑である。一方、HPLC は多種のアミノ酸を自動分析することが可能であり、MFL と比較して検査コストが低い長所もある。そこで、今回、Gal の MFL 法とアミノ酸の HPLC における試験溶液の調製操作を共通化し、分析を簡略化することを試みた。また、新たに確

立した方法を新生児検体に適用し、その実用性の検討を行った。

実 験

1. 装置

島津製作所製高速液体クロマトグラフィー用ポンプ LC-6A に、野村化学製 Develosil ODS-UG-5 (150×4.6mm i.d.) を装てんし使用した。なおカラムの前に同社製ガードカラム Develosil ODS-UG-5 (10×4.0mm i.d.) を、更にその前にジーエルサイエンス社製プレカラムフィルターを取り付けて使用した。検出には島津製作所製 RF-530型蛍光検出器を用い、カラム恒温槽は同社製 CTO-2Aを使用した。オートインジェクターは日本分光製 AS-950-10にマイクロプレート用ラックを取り付けて用い、データ処理は同社製データ処理システム BORWIN を用いた。マイクロプレートリーダーはコロナ電気株式会社製 MTP-100F

を用いた。

2. 試薬

6-aminoquinoline (AMQ) はアルドリッチ社製, bis (N-succinimidyl)carbonate (DSC) はシグマ社製を用いた。6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) はAMQ 及び DSC を用い Cohenらの方法 [1] に準じて合成し 3 mg/ml の濃度になるようアセトニトリルに溶解して用いた。

5 μ M アミノ酸標準液は和光純薬製アミノ酸混合標準液 H 型及び 2.5 μ mol/ml オルニチン含有 0.1N 塩酸溶液並びに 2.5 μ mol/ml L-ノルロイシン (Nle) 含有 0.1N 塩酸溶液を用い, 各々のアミノ酸の濃度が 5 μ M となるよう 0.1M リン酸緩衝液 (pH9.0) で希釈し用いた。

内部標準物質含有抽出液は 2.5 μ mol/ml Nle 含有 0.1N 塩酸溶液を 0.1M リン酸緩衝液 (pH9.0)

で希釈し, Nle の濃度が 5 μ M となるよう調製し用いた。

MFL のアミノ酸及び Gal 測定キットはカイロン社製エンザプレート PKU-R, MSUD-R, HCU-F 及び GAL-R を用いた。

3. 実験方法

3.1 試験溶液の調製

分析操作手順を Fig. 1 に示した。すなわち, 新生児マススクリーニング用の血液濾紙からパンチャーを用い直径 3 mm のディスクを 2 個打ち抜き, これをマイクロプレート上にセットしたトランスファープレートに入れ, Gal 測定キットの固定液 10 μ l を加えて室温で 10 分間静置し, 血色素の変性, 濾紙への固定を行った。次に, これを 2000rpm, 10 分間の遠心分離を行い, 血液濾紙に含まれる固定液の除去を行った。血液濾紙は別に用意した U 底マイクロプレートに移し, 内部標準

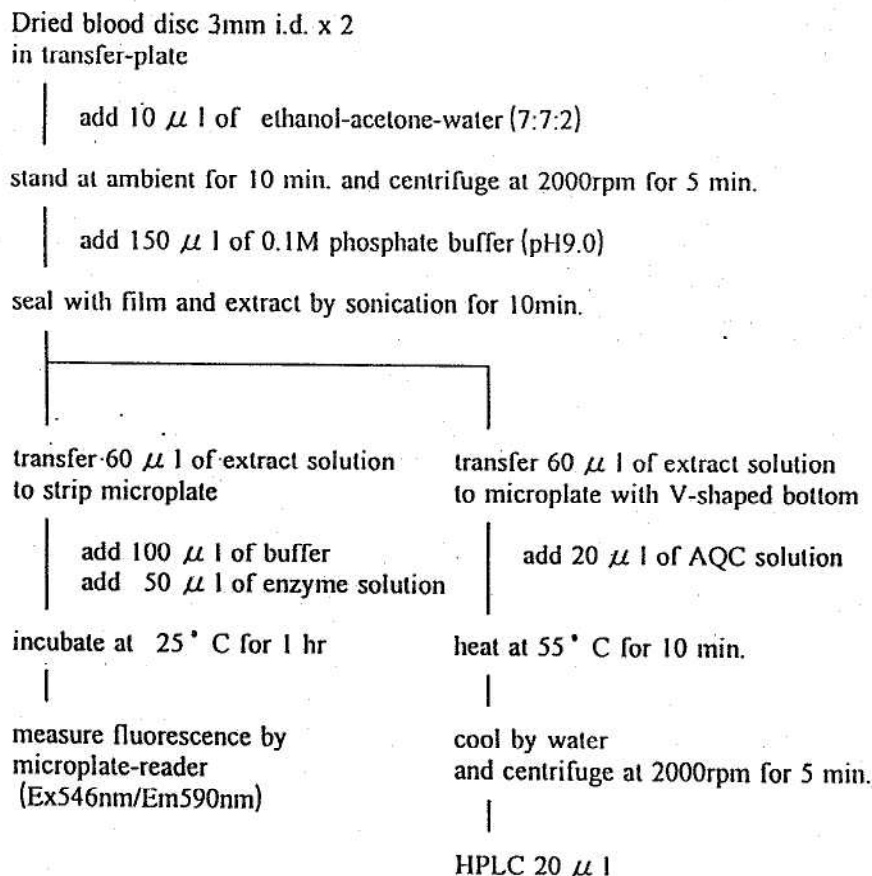


Fig.1 Procedure of modified method of galactose and amino acids in dried blood disc

物質含有抽出液150 μ lを加え、マイクロプレート上部を粘着シールで覆った後、超音波水槽内で10分間超音波抽出を行い試験溶液を調製した。

3・2 Galの定量

試験溶液60 μ lずつをGal測定用マイクロプレート(Labsystem社製Microstrip 1 $\times$ 8)に分取し、以下、測定キットの方法に従い測定を行った。

3・3 アミノ酸の定量

試験溶液60 μ lずつをアミノ酸測定用のV底マイクロプレート(Nunc社製)に分取し、プレートを足踏みスイッチを取り付けた振とう器にセットし、各セルにAQC溶液20 μ lを加え、直ちに混和を行った。このマイクロプレートの上部を粘着フィルムでシールした後、55℃の水浴上で10分間加温しプレカラム誘導体化を行った。反応後、水冷並びに遠心分離(2000rpm, 10分間)を行い、マイクロプレートをオートインジェクターにセットし、20 μ lずつをHPLCに注入した。

HPLCはカラムにDevelosil ODS-UG-5を用い、4.1mM TEA含有34.1mM酢酸ナトリウム溶液(pH5.3)-アセトニトリル(83:17)を移動相に用い、移動相の流速は1.2ml/minとした。カラム温度は40℃に設定し、検出は励起波長を250nm、検出波長を395nmとする蛍光検出で行い、定量計算はピーク面積を用いて内部標準法で行った。なお、定量値は直径3mmのディスクに含まれる血液量を3 μ lとして、全血中の濃度に換算した。また、BCA濃度はLeu濃度に換算したVal濃度を用いて算出した。

結 果

1. 抽出液の検討

1・1 Gal定量における抽出液の影響

Galとアミノ酸を血液濾紙から同時に溶出させるための溶出液として、Gal測定キットの溶出液(グリシン緩衝液)(溶出液A)、5 μ M Nle含有0.2M ホウ酸緩衝液(pH8.8)(溶出液B)並びに

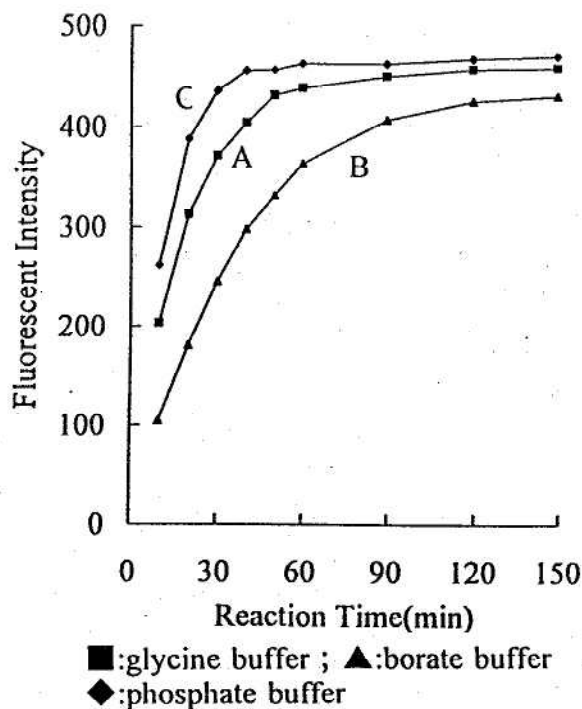


Fig.2 Time course of enzyme reaction of galactose in various buffer solutions

5 μ M Nle含有0.1M リン酸緩衝液(pH9.0)(溶出液C)を用いて検討を行った。試料にフジレビオ製8mg/dl Gal標準濾紙を用い、溶出液に上記の溶出液A、溶出液B及び溶出液Cを用いてそれぞれ溶出を行い、以下キットの操作手順に従い酵素反応を行った。酵素反応時間が10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120及び150分間の時点で蛍光強度を測定し酵素反応の速度を観察した。その結果はFig.2に示すように、蛍光強度が安定するまでの時間は溶出液A、溶出液B及び溶出液Cの順に、約60, 120及び40分であり、溶出液Cが最も優れていた。

なお、溶出液の肉眼的観察では溶出液Cが溶血程度が最も低く、無色透明に近かった。

1・2 アミノ酸定量における抽出液の影響

前項の実験から溶出液BはGalとアミノ酸の同時分析用の溶出液としては適当でないことが判明したため、溶出液A及び溶出液Cについて、アミノ酸のHPLC分析用の溶出液としての適応性について検討した。

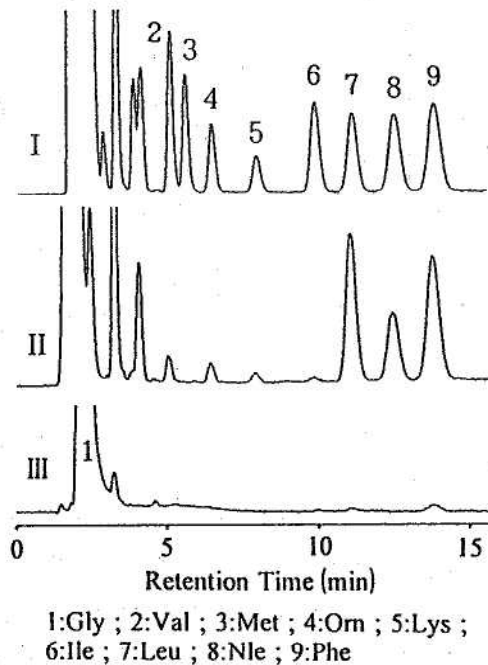


Fig.3 Chromatograms of amino acids of standard solution(I), test solutions extracted from control dried blood disk with 0.1M phosphate buffer(II) and with glycine buffer(III)

Gal 測定キットに添付されているコントロール用血液濾紙には、Gal の他、BCA 及び Phe も既知濃度が添加されている。そこで、コントロール用血液濾紙Ⅱ (Gal 3.8 ± 0.8 mg/dl, BCA 4.8 ± 1.0 mg/dl, Phe 4.3 ± 0.9 mg/dl) からアミノ酸を溶出液 A 及び溶出液 C を用いて溶出し、AQC プレカラム HPLC 法で得られたアミノ酸のクロマトグラムの比較を行った。Fig. 3 はアミノ酸標準液 (I), 溶出液 C (リン酸緩衝液, II) 及び溶出液 A (グリシン緩衝液, III) を用いた場合のクロマトグラムである。溶出液 A では保持時間約 2 分の位置にグリシンの大きなピークが認められるが、Leu 及び Phe のピークは殆ど認められないため、アミノ酸の溶出液としては不適であった。従って、アミノ酸と Gal の同時溶出液として溶出液 C を用いることとした。

2. 定量法間の相関

2・1 標準血液濾紙

Gal の標準血液濾紙 (カイロン社製) を試料として本法により測定した Gal 濃度値をメーカーが提示した Gal 濃度値と比較した。その結果、Fig. 4-1 に示すように相関係数は 0.9991 と高度の相関が認められた。また、上記標準血液濾紙中のアミノ酸濃度を MFL (標準法) 及び HPLC (本法) により測定し、相関を求めた。Fig. 4-2, 4-3 及び 4-4 にそれぞれ BCA, Phe 及び Met の結果を示した。相関係数は順に 0.9980, 0.9989 及び 0.9973 であり、いずれのアミノ酸も MFL (標準法) と HPLC (本法) との間には高度の相関が認められた。

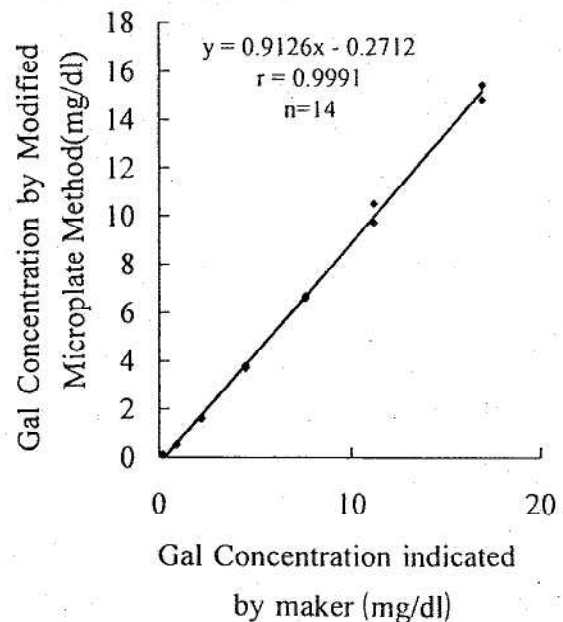


Fig.4-1 Correlation of Gal concentration between indicated by maker and determined by modified microplate method

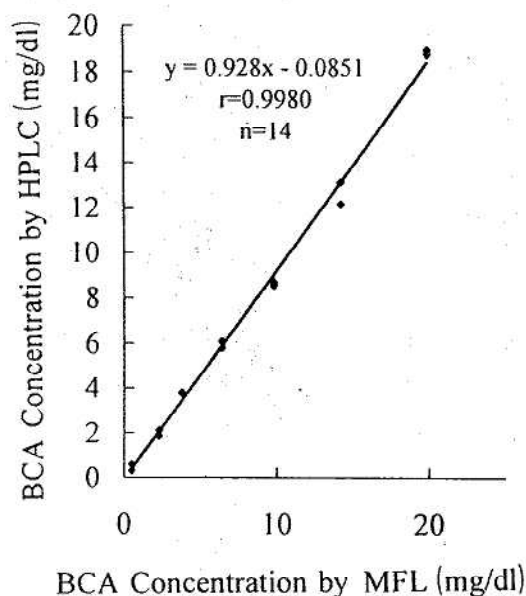


Fig.4-2 Correlation of determined BCA concentration in standard disc between by indicated microplate method and by modified HPLC

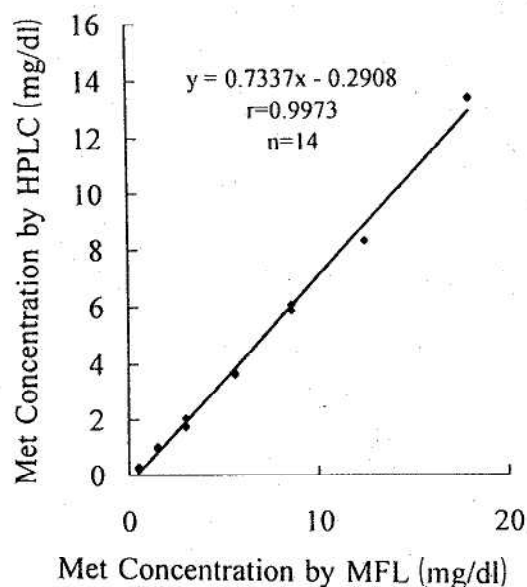


Fig.4-4 Correlation of determined Met concentration in standard disc between by indicated microplate method and by modified HPLC

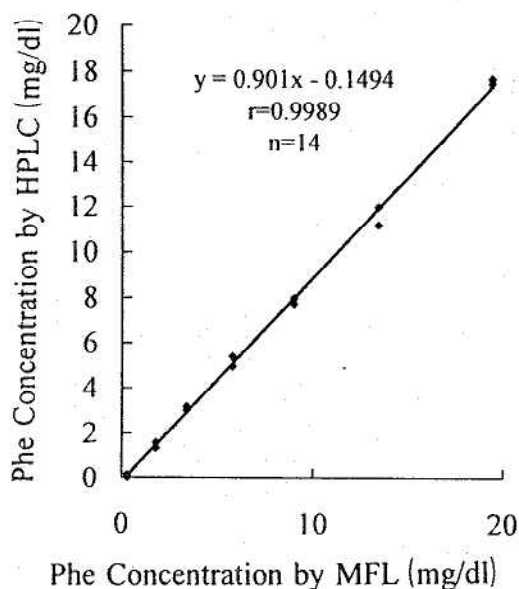


Fig.4-3 Correlation of determined Phe concentration in standard disc between by indicated microplate method and by modified HPLC

2・2 新生児検体

臨床的に異常の認められなかった新生児の血液濾紙556検体を用い Gal については MFL (標準法) と MFL (本法) との相関を、またアミノ酸については MFL (標準法) と HPLC (本法) との相関を調べた。Gal, BCA 及び Phe の結果を Fig. 5-1, 5-2 及び 5-3 に示した。相関係数は順に 0.993, 0.788 及び 0.693 でいずれも相関が認められた。なお, Met は Fig. 5-4 に示すように 0.277 で殆ど相関は認められなかった。

2・3 平均値及びカットオフ値

Table 1 に新生児検体を MFL (標準法) と本法で測定した場合の Gal 及びアミノ酸の平均値をカットオフ値 (平均値 + 2.5 × 標準偏差) と共に示した。

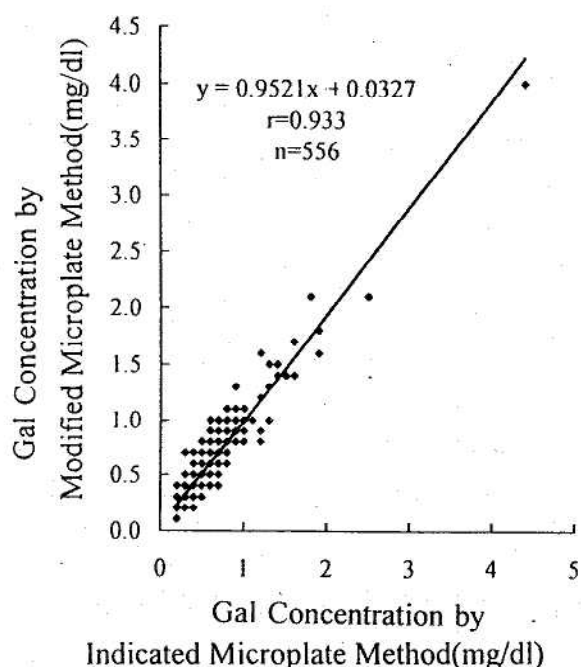


Fig.5-1 Correlation of determined Gal concentration in sample disc between by indicated and by modified microplate method

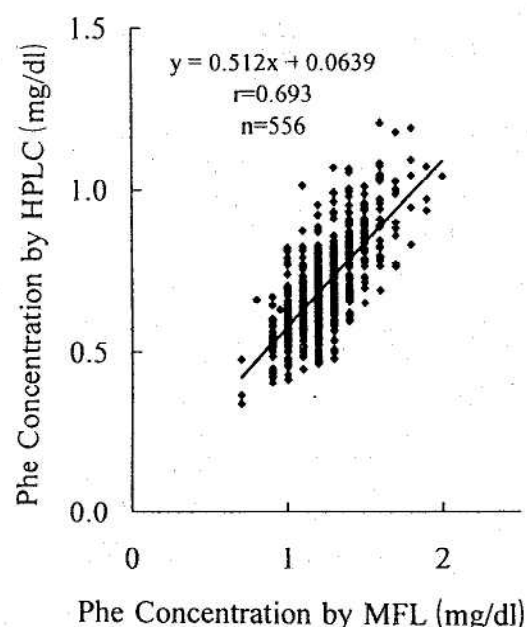


Fig.5-3 Correlation of determined Phe concentration in sample disc between by indicated microplate method and by HPLC

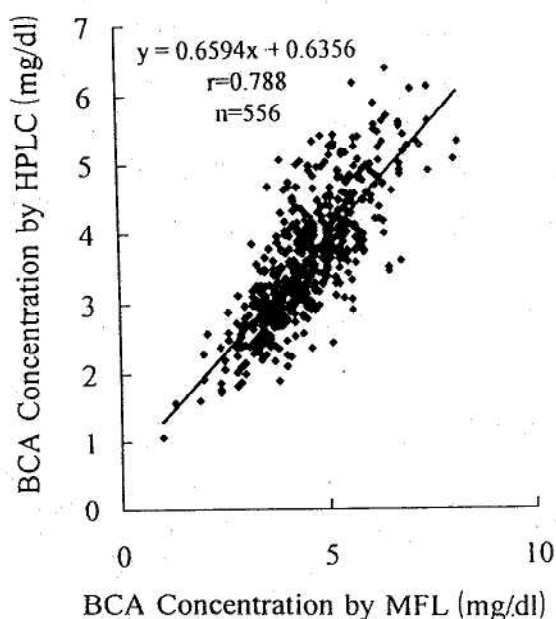


Fig.5-2 Correlation of determined BCA concentration in sample disc between by indicated microplate method and by HPLC

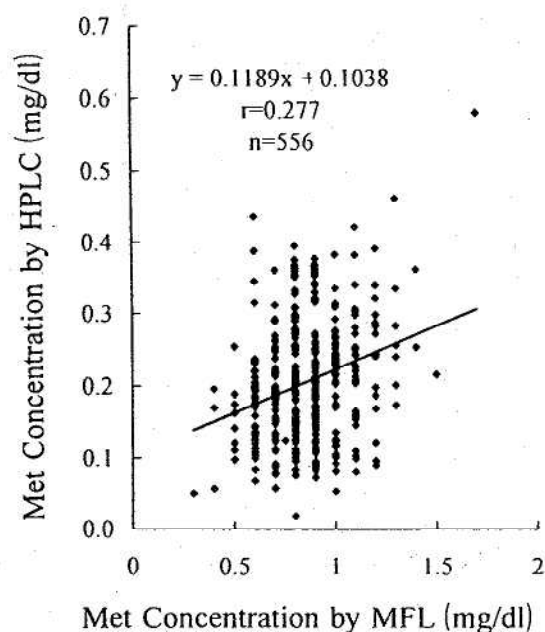


Fig.5-4 Correlation of determined Met concentration in sample disc between by indicated microplate method and by HPLC

Table.1 The level of galactose and amino acids in blood of normal neonates

n=556 ; mg/dl				
	Indicated MFL		Modified MFL	
	mean	mean+2.5SD	mean	mean+2.5SD
Gal	0.46	1.23	0.47	1.25

	Indicated MFL		Modified H P L C	
	mean	mean+2.5SD	mean	mean+2.5SD
Met	0.87	1.37	0.21	0.44
Phe	1.24	1.75	0.70	1.07
BCA	4.50	7.13	3.60	5.87
Val	—	—	1.58	2.58
Ile	—	—	0.67	1.15
Leu	—	—	1.16	1.87

考察及びまとめ

新生児マススクリーニングの濾紙血から Gal 及びアミノ酸を同時に溶出する目的で、Gal の MFL キットに添付のグリシン緩衝液を用いた場合、アミノ酸のラベル化剤がグリシンに消費され、分析対象とするアミノ酸のラベル化を阻害する恐れのあることは容易に予想される。本実験でもこれを裏付ける結果 (Fig. 3) が得られた。また、アミノ酸の HPLC 分析で我々が従来から用いているホウ酸緩衝液 [2, 3] を用いて溶出した場合、Gal の酵素反応速度が遅く、同時分析用の溶出剤として適していなかった。新たに試みたリン酸緩衝液では Gal の酵素反応速度は速く、且つアミノ酸の HPLC も可能であった。但し、リン酸緩衝液中ではアルカリフォスファターゼによるガラクトース-1-リン酸 (Gal-1-P) から Gal への反応が進行しないため、Gal-1-P の測定には向いていない。しかし、ガラクトース血症の 1 次スクリーニングには必ずしも GAL-1-P の測定は必要とされず、また、新たに確立した同時分析法と MFL (標準法) を用いて、標準血液濾紙中の Gal 測定値の比較を行ったところ両法間に高度の相関が認められることから、本法を日常分析に用いて支障がないと考えられる。また、新生児検体

に適応したところ、Gal, BCA 及び Phe については本法では MFL (標準法) よりやや低い値が得られる傾向は認められるが、両法間に相関が認められた。Met では相関は認められなかったが、このことは、MFL では酵素の交叉反応のため Met 以外の物質も測定していることが主因と考えられる。本法を用いることで、直径 3 mm の血液濾紙 2 枚でアミノ酸及び Gal の効率的検査が可能であり、MFL のみを用いる方法に比較し、検査コストは 1/2 以下に削減可能であった。これらのことから本法は新生児マススクリーニングの 1 次検査に適した方法と考えられる。また、本法の抽出操作とアミノ酸のグラジエント HPLC とを組合せることにより、アミノ酸の 2 次検査への応用も可能と考えられる。

文 献

1. Cohen S.A., Michaud D.P.(1993). Anal. Biochem. 211, 279-287.
2. 米田豊, 高橋雅子, 北村敬 (1997). 日本マススクリーニング学会誌 7, 29-38.
3. 米田豊 (1997). 平成 9 年度先天代謝異常症検査技術者研修会資料 18-23.

ヒト染色体に関する調査研究—血液, 骨髄液— (平成9年度)

林 美貴子 本田幸子 大江 浩 北村 敬

Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells

Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA,
Hiroshi OE and Takashi KITAMURA

要 旨 平成9年度の染色体検査受付件数は血液117件と骨髄液14件の計131件(127人)であった。うち、血液8件と骨髄液6件の14件(11人)に染色体異常が発見された。発見された染色体異常の内訳は、汎血球減少症4件(3人)、均衡転座保因者3件、EBウイルス感染症(由来不明付加染色体)2件(1人)、モザイク型18トリソミー症候群1件、AML2件(1人)、ALL1件とCML1件の計14件(11人)であった。また、昭和48年度から平成9年度までに検査を行った1,432件(実人数1,409人)中1,393件(同1,382人)が検査可能であり、うち、213人に染色体異常が発見されたため、染色体異常率は15.4%になった(実人数)。検査受付時の依頼理由(主訴)は血液では流産を繰り返す夫婦が75件と最も多く、続いて不妊症20件、低身長等であった。近年、依頼理由が変化している原因として、最近の社会的背景の影響が考えられた。

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が[1]、これを富山県の場合に単純に当てはめると、最近の年間出生数約1万人に対し、約60人の染色体異常児が生まれることになる。これは出生率の低下が叫ばれて久しい現在、母子衛生上の大きな位置を占めると考えられる。上記の0.6%の中には性染色体異常の様に新生児期に判別し難いものや、均衡転座染色体保因者の様に反復流産等の訴えがあってはじめて染色体検査の適応になるものも含まれる。また、社会的背景の変化、遺伝相談の浸透、体外受精の増加や白血病等に対する治療指針のため等により、染色体検査に対する需要は年々増加している現状である。

ヒトの染色体分析は現在、先天異常児の診断や

流産を繰り返す夫婦の原因検索、白血病における多彩な染色体異常、悪性腫瘍組織、ハイリスク妊婦の羊水や自然流産胎児組織等で行われている。さらに、最近の染色体分析技術は、分染法の高度化、染色体あるいは遺伝子部位特異のプロブを用いたFISH法の開発等により、従来に比較し著しく向上してきている。

当所では、富山県総合母子保健対策の一環として、昭和48年度より染色体検査を行ってきた。

ここに、平成9年度の血液と骨髄液の染色体検査の内容とともに、過去25年間に検査を行った1,409件の検査内容についても報告する。

実 施 方 法

平成9年度の染色体依頼検査件数は血液117件、骨髄液14件（人）の計131件（127人）であり、す

表1. 検査依頼病院内訳（昭和48～平成9年度）

県別	病院名	年 度	
		H.9	S.48～H.9
県内	県立中央病院	87	781(5)
	富山赤十字病院	20(11)	237(49)
	高志学園	1	90
	富山市民病院		75
	富山医科薬科大学	14(3)	73(3)
	厚生連高岡病院	1	18
	保健所		18
	氷見市民病院	6	12
	砺波総合病院		11
	富山通信病院		9
	国立富山病院		7
	他	2	43
	小計（件）	131(14)	1,374(57)
県外	小計（件）		58
	計（件）	131(14)	1,432(57)

() : 骨髄液

べて県内の病院からの依頼で、病院別内訳については表1に示した。

検査方法は通常の方法に従ったが、その詳細については既報に表した通り〔2〕。ブルーム症候群の疑いの検体について行った姉妹染色分体交換法は既報に表した通り〔3〕。

クロモゾームペインティング法はVYSIS 製染色体プローブを用い、詳細は前川らの方法〔4〕に従った。

結 果

昭和48年度から平成9年度までの血液、骨髄液の5年毎の染色体検査受付状況について表2および図1に示した。

年々検査数は増加しているが、異常数は増加していないので、その結果、染色体異常率は低下している。これは依頼理由の変化によるものであった。前半の依頼理由は先天異常児の確定診断が主であり、事実ダウン症候群や18トリソミー症候群では外見の特徴が明確であり、結果として異常率は高くなった。しかし、後半の依頼理由は流産を繰り返す夫婦または不妊症の夫婦によるものが大半を占める状況であり、しかも、その主訴では異常率が低いことによった。

表2. 検査受付状況（昭和48～平成9年度）

年 度	血 液			骨髄液			合 計		
	受付数	不能数*1	異常数*2	受付数	不能数*1	異常数*2	受付数	不能数*1	異常数*2
昭和48～昭和52	199	5	48	1		1	200	5	49
昭和53～昭和57	261	9	51	1	1		262	10	51
昭和58～昭和62	188	5	40	4	1	2	192	6	42
昭和63～平成4	297	4	33	32	5	5	329	9	38
平成5～平成9	430	4	34	19	4	6	449	8	39
(平成9)	117	2	8	14	3	6	131	5	14)
計（件）	1,375	27	206	57	11	14	1,432	38	219

*1 染色体分析不能数

*2 染色体異常有数

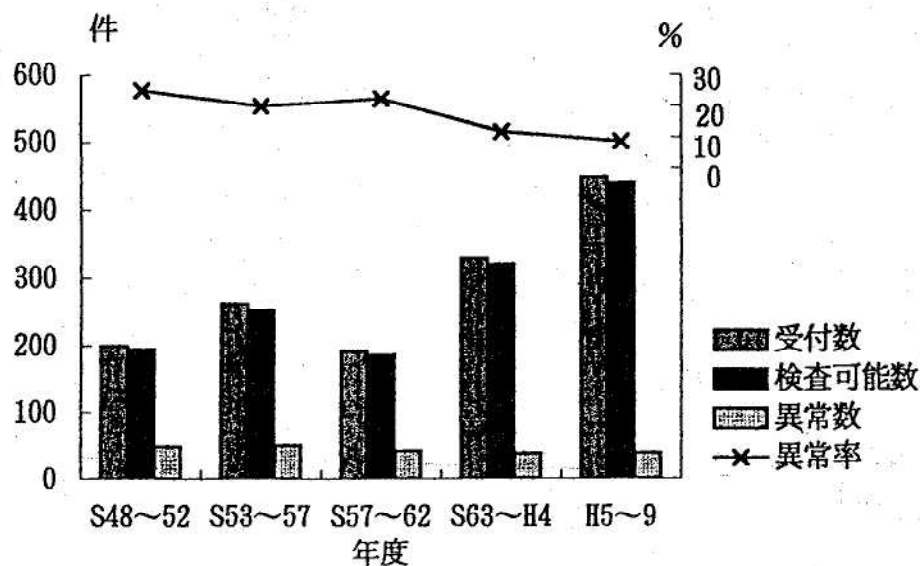


図1. 検査受付状況

表3. 染色体検査内容 (平成9年度)

依頼理由	検査	判定	異常	逆位(9)
血液	117	115	8	3
内訳				
流産を繰り返す	75	75	3	3
不妊	20	20	0	
前子多発奇形(両親)	4	4	0	
低身長	3	3	0	
EBウイルス感染症	2	2	2	
18トリソミー症候群	1	1	1	
多発奇形	1	1	0	
ターナー症候群の疑い	1	1	0	
原発性無月経	1	1	0	
思春期遅発	1	1	0	
早発閉経	1	1	0	
精神発育遅延	1	1	0	
点状軟骨異形性症	1	1	0	
汎血球減少症	1	1	1	
AML	1	1	1	
ブルーム症候群の疑い	1	1	0	
他	2	0	0	

表3. つづき

骨髓液	14	11	6	

内訳				
汎血球減少症	6	5	3	
ALL	3	2	1	
AML	1	1	1	
CML	1	1	1	
骨髓異形性症	1	1	0	
貧血	1	1	0	
再生不良性貧血	1	0	0	

計 (件)	131	126	14	3

平成9年度の件数は血液117件と骨髓液14件の計131件(127人)であり、依頼理由と染色体異常の有無等について表3に示した。依頼理由の主なものは、血液では、反復流産が75人と最も多く、次いで不妊20人、汎血球減少症6人等であった。そのうち、染色体異常が発見されたのは均衡転座型染色体保因者3人、モザイク型18トリソミー症候群1人、EBウイルス感染症(由来不明付加染色体)1人(2件)、汎血球減少症3人(4件)、AML 1人(2件)、ALL 1人とCML 1人の計11人(14件)であった。

依頼理由のうち最も多かった反復流産または習慣性流産の原因検索を主訴として検査を行った75人(37組夫婦+1妻)中3人が均衡転座型染色体保因者であった。以下、①②③。

- ①核型 46,XY,t(4;15)(q12;q24) 自然流産2回
共に妊娠3か月(表4中の症例1, 図2)。
- ②核型 46,XX,t(3;13)(q27;q22) 自然流産2回
共に妊娠2か月(表4中の症例2, 図3)。
- ③核型 46,XX,t(3;21)(q27;q11.2) 自然流産2回
共に妊娠2か月(表4中の症例3, 図4)。
- 上記①②③についてはいずれも家系調査なし。

また、正常変異といわれている9番染色体逆位保因者が流産を繰り返す夫婦中に3人発見された。

原因不明の不妊症、または体外受精後妊娠反応なし等の20人にはいずれも染色体異常はみられなかった。これらに関しては、近年、体外受精が普及したことにより増加したと思われた。

18トリソミー症候群の1人は羊水検査結果の確認であり、流産後の児臍帯血によった。分裂数は少なかったが、結果は46,XX/47,XX,+18(7

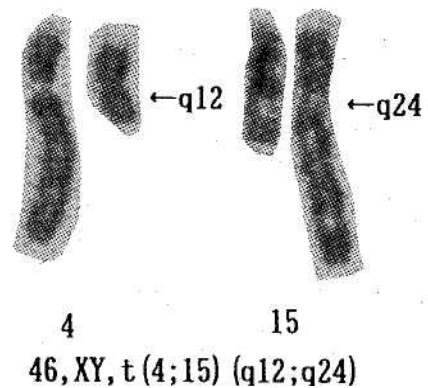


図2. 症例1の部分核部

表4. 染色体異常の内訳(平成9年度)

症例No.	疾患名(*)	核型	主要症状等
No. 1	均衡転座保因者	46,XY,t(4;15)(q12;q24)	自然流産2回
2	〃	46,XX,t(3;13)(q27;q22)	自然流産2回
3	〃	46,XX,t(3;21)(q27;q11.2)	自然流産2回
4	18トリソミー症候群	46,XX/47,XX,+18	羊水検査の確認, 指の異常等
5	EBウイルス感染症 初回	46,XX/46,add(15)/92,add(15),add(15)	口内痛, 発熱等
	再	46,XX/46,XX,add(15)(q26)	
6	汎血球減少症(骨髓)	46,XY/47,+m/48,+2m	貧血, 血小板減少症
	(血液)	46,XY/47,XY,+m/46,XY,t(3;7)	
7	汎血球減少症(骨髓)	46,XY/48,XY,+2m	貧血, 血小板減少症
8	汎血球減少症(骨髓)	45,X/46,XY	貧血, 血小板減少症
9	AML (M7) (骨髓)	45,XX,-7/46,XX	
	(血液)	45,XX,-7(PHA-)	
	〃	45,XX,-7/46,XX(PHA+)	
10	ALL (骨髓)	46,XX/46,XX,-7,+m/48,XX,+2m	
11	CML (骨髓)	45,X/46,XY	

* 血液, 骨髓の記載のないものは血液による

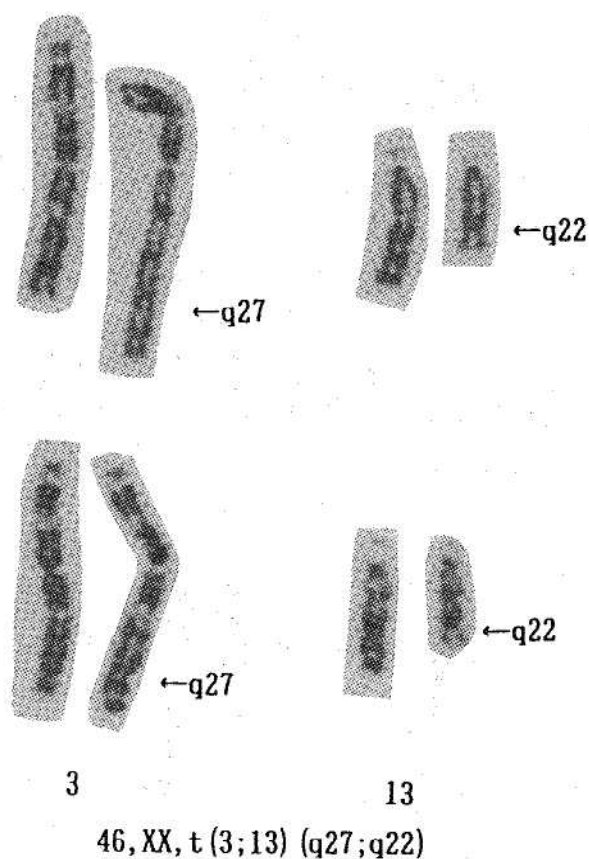


図3. 症例2の部分核型

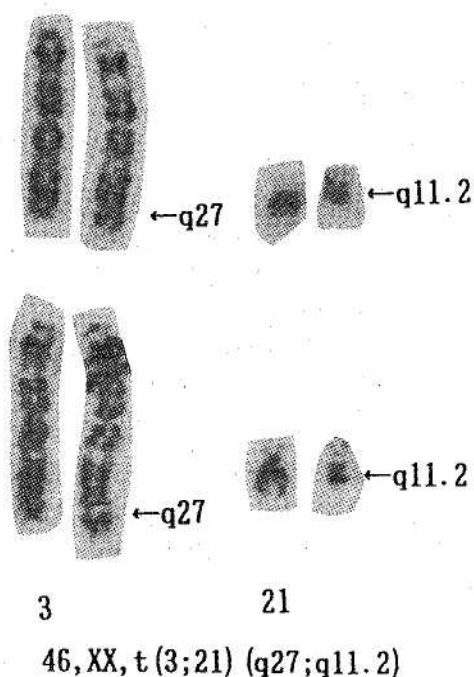


図4. 症例3の部分核型

細胞/7細胞)のモザイク型であった(表4中の症例4)。羊水検査における詳細は別報の通り[5]。

EBウイルス感染症の15歳女兒は発熱を伴う口内炎を反復し、染色体検査にて15番染色体長腕端部に15番染色体長腕相当の大きさの由来不明付加を認めた。15番染色体のプローブを用い、クロモゾームペインティング法にて確認したところ、付加部分の蛍光は認められず、その付加染色体部分は15番染色体ではなく、その由来は不明であった。核型は以下の通り(表4中の症例5)。

初回検査: 46,XX/46,XX,add(15)(q26)/75~92/89~92,add(15)(q26) [62/24/9/5%]。
再検査: 46,XX/46,XX,add(15)(q26) [26細胞/1細胞]。

汎血球減少症7件(6人)のうち6件(5人)が染色体分析可能で、4件(3人)に異常が観察された(表4中の症例6~8)。いずれも貧血、血小板減少症等の症状を呈したが、染色体異常の型は異なっていた。以下①②③。

①78歳男性;初回・骨髓液コルセミド17時間処理 46,XY/47,XY,+m/48,XY,+2m(各9/8/7/3細胞),再・血液PHA-培養 46,XY/47,XY,+m/46,XY,t(3;7)(q29;q21)(各26/2/1細胞)(表4中の症例6)。

②46歳男性;骨髓液コルセミド17時間処理 46,XY/48,XY,+2m(各25/2細胞)(表4中の症例7)。

③84歳男性;骨髓液コルセミド17時間処理 45,X/46,XY(各6/24細胞)(表4中の症例8)。

AMLのため検査を行った症例9は約1年前、貧血等が認められ、M7(巨核芽球性)と診断され、末梢血液PHA-培養にて染色体検査を行ったところ、46,XX,-7,del(12p),+mの結果であった。今回、寛解に入らないため、再度検査を行った。その結果、骨髓液; 45,XX,-7/46,XX/46,XX,-7,del(12)(p11),+m(各15/8/14細胞),血液;(PHA-培養) 45,XX,-7(6細胞),(PHA+培養) 45,XX,-7/46,XX(各2/17細胞)。また、血液の休止核ではFISH法にて、7番染色体が1本の細胞(45,XX,-7)と2本の細胞

(46,XX)の割合は1:1であった。これらは1年前とほぼ同じ結果であった。

ALLの症例10は46,XX/48,XY,+2m(各28/3細胞), CMLの症例11(66歳男性)は45,X/46,XY(各8/24細胞)の核型を示した。

上記のマーカー染色体(m)についてはいずれも由来不明であった。

他の依頼理由で行ったものについて染色体異常は発見されなかった。

羊水検査により、Y染色体が小さく(small Y)、構造異常が疑われた症例をクロモゾームペインティング法にて検査した。その結果、羊水細胞と父のY染色体は一致し、Y染色体の父由来が確認され、正常核型と判定した[5]。

ブルーム症候群を疑われた症例について姉妹染色分体交換頻度の増加を検討した。BrdU濃度10 μ g/ml下で、その頻度は症例で1細胞当たり6.6 $\pm$ 2.7(1~14, 観察数52個), 同じく対照では6.2 $\pm$ 3.1(2~13, 観察数22個)であり、その間に差は認められず、姉妹染色分体交換頻度の増加は観察されなかった。

検査可能であった126件中8件(人)にde novoと思われた染色体異常が観察細胞20~100個中各1細胞存在した。それは流産を繰り返した夫婦中の6人に観察され、その核型は以下の通り。46,XX,t(2p;7q), 46,XY,t(13q;14p), 47,XY,+m, 47,XY,+m, 47,XY,+8, 46,XX,del(9q)。さらに骨髓異型性症候群と汎血球減少症各1人でその核型は以下の通り。47,XY,-14,+2m, 46,X X,del(15)(q22)。しかし、その由来および異常の有無については判定できなかった。

昭和48年度からの合計件数は血液1,375件と骨髓液57件の計1,432件になったが、白血病等の血液疾患による重複分23件を除くと、実人数は血液1,357人と骨髓液52人の計1,409人であった。表5にその1,409人(実人数)の依頼理由と染色体異常の有無等についてまとめて示した。検査可能であった1,382人中213人に染色体異常(異常率15.4%)がみられた。依頼理由のなかで最も多かったのは流産を繰り返す(1~6回を含む)の472人であり、次いで染色体異常が確認された者の家族、

表5. 染色体検査結果一覧(実人数*)
(昭和48~平成9年度)

依頼理由	検査	判定	異常	他**
・血液				
流産を繰り返す	472	471	22	9
家族(染色体異常有)	144	144	8	
ターナー(21トリソミー)症候群の疑い	126	124	99	
先天奇形	99	94	9	
家族(染色体異常無)	89	89	0	
発育不良、発育遅延	47	47	1	2
白血病	39	34	6	
不妊	38	38	0	1
無月経	32	32	2	
低身長	26	26	0	
ターナー症候群の疑い	23	23	14	5
18トリソミー症候群の疑い	14	14	13	
半陰陽	13	11	3	
胎児血液	11	11	1	
心臓病	9	9	1	
膈欠損・鎖骨	7	7	0	
性染色体異常の疑い	6	6	0	
クラインフェルター症候群の疑い	6	6	5	
猫なき症候群の疑い	6	6	1	
13(D)トリソミー症候群の疑い	4	4	4	
脆弱X染色体症候群の疑い	4	4	0	
副腎性器症候群の疑い	4	4	1	
生理不順	3	3	1	
ファター・リリー症候群の疑い	3	3	1	
ファンコニー貧血	1	1	1	1
色素性乾皮症	1	1	1	
その他	130	126	4	
小計	1,357	1,338	198	18
・骨髓液				
白血病等	52	44	15	
合計(人)	1,409	1,382	213	18

* : 白血病等の理由による再検査は除く

** : 9番染色体逆位保因者、睾丸性女性化症候群

表6. 染色体異常と主な核型

染色体異常名	人	主な核型
・常染色体異常		
ダウン症候群	99	
(トリソミー型 94)		47,XY,+21 47,XX,+21
(モザイク型 3)		46,XY/47,XY,+21
(転座型 3)		46,XX,-13,+t(13;21) 46,XX,-21,+t(21;21)
18トリソミー症候群	14	
(トリソミー型 11)		47,XY,+18 47,XX,+18
(転座型 1)		46,XX,-18,+iso psu dic(18) (p113)
(モザイク型 2)		46,XX/46,XX,-18,+dic(18)
13トリソミー症候群等	4	
(トリソミー型 2)		47,XY,+13 47,XX,+D
(モザイク型 1)		46,XX/47,XX,+D
(転座型 2)		47,XY,-13,+t(13;13)
13リング症候群等	2	46,XX,r(13) 46,XX,r(D)
9pトリソミー症候群	2	46,XX,t(9;21) 46,XY,-9,-12,+iso(9p),+der(12)
2pトリソミー	1	46,XY,t(2;17)
猫なき症候群(5p部分トリソミー)	1	46,XX,del(5)(qter→p14:)
7pトリソミー+7qモノソミー	1	46,XY,rec(7)dup(7p)inv(7)(p22q34)
ブラダー・ウィリー症候群	1	46,XX,del(15)(q11.1q12)
由来不明部分過剰	6	47,XY,+mar 46,XX,t(9;?) 47,XX,+mar 46,XX/46,XX,add(15)
均衡転座保因者	29	45,XX,t(14;21) 45,XX,t(13;15) 45,XX,t(13;21) 46,XY,t(8;21)
		46,XY,t(1;7) 46,XY,t(2;17) 46,XX,t(9;21) 46,XX,t(4;18)
逆位保因者	1	46,XX,inv(7)(p22q34)
ファンコニー貧血	1	切断、ギャップが多い
白血病	21	46,XY,t(9;22)(q34;q11) 46,XX/46,XX,Ph+ 45,XX,-7/46,XX
		47,XX,+19 47,XXX,t(4;11) 48,XX,+21,+mar
悪性腫瘍を持つ	1	不特定の染色体異常を持つ
計 (人)	184	(184人/1,382人 全体に占める異常率13.3%)
・性染色体異常		
クラインフェルター症候群	6	
(トリソミー型 5)		47,XXY
(モザイク型 1)		46,XY/47,XXY
ターナー症候群	18	
(モノソミー型 5)		45,X
(モザイク型 13)		45,X/46,XX 45,X/47,XXX 45,X/46,X,r(X) 45,X/46,X,del(X)
トリプルX	2	47,XXX
半陰陽	3	45,X/46,XY
計 (人)	29	(29人/1,382人 全体に占める異常率2.1%)

ダウン症候群の疑い、先天奇形などであった。また、依頼理由のなかで染色体異常であった率の高い主なものをあげると13トリソミー症候群の疑い100%、18トリソミー症候群の疑い92.9%、クラインフェルター症候群の疑い83.3%、ダウン症候群の疑い79.8%、ターナー症候群の疑い63.6%などであった。検査した全体に対する常染色体異常の異常率は13.7%、性染色体異常の異常率は2.3%になった(表6)。

常染色体異常のなかではダウン症候群が最も多く、53.8%をしめ、以下、均衡転座保因者が15.8%、白血病等約11.4%、18トリソミー症候群約7.6%等であった。

一方、性染色体異常のなかではターナー症候群が62.1%、クラインフェルター症候群が20.7%をしめた。

考 察

最近、FISH法およびクロモソームペインティング法の技術開発が進み、試薬の性能が向上してきている。当所でも、その使用頻度が増加し、実際に、Y染色体や15番染色体の部分欠失などの確認にFISH法を用いている。FISH法は通常の染色体検査で判定できない微小欠失の発見やモザイクの割合の判定に有効であるが、標的部分の染色体異常の検出のみに効力を発し、他の染色体異常の有無など全体を把握することはできない欠点がある。実際、表4に示した症例9では末梢血液を用いた染色体検査では100%7モノソミーであつたのに対し、休止核のFISH法では7モノソミーと7ダイソミーが50:50であり、モザイクの割合が異なつた。これは染色体検査では現在細胞分裂している細胞しかとらえることができないのに対し、FISH法は細胞分裂の如何に関わらず検出できるので、既に特定の異常が判定できている場合、そのモザイクの割合を検出するには簡便な方法であると思われた。

当所における最近の検査依頼理由として最も多いのは反復流産の原因検索のためであり、年々増加してきている。これには最近の社会的背景と医

表7. 流産を繰り返す夫婦中、染色体異常のあつた22例の核型と既応歴

No	核 型	既 応 歴
夫		
①45,XY,t(13q14q)		2 回流産
②46,XY,t(1;4)(q11;p15.2)		2 回流産
③46,XY,t(1;7)(q45;q11)		3 回流産
④46,XY,t(1;12)(q425;p13)		3 回流産
⑤46,XY,inv(9)(p11q13), t(4;10)(q31;q25)		3 回流産
⑥46,XY,t(4;15)(q12;q24)		2 回流産
⑦46,XY,t(4;18)(q31.3;q21.3)		2 回流産
⑧46,XY,t(5;16)(p13;p13)		3 回流産
		2 回生産
⑨46,XY,t(8;14)(p11;q32)		4 回流産
⑩46,XY,t(8;21)(q24.2;q21.2)		4 回流産
妻		
①45,XX,t(13q14q)		3 回流産
②45,XX,t(13q21q)		2 回流産
③46,XX,t(1;15)(q42;q26)		2 回流産
④46,XX,t(3;4)(p13;p16)		3 回流産
⑤46,XX,t(3;10)(q29;q22)		3 回流産
⑥46,XX,t(3;13)(q27;q22)		2 回流産
⑦46,XX,t(3;21)(q27;q11.2)		2 回流産
⑧46,XX,t(7;20)(p23.1;q11.2)		3 回流産
⑨46,XX,t(8;15)(q11.2;q26.1)		2 回流産
		1 回死産
⑩46,XX,t(10;18)(q23;q11.2)		3 回流産
⑪47,XXX		2 回流産
		1 回胎児死亡
⑫47,XX,+mar		2 回流産

学的知識の普及が考えられる。つまり、わが国では約10年前まで、3回以上の流死産等を繰り返した場合、反復因子の原因検索を目的とし、染色体検査を含む臨床検査の対象となつたが、最近では2回以上流死産等を繰り返した場合、その原因を追求するようになってきている。流産を経験した場合、早期に適切な治療を受け、なるべく早く挙児を望むからと考えられ、それには晩婚化の影響もあると思われた。

当所で、妊娠初期に自然流産を繰り返す理由で検査を行った472人（判定471人）中、22人に染色体異常が発見され、異常率は4.7%になった。さらに夫婦単位別にみると229組の夫婦中21組に染色体異常が発見されたことになり、夫婦単位の染色体異常率は9.2%つまり約11組の夫婦に対して1組の割合で染色体異常が発見されたことになった（表5）。表7にその22人の染色体核型を表したが、トリプルX 1人と由来不明部分過剰染色体保有者1人を除いて、均衡転座型染色体保因者であった。染色体異常は夫10人、妻12人のほぼ男女同数であり、従来いわれているように習慣性流産の場合には男性よりも女性の方に染色体均衡転座保因者が多いということは認められなかった。また、遺伝相談は夫婦一緒に行うという点からも、反復流産の原因検索のため染色体検査を受ける場合、夫婦同時に行うことが望ましいと考えられた。また、上記の471人中10人（2.12%）に9番染色体逆位が発見された。この、9番染色体逆位は現在正常変異とされており[6]、さらに、習慣性流産との関係でも否定的である。しかし、日本人（成人）中の9番染色体逆位の頻度は1.45%と報告されており[6]、さらに我々が検査を行った全例中でも1.16%であったのに比較するとやや多いと思われる、9番染色体逆位と流産を繰り返す夫婦の関係については今後のデータの集積が待たれる。

染色体検査に当たっては、その結果が患者とその家族に大きな影響をあたえるため、検査の正確

性と秘密保持への配慮が要求される。また、治療方針の決定のため、検査期間の短縮化が望まれていることと、検査の需要が増加している現状とは矛盾することから、迅速な分析技術の開発・導入、人材の確保、染色体画像解析装置などの機器の導入・整備が必要とされている。

謝辞：各症例の臨床像の提供と採血等について御協力頂きました各病院の関係の方々に深く深謝いたします。

文 献

1. Maeda, T., Ohno, M., Matsunobu, A., Yoshihara, K and Yabe, N. (1991). Jpn. J. Hum. Genet., 36, 117-129.
2. 林美貴子, 本田幸子, 柏樹久雄 (1993). 富山衛研年報, 16, 44-55.
3. 林美貴子, 本田幸子, 大中正光, 山上孝司, 成瀬優知, 鏡森定信 (1995). 北陸公衛誌, 22 (1), 35-41.
4. 前川雅彦, 新宅香織, 山下達雄 (1997). 臨床FISHプロトコール, 79-84, 秀潤社.
5. 本田幸子, 林美貴子, 大江浩, 北村敬 (1998), 富山衛研年報, 20, -.
6. 児玉喜明 (1996). 臨床染色体診断法, 26-37, 金原出版.

ヒト染色体に関する調査研究 —羊水・流産胎児— (平成9年度)

本田 幸子 林 美貴子 大江 浩 北村 敬

Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells and Fetal Cells

Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI,
Hiroshi OE and Takasi KITAMURA

要 旨 平成9年度の羊水および自然流産胎児の染色体の検査は、受付件数が羊水73件、流産胎児24件で、昭和49年度から併せると、羊水892件、流産胎児113件となった。検査の結果、今年度は染色体異常が羊水に5件(47,XY,+18, 47,XXY, 69,XXY, 46,XX,t(7;11)(q21;p15), 46,XY,inv(7)), 流産胎児に9件(47,XY,+8, 47,XX,+13, 47,XXorXY,+D 2件, 47,XY,+16, 47,XXorXY,+18 2件, 47,XY,+20, 47,XY,+G)であった。羊水では全年度で38件の異常がみられ、流産胎児では36件異常がみられている。染色体検査依頼の理由(主訴)は、羊水では高齢妊娠、染色体異常児出産既往、羊水過多等が多かった。

近年の女性の高学歴、社会進出による晩婚化、少産傾向、高齢妊娠の増加等により、羊水の染色体検査等の出生前診断の需要はますます増加している。しかしその反面、一部を除き、ほとんどが治療困難であり、また診断結果の信頼性や、社会的、倫理的な問題が残されている。

富山県においては、昭和48年度から、富山県総合母子保健対策の一環として、染色体検査事業が実施され、当研究所においては、48年度から血液による検査が始まり、49年度からは羊水、さらに50年度からは自然流産胎児組織、絨毛組織等が加わり、染色体検査が行われてきた[1]。

ここに平成9年度の羊水、流産胎児の検査結果をまとめ、報告する。

実施方法

1. 羊水

染色体標本作成法は、羊水10ml以上を静置後、沈澱した細胞に培養液(チャン培地)を加え再浮遊し、シャーレ(35mm)2枚以上になるようにし、炭酸ガス培養を行った。5~7日間静置培養後、倒立顕微鏡で細胞の増殖状況を観察し、適当な時期に培養液の交換を行い、コロニーの増大を待ち、分裂中期の細胞が多いことを確認してコルセミド処理を行った。トリプシン液で細胞を遊離後、遠心分離し、細胞を集め、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)を行った。固定液(カルノア液)は2回交換し、パスツールピペットでスライド上に滴下し、蒸気乾燥した。染色は通常のギムザ染色およびG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を施行した。1検体につき10個以上の中期核板の顕微鏡写真を撮り、判定した。

2. 自然流産胎児

検体はおもに流産胎児の皮膚、肺等の組織、および胎児の付属物として、絨毛、羊膜等の組織であった。これらは、大きさによりハサミで細切し、シャーレ (Plastic petri dish 35×10mm) の上に並べ、培養液を添加し、培養を行った。小さな組織片はピペットで攪拌し、細胞懸濁液を作り、それをシャーレに分注し、同様に培養した。培養液はChang培地を用い、炭酸ガス培養を行った。倒立顕微鏡下で細胞の増殖状況を観察しながら、適当な時期に培養液の交換を行った。以下は羊水細胞と同様の方法で標本作成を行い、染色体分析を行った。

結果および考察

表1. 染色体検査依頼病院 (羊水・流産胎児)
(平成9年度)

県	病 院	羊水	流産胎児
富山県	県立中央病院	16	21
	富山医科薬科大学	11	1
	黒部市民病院	9	
	済生会高岡病院	8	
	富山市民病院	8	
	富山赤十字病院	5	2
	あわの産婦人科医院	4	
	厚生連高岡病院	3	
	家城産婦人科医院	3	
	高岡市民病院	2	
	氷見市民病院	1	
	上市厚生病院	1	
石川県	珠洲総合病院	1	
新潟県	糸魚川総合病院	1	
計 (件)		73	24

1. 羊水

今年度の染色体検査受付数は73件で、その内訳は、富山県の医療施設の産婦人科から71件、石川県、新潟県から各1件であった。染色体分析は全てが可能であった。検査開始時から平成9年度までの検査総数は892件となった。表1に今年度の検査依頼機関と受付件数を示した。

染色体分析の結果、今年度は下記の染色体異常5件 (症例1～5) がみられた。

症例1

年齢・妊婦： 38歳
夫： 39歳
羊水採取時の妊娠週数： 1回目 17週
2回目 19週
主訴・依頼理由： 高齢妊娠
既往歴・他： 痙攣・糖尿病の治療中、喫煙量多、
妊娠初期にレントゲン (右腕骨折)
核型分析結果： 47,XY,+18
経過・予後等： 中絶を希望、児の染色体検査は未実施

症例2

年齢・妊婦： 42歳
夫： 42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： 初妊娠
核型分析結果： 47,XXY (クラインフェルター症候群)、蛍光染色でYを確認
経過・予後等： 妊娠続行を希望したが、30週に死産 (胎盤早期剥離)、外表奇形等は不明、血液の染色体分析は不能

症例 3

年齢・妊婦： 27歳
夫： 28歳
羊水採取時の妊娠週数： 30週
主訴・依頼理由： 子宮内胎児発育遅延
既往歴・他： 初妊娠
核型分析結果： 69,XXY (3倍体)
経過・予後等： 33週死産，男，体重610g
外表奇形（耳介低位，小下顎症，右合指症，
変形足，尿道下裂）陰嚢形成不全，
児（血液）の染色体分析不能，
児の両親の染色体正常

症例 4

年齢・妊婦： 35歳
夫： 37歳
羊水採取時の妊娠週数： 16週
主訴・依頼理由： 夫 均衡転座染色体保因者
46,XX,t(7;11)(q21;p15)
既往歴・他： 自然流産2回，
前子 染色体t(7;11)の異常
核型分析結果： 46,XX,t(7;11)(q21;p15)
経過・予後等

症例 5

年齢・妊婦： 31歳
夫： 30歳
羊水採取時の妊娠週数： 19週
主訴・依頼理由： 本人 逆位染色体保因者
46,XX,inv(7)
既往歴・他： 実弟 46,XY,rec7
核型分析結果： 46,XY,inv(7)
経過・予後等 妊娠続行，40週で出産，児の血
液で染色体分析を行い，上記の核型を確認

このほか，結果として異常ではなかったが，分析過程で異常が疑われた症例があった。これは，非常に小さい染色体（G群の約1/2）があり，ターナー症候群あるいはYの部分欠損が疑われた。そのため，夫の染色体分析を行うとともに，遺伝子診断の一方法であるクロモゾームペインティング法を用い，分析を行った。その結果，Yには欠損がなく，しかも，夫も同様のYを持っていることが判明したため，small Yであることを確認した。

今年度の検査依頼（主訴）の内訳を表2に示した。検査依頼の理由の中で一番多いのは，高齢妊娠で，53件あり，受付件数の73%にあたる。その年齢は34歳から43歳で，年齢分布では，38歳が一番多くなっている（表3）。特に，38歳以上ではすべて高齢妊娠のための依頼であった。母親の加齢と共に異常の出生率が高くなることはよく知られているが，今年度はこのうち2件（症例1，2）に異常が見られた。検査開始から，今年度までに当所においてみられた染色体異常38件のうち，高齢妊娠を主訴とした異常件数は7件であり，その核型は全てトリソミー型の異常となっている。

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，6件依頼があり，1件異常が見られた（症例3）。

依頼理由で次に多いのは，以前に染色体異常児（両親由来ではない染色体異常）を出産した経験者で，4件検査依頼があった。前児の染色体異常の内訳は，ダウン症3件，13トリソミー1件であった。今回，これらに異常はみられなかった。

次に多いのは，親類にダウン症がいるという理由で，3件の依頼があった。検査の結果，異常は見られなかった。

同じく，均衡転座染色体保因者の依頼が3件あり，このうち2件に親と同じ染色体均衡転座がみられ，保因者であることが判明した（症例4，5）。

そのほか，羊水過多による依頼が2件，体外受精1件，配偶者が聾1件の依頼があり，異常は見られなかった。

羊水等の染色体検査には，母体細胞混入の危険性があること，染色体異常がすべて把握されるわ

表2. 羊水検査依頼の理由

(平成9年度)

理由(主訴)	受付件数	異常件数	異常核型
高齢妊娠 胎児異常の疑い	53 6	2 1	* ¹ 47,XY,+18、* ² 47,XXY
発育遅延 水頭症 胸部肥厚 胸腹水 四肢短縮	2 1 1 1 1	1	* ³ 69,XXY
染色体異常児出産既往	4		
ダウン症 13トリソミー	3 1		
親戚にダウン症	3		
弟 おじ おい	1 1 1		
転座保因者	3	2	
夫 7/11 妻 13/14 inv(7)	1 1 1	1 1	* ⁴ 46,XX,t(7;11)(q21;p15) * ⁵ 46,XY,inv(7)(p22;q34)
羊水過多 体外受精 夫が嚢	2 1 1		
計(件)	73	5	

*1~*5 症例1~症例5

けではないこと、異常を発見してもほとんどが治療困難であること、などの問題もあり、さらに倫理的、社会的な問題等も多く残されている。

昨年度までは、トリプルマーカー検査の普及により、かえって羊水検査の需要が多くなり、問い合わせ等が増加し、今後、問題となることが予想されていたが、最近、学会等でも検討されたため、今年度には、これらによる依頼はなかった。

最近の染色体分析では、遺伝子診断技術の急激な進歩に伴い、高度な分析を要求されるようになっている。当研究所においても、Fish法、クロモゾームペインティング法等の技術の導入を行い、

対応している。また、それに伴い、医師の適切な指導や遺伝相談も要求されている。今後、少子化傾向、高齢妊娠の増加等による羊水検査の需要の増大には、これらの結果を総合的に判断できる検査体制が必要と思われる。

表3. 母体年齢別の染色体検査依頼状況(羊水)

年齢(歳)	受付総数	高齢依頼数	異常数	異常の核型
22	3			
23				
24	2			
25	1			
26	1			
27	3		1	69,XXY
28	5			
29				
30				
31	2		1	46,XX,inv(7)*
32				
33				
34	3	3		
35	8	6	1	46,XX,t(7;11)*
36	4	4		
37	8	7		
38	15	15	1	47,XY,+18
39	6	6		
40	6	6		
41	2	2		
42	3	3	1	47,XXY
43	1	1		
計(件)	73	53	5	

* 親の染色体転座保因による異常

2. 自然流産胎児

今年度、受付件数は24件であった(表1)。そのうち分析可能であったのは18件である。分析不能の原因は細菌混入による培養不能であった。

平成9年度の検査依頼の理由および受付件数、検査結果等は表4に示した。今年度は分析可能18件中、9件(50%)に染色体異常がみられた。

検査理由で一番多かったのは、過去にも流早産をしたことがあるための13件で、そのうち10件が分析可能、その5件に異常があり、すべてがトリソミー型(+18:2件,+16,+13,+8)の異常であった。

次に多い理由は、体外受精、顕微授精後の流産で、7件の依頼中、6件分析可能で、4件に異常が見られた。これらの異常もすべてトリソミー型(+D:2件,+20,+G)の異常であった。そのほか、流産した胎児に奇形等の異常が見られた

ための2件(1件分析可能)、均衡転座型染色体保因者(8;15)(分析不能)、胞状奇胎で1件依頼(分析可能)があり、これらには異常は見られなかった。

依頼された流産胎児の週数は7週から32週までにわたっていたが、7~9週が多く、70%を占めていた。

母体年齢は、25歳から40歳にわたっていた(表5)。35歳以上の、いわゆる高齢妊娠者における流産胎児の分析結果は、分析可能6件中、5件が異常であり、34歳以下の12件中4件の異常に比べ、高い確率であることがわかり、症例数がまだ少ないとはいえ、一般に言われているように、高齢妊娠がハイリスクであることが窺える。

自然流産において報告されている染色体異常胎児の率は、研究者によりかなりの開きがあり、それは研究材料、集め方、研究方法による違いであ

表4. 流産胎児検査依頼の理由

(平成9年度)

理由(主訴)	受付件数	分析数	異常件数	異常核型
習慣性流産	13	10	5	47,XY,+18、47,XX,+18、47,XY,+16 47,XX,+13、47,XY,+8、
体外受精・顕微授精	7	6	4	47,XY,+D 2件、47,XY,+20 47,XY,+G
胎児奇形・異常 均衡転座保因者(8;15)	2 1	1 0		
胞状奇胎	1	1		

表5. 母体年齢別の染色体検査依頼状況(流産胎児)

年齢(歳)	受付総数	分析数	体外・顕微授精依頼数	異常数	異常の核型
25	1	1			
26	4	3	1	1	47,+D*
27	1	1	1		
28	1	1		1	47,XY,+16
29	4	4		2	47,XY,+8、47,XX,+13
30	1				
31					
32	3	1	1		
33	2	1			
34					
35	2	1	1**		
36	1	1	1	1	47,XY,+20*
37	1	1		1	47,XX,+18
38					
39					
40	3	3	2	3	47,XY,+8、47,XY,+D*、47,XY,+G*
計(件)	24	18	7	9	

* 体外受精または顕微授精を理由とした依頼 **分析不能

るが、妊娠初期に起こった流産胎児の染色体異常の割合が大きいことは一般に認められている。牧野[2]によると、一般に妊娠の15%は流産で終り、その流産の約80%は妊娠3か月以内に起こるとし、自然流産の約28%は染色体異常を持つと報告していることから、例数はまだ少ないが、当所においても、この傾向は、ほぼ一致していると考えられる。

今回、体外受精、顕微授精に染色体異常が高い

確率(4/6)で見られたが、高齢妊娠等との関係もあり、それが原因であるとは言えず、今後の調査検討が必要である。

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

平成10年10月1日

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

文 献

1. 本田幸子, 林美貴子, 北村 敬, (1997). 富山衛研年報. 20, 78-84.
2. 牧野佐二郎 (1979). 染色体, 人類の細胞遺伝, 医学書院, 東京。

オロロ（イヨシロオビアブ）の駆除試案

渡辺 護 品川保弘

Tentative Plans for Control in Ororo-tabanidfly

Mamoru WATANABE and Yasuhiro SHINAGAWA

要 旨 1995年からオロロの駆除を目的とした基礎的研究を行って来た。1998年からは実践的な駆除研究を開始する計画であり、過去3年間の研究結果から、現時点での駆除の方向を考察し、駆除試案としてまとめてみた。駆除試案の前提として、環境の攪乱を招く様な、殺虫剤の広域・無標的な散布は行わない。また、実際にすぐに、駆除対策が取れる方法を重点的に考察した。

その結果、発生数を激減させ、吸血被害を少なくする根本的な駆除方法は現時点では見当たらない。そこで、駆除の方針としては、吸血飛来数を減らす、もしくは吸血をされない様にして、吸血被害を無くする方法が検討された。まず、3年間の実験結果から、1. オロロトラップで誘殺する。2. 殺虫剤の展着ネットで飛来をブロックする。3. オロロの大量飛来時に殺虫剤を直接散布する。などで、吸血飛来数を減らすことができると考えられ、さらに、4. 忌避剤の利用で、吸血を阻止する。これらの方法を組み合わせることにより、吸血被害を抑えることが可能であると判断された。

富山県の山間地では、オロロと呼ばれる吸血昆虫が広く分布し、地域住民のみならず、近年のアウトドア志向の高まりもあり、観光客、キャンパー、釣り人などに多大な迷惑を与えている。県では利賀村などからの強い要望で、オロロの駆除費用（トラップ購入費など）の一部負担を1995年から始めると共に、より効果的な駆除法の確立を目的とした調査・研究を開始した。

本報告は、調査・研究を主に担当した著者らが3年間の結果をまとめつつ、実践的駆除法を提案するものである。

I. 「オロロ」の名前の由来と形態

北陸3県での通称名で、和名はイヨシロオビア

ブである (*Hirosia iyoensis* (Shiraki))。また、本種の他に、アカオロロと呼ばれる種類がいる。これはキンイロアブ (*H. sapporoensis* (Shiraki)) を指す。オロロが発生する地域には、他にはヤマトアブ (*Tabanus rufidens*)、シロフアブ (*T. trigeminus*)、アカウシアブ (*T. chrysurus*) などが混棲するが、それらは単に「アブ」と呼ばれ、明らかに「オロロ」と区別される。

オロロの名前は、アイヌ語から由来していると考えられる。つまり、オロロとはアイヌ語で、「体の周りなどをクルクル回る」動作を指すことを云い（富山大学：浅井教授私信）、イヨシロオビアブの吸血動作を如実に表わしている。かつて、

日本列島を南下していたアイヌ民族が、イヨシロオビアブに襲われ、オロロと云う言葉が残ったものと想像される。ちなみに、アイヌ語でアブは「シラウ、ラブチュプケ」と呼ばれている[1]。

オロロは、体長18mm程の小型の黒色アブで、白い小楯板と腹部背板の白い横縞が目立つアブである。北海道から九州に分布するが、東北、北陸で発生が顕著で、吸血被害もこの地域に多い。富山県におけるオロロの被害地域は、河川と500mの等高線が交わる地点とほぼ一致する標高300～600mの渓流域である[2]。さらに、発生が顕著な場所は、溪流に広い川原が付随しているU字谷で、溪谷の斜面は木が豊富で、しかも川岸に背丈10～20mの広葉樹が繁茂（河畔林）している所である。

II. オロロの被害実態と生理・生態の概要

i. 被害実態

オロロによる被害は、多数個体による吸血襲来であるが、実際に吸血されなくても、その襲来数の多さには多少なりとも恐怖を感じる。とくに、夏休みの子供連れのドライブで、山間地の清冽な地域で水遊びをしようと車を止めて、外に出た途端に多数のオロロに襲われ、刺咬される場合が多い。咬まれた瞬間は痛く、すぐに払い除け、吸血される事は稀であるが、咬まれた所から血が流れ出る。咬んだ瞬間に血液反凝固物質が注入されるためである。この物質は痒みを引き起こす原因にもなる。不幸にもオロロに十分に吸血されると、腫れは1週間ほど続き、激しい痒みも持続する。

被害は山林従事者、治山治水、電源開発工事従事者、キャンパー、ハイカー、溪流釣りの人達などである。最近では、とくにアウトドア志向の家族キャンパーに被害が多い傾向が見られる。

ii. オロロの生理・生態の特徴

オロロの生理の最大の特徴は、1回目の産卵は吸血しないでいい、2回目以降から吸血が必要になる「無吸血産卵性」である[3]。このことが、吸血源が少ないと思われる山間地で、大量発生を繰り返す主因と考えられる。第2の特徴としては、

幼虫の生息地が山林林床の腐葉土、もしくは朽ち木や岩石に生えた蘚苔類の中で、ミミズや昆虫などの小動物の体液を吸って発育することで、他の多くのアブの発生源が水辺であることとは異なっている[4]。産卵場所は山林林床の低植物の葉裏で、100個程の集卵として1個ずつ産み付ける[5]。雌成虫の1回の産卵数は飼育観察から300個程である[3]。卵期間は約1週間、幼虫期間は1年もしくは2年、蛹期間は約1週間である。野外での幼虫・蛹の採集成績からは、羽化は7月中旬に始まると推定され、羽化後まもなく羽化場所の林内で交尾を行い、雌成虫はそれから10日後に、先に述べた様に林内で産卵する。そして、2、3日後に吸血欲が高まり、林内から河川流域に出て、吸血対象動物が現れるのを待つと考えられる。実際には交尾や産卵行動がまだ観察されていないので、林内での羽化から河川流域での激しい吸血活動までの約10日間のオロロの生理変化と、行動は不明のままであり重要な研究課題として残っている。第3の特質としては、日没後の薄暮に活発な吸血活動があることで、他のアブ類が日中に吸血活動が活発であるのとは異なっている[2]。

季節的な発生は、7月下旬から吸血飛来が始まり、8月中旬に最大数に達し、9月下旬に終息する比較的活動期間が短い昆虫である。

本種による吸血襲来被害のほとんどが前述の様に、渓流域で起こっている。しかしながら、本種の幼虫は山林の比較的広い範囲に分布している事が知られている[6]。そこで、吸血被害が本当に渓流域のみで起こっているのか？を知る目的でトラップを1地域4個用いて1996、97年に調べたところ、場所によっては溪流に近いところよりも、少し離れたところで最も多くのオロロが採れる場合が観察された。そのような場合は、渓流域にオロロの休息・待ち伏せ場所になる河畔林が無く、離れた場所に比較的背の高い林が繁茂していることが明らかになって来た[7]。

III. オロロの駆除に関する実験結果

i. オロロ誘引トラップの開発

オロロは二酸化炭素に強く誘引されるので、ト

表1. トラップの形状によるオロロ誘引数の相違^{1, 2}

調査地・調査回数	据置型トラップ ³				機動型トラップ ⁴
	95型	96-1型	96-2型	96-3型	96型長丈
利賀村百瀬 (5)	2,057	1,510	—	—	—
北島 (5)	1,203	980	—	—	—
中村 (5)	—	—	—	—	1,538
福光町刀利 (5)	4,127	4,939	—	—	3,924
中河内 (1)	267	189	—	—	—
大山町亀谷 (3)	—	—	533	499	782
上市町中村 (3)	—	—	180	138	114

¹ 調査は1996年7月24日から9月8日に行った。設置時間は毎回ほぼ15時30分～20時である。誘引数はトラップ1台当りの調査地点における総数で示した。

² トラップの形状は図1に示した通りである。

³ 誘引源として、二酸化炭素ガスを1,500ml/min. 放出した。

⁴ 形状は据置型96-2型と同一であるが、傘の部分が金属では無くテント地造られている。誘引源として、ドライアイスを実約2 kg使い切るようにした。

表2. 各種トラップによるオロロの誘引数の相違^{1, 2}

調査地・調査回数	据置型 ³			機動型 ⁴	簡易型 ⁵		
	95型	96型	97型	96型長丈	多目的	家型	蚊帳型
利賀村百瀬 (8)	519	—	—	—	—	665	—
北島 (8)	1,182	—	—	—	228	—	—
福光中河内 (8)	9,948	—	—	—	1,366	1,025	—
大山町亀谷 (2)	974	—	—	—	108	353	—
利賀村百瀬 (8)	572	825	—	199	26	—	34
北島 (8)	660	541	—	—	—	—	—
福光町刀利 (5)	1,581	2,214	—	1,440	30	—	41
大山町亀谷 (3)	—	136	—	127	—	—	—
上市町中村 (3)	—	355	—	557	—	—	—
利賀村百瀬 (11)	83	305	—	307	—	—	—
北島 (11)	—	686	567	—	—	—	—
中村 (9)	—	—	—	307	—	—	—
福光中河内 (11)	—	1,752	1,525	2,284	—	—	—
大山町亀谷 (5)	—	484	193	—	—	—	—
本宮 (4)	—	—	—	401	—	—	—

¹ 調査は各年とも7月下旬から9月中・下旬に行った。設置時間は毎回ほぼ15時30分～20時である。誘引数はトラップ1台1日当りの最大誘引数で示した。

² トラップの形状は図1, 2に示したが、据置型97型は96-2型の傘角度を55度に変更したものである。

³ 誘引源として、二酸化炭素ガスを1,500ml/min. 放出した。

^{4, 5} 誘引源として、ドライアイスを実約2 kg使い切るようにした。

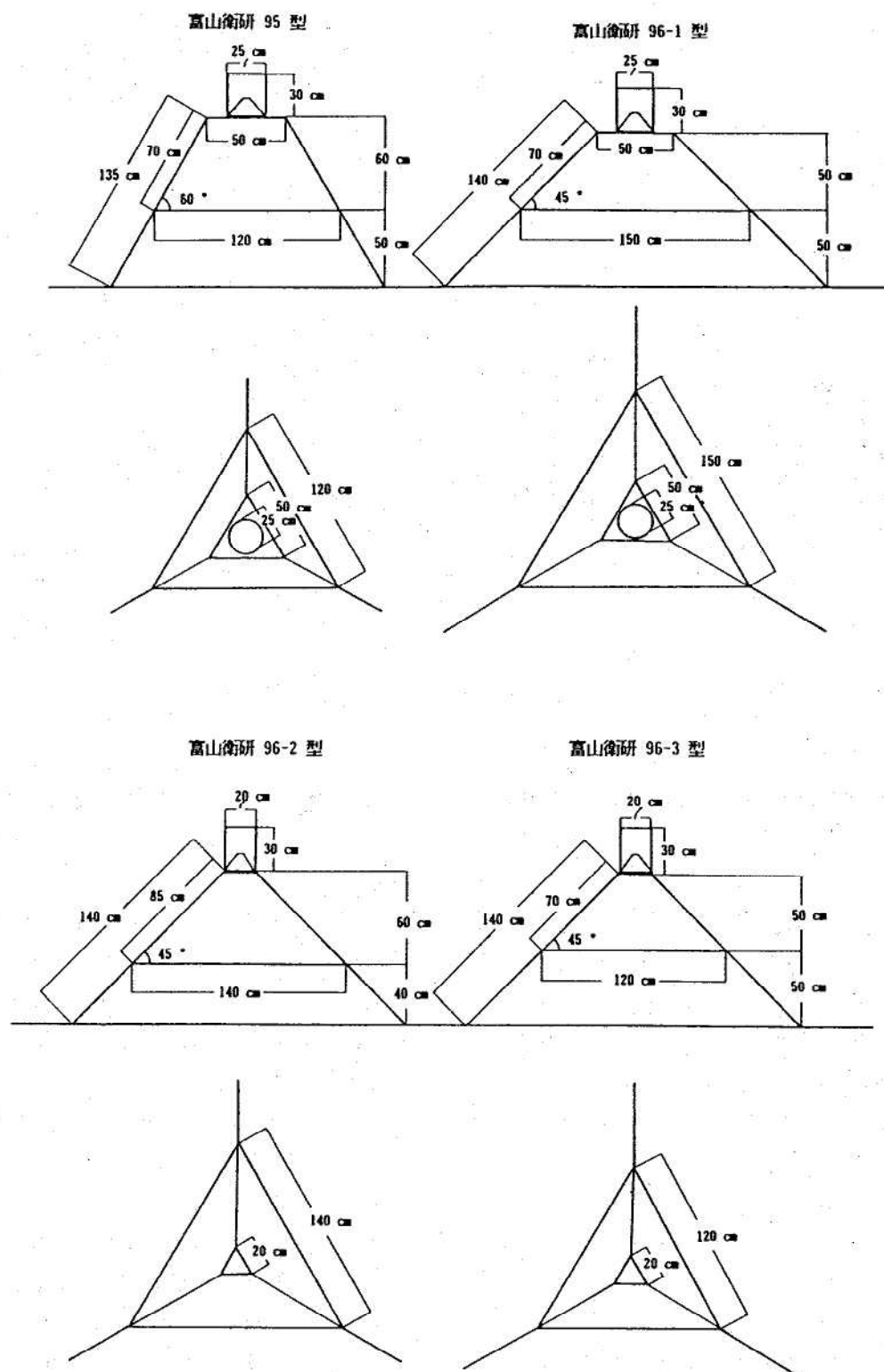


図1. オロロキャノピトラップの形状
(上段に正面, 下段に平面図を示す)

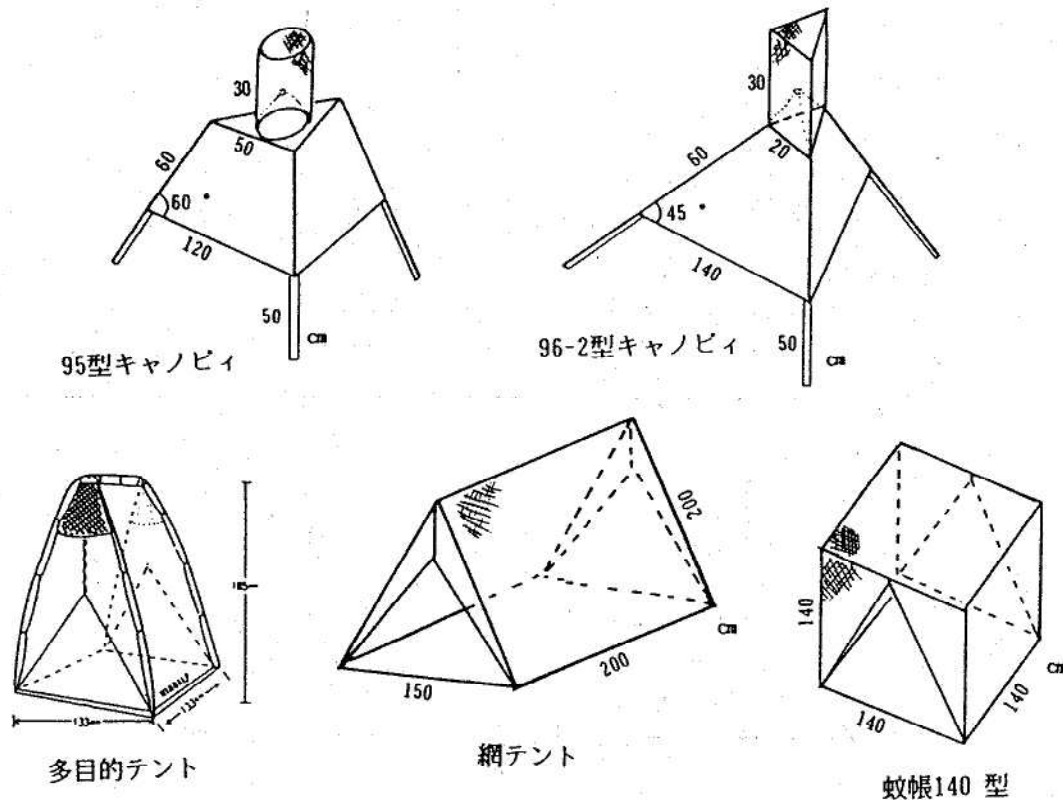


図2. 各オロトラップの形状

ラップを用いてヒトに吸血飛来しない様に集めて殺す方法であり、使い易く安価である事、多数のオロが捕獲出来ることを考慮して、以前の調査結果〔8〕を基に三角錐型キャノピトラップを試作した（図1）。1995年から1997年まで、脚の長さ、傘の丈、傘の角度などを変えて5種類の型を作って試験した結果、トラップの形状の違いによる捕獲数の多寡は不明瞭であった（表1）。また、簡易型として多目的テントの利用、網テントトラップおよび蚊帳トラップの試作を行い、同時に試験したが（図2）、キャノピトラップが最も捕獲成績が良いことが確認された（表2）。

ii. オロの殺虫剤に対する感受性

試験をする殺虫剤の種類としては、人畜毒性が低いとされるピレスロイド系のみを用いた。実験は直接噴霧法と、残渣接触法を行った。表3に、1996年8月14日福光町刀利で行った成績を示した。最も仰転速度が速かったのは、除虫菊エキスで、次いでフタルスリン、プラレトリンの順であった。

表4には、アレスリンを加えての試験結果を示したが、この場合も、最も仰転速度が速かったのは、除虫菊エキスで、次いでアレスリン、フタルスリン、プラレトリンの順であった。1997年にも試験を継続し、同じ様な成績を得た（表5）。残渣接触法でも、除虫菊エキスが最も仰転速度が速い傾向がみられたが（表6）、プラレトリンも優れた結果を示した（表7）。

以上のことから、直接噴霧、残渣接触でも除虫菊エキスが仰転効果（ノックダウン効果）に最も優れている事が確認された。しかし、天然ピレスロイドの除虫菊エキスの欠点としては、殺虫力が弱く、一度仰転した個体が蘇生することが広く知られており、それらの点を考慮すると、合成ピレスロイドのプラレトリンが殺虫力の確保の点からも、最もオロの駆除薬として相応しいと判断される。なお、1996年に6mm目の防風ネットにシフェノトリンを 0.5g/m^2 展着させ、露天風呂や保育所に張ったところ、オロの飛来侵入を抑えることが確かめられた〔9, 10〕。

表3. ピレスロイド剤のオロロに対する直接噴霧の効果

ピレスロイド・濃度	供試数	個体別の仰転までの時間(秒)		
		最短	最長	平均
除虫菊エキス 0.04 %	21	5	9	7.0
フタルスリン 0.2	20	8	18	12.2
ブラレトリン 0.2	20	8	22	14.2
アレスリン 0.2	20	30	44	35.5
シフェノトリン 0.2	20	44	80	58.5
フェノトリン 0.2	21	55	77	66.1
ベルメトリン 0.2	20	75	111	89.9

1996年8月14日(28.3℃)に福光町刀利で行った。

表4. ピレスロイド剤のオロロに対する直接噴霧の効果

ピレスロイド・濃度	供試数	個体別の仰転までの時間(秒)		
		最短	最長	平均
除虫菊エキス 0.04 %	10	4	6	4.3
ピレトリン 0.05	15	5	11	8.1
フタルスリン 0.2	12	6	17	10.9
ブラレトリン 0.2	12	6	18	11.3
シフェノトリン 0.2	12	53	101	79.8
除虫菊エキス 0.04 %	12	4	7	5.6
ピレトリン 0.05	15	6	11	8.4
ブラレトリン 0.2	15	8	14	10.3
フェノトリン 0.2	15	55	76	63.7

上段は1996年9月4日(23.0℃)に利賀村百瀬で行い、下段は1996年9月5日(26.5℃)に福光町刀利で行った。

表5. ピレスロイド剤のオロロに対する直接噴霧の効果

ピレスロイド・濃度	供試数	個体別の仰転までの時間(秒)		
		最短	最長	平均
除虫菊エキス 0.04 %	25	4	8	5.4
ピレトリン 0.05	25	5	12	8.2
ブラレトリン 0.2	25	8	15	11.0
フタルスリン 0.2	25	8	20	13.0
フェノトリン 0.2	25	51	80	65.4
シフェノトリン 0.2	25	56	105	77.4
ベルメトリン 0.2	25	70	108	91.5

1997年8月8日(26.3℃)に福光町中河内で行った。

表6. ピレスロイド剤のオロロに対する濾紙継続接触の効果

ピレスロイド・濃度	供試数	接触経過時間ごとの仰転率 (%)					KT ₅₀ 値
		10分	15分	20分	30分	45分	
除虫菊エキス 0.1 %	41	97.6	100				6' 40"
ブラレトリン 0.5	39	89.7	100				8' 10"
シフェノトリン 0.5	40	85.0	100				8' 50"
ベルメトリン 0.5	40	35.0	70.0	95.0	100		11' 20"
フェノトリン 0.5	40	40.0	65.0	87.5	100		11' 25"
フタルスリン 0.5	40	7.5	47.5	82.5	97.5	100	15' 30"
アレスリン 0.5	40	2.5	45.0	65.0	75.0	97.5	18' 30"
除虫菊エキス 0.1	30	46.7	96.7	100			10' 15"
ピレトリン 0.3	30	33.3	96.7	100			10' 50"
ブラレトリン 0.5	21	57.1	95.2	100			9' 45"
シフェノトリン 0.5	30	33.3	93.3	100			11' 15"
フタルスリン 0.5	19	10.5	36.8	68.4	84.2	100	17' 00"

上段は1996年8月13日(24.5℃)に福光町刀利で行い、下段は1996年9月4日利賀村百瀬(23.0℃)で行った。

表7. ピレスロイド剤のオロロに対する網袋継続接触の効果

ピレスロイド・濃度	供試数	接触経過時間ごとの仰転率 (%)					KT ₅₀ 値
		10分	15分	20分	30分	45分	
除虫菊エキス 0.1 %	51	47.1	92.2	100			10' 30"
ピレトリン 0.3	50	34.0	96.0	100			10' 50"
ブラレトリン 0.5	50	50.0	94.0	100			10' 15"
シフェノトリン 0.5	51	34.7	91.8	100			11' 00"
ベルメトリン 0.5	50	36.0	72.0	94.0	100		11' 45"
フェノトリン 0.5	50	38.0	64.0	88.0	100		12' 00"
フタルスリン 0.5	49	9.8	35.3	66.7	82.4	100	16' 45"

1997年8月14日(22.5℃)に福光町中河内で行った。

表8. オロロに対する忌避剤の効果

忌避剤	オロロ飛来静止数 ¹		忌避指数 ²
	薬剤噴霧	水噴霧(対照)	
deet 10% 17ゾル ³	22	271	91.9
deet 5% MC ⁴	4	24	83.3
deet 10% MC 2倍 ⁵	36	152	76.3
deet 10% MC ⁶	15	152	90.1

¹ 飛来・静止して吸血動作を示したオロロ数。

² 忌避指数 = {1 - (試験区虫数 / 対照区虫数)} × 100。

³ 1996年8月14日、9月4日、9月5日、毎回18時～19時に実験の合計。
deet10% 含有大日本除虫菊(株)市販の「虫よけキンチョール」。
足首から大腿までズボンの上から軽く湿る程度に薬剤を均一に噴霧。

⁴ 1996年9月8日18時～19時に実験。
マイクロカプセル deet 5%含富士化成(株)市販の「虫ハイレン」。

⁵ 1997年8月18日18時～19時に実験、作業服全体噴霧。
マイクロカプセル deet10%含有富士化成(株)市販の「虫ハイレンMC」の
2倍水溶液。

⁶ 同上マイクロカプセル deet10%原液噴霧。

iii. オロロに対する忌避剤の効果

吸血昆虫に優れた忌避効果を示すdeetを用いてオロロに対する効果を試験した。市販の10%含有エアゾル剤と、5%もしくは10%含有マイクロカプセル剤を用いたところ、10%含有剤で顕著な忌避効果が確認された(表8)。5%でも高い忌避効果がみられたが、10%の方が現実性が高いと判断される。しかし、オロロの大量飛来の場合には、この方法だけでは吸血被害を防ぐ事は難しい。

IV. オロロの駆除試案

既に述べて来た様に、オロロの発生源は山林の林床であり、殺虫剤の広域散布や森林伐採などの発生源対策は、生態系に及ぼす影響が懸念され行うべきではない。将来的には交尾攪乱などの産卵阻止や、天敵利用による“発生数対策”の道は開かれている。が、現時点では、大幅な個体数の減少法は無い様に思われる。そこで、協役的な駆除法である“被害軽減法”が主役になると思われる。オロロの場合、“吸血阻止法”がそれに当てはまると考えられ、“被害遮断”が可能になれば、この方法がオロロの“吸血被害”を無くすると云う意味からは、“本質的な駆除法”と言えるのではないだろうか？

そこで、前述の実験結果から、オロロの駆除を考えてみると；①トラップ誘殺法：オロロは二酸化炭素に強く誘引されるので、トラップを用いてヒトに吸血飛来しない様に集めて殺す。とくに、吸血被害が多発する16時～20時に設置すると大量のオロロが捕獲される。②殺虫剤限定使用法：オロロの突発的な大量襲来時に、直接殺虫剤を虫体に噴霧する。さらに、イベント広場、野外劇場、露天風呂などを、殺虫剤を展着させた網などで囲う。殺虫剤の種類としては、人畜毒性が低いとされるピレスロイド剤のプラレトリンが有力候補といえる。③忌避剤の利用：Deetが10%以上含まれる製品を、衣服の上から、もしくは体表に直接噴霧する。

以上の方法を、被害の程度に合わせ、組み合わせて対策を立てることにより、オロロの吸血被害はかなりの高率で防ぐ事が出来ると考えられる。

例えば、飛来数が少ない地区では、自分自身が忌避剤を塗布する事のみで、吸血被害を防ぐことが出来るし、また、飛来数が大量の地区では、トラップで誘殺し、さらに、殺虫剤の直接噴霧・煙霧を行う。忌避剤を更に用いれば完璧であろう。電源開発や治山治水のダム建設などでは、トラップの利用と、忌避剤の利用を併用すれば被害を軽減することが出来ると思われる。

1998年から、トラップの面積当りの配置数、配置方法など実証研究に入り、手直しを進めながら、オロロの駆除法(吸血阻止法)を確立したい。

謝 辞

一連の調査・研究に多大なご協力を頂いた利賀村住民福祉課の各位、国際キャンプ場管理棟の各位に深く感謝致します。また、資材および薬品のご提供を頂いた、大日本除虫菊(株)、住友化学(株)、富士化成(株)、有恒薬品工業(株)に対し、記して感謝の意を表します。

引用文献

1. 井上 壽. (1953). 新昆虫, 6(2), 6-9.
2. 渡辺 護. (1989). 生活と環境, 34(5), 33-38.
3. 渡辺 護・上村 清. (1971). 衛生動物, 22(3), 170-176.
4. 早川博文. (1971). けむり, 9, 7-16.
5. 早川博文. (1980). インセクトリウム, 17(10), 4-10.
6. 渡辺 護・荒川 良・山口勝幸. (1990). 衛生動物, 41(3), 275-277.
7. 渡辺 護. (1997). アブ研究, 20, 8-16.
8. 上村清・渡辺 護・井上民二. (1972). 衛生動物, 23(1), 1-9.
9. 渡辺 護. (1997). 生活と環境, 42(6), 80-86.
10. 渡辺 護・品川保弘. (1997). ペストロジー学会誌, 12(1), 14-20.

日本脳炎流行予測調査

渡辺 護 長谷川澄代 品川保弘
上村 清¹ 田中桂子² 浦田祐子³
川越久美子⁴ 藤崎啓子⁵ 広明秀一⁶

Epidemiological Surveillance of Japanese
Encephalitis in Toyama Prefecture in 1997

Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Yasuhiro
SHINAGAWA, Kiyoshi KAMIMURA¹, Keiko TANAKA²
Yuko URATA³ Kumiko KAWAGOE⁴
and Shuichi HIROAKI⁶

要 旨 日本脳炎の発生および流行を監視する目的で、富山県内6か所の畜舎定点で、6月から9月まで、コガタアカイエカの捕集調査を行うと共に、食肉総合センターに搬入される豚のHI抗体保有調査を行った。

蚊の捕集数は3定点で昨年よりも減少したが、3定点では昨年よりも明瞭に増加した。発消長は各定点で異なっていたが、6定点の内4定点で8月上中旬に捕集数が最高になった。とくに、友坂、福野と小矢部で顕著であった。このことが今年度の蚊の発生数が、県全体で僅かであるが増加した理由と考えられた。

豚血清の日本脳炎ウイルスHI抗体調査では、8月19日から抗体保有豚がみられる様になり、調査終了時の9月30日まで抗体保有豚がみられた。しかも、9月9日には160倍、9月30日には320倍の高い抗体価が観察された。また、2ME感受性は9月9日から認められ、それは調査終了時の9月30日までみられた。

以上のことが原因で、本年度は1982年以来の日本脳炎患者の発生が氷見市でみられたと考えられた。

富山県における近年の日本脳炎真性患者の発生は、1982年の1例のみであり、その1982年には、コガタアカイエカに非常に強度な殺虫剤抵抗性の発現が認められた[1, 2]。それが主因で、近年はコガタアカイエカ発生量も多い傾向にある[3~6]。そして、コガタアカイエカの発生量が

7月から多くなる年には、日本脳炎ウイルスの侵入の時期が早く、しかも拡大も早いことが明らかになった[5]。このことは1960年代のように、ウイルスの侵入が7月中旬に始まり、コガタアカイエカ⇄豚によって一気に拡大が引き起こされると、日本脳炎の流行が起こる可能性が示唆される。

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

そこで、その流行を未然に防ぐ目的で、1996年に引き続き日本脳炎を媒介するコガタアカイエカ、および日脳ウイルスの動態を、6月から9月まで監視してきたので報告する。

I. 蚊の発生調査

1. 調査地と調査方法

蚊の捕集定点は表1に示す通りであるが、前年まで調査を行ったいた氷見が畜舎の都合で、調査が中止されたが、他の定点は前年と同一である。調査期間、調査方法ともに前年までと同じで、富山月岡、婦中友坂の2定点は連日捕集を、他の4

定点は週1回のライトトラップ（東京エース社製）による捕集調査を行った[3, 4]。

2. 調査結果と考察

表2に各調査定点別の毎週水曜日に行った捕集成績（水曜日が休日の場合はその前後日）を、図1に定点別年間捕集数の過去28年間の変動を示した。各定点とも調査開始の6月中旬から前年に比べ発生数は多く、7月はさらに顕著になった。しかし、婦中友坂と富山月岡、さらに上市では8月の捕集数が前年よりも少なくなり、それが原因で年間捕集数も少なくなったと考えられる。一方、黒部、福野、小矢部では前年に比べ明瞭に多くなり、前年の3.47倍から5.88倍になった。ただ、富

表1. 1997年度（平成9年度）調査地点（トラップ設置畜舎）の概要

番号	地点名	類別	地点の概要
1	富山月岡	牛舎	富山市大井、合田初男所有。乳牛20頭。子牛6頭。平野部水田地帯、南西約1km離れた所に他牛舎あり。その南側に熊野川が流れ、対岸は水田、丘陵に連なる。
2	婦中友坂	豚舎	婦中町友坂、数井白三郎所有。親豚14頭、肥育豚40頭。丘陵部縁の水田地帯、集落の外れ。南東500mに他牛舎。丘陵の雑木林、竹林および杉植林地まで約100m。
3	黒部	牛舎	黒部市植木、松村彰所有。乳牛6頭。平野部水田地帯、人家点在。近くに他畜舎なし。西2.5kmに海岸、北2.5kmに黒部川。
4	上市	牛舎	上市町湯上野、稲葉栄伸所有。乳牛48頭。和牛8頭。丘陵部、背面雑木林および杉植林地。西約150mに他牛舎、鶏舎、厩あり。北400mに上市川。
5	福野	牛舎	福野町二日町、河合精一所有。乳牛26頭。平野部水田地帯、人家点在。近くに他畜舎なし。西400mに旅川（小矢部川支流）。
6	小矢部	牛舎	小矢部市金屋本江、西田芳夫所有。乳牛50頭。平野部水田地帯、人家点在。近くに他畜舎なし。西500mに宮川、東600mに乱馬川（共に小矢部川支流）。

表2-1. 6 定点(畜舎)における蚊雌成虫の捕集数(1997年度, H. 9)

定点 種類 調査日	1. 富山月岡					2. 婦中友坂				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 18	0	159	1	0	160	0	93	0	0	93
25	0	1,600	101	0	1,701	0	776	0	0	776
7. 2	0	2,142	21	0	2,163	0	2,621	0	0	2,621
9	0	1,487	91	0	1,578	0	777	0	0	777
16	0	4,167	84	0	4,251	0	1,722	0	0	1,722
23	0	1,897	121	0	2,018	0	3,803	0	0	3,803
30	0	961	5	0	966	0	1,851	0	0	1,851
8. 6	0	3,183	12	0	3,195	0	8,396	0	0	8,396
13	0	1,323	0	0	1,323	0	1,422	0	0	1,422
20	0	876	0	0	876	0	1,381	0	0	1,381
27	0	528	0	0	528	0	1,165	0	0	1,165
9. 3	0	2,250	6	0	2,256	0	2,329	0	0	2,329
10	0	911	0	0	911	0	1,260	0	0	1,260
17	0	1,575	0	0	1,575	0	1,129	0	0	1,129
24	0	684	0	0	684	0	152	0	0	152
計	0	23,743	442	0	24,185	0	28,877	0	0	28,877

定点 種類 調査日	3. 黒部					4. 上市				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 18	0	18	0	0	18	0	3	0	0	3
25	0	23	0	0	23	0	16	0	0	16
7. 2	0	85	0	0	85	0	38	0	0	38
9	0	235	0	0	235	0	34	0	0	34
16	0	615	0	0	615	2	143	0	0	145
23	0	510	1	0	511	0	85	0	0	85
30	0	418	0	0	418	0	51	0	0	51
8. 6	0	791	0	0	791	0	220	0	0	220
13	0	1,444	0	0	1,444	0	130	0	0	130
20	0	462	0	0	462	0	107	0	0	107
27	0	722	0	0	722	1	46	0	0	47
9. 3	0	1,021	0	0	1,021	1	196	0	0	197
10	0	243	0	0	243	0	57	0	0	57
17	0	437	0	0	437	2	292	0	0	294
24	0	30	0	0	30	0	48	0	0	48
計	0	7,054	1	0	7,055	6	1,466	0	0	1,472

注 1. 蚊の調査は6月中旬から9月下旬まで、毎週水曜日にライトトラップで捕獲することにより行った。

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

表2-2. 6定点(畜舎)における蚊雌成虫の捕集数(1997年度, H. 9)

定点 種類 調査日	5. 福 野					6. 小 矢 部				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 18	0	69	5	0	74	0	127	2	0	129
25	0	329	30	0	359	0	566	24	0	590
7. 2	5	673	31	0	709	4	1,744	23	0	1,771
9	0	1,435	4	0	1,439	3	2,252	2	0	2,257
16	1	1,435	5	0	1,441	2	873	5	0	880
23	0	2,727	13	0	2,740	0	4,095	7	0	4,102
30	0	1,099	5	0	1,104	0	944	7	0	951
8. 6	0	9,105	8	0	9,113	0	14,219	6	0	14,225
13	0	2,648	6	0	2,654	0	1,461	2	0	1,463
20	0	2,523	6	0	2,529	0	1,294	3	0	1,297
27	0	2,272	5	0	2,277	0	969	0	0	969
9. 3	0	1,581	8	0	1,589	0	1,982	0	0	1,982
10	0	2,260	14	0	2,274	0	5,795	0	0	5,795
17	0	5,541	3	0	5,544	0	7,295	2	0	7,297
24	0	983	4	0	987	0	1,634	0	0	1,634
計	6	34,680	147	0	34,833	9	45,250	83	0	45,342

注 1. 蚊の調査は6月中旬から9月下旬まで、毎週水曜日にライトトラップで捕獲することにより行った。

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

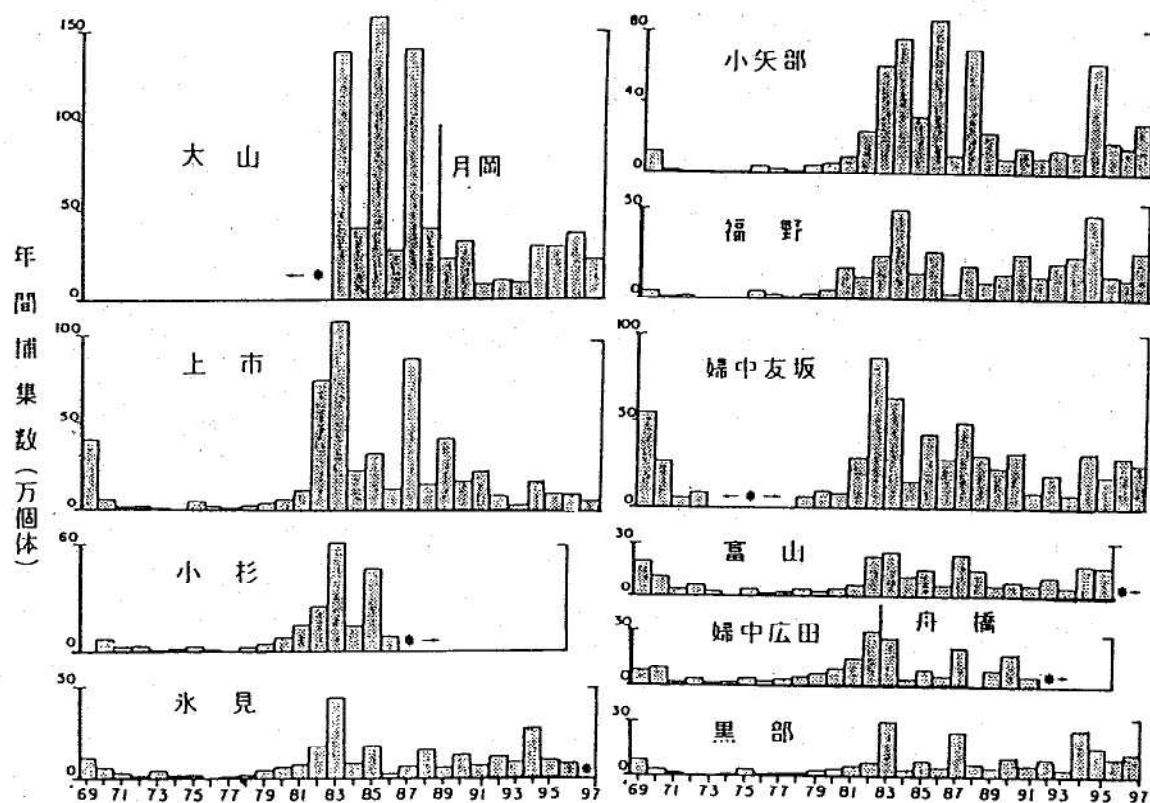


図1. 富山県の各調査定点におけるコガタアカイエカ捕集数の年変動)

(大山, 月岡, 婦中友坂, 婦中広田の各定点は6~9月の毎日, その他の定点は週1回の調査を行った。ただし、捕集数は全地点とも毎日調査したとして示した。*印は調査を行っていないことを示す。)

表3-1. 2定点におけるライト・トラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績(1997年6月)

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎					婦中友坂豚舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 1	-	-	-	-	-	0	20	0	0	20
2	0	21	5	0	26	0	8	0	0	8
3	0	122	4	0	126	0	39	0	0	39
4	0	142	7	0	149	0	26	0	0	26
5	0	124	7	0	131	0	35	0	0	35
6	0	75	4	0	79	0	20	0	0	20
7	0	114	4	0	118	0	13	0	0	13
8	0	140	17	0	157	0	9	0	0	9
9	0	117	20	0	137	0	24	0	0	24
10	0	86	5	0	91	0	39	0	0	39
11	0	97	15	0	112	0	29	0	0	29
12	0	113	13	0	126	0	55	0	0	55
13	0	99	4	0	103	0	46	0	0	46
14	0	215	5	0	220	0	44	0	0	44
15	0	235	5	0	240	0	80	0	0	80
16	0	142	54	0	196	0	106	0	0	106
17	0	88	4	0	92	0	163	0	0	163
18	0	159	1	0	160	0	93	0	0	93
19	0	783	56	0	839	0	87	0	0	87
20	0	1	1	0	2	0	117	0	0	117
21	0	483	52	0	535	0	226	0	0	226
22	0	712	40	0	752	0	69	0	0	69
23	0	1,573	90	0	1,663	0	192	0	0	192
24	0	1,449	18	0	1,467	0	392	0	0	392
25	0	1,600	101	0	1,701	0	776	0	0	776
26	0	2,516	59	0	2,575	0	451	0	0	451
27	0	4,638	18	0	4,656	0	493	0	0	493
28	0	52	6	0	58	0	740	0	0	740
29	0	602	76	0	678	0	1,320	0	0	1,320
30	0	1,680	21	0	1,701	0	102	0	0	102
計	0	18,178	712	0	18,890	0	5,814	0	0	5,814

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

平成10年10月1日

表3-2. 2定点におけるライト・トラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (1997年7月)

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎					婦中友坂豚舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
7. 1	0	790	11	0	801	0	1,049	0	0	1,049
2	0	2,142	21	0	2,163	0	2,621	0	0	2,621
3	0	3,729	78	0	3,807	0	2,320	0	0	2,320
4	0	2,422	18	0	2,440	0	962	0	0	962
5	0	2,541	21	0	2,562	0	2,333	0	0	2,333
6	0	420	5	0	425	0	813	0	0	813
7	0	37	3	0	40	0	619	0	0	619
8	2	2,816	93	0	2,911	0	1,830	0	0	1,830
9	0	1,487	91	0	1,578	0	777	0	0	777
10	0	1,149	93	0	1,242	0	960	0	0	960
11	0	906	59	0	965	0	858	0	0	858
12	0	1,988	33	0	2,021	0	672	0	0	672
13	1	2,105	40	2	2,148	0	672	0	0	672
14	0	2,340	168	1	2,509	0	540	0	0	540
15	0	2,937	60	0	2,997	0	1,318	0	0	1,318
16	0	4,167	84	0	4,251	0	1,722	0	0	1,722
17	0	875	98	0	973	0	1,684	0	0	1,684
18	0	1,046	33	0	1,079	0	1,943	0	0	1,943
19	0	1,770	87	0	1,857	0	423	0	0	423
20	x	x	x	x	x	0	1,159	0	0	1,159
21	0	3,531	264	0	3,795	0	2,045	0	0	2,045
22	0	3,525	225	0	3,750	0	3,594	0	0	3,594
23	0	1,897	121	0	2,018	0	3,803	0	0	3,803
24	0	5,634	345	0	5,979	0	5,340	0	0	5,340
25	x	x	x	x	x	0	5,223	0	0	5,223
26	0	472	3	0	475	0	1,951	0	0	1,951
27	0	4,983	84	0	5,067	0	4,947	0	0	4,947
28	0	1,989	42	0	2,031	0	2,087	0	0	2,087
29	0	3,114	45	0	3,159	0	2,346	0	0	2,346
30	0	961	5	0	966	0	1,851	0	0	1,851
31	0	4,777	51	0	4,828	0	1,764	0	0	1,764
計	3	66,550	2,281	3	68,837	0	60,226	0	0	60,226

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

2. x 印はトラップなどの故障による欠測を示す。

表3-3. 2定点におけるライト・トラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績(1997年8月)

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎					婦中友坂豚舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
8. 1	0	507	6	0	513	0	903	0	0	903
2	0	7	0	0	7	0	2,277	0	0	2,277
3	0	462	0	0	462	0	788	0	0	788
4	0	1,102	4	0	1,106	0	2,847	0	0	2,847
5	0	1,372	14	0	1,386	0	3,569	0	0	3,569
6	0	3,183	12	0	3,195	0	8,396	0	0	8,396
7	0	5,283	15	1	5,299	0	4,447	0	0	4,447
8	0	395	0	0	395	0	6,562	0	0	6,562
9	0	198	0	0	198	0	8,901	0	0	8,901
10	0	121	0	0	121	0	9,372	0	0	9,372
11	0	506	0	0	506	0	3,847	0	0	3,847
12	0	2,952	0	0	2,952	0	1,660	0	0	1,660
13	0	1,323	0	0	1,323	0	1,422	0	0	1,422
14	0	1,460	7	0	1,467	0	5,615	0	0	5,615
15	2	516	9	1	528	0	5,200	0	0	5,200
16	0	1,005	7	0	1,012	0	3,438	0	0	3,438
17	0	858	2	0	860	0	2,127	0	0	2,127
18	0	2,541	0	0	2,541	0	1,349	0	0	1,349
19	0	1,777	0	0	1,777	0	1,857	0	0	1,857
20	0	876	0	0	876	0	1,381	0	0	1,381
21	0	1,552	11	0	1,563	0	2,523	0	0	2,523
22	0	1,983	12	0	1,995	0	1,819	0	0	1,819
23	0	736	2	0	738	0	1,846	0	0	1,846
24	0	1,665	3	0	1,668	0	1,804	0	0	1,804
25	0	625	7	0	632	0	1,810	0	0	1,810
26	0	574	5	0	579	0	2,258	0	0	2,258
27	0	528	0	0	528	0	1,165	0	0	1,165
28	0	1,038	3	0	1,041	0	1,438	0	0	1,438
29	0	897	9	0	906	0	3,536	0	0	3,536
30	0	1,068	0	0	1,068	0	2,549	0	0	2,549
31	0	2,220	0	0	2,220	0	3,126	0	0	3,126
計	2	39,330	128	2	39,462	0	99,832	0	0	99,832

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

2. x 印はトラップなどの故障による欠測を示す。

平成10年10月1日

表3-4. 2定点におけるライト・トラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (1997年9月)

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎					婦中友坂豚舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
9. 1	0	4,662	0	0	4,662	0	1,399	0	0	1,399
2	0	3,954	9	0	3,963	0	2,329	0	0	2,329
3	0	2,250	6	0	2,256	x	x	x	x	x
4	x	x	x	x	x	0	1,663	0	0	1,663
5	1	2,304	6	0	2,311	0	4,456	0	0	4,456
6	0	1,869	3	0	1,872	0	3,384	0	0	3,384
7	0	1,809	9	0	1,818	0	1,681	0	0	1,681
8	0	1,761	0	0	1,761	0	1,331	0	0	1,331
9	0	1,329	9	0	1,338	0	1,315	0	0	1,315
10	0	911	0	0	911	0	1,260	0	0	1,260
11	0	633	6	0	639	0	948	0	0	948
12	0	1,893	18	0	1,911	0	871	0	0	871
13	0	1,233	0	0	1,233	0	862	0	0	862
14	0	2,772	3	1	2,776	0	486	0	0	486
15	0	3,006	12	0	3,018	0	1,033	0	0	1,033
16	0	1,797	9	0	1,806	0	30	0	0	30
17	0	1,575	0	0	1,575	0	1,129	0	0	1,129
18	0	3,816	21	0	3,837	0	436	0	0	436
19	0	3,045	0	0	3,045	0	904	0	0	904
20	0	2,217	0	0	2,217	0	551	0	0	551
21	0	1,167	0	0	1,167	0	236	0	0	236
22	0	1,095	0	0	1,095	0	496	0	0	496
23	0	500	0	0	500	0	275	0	0	275
24	0	684	0	0	684	0	152	0	0	152
25	0	1,044	0	0	1,044	0	63	0	0	63
26	0	81	2	0	83	0	25	0	0	25
27	0	490	13	0	503	0	97	0	0	97
28	0	90	6	0	96	0	78	0	0	78
29	0	206	5	0	211	0	143	0	0	143
30	0	122	2	0	124	0	20	0	0	20
計	1	48,315	139	1	48,456	0	27,653	0	0	27,653

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

2. x 印はトラップなどの故障による欠測を示す。

表3-5. 2定点におけるライト・トラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (1997年10月)

定点 種類 捕集日	富山月岡牛舎					婦中友坂豚舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
10. 1	0	70	0	0	70					
2	0	80	0	0	80					
3	0	29	0	0	29					
4	0	83	2	0	85					
5	0	55	1	0	56					
6	0	88	1	0	89					
7	0	15	0	0	15					
8	0	20	0	0	20					
9	0	17	0	0	17					
10	0	1	0	0	1					
11	0	1	0	0	1					
12	0	4	0	0	4					
13	0	10	0	0	10					
14	0	0	0	0	0					
15	0	1	0	1	2					
計	0	474	4	1	479					

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

2. 定点「婦中友坂豚舎」は調査を行わなかった。

山県全体をまとめてみると、6～7月は多く推移し、8月中旬には前年よりも少なくなるが、9月には再び多くなる消長を示した。以下、各定点別に捕集結果を述べる。

〔富山月岡〕表3に連日捕集成績を示した。調査開始の6月上旬から、7月中旬までは捕集数が前年よりも多かったが、7月下旬からは逆に少なくなった。年間捕集数は前年の0.65倍に減少した(表4)。日最高捕集数は7月24日の5,634個体であり、前年(8月23日; 17,739個体)に比べ1ヵ月早まった。これは8月の捕集数が、前年に比べ極端に減少したため、7月にピークが形成されたと考えられる。

〔婦中友坂〕この定点は調査開始の6月上旬から7月下旬までは捕集数が前年よりも多かったが、8月に入り急に少なくなった。年間捕集数は前年の0.74倍であり、日最高捕集数は8月10日の

9,372個体で、前年(8月18日; 15,040個体)よりも8日間早まった。

〔黒部植木〕前年度の年間捕集数は、2,034個体と近年の中では少ない年であったが、今年度は7,054個体(3.47倍)に増加した(表4)。発消長は盛夏発生型(8月13日; 1,444個体)であったが、9月3日(1,021個体)にも多くなる年2峰型の消長を示した(表2-2)。

〔上市湯上野〕前年度は9月18日に770個体のピークを持つ、初秋型の年1峰性を示したが、今年度は9月17日に主ピーク(292個体)、8月6日(220個体)に副ピークを形成する年2峰型の消長を示した。年間捕集数は1,466個体で前年度の0.94倍であり、6定点の中で最も少なかった。

〔福野二日〕年間捕集数は前年度の4.02倍と大幅に増加した。日最高捕集数は前年度の1,525個体(8月14日)に対し、9,105個体(8月6日)になっ

表4. 6定点におけるコガタアカイエカ雌成虫捕集数の比較(1997年度、平成9年度)

調査日	定 点							
	月岡	友坂	黒部	上市	福野	小矢部	氷見	計
6. 18	159	93	18	3	69	127	-	469
25	1,600	776	23	16	329	566	-	3,310
7. 2	2,142	2,621	85	38	673	1,744	-	7,303
9	1,487	777	235	34	1,435	2,252	-	6,220
16	<u>4,167</u>	1,722	615	143	1,435	873	-	8,955
23	1,897	<u>3,803</u>	510	85	2,727	4,095	-	13,117
30	961	1,851	418	51	1,099	944	-	5,324
8. 6	<u>3,183</u>	<u>8,396</u>	791	<u>220</u>	<u>9,105</u>	<u>14,219</u>	-	<u>35,914</u>
13	1,323	1,422	<u>1,444</u>	130	2,648	1,461	-	8,428
20	876	1,381	462	107	2,523	1,294	-	6,643
27	528	1,165	722	46	2,272	969	-	5,702
9. 3	2,250	2,329	<u>1,021</u>	196	1,581	1,982	-	9,359
10	911	1,260	243	57	2,260	5,726	-	10,457
17	1,575	1,129	437	<u>292</u>	<u>5,541</u>	<u>7,295</u>	-	<u>16,269</u>
24	684	152	30	48	983	1,634	-	3,531
計	23,743	28,877	7,054	1,466	34,680	45,181	-	141,001
1996年度	36,305	38,857	2,034	1,562	8,617	7,683	5,700	108,840
捕 集 比	0.65倍	0.74倍	3.47倍	0.94倍	4.02倍	5.88倍		1.30倍

注 1. 蚊の調査は6月中旬から9月下旬まで、毎週水曜日にライトトラップで捕獲することにより行った。

2. 数字に下に実線が引いてあるのが最大捕集数、点線が次多捕集数を示す。

3. 捕集比=1997年度の捕集数/1996年度の捕集数。

た(表2-2)。発消長は8月6日に主ピーク、9月17日(5,541個体)に副ピークを示す年2峰性であった。

〔小矢部金屋〕この定点は、例年福野と発消長、捕集傾向も酷似しており、今年度もほぼ同様な消長を示した。すなわち、主ピークは両地点とも8月6日(14,219個体)、副ピークは9月17日(7,295個体)であった(表2-2)。年間捕集数は前年度に比べ、5.88倍に大幅に増加した。

近年は各定点とも、おおむね7月中・下旬と8月中旬に発生数の山がみられる、年2峰型の発消長を示す場合が多い傾向にあったが〔4〕、今年度は8月上旬に多くなる盛夏発生型の傾向が見られ、前年度の8月中下旬に多数のコガタアカ

イエカが捕集されたのとは異なった。

富山では5～6月に気温が高く推移すると、コガタアカイエカの発生が活発になることが知られ〔5〕、今年度は5月上中旬と6月下旬～7月上旬が高く推移したが(図2)、全体として的大幅な増加はみられなかった。しかし、黒部、福野と小矢部では顕著な増加がみられ、富山月岡と婦中友坂は、逆に明らかな減少がみられた。つまり、県東部と西部で増加し、県中央部で減少したことになる。この原因については明確に出来ないが、7月中旬以降の低温傾向と日照不足、さらには7月上中旬の多雨と(図2)、それぞれの地区の稲作形態とが微妙に関連していると推察される。今後は、気象状況と発生源の水田状況、および吸血源

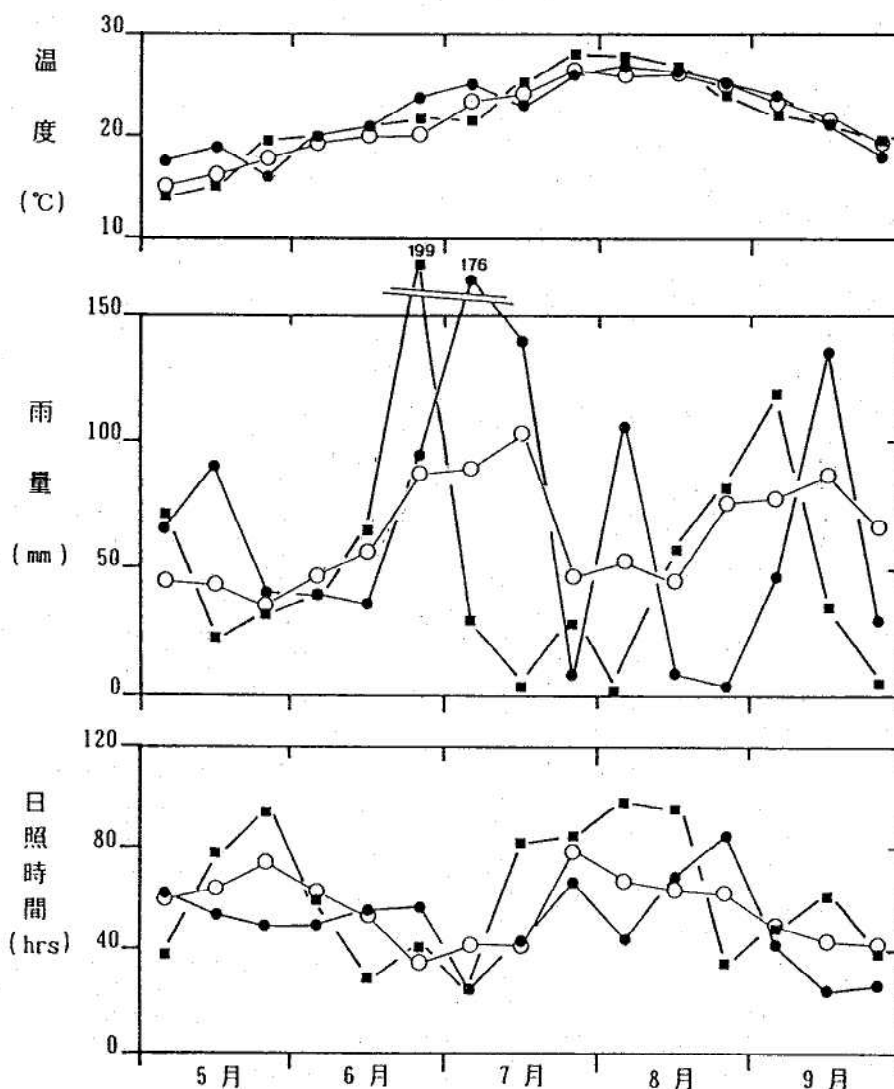


図2. 富山県の旬別気象要因の季節変化

○平年値, ●1997年, ■1996年データは日本気象協会富山県支部発行の富山県気象月報から富山気象台の観測データを引用作成した。

の畜舎などと、コガタアカイエカ自身の生産性（繁殖能力）を詳細に調べ、それらの関連を明確にして発生数を予測する方法を確立したい。

なお、今年度は1982年以来の日本脳炎患者の発生が、9月14日に氷見市森寺（11月21日届出）で確認され（74歳、女性）、県西部でコガタアカイエカの発生が、最近3カ年で最も多く（表5）、しかも9月に顕著であったことが関与していると判断される。

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15日から9月30日まで、毎週火曜日に富山食肉総合センターに搬入される、生後6か月の県内産（主として小矢部市と氷見市）の豚を対象として、毎回20頭から血液を採取して、日本脳炎抗体の保有状況を調査した。抗体価の測定は、例年の如く伝染病流行予測検査術式〔7〕に従った。被検血清は2回アセトン処理を行い非特異的な凝集抑制物質（インヒビター）を除去し、市販の日本脳炎ウイルス JaGAr 01株（デンカ生研）を

表5. 福野および小矢部における1995から1997年の3年間のコガタアカイエカ捕集数の季節変化の比較

調 査 週	福野町二日町			小矢部市金屋本江		
	1995	1996	1997	1995	1996	1997
6 月 3 週	63	19	69	109	33	127
4 週	246	49	329	828	84	566
7 月 1 週	245	41	673	584	164	1,744
2 週	305	127	1,435	827	146	2,252
3 週	<u>1,780</u>	155	1,435	4,088	375	873
4 週	972	392	2,727	1,492	622	4,095
5 週	—	607	1,099	—	319	944
8 月 1 週	788	465	<u>9,105</u>	971	134	<u>14,219</u>
2 週	733	<u>1,525</u>	2,648	775	35	1,461
3 週	264	1,317	2,523	300	<u>1,642</u>	1,294
4 週	912	<u>1,388</u>	2,272	814	<u>1,385</u>	969
5 週	<u>1,670</u>	—	—	<u>4,203</u>	—	—
9 月 1 週	1,035	896	1,581	1,345	763	1,982
2 週	628	1,187	2,260	<u>4,105</u>	1,032	5,726
3 週	402	237	<u>5,541</u>	685	752	<u>7,295</u>
4 週	95	212	983	625	197	1,634
計	10,138	8,617	34,680	21,751	7,683	45,181

- 注 1. 蚊の調査は毎週水曜日にライトトラップで捕獲することにより行った。
 2. —はその年度に該当する週が無かったことを示す。
 3. 実下線のある数字はその年度の最大捕獲数を示し、点下線は2番目に多いことを示す。

抗原として、赤血球凝集抑制反応（HI）で抗体価を測定した。血球はガチョウの赤血球を用い、反応はマイクロタイター法で行った。

2. 調査結果と考察

採血日とHI抗体価の測定結果を表6に示した。豚の採血は毎週20頭としていたが、9月16日は10頭、9月24日は18頭の採血であった。最初の採血日の7月15日から5回目の8月12日まで、抗体を保有する豚は認められなかった。6回目の8月19日に初めて1頭に抗体が認められた（抗体保有率5%）。その後、抗体保有率は8月26日に5%、9月2日に10%であったが、抗体価は10倍と低いものであった。9月9日になると2頭が抗体を保有しており、そのうち1頭が抗体価が160倍で、しかも2MEに感受性であった。9月16日には3頭が抗体を保有し、そのうち1頭が80倍で2ME

に感受性であった。次週の9月24日には個体保有豚は13頭に増え、抗体保有率は50%を越え72%（13/18）になった。個体保有豚13頭のうち、1頭が2ME感受性であった。さらに、最終採血日の9月30日には7頭が抗体を保有し、そのうち3頭が2ME感受性であった。

昨年は抗体保有豚の数も少なく、抗体価も10倍～20倍と低い価であったが、今年は9月上旬に高い抗体価の豚が出現し、それ以降2ME感受性である日本脳炎新鮮感染の豚が、最終採血日の9月30日まで出現した。このことより、日本脳炎ウイルスが9月初めに富山県内に侵入し、少なくとも9月下旬まで豚の間に拡大して行ったと推定され、日本脳炎患者の発生が危惧される状況になった。しかし、例年この時期には気温の低下などで急激にコガタアカイエカが減少すると共に、ウイルスも不活発になるため、今年度も感染の機会は

表6. 1997年度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9年度)

検体 採取日	抗 体 価								2-ME 感受性 陽性数
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320	≥640	
7. 15	20 (100)								
22	20 (100)								
29	20 (100)								
8. 5	20 (100)								
12	20 (100)								
19	19 (95)	1 (5)							
26	19 (95)	1 (5)							
9. 2	18 (90)	2 (10)							
9	18 (90)		1 (5)			1 (5)			1 (100)
16	7 (70)	2 (20)			1 (10)				1 (100)
24	5 (28)	1 (5)		9 (50)	3 (17)				1 (8.3)
30	13 (65)			1 (5)	3 (15)	2 (10)	1 (5)		3 (42.9)
計	199 (87.3)	7 (3.1)	1 (0.4)	10 (4.4)	7 (3.1)	3 (1.3)	1 (0.4)	0 (0.0)	6 (28.6)

注. 1. 抗体価10倍以上を陽性とみなし、さらに40倍以上を示した血清について2-メルカプトエタノール(2-ME)処理を行ない、ウイルスの新鮮感染を検討した。

2. 表中の数字は観察実数を表わし、括弧内の数字はパーセントを示す。

平成10年10月1日

ほとんど無いものと思われた。しかしながら、前述のごとく、11月21日になり9月14日に氷見において日本脳炎患者が発生していたが判明した。このことは、気温が低下傾向に移行しても、コガタアカイエカが多く推移し、しかも豚におけるウイルスの拡大が起こっていると判断される状況下では、日本脳炎患者が発生する可能性があることを示したものであり、今後の本流行予測事業に大きな示唆を与えるものと思われる。

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

文 献

1. 上村 清, 丸山由紀子 (1983), 衛生動物, 34, 33-37.
2. 渡辺 護, 竹部幸子, 荒川 良, 上村 清, 小橋恭一 (1985), 富山衛研年報, 8, 33-37.
3. 渡辺 護, 長谷川澄代, 森田修行, 南部厚子, 橋爪淑子, 松原勝博, 布野純子, 草山真由美, 布村洋子, 金木 潤 (1995), 富山衛研年報, 18, 97-110.
4. 富山県厚生部編 (1995), 平成6年度伝染病流行予測調査報告書, 26-43, 富山県.
5. 渡辺 護 (1988), 生活と環境, 1988年5月号, 33-38.
6. 渡辺 護, 荒川 良, 上村 清 (1990), 衛生動物, 41, 51-58.
7. 厚生省保健医療局結核難病感染症課感染症対策室 (1986), 伝染病流行予測検査術式, 57-80, 東京.

インフルエンザ流行予測調査

松浦久美子 中山 喬 北村 敬 名越雅高¹
山下志をり² 田中桂子³ 松原勝博⁴ 布野純子⁵

Epidemiological Surveillance for Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture

Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA, Takashi
KITAMURA, Masataka NAKOSHI¹, Shiori YAMASHITA²,
Keiko TANAKA³, Katsuhiko MATSUBARA⁴ and
Jyunko NUNO⁵

要 旨 1997年12月から1998年3月にかけてのインフルエンザ様患者94名について、ウイルスの検出と血清インフルエンザHI抗体価の測定を試みた結果、以下のような成績を得た。

1. 1月5日に発病した患者（定点観測）から今シーズン初めてのA（H3）型インフルエンザウイルスが分離され、その後3月中旬までA（H3）型ウイルスによるインフルエンザが流行した。

2. 今冬の最初の「集団かぜ」は1月23日のU中学校で発生した。その後、県内の各地で相次いで発生して3月上旬まで続いた。休校、学年または学級閉鎖の措置が合計81施設でとられ、累積患者数は3,870人であった。富山県では、今シーズンの流行は過去10年間の流行の中では2番目に大きい規模であった。4施設の「集団かぜ」患者について調べたところ、これらの「集団かぜ」はいずれもA（H3）型ウイルスによると判断された。

3. 35株のA（H3）型ウイルスが分離された。これらの株（1株を除き）に対する抗A／武漢／359／95血清のHI価は160～640倍（ホモ：640倍）であった。1株はHA価が低く、RT-PCR法で型同定を行った。

本調査は、インフルエンザ様疾患の患者について調査することにより、インフルエンザ患者の実態を把握し、インフルエンザ流行の予測ならびに予防に資することを目的とするものである。インフルエンザ様患者の咽頭拭い液からのインフルエンザウイルス検出と血清抗体の測定を実施した。

調査および検査方法

1. 調査期間

1997年12月～1998年3月

2. 調査対象

定点観測では、正木医院（福光町）、舘小児科医院（高岡市）、石黒小児科医院（富山市）および二本垣医院（黒部市）の協力により、インフル

エンザ様疾患の患者を対象として調査した。「集団かぜ」の発生に際しては、1集団あたり約5名の患者を対象として、4施設について調べた。また、4医療機関からの依頼検体についても調べた。

3. 検査方法

定点観測の患者からは咽頭ぬぐい液、「集団かぜ」の患者からは咽頭ぬぐい液と血液を採取し、依頼検査では主に咽頭ぬぐい液であるが、脳症患者（1名）では髄液と血清、熱性けいれん患者（1名）では髄液も採取した。

1) インフルエンザウイルスの検出

ウイルス分離は咽頭ぬぐい液または髄液をMDCK細胞に接種して行い、分離されたウイルスの同定は、日本インフルエンザセンターから分与された抗A/北京/262/95 (H1N1) 血清、抗A/武漢/359/95 (H3N2) 血清、抗B/三重/1/93血清および抗B/広東/05/94血清を用いて行った。インフルエンザウイルスの遺伝子検出は前年報[1]で述べたRT-PCR法を用いて行った。

2) インフルエンザウイルスHI抗体

急性期血清と回復期血清について、インフルエンザHI抗体価を測定した。HI抗体価測定用の抗原は、今シーズンのワクチン株であるA/北京/262/95 (H1N1) 株、A/武漢/359/95 (H3N2) 株、B/三重/1/93株およびB/広東/05/94株（デンカ生研）を用いた。なお、今年度からはHI価の表記はWHO表記法に変更した。すなわち、1) 抗原と血球添加による希釈を考慮しないで、血清濃度を最終濃度とする、2) HI価のスタートは10倍から行う、等である。

結果および考察

1. インフルエンザ様疾患の発生状況

1997年12月にはかぜ様患者はほとんどいなかったが、1月に入り患者が発生し始めた。1月23日に今冬初めての「集団かぜ」がU中学校で発生、その後県内の各地で相次ぎ、ピークは2月9日（19施設）であったが、3月中旬まで発生した。

今シーズン、「集団かぜ」による休校、学年または学級閉鎖などの措置がそれぞれ1, 36, 44施設（合計81施設）でとられ、累積患者数は3,870人であった。81施設での「集団かぜ」の発生は、富山県では1995年1月から3月に発生した83施設に次ぐ大きな規模の流行であった。

2. インフルエンザウイルスの検出

1997年12月から1998年3月までに採取した定点観測63検体、集団かぜ（4集団）20検体および検査依頼13検体（合計96検体）について、インフルエンザウイルスの検出を試みた成績をTable 1, 2に示す。定点観測において、1月5日に発病した患者から今冬の最初のインフルエンザウイルスが分離され、A (H3) 型と同定された。その後、3月の中旬までの患者よりA (H3) 型ウイルスが検出された (Table 1)。「集団かぜ」では、1月に発生した3施設および3月に発生した1施設の患者について調べた結果、4施設のうち2施設の患者からはA (H3) 型ウイルスが分離された (Table 2)。依頼検査でもA (H3) 型ウイルスが分離された。これらの患者のうち脳症や熱性けいれんの重症患者では、咽頭ぬぐい液からはA (H3) 型が分離できたが、髄液からは分離できなかった (Table 1)。そして髄液についてはRT-PCR法によるインフルエンザウイルス遺伝子の検出も試みたが、検出できなかった。

96検体中35検体よりA (H3) 型ウイルスが分離された。分離株に対するインフルエンザ抗血清のHI価はTable 3に示すようであった。A (H3) 型の分離株（34株）に対する抗A/武漢/359/95血清のHI価は160～640倍（ホモ：640倍）であった。なお、1株（A/Toyama/34/98）は、MDCK細胞でCPEは見られたが、初代ではニワトリ血球やヒトO型血球とのHAがなく、継代を試みてもHA価が低かったのでHI価を測定できなかった。そのため、RT-PCR法を用いた遺伝子増幅により型決定を行った。A (H1) 型の抗A/北京/262/95血清、B型の抗B/三重/1/93血清および抗B/広東/05/94血清のHI価は、34分離株に対して10倍未満であった。これらの抗血清のHI価より、今シーズンの分離

Table 1. Virological Examination of Patients with Influenza-like Disease (Sporadic Cases)

Sampling station	No. of patients	Virus detection			
		Throat swab	No. of		Type
		Date of sampling	samples	virus detected	
Masaki internal clinic(Fukumitsu)	27	Dec.1,1997 ~Mar.17,1998	27	13	A(H3)
Ishiguro pediatric clinic(Toyama)	14	Dec.3,1997 ~Jan.21,1998	14	2	A(H3)
Tachi pediatric clinic(Takaoka)	8	Dec.16,1997 ~Feb.14,1998	8	1	A(H3)
Nihongaki clinic (Kurobe)	14	Jan.21,1998 ~Mar.9,1998	14	10	A(H3)
Nakazima child clinic(Toyama)	5	Jan.26~31, 1998	5	4	A(H3)
Sainou hospital (Toyama)	4	Feb.10~11, 1998	4	1	A(H3)
Toyama Med. Phar. Univ. (Toyama) ¹⁾	1 ²⁾	Feb.13,1998	1 1(CSF) ⁴⁾	1	A(H3)
Kurobe Municipal Hospital(Kurobe)	1 ³⁾	Mar.5,1998	1 1(CSF)	1	A(H3)
Total	74		76	33	A(H3)

1)Toyama Medical and Pharmaceutical University

2)Clinical symptoms: Fever 39.0℃, Encephalopathy; Age: 1 month

3)Clinical symptoms: Fever 40.5℃, Febrile convulsion; Age: 3 years

4)CSF: Cerebrospinal fluid

Table 2. Virological and Serological Examinations of Patients with Influenza-like Disease (Epidemic cases)

Sampling station	Virus detection			HI antibody examination				No. of influenza patients	Type
	Throat swab Date of sampling	No. of samples	No. of isolates Type	No. of sera		No. of significant increase ¹⁾			
				Acute	Conva- lescent				
Unazuki junior high school(Kurobe)	Jun. 23, 1993	5	0	5	4	0	2	A(H3)	
Yamamuro-chuubu primary shool(Toyama)	Jun. 26, 1998	5	1 A(H3)	4	4	0	4	A(H3)	
Houjyozu primary school(Kosugi)	Dec. 27, 1998	5	1 A(H3)	4	4	0	4	A(H3)	
Iino primary school(Kurobe)	Mar. 10, 1998	5	0	4	3	0	1	A(H3)	
Total		20	2 A(H3)	17	15	0	11	A(H3)	

1) Antigen, A(H1N1): A/Beijing/262/95, A(H3N2): A/Wuhan/359/95, B: B/Mie/1/93, B/Guangdong/05/94

Table 3. HI Titers of Reference Antiserum against Isolated Virus Strains

Antigen	HI titer ²⁾ of Anti-A/Wuhan /359/95(H3N2)	Antigen	HI titer of Anti-A/Wuhan /359/95(H3N2)
A/Wuhan/359/95 ¹⁾	640	A/Toyama/18/98	320
A/Toyama/1/98	320	A/Toyama/19/98	320
A/Toyama/2/98	320	A/Toyama/20/98	320
A/Toyama/3/98	320	A/Toyama/21/98	320
A/Toyama/4/98	320	A/Toyama/22/98	320
A/Toyama/5/98	320	A/Toyama/23/98	160
A/Toyama/6/98	320	A/Toyama/24/98	320
A/Toyama/7/98	320	A/Toyama/25/98	320
A/Toyama/8/98	320	A/Toyama/26/98	320
A/Toyama/9/98	320	A/Toyama/27/98	160
A/Toyama/10/98	160	A/Toyama/28/98	640
A/Toyama/11/98	160	A/Toyama/29/98	160
A/Toyama/12/98	320	A/Toyama/30/98	320
A/Toyama/13/98	160	A/Toyama/31/98	640
A/Toyama/14/98	160	A/Toyama/32/98	640
A/Toyama/15/98	320	A/Toyama/33/98	640
A/Toyama/16/98	320	A/Toyama/34/98	— ³⁾
A/Toyama/17/98	320	A/Toyama/35/98	640

1) A/Wuhan/359/95 antigen and anti-A/Wuhan/359/95 serum were supplied from Japan Influenza Center. A/Toyama/1/98~A/Toyama/35/98 antigens were isolated from throat swabs of patients with influenza-like disease in Toyama Prefecture from June to March 1998.

2) HI titers of antiserum were examined with human type O erythrocytes.

3) Strain A/Toyama/34/98 was identified with Influenza type A(H3) by RT-PCR method.

株の多くは A/武漢/359/95 (H3N2) 株に類似した株と考えられるが、少し変異した株 (A/武漢より 1/4 倍低い HI 価を示した 7 株) も混在したと推測される。

3. 患者の血清 HI 抗体価

「集団かぜ」の患者から採血された急性期血清 17

件と回復期血清 15 件について、HI 抗体価を測定した。急性期から回復期にかけて、A/武漢/359/95 (H3N2) 抗原に対する抗体価の有意上昇 (4 倍以上) したのが 10 名認められた (Table 2)。これらの患者の急性期の抗体価は <10~40 倍、回復期の抗体価は 80~640 倍であった。A/

平成10年10月1日

北京/262/95 (H1N1) 抗原, B/三重/1/93 抗原およびB/広東/05/94抗原に対しては有意上昇したものはなかった。従って, 抗体価の有意上昇とウイルス検出との成績を総合すると, 調べた4集団の「かぜ」はA (H3) 型ウイルスの感染によると判断された。

脳症患者の急性期の抗体価は<10倍, 回復期の抗体価は80倍で, 抗体の有意上昇が認められた。

以上のインフルエンザ様患者についてのウイルス学的検査結果より, 富山県ではA (H3) 型ウイルスによるインフルエンザが1998年1月上旬より発生し, 3月中旬まで続いた。「集団かぜ」による休校, 学年または学級閉鎖などの措置が81施設でとられ, 今シーズンの流行は, 富山県では過去10年間で2番目に大きい規模の流行であった。脳症や熱性けいれんの重症患者(2名)を調べたところ, 髄液からはウイルスは検出されなかったが, 咽頭ぬぐい液からはA (H3) 型ウイルスが分離された。このことは, A (H3) 型ウイルスがこのような重い症状を引き起こした可能性が示

唆される。この2名の患者の予後は良好であったが, 近年, 国立感染症情報センターへインフルエンザウイルスにともなう脳症, 脳炎などの報告例が増加[2]しており, インフルエンザウイルスによる重症患者の発生に関しても十分考慮する必要がある。

謝辞: 検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力頂いた石黒小児科医院, 正木医院, 舘小児科医院および二本垣医院の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 松浦久美子, 中山喬, 長谷川澄代, 森田修行, 吉田慶子, 水木路男, 布野純子, 南部厚子, 大垣由香里, 遠藤京子, 田中桂子 (1993). 富山衛研年報, 16, 106-114.
2. 国立感染症情報センター (1997). 病原微生物検出情報, 18, 299-300.

ポリオ流行予測調査

中山 喬	松浦久美子	北村 敬	南部厚子 ¹
田中桂子 ²	浦田祐子 ³	安井良夫 ⁴	布野純子 ⁵
名越雅高 ⁶	浅野真由美 ⁷	川越久美子 ⁸	松原勝博 ⁹

Epidemiological Surveillance for Poliovirus
in Toyama Prefecture

Takashi NAKAYAMA, Kumiko MATSUURA, Takashi
KITAMURA, Atsuko NAMBU¹, Keiko TANAKA²,
Yuko URATA³, Yoshio YASUI⁴, Junko NUNO⁵,
Masataka NAGOSHI⁶, Mayumi ASANO⁷, Kumiko
KAWAGOSHI⁸ and Katsuhiko MATSUBARA⁹

要 旨 平成9年度は、平成8年度に引き続いて感染源調査と感受性調査を実施した。感染源調査は、ポリオワクチン接種後2か月以上経過した時点で、0歳から6歳までの乳幼児から採取した糞便71検体についてウイルス分離検査を実施した。その結果、ポリオウイルスは分離できなかったが、コクサッキーウイルスB2型 (Cox.B2) が7株、エコーウイルス22型 (Echo22) が1株、アデノウイルス2型 (Adeno2) が1株、アデノウイルス5型 (Adeno5) が2株、レオウイルス1型 (Reo1) が1株、同定不能ウイルスが1株の合計13株のウイルスを分離した。

感受性調査は、全年齢層を対象として採血し、0歳から62歳までの67名の血清中の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する抗体価4倍以上の抗体保有率は、全体で1型が94.0%、2型が97.0%、3型が79.1%であった。また、抗体保有者の平均抗体価は、1型では174.2倍、2型では172.5倍、3型では24.0倍であった。

厚生省流行予測事業で、国内のポリオウイルスの動向を監視するために、国からの依頼を受け毎年実施している調査である。昨年度 (平成8年度) に実施した感受性調査では、富山県住民の抗体保有率は、1型89.1%、2型97.9%、3型69.3%であり、ポリオの流行を阻止するのに十分な免疫状態であった [1]。しかし、この調査から、3種

類のポリオウイルスに対する抗体すべてを保有している住民は65.1%であり、県民の約10人に3人は1種類または2種類の抗体を欠いているという結果が示された。WHOは予防接種によるポリオ撲滅戦略を展開しているが、東南アジアやアフリカなどの一部には依然として野生型ポリオの感染が発生している。個人レベルでの感染防御は完璧

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

とはいえな状況の中で、商用や観光で海外に渡航する機会が多くなっている今日、海外からのポリオウイルス侵入に対する監視体制を中止することはできない。

ポリオウイルスに対する集団免疫の現況把握およびウイルスの検索調査を行い、ポリオウイルスの浸淫状態を把握するために、本年度（平成9年度）の調査は、昨年度と同様感染源調査と感受性調査を実施したので、その結果について報告する。

I 感染源調査

調査および検査方法

昨年度と同様、魚津市の健康な乳幼児を対象に行われた。同地区で春期ポリオワクチンの接種が実施された後2か月以上経過した8～9月に、年齢0～1歳、2～3歳、4～6歳の子供の糞便が採取された。検体数は計画として男女を問わず各年齢区分20例、計60例を予定した。ウイルスの検

索は伝染病流行予測調査検査術式（一部改定）[2]に準じて行った。採取した糞便をEagle-MEM培養液（日水製薬K.K.）で約10%乳剤を作製し、10,000回転30分の高速遠心を行った上清に抗生物質を加えたものをウイルス分離材料とした。使用細胞はVero細胞およびMA-104細胞を用い、細胞変性効果（CPE）を指標としてウイルス分離検査を実施した。ウイルス分離陽性の場合、シュミットプール血清（予研）、エンテロウイルス混合抗血清（デンカ生研K.K.）および型特異抗血清（デンカ生研K.K.、日本ポリオ研究所）を用いて中和試験を実施し、ウイルスの同定を行った。

結果および考察

男児39名、女児32名の乳幼児計71名についてポリオワクチン接種歴などを調査し、糞便を採取してウイルス分離検査を行った。その結果をTable 1に示す。今年度の調査でもポリオウイルスは全

Table 1. Virus Isolation from Feces of Children

Sex	Age (year)	No. of feces	Virus isolation positive		Identification of isolates*					
			No.	Rate	CB-2	E-22	R-1	Ad-2	Ad-5	unidentified
Male	0	4	1	25.0%		1				
	1	4	2	50.0%	1				1	
	2	3	0	0.0%						
	3	4	0	0.0%						
	4	6	2	33.3%					1	1
	5	11	2	18.2%	1		1			
	6	7	3	42.9%	3					
	Subtotal	39	10	25.6%	5	1	1		2	1
Female	0	4	0	0.0%						
	1	2	1	50.0%	1					
	2	4	0	0.0%						
	3	7	1	14.3%				1		
	4	6	1	16.7%	1					
	5	8	0	0.0%						
	6	1	0	0.0%						
	Subtotal	32	3	9.4%	2			1		
Total		71	13	18.3%	7	1	1	1	2	1

Date of Survey : Aug. 20~22, 1997

* CB-2 : Coxsackievirus typeB2, E-22 : Echovirus type22, R-1 : Reovirus typel,
Ad-2 : Adenovirus type2, Ad-5 : Adenovirus type5

く分離されなかった。調査地区および対象者数が少ないので全県的な状況にまで言及することはできないが、後述の感受性調査成績からみても、県内に野生型ポリオウイルスは存在しないものと推測できる。他方、ポリオウイルス以外のウイルスが男児10名と女児3名の糞便から計13株分離された。その内訳は、コクサッキーウイルスB2型(Cox.B2)が7株、エコーウイルス22型(Echo22)が1株、アデノウイルス2型(Adeno2)が1株、アデノウイルス5型(Adeno5)が2株、レオウイルス1型(Reo1)が1株、同定不能ウイルスが1株であった。Cox.B2は発熱、上気道炎、無菌性髄膜炎、胃腸炎や発疹性疾患等を起こすことがよく知られており、全国的にみても1997年6月から9月にかけて多数分離されている[3]。Echo22はこれまでのこの調査でよく分離されたので、けっして珍しいウイルスではないが、全国的にも分離報告は少ない。不顕性感染または軽度の「夏かぜ」を起こすかもしれない。アデノウイルス群のウイルスは、急性熱性咽頭炎、咽頭結膜熱、急性呼吸器疾患などの呼吸器感染症の他、胃腸炎など様々の症状を起こすウイルスで、年間を通じて全国的に多数分離されている。レオウイルスは健康人、上気道感染症、消化器系疾患患者の気道分泌液や糞便中などから分離されることがあるが、疾患との関連ははっきりしていない。

本年度のウイルス分離率は18.3%であり、昨年度の調査では、Cox.B4とEcho22が分離され、分離率は23.3%であった[1]。本調査の対象者は健康な乳幼児であり、ウイルスが分離された乳幼児は不顕性感染かあるいはごく軽症であったと思われる。年によって分離されるウイルスが異なるが、健康な乳幼児の間においても、種々のウイルスが浸淫していることが明らかである。体調を崩すとこれらのウイルスによる様々な疾患を発症することが考えられ、健康維持に留意することが肝要である。

これらの結果から、検体を採取した本年8月においては、Cox.B2、Adeno 5などのウイルスが県内に浸淫していたものと考えられるが、ポリオ

ウイルスは分離されなかった。調査地区および対象者数が少ないので全県的な状況にまで言及することはできないが、後述の感受性調査成績から見ても、県内に野生型ポリオウイルスは存在しないものと推測できる。

II 感受性調査 調査および検査方法

黒部、高岡、福野、魚津、八尾、小杉、上市、氷見の各保健所および富山市保健所管内で、乳児から成人までの全年齢層を対象に平成9年6月から11月まで実施され、予定として各年齢区分(Table 2)ごとに5～6人の採血と予防接種歴の調査が行われた。

中和抗体価の測定は、伝染病流行予測調査検査術式(一部改定)[2]に準じて行った。被験血清を維持培養液で4倍希釈し、56℃30分間非働化した後、その50 μ lを96穴マイクロプレート上で滅菌チップを用いて2倍階段希釈した。希釈された血清それぞれに100TCID₅₀/50 μ lとなるように調製した弱毒セービンウイルス50 μ lを加えてよく混和し、37℃3時間および4℃一晚の中和反応を行った。中和後Vero細胞浮遊液(1～2 $\times$ 10⁵細胞/ml)を100 μ lずつ加え37℃で培養した。ウイルスによるCPEを1週間観察し、接種ウイルスを50%以上中和した血清の最高希釈倍数の逆数を中和抗体価とした。抗原として使用した弱毒セービンウイルスは、1型、2型、3型とも昭和59年度に国立予防衛生研究所から分与されたウイルスを当研究所でVero細胞に7代継代したウイルスを使用した。

結果および考察

本年度の調査では各年齢区分の採血数が5～6人と指示されたため、0歳から62歳までの67名(各年齢区分5～8名)から採血された。これらの血清についてポリオウイルスに対する中和抗体

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

Type 1													
Age group (years)	No. of serum with neutralizing antibody titer										Total	Positive rate	Geometric mean titer*
	<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024			
0~1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	6	8	75.0%	1024.0
2~3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	5	8	100.0%	789.6
4~6	0	0	0	0	1	0	3	0	2	2	8	100.0%	256.0
7~9	0	0	0	1	1	1	0	4	1	0	8	100.0%	128.0
10~14	0	0	0	0	0	2	1	1	1	2	7	100.0%	256.0
15~19	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	5	100.0%	256.0
20~24	1	0	2	0	1	0	1	0	1	0	6	83.3%	42.2
25~29	0	0	1	0	3	1	1	0	0	0	6	100.0%	35.9
30~39	1	1	0	0	0	1	2	1	0	0	6	83.3%	64.0
40~	0	0	0	1	1	2	1	0	0	0	5	100.0%	48.5
Total	4	1	3	2	7	8	10	7	9	16	67	94.0%	174.2
	6.0%	1.5%	4.5%	3.0%	10.4%	11.9%	14.9%	10.4%	13.4%	23.9%	100.0%		

Type 2													
Age group (years)	No. of serum with neutralizing antibody titer										Total	Positive rate	Geometric mean titer*
	<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024			
0~1	2	0	0	0	0	0	1	0	1	4	8	75.0%	645.1
2~3	0	0	0	0	0	0	1	2	1	4	8	100.0%	512.0
4~6	0	1	0	0	1	0	2	3	1	0	8	100.0%	90.5
7~9	0	0	0	1	0	3	1	1	2	0	8	100.0%	117.4
10~14	0	0	0	0	0	1	4	2	0	0	7	100.0%	141.3
15~19	0	0	0	0	1	1	1	2	0	0	5	100.0%	111.4
20~24	0	0	0	1	0	2	1	1	1	0	6	100.0%	101.6
25~29	0	0	0	0	0	3	2	0	0	1	6	100.0%	128.0
30~39	0	0	0	0	0	1	0	3	1	1	6	100.0%	287.4
40~	0	0	0	1	0	2	1	0	0	1	5	100.0%	97.0
Total	2	1	0	3	2	13	14	14	7	11	67	97.0%	172.5
	3.0%	1.5%	0.0%	4.5%	3.0%	19.4%	20.9%	20.9%	10.4%	16.4%	100.0%		

Type 3													
Age group (years)	No. of serum with neutralizing antibody titer										Total	Positive rate	Geometric mean titer*
	<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024			
0~1	7	0	0	0	0	0	0	1	0	0	8	12.5%	256.0
2~3	0	2	1	1	2	1	0	0	1	0	8	100.0%	22.6
4~6	1	2	0	0	0	1	3	1	0	0	8	87.5%	47.6
7~9	1	1	2	1	2	0	0	1	0	0	8	87.5%	19.5
10~14	2	1	1	3	0	0	0	0	0	0	7	71.4%	10.6
15~19	0	3	1	0	1	0	0	0	0	0	5	100.0%	7.0
20~24	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	6	100.0%	16.0
25~29	3	0	0	0	0	1	1	1	0	0	6	50.0%	128.0
30~39	0	1	0	2	0	2	1	0	0	0	6	100.0%	28.5
40~	0	1	0	0	2	1	1	0	0	0	5	100.0%	32.0
Total	14	11	7	9	9	6	6	4	1	0	67	79.1%	24.0
	20.9%	16.4%	10.4%	13.4%	13.4%	9.0%	9.0%	6.0%	1.5%	0.0%	100.0%		

* Titer of ≥1024 was calculated as 1024

Table 3. Positive Rate of Neutralizing Antibodies by History of Vaccination

Type 1 Age group (years)	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
	Twice		Once		Unknown		No.*	Rate	No.*	Rate
0~1			5/5	100.0%			1/3	33.3%		
2~3	6/6	100.0%	1/1	100.0%					1/1	100.0%
4~6	7/7	100.0%			1/1	100.0%				
7~9	8/8	100.0%								
10~14									7/7	100.0%
15~19	3/3	100.0%			2/2	100.0%				
20~24	4/5	80.0%			1/1	100.0%				
25~29	4/4	100.0%							2/2	100.0%
30~39									5/6	83.3%
40~							2/2	100.0%	3/3	100.0%
Total	32/33	97.0%	6/6	100.0%	4/4	100.0%	3/5	60.0%	18/19	94.7%
			42/43	97.7%						

Type 2 Age group (years)	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
	Twice		Once		Unknown		No.*	Rate	No.*	Rate
0~1			5/5	100.0%			1/3	33.3%		
2~3	6/6	100.0%	1/1	100.0%					1/1	100.0%
4~6	7/7	100.0%			1/1	100.0%				
7~9	8/8	100.0%								
10~14									7/7	100.0%
15~19	3/3	100.0%			2/2	100.0%				
20~24	5/5	100.0%			1/1	100.0%				
25~29	4/4	100.0%							2/2	100.0%
30~39									6/6	100.0%
40~							2/2	100.0%	3/3	100.0%
Total	33/33	100.0%	6/6	100.0%	4/4	100.0%	3/5	60.0%	19/19	100.0%
			43/43	100.0%						

Type 3 Age group (years)	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
	Twice		Once		Unknown		No.*	Rate	No.*	Rate
0~1			1/5	20.0%			0/3	0%		
2~3	6/6	100.0%	1/1	100.0%					1/1	100.0%
4~6	7/7	100.0%			1/0	0%				
7~9	7/8	87.5%								
10~14									5/7	71.4%
15~19	3/3	100.0%			2/2	100.0%				
20~24	5/5	100.0%			1/1	100.0%				
25~29	3/4	75.0%							0/2	0%
30~39									6/6	100.0%
40~							2/2	100.0%	3/3	100.0%
Total	31/33	93.9%	2/6	33.3%	3/4	75.0%	2/5	40.0%	15/19	78.9%
			36/43	83.7%						

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

価を測定し、その結果を、ウイルス型別、年齢区分別にまとめて Table 2 に示した。抗体価 4 倍以上を陽性とした抗体保有率は、全体で 1 型 94.0% (63/67)、2 型 97.0% (65/67)、3 型 79.1% (53/67) であり、いずれの型も集団免疫としては良好な抗体保有状況であった。ウイルス型別に年齢区分の抗体保有率をみると、1 型および 2 型では、0～1 歳では 75.0% であるが、その他の各年齢区分では 83.3～100% と高率を示した。一方 3 型では、0～1 歳が 12.5% と低率であり、25～29 歳が 50.0%、その他の年齢区分においては 71.4% (10～14 歳) から 100% までばらつきが見られた。全体の平均抗体価は、1 型が 174.2 倍、2 型は 172.5 倍であったが、3 型では 24.0 倍と低かった。

Table 3 はワクチン接種歴別の抗体保有状況を示した。1 型と 2 型の各抗体は、1 回のワクチン接種でいずれも十分な抗体獲得率を示した。しかし、3 型の場合ワクチン接種者全体の陽性率は 83.7% (36/43) で、1 型、2 型と比べてやや低く、とくに 1 回接種者が 33.3% であることから、3 型ワクチンでは 2 回接種は不可欠であると考えられる。

Table 4 に示すように個人レベルの型別抗体保有状況は、1 + 2 + 3 型とすべての抗体を保有している人は、全体の 76.1% (51/67) であったが、

25～29 歳では 50.0% (3/6) であった。また 1 + 2 型保有者が 17.9%、2 + 3 型が 3.0% であった。一方全抗体陰性者は、ワクチン接種歴のない 0 歳児 2 名の 3.0% であった。

本年度の調査では各年齢区分 (Table 2) の採血数が 5～6 人と指示されたため、0 歳から 62 歳までの 67 名 (各年齢区分 5～8 名) と少数であり、この結果から全体の抗体保有状況を推測することは難しい。昨年度の結果 [1] を参考にして検討すると、ポリオ 1～3 型の各型に対する抗体保有率は高率であり、3 種類の型に対する抗体を全て保有している人も全体の 76.1% を占めていることから、集団免疫としては良好な抗体保有状況であった。

1988 年に WHO は、西暦 2000 年までにポリオを根絶させる計画を打ち出し、経口生ワクチン投与によるポリオ根絶戦略により、1994 年現在、西半球、西・中央ヨーロッパ、北アフリカ、南・東アフリカ、中東および西太平洋地域の 6 つの地域でポリオが根絶された [4] が、東南アジアやアフリカなどの一部には依然として野生型ポリオの感染が発生している。本調査の結果、個人的には、23.9% の人が 1、2、3 型のうちいずれかの型に対する抗体を保有していない。また、年齢層によっては 1 型や 3 型に対する抗体保有率が低い場合があることなど、ポリオ常在国からの野生株ポリオ

Table 4. Distribution of Neutralizing Antibodies against Each Type of Poliovirus

Age group (years)	No. of sera	Negative against		Positive against					
		all types	Type1	Type2	Type3	Type1&2	Type2&3	Type1&3	Type1,2&3
0～1	8	2	0	0	0	5	0	0	1
2～3	8	0	0	0	0	0	0	0	8
4～6	8	0	0	0	0	1	0	0	7
7～9	8	0	0	0	0	1	0	0	7
10～14	7	0	0	0	0	2	0	0	5
15～19	5	0	0	0	0	0	0	0	5
20～24	6	0	0	0	0	0	1	0	5
25～29	6	0	0	0	0	3	0	0	3
30～39	6	0	0	0	0	0	1	0	5
40～	5	0	0	0	0	0	0	0	5
Total	67	2	0	0	0	12	2	0	51
	100.0%	3.0%	0.0%	0.0%	0.0%	17.9%	3.0%	0.0%	76.1%

ウイルスの侵入の可能性を否定できず、ポリオウイルスに対する監視は続けなければならない。また、ワクチン未接種の成人男性のポリオ疑似症例の報告〔5〕に見られるように、ポリオワクチン接種を受けた小児から排泄される毒性復帰株に感染する可能性は考慮しておかなければならない。厚生省は各都道府県、指定都市の衛生主管部（局）長に対して、ポリオの抗体保有率の低い年齢層〔現在19歳から21歳（昭和50年から52年生まれ）の者〕を対象とする「当面のポリオ予防対策について」（健医感発第147号，平成8年11月28日付）の通知を出している。成人の場合も各人の抗体保有状況を把握し、海外旅行時ばかりでなく、家族内にワクチン接種を受ける人がある場合は、感染発症しないように注意が必要である。

まとめ

感染源調査，感受性調査の結果から，本年度もポリオウイルスは検出されず，また，ポリオウイルスに対する抗体保有率は1型，2型，3型とも集団免疫としては充分高く，国内においてはポリオ流行の可能性は少ないと考えられる。しかし，野生株ポリオウイルスはポリオ常在国から国内に持ち込まれる危険性があり，幼小児期のポリオワクチンの定期接種は不可欠である。また，成人の場合も各人の抗体保有状況を把握し，海外旅行時

ばかりでなく，家族内にワクチン接種を受ける人がある場合は，感染発症しないように注意が必要である。

謝辞：本調査を実施するに当たり，検体採取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. 中山 喬，松浦久美子，森田修行，北村 敬，南部厚子，田中桂子，小川寿人，浦田祐子，松原勝博，布野純子，小池美奈子，草山真由美，寺崎さち子（1997）. 富山衛研年報，20，99-105.
2. 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課，国立予防衛生研究所流行予測事業委員会編（1996）. 伝染病流行予測調査検査術式（一部改定），2-8.
3. 国立予防衛生研究所，厚生省保健医療局エイズ結核感染症課編（1998）. 病原微生物検出情報月報，19，117-121.
4. 国立予防衛生研究所，厚生省保健医療局エイズ結核感染症課編（1995）. 病原微生物検出情報月報，16，155-156.
5. 国立予防衛生研究所，厚生省保健医療局エイズ結核感染症課編（1996）. 病原微生物検出情報月報，17，219-220.

富山県における河川水や下水から分離したポリオウイルスのVP1領域遺伝子の解析 (1)

松浦久美子 石倉 康 宏 中山 喬 長谷川澄代
 安藤 秀 二 北 村 敬

VP1 Gene Analysis of Poliovirus Isolates
from River Water and Sewage in Toyama
Prefecture (1)

Kumiko MATSUURA, Mitsuhiro ISHIKURA,
Takashi NAKAYAMA, Sumiyo HASEGAWA,
Shuji ANDO, Takashi KITAMURA

要 旨 1993年から1995年の間に、富山県内の河川水と下水から分離したポリオウイルスより RNA を抽出し、その RNA を鋳型にして RT-PCR 法で VP1 領域の遺伝子断片 (474~480bp) を増幅した。その増幅 DNA 断片を制限酵素 Dde I, Hpa II, Hae III で切断し、電気泳動によって DNA 切断パターンを調べた。

分離株の DNA 切断パターンを Sabin 株や野生株のパターンと比較すると、分離株81株のうち78株の DNA 切断パターンは Sabin 株と一致したが、3株は異なっていた。

「2000年までにポリオ根絶」という目標に向けて、WHOのポリオ根絶推進事業が地球全地域で進行中であり、その努力は成果をあげつつある。日本では1960~61年にポリオが大流行したが、61年にはポリオ生ワクチンが導入されて流行はおさまった。その後、1963年からはポリオワクチン定期接種が開始され、ポリオ患者は激減した。現在ではほぼ完全に制圧され、国内には野生株は常在しないと考えられている。このことを確認するために、我々は河川水や下水から分離したポリオウイルス株の VP1 領域遺伝子について PCR-RFLP 法で解析を行い、ワクチン株や野生株との比較を試みた。

材料と方法

(1) ポリオウイルス

富山県内の3河川 (小矢部川, 千保川, いたち川) に調査定点を設定し、1993年10月から1995年9月まで毎月2回試料 (800~1000ml) を採取、また同時期に小矢部川の下流地域にある下水処理場の未処理下水 (1000ml) を採取した。その試料を濃縮後、Vero, RD-18S, MA104細胞に接種してウイルス分離を行った。分離株をポリオウイルス中和用抗血清 (デンカ生研) を用いて同定した。試料の濃縮方法やウイルスの分離方法は前年報 [1] に記載してある。分離株をワクチン株や野生株と比較検討する為、ワクチン株として Sabin 1, 2, 3 型株, 野生株として Mahoney 株, MEF-1 株, Saukett 株を用いた。これらの

株は国立感染症研究所より分与された。

(2) PCR-RFLP 法

ポリオウイルス株を RNAzol B (コスモ・バイオ) で処理してウイルス RNA を抽出し, 次にプライマー UC1 と UG1 を用いて VP1 領域の遺伝子断片 (474~480bp) を増幅した。プライマーおよび RT-PCR 法は Balanant ら [2] の方法に準じた。その増幅した DNA 断片に制限酵素の Dde I (5U), Hpa II (14U), Hae III (10U) を加えて 37℃, 2 時間反応させ, DNA 断片を切断した。3.5% アガロースゲルを用いて電気泳動し, DNA 切断パターンを調べた。

結 果

河川水の試料から分離されたポリオウイルス 6 株 (2 型 3 株, 3 型 3 株), 下水の試料から分離されたポリオウイルス 75 株 (1 型 11 株, 2 型 37 株, 3 型 27 株) の VP1 領域遺伝子について, PCR-RFLP 法によって解析した。Sabin 1, 2, 3 型株の VP1 領域遺伝子の PCR-RFLP 法による DNA 切断パターンは Fig. 1 のようである。このパターンと分離株のパターンとを比較した結果, 78 株の切断パターンは Sabin 株と一致したが, 3 株 [O41-1, G4-2, G4-12] は異なった。Fig. 2 に示すように, O41-1 株 (2 型, 河川水分離株) は Hpa I と Hae II による切断パターンでは Sabin 2 型と一致したが, Dde I では異なり, 野生株の MEF-1 株とも異なった。G4-2 と G4-12 株 (1 型, 下水分離株) は Dde I と Hpa II による切断パターンでは Sabin 株と一致したが, Hae III では異なり, Mahoney 株の切断パターンと類似していた。このことは, 3 株の VP1 領域遺伝子の塩基配列には Sabin 株とは異なる塩基の部位があることを示している。

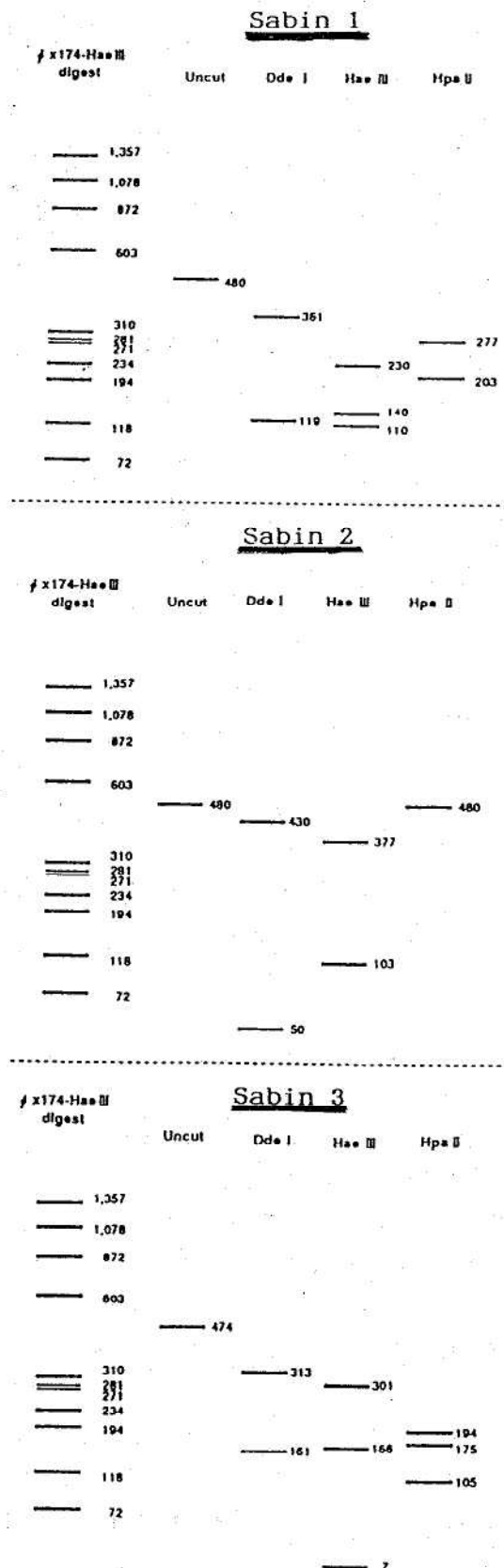


Fig.1. The RFLP Patterns of Sabin Strains.

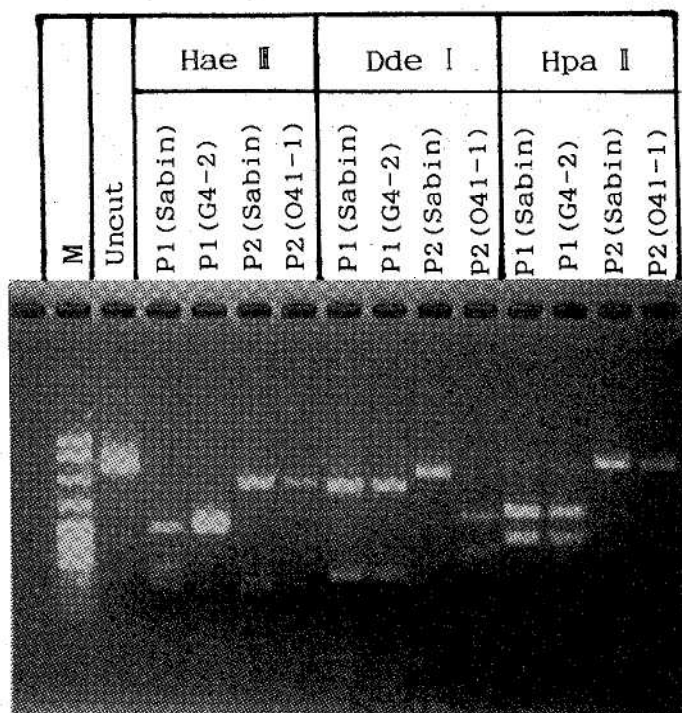


Fig.2. The RFLP Patterns of G4-2, O41-1 Isolates and Sabin Strains. M:pBR332/Msp I digest

考 察

ポリオウイルス株の性状を解析する方法として、遺伝学的マーカーのrct/40マーカー、型内血清学的鑑別の Wecker 法や McBride 法などがあるが、近年、PCR 法を用いて遺伝子を増幅することが可能になり、遺伝子レベルでの解析が行われるようになった。Balanant ら [2] や Yoshida ら [3] は、多くの野生株やワクチン由来株について PCR-RFLP 法を用いて VP1 遺伝子領域を解析し、PCR-RFLP 法により型内鑑別が可能であることを報告した。また、高尾ら [4] は広島県内で分離されたポリオウイルス株を PCR-RFLP 法で解析した結果、分離株はいずれもワクチン由来株であったと報告している。今回、富山県内の河川水や下水からの分離株について PCR-RFLP 法で調べたところ、多くの株は Sabin 株と一致したが、一致しない株 (3 株) も認められた。一致した株は Sabin 株すなわちワクチン由来と考えられるが、一致しなかった株には、Sabin 株と

は一部異なった塩基配列の存在が示唆される。米山ら [5] によると、ワクチン由来の株において塩基配列の差異が VP1 領域では 0 ~ 2 % 認められると述べている。従って、この 3 株は Sabin 株の塩基配列との差異が 2 % 以内の株かもしれない。これを明らかにするためには、この部位の塩基配列を調べる必要があり、現在、分離株の VP1 領域の塩基配列を決定することを検討中である。

文 献

1. 松浦久美子, 石倉康宏, 長谷川澄代, 中山 喬, 森田修行, 北村 敬 (1997). 富山衛研年報, 20, 114-119.
2. Balanant, J., Guillot, S., Candrea, A., Delpeyroux, F. and Crainic, R. (1991). Virology, 184, 645-654.
3. Yoshida, H., Li, J., Yoneyama, T., Yoshii, K., Shimizu, H., Thanh, N. T. H., Toda, K., Long,

- N. T., Tu, P. V., Miyamura, T. and Hagiwara, A. (1997). JID. 175, 1233-1237.
4. 高尾信一, 福田伸治, 野田雅博, 豊田安基江, 徳本静代 (1997). 広島県保健環境センター研究報告, 5, 15-18.
5. 米山徹夫, 吉田 弘, 清水博之, 吉井久美子, 萩原昭夫, 宮村達男 (1997). 国立予防衛生研究所年報, 平成8年度, 65.

インフルエンザ様患者からの *Coxiella burnetii* の検出

石倉 康宏 松浦久美子 安藤 秀二 北村 敬

Detection of *Coxiella burnetii* in Patients with Influenza-Like Disease

Mituhiko ISHIKURA, Kumiko MATSUURA, Shuji ANDO,
Takashi KITAMURA

要 旨 インフルエンザ様患者の咽頭ぬぐい液と血清から PCR 法で *Coxiella burnetii* 遺伝子の検出を試みた。咽頭ぬぐい液からは88名中12名に *C.burnetii* の遺伝子が検出されたが、22名のペア血清からは1例も *C.burnetii* 遺伝子は検出されなかった。*C.burnetii* に対する抗体は2名の患者に認められたが、急性期と回復期との間で抗体価に差が認められず、これらの患者の咽頭ぬぐい液から *C.burnetii* 遺伝子は検出されなかった。*C.burnetii* 遺伝子が検出された患者の咽頭ぬぐい液のうち、6名の患者からA型インフルエンザウイルスが分離され、*C.burnetii* との混合感染が確認された。

Q熱は *Coxiella burnetii* の感染によって起こる人畜共通感染症で、1935年オーストラリアにおいて、と畜場従業員に多発した原因不明の熱性疾患“Query fever”に由来し、世界中で広範な分布が知られている(1-3)。長岡ら(4)は1993年にインフルエンザ様症状を呈した55名の学童の保存ペア血清のうち、13名の急性期血清から *C.burnetii* を国内で最初に分離し、わが国でのQ熱の存在を明らかにした。ヒトが *C.burnetii* に感染すると、10-30日の潜伏期を経て発熱、頭痛、などのインフルエンザに類似した症状を生じ、しばしば肺炎や肝炎を伴うといわれている(1-3)。そこで、我々は富山県内での *C.burnetii* の浸淫状況を把握するために、県内で発生したインフルエンザ様患者から PCR 法で *C.burnetii* 遺伝子の検出を試みたのでその概要を報告する。

材料と方法

1. 供試リケッチア

L細胞に増殖させた *C.burnetii* Nine Mile の II 相菌を用いた。

2. 患者からの咽頭ぬぐい液の採取

インフルエンザ様患者の咽頭を滅菌した綿棒で強くこすり、その綿棒はブイヨンの入った試験管内で良く洗い、最後に綿棒に含まれたブイオンを良く絞り、綿棒は廃棄した。このようにして採取した咽頭ぬぐい液は使用するまで凍結保存した。

3. 血清の採取

インフルエンザの定点である小児科医院では採血ができなかったが、集団かぜの場合はペア血清を採取できた。

4. 鋳型DNAの抽出と精製

a. 咽頭ぬぐい液

咽頭ぬぐい液はカナマイシンを加え2時間後、15,000rpmで30分遠心し、上清はインフルエンザウイルスの分離に用いた。沈査からは植物体からDNA精製するキットである ISOPLANT (ニッポンジーン) を用いて、*C.burnetii* 遺伝子検出のための鋳型 DNA を精製した。

b. 血清

患者血清を 1 ml 遠心チューブに移し、15,000 rpm, 20分間遠心し、その沈査をもう一度 PBS で洗浄する。そして、沈査に50ul の蒸留水を加えて100°Cで10分間煮沸し、12,000rpm, 20分遠心後、その上清を鋳型DNAとして用いた。

5. PCRによる *C.burnetii* 遺伝子の検出法

PCR に用いたプライマーは表1に示すように、*C.burnetii* の superoxide dismutase (SOD) 遺伝子 (5) と htp B 遺伝子 (heat shock pro-

tein 遺伝子) (6) からそれぞれ構築した。これらのプライマーを用いて咽頭ぬぐい液と血清から nested PCR によって *C.burnetii* 遺伝子を検出した。PCR 産物の特異性は RFLP 法と塩基配列の決定によって行った。

6. PCR 産物のシーケンシング

PCR 産物は SeaKem GTG agarose (TAKARA) ゲルで電気泳動し、エチジウムプロミッドで染色後、UV イルミネーター下で DNA band を切り出した。DNA は凍結融解により抽出後、アルコール沈澱により精製した。この精製 DNA を鋳型として ABI のシーケンシングキット (BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit) を用いてシーケンス反応を行った。塩基配列はシーケンス反応物を ABI PRISM 310 Genetic Analyzer で電気泳動することによって

表1. インフルエンザ様患者からの *C. burnetii* 遺伝子の検出状況

患 者	年 齢	検体採取 月 日	発生地	体 温	Nested PCR		血清 IF 抗体価		インフルエンザウイルス		
					咽頭ぬぐい液		血 清		C. burnetii Nine Mile株		の分離
					SOD gene	HtpB gene	急	回	急	回	
1. KK	14	12-17.96	小杉町	37.0	-	nt	-	-	10	10	-
2. UU	13	12-17.96	小杉町	36.0	-	nt	-	-	10	10	+ A/H3
3. OT	15	1-13.97	舟見町	?	+	nt	-	-	< 10	< 10	+ A/H3
4. KS	15	1-13.97	舟見町	?	+	nt	-	-	< 10	< 10	+ A/H3
5. NY	22	1- 6.97	福光町	39.3	+	nt					+ A/H3
6. ER	5	1-13.97	平 村	38.0	+	nt					+ A/H3
7. MT	3	1-17.97	福光町	38.0	+	+		nt			+ A/H3
8. TJ	11	1-19.97	福光町	38.8	+	+					+ A/H3
9. KK	4	1-14.97	高岡市	39.6	+	+					-
10. SA	12	1-14.97	高岡市	38.9	+	+					-
11. MU	10	1-24.97	高岡市	39.3	+	+		nt			-
12. YE	10	2- 6.97	高岡市	38.5	+	+					-
13. OY	7	2- 7.96	高岡市	38.6	+	+					-
14. NY	4	2-20.97	福光町	38.8	+	+		nt			-

SOD:superoxide dismutase, htpB:heat shock protein B, +:PCR陽性または分離陽性, -:PCR陰性または分離陰性, 急:急性期血清
回:回復期血清, nt:試験せず

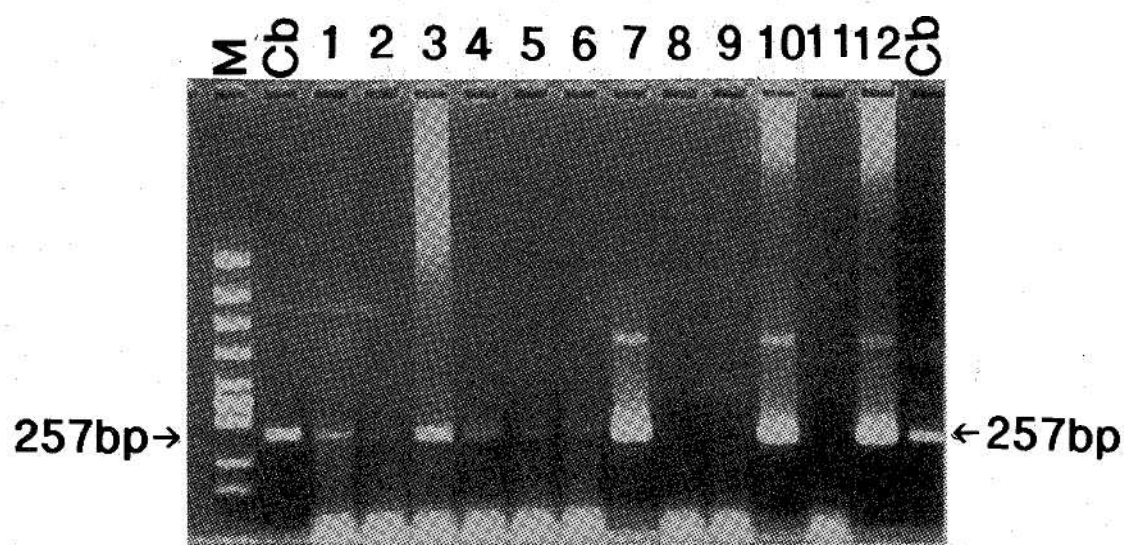


図1. PCR 増幅 SOD 遺伝子断片のアガロースゲル電気泳動

line M; marker DNA, line Cb; *C. burnetii* Nine Mile 株
line 1-line 12; 咽頭ぬぐい液

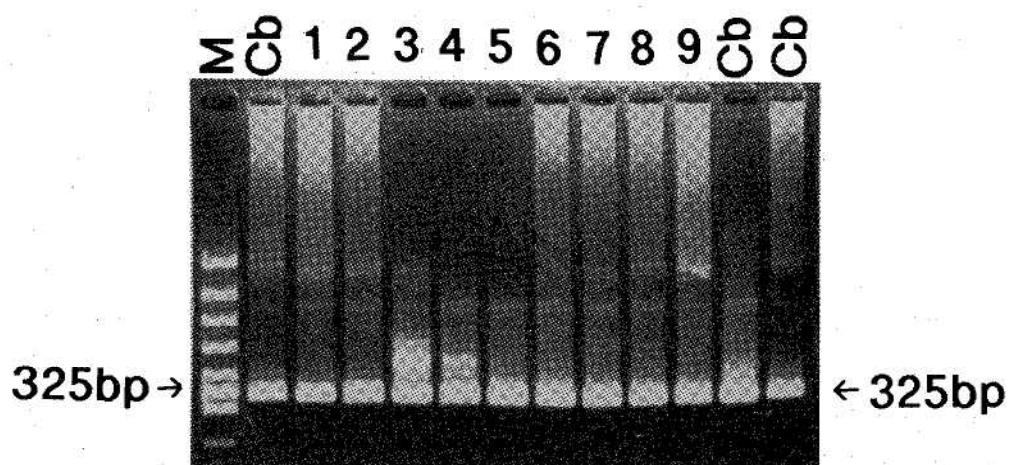


図2. PCR 増幅 thpB 遺伝子断片のアガロースゲル電気泳動

line M; marker DNA, line Cb; *C. burnetii* Nine Mile 株
line 1-line 9; 咽頭ぬぐい液

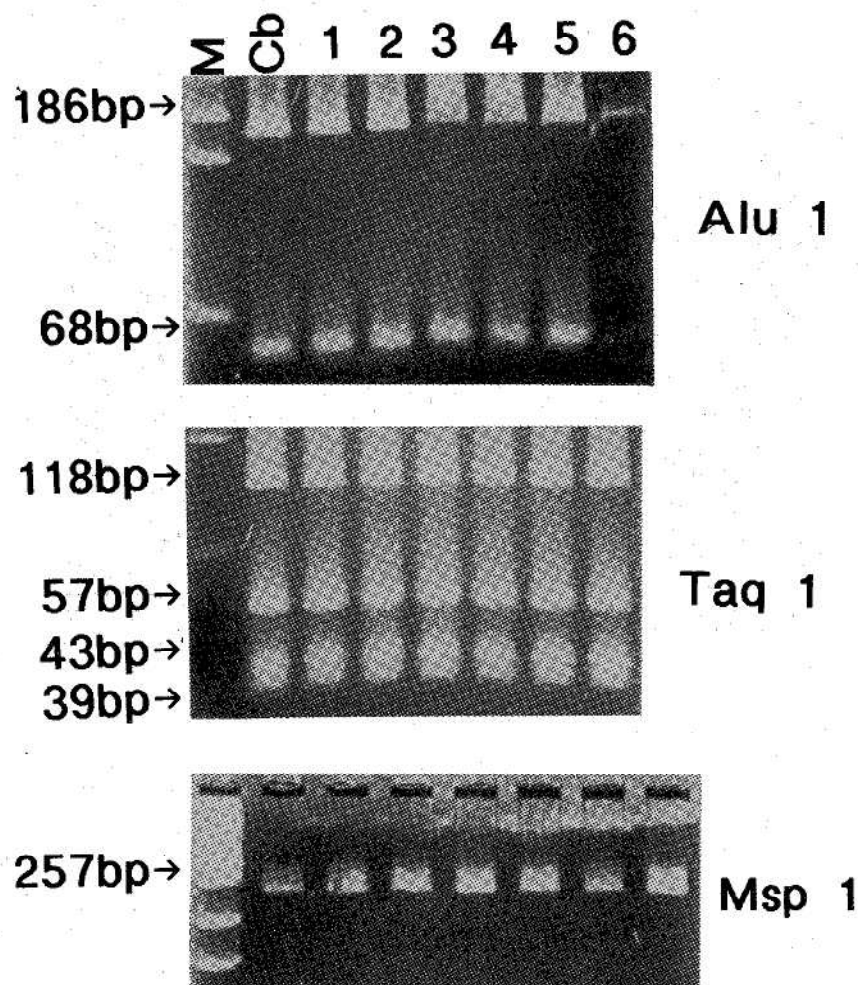


図3. PCR 増幅 SOD 遺伝子断片の制限酵素による切断

line M; marker DNA, line Cb; *C. burnetii* Nine Mile 株
line 1-line 6; 咽頭ぬぐい液陽性検体

決定した。

結 果

7. 抗体価の測定

患者の *C. burnetii* にたいする血清抗体価は、*C. burnetii* Nine Mile 株感染 L 細胞を抗原とした蛍光抗体間接法で測定した。

8. インフルエンザウイルスの分離と同定法

ウイルスの分離は咽頭ぬぐい液を MDCK 細胞に接種することによって行い、分離されたウイルスは日本インフルエンザセンターから分与を受けた抗血清を用いて同定した。

1996年12月から1997年2月までに発生したインフルエンザ様患者88名の咽頭ぬぐい液から *C. burnetii* 遺伝子の検出を試みた。その結果、88名の患者のうち12名の咽頭から *C. burnetii* の SOD 遺伝子が nested PCR 法で検出された(表1)。これら咽頭から増幅された DNA が *C. burnetii* の SOD 遺伝子であるかどうかを確認するために、PCR 産物の制限酵素切断パターンと塩基配列を Nine Mile 株のそれと比較した。PCR 産物の Alu 1, Taq 1, Msp 1 酵素での切断パターンは Nine Mile 株のそれと一致し、ま

Consensus	ACTCAACGCA CTGGAACCGC ATATCTCTCA AGAAACGCTC GAATATCACC	50
Cb-NM SOD		50
Inf 134		50
Inf 130		50
Inf786F		50
Consensus	ACGGAAAACA CCATAGAGCT TATGTCAATA AACTCAACAA ACTTATCGAA	100
Cb-NM SOD		100
Inf 134		100
Inf 130		100
Inf786F		100
Consensus	GGCACCCTT TTGAAAAGGA ACCTCTGGAA GAAATTATTC GAAAATCCGA	150
Cb-NM SOD		150
Inf 134		150
Inf 130		150
Inf786F		150
Consensus	CGGCGGAATC TTCAACAATG CAGCACAACA TTGGAACCAT ACATTTTATT	200
Cb-NM SOD		200
Inf 134		200
Inf 130		200
Inf786F		200
Consensus	GGCACTGCAT GAGCCCTGAT GGCGGTGGAG ATCCTTCTGG CGAATTGGCT	250
Cb-NM SOD		250
Inf 134		250
Inf 130		250
Inf786F		250
Consensus	TCAGCTA	257
Cb-NM SOD		257
Inf 134		257
Inf 130		257
Inf786F		257

図4. インフルエンザ様患者咽頭より増幅した *C. burnetii* CS 遺伝子の塩基配列

た、塩基配列も完全に一致した(図3, 図4)。この結果、患者咽頭より検出されたDNAは *C. burnetii* のSOD遺伝子であることが確認された。

咽頭より *C. burnetii* が検出された患者は年齢が4歳~22歳で、発熱(38.0~39.3℃)、頭痛、咽頭痛、全身倦怠、関節痛、腹痛などを伴う典型的なインフルエンザ様症状を呈していた。そして、

C. burnetii が検出された患者のうち、6名の咽頭からA型のインフルエンザウイルスが分離され、*C. burnetii* との混合感染が確認された。残りの6名の患者の咽頭からはインフルエンザウイルスは分離されなかった。この6名が、インフルエンザウイルスに感染した患者で、たまたまウイルスが分離できなかっただけなのか、*C. burnetii* の単独感染なのか、患者からペア血清が採取できな

かったために確認できなかった。咽頭から *C.burnetii* が検出された患者のうち、2名からペア血清が得られたが、2名の患者とも回復期において、*C.burnetii* に対する抗体の有意上昇は認められなかった。

インフルエンザ様患者が集団発生した学童、生徒から22名のペア血清が得られた。このペア血清から *C.burnetii* に対する抗体と SOD 遺伝子の検出を行った。*C.burnetii* に対する抗体保有者は2名認められたが、急性期と回復期との間に抗体価の差は認められなかった。また、22例のペア血清からは1例も COD 遺伝子は検出されなかった。

考 察

日本では1950年代にWHOの要請で血清疫学調査が行われ、家畜と接触する職業人の2.9%に抗体が認められたが、以後、研究が途絶えていた。1989年小田ら(7, 8)は、鹿児島県内の獣医師9名中2名に *C.burnetii* にたいする抗体を証明している。また、平井らは呼吸器疾患患者、獣医師、食肉処理場従業者、一般健康者を対象に抗体保有状況調べ、呼吸器疾患患者、獣医師、食肉処理場従業者が一般健康者に比べて有意に高い抗体保有率を示すことを報告した(9)。また、家畜にも *C.burnetii* の感染が広がっており、特に、繁殖障害のあるウシの80%以上は *C.burnetii* の抗体を保有していることを指摘している(10)。また、平井らは野生動物についても調査をし、クマ78%、ニホンシカ56%、サル28%、ノウサギ63%の抗体保有率を示し、わが国の野生動物の間にも *C.burnetii* の感染が予想以上に浸淫していることを指摘している(11)。

ヒトの場合、呼吸器疾患患者が高率に *C.burnetii* の感染を受けていることが指摘されている(4, 6)。そこで、我々はインフルエンザ様疾患に着目し、この疾患に *C.burnetii* がどの程度関与しているかを検索した。88名の患者のうち、12名の患者咽頭に *C.burnetii* が感染していた。*C.burnetii* 感染者の半数はA型インフルエンザウ

イルスとの混合感染であったが、ウイルスの単独感染と比べて症状が重いといったことは見られなかった。一方、残りの6名の患者からは、インフルエンザウイルスが分離されなかった。しかしながら、これらの患者が *C.burnetii* の単独感染によってインフルエンザ様症状を起こしたかどうかは、ペア血清が得られなかったので確認できなかった。*C.burnetii* に感染するとその大部分は無症状か、風邪様疾患で終わるのがほとんどだといわれている(1-3)。しかし、急性感染者のおよそ10%は慢性感染に移行し、心内膜炎や肝炎、腎炎といった様々な病態を呈するといわれている(1-3)。今回の検索で呼吸器感染症に *C.burnetii* が何らかの関与していることが示唆された。今後は、感染源、感染経路の究明はもちろん、感染者の臨床症状とその経過を追跡し、呼吸器感染症における *C.burnetii* 感染の意義を明らかにする必要がある。

文 献

1. Burnet F. M., and Freeman M.(1937). Med. J. Aust., 2, 299-305.
2. Derrick E. H.(1937). Med. J. Aust., 281-298.
3. Marrie T. J.(1990). Epidemiology of Q fever p.24-70, in Marrie T. J.(ed), Q fever, vol.1, CRC Press Boca Raton.
4. Nagaoka H., Akiyama M., Sugieda M., Nishio T., Akahane S., Hattori H., To Ho, Fukushi H., and Hirai K.(1996). Microbiol. Immunol., 40, 147-151.
5. Stein A. and Raoult D.(1992). J. Clin. Microbiol., 30, 2462-2466.
6. To H., Kako N., Zhang G.Q., Otsuka H., Ogawa M., Ochiai O., Nguyen SA V., Yamguchi T., Fukushi H., Nagaoka N., Akiyama M., Amano K., and Hirai K.(1996). J. Clin. Microbiol., 34, 647-651.
7. Oda H., Yoshiie K.(1989). Microbiol. Immunol. 33, 969-973.

平成10年10月1日

8. 小田 弘, 吉家清貴 (1994). 臨床と微生物, 21, 687-691, 1994.
9. Htwe KK., Yoshida T., Hayashi S., Miyake T., Amano K., Morita C., Yamaguchi T., Fukushima H., and Hirai K.(1993). J. Clin. Microbil, 31, 722-723.
10. To Ho, Htwe K.K., Yamasaki N., Zhang G.Q., Ogawa M., Yamaguchi T., Fukushima H., and Hirai K.(1995). Microbiol. Immunol., 39, 663-671.
11. Ejrcito C.L.A, Cai L., Htwe K.K., Takai M., Inoshima Y., Kondo T., Kano C., Abe S., Shirota K., Sugimoto T., Yamaguchi T., Fukushima H., Minamoto, N., Kinjou T., Isogai E., and Hirai K.(1993). J. Wildlif Diseases, 29, 481-484.
12. Yuasa Y., Yoshiie K., Takasaki T., Yoshida H., and Oda H.(1996). J. Clin. Miclobiol., 34, 824-827.

富山県における溶血レンサ球菌分離株の 菌型と薬剤感受性

田中大祐 細呂木志保 刑部陽宅 香取幸治¹
赤間美徳² 柏木義勝³

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

Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI,
Yotaku GYOBU, Koji KATORI¹,
Yoshinori AKAMA² and Yoshikatsu KASHIWAGI³

要 旨 富山県で1982～1997年の間に分離された臨床材料由来溶血レンサ球菌（溶レン菌）について、分離材料、患者の平均年齢と分離株の群の関係、A、B両群の型別分布および分離株の薬剤感受性を調べた。結果は次のようであった。

1. 分離株の群別分布では、各年次においてB群、次にA群が優勢で、両者が全体の80%以上を占めた。G群は全体のおよそ10～16%であり、C群は極めて少なく約1%であった。主としてA群は小児の咽頭から、B群は高齢者の喀痰や化膿巣、分泌物などや尿から分離された。G群は高齢者の喀痰や化膿巣、分泌物などから分離された。

2. 1982～1997年の間に分離されたA群のT型別分布の変遷を見ると、T4型とT12型が長期間高い検出率を示し、T1型はほぼ5年周期で高い検出率を示していた。1997年はT1型、T2型、T12型の順に多かった。B群では、1997年はNT-6型、JM-9型、Ⅲ型の順に多かった。

3. 薬剤感受性に関して、1996年はTCに対してA群、B群、G群で一部の菌株が耐性であった。B群では、少数の菌株がEM、LCMに対しても耐性であった。ペニシリン系のABPCやセフェム系のCFDN、CDTRに対しては、すべての菌株が高い感受性を示した。

A群溶血レンサ球菌（溶レン菌）は、咽頭炎、扁桃炎、中耳炎、猩紅熱や、ときに続発症としてリウマチ熱や急性糸球体腎炎を引き起こす。1992年から致死率の高い劇症型A群レンサ球菌感染症（Toxic shock like syndrom ; TSLS）がわが国でも報告されている [1, 2]。一方、B群溶

レン菌は、新生児の敗血症や髄膜炎の原因として重要であり、C群及びG群溶レン菌は、ときに上気道炎などを起こしている。

ここでは、このような溶レン菌の流行の実態と有効な薬剤を把握するため、富山県下で臨床材料から分離された菌株について、群別、型別、薬剤

1. 富山県立中央病院 2. 富山市民病院 3. 東京都立衛生研究所

感受性を調べた結果を報告する。

東京都立衛生研究所で行った。

結果と考察

材料と方法

病原微生物検出情報収集定点である県内12か所の公立病院の内の2病院の細菌検査室で分離された溶レン菌を用いた。群別はストレプト LA「生研」(デンカ生研)を用いた感作ラテックス凝集反応によって実施し、A群T型別およびB群型別はそれぞれの型別用血清(デンカ生研)を用いて行った。薬剤感受性試験は、アンピシリン(AB PC)、セフジニル(CFDN)、セファレキシシン(CEX)、セフジトレン(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)、リンコマイシン(LCM)の9剤を使用し、

1993~1997年の間に分離された溶連菌について、分離材料、分離株の群と患者の平均年齢の関係をTable 1に示す。B群、次にA群が多く、両者が全体の80%以上を占め、G群は全体の10~16%であり、C群は極めて少なく約1%であった。咽頭からはA群が多く分離されるが、その場合は小児が多かった。喀痰からはB群やG群が主に分離され、その場合は患者の平均年齢は極めて高かった。化膿巣、分泌物などからはA、B、G群が分離されるが、A群の場合は、B、G群に比べて患者の平均年齢が比較的低かった。尿からの分離はほとんどが尿路感染症の原因となるB群であるが、この場合も平均年齢は喀痰からと同様に極めて高かった。血液、髄液からは分離株数が少ないがB群が

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

Year	Specimen	Serogroup of Streptococci				Total
		A	B	C	G	
1993	Throat swab	70*(9)**	13(47)		5(25)	88
	Sputum	6(46)	38(64)	2(70)	19(63)	65
	Pus, exudate etc.	20(20)	51(46)	1(37)	13(55)	85
	Urine		43(63)		5(79)	48
	Blood, cerebrospinal fluid	1(63)	1(78)			2
	Total	97:33.7%	146:50.7%	3:1.0%	42:14.6%	288
1994	Throat swab	80(8)	11(35)	2(13)	4(24)	97
	Sputum	3(36)	27(67)		13(60)	43
	Pus, exudate etc.	14(39)	48(52)		18(45)	80
	Urine		33(65)		5(83)	38
	Blood, cerebrospinal fluid		3(51)		1(73)	4
	Total	97:37.0%	122:46.6%	2:0.8%	41:15.6%	262
1995	Throat swab	46(8)	8(43)		2(23)	56
	Sputum	4(45)	24(68)		6(71)	34
	Pus, exudate etc.	10(28)	52(52)		10(66)	81
	Urine		18(65)	1(76)	1(75)	20
	Blood, cerebrospinal fluid	1(5)	3(51)		2(64)	6
	Total	61:32.4%	105:55.9%	1:0.5%	21:11.2%	188
1996	Throat swab	58(8)	1(81)		6(28)	65
	Sputum	2(46)	26(63)		15(67)	43
	Pus, exudate etc.	18(26)	38(50)		12(63)	68
	Urine	1(5)	31(60)			32
	Blood, cerebrospinal fluid		5(51)		1(25)	6
	Total	79:36.9%	101:47.2%	0:0%	34:15.9%	214
1997	Throat swab	66(11)	7(14)	1(31)	1(32)	75
	Sputum	10(59)	29(67)	1(77)	13(61)	53
	Pus, exudate etc.	23(35)	77(49)	2(68)	13(64)	115
	Urine	1(9)	29(78)		1(74)	31
	Blood, cerebrospinal fluid	1(85)	3(58)			4
	Total	101:36.3%	145:52.2%	4:1.4%	28:10.1%	278

*: No. of isolates, () **: Mean age of host

多かった。その場合、新生児からの分離株も含まれるが、患者の平均年齢は比較的高かった。これらの関係は、毎年極めて類似していた。

1997年のA群分離株の月別のT型別分布をTable 2に示す。表中の最下段の数字は定点12か所の医療機関からの上気道及び下気道におけるA群分離株の毎月の報告数である。型別結果をみると、T 1型が最も多く、次いでT 2型、T12型の順に多かった。当所は溶レン菌の東海北陸ブロックのレファレンスセンターとして、県外で分離された菌株の型別も行っている。表には示さないが、福井県の一公立病院から送られてきた菌株を調べたところ、菌株数は少ないが1997年はT 6型が多かった。

1997年のB群分離株の月別の型別分布をTable 3に示す。NT-6型、JM-9型、I b型の順に多かった。

1982年～1997年の間に分離されたA群のT型別分布をTable 4に示した。16年間に型別に供した2149株の中では、①T12型 519株、②T 4型 411株、③T 1型 270株、④T 3型 209株、⑤T28型 155株、⑥T 6型 80株、⑦TB3264型 78株、⑧T

13型 63株、⑨T 2 50株、⑩T18型 47株の順に多かった。T 4型とT12型は長期間高い検出率を示し、T 1型はほぼ5年周期で高い検出率を示していた。Inagakiら[3]は、1990～1995年に日本で分離されたA群溶レン菌について調べたところ、TSLsではT 3型とT 1型が優勢であったこと、TSLsにおけるT 3型の優勢さは咽頭炎等の溶連菌感染症におけるT 3型の増加と関連している様であったことを報告している。富山県ではT 3型は近年減少傾向にあり、1997年は検出されなかったが、今後も監視が必要である。

1996年に分離したA群 26株、B群 20株、G群 3株、計49株の薬剤感受性試験の結果をTable 5に示す。MIC値が25 μ g/ml以上を耐性とする、TCに対してA群 5株(T 3型 1株、T 4型 2株、T 9型 1株、T11型 1株)、B群 4株、G群 1株が耐性であった。また、B群ではEMに対して1株とLCMに対して2株が耐性であった。ペニシリン系のABPCやセフェム系のCFDN、CDTRに対しては、すべての菌株が高い感受性を示した。遠藤ら[4]も、1967～1996年の30年間に分離されたA群溶レン菌において、

Table 2. Monthly Distribution of T Types of Group A Streptococci in 1997

T type	Month												Total
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	
1	2		4	3	5	5	4	2	1	2	3	1	32
2	4	1	2			2	1	1	1	1	3	2	18
3													0
4		1	1		1							1	4
6					3	5	1						9
11								1				1	2
12			1	2	2	2				1	3	4	15
13				1									1
22					1								1
25						1			1				2
28	1	1	1	2	1					1	2		9
B3264							1					1	2
UT		2							1	1	2		6
Total	7	5	9	8	13	15	7	4	4	6	13	10	101
Reported number of strains from 12 Hospitals	42	61	53	50	61	63	30	24	24	29	63	89	589

平成10年10月1日

Table 3. Monthly Distribution of Types of Group B Streptococci in 1997

Type	Month												Total
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	
I a			1	1	1		1	2	2	2			10
I b		2	1	2	3	2	2	1	2	2	1	2	20
II					1		1	1		1			4
III		4	1		2	2	1		1	1	1	1	14
IV													0
V											1		1
NT-6	5	8	4	4	11	4	8	6	3	2	1		56
WHO-7271													0
JM-9	1	2	3	1	2	2	1	2	4	4	2	1	25
UT	1	4	2	2	1	1		2		1		1	15
Total	7	20	12	10	21	11	14	14	12	13	6	5	145

Table 4. T Type Distribution of Clinical Isolates of Group A Streptococci in Toyama since 1982

Year	T type																		UT	Total
	1	2	3	4	5	6	8	9	11	12	13	18	22	25	28	B3264	Imp. 19	14/49		
1982	20** (26.3)**			2						27 ¹ (35.5)	4		3		2	3	6 ³ (7.9)		9	76
1983	2			69 ¹ (42.6)						41 ² (25.3)	22 ³ (13.6)		1		11	6			10	162
1984	6		8	30 ² (24.0)	1		1		2	42 ¹ (33.6)	9		1		10 ³ (8.0)	3	1		11	125
1985	3		55 ¹ (38.5)	26 ³ (18.2)		1			3	31 ² (21.7)	8	1	1		7	2			5	143
1986	1		64 ² (23.1)	27 ³ (9.7)	1	1	6		11	125 ¹ (45.1)	8	8	1		15				9	277
1987	29 ³ (11.9)		13	44 ² (18.0)	1	17	1		5	69 ¹ (28.3)	4	22			22	2			15	244
1988			2	43 ² (24.0)		15 ³ (8.4)	1		1	14		7			6				24	179
1989	11			46 ¹ (30.2)		29 ² (19.3)			4	8	2	2			18 ³ (12.0)	8			22	150
1990	14		1	26 ¹ (22.0)		8		1	3	22 ² (18.6)		1			16 ³ (13.6)	3			23	118
1991	20 ² (14.5)			20 ² (14.5)			1	3	4	51 ¹ (36.9)	1				12	15		2	9	138
1992	21 ¹ (20.6)		14	19 ² (18.6)			1		2	6	3	4			4	15 ³ (14.7)			13	102
1993	18 ² (18.6)		21 ¹ (21.6)	18 ² (18.6)			2	1	2	14					6	6			9	97
1994	12			17 ² (17.5)			1		1	34 ¹ (35.1)		2			7	3			6	97
1995	8	1		12 ² (19.7)		19 ¹ (31.1)				9 ³ (14.8)					5	3			4	61
1996	7 ² (8.9)	31 ¹ (39.2)	2	4				1	2	11 ² (13.9)	1				5	7 ³ (8.9)			8	79
1997	32 ¹ (31.7)	18 ² (17.8)		4		9			2	15 ¹ (14.9)	1		1	2	9	2			6	101
Total	270	50	209	411	3	80	14	6	42	519	63	47	8	2	155	78	7	2	183	2149

*: Order of prevalence, **: Percentage occupied by the corresponding type

Table 5. Antibiotic Susceptibility of Hemolytic Streptococci in 1996

Group	Antibiotics	MIC ($\mu\text{g/ml}$)														
		0.0075	0.015	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	>64
A	ABPC	1*	24	1												
	CFDN	14	12													
	CEX							24	2							
	CDTR		14	12												
	TC						15	3	2				1	4	1	
	CP									1	25					
	EM				2	23	1									
	CAM			1	17	8										
	LCM					4	19	3								
	B	ABPC				14	6									
CFDN				17	3											
CEX										7	13					
CDTR				2	18											
TC							11	5						3	1	
CP											19	1				
EM						4	13				1		1			1
CAM					2	15			1			1	1			
LCM							1	15	2							2
G		ABPC		1	2											
	CFDN		2	1												
	CEX							2	1							
	CDTR			3												
	TC						2							1		
	CP										3					
	EM					2	1									
	CAM				1	2										
	LCM						1	2								

*: No. of isolates

耐性菌が存在しなかったことから β ラクタム系薬剤の有効性を示唆している。

文 献

1. 清水可方, 大山晃弘, 笠間和典, 宮崎増美, 大江健二, 大河内康実 (1993). 感染症誌, 67, 236-239.
2. 国立予防衛生研究所編 (1997). 病原微生物検出情報月報, 18巻2号, 1-5.
3. Inagaki, Y., Konda, T., Murayama, S., Yamai, S., Matsushima, A., Gyobu, Y., Tanaka, D., Tamaru, A., Katsukawa, C., Katayama, A., Tomita, M., Fuchi, Y., Hoashi, K., Watanabe, H. and The Working Group for Group A Streptococci in Japan (1997). Epidemiol. Infect., 119, 41-48.
4. 遠藤美代子, 奥野ルミ, 柏木義勝, 榎田隆一, 五十嵐英夫 (1997). レンサ球菌感染症研究会第30回学術講演会プログラム

都市河川水のサルモネラ定点観測

磯部 順子 田中大祐 細呂木志保

Salmonella Surveillance on River Water in an Urban Area

Junko ISOBE, Daisuke TANAKA
and Shiho HOSOROGI

要 旨 1979年から1997年にかけて富山市内の4河川に11定点、1996年からは射水地区の河川に3定点を設けて定期的に採水し、サルモネラの分布状況を調べ、あわせてヒトから分離された菌との比較を行った。また、1996～1997年は、選んだいくつかの地点で大腸菌についての調査も行った。結果は次のようであった。

1. 1997年の富山市内河川水からのサルモネラ検出率は25/88 (28.4%) で、分離されたサルモネラは計25株であった。これら分離菌は、血清型 *Salmonella* Thompson 5株, *S. Paratyphi* B 3株, *S. Enteritidis* (以下S.E), *S. Newport*, *S. Muenster*, *S. Abony* 各1株であった。一方、射水地区河川水からのサルモネラの検出率は7/33 (18.2%) で、1996年の1株に比べて多かった。主な分離菌は、血清型 *S. Newport* 2株, *S. Thompson*, *S. E*, *S. Agona*, *S. Corvallis*, *S. Cerro* それぞれ1株、計12株であった。

2. 1997年にヒトから分離され、衛生研究所に集まったサルモネラは14血清型58株で、その血清型をみるとS.Eが40株 (69.0%) と最も多く、次いで*S. Typhimurium* 3株 (5.4%), *S. Hadar* 2株 (3.4%) の順であった。

3. 過去18年間に河川水およびヒトから分離されたサルモネラの主な血清型をみると、河川水では*S. Paratyphi* B (119株, 11.8%), *S. Typhimurium* (69株, 6.8%), *S. Infantis* (57株, 5.6%) の順に多く、ヒトではS.E (416株, 27.7%), *S. Typhimurium* (157株, 10.5%), *S. Paratyphi* B (144株, 9.6%) の順に多かった。

4. 分離された主な血清型のサルモネラの薬剤耐性を調べると、耐性株頻度はS.Eで209/473 (44.2%), *S. Typhimurium* で96/226 (42.5%), *S. Litchfield* で42/108 (38.9%) であった。耐性菌の耐性パターンではストレプトマイシン(S)単独耐性、テトラサイクリン(TC)単独耐性、TC, S 2剤耐性、その他の順に多かった。

5. 11定点の河川水について、いくつかの血清型の大腸菌 (O6, O18, O148, O157) を検査したところ、O148が1株、O18が6株、O6が2株分離された。

サルモネラは動物や自然界に広く分布する細菌性食中毒の原因菌である。わが国におけるサルモネラ食中毒の発生件数をみると、1992年に細菌性

食中毒の原因菌の第1位となり、その後も増加傾向のまま推移している [1]。また、患者数については1991年から最も多くなり、その数は全体の

約4割を占めている。1995年からは死者の発生が3年間も続けて報告されている〔2〕。われわれは、このサルモネラによる環境汚染の実態とヒトにおける流行状況を把握する目的で、都市河川水の定点観測を1979年より実施してきた。本報告では、河川水およびヒトからのサルモネラの分離状況および分離株の血清型、薬剤耐性について述べる。

調査定点および方法

調査定点は、図1に示す富山市内を流れる4河川、いたち川(I)、松川(M)、赤江川(A)、土川(D)に設けた11定点とした。しかし、1996年からそれらの内比較的距離の近い3箇所を省いて8定点とし、新たに射水地区内の新堀川とそれに注ぐ支流に3定点を設けた(図2)。採水は、富山市内の河川は1979年6月から1981年5月まで毎月1

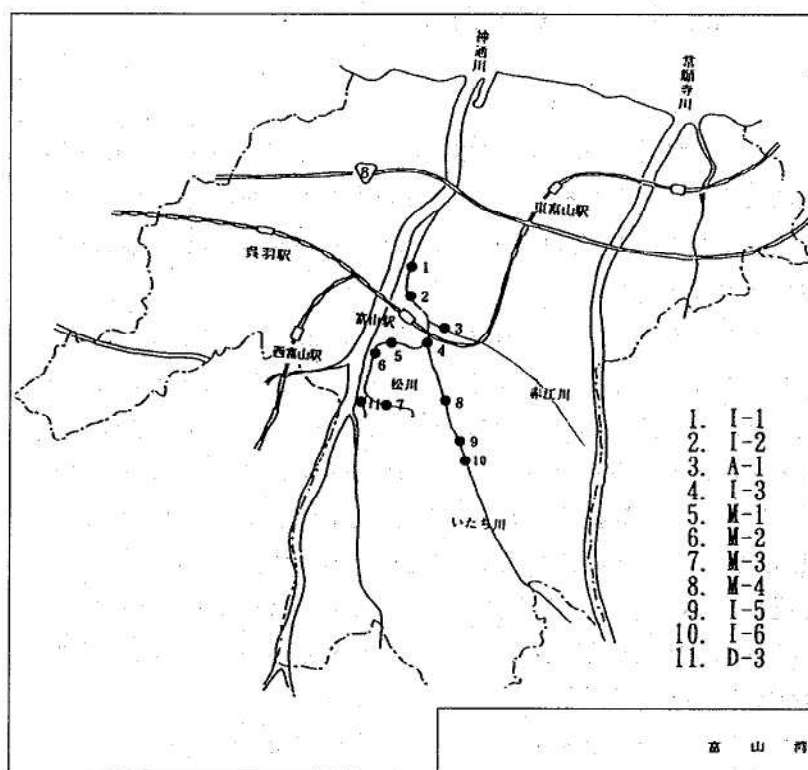


図1. 富山市採水地点

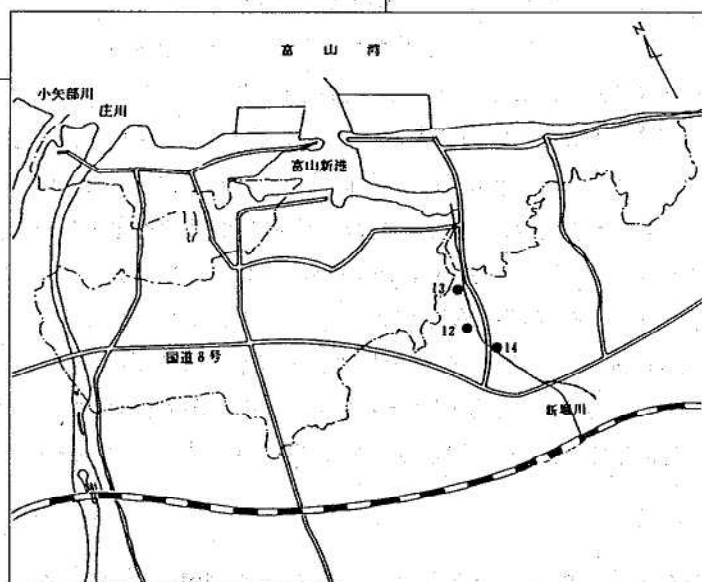


図2. 射水地区採水地点

回、その後は隔月に行った。一方、射水地区の河川は1996年3月から12月まで毎月行った。ただし1997年は富山市内については2月を除いて毎月、また、射水地区については3月から11月の間毎月1回採水を行った。

サルモネラの分離法は既報[3]のとおりであるが、使用増菌培地、薬剤感受性試験および大腸菌の検査については1996年と同様とした[4]。なお、サルモネラについては10月からの3か月、Dynabeads anti-Salmonella (DYNAL社)を使用した、いわゆるビーズ法による検出も同時に行った。ビーズ法については試薬の添付書に従ったが、ビーズと増菌液との攪拌時間については20分とした。

ヒト由来サルモネラは、県内の公立病院および保健所で患者および保菌者から分離され、同定のため当所に送付された1498株について各種性状を調べた。

結果および考察

定点別のサルモネラおよび大腸菌の分離状況を表1に示した。

サルモネラについてみると、1997年の富山市各定点からの分離株数は2～4で、1年を通じてサルモネラが分離されなかった定点はなく、全体の分離率は25/88 (28.4%)であった。血清型別にみると S.Thompson (5株)、S.Paratyphi B (3株)、そして型名のわからない「4:i:-」(6株)の順に多く分離された。S.Thompson に注目すると、分離定点は I-1 (ST1)、I-3 (ST4)、M-1 (ST5) そして D-1 (ST11) であることから、この時期に河川 D、M、I につながる上流でなんらかの汚染があったことが考えらる。

射水地区の河川からのサルモネラ分離は1996年は S.Tennessee が1株だけであったが、1997年は3定点すべてで分離され、分離数は5月から10月までの間に11株であった。定点12 (7月) では4血清型4株と多く分離された。

1997年は10月から検査に「ビーズ法」を併用し

た。従来法およびビーズ法の両方で分離されたのは I-1、A-3 (11月) の2定点であった。また、従来法のみで分離されたのは M-1 (11月) だけであったのに対し、ビーズ法のみで分離されたのは M-3、I-1、I-4 (10月)、M-3 (11月)、I-3、M-1、M-3、D-11 (12月) であった。この結果は、サルモネラの検出にはビーズ法を用いることが良いことを示す。

大腸菌 (O6, O18, O148, O157) の分離状況を見ると、血清型 O18 は3月に3株、4月に2株、10月に1株、O6 は4月に2株、そして O148 は4月に1株が分離された。血清型 O157 はいずれの定点からも分離されなかった。

表2、3は、過去19年間に河川あるいはヒトから分離された主な血清型のサルモネラの年次別分布を示す。河川についてみると、分離数は S.Paratyphi B 119株 (11.7%)、S.Typhimurium 69株 (6.8%)、S.Infantis 57株 (5.6%) の順に多かった。また、S.Typhi は1989年までほぼ毎年分離されたが、1990年以降1997年までの8年間全く分離されなかった。年間分離数は、1981年以前は100株以上であったが、1982年頃から減少しはじめ、1986年には50株以下となった。そして1993年は12株、1996年には5株と少数であったが、今回はビーズ法を併用したためか41株と少し多かった。1981年から1982年にかけての減少は、既報[5]にもあるとおり松川への取水による流水量の増加が関係していると考えられる。しかし、この取水以降も全体として減少傾向にあるのは、別に調べた図3の成績から富山市の下水道普及率の上昇や鶏の飼育数の減少なども関係しているものと思われる。

一方、ヒトから分離されたサルモネラについてみると、S.E (416株、27.3%) が最も多く、次に S.Typhimurium 157株 (10.3%) S. Paratyphi B 144株 (9.5%) の順であった。これら3血清型は毎年分離されているが、特に分離数の多い1980年の S.Typhimurium 21株、1988年の S.Paratyphi B 22株、1994年の S.E 134株はいずれも集団発生を反映している。1997年で見ると S.E が40株で全体の71.4%を占め、次に S.Typhimu-

表1. 定点からのサルモネラ・大腸菌の分離成績 (1997年)

	1 (I-1)	3 (A-1)	4 (I-3)	5 (M-1)	7 (M-3)	8 (I-4)	10 (I-6)	11 (D-1)	12	13	14	計
1								S. Enteritidis*				1/8****
3												0/11
4								E. C(018)*	E. C(018)			0/11
5		S. Paratyphi B	E. C(0148)						E. C(06, 018) ?b:l, 2	E. C(06)		0/11
6			4:i:-	S. Muenster		4:i:-	4:i:-				?:l, v:l, 5	2/11
7	4:i:-	4:i:-		4:i:-					S. Thompson ?k:l, 5 S. Agona ?l, v:l, 5 S. Corvallis S. Cerro			5/11
8		S. Abony			S. IV	?a:enzis				S. Newport		4/11
9											S. Enteritidis	1/11
10	S. Newport(?)*				?:l, v:l, 5(?)	?:l, v:l, 5(?)	?:l, v:l, 5				?:l, v:l, 5 S. Newport(?)	5/11
11	S. Paratyphi BS, Paratyphi B			?:l, v:l, 7								4/11
12	S. Paratyphi BS, Paratyphi B (?) S. Thompson											5/8
12	S. Thompson(?)		S. Thompson(?), S. Thompson(?), S. Thompson(?)					S. Thompson(?)				5/8

E. C()* : 検出された大腸菌のO血清型
 (ビ)*** : 検出されたサルモネラの血清型または抗原構造
 **** : ビーズ法で検出されたサルモネラの血清型または抗原構造
 : : サルモネラ陽性数/検査数

表2. 河川からのサルモネラの年次別分離状況

血清型	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	計
Paratyphi B	5	20	8	15	20	16	19	3	1	3	3	3	3	3	3	2	2	1	3	119
Typhimurium	13	11	9	1	4	8	2	6	6	2	2	2	2	2	2	1	5	1	1	69
Infantis	4	20	14	1	1	6	3	2	1	2	1	2	1	1					1	57
Enteritidis	2	3	9	6	3	2					4	3			2	1	4		1	40
Typhi	1	10	5	1	1	2	4	5	3											32
Agona	1	2	1	8	2	3	5		5	2				2	1	1			1	34
Litchfield	1	5	11	1	1	3	2	4	2											31
Tennessee	3	1					1		1	3	5	2	4			9	2			31
Thompson	4	1	7	2	1		2		1	1		2		3		5			5	34
Braenderup	1	11	1		2		4								2					21
その他	97	79	37	27	40	23	37	25	9	19	28	23	16	12	5	30	18	2	16	548
分離菌株数	128	156	108	65	75	57	80	39	26	27	45	38	21	21	12	49	32	5	8	
血清型数	38	37	22	16	19	14	20	11	10	14	18	14	7	9	6	18	16	4	25	1010

表3. ヒトからのサルモネラの年次別分離状況

血清型	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	計
Enteritidis	1	4	39	1	4	1	1	3	1	7	26	4	16	20	40	134	20	54	40	416
Typhimurium	1	21	12	4	6	8	12	6	9	5	10	7	2	11	7	18	10	4	3	156
Paratyphi B	11	11	7	12	15	11	14	5	5	22	6	2	5	12	1	2	2	1		144
Typhi	12	7	16	9	5	9	2	3	3	1	3	5	5		3			2		85
Litchfield	1	8	5	3	4	9	13	6	5	5	2	3	2	2	4	3	1	1		77
Montevideo					30	18	3		1	2	2	2	2	1	3	5	2	2		71
Infantis	3	21	3	1	1	7	7	2	3			7	2	2	2	4	6	19		88
Braenderup	3	1			4	1	5	3	3			1	3	11	2	4	1	3	1	46
Havana									35					1				1		37
Hadar								2	1	4	7	4	2	1			1	1	2	25
その他	17	9	28	16	20	13	19	15	15	16	20	24	16	13	11	40	19	30	10	353
分離菌株数	46	84	111	46	89	77	76	45	80	61	76	59	55	74	71	210	62	118		
血清型数	20	20	18	16	14	15	20	21	20	18	24	25	16	16	17	18	30	30	56	1498

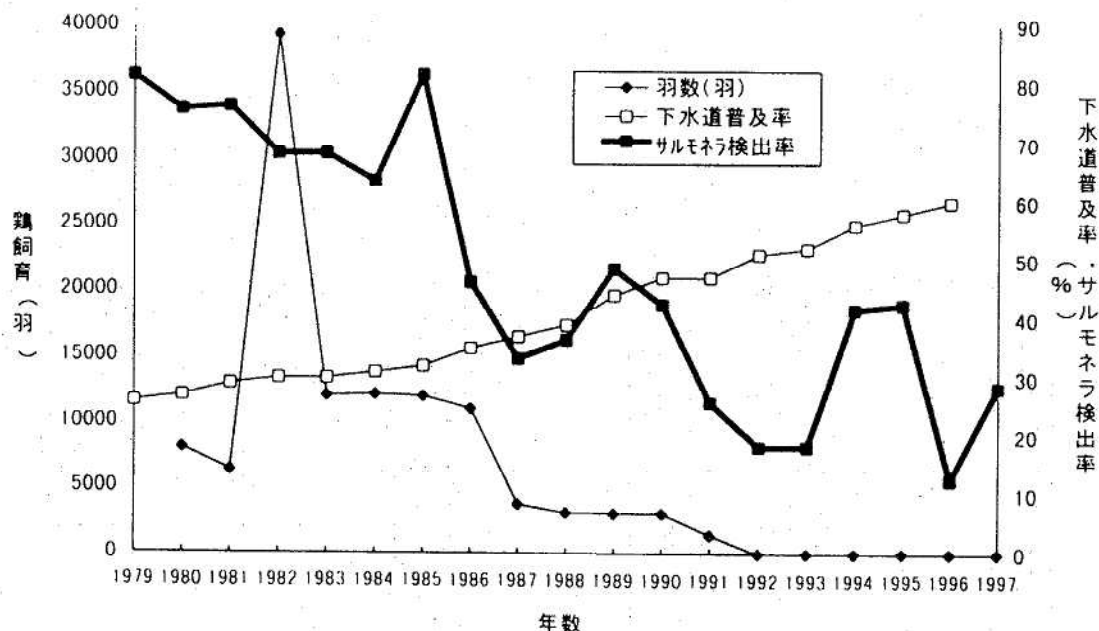


図3. 下水道普及率、鶏飼育数と河川からのサルモネラ検出率の年次推移

表4. 分離されたサルモネラにおける薬剤耐性株頻度

血清型	由来	
	ヒト	河川
Paratyphi B	23/144* (16.0)	8/120 (6.7)
Typhimurium	74/157 (47.1)	22/69 (31.9)
Enteritidis	203/416 (48.8)	6/57 (10.5)
Infantis	6/88 (6.8)	9/42 (21.4)
Litchfield	34/77 (44.2)	8/31 (25.8)
Typhi	6/85 (7.1)	1/32 (3.1)
Tennessee	1/16 (6.7)	3/31 (9.7)
Agona	1/14 (7.1)	4/34 (11.7)
Thompson	2/19 (10.5)	0/33 (0)
Braenderup	5/47 (10.6)	0/21 (0)
合計	355/1063 (33.4)	61/470 (13.0)

* ; 分子は、SM, TC, CP, KM, GM, CL, CET, NA, ABPCの内1剤以上に耐性であった菌株数を示し、分母は調べた菌株数を示す。()は%

rium 3株 (5.2%), S.Hadar 2株 (3.4%), S.Livingstone 2株 (2.4%) の順で、この4血清型以外に10の型が分離されたがいずれも1株であった。

この18年間に分離されたサルモネラの薬剤感受性を調べ、その内のおもな10血清型の薬剤耐性率を表4に示した。由来別にみると、河川由来菌では9種類の薬剤のいずれかに耐性を示したのは470株中61株 (13.0%) であるのに対し、ヒト由来菌では1063株中355株 (33.4%) と多かった。ただし、S.Infantisについては例外で、河川で42株中9株 (21.4%)、ヒトでは88株中6株 (7.0%) と河川由来に耐性株が多かった。この河川とヒトという由来による耐性率の相違については、ヒト由来菌の方がより多く抗生物質処理を受けて来たことを示すものではないと思われる。表5は主な10血清型の耐性株の耐性パターンを示す。最も多いのはSM単独耐性で、全体の46.1%を占めた。S.Eでは209株中183株がSM単独耐性であった。一方、S.Typhimuriumについては24の耐性パターンが認められ、なかでもSM, TC, CP, KM, ABPCの5剤耐性株が多かった。

既に述べたように、近年、富山市内の河川から

表5. 主な血清型のサルモネラの薬剤耐性パターン

血清型	耐性パターン	河川	ヒト	合計	血清型	耐性パターン	河川	ヒト	合計	
S. Paratyphi B	SM	1	1	2*	S. Infantis	SM		1	1	
	SM, TC	1	3	4		SM, TC		2(1)	2	
	SM, TC, CP		2	2		SM, TC, KM	1(1)	2(1)	3	
	SM, TC, NA		1	1		SM, TC, ABPC		1	1	
	SM, TC, CP, KM, CET	1		1		SM, TC, CP, ABPC	1		1	
	TC	3	10	13		SM, TC, CP, KM, ABPC	2		2	
	TC, CP		3	3		SM, TC, CP, KM, CL	1		1	
	TC, CP, KM	1		1		TC	1		1	
	KM	1		1		TC, ABPC	1		1	
	ABPC		1	1		ABPC	1		1	
	NA		1	1		TC, CP, KM, ABPC	1		1	
	ND		1	1		計	11	9	6(2)	15
計	12	8	23	31	S. Litchfield	SM		1	1	
S. Typhimurium	SM	1	1	2		SM, TC	1	1	2	
	SM, TC	1	3	4		SM, TC, CP		2	2	
	SM, TC, KM		4	4		SM, TC, ABPC		2	2	
	SM, TC, CP		3	3		SM, TC, CP, NA		1	1	
	SM, TC, CP, KM	2	1	3		SM, TC, KM, ABPC		1	1	
	SM, TC, CP, ABPC		6(1)	6		SM, ABPC	1	1	2	
	SM, TC, CP, KM, ABPC	1	21(1)	22		TC	1	10	11	
	SM, TC, CP, KM, CL	3		3		TC, ABPC	1	1	2	
	SM, TC, CP, KM, ABPC, CL		1	1		TC, CP	3	13	16	
	SM, TC, ABPC	7	2	9		CP	1		1	
	SM, TC, KM, ABPC		2	2		ABPC		1	1	
	SM, TC, KM, ABPC, GM		5	5	計	13	8	34	42	
	SM, TC, KM, ABPC, NA		1	1	S. Typhi	SM		3	3	
	SM, KM, CF		1	1		SM, TC, ABPC		2	2	
	SM, CP, KM, ABPC		1	1		KM, ABPC	1		1	
	SM, TC, CP, KM, ABPC, CL, ND		1	1		ABPC		1	1	
	TC	1	7(1)	8	計	4	1	6	7	
	TC, CP	1	3	4	S. Tennessee	SM		3	3	
	TC, KM	1(1)	1	2		1	3	1	4	
	TC, CP, ABPC		3(1)	3	計	1	3	1	4	
	TC, CP, KM, ABPC	4	4	8	S. Agona	SM		1(1)	1	
	KM		1	1		SM, TC, KM	1		1	
	ABPC		2	2		TC	1	1(1)	2	
計	24	23(1)	74(2)	92		KM, ABPC	1		1	
S. Enteritidis	SM	2(1)	181	183		TC, CP		1	1	
	SM, ABPC		1	1	計	3	4(1)	2(1)	6	
	SM, TC	3(2)	19(3)	22	S. Thompson	SM		1	1	
	SM, TC, CP	1		1		TC, ABPC		1	1	
	SM, CP, ABPC, CF		1	1	計	2	0	2	2	
TC		1	1	S. Braenderup	SM		1	1		
計	6	6(3)	203(3)		209	SM, TC, KM, AM		1	1	
※: 菌株数						SM, KM		1	1	
()は1996年の分離数の再掲						CM		1	1	
						KM		1	1	
						計	5	0	5	5

のサルモネラ分離率は非常に低下してきた。しかし、低率ではあるがなおサルモネラ汚染は続いている。射水地区河川についても、サルモネラによる汚染が確認された。これはヒトや動物から依然としてサルモネラが多く排出されていることを反映している。下水道等の環境整備がすすむなかで、浄化槽使用家庭の便は次第に河川へ流れでることは少なくなっているが、河川のサルモネラ汚染はどのように推移して行くか、また、人間社会におけるサルモネラ症とどのような関係にあるか今後

も監視を続けたい。

文 献

1. 国立予防衛生研究所編, 病原微生物検出情報 (1997). 3, 1-2.
2. 厚生省保健医療局食品保健課, 食品衛生研究 (1997). 47, 66-104.
3. 山崎茂一, 園家俊雄, 畑 祥子 (1981). 富山県

衛研年報, 4, 221-226.

4. 磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保 (1997), 富山
県衛研年報, 20, 133-140.

5. 磯部順子, 安井伊津子, 児玉博英, 山崎茂一
(1991). 富山県衛研年報, 14, 142-149.

富山県でヒトより分離された大腸菌における *eaeA* 遺伝子

田中大祐 平田清久 赤間美徳¹ 刑部陽宅

The *eaeA* Gene of *Escherichia coli* Isolated
from Human in Toyama Prefecture

Daisuke TANAKA, Kiyohisa HIRATA,
Yoshinori AKAMA¹ and Yotaku GYOBU

要 旨 1991～1997年の間に、富山県内の病院で下痢症患者から分離された大腸菌298株、保健所で海外旅行者下痢症から分離された大腸菌14株と健康者から分離された大腸菌37株について、*eaeA* 遺伝子の保有状況を調べた。結果は次のようであった。

1) 病院で分離された菌株の場合には、298株のうち63株(21.1%)から *eaeA* 遺伝子を検出した。カテゴリー別では、*eaeA* 遺伝子は病原血清型大腸菌(EPEC)で150株中16株(10.7%)、腸管出血性大腸菌(EHEC)で38株中38株(100%)、その他・不明で96株中9株(9.4%)から検出された。毒素原性大腸菌(ETEC)13株、組織侵入性大腸菌(EIEC)1株では検出されなかった。

2) 保健所で分離された菌株の場合には、*eaeA* 遺伝子は海外旅行者下痢症由来14株では検出されなかったが、健康者由来37株では3株(8.1%)から検出された。

病原血清型大腸菌(EPEC)は、小児の下痢症の原因となることはよく知られている。EPECは毒素を産生せず、細胞侵入性を示さないが、一部の典型的なEPECは腸管粘膜に付着し、微絨毛の消滅を起こす。このような菌の接着と微絨毛消滅性病変(AE病変)の形成は、EPECに感染したヒトや実験動物において認められている[1, 2]。Jerseら[3]はAE病変の形成は染色体上にある *E.coli* attaching and effacing (*eaeA*) 遺伝子が関与していることを見出した。その後、*eaeA* 遺伝子は、下痢原性大腸菌のカテゴリーに分類されない大腸菌や腸管出血性大腸菌においても広く認められている[3～7]。そこで今回は、富山県でヒトより分離された大腸菌について

eaeA 遺伝子の保有を調べた。

材料と方法

1. 菌株

1991～1997年の間に、富山県内の病院(主に富山市民病院)で散発下痢症患者から分離された大腸菌298株、保健所で海外旅行者下痢症から分離された大腸菌14株と健康者から分離された大腸菌37株を用いた。これらはいずれも市販血清に凝集する大腸菌であった。

2. 血清型別

市販の病原大腸菌免疫血清(デンカ生研)を用

1. 富山市民病院

い、メーカーの記述する方法で行った (O165 : H25は除く)。

3. 大腸菌の分類

菌のカテゴリーは感染症システムマニュアル [8] に従い、以下の性状にもとづいて分類した。組織侵入性大腸菌 (EIEC) : 組織侵入性遺伝子を確認した大腸菌, 毒素原性大腸菌 (ETEC) : 易熱性エンテロトキシン (LT), 耐熱性エンテロトキシン (ST) の産生あるいは同毒素遺伝子を確認した大腸菌, 腸管出血性大腸菌 (EHEC) : Veroto 毒素 (VT) の産生性あるいは VT 遺伝子を確認した大腸菌, 病原血清型大腸菌 (EPEC) : 病原血清型であり, 毒素産生性や組織侵入性のない大腸菌, その他・不明 : 上記のどのカテゴリーにも属さない大腸菌。

4. PCR 法による *eaeA* 遺伝子の検出

供試菌を蒸留水に懸濁し, 100℃で10分加熱後遠心し, その上清をテンプレート DNA とした。プライマーは Sandhu らの報告 [5] に従って作製した C1 (5'-TCGTCACAGTTGCAGGCC TGGT-3') と C2 (5'-CGAAGTCTTATCCGCC GTAAAGT-3') を用いた。目的とする1109bpの DNA は, 変性 (94℃, 30秒), アニール (55℃, 30秒), 伸長 (72℃, 30秒) を30サイクル行って増幅した。増幅した DNA は1.5%アガロースゲルを用いた電気泳動により検出した。

結 果

1. 病院で分離された大腸菌の血清型と *eaeA* 遺伝子

Table 1 に示すように, 病院で分離された大腸菌の場合には, 298株のうち63株 (21.1%) から *eaeA* 遺伝子を検出した。これをカテゴリー別にみると, EPEC では150株中16株 (10.7%), EHEC では38株中38株 (100%), その他・不明では96株中9株 (9.4%) より *eaeA* 遺伝子を検出した。しかし, ETEC 13株, EIEC 1株からは検出されなかった。*eaeA* 遺伝子が検出された菌の血清型は, EPEC ではO20 : HNT, O26 : HNM,

O55 : HNM, O55 : H7, O55 : H?, O55 : HNT, O86a : HNT, O114 : H12, O119 : H2, O125 : HNT, O128 : HNM 及び O128 : H2, EHEC ではO26 : HNM, O26 : H11, O26 : H?, O157 : H7, O157 : H? 及び O165 : H25, その他・不明ではO8 : HNM, O63 : H6, O115 : H?, O153 : H21, O153 : H?, O157 : H45, O167 : H9 及び O167 : HNT であった。

2. 保健所で分離された大腸菌の血清型と *eaeA* 遺伝子

保健所で分離された大腸菌の場合には, 海外旅行者下痢症由来菌14株では *eaeA* 遺伝子は検出されなかった (Table 2)。健康者由来菌37株では3株 (8.1%) から *eaeA* 遺伝子が検出された。内訳はEPECのO26 : HNM 1株, EHECのO157 : H7 1株, その他・不明のO115 : H10 1株であった。このうちのO157 : H7 1株は, 患者家族の健康者より分離された菌株であった。

考 察

富山県でヒトより分離された大腸菌について *eaeA* 遺伝子の検出を行った。病院で分離された大腸菌における検出頻度は, EPECで10.7%, EHECで100%, その他・不明で9.4%, ETEC と EIECで0%であった。Yamazaki ら [6] は, 国内の一病院において分離された大腸菌では, EPECで13%, EHECで100%, ETEC と EIECで0%, その他で6%であったと報告している。ほぼ同様の結果と思われる。

海外旅行者下痢症由来菌では, *eaeA* 遺伝子は検出されなかった。原因として菌株数が少ないことがあげられるが, その他として, 海外旅行者下痢症由来菌ではETECが多いことが考えられる。

健康者由来菌においては, 8.1%から *eaeA* 遺伝子を検出した。病院で下痢症患者から分離された菌における検出頻度に比べ低い。

今回, 下痢症患者から分離された大腸菌のうち *eaeA* 遺伝子の検出頻度が高い血清型は, EHEC

Table 1. The *eaeA* Gene and Serotypes of *E. coli* Isolates from Hospitals

Category	Serotype		No. of isolates	<i>eaeA</i>
	0	H		
EPEC	1	NM*	15	
		6	1	
		7	11	
		***	4	
		NT***	8	
	18	NM	3	
		4	4	
		5	3	
		7	10	
		12	1	
		?	6	
		NT	14	
	20	NM	1	
		NT	2	1****
	26	NM	1	1
		NT	2	
	44	NT	2	
	55	NM	1	1
		7	2	2
		9	2	
		?	1	1
		NT	3	3
	86a	18	1	
		?	3	
		NT	4	2
	111	NM	2	
		21	9	
		?	2	
		NT	2	
	114	12	1	1
	119	2	1	1
	125	20	1	
		NT	1	1
	126	NM	1	
		16	1	
		20	1	
		51	1	
		?	3	
	128	NM	2	1
		2	2	1
		12	3	
		?	3	
		NT	2	
	142	?	1	
	146	21	1	
	151	?	1	
	159	4	1	
		42	1	
		NT	2	
	Subtotal		150	16
ETEC	6	16	1	
	25	NM	3	
	126	12	1	
	128	12	1	
	148	28	1	
	159	7	1	
		34	1	
	169	41	4	
	Subtotal		13	0
EIEC	28ac	NM	1	
	Subtotal		1	0

* : Nonmotile ** : Untypable *** : Not Tested
**** : No. of *eaeA*-Positive Isolates

Category	Serotype		No. of isolates	<i>eaeA</i>
	0	H		
EHEC	26	NM	5	5
		11	2	2
		?	1	1
	157	7	27	27
		?	2	2
	165	25	1	1
	Subtotal		38	38
Others	6	NM	5	
		4	1	
		5	1	
		7	1	
		12	5	
		42	1	
		?	6	
		NT	7	
	8	NM	1	1
		4	1	
		7	2	
		16	1	
		?	1	
		NT	3	
	15	?	4	
		NT	2	
	25	NM	6	
		6	1	
		12	1	
		?	1	
		NT	2	
	28ac	9	1	
		?	1	
		NT	1	
	29	10	1	
	63	6	1	1
	78	10	1	
		11	2	
	115	?	1	1
	124	19	3	
	153	2	1	
		7	1	
		20	1	
		21	1	1
		45	1	
		?	3	1
	157	45	2	2
	159	4	1	
		42	1	
		NT	2	
	166	20	1	
		?	2	
	167	9	2	1
		NT	1	1
	168	NM	1	
		4	1	
		7	2	
		?	1	
		NT	1	
	169	NM	1	
		21	1	
		NT	3	
	Subtotal		96	9
Total			298	63

Table 2. The *eaeA* Gene and Serotypes of *E. coli* Isolates from Oversea Traveller

Category	Serotype		No. of isolates	<i>eaeA</i>
	O	H		
EPEC	18	9	1	
		2*	1	
	44	4	1	
	Subtotal		3	0**
ETEC	6	16	3	
	27	7	1	
	148	28	3	
	Subtotal		7	0
Others	25	?	1	
	143	?	1	
	153	?	2	
	Subtotal		4	0
Total			14	0

* : Untypable

** : No. of *eaeA*-Positive IsolatesTable 3. The *eaeA* Gene and Serotypes of *E. coli* Isolates from Healthy Carrier

Category	Serotype		No. of isolates	<i>eaeA</i> Positive
	O	H		
EPEC	1	NM*	2	
		7	4	
		12	1	
		??*	1	
		NT	1	
	18	4	1	
		7	1	
	26	NM	2	1****
		7	1	
		?	7	
EHEC	111	21	8	
		?	2	
	127a	NT***	1	
	Subtotal		32	1
	157	7	1	1
Others	Subtotal		1	1
	115	10	1	
	148	?	1	
	153	NM	1	
	169	?	1	
Subtotal			4	1
Total			37	3

* : Nonmotile ** : Untypable *** : Not Tested

**** : No. of *eaeA*-Positive Isolates

のO157 : H7とO26 : HNMであった。EPECやその他・不明の大腸菌においては、*eaeA* 遺伝子が検出された血清型は20種あったが、特に検出頻

度の高い血清型はなかった。塚本と河合[7]は、ブラジル、ミャンマー、インドおよび日本の食中毒、下痢症患者から分離された大腸菌のうち、*eaeA* 遺伝子の検出頻度が高い血清型は、EPECではO55 : H-, O86 : H34, O111 : H2, O114 : H-, O119 : H6, O127 : H6, O127 : H-, O128 : H2であり、その他の毒素産生性や細胞侵入性のない大腸菌ではO88 : H25であったと報告している。大腸菌における *eaeA* 遺伝子の保有と血清型の関係は、更に多くの菌株について調べることによって明らかになると考えられる。今後は、EPECの他の病原因子である局在性付着を掌る線毛の構造遺伝子 *bfpA* の保有等についても調べ、EPECを含む病原性大腸菌の病原因子を明らかにしていく必要がある。

文 献

1. Ulshen, M. H. and Rollo, J., L. (1980). N. Engl. J. Med., 302, 99-101.
2. Moon, H., W., Whipp, S., C., Argenzio, R., A., Levine, M., M. and Giannella, R., A. (1983). 41, 1340-51.
3. Jerse, A., E., Yu, J., Tall, B., D. and Kaper, J., B. (1990). Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 7839-7843.
4. Yu, J. and Kaper, J., B. (1992). Mol. Microbiol., 6, 411-417.
5. Sandhu, K., S., Clarke, R., C., Mcfadden, K., Brouwer, A., Louie, M., Wilson, J., Lior, H. and Gyles, C., L. (1996). Epidemiol. Infect., 116, 1-7.
6. Yamazaki, M., Saito, M., Inuzuka, K., Shima, S., Taniwaki, H. and Ito, K. (1997). Jpn. J. Assoc. Infect. Dis., 71, 1059-1065.
7. 塚本定三, 河合高生 (1995). 感染症誌, 69, 85-90.
8. 国立感染症研究所 感染症情報センター編 (1997). 感染症検査情報オンラインシステム マニュアル Version 2.0

実験動物腸管における腸炎ビブリオの増殖

刑部陽宅 細呂木志保 田中大祐

Multiplication of *Vibrio parahaemolyticus* in
intestine of laboratory animal.

Yotaku GYOBU, Shiho HOSOROGI and Daisuke
TANAKA

要 旨 腸炎ビブリオ、神奈川現象陽性株、陰性株を乳呑みマウス胃内あるいは家兎結紮腸管内へ接種し、次の結果を得た。

1. 神奈川現象陽性、陰性、各菌株それぞれ単独で接種した場合、神奈川現象陽性、陰性に関係なく、また、マウス、家兎に関係なく、接種菌は腸管内で20～24時間後初期の10,000倍以上の値まで増殖した。

2. 神奈川現象陽性株と陰性株を混合して、接種した場合、乳呑みマウス腸管内では、陽性株は陰性株に比し、良く増殖するという結果は得られなかった。しかし、家兎結紮腸管内では、陽性株は陰性株に比し、良く増殖する傾向であった。

はしがき

腸炎ビブリオは重要な食中毒原因菌で沿岸海域に分布している。

食中毒患者由来菌の多くは耐熱性溶血毒(TDH)を産生するが、自然界および魚介類由来菌の多くは同毒素を産生しないことが明らかになっている[1]。この現象は神奈川現象と呼ばれ、多くの研究者の興味を引いてきた。TDH産生株はTDH非産生株に比較して、ヒト腸管内で良く増殖するのではないかとと思われる。しかし、その証明は充分とはいえない。このことより、今回実験動物腸管にTDH産生株と非産生株を接種し、増殖の比較を行った。

材料と方法

1. 菌株と菌液の調製

著者ら分離の食中毒患者由来TDH産生性の3株(菌株No.V-23-90, V-26-90, V-18-90)と、海水由来TDH非産生性の3株(菌株No.V-11-86, V-9-0-6, V-9-2-1)、計6株を用いた。これらはトリプチケース・ソイ寒天(TSB)平板で一夜培養後、2%NaCl加0.1%ペプトン水に均一に浮遊し、マクファーランド5の菌液とし、更に、2%NaCl加ペプトン水で希釈し、実験に供した。

2. 乳呑みマウス胃内への菌接種

2～3日令ICR系マウス、一群3匹に1匹当たり0.1mlの菌液をポリエチレンチューブ付き注射器で接種した。一定時間経過後、解剖し、胃あるいは腸管(胃直下から肛門まで)を取り出した。一群3匹分をガラスホモジナイザーに5mlの生理食塩水と共に入れ、2～3分間ホモジナイズし、

腸炎ビブリオ数の測定に供した。

3. 家兎結紮腸管反応

合田ら〔2〕の方法によった。腸管へは1ループ当たり1mlの菌液を接種した。17~24時間後解剖し、ループ内へ5mlの生理食塩水を注入し、内部を良く洗った。この内液について腸炎ビブリオ数を測定した。

4. 腸炎ビブリオの測定

腸管中の腸炎ビブリオ数は試料の10倍段階希釈液を5%NaCl加TSBで混釈培養し、生育したコロニー数を数える手技によったが、この場合、菌数は生育コロニー50~100ヶを3%NaCl加TSI培地で性状を確認し、また市販血清との凝集反応を行い、補正して表示した。

結 果

1. 乳呑みマウス胃内における腸炎ビブリオの消長

TDH陽性菌と陰性菌、その比が1:50~1:650の割合からなる菌液（菌数 $5.0 \times 10^7 \sim 1.5 \times 10^8$ ）を胃内に接種し、70分後の胃内の投与菌数を調べた。その結果、菌株に関係なく、菌数は1/100以下になっていたが、この70分間に、TDH陽性株が陰性株より多くなるという明確な結果は

得られなかった（Table 1）。

2. 乳呑みマウス腸管内における腸炎ビブリオの増殖

TDH陽性3株、陰性3株をそれぞれ単独で、1匹当たり7~70ヶ、胃内に接種し、6時間と20時間後における腸管内の投与菌数を調べた。結果はTable 2に示すごとく、TDH陽性、陰性に関係なく、6時間後には $10^3 \sim 4 \times 10^3$ 、24時間後には $8 \times 10^4 \sim 6 \times 10^5$ といずれの菌株の場合にも増加が認められた。

Table 3はTDH陽性菌と陰性菌を1:800~1:5000の比に混合して接種し18時間後に腸管内の菌を調べた結果を示す。この実験でも、TDH陽性菌は陰性菌に比較して、良く増殖するという明確な結果は得られなかった。

3. 家兎結紮腸管内における腸炎ビブリオの増殖性

TDH陽性菌と陰性菌、それぞれ単独で1ループ当たり $10^4 \sim 2.5 \times 10^5$ 接種し、6、20時間後に菌数を調べた。結果はTable 4に示すごとく、TDH産生、非産生に関係なく、6時間後に、 $3 \times 10^6 \sim 8 \times 10^7$ 、20時間後に $10^9 \sim 4.5 \times 10^{10}$ と菌の増加が認められた。TDH陽性菌と陰性菌を1:110~1:540の割合で混合し、1ループ当たり $3.8 \times 10^4 \sim 10^6$ 接種した場合にもループ当たりの菌数は5時間後に $1.8 \times 10^6 \sim 2.7 \times 10^7$ 、18時間後

Table 1. Multiplication of *V. parahaemolyticus* in Stomach of Infant Mouse

Experiment No	Strain Inoculated	No. of cells in stomach	
		0	70 minutes
1	V-11-86(KP ⁻)	5.0×10^7	3.3×10^5 *
	V-23-90(KP ⁺)	3.3×10^5 (1:150)	$<6.6 \times 10^3$ (<1:150)**
2	V-9-0-6(KP ⁻)	5.0×10^7	1.5×10^5
	V-26-90(KP ⁺)	1.1×10^6 (1:50)	$<3.0 \times 10^3$ (<1:50)
3	V-9-2-1(KP ⁻)	1.5×10^8	5.1×10^5
	V-18-90(KP ⁺)	2.3×10^5 (1:650)	$<1.0 \times 10^4$ (<1:50)

* No. of *Vibrio parahaemolyticus*.

** No. of KP⁺ cells / No. of total cells(Ratio)

Table 2. Multiplication of *V. parahaemolyticus* in Infant Mouse Intestine

Strain	No. of cells inoculated into stomach	No. of cells in intestine after	
		6 hours	24 hours
V-23-90 (KP ⁺)	2×10	2×10^3	$2 \times 10^{5*}$
V-26-90 (KP ⁺)	5×10	1×10^3	4×10^5
V-18-90 (KP ⁺)	7	Not examined	1×10^5
V-11-86 (KP ⁻)	7×10	4×10^3	6×10^5
V-9-0-6 (KP ⁻)	5×10	2×10^3	3×10^5
V-9-2-1 (KP ⁻)	7×10	4×10^3	8×10^4

* : See table 1.

Table 3. Comparison of Multiplication between Kp⁺ and Kp⁻ *V. parahaemolyticus* in Infant Mouse Intestine

Experi- ment No	Strain inoculated	No. of cells inoculated into stomach	No. of cells in intestine after 18 hours
1	V-11-86(KP ⁻)	2.8×10^5	$2.5 \times 10^{5*}$
	V-23-90(KP ⁺)	3.3×10^2 (0.12%)	$<5.0 \times 10^3$ (<2%)**
2	V-9-0-6(KP ⁻)	3.3×10^5	9.6×10^6
	V-26-90(KP ⁺)	4.0×10^2 (0.12%)	$<1.9 \times 10^4$ (<2%)
3	V-9-2-1(KP ⁻)	7.0×10^5	1.9×10^6
	V-18-90(KP ⁺)	1.5×10^2 (0.02%)	$<3.8 \times 10^4$ (<2%)

*, ** : See table 1.

Table 4. Multiplication of *V. parahaemolyticus* in Ligated Rabbit Ileal Loop

Strain	Time (hours) after inoculation of cells		
	0	6	20
V-23-90 (KP ⁺)	1.8×10^4	7.0×10^7	$4.5 \times 10^{10*}$
V-26-90 (KP ⁺)	4.0×10^4	3.0×10^6	3.0×10^9
V-18-90 (KP ⁺)	1.0×10^4	3.0×10^6	2.0×10^9
V-11-86 (KP ⁻)	2.4×10^5	1.0×10^6	1.8×10^9
V-9-0-6 (KP ⁻)	1.2×10^5	8.0×10^7	4.0×10^9
V-9-2-1 (KP ⁻)	9.0×10^4	8.0×10^6	1.0×10^9

* : See table 1.

Table 5. Comparison of Multiplication between Kp⁺ and Kp⁻ *V. parahaemolyticus* in Ligated Rabbit Ileal Loop

Experiment No	Strain inoculated	No. of cells inoculated into loop	No. of cells in loop after inoculation	
			5 hours	18 hours
1	V-11-86(KP-)	5.0×10^5	1.8×10^6	3.2×10^8 *
	V-23-90(KP+)	4.5×10^2 (0.09%)	3.6×10^4 (<2%)	5.2×10^7 (14%)**
2	V-9-0-6(KP-)	3.8×10^4	4.8×10^6	1.0×10^9
	V-26-90(KP+)	7.0×10 (0.02%)	9.6×10^4 (<2%)	2.0×10^7 (2%)
3	V-9-2-1(KP-)	3.8×10^6	2.7×10^7	3.0×10^7
	V-18-90(KP+)	1.6×10^4 (0.4%)	5.4×10^5 (<2%)	$<3.0 \times 10^5$ (<1%)

*, ** : See Table 1.

に $3.0 \times 10^7 \sim 10^9$ と増加がみられた。しかし、その内容を見ると、3組の菌の組み合わせの内2組みの組み合わせにおいて、TDH陽性菌と陰性菌の比は菌接種時には1:110~550であるのに対して、18時間後には1:6~50と小さくなり、家兎腸管内で、TDH陽性菌は陰性菌より増加するという結果が得られた。

考 察

坂崎ら[2]は、患者分離株の96.5%は神奈川現象陽性株であるのに対して、魚介類や海水分離株の99%は同現象陰性菌であるとした。この現象は、腸炎ビブリオが人に経口感染したとき、体内で何らかの選択が生じるために、患者由来菌に神奈川現象陽性株が多くなることが原因でおこるのではないかと考えられているが、その選択性に本菌のマウス致死能や組織侵入能が関係しているとは思われない。その理由としてHoashiら[3]はTDH陽性株と陰性株をマウスに腹腔内接種したとき、両者にLD₅₀値の差はないとし、Chaterjiら[4]はTDH陽性菌と陰性菌では家兎腸管組織侵入能に差はないとしていることがあげられる。本実験において、幼若マウス胃内へ

生菌を接種したとき、TDH陽性株TDH陰性株、共に胃内で生存し、腸管内で増殖したが、TDH陽性株は陰性株に比して良く増殖するという結果は得られなかった。しかし、家兎腸管内では、TDH陽性株はTDH陰性株に比して、3回中2回の実験において、やや良く増殖するという結果が得られた。

この結果は動物の種類によって、腸管におけるTDH陽性株とTDH陰性株の増殖速度が異なることを示唆する。Carruthersら[5]はTDH陽性株と陰性株の継代ヒト胎児腸管細胞への結合能を調べ、前者では10分で起こるが、後者では2時間要すると述べている。ヒト腸管では、家兎腸管におけるより、その差が更に顕著になることを否定できない。今後他の実験モデルを含め、さまざまな観点から検討する必要がある。

文 献

1. Sakazaki, R. Tamura, K. Kato, T. Obara, Y. Yamai, S. (1968) Jpn. J. Med. Sci. Biol., 21(5): 325-331.
2. 合田 朗, 数野勇造, 佐々木正五 (1971): 腸管結紮ループの実験手法, 感染症学雑誌, 45, 196-

3. Hoashi, K. Ogata, K. Taniguchi, H. Yamashita, H. Tsuji, K. Mizuguchi, Y. and Ohtomo, N. (1990) Pathogenesis of *Vibrio parahaemolyticus*; Intraperitoneal and orogastric challenge experiments in mice. Microbiol. Immunol. 34, 355-366
4. Chattarjee, B. D. Mukherjee, A. Sanyal, S. N.

(1982) : Rabbit ileal loop invasion of *Vibrio parahaemolyticus*. Indian. J. Patol. Microbiol., 25(3) 213-218

5. Crruthers, M. M. (1977). In vitro adherence of Kanagawa-positive *Vibrio parahaemolyticus*. J. Infect. Dis., 136(4) 588-592.

健康女性における尿中ハイドロキシプロリンと 踵骨骨密度およびライフスタイルとの関係

中崎美峰子 西野治身 田中朋子 堀井裕子
尾崎一郎 中村志富¹ 加藤一之¹

The Relationship between Urinary Hydroxyproline and
Bone Mineral Density or Lifestyle Factors in
Healthy Middle-aged and Aged Women

Mineko NAKAZAKI, Harumi NISHINO, Tomoko TANAKA,
Yuko HORII, Ichiro OZAKI, Shitomi NAKAMURA
and Kazuyuki KATO

要 旨 健康な中高年女性について、骨吸収マーカーである尿中ハイドロキシプロリン-クレアチニン比 (Hyp/Cr) の値から閉経者をさらに低値群と高値群に分け、両群間で踵骨骨密度 (Stiffness) や生活習慣の比較を行ったところ以下の結果を得た。

1. 閉経後年数別では Hyp/Cr 低値群と高値群の間で Stiffness に差は認められなかった。しかし閉経後5年未満と未閉経者を比較したところ、Hyp/Cr 高値群の Stiffness が有意に低下していた ($p < 0.01$) のに対し、Hyp/Cr 低値群では低下していなかった。
2. Hyp/Cr 低値群が高値群に比べて1日の歩行時間が長い傾向にあり、閉経後5年未満では有意な差が見られた ($p < 0.05$)。また、‘よく身体を動かす’、‘過去に運動習慣あり’と答えた者の割合も Hyp/Cr 低値群に多い傾向が見られ、運動が骨吸収に抑制的に働くと考えられた。
3. 牛乳を1日1本以上飲む者は、Hyp/Cr 高値群よりも低値群に多い傾向がみられた。未閉経者との比較をしたところ、閉経後5年未満の Hyp/Cr 低値群が有意に多かった ($p < 0.05$)。また、閉経者では過去に牛乳摂取習慣があったものは少なく、閉経後、習慣が変容したことがうかがえた。

富山県内に住む健康な女性を対象とした骨密度検診の結果から、前報 [1] では踵骨 Stiffness と尿中 Hyp/Cr に負の相関関係があったこと、30, 40歳代に比べて50歳代以降では Hyp/Cr が高値を示し、Stiffness は低下したことなどを報告した。Hyp/Cr は骨吸収の指標であり、Hyp/

Cr の高値は低骨密度と関連があると考えられた。そこで今回は Hyp/Cr の高低でライフスタイルなどの比較を行い、Hyp/Cr 値に影響を与える因子を探ることを目的として、解析を行った。

対象および方法

富山県内に住む31歳から72才の健常な女性178人を対象とし、骨吸収のマーカーである尿中ハイドロキシプロリンと超音波法による踵骨骨密度の測定を行い、月経の状況や生活習慣に関するアンケート調査もあわせて行った。ハイドロキシプロリンの測定は池田らの方法〔2〕により、クレアチニン補正值 (Hyp/Cr) として解析を行った。骨密度の測定は Lunar 社製 Achilles を用い、Stiffness 値を骨密度の指標とした。

対象者のうち、アンケートに不備のある者と手術による閉経者を除いて、143人について解析した。

結 果

Table 1 に Hyp/Cr と Stiffness 値の測定結果を示した。対象者を閉経の前後で分けて、さらに未閉経者は年齢層別に、閉経者は閉経後年数別に表した。Hyp/Cr は幾何平均、Stiffness は算術

平均を用いた。未閉経者の Hyp/Cr 平均値 (標準偏差) は、30, 40, 50歳代それぞれ25.1(1.3), 28.0(1.4), 26.0(1.6) であり、年齢による違いはみられなかった。Stiffness でも同様に年齢による差はなかった。一方閉経者では、閉経後年数5年未満の Hyp/Cr が45.1(1.5) と未閉経者に比べて有意に高値を示し ($p<0.001$)、閉経後年数が長くなっても高い値のままであった。また Stiffness は閉経後5年未満でも未閉経者に比べて低く ($p<0.01$)、閉経後年数が長くなるにつれ次第に低下した。

Hyp/Cr の高値が続くことは骨吸収が昂進状態であることを示し、骨粗鬆症予防の観点からは望ましくない。そこで、骨吸収に抑制的に働く因子を探るため、Hyp/Cr 低値群と高値群に分けてライフスタイルとの関連を検討した。Hyp/Cr の値は、45歳以下の若年有経者22人を基準とし、その平均値の1.5標準偏差上限 (42.7mg/gCr) を境に2群に分けた。

Fig. 1 に示したように、閉経後年数別に Hyp/Cr 低値群、Hyp/Cr 高値群の Stiffness を比較したところ、どの階層でも Hyp/Cr の高低によ

Table 1. Mean Values and Standard Deviations of Urinary Hydroxyroline and Stiffness of the Calcaneus by Age-groups and Years after Menopause

		Hyp/Cr (mg/gCr)		Stiffness	
		n	G.M. (G.S.D.)	A.M.	S.D.
Age group of premenopausal women	31-39	7	25.1 (1.3)	75.1 ± 6.0	
	40-49	26	28.0 (1.4)	76.8 ± 9.8	
	50-53	9	26.0 (1.6)	76.3 ± 6.7	
	31-53	42	27.1 (1.4)	76.5 ± 8.5	
Years after menopause	0-4	25	45.1 (1.5)***	70.7 ± 6.9	]***]※
	5-9	30	46.1 (1.5)***	66.7 ± 7.7	
	10-14	24	40.7 (1.4)***	62.0 ± 8.7	
	15-	22	47.8 (1.6)***	60.8 ± 7.2	

G.M.; Geometric mean, G.S.D.; Geometric standard deviation

A.M.; Arithmetic mean, S.D.; Standard deviation

***; Significantly different from the value of premenopausal group at $p<0.001$

※; $p<0.05$, ※※; $p<0.01$

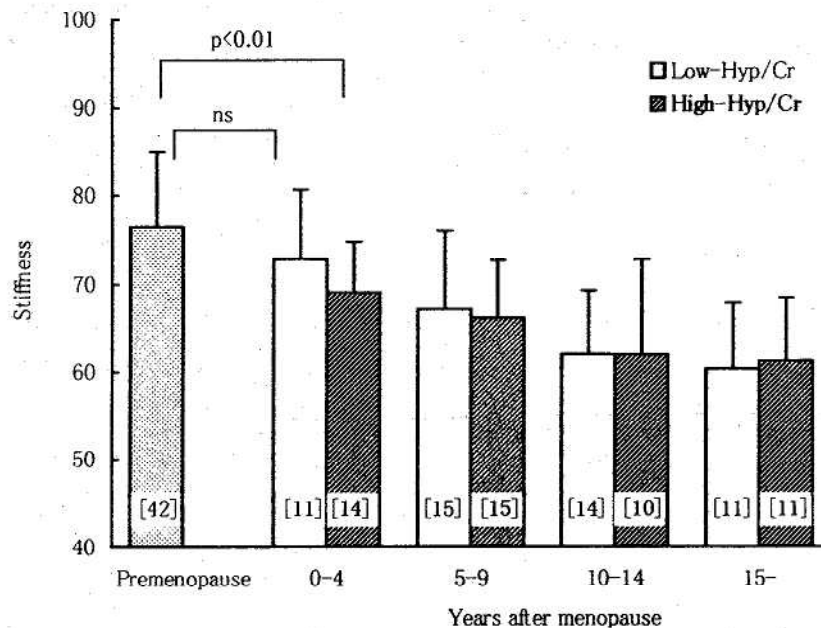


Fig. 1. Stiffness of Calcaneus by Low and High-Hyp/Cr in Each Group of Years after Menopause

Low-Hyp/Cr; The concentration of urinary hydroxyproline is under 42.7mg/gCr.

High-Hyp/Cr; The concentration of urinary hydroxyproline is over 42.7mg/gCr.

p<0.01; Significantly different at p<0.01

ns; Not significant

[]; Number of subjects

る Stiffness の差はみられなかった。しかし閉経後 5 年未満において、Hyp/Cr 低値群の Stiffness は未閉経者と同レベルであったが、Hyp/Cr 高値群では未閉経者に比べて有意に低下していた ($p<0.01$)。

つぎに運動との関連を見るために、アンケートの項目の中から日常の活動度、1 日の歩行時間、現在の運動習慣の有無、過去の運動歴の有無について調べた。その結果、Hyp/Cr 低値群の方が Hyp/Cr 高値群よりも 1 日の歩行時間が長い傾向にあり、特に閉経後 5 年未満では有意差が認められた ($p<0.05$, Fig. 2)。また、有意な差はないものの、日常生活の中でよく身体を動かすと答えた者や、過去に運動歴を有すると答えた者の割合が、閉経後 5 年未満、10 年未満では Hyp/Cr 低値群の方に多かった。

さらに、食生活習慣との関連について Hyp/Cr

低値群と高値群を比較したところ (Fig. 3), 牛乳を 1 日 1 本以上飲む者の割合は、Hyp/Cr 低値群のほうが多かった (有意差なし)。また、未閉経者と閉経後 5 年未満との比較では、牛乳をたくさん飲む者が Hyp/Cr 低値群に有意に多かった ($p<0.05$)。閉経後 10 年未満、15 年未満の Hyp/Cr 低値群でも未閉経者より多い傾向であった。

これに対して、10~20 代のころに牛乳を飲む習慣があった者の割合をみると (Fig. 4), 最も多いのは未閉経者 (47.6%) であり、閉経者では Hyp/Cr の高低にかかわらずこれよりも少なかった。そして閉経後年数が長いほど、過去に牛乳を飲む習慣があったものは少ない傾向がみられた。

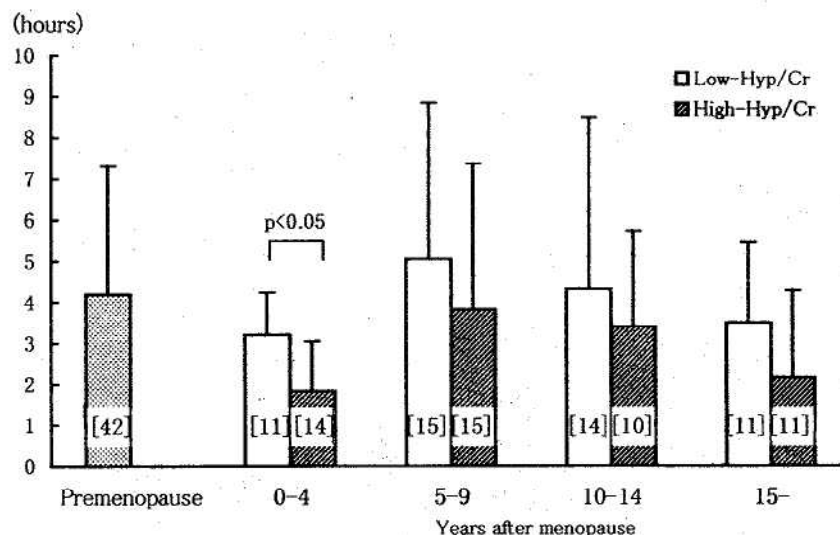


Fig. 2. Hours of Daily Walking by Low and High-Hyp/Cr in Each Group of Years after Menopause

Low-Hyp/Cr; The concentration of urinary hydroxyproline is under 42.7mg/gCr.

High-Hyp/Cr; The concentration of urinary hydroxyproline is over 42.7mg/gCr.

p<0.05; Significantly different at p<0.05

[]; Number of subjects

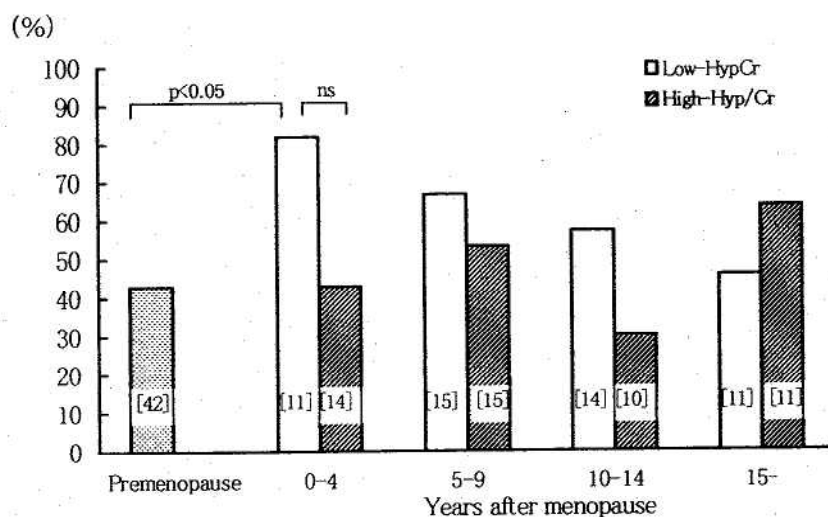


Fig. 3. Percentages of Daily Milk Intake 200ml and more

Low-Hyp/Cr; The concentration of urinary hydroxyproline is under 42.7mg/gCr.

High-Hyp/Cr; The concentration of urinary hydroxyproline is over 42.7mg/gCr.

p<0.05; Significantly different at p<0.05

ns; Not significant

[]; Number of subjects

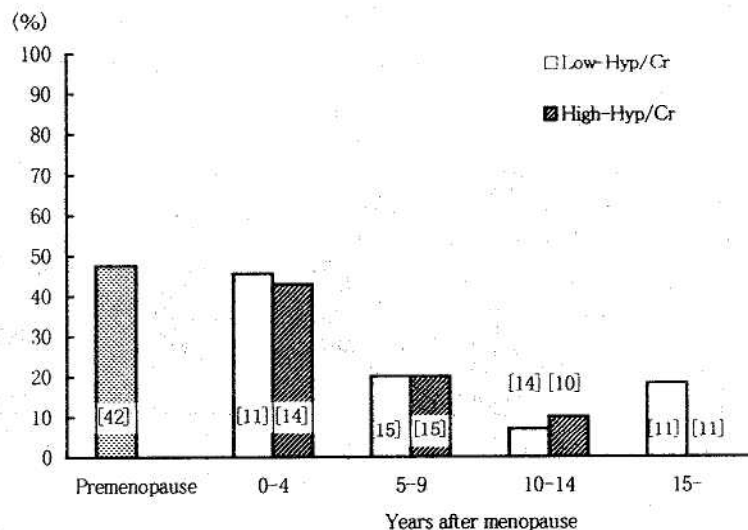


Fig. 4. Percentages of Habitual Milk Intake in the Past

Low-Hyp/Cr; The concentration of urinary hydroxyproline is under 42.7mg/gCr.

High-Hyp/Cr; The concentration of urinary hydroxyproline is over 42.7mg/gCr.

[]; Number of subjects

考 察

人口の高齢化に伴って、寝たきりにつながりやすい骨折を予防しようという観点から、骨粗鬆症に対する関心が高まっている。前報では Hyp/Cr と Stiffness について、年齢との関係を中心に解析したが、女性の場合骨代謝は閉経を機に大きく変化することが知られている [3]。そこで今回は対象者を閉経の前後で分け、未閉経者については年齢層別に、閉経者については閉経後年数別に区分した。未閉経者では Hyp/Cr、Stiffnessとも年齢による違いはなかった。これに対し閉経者では、Hyp/Cr は閉経後年数にかかわらず高い値のままであったが、Stiffness は閉経後年数が長くなるにしたがって次第に低下した。閉経を境に Hyp/Cr が上昇し、骨吸収が昂進した状態になったことが推察されるが、閉経後年数が増加してもこの状態が続いていたことが Stiffness の減少につながっていると考えられた。

Table 1 のように未閉経者と閉経後 5 年未満群との比較では、閉経群の方が有意に Hyp/Cr が高く Stiffness は低かった。しかし閉経後 5 年未満群をさらに Hyp/Cr の高低で 2 群に分けると、Hyp/Cr 低値群では Stiffness の低下は有意なものではなかった。このことから、Hyp/Cr 低値群では Stiffness の低下が高値群よりも遅いと考えられた。

加齢に伴う骨密度の低下は避けられないとすれば、低下速度を遅くすることを考えなければならない。そこで、骨吸収の指標である Hyp/Cr が高い群と低い群の間でライフスタイルにどのような違いがあるかを検討した。

中高校生や高齢女性を対象とした調査では、運動が骨吸収に抑制的に作用する可能性が示されている [4, 5]。今回行ったアンケートの結果でも、日常よく身体を動かすと答えた者や学生時代に運動していた者の割合は、Hyp/Cr 低値群の方に多い傾向が見られた。また、1 日の歩行時間も

同様の傾向であり、回答のばらつきが大きかったものの、閉経後5年未満ではHyp/Cr 低値群の方が有意に歩行時間が長かった。これらのことから、健常な中高年女性においても、歩行などの軽い運動によって骨吸収が抑制される可能性が考えられた。

牛乳摂取習慣との関連では、1日1本以上飲む者の割合がHyp/Cr 高値群に比べてHyp/Cr 低値群に多い傾向が見られた。また、閉経後5年未満、10年未満、15年未満のHyp/Cr 低値群では、牛乳をよく飲んでいる者の割合が未閉経者よりも多かった。一方、閉経者では過去に牛乳を飲む習慣があった者は少なく、Hyp/Cr の高低による違いはなかった。また、未閉経者では現在も過去も、牛乳摂取習慣を有するものの割合はほぼ同じであった。このことから、閉経後に骨の健康のために意識的に牛乳を飲むようになった人が多いことが推察された。

尿中ハイドロキシプロリンが、閉経後も未閉経者のレベルに比べて高くない者 (Hyp/Cr 低値群)

では、閉経後早期の Stiffness 低下が少なかった。Hyp/Cr 低値群は、歩行時間が長いなど日常の運動量が多く、また、牛乳をよく飲んでいる様子うかがえた。

文 献

1. 中崎美峰子, 西野治身, 田中朋子, 堀井裕子, 熊西忠郎, 吉田志富, 宇枝靖子, 垣内孝子, 加藤一之 (1996). 富山衛研年報, 19, 148-153.
2. 池田真吾, 大沢誠喜, 鈴木孝人, 加納堯子, 溝口 功 (1987). 東京衛研年報, 13, 171-176.
3. 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.
4. 田中朋子, 西野治身, 堀井裕子, 熊西忠郎, 鏡森定信 (1996). 富山衛研年報, 19, 154-157.
5. 堀井裕子, 田中朋子, 西野治身, 熊西忠郎, 山上孝司, 成瀬優知, 鏡森定信 (1996). 富山衛研年報, 19, 158-163.

女子大生における踵骨骨密度および骨代謝指標について — 追跡調査結果 —

田中 朋子 堀井 裕子 中崎美峰子 西野 治身,
尾崎 一郎 小島 泰夫¹ 桑守 豊美²

Bone Mineral Density of the Calcaneus and
Biochemical Markers of Bone Metabolism in
Students of Women's College
— The Longitudinal Study —

Tomoko TANAKA, Yuko HORII,
Mineko NAKAZAKI, Harumi NISHINO,
Ichiro OZAKI, Yasuo KOJIMA¹
and Toyomi KUWAMORI²

要 旨 女子短大生について踵骨骨密度を1年生時(6月)、2年生時(1月)に測定した。また、1年生時の測定時期にあわせて血液、尿中の骨代謝指標を測定し、骨密度の変化と骨代謝指標との関連を検討し、以下の結果を得た。

尿中のハイドロキシプロリンは骨密度の変化量と負の相関を示し、1年生時のハイドロキシプロリン高値と2年生時の骨密度低下は関連していた。

月経不順の有無、ダイエット経験の有無別に検討したところ、骨密度については、月経不順ありとダイエット経験有りの両要因を有する者では2年生時の骨密度が1年生時より有意に減少していた。

骨代謝指標については、骨吸収指標の尿中ハイドロキシプロリンに月経不順、ダイエット経験の有無による違いはみられなかったが、骨形成指標の骨型アルカリフォスファターゼは両要因を有する者で低い傾向を示し、ダイエット経験のみを有する者、月経不順のみを有する者では低値を示した。

近年、女性の最大骨量に達する時期はこれまで言われていた30歳代よりも早く、10歳代後半から20歳頃にかけてであると言われるようになってきた[1]。この時期の運動習慣や食習慣、ホルモンバランスはより高い骨量を獲得するのに重要な因子である[2, 3]。しかし、実際には瘦身願

望が強く、ダイエットを繰り返していたり、月経不順を訴える者も多い。そこで、20歳前後の若年女性の追跡調査を実施し、各種要因が骨代謝にどのように影響しているのかを調べた。

1. 富山県立中央病院 2. 富山女子短期大学

対象および方法

T女子短大食物栄養科の89名について1年生時の6月、2年生時の1月に身長、体重と踵骨骨密度（以下BMD）を測定した。BMDの測定はSingle-Xray absorptiometry（アロカ社、UXA-300、測定精度C.V.2%以下）によった。

血液は1年生時6月のBMD測定時に食事制限なしに採血し、測定時まで -80°C にて凍結保存した。尿は採血日の早朝尿を採取し測定まで -20°C で凍結保存した。

骨形成指標として血清アルカリフォスファターゼ（以下B-ALP、窪田の方法〔4〕）、骨吸収指標として尿中のヒドロキシプロリン（以下Hyp、池田らの方法〔5〕）を測定した。Hypはクレアチニンで補正し（Hyp/Cr）以下の解析には対数変換値を用いた。2年生時の調査時点でアンケートにより大学に入ってから運動習慣の有無と1週間あたりの回数、ダイエット経験（食事の量を減らして）の有無とその回数および月経不順の有無と1年間の回数を調査し、各要因の有無別に解析を行った。

結 果

全対象者の1年生時、2年生時の身体状況、BMDおよび1年生時のB-ALP、Hyp/Crの平均値、最大値、最小値をTable 1に示した。体重は

1年生時と2年生時に差は認められなかった。

BMDは1年生時 $0.451\text{g}/\text{cm}^2$ 、2年生時 $0.451\text{g}/\text{cm}^2$ であり変化はなかった。B-ALPは1.23B.L.U、Hyp/Crは $29.7\text{mg}/\text{gCr}$ であった。

各学年のBMDは体重と1年生時、2年生時ともに相関が認められた（1年生時 $r=0.559$, $p<0.001$, 2年生時 $r=0.453$, $p<0.001$ ）。しかし、BMDの変化量と体重変化量の間に相関は認められなかった（ $r=0.002$ ）。

B-ALPとHyp/Crの指標間には $r=0.24$ （ $p<0.05$ ）で相関が認められたが、1年生時、2年生時のBMDと骨代謝指標との間に相関は認められなかった。BMDの変化量（2年生時BMD－1年生時BMD）と骨代謝指標との関連をみたところ、B-ALPとの関連は認められなかったが、Hyp/Crとの間に $r=-0.316$ （ $p<0.01$ ）の負の相関があった（Fig. 1）。

運動との関連について、短大に入ってから運動について調べたところ、（Table 2）、運動習慣ありと答えたものは11名（以下運動群）であった。運動群の1年生時、2年生時のBMDはそれぞれ $0.486\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $0.492\text{g}/\text{cm}^2$ であり非運動群に比べ高い傾向は示したが、追跡期間中の有意な増加はみられなかった。また、骨代謝指標のうち、B-ALPは運動習慣ありでやや高い傾向を示したが、Hyp/Crは非運動群と差はなかった。運動回数との関連についても検討したが、運動回数が2回以上の者は11人中4人のみであり、それらのBMD、骨代謝指標は非運動群や運動回数2回未満者と違

Table 1 Mean Values of BMD (1st year and 2nd year) and Biochemical Markers of Bone Metabolism in Subjects (n=89)

		Mean(S.D.)	Max.	Min.
Weight(1st year)	kg	53.7(8.31)	90.1	31.9
Weight(2nd year)	kg	54.3(8.65)	83.5	33.0
BMD(1st year)	g/cm^2	0.451(0.074)	0.674	0.282
BMD(2nd year)	g/cm^2	0.451(0.084)	0.704	0.287
B-ALP	B.L.U	1.23(0.28)	2.1	0.7
Hyp/Cr [#]	mg/gCr	29.7(1.40)	72.6	12.9

[#]: Geometric mean(geometric standard deviation)

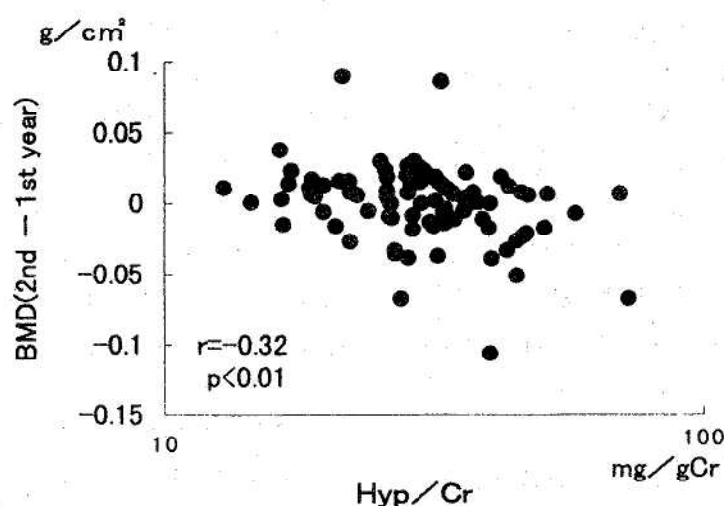


Fig 1. Relationship between Hyp/Cr and BMD (2nd-1st year)

Table 2 Mean Values of BMD (1st year and 2nd year) and Biochemical Markers of Bone Metabolism by Habitual Exercises

		Habitual exercise	
		Yes Mean(S.D.) (n=11)	No Mean(S.D.) (n=68)
BMD(1st year)	g/cm ²	0.486(0.077)	0.449(0.075)
BMD(2nd year)	g/cm ²	0.492(0.089)	0.448(0.086)
B-ALP	B.L.U	1.38(0.214)	1.22(0.281)
Hyp/Cr [#]	mg/gCr	29.2(1.42)	30.4(1.42)

[#]: Geometric mean(geometric standard deviation)

いは認められなかった。

ダイエット経験の有無、月経の状態について、アンケートがそろっていた79名を以下の4群に分け解析した。月経不順のみ有りをA群(13名)、ダイエット経験のみ有りをB群(19名)、月経不順、ダイエット経験ともに有りをA+B群(7名)とし、対照としてダイエット経験がなく月経が順調な者をC群(40名)とし比較した。

Table 3に各群の1年生時、2年生時の体重、BMDを示した。体重について、1年生時にはB群はC群に比べ高かったが($p < 0.05$)、2年生時には各群間で違いは認められなかった。4群につ

いてそれぞれ対応のあるt検定をおこなったところ、B群では体重が減少していた。しかし、他の群に変化はなかった。

BMDについて、1年生時、2年生時それぞれのBMDは、4群間に違いはなかった。しかし、各群について対応のあるt検定を行ったところ、A群、B群、C群に変化はみられなかったが、A+B群では有意に低下していた($p < 0.001$)。

Table 4に各群のB-ALP、Hyp/Crを示した。Hyp/Crについては、4群間に違いは認められなかった。B-ALPについて、A群、B群はC群に比し有意に低値を示し($p < 0.05$)、A+B群も有

Table 3 Physical Characteristics and BMD in Each Group

		Group A (n=13) Mean(S.D.)	Group B (n=19) Mean(S.D.)	Group A+B (n=7) Mean(S.D.)	Group C (n=40) Mean(S.D.)
Weight(1st year)	kg	50.3(10.06)	57.7(9.65)*	56.5(6.44)	52.9(6.83)
Weight(2nd year)	kg	52.5(10.73)	56.2(8.28)	55.4(8.70)	53.6(8.48)
BMD(1st year)	g/cm ²	0.427(0.074)	0.469(0.086)	0.447(0.071)	0.457(0.075)
BMD(2nd year)	g/cm ²	0.425(0.095)	0.464(0.088)	0.426(0.073)***	0.464(0.086)

*p<0.05, ***: p<0.001 paired t test

※: p<0.05 significantly different from Group C

Group A: subjects with menstrual irregularity

Group B: subjects with experience of diet

Group A+B: subjects with menstrual irregularity and with experience of diet

Group C: control subjects

Table 4 Biochemical Markers of Bone Metabolism in Each Group

		Group A (n=13) Mean(S.D.)	Group B (n=19) Mean(S.D.)	Group A+B (n=7) Mean(S.D.)	Group C (n=40) Mean(S.D.)
B-ALP	B.L.U	1.12(0.22)*	1.14(0.23)*	1.17(0.24)	1.34(0.29)
Hyp/Cr#	mg/gCr	29.6(1.63)	29.3(1.63)	29.3(1.40)	30.8(1.36)

#: Geometric mean(geometric standard deviation)

※: p<0.05 significantly different from Group C

Group A: subjects with menstrual irregularity

Group B: subjects with experience of diet

Group A+B: subjects with menstrual irregularity and with experience of diet

Group C: control subjects

意差は認められなかったがC群に比べ低い傾向を示した。

考 察

日本人女性の最大骨量を獲得する時期は、従来言われていた30歳代より早い10歳代後半から20歳代にかけてではないと言われるようになってきた[1]。今回の調査は追跡期間が18ヶ月とやや短い、少なくとも追跡期間の前後で踵骨骨密度に違いは認められなかった。また、骨密度が体格と相関することはよく知られており[6]、初年度の調査結果でも骨密度と体重には強い相関が認

められている[7]。しかし、今回の追跡調査における期間内では体重の増減は骨密度に影響を与えていなかった。

骨代謝指標と骨密度およびその変化量との関連を検討したところ、骨密度とB-ALP、Hyp/Crの間には関連は認められなかった。しかし、Hyp/Crと骨密度の変化量との間には負の相関があり、1年生時のHyp/Cr高値と2年生時における骨密度の低下とは関連があるものと思われた。この結果は、従来我々が述べているHyp/Crがその後の骨密度の変化を予測する指標として有用であるという考え[8]を支持するものといえる。

運動習慣との関連について、運動習慣を有する者は11名と少なかったが骨密度は運動習慣のない

者に比べ高い傾向を示し、骨形成指標も有意ではないが高かった。運動が骨密度を増加させることはこれまでも報告しており[9]、今回の結果はそれらと同じであった。しかし、今回の調査目的である追跡期間内の骨密度の増加を確認するにはいたらなかった。その原因としては運動習慣を有するものが中学、高校時代に比べ少なかったこと(初年度の調査結果では中学、高校時代に運動をしていた者は53名であった)、さらに、1週間あたりの運動回数が我々が行った高校生の調査結果[10]に比べ少なかったこと等が考えられるであろう。

次に、ダイエット経験の有無、月経不順の有無別に検討したが、従来両要因は骨密度の低下を招くとされている[2, 3]。今回の調査期間ではどちらか一方の要因のみを有する者では骨密度は低下しなかったが、両要因を有する者では短期間にも関わらず約5%の低下(1年あたり約3.3%)を認めた。この測定法における測定精度はC.V. 2%以下とされており、5%の低下は測定のバラツキ以上と考えられた。さらに、我々の閉経期女性についての調査結果[8]では、閉経期における急激な骨密度の低下は年間約3%であることが判明している。今回の調査結果と測定方法や測定部位が異なるためそのまま比較することはできないが(測定方法はDual-energy absorptiometry 測定精度C.V. 1%未満、測定部位は腰椎)、若年期における年間約3.3%の低下は重大な問題と考えられた。

一方、どちらかの要因のみを有する者では骨密度の低下は認められなかったが、骨代謝指標のうちB-ALPが有意に低く、ダイエット、月経不順

の両因子は単独であっても将来の骨密度の低下を招く可能性が示された。

文 献

1. 清野佳紀, 田中弘之, 西山宗六, 井元岳秋, 福永仁夫(1994). 医学のあゆみ, 170, 1041-1042.
2. 広田孝子, 広田憲二(1994). THE BONE, 8, 95-103.
3. 水口弘司(1992). THE BONE, 6, 27-32.
4. 窪田一男(1989). J.Nara Med. Ass., 40, 202-217.
5. 池田真吾, 大澤誠喜, 鈴木孝人, 加納堯子, 溝口勲(1987). 東京都衛研年報, 38, 277-281.
6. 大城 等, 黒沢洋一, 岩井伸夫, 吉岡輝彦, 森田親二, 能勢隆之, 飯塚舜介, 中山英明, 森尾眞介, 岡本幹三, 陶山昭彦(1995). 日本公衆衛生学雑誌, 42, (10), 400.
7. 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 西野治身, 熊西忠郎, 小島泰夫, 桑守豊美(1996). 富山衛研年報, 19, 220-223.
8. 西野治身, 田中朋子, 土肥祥子, 伊木雅之, 梶田悦子, 日下幸則, 鏡森定信(1994). 日本衛生学雑誌, 49, 807-815.
9. 西野治身, 堀井裕子, 田中朋子(1997) 第3回「地域保健福祉研究助成」報告集235-253, 大同生命厚生事業団.
10. 堀井裕子, 田中朋子, 西野治身, 尾崎一郎, 山上孝司, 松倉知晴, 鏡森定信(1998) 富山衛研年報, 21, 171-178.

中学生の骨量増加に及ぼす身体発育ならびに ライフスタイル要因の影響

西野 治身 堀井 裕子 田中 朋子 尾崎 一郎
松倉 知晴¹ 山上 孝司² 鏡森 定信³

Influence of Growth of Height, Puberty Onset
and Lifestyle Factors on the Increase of Bone
Mass in Junior High School Students

Harumi NISHINO, Yuko HORII, Tomoko TANAKA,
Ichiro OZAKI, Tomoharu MATSUKURA¹, Takashi
YAMAGAMI² and Sadanobu KAGAMIMORI³

要 旨 成長期の骨密度に影響する要因を明らかにするため、中学1年生の体格指標、踵骨骨密度および骨代謝マーカーを中学3年生まで2年間追跡し、身長伸び、第二次性徴およびライフスタイル要因との関連を検討したところ以下の結果を得た。

1. 中学男子は身長の発育が著しく、一方女子では、身長伸びは急速に低下した。その結果、中1の身長に性差はないが、中2、中3の身長は男子の方が有意に高かった。
2. 骨密度は2年間で男子では増加が認められたが、女子の有意な増加は認められなかった。
3. 骨代謝マーカーは中1、中3において骨形成、骨吸収のいずれも男子が女子より高値を示した。経年的には男女とも1年時より3年時に有意に低下したが、なお若年成人より高値を示した。
4. 第二次性徴の影響は女子の骨代謝マーカーに顕著に現れ、初潮発来後3年間で骨形成および骨吸収マーカーは大きく低下した。その後は緩やかな変化を示した。
5. ライフスタイルとの関係では、男子は中3の骨密度が運動群で有意に高く、女子では中1、中3の骨代謝マーカーが運動群で有意に高値を示したことから、運動が成長期の骨塩量を増やす効果があると推測された。

老人の骨折を引き起こす原因としての骨粗鬆症を予防する上で、成長期に出来るだけピークボンマス高めることが重要である。従来、ピークボンマスは20～30歳代にみられると考えられていたが、最近の報告¹⁾では10歳代で到達する可能性が指摘された。従って、10代の骨量に影響する要因

を明らかにする必要があるが、この時期の骨量に関する報告は未だ少なく、リアルタイムで評価しうる骨代謝マーカーの変動についてはほとんど検討されていない。そこで著者らは、成長期であり、かつ第二次性徴発来時期でもある中学生の骨量増加および骨代謝マーカーの変動とこれに影響する

1. 富山県厚生部医務課 2. 北陸予防医学協会 3. 富山医薬大保健医学

要因について、コホート調査により検討を行なった。

対象および方法

1. 調査対象

富山県Y町の1中学1年生(12歳)全員について、中学3年時(14歳)にも同一調査を受診した男子57名、女子46名、合計103名を対象とした。調査に際しては本人および保護者から書面で承諾を得た。

2. 方法

調査内容は、身体計測、骨密度および骨代謝マーカーの測定、アンケートによる第二性徴や既往歴、ライフスタイルの調査などである。

①身体状況

身体発育指標には、中1から中3の各学年4月に学校で測定した身長、体重の値を用いた。

②骨密度の測定

超音波装置(Achilles, LUNAR社製)により右踵骨の超音波伝播速度(SOS m/sec)と超音波減衰係数(BUA db/MHz)を測定し、これらの値からStiffnessを求め各々を骨密度の指標とした。

③骨代謝マーカーの測定

骨形成の指標には血清骨型アルカリフォスファターゼ(以下B-ALP, B.L.U.)を、骨吸収の指標には血清酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ(以下TR-ACP, B.L.U.)、早朝尿中のヒドロキシプロリン(以下Hyp, mg/l)およびカルシウム(以下Ca, mg/dl)を測定し、尿データは対クレアチニン比(mg/gCr)で表わした。各々の測定法は既に述べたとおり²⁾であり、省略する。

④アンケート調査

検診時に自己記入式でアンケート調査を実施した。調査項目は第二性徴、中学での運動歴や牛乳摂取を含む食事調査、骨折経験、ダイエット経験、現病歴などである。第二性徴発来は、男子は腋下发毛および陰部発毛を、女子は初潮発来を指標とした。また、運動歴は中学運動部の部活に

ついて調査した。

⑤統計学的処理

各指標は対数正規型分布を示したので、以下の検討には対数変換値を用いた。平均値の有意差の検討は、t-検定または対応ある比較検定により行い、有意水準を5%とした。各変数の相関はPearsonの相関係数を用い、5%以下を有意とした。

結 果

1. 対象者の身体発育状況

中1では身長、体重に男女差はなかった。しかし学年が進むにつれ、男子は直線的に増加したのに対し、女子の増加は小さく、2年および3年時の身長、ならびに3年時の体重に男女差が生じた(図1)。

身長の伸びを求めたところ、中1から中2までの1年間に男子では 7.3 ± 2.6 cm、女子では 3.0 ± 1.9 cmであり、男子が女子の2倍以上の伸びを示した。中2から中3の1年間の伸びは男子 6.0 ± 3.0 cmと前年同様大きな伸びを示したのに対し、女子では 1.6 ± 1.1 cmと伸びが前年の約1/2に縮小し男女差は一層拡大した。体重増加量も男子の方が有意に大であった(図1)。

2. 骨代謝マーカーの変化

骨形成の指標とされる血清B-ALP活性は、中1では男子平均7.6BLU、女子4.4BLUで男子が有意に高値を示した。中3においても男子(5.0BLU)が女子より高値であった。中1から中3への経年変化を対応あるt-検定で検討したところ、3年時には男女とも有意に低下していた(各 $p < 0.01$)。3年女子の値は2.1BLUで中1、中3の男子および中1女子より有意に低値となったが、35~45歳の未閉経女性(若年成人³⁾、1.0BLU、未発表⁴⁾)に比べなお2倍以上の高値を示していた(図2)。

骨吸収マーカーのうち血清TR-ACP活性は、中1では男子が 0.93 BLU、女子 0.65 BLUで男子が女子より有意に高値を示し、中3も男子(0.74

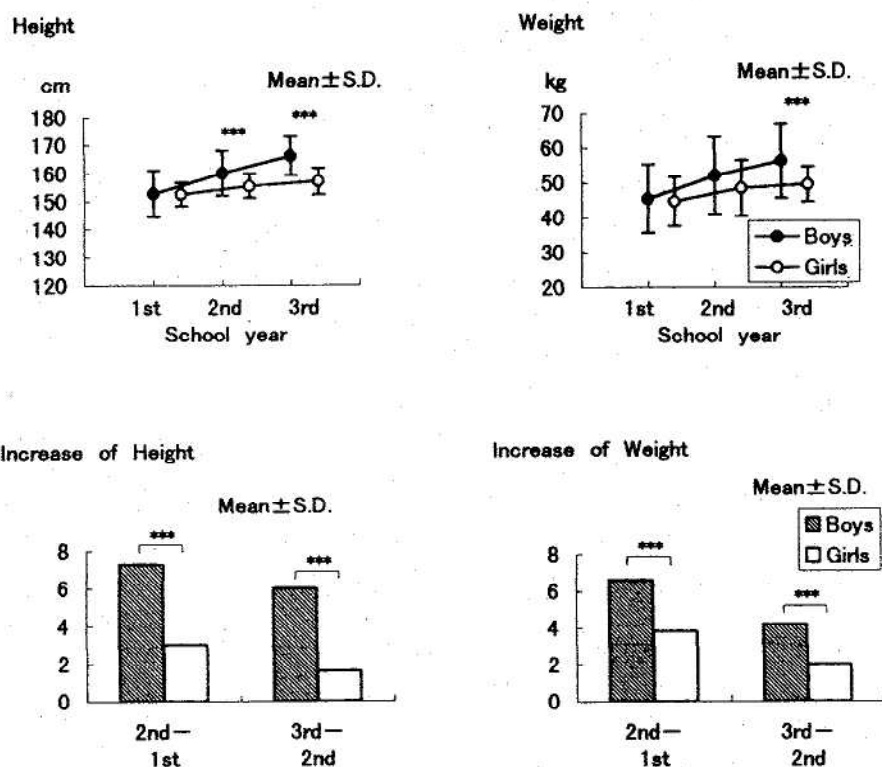


Fig. 1 Appearance of Bodily Development in Subjects

***p<0.001 for differences between boys and girls

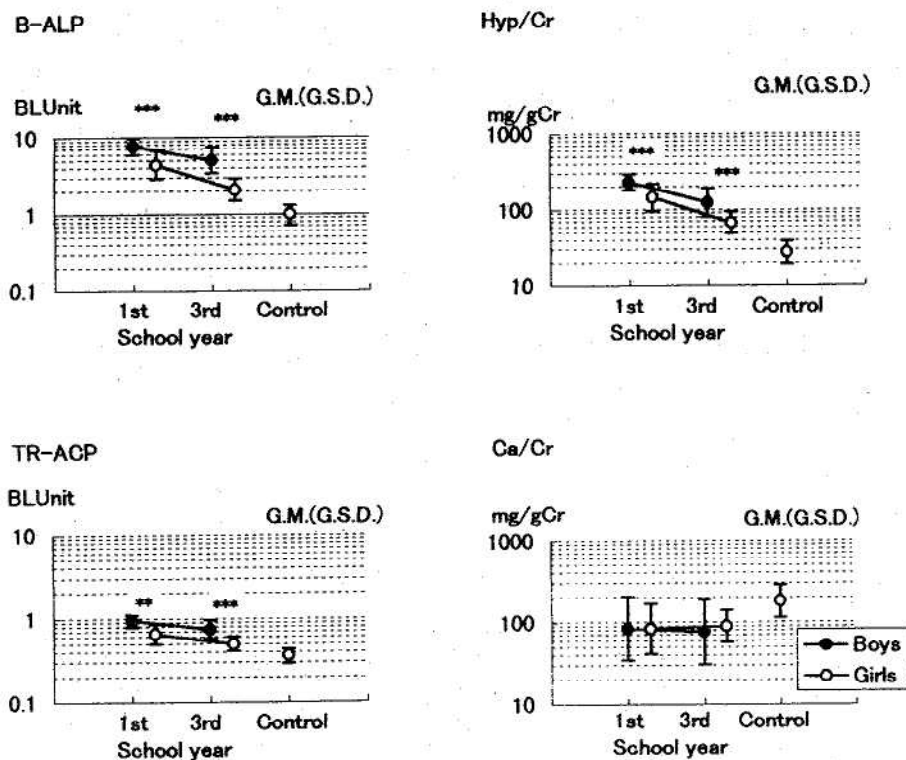


Fig. 2 Changes of Biochemical Markers of Bone Metabolism in Subjects

***p<0.001 for differences between boys and girls

Control: 35~45 years premenopausal women

BLU)の方が高かった。中1から中3への変化は男女とも3年時に有意に低下していた(各 $p < 0.01$)が、最も低い3年女子の値でも、若年成人(0.36BLU)に比べると高値であった。尿中Hyp/Crは中1男子が228.6mg/gCr, 女子では144.7mg/gCrであり、いずれも高濃度で検出された。男女間では男子の方が高値を示し、中3も男子(122.7mg/gCr)が女子(67.0mg/gCr)より高濃度であった。経年的には男女とも1年より3年時に有意に低値となった(各 $p < 0.01$)が、今回の測定値で最も低い3年女子の値でも、若年成人(27.2mg/gCr)に比べると2倍以上の高濃度を示した。尿中Ca/Crは他と異なる傾向を示し、中1の男子(83.4mg/gCr), 女子(83.1mg/gCr)間に有意の差はなく、追跡期間中も一定の変化はみられなかった。また、中3女子(89.1mg/gCr)ではCa/Crは成人(180mg/gCr)の約1

／2と明らかな低値を示し、他のマーカーが成人より高値を示した結果とは大きく相違した(図2)。

3. 骨密度の変化

SOSは中1では男子で1558.5m/sec, 女子では1558.2m/secであり、BUAは男子110.2db/MHz, 女子112.1db/MHzといずれも男女間に差を認めなかった。Stiffnessも各々89.7, 91.0となり男女差はみられなかった。しかし2年後の変化をみると、男子ではStiffness, BUAが有意に増加し(各々 $p < 0.001$), SOSも増加傾向を示した。一方、女子ではBUAは増加した($p < 0.01$)もののSOSは逆に低下($p < 0.01$)し、Stiffnessには変化がなかった。その結果、中3の骨密度は、StiffnessとSOSで男子が高い傾向を示した(図3)。

4. 身長および体重の増加と骨代謝マーカーの関係

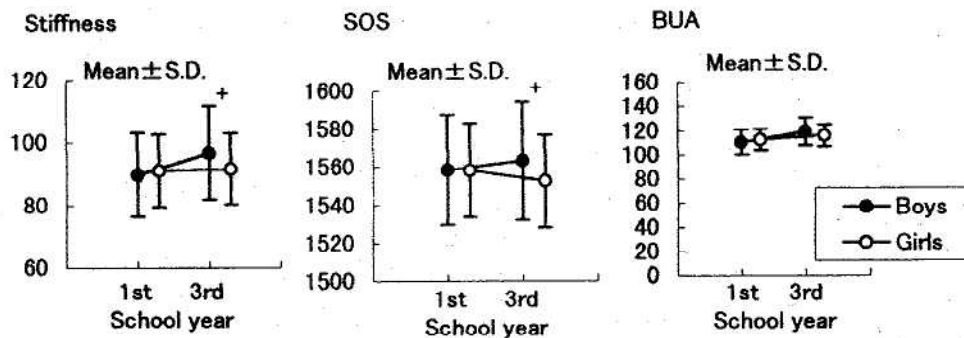


Fig.3 Change of Ultrasound Measurements of Bone Mass at the Calcaneus

+ $p < 0.1$ for differences between boys and girls

Table 1 Correlation Coefficients between Increase of Height per Year and Values of Biochemical Markers of Bone Metabolism (1st)

	B-ALP	TR-ACP	Hyp/Cr	Ca/Cr
Boys	0.263 ⁺ [52]	0.300 [*] [52]	0.533 ^{***} [56]	-0.085 [56]
Girls	0.704 ^{***} [46]	0.716 ^{***} [45]	0.824 ^{***} [45]	0.070 [45]

+; $p < 0.1$, *; $p < 0.05$, ***; $p < 0.001$

[]: Number of subjects

表1はbaseline時(中1)のマーカーとその後1年間の身長伸びとの相関係数をまとめたものである。男子では血清 TR-ACP, 尿中 Hyp/Cr が, 女子では尿中 Ca/Cr を除く全てのマーカーが身長伸びと有意な正相関を示した。体重増加との相関は(表2), 男子では B-ALP が, 女子では TR-ACP, Hyp/Cr が有意となったが, 相関係数 r は体重増加より身長伸びとの間により大きな係数として得られた。

5. 骨密度と骨代謝マーカーの関係

baseline 時(中1)に測定した骨代謝マーカーは同時期の骨密度と有意な関係はなく, 中3の骨密度との有意な関係もみられなかった(図表略)。しかし, baseline 時の B-ALP, TR-ACP, Hyp/Cr は中1から中3までの骨密度変化量と有意な正相関が認められた(表3)。

6. 第二性徴発来の時期

中3年時に実施した第二性徴に関するアンケート調査で, 男子には腋毛および陰部発毛状況を,

女子には月経状況を尋ねたところ, 腋毛“有り”は36人(71%), “無し”は15人(29%)であり, 陰部発毛は50人(98%)が“有り”と回答し“無し”は1人(2%)のみであった。女子では全員が3年時に月経“有り”と答えた。第二性徴発来の時期は(図4), 男子の腋毛が中2(19人, 31%), 陰部発毛が中1で最も多く(20人, 32%), 後者の方が1年早く確認された。女子では初潮発来は小6で最も多く(18人, 35%), 中1(12人, 23%), 小5(10人, 19%)の3学年に集中していた。

7. 骨密度および骨代謝マーカーと第二性徴との関係

第二性徴の骨量への影響を検討するため, 各個人毎に, 男子は陰部発毛, 女子は初潮発来の学年を0年とし, その前後の骨密度および骨代謝マーカーの値を並べ替え経年変化をみた(図5)。骨密度は男子では陰部の発毛後増加する傾向がみられ, 特に発毛の年と1年後との間に BUA は有意

Table 2 Correlation Coefficients between Increase of Weight per Year and Values of Biochemical Markers of Bone Metabolism (1st)

	B-ALP	TR-ACP	Hyp/Cr	Ca/Cr
Boys	0.397** [52]	0.236* [52]	0.256* [56]	-0.002 [56]
Girls	0.206 [46]	0.335* [45]	0.320* [45]	-0.178 [45]

+: $p < 0.1$, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

[]: Number of subjects

Table 3 Correlation Coefficients between Changes of Ultrasound Measurements of Bone Mass at the Calcaneus (3rd-1st) and Values of Biochemical Markers of Bone Metabolism (1st)

	B-ALP	TR-ACP	Hyp/Cr	Ca/Cr
Δ Stiffness	0.339**	0.393***	0.343**	-0.017
Δ SOS	0.250*	0.285**	0.228*	-0.094
Δ BUA	0.281*	0.336**	0.314**	0.058

+: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

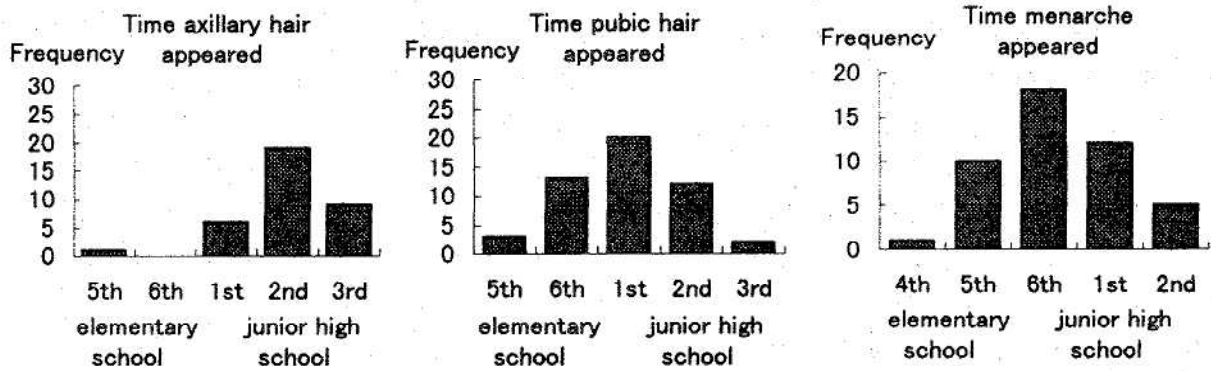


Fig. 4 Distribution of the Time Puberty Onset

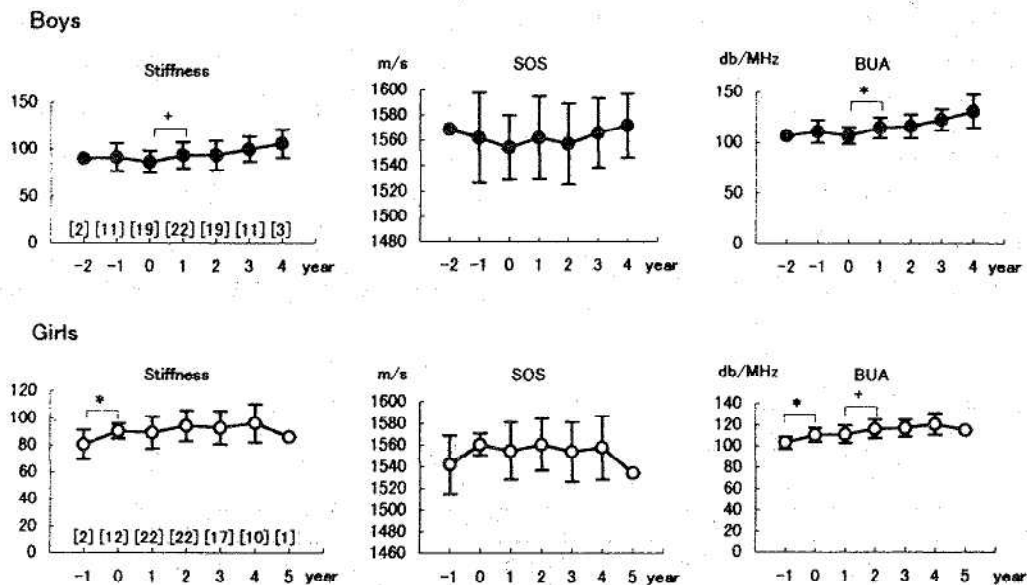


Fig. 5 Mean Ultrasound Measurements of Bone Mass at the Calcaneus by Pubertal Development

Boys: 0 year is the time pubic hair appeared, Girls: 0 year is the time menarche appeared
+ $p < 0.1$, * $p < 0.05$

に増加 ($p < 0.05$), Stiffness も増加の傾向を示した ($p < 0.1$)。女子も骨密度は僅かずつ増える傾向を示したが男子ほど明瞭ではなかった。次に骨代謝マーカーについて同様に検討した (図6)。血清 B-ALP と尿中 Hyp/Cr は、男子では陰部発毛の2年前から発毛の2年後まで継続して高値を維持し、2年後から3年後の間で有意な低下がみられた。一方、女子の場合は、初潮直後から3年後まで両指標は大きく低下し、4年後以降プラトー

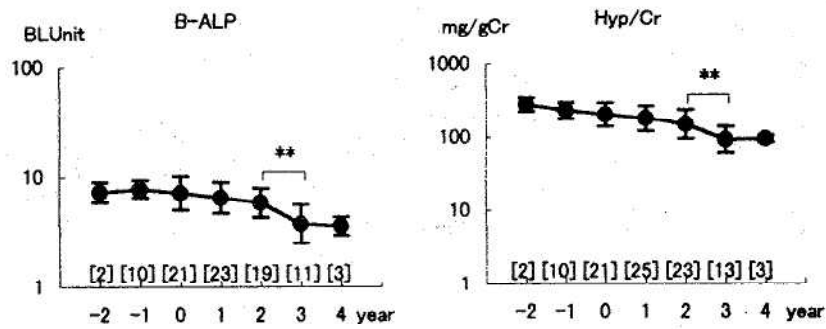
に近い状態で推移した。

8. 骨密度とライフスタイルの関係

1) 中学の運動と骨密度

ライフスタイル要因として、中学の運動部での活動状況を調べた。男子では中1年時に運動部“有り”は46人中35人 (76%), “無し”は11人 (24%) であり中3も同数であった。男子の骨密度を運動の有無別に比較したところ (図7), 中1に有意差はみられなかったが、中3の値は Sti-

Boys



Girls

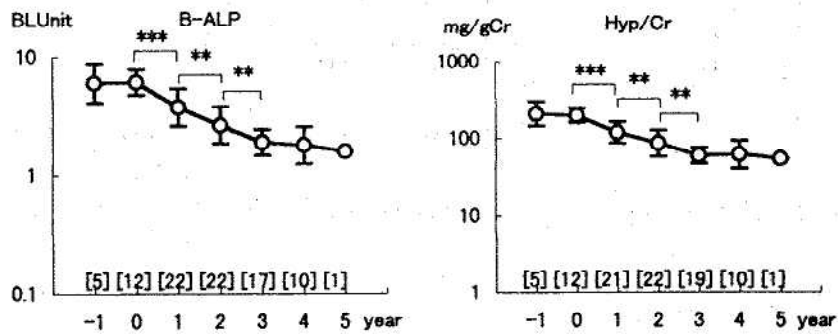
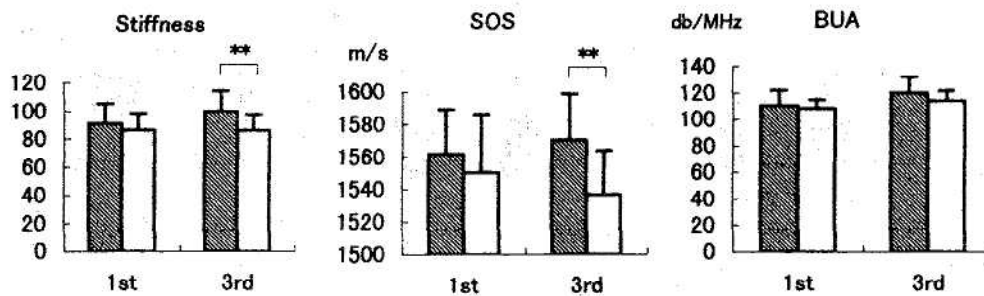


Fig. 6 Mean Values of Biochemical Bone Markers by Pubertal Development

Boys: 0 year is the time pubic hair appeared, Girls: 0 year is the time menarche appeared
 ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

Boys



Girls

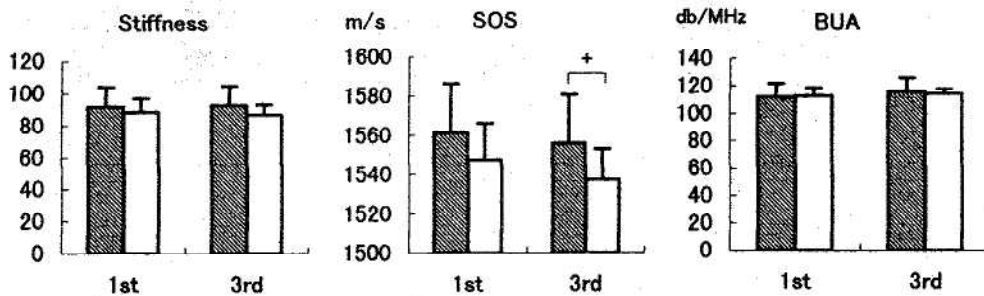


Fig. 7 Mean Ultrasound Measurements of Bone Mass at the Calcaneus by Sport Club Activities

+ $p < 0.1$, ** $p < 0.01$

■ Sport club yes

□ Sport club no

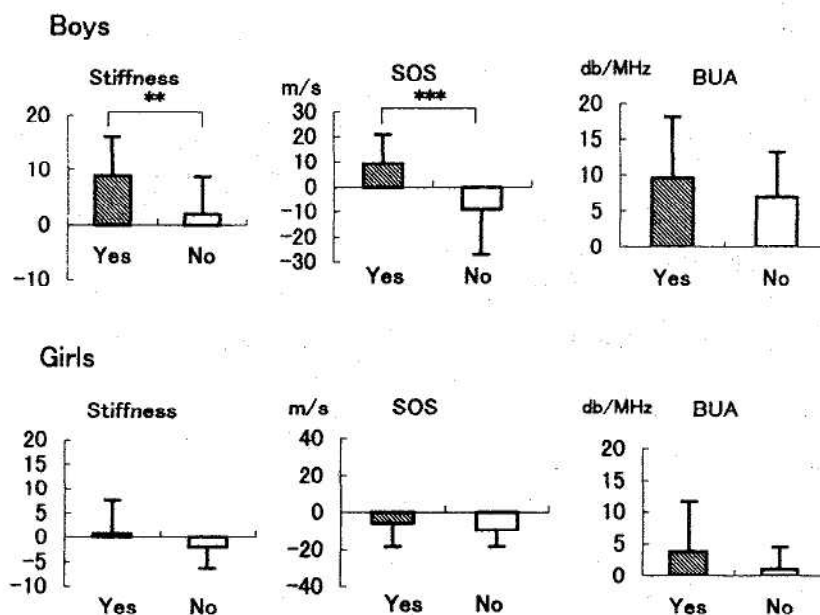


Fig. 8 Changes of the Ultrasound Measurements of Bone Mass at the Calcaneus by Sport Club Activities

p<0.01, *p<0.001

■ Sport club yes
□ Sport club no

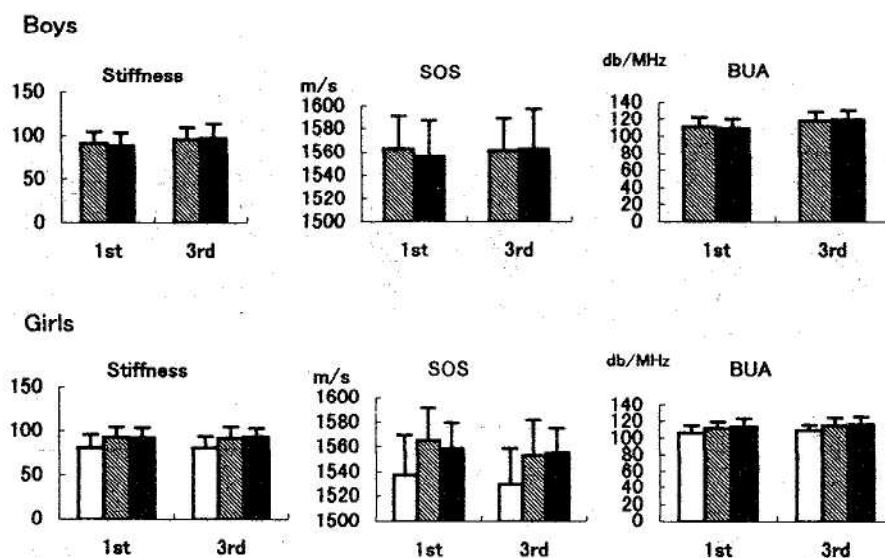


Fig. 9 Mean Ultrasound Measurements of Bone Mass at the Calcaneus by Habitual Milk Intake

□ no habit
▨ 1 bottle/day
■ more than 2 bottles/day

fness, SOSが運動部“有り”で有意に高く、さらに中1から中3への骨密度の変化量(図8)も各指標とも運動部“有り”でプラスとなり、その増加の量はStiffnessおよびSOSで運動部“無し”より有意に大であった。女子では運動部“有り”は45人中38人(84%),“無し”は7人(16%)であった。運動の有無により有意な差はなかったが、中3のSOSは部活“有り”が大となる傾向を示した(図7)。骨密度変化量は女子では小さく、運動の有無による違いもみられなかった(図8)。

2) 中学の牛乳摂取習慣と骨密度

食生活特にCa摂取量は骨への影響が予想されるもう一つの重要な要因である。成長期のCa摂取量はその多くを牛乳に依存している。中学3年間での牛乳摂取量は、給食で提供されたものを含め、男子では1日に最低1本、最高5本飲み、平均2.1本であった。回答のあった53人のうち、1本のみ飲用は21人(40%)で、残りの60%は2本以上飲んでいて、女子では全く飲まないものが存在したが(3人, 7%), 最高5本飲むものもあり平均1.7本であった。牛乳摂取量と骨密度の関係をみるために男子について1日1本と2本以上の2群に分けて骨密度を比較したが有意差はみられなかった。女子では飲まない群を加え3群について検討したところ、有意ではないが飲まない群のStiffness, SOSおよびBUAが飲む群より低値となる傾向を示した(図9)。

9. 骨代謝マーカーとライフスタイルの関係

中学での運動および牛乳摂取習慣と骨代謝マーカーとの関連を検討した。その結果、中1および中3年時の血清B-ALPと尿中Hyp/Crについて、運動部活動の有無別に比較を行なったが2群間に有意な差は認められなかった。牛乳摂取習慣との関係についても、B-ALP, Hyp/Crの値に有意な違いはみられなかった(図省略)。

考 察

中学生の体格の発達には特に男子生徒で著しく、

身長は年に6~7cmの伸びを継続して示した。一方、女子では中1から中2の1年間に身長が平均3cmの伸びを示したが、中2から中3ではその半分の伸びに留まり、身長の伸びが停止時期に近づいていることを推測させた(図1)。

骨代謝マーカーは、骨形成のB-ALPと骨吸収のHyp/Crが、中1の男子で成人の7~10倍もの高値を示し、この値は中3では有意に低下したものの、低回転型を示す若年成人と比べればなお数倍高く、明らかな高回転型を継続していると考えられた。女子では、中1のB-ALP, Hyp/Crは成人の4~7倍高値で、男子と同様高代謝回転の状態にあると推測された。しかし男子と異なり、これらのマーカーは中3で1/2以下に低下したことから、女子の骨代謝は中学の時期に低回転型へと移行する可能性を示した(図2)。また、骨代謝マーカーと身長の伸びとの間には男女とも有意な正相関が認められたので(表1)、成長期の骨代謝マーカーは、その後の身長の伸びを反映する指標になりうると考えられた。

中1から中3への骨密度の経年変化は、男子のBUA, Stiffnessが有意に増加したことから、男子では中学3年間に骨密度を効率よく増やすことができると思われた(図3)。一方、女子の場合は骨密度の各指標に一定した変化がみられず、増加していることを実証できなかった。従って、女子の骨密度は中学以前に最大に達している可能性が示唆された。以上の結果から、男子ではより高いピークボンマスの獲得に中学での対策が効果的であろうと考えられた。

骨密度の増加維持には性ホルモンが大きく関与するといわれる。そこで、中学生の骨密度に対する第二性徴の影響を検討するため、男子では陰部発毛、女子では初潮を指標とし、各々の発来年を起点として前後の変化を検討した(図5)。骨密度は、男子でStiffness, BUAが増加傾向にあり、発毛の年から1年後に有意な増加がみられた。骨代謝マーカーは、男子では陰部発毛を境にしてその近辺での大きな変化はみられず、高値を維持しながら推移し、第二性徴の影響は明らかではなかった。これに対し、女子では初潮発来から

骨代謝マーカーは毎年大きく低下し、初潮を契機に高回転型から低回転型の骨代謝に移行することが示された。Blumsohnら⁵⁾は、思春期を対象とした検討で女性ホルモンと骨代謝マーカーの間に負の相関を認めたと報告している。この結果を参考にすれば、初潮後は女性ホルモンの分泌が始まり、そのため低回転型を示したのではないかと考えられる。さらに、マーカーと身長伸びは正相関を示すことから、身長伸びの急速な低下は初潮発来に伴うものと推測された。

ライフスタイル要因として、男子では中学での運動が骨密度を高め、ピークボンマスの獲得に有効であると考えられた(図7, 8)。女子では運動がSOSを高める可能性が示された(図7)が、運動の効果は男子に比べて小さく、より早期の小学高学年で再度検討する必要性が感じられた。牛乳摂取習慣による影響は、今回の検討では男子でも観察できなかった。今後は、過去、特に小学時の牛乳摂取量との関係を調査するとともに、より若年層を対象としたコホート研究を継続することで、その影響を明らかにしうるものとする。

謝辞：本調査の実施にあたり、ご協力を頂いた富山県教育委員会、八尾町教育委員会、八尾町立

八尾小学校および八尾中学校の関係各位、さらに超音波骨密度測定機器 Lunar 社の Achiless の借用をお願いした松井薬品(株)村山様に感謝致します。

文 献

1. J. P. Sabatier, G. Guaydier-Souquieres, D. Laroche, A. Benmalek, L. Fournier, F. Guillon-Metz, J. Delavanne and A. Y. Denis (1996). *Osteoporosis Int.*, 6, 141-148.
2. 西野治身, 田中朋子, 堀井裕子, 伊木雅之, 梶田悦子, 土肥祥子, 日下幸則, 鏡森定信 (1995). 富山衛研年報, 18, 167-172.
3. 日本骨代謝学会骨粗鬆症診断基準検討委員会 (1995). 日本骨代謝学会雑誌, 13, 113-118.
4. 西野治身, 田中朋子, 土肥祥子, 伊木雅之, 梶田悦子, 日下幸則, 鏡森定信 (1994). 日衛誌, 49, 807-815 (1994).
5. A. Blumsohn, R. A. Hannon, R. Wrate, J. Barton, A. W. Al-Dehalml, A. Colwell and R. Eastell (1994). *Clin Endocri.*, 40, 663-670.

高校生の骨代謝指標および骨密度 とライフスタイルとの関連

堀井裕子 田中朋子 西野治身 尾崎一郎
山上孝司¹ 松倉知晴² 鏡森定信³

The Relationship between the Biochemical
Markers of Bone Metabolism or
Bone Mineral Density and Lifestyle
Factors in High School Students

Yuko HORII, Tomoko TANAKA, Harumi
NISHINO, Ichiro OZAKI, Takashi
YAMAGAMI¹, Tomoharu MATSUKURA²
and Sadanobu KAGAMIMORI³

要 旨 高校3年生男子75名、女子102名について骨形成指標 (B-ALP, BGP), 骨吸収指標 (TR-ACP, Hyp/Cr, Pyr/Cr, DPyr/Cr) および超音波法による骨密度 (Stiffness, SOS, BUA) を測定し、運動、牛乳摂取習慣との関連を検討し以下の結果を得た。

1. 運動クラブ活動参加の有無で運動“クラブあり”、“クラブなし”に分け、骨代謝指標および骨密度を比較した。その結果、骨代謝指標は“クラブあり”の男子のB-ALPが有意に高く ($p<0.05$)、女子ではTR-ACP, Hyp/Cr, DPyr/Crが低い傾向を示した。骨密度は男女ともにStiffness, SOSが有意に高かったが、BUAに違いはなかった。
2. 運動クラブ種目別に、骨代謝指標と骨密度についてクラブの有無による比較を行ったところ、男子は“バドミントン”のB-ALPが高かった ($p<0.05$)。女子は“ホッケー”でB-ALPが高値を示し ($p<0.05$)、さらに骨吸収指標のPyr/Cr, DPyr/Crが低値だった (共に $p<0.05$)。また女子の“バレーボール”はHyp/Crが低かった ($p<0.05$)。骨密度は男女共に“バスケットボール”、“ホッケー”、男子の“野球”、女子の“バレーボール”でStiffness, SOSが高値を示した。
3. 牛乳摂取習慣との関連では、男子で牛乳摂取が1日2本 (400ml) 以上と摂取が多いもののSOSが高かった ($p<0.05$)。

我々はこれまで成長期の高校生について骨代謝指標を測定し、骨代謝指標は成長と関連していることを報告した [1]。さらに骨代謝に影響を与

える要因として運動との関連を検討し、スポーツテストの成績が良いもので骨吸収指標は低く、骨形成指標は高いという結果を得、骨代謝の面から

1. 北陸予防医学協会

2. 富山県厚生部医務課

3. 富山医薬大保健医学

思春期において運動は骨量を増大させるのに有効な要因であることが考えられた [2]。そこで今回は骨代謝指標にあわせて超音波法により骨密度を測定し、それらと運動の有無および種目との関連を検討した。また牛乳摂取習慣との関連についても検討したので報告する。

対象および方法

対象は富山県内の1高校3年生全員、男子85名、女子115名で、そのうち、血液、尿検査および骨密度測定、アンケート調査を実施できた男子75名(88%)、女子102名(89%)について検討を行った。

調査項目は骨代謝指標の測定、骨密度測定、身体計測値、運動実施状況、牛乳摂取状況である。

骨代謝指標は骨形成の指標として血清骨型アルカリフォスファターゼ(以下B-ALP)、血清オステオカルシン(以下BGP)、骨吸収の指標として血清酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ(以下TR-ACP)、早朝尿中のヒドロキシプロリン(以下Hyp)、ピリジノリン(以下Pyr)、デオキシピリジノリン(以下DPyr)を測定した。尿中

成分は対クレアチニン比(/Cr)として表した。指標のうちBGP、Pyr、DPyrについては対象の一部(男子:BGP57名、Pyr、DPyr62名、女子:3項目とも62名)について測定した。それぞれの測定方法はすでに報告した[3]とおりである。

骨密度は、超音波装置(Achilles, LUNAR社)により右踵骨の超音波伝播速度(SOS [m/sec])と超音波減衰係数(BUA [db/Mhz])を測定し、これらの値からStiffnessを求め骨密度の指標とした。

骨代謝指標測定用の検体採取と骨密度の測定は4月に行った。

身体計測値は高校2、3年の各4月に学校で測定した身長、体重の値を用いた。

運動実施状況はアンケートにより高校時の学校内、学校外の運動クラブ活動参加の有無、種目について調査した。牛乳摂取状況は高校時に一日に飲む牛乳本数(1本200mlとして)を調査した。

結果および考察

Table 1に対象者の身体計測値および尿、血清

Table 1. Physical Characteristics and Biochemical Markers of Bone Metabolism in Subjects

		Boys				Girls					
		School year	n	Mean	S.D.		n	Mean	S.D.	t-test	
Height	(cm)	2nd	75	169.9 ±	5.56	] ***	102	158.7 ±	5.03	] ***	p<0.001
		3rd	75	170.6 ±	5.47		102	159.2 ±	4.98		p<0.001
		3rd-2nd	75	0.7 ±	0.6		102	0.5 ±	0.5		p<0.05
Weight	(kg)	2nd	75	59.8 ±	7.7	] ***	102	54.0 ±	6.0	] ***	p<0.001
		3rd	75	61.4 ±	8.0		102	54.0 ±	6.3		p<0.001
		3rd-2nd	75	1.6 ±	2.6		102	0.0 ±	2.1		p<0.001
B-ALP	(BLU)	3rd	75	2.52 ±	0.96		102	1.46 ±	0.38		p<0.001
BGP*	(ng/ml)	3rd	57	10.8 ±	1.48		62	6.9 ±	1.47		p<0.001
TR-ACP	(BLU)	3rd	70	0.44 ±	0.11		98	0.32 ±	0.05		p<0.001
Hyp/Cr*	(mg/gCr)	3rd	75	45.9 ±	1.34		102	36.3 ±	1.36		p<0.001
Pyr/Cr*	(nmol/mmolCr)	3rd	62	39.8 ±	1.32		62	34.1 ±	1.27		p<0.01
DPyr/Cr*	(nmol/mmolCr)	3rd	62	8.1 ±	1.31		62	6.1 ±	1.35		p<0.001

*** p<0.001

n: Number of subjects, S.D.: Standard deviation

*: Geometric mean and geometric standard deviation

t-test: Significantly different from the boys

中骨代謝指標値を示した。血清BGPおよび尿中Hyp/Cr, Pyr/Cr, DPyr/Crは対数正規に近い分布を示したので以下の検討では幾何平均, 幾何標準偏差を用いた。体格では2, 3年生時の身長, 体重および各々の変化量(3-2年生時値)はすべて男子が女子より有意に高かった。骨代謝指標値もすべての測定値で男子が女子より高値を示した。この結果は以前に行った他の高校3年生についての調査[2]と同様であった。

骨代謝指標と成長との関連について, 今回とは異なる高校3年生を対象とした検討[2]において, 男子はB-ALP, Hyp/Crと身長の変化量に正の相関があるが女子ではなかったことを報告した。今回の対象では男子のB-ALP ($r=0.320$, $p<0.01$), BGP ($r=0.406$, $p<0.01$), Pyr/Cr ($r=0.286$, $p<0.05$)は身長変化量との間に有意な正の相関があったがその他の指標(TR-ACP, Hyp/Cr, DPyr/Cr)とは有意な関連はなく, 女子では全ての指標で関連がみられなかった。このため, 男子の骨代謝指標には成長の影響があると考えられ, 以下の骨代謝指標とライフスタイルとの関連について男子は身長の変化量もあわせて検討した。

Table 2に対象者の骨密度を示した。男女間の比較ではStiffness, SOS, BUA全てで男子が女子より高値を示した。

骨代謝指標と骨密度との関連をみると(Tableなし)男女ともにDPyr/CrはSOSとの間に負の(男子 $r=-0.275$, 女子 $r=-0.260$ 共に $p<0.05$), また女子のHyp/CrはStiffness ($r=$

-0.212 , $p<0.05$), SOS ($r=-0.211$, $p<0.05$)と負の相関があったが他の指標に関連は認められなかった。成長期の骨代謝指標と骨密度の関連については, 我々の中学生における調査でも中学1年生のときに測定した骨代謝指標と骨密度との間に関連は認められていないが, 中学1年生の骨代謝指標と中学1年から3年の骨密度変化量との間には正相関が認められている[4]。これは骨代謝指標が今現在の骨代謝状態を表し, 将来の骨密度を予測するという特性を持つためと考えられ, 今回は骨代謝指標と骨密度測定が同時点であったのであまり関連がみられなかったのかもしれない。

以下にライフスタイルとして運動, 牛乳摂取を取り上げそれらと骨代謝指標および骨密度との関係を検討した。

運動との関係

運動クラブ活動参加の有無別に骨代謝指標および骨密度を比較した(Table 3)。運動クラブの有無は学校内, 学校外のいずれか一方でも運動クラブ活動に参加しているものを“クラブあり”, どちらも参加していないものを“クラブなし”とした。骨代謝指標について男子は“クラブあり”のB-ALPが有意に高値を示した($p<0.05$)が, その他の指標に違いはなかった。またクラブ活動参加の有無で身長の伸びに差はなかった。女子では運動クラブ活動参加の有無で骨代謝指標に有意な差はなかったものの“クラブあり”のTR-ACP, Hyp/Cr, DPyr/Crが低い傾向にあった。骨密度は男女ともに運動クラブありのStiffness, SOSが有意に高く(Stiffness, SOS共男子 $p<$

Table 2. The Value of Stiffness, SOS and BUA by Ultra Sound System

	Boys			Girls			t-test
	n	Mean	S.D.	n	Mean	S.D.	
Stiffness	75	103.4 ±	11.8	102	94.9 ±	9.9	$p<0.001$
SOS (m/sec)	75	1590 ±	28.4	102	1576 ±	28.3	$p<0.01$
BUA (dB/MHz)	75	118.2 ±	10.7	102	111.2 ±	6.5	$p<0.001$

n: Number of subjects, S.D.: Standard deviation

t-test: Significantly different from the boys

Table 3. The Biochemical Markers of Bone Metabolism and Ultrasound Measurements of Bone Mass at the Calcaneus by Sport Club Activities

	Boys Sport club						Girls Sport club					
	Yes			No			Yes			No		
	n	Mean	S.D.	n	Mean	S.D.	n	Mean	S.D.	n	Mean	S.D.
B-ALP (BLU)	57	2.70	± 1.00	18	2.10	± 0.70 *	56	1.50	± 0.39	45	1.40	± 0.39
BGP [#] (ng/ml)	44	11.1	± 1.49	13	10.0	± 1.48	35	6.8	± 1.43	26	7.0	± 1.52
TR-ACP (BLU)	53	0.44	± 0.12	17	0.44	± 0.07	55	0.32	± 0.05	42	0.34	± 0.06
Hyp/Cr [#] (mg/gCr)	57	46.2	± 1.36	18	45.0	± 1.29	56	34.6	± 1.40	45	38.4	± 1.29
Pyr/Cr [#] (nmol/mmolCr)	48	40.0	± 1.34	14	38.9	± 1.23	35	32.5	± 1.30	26	35.9	± 1.21
DPyr/Cr [#] (nmol/mmolCr)	48	8.1	± 1.32	14	7.9	± 1.32	35	5.7	± 1.37	26	6.6	± 1.28
Stiffness	57	105.5	± 11.7	18	97.0	± 9.9 **	56	97.9	± 8.8	45	91.0	± 9.9 ***
SOS (m/sec)	57	1595	± 29.0	18	1575	± 20.5 **	56	1586	± 26.4	45	1562	± 25.2 ***
BUA (dB/MHz)	57	119.4	± 10.8	18	114.3	± 9.6	56	111.7	± 5.8	45	110.4	± 7.4

n: Number of subjects, S.D.: Standard deviation

#: Geometric mean and geometric standard deviation

*, **, ***: Significantly different from the with sport club at $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ respectively

0.01, 女子 $p < 0.001$), BUA には差がなかった。

運動と骨代謝指標との関連については、前回の検討で運動クラブありは男子の骨吸収指標が低く、また、スポーツテスト成績との関連は成績が良い者で男女共に骨吸収指標が低値を示し、さらに女子では骨形成指標が高値であり、骨代謝に良い影響を与えると考えられた [2]。今回検討した結果では、運動“クラブあり”の男子は骨形成指標が高く、女子は骨吸収指標が低い傾向を示し、男子では骨形成の亢進が、女子では骨吸収の抑制が示された。この結果は、前回の男女における変化の傾向（男子：骨吸収抑制、女子：骨吸収抑制と骨形成亢進）とやや異なっているが、前回の結果とあわせて考えると、運動は男女にかかわらず骨形成を亢進させるように、骨吸収には抑制的に作用することが示唆される。また、骨密度に関しては“クラブあり”で Stiffness, SOS が高く、運動による骨代謝の変化は結果として骨密度を増加させると推測された。一方、BUA に差はなかった。超音波法による測定値については、SOS は骨塩量を表し、BUA は海面骨の骨梁構造を反映し、骨質を表すといわれている [5]。今回 SOS は差がみられたが BUA に違いがなかったことか

ら運動は主として骨塩量に影響を与えると思われる。

さらに運動“クラブあり”の骨代謝指標および骨密度を種目別に“クラブなし”と比較した (Fig. 1, 2)。骨代謝指標は“クラブなし”に比べ、男子“バドミントン (図中 D)”の B-ALP が高かった ($p < 0.05$) が、身長伸びには違いがなかった。女子について、“ホッケー (B)”は B-ALP が高く ($p < 0.05$)、骨吸収指標の Pyr/Cr, DPyr/Cr は“クラブなし”より低かった (共に $p < 0.05$)。また、“陸上 (H)”は B-ALP が低値を示し ($p < 0.001$)、“バレーボール (I)”は Hyp/Cr が低値であった ($p < 0.05$)。骨密度は、男子は“バスケットボール (A)” (Stiffness $p < 0.01$, SOS $p < 0.001$)、“ホッケー (B)” (共に $p < 0.001$)、“野球 (C)” (共に $p < 0.05$) の Stiffness, SOS が“クラブなし”より有意に高く、また“バスケットボール (A)”では BUA も高値を示した ($p < 0.05$)。女子では運動クラブありの Stiffness, SOS は全種目で“クラブなし”より高い値であり、有意差があったのは“バスケットボール (A)”の Stiffness ($p < 0.05$)、“バレーボール (I)” (Stiffness $p < 0.05$, SOS $p < 0.01$)、

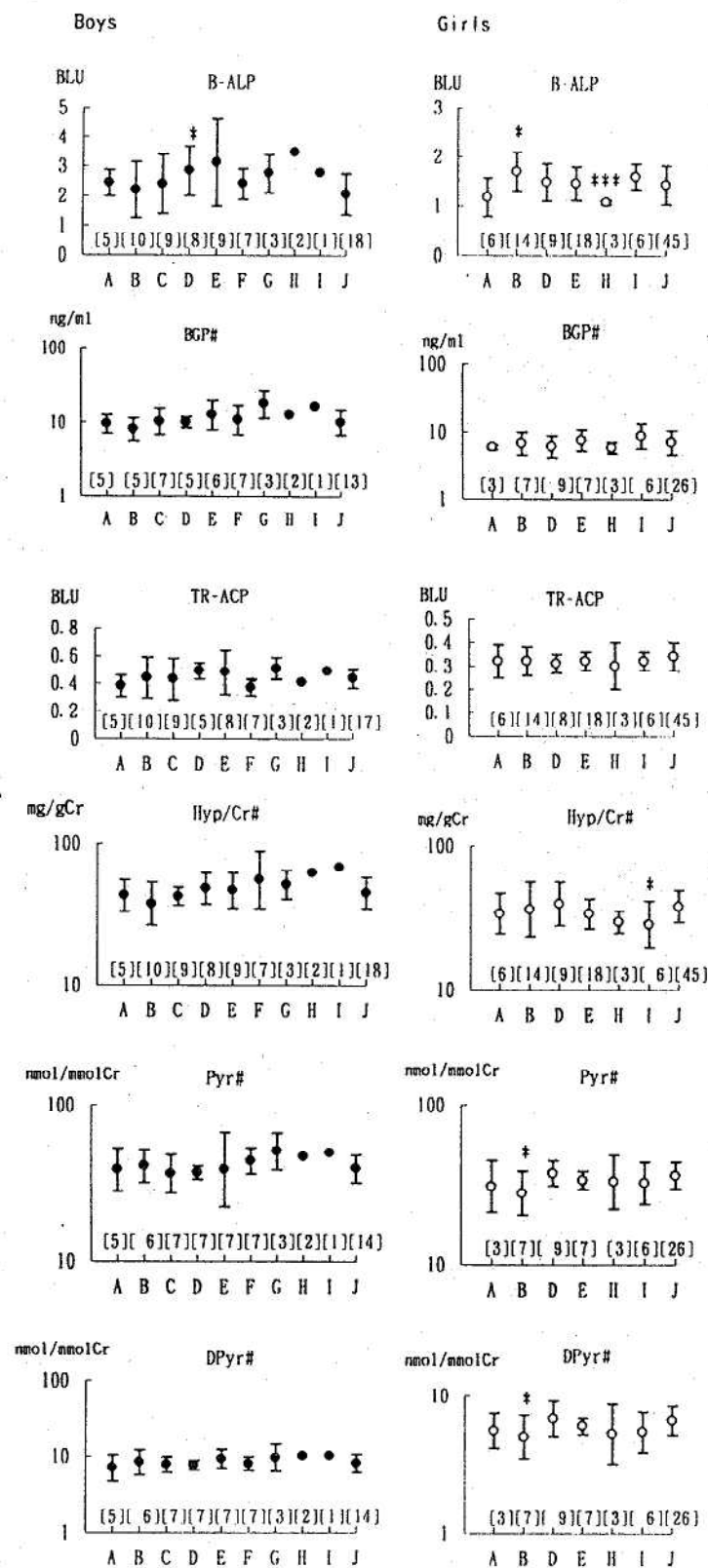


Fig. 1. Levels of Biochemical Markers of Bone Turnover by the Kind of Sport Club

[]: Number of subjects

*, ***: Significantly different from the no sport club at $p < 0.05$, $p < 0.001$ respectively

#: Geometric mean and geometric standard deviation

A: basketball, B: hockey, C: baseball, D: badminton, E: tennis, F: table tennis,

G: judo, H: athletic sports, I: volleyball, J: no sport club

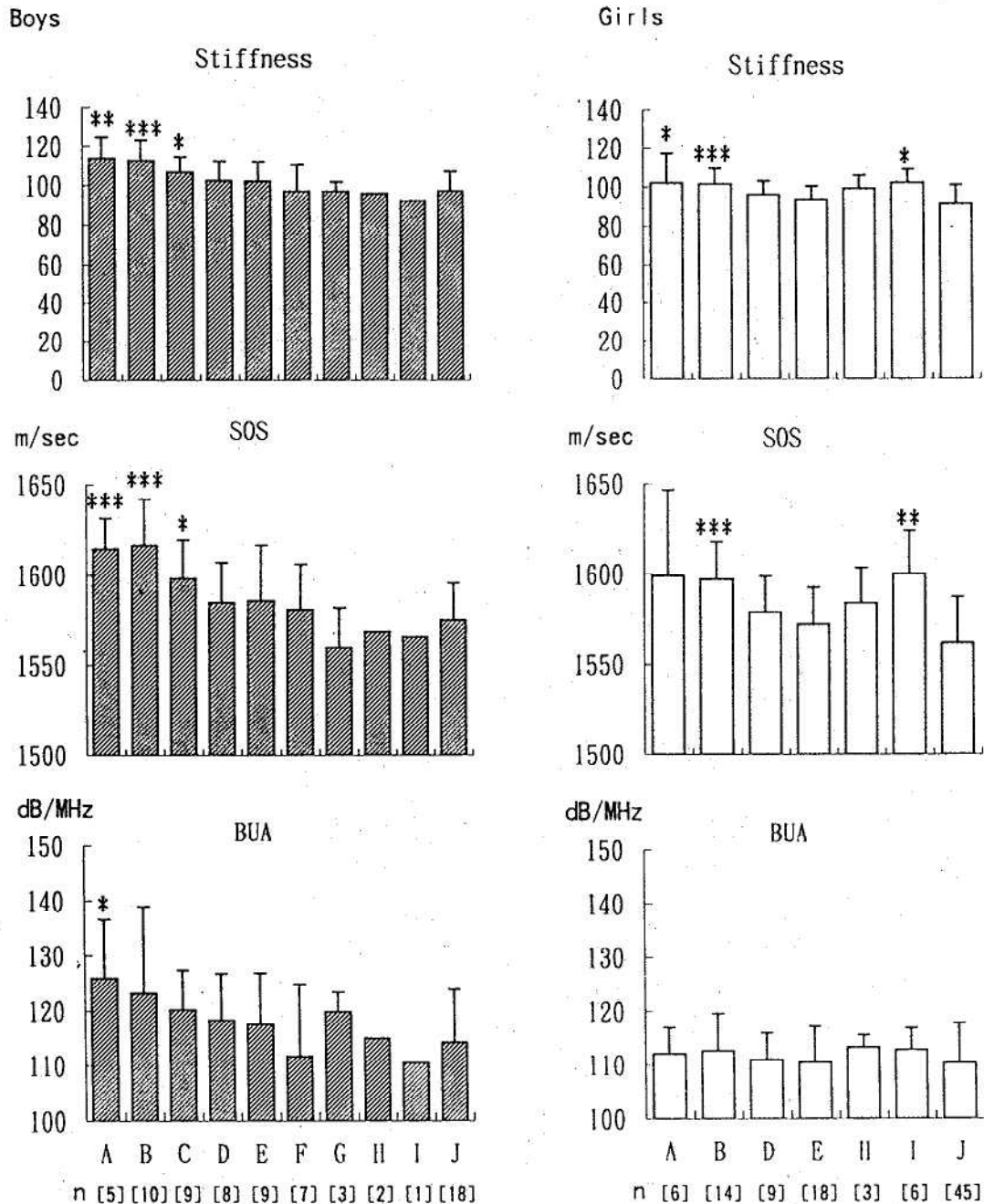


Fig. 2. The Value of Ultrasound Measurements of Bone Mass at the Calcaneus by the Kind of Sport Club

[]: Number of subjects

*, **, ***: Significantly different from the no sport club at $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ respectively

#: Geometric mean and geometric standard deviation

A: basketball, B: hockey, C: baseball, D: badminton, E: tennis, F: table tennis,

G: judo, H: athletic sports, I: volleyball, J: no sport club

“ホッケー (B)” (Stiffness, SOS 共に $p<0.001$) であった。BUA に差はなかった。

運動の種類別に骨代謝指標を比較した報告はみられない。今回の検討では男子“バトミントン”, 女子“ホッケー”, “バレーボール”の骨代謝指標で骨形成亢進または骨吸収抑制という変化がみられ, 骨代謝に良い影響がみられた。特に女子“ホッケー”では骨形成亢進と骨吸収抑制が共にみられ, 今後さらに骨密度が増加する可能性があると思われる。また, 女子“陸上”では逆に骨形成指標のB-ALPが低値を示したが, 対象者が3人と少なく, さらに多人数で検討することが必要だろう。骨密度については男女共“バスケットボール”, “ホッケー”のStiffness, SOSが高く, さらに男子の“野球”, 女子の“バレーボール”でも高かった。秋坂らは女子高生について運動種類とStiffnessの関連を調べ, 運動種類をトラックやフィールドで「走」を主体とした運動を行っている走る群と球技を中心に跳運動が主である跳ぶ群に分けると, 跳ぶ群のほうがやや高い値であったことを報告している[6]。我々の結果でも“バスケットボール”や“バレーボール”のStiffnessが高く, 跳躍を伴う運動が有効であると示された。また“ホッケー”や“野球”もStiffness, SOS

が高値を示し, 瞬発力が要求される運動が骨量増加に良い影響を与えると考えられた。さらにこれらのクラブに参加しているものは一週間に平均6.8~8.2回とほぼ毎日クラブをしており, 多いものでは学校内と学校外の両方のクラブに所属し, 週に14回というものもみられ, 他のクラブに比べて運動量が多いことも骨代謝指標に変化がみられ骨密度が高値を示した要因の一つと思われる。

牛乳摂取との関連について

一日の摂取牛乳量で2群(1日0~1本, 2本以上)に分け骨代謝指標, 骨密度を比較した(Table 4)。骨代謝指標では男子のTR-ACPが牛乳1日2本以上でやや低い傾向がみられたのみであった。女子では違いはみられなかった。骨密度では男子のSOSが牛乳1日2本以上で高値であった($p<0.05$)。女子では差がなかった。

カルシウムは骨の構成成分であり, カルシウムの摂取量が骨密度に影響を与えているといわれている[7]。そこでカルシウム供給源として大きい割合を占めると考えられる牛乳摂取と骨密度との関連を検討したところ, 男子のSOSでのみ牛乳を1日2本(400ml)以上飲むものが高値を示し, カルシウム摂取が高い骨密度を得るのに有効であることが示された。また, 運動しているもので牛乳

Table 4. The Biochemical Markers of Bone Metabolism and Ultrasound Measurements of Bone Mass at the Calcaneus by Habitual Milk Intake

	Boys						Girls					
	Habitual milk intake						Habitual milk intake					
	Less than 1bottle/day			More than 2bottles/day			Less than 1bottle/day			More than 2bottles/day		
	n	Mean	S.D.	n	Mean	S.D.	n	Mean	S.D.	n	Mean	S.D.
B-ALP (BLU)	48	2.59 ±	1.08	26	2.39 ±	0.72	88	1.44 ±	0.39	13	1.59 ±	0.36
BGP [#] (ng/ml)	36	10.8 ±	1.56	20	10.6 ±	1.35	53	6.8 ±	1.48	8	7.9 ±	1.39
TR-ACP (BLU)	45	0.46 ±	0.11	24	0.41 ±	0.11	85	0.32 ±	0.05	12	0.32 ±	0.05
Hyp/Cr [#] (mg/gCr)	48	45.9 ±	1.31	26	45.8 ±	1.41	88	35.9 ±	1.34	13	38.5 ±	1.46
Pyr/Cr [#] (nmol/mmolCr)	38	40.5 ±	1.29	23	38.5 ±	1.37	53	34.0 ±	1.28	8	33.7 ±	1.26
DPyr/Cr [#] (nmol/mmolCr)	38	8.2 ±	1.31	23	7.8 ±	1.32	53	6.1 ±	1.34	8	5.9 ±	1.38
Stiffness	48	102.3 ±	11.6	26	106.2 ±	11.7	88	94.6 ±	10.0	13	96.7 ±	9.5
SOS (m/sec)	48	1585 ±	26.5	26	1601 ±	29.6 *	88	1575 ±	28.8	13	1576 ±	27.0
BUA (dB/MHz)	48	118.4 ±	10.9	26	118.5 ±	9.8	88	110.7 ±	6.6	13	113.7 ±	5.8

n: Number of subjects, S.D.: Standard deviation

#: Geometric mean and geometric standard deviation

*: Significantly different from less than 1bottle/day at $p<0.05$

摂取量が多いことが考えられ、牛乳摂取量と運動クラブ活動の有無が関連があるかどうかを検討したところ、牛乳摂取量の違いによる2群で運動クラブ活動をしているものといないものの人数は変わらず、牛乳摂取と運動は独立して思春期の骨密度に有効な因子として働くと考えられた。

文 献

1. 堀井裕子, 田中朋子, 西野治身, 山上孝司, 成瀬優知, 鏡森定信 (1995). 富山衛研年報, 18, 177-180.
2. 堀井裕子, 田中朋子, 西野治身, 熊西忠郎, 山上孝司, 成瀬優知, 鏡森定信 (1996). 富山衛研年報, 19, 158-163.
3. 田中朋子, 西野治身, 堀井裕子, 熊西忠郎, 鏡森定信 (1996). 富山衛研年報, 19, 154-157.
4. 西野治身, 堀井裕子, 田中朋子 (1997). 第3回「地域保健福祉研究助成」報告集, 235-253, 大同生命厚生事業団.
5. 福永仁夫, 武田直人 (1993). 医学のあゆみ, 165, 625-628.
6. 秋坂真史, 座光寺秀元, 有泉 誠 (1997). 日本衛生学雑誌, 52, 481-489.
7. 広田孝子, 広田憲二 (1992). 臨床栄養, 81, 768-774.

有機リン系農薬の尿中代謝物追跡調査 — 農薬散布時期と非散布時期を通して —

中崎美峰子 西野治身 尾崎一郎 大浦栄次¹

Follow-up Study on Urinary Levels of Organophosphorus Pesticide Metabolites
in Spraying Season and not-Spraying Season

Mineko NAKAZAKI, Harumi NISHINO, Ichiro OZAKI
and Eiji OOURA¹

要 旨 農業者とその家族について、農薬非散布時期の尿中代謝物濃度のバックグラウンドレベルを知るため農繁期、農閑期を通して追跡調査を行い、以下の結果を得た。

1. 農薬散布を行った作業員では、作業後高濃度の代謝物排泄が観察された。また、作業には関わらず散布場所から離れていた者でも、散布量や風などの状況によっては暴露の影響が見られ、代謝物濃度が増加した。
2. 農薬の使用がない時期でも、農業者とその家族では散発的な代謝物濃度の上昇が見られた。またコントロールとして調査した非農家の1名では、8月から翌年3月までコンスタントに代謝物が検出された。このことから有機リン系農薬が体内に長期間残留している可能性が考えられた。
3. コントロールにおける代謝物濃度の平均値は0.04mg/g Crであり、農薬非散布時期の農業者とその家族の場合も、散発的な上昇を除けばこれとほぼ同じレベルであった。

現代の農業では農薬の使用は不可欠であり、特に有機リン系農薬は、有機塩素系農薬に比べて代謝排泄が速く毒性が低いことや、種類も多いことから、稲作、畑作、果樹栽培などに広く用いられている。有機リン剤には、基本骨格の共通性からジアルキルリン酸を代謝物とするものが数多くある。そこでわれわれは、農薬の種類が特定できなくても暴露の有無を推測することができるものとして、尿中ジアルキルリン酸を農薬暴露の指標に用いている。

これまで農薬散布作業員について、1回の散布から1週間後でも尿中に農薬代謝物が検出された

ことや[1]、有機リン系以外の農薬の散布後に有機リン系農薬の代謝物排泄が増加したこと[2]などを見出し、散布作業員における有機リン系農薬の生体内残留の可能性を報告してきた。今回、代謝物濃度の変動と非散布時期のバックグラウンドレベルを知るために、農業者とその家族について、尿中の代謝物排泄状況を農繁期、農閑期を通して約半年間にわたって追跡したので報告する。

材料と方法

1. 富山県農村医学研究会

県内の一農家の協力を得て、47歳男性Sおよびその家族の32歳女性Y、77歳女性F、6歳女性Mの4名について平成7年7月から平成8年2月まで早朝尿を採取し、有機リン系農薬の代謝物としてジメチルリン酸(DMP)とジメチルチオリン酸(DMTP)の濃度を測定した。採尿の頻度は、農薬使用時期である7、8月はできるだけ多く、農薬を使用しない9月以降は週1回程度、原則として早朝第一尿とした。検体は数日分をまとめて搬入し、その後分析まで-20℃で保存した。このほかに非農家のコントロールとして、33歳の女性1名についても、平成7年8月から平成8年2月まではほぼ週2回ずつ早朝尿を採取した。

すべての検体は、既報[3]にしたがって前処理した後、DMP及びDMTPをガスクロマトグラフィーで分析した。

〔農薬散布状況〕

7月23日：地域の衛生害虫駆除で家屋の床下には有機リン系農薬トリクロロホンを散布。今回の調査対象者のうち47歳男性Sは、農薬散布オペレーターとして散布作業に携わった。ただし、Sの自宅の床下には、農薬を散布しなかった。

8月6、16日：水田に病害虫防除のための共同一斉散布が行われた。16日の方が散布面

積が広く農薬使用量も多かった。使用された農薬のうち有機リン系のものはフェニトロチオンであった。今回の調査対象者でこの散布作業に関わった者はなく、また、この家の周囲にある水田には、農薬を散布しなかった。

結果および考察

Fig. 1 から 4 に農業者とその家族の、Fig. 5 にコントロールの、尿中代謝物の分析結果をクレアチニン補正值で示した。

農薬散布との関連では、まず7月23日のトリクロロホン散布について、実際に作業をしたFig. 1の対象者Sでは、農薬散布直後から非常に高濃度の代謝物が検出され、そのほとんどがDMPであった。この時の使用農薬はトリクロロホンであり、これは代謝物としてDMPを与える。以前に行った調査[1]では、水田に1時間農薬散布した後の尿中代謝物のピーク濃度は約2.5mg/gCrであり、今回の対象者Sの場合はその4倍を超える濃度であった。農薬の希釈作業中に誤って原液をこぼし手に付着したとのことであったが、動物実験では有機リン剤を経皮的に投与した場合も経口投与と同様に速やかに吸収されるという報告[4]

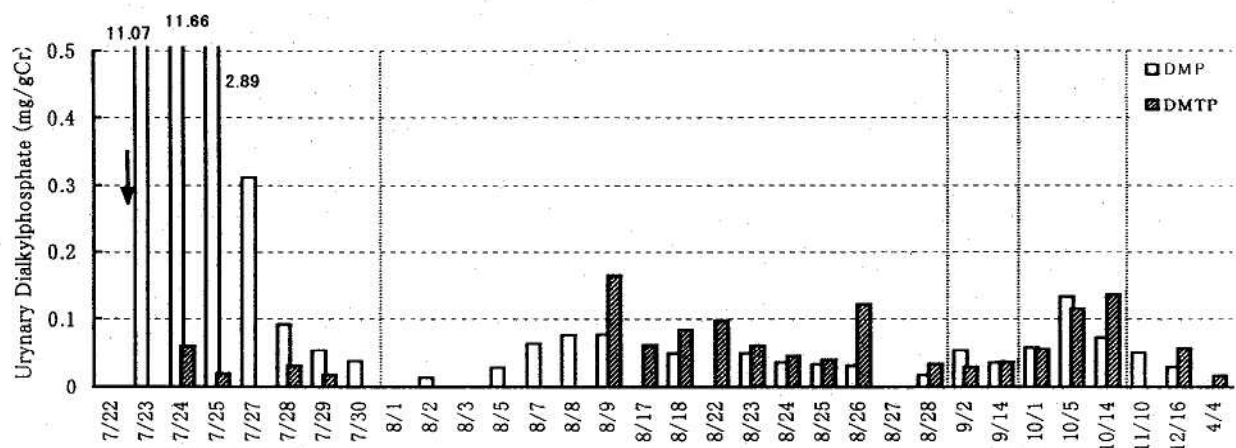


Fig. 1. Urinary Excretion Levels of Dialkylphosphate Metabolites of Subject S (male, 47y)
↓; Spraying organophosphorus pesticide

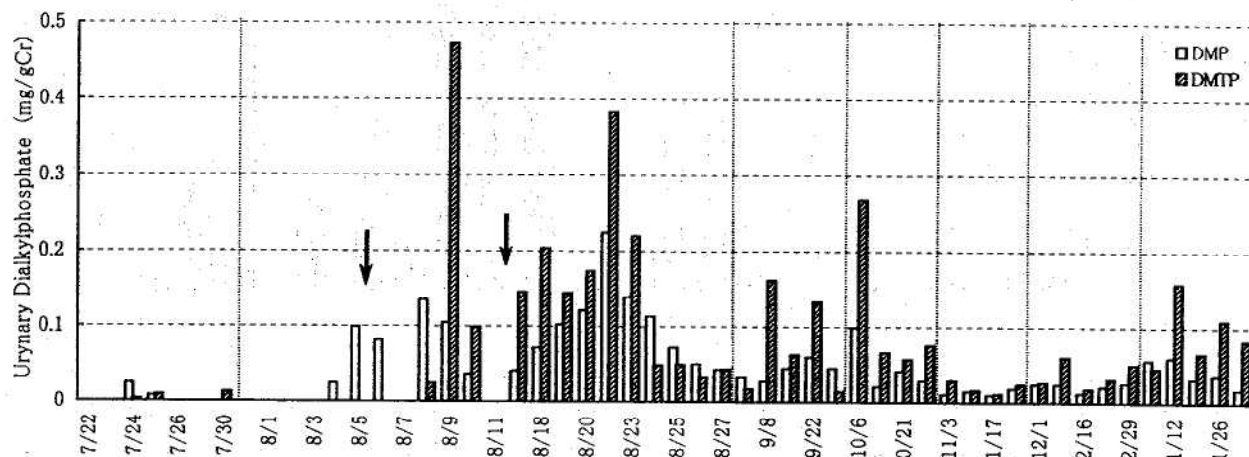


Fig. 2. Urinary Excretion Levels of Dialkylphosphate Metabolites of Subject Y (female, 32y.)
 ↓; Organophosphorus pesticide was dusted on rice field except around the subject's house.

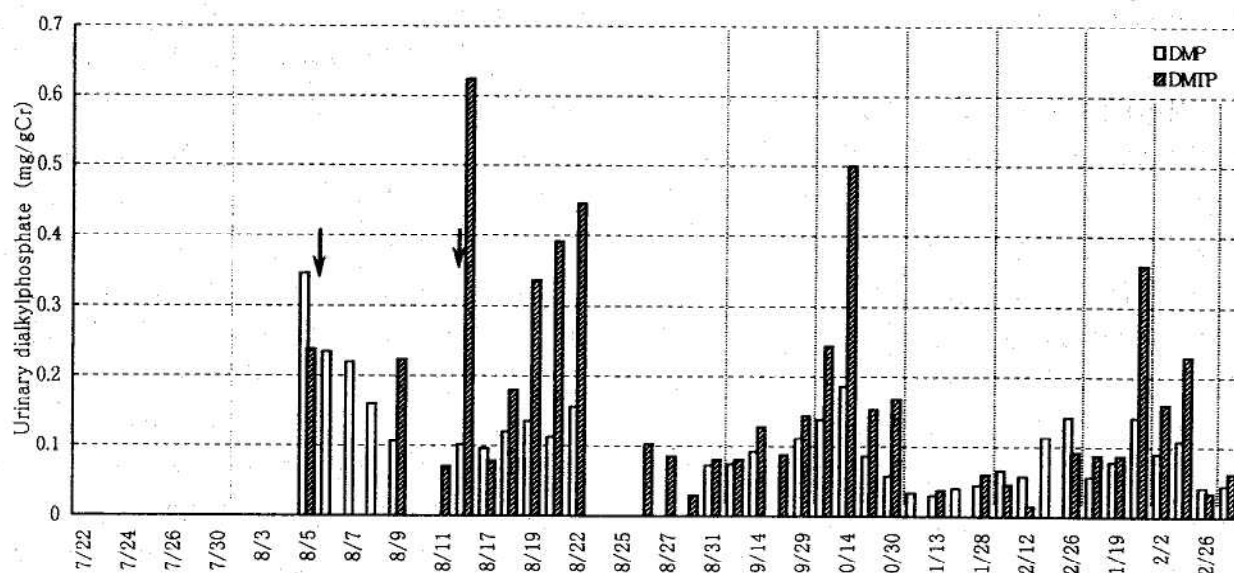


Fig. 3. Urinary Excretion Levels of Dialkylphosphate Metabolites of Subject F (female, 77y.)
 ↓; Organophosphorus pesticide was dusted on rice field except around the subject's house.

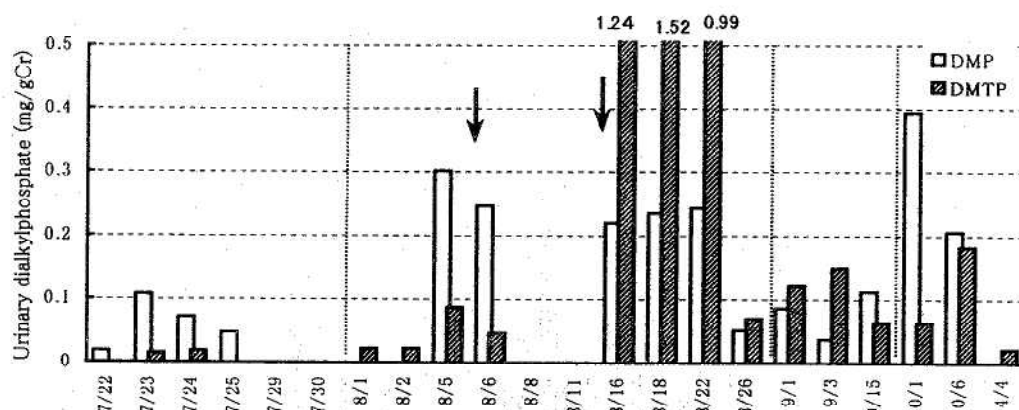


Fig. 4. Urinary Excretion Levels of Dialkylphosphate Metabolites of Subject M (female, 6y.)
 ↓; Organophosphorus pesticide was dusted on rice field except around the subject's house.

もあることから、高濃度の農薬を扱う作業では特に注意が必要と思われた。7月23日の農薬散布では作業を行わなかった対象者Y、F及びMについては、この家の床下には農薬を散布しなかったため、代謝物の変動は見られなかった (Fig. 2 ~ Fig. 4)。

8月の水田への農薬散布時には、自宅周辺には散布されていないにもかかわらず、特に2回目の散布後にY、F、Mで尿中代謝物濃度の上昇が見られ約1週間高い状態が続いた。この散布が行われた日に勤務のため自宅を離れていたSでは代謝物濃度に変動は見られなかったため、Y、F、Mの代謝物濃度の上昇は自宅周辺の水田のさらに遠くに散布された農薬による暴露を反映したものと考えられた。また、DMPとDMTPの両方が検出されDMTPの方が濃度が高かったが、これは散布農薬の種類による違いで、フェントロチオンからはDMPとDMTPの両方の代謝物ができることによる。なお、1回目の散布があった8月6日ごろにFとMで代謝物濃度の増加が見られたが、散布があった日の前から増加していること、代謝物はDMPが主であり2回目の場合とは組成が異なることなどから、この農薬散布の影響ではない可能性が高い。このように、家屋の床下などの限られた空間ではなく水田のように開放された空間に農薬が散布された場合は、散布量や、風向きな

どの気象条件によってはかなり離れた場所であっても暴露を受ける可能性があると考えられる。

今回初めて農薬散布のない時期の調査を行ったが、暴露影響はないと考えられる10月や1月にも代謝物濃度の一時的な増加が何度かあり、これらは農薬暴露の影響とみられた時の濃度レベルに匹敵するものであった。また、これらの一時的な増加のタイミングが家族内で同調しているようにも見受けられ、家族に共通の、代謝に影響を与えるような出来事があったのかもしれない。奥野ら[5]は農村地域住民を対象に行った調査で、有機リン系農薬を使用していない者や農作業に従事していない者にも尿中DMP検出者が見られたと報告している。このように、新たな暴露はないにもかかわらず代謝物濃度の上昇が見られたことから、代謝排泄が速いといわれる有機リン剤であっても、体内に長期間残留している可能性が考えられた。

今回、非農家のコントロールとして1名の調査を行った。調査期間は8月から翌年の3月までと農作業などの影響は受けにくいと思われる時期であったにもかかわらず、ほぼすべての検体から代謝物が検出された (Fig. 5)。濃度は0.1mg/gCrを超えることはほとんどなく大きな変動も見られなかった。コントロールにおいてコンスタントに代謝物が検出されたことから、非農家であっても

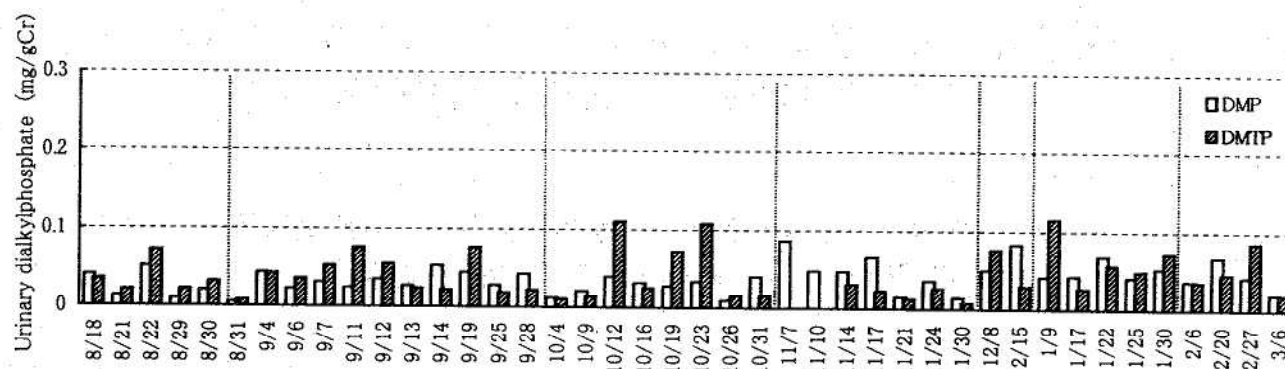


Fig. 5. Urinary Excretion Levels of Dialkylphosphate Metabolites of Control (female, 33y.)

暴露の機会があり，体内に有機リン系農薬が残留している可能性が示唆された。コントロールでは代謝物の平均濃度は DMP が $0.04 \pm 0.02 \text{ mg/gCr}$ ，DMTP が $0.04 \pm 0.03 \text{ mg/gCr}$ であり，農閑期の農家でも，散発的な上昇を除けばこれとほぼ同レベルと考えられた。このようなごく微量の代謝物を与える程度の残留であったとしても，健康に何らかの影響を及ぼす可能性は否定できない。今後も調査を継続して年間を通した代謝物の変動の様子を明らかにし，また，実際に体内に有機リン系農薬の蓄積が見られるかどうかについても検討していきたい。

文 献

1. 中崎美峰子，林 徹雄，佐藤茂秋，大浦栄次，寺中正昭 (1992). 富山衛研年報，15，147-151.
2. 中崎美峰子，林 徹雄，大浦栄次，寺中正昭 (1993). 富山衛研年報，16，222-224.
3. 城石和子，西淵富蔵，堀井裕子，新村哲夫，大浦栄次，川口京子，寺中正昭 (1990). 富山衛研年報，13，177-182.
4. 奥野俊博，逸見希子，村山ヒサ子 (1986). 兵庫県衛生研究所研究報告，21，16-24.
5. 奥野俊博，逸見希子，村山ヒサ子 (1987). 兵庫県衛生研究所研究報告，22，63-68.

女子大生のダイエットが血中ヘモグロビン、脂質 および微量元素濃度に及ぼす影響

新村 哲夫 田中 朋子 堀井 裕子 中崎 美峰子
西野 治身 尾崎 一郎 桑守 豊美¹

Effects of Restraint Diet on Hemoglobin
Concentration in Blood, Serum Lipid and Serum
Trace Elements Concentrations in Students of
Women's College

Tetsuo SHIMMURA, Tomoko TANAKA, Yuki
HORII, Mineko NAKAZAKI, Harumi NISHINO,
Ichiro OZAKI and Toyomi KUWAMORI¹

要 旨 女子短大生を対象に、ダイエット経験と、血中ヘモグロビン (Hb) 濃度や血清脂質および血清微量元素濃度との関係について調査を行った。その結果、体脂肪率の低い「やせ」のダイエット経験者の Hb 濃度は、非経験者に比べ有意に低値を示した。血清 HDL-コレステロールは、体脂肪率が「標準」のダイエット経験者が非経験者に比べ低値を示した。血清亜鉛濃度は、ダイエット経験者が有意に低値を示した。血清銅濃度は、「やせ」のダイエット経験者において低い傾向を示した。血清セレン濃度は、「やせ」のダイエット経験者において有意に低値を示した。血清亜鉛およびセレン濃度の低下は、魚類摂取頻度の低いこととの関連が示唆された。

近年の若年女性におけるダイエットブームは加熱気味であり、実際には肥満でない者までもがダイエットを行っており、将来健康問題が生じないか懸念されている。そこでダイエットが若年女性にどのような影響を及ぼすのか、ヘモグロビンなどの貧血検査、血清中コレステロールなどの生化学指標、および生体必須微量元素である亜鉛、銅、セレンの血清濃度について検討した。

対象および方法

健康な女子短大生87名を対象として、1995年6月に調査を行った。身体状況の調査項目としては、体格指数 (BMI, kg/m^2)、体脂肪率 (インピーダンス法、タニタ社製 TBF100) を測定し、除脂肪体重を求めた。貧血検査としては、ヘモグロビン (Hb, シアノメトヘモグロビン法)、ヘマトクリット (Ht) を測定した。生化学指標としては、血清総コレステロール (T-Chol) および HDL コレステロール (HDL-Chol) を自動分析法で測

1. 富山女子短期大学

定し[1], 動脈硬化指数(AI)を求めた。血清亜鉛(Zn)および銅(Cu)濃度の測定は、ゼーマン原子吸光計によるマイクロサンプリング法を用いた[2]。血清セレン(Se)濃度は先に報告したパラジウム・アンモニア希釈フレイムレス・ゼーマン原子吸光法によって行った[3]。ダイエット経験の有無は、アンケートにより調査した。また、食事調査として食品を22群(ごはん、パン、麺類、魚類、肉類、卵類、海草類など)に分類し、摂取頻度を調べた[4]。

結 果

ダイエットの影響を見るため、対象者を体脂肪率により、「やせ」、「標準」および「肥満」の3群に分けて検討した。体脂肪率が1 S.D.範囲内を「標準」、-1 S.D.範囲未満を「やせ」、+1 S.D.以上を「肥満」とした。各群のダイエット経験者数をみると、「肥満」群では7人(53.8%)と高い割合を示したが、「やせ」、「標準」についても、ダイエット経験者がそれぞれ4人(33.3%), 29人(46.8%)認められ、「肥満」群の割合と有意な差はみられなかった。

ダイエット経験の有無別に身体状況の比較を行った(表1)。「やせ」のダイエット経験者が非経験者に比べて、BMIが高い値を示したが、「標準」、「肥満」群ではダイエット経験の有無による違いはみられなかった。

貧血検査の結果をみると(表1), Hb濃度およびHtは、「標準」と「やせ」のダイエット経験者が非経験者に比べ低い傾向を示し、特に、「やせ」のダイエット経験者のHb濃度が非経験者に比べ有意に低かった($p<0.05$)。

生化学指標では、T-Cholは「やせ」および「肥満」群ではダイエット経験者が高い傾向を示したが、「標準」では低いなど一定の傾向はみられなかった。HDL-Cholは「標準」群でダイエット経験者が非経験者に比べ有意に低値を示した($p<0.05$)。動脈硬化指数(AI)は、「肥満」群が他の群に比べて高値を示したが、ダイエットの

有無による違いはみられなかった(表1)。

次に、血清中微量元素濃度の結果をみると(表1), Zn濃度は、各群においてダイエット経験者が非経験者に比べ低い傾向を示し、全体として有意な差が認められた($p<0.05$)。

Cu濃度は、全体としてはダイエット経験の有無による違いはみられなかったが、「やせ」のダイエット経験者は、非経験者に比べ、また「標準」や「肥満」の経験者に比べて低い傾向がみられた。

Se濃度は、全体としてはダイエット経験の有無による違いはみられなかったが、「やせ」のダイエット経験者は、非経験者に比べて有意に低値を示した($p<0.05$)。

食品の摂取頻度調査のうち、微量元素を多く含むといわれている6食品群の結果を表2に示した。ご飯、パン、肉類、卵類および海草類ではダイエットの有無によって摂取頻度に有意な違いはみられなかった。しかしながら、魚類は、非経験者が2日に1回以上で摂取頻度が高いのに対し、「やせ」の経験者は週に1回以下であり、全体でもダイエットの有無によって魚類摂取頻度に有意な違いがみられた($p<0.05$)。

考 察

今回の調査は、アンケートによって過去のダイエット経験の有無を調べ、貧血検査、血清脂質検査とともに血清微量元素濃度との関係を検討したものである。ダイエットの有無と回数について質問したが、ダイエットの種類や程度および期間等については把握ができなかったので、今回はダイエット経験ありとなしの2区分で評価した。

貧血検査で、「やせ」ているにもかかわらずダイエットをしたことのある者は、Hb濃度が低値を示した。「やせ」のダイエット経験者の平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)は、平均31.7%であり、非経験者の33.2%に比べ有意に低値を示し、小球性の鉄欠乏性貧血の傾向がみられるものと思われた[5]。

今回の調査で、体脂肪率が「標準」のダイエッ

表1. ダイエットの有無と体脂肪率区分による身体状況, 生化学検査結果および血清微量元素濃度

体脂肪率 (%)	やせ (14.8-21.5)		標準 (21.6-30.9)		肥満 (31.0-38.5)		全体
	ダイエット有 (n=4)	ダイエット無 (n=8)	ダイエット有 (n=29)	ダイエット無 (n=33)	ダイエット有 (n=7)	ダイエット無 (n=6)	
	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.	Mean±S.D.
BMI (kg/m ²)	19.2±1.0	17.6±0.9	21.4±1.5	20.8±1.8	24.4±1.5	25.5±2.8	20.9±2.8
体脂肪率 (%)	20.4±0.5	19.1±2.0	26.3±3.0	25.8±2.7	33.6±2.0	34.6±2.9	25.8±4.9
除脂肪体重 (kg)	38.6±2.3	35.3±2.3	39.6±3.9	39.2±3.0	40.5±2.8	41.8±3.5	39.4±4.4
Hb (g/dl)	12.8±0.4	13.9±0.8	13.4±1.1	13.7±0.8	14.0±1.0	14.0±1.1	13.8±0.8
Ht (%)	40.6±0.9	41.8±2.7	41.1±2.0	42.0±1.9	42.7±2.6	42.8±3.3	42.1±2.2
T-Chol (mg/dl)	190 ±23.0	172 ±24.8	172 ±26.5	182 ±27.0	192 ±25.2	176 ±12.0	180 ±25.2
HDL-Chol (mg/dl)	74.0±4.9	61.0±11.2	60.5±9.7	65.5±9.2	56.6±8.8	56.7±11.6	63.6±10.1
Al	1.95±0.51	1.89±0.55	1.87±0.38	1.83±0.51	2.47±0.71	2.20±0.65	1.99±0.49
Zn (μg/ml)	0.68±0.08	0.72±0.04	0.69±0.11	0.73±0.11	0.68±0.15	0.81±0.06	0.74±0.10
Cu (μg/ml)	0.72±0.07	0.83±0.14	0.84±0.13	0.85±0.14	0.88±0.13	0.87±0.07	0.85±0.13
Se (ng/ml)	110 ± 7	128 ± 12	114 ± 12	113 ± 10	121 ± 17	124 ± 15	117 ± 13

*, p<0.05.

表2. ダイエットの有無と体脂肪率区分による食品摂取頻度調査結果

体脂肪率 (%)	やせ (14.8-21.5)		標準 (21.6-30.9)		肥満 (31.0-38.5)		全体	
	有 (n=4)	無 (n=8)	有 (n=29)	無 (n=33)	有 (n=7)	無 (n=6)	有 (n=40)	無 (n=47)
ご飯摂取頻度 日に1回以下の人数/全体 (%)	2/4 (50)	2/8 (25)	6/29 (21)	5/33 (15)	3/7 (43)	3/6 (50)	11/40 (28)	10/47 (21)
パン摂取頻度 週に1回以下の人数/全体 (%)	1/4 (25)	2/8 (25)	9/28 (32)	11/33 (33)	2/7 (29)	1/6 (17)	12/39 (31)	14/47 (30)
肉類摂取頻度 3日に1回以下の人数/全体 (%)	2/4 (50)	2/8 (25)	8/29 (28)	9/32 (28)	3/6 (50)	1/6 (17)	13/39 (33)	12/46 (26)
魚類摂取頻度 週に1回以下の人数/全体 (%)	# 4/4 (100) 2/8 (25)		6/29 (21)	3/33 (9)	4/7 (57)	2/6 (33)	# 14/40 (35) 7/47 (15)	
卵類摂取頻度 週に1回以下の人数/全体 (%)	4/4 (100)	6/8 (75)	14/29 (48)	17/33 (61)	3/7 (43)	3/5 (60)	21/40 (53)	26/46 (57)
海藻類摂取頻度 週に1回以下の人数/全体 (%)	3/4 (75)	3/8 (38)	10/29 (34)	13/33 (39)	4/7 (57)	3/6 (50)	17/40 (43)	19/47 (40)

#, χ^2 検定 ($p<0.05$).

ト経験者では、HDL-コレステロールが非経験者に比べて有意に低く、ダイエットによるHDL-コレステロール低下の恐れのあることが示唆された。しかし、体脂肪率が「標準」のダイエット経験者のHDL-コレステロールは、「肥満」群の値よりは高値であり、ダイエットによる脂質の変化については、肥満などとの関連を含めさらに検討を加える必要があると考えられた。

現代の若者によく見られることであるが、不規則な食生活によって亜鉛 (Zn) の欠乏をきたし、味覚障害となることが報告されている [6]。今回対象とした女子短大生では、そのような事例はみられなかったが、ダイエット経験者が非経験者に比べて、血清 Zn 濃度は有意に低値を示した。Zn は、欠乏によって味覚障害の原因となるだけでなく、生体の多くの酵素成分、特に細胞増殖時の必須金属として重要な働きをしている。日本人の Zn 摂取量調査の報告は少ないが、魚介類や肉類が主な供給源と考えられている [7]。今回の

食事調査では、ダイエット経験者が非経験者に比べて魚類の摂取頻度が少ない結果が得られており、血清 Zn 濃度が低い一つの要因ではないかと推測された。Zn 欠乏によって貧血が増悪するとの報告がされているが [8]、今回の対象者では Hb 濃度低下と血清 Zn 濃度と関連はみられなかった。

今回の調査で、「やせ」のダイエット経験者の血清銅 (Cu) 濃度は、非経験者に比べて低い傾向を示した。日本人の Cu 摂取は、穀類からが多く、豆類、野菜類など植物性食品が主な供給源とされている [9]。今回の食事調査からは、ダイエットによって穀類や野菜類など植物性食品の摂取頻度に違いはみられなかったが、摂取「量」は、ダイエット経験者が少ないことが推測される。Cu の欠乏によって、貧血の恐れがあるとされている [9]。そこで、ダイエット経験者の血清 Cu 濃度と Hb 濃度との関係をみたところ、両者の間には正の相関が見られた ($r=0.31$, $p<0.05$)。このことから、「やせ」のダイエット経験者にみ

られた貧血とCuとの関連をさらに検討する必要があると考えられた。

今回の女子短大生の調査で、「やせ」のダイエット経験者の血清セレン (Se) 濃度は非経験者に比べて有意に低値を示し、ダイエットによって血清 Se 濃度が変動するものと考えられた。Se は生体の抗酸化作用の中心的役割を果たしているグルタチオンペルオキシダーゼの構成元素であり、動脈硬化やがんの発症予防にかかわるとされている。Se は Zn と同様に魚介類や肉類に多く含まれ、一部の外国産小麦にも多く含まれていることが報告されている [10]。今回の食品摂取頻度調査で、ダイエット経験者、特に「やせ」の魚類摂取頻度が、非経験者に比べて有意に低く、これが血清 Se 濃度低値の理由として考えられた。

今回の調査は断面的なものであり、フォローアップスタディーで経過観察を行い、ダイエットによる影響をさらに検討してゆきたい。

文 献

1. 佐伯裕子, 田中朋子, 中崎美峰子, 城石和子, 池原晴美, 荒尾行雄 (1988). 富山衛研年報, 11, 185-190.
2. HITACHI TECHNICAL DATA, AA No. 30 (1987). マイクロサンプリング法.
3. 新村哲夫, 中崎美峰子, 城石和子 (1991). 富山衛研年報, 14, 175-181.
4. 桑守豊美, 田嶋多喜子 (1996). 富山女子短期大学紀要, 31, 98-103.
5. 前田美穂, 山本正生 (1998). 東京都予防医学協会年報, 27, 66-68.
6. 池田 稔, 生井明浩, 渡辺 健, 富田 寛 (1993). 治療, 75, 967-972.
7. 和田 攻, 荒川康昭, 阿部哲昭 (1985). ファルマシア, 21, 407.
8. 西山宗六, 井本岳秋, 中村俊郎, 東 明正, 松田一郎 (1994). Biomed Res Trace Elements, 5, 127-128.
9. 広田孝子, 広田憲二 (1993). 治療, 75, 989-998.
10. 吉田宗弘 (1992). 栄食誌, 45, 1049-1055.

3. 資 料

先天性副腎過形成症マススクリーニングにおける 17 α -hydroxyprogesterone (17-OHP) 測定の基礎的検討

米 田 豊 九 曜 雅 子

Basic Study on Determination of 17-OHP for Congenital Adrenal Hyperplasia Mass Screening

Yutaka YONEDA and Masako KUYO

本県では平成元年4月より先天性副腎過形成症の新生児マススクリーニングを行っている。検査はこれまで、委託検査機関（㈱石川県予防医学協会）で実施し、当所では検体管理を行ってきたが、平成9年4月からは検査も当所で実施する体制に変更したところである。

副腎過形成症（CAH）の検査はCAHのうち最も発症頻度の高い21-水酸化酵素欠損症で血中に特異的に上昇する17-OHPをELISA（Enzyme-Linked Immunosorbent Assay）法で測定している。17-OHPは分子量が330.5で免疫原性を持たないため、ELISAで用いられる抗体はステロイド骨格の3位または7位を誘導体化し、アルブミンなどのキャリア蛋白を結合させて調製される。本県の検体は、従来、3位抗体キットを用いて測定していたが、近年、より特異性の高い7位抗体キットも市販されている。そこで、検査体制の移行に伴い、当所では7位抗体キットを使用することとした。従って、3位抗体キットと7位抗体キット間との測定値を比較する必要が生じたため、今回、これらの比較を行うと共に、直接法と抽出法との比較も併せて行った。

材料と方法：

1) 材料

平成8年度に委託検査済みの血液濾紙及び平成9年度に当所で検査を行った血液濾紙を用いた。

2) 測定キット

3位抗体キットはカイロン（株）製（C社）のエンザプレートN-17 α -OHPを用い、7位抗体キットは栄研化学（株）（E社）の17-OHP D-ELISA'栄研'Ⅱを用いた。

実験方法：

1) 予備試験

3位抗体キットを用い直接法により委託検査機関で検査済みの248件の血液濾紙を当所で7位抗体キットでも17-OHPを測定し比較を行った。

2) 3位抗体キットによる測定

平成8年度に検査依頼され、委託検査機関で直接法で検査した結果、再検査（確認検査及び再採血検査）を要すると判断され、再度、抽出法でも検査された検体1034件（うち低体重児55検体を含む）及び平成9年度に検査依頼され、再検査の必要ないと判断された正常検体で、当所で3位抗体キットを用い17-OHPを測定した147件の計1181件について直接法と抽出法の比較を行った。

3) 7位抗体キットによる測定

平成9年度に検査依頼され、再検査を行った検体536件及び再検査を要しなかった正常検体145件（うち144件は前項の正常検体と同一）並びに精度管理検体で17-OHPが異常高値と認められた検体13検体の計694件について、7位抗体キットを用い17-OHPを測定し、直接法と抽出法の比較を行っ

た。

4) 直接法による測定

上記2及び3項で使用した正常検体のうち3位抗体キットと7位抗体キットで直接法を実施した144件についてキット間の比較を行った。

5) 抽出法による測定

同様に正常検体のうち3位抗体キットと7位抗体キットで抽出法を実施した144件についてキット間の比較を行った。

6) 基本統計値の算出

前記2項および3項で用いた正常検体並びに平成9年度に検査した11688件について基本統計値を算出した。

結果および考察:

1) 予備試験

図1に予備試験として実施した3位抗体キットと7位抗体キットとを比較した結果を示した。この場合は検査機関並びに検査キットが異なるが、相関係数は0.716 (n=248) であった。

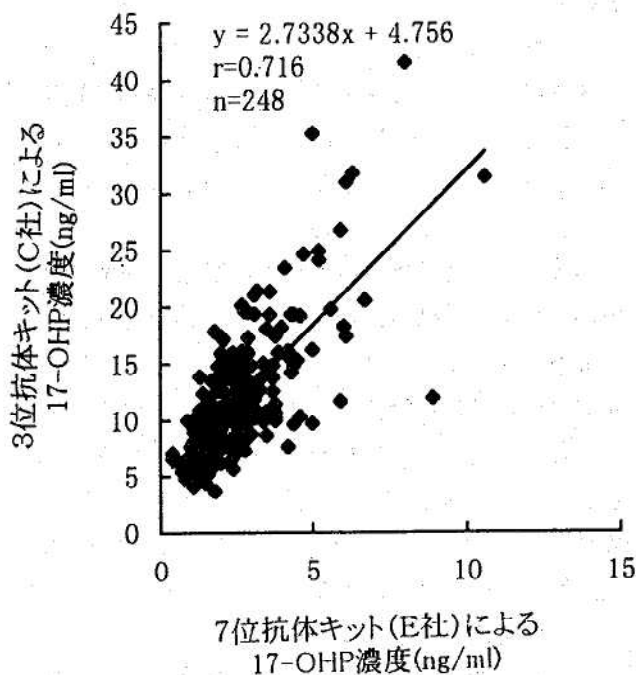


図1. 17-OHPの3位抗体キット(委託検査)と7位抗体キット(自家検査)との比較

2) 直接法と抽出法の比較

3位抗体キットを用いた場合の直接法と抽出法の相関は図2に、7位抗体キットの結果は図3に

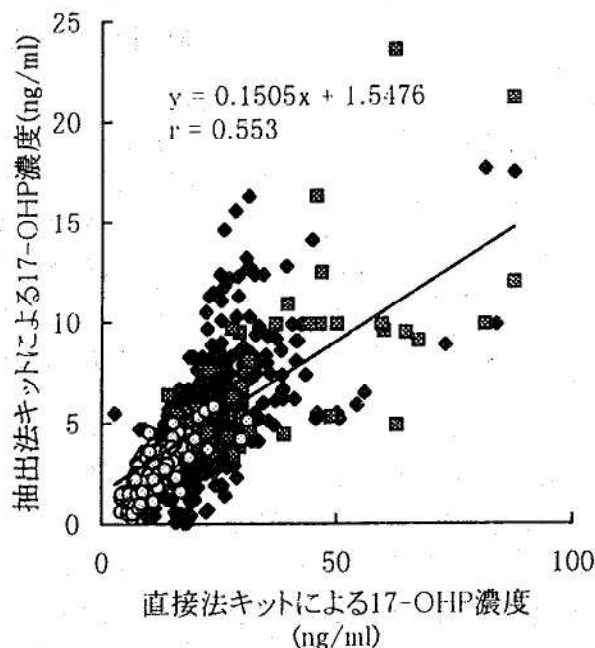


図2. 3位抗体キット(C社)による17-OHP 直接法と抽出法との関係

◆ 再検検体 n=979
■ 再検検体(低体重) n=55
○ 正常検体 n=147

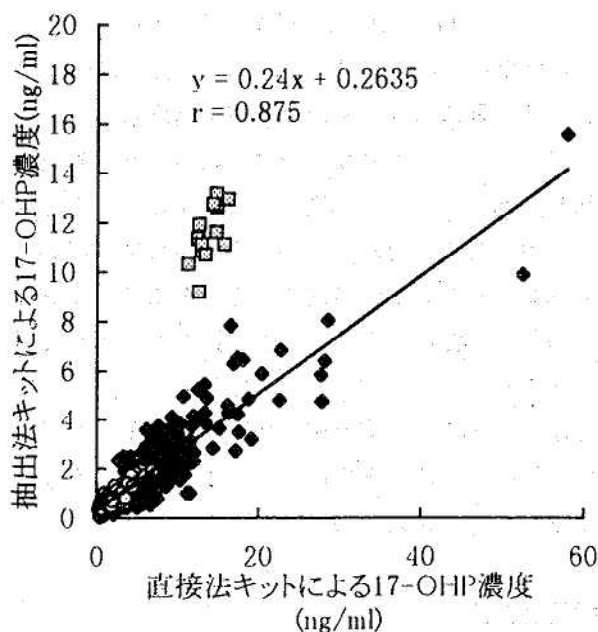


図3. 7位抗体キット(E社)による17-OHP 直接法と抽出法との関係

◆ 再検検体 n=536
○ 正常検体 n=145
■ 精度管理検体 n=13

示した。なお、図中には再検検体についての相関係数を示した。3位抗体キットでは相関係数0.553 (n=979) であるのに対し7位抗体キットでは相関係数0.875 (n=536) と高い相関が得られた。また、図3に示すように、精度管理検体では他の検体と比較し、直接法と抽出法との測定値の比率が異なり、明瞭に判別することが可能であった。

3) キット間の比較

図4には正常検体の直接法におけるキット間の比較を、図5には抽出法におけるキット間の比較を示した。正常検体のみでの比較のため、再検査検体を含むデータ(図1、図2及び図3)に比較し、全体のバラツキは小さいが両者共、相関が認められ、直接法では0.634 (n=144)、抽出法では0.802 (n=144) の相関係数が得られた。

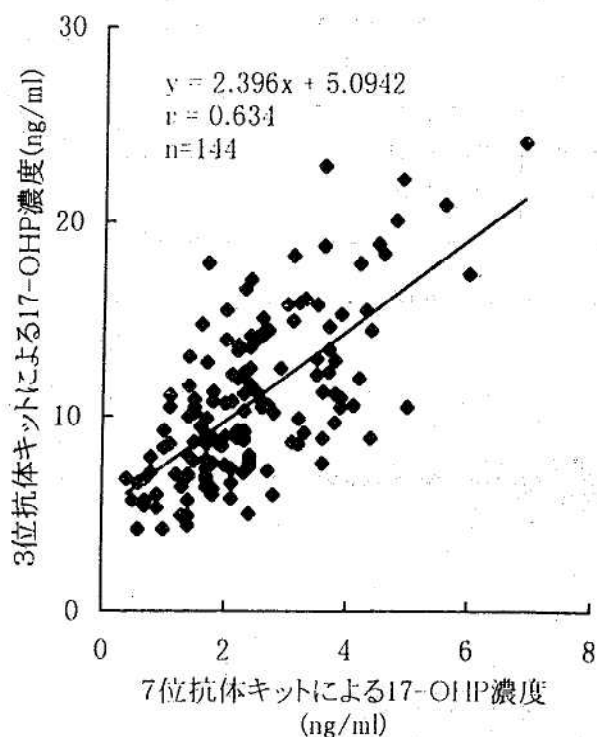


図4. 17-OHP 直接法における3位抗体キット(C社)と7位抗体キット(E社)の比較

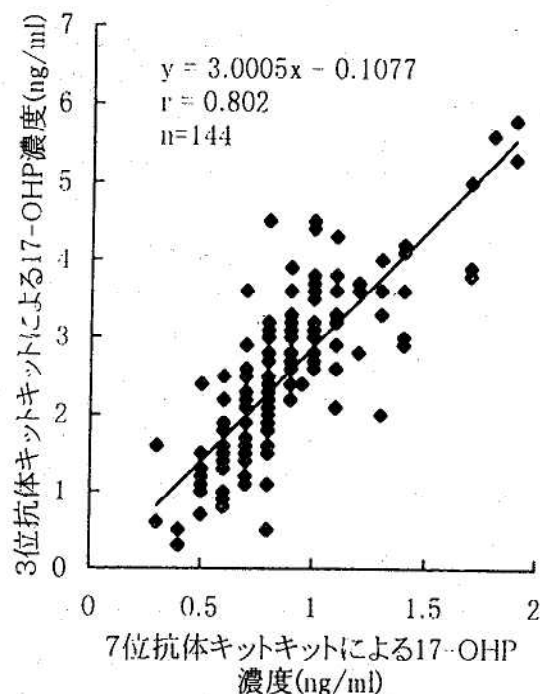


図5. 17-OHP 抽出法における3位抗体キット(C社)と7位抗体キット(E社)の比較

4) 基本統計値

正常検体の平均値を図6及び表1に、検査法間の相関を図7にまとめて示した。7位抗体キットでの平均値は3位抗体キットの約1/4.5(直接法)および約1/2.8(抽出法)であり、図7に示すよ

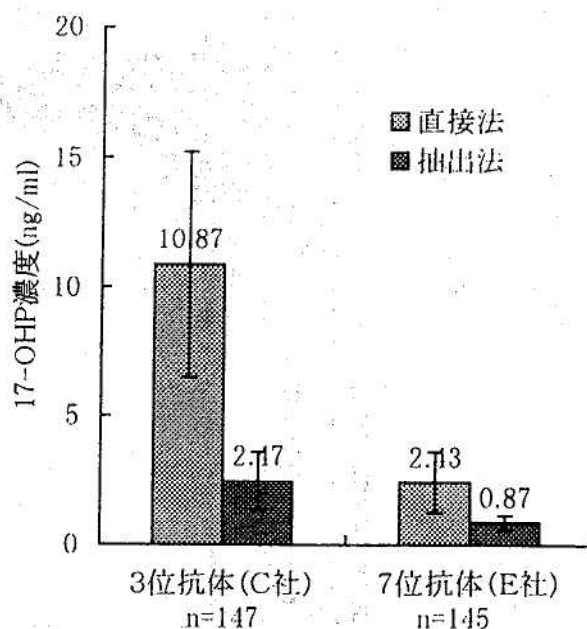


図6. 正常検体の17-OHP 平均値の比較

表1. 7位抗体キット (E社) による正常検体の
17-OHP 測定値

	単位：ng/ml	
	直接法	抽出法
検体数	145	145
最小値	0.4	0.3
最大値	6.9	1.9
平均値	2.43	0.87
標準偏差	1.17	0.30
カットオフ値	5.36	1.62

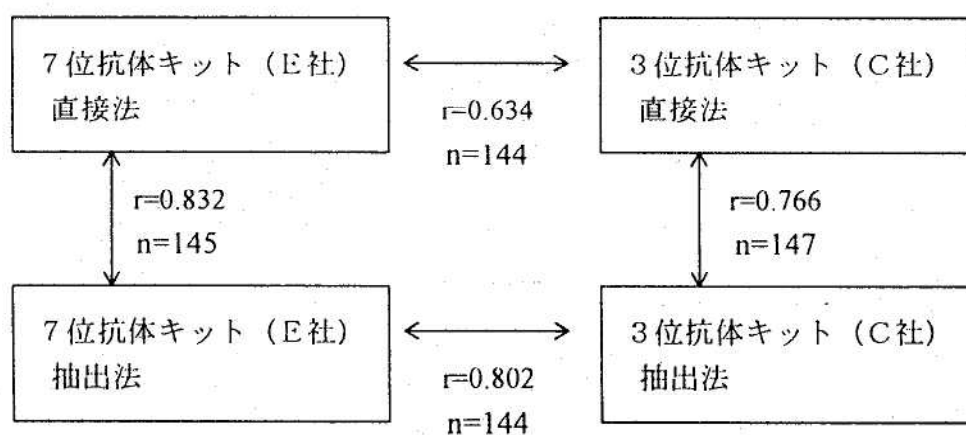


図7. 正常検体による各検査法間の相関

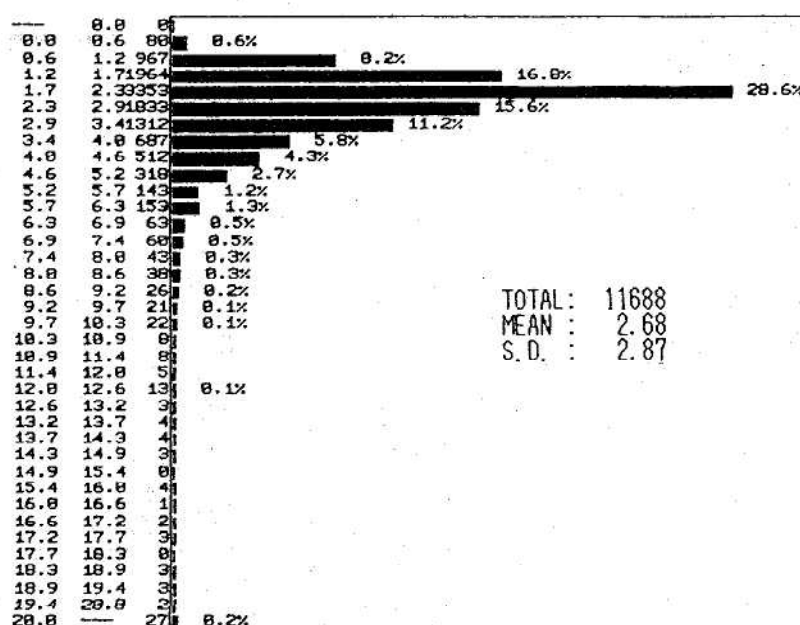


図8. 3位抗体キット(E社)による一般新生児のヒストグラム

平成10年10月1日

うに直接法と抽出法の相関は7位抗体キットの方が良好なことから7位抗体キットの方が3位抗体キットより特異性が高く、交叉反応物質の影響が少ないことが示唆された。

なお、ほぼ年間の検査件数に近い11688件を用いて作成したヒストグラムを図8に示した。図8で用いたデータの平均値である2.68ng/mlに対し、今回、正常検体のサンプルとして7位抗体キットの直接法の測定に用いた145件の平均値は2.43ng

/mlであり、ほぼ一致した。なお、表1に示すようにカットオフ値を平均値+標準偏差×2.5に設定した場合、直接法で5.36ng/ml、抽出法で1.62ng/mlであった。

以上より、7位抗体キットを用いる方が、直接法と抽出法の相関が良好で、17-OHPをより特異的に測定しているため、17-OHPの日常検査として優れていると考えられる。

小学校で発生したC群ロタウイルスによる急性 胃腸炎の集団発生について

長谷川澄代 松浦久美子 中山 喬 石倉康宏
北村 敬 安井良夫¹ 金子望博¹

An Outbreak of Group C Rotavirus Gastroenteritis in
A Primary School

Sumiyo HASEGAWA, Kumiko MATSUURA,
Takashi NAKAYAMA, Mitsuhiro ISHIKURA,
Takashi KITAMURA, Yoshio YASUI¹ and
Mochihiro KANEKO¹

近年、原因不明の食中毒様症状で発病する流行性非細菌性急性胃腸炎にウイルスの関与が確認されている。これらウイルスが重篤な病態をもたらす急性胃腸炎を起こすことはないが、その集団発生や飲料水の関係から公衆衛生上の問題として注目されている。急性胃腸炎の原因となる主要なウイルスとしてロタウイルス、アデノウイルス、小型球形ウイルス (SRSV) がある。

C群ロタウイルスによる急性胃腸炎は、発生数は少ないが世界各地で報告されている。日本ではその殆どが散发例で、集団発生例については数例の報告がある。

今回我々は、県内の小学校で発生した急性胃腸炎の集団発生事例からC群ロタウイルスを検出したので、その発生状況およびウイルス学的検索結果について報告する。

事例の概要：1997年5月13日（火）から15日（木）にかけて山田村立山田小学校で急性胃腸炎の集団発生が起きた。腹痛、下痢、嘔吐、発熱等の胃腸炎症状の患者の他、一部感冒様症状を訴える患者がいた。患者は1年生から6年生まで全学年にわたり発生しており、教師からも発生してい

た。

検査材料：胃腸炎症状を訴える患者6名から糞便を5月16日～5月17日に採取した。急性期の血液として胃腸炎症状を訴える患者6名から5月16日に2件、5月17日に4件採取した。他に咳、鼻水等の感冒様症状を訴える患者3名から、5月19日に咽頭ぬぐい液と血液を採取した。回復期として約3週間後の6月4日に胃腸炎症状の患者6名と感冒様患者3名からそれぞれ血液を採取した。

検査方法：胃腸炎症状を訴える患者からの糞便材料をウイルス性下痢症検査法に準じて粗精製した後、2%リンタンゲステン酸でネガティブ染色し、電子顕微鏡でウイルス検索を行った。さらに糞便からのロタウイルスの検出は逆受身赤血球凝集テスト (R-PHA) と RT-PCR 法 [1] で行った。患者血清中のC群ロタウイルス抗体価はC群ロタウイルス陽性試料を抗原として、逆受身赤血球凝集阻止反応 (R-PHAI) で測定した。さらに、間接蛍光抗体法 (IFA：抗原として岡山県分離 OK450株を使用し、10倍希釈でスクリーニング) および中和法 (第44回ウイルス学会に発表した方法に従い64倍希釈でスクリーニング) によりC群

ロタウイルスに対する抗体の有無を調べた。

結果と考察

1) 患者発生状況：急性胃腸炎症状の患者43名は5月13日午後から5月15日にかけて発生しており、13日に5名、14日に21名、15日に19名で、14日と15日の2日間に集中していた（図1）。学年別にみると1年生10名（10/28）36%，2年生8名（8/18）44%，3年生6名（6/22）27%，4年生6名（6/21）29%，5年生4名（4/29）14%，6年生6名（6/20）30%，職員3名（3/16）19%に発生しており、全体として発症率は28%（43/154）であった（図2）。

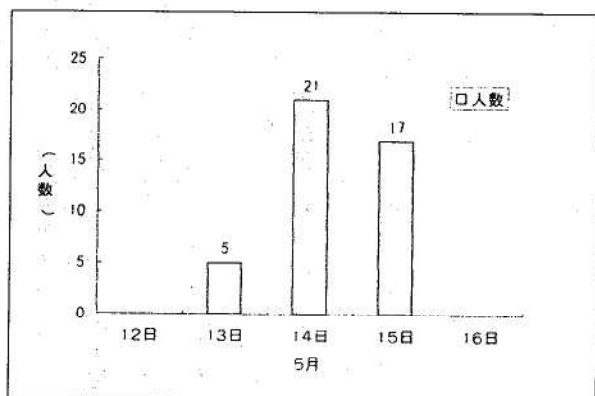


図1. Y小学校における胃腸炎症状を呈した患者の発生状況

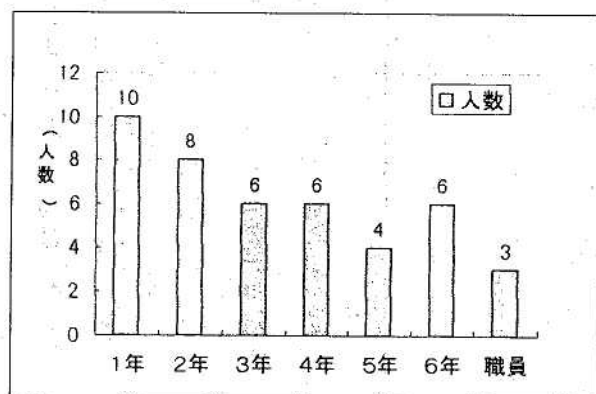


図2. 胃腸炎症状を呈した患者の学年別分布

2) 臨床症状：急性胃腸炎患者43名の臨床症状は、腹痛（60%）、下痢（58%）、嘔吐（53%）、発熱（51%）、吐き気（47%）、脱力感（35%）、倦怠感（30%）が高率で、臥床（23%）、おう吐（18%）、頭痛（16%）、悪寒（7%）がみられた。

3) ウイルス粒子の検出と患者の血清反応：電子顕微鏡観察では検査を行った患者6名すべての糞便中にロタウイルス粒子を確認することが出来た（表1）。臨床症状で全く下痢症状を呈していない患者糞便中にもロタウイルス粒子を確認した。A群ロタウイルス検出用キットでA群ロタウイルスの検出を行ったが、すべてが陰性であった。しかし、岡山県環境保健センターで作製されたC群ロタウイルス検出用（R-PHA）キットを用いたところ電子顕微鏡観察でロタウイルスを確認した6名のうち5名が陽性であった。また一部の検体（4検体）についてRT-PCR法でC群ロタウイルスの遺伝子の検出を試みた。R-PHA法で陰性であった糞便からは検出されなかったが、R-PHA法で陽性であった糞便からはC群ロタウイルスの遺伝子が確認された。この成績から、岡山県環境保健センターで開発されたR-PHA法は非常に簡便で感度も高く有用な方法であることが確認された。

感冒様症状の患者の咽頭ぬぐい液からはインフルエンザウイルスは分離されず、急性期と回復期のペアの血清ではインフルエンザに対する抗体の上昇も認められなかったことから、これらの疾患に対して、インフルエンザの感染は否定された。C群ロタウイルスの感染をさらに確認するためにC群ロタウイルスが確認された患者（M.Y.）の糞便から粗精製した抗原を用いて逆受身赤血球凝集阻止反応（R-PHAI）法で患者血清のC群ロタウイルスに対する抗体価を測定した。（R-PHAI）法ではすべての患者で急性期と回復期で抗体の上昇がみられた。一方、岡山県環境保健センターで間接蛍光抗体法（IFA）および中和法によりC群ロタウイルスに対する抗体の有無を調べたところ胃腸炎症状を呈した患者6名中5名、感冒様患者3名中2名においてIFA および中和法でC群ロタウイルスに対する抗体上昇が確認された（表2）。

表1. 患者の臨床症状とウイルス検査成績

患者	性別	学年	発症日	採取日(糞便)	吐気	嘔吐	腹痛	下痢	発熱	その他の症状	C群ロタウイルス RPHA	電顕	RT-PCR	C群ロタウイルス 抗原
1. M.S	女	5	5月15日	5月16日(2)	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+
2. I.S	女	5	5月14日	5月16日(3)	+	-	+	-	+	頭痛	+	+	+	+
3. M.Y	男	教師	5月15日	5月17日(3)	-	+	-	+	-	-	+	+	NT	+
4. F.K	女	教師	5月14日	5月17日(4)	+	+	-	+	+	発熱 38.8℃	+	+	NT	+
5. N.K*	女	4	5月14日	5月17日(4) 5月16日(4)	+	-	+	+	-	悪寒	+	+	+	+
5. N.R*	男	1	5月15日	5月17日(3) 5月16日(4)	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+
7. I.S	男	5	5月19日							咳・鼻水				+
8. K.Y	女	5	5月19日			+				頭痛 咳・鼻水				+
9. T.Y	女	5	5月19日		+					咳				+

* 同胞

C群ロタウイルスR-PHA (逆受身赤血球凝集反応) のキットは岡山県環境センターより分与された。

RT-PCR法はBaoming Jiang (1995) らのプライマーを使用。

termini primer 5' (5'-GGCATTTTAAAAAGAGAAGCTG-3') 3' (5'-AGCCACATGATCTTGT-3')

internal primer 629-612 5'-CTACCAATGCAGCCCAT-3' 546-563 5'-TGTTGGAGATGTGATGA-3'

C群ロタウイルスの抗体はR-PHA (逆受身赤血球凝集阻止反応) で測定。抗原は患者 3. M.Yの糞便を精製して用いた。

急性期の採血日 (胃腸炎症状の患者は糞便採取日と同日、感冒様患者は5月19日) 回復期の採血は6月4日

表2. 患者血清のC群ロタウイルスに対する抗体

患 者	急性期		回復期	
	IFA*	中和法	IFA*	中和法
1. M. S	±	—	±	—
2. T. S	++	+	+++	+
3. M. Y	—	—	+++	+
4. F. K	±	—	+++	+
5. N. K	—	—	+++	+
6. N. R	±	—	++	+
7. I. S	—	—	—	—
8. K. Y	—	—	++	+
9. T. Y	—	—	+	—

*: 2次抗体として抗ヒトIgM, IgG, IgAを使用

牛島ら〔2〕はA群ロタウイルス感染による胃腸炎患者の急性期のうがい液、痙攣を伴う患者の髄液、血液からA群ロタウイルス遺伝子を検出し、上気道での感染と中枢神経への侵襲を示唆した。本事例では、胃腸炎症状を示した患者のほかに、感冒様症状を呈した患者がみられ、その患者はC群ロタウイルスに対する抗体価の上昇が確認された。この事実はA群ロタウイルスと同様に、C群ロタウイルスの上気道での感染を示唆するものである。今回の事例では患者の発生状況から、感染源として学校給食と水が疑われた。そこで一部の食品（バナナ等）、水（水道水）についてRT-P CR 法で遺伝子の検出を行ったが、すべて陰性であった。

以上の結果から、今回の集団発生はC群ロタウイルスによることが判明した。さらに、胃腸炎症状を呈さないで感冒様症状を呈するC群ロタウイルス感染者がいたことが確認された。このことより今回のC群ロタウイルス感染者は胃腸炎症状の

患者43名の他に感冒様患者3名を入れて46名と確認された。今回の調査では感染源および感染経路は明らかにすることは出来なかった。

最後に、C群ロタウイルス検出用R-PHA 法キットを分与ならびに患者血清のC群ロタウイルスに対する抗体の検査をして頂きました岡山県環境保健センターの藤井理津志先生、葛谷光隆先生に感謝いたします。

文 献

1. Baoming, J., Penelope, H. D., Sara, S., Jon, R. G. and Roger, I. G. (1995). J. Infect. Dis. 172, 45-50.
2. Ushijima, H., Xin, K., Nishimura, S., Morikawa, S. and Abe, T. (1994). J. Clin. Microbiol. 32, 2893-2897.

ムンプスワクチン接種後に髄膜炎等の副反応を呈したと 推測される症例のウイルス学的検索

安藤 秀二 松浦久美子 中山 喬 石倉康弘 北村 敬

Virological Analysis of the Case of Aseptic Meningitis after
Inoculation with Mumps Vaccine

Shuji ANDO, Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA,
Mitsuhiro ISHIKURA, Takashi KITAMURA

流行性耳下腺炎（おたふく風邪）は、ムンプスウイルス（mumps virus）によって起こされる疾患であるが、その罹患率の高さや中枢神経系の合併症の危険性からワクチンの接種が推奨されている。しかしながら、麻疹・風疹・おたふく風邪3種混合ワクチン（MMR）による無菌性髄膜炎の多発から単味ワクチンに切り替えられた後も多くの副反応が報告されている。平成9年度富山県において流行性耳下腺炎の大きな流行がみられたが、ワクチンの副反応への抵抗感からのワクチン接種率低下が流行の大きな要因の1つと考えられる。ムンプスワクチン接種後の副反応の判断には、野生株による流行の状況とあわせて患者からのワクチン株の分離同定が必要である。現在は、RT-PCRによりムンプスウイルスのP遺伝子を検出した後、SSCP（single strand conformation polymorphism）やRFLP（restriction fragment length polymorphism）法によって解析することが多く行われている。接種されたワクチン株が不明の場合、SSCP法やRFLP法のコントロールとなるワクチン株全てを用いなければならないが、遺伝子増幅産物の遺伝子配列を直接解析することによりウイルスの同定を行ったので報告する。

材料と方法：検査材料は、ムンプスワクチン接種後副反応を示した患者2名から得た。接種されたワクチン株は不明である。患者Aはワクチン接種後18日目に感冒様症状を呈したが、発症後10日目に髄液（サンプルNo.122）、咽頭ぬぐい液（サンプルNo.123）を採取した。患者Bは、ワクチン接種後15日目に両側の耳下腺腫脹と髄膜炎症状を示し、発症後2日目に髄液（サンプルNo.144）を採取した。常法にしたがってVero細胞の他、MA104, HEp2, RD-18Sの各細胞培養による分離同定を試みるとともに、RT-PCRをおこなった。鋳型となるウイルスRNAは、RNAzol B solution（Tel-Test, Inc）を用いて、検査材料から直接抽出したものと培養後の細胞から抽出したものをを用いた。PCR陽性コントロールには、以前に分離同定したムンプスウイルスを用い、RT-PCRは山田らの方法に従って行った（1, 2, 3, 4）。PCRによって検出されたムンプスウイルスP遺伝子は、Dye terminator法によって蛍光標識し、ABI PRISM 310シーケンサーを用いてDirect. sequenceを行った。シーケンス解析は、Gene Bankのデータベースを含むGene Works（Teijin Co., Japan）によって行い、ワクチン株および既知の野生と比較検討した。比較検討したウイルス株はTable. 1に示す。

Table 1. List of Analyzed Phosphoprotein (P) gene of mumps virus

MUM1185P	Mumps virus (strain I1/85)	field isolate
MUM2185P	Mumps virus (strain 21/85)	field isolate
MUMEN45P	Mumps virus (strain Enders (EN)/45)	Vero cell adapted
MUMHO72P	Mumps virus (strain Hoshino (HO)/72)	vaccine
MUMJL63P	Mumps virus (strain Jeryl Lynn (JL)/63)	vaccine (USA)
MUMMI70P	Mumps virus (strain Miyahara (MI)/70)	progenitor of vaccine
MUMMJ85P	Mumps virus (strain MJ/85)	field isolate
MUMSA77P	Mumps virus (strain SA/77)	field isolate
MUMSU77P	Mumps virus (strain SU/77)	field isolate
MUMTH77P	Mumps virus (strain TH/77)	field isolate
MUMTO67P	Mumps virus (strain Torii (TO)/67)	progenitor of vaccine
MUMWU67P	Mumps virus (strain Wild-type Urabe/67)	progenitor of vaccine

結果と考察：今回行った検査方法では、検査材料から直接 RNA を抽出して RT-PCR を行った 1 件（患者 A 髄液，サンプル No.144）からウイルスが検出された。細胞培養による分離同定ではウイルスを検出できず，培養後の細胞から抽出した RNA を用いた RT-PCR においても検出はできなかった。

No.144 から検出したムンプスウイルスの P 遺伝子の配列を，ムンプスウイルスのワクチン株および野生株の P 遺伝子の配列と比較したところ，ワクチン株（星野株）と完全に一致し，41 番目の塩基が他の株と異なり T であった（Fig. 1）。また，系統樹解析からも，検出された P 遺伝子は，他のムンプスウイルスのワクチン株および野生株と異なることが示され（Fig. 2），患者 B のワク

チン接種後の両側の耳下腺腫脹と髄膜炎症状はワクチン株（星野株）による副反応と推測された。

検討した 2 つの症例のうち 1 例からウイルスが検出された。副反応はムンプスワクチン接種後 2 週間前後に現れ，ウイルス検出は発病後 2，3 日目をもっとも多い。このことから患者 A の場合，発症後検査材料を採取するまで 10 日経過したことが，検出を困難にしたと考えられる。

以上の成績から，陽性コントロールとなるワクチン株を保有することなしにムンプスワクチン接種後の副反応の迅速な鑑別が可能となった。

MUMSA77P	G.....T.....CA.....CA.....	50
MUMMI70P	G.....T.....CA.....CA.....	50
MUMSU77P	G.....T.....CA.....CA.....	50
MUM1185P	G.....T.....CA.....CA.....	50
MUMMJ85P	G.....T.....CA.....CA.....	50
MUMHO72P	G.....T.....CA.....TA.....	50
No.144	G.....T.....CA.....TA.....	50
MUMWU67P	G.....T.....CA.....CA.....	50
MUM2185P	G.....T.....CA.....CA.....	50
MUMTO67P	G.....T.....CA.....CA.....	50
MUMTH77P	A.....C.....CC.....CA.....	50
MUMEN45P	G.....C.....TA.....CG.....	50
MUMJL63P	G.....C.....TA.....CG.....	50
Consensus	CTCATTGGCA ATCCAGAGCA AAARAACATT CAGYACCCYM CYRCATCACA	50
MUMSA77P	AT.....G.....AG.....T.....C.....G.....C.....T.....	100
MUMMI70P	AT.....G.....AG.....T.....C.....G.....C.....T.....	100
MUMSU77P	AT.....G.....AG.....T.....C.....G.....C.....T.....	100
MUM1185P	AT.....G.....AG.....T.....C.....G.....C.....T.....	100
MUMMJ85P	AT.....G.....AA.....T.....C.....G.....C.....T.....	100
MUMHO72P	AT.....G.....AG.....T.....C.....G.....C.....T.....	100
No.144	AT.....G.....AG.....T.....C.....G.....C.....T.....	100
MUMWU67P	GT.....G.....AG.....T.....C.....G.....C.....T.....	100
MUM2185P	AT.....G.....GG.....T.....C.....G.....C.....T.....	100
MUMTO67P	AT.....G.....AG.....C.....C.....A.....C.....T.....	100
MUMTH77P	AC.....G.....AG.....T.....C.....G.....C.....T.....	100
MUMEN45P	AT.....G.....AG.....T.....T.....G.....T.....C.....	100
MUMJL63P	AT.....G.....AG.....T.....T.....G.....T.....C.....	100
Consensus	TCAGGGRYCC AAGTCAAARG GCAGRRGGYC AGGGGYCAGR YCCATCAYAG	100
MUMSA77P	T.....AT.....T.....G.....C.....A.....	150
MUMMI70P	T.....AT.....T.....G.....C.....A.....	150
MUMSU77P	T.....AT.....T.....G.....C.....A.....	150
MUM1185P	T.....AT.....T.....G.....C.....A.....	150
MUMMJ85P	T.....AT.....T.....G.....C.....A.....	150
MUMHO72P	T.....AT.....T.....G.....C.....A.....	150
No.144	T.....AT.....T.....G.....C.....A.....	150
MUMWU67P	T.....AT.....T.....G.....C.....A.....	150
MUM2185P	T.....AT.....T.....G.....C.....A.....	150
MUMTO67P	T.....AT.....T.....G.....C.....A.....	150
MUMTH77P	T.....AT.....T.....G.....C.....A.....	150
MUMEN45P	C.....AC.....T.....C.....A.....A.....	150
MUMJL63P	C.....GC.....C.....C.....A.....A.....	150
Consensus	TCYGRYCCYC CGAAGSAGGC AMTGGAGGGA CTCAGRTTCC TGAGCCCTT	150
MUMSA77P	C.....A.....C.....T.....A.....C.....TT.....T.....	200
MUMMI70P	C.....A.....C.....T.....A.....C.....TT.....T.....	200
MUMSU77P	C.....A.....C.....T.....A.....C.....TT.....T.....	200
MUM1185P	C.....A.....C.....T.....A.....C.....TT.....T.....	200
MUMMJ85P	C.....A.....C.....T.....A.....C.....TT.....T.....	200
MUMHO72P	C.....A.....C.....T.....A.....C.....TT.....T.....	200
No.144	C.....A.....C.....T.....A.....C.....TT.....T.....	200
MUMWU67P	C.....A.....C.....T.....A.....C.....TT.....T.....	200
MUM2185P	C.....A.....C.....T.....A.....C.....TT.....T.....	200
MUMTO67P	C.....A.....C.....T.....G.....C.....TT.....T.....	200
MUMTH77P	T.....G.....C.....T.....A.....C.....TT.....T.....	200
MUMEN45P	T.....G.....T.....A.....A.....A.....TT.....T.....	200
MUMJL63P	T.....G.....T.....A.....A.....A.....CC.....C.....	200
Consensus	TTYGCACAAA CAGGACARGG TGGYATWGTG ACCRCMGTYY AYCAGGATCC	200
MUMSA77P		223
MUMMI70P		223
MUMSU77P		223
MUM1185P		223
MUMMJ85P		223
MUMHO72P		223
No.144		223
MUMWU67P		223
MUM2185P		223
MUMTO67P		223
MUMTH77P		223
MUMEN45P		223
MUMJL63P		223
Consensus	AACTATCCAA CCAACAGGTT CAT	223

Fig.1 Alignment of Munps virus (P gene)

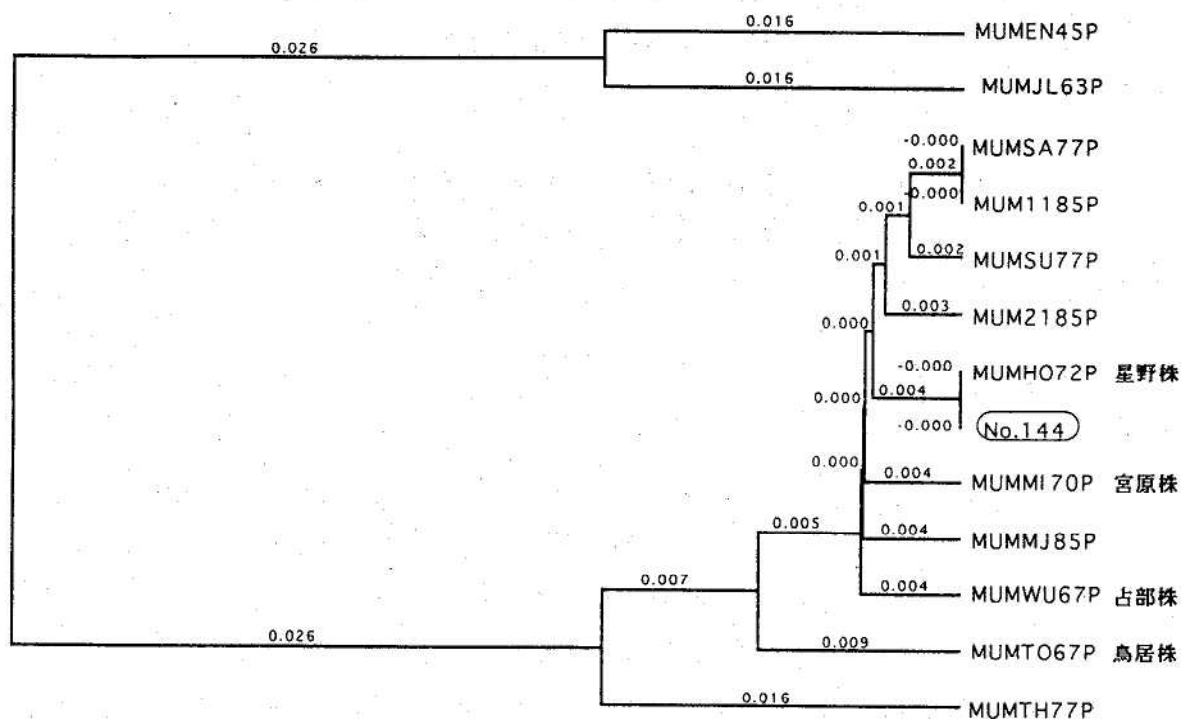


Fig.2 Tree of Mumps strains by the sequence of P gene

文 献

1. Yamada, A., Takeuchi, K., Tanabayashi, K., Hishiyama, M., and Sugiura, A. (1989). *Virology*, 172, 374-378.
2. Yamada, A., Takeuchi, K., Tanabayashi, K., Hishiyama, M., Takahashi, Y., and Sugiura, A.

(1990). *Vaccine*, 8, 553-557.

3. Katayama, K., Oya, A., Tanabayashi, K., Okazaki, K., Hishiyama, M., Yamazaki, S., and Yamada, A. (1993). *Vaccine*, 11, 621-623.
4. 山田章雄. (1994). 病原微生物検出情報 (月報) 15, 197-198.

富山県における平成9年度のウイルスおよび リケッチア検査状況

安藤 秀二 長谷川澄代 松浦久美子 中山 喬
石倉 康弘 北村 敬

Virological and Rickettsiological Examinations of Infectious Diseases
in Toyama Prefecture, April 1997 to March 1998

Shuji ANDO, Sumiyo HASEGAWA, Kumiko MATSUURA,
Takashi NAKAYAMA, Mitsuhiro ISHIKURA,
Takashi KITAMURA

平成9年度富山県結核・感染症サーベイランス事業、伝染病流行予測事業、行政依頼検査および一般依頼検査の結果を報告する。検査材料の採取方法および検査方法は、臨床症状に応じ常法によって行った。検査対象となった患者および物品は305例、121株のウイルスおよびリケッチアが検出された。(表1)

インフルエンザ様疾患： 1997年12月から1998年3月の流行期にかけて県内の定点病院および集団発生した4つの学校から92例のインフルエンザ検査依頼があり、31株のA型インフルエンザ(H3)を分離同定した。また、2月と3月に脳症、熱性痙攣と診断された各1例からもA型インフルエンザ(H3)が分離された。B型インフルエンザは前流行期末の1997年4月に熱性疾患と診断された患者から2株が分離されている。

ウイルス性胃腸炎： 平成9年5月A小学校で発生した集団食中毒事例からC群ロタウイルスが検出され、血清学的にもC群ロタウイルスによる集団食中毒事例であることが確認された。

1997年4月および5月、1998年1月から3月、乳児嘔吐下痢症または感染性下痢症と診断された患者からA群ロタウイルスが検出された。A群ロタウイルスの検出は冬期間がピークとなるが、定点からの患者発生情報によると、乳児嘔吐下痢症

の発生が富山県で平成9年4月、また全国的には平成9年3月により多く報告されている。ウイルス分離からもその傾向がみとめられ、平成8年度からの流行では春先にピークがあったことが示唆された。

小型球形ウイルス(SRSV)は11月から3月の流行期散發例のほかに、6月に発生した2集団のうち1集団、1月に発生した2集団のうち2集団から検出された。また1月の発生集団1事例の原因食品と推定された「生かき」からもSRSVが検出された。

発疹症： 発疹性疾患からは、昨年度とは異なるコクサッキーB2ウイルス1株が分離された。

手足口病： 富山県結核・感染症サーベイランス患者発生情報によると、流行期には全国平均の3倍、富山県の前年発生状況の7倍の手足口病患者の発生が報告されている。6月から8月の流行時期にはエンテロウイルス71型のみが分離されており、平成9年度の富山県における手足口病はエンテロウイルス71型が主流であったと推定される。また、平成9年度のエンテロウイルス71型は、手足口病からの重症化例も報告されており、検査した症例に関しても被検査者21名中13名、ウイルスが検出された症例9例中4例の患者が無菌性髄膜炎を併発していた。

平成9年度疾患別、月別ウイルスおよびリケッチア検出状況

疾病	検出病原体 (被検者数)	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計
インフルエンザ様疾患										(12)	(49)	(16)	(15)	(92)
熱性疾患	INF. A(H3)										17	8	8	33
	(被検者数)	(6)	(2)					(1)						(9)
	INF. B	2												2
ウイルス性胃腸炎	(被検者数)	(10)	(12)	(9)				(4)	(11)	(5)	(18)	(2)	(7)	(78)
	ROTA A	7	1								2		7	17
	ROTA C	6												6
	SRSV		1					9	4	10	2			26
	ADENO	1						1						2
発疹症	(被検者数)		(2)	(1)										(3)
	COXSA. B2	1												1
手足口病	(被検者数)	(5)	(15)	(1)										(21)
	ENTERO71	2	6	1										9
無菌性髄膜炎	(被検者数)	(2)	(5)	(1)	(1)	(1)	(1)	(4)	(1)					(14)
	ENTERO71	1	1	1										3
	ECHO 30						4	1						5
	MUNPS						1							1
その他	(被検者数)	(1)	(1)				(2)	(2)	(1)			(1)	(1)	(9)
	INF. A (H3)											1	1	2
無症状	(被検者数)					(71)								(71)
	ECHO22					1								1
	COXSA B2					7								7
	ADENO 2					1								1
	ADENO 5					2								2
	REO 1					1								1
	同定不能					1								1
恙虫病	(被検者数)		(1)	(1)	(1)	(1)			(3)	(1)				(8)
	恙虫病リケッチ								1					1
合計	(被検者数)	(17)	(16)	(19)	(22)	(74)	(3)	(11)	(16)	(18)	(67)	(19)	(23)	(305)
	(検出数)	9	8	5	7	15	1	4	11	5	29	11	16	121

その他：脳症、脳炎、脳脊髄炎、日本脳炎

無菌性髄膜炎：サーベイランス患者発生情報によると、全国各地でエコーウイルス30型による無菌性髄膜炎の発生がもっとも多く報告された。富山県においても10月11月に検査依頼のあった5例全てからエコーウイルス30型が分離された。また手足口病が流行した6月から8月にかけて無菌性髄膜炎と臨床的に診断された8例の内3例からエンテロウイルス71型が分離された。

平成9年度は県内で流行性耳下腺炎の大規模な流行がみとめられた。臨床症状から診断が容易であるため、流行性耳下腺炎患者からのウイルス分離はなかったが、9月にワクチン接種後に耳下腺腫脹等の症状を示した患者の髄液からRT-PCRによってムンプスウイルスを検出した。ムンプスウイルスP遺伝子のシーケンス解析によりワクチン株（星野株）であることが推定された。

恙虫病：恙虫病と診断された8症例に関して恙

虫病リケッチアの検出を行った。11月に発生した1つの症例から恙虫病リケッチアが検出された。また他に11月12月の各1例が血清学的に恙虫病と確認されている。

その他：平成9年9月には日本脳炎の患者1名が発生したが、ウイルスは分離されていない。

無症状グループとして0～6才の健康な乳幼児71名を対象に、本年度も8月にポリオの流行予測事業によりウイルス検索を行った。6種13株のウイルスを検出した。

ポリオおよびインフルエンザ流行予測事業、C群ロタウイルスによる集団発生事例に関しては、本年報に詳細を掲載しているので参照されたい。

最後に、ウイルスおよびリケッチアの検出にご協力いただいた医療防疫機関の関係各位にお礼申し上げます。

富山県内で分離された腸管出血性大腸菌 O157 : H7 の薬剤感受性

平田 清久 田中 大祐 細呂木志保,
磯部 順子 刑部 陽宅

Drug Sensitivity of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*
O157 : H7 Isolated in Toyama Prefecture

Kiyohisa HIRATA, Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI, Junko ISOBE,
and Yotaku GYOBU

日本における最初の腸管出血性大腸菌 O157 : H7 による集団下痢症は1990年、埼玉県で起こった。その6年後の、1996年には大阪府堺市等全国各地で多数の集団発生がみられ、9名の死者が発生した。

厚生省は1997年、腸管出血性大腸菌 (O157等) 感染症治療の手引き [1] を作成し、その中で、ホスホマイシン、ノルフロキサシン等の使用を勧めている。抗生物質は細菌感染症の治療には必須に近いが、歴史的にみて、その多用は常に耐性菌の出現を許してきた。また、抗生物質の感受性は、細菌感染症の疫学的追及手段として利用され、原因菌を選択的に分離するときの手段としても利用されてきた。菌の抗生物質の感受性を知ることが

種々の観点から重要となっている。このことにより、本研究では、近年富山県で分離された大腸菌 O157について、多数の薬剤に対する感受性を調べた。

材料と方法 : 1) 菌株 : 1991~1997年の間に、富山県内で下痢患者から分離された21株、1997年に北海道、群馬県、神奈川県、大阪府堺市、広島県で集団発生例において分離され、国立感染症研究所により分与された5株、計26株を用いた。これらは、パルスフィールドゲル電気泳動で DNA 制限酵素切断パターンがそれぞれ異なる菌株であった。2) 薬剤感受性測定法 : センシディスク (BBL社製) を用い、手技は同社の説明書に従った。使用薬剤は表1に示す94種を用いた。

表1. 使用薬剤名

〈ペニシリン系ディスク〉

1 アモキシシリン25 (AMPC)	8 クロキサシリン1 (MCIPC)
2 アンピシリン10 (ABPC)	9 スルベニシリン30 (SBPC)
3 アンピシリン/スルバクタム10/10 (ABPC/SBT)	10 チカルシリン75 (TIPC)
4 オーガベリン85 (チカルシリン・クラバン酸) (TIPC/CVA)	11 ピペラシリン100 (PIPC)
5 オーガメリン30 (アモキシシリン・クラバン酸) (AMPC/CVA)	12 ペニシリン10 (PCG)
6 オキサシリン1 (MPIPC)	13 メズロシリン75 (MZPC)
7 カルベニシリン100 (CBPC)	14 メチシリン5 (DMPPC)

表1. つづき

《セフェム系ディスク》

15 セファクロル30(CCL)	32 セフトジジム30(CAZ)
16 セファゾリン30(CEZ)	33 セフジゾキシム30(CZX)
17 セファマンドール30(CMD)	34 セフチブテン30(CETB)
18 セファレキシム30(CEX)	35 セフテラム10(CFTM)
19 セファロチン30(CET)	36 セフトリアキソン30(CTRX)
20 セフィキシム5(CFIX)	37 セフピラミド75(CPM)
21 セフェタメト10(CEMT)	38 セフピロム30(CPR)
22 セフェピム30(CFPM)	39 セフブペラゾン75(CBPZ)
23 セフォキシチン30(CFX)	40 セフボドキシム10(CPDZ)
24 セフォジジム30(CDZM)	41 セフメタゾール30(CMZ)
25 セフォタキシム30(CTX)	42 セフメノキシム30(CMX)
26 セフォチアム30(CTM)	43 セフロキシム30(CXM)
27 セフォテタン30(CTT)	44 フロモキシム30(FMOX)
28 セフォペラゾン75(CPZ)	45 セクサラクタム30(セクサセフ)(LMOX)
29 セフォペラゾン/スルバクタム75/30(CPZ/SBT)	46 セフジトレン5(CDTR)
30 セフジニル5(CFDN)	47 セフォゾبران30(CZOP)
31 セフスロジン30(CFS)	

《その他のβ-ラクタム系ディスク》

48 アズトレオナム30(AZT)	51 パニペネム10(PAPM)
49 イミペネム10(IPM)	52 メロペネム10(MEPM)
50 カルモナム30(CRMN)	

《アミノグリコシド系ディスク》

53 アストロマイシン30(ASDM)	59 シソマイシン10(CICO)
54 アミカシン30(AMK)	60 ジペカシン30(DKB)
55 アルベカシン30(ABK)	61 ストレプトンマイシン10(SM)
56 イセパマイシン30(ISP)	62 トブラマイシン10(TOB)
57 カナマイシン30(KM)	63 フロマイシン30(フラジオマイシン)(FRM)
58 ゲンタマイシン10(GM)	64 ネチルマイシン30(NTL)

《マクロライド系ディスク》

65 エリスロマイシン15(EM)	67 ジョサマイシン30(JM)
66 オレアンドマイシン15(OL)	68 ロキシスロマイシン15(RXM)

《テトラサイクリン系ディスク》

69 オキシテトラサイクリン30(OTC)	71 ドキシサイクリン30(DOXY)
70 テトラサイクリン30(TC)	

表1. つづき

《その他の抗生物質ディク》

72 エノキサシン10(ENX)	84 バシトラシン10(BC)
73 オフロキサシン5(OFLX)	85 バンコマイシン30(VCM)
74 クリンダマイシン2(CLDM)	86 ピペミド酸20(PPA)
75 クロラムフェニコール30(CP)	87 フレロキサシン5(FLRX)
76 コリスチン10(CL)	88 ホスホマイシン50(FOM)
77 シノキサシン100(CINX)	89 ポリミキシンB300(PL-B)
78 シプロフロキサシン5(CPFX)	90 リファンピシン5(RFP)
79 スパルフロキサシン5(SPFX)	91 リンコマイシン2(LCM)
80 トスフロキサシン5(TFLX)	92 レボフロキサシン5(LVFX)
81 ナリジクス酸30(NA)	93 ロメフロキサシン10(LFLX)
82 ノボビオシン30(NB)	94 SXT(ST合剤)(ST)
83 ノルフロキサシン10(NFLX)	

結果：薬剤感受性を調べたところ、菌株によって感受性に差が見られた薬剤は、ペニシリン系で10剤、セフェム系で7剤、その他のβラクタム系で3剤、アミドグリシド系で1剤、テトラサイクリン系で3剤、その他の薬剤で3剤であった。供試26株はこの薬剤感受性によって表2に示す、10のパターンに分類することができた。すべての菌株が耐性を示した薬剤は、ペニシリン系ではNo. 6（オキサシリン）など4剤、セフェム系ではNo. 31（セフスロジン）の1剤、マクロライド系ではNo. 65（エリスロマイシン）など4剤、その他の抗生物質では、No. 74（クリンダマイシン）など6剤の計15剤であった。供試菌26株は、94剤の内の15剤（16.0%）に耐性であった。

また、すべての株が感受性であった薬剤は、セフェム系でNo. 20（セフィキシム）など19剤、その他のβラクタム系でNo. 49（イミペネム）、No. 52（メロペネム）の2剤、アミノグリコシド系ではNo. 53（アストロマイシン）など11剤、その他の薬剤でNo. 72（エノキサシン）など14剤の計46剤であった。供試菌26株は、94剤の内の46剤

（60.0%）に感受性であった。

表3は、供試菌の薬剤感受性パターンの年次別分布を示す。1991～1994年は、菌株が少ないがパターンⅡ、Ⅲ、Ⅳが認められた。一方、全国的にO157：H 7が多く分離された1996年は、パターンⅡの菌株が多かったが、パターンⅤ、Ⅵ、Ⅶ、Ⅹも少数ながら認められた。1997年は前年みられたパターンⅡの他にパターンⅧ、Ⅸ、Ⅰも認められた。

考察：1991～1997年の間に分離された菌株の薬剤感受性を調べたところ、10のパターンが認められた。全国的にO157：H 7が多く分離された1996年はパターンⅡが多かったが、その他の年でもⅡのパターンが認められていることから、薬剤感受性に関してはⅡのパターンが主流と思われる。

島山ら〔2〕は国内で分離された出血性大腸菌O157：H 7の中に、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、アンピシリンなどの耐性株がみられ、また1994年以降にはこれら薬剤耐性株の急増があったことを報告している。今回の調査では、1996年にパターンⅡの菌株が主流であったが、翌

表2. 出血性大腸菌 O157:H7 の薬剤感受性パターン

被検薬剤(No)	パターン									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
ペニシリン系										
1, 2, 7, 10, 11, 13	R	IS	IS	IS	R	R	R	R	IS	IS*
4	IS	IS	IS	IS	R	R	R	R	IS	IS
5	IS	IS	IS	IS	IS	R	IS	IS	IS	IS
9	R	IS	IS	R	R	R	R	R	IS	IS
6, 8, 12, 14	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS
セフェム系										
31	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
15, 16, 17	IS	IS	IS	IS	IS	R	IS	IS	IS	IS
19	R	IS	IS	IS	R	R	IS	R	IS	IS
18, 25, 29, 30, 40, 43	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS
28	IS	IS	IS	IS	IS	R	IS	IS	IS	IS
37	IS	IS	IS	IS	R	R	R	R	IS	IS
46	IS	IS	R	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS
20, 21, 22, 23, 24, 26	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
27, 32, 33, 34, 35, 36										
38, 39, 41, 42, 44, 45										
47										
その他のβラクタム系										
48, 50	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS
49, 52	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
51	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
アミノグリコシド系										
61	R	IS	IS	IS	R	IS	R	R	R	S
53, 54, 55, 56, 57, 58	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
59, 60, 62, 63, 64										
マクロライド系										
65, 66, 67, 68	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
テトラサイクリン系										
69, 70, 71	R	IS	IS	IS	IS	IS	R	R	IS	IS
その他										
72, 73, 75, 77, 78, 79,	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
80, 83, 86, 87, 88, 92,										
93, 94										
76, 81, 89	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS	IS
74, 82, 84, 85, 90, 91	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

R:耐性 I:中間 S:感受性

*:I又はSの菌株のあることを示す。

表3. 腸管出血性大腸菌O157:H7の薬剤感受性パターンの年次分布

薬剤感受性 パターン	年 次				合計
	1991～1993	1994	1996	1997	
I				2	2*
II	1	1	11	2(1)	15(1)
III	1(1)**				1(1)
IV	1(1)				1(1)
V			1		1
VI			1		1
VII			1		1
VIII				1	1
IX				1	1
X			2		2
計	3(2)	1	16	6(1)	26(3)

*: 菌株数

(): VT2単独産生株再掲

1997年には、更にペニシリン系やテトラサイクリン系のいくつかの薬剤に対して耐性を獲得したパターンI, VIII, IXの菌株が認められた。薬剤耐性株が少しずつ増加しているように思われる。

今回の実験では、厚生省が治療に勧めるホスホマイシン、ノルフロキサシンに対する耐性株は認められなかったが、治療の視点から抗生物質に対する感受性の変化には今後も注意をする必要があらう。

抗生物質感受性は又、菌の近縁関係や原因菌の選択分離を考える上で重要である。今回、ペニシリン系などいくつかの薬剤に対して感受性株と耐

性株が認められた。菌株によって感受性に差がある薬剤に関する情報は、上記の治療以外の目的を考える上で、今後役立つものと考えられる。

参考文献

1. 厚生省保健医療局結核感染症課 (1997). よくわかる腸管出血性大腸菌 (O157等) 感染症の症状・診断・治療, 20-21.
2. 畠山 薫, 甲斐明美, 尾畑浩魅, 五十嵐英夫, 太田建爾, 伊藤武, 工藤泰雄 (1997). 感染症学雑誌, 71, 67.

漁港の腸炎ビブリオ実態調査について

細呂木志保 田中大祐 平田清久 磯部順子
刑部陽宅 道谷真由美¹ 城石将幸¹

Vibrio parahaemolyticus Surveillance at Fishing Ports in Toyama Prefecture

Shiho HOSOROGI, Daisuke TANAKA, Kiyohisa
HIRATA, Junko ISOBE, Yotaku GYOBU, Mayumi
MICHITANI¹, Masayuki SHIROISHI¹

県内の平成9年食中毒発生状況によると、患者数が最も多かったのは、腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*, 以下V. p) 食中毒であった。全国的にみるとV. pは平成2年まで細菌性食中毒の半数近くを占めていた。しかし、平成3年以降は減少し、6～7年には再び増加に転じている(1)。県内でも同様の傾向がみられる。県厚生部では、昭和54年以来、腸炎ビブリオの生態やその汚染実態を知り、食中毒防止に役立てるため、市販魚介類の調査を実施してきた。さらに平成8年度からは「VP (腸炎ビブリオ) マリン実態調査」として、県内の4漁港の海水、海泥中のV. pについて調査を実施している。ここでは、平成9年に得られた結果を報告する。

材料および方法 調査期間：平成9年6月23日～10月7日の間、隔週毎に計8回調査を行った。

調査地点：県内の生地、魚津、新湊、氷見の4漁港を定点とし、表層の海水および底泥を採取した。V. p数の測定：前報に従った(2)。

耐熱性溶血毒 (TDH) 産生株の検出：海水は100 mlを0.45 μmメンブランフィルターでろ過し、海泥は約10gを、10mlの食塩ポリミキシンブイオンで一夜培養した (一次培養)。その1白金耳～0.

1 mlを2%コリスチンブイオンに接種し、さらに一夜培養した (二次培養)。以後PCR法でtdh遺伝子検出を行った。鋳型DNAは二次培養液を3,000rpm、25分間遠心した沈査に蒸留水を加え、100℃加熱、遠心上清を使用した。tdh検出用プライマーはVPD-1および-2 (タカラ) を、ポリメラーゼはTaKaRa Taq™ (タカラ) を使用し、添付指示書に従ってPCRを行った。陽性が疑われた検体については、凍結保存しておいた一次増菌液よりTCBS培地を用いて菌の分離を行った。分離された菌株はすべてKAP-RPLA (デンカ生研) を用いて、耐熱性溶血毒 (TDH) 産生を確認した。

結果および考察：V. p数は調査期間中、海水で100mlあたり $<3 \sim 1.1 \times 10^3$ 、海泥で100gあたり $<30 \sim 1.1 \times 10^5$ (以下、菌数は100mlまたは100gあたりで表示) の範囲であった。4定点における海水、海泥中のV. p数は、表1に示した。昨年同様、定点による差は認められず、いずれの地点でも6月下旬 (第1回) には3以下から7であったが、7月下旬～8月上旬 (第3～4回) から増加が始まり、8月中～9月下旬 (第6～7回) にはピークを形成した。10月初旬 (第8回) では減少が認められた。

表1. 漁港における腸炎ビブリオ調査結果

漁港	検体・ 菌種	第1回 6月23日	第2回 7月 7日	第3回 7月22日	第4回 8月 4日	第5回 8月18日	第6回 9月 1日	第7回 9月16日	第8回 10月 6日
生地	海水V.p	<3*	4.3×10	9	4.3×10	1.1×10 ³	2.3×10	9.3×10	4.3×10
	V.a	2.4×10 ³	1.5×10 ³	4.3×10	1.5×10 ³	2.4×10 ⁴	2.4×10 ³	2.8×10 ³	2.4×10 ³
	海泥V.p	<30	3.9×10 ²	9.0×10	4.6×10 ³	4.3×10 ²	4.6×10 ³	2.4×10 ³	2.3×10 ²
	V.a	2.4×10 ³	4.6×10 ³	4.6×10 ⁴	3.9×10 ⁴	2.1×10 ⁴	6.4×10 ³	1.5×10 ⁵	1.1×10 ⁵
	気温(°C)		28.0	29.0	27.0	33.0	28.0	21.0	22.0
	水温(°C)	18.0	22.0	18.5	22.0	21.5	19.0	18.5	25.5
魚津	海水V.p	<3	4.3×10	2.3×10	3.9×10 ²	2.3×10	4.3×10	9.3×10	4.3×10
	V.a	2.3×10	2.4×10 ³	2.4×10 ²	2.4×10 ³	1.1×10 ⁵	4.6×10 ⁴	1.1×10 ⁴	2.4×10 ³
	海泥V.p	<30	9.0×10	<30	9.3×10 ²	4.6×10 ⁴	1.1×10 ⁵	2.4×10 ³	1.5×10 ³
	V.a	2.4×10 ³	7.5×10 ³	1.1×10 ⁴	4.6×10 ³	1.1×10 ⁶	1.1×10 ⁵	4.6×10 ⁵	4.6×10 ⁵
	気温(°C)		29.0	30.5	28.0	33.0	32.0	20.5	21.8
	水温(°C)	20.5	22.0	21.8	25.5	25.5	24.5	23.0	18.5
新湊	海水V.p	7	7	1.5×10	4.3×10	4.3×10	2.4×10 ²	2.4×10 ²	4.3×10
	V.a	2.4×10 ³	1.1×10 ³	9.3×10	4.6×10 ²	2.4×10 ²	1.5×10 ³	1.1×10 ⁴	2.4×10 ³
	海泥V.p	9.0×10	2.3×10 ²	9.3×10 ²	4.6×10 ³	1.2×10 ³	2.3×10 ²	2.1×10 ²	1.1×10 ⁴
	V.a	2.4×10 ³	1.3×10 ³	4.6×10 ⁵	4.6×10 ⁵	1.1×10 ⁶	2.4×10 ⁴	4.6×10 ⁴	2.1×10 ⁵
	気温(°C)		32.0	28.0	32.5	27.5	33.0	24.5	20.5
	水温(°C)		28.0	26.5	27.2	26.5	26.0	23.0	19.5
氷見	海水V.p	4	2.3×10	4.3×10	9.3×10	2.4×10 ²	2.4×10 ²	2.4×10 ²	9
	V.a	2.4×10 ²	2.4×10 ²	2.4×10 ²	3.9×10 ³	2.4×10 ³	2.4×10 ³	4.6×10 ²	4.6×10 ³
	海泥V.p	<30	4.0×10	2.3×10 ²	1.5×10 ²	9.3×10 ²	4.3×10 ²	9.3×10 ²	1.5×10 ²
	V.a	2.1×10 ³	9.3×10 ²	4.6×10 ³	2.4×10 ⁵	2.4×10 ⁵	1.1×10 ⁵	4.6×10 ⁵	2.4×10 ⁵
	気温(°C)		29.0	32.0	35.2	27.5	34.0	23.5	19.0
	水温(°C)	25.0	24.0	29.5	28.0	27.0	26.0	22.0	23.0

* V.p(Vibrio parahaemolyticus)、V.a(Vibrio alginolyticus疑い)の菌数はMPN値(100mlまたは、100g中の最確数)。

V.a数は、海水で $2.3 \times 10 \sim 1.1 \times 10^5$ 、海泥で $9.3 \times 10^2 \sim 1.1 \times 10^6$ の範囲であった。4定点におけるV.a数は、表1に示した。菌数の変動はほぼV.pと同じ傾向を示した。海水、海泥中のV.pとV.a数の相関は相関係数が海水の場合、 $r=0.43$ ($p<0.05$, $n=32$)、海泥の場合、 $r=0.62$ ($p<0.01$, $n=32$)と海水でやや低い、有意であった。

図1、2は平成8年と9年の6月下旬から10月初旬の海水、海泥中のV.p、V.a数の変動を示す。4定点におけるV.p平均菌数は海水、海泥いずれも同程度であった。V.aについても同様であった。図中には示さなかったが、各定点の海水温、気温

もほぼ同じ値で推移していた。県内の食中毒発生は平成8年は7月に1件、9年は8月に2件であった。漁港内の海水、海泥中のV.p数と食中毒発生数がどの程度相関しているか、結論を得るにはさらにデータの蓄積が必要である。

腸炎ビブリオの患者分離株は、多くが神奈川現象(KP)陽性であるのに対して、魚介類や海水から分離された菌の99%はKP陰性である(3, 4)。4定点の海水、海泥64検体についてPCRを行ったところ、3検体に陽性が疑われる約250bpのバンドが認められた。保存しておいた一次培養液より菌を再度分離し、1検体あたり17~56株についてTDH産生能を調べたが、すべてが陰

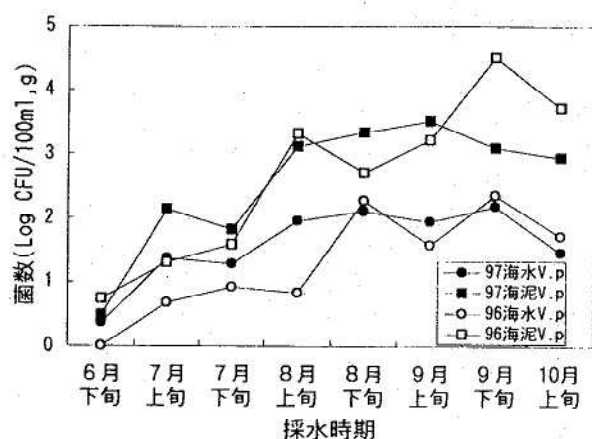


図1. 海水、海泥の *V. parahaemolyticus* の月別推移

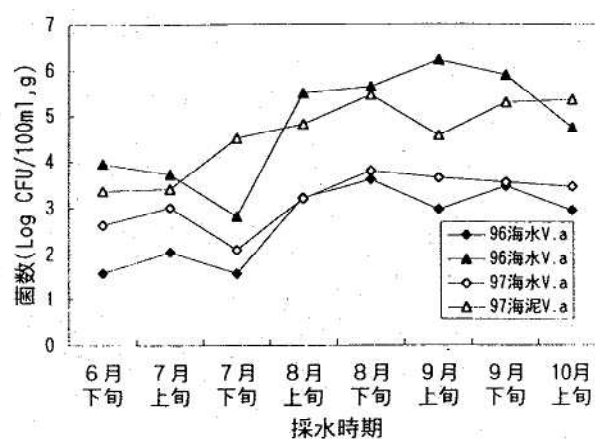


図2. 海水、海泥の *V. alginolyticus* の月別推移

性であった。PCR 陽性検体には、TDH 産生性の *V.p* が分布していたか、TDH 産生性のその他のビブリオが分布していたのか明らかではない。

平成10年も、県内の4漁港における *V.p* の推移を測定する予定である。このことを継続することによって食中毒予防に役立てる基礎データが得られるものと考えられる。

謝辞：本調査にご協力いただいた富山県薬務食品課および各健所の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 国立予防衛生研究所編 (1996). 病原微生物検出情報, 17, 1-2.
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. 本田武司 (1990). 腸炎ビブリオ第Ⅲ集 (三輪谷俊夫, 大橋誠監修), 近代出版, 東京, 105-115.
4. 長谷篤, 北瀬照代, 安川章 (1997). 大阪市環科研報告, 59, 89-93.

富山県における1997年の病原微生物検出情報

田中大祐 細呂木志保 刑部陽宅

Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama
Prefecture in 1997Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI
and Yotaku GYOBU

富山県では12カ所の公立病院検査室と10カ所の保健所、衛生研究所から毎月病原微生物検出情報を収集し、その集計を国立感染症研究所に報告している。

表1.1)-8) に1997年1月から12月までの県内の病原微生物検出情報の集計を材料別・菌種別に示す。保健所・衛生研究所からの情報はほとんどが糞便からの分離例であったが、それらを医療機関

表1. 月別・菌種別の病原微生物検出状況 (1997年)

1) 分離材料：糞便

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Salmonella Typhi													
Salmonella Paratyphi A													
Salmonella O4		2	1					1	2	1	1		8
Salmonella O7	2	1	1			2	2	2		1			11
Salmonella O8							1		1	1		(2)	5
Salmonella O9		4(1)	2	2	4	8	(13)	8	5		3	1	50(1)
Salmonella その他	1	1	1(1)			1	4		3	1			12(1)
Salmonella 群不明							1			1		1	3
Yersinia enterocolitica					1	1		3	1			1	6
Y. pseudotuberculosis													
Vibrio cholerae O1									1				1
Vibrio cholerae O139													
V. cholerae O1, O139 以外							1		1				2
Vibrio parahaemolyticus					1	1	22	(65)	33	1			123
Vibrio fluvialis								1					1
Vibrio mimicus													
Aeromonas		1	1		1	1	1	1	4				11
Plesiomonas shigelloides							1						1
Campylobacter	5	3	7	13	34	15	12	9	16	5	5	11	135
Staphylococcus aureus	49	46	23	45	48	51	52	52	44	58	46	40	554
Clostridium perfringens													
Clostridium botulinum													
Bacillus cereus													
Entamoeba histolytica													
Escherichia coli 組織侵入性						2	1	2			2		7
" 毒素原性	1			1	1	2(1)	3	4	3			1	16(1)
" 病原大腸菌血清型	3	3	7	9	3	14	18	16	17	16(1)	8	21	135(1)
" EHEC/VTEC				1		(6)		2	2				11
" その他・不明	2		3	2		16	9	5	2	5	10	4	62
Shigella		2(2)	1	1(1)	5(5)	1(1)		1(1)			1(1)		12(11)
合 計	63	42	47(1)	74(1)	101(5)	121(2)	141	172(1)	135	90(1)	76(1)	82	1166(15)

2) 分離材料：穿刺液（胸水，腹水，関節液など）

<i>Escherichia coli</i>	5		3	2	2	1	3	4	2	1	2	5	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		1	2	2	2	1	1	3		1	2	2	18
<i>Haemophilus influenzae</i>													2
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3			2	2		4	3	4	6	1	1	26
<i>Mycobacterium</i> spp.													
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	5	1	3	9	13	17	6	9	7	3	5	82
<i>Staphylococcus</i> , コアグラーゼ陰性	3	3	4	7	3	4	5	3	3	13	3		51
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1				1							1	3
Anaerobes		8	3			1	1			1	2	1	17
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													
合 計	16	17	13	17	19	20	31	19	18	29	13	15	227

3) 分離材料：髄液

菌 種 ・ 群 ・ 型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>													
<i>Haemophilus influenzae</i>	2						1						3
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Listeria monocytogenes</i>								1					1
<i>Staphylococcus aureus</i>		1						1					2
<i>Streptococcus</i> , B													
<i>Streptococcus pneumoniae</i>			1		1		1				1		4
合 計	2	1	1	0	1	0	2	2	0	0	1	0	10

4) 分離材料：血液

<i>Escherichia coli</i>	13	8	3	14	12	14	12	14	11	9	3	6	119
<i>Salmonella</i> Typhi													
<i>Salmonella</i> Paratyphi A													
<i>Salmonella</i> spp.													
<i>Haemophilus influenzae</i>	2						1				1		4
<i>Neisseria meningitidis</i>											1		1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	4	3	1	1	5	15	5	5	6	1	3	53
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	10	5	4	7	11	11	4	11	17	4	5	92
<i>Staphylococcus</i> , コアグラーゼ陰性	19	7	11	10	4	17	13	16	21	8	14	11	151
<i>Streptococcus</i> , B		1		1	1		1	2					6
<i>Streptococcus pneumoniae</i>			2	1	1		1			1	2	2	10
Anaerobes	4	4	4	3	4	2	1	2		1	1	2	28
合 計	45	34	28	34	30	49	55	43	48	42	27	29	464

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

<i>Bordetella pertussis</i>													
<i>Haemophilus influenzae</i>	30	35	31	33	64	36	27	22	18	21	32	39	388
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Streptococcus</i> , A	35	57	51	44	53	52	24	18	18	27	58	86	523
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	19	11	12	16	23	10	12	10	8	10	21	25	177
<i>C. diphtheriae</i>													
合 計	84	103	94	93	140	98	63	50	44	58	111	150	1088

6) 分離材料：喀痰，気管吸引液および下気道からの材料

<i>M. tuberculosis</i>	7		2		3	2	2	3	2		3	3	27
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	61	51	48	66	51	62	70	66	70	79	59	47	730
<i>Haemophilus influenzae</i>	65	33	30	45	59	50	47	38	28	47	32	36	510
<i>Legionella pneumophila</i>													
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	112	83	70	95	76	91	94	105	124	106	69	80	1105
<i>Staphylococcus aureus</i>	184	170	159	193	190	198	194	162	166	165	137	146	2064
<i>Streptococcus, A</i>	7	4	2	6	8	11	6	6	6	2	5	3	66
<i>Streptococcus, B</i>	10	9	8	11	9	11	18	13	14	8	16	16	143
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	45	27	31	52	56	50	41	18	25	45	42	28	460
Anaerobs													
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													
合 計	491	377	350	468	452	475	472	411	435	452	363	359	5105

7) 分離材料：尿

菌 種 ・ 群 ・ 型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	143	123	132	134	140	138	173	149	154	136	104	128	1654
<i>Enterobacter spp.</i>	29	14	15	23	19	11	27	27	30	16	21	16	248
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	26	21	26	29	21	28	32	44	31	26	26	22	332
<i>Acinetobacter spp.</i>	3	4	4	7	6	6	11	7	7	7	5	8	75
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	84	61	61	97	95	93	86	79	90	83	50	61	940
<i>Staphylococcus aureus</i>	48	47	41	58	48	44	46	40	44	36	41	43	536
<i>Staphylococcus, コグラーゼ陰性</i>	45	45	37	59	57	70	51	53	60	59	46	48	630
<i>Enterococcus spp.</i>	89	70	82	104	93	104	93	86	106	96	66	74	1063
<i>Candida albicans</i>	43	28	33	50	29	23	41	30	40	43	23	26	409
合 計	510	413	431	561	508	517	560	515	562	502	382	426	5887

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

<i>Neisseria gonorrhoeae</i>			1		1	2	2		5	2	2	1	16
<i>Streptococcus, B</i>	13	16	24	14	19	21	26	23	30	27	18	20	251
<i>Chlamydia trachomatis</i>	4	4	5	6	3	2	5	3	6	6	6	2	52
<i>Ureaplasma</i>													
<i>Candida albicans</i>	73	95	110	97	109	101	116	124	136	85	73	103	1222
<i>Trichomonas vaginalis</i>	2	1	3	1	2		4	2	2	4	2	2	25
合 計	92	116	143	118	134	126	153	152	179	124	101	128	1566

注：（ ）内は海外旅行者分再掲、○で囲んだ数字は同一フォーカスからの分離株を含む。

からの情報に含めて集計した。また、医療機関から分離された黄色ブドウ球菌について、MRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）の割合も示した。

表中の○で囲んだ数字は、食中毒など同一フォーカスからの分離株が含まれていることを示し、（ ）内の数字は、海外旅行者分の再掲を示している。

糞便：分離株総数1,166株，前年比97%。最も

多かったのは黄色ブドウ球菌554株（その内MRSAは63%）であった。次に大腸菌が231株と多かった。腸管出血性大腸菌11株は、O157が6株，O26が5株であった。このうちO157による2株は牧場牛舎における感染事例から分離された。カンピロバクターは135株，腸炎ビブリオは123株であり，それぞれ前年比139%，118%と増加した。腸炎ビブリオによる食中毒の発生が2件あり，それぞれの事例で血清型O3：K6の菌が検出された。

サルモネラは90株、前年比63%と減少したが、2件の食中毒が発生した。

法定伝染病関係では、前年から続けて赤痢菌が多く、12株（推定感染国；エジプト4株、インド2株、東南アジア3株、渡航歴なし1株）であった。また、1997年は全国的に海外渡航歴のない人からコレラ菌が分離されるという事例が多発したが、富山県でも1事例あった。

穿刺液：分離株総数227株、前年比75%。黄色ブドウ球菌（MRSAは48%）、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌、嫌気性菌、大腸菌、緑膿菌などが多く分離された。

髄液：分離株総数10株、前年比83%。肺炎球菌4株、インフルエンザ菌3株、黄色ブドウ球菌2株（MRSAは100%）、*Listeria monocytogenes* 1株が分離された。

血液：分離株総数464株、前年比104%。コアグララーゼ陰性ブドウ球菌、大腸菌、黄色ブドウ球菌（MRSAは54%）がおもに分離された。

咽頭および鼻咽喉：分離株総数1,088株、前年

比92%。A群溶連菌が最も多く、次にインフルエンザ菌、肺炎球菌が分離された。

喀痰、気管吸引液および下気道：分離株総数5,105株、前年比107%。黄色ブドウ球菌（MRSAは69%）、緑膿菌が多く、他に肺炎桿菌、インフルエンザ菌、肺炎球菌などが分離された。

尿：分離株総数5,887株、前年比107%。各分離材料のなかで最も分離株数が多く、菌種も様々であった。大腸菌、腸球菌、緑膿菌などが多かった。コアグララーゼ陰性ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌（MRSAは69%）なども分離された。

陰部尿道頸管擦過（分泌）物：分離株総数1,566株、前年比108%。ほとんどが *Candida albicans* であった。その他、B群溶連菌などが分離された。なお、*Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* は抗原検出数である。

謝辞：県内12カ所の公立病院と10カ所の保健所の検査担当各位に感謝します。

家庭用エアロゾル製品中のメタノールのHPLC分析

小玉修嗣 山本 敦 松永明信

Analysis of Methanol in household articles
of aerosol by using HPLC

Shuji KODAMA, Atsushi YAMAMOTO and
Akinobu MATSUNAGA

メタノールは毒物および劇物取締法による劇物であり、吸入、経皮、経口摂取により視力障害やアシドーシス等を引き起こすことが知られている。メタノールはエアロゾル形態で使用されるとき急速に気散し、経気道吸収のもとになるため、無制限なメタノールの配合は好ましくない。そこで、一般消費者用のエアロゾル製品として、家庭環境で使用しても安全性が確保できるレベルまで配合を制限するため、基準（5 w/w%以下）が設定された。エアロゾル製品中のメタノール濃度の定量は、内容液を蒸留し、その留液中に含まれるメタノールをガスクロマトグラフ（GC）で分析する試験法で行われている〔1〕。また、日本酒、ワインや食酢などの発酵食品中のメタノール分析にもこの試験法が用いられている〔2〕。しかし、この試験法で用いられる蒸留操作は煩雑であり、時間を要する。メタノールの分析としては上記のGC法の他に、示差屈折検出器を用いたHPLC法が知られている〔3〕。このHPLC法を用いると、エアロゾル製品中の内容液を蒸留することなく、内容液を水で希釈するだけで簡便にメタノールを分析できるのではないかと考えて検討した。

実験方法：試料；市販の家庭用エアロゾル製品5検体を用いた。試薬；メタノール（特級）和光純薬製を用いた。標準溶液の調製；メタノール濃度が0.01g/100ml-1g/100mlとなるように脱イオン水で希釈したものを標準溶液とした。脱イ

オン水の調製はYamato Auto Still（Model WA-52G）により行った。試料の調製；エアロゾル製品の内容液約1gを精秤し、脱イオン水2mlを加え、超音波処理（数秒間）により脱気した後、脱イオン水で10mlに定容した（検体希釈溶液）。その溶液をSep-pak plus PS-2カートリッジ（ウォーターズ製）に供し、1.5-2.0mlの画分溶液を試料とした。添加回収率の測定に際しては、精秤したエアロゾル製品の内容液約1gに1mlの0.1g/100ml（検体換算値；0.1w/w%）または1g/100ml（検体換算値；1w/w%）のメタノール溶液を添加して行った。HPLC装置；日立製作所製L-6300形ポンプ、島津製作所製CTO-10AC形カラムオーブン、昭和電工製Shodex RI-71形示差屈折検出器、Rheodyne製マニユアルインジェクター、昭和電工製分析カラム（Rspak DE-613, 6mm ϕ $\times$ 150mm）およびMerck製プレカラム（LiChroCART 4-4, 4mm ϕ $\times$ 4mm）を組み合わせて構成した。HPLC分析条件；移動相には脱イオン水を用い、流量を1 ml/minに設定し、示差屈折計によりメタノール濃度を測定した。カラム温度は40℃とした。0.03mlの標準溶液または試料を分析に供した。試料中のメタノールの定量は、絶対検量線法を用いてピーク面積法により算出した。

結果および考察：標準溶液（0.01g/100ml）をHPLCに供し、得られたクロマトグラムを

Fig.1-A に示した。メタノール濃度0.01g/100ml—1g/100ml の標準溶液を用いて検量線を作成したところ、原点を通る良好な直線性を示した ($r > 0.9999$)。つぎに、検体希釈溶液を Sep-pak plus PS-2 カートリッジに供し、素通りした溶液を0.5 ml ごとに分取し、メタノール濃度を測定した (Fig. 2)。検体希釈溶液を Sep-pak plus PS-2 カートリッジに通すのは、①不溶性の成分を除去して濁りをとるため、および②検体希釈溶液中の疎水性のある化合物を除去するためである。その結果、Sep-pak plus PS-2 カートリッジに1.5ml 以上の標準溶液を通すと、メタノールは定量的に回収されることがわかった。しかし、検体希釈溶液には様々な化合物が含まれている。大量の検体希釈溶液を Sep-pak plus PS-2 カートリッジに供すると、本来は吸着する化合物が吸着しきれずに素通りしてくる可能性がある。したがって、検体希釈溶液を Sep-pak plus PS-2 カートリッジに供したときは、1.5ml—2.0ml の範囲の素通り画分を試料とした。つぎに、検体の添加回収率を検討した (Table 1)。その結果、添加回収率は90 %—101%と良好な値であり、検体中のメタノールを再現性よく定量できると推定された。

市販の家庭用エアロゾル製品5検体について、上記の方法によりメタノール濃度を測定した。試料のクロマトグラムの代表例をFig.1-B に示す。その結果、5 検体いずれもメタノールは不検出 (0.1w/w%未満) であった。なお、上記の5 検体を蒸留後、GCで測定する従来の方で分析したところ、いずれの検体についても不検出 (0.1w/w%未満) であることを確認した。

本法における検量線の範囲 (0.01-1g/100ml) は検体換算で0.1-10 (w/w) %であり、家庭用エアロゾル製品におけるメタノールの基準値 (5 w/w%) およびその定量下限値 (0.1w/w%) を定量することが可能である。したがって、本法は、家庭用エアロゾル製品中のメタノールを簡便に分析できる方法として日常分析に適したものと考えられる。

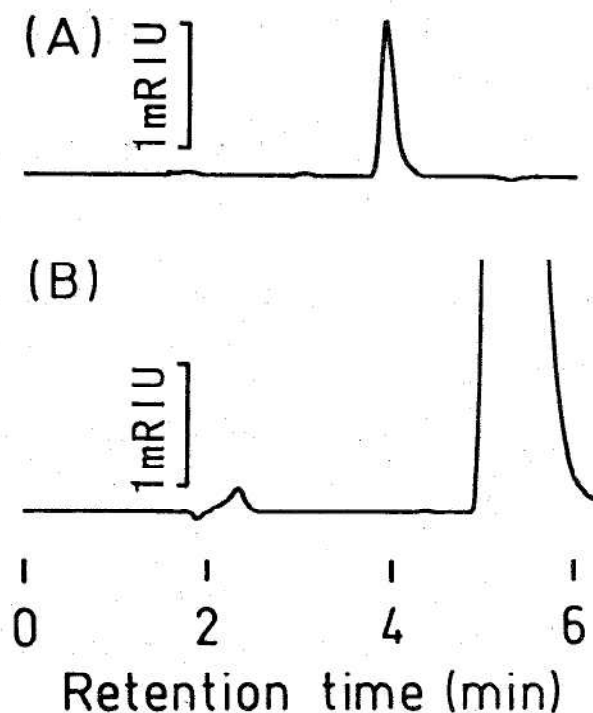


Fig. 1. Chromatograms of standard solution and household article of aerosol

(A): standard solution (0.1g/100ml)
(B): household article of aerosol

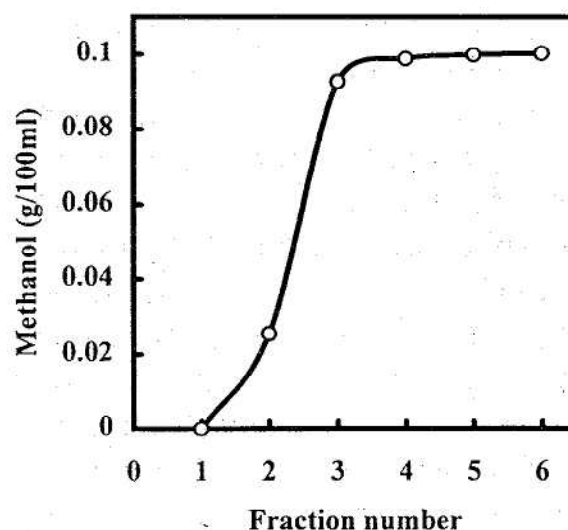


Fig. 2. Methanol concentration in non-binding fractions by using Sep-pak PS-2 cartridge

Standard solution (0.1g/100ml) was applied to Sep-pak PS-2 cartridge. Methanol concentration in fractions (each 0.5ml) obtained were measured.

Talbe 1. Recoveries of methanol spiked to
5 household articles of aerosol.

Sample number	Recovery (%)	
	Methanol added (w/w %)	
	0.1	1.0
1	100.3	101.0
2	96.1	99.0
3	96.0	100.5
4	90.9	93.7
5	95.5	99.9
Mean	95.8	98.8
SD	3.3	3.0
CV	3.4	3.0

文 献

1. 家庭用品規制関係実務便覧；厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修（1975），pp2065－2071.
2. 大戸幹也，松永明信，山本敦，斉藤行雄，牧野正雄，水上英一（1987）. 富山衛研年報，10，148－152.
3. Shodex カラム総合データ集（1995年改定版），pp 223.

平成9年度水道水質検査の精度管理事業について

健名 智子 高柳 信孝 松永 明信

The Results of External Analality Control on Chloride Ion and Iron in Water

Tomoko KEMMEI, Nobutaka TAKAYANAGI and
Akinobu MATSUNAGA

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が、平成9年度は塩素イオン及び鉄の2項目について実施された。当所は配布試料の調製、参加機関の報告値の集計および解析を担当した。今回、その結果をまとめたので報告する。

(5) 検査方法及び検査結果：検査は、日常の検査業務と同じ方法を用い、5回の併行測定を行うこととした。検査結果は、5回の併行測定すべての測定結果を、有効数字2桁として報告することとし、この測定値について解析を行った。

調 査 方 法

- (1) 実施時期：平成10年1月19日～1月30日
- (2) 参加機関：水道事業体2機関、水道用水供給事業体2機関、水道法第20条に規定する指定検査機関1機関、10保健所及び当所の計16機関で、県内の水道水質検査を実施する全機関が参加した。
- (3) 検査項目：塩素イオン及び鉄
- (4) 配布試料及び標準原液：塩素イオン測定用試料として、市販の1.5Lペットボトル入ミネラルウォーターを1本配布した。また鉄測定用試料は、同一ミネラルウォーターに鉄標準原液を加えて30L調製（1Lにつき有害金属測定用硝酸10mlを添加）し、これをあらかじめ酸洗した1Lポリ瓶に小分けして配布した。これら試料における塩素イオン及び鉄の濃度範囲は、塩素イオン1.0～10.0mg/L、鉄0.05～0.5mg/Lと明示した。ただし、鉄の添加濃度は0.27mg/Lである。また標準原液として、塩素イオン標準液（Cl⁻1000、イオンクロマトグラフ法用）または0.1mol/L塩化ナトリウム溶液（モル法用）、和光純薬製の鉄標準液（Fe1000）の同一Lot品を配布した。

結 果

(1) 塩素イオン

各機関から報告された塩素イオンの測定値を、その大きさの順に番号をつけTable 1に示した。参加16機関のうち1機関が2通りの方法を使用して報告したことから、17機関として統計処理を行った。なお塩素イオンにおける検査機関番号は、塩素イオンに関する図表において統一した。17機関のうち、検査方法としてモル法を用いた機関は13機関、イオンクロマトグラフ法を用いた機関は4機関であった。全機関の測定値の平均値±標準偏差は 6.95 ± 0.345 mg/Lであった。この値からGrubbsの異常値検定（危険率5%）を行ったところ、棄却される値はなかった。各機関内での併行測定における室内変動係数は0.0～3.5%であり、すべて判断基準である10%未満であった。全機関の測定値の平均値についての変動係数（室間変動係数）は5.0%であって10%を下回っていた。

塩素イオンの $\bar{x}$ -R管理図をFig. 1に示した。回収率（＝測定値／真の値）が0.9～1.1の範囲内であれば測定値は良好と判断されるが、全機関の

Table 1 Summary of Analytical Results of Chloride Ion

Laboratory No.	Method	Concentration (mg/L) Mean value of 5runs	CV(%)	Recovery (= Concentration/Average)
1		6.34	0.9	0.91
2		6.46	0.8	0.93
3		6.64	0.8	0.96
4		6.68	0.7	0.96
5		6.76	2.7	0.97
6		6.80	2.8	0.98
7	*	6.82	0.7	0.98
8		6.86	1.3	0.99
9		6.88	1.9	0.99
10		6.92	3.5	1.00
11		7.00	0.0	1.01
12		7.04	0.8	1.01
13		7.16	1.2	1.03
14		7.34	1.6	1.06
15	*	7.42	1.1	1.07
16	*	7.50	0.0	1.08
17	*	7.50	0.0	1.08
Number of lab.		17	17	17
Max(mg/L)		7.50	3.5	1.08
Min(mg/L)		6.34	0.0	0.91
Average(mg/L)		6.95	1.2	1.00
SD(mg/L)		0.345	0.99	0.050
CV(%)		5.0	—	5.0

* : Ion chromatography
no mark : Moor method

測定値の平均値を真の値と仮定して回収率を求めたところ、すべての測定値はこの範囲内にあり、良好と判断された。R 管理図の上方管理限界 UCL は D_4R (D_4 は品質管理係数)より求めたが、この値を超える機関が3 機関あり、これら3 機関はモール法を用いていた。

塩素イオンにおける z スコアの順位を Fig. 2 に示した。 z -スコアは、測定値 $\bar{x}$ 、指定値 $\bar{X}$ (真値の代用値: 全機関の測定値の平均値で代用する)、標準偏差 s (全機関の測定値の標準偏差で代用する)より、 $z = (\bar{x} - \bar{X})/s$ として求められる値であるが、その絶対値 $|z|$ が2 未満の場合「満足」、2 以上3 未満の場合「問題あり」、3 以上の場合「不満足」と判定される。すなはち、測定値が平均値 ± 2 標準偏差の範囲内に収まっておれば「満足」と判定されることになる。今回の塩素イオン

の場合、平均値 ± 2 標準偏差の範囲が回収率0.9 ~ 1.1の範囲と一致しており、すべての機関において、 $|z$ -スコアは2 未満で、「満足」と判定された。

検査方法の違いによる測定結果の違いをみるために、報告された全測定値について、検査方法ごとの平均値、標準偏差、変動係数、回収率をもとめ Table 2 に示した。回収率はどちらの方法でも、0.9~1.1の範囲内にあり、検査方法ごとの変動係数もモール法4.2%、イオンクロマトグラフ法4.0%と同程度であった。2つの検査方法の分散の同一性 (F 検定)を調べたところ、等分散の関係にあったので、 t 検定により両者の平均値の差の検定を行った。その結果、両者の間には有意な差が見られ ($p < 0.05$)、イオンクロマトグラフ法による測定値がモール法による測定値に較べ有意に高い

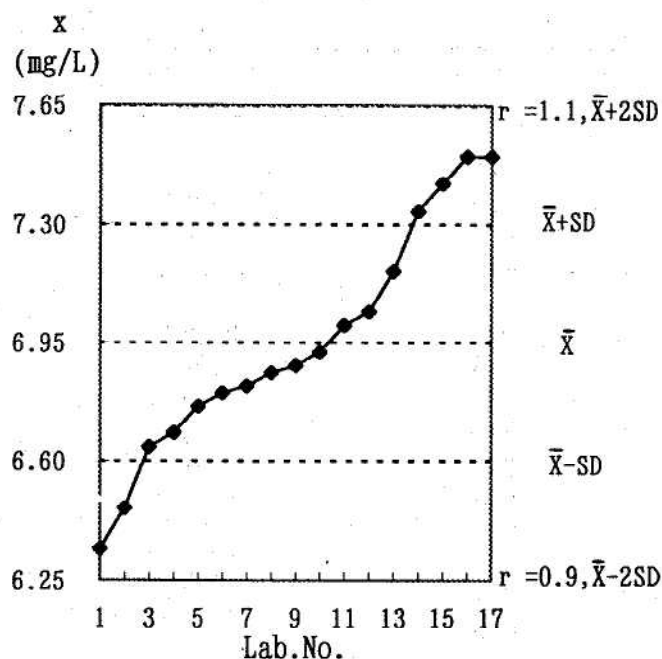


Fig. 1 X bar-R Chart of Chloride Ion

$\bar{X}$: Average
SD: Standard Deviation
r: Recovery
UCL: Upper Control Limit

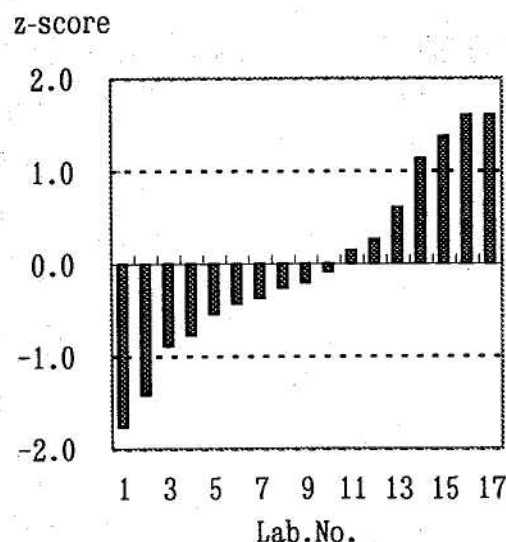


Fig. 2 Z-score Order of Chloride Ion

値を示した。

(2) 鉄

各機関から報告された鉄の測定値を、その大きさの順に番号をつけ Table 3 に示した。鉄についても 1 機関が 2 通りの方法を使用し報告したことから 17 機関として統計処理を行った。なお Table 3 の鉄の機関番号は、Table 1 の塩素イオンのそれとは一致しない。また鉄における検査機関番号は、鉄に関する図表において統一した。17 機関のうち、検査方法として吸光光度法を用いた機関は 13 機関、誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP 法) を用いた機関は 2 機関、フレイムレス原子吸光光度法 (フレイムレス法) を用いた機関は 2 機関であった。全機関の測定値の平均値 $\pm$ 標準偏差は $0.275 \pm 0.0170 \text{ mg/L}$ であった。この値から

Table 2 Differences in Analytical Results of Chloride Ion obtained by the Two Analytical Methods

Method	Number of Data	Average (mg/L)	SD (mg/L)	CV (%)	Recovery
Moor method	65	6.84	0.285	4.2	0.98
Ion chromatography	20	7.31	0.295	4.0	1.05

Table 3 Summary of Analytical Results of Iron

Laboratory No.	Method	Concentration (mg/L) Mean value of 5runs	CV(%)	Recovery (= Concentration/Average)
1	*	0.244	2.2	0.89
2		0.254	2.2	0.92
3		0.254	2.2	0.92
4		0.264	5.7	0.96
5		0.266	2.1	0.97
6		0.270	2.6	0.98
7		0.270	0.0	0.98
8	**	0.272	1.6	0.99
9		0.274	4.2	1.00
10		0.276	2.0	1.00
11		0.276	2.0	1.00
12	**	0.280	0.0	1.02
13		0.280	0.0	1.02
14		0.284	1.9	1.03
15		0.298	1.5	1.08
16	*	0.300	0.0	1.09
17		0.310	0.0	1.13
Number of lab.		17	17	17
Max(mg/L)		0.310	5.7	1.13
Min(mg/L)		0.244	0.0	0.89
Average(mg/L)		0.275	1.8	1.00
SD(mg/L)		0.0170	1.6	0.062
CV(%)		6.2		6.2

* : Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry
 ** : Flameless Atomic Absorption Spectrometry
 no mark : Absorptiometry

Grubbs の異常値検定 (危険率 5 %) を行ったところ、棄却される値はなかった。各機関内での室内変動係数は 0.0~5.7%, また室間変動係数は 6.2 % であり、両者はともに 10% を下回っていた。

鉄の $\bar{x}$ -R 管理図を Fig. 3 に示した。回収率が 0.9~1.1 の範囲 (0.247~0.302mg/L) をはずれる機関が 2 機関あり、ともに ICP 法を用いていた。また、R 管理図の上方管理限界 UCL 値を超える機関が 2 機関あり、こちらはともに吸光光度法を用いていた。

鉄における z スコアの順位を Fig. 4 に示した。今回の鉄の精度管理において、平均値 $\pm$ 2 標準偏差の範囲は 0.241~0.309mg/L と回収率 0.9~1.1 の範囲より若干広く、ICP 法を用いた 1 機関の

みこの範囲を超えていた。この機関の z スコアは 2.07 で、それ以外の機関について |z| は 2 未満で「満足」と判定された。

検査方法の違いによる測定結果の違いをみるために、報告された全測定値について、検査方法ごとに平均値、標準偏差、変動係数、回収率をもとめ、Table 4 に示した。回収率はどの方法も、ほとんど 1.0 であった。検査方法ごとの変動係数は吸光光度法 (5.5%) とフレームレス法 (1.9%) は 10% 以下であったが、ICP 法においては 12.6% と ICP 法を用いた 2 機関の間に大きな差があった。検査方法間の分散の同一性 (F 検定) を調べたところ、どの検査方法も互いに異分散の関係にあった。そこで Welch の方法により、検査方法

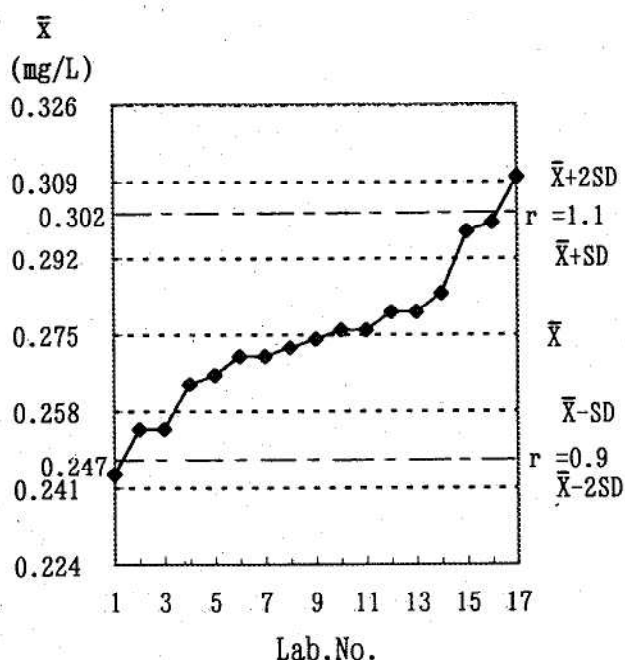


Fig.3 X bar-R Chart of Iron

$\bar{X}$: Average
SD: Standard Deviation
r: Recovery
UCL: Upper Control Limit

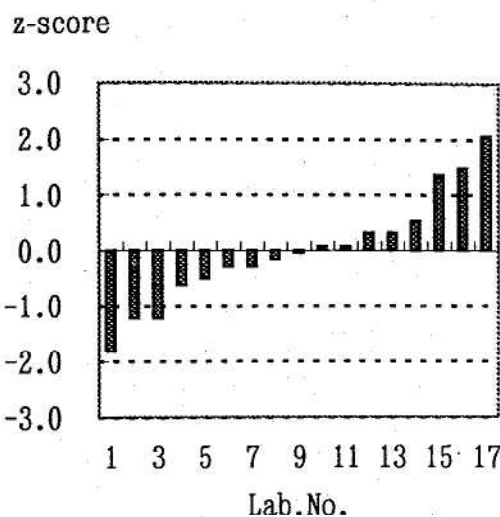


Fig. 4 Z-score Order of Iron

の違いによる平均値の差の検定を行った。その結果、どの検査方法の間にも差はみられなかった

考 察

(1) 塩素イオン

塩素イオンの精度管理結果については、各機関内でのばらつきも各機関間のばらつきも小さく、精度良い検査が行われたと考えられる。特に機関内でのばらつきが小さく、ほとんどの機関で室内変動係数が2.0%未満であり、R管理図のUCLを超えた3機関でも2.7~3.5%であった。検査方法により測定値の平均値の間に有意な差が見られたことについて、現在検討中である。

Table 4 Differences in Analytical Results of Iron
obtained by the Three Analytical Methods

Method	Number of Data	Average (mg/L)	SD (mg/L)	CV (%)	Recovery
Absorptiometry	65	0.274	0.0150	5.5	1.00
ICP	10	0.277	0.0350	12.6	1.01
FLAA	10	0.276	0.0052	1.9	1.00

ICP : Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry

FLAA : Flameless Atomic Absorption Spectrometry

平成10年10月1日

(2) 鉄

鉄の精度管理は昨年度に引き続き行われた〔1〕。昨年度は、マトリックスの影響を排除して測定誤差を小さくするため、蒸留水に標準溶液を添加した溶液を配布試料としたが、今回は市販ミネラルウォーターに標準溶液を添加し試料を作製した。昨年度回収率が0.9～1.1の範囲を超えた5機関のうち、3機関が今年度はこの範囲を満足しており、精度管理事業の成果と考える。あとの2機関は今年度もこの範囲をはずれており、両者とも検査方

法としてICP法を用いていた。この2機関の測定値の間にも大きな差があり、高度な分析装置の取扱技術に問題があると思われた。

文 献

1. 健名智子, 高柳信孝, 松永明信 (1997). 富山衛研年報, 20, 203-207.

4. 業 績

4. 業 績

(1) 受賞，学位授与，資格取得等

1) 受 賞

西 野 治 身

地方衛生研究所全国協議会会長表彰

受賞日 平成9年10月15日

富山県優良職員表彰

受賞日 平成10年1月5日

2) 資 格 取 得

本 田 幸 子，林 美 貴 子

日本人類遺伝学会・臨床細胞遺伝学指導士

取得日 平成9年4月1日

(2) 誌 上 発 表

[原 著]

1) Inactivation of human viruses by povidone-iodine in comparison with other antiseptics.

Kawana R, Kitamura T, Nakagomi O, et al.

Dermatology, 195, (Suppl. 2), 29-35, 1997

Inactivation of a range of viruses, such as adeno-, mumps, rota-, polio- (types 1 and 3), coxsackie-, rhino-, herpes simplex, rubella, measles, influenza and human immunodeficiency viruses, by povidone-iodine (PVP-I) and other commercially available antiseptics in Japn was studied in accordance with the standardized protocol in vitro. In these experiments, antiseptics such as PVP-I solution, PVP-I gargle, PVP-I cream, chlorhexidine gluconate, alkylldiamino-ethyl-glycine hydrochloride, benzalkonium chloride (BAC) and benzethonium chloride (BEC) were used. PVP-I was effective against all the virus species tested. PVP-I drug products, which were examined in these experiments, inactivated all the viruses within a short period of time. Rubella, measles, mumps viruses and HIV were sensitive to all of the antiseptics, and rotavirus was inactivated by BAC and BEC, while adeno-, polio- and rhinoviruses did not respond to the other antiseptics. PVP-I had a wider virucidal spectrum, covering both enveloped and nonenveloped viruses, than the other commercially available antiseptics.

2) S-Oxygenation of Thiobencarb in Tap Water Processed by Chlorination

Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto, and Akinobu Matsunaga

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 990-994, 1997

Thiobencarb, an herbicide, was incubated in tap water containing 0.7 mg/L residual chlorine at 30°C, and the solution was analyzed by HPLC. Thiobencarb could not be detected after 3 h, and only a byproduct was detected. The increase in concentration of the byproduct correlated well with the decrease in that of thiobencarb. In a high free chlorine medium (more than 10 mg/L), the byproduct degraded to *p*-chlorobenzyl alcohol, *p*-chlorobenzaldehyde, and *p*-chlorobenzyl chloride, but not in a low free chlorine medium (0.1–10 mg/L). The byproduct was identified to be thiobencarb sulfoxide by LC/MS,

infrared, and NMR spectra, and a reduction technique using 2-mercaptoethanol. Chiral HPLC analysis made it clear that the sulfoxide was a racemic compound. The sulfoxide was mutagenic regardless of the presence or absence of S9mix in the Ames *Salmonella typhimurium* TA100 assay. It was suggested that the management and control of thiobencarb in tap water processed by chlorination should include monitoring of thiobencarb sulfoxide, using HPLC.

3) アイソクラティック溶出法による新生児マススクリーニング血液濾紙中アミノ酸のAQCプレカラム誘導体化HPLC定量法

米田 豊, 高橋雅子, 北村 敬

日本マス・スクリーニング学会誌, 7(1), 29-38, 1997

高速液体クロマトグラフィーによるアミノ酸の簡易な新生児マススクリーニング検査法の開発を行った。マススクリーニング用血液濾紙中の血色素をメタノール-アセトン(1:1)で固定後, アミノ酸をホウ酸ナトリウム緩衝液(pH8.8)を用いて抽出し, 蛍光ラベル化剤に 6-Aminoquinoly-N-Hydroxysuccinimidyl Carbamate を用いてプレカラム誘導体化を行った。高速液体クロマトグラフィーはカラムに Develosil ODS を用い, 移動相に トリエチルアミン (TEA) 含有酢酸ナトリウム溶液 (pH5.3) - アセトニトリル (84:16) を用いるアイソクラティックな系で行い, 約15分でバリン (Val) メチオニン (Met), オルニチン (Orn), リジン (Lys), イソロイシン (Ile), ロイシン (Leu) 及びフェニルアラニン (Phe) を定量することが可能であった。本法による新生児の全血中の各アミノ酸正常値は順に1.65, 0.36, 1.94, 2.03, 0.81, 1.57及び0.73mg/dlであった。また, 本法とマイクロプレート法との比較を行った。

4) Serotyping of *Streptococcus pyogenes* isolated from common and severe invasive infections in Japan, 1990-5: implication of the T3 serotype strain-expansion in TSLS

Y. INAGAKI*, T. KONDA*, S. MURAYAMA*, S. YAMAI*, A. MATSUSHIMA*, Y. GYOBU, D. TANAKA, A. TAMARU*, C. KATSUKAWA*, A. KATAYAMA*, M. TOMITA*, Y. FUCHI*, K. HOASHI*, H. WATANABE*, and THE WORKING GROUP FOR GROUP A STREPTOCOCCI IN JAPAN*

Epidemiol. Infect., 119, 41-48, 1997

To clarify the relationship between the epidemics of severe invasive group A

streptococcal infections (streptococcal Toxic Shock-Like Syndrome; TSLS) and common group A streptococcal infections in Japan, we examined the T serotypes of *S. pyogenes* strains (group A streptococci) isolated from clinical specimens of the streptococcal infections (17999 cases) in the period 1990-5, including the severe infections (TSLS) (29 cases) in the period 1992-5.

Characteristic points of the analyses were: (1) dominant serotypes of the infections in these periods were T12, T4, T1, T28 and TB3264, which were consistently isolated; (2) isolates of T3 rapidly increased through 1990 to 1994 while T6 decreased in the period 1990-3; (3) when Japanese area was divided into three parts, T3 serotype tended to spread out from the north-eastern to the south-western area; (4) strains of T3 and T1 serotypes were dominant in the TSLS. Dominant-serotype strains of streptococcal infections did not always induce severe infections and dominance of T3 serotype in the TSLS seemed to be correlated with the increase of T3 in streptococcal infections. These results may indicate that certain clones of *S. pyogenes* are involved in the pathogenesis of the TSLS.

5) スプリットセルを装着した偏光吸光度検出器の最適化とそのオリゴ糖分析への適用

山本 敦, 綿谷俊彦*, 早川和一*, 松永明信, 西村雅之*, 宮崎元一*

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 15, 1383-1387, 1997

著者らの開発した「偏光吸光度検出法」を, 糖分析に適用するための最適化を図った。検出器の光量がベースラインノイズに及ぼす影響, 偏光面角度とシグナル/ノイズ比の関係等について検討した。ここで確立した検出系を, グラジエント溶出でのオリゴ糖分析に適用した。

6) イオンクロマトグラフィーによる高塩濃度試料水中の硫酸イオン定量法の検討

高柳信孝, 山本 敦, 健名智子, 松永明信

分析化学, 46, 719-723, 1997

高濃度の塩化物イオン等を含む溶液中の硫酸イオンについて, イオンクロマトグラフィー (IC) による定量法のための検討を行った。試験溶液中の塩化物イオンが特定の濃度を超過して増加するとともに, 硫酸イオンのピーク面積は減少した。又, この現象に伴って, 硫酸イオンの前方に幅広い未知ピークが出現し, 塩化物イオン濃度の増加とともに未知ピークの保持時間は早くなった。硫酸イオンと未知ピークの面積の和は, 塩化物イオンを含まないときの硫酸イオンの面積にほぼ等しいことから, 未

知ピークは硫酸イオンであり、なんらかの原因で二つに分離したものと推測された。この現象は、共存陰イオン種が変わっても生じること、塩化物イオン等モル濃度でも、対となる陽イオンの価数が大きいほうが減少割合も大きいことから、試験溶液のイオン強度が高いことが原因の一つであると考えられた。又、この現象は、試験溶液のpHが高いと促進され、低いと抑制されることから、pHも関与していることが明らかになった。この現象の解決策としては、希釈した試験溶液を大量注入すること、あるいは試験溶液の陽イオンを水素イオンに置換することが有効であった。

7) イヨシロオビアブの吸血阻止法

渡辺 護, 品川保弘

ペストロジー学会誌, 12(1), 14-20, 1997.

イヨシロオビアブの吸血飛来から身を守る方法として、トラップによる誘殺法、殺虫剤限定利用法、忌避剤の利用などを想定し、イヨシロオビアブのトラップ反応性、ピレスロイド系殺虫剤に対する感受性、忌避剤の効果などを実験した。その結果、捕獲効率の良いトラップを、適正に配置すればヒトへの吸血飛来を阻止出来る可能性が示唆された。さらに、除虫菊エキス、ピレトリン、プラレトリンなどの限定使用と忌避剤 (deet) の利用で、イヨシロの吸血阻止が可能であると考えた。

8) 偏光吸光度検出器によるスプリットセルを使った HPLC/円二色性検出

山本 敦, 松永明信, 早川和一*, 西村雅之*

Biomedical Chromatography, 11, 362-365, 1997

「偏光吸光度検出法」の高機能化を目的に開発されたスプリットセルを利用すれば、通常の吸光度検出器でも円二色性検出が可能なことを明らかにした。そのための位相差板の機能について、理論的考察を行なった。

9) Fluorometric determination of serum and urinary aluminium with 8-quinolinol by kinetic-differentiation-mode micellar chromatography

Makoto Sato*, Hajime Yoshimura*, Tetsuo Shimura, Hideki Obi*, Shin-ichi Hatakeyama*, Emiko Kameko*, Hitoshi Hoshino*, Takao Yotsuyanagi*

Journal of Chromatography A, 789, 361-367, 1997

A new fluorometric methods has been developed for determination of aluminium with the 8-quinolinol by kinetic-differentiation-mode micellar chromatography. The proposed method enabled the determination of aluminium down to $1\mu\text{g/l}$ in human serum and urine without preliminary deproteinization. The most remarkable point of this method is that only aluminium ion selectively responds among metal ions. The complex formation of aluminium in serum with 8-quinolinol was completed within a few minutes at room temperature. The serum matrix and aluminium chelate were sparated on a reversed-phase column with an eluent containing acetonitrile, sodium dodecylsulfate, and Triton X-100, and aluminium chelate was detected at Ex 370nm, Em 504 nm. The values obtained by this method were in good agreement with those of Zeeman graphite-furnace atomic absorption spectrometry. The proposed method will provide a simple and rapid technique for the determination aluminium in medical field.

10) ノンサプレッサイオンクロマトグラフィーにおける高濃度陰イオン試料の溶出挙動に関する理論的考察

安藤京子*, 山本 敦, 西村雅之*, 早川和一*

Journal of Chromatography A, 789, 43-49, 1997

ノンサプレッサイオンクロマトグラフィーでは、高濃度の試料イオンを注入した場合にピーク形状が崩れ、定量性に問題があることが指摘されてきた。本研究では、このピーク形状の乱れについて理論的な解析を行ない、その原因を解明した。さらに、この現象を防ぐための溶離剤種についても言及した。

11) 小学校で発生したC群ロタウイルスによる急性胃腸炎の集団発生—富山県

長谷川澄代, 松浦久美子, 中山 喬, 石倉康宏, 北村 敬, 安井良夫, 金子望博

病原微生物検情報 Vol.18, No.12 (No.214), 1997 年 12 月発行, p4-6

1997 年 5 月 13 日から 15 日にかけて富山県内の Y 小学校において (児童職員 154 名) において急性胃腸炎症状の他, 一部感冒様の症状を訴える患者が 46 名発生した。患者は全学年に発生しており, 職員の内にも有症者がいた。細菌性食中毒, ウイルス性胃腸炎の両面から調査が行われたが, 病原性細菌は検出されず, 患者糞便から C 群ロタウイルスが検出された (6/6)。胃腸炎患者の急性期と回復期の血清反応で C 群ロタウイルス感染であることが確認された。さらに, 感冒様患者の急性期と回復期の血清反応でも C 群ロタウイルス感染が確認された。

12) 牧場牛舎における腸管出血性大腸菌 O157:H 7 感染例について

刑部陽宅, 平田清久, 田中大祐, 北村 敬, 園家敏雄, 島田賢三, 飯田恭子, 布野純子, 木屋 昭, 加藤一之

病原微生物検出情報, No.215, 9-10, 1998

平成 9 年 6 月 20~22 日, 富山県内に住む 2 人の 2 歳の子供が同一牧場を訪れ, 牛舎の鉄柵や子牛に触れ, 感染し発病したことを保健所の疫学調査, DNA 分析などより推定し, その内容を紹介した。

13) イオンクロマトグラフィーによる食品中の縮合リン酸塩の分析

松永明信, 山本 敦, 黒川弘子, 関口陽子*

日本食品衛生学雑誌, 39, 1-6, 1998

サプレッサー方式の IC 法を用いて, 食品中の P1, PP (P2~P7), P3m 及び IP6 の分別定量法を確立した。

食品から 4 %TCA で抽出し, 希釈・中和した後, 陽イオン交換樹脂ミニカラムで Ca などの金属を除去して試験溶液を調製した。IC 分析には, カラムは OmniPac PAX-100 を, 移動相は NaOH-15 %メタノールを, NaOH の濃度グラジエント溶出法を用いて各成分を分離・定量した。なお, PP (P1~P4) の検量線の傾きは DP に対応して整数倍に増加したので, 標準品が入手困難な DP の大きな PP (P5~P7) の検量線は, P1~P4 の検量線の値から推定した。各種食品について添加回収実験を行ったところ, いずれの成分も回収率は 95~105%であり, 定量下限は 0.1mmol/kg であった。本

法は前処理が簡単であり、各種食品に適用できる実用的な分析法である。

14) Survey of Human Group C Rotaviruses in Japan during the Winter of 1992 to 1993

MITSUTAKA KUZUYA^{1*}, RITSUSHI FUJII¹, MASAKO HAMANO¹, MASAO YAMADA², KUNIKO SHINOZAKI³, AKIRA SASAGAWA⁴, SUMIYO HASEGAWA⁵, HIROYOSHI KAWAMOTO⁶, KAZUO MATSUMOTO⁷, AYUMI KAWAMOTO⁸, ASAO ITAGAKI⁹, SADAYUKI FUNATSUMARU¹⁰, and SYOZO URASAWA¹¹

Journal of Clinical Microbiology, 36, 6-10, 1998

Fecal specimens from patients with acute diarrhea were collected from 10 prefectures in Japan over a 6-month period (November 1992 to April 1993), and the specimens that were negative for human group A rotaviruses were screened for the presence of human group C rotaviruses (CHRVs) by the reverse passive hemagglutination test. Of 784 specimens examined, 53 samples (6.8%) that were collected in 7 or 10 prefectures were positive for CHRV, indicating that CHRVs are widely distributed across Japan. Most of the CHRV isolates were detected in March and April, and CHRVs mainly prevailed in children ages 3 to 8 years. The genome electropherotypes of eight strains isolated in five individual prefectures were surprisingly similar to each other and were different from those of CHRV strains isolated to date. The outer capsid glycoprotein (VP7) gene homologies of the isolates retrieved in 1993 were subsequently analyzed by the dot blot hybridization method. As a result, the VP7 genes of the isolates revealed very high levels of homology not only with each other but also with the VP7 gene of the OK118 strain isolated in 1988. These results suggest that a large-scale outbreak of CHRV occurred during the winter of 1992 and 1993 in Japan.

〔報 告〕

思春期の骨量増加に及ぼす身体発育ならびにライフスタイル要因の影響

西野治身，堀井裕子，田中朋子

第3回「地域保健福祉研究助成」，第5回「サラリーマン（ウーマン）ボランティア活動助成」報告集，大同生命厚生事業団，235-253，1997

成長期の骨密度に影響する要因を明らかにするため，中学生の踵骨骨密度および骨代謝マーカーの変化と身長伸び，第二性徴およびライフスタイル要因との関連を検討した。その結果，中学男子の身長発育が著しく骨密度増加が認められたが，女子では身長伸びは高学年で急速に低下し，骨密度増加は明らかではなかった。一方，第二性徴の影響は男子より女子の骨代謝マーカーに顕著に現われ，初潮発来後3年間で大きく低下したことから，初潮を契機に骨の代謝回転は高回転から低回転型に移行すると考えられた。ライフスタイル要因との関係から，運動が男子の骨量を増加させ，女子の骨代謝を活発にすると考えられた。

[著書・総説・解説]

1) 小児内科・小児外科編集委員会共編：小児疾患診療のための病態生理

北村 敬

小児内科第29巻，1997年増刊，東京医学社，1997

腎症候性出血熱 p.924-926

新しく警戒すべき小児感染症として，腎症候性出血熱（HFRS）の原因ウイルスと疫学，病態生理，診断検査と鑑別診断，治療と臨床的管理について，最新の化学的情報について解説した。

2) ウイルスの生存戦略と制圧・排除・根絶

北村 敬

科学，特集「現代社会を揺るがす感染症」第67巻，第2号，p.127-132

自然界でウイルスが存続するためには，継続した感染の連続が維持されなくてはならない。個々のウイルスが夫々持つ固有の戦略は，感染性の強さ，持続感染に対するウイルスの長期間排出，垂直伝播，節足動物伝播，人獣共通感染等で大別される。代表的なウイルス感染症である痘瘡，エボラ出血熱，インフルエンザ，HIV/AIDSについて生存戦略を比較検討し，制圧，根絶への医学的戦略を探った。

3) 感染症の新たな出現，突発的再出現に見る宿主と病原微生物のゆくえ

北村 敬，松本慶蔵，竹田英文

化学療法の領域（鼎談）第13巻，第4号，p.728-739

ポリオと痘瘡の根絶，ハンタウイルスの発見，インフルエンザウイルスの不連続変異の他に，O157：H7のような新しい細菌感染症の出現と拡散に関与する機序と，それに対応した予防，制圧の戦略をウイルス学（北村），細菌学（竹田），臨床の各方面から，座談会の形で解析した。

平成10年10月1日

4) HIV感染症

北村 敬

かがみ（日本耳鼻咽喉科医会連合会機関誌）特集「フォーラム・富山」第27巻，第3号，p.131-150（1997，4月）

HIV/AIDSの歴史，原因の救命，疫学的特徴と世界及び日本での動向，ウイルス学的特徴と診断検査，化学療法の進歩，ワクチン開発の現状，等について，臨床医師向けに解説した。

5) バイオセーフティ

北村 敬

医学の歩み 特集号「知っておきたい200ワードー現代医学用語集」第181巻，第9号，p.819（1997，5月）

バイオセーフティの必要性，原理，基本的な設備と運用上のソフトウェア等を百科事典風に解説した。

6) 人を襲うアブの生態駆除について 連載講座，新・不快害虫シリーズ

渡辺 護

生活と環境，42(6)，80-86，1997.

人を襲う，とくに北海道でのゴマフアブと東北・北陸のイヨシロオビアブについて，被害実態，生理生態について解説，併せて，駆除の現状について解説した。

7) イオンクロマトグラフィーによる食品分析

山本 敦，松永明信

フードケミカル，1997(6)，76-80

本解説では，機器による食品分析の一環として，イオンクロマトグラフ装置による食品中のイオン

性物質の分析例を紹介した。また、そのための装置構成、分離機構や新技術開発の動向についても概説した。

8) ウイルス性出血熱：序論

北村 敬

バイオ・クリニカ 特集号「ウイルス性出血熱」第12巻，第8号，p.16-17（1997，7月）

ラッサ熱，エボラ出血熱，腎症候性出血熱，等のウイルス性出血熱の定義と疫学上の特徴，臨床的特徴等を整理して解説し，痘瘡，黄熱等も，ウイルス学的，病理学的には，出血熱として扱う方が理解しやすいものと提案した。

9) アフリカ出血熱

北村 敬

バイオ・クリニカ 特集号「ウイルス性出血熱」第12巻，第8号，p.24-27（1997，7月）

ラッサ熱，マールブルグ病，エボラ出血熱の3疾患は，発生源ないし汚染源が中部・東部アフリカに想定され，重症の出血熱を引き起こして致命率も高く，非常在地でも患者の血液を介する医療関連感染と，短世代の流行を起こし易いので，「アフリカ出血熱」又は，「国際伝染病」として，特別な安全対策，公衆衛生対策が必要とされるが，疫学，原因ウイルス，診断技術，安全対策について，視点を揃えて解説した。

10) 性感染症としての HIV/AIDS—HIV の性的伝播と他の性感染症との相乗関係

北村 敬

治療 特集号「性感染症」第31巻，第7号，p.14-17（1997，7月）

HIV 伝播の本質は性感染症（STD）であり，WHO 及び，1996年以降 WHO を含めた国連付属機関の AIDS 対策を統合して作られた「国連 AIDS 特別計画」（UNAIDS）の AIDS 対策も，その計画の

平成10年10月1日

基本を STD 対策においている。HIV の性的伝播、HIV/AIDS と他の STD との相互作用 STD 治療の HIV 伝播予防効果等について科学的に解析し、解説した。

11) 光学活性物質の新たな検出法を目指して

山本 敦, 早川和一*

ファルマシア, 34, 34-38, 1998

光学活性物質を, その固有の物性である旋光度と円二色性を使って選択的に検出する装置の原理並びに構造について解説した。さらに, 著者らの開発した「偏光吸光度検出法」についても, その現状と可能性を言及した。

(3) 特 別 講 演 等

1) HIV 感染症の疫学

北村 敬

第108回日本医学会シンポジウム「感染症—21世紀に向けての展望」

1997年7月4日, 日本医師会館(東京)

2) 富山のオロロとヘクサンボ

渡辺 護

第13回日本ペストロジー学会大会, 大会長歓迎講演

1997年11月6日—11月7日(富山市)

(4) 学 会 発 表 等

- 1) Inactivation of human viruses by povidone-iodine in comparison with other antiseptics
T. Kitamura, R. Kawana, O. Morita, et al.
January 24-26, 1997, Sydney
- 2) スコットカメムシの家屋への越冬飛来・侵入生態
渡辺 護
第49回日本衛生動物学会大会, 平9. 4. 2~4. 4, 千葉市
- 3) イヨシロオビアブの誘引・捕獲数に及ぼす色彩の影響
佐々木 均, 渡辺 護
第49回日本衛生動物学会大会, 平9. 4. 2~4. 4, 千葉市
- 4) イヨシロオビアブの誘殺用Canopy trap の形状
渡辺 護, 品川保弘
第49回日本衛生動物学会大会, 平9. 4. 2~4. 4, 千葉市
- 5) ライフスタイルと抗酸化機能に関する疫学的研究—喫煙習慣とセレン, GPX 活性およびTBARS—
新村哲夫, 西野治身, 中川秀昭*, 成瀬優知*, 鏡森定信*
第67回日本衛生学会ワークショップ「予防医学的側面から活性酸素・フリーラジカルの生体影響」,
平9. 4. 2, 東京都
- 6) 運動習慣と骨代謝マーカーの推移に関する検討
西野治身, 田中朋子, 堀井裕子, 伊木雅之*, 梶田悦子*, 土肥祥子*, 日下幸則*, 鏡森定信*
第67回日本衛生学会総会, 平9. 4. 3~5, 東京都
- 7) 中学校3年生の骨密度とライフスタイル及び遺伝因子との関連
松倉知晴*, 山上孝司*, 西野治身, 笠島 茂*, 鏡森定信*
- 8) 健康成人の血清アルミニウム濃度と尿中排泄量
新村哲夫, 西野治身, 中川秀昭*, 成瀬優知*, 鏡森定信*
第70回日本産業衛生学会, 平9. 4. 9~11, 富山市
- 9) 日本に生息するマダニ類からの *Coxiella burnetii* の検出
石倉康宏, 渡辺 護, 品川保弘
第4回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー, 平9. 6. 26~28, 札幌市
- 10) 石川県穴水町において流行したA群溶連菌感染症と分離菌の解析
田中大祐, 刑部陽宅, 丸岡達也*
第30回レンサ球菌感染症研究会, 平9. 6. 28, 東京都

- 11) アイソクラティック溶出法によるアミノ酸のHPLC定量法
米田 豊
平成9年度先天代謝異常症検査技術者研修会, 平9.7.3~7.4, 東京都

- 12) Selective Determination of D-sorbitol and D-mannitol in Foodstuff by IC with Polarized Photometric Detection
Atsushi Yamamoto, Hidenori Ohmi*, Akinobu Matsunaga, Kyoko Ando*, Kazuichi Hayakawa*, Masayuki Nishimura*
International Ion Chromatography Symposium 1997 (HCS'97), Sep.14~17, 1997, Santa Clara, California USA

- 13) 日本に生息するマダニ類からの *Coxiella burnetii* の検出
石倉康宏, 安藤秀二, 松浦久美子, 北村 敬
第45回日本ウイルス学会総会, 平9.9.20~22, 京都市

- 14) カニクイザル感受性 SIV/HIV キメラウイルスによる AID 発症モデル
篠原克明*, 安藤秀二, 高橋栄治*, 網 康至*, 吉野直人*, 佐々木裕子*, 須崎百合子*, 本田三男*
第45回日本ウイルス学会総会, 平9.9.20~22, 京都市

- 15) 成長期の身体発育・第二次性徴と骨代謝マーカーの変化
西野治身
平成9年度地研東海北陸支部環境保健部会, 平9.9.25~26, 名古屋市

- 16) 女子短大生ダイエット経験と貧血および血中微量元素
中崎美峰子
平成9年度地研東海北陸支部環境保健部会, 平9.9.25~26, 名古屋市

- 17) ヒト由来病原大腸菌の血清型と毒素産生
田中大祐, 平田清久, 磯部順子, 細呂木志保, 刑部陽宅, 赤間美徳*
第34回日本細菌学会中部支部総会, 平9.10.2~3, 富山市

- 18) イヨシロオビアブのピレスロイドに対する感受性
渡辺 護
第52回日本衛生動物学会西日本支部大会, 平9.10.3~10.4, 京都市

- 19) 石英板を multiple-order 位相差板として用いた比クロマトグラム法による光学純度測定
山本 敦, 松永明信, 安藤京子*, 早川和一*, 西村雅之*, 北岡光夫*
日本分析化学会第46年会, 平9.10.7~9, 東京都

平成10年10月1日

20) 塩素処理水中におけるチウラムの分解経路—分解生成物の同定とその変異原性—

小玉修嗣, 山本 敦, 大戸幹也, 松永明信

日本分析化学会第46年会, 平9. 10. 7~9, 東京都

21) Studies on Man-Made Mineral Fiber-Mediated Viral Transfection

Takashi NAKAYAMA*, Takashi YAMAGAMI**, Tomoharu MATSUKURA***,
Shigeru SOKEJIMA***, Sadanobu KAGAMIMORI***, Hongbing WANG***,
Jian Quan HUANG****

第9回国際職業性呼吸器疾患学術会議, 平9. 10. 13~16, 京都市

22) inv(7)(p22q34)を保有する家系から出生した46, XY, rec(7)dup(7p)inv(7)(p22q34)の一症例について

林美貴子, 本田幸子, 大江 浩, 北村 敬, 家城匡純*, 山下富子*, 瀬野晶子*, 京谷征三*

日本人類遺伝学会第42回大会, 平9. 10. 15~10. 17, 神戸市

23) 羊水の染色体検査依頼時の理由に関する検討

—富山県衛生研究所における羊水検査から—

本田幸子, 林 美貴子, 大江 浩, 北村 敬, 鏡森定信*

第56回日本公衆衛生学会, 平9. 10. 16~10. 18, 横浜市

24) 女子大生のダイエットと血清 Zn, Cu, Se 濃度

新村哲夫, 田中朋子, 堀井裕子, 中崎美峰子, 西野治身, 尾崎一郎, 桑森豊美*

第56回日本公衆衛生学会総会, 平9. 10. 16~18, 横浜市

25) 6年間の腰椎骨密度追跡結果と生活要因

梶田悦子*, 伊木雅之*, 西野治身, 三田村純枝*, 北山富士子*, 日下幸則*

第56回日本公衆衛生学会総会, 平9. 10. 16~18, 横浜市

26) 成長期骨代謝マーカーとスポーツ成績

山上孝司*, 松倉知晴*, 西野治身, 田中朋子, 堀井裕子, 笠島 茂*, 鏡森定信*

第56回日本公衆衛生学会総会, 平9. 10. 16~18, 横浜市

27) 成長期男子の骨代謝マーカーの変化

松倉知晴*, 西野治身, 山上孝司*, 堀井裕子, 田中朋子, 笠島 茂*, 鏡森定信*

第56回日本公衆衛生学会総会, 平9. 10. 16~18, 横浜市

28) 初潮前後における骨代謝マーカーの推移

西野治身, 山上孝司*, 堀井裕子, 田中朋子, 松倉知晴*, 鏡森定信*

第56回日本公衆衛生学会総会, 平9. 10. 16~18, 横浜市

- 29) 月経の状態・ダイエットの骨代謝への影響
田中朋子, 堀井裕子, 中崎美峰子, 西野治身, 桑森豊美*
第56回日本公衆衛生学会総会, 平9. 10. 16~18, 横浜市

- 30) 骨量と骨代謝に関する大規模無作為標本調査 -JPOS Study-
伊木雅之*, 梶田悦子*, 西野治身, 鏡森定信*, 香川芳子*, 松崎俊久*, 丸茂文昭*, 米島秀夫*
第56回日本公衆衛生学会総会, 平9. 10. 16~18, 横浜市

- 31) 7th Japan-France Meeting on AIDS and Retrovirus, October 30, 1997, Versailles
T. Kitamura
Review of HIV/AIDS research in Japan

- 32) 10歳代男女の骨密度調査 -JPOS Study-
松倉知晴*, 山上孝司*, 西野治身, 伊木雅之*, 鏡森定信*, 香川芳子*, 松崎俊久*, 米島秀夫*, 丸茂文昭*
第6回日本骨粗鬆症研究会, 平9. 11. 12, 大阪市

- 33) 大規模無作為標本調査に基づく骨量・骨代謝指標値とそれに影響する要因 JPOS
伊木雅之*, 梶田悦子*, 西野治身, 鏡森定信*, 香川芳子*, 松崎俊久*, 米島秀夫*, 丸茂文昭*
第6回日本骨粗鬆症研究会, 平9. 11. 12, 大阪市

- 34) BONE MINERAL DENSITY OF RADIUS IN TEENAGERS IN JAPAN-JPOS STUDY-
T. Matsukura*, T. Yamagami*, H. Nishino, M. Iki*, S. Kagamimori*, Y. Kagawa*,
H. Yoneshima*, T. Matsuzaki*, F. Marumo*
The Second International Conference on Osteoporosis, 平9. 11. 13~16, Osaka

- 35) 新検査システムによる平成9年4月~9月までの新生児マススクリーニングの現況
高橋雅子, 米田 豊, 大江 浩, 北村 敬
第18回北陸先天異常研究会学術集会, 平. 9.11.29, 金沢市

- 36) inv(7) を保有する1家系と7p部分トリソミー, 7q部分モノソミーを示した1症例について
林 美貴子, 本田幸子, 大江 浩, 北村 敬, 家城匡純*, 山下富子*, 瀬野晶子*, 京谷征三*
第18回北陸先天異常研究会学術集会, 平9.11. 29, 金沢市

- 37) 羊水検査で染色体異常の見られた34症例の検討
本田幸子, 林 美貴子, 大江 浩, 北村 敬, 鏡森定信
第18回北陸先天異常研究会学術集会, 平9.11. 29, 金沢市

- 38) 7番逆位染色体から由来した7p部分トリソミー・7q部分モノソミーの一例について
林美貴子
平成9年度富山県先天異常研究会, 平9. 12. 1, 富山市

平成10年10月1日

- 39) gp41上のエプトープを導入したリコンビナント BCG の HIV ワクチン候補としての検討
安藤秀二, 松尾和浩*, 吉崎ひとみ*, 染谷健二*, 網 康至*, 篠原克明*, 里見哲也*,
岡本ゆかり*, 仲宗根正*, 北村 敬, 本田三男*
第11回日本エイズ学会, 平9. 12. 4~5, 熊本市
- 40) カニクイザル感受性 SIV/HIV キメラウイルスの病原性
篠原克明*, 安藤秀二, 高橋栄治*, 阪井弘治*, 網 康至*, 染谷健二*, 吉野直人*,
佐々木裕子*, 須崎百合子*, 仲宗根正*, 本田三男*
第11回日本エイズ学会, 平9. 12. 4~5, 熊本市
- 41) 富山県における平成9年の腸管系病原細菌検出情報と食中毒発生状況
平田清久
平成9年度地研東海北陸支部細菌部会, 平10. 2. 19~20, 犬山市
- 42) 牧場牛舎における腸管出血性大腸菌 O157 : H 7 感染
平田清久
平成9年度地研東海北陸支部細菌部会, 平10. 2. 19~20, 犬山市
- 43) 国内で分離されたコレラ菌のパルスフィールドゲル電気泳動
刑部陽宅
平成9年度地研東海北陸支部細菌部会, 平10. 2. 19~20, 犬山市
- 44) 腸炎ビブリオ食中毒発生と魚の腸炎ビブリオ汚染の関係
細呂木志保
平成9年度地研東海北陸支部細菌部会, 平10. 2. 19~20, 犬山市
- 45) 健康女性の踵骨骨密度と尿中ハイドロキシプロリンとの関係
中崎美峰子, 西野治身, 田中朋子, 堀井裕子, 尾崎一郎, 中村志富*, 加藤一之*
第32回富山県公衆衛生学会総会, 平10. 2. 19, 富山市
- 46) 有機リン系農薬の尿中代謝物の追跡調査ー農薬散布状況との関連についてー
中崎美峰子, 西野治身, 尾崎一郎, 大浦栄次*
第15回富山県農村医学研究および健康管理活動発表集会, 平10. 2. 21, 高岡市
- 47) 微分スペクトルクロマトグラム法による柑橘類のイマザリルの分析
大浦 敏
平成9年度地方衛研東海北陸支部衛生化学部会, 平10. 3. 5~6, 福井市
- 48) 塩素処理水中におけるチウラムの分解経路
小玉修嗣
平成9年度地方衛研東海北陸支部衛生化学部会, 平10. 3. 5~6, 福井市

- 49) Epidemiology of hantaviruses infections among rodents captured in port and urban areas of Japan
T. Kitamura
4th International Conference on HFRS and Hantaviruses, March 5, 1998, Atlanta
- 50) デジタルカメラのBIA (bacterial inhibition assay) への応用
米田 豊, 高橋雅子
日本マス・スクリーニング学会技術部会第17回研修会, 平10. 3. 13~14, 大津市
- 51) Neutralization of HIV and SHIV by antisera from guinea pigs immunized with recombinant BCG expressing 2F5 epitope of gp41.
S. Ando, T. Kitamura, M. Honda*, et al.
10th Joint Meeting of AIDS Panels, US-Japan Cooperative Medical Science Program, March 18, 1998, Williamsburg
- 52) オステオカルシン遺伝子多型: 日本人女性におけるその遺伝子型の分布および腰椎骨密度との関連性
土肥祥子*, 伊木雅之*, 米増國雄*, 梶田悦子*, 西野治身
第68回日本衛生学会総会, 平10. 3. 24~26, 岡山市
- 53) 必須微量元素セレンの欠乏によるグルタチオンペルオキシダーゼ活性の低下は C3H/He マウスに心筋微小循環傷害を誘発する
平岡勇二*, 高田 均*, 井上 博*, 岡田英吉*, 新村哲夫
第62回日本循環器学会総会・学術集会, 平10. 3. 26~28, 東京都
- 54) nef-defective SHIV inoculation prevents heterologous challenge of pathogenic virus in monkey AIDS model
Ami Y*, Ando S, Someya K*, Yoshino N*, Sasaki Y*, Yamamoto H*, Shinihara K*, Igarashi T*, Kuwata T*, Hayami M*, Honda M*
Science Program, 10th Joint Meeting of AIDS Panel, Williamsburg, USA, March
- 55) ムンプスワクチン接種後, 耳下腺腫脹および無菌性髄膜炎を発症した患者の検査成績
中山 喬, 安藤秀二
平成9年度地研東海北陸支部ウイルス部会, 平10. 3. 26~27, 鳥羽市
- 56) 富山県におけるインフルエンザ発生状況
中山 喬, 松浦久美子
平成9年度地研東海北陸支部ウイルス部会, 平10. 3. 26~27, 鳥羽市
- 57) C群ロタウイルスによる胃腸炎の集団発生
長谷川澄代

平成10年10月1日

平成9年度地研東海北陸支部ウイルス部会, 平10. 3. 26~27, 鳥羽市

58) フォトダイオードアレイ検出器によるマルチビーム方式の円二色性検出

山本 敦, 小玉修嗣, 松永明信, 早川和一*, 北岡光夫*

日本薬学会第117年会, 平10. 3. 31~4. 2, 京都市

59) キャピラリー電気泳動による D,L-パントテン酸の光学分割

小玉修嗣, 山本 敦, 松永明信

日本薬学会第117年会, 平10. 3. 31~4. 2, 京都市

編 集 委 員

委 員 長	西 淵 富 藏
委 員	長 谷 玲 子
	渡 辺 護
	石 倉 康 宏
	平 田 清 久
	高 柳 信 孝
	西 野 治 身

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成9年度(1997)

1998年10月1日 発行

発 行 富 山 県 衛 生 研 究 所

〒939-0363

富山県射水郡小杉町中太閤山17-1

電 話 (0766) 56-5506

F A X (0766) 56-7326

印 刷 あ け ぼ の 企 画 (株)

富山市住吉町1丁目5-18

電 話 (0764) 24-1755(代)