

ISSN 0917-0707

富山県衛生研究所年報

(平成12年度)

第24号

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH

(APRIL 2000~MARCH 2001)

NO. 24

2001



富山県衛生研究所

富山県衛生研究所年報

(平成12年度)

第24号

富山県衛生研究所

は　じ　め　に

富山県衛生研究所が昭和35年に設立されて40周年を迎えた昨年度、平成12年度の年報を発行することとなりました。平成12年度は北村敬所長の下で研究・検査業務が推進されましたが、本年3月末で退任され、4月から筆者が所長を拝命することになりました。

地方衛生行政は初めての経験ですが、衛生研究所が地方における技術的かつ専門的な機関として、その課せられた使命はもとより、新たな潮流にも対応できる体制づくりのために尽力する所存でありますので、今後ともご指導、ご支援をよろしくお願いいたします。

さて、昨年度は、富山県として記念すべき「2000年とやま国体」夏・秋季大会及びきらりんぴっくが開催され、関連施設や関係者の事前の微生物学的検査やクリプトスポリジウムなどの検査を実施するほか、開催期間中のオロロ（イヨシロオピアブ）駆除対策や国体行事支援のための職員の派遣も行いました。お蔭様で、感染症や食中毒もなく、国体そのものも成功裏に終えることができました。

本県は、がんの死亡率が全国に比べて高い状況にあることから、その要因を疫学的に明らかにすることなどを目的に平成元年、がん研究部が創設されました。特に増加傾向を示している大腸がんの発生に関連深い要因を見出すため、医師会や医療機関のご協力を得てケース・コントロールスタディの手法を用い継続して調査しているところであります。

昨年もウイルスによる食中毒が数件発生し、その原因食のほとんどがカキによるものでありました。細菌によるものでは、腸管出血性大腸菌O157による医療機関での集団発生やO111による保育園での集団発生もありました。

なお、昭和60年に整備された電子顕微鏡が故障し、修理不能となりましたが、関係方面の御理解御協力のもと、今年3月に更新整備することができました。

化学関係では、飲料水・温泉に関する調査研究のほか、食品中の成分や添加物の調査研究を継続して実施しています。特に、微分スペクトルクロマトグラム法を用いての残留農薬や有害物質を一斉分析する簡便で迅速な方法を確立するとともに、キャピラリー電気泳動法や偏光吸光度検出法による分析法も開発しました。

環境保健関係では、骨粗鬆症の予防のために骨代謝指標を活用する研究を継続して実施する一方、肥満に関する遺伝子の異常を血液で検出する方法も検討中であります。

また、新たにスタートした富山湾の海洋科学基礎研究に参加するとともに、非水産分野における海洋深層水の健康増進効果に関する研究も継続して行っております。

今後とも「健康とくらしの安全を科学する」衛生研究所として最善の努力をしてまいりたいと考えておりますので、ご鞭撻のほどよろしくお願い申し上げます。

平成13年 8 月

富山県衛生研究所長

永 井 美 之

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	27
(8) 講 師 派 遣	31
(9) 研 修 指 導	34
(10) 研 修 受 講	34
(11) 客員研究員等招へい	36
(12) セミナー開催	36

2. 調査研究報告

先天性代謝異常等マススクリーニングの成果について（平成12年度の検査成績）	37
九曜雅子, 米田 豊, 大江 浩, 北村 敬, 竹 邦子	
アセトニトリルを用いない乾燥ろ紙血液中アミノ酸の逆相HPLC分析法	48
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12年度）	54
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12年度）	61
本田幸子, 林 美貴子, 大江 浩, 北村 敬	
日本脳炎流行予測調査	67
渡辺 護, 長谷川澄代, 高田ちはる	
ポリオ流行予測調査	77
中山 喬, 安藤秀二, 松浦久美子, 長谷川澄代, 石倉康宏, 北村 敬, 遠藤京子, 田中桂子, 南部 章, 松田和久, 池田英二	
インフルエンザ流行予測調査	84
松浦久美子, 長谷川澄代, 石倉康宏, 中山 喬, 安藤秀二, 北村 敬, 田中桂子, 斎藤尚仁, 遠藤京子, 松田和久, 池田英二	

一般住民の <i>Coxiella burnetii</i> に対する抗体保有状況	92
石倉康宏, 安藤秀二, 松浦久美子, 中山 喬, 長谷川澄代	
ポリオウイルス Sabin 1 型由来変異株に対する住民の抗体保有状況	99
中山 喬, 松浦久美子, 安藤秀二, 長谷川澄代, 石倉康宏, 北村 敬	
河川水および下水から分離されたポリオウイルス 5' 非翻訳領域の遺伝子解析	106
松浦久美子, 石倉康宏, 北村 敬, 吉田 弘, 堀江 均	
ノーウォーク様ウイルス (NLV) による急性胃腸炎の集団発生について (2000年度)	110
長谷川澄代, 松浦久美子, 中山 喬, 安藤秀二, 石倉康宏	
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	116
田中大祐, 清水美和子, 細呂木志保, 磯部順子, 刑部陽宅, 香取幸治, 林 喜代志, 中村政雄, 遠藤美代子	
児童の咽頭溶血レンサ球菌保菌状況	120
田中大祐, 磯部順子, 細呂木志保, 清水美和子, 田中桂子, 松田和久	
富山市都市河川水のサルモネラ定点観測	123
磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保, 清水美和子, 香取幸治	
環境に分布するコレラ毒素非産生性 <i>Vibrio cholerae</i> 01 の起源に関する研究	128
刑部陽宅, 細呂木志保, 田中大祐, 磯部順子, 北村 敬	
イオンクロマトグラフィーによる海洋深層水中の硝酸塩の連続自動分析	132
松永明信, 小善圭一, 黒川弘子, 山本 敦, 大浦 敏	
閉経女性を対象としたライフスタイルの変化と骨密度および骨代謝指標との関係についての介入調査	138
中崎美峰子, 堀井裕子, 田中朋子, 西野治身, 稗苗智恵子, 南 幹雄, 上野真理子, 横川 博, 守田万寿夫, 福島啓子, 木屋 昭, 松倉知晴	
骨粗鬆症予防教室参加若年女子の骨代謝と生活習慣の関連についての追跡調査	147
堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 西野治身, 萩原千佳子, 飯田恭子, 高井なおみ, 加藤一之, 守田万寿夫, 福島啓子, 木屋 昭, 松倉知晴	
無機成分摂取量と尿中排泄量, 骨代謝指標との関連	156
田中朋子, 堀井裕子, 中崎美峰子, 新村哲夫, 西野治身, 新 広昭, 田島隆俊	

3. 資 料

富山県における平成12年度のウイルスおよびリケッチア検査状況	161
安藤秀二, 中山 喬, 長谷川澄代, 松浦久美子, 石倉康宏, 北村 敬	
感染症発生動向調査情報による患者発生状況 (2000年)	164
庄司俊雄	

漁港における腸炎ビブリオ調査（平成12年）	171
細呂木志保，磯部順子，田中大祐，清水美和子，香取幸治，刑部陽宅，竹内 崇，富田良一	
富山県における2000年の病原微生物検出情報	175
清水美和子，細呂木志保，田中大祐，磯部順子，北村 敬	
農産物中の残留農薬調査	179
齊藤行雄，大浦 敏，松永明信	
富山湾内産魚類中の10元素の含有量調査	181
大戸幹也，高柳信孝，大浦 敏，松永明信	
アシュラムのオンライン固相抽出 HPLC 分析に適した充填剤	185
山本 敦，古野正浩，松永明信	
イオンクロマトグラフィーによる温泉水中の陽イオンの分析	187
高柳信孝，健名智子，松永明信	
平成12年度食品衛生（理化学）検査の精度管理調査について	191
大戸幹也，松永明信，尾崎一郎	
平成12年度水道水質検査の精度管理事業について	195
健名智子，高柳信孝，松永明信	

4. 業 績

(1) 授賞，学位授与，資格取得など	201
(2) 誌 上 発 表	202
(3) 特別講演等	211
(4) 学会発表等	212

T i t l e s

Report

A Survey Report on Neonatal Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism, Congenital Hypothyroidism and Congenital Adrenal Hyperplasia in Toyama Prefecture (April 2000~ March 2001)	37
Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Hiroshi OE, Takashi KITAMURA and Kuniko TAKE	
Analytical Method of Amino Acids in Dried Blood Specimens by Reverse Phase HPLC without using Acetonitrile	48
Yutaka YONEDA and Masako KUYO	
Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells	54
Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA, Hiroshi OE and Takashi KITAMURA	
Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells and Fetal cells	61
Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI, Hiroshi OE and Takashi KITAMURA	
Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 2000	67
Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA and Chiharu TAKADA	
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture	77
Takashi NAKAYAMA, Shuji ANDO, Kumiko MATSUURA, Sumiyo HASEGAWA, Mitsuhiro ISHIKURA, Takashi KITAMURA, Kyouko ENDOU, Keiko TANAKA, Akira NAMBU, Kazuhisa MATSUDA and Eiji IKEDA	
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture	84
Kumiko MATSUURA, Sumiyo HASEGAWA, Mitsuhiro ISHIKURA, Takashi NAKAYAMA, Shuji ANDO, Takashi KITAMURA, Keiko TANAKA, Naohito SAITO, Kyoko ENDO, Kazuhisa MATSUDA and Eizi IKEDA	
Prevalence of Antibodies Against <i>Coxiella burnetii</i> in Inhabitants in Toyama Prefecture	92
Mitsuhiro ISHIKURA, Syuji ANDO, Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA and Sumiyo HASEGAWA	
Prevalence in inhabitants of neutralizing antibodies against a poliovirus sabin1-derived variant	99
Takashi NAKAYAMA, Kumiko MATSUURA, Shuji ANDO, Sumiyo HASEGAWA, Mitsuhiro ISHIKURA and Takashi KITAMURA	
Genetic Analysis of the 5' Non-coding Region of Poliovirus Isolates from River Water and Sewage	106
Kumiko MATSUURA, Mitsuhiro ISHIKURA, Takashi KITAMURA, Hiromu YOSHIDA and Hitoshi HORIE	
Outbreaks of Gastroenteritis Caused by Norwalk-like Virus(NLV)in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2000	110

Sumiyo HASEGAWA, Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA, Shuji ANDO and Mitsuhiro ISHIKURA	
Serotype and Drug Sensitivity of the Hemolytic Streptococci in Toyama Prefecture	116
Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU, Shiho HOSOROGI, Junko ISOBE, Yotaku GYOBU, Koji KATORI, Kiyoshi HAYASHI, Masao NAKAMURA and Miyoko ENDO	
Distribution of Pharyngeal Hemolytic Streptococci among Healthy Children	120
Daisuke TANAKA, Junko ISOBE, Shiho HOSOROGI, Miwako SHIMIZU, Keiko TANAKA and Kazuhisa MATSUDA	
Salmonella Surveillance in River Water in an Urban Area of Toyama City	123
Junko ISOBE, Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI, Miwako SHIMIZU and Kouji KATORI	
Studies on the Origin of CT-negative <i>Vibrio cholerae</i> 01 Distributed in the Environment	128
Yotaku GYOBU, Shiho HOSOROGI, Daisuke TANAKA, Junko ISOBE and Takashi KITAMURA	
A Method for Continuous and fully-automated Determination of Nitrate in Supplying Deep Seawater by Ion Chromatography	132
Akinobu MATSUNAGA, Keiichi SHOZEN, Hiroko KUROKAWA, Atsushi YAMAMOTO and Takashi OHURA	
An Intervention Study on the Relationship between Stiffness of Calcaneus, Biochemical Markers of Bone Resorption and Changes of Lifestyle in Post-menopausal Women	138
Mineko NAKAZAKI, Yuko HORII, Tomoko TANAKA, Harumi NISHINO, Chieko HIENAE, Mikio MINAMI, Mariko UENO, Hiroshi YOKOKAWA, Masuo MORITA, Keiko FUKUSHIMA, Akira KIYA and Tomoharu MATSUKURA	
A Follow-up Study on Relationship between Biochemical Markers of Bone Metabolism and Lifestyle Factors on the Young Women Participants in a Program for Prevention of Osteoporosis	147
Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Harumi NISHINO, Tikako HAGIWARA, Kyoko HANDA, Naomi TAKAI, Kazuyuki KATO, Masuo MORITA, Keiko FUKUSHIMA, Akira KIYA and Tomoharu MATSUKURA	
Relationship among Minerals Intake, Urinary Excretion of the Minerals and Bone Metabolic Markers	156
Tomoko TANAKA, Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tetsuo SHIMMURA, Harumi NISHINO, Hiroaki SHIN and Takatoshi TAJIMA	

Notes

Virological and Rickettsiological Examinations of Infectious Diseases in Toyama Prefecture, April 2000 to March 2001	161
Shuji ANDO, Takashi NAKAYAMA, Sumiyo HASEGAWA, Kumiko MATSUURA, Mitsuhiro ISHIKURA and Takashi KITAMURA	

Infectious Diseases Surveillance in Toyama Prefecture, An Annual Report for 2000.	164
Toshio SHOJI	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> Surveillance at Fishing Ports in Toyama Prefecture in 2000	171
Shiho HOSOROGI, Miwako SHIMIZU, Daisuke TANAKA, Junko ISOBE, Koji KATORI, Yotaku GYOBU, Takashi TAKEUCHI and Ryouichi TOMITA	
Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 2000	175
Miwako SHIMIZU, Siho HOSOROGI, Daisuke TANAKA, Junko ISOBE and Takashi KITAMURA	
Pesticide Residues in Agricultural Commodities.....	179
Yukio SAITO, Takashi OHURA and Akinobu MATSUNAGA	
Survey of 10 Elements in Fishes Collected from Toyama Bay	181
Mikiya OHTO, Nobutaka TAKAYANAGI Takashi OHURA and Akinobu MATSUNAGA	
A Resin suitable for On-Line Solid-Phase Extraction of Asulam with HPLC Analysis	185
Atsushi YAMAMOTO, Masahiro FURUNO and Akinobu MATSUNAGA	
Analysis of Inorganic Cations in Mineral Spring Water by Ion Chromatography	187
Nobutaka TAKAYANAGI, Tomoko KEMMEI and Akinobu MATSUNAGA	
Quality Control Testing of Sorbic Acid and Sodium Saccharin in Food	191
Mikiya OHTO, Akinobu MATSUNAGA and Ichiro OZAKI	
The Results of External Quality Control of Potassium Permanganate Consumed and Lead in Water	195
Tomoko KEMMEI, 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により、庶務課を総務課に名称を変更。
平成12年7月1日	衛生研究所内に富山県感染症情報センターを設置

(2) 施 設 の 概 要

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

(3) 職 員 数

（平成13年5月1日現在）

区 分	所・次長 部・課長	主 幹 研究員	副主幹 研究員	副主幹	主 任 研究員	主 事	研究員	主 任 業務技師	業務技師	嘱 託	計
所 長	1										1
次 長	1										1
総 務 課	1			1		1		2		1	6
がん研究部	1		5		1						7
ウイルス部	所 長 事務取扱		4		1		1				6
細 菌 部	所 長 事務取扱				1		4			1	6
化 学 部	1	3			4						8
環境保健部	1		2		2		1				6
合 計	6	3	11	1	9	1	6	2		2	41

(4) 職 員 一 覧

(平成13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	永 井 美 之	0.2	所内事務総括
次 長	尾 崎 一 郎	4.2	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)	鹿 渡 英 光	2.2	人事, 予算, 出納員業務及び課内事務総括
副 主 幹 (会計員)	加 納 晴 美	2.2	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	3.2	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	8.2	実験動物の飼育管理, 滅菌洗浄室の管理
〃	高 田 宏	0.2	公用車の操車, 整備保全業務
嘱 託	北 村 敬	0.2	
がん研究部長	加 藤 丈 士	0.2	部内事務総括及びがんの疫学研究
副主幹研究員	渡 辺 護	32.4	衛生動物の検査及び防除対策に関する調査研究
〃	本 田 幸 子	30.8	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	30.7	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	7.2	先天性代謝異常マスキリーニングの検査及び調査研究
〃	品 川 保 弘	11.1	がん発生要因の実験的調査研究
主任研究員	九 曜 雅 子	17.11	先天性代謝病の検査及び調査研究
ウイルス部長	所長事務取扱		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	中 山 喬	31.2	感染症発生動向調査のウイルス学的検査
〃	松 浦 久 美 子	36.2	ウイルス疾患の病因究明及び予防のための調査研究
〃	長谷川 澄 代	29.6	ウイルス感染症の検査及び検査法開発の研究
〃	庄 司 俊 雄	23.1	感染症情報センターの管理・運営, ウイルス感染症の情報収集と解析
主任研究員	安 藤 秀 二	4.2	HIV 感染症の検査及び予防のための調査研究・リッチケア感染症の調査研究
研 究 員	岩 井 雅 恵	0.2	ウイルス感染症の検査及び疫学的調査研究・病原体検出情報の収集, 還元
細菌部長	所長事務取扱		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	11.2	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
研 究 員	田 中 大 祐	9.2	呼吸系病原細菌の調査研究, 感染症情報センターの管理・運営
〃	細呂木 志 保	10.1	水, 医薬品及び環境細菌の検査研究及び細菌 DNA の研究
〃	平 本 裕 子	2.2	青年海外協力隊派遣
〃	清 水 美 和 子	1.2	病原細菌検出情報の収集, 還元
嘱 託	刑 部 陽 宅	2.2	真菌の試験, 検査

職 名	氏 名	当 所 勤 続年数	主 な 担 当 事 務
化 学 部 長	松 永 明 信	27.1	部内事務総括及び食品、環境中の汚染物質の調査研究
主 幹 研 究 員	大 浦 敏	6.2	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
〃	高 柳 信 孝	19.2	温泉中の成分分析及び水道水中の有害物質の調査研究
〃	齊 藤 行 雄	23.2	食品中の添加物及び残留農薬等の調査研究
主 任 研 究 員	山 本 敦	22.2	食品中の成分及び器具・容器・包装等の調査研究
〃	小 玉 修 嗣	7.4	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	17.2	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	15.8	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	西 野 治 身	36.2	部内事務総括、環境化学物質の健康影響及び生活習慣病予防 に関する疫学的調査研究並びに深層水の海洋療法の調査研究
副主幹研究員	新 村 哲 夫	29.1	環境汚染にかかわる生体中重金属及び深層水の海洋療法の調査研究
〃	田 中 朋 子	23.5	生活習慣病及び各種疾病の診断に必要な生化学的検査研究
主 任 研 究 員	中 崎 美 峰 子	16.1	生体中有害物質の検査研究
〃	堀 井 裕 子	14.1	環境汚染にかかわる健康調査の生化学的検査研究
研 究 員	中 山 恵 理 子	2.2	環境保健にかかわる検査

(5) 予 算 概 要

平成 12 年 度
予 算 概 要 (当初)

事業名	予算額	財 源 内 訳		事業内容
		使. 手数料	一般財源	
	千円	千円	千円	
衛生研究所費	89,993	4,353	85,640	衛生研究所の運営, 維持管理, 試験検査等
試験研究費	13,129		13,129	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 環境汚染物質の生体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	7,720		7,720	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	2,124		2,124	
がん等特別研究費	8,803		8,803	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 遺伝子解析による病原微生物の分子疫学的な研究 5 がん原物質と遺伝子の易損症性に関する研究
合 計	121,769	4,353	117,416	

平成12年度 歳入決算

款 項 目 節	決 算 額	備 考
	円	
使用料及び手数料	13,219,398	
手 数 料	13,219,398	
衛 生 手 数 料	13,219,398	
衛 生 研 究 所	4,415,078	{ 収入証紙 1,871,640 納入通知 2,543,438
環 境 衛 生 検 査	8,804,320	{ 収入証紙 0 納入通知 8,804,320
諸 収 入	17,206	
雑 収 入	17,206	
雑 収 入	17,206	
納 付 金	17,206	
雑 収 入	0	
合 計	13,236,604	

平成12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	
				7,245,173	
				3,922,593	
				1,342,762	
			共 済 費	5,172	
			賃 金	862,190	
			旅 費	475,400	
			財 産 管 理 費	2,571,450	
			需 用 費	229,950	
			工 事 請 負 費	2,341,500	
	企 画 費	2000年国体推進費		8,381	
			旅 費	8,381	
				3,322,580	
			計 画 調 査 費	3,322,580	
			賃 金	585,980	
			報 償 費	60,000	
			旅 費	801,200	
			需 用 費	1,220,000	
			役 務 費	178,000	
			備 品 購 入 費	449,400	
民 生 費	社 会 福 祉 費	社会福祉総務費	負担金補助及び交付金	28,000	
				16,022,620	
				480,000	
			工 事 請 負 費	480,000	
				480,000	
	児 童 福 祉 費	児童福祉対策費		15,542,620	
				15,542,620	
			賃 金	1,602,960	
			旅 費	83,710	
			需 用 費	13,823,950	
衛 生 費	公 衆 衛 生 費	公衆衛生総務費	役 務 費	32,000	
				154,674,710	
				133,682,688	
				102,932	
			共 済 費	102,932	
			健康増進対策費	507,845	
			賃 金	166,800	

款	項	目	節	決 算 額	摘 要
				円	
			旅 費	62,045	
			需用 費	279,000	
		結 核 対 策 費		53,025	
			旅 費	53,025	
		予 防 費		13,705,473	
			賃 金	1,100,470	
			報 償 費	24,000	
			旅 費	420,503	
			需用 費	9,627,000	
			役 務 費	519,000	
			委 託 料	1,496,250	
			使用料及び賃貸料	518,250	
		環境保健対策費		14,189,779	
			賃 金	446,550	
			旅 費	142,115	
			需用 費	3,852,534	
			諸 費	13,000	
			役 務 費	55,000	
			使用料及び賃借料	9,680,580	
		衛生研究所費		105,123,634	
			共 済 費	765,637	
			賃 金	8,892,345	
			報 償 費	110,000	
			旅 費	3,689,778	
			需用 費	63,707,000	
			諸 費	127,927	
			役 務 費	2,051,000	
			委 託 料	17,435,572	
			使用料及び賃借料	323,000	
			備 品 購 入 費	7,605,375	
			負担金補助及び交付金	416,000	
	環 境 衛 生 費			20,699,950	
		環境衛生総務費		10,722,270	
			賃 金	582,000	
			旅 費	245,070	
			需用 費	8,642,400	

款	項	目	節	決 算 額	摘 要
				円	
			役 務 費	22,000	
			委 託 料	1,216,800	
			負担金補助及び交付金	14,000	
		食品衛生指導費		8,653,680	
			賃 金	99,570	
			旅 費	258,110	
			需 用 費	8,286,000	
			役 務 費	10,000	
		環境衛生指導費		100,000	
			需 用 費	100,000	
		水道指導費		1,224,000	
			需 用 費	1,216,000	
			役 務 費	8,000	
	保 健 所 費			36,487	
		保 健 所 費		36,487	
			需 用 費	36,487	
	医 務 費			13,585	
		保健婦等指導管理費		13,585	
			旅 費	13,585	
	公 害 防 止 費			242,000	
		公害防止対策費		242,000	
			需 用 費	242,000	
合		計		177,942,503	

重要備品一覽

(購入価格100万円以上)

品名	購入年月日	数量	型 式
等電点分画装置	49. 9. 4	1	KLB8100
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
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
高速冷却遠心分離機	54. 11. 26	1	久保田
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
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
〃	57. 9. 30	1	〃 8255型
炭酸ガス培養装置	57. 9. 30	1	〃 3158型
〃	57. 9. 30	1	ナプコ 5200型
高速液体クロマトグラフ	57. 10. 2	1	島津 LC-4 A
赤外線放射温度計	57. 10. 8	1	三栄測器 6 T53
ガスクロマトグラフ	57. 10. 12	1	島津 GC-7 AP-FFT 型
液体シンチレーションカウンター	57. 10. 12	1	アロカ SC-703
低バックグラウンド液体シンチレーションカウンター	57. 10. 14	1	アロカ LSC-LB 1
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
データ処理装置	57. 10. 30	1	横河、ヒューレット、パッカー
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
フラクションコレクター	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
超低温槽	58. 3. 24	1	フォーマ 8138型
炭酸ガス培養装置	58. 3. 31	1	フォーマ 3158型
酸素免疫システム	58. 3. 31	1	三光純薬 MR580ミニオウオッシャー 2-315

品 名	購入年月日	数量	型 式
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-7 APFE
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 VII A
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
デンストメーター	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-A 2型
蛍光測定システム	1. 9. 8	1	島津 デンストメータ (CS-9000) 用
フォトダイオードアレイ検出器	1. 9. 14	1	島津 SPD-M 6 A
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-9 A
ガスクロマトグラフ質量分析計	2. 11. 5	1	島津 GCMS-QP2000GF
超低温槽	2. 11. 6	1	レブコ ULT-2050
炭酸ガスインキュベーター	3. 2. 8	1	サンヨーフォーマ 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. 3	1	日本分光 FP-777
高速液体クロマトグラフ用分光蛍光検出器	4. 3. 6	1	島津 RF-550
パラフィンブロック作製装置	4. 3. 12	1	サクラ精機 ティッシュ・エンベディング・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

品 名	購入年月日	数量	型 式
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スペシャル
マイクロプレートウオッシャー	5. 3. 10	1	米国ダイナテック ウルトラウオッシャ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
バージ&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 AQUATek50
ガスクロマトグラフ質量分析計	5. 11. 30	1	島津 GC / MSQP-1100WA
高速液体クロマトグラフ	5. 12. 24	1	日立製作所 L-6300
デシントグラフ	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 MODEL6800型
炭酸ガス培養装置	6. 8. 10	1	フォーマー 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 MODEL6800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	ShodexRI-7, 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製
減圧遠心濃縮機	7. 10. 2	1	東京理化製
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	8. 3. 29	1	三光純薬製
オートダイリ्यूター	8. 3. 29	1	三光純薬製 SGR250
超低温フリーザー	8. 8. 28	1	サンヨー MDF-592型
原子吸光光度計	8. 11. 27	1	島津製作所製 AA-6700
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
アミノ酸分析システム	9. 3. 14	1	日本分光製

品 名	購入年月日	数量	型 式
ガスクロマトグラフシステム	9. 3. 17	1	島津製作所製
オートインジェクター	9. 7. 18	1	日本分光製 AS-950-10
落射蛍光顕微鏡	9. 8. 29	1	ニコン社製 E-600-D
超低温槽	9. 10. 9	1	レブコ製 ULT-1786
画像処理装置	9. 10. 13	1	アビオ製フィルムレコーダー 他
サプ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
蛍光式 DNA シーケンサー	9. 12. 15	1	パーキンエルマー社製310-1-T
ELISA 測定システム	10. 2. 26	1	バイオラッド社製
液体クロマトグラフ用三次元検出器	10. 4. 30	1	島津製作所 SPD-M10AVP
高速液体クロマトグラフ	10. 6. 30	1	島津製作所 LC-VP
高速液体クロマトグラフ用オートインジェクター	10. 6. 30	1	島津製作所 SIL-10ADVP
ガスクロマトグラフ	10. 8. 21	1	ヒューレットパッカード社製 HP6890型
データ処理装置	11. 3. 30	1	日本分光製 HPLC プロジューサー BORWIN
全自動化学発光システム	11. 3. 31	1	日本分光製ガリバー 1500シリーズ
フリーザー	11. 7. 29	1	レブコ ULT-2050-3
分光光度計	11. 9. 24	1	日立 U-3010
フリーザー	11. 9. 28	1	レブコ ULT-2050-3
細胞チェッカー	11. 10. 5	1	オリンパス CK40-32RPC
超低温フリーザー	11. 12. 14	1	三洋電機製 MDF-493型
マイクロウェーブ分解装置	11. 12. 22	1	アステック社製
高速液体クロマトグラフ装置	12. 6. 30	1	横河アナリティカルシステムズ(社)製 HP1100
分離用超遠心機	12. 11. 30	1	日立 CP100MX
パルスフィールド電気泳動装置	12. 12. 15	1	日本バイオラッド CHEF-DR IIIチラーシステム
透過型電子顕微鏡	13. 3. 5	1	日立 H-7600型
落射型蛍光顕微鏡	13. 3. 15	1	オリンパス BX51-34-FL-2

(平成13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12年度の検体総数は11,531件で、県内57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109.5%（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疾病である。検査の結果、要精密検査として38人（フェニルケトン尿症疑い5人、ホモシスチン尿症疑い1人、ガラクトース血症疑い1人、クレチン症疑い18人、先天性副腎過形成症疑い13人）がスクリーニングされ、クレチン症6人、先天性副腎過形成症1人の患児が発見された。

染色体検査

平成12年度の検査受付件数は、血液89件、羊水60件、自然流産胎児25件、骨髄液1件の計175件で、うち、染色体異常を示したものは、血液5件（21トリソミー型ダウン症候群2件、均衡転座保因者1件、ターナー症候群1件、11p部分トリソミー1件）、羊水3件（21トリソミー型ダウン症候群1件、4p-症候群1件、クラインフェルター症候群1件）、流産胎児10件（ターナー症候群4件、16トリソミー症候群3件、21トリソミー型ダウン症候群1件、rec(8)1件、Dトリソミー症候群1件）の計18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、不妊症、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5カ所の畜舎で昨年に引き続き行った。12年度のコガタアカイエカの発生状況はほぼ全県的に減少した。また、本県におけるダニ媒介性の感染症の浸淫状況を把握するために、県下8地点でダニの採集を行った。

この他、保健所依頼の食品混入昆虫など22件と、行政機関及び各種事業所からの分類同定を合計して1,306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引き続き検討している。また、アフリカミドリザル腎組織由来VERO細胞を用い、染色体核型を指標とした変異原性の検出方法についての検討を継続している。

富山県における大腸がん発生背景要因をさぐるための症例対照研究を継続している。平成12年度は症例として、男性患者25名（平均年齢68.2歳）、女性患者24名（平均年齢66.3歳）について面接聞き取り調査を実施した。

先天性代謝異常症等のマススクリーニング検査に関する研究

アミノ酸代謝異常症のマススクリーニング検査を目的に当所で開発したアミノ酸のHPLC分析法の改良を行った。すなわち、従来法で移動相に用いていたアセトニトリルに替えて、より低毒性のエタノールを用いる方法を検討した。また、従来法で測定可能なバリン、メチオニン、チロシン、イソロイシン、ロイシンおよびフェニルアラニンに加え、トリプトファンも含めて短時間に測定可能な分析条件を確定した。本法はトリプトファン代謝異常症の鑑別にも有用である他、フェニルアラニン高値の場合、フェニルケト

ン尿症 (PKU) と BH₄ 欠乏症との鑑別への利用が期待できる。

遺伝子易損傷性に関する研究

培養細胞、ヒト血液を用いたアルカリゲル電気泳動法を確立し、発ガン物質として知られているジエチルスチルベステロール (DES) を用い検討した。その結果、DES は DNA に対し、アルカリキレート剤として作用する可能性を明らかにした。引き続き、DES と他の物質の複合作用について調査中である。

姉妹染色分体交換法に関する研究

先天異常の成因を調査する目的で、ヒトリンパ球と培養細胞を用い、姉妹染色分体交換法 (SCE) とアルカリゲル電気流動法 (SCG) の比較を炭酸リチウム、DES を用いて行った。SCE は SCG に比較し、低濃度でその値の上昇がみられたが、単純に検出力の差ではないことも示唆された。

環境汚染物質等の突然変異原性に関する研究

前年度より、マウス末梢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たが、その効果は見られなかったため、マウスの胃、肺細胞を用いたコメット法により検討を行った。その結果、タバコ煙暴露により、有意に高いコメット検出が得られ、DNA 損傷が生じていると考えられた。引き続き、タウリンの効果について検討中である。

衛生動物に関する研究

イヨシロオビアブ (オロロ) および家屋侵入性カメムシ (ヘクサンボ) の駆除効果をより確実にするため、基礎的な生態習性の把握に努めたところ、イヨシロオビアブは広い川原の林縁部を移動することが推定された。また、ヘクサンボは微妙な風の流れに飛来が左右されることが示唆された。

ウ イ ル ス 部

〔行政検査および依頼検査〕

保健所および病院などから依頼のあった検体 (平成12年4月～平成13年3月受付分) についてウイルス分離検索を行った。呼吸器系疾患117検体から分離されたインフルエンザ以外のウイルスは、アデノウイルス3型が11株分離された。インフルエンザ流行期の呼吸器系疾患の検体は、インフルエンザ流行予測感染源調査を兼ねており、インフルエンザウイルスの分離結果は流行予測調査の報告を参照されたい。手足口病の患者14例中12例からコクサッキーウイルス A16型が分離された。このうちの1例からはコクサッキーウイルス A16型とともにコクサッキーウイルス A 9型も分離された。この14例とは別の症例で、手足口病治療中に脳炎症状を呈した1例からはエンテロウイルス71型が分離された。感染性胃腸炎・下痢症患者72例から A 群ロタウイルス、ノーウォーク様ウイルス (小型球形ウイルス, SRSV) が検出された。食中毒4事例から SRSV が検出され、原因食材5件のうちカキ2件から SRSV が検出された。食中毒関連で SRSV 感染既往歴のある成人について追跡調査し、約1ヶ月半後の検体 (無症状) 3例中2例から SRSV が検出された。恙虫病と診断された6例のうち5例が血清学的に恙虫病と診断され、さらに2例から恙虫病リケッチア (*Orientia tsutsugamushi*) 遺伝子が検出された。

〔動物由来感染症実態調査〕

平成11年度に引き続き、平成12年度も Q 熱の調査を行った。平成13年3月末現在、犬猫および人、合計136件について検討した結果、犬猫に関しては昨年と同様の抗体保有率であった。昨年度十分な検討ができなかった動物の飼育経験のない人について、ボランティアの血液を用いて解析したところ、38% (21/55) が *Coxiella burnetii* に対する抗体を保有しており、動物の飼育経験に関係なく *Coxiella burnetii* に感染する機会が多いことが示唆された。飼育状況などの調査項目について統計学的信頼性を高めるため、継続して

調査が行われている。

〔HIV 抗体検査〕

平成12年4月から平成13年3月までの間に153件の検査依頼があった。このうち、確認検査を要するものが4件あり、1件が陽性であった。

〔流行予測〕

日本脳炎：平成12年6月から9月までの県内の5定点におけるコガタアカイエカの発生数は「富山大井」と「上市湯上野」で前年より捕集数が増加したが、他の3定点では減少した。特に、黒部、小矢部では前年度より、60～70%と減少した。県全体の発生推移状況は、調査開始当初から捕集数の増加速度は平成11年よりも遅く、しかも、8月第2週までその傾向が顕著であった。しかし、8月第4週からは全定点で捕集数は増加し、9月第2週までの間に捕集数が最大になり、以後減少した。一方、県内産豚の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有率は、蚊の発生数を反映して、7月は0%、8月に6%、9月には48%になり、10月には74%になった。ウイルスの新鮮感染を示唆するIgM抗体保有豚も9月に入り8頭、10月に3頭確認された。本年は前年に比べ、2週間も早く日本脳炎ウイルスが富山県内に侵入し、媒介蚊のコガタアカイエカの発生活長と連携し、10月上旬まで豚の間に拡大していったと推定される。この豚における感染推移は日本脳炎患者が発生した平成9年よりも危険な消長を示し、患者発生が危惧されたが、患者の発生は起こらなかった。

ポリオ：平成12年度は、厚生労働省委託事業としては感染源調査のみをおこない、感受性調査は県単独事業として実施した。感染源調査は、ポリオワクチン接種後2カ月以上経過した時点で、0歳から4歳まで62例の乳幼児から糞便を採取し、ウイルス分離検査を実施した。その結果、ポリオウイルスは分離されなかったが、アデノウイルス1型1株、コクサッキーウイルスB3型10株および型別同定不能のウイルス1株が分離された。感受性調査は、全年齢層を対象として採血し、236名（0歳～82歳）の血清についてポリオウイルスに対する中和抗体価を測定した。ポリオウイルス各型に対する抗体価4倍以上の抗体保有率は、1型が94%、2型が98%、3型が80%であった。年齢区分別では、1型および2型では各年齢区分とも80%以上を示したが、3型では0～1歳の43%から7～9歳および40～49歳の100%まで、年齢区分でばらつきが見られた。また、抗体保有者の平均抗体価は、1型では141倍、2型では145倍、3型では38倍であった。

インフルエンザ：インフルエンザの予防とまん延の防止のために、感受性調査（平成12年6～10月）および感染源調査（平成12年12月～平成13年4月）を実施した。感受性調査は、富山県住民236名（0歳～83歳）を対象として5種類のインフルエンザウイルスに対する抗体を測定した。その結果、感染防御能があるとされている抗体価40倍以上の保有率は3.4～27.5%で、いずれのウイルスに対しても抗体保有者は少なかった。このように低い抗体保有状況から、インフルエンザの大きな流行が懸念されたため、住民にインフルエンザ情報（富山県感染症情報センターより）を提供して予防を呼びかけると共に、インフルエンザ予防の総合対策に取り組んだ。インフルエンザ患者は1月より散発的に発生していたが、「集団かぜ」の発生は3月上旬と4月中旬に合計10施設（患者数214人）のみで少なく、今シーズンは小規模な流行で終息した。感染源調査はインフルエンザ様患者127名についてウイルス検索を行った。A（H1）型、A（H3）型およびB型の3種類のウイルスが検出され、A（H1）型株とA（H3）型株はワクチン類似株であったが、B型株にはワクチン類似株と変異株とが混在していた。

〔調査研究〕

河川水や下水から分離されたポリオウイルスの遺伝子解析：前年度までは、河川水や下水からの分離株について VP 1 領域の遺伝子解析を行い、全ての分離株はワクチン由来株であったことを報告した。今年度は、これらの分離株が強毒型へ reversion（先祖帰り）していないかを明らかにするために、神経毒性に関与している 5' 非翻訳領域の遺伝子について調べた。3 型の 29 分離株のうち 16 株（55%）は、472 番目の塩基が U（弱毒型）から C（強毒型）への置換、すなわち reversion した塩基を 2～91% の割合で有していた。この成績より、ワクチン株は人の腸管での増殖中に、かなりの頻度で塩基の置換を起こし、排泄されたウイルスには毒力復帰の revertant 株が含まれていることが示唆された。我が国は平成 12 年 10 月に野生株のポリオ根絶を宣言したが、生ワクチン投与が行われている限り、revertant 株によるポリオ発症の危険性がある。従って、ポリオ根絶の最終段階として不活化ワクチンの導入、そして今後もポリオウイルスの動態調査が重要である。

ポリオウイルス Sabin 1 型由来変異株に対する住民の抗体保有状況：ポリオウイルス常在国から侵入する可能性のある野生株や毒性の復帰したワクチン由来株に対する感染予防対策のためには、これらのウイルスに対する抗体保有状況を把握しておく必要がある。そのため、ワクチン由来変異株・G 4-12 に対する住民の中和抗体保有状況を調査した。その結果、G 4-12 に対する中和抗体保有率は 94%、平均抗体価は 73 倍であった。一方、ワクチン株の Sabin 1 型に対する抗体保有率は 96%、平均抗体価は 214 倍であり、強毒株である Mahoney に対する抗体保有率は 93%、平均抗体価は 83 倍であった。変異株および強毒株とも、平均抗体価はワクチン株の約 3 分の 1 の値であったが、抗体保有率はワクチン株と同様に高く、現在のワクチン接種体制を維持しておれば、ワクチン由来変異株および強毒株流行の危険はないものと考えられた。

ノーウォーク様ウイルス（NLVs）による急性胃腸炎の集団発生について：平成 12 年 4 月から平成 13 年 3 月までにウイルス性食中毒 4 事例および感染性胃腸炎の集団発生 1 事例があった。このうち高校学生寮の食中毒事例（平成 12 年 4 月）と小学校での感染性胃腸炎集団発生事例（平成 12 年 5 月）では、両事例とも患者の糞便からノーウォーク様ウイルス（小型球形ウイルス；SRSV）が検出されたが、感染源、感染経路とも特定することはできなかった。平成 13 年 1 月から 2 月にかけて発生した 3 事例は、疫学的調査でカキの喫食が原因である可能性が指摘された。ウイルス検索の結果、患者糞便からは 3 事例とも、原因食のカキからは 2 事例においてノーウォーク様ウイルス（小型球形ウイルス；SRSV）が検出された。

一般住民の *Coxiella burnetii* に対する抗体保有状況：ヒトにおける *Coxiella burnetii* の感染実態を解明する手がかりとして、一般住民を対象に *C. burnetii* に対する抗体保有状況を蛍光抗体間接（IF）法で検索した。*C. burnetii*（Ⅱ相菌）感染 Vero 細胞を抗原とする IF 法の特異性を *Orientia tsutsugamushi*, *Rickettsia*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Vibrio parahaemolyticus*（K 抗原）, *Yersinia enterocolitica*（O 抗原）, *Escherichia coli*（O 抗原）, *Salmonella choleraesuis*（O, H 抗原）, *Legionella* の各抗血清を用いて検討し、使用した抗原はこれらの病原体との間には共通抗原は認められず、16 倍以上の希釈ヒト血清中の抗 *C. burnetii* 抗体を正確に測定できることが可能であった。県内住民の 16 倍以上の抗体保有率は 38%（301/790）、64 倍以上では 16%（128/790）であった。これを年齢別に見ると 0 歳では 0%、1 歳で 8%、2 歳で 27%、3 歳で 22%、4 歳で 28%、5 歳で 40% と徐々に上昇し、最も高い抗体保有率を示した年齢群は 41～59 歳であった。抗体価は 16 倍～512 倍に分布し、各年齢群における平均抗体価（幾何平均）に有意な差は認められなかった。一般住民の血清によって染められた蛍光抗体象は抗体価とは関係なく、Vero 細胞内の封入体抗原のみが染まり、患者血清のように封入体と細胞外の粒子状抗原の両方が染まることは稀であった。

【ウイルス感染症検査マニュアルの作成】

平成11年4月、「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」（感染症法）が施行されたことに供ない、防疫マニュアルに続く感染症マニュアルの作成が厚生部内で開始されていたが、ウイルスが原因と想定される感染症の発生に対処する為の検査手順を示した項目を分担執筆した。

【富山県感染症情報センター】

感染症発生動向の迅速な情報収集と還元により、地域の感染症予防対策に資することを目的として、各地方衛生研究所が従来から行っていた感染症サーベイランス事業が、平成11年4月に施行された感染症法に基づき、国の事業として感染症発生動向調査事業が実施されることになった。これにともない、平成12年7月から富山県感染症情報センターが本庁健康課より富山県衛生研究所内に移管された。当センターでは、県内の感染症発生動向調査指定届け出機関67定点から、各所轄保健所へ毎週報告される患者発生数に基づいて全県の集計を行い、結果を国立感染症情報センターへ送信するとともに全国の集計結果を受け取り、県内関係医療機関に情報を還元している。平成12年1月～12月まで富山県平均定点あたり各週発生率第1位を占めた主な疾病は、1～2月はインフルエンザ、3～6月および11～12月は感染性胃腸炎、7～9月はヘルパンギーナ、10月は手足口病であった。富山県感染症情報センターでは、県内および全国の感染症発生動向の情報を、速報あるいは週報の印刷物として関係医療機関へ毎週送付するとともに、インターネット上に開設した富山県感染症情報センターホームページで一般公開している。

細菌部

【感染症、食中毒に関わる行政検査】

2類感染症：腸管感染症では、赤痢6件の発生があり、コレラ・チフスの発生はなかった。分離された赤痢菌の血清型はいずれもソンネであった。6例の内3例が海外渡航歴あり（インド・タイ・インドネシア）で、3例は渡航歴なしの国内感染であった。これらの感染源は明らかでなかった。なお、国内感染3例の内2例は患者が幼稚園児とその保母で、2人からの分離株について染色体DNAを比較したところ、その酵素切断パターンは一致した。

3類（腸管出血性大腸菌）感染症：平成12年度は感染事例が19件（53名）で、原因菌の血清型はO157:H7 12件（32名）、O26:H11 5件（6名）、O111:HNM 2件（15名）であった。その内、感染者が2名以上の集団発生は、O157:H7 3件、O26:H11 1件、O111:HNM 1件であった。感染経路および関連性を解明するため、それぞれ関連性が疑われた分離株について染色体DNAの切断パターンによる遺伝子解析をおこなった。その結果、集団発生由来の分離株では、集団ごとにパターンは一致した。また、いずれの事例においても感染源は明らかにならなかった。O157:H7による医療機関での集団発生において、検査の「黄金焼き」と食材のレタスから原因菌を検出した。しかし、疫学調査等によりレタスを感染源と特定するに至らなかった。なお、この事例では感染者15名はいずれも無症状であった。

細菌性食中毒：細菌性食中毒は患者数2名以上の事例が8件発生した。その原因菌の内訳は、病原大腸菌が3件、サルモネラが2件、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌、カンピロバクターがそれぞれ1件であった。これらの患者便あるいは検査について、原因菌を検索した。病原大腸菌による集団発生の内、1件は水を原因とし、毒素原性大腸菌O126:H27とO169:H41の混合感染による摂食者1,300人の大規模な食中毒であった。これらの大腸菌は、いずれもST遺伝子を保有していた。また、水からの当該菌検出にはそれぞれの免疫血清で感作した自家製ビーズを使用し、良い成績を得た。

〔その他の行政および依頼検査〕

行政検査：(1) **食品：**6月に野菜16件といくら3件について、腸管出血性大腸菌 O157の検査をおこなった。結果はすべて陰性であった。6～7月に清涼飲料水48件の成分規格試験をおこなった。細菌学的基準に照らし、すべての検体が合格であった。また、食品の夏期一斉取締りの一環として、生食用水産加工品（刺身等）32検体について腸炎ビブリオの定量をおこなった。その結果は2検体が40/100g、その他はく30/100gであった。苦情食品6検体についても、カビ等の検査をおこなった。(2) **水質関係：**県生活環境部および富山市の依頼で海水浴場水（8定点、のべ148検体）の糞便性大腸菌群数測定をおこなった。いずれも水質が良好な「AA」または「A」ランクで「適」であった。腸管出血性大腸菌 O157の検査も30検体についておこなったが、すべて陰性であった。

富山県内で水道の水源として利用される河川水60検体について糞便性大腸菌群と嫌気性芽胞菌を検査し、いずれかが陽性であった検体についてクリプトスポリジウムの検査をおこなった。2000年は富山国体が開催されるということで、本年を含む過去3年間にいずれかが陽性であった22検体について検査した。結果は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5漁港の海水、海泥の腸炎ビブリオを6月から11月にかけて定期的に調べた。その結果、海水中の腸炎ビブリオ数は、ほとんどの定点で100mlあたり $3 \sim 4.6 \times 10^2$ の範囲であった。

依頼検査：民間企業より依頼されて検査した医薬部外品、健康食品、医薬品はそれぞれ2, 2, 8検体で、そのほとんどが抗菌試験であった。

〔流行予測事業、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：県単独事業として溶連菌の保菌状況を、東西2ヵ所の保育園児83名を対象に実施した。県東部の保育園58名では保菌者数は5名（A群T1型：2株、B群Ia型：1株、B群Ib型：1株、G群：2株）で、県西部の保育園25名では保菌者数は9名（A群T2型：8株、B群NT6型：1株）であった。また、病院で分離された多くの溶連菌を型別すると、検出率の高い型は、A群では順に、T1型、T12型、TB3264型、T4型、T25型であり、B群では順に、NT6型、Ib型、JM9型、Ia型であった。

病原細菌検出情報：県内11か所の病院と保健所における糞便からの病原菌検出数は、1,581株、前年比104%で、最も多かったのは大腸菌の637株、以下黄色ブドウ球菌598株、カンピロバクター154株、サルモネラ105株、腸炎ビブリオ52株の順であった。

〔調査研究〕

サルモネラ：富山市内と高岡市内を流れる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おこなった。その結果、富山市内河川水では、分離率18/48（37.5%）で、血清型 *S. Agona*, *S. Infantis* が多かった。また、血清型名不明のサルモネラ（4:i:-）も多く分離された。高岡市内河川水では、分離率10/30（33.3%）で、血清型 *S. Typhimurium*, *S. Bovismorbificans* が多かった。一方、県内の病院、保健所で分離された菌を集計すると、血清型 *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* の順に多かった。前者の *S. Enteritidis* は集団発生2例からの分離株を含んでいる。

大腸菌：高岡市で多発した腸管出血性大腸菌 O26:H11あるいはO26:HNMによる集団感染症の原因を探るため、高岡保健所と共同で高岡市の下水道について大腸菌 O26の検索を行なった。期間は平成11年10月から平成12年9月の一年間とし、下水は月一回、5定点で採水した。また、あわせて大腸菌 O157の検索も行なった。その結果、60検体中1検体からO157:H7、O26:H11が同時に検出された。分離されたO26:H11について、それ以前に富山県内で分離されたO26:H11とパルスフィールドゲル電気泳動法により染色

体 DNA の切断パターンを比較した。その結果、下水由来分離菌の切断パターンはいずれのパターンとも異なった。

一方、県内に流通している食材について腸管出血性大腸菌による汚染状況を把握するため、野菜143検体、肉52検体を調査した。食材は富山地区と高岡地区で購入し、検査に供した。結果は、野菜、肉ともにすべて陰性であった。

溶連菌：A 群溶連菌の産生する発赤毒素は、しょう紅熱の原因毒素として古くから知られている。富山県の患者から分離された様々な菌型の A 群溶連菌について、3種の発赤毒素遺伝子 (*spe*) の保有状況を PCR 法によって検討した。その結果、*speB* と *speC* を保有する菌株が最も多く、48.7%と半数近くを占めた。次に、*speB* 単独保有の菌株が多く、30.9%を占めた。*speA* を保有する菌株はわずか20.4%であった。*speA* を保有する菌株の主な T 型/*emm* 型は、T 1 / *emm*1, T 3 / *emm*3, T 6 / *emm*6, T18 / *emm*18であった。

腸炎ビブリオ：平成12年6月から11月の期間、県内の5漁港の海水について PCR 法と免疫磁気ビーズ法により TDH 産生性腸炎ビブリオの分布を調べた。海水、海泥100検体のうち、29件が TDH 遺伝子陽性となった。さらに、TDH 産生性の O3: K6を5株、O4: K68を1株分離した。

一方、厚生科学研究事業として、中部地方以西7自治体11か所の中央卸売市場で使用されている海水66検体について、腸炎ビブリオの定量、PCR 法とビーズ法による TDH 産生株の検索を行った。その結果、海水の菌数は $3 \sim 9.3 \times 10^3 / 100\text{ml}$ であった。PCR により17件が TDH 遺伝子陽性となった。また、K6, K68免疫磁気ビーズを用いて、TDH 産生性の O3: K6を5株、O4: K68を1株分離した。

【精度管理】：(1) 厚生科学研究事業「地方衛生研究所の機能強化に関する総合的研究」の一環として、牛乳を使用した添加回収試験による内部精度管理をおこなった。(2) 富山県食品関係試験検査業務管理要綱に示される精度管理規定に基づき、県内4保健所、食肉検査所、富山市保健所および衛生研究所の7機関について、内部精度管理調査をおこなった。調査項目は、牛乳の一般生菌数測定とコンビーフの成分規格の検査とした。なお、コンビーフは乾燥食肉製品と仮定し、腸管出血性大腸菌 O111: HNM を接種し、提供した。結果は、一般生菌数測定についてはすべての機関で良好であった。しかし、コンビーフの成分規格検査において、大腸菌を検出し、「陽性」と回答したのは3機関で、他の4機関は陰性と回答した。これらの結果は、各機関の検査方法や検出限界等の技術的な差異によるのではなく、コンビーフへの接種菌量が少なかったか、または、配布した試料において該菌が偏在していたことによると考えられた。

【研修】

保健所の機能強化のため、県及び富山市の保健所の細菌検査担当者を対象に、腸管出血性大腸菌 O157及びサルモネラの検査法について研修会を行った。また、東部家畜保健衛生所の検査担当者2名に、パルスフィールドゲル電気泳動法について実技研修を行った。

化 学 部

【行政および依頼検査】

1. 食品等の検査

(1) 添加物及び成分規格

煮干し等魚介乾製品中の酸化防止剤 (BHA, BHT)、魚肉ねり製品、漬け物等の保存料 (安息香酸、ソルビン酸)、甘味料 (サッカリン) 及び生めん類等の品質保持剤 (プロピレングリコール) 等の検査を行ったところ、野菜加工品の原料に漂白剤 (亜硫酸) の使用基準を超えるものがみられたが、その

他は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、延べ48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。なお、本年度の総検体数は102（項目数は455）であった。

(2) 残留農薬

県内産主要農産物の玄米、だいこん等の4種14検体について、厚生省通知の残留農薬迅速分析法で含窒素系（チオベンカルブ等）、N-メチルカーバメート系（カルバリル等）、有機リン系（ダイアジノン等）、ピレスロイド系（フェンバレレート等）、有機塩素系（フサライド等）の70農薬（76成分）を調査したところ、玄米から含窒素系のフルトラニルが0.07ppm、0.10ppm（残留基準値2.0ppm）検出された。その他のものは全て不検出であった。かんきつ類2種2検体について、イマザリル等の4農薬（4成分）を調査したところ、オレンジからイマザリル1.6ppm（5.0ppm）、グレープフルーツからチアベンダゾール6.0ppm（10ppm）が検出された。

(3) 重金属等

富山湾産魚介類について、18魚種21検体（あじ、まだい等）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0.01～0.33ppm（暫定的規制値0.4ppm）であり、0.3ppmを超えたもののメチル水銀は0.26ppm（同0.3ppm）であった。また9魚種10検体のトリブチルスズオキシド（TBTO）、ジブチルスズオキシド、ジフェニルスズオキシド（いずれも規制値なし）を測定したところ、1検体からTBTOが0.07ppm検出され、他はすべて不検出（0.02ppm未満）であった。

(4) 食品容器

ポリカーボネート製容器3検体について材質及び溶出試験を行ったところ、規格基準に適合していた。

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10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検体についてデイ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

水道浄水24件、水道原水等19件については、病原微生物を除いた健康に関連する項目及び水道水が有すべき性状に関する項目の検査（総項目数1,710）を行ったところ、鉄、濁度及び色度の基準に適合しないものが1件あった。

また井戸水104件について陰イオ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247（総項目数2,334）であり、前年並の検査件数で推移した。

(2) 監視項目

水道原水36件及び浄水30件について、亜硝酸性窒素、ウラン、モリブデン、ニッケルおよびトルエン等32項目の検査を行った。消毒副生成物のトリクロロ酢酸及びジクロロ酢酸が5件から、それぞれ指針値の1/100及び1/10程度検出され、他の項目はいずれも不検出であった。

(3) 井戸水のゴルフ場使用農薬

県内ゴルフ場周辺の井戸水について、平成12年5月（23件）および11月（23件）にゴルフ場使用農薬（シマジン等45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14件（新規分析9件、再分析4件、浴槽水1件）を行ったところ、温泉法第2条に適合するもの

は8件（浴槽水を除く）であり、そのうち2件は療養泉であった。泉質は、ナトリウム－塩化物泉、ナトリウム・カルシウム－硫酸塩・塩化物泉であった。また温泉資源保護を目的として、温泉密集地域の15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っているが、本年度の測定値は前年度の測定値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

イオンクロマトグラフ（IC）で縮合リン酸塩を一斉分析する方法は平成8年度に既に確立した。しかしながら、移動相の水酸化ナトリウム溶液は空気中の二酸化炭素を吸収するので、電気伝導度検出器によるクロマトグラムのベースラインの上昇とノイズの増加は避けられない。移動相に純水を用い、水酸イオン調製装置をICシステムに組み込むことにより、ベースラインとノイズを低減させ、分析精度の向上と定量下限の減少を図ることができた。

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

バナナ、マンゴ、パパイヤ等の熱帯産果実中に含まれるチアベンダゾール、トリアジメノール、ミクロブタニル、トリアジメホン、メパニピリム、メプロニル、フルトラニル、イミベンコナゾールの8種類の殺菌剤について、微分スペクトルクロマトグラム法を用いる簡易分析法を検討した。試料をアセトニトリルで抽出し、溶媒を濃縮乾固した後、高速液体クロマトグラフ（HPLC）用移動相で溶解してHPLCで分析した。フォトダイオードアレイ（PDA）検出器から得られたリテンションタイム、波長、吸光度の三次元データに対して、各農薬に特有の波長、次数による高次微分処理を加えることで微分スペクトルクロマトグラムを作成し、得られたピーク高さから濃度を算出した。本法を用いた各農薬の回収率は83.3～98.0%であった。本分析法は抽出溶液の精製操作が省略できるため溶媒の使用量がきわめて少ないこと、分析に要する時間が大幅に短縮されること等の利点を有する。

富山湾産の新鮮で豊富な魚類は全国的に流通している。昭和51年度の調査と比較のために、本年度は25魚種41検体中の10種類（ヒ素、カドミウム、コバルト、クロム、銅、マンガン、ニッケル、鉛、セレン、亜鉛）の重金属類の含有量調査を行った。魚類可食部の硝酸による湿式分解操作にはマイクロウエーブ高圧分解装置を用いた。従来のケルダール分解法に比較して、試験溶液の調製時間は著しく短縮され、検査業務の省力化を図ることが可能となった。なお、10種の重金属類含有量については概ね前回調査と同レベルであり、食品衛生学的には安全な濃度であった。

3. 飲料水および温泉に関する調査研究

温泉水中の陽イオンについて、IC法により多成分（アルカリ金属、アルカリ土類金属及びアンモニウムの各イオン8種）を一斉分析する方法を検討した。ナトリウムイオン（Na）及びカルシウムイオン（Ca）が多量に存在する場合には、Naとアンモニウムイオン、Caとストロンチウムイオンはピークが完全分離しない場合がある。試料水の希釈あるいはピークの波形処理に注意を払う必要があるものの、IC法による測定値は、鉱泉分析法等従来法（炎光光度法、原子吸光光度法、比色法）による値とよく一致することを明らかにした。

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) キャピラリー電気泳動法（CE法）による光学異性体の分析

発ガン物質であり、内分泌攪乱作用を有することが疑われているベンゾ[a]ピレンは、肝臓内酵素群で代謝されて水酸化することが報告され、これら代謝物の生理活性の有無も注目されている。シクロデキストリンの包接機能を利用し、ミセル動電クロマトグラフィーを用いたCE法により、モノ水酸化ベンゾ[a]ピレンの構造異性体12種類を一斉に分析する方法を開発した。

(2) 偏光吸光度検出法 (PPD) を利用した光学異性体の分析

HPLC の PDA 検出器にプリズムと位相差板を装着することで開発した高感度で汎用性に優れた多波長方式の円二色性検出器を使用して、リンゴ酸光学異性体の簡便・迅速なる分析法を確立した。果汁飲料の分析に適用して、多くの製品にリンゴ酸ラセミ体 (食品添加物) が添加されていることを推定した。

(3) 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

除草剤チオベンカルブは生体内代謝あるいは浄水処理によりチオベンカルブスルホキシドに分解される。この分解生成物には光学異性体 (+ 体, - 体) が存在する。シクロデキストリンの包接機能を利用し、ミセル動電クロマトグラフィーを用いた CE 法により、この光学異性体を分析する方法を開発した。この方法を用いて、各種条件下における分解挙動を解析したところ、(+) 異性体に比べて (-) 異性体が優先的に生成することを見出した。引き続き、異性体の毒性の差異について検討中である。

5. 富山湾の海洋科学基礎研究

平成 8 年度から 10 年度まで富山湾深層水の成分分析と清浄性の把握に努め、化学的及び細菌学的に清浄なこと、栄養塩 (硝酸塩、リン酸塩、ケイ酸塩) が豊富なこと等を明らかにした。環境ホルモンは微量濃度で生理活性 (内分泌攪乱作用) を発現することから社会的関心が高まっており、広範な領域で調査研究が精力的に進められている。分析法としては化学分析のみならず、バイオアッセイの技術も著しく進歩し、超微量分析も可能になっている。本年度からは清浄性の把握のために、金沢大学薬学部の協力を得て遺伝子組換え酵母を用いたバイオアッセイの導入を検討した。その結果、エストロゲン様活性を有する物質については、表層水及び深層水のいずれからも検出されなかった (エストロゲン濃度換算で 10^{-16} モル/L 未満)。

深層水の栄養塩濃度は予想外に変動することが報告され始めた。その変動特性を把握するためには、濃度の連続的な把握が必要となる。従来、栄養塩の測定は手動で分析されており、無人で長時間連続して自動分析する方法は確立されていない。そこで、無人で連続分析する装置の開発を試み、当所に所有する HPLC の各種構成装置を組み合わせ、一部の装置については改造して、硝酸塩の連続自動分析装置を試作・開発した。この装置を用いて、現在まで 1 ヶ月以上連続して水産試験場に揚水されている新鮮な深層水の硝酸塩を 1 時間間隔で測定しており、本装置は十分に実用に耐えるものである。この間、既に硝酸塩濃度の短期的な変動を確認しており、水産試験場は水温、塩分等のデータと関連づけてその要因を解析中である。なお、本研究は海洋科学技術センターと富山県との富山湾深層水の特性解明に関する共同研究の一環として行ったものである。

[理化学検査の技術研修及び精度管理調査等]

1. 食品検査の精度管理

平成 10 年 12 月の「富山県食品衛生検査業務管理要綱」の制定によって、本県の保健所、食肉検査所及び衛生研究所に検査業務管理基準が適用され、昨年度 (平成 11 年度) から各検査機関合同での精度管理調査を行っている。昨年は各機関自らが食品に保存料等を添加して、含有量既知の試料を用いた調査であった。本年度はソルビン酸 (SOA) 及びサッカリンナトリウム (SA) の 2 項目について、含有量が未知の試料を測定する調査を実施した。その結果、SOA 及び SA 回収率はそれぞれ 90~97% 及び 95~102% であり、機関内の変動係数 (CV) はそれぞれ 1% 以下及び 2% 以下であり、機関間 CV は 2 項目とも 3% であった。昨年と比較して、未知試料を用いたにもかかわらず、回収率及び再現性は著しく改善されており、検査精度と信頼性の向上が図られた。共同で精度管理調査を行うことにより、検査の情報を共有することが可能に

なり、検査の信頼性確保に貢献することが出来ると考えられる。同一検査項目を2回連続実施して改善状況を把握しながら、調査を継続的に実施することが重要である。

2. 水質検査の精度管理

富山県水道水質検査精度管理実施要領に基づく精度管理について、本年度は過マンガン酸カリウム消費量（昨年に続き2回目）および鉛（1回目）の2項目について調査を実施した。

過マンガン酸カリウム消費量については、試料として自然水を調製（冷蔵室にて6日間放置後ろ過）して配布した。今年度は、試料を煮沸する容器サイズを統一したこと、一部の検査機関は昨年度の精度管理の結果を考慮して操作法及び使用器具を変更したことにより、室間変動係数が昨年度の20.2%から10.5%と、機関間のばらつきの程度は改善された。

鉛については、市販ミネラル水に鉛標準液を添加した試料を配布した。解析の結果、ICP-MS法による測定値は回収率がほぼ100%であったのに対して、フレイムレス原子吸光光度法及びICP法では回収率がともに70%と低かった。その原因として、フレイムレス原子吸光光度法では試料水中マトリックスの影響、ICP法では物理干渉の影響が推定された。その影響を除去するために、マトリックス修飾剤、内部標準物質を適切に使用することの必要性が再認識させられた。

3. 夏休み子供科学研究室

子供たちに科学へ関心や興味を深めさせることを目的として平成6年度から開催されている。本年度は、「食品に使われている着色料を調べてみよう」のテーマで県内の中学生を対象に実施した。食品の商品価値を高める着色料の色彩の効果、色素の特性を調べる実験、食品からの抽出実験等を体験させて、着色料への認識を新たなるものにした。

環 境 保 健 部

【行政検査】

カドミウム環境汚染に関わる地域住民健康調査（神通川流域住民健康調査）

(1) 1次検診

昭和54年度から実施してきた前環境庁委託による健康調査方式が、平成9年度より新しい方式に改められた。平成12年度は新方式に基づく調査を実施し、対象者2,430名中989名が1次検診を受診した。

(2) 精密検診（2次、3次）

1次検診の結果、尿中 β_2 -ミクログロブリン陽性または蛋白定性陽性のもの210名が精密検診の対象となった。精密検診は指定医療機関である富山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159名の尿、血液について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、経過観察中の管理検診対象者5名のうち4名が受診し、該当する尿および血液検査を実施した。

(4) イタイイタイ病認定申請に伴う検査

申請のあった3名について、該当する尿および血液検査を実施した。

【調査研究】

1. 骨代謝指標による効果的な骨粗鬆症の予防法の確立に関する研究

(1) 骨代謝指標を活用した骨粗鬆症予防検診と保健指導効果の評価

骨密度測定装置による従来からの骨粗鬆症予防検診では、骨密度がすでに減ってしまった者の発見

はできるが、将来の急速な減少の予測はできない。また、生活習慣改善の効果を評価するには、骨密度測定器によると年単位の観察期間が必要で、短期間での評価は困難であった。

そこで富山県では、厚生部健康課、保健所、衛生研究所の共同研究として、短期間でも評価が期待できる尿や血液中の骨代謝指標を活用した新方式の骨粗鬆症検診を、平成10年度から3ヵ年事業としてモデル的に実施した。12年度は最終年であるため、ライフステージ別に、追跡期間中の骨密度および骨代謝指標の変化とライフスタイル要因との関係を解析し、骨密度に影響する因子の検討を行った。また、予防教室での指導効果を骨代謝指標により評価するための検討も行った。その結果、

- 1) 閉経後の女性を対象とした検討では、骨密度に対し、年齢は低下要因、体重は高くする要因、運動は歩行が骨吸収指標を低下させ、骨密度を高くする要因と考えられた。食習慣ではカルシウム700mg以上の摂取で骨吸収の抑制が認められた。意識調査では、高齢者は骨粗鬆症に対する関心が高く、保健指導に対する理解も高かった。改善の評価では、運動習慣の改善ができた者で骨吸収が抑えられる傾向にあり、改善効果の評価に対し、骨代謝指標の有用性が示された。
- 2) 20歳前後の若年女性を対象とした検討では、体格および体脂肪率が骨密度を高める要因となり、初潮の低年齢も高くする要因として示された。中学・高校時代の運動を有する者は現在も歩行時間が長く、追跡時の骨吸収指標は低下し骨密度は増加していたので、成長期に運動することは効率よく骨量を獲得できる要因と考えられた。食習慣ではカルシウム摂取量が600mg以上では骨密度を高める傾向がみられた。しかし、平均摂取量は所要量の約半分（専門学校生303mg、短大生376mg）と極端に不足していた。食習慣の意識調査では「間食しない」短大生で骨吸収指標が低値であり、骨密度の増加率が高かった。従って、規則的な食生活が骨密度を高める要因と判断された。

食事および運動指導に対し、終了時の理解度や改善の有無と骨代謝との関連をみると「理解できた」者で踵骨骨密度が1年後に増える傾向があるなど、若年層では保健指導に対する理解が生活改善への行動変容につながるということが明らかになった。

[骨粗しょう症予防対策モデル事業報告書—富山県厚生部健康課]

- (2) 無機成分摂取量と尿中排泄量ならびに骨代謝指標との関連性の研究

骨粗鬆症の予防に重要な無機成分として、カルシウム (Ca)、マグネシウム (Mg)、リン (P) の摂取量と尿中への排泄量および骨代謝指標との関係を、中高年男女を対象に検討した。その結果、男性では、Ca、Pは所要量に達していたが、Mgが不足しており、その結果、Ca/Mg比と骨型アルカリフォスファターゼは負の関係を示した。このことは、Ca摂取量が充分でもMgの不足により、骨形成機能が低下する可能性を示している。一方、女性ではCa、Mgがともに不足状態にあったが、特に未閉経者において、400mg未満の顕著なCa不足では、骨吸収指標が高く、急速な骨量減少が予測された。

[本研究は平成10年、11年度厚生科研費により、石川県環境保健センターとの共同研究として実施された。]

- (3) 飲料水中のフッ素濃度と骨代謝に関する研究

骨代謝に影響する環境要因を明らかにするため、中国・内モンゴル自治区有経女性について、各種要因を生活習慣の異なる3地域で比較した。昨年度の報告で、草原地域では、乳製品中心の食習慣を有し活動量が多いにもかかわらず、骨吸収指標が他の2地域に比べて顕著に高いことが判明し、骨量の急速な減少が予想された。一方、この地域では、飲料水と尿中のフッ素濃度が高く高濃度のフッ素暴露が推測されたので、飲料水中フッ素濃度と骨代謝との関連を検討した。その結果、骨代謝の安定期である40歳以下の若年女性において、飲料水中フッ素濃度と骨吸収指標に正の相関があり、フッ素が骨吸収を亢進させている可能性が示唆された。

2. イタイイタイ病に関する研究

- (1) 神通川流域住民の平成11年度尿有所見者について、骨代謝と腎機能を検討した。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、骨吸収の指標として尿中ピリジノリン、デオキシピリジノリン、ヒドロキシプロリンを測定し、非汚染地域の同年齢者と比較した結果、いずれの指標も有意に高く、相互に関連を示した。それ故、尿有所見者の骨代謝は骨吸収と骨形成が亢進した高回転型の状態にあると推測された。同対象者では β_2 -ミクログロブリンの尿中濃度が高く、腎尿細管障害が認められたので、骨代謝への影響を検討したところ、骨代謝指標と β_2 -ミクログロブリンとの間に有意な相関はなかった。

従って、尿有所見者の骨代謝の亢進には腎機能障害以外の要因との関連も考慮すべきである。

- (2) 重金属の生体影響に関する調査研究の一環として、昭和54年から7年間、富山県内一般住民の尿中重金属濃度を測定し、性、年齢別の正常範囲を設定して、尿検査成績の評価に役立ててきた。その後、20年以上経過していることから、現在の一般住民の尿中重金属濃度を測定し、50歳以上の女性について20年前と比較したところ、カドミウム濃度は現在の測定値が20年前より低値を示す傾向にあった。

3. 環境汚染物質の生体影響

内分泌攪乱化学物質（環境ホルモン）の一つであるフタル酸エステルは、プラスチックの可塑材として広範囲に利用されており、人での暴露量も多いと推定される。しかし、尿や血液中の極微量濃度の測定は、室内環境からの汚染などにより困難とされている。そこで、尿中に排泄される代謝物（フタル酸モノエステル）のカラムスイッチングを用いた高速液体クロマトグラフィーによる簡易測定法を検討した。さらに健常者10人の尿中濃度を測定したところ、全員から微量ながら代謝物が検出された。

4. 生活習慣病予防に関する疫学的研究

肥満は生活習慣病の危険因子であるが、その成因の1つに遺伝子異常が想定されている。最近、肥満の遺伝子候補として、 β_3 -アドレナリンレセプター遺伝子の異常が報告され、太りやすい体質があることが明らかになった。それ故、予防検診での指導においても、体質を考慮した対策がより有効であると考えられる。そこで、同遺伝子の異常を微量の血液を用いて検出する方法を検討中である。

5. 非水産分野における海洋深層水の利用に関する研究

（海洋深層水のリラックス効果に関する研究）

深層水浴の生体への健康増進効果については、ストレス解消作用が期待されているものの、科学的データに基づく研究報告が未だない。

そこで、平成11年度から富山医科薬科大学および滑川市と共同で、深層水のリラックス作用についての研究を実施している。平成12年度は、20～30歳代の健常な非喫煙男性を対象とし、深層水浴のリラックス効果を、皮膚温、鼓膜温、心拍スペクトル変動、唾液中の電解質や免疫機能などの生理的指標ならびにリフレッシュ感や睡眠調査など心理的指標を用いて、表層水、真水浴、空浴と比較検証する実験的研究を行った。その結果、温浴後の皮膚温は、深層水では全ての測定において真水より高く、皮膚温の変化では、深層水が全ての測定において表層水より高い傾向が示された。従って、深層水の温熱効果は、他の温浴より優れていることが示唆された。また、海洋水の温浴が睡眠の質を改善する傾向がみられたので、さらに睡眠とリラックス度を評価できる自律神経系成分との関係を検討している。

(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	11,531 (69,186)	
	染色体検査	47 (47)	128 (128)
	衛生動物検査	1,156 (1,996)	150 (321)
	小 計	12,734 (71,229)	278 (449)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	525 (525)	
	血清検査	1,487 (3,009)	
	小 計	2,012 (3,534)	
細 菌 部	感染症にかかわる検査	446 (448)	
	食中毒にかかわる検査	121 (357)	
	食品検査	496 (596)	
	水質検査	515 (877)	
	医薬品検査		16 (16)
	小 計	1,578 (2,278)	16 (16)
化 学 部	食品にかかわる検査	181 (1,616)	3 (3)
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	300 (2,787)	54 (1,555)
	温泉分析	16 (180)	13 (390)
	小 計	512 (4,603)	70 (1,948)
環 境 保 健 部	カドミウム住民健康調査	1,155 (4,484)	
	小 計	1,155 (4,484)	

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	11,531 (69,186)
2. 染色体検査	
(1) 血 液	27 (27)
(2) 羊 水	13 (13)
(3) 胎 児	6 (6)
(4) 骨髓液	1 (1)
3. 衛生動物等検査	
(1) 衛生・不快動物	1,134 (1,972)
(2) 食品混入異物	22 (24)

[一般依頼検査]

1. 染色体検査	
(1) 血 液	62 (62)
(2) 羊 水	47 (47)
(3) 胎 児	19 (19)
2. 衛生動物等検査	
(1) 衛生・不快動物	131 (300)
(2) 食品混入異物	19 (21)

ウ イ ル ス 部

[行政検査]

1. 感染源検査	
(1) インフルエンザ	120 (120)
(2) ポリオ	62 (62)
(3) その他のウイルス	137 (137)
(4) リケッチア, その他	171 (171)
(5) 食中毒	35 (35)
2. 血清学的検査	
(1) インフルエンザ	ヒト 247 (1,213)
	ブタ 80 (160)
(2) ポリオ	236 (708)
(3) 日本脳炎	ブタ 259 (259)
(4) エイズ	153 (157)
(5) その他のウイルス	59 (59)
(6) リケッチア, その他	407 (407)
(7) 食中毒	46 (46)

[一般依頼検査]

() 内項目数

細菌部

[行政検査]

1. 感染症にかかわる検査

- | | |
|------------------|-----------|
| (1) 溶連菌 | 323 (323) |
| (2) 赤痢菌 | 5 (5) |
| (3) 結核菌 | 13 (15) |
| (4) 出血性大腸菌 | 79 (79) |
| (5) MRSA | 23 (23) |
| (6) ジフテリア | 2 (2) |
| (7) バンコマイシン耐性腸球菌 | 1 (1) |

2. 食中毒にかかわる検査

- | | |
|-------------|----------|
| (1) サルモネラ | 41 (82) |
| (2) 病原大腸菌 | 73 (268) |
| (3) 黄色ブドウ球菌 | 1 (1) |
| (4) その他 | 6 (6) |

3. 食品検査

- | | |
|---------------|-----------|
| (1) 収去検査 | 110 (126) |
| (2) 集団発生原因食調査 | 386 (470) |

4. 水質検査

- | | |
|-----------|-----------|
| (1) 海水 | 316 (457) |
| (2) 河川水 | 78 (156) |
| (3) 飲料水 | 39 (78) |
| (4) 水道水源水 | 82 (186) |

[一般依頼検査]

1. 医薬品検査

16 (16)

() 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	99 (452)
(2) 残留農薬	35 (1,090)
(3) 重金属類	42 (54)
(4) 容器包装	3 (12)
(5) 有害物質等	2 (8)

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) 水質基準項目	117 (1,196)
(2) 監視項目	66 (968)
(3) ゴルフ場使用農薬	22 (368)
(4) その他	95 (255)

4. 温泉分析

16 (180)

[一般依頼検査]

1. 食品にかかわる検査

(1) 食品成分および添加物	3 (3)
----------------	--------

2. 水質検査

(1) 水質基準項目	30 (1,138)
(2) ゴルフ場使用農薬	24 (417)

3. 温泉分析

(1) 中分析	13 (390)
(2) 小分析	0 (0)

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 989 (1,978)

精密検診 尿, 血液検査 159 (2,385)

(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診

尿, 血液検査 4 (70)

(3) イタイイタイ病患者認定申請に基づく検査

尿, 血液検査 3 (51)

[一般依頼検査]

(8) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
ウイルスによる腸管感染	北 村 敬	全国教育養成栄養士協議会東海・北陸ブロック研修会	平12. 8. 4	雨晴ハイツ (高岡市)
感染症の変遷と最近の話題	北 村 敬	富山県看護協会感染症研修会	平12. 9. 27	富山県看護研修センター (富山市)
新興・再興感染症と我が国の防疫体制	北 村 敬	金沢医科大学基礎臨床総合講義	平12. 11. 21	金沢医科大学 (石川県)
バイオセーフティの原理	北 村 敬	バイオセーフティ技術主任管理者講修会	平12. 12. 5	国立公衆衛生院 (東京都)
ウイルス疾患の制圧と根絶 ヒトレトロウイルス感染	北 村 敬	富山医科薬科大学ウイルス学特別講義	平12. 12. 14	富山医科薬科大学医学部 (富山市)
微生物による犯罪— バイオテロリズムとその対策	北 村 敬	富山県警察本部会 科学捜査研修会	平12. 12. 15	富山県警察学校 (富山市)
AIDS and HIV Infections.	北 村 敬	JICA Clinical Laboratory Technology Course.	平12. 12. 25	東京研修センター (東京都)
ウイルス学的に見た エイズ予防教育	北 村 敬	富山県教育委員会 エイズ教育研修会	平13. 2. 14	富山県総合 教育センター (富山市)
衛生昆虫学	渡 辺 護	富山医科薬科大学医学部	平12. 7. 4	富山医科薬科大学
アトピーと住まいのダニ	渡 辺 護	中部保健所八尾支所 アトピー相談会	平12. 7. 4 平12. 10. 4	中部保健所 八尾支所
住まいの害虫	渡 辺 護	健康住宅研究会	平12. 9. 28	富山県建築士会 会議室
昆虫とは 昆虫のからだと変態	渡 辺 護	きらめきエンジニア事業	平12. 10. 20	富山市立 古沢小学校

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
立山のハエについて	渡 辺 護	山小屋経営者研修会	平13. 3. 7	芦峯地区公民館
臨 床 遺 伝 学	林 美貴子	富山医科薬科大学医学部	平12. 4. 20	富山医科薬科大学
生 化 学	品 川 保 弘	厚生連高岡看護専門学校	平12. 4～9 週1回	厚生連高岡 看護専門学校
生 化 学	品 川 保 弘	高岡市立看護専門学校	平12.10～平13. 3 週1回	高 岡 市 立 看護専門学校
微 生 物 学	石 倉 康 宏	総合衛生学院 第一看護学科	平12. 4～7 週1回	総合衛生学院
微 生 物 学	石 倉 康 宏	高岡市立看護専門学校 第一看護学科	平12. 9～平13. 3 週1回	高 岡 市 立 看護専門学校
微 生 物 学	中 山 喬	高岡市立看護専門学校 第一看護学科	平12. 9～平13. 3 週1回	高 岡 市 立 看護専門学校
微 生 物 学	庄 司 俊 雄	厚生連高岡看護専門学校 看護学科	平12.10～平13. 2 週1回	厚生連高岡 看護専門学校
微 生 物 学	安 藤 秀 二	富 山 市 医 師 会 看護専門学校准看護科	平12. 7～9 週1回	富山市医師会 看護専門学校
ウイルスの特性について	安 藤 秀 二	富 山 県 消 防 学 校 救急科救急標準課程	平12. 12. 14	富山県消防学校
感 染 予 防 医 学 (細菌性下痢症)	刑 部 陽 宅	富 山 医 科 薬 科 大 学 医 学 部	平12. 9. 12	富山医科薬科大学
細菌検査あれこれ	刑 部 陽 宅	富 山 県 保 健 所 長 会	平13. 2. 6	富山県職員会館
感染症や食中毒の話	田 中 大 祐	きらめきエンジニア事業	平12. 12. 19	入 善 高 校 普通科1年生

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
衛生化学領域の理化学分析	松 永 明 信	福 井 県 立 大 学 生 物 資 源 学 部 大 学 院 特 別 講 義	平13. 1. 31	福井県立大学 生物資源学部
HPLC の新規な測定法 「光学活性物質の新規測定法とその応用」	山 本 敦	富 山 医 科 薬 科 大 学 大 学 院 生 物 分 析 学 特 論	平12. 6. 8	富山医科薬科大学 医 薬 研 究 棟
光学活性物質の新規測定法とその応用	山 本 敦	星 薬 科 大 学 大 学 院 特 論	平12. 6. 16	星 薬 科 大 学
キャピラリー電気泳動の新しい応用法 「食品・残留農薬のキラル分析」	小 玉 修 嗣	金 沢 大 学 大 学 院 低分子生体成分分析学特論	平12. 5. 15	金 沢 大 学 薬 学 部
キャピラリー電気泳動の新しい応用法 「食品・残留農薬のキラル分析」	小 玉 修 嗣	富 山 医 科 薬 科 大 学 大 学 院 生 物 分 析 学 特 論	平12. 6. 1	富山医科薬科大学 医 薬 研 究 棟
環 境 保 健 医 学	西 野 治 身	富 山 医 科 薬 科 大 学 医 学 部 保 健 医 学	平12. 6. 27	富山医科薬科大学
骨粗鬆症予防対策事業 「3年間の検査結果から」	西 野 治 身	骨 元 気 教 室 (新川保健所)	平12. 10. 5	黒部市総合体育館

(9) 研 修 指 導

対象者および所属	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
県及び富山市保健所 細菌検査担当10名	平12. 12. 7	O157及びサルモネラの検査法について	細 菌 部
東部家畜保健衛生所 池上 良, 高瀬 相	平13. 2. 26 ～ 3. 2	パルスフィールドゲル電気泳動法について	細 菌 部
富山市保健所 橋本妙子	平13. 1. 25	魚介類中の有機スズ化合物のGCによる分析	化 学 部
福井県立大学 田原大輔	平13. 3. 15～16	GC/MSによる脂肪酸代謝物の分析	化 学 部

(10) 研 修 受 講

受講者氏名	研修期間	研 修 内 容	研修機関	講師所属氏名
米 田 豊	平12. 6. 8～9	先天性代謝異常症検査技術者 研修会 スクリーニング検査における システムの確立とミスの予防	母子愛育会総合母 子保健センター	所長 坂元 正一 他
山 本 敦	平12. 6. 12～17	光学活性物質の特異的 検出法	東京理科大学薬学 部	薬品分析学教室 教授 中村 洋
中 山 喬 中 大 祐 西 坂 美和子	平12. 7. 12～14	衛生微生物技術協議会 第21回研究会	ビッグパレットふ くしま	国立感染症研究所長 竹田 美文 他
田 中 大 祐	平12. 8. 9 ～ 8. 11	結核菌検査特別コース	財団法人結核予防 会結核研究所	結核研究所 基礎研究部細菌学科科 長 高橋 光良 他
本 田 幸 子 林 美貴子	平12. 8. 19～20	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 池内 達郎 他
田 中 朋 子	平12. 11. 10	環境ホルモンのバイオ アッセイ試験法に関す る派遣研修	福井県衛生研究所	北陸先端科学技術大学 院大学 民谷 栄一 他
磯 部 順 子 西 坂 美和子	平12. 11. 30 ～ 12. 1	髄膜炎菌等の検査法	石川県保健環境セ ンター	神奈川県衛生研究所 黒木 俊郎 他

受講者氏名	研修期間	研修内容	研修機関	講師所属氏名
安 藤 秀 二	平13. 1. 9 ～2. 8	国立公衆衛生院特別課程 ウイルスコース	国立公衆衛生院	国立公衆衛生院 衛生微生物学部 西尾 治 他
西 坂 美和子	平13. 2. 19 ～2. 23	旋尾線虫の検査法及び 旋尾線虫幼虫移行症の 血清診断法	東京医科歯科大学	東京医科歯科大学 赤尾 信明
長谷川 澄 代保 細呂木 志	平13. 2. 20～21	希少感染症診断技術研 修会	国立感染症研究所	国立感染症研究所 ウイルス第1部長 倉根 一郎 細菌部長 渡邊 治雄 他
渡 辺 護 安 藤 秀 二	平13. 2. 23	G-SEC 研究セミナー「感染症危 機管理に対する国際社会と我が 国の対応」ウガンダ・エボラ大 量感染症の事例から学ぶ	慶應義塾大学	WHO 顧問 サイモン・マーデル 他
磯 部 順 子	平13. 2. 26 ～3. 9	平成12年度 水道クリ プトスポリジウム試験 法実習	国立公衆衛生院	国立公衆衛生院 水道工学部 国包 章一 他
小 玉 修 嗣	平13. 3. 12～16	キャピラリー電気泳 動・質量分析計による 農薬、食品添加物等の 分析	星薬科大学	薬品分析学教室 教授 中澤 裕之

(11) 客員研究員等招へい

客員研究員招へい事業

客員研究員氏名	所 属 職 名	招へい期間	指 導 内 容
倉 橋 弘	国立感染症研究所 昆虫医科学部媒介生態室 長	平12. 8. 9～12	オロロの生態および駆除に関する調 査法の実地指導
堀 伸二郎	大阪府立公衆衛生研究所 食品化学課長	平12. 10. 4～6	「有機塩素系化合物等の食品汚染と 人体暴露量の推移」講演と技術情報 に関する研修
有 川 二 郎	北海道大学医学部教授 動物実験施設長	平12. 12. 7～9	「動物由来感染症について、ハンタ ウイルスを中心に」講演及び調査解 析法の技術指導、調査地視察

(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
有機塩素系化合物等の食品汚染と 人体暴露量の推移	堀 伸二郎	大阪府公衆衛生研究所 食品化学課長	平12. 10. 4
環境ホルモンのバイオアッセイと その利用	木 津 良 一	金沢大学大学院 自然科学研究科 助教授	平12. 11. 17
動物由来感染症についてハンタウ ウイルスを中心に	有 川 二 郎	北海道大学医学部教授 動物実験施設長	平12. 12. 7
環境水中の微量無機成分の前濃 縮・定量 —富山湾沿岸の水を中心として—	笠 原 一 世	富山大学理学部 生物圏環境科学科助教授	平13. 3. 8

2. 調 査 研 究 報 告

先天性代謝異常等マススクリーニングの成果について (平成12年度の検査成績)

九曜雅子 米田 豊 大江 浩
北村 敬 竹 邦子¹

A Survey Report on Neonatal Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism,
Congenital Hypothyroidism and Congenital Adrenal Hyperplasia
in Toyama Prefecture
(April 2000 ~ March 2001)

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Hiroshi OE,
Takashi KITAMURA and Kuniko TAKE¹

要 旨 平成12年度の検体総数は11,531件で、スクリーニングの結果、クレチン症6人、先天性副腎過形成症1人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24年間で38人（フェニルケトン尿症4人、メイプルシロップ尿症1人、ヒスチジン血症33人）、先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）が21年間で77人、先天性副腎過形成症が12年間で12人となった。その他の疾病としては、現在までに、良性高フェニルアラニン血症7人、チロジン血症2人、グルコース-6-リン酸脱水素酵素（G6PD）異常症1人が発見されている。

先天性代謝異常マススクリーニングは、昭和52年4月に厚生省母子保健事業の一環として導入され、都道府県および政令市が主体となり、代謝異常症の早期発見、早期治療により心身の障害を未然に防止するという目的で実施されている。検査料は、厚生省と地方自治体の公費負担である。

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5疾病についてマススクリーニングを開始した。その後、昭和55年4月にクレチン症、平成元年4月に先天性副腎過形成症の検査が追加された。また厚生省の通知〔1〕を受けて、当所では平成6年度よりヒスチジン血症を対象疾

病から削除しており、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、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。

1 富山県厚生部健康課

3. 検査期間

本報では、平成12年4月より、平成13年3月までの検査実施状況をまとめた。

4. スクリーニング方法

(1) 検査検体

県内の各医療機関において採血された濾紙血液を用いた。

(2) 検査方法

① アミノ酸代謝異常症

カラムスイッチング HPLC [2] により、濾紙血中のフェニルアラニン、ロイシン、メチオニンを測定した。

<検体の前処理>

前報 [2] の試験溶液の調製に準じた。

<HPLC 条件>

前報 [2] の移動相 A 液のアセトニトリルをエタノールに替え、グラジエントパターンとカラムスイッチングのタイミングは以下のとおりとした [3]。

移動相：A 液；エタノール- B 液 (40:60)

B 液；5 mM ペンタンスルホン酸含有
25mM 過塩素酸ナトリウム溶液 (pH2.2)

グラジエントパターン：A 液の割合

0.0-2.4分 5.5%

2.4-9.2分 14.0%

9.2-11.0分 5.5%

カラムスイッチングのタイミング：

0.0-2.0分 A 位置

2.0-8.5分 B 位置

8.5-11.0分 A 位置

その他の条件は前報 [2] に準じた。

② ガラクトース血症

Microplate・酵素法 (バイエルメディカル社製キット「GAL-R」使用) により、濾紙血中のガラクトースを測定した。なお、藤本ら [4] が考案したトランスファープレートを使用する改良法を用いた。また、全検体について Beutler 法 (ロシュ・ダイアグノスティックス社製キット「ガラクトセミア・テスト」使用) を併用した。判定用濾紙は Whatman DE81 [5] を使用した。

③ 先天性甲状腺機能低下症 (クレチン症)

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。

④ 先天性副腎過形成症

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。

(3) 検体のサンプリング

Guthrie 法等で使用していた PUNCH INDEXER MODEL VII A (ファンダメンタル社) を応用し、検体をサンプリングした [6, 7]。

(4) 判定基準

表 1 に示した。

表 1. 判定基準

対象疾病	検査法	測定物質	判定基準値	
			疑陽性	緊急に精密検査を要する
フェニルケトン尿症	HPLC	Phenylalanine	≥ 2.0 mg/dl	
ホモシスチン尿症	HPLC	Methionine	≥ 1.0 mg/dl	
メイブルシロップ尿症	HPLC	Leucine	≥ 3.0 mg/dl	≥ 7.0 mg/dl
ガラクトース血症	Microplate 酵素法	Galactose (Gal)	≥ 3.0 mg/dl	Gal 3.0 mg/dl 以上で ポイトラー法で蛍光の ない場合
	ポイトラー法	Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase	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)	≥ 8 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 ≥ 10 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
			抽出法 ≥ 3 ng/ml	

平成13年10月1日

この判定基準に従い、疑陽性と判定した検体は再採血を依頼し、再検査を行った。再検査でも疑陽性となった場合は、直ちに精密検査機関を受診するよう主治医に報告した。緊急に精密検査を要する場合は、初回検査でも、直ちに主治医に連絡し、小児科受診を勧奨した。

(5) データ処理

検査検体の受付事務処理、検査結果の報告、集計およびデータ管理は、当所で開発したデータ管理システム [8, 9] を用いた。

結 果

1. 検査実施状況

今年度の受付総数は、11,531件で、県内57か所の医療機関（おもに産婦人科医院）より送付されてきたものである。

表2および表3に年度別、月別検査実施状況を示した。

今年度の出生数は9,983人であり、受検率は

表2. 先天性代謝異常等検査実施状況

区 分 期 間	受付総数 (件)	検 査 実人員数 (人)	出生数 (人)	受検率 (%)	疑陽性数 (人)			要精検数 (人)		
					代 謝 異常症	ｸﾞﾙｺｼﾞ症	副 腎 過形成症	代 謝 異常症	ｸﾞﾙｺｼﾞ症	副 腎 過形成症
昭和52年度 ～54年度	29,229	28,450	39,688	71.7	262	—	—	6(4)	—	—
昭和55年度 ～63年度	122,841	115,435	116,956	98.7	1,811	841	—	75(27)	130(25)	—
平成元年度 ～ 5年度	57,040	53,295	51,100	104.3	912	803	361	44(7)	144(22)	86(6)
平成 6年度	11,916	11,103	10,373	107.0	218	155	79	9(0)	30(2)	21(1)
平成 7年度	11,502	10,718	9,945	107.8	171	218	95	3(0)	37(3)	20(0)
平成 8年度	11,857	11,001	10,270	107.1	262	145	100	4(0)	28(3)	18(1)
平成 9年度	11,746	10,907	10,235	106.6	274	142	128	24(0)	25(1)	12(2)
平成10年度	11,639	10,918	10,126	107.8	172	127	83	28(0)	20(6)	14(1)
平成11年度	11,592	11,011	10,173	108.2	51	101	84	4(0)	16(9)	11(0)
平成12年度	11,531	10,930	9,983	109.5	35	107	117	7(0)	18(6)	13(1)
計	290,893	273,768	278,849	—	4,168*	2,639	1,047	204*(38**)	448(77)	195(12)

() は 対象疾病患者数

*, **: 昭和52年度～平成5年度分のヒスチジン血症の数（疑陽性137人、要精検39人、患者33人）を含む

**: この他に対象疾病以外の患者10人あり（良性高フェニルアラニン血症7人、チロジン血症2人、G6PD 異常症1人）

表3. 月別検査実施状況

年 月	平 成 12 年									平 成 13 年			計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
受付検体総数 (件)	904	1,045	932	937	1,080	1,009	1,033	985	800	1,062	876	868	11,531
内 初回検査数 (件)	855	993	882	881	1,027	962	979	941	749	1,013	824	824	10,930
再採血総数 (件)	49	52	50	56	53	47	54	44	51	49	52	44	601
再採血内訳													
2 回目	48	52	48	51	49	44	50	39	48	44	46	43	562
3 回目	1	0	2	5	4	3	3	5	3	5	5	1	37
4 回以上	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2
出生数 (人)	849	873	779	866	920	886	764	848	833	823	727	815	9,983

109.5%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601件で、受付検査総数の5.2%にあたり、そのうち201件（33.4%）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4に示した。疑陽性のためは262件であ

表4. 再採血依頼の理由

疑陽性のため	262 件		
疑陽性以外	115 件		
内 訳	検体不良	29	
	内 訳	検体が古い	25
		血液量不足	1
		保存状態不良	3
	哺乳不良	86	

た。これらのうち、回収できなかったのは18件（死亡2件を含む）で、回収率は93.1%であった。

疑陽性のため以外で再採血を依頼した115件のうち、検体不良のためが29件であった。29件の内訳は、採血後日数が経ちすぎているものが25件、血液量不足が1件、保存状態不良が3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86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12件で、89.6%の回収率となった。

低出生体重児（2,000g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、2,500g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204人（1.9%）に再採血を依頼したが、そのうち26人は哺乳不良であった。

再採血を依頼しても1か月以上検体を送られてこない場合は再依頼しているが、回収率はすべてあわせて92%であった。疑陽性で再採血依頼し回収できなかった症例については、死亡2例以外の16例のうち4例が病院で再検査の結果異常なしであった。その他はすべてNICUからの検体であり、これらの症例も病院で追跡されていると思われる。

採血は、生後4～6日目（生まれた日を0と数える）に行うことになっているが、4日未満に行われたものが2件で、いずれも生後3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、23件が8日以上（最長16日）かかっていた。これらのほとんどは、1月受付分で、年末年始の休み期間の影響と考えられた。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されていたと思われる。しかし、なかには冷蔵庫の中で保管されたまま送付し忘れたものもあり、毎回送付せずに数件まとめて送付している機関の検体であった。

2. 検査結果

検査成績について、表2には年度別、表5には月別の疑陽性および要精密検査数を示した。今年度の疑陽性人数は、代謝異常症が35人（0.3%）、

表5. 月別疑陽性件数および要精密検査数

対象疾病	年 月	平成12年									平成13年			計	再採血率 (%)
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
フェニルケトン尿症		2(1)	1	1	1	0	0	2(2)	0	1(1)	2	0(1)	1	11(5)	0.10
ホモシスチン尿症		0	0	1	0	0	0	0	1(1)	0	0	0	2	4(1)	0.03
メイプルシロップ尿症		2	1	1	2	0	0	1	0	0	1	1	0	9	0.08
ガラクトース血症		0	1	3	0	1	0	1	1	1	1(1)	3	0	12(1)	0.10
クレチン症		13(6)	9	8(2)	4	9	11(2)	8(2)	6(2)	14(1)	5(2)	8	13(1)	108(18)	0.94
副腎過形成症		6(2)	7(1)	4(3)	8(3)	9	12	11(1)	10	20	15	9(2)	7(1)	118(13)	1.02
計		23(9)	19(1)	18(5)	15(3)	19	23(2)	23(5)	18(3)	36(2)	24(3)	21(3)	23(2)	262(38)	2.27

() は 要精密検査数

平成13年10月1日

クレチン症が107人 (1.0%), 先天性副腎過形成症
が117人 (1.1%) であり, そのうち, それぞれ7

人, 18人, 13人に精密検査の必要が認められた.

表6には, 要精密検査者の検査状況と結果をま

表6. 要精密検査者の検査状況と結果

疾病名	症 例	患 者	性 別	生年月日	採血 日	日 令	検査成績	診断名等
フェニルケトン 尿症	1		女	H12.3.29	4.4	6	Phe 2.05 mg/dl 2.425	良性高フェニルアラニ ン血症
					4.15	17	Phe 2.33 mg/dl 2.255 2.365	
	2		女	H12.10.9	10.14	5	Phe 2.04 mg/dl 2.105	異常なし
					10.18	9	Phe 2.2 mg/dl 2.12 2.475	
	3		女	H12.10.16	10.21	5	Phe 1.95 mg/dl 2.535	異常なし
					10.26	10	Phe 2.59 mg/dl 2.39 2.075	
	4		男	H12.12.13	12.18	5	Phe 2.33 mg/dl 2.57	経過観察中
					12.24	11	Phe 2.92 mg/dl 3.08 2.58	
	5		男	H13.1.19	1.25	6	Phe 2.28 mg/dl 2.06	良性高フェニルアラニ ン血症
					2.1	13	Phe 2.50 mg/dl 2.51 2.805	
ホモシチン 尿症	1		男	H12.10.30	11.6	7	Met 0.89 mg/dl 1.015	高メチオニン血症 (乳児一過性の疑い)
					11.9	10	Met 1.07 mg/dl 1.28 1.035	
ガラクトース 血症	1		女	H12.12.23	12.29	6	Gal 3.94 mg/dl ポイトラー正常 4.44	他疾患の疑い
					1.15	23	Gal 19.3 mg/dl以上 ポイトラー正常	
クレチン 症	1		男	H12.3.27	4.3	7	TSH 10.2 μ U/ml 10.0	経過観察中
					4.8	12	TSH 18.3 μ U/ml 18.2 19.9	
	2		女	H12.3.29	4.4	6	TSH 12.2 μ U/ml 11.75	一過性高TSH血症 (疑)
					4.12	14	TSH 13.9 μ U/ml 10.85 12.35	
	3		男	H12.4.3	4.9	6	TSH 7.7 μ U/ml 9.0	経過観察中
					4.17	14	TSH 17.4 μ U/ml 17.15	

表6. つづき

疾病名	症例	患者性別	生年月日	採血日	日令	検査成績	診断名等
クレチン症	4	女	H12.4.10	4.15	5	TSH 6.6 μ U/ml 8.25	一過性高TSH血症
				4.21	11	TSH 10.8 μ U/ml 12.0 12.85	
	5*	男	H12.3.20	3.25	5	TSH 1.0 μ U/ml	クレチン症
				4.24	35	TSH 29.5 μ U/ml 35.3	
	6	男	H12.4.16	4.21	5	TSH 10.9 μ U/ml 10.65	一過性高TSH血症or軽症クレチン症疑い
				4.27	11	TSH 9.7 μ U/ml 8.9 8.8	
	7	女	H12.5.29	6.4	6	TSH 35.5 μ U/ml 37.4	経過観察中
	8	女	H12.4.21	5.8	17	TSH 14.7 μ U/ml 17.95	経過観察中
				6.27	67	TSH 88 μ U/ml以上	
	9*	男	H12.9.3	9.8	5	TSH 14.3 μ U/ml 16.8	クレチン症
				9.14	11	TSH 36.0 μ U/ml 34.3 38.55	
	10	男	H12.8.29	9.18	20	TSH 19.6 μ U/ml 17-OHP 57.7 ng/ml 21.25 直接法 54.5 抽出法 4.75ng/ml	経過観察中
				9.25	27	TSH 14.8 μ U/ml 17-OHP 11.2 ng/ml 16.75 直接法 12.4 16.05 抽出法 2.55ng/ml	
	11	男	H12.9.26	10.1	5	TSH 10.9 μ U/ml 10.0	異常なし
				10.5	9	TSH 9.0 μ U/ml 8.9	
	12*	女	H12.10.3	10.8	5	TSH 18.0 μ U/ml 15.25	クレチン症
				10.14	11	TSH 9.1 μ U/ml 10.1 10.7	
				10.20	17	TSH 9.0 μ U/ml 9.2 8.75	
	13	男	H12.11.2	11.9	7	TSH 29.80 μ U/ml 29.55	一過性高TSH血症（異常なし）
	14*	女	H12.11.2	11.7	5	TSH 8.9 μ U/ml 9.4	クレチン症
				11.15	13	TSH 13.5 μ U/ml 12.75 12.95	
	15	女	H12.11.29	12.4	5	TSH 7.9 μ U/ml 8.15	経過観察中
				12.11	12	TSH 13.4 μ U/ml 14.2	

表6. つづき

疾病名	症例	患者性別	生年月日	採血日	日令	検査成績	診断名等
クレチン症	16	女	H12.12.6	12.11	5	TSH 10.9 μ U/ml 10.55	経過観察中
				1.9	34	TSH136 μ U/ml (80以上)	
	17*	女	H13.1.24	1.29	5	TSH165.7 μ U/ml (80以上)	クレチン症
	18*	男	H13.2.20	2.25	5	TSH 8.0 μ U/ml 8.05	クレチン症 (軽度)
				3.2	10	TSH 16.0 μ U/ml 16.85 18.15	
先天性副腎過形成症	1	男	H12.3.31	4.5	5	17-OHP 60.8 ng/ml 17-OHP29.25ng/ml 直接法 55.85 抽出法	異常なし 在胎週数 41.4 週 生下時体重 3116 g
	2	女	H12.4.11	4.24	13	17-OHP110ng/ml以上17-OHP16.25ng/ml 直接法 抽出法	異常なし 在胎週数 25 週 生下時体重 490 g
	3	男	H12.5.19	5.24	5	17-OHP 26.3 ng/ml 17-OHP13.75ng/ml 直接法 31.4 抽出法	異常なし 在胎週数 28.1 週 生下時体重 1466 g
	4	男	H12.5.4	5.9	5	17-OHP 10.0 ng/ml 17-OHP 3.55ng/ml 直接法 10.85 抽出法	異常なし 在胎週数 28 週 生下時体重 1242 g
				6.2	29	17-OHP 30.4 ng/ml 17-OHP 4.28ng/ml 直接法 31.05 抽出法 TSH 10.5 μ U/ml	
	5	男	H12.5.4	5.9	5	17-OHP 8.8 ng/ml 17-OHP 4.35ng/ml 直接法 13.1 抽出法 13.05	異常なし 在胎週数 28 週 生下時体重 1122 g
				6.2	29	17-OHP 23.0 ng/ml 17-OHP 6.25ng/ml 直接法 24.45 抽出法 TSH 8.45 μ U/ml	
	6	男	H12.6.19	6.25	6	17-OHP 51.2 ng/ml 17-OHP26.5 ng/ml 直接法 62.35 抽出法	経過観察中 在胎週数 24 週 生下時体重 830 g
	7*	男	H12.6.1	6.6	5	17-OHP 4.8 ng/ml 17-OHP 0 ng/ml 直接法 4.3 抽出法	先天性副腎過形成症 (塩喪失型) 在胎週数 35 週 生下時体重 2240 g
				6.29	28	17-OHP 57.9 ng/ml 17-OHP 6.25ng/ml 直接法 58.75 抽出法	
	8	女	H12.7.12	7.24	12	17-OHP 51.8 ng/ml 17-OHP12.15ng/ml 直接法 54.0 抽出法	異常なし 在胎週数 28 週 生下時体重 1464 g
	9	男	H12.6.14	6.19	5	17-OHP 15.2 ng/ml 17-OHP 6.0 ng/ml 直接法 17.35 抽出法	経過観察中 在胎週数 26 週 生下時体重 590 g
				7.14	30	17-OHP 13.1 ng/ml 17-OHP 3.95ng/ml 直接法 14.3 抽出法 9.6	
				7.24	40	17-OHP 30.8 ng/ml 17-OHP 9.2 ng/ml 直接法 29.2 抽出法 31.45	
	10	男	H12.10.4	10.10	6	17-OHP 12.9 ng/ml 17-OHP 4.75ng/ml 直接法 11.5 抽出法	異常なし 在胎週数 35 週 生下時体重 2250 g
				10.12	8	17-OHP 12.9 ng/ml 17-OHP 4.05ng/ml 直接法 12.25 抽出法 11.9	

表6. つづき

疾病名	症例	患者性別	生年月日	採血日	日令	検査成績	診断名等
先天性副腎過形成症	11	女	H13.1.11	1.29	18	17-OHP 35.0 ng/ml 17-OHP 11.0 ng/ml 直接法 34.9 抽出法	経過観察中 在胎週数 28 週 生下時体重 576 g
				2.8	28	17-OHP 71.8 ng/ml 17-OHP 4.1 ng/ml 直接法 75.9 抽出法	
	12	女	H13.2.7	2.26	19	17-OHP 71.1 ng/ml 17-OHP 12.25ng/ml 直接法 60.15 抽出法	異常なし 在胎週数 29 週 生下時体重 1074 g
	13	男	H13.3.6	3.12	6	17-OHP 15.8 ng/ml 17-OHP 4.15ng/ml 直接法 13.95 抽出法	異常なし 在胎週数 36 週 生下時体重 2310 g
				3.15	9	17-OHP 14.8 ng/ml 17-OHP 4.70ng/ml 直接法 14.50 抽出法 14.15	

とめて示した。患者と診断されたのは、クレチン症が症例5, 9, 12, 14, 17, 18の6人, 先天性副腎過形成症が症例7の1人の計6人であった。その他の疾病として、良性高フェニルアラニン血症2人が発見された。

(1) 代謝異常症

フェニルケトン尿症の疑いで5人, ホモシスチン尿症の疑いで1人, ガラクトース血症の疑いで1人が要精密検査となった。フェニルケトン尿症の症例1, 5は鑑別診断の結果, 良性高フェニルアラニン血症と診断された。ガラクトース血症の症例1は他の代謝異常症の疑いがあり, 精査中である。

(2) クレチン症

診断名のついた例について, 検査の結果および経過を示す。

<症例5>日齢5日の検査ではTSH値が $1.0\mu\text{U/ml}$ で正常であったが, 低体重児のため日齢35日に再検査を行ったところTSH $30\mu\text{U/ml}$ 以上で要精密検査となった。小児科での検査の結果, 日齢43日でTSH $75.84\mu\text{U/ml}$, FT_4 0.6ng/dl , FT_3 4.7pg/ml で, 患者と診断され, 治療開始された。

<症例9>日齢11日の再検査で, TSH値が $30\mu\text{U/ml}$ 以上に上昇したため, 要精密検査となった。日齢18日の検査の結果, TSH $100\mu\text{U/ml}$, FT_4 0.3ng/dl 以下, FT_3 2.74pg/ml で患者と診断され, 治療が開始された。

<症例12>日齢5日の初回検査でTSH値が 18.0 , $15.3\mu\text{U/ml}$ と高く, 再検査でTSH値は少し低下

したがまだカットオフ値 ($8.0\mu\text{U/ml}$) 以上であったので念のため再々検査を行ったところTSHは低下しておらず要精密検査となった。日齢27日の検査の結果TSH $37.5\mu\text{U/ml}$, FT_4 1.08ng/dl でクレチン症と診断された。

<症例14>日齢13日の再検査でTSH値が上昇していたため, 要精密検査となった。小児科での検査の結果, TSH $22.88\mu\text{U/ml}$, FT_4 0.95ng/dl , FT_3 3.76pg/ml で患者と診断された。

<症例16>日齢40日の再検査の結果でTSH $80\mu\text{U/ml}$ 以上のため要精密検査となった。極小未熟児 (827g) で, NICUに入院中であったが, 病院での検査の結果TSH $2.0\mu\text{U/ml}$ で正常, FT_4 のみ低値で, 元気がないため治療が開始された。

<症例17>日齢5日の検査の結果, TSH $80\mu\text{U/ml}$ 以上で即要精密検査となった。小児科受診時, 黄疸, 小泉門開離が認められ, 大腿骨骨端核が小さく, 精査の結果TSH $518\mu\text{U/ml}$, FT_4 0.5ng/dl で, 患者と診断され, 治療が開始された。

<症例18>日齢10日の再検査でTSH値が上昇していたため要精密検査となった。日齢24日の小児科での検査の結果TSH $8.62\mu\text{U/ml}$, FT_4 1.4ng/dl , FT_3 4.6pg/ml で, 軽度の甲状腺機能低下が認められ患者と診断された。

(3) 副腎過形成症

患者と診断されたのは症例7である。日齢5日の検査の結果は17-OHPが直接法で 4.8 , 4.3ng/ml , 抽出法では 0ng/ml とカットオフ値以下であったが, 体重減少 (-466g) が認められた。日齢28日

で再検査を行った結果、17-OHP値は直接法で50ng/ml以上と上昇、抽出法でも6.25ng/mlと高くなっていた。哺乳不良もあり、主治医に連絡したところ、ショック症状が認められたため日齢28日より治療が開始されたとのことであった。診断の結果は、塩喪失型の患者であった。初回検査では17-OHPが低値であったことから、念のため同一検体で確認したが、結果は直接法4.65ng/ml、抽出法0.4ng/mlと同様の結果であった。特異な例と考えられた。

要精検となった13人のうち2,000g以下の低出生体重児は9人であった。さらにそのうち1,000g以下の極小未熟児は4人であった。

全国および富山県の患者発見状況は表7に示した。

富山県における現在までの患者発見率は、検査対象の代謝異常症が1/7,200、クレチン症が1/3,200、副腎過形成症が1/10,800である。全国との患者発見率と比較するとクレチン症の発生頻度が有意に高いといえる ($P < 0.05$)。

精度管理については、アミノ酸、ガラクトース、TSH、17-OHPの異常検体は全てカットオフ値以上

で拾い上げられており、見逃しはなかった。また、事務処理上の記入もれ、記入間違いもなかった。

考 察

新生児のマススクリーニングが開始されてからすでに20年が過ぎ、これまで多数の患者が、早期に発見され、早期に治療開始されたことで、重大な障害を発症することなく成育しており、その功績は多大なものであると言える。

この20数年間には、対象疾病の見直しによる追加や削除があり、現在は6疾病が対象となっている。さらに今後追加される可能性がある疾病については、一部の施設でパイロットスタディが行われている。

ところで、これまでのマススクリーニングで、対象以外の疾病が偶然に発見されたという例が多数見受けられる[10. 11. 12. 13]。著者らが経験した例は、以前実施していたヒスチジン血症のスクリーニングで発見されたチロジン血症やガラクトース血症のスクリーニング（ポイトラー法）で発見されたG6PD異常症等である。また、今回報

表7. マススクリーニングによる全国及び富山県の患者発生状況

区 分	富 山 県		全 国	
期 間	平成12年度	昭和52年度～平成12年度	昭和52年度～平成11年度	
受 検 者 数	10,930 人	273,768 人	29,657,738 人	
患者数, 発見率 疾病名	患 者 (人)	患 者 (人)	患 者 (人)	患 者 (人)
フェニルケトン尿症	0	4 1/ 68,400	383	1 / 77,400
ホモシスチン尿症	0	0	164	1 / 180,800
ヒスチジン血症	—	33 1/ 6,000 ¹⁾	2,200	1 / 9,600 ²⁾
メイプルシロップ尿症	0	1 1/ 273,800	59	1 / 502,700
ガラクトース血症	0	0	839	1 / 35,300
クレチン症	6 1/ 1,800	77 1/ 3,200 ³⁾	6,194	1 / 4,200 ⁴⁾
先天性副腎過形成症	1 1/ 10,900	12 1/ 10,800 ⁵⁾	909	1 / 16,300 ⁶⁾

1) 昭和52年度～平成5年度 受検査数 197,180人

2) 昭和55年度～平成12年度 受検査数 245,318人

3) 平成元年度～平成12年度 受検査数 129,883人

4) 昭和52年度～平成4年度 受検査数 21,119,892人

5) 昭和54年度～平成11年度 受検査数 26,319,583人

6) 昭和63年度～平成11年度 受検査数 14,776,976人

告したガラクトース高値で要精密検査となった例が、未だ検査中ではあるが、尿素サイクル系異常症の可能性があるということであった。

一方、対象の疾病でも、典型的な病態を示すものばかりではなく、非典型的な例も数多く発見されている。新生児期のスクリーニングでは発見されにくい遅発型クレチン症については、多くの症例が報告されている [14, 15]。また、最近では、遅発型先天性副腎過形成症の存在の可能性も示唆されている [16]。今回報告した先天性副腎過形成症患者例は、初回検査の直接法でカットオフ値以上であったが、抽出法では17-OHPはほとんど検出されなかった。本来低出生体重児は2,000g以下としており、この例の場合は、出生体重が2,240gで再検査の対象ではなかったが、体重減少が大きく初回採血時（日齢5日）には1,700g台になっていたため、再検査を実施することにした。日齢28日の再検査の結果、17-OHP値は上昇しており、結果連絡時には、すでに症状が認められ、塩喪失型と診断され治療が開始されていた。著者らは初回検査の結果から、以前他県でクレチン症患者の検体取り違い [17] があったことも考慮に入れ、同一検体で再確認したが、同様の結果であった。また同じ日に同じ病院で採血された児がもう1人いたが、カットオフ値以下で正常であった。これまで報告されている先天性副腎過形成症患者のスクリーニングにおける17-OHPの最低値は、初回検査直接法では4.3ng/ml、抽出法では2.2ng/ml、再検査の抽出法では2.9ng/ml [18] であり、今回の例は特異な例と考えられた。また、血清検体では17-OHPは高値であるのに、濾紙血の測定値では低かった例の報告 [16] もあり、このような特異例が存在することを採血医療機関も周知する必要があると考える。

この様に、非典型的な病態を示す例の発見等、マススクリーニングで何らかの問題が生じた場合には、行政関係、採血機関、治療機関、検査機関のメンバーから構成された地域協議会において検討し対応していかなければならない。

たとえば、スクリーニングで異常が認められた例の追跡調査について、当所では精検病院の受診

の確認と診断結果の把握までは実施しているが、その後の継続的なフォローアップ体制は十分できていない状況にある。特に里帰り分娩等で県外に転出した例については、各自治体の協議会との地域連携体制を整備することで、継続的な調査が可能となるはずである。

地域協議会は、対象疾病の検討や倫理規定の決定機関でもある。前述のような特異例や対象以外の疾病が発見された場合に、患者のプライバシーを考慮に入れて、検査結果や治療経過の情報を協議会で共有することは、スクリーニング自体のレベルアップにもつながる。

また、検査技術に関しては、平成11年度途中から全国に先駆けて検査法にHPLC法を導入するなど、より高精度で効率的な方法に替えており、地域協議会は、これらについての情報提供の場としての役割も重要である。

したがって、本県における地域協議会を早急に設置する必要があるのではないかと考える。

文 献

1. 厚生省児童家庭局長 (1992). 児発第764号.
2. 米田 豊, 九曜雅子 (2000). 富山衛研年報, 平成11年度, 47-59
3. 米田 豊, 九曜雅子 (2001). 富山衛研年報, 平成12年度, 48-53
4. 藤本昭栄, 大浦敏明, 長谷 豊 (1991). 日本マス・スクリーニング学会誌, 1 (1), 211-212
5. 美澄博雄, 高坂睦年, 和田 洋, 川上幹子, 二宮福子, 末石照香, 市場洋三 (1980). 代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 46-47
6. 九曜雅子, 米田 豊, 大江 浩, 北村 敬, 井澤朋子 (1998). 富山衛研年報, 平成9年度, 42-58
7. 米田 豊 (1998). インターネット URL, <http://homepage1.nifty.com/screening/punch.htm>
8. 米田 豊, 高橋雅子 (1995). 富山衛研年報, 平成6年度, 58-65
9. 米田 豊 (1999). 富山衛研年報, 平成10年

度, 54-57

10. 高柳正樹, 金沢正樹, 花城恵美子, 大竹 明, 山本重則, 阿部博紀, 佐藤好範, 柿沼宏明, 末次和美, 斎藤佐織, 磯部清房, 浜中広健, 新美仁男 (1994). 日本マス・スクリーニング学会誌, 4 (1), 15-20
11. 大浦敏博, 坂本 修, 小川英伸, 森本哲司, 勝島史夫, 藤本昭栄, 遠山ゆり子, 植田ヤイ子, 阿部義隆, 加藤一夫, 飯沼一字 (2000). 日本マス・スクリーニング学会誌, 10 (1), 41-46
12. 内山智明, 横田行史, 松浦信夫, 福士 勝, 鈴木 健, 重松陽介 (2000). 日本マス・スクリーニング学会誌, 10 (1), 53-58
13. 小野浩明, 溝口信行, 佐倉伸夫, 山岡裕明, 浜川以行 (2000). 日本マス・スクリーニング学会誌, 10 (2), 70
14. 猪股弘明, 中島博徳 (1993). 日本マス・スクリーニング学会誌, 3 (1), 101-105
15. 原田正平, 松浦信夫 (2000). 日本マス・スクリーニング学会誌, 10 (3), 43-50
16. 立花克彦, 猪股弘明, 青木菊麿, 黒田泰弘, 山上祐次, 市嶋正夫 (2000). 日本マス・スクリーニング学会誌, 10 (2), p65
17. 立花克彦, 檜作和子, 安達昌功, 山上祐次, 諏訪城三 (1999). 日本マス・スクリーニング学会誌, 9 (1), 51-53
18. 山下啓子, 香川昌平, 前川昭廣, 松岡 瑛 (1999). 日本マス・スクリーニング学会誌, 9 (1), 41-50

アセトニトリルを用いない乾燥ろ紙血液中 アミノ酸の逆相 HPLC 分析法

米田 豊 九曜 雅子

Analytical Method of Amino Acids in Dried Blood Specimens
by Reverse Phase HPLC without using Acetonitrile

Yutaka YONEDA and Masako KUYO

要 旨 新生児のアミノ酸代謝異常症マス・スクリーニング検査を目的として当所で開発したアミノ酸の逆相 HPLC 分析法を改良し、有害物質であるアセトニトリルを使用せず、より低毒性の溶媒であるエタノールを移動相に用いる方法を検討した。また、トリプトファンも同時分析できる分析条件を確立した。トリプトファンも定量対象とすることで、先天性トリプトファン代謝異常症の鑑別の他、フェニルアラニン高値の場合、フェニルケトン尿症 (PKU) と 5,6,7,8- テトラヒドロビオプテリン欠乏症 (BH₄ 欠乏症) との鑑別への応用が期待できる。

前回、先天性アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニング検査の一次検査を目的として、メチオニン (Met)、ロイシン (Leu) およびフェニルアラニン (Phe) のカラムスイッチング HPLC による同時定量法の開発を行った [1, 2, 3]。その後、平成12年4月にアミノ酸の HPLC 定量法が厚生省から新生児マス・スクリーニング検査法として正式に認可されたことから、HPLC 定量法をアミノ酸の日常分析法として採用している。しかし、先に開発した方法はアセトニトリル-水系の移動相を用いる逆相 HPLC 法であるため、有害物質であるアセトニトリルを用いていた。そこで、今回、毒性の低い溶媒としてエタノール-水系の移動相を用いる方法への改良を試みた。また、フェニルケトン尿症と BH₄ 欠乏症の鑑別を指向して、トリプトファン (Trp) も定量対象とする分析条件を確立した。

材 料 と 方 法

1. 材料

平成12年10月に検査依頼のあった一般新生児のろ紙血液の一部 (280検体) を用いた。

2. 装置および試薬

装置および試薬は前報 [3] に準じた。

3. 試験溶液の調製および HPLC 条件

試験溶液の調製は前報 [3] に準じた。また HPLC は図1に示す流路によるカラムスイッチング法により、次の条件で行った。

カラム: Develosil ODS-UG- 5 4.6mm i.d. × 100mm

前処理カラム: 4.0mm i.d. × 10mm

前処理および分析カラム温度: 40℃

移動相: A 液; エタノール-B 液 (40:60), B 液; 5mM ペンタンスルホン酸含有50mM 過塩素

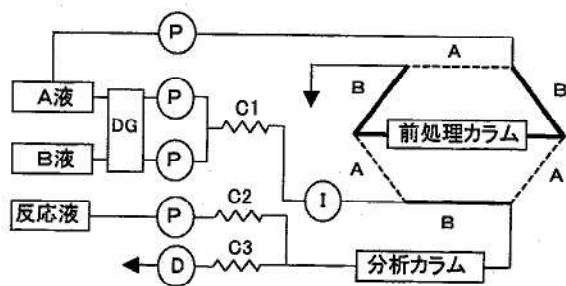


図1. 流路図

P; ポンプ, I; オートインジェクター,
D; 蛍光検出器, DG; デガッサー,
C1; ミキシングコイル (内径0.8mm, 長さ2.5m),
C2; 圧力調整コイル (内径0.1mm, 長さ2.0m),
C3; 反応コイル (内径0.5mm, 長さ1.0m)

酸ナトリウム溶液 (pH2.2)

グラジエントパターン: A 液の割合は0.0-2.4分; 5.5%, 2.4-9.2分; 14.0%, 9.2-11.0分; 5.5%

カラムスイッチのタイミング: 0.0-2.0分; A 位置, 2.0-8.5分; B 位置, 8.5-11.0分; A 位置

移動相流速: 1.25ml/min

蛍光検出波長: Ex340nm, Em450nm

OPA 反応液流速: 0.3ml/min

前処理カラム洗浄液流速: 0.3ml/min

注入量: 10 μ l

結 果

1. 移動相中のエタノール濃度とグラジエントパターン

エタノールを含む移動相 A 液中のエタノールの含有率は, アセトニトリル-水系の移動相 A 液と同様40%として, 分析時間を11分間にするためのグラジエントパターンを検討した. 移動相中の A 液の割合を0.0-2.4分は5.5%, 2.4-9.2分は14.0%, 9.2-11.0分は5.5%とした場合, 前報のアセトニトリルを含む移動相を用いた場合とほぼ同様のクロマトグラムが得られた. 図2に標準液および正常新生児ろ紙血液のクロマトグラムを示した. エタノールはアセトニトリルより溶出力が強く, エタノールを用いる場合, 移動相中の A 液の割合は, アセトニトリルを用いる場合に比較し,

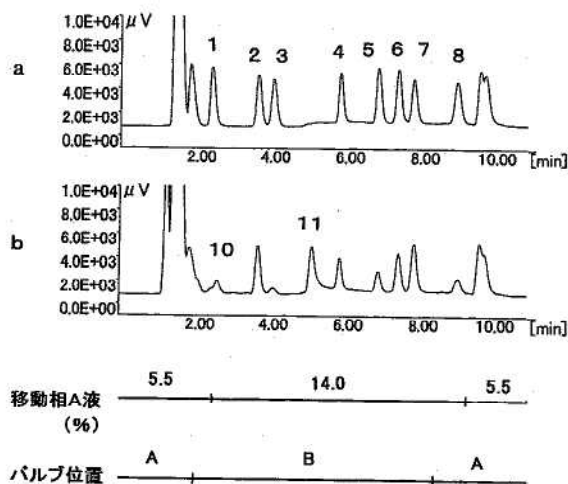


図2. 日常分析モードにおける標準液(a)および正常新生児ろ紙血液(b)のクロマトグラム

1; Arg, 2; Val, 3; Met, 4; Tyr, 5; Ile, 6; Leu, 7; Nle (IS), 8; Phe, 10; X1, 11; X2

低い割合で同様の溶出パターンが得られた. なお, エタノールを用いる場合は Val と Met の分離が, アセトニトリルを用いる場合に比較し若干劣るが, 定量への支障は特に認められなかった.

2. カラムの切換えタイミング

アセトニトリルを含む移動相を用いる場合のカラム切換えバルブの切換えタイミングは, 0.0-2.0分が A 位置, 2.0-9.0分は B 位置, 9.0-11.0分は A 位置としていたが, エタノールを含む移動相では, 9.0-11.0分の2分間では, 次回分析のための初期状態への戻りが, やや不十分と思われたため, 8.5分で A 位置へ切り替えることとした. 従って, 0.0-2.0分が A 位置, 2.0-8.5分は B 位置, 8.5-11.0分は A 位置とした.

3. トリプトファンも定量対象とする場合の HPLC 条件

前項のカラム切換え方法では Trp は分析カラムへは注入されず, 前処理カラムから, 直接, 排出されてしまう. そこで, 注入直後のバルブ位置を A 位置にしておく時間を2分間から5分間に延ばすことにより, Trp が分析カラムに注入されるようにした. また, Trp は Phe より後に溶出されるため, Trp も定量対象とする場合, 11分サイクルで

の分析ではやや困難である。そこで、グラジエントパターン及びカラムスイッチのタイミングを検討した結果、分析サイクルは13分間とし、移動相中のA液の割合を0.0-2.0分は5.5%, 2.0-6.9分は14.5%, 6.9-10.0分は35.0%, 10.0-13.0分は5.5%とし、カラム切換バルブの切換えタイミングは、0.0-5.0分がA位置、5.0-10.5分はB位置、10.5-13.0分はA位置とすることで、Trpを含めた定量が可能であった。この条件における標準液および正常新生児ろ紙血液のクロマトグラムを図3に示した。後者のクロマトグラムでは未同定ピークX3が検出された。

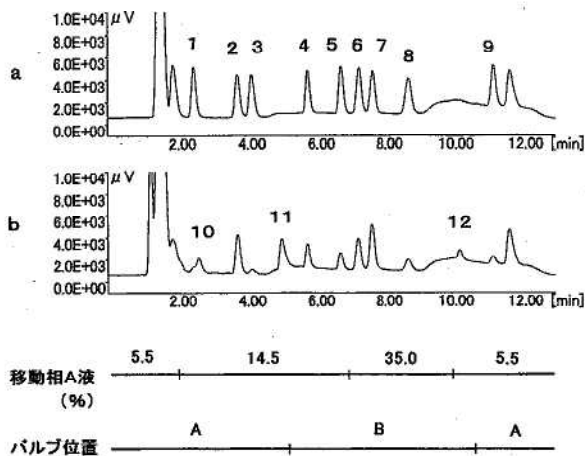


図3. Trp 測定モードにおける標準液(a)および正常新生児ろ紙血液(b)のクロマトグラム

9; Tyr, 12; X3, その他のピーク番号は図2と同じ

4. 移動相中の過塩素酸濃度の影響

アセトニトリルを含有する移動相で、新生児のろ紙血液の分析を行った場合、MetとTyrとの中間位置に大きな不明ピーク(X2)が出現する。従って、エタノール含有移動相を用いるHPLCでのX2の溶出位置を確認する必要がある。また、X2及び分析対象アミノ酸相互の分離パターンと過塩素酸濃度との関係を再確認しておく必要があると考えられたため、11分サイクルの分析条件で、移動相中の過塩素酸濃度を15, 25及び40mMに設定し、比較を行った。その結果は、図4に示すように、いずれの濃度でも分離パターンに大差は認められず、また、各ピークの溶出順序もアセトニ

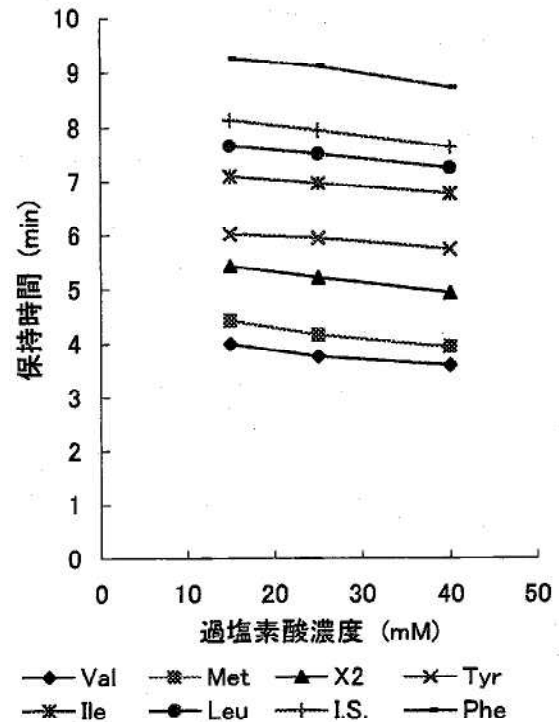


図4. 移動相中の過塩素酸濃度がアミノ酸の保持時間に及ぼす影響

トリル含有移動相を用いた場合と同様であった。これらのことから、過塩素酸濃度はアセトニトリル含有移動相を用いる場合と同様、25mMを採用した。

5. 定量値の比較

一般新生児ろ紙血液280検体を用い、アセトニトリル含有移動相とエタノール含有移動相を用いる場合での各アミノ酸定量値の比較を行った。その散布図を図5-1, 5-2および5-3示した。いずれのアミノ酸とも両法の定量値は良好な相関を示し。相関係数は、Met0.872, Leu0.989およびPhe0.950であった。本法での定量値の平均値(()内はアセトニトリル含有移動相の場合)はMet0.33 (0.31), Leu1.60 (1.65) および Phe0.91 (0.89) mg/dlでアセトニトリル含有移動相の場合とはほぼ同様の値を示した。

6. カラムの耐久性への影響

移動相のアセトニトリルをエタノールに替える

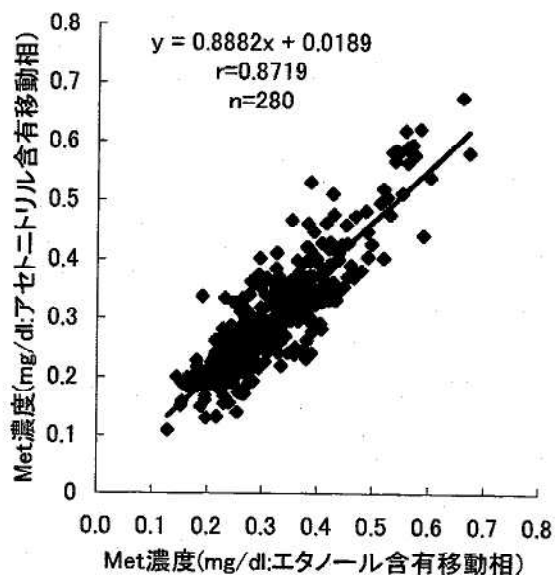


図5-1. アセトニトリル含有移動相とエタノール含有移動相間の Met 定量値の相関

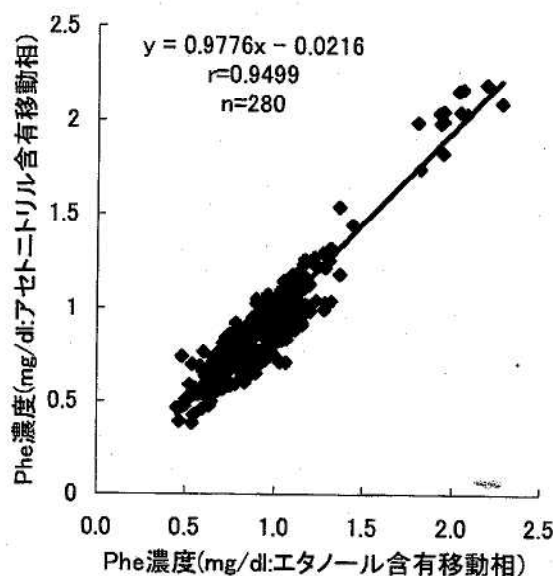


図5-3. アセトニトリル含有移動相とエタノール含有移動相間の Phe 定量値の相関

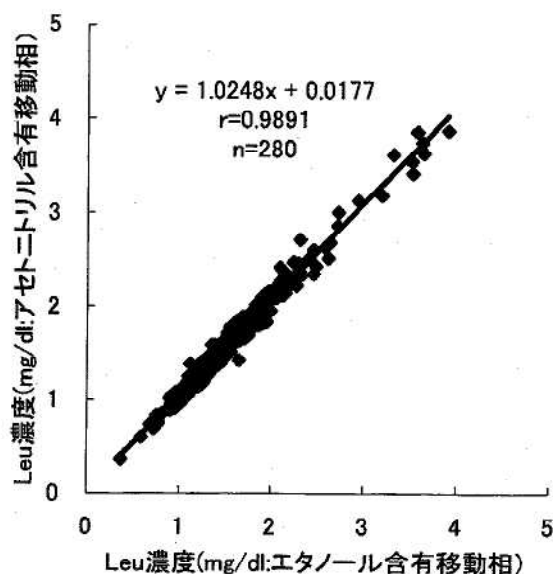


図5-2. アセトニトリル含有移動相とエタノール含有移動相間の Leu 定量値の相関

ことによるカラム耐久性の低下は特に認められなかった。ただ、検体処理数の増加に伴い、逆相カラムに共通の現象である保持時間が僅かづつ短くなる現象を認めた。しかし、この場合、移動相中の A 液の割合、すなわちエタノールの割合を僅か

づつ低くすることで特に支障なく定量が可能であり、アセトニトリルを用いる場合と同様、1本のカラムで約7000検体の処理が可能であった。

考 察

現在、アミノ酸代謝異常症の新生児マス・スクリーニング検査に導入可能な HPLC 法として逆相カラムを用いる方法とイオン交換カラムを用いる方法がある [4]。逆相カラム法はイオン交換カラム法より高い分離能を示し、且つ、より短時間の分析が可能である。しかし、これまで、移動相に有害物質であるアセトニトリルを用いる欠点があった。アセトニトリルは濃厚な蒸気を吸入すると悪心、嘔吐、呼吸障害を起こす [5, 6] ことが知られており、毒劇物取締法の劇物、水質汚濁防止法施行令第2条の有害物質に指定されている。一方、神経芽細胞腫マス・スクリーニング検査においても、アセトニトリルを用いる HPLC 分析が採用されているが、この場合は、移動相のリサイクルが可能であり、移動相の排出量を低減できる [7]。しかし、本法はポストカラム法を用

いている関係上、移動相のリサイクルは困難である。そこで、アセトニトリルをエタノールに替える方法を検討した。その結果、環境に優しく、作業員にとってもより安全で、従来と同様11分間の短時間分析が可能な方法に改良できた。また、分析時間を13分サイクルとすることで、Trpの同時定量も可能な分析条件を確立できた。先天性トリプトファン代謝異常症としては、先天性トリプトファン尿症、トリプトファン吸収不全症（青いおむつ症候群）などの疾病が知られており、前者では尿や血中の、後者では尿や便中の Trp の増加が診断の参考にされる [8]。従って、本法はこれらの先天性トリプトファン代謝異常症の鑑別への応用が可能と思われる。また、Phe が高値となるフェニルケトン尿症 (PKU) と BH_4 欠乏症ではそれらの治療法が異なることから、両疾患の迅速な鑑別が必要となる。 BH_4 (図6) は図7に示すように

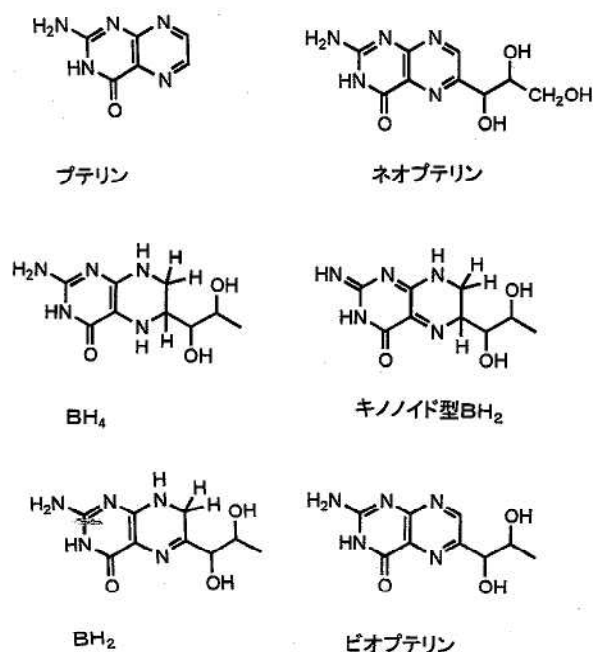
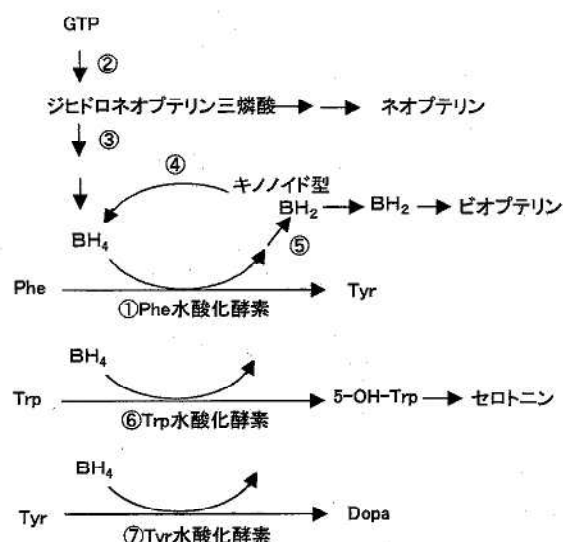


図6. プテリン化合物の構造式

Phe, Trp 及び Tyr の代謝に共通の補酵素であり、 BH_4 欠乏症では Phe の増加と併せて Trp も増加する可能性があると考えられる。しかし、今のところ BH_4 欠乏症と Trp 定量値との関連性を調査した報告は見当たらない。PKU と BH_4 欠乏症との鑑別は BH_4 負荷時の血清 Phe 値の変化と尿プテリジン分析が必要であり、更に DHPR 欠乏症との鑑



古典的 PKU ①: Phe 水酸化酵素 (PAH) の欠損症

BH_4 欠乏症 ②: GTP シクロヒドロラーゼ I (GTPCH I) 欠損症
③: TPTS 欠損症
④: ジヒドロプテリジン還元酵素 (DHPR) 欠損症
⑤: プテリン-4a-カルビノールアミンデヒドラターゼ (PCD) 欠損症 (プリマプテリン尿症)

図7. Phe, Trp および BH_4 の代謝経路

別のために赤血球中 DHPR 活性の測定が必要であるなど、鑑別は容易でない。従って、 BH_4 欠乏症では Trp が増加し、PKU では Trp の増加が認められないことが確認されれば、両疾患の鑑別が容易になるため、今後、検討が必要と考える。本法では同一装置で分析モードの簡易な変更により Trp の同時定量も可能となり、新生児マス・スクリーニングのためのアミノ酸 HPLC 法として有用と考える。

文 献

1. 米田 豊, 九曜雅子 (1999). 日本マス・スクリーニング学会誌, 9 (2), 84.
2. 米田 豊, 九曜雅子 (1999). 日本マス・スクリーニング学会誌, 9 (3), 43-55.
3. 米田 豊, 九曜雅子 (2000). 富山衛研年報, 平成11年度, 47-59.
4. 米田 豊ほか (2000). 第28回日本マス・スクリーニング学会第23回技術部会資料57-61.
5. 急性中毒情報ファイル第3版, 吉村正一郎ら

平成13年10月1日

編 (1998), p407, 廣川書店.

6. 13398の化学商品 (1998), p360, 化学工業日報社.

7. 穴沢 昭, 間下充子, 松本 勝, 岩田光正,

大和田 操 (1994). 日本マス・スクリーニング学会誌, 4 (3), 77-83.

8. 代謝 Vol19臨時増刊号「先天性代謝病免疫病ハンドブック」(1982), p388-397, 中山書店.

ヒト染色体に関する調査研究—血液、骨髓液— (平成12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12年度の受付数は血液89人と骨髓液1人の計90人であり、うち5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ダウン症候群2人、均衡転座保因者1人（習慣流産3回）、モザイク型ターナー症候群1人と11番染色体短腕部分トリソミー1人であった。また、正常変異である9番染色体ヘテロクロマチン部の逆位保因者が1人（習慣流産3回）発見された。依頼理由は流産を繰り返す不育症等の夫婦および低身長によるものが主であった。依頼理由から、最近の補助生殖技術の進歩と普及および社会的背景の変化が感じられた。また、昭和48年度から、平成12年度までに検査を行った1,704件（実人数1,678人）中、1,664件（同1,651人）が検査可能であった。うち233人に染色体異常が発見され、異常率は14.1%になった。

染色体検査法の発達は近年著しく、染色体異常による新しい疾患が数多く知られるようになってきた。そのため、臨床の間でも染色体検査は広範囲に行われている現状である。一般に、染色体検査は先天異常児や精神運動発達遅滞児の確定診断、習慣流産など不育症の夫婦の原因検索、出生前診断、流産胎児の原因検索、白血病の診断や上記理由の家族等がその対象となっている。最近、生殖障害の研究の発達が著しく、体外受精・胚移植（IVF-ET）や顕微授精、卵細胞質内精子注入法（ICSI）などの補助生殖技術（ART）による妊娠が増加したため、妊娠の不成功を繰り返す場合の不育症による染色体検査も増加している。

当所では先天異常の発生原因を追求し、その発生の減少を目的として28年間染色体検査を行ってきた。ここに平成12年度中の結果とともに過去28年間の検査内容、依頼理由の変化等について報告

する。

実 施 方 法

各病院から送られてきた末梢血液（ヘパリン採血）を3～4日間培養し、通常の方法により、染色体標本作製した。その概要は以下のとおりであった。全血1 mlに対し、培養液10ml（15%牛胎児血清加RPMI1640）を添加し、3日間37℃にて培養後、コルセミド（最終濃度0.02 μ g/ml）および臭化エチジウム（同5 μ g/ml）を添加し、1時間培養した。その後、遠心管に移し、1,200rpm 5分間遠心後、上清を除き、PBSを10ml添加した。さらに1,200rpm 5分間遠心後、上清を除き、0.075MKCL18mlを加え、37℃ 18分間低調処理を行い、固定液（3：1メタノール：酢酸）を静か

に重層し、ゆるく攪拌、冷蔵庫に30分間静置した。1,200rpm 5分間遠心後、上清を除く処理を数回繰り返した。最後に、細胞の濃度を調整し、スライドグラス上に数滴滴下し、65℃の湯煎器上で3分間乾燥した。また、培養日数が5日以上になる場合は冷蔵庫（4℃）に1～2日間保存後、上記の方法で培養を開始した。

一部の検体ではメソトレキセート（MTX）による細胞培養同調法を併用し、高精度分染法〔1〕を行った。その概要は以下に示したとおりである。末梢血液培養の3日目に 10^{-7} MのMTXを添加し、17時間培養後、1,000rpm 5分間遠心後上清を除き、 10^{-5} Mチミジンを含む新しい培養液に交換し、5時間培養後、コルセミド処理を10分間行い、その後は前記の通常の方法に従い、染色体標本作製した。

染色はおもにトリプシン処理ギムザ後染法によるGバンド法〔2〕によった。分析は概ねパリ会議に基づき、写真判定は5枚以上とし、分析細胞数は20個以上としたが、ターナー症候群の疑いの場合は100個以上の細胞を観察した。

クロモゾームペインティング法とFISH法はVYSIS製プローブを用い、前川らの方法〔3, 4〕に準じた。姉妹染色分体交換法は既報〔5〕に従った。

平成12年度の検査依頼数は90件（人）で、全て県内の病医院からの依頼であり、依頼病医院内訳を表1に示した。

結果および考察

1. 平成12年度

平成12年度の依頼数は血液89人と骨髓液1人の計90人であった。依頼理由と染色体異常の有無等については表2に示したが、依頼理由のほとんどは不育症（反復流産・不妊症・子宮内胎児死亡）によった。発見された染色体異常は表3に示した5人であり、12年度の異常率は5.6%であった。流産を繰り返した（2～4回）夫婦52人（26組夫婦）中1人に染色体異常が発見された。流産歴3回の

表1. 検査依頼病院内訳（昭和48～平成12年度）

県別	病 院 名	年 度	
		H12	S48～H12
県内	県立中央病院	56	944(5)
	富山赤十字病院	22	294(50)
	富山医科薬科大学	7(1)	98(4)
	高志学園		92
	富山市民病院		79
	氷見市民病院	2	24
	厚生連高岡病院		20
	富山保健所		17
	砺波総合病院	2	15
	富山通信病院		9
	国立富山病院		7
	済生会富山病院		6
	済生会高岡病院		4
	黒部市民病院	1	4
	社会保険高岡病院		2
	富山労災病院		2
	厚生連滑川病院		2
	小杉保健所		1
	他		28
	小計	90(1)	1,648(59)
県外	小計		58
	計	90(1)	1,706(59)

表2. 染色体検査内容（平成12年度）

依頼理由	検査数	判定数	異常数	9番逆位*
内訳				
血液(小計)	89	89	5	1
流産を繰り返す	58	58	1	1
不育症	8	8		
子宮内胎児死亡	4	4		
ダウン症候群の疑い	2	2	2	
低身長	4	4		
Bloom症候群の疑い	2	2		
先天奇形児	1	1		
胎児先天奇形の疑い	1	1		
Potter症候群	1	1		
Beckwith-Wiedemann症候群?	1	1	1	
ターナー症候群の疑い	1	1	1	
無月経	1	1		
性別判定	1	1		
家族	4	4		
骨髓液(小計)	1	1	0	0
リンパ腫瘍	1	1		
合計	90	90	5	1

*;正常変異

表3. 染色体異常の内訳 (平成12年度)

症例	主訴・主要症状	核 型	診 断 名
1	習慣流産(3回)	46,XY,t(8;15)(q11.2;q15)	均衡転座保因者
2	ダウン症候群の疑い	46,XX,+21	ダウン症候群
3	ダウン症候群の疑い	46,XY,+21	ダウン症候群
4	Beckwith-Wiedemann症候群?	46,XX,der(22)t(11;22)(p15.1;p11.2) / 46,XX (70%/30%)	モザイク型11p部分トリソミー
5	ターナー症候群の疑い	45,X/46,XX/47,XXX (77.6%/21.5%/0.9%)	モザイク型ターナー症候群 既に2子有,第3子妊娠中
正常変異			
6	習慣流産(3回)	46,XY,inv(9)(p11q13)	正常変異保因者

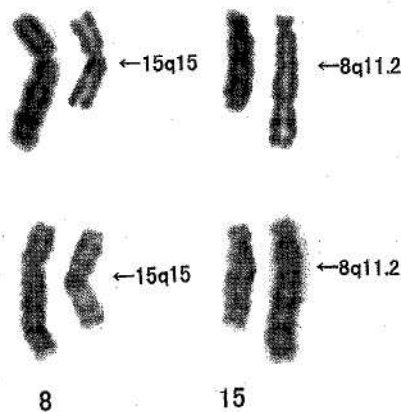


図1. 症例1

夫が46,XY,t(8;15)(q11.2;q15)であった(表3・症例1, 図1). 同主訴のうち, 同時に行った6件の流産胎児の検査では, 5件に染色体異常が発見され, その内訳は45,Xなど数次的異常で全てde novoであった[詳細, 6].

ダウン症候群を最初から疑われた2人はいずれもトリソミー型ダウン症候群であった(表3・症例2, 3). 症例2は特異的な顔貌(眼裂斜位, エピカンサス(内眼角ぜい皮), 鞍鼻, 硬口蓋高位, 巨大舌, 大泉門縫合開離, 短頸, 関節過伸展, 筋緊張低下および体重増加不良からダウン症候群が疑われた. 父37歳, 母35歳の第3子(女兒)として, 在胎39週3日, 2,216g, 46.5cmで出生し, 生後5日目に検査を受けた.

症例3は特異的な顔貌(両眼隔離, 眼裂斜位, エピカンサス)および心室中隔欠損からダウン症候群が疑われた. 父31歳, 母28歳の第1子(男児)

として, 在胎38週, 2,604gで出生し, 生後5日目に検査を受けた.

Beckwith-Wiedemann 症候群と類似し, 左半身肥大, 過成長(+2SD), 乳房腫大等の症状を示した1歳女児はモザイク型の11p15.1-pterトリソミーであり, 11番染色体クロモゾームペインティング法と11番染色体短腕テロメアプローブのFISH法で確認した. その核型は46,XX,der(22)t(11;22)(p15.1;p11.2)/46,XX(70%/30%)であった(表3・症例4, 図2)[7].

ターナー症候群の1例は41歳女性(135cm, 42kg)で, 両側の重複尿管などの症状がみられ,

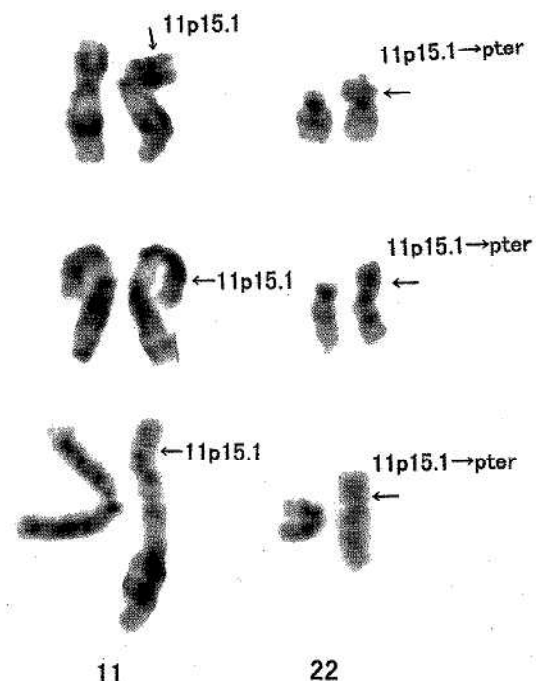


図2. 症例2

表4. 染色体検査結果一覧(実人数) 昭和48~平成12年度

依頼理由	検査数	判定数	異常数	他*	主な核型等
1.血液(小計)	1,624	1,605	218	25	
不妊症	709	708	27	16	
流産を繰り返す	625	624	27	14	均衡転座保因者,トリプルX, +mar
不妊症	84	84	0	2	
児の異常による疑い	316	309	138	2	
ダウン症候群の疑い	130	128	103		21トリソミー
先天奇形	104	99	11		r(D), 2pトリソミー, 7pトリソミー等
発育不良・発育遅延	48	48	2	2	9pトリソミー
18トリソミー症候群の疑い	16	16	15		18トリソミー
猫なき症候群の疑い	6	6	1		5p部分モノソミー
13トリソミー症候群の疑い	4	4	4		13トリソミー
副腎性器症候群の疑い	4	4	1		9pトリソミー
ブラダー・ウイラー症候群の疑い	4	4	1		46,XX,del(15)(q11.2q12)
白血病等	43	38	8		
白血病	40	35	6		Ph染色体, +mar等
ファンコニー貧血	2	2	1		切断,キ・ヤップが多い
色素性乾皮症	1	1	1		モザイク型クラインフェルター症候群
性染色体異常の疑い	131	129	28	5	
無月経	36	36	3		45,X/46,XX
ターナー症候群の疑い	30	30	16	5	r(X), i(Xp)モザイク等
低身長	30	30	0		
半陰陽	13	11	3		45,X/46,XY, 46,XY/46,XX
臍欠損・鎖臍	7	7	0		
生理不順	3	3	1		45,X/46,XX
クラインフェルター症候群の疑い	6	6	5		47, XXY
他の性染色体異常の疑い	6	6	0		
家族	263	263	10	1	
染色体異常有り	150	150	10		均衡転座保因者,逆位保因者
染色体異常無し	113	113	0	1	
胎児血液(出生前診断)	12	12	1		
胎児異常の疑い	12	12	1		18トリソミー
その他	150	146	6	1	
心臓病	10	10	1		45,X/46,XX
脆弱X症候群の疑い	4	4	0		
その他	136	132	5	1	均衡転座保因者等
2.骨髄液(小計)	54	46	15		
白血病等	54	46	15		Ph染色体, 7モノソミー, 19トリソミー等
合計(人)	1,678	1,651	233	25	

*:正常変異等

表5. 流産回数等と染色体異常

児の有無 流産回数	生産児無し			生産児有り		計
	夫婦	夫のみ	妻のみ	夫婦	妻のみ	
1	14		1	6		21
2	322 [8]	1	3	68 [3]	1 [1]	395 [12]
3	112 [10]		4 [1]	50 [2]	1	167 [12]
4	20 [2]			4		24 [3]
5	6		1	2		9
6	4			2		6
7	0					0
8	2					2
計	480 [20]	1 [0]	9 [1]	132 [5]	2 [1]	624 [27]

[]内染色体異常数

核型は45,X/46,XX/47,XXX(77.6%/21.5%/0.9%)のモザイク型であったが、自然妊娠にて2子を出産し、第3子を妊娠中であった。また、同時に行われた羊水検査の結果は正常であった[6]。このようなターナー症候群の自然妊娠は非常に珍しいが、以前に当所で検査を行ったもののうち、1例が2子を自然妊娠・出産していた[8]。正常細胞(46,XX)とのモザイクの場合、稀に自然妊娠、出産の報告例がある。

最近のARTの進歩にともない、当所でも年々不育症による染色体検査が増加しているが、今年度の14件(7組)はいずれもIVF-ETやICSI後の流産を主訴としたものであった。夫婦の染色体異常は発見されず、同時に行った流産胎児の検査2件でも染色体異常は発見されなかった[6]。

ブルーム症候群が疑われた2件は姉妹染色分体(SCE)交換法でSCE頻度を検索したが、対照の値と変わらなかった。そのSCE値は $10\mu\text{g/ml}$ BrdU下で患者① 6.2 ± 2.7 (3-13)に対し、対照① 7.7 ± 2.6 (3-14)、患者② 6.6 ± 4.0 (1-23)に対し、対照② 7.1 ± 3.3 (2-17)であった。

その他の主訴ではいずれも染色体異常は発見されなかった。その他、1人に正常変異が発見された。流産歴3回の夫が9番動原体部逆位保因者であった(表3・症例6)。

2. 昭和48年度～平成12年度

検査開始当初からの受付件数は血液1,645件と

骨髓液59件の計1,704件になったが、白血病等による血液・骨髓液の重複、他の病院からの再検査による重複を除くと実人数は血液1,624人と骨髓液54人の計1,678人であった。そのうち、検査可能であった1,651人中233人に染色体異常が発見されたため、染色体異常率は14.1%になった(表4)。依頼理由のうち、最も多いものは流産を繰り返す夫婦であり、そのうち、判定可能であった624人中27人に染色体異常が発見され、その異常率は4.3%、夫婦単位にすると308組中26組で約8.4%、つまり、約12組に1組の割合で染色体異常があった(表5)。検査受付時の流産歴を調査したところ、2-3回が最も多く、流産回数毎の異常率は2回・3.0%、3回・7.2%、4回・12.5%であった。表6にその核型を示したが、相互均衡転座21人、ロバートソン転座4人、逆位保因者1人、トリプルX1人とマーカー染色体保有者1人であった。また、流産を繰り返す夫婦において、均衡型転座保因者の場合、他の理由による原因の場合よりも挙児の可能性が高いといわれているが、当所の検査によっても、その後、妊娠成立し、羊水検査をうける場合が多いと思われた。

また、最近のARTの発展はめざましいが、その成功率はまだ30%以下ともいわれており、実際IVF-ETやICSI後の着床不成功等による反復流産の依頼が増加した。しかし、これらの依頼理由の中では染色体異常は発見されなかった。

いわゆる古典的染色体異常(21トリソミー、13

表6. 流産を繰り返す夫婦624人中染色体異常のあった27例の核型と既往歴

No.	核 型	検査時既往歴
夫		
①	45,XY,der(13;14)(q10;q10)	流産2
②	46,XY,t(1;4)(q11;p15.2)	流産2
③	46,XY,t(1;7)(q44;q11)	流産3
④*	46,XY,t(1;12)(q42;p13)	生産1・流産6・妊娠中
⑤	46,XY,t(1;12)(q42;p13)	生産1・流産3
⑥	46,XY,inv(9)(p11q13), t(4;10)(q31;q25)	流産3
⑦	46,XY,t(4;15)(q12;q24)	流産2
⑧	46,XY,t(4;18)(q31.3;q21.3)	流産2
⑨	46,XY,t(5;16)(p13;p13)	生産2・流産3
⑩	46,XY,t(8;14)(p11;q32)	流産4
⑪	46,XY,t(8;15)(q11.2;q15)	流産3
⑫	46,XY,t(8;21)(q24.2;q21.2)	流産4
⑬	46,XY,inv(8)(p21q24.2)	流産4
妻		
①	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	生産1・流産2・妊娠中
②*	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	生産1・流産6・妊娠中
③	45,XX,der(13;21)(q10;q10)	流産2
④	46,XX,t(1;15)(q42;q26)	流産2
⑤	46,XX,t(3;4)(p13;p16)	流産3
⑥	46,XX,t(3;10)(q29;q22)	流産3
⑦	46,XX,t(3;13)(q25;q11.2)	流産4
⑧	46,XX,t(3;21)(q27;q11.2)	流産2
⑨	46,XX,t(4;15)(q33;q15)	生産3・流産2
⑩	46,XX,t(7;20)(p23.1;q11.2)	流産3
⑪	46,XX,t(8;15)(q11.2;q26.1)	流産2・死産1
⑫	46,XX,t(10;18)(q23;q11.2)	流産3
⑬	47,XXX	流産2・胎児死亡1
⑭	47,XX,+mar	流産2

*:夫婦

トリソミー、18トリソミー)の疑いではその疑いと染色体異常との一致率(各80.5%, 100%, 83.8%)が高かったが、単に先天奇形を主訴とした場合、その異常率は11.1%と低かった。また、ターナー症候群の場合、臨床的にかなり典型例と思われた例(16/30)では53.3%の異常率であったが、典型的ではない原発性無月経、続発性無月経や生理不順等を含める(20/106)とその異常率は18.9%であった。

現在では我々が以前に報告[8]しているように、ターナー症候群の臨床症状や社会適応は従来考えられていたよりも幅が広いと認識されてい

表7. 染色体異常の内訳

染色体異常	人 数
1. 常染色体異常	
①ダウン症候群	103
(トリソミー型)	97
(モザイク型)	3
(転座型)	3
②18トリソミー症候群	15
(トリソミー型)	12
(モザイク型)	2
(転座型)	1
③13トリソミー症候群	6
(トリソミー型)	2
(モザイク型)	1
(転座型)	2
(部分トリソミー)	1
④13リング症候群	2
⑤9pトリソミー症候群	2
⑥2p部分トリソミー	2
⑦猫なき(5pモノソミー)症候群	1
⑧7p部分トリソミー・7q部分モノソミー	1
⑨11p部分トリソミー	1
⑩プラダー・ウイリー症候群	1
⑪由来不明部分過剰	6
⑫均衡転座保因者	35
⑬逆位保因者	3
⑭ファンコニー貧血	1
⑮白血病	21
⑯悪性腫瘍がある	1
小 計 (人)	201*
2. 性染色体異常	
①ターナー症候群	21
(トリソミー型)	5
(モザイク型)	16
②クラインフェルター症候群	6
(トリソミー型)	5
(モザイク型)	1
③トリプルX	2
④半陰陽	3
小 計 (人)	32**
合 計 (人)	233

*:全体に占める異常率 12.2% (201/1,651)

**:全体に占める異常率 1.9% (32/1,651)

る。当所で経験したターナー症候群21例のうち、前述のように2例が正常に妊娠・出産を繰り返しており、さらに、身長・体重が正常範囲内で、社会適応も良い例も多かった。今後、検査を行う立場からはターナー症候群を疑われた場合、低頻度モザイクの存在の見逃しに注意する必要があると考えられた。

発見された染色体異常の主な核型と人数を表7に示したが、ダウン症候群が最も多く103人(103/233 44.2%)であった。常染色体異常201人のうち、先天異常児が137人(137/201 68.2%)、均衡転座等保因者40人(40/201 19.9%)、白血病等24人(24/201 11.9%)であった。性染色体異常32人のうち、ターナー症候群21人(21/32 65.6%)、クラインフェルター症候群6人(6/32 18.8%)、他5人(5/32 15.6%)であった。

当所における依頼理由は流産を繰り返す夫婦等不育症の理由によるものの割合が増加しており、それに伴って、全体の依頼数の増加にも関わらず、年毎の異常率は減少傾向にあった。それは民間検査機関の増加による先天異常児の確定診断の減少と、女性の晩婚化による高齢出産およびART技術の発展による不育症の原因検索という、依頼理由の変化の影響と思われた。

染色体異常の確定診断は染色体検査に基づいて行われるものであり、重要な臨床検査として位置づけられている故に、検査する側にとって、臨床症状と検査結果の不一致はないか、低頻度モザイクの見逃しはないか、本当に正常か？(微細な異常を見逃していないか)、両親の検査は行われているかなどが注意すべき点として考えられた。また、

微細異常の確定診断の増加に伴う FISH 法応用例の増加、検出限界、両親と同じ均衡転座保因者であっても転座切断点近傍の不安定性も考慮すべきなどの問題点が新たに生じてきており、さらにいっそうの正確性の向上とともに効率化・迅速化も求められてきている現状である。

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

文 献

1. Yunis, J. J., Sawyer, R. and Ball, D.W. (1978). *Chromosoma*, 67, 293-307.
2. Seabright, M. (1971). *Lancet*, 2, 971-972.
3. 前川雅彦, 新宅香織, 山下達夫 (1997). 臨床 FISH プロトコル, 79-84.
4. 林美貴子, 本田幸子, 大江浩, 北村敬 (1999). 富山衛研年報, 22, 58-66.
5. 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, 35-41.
6. 本田幸子, 林美貴子, 大江浩, 北村敬 (2001). 富山衛研年報, 24, 61-66.
7. 大月哲夫, 五十嵐登, 山崎治幸, 渡辺幸, 橋本博幸, 畑崎喜芳, 窪田博道, 林美貴子, 本田幸子 (2001). 日本小児科学会北陸地方会.
8. 林美貴子, 本田幸子, 鏡森定信 (1995). 母性衛生, 36 (2), 287-292.

ヒト染色体に関する調査研究 —羊水・流産胎児— 平成12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 Takashi KITAMURA

要 旨 平成12年度の羊水および流産胎児の染色体の検査は、受付件数が羊水60件、流産胎児25件で、昭和49年度から併せると、羊水1,096件、流産胎児182件となった。検査の結果、今年度は染色体異常が、羊水に3件(47,XY,+21, 47,XX,+18, 47,XXY), 流産胎児に10件(47,XX,+16: 3件, 47,XY,+21, 47,XY,+D, 45,X: 4件, 46,XX,rec(8))みられた。今年度までの累計件数では羊水で48件、流産胎児で66件の異常がみられている。染色体検査依頼の理由(主訴)は、羊水では高齢妊娠、胎児に異常が疑われる、染色体異常児出産既往等が、流産胎児では流早産既往等が多かった。

当所において染色体検査は、昭和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、絨毛等が加わり、検査が行われてきた。ここに平成12年度の羊水、流産胎児の検査結果とともに今年度までの累計結果も併せ報告する。

実 施 方 法

1. 羊水

染色体標本作成は、羊水10ml以上を静置後、沈殿した細胞に培養液を加え、再浮遊し、1検体につきシャーレ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、低張処理を行った。固定液は2回交換し、パスツールピペットでスライド上に滴下し、蒸気乾燥した。方法等の詳細は表1に示した。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等のFISH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、流産胎児の皮膚組織、および流産胎児の付属物である絨毛組織等であった。これらの組織をハサミで細切し、シャーレの上に並べ、培養液を添加し、炭酸ガス培養を行った。倒立顕微鏡下で細胞の増殖状況を観察しながら、適当な

表1. 染色体標本作成法 (羊水)

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

時期に培養液の交換を行った。以下は羊水細胞と同様の方法で標本作成を行い、染色体分析を行った。

結果および考察

1. 羊水

今年度の染色体検査受付総数は60件で、すべて富山県の医療施設からの依頼であった(表2)。そ

表2. 染色体検査依頼病院 (羊水・流産胎児) (平成12年度)

病 院	羊 水	流産胎児
富山医科薬科大学	18	2
富山県立中央病院	13	6
済生会高岡病院	10	3
厚生連高岡病院	5	
富山市民病院	4	
黒部市民病院	4	
富山赤十字病院	3	8
高岡市民病院	1	5
氷見市民病院	1	
家城産婦人科医院	1	
砺波総合病院		1
計	60	25

のうち1件(妊娠35週羊水)が染色体分析不能となった。検査開始時から平成12年度までの検査受付総数1,096件のうち分析可能数は1050件で、その分析率は95.8%になった。今年度および検査開始時から今年度までの検査数、結果等はそれぞれ表

3、表4に示した。

今年度染色体分析の結果、下記の染色体異常3件(症例1～3)がみられた。今年度までの異常累計数は48件であり、その異常率は4.6%となった。

〈症例1〉

年齢・妊婦：42歳

夫：不明

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：不妊治療・初妊娠

分析結果：47,XY,+21 (ダウン症候群)

経過・予後等：不明

〈症例2〉

年齢・妊婦：26歳

夫：不明

羊水採取時の妊娠週数：17週

主訴・依頼理由：胎児後頸部に浮腫

Nuchal Translucency 4 mm

既往歴・他：初妊娠

分析結果：47,XX,+18

経過・予後等：不明

〈症例3〉

年齢・妊婦：37歳

夫：38歳

羊水採取時の妊娠週数：17週

主訴・依頼理由：胎児水腫(12～14週)

既往歴・他：2回目の妊娠

表3. 羊水の染色体検査依頼理由と結果(平成12年度)

依頼理由(主訴)	受付数	分析数	異常数	染色体異常の核型
高齢妊娠	34	34	1	
35歳未満	1	1		
35-39歳	19	19		
40歳以上	14	14	1	47, XY, +21(症例1)
胎児異常の疑い	14	13	2	
Nuchal translucency	5	5	1	47, XX, +18(症例2)
水頭症	2	2		
胎児水腫	1	1	1	47, XXY(症例3)
臍帯ヘルニア	1	1		
胎児胸水	1	1		
小頭症	1	1		
発育遅延	1	1		
脈絡叢嚢胞	1	1		
心奇形	1			
染色体異常児出産既往	5	5		
前子ダウン症候群	4	4		
前子4p-	1	1		
羊水過多・羊水過少	2	2		
親類にダウン症や障害児等がいる	2	2		
本人(妊婦)がターナー症(モザイク)	1	1		
前胎児が異常(奇形)	1	1		
トリプルマーカー高値の精査	1	1		
計	60	59	3	

表4. 羊水の染色体検査依頼理由と結果(昭和49年~平成13年3月)

依頼理由(主訴)	受付数	分析数	異常数	染色体異常の核型
高齢妊娠	602	587	11	47, (+18):2件、47, XX, +13/46, XX 47, XY, +21/48, XY、46, XX, -18p 47, XXY、47, XXX、47, (+21):4件
染色体異常児出産既往	169	164	3	47, XX, +G:2件、47, XY, +E
胎児異常の疑い	92	86	12	45, X:2件、47, (+18):4件、47, XX, +21:2件 47, XX, +M、69, XXY、46, XY, del(4)、47, XXY
前子が異常(染色体異常を除く)	49	44	1	47, XX, +21
親類にダウン症や障害児等がいる	46	45		
羊水過多・羊水過少	39	36	7	47, XY, +E、47, XX, +D、46, XX, iso psu dic(18) 47, XY, +21:2件、47, XY, +13、47, XX, +18
転座型染色体保因者	24	23	11	45, XY, t(14;21)、46, XY, t(D;G)、46, XX, t(1;12) 46, XX, t(7;11)、46, XX, inv(3)、46, XX, t(2;17) 45, XX, t(13;15):2件、46, XY, inv(7) 45, XY, t(13;14)、46, XY, t(14;21)
流産・死産既往	19	17	2	69, XXX、46, XX, t(5;6)
本人の強い希望	10	10	1	46, XY/45, X
体外受精・顕微授精	5	5		
近親婚	4	3		
風疹に感染	4	4		
血中アルファプロテインの異常	4	4		
トキソプラズマ症の疑い	2	2		
その他	14	11		
不明	13	9		
計	1096	1050	48	

表5. 母体年齢別の染色体検査依頼状況
(羊水・平成12年度)

年 齢 (歳)	受付総数	高齢妊娠 依 頼 数	異常数	異常の核型
19	1			
23	1			
24				
25	1			
26	2		1	47, XX, +18
27				
28	4			
29	2			
30	2			
31	3			
32	2			
33	1			
34	4	1		
35	3	1		
36	4	4		
37	8	7	1	47, XXY
38	2	2		
39	5	5		
40	5	5		
41	5	4		
42	3	3	1	47, XY, +21
43	1	1		
44	1	1		
計	60	34	3	

分析結果：47, XXY

(クラインフェルター症候群)

経過・予後等：妊娠継続希望

そのほか、異常とはならなかったが、実弟の子供がダウン症候群であるという依頼理由の1件は、判定に苦慮したが、最終的には46, XX, 1qh+で、1番染色体二次狭窄部ヘテロクロマチン部分の伸長であり、正常範囲と考えられた。

検査依頼の理由の中で一番多いのは高齢妊娠の34件で、受付総数の56.7%にあたる。その年齢は34歳から44歳で、年齢分布(表5)では37歳が一番多く、この傾向は昨年度までと同じであった。このうち1件に染色体異常がみられた(症例1)。高齢妊娠のなかに体外受精等の不妊治療を受けている症例が4件含まれており、症例1はこのうちの1件である。母親の加齢とともに染色体異常の発生率が高くなることはよく知られているが、不妊治療と異常発生との関係についてはまだ明らか

ではない。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48件のうち、高齢妊娠を主訴としているのは11件で22.9%となる。

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14件の依頼があり、そのなかの2件に異常がみられた。奇形等の内訳は、5件が胎児に Nuchal translucency (NT) の肥厚がみられたという理由であり、そのうち1件に異常がみられ(症例2)、また胎児水腫が疑われた1件にも異常がみられた(症例3)。最近の超音波診断の進歩により、胎児の状況がよく診られるようになった。特に、妊娠10~14週胎児の NT の肥厚が異常の判断の指標として採用され、トリプルマーカー検査より正確ともいわれるようになっている[1]。当所においても今後この依頼が増加すると考えられる。そのほか、水頭症2件、臍帯ヘルニア、胎児胸水、小頭症、発育遅延、脈絡叢嚢胞、心奇形がそれぞれ1件であった。

次は、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5件の依頼であった。前児の異常の内訳は、ダウン症候群4件、4p-1件で、今回これらに異常は見られなかった。

そのほかの依頼として、羊水過多・過少、親類に障害児等がいるという理由が各2件、妊婦自身がターナー症候群(モザイク)である、前胎児が奇形、トリプルマーカー高値のための依頼がそれぞれ1件であったが、これらに異常はみられなかった。このうちターナー症候群が確認されている患者[2]が妊娠することは稀で、非常にめずらしい症例であった。

最近の遺伝子診断技術の急激な進歩に伴い、当所の染色体検査においても高度な分析を要求されることが多くなっている。そのため高精度分染法やクロモゾームペインティング法、FISH 法等の技術を導入し、対応している。しかし、分析機器の更新の必要性や、試薬の高価格等に早急には対応できないこと、さらに出生前診断としての羊水等の染色体検査には、母親細胞混入の危険性があること、培養細胞を分析していること、微細な染色体異常やモザイク症がすべて把握されるわけではないこと、染色体異常が発見されてもほとんどが

治療困難であること等多くの問題がある。その上、倫理的、社会的な問題も残されている。今後の少子化、高齢妊娠増加等による羊水染色体検査の需要の増大に対応するためには、医師の遺伝相談と適切な指導を伴った総合的な検査体制の整備が必要と考えられる。

2. 自然流産胎児

今年度、受付総数は25件で、そのうち24件が分析可能であった。平成12年度および検査開始時から平成12年度までの検査依頼病院、理由、結果等を表2、表6、表7に示した。今年度は24件中10件(41.7%)に染色体異常がみられた。全年度では44.9%となった。

検査理由で一番多かったのは、過去にも流産をしたことがあるための10件で、そのうち5件に異常があり、+16(2件)、+D、+21、ターナー症とすべて数的異常であった。過去の流産胎児の染色体異常の有無については未検査のため、再発かどうかは不明である。また今回の流産時点の年齢は25歳～43歳(平均32.2歳)で、年齢との関係についても明らかではない。

次に多いのは子宮内胎児死亡の7件で、そのうち分析可能6件中1件に染色体異常がみられた。

流産した胎児に奇形等が見られたための理由で3件依頼があり、1件に異常がみられた。

次に、cystic hygroma がみられた胎児2件はいずれもターナー症候群であった。

表6. 流産胎児の染色体検査依頼理由と結果(平成12年度)

依頼理由(主訴)	受付数	分析数	異常数	染色体異常の核型
過去にも流産をした	10	10	5	47, XX, +16(2件), 47, XY, +21, 45, X 47, XY, +D
子宮内胎児死亡	7	6	1	47, XX, +16
流産胎児に奇形等があった	3	3	1	45, X
胎児に cystic hygroma	2	2	2	45, X(2件)
前子が染色体異常	1	1	1	46, XX, rec(8)
体外受精・顕微授精	1	1		
親が転座染色体保因者 t(3;21)	1	1		
計	25	24	10	

表7. 流産胎児染色体検査依頼理由と結果(昭和50年～平成13年3月)

依頼理由(主訴)	受付数	分析数	異常数	染色体異常の核型等
過去にも流産をした	74	60	33	45, X:4件、47, (+3):2件、47, (+16):6件
流産胎児に奇形等があった	26	23	7	69, XXY, 47, (+18):2件、45, X:3件
子宮内胎児死亡	26	22	7	45, X:2件、47, (+16):2件
初めての流産(原因不明)	22	15	8	69, XXX:3件、47, XY, +18
体外受精・顕微授精	13	12	6	47, XX, +13, 47, XY, +20
胞状奇胎	6	6		
親が染色体異常	5	3	1	46, XY, der(4)t(4;15)
羊水検査で染色体異常があった	3	2	2	47, XX, +13/46, XX, 47XY, +21/46, XY
前子が染色体異常	2	2	2	48, XX, +15, +16
前子が多発奇形	1	1		
羊水過少	1	1		
妊娠中に風疹に罹った	1			
理由不明	2			
計	182	147	66	

そのほか前子が染色体異常である，体外受精，親が転座染色体保因者，という理由でそれぞれ1件あったが，異常はみられなかった。

依頼された流産胎児の週数は6週から27週にわたっていたが，7～9週が64%を占めていた。

自然流産胎児において報告されている染色体異常の発生頻度は，研究材料，収集方法，研究方法による違いで開きはあるものの，妊娠初期に起こった流産胎児の染色体異常の頻度が高いことは一般に認められている．池内〔3〕は46.1%と報告しており，当所の結果も全年度で44.9%とはほぼ一致している。

当所における分析数がまだ少ないため，確たる結論等は論じられないが，この検査を続けていくことにより，今後の妊娠指導，治療方針の決定や，

遺伝相談の資料として母子医療に役立つものと考えている。

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

文 献

1. 佐藤孝道 (2001). 臨床検査, 45 (2), 161-166, 医学書院.
2. 林美貴子, 本田幸子, 大江浩, 北村敬 (2001). 富山衛研年報, 24, 54-60.
3. 池内達郎 (1999). 遺伝子・染色体検査学 (奈良信雄編), p131-135 医歯薬出版.

日本脳炎流行予測調査

渡 辺 護 長谷川澄代 高田ちはる¹

Epidemiological Surveillance of Japanese
Encephalitis in Toyama Prefecture in 2000

Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA
and Chiharu TAKADA¹

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5ヵ所の畜舎定点において6月から9月までの4ヶ月間コガタアカイエカの捕集調査を行った。同時に、7月から10月まで食肉総合センターに搬入される豚の日本脳炎HI抗体保有調査を行った。

その結果、2000年度の豚HI抗体保有の推移は、氷見市において日本脳炎患者が発生した1997年の状況と似た消長を示した。しかし、媒介蚊コガタアカイエカの発生量は1997年度よりも少なく、また発生も8月下旬から多くなる消長（晩夏発生型）を示し、それが大きな原因で日本脳炎に罹患する県民がいなかったと推定される。すなわち、日本脳炎ウイルスは富山県に比較的早く侵入したが、蚊の発生量が少なく、日本脳炎ウイルスを持った蚊に刺される事が極めて少なかったことが考えられる。

富山県では1997年に、1982年以来の日本脳炎患者が氷見市で確認されるとともに、コガタアカイエカの増加傾向が1997～98年と続いた。しかも、8月上・中旬に捕集数が最大になる消長を示した[1]。このようなコガタアカイエカの発生状況と、日本脳炎ウイルスの侵入とが連携する事態になれば、患者発生は今後も起こりうる事が危惧される。そこで、患者の発生を未然に防ぐことを目的に、1999年に引き続き日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生状況と、ウイルスの侵入動態を6月から10月まで監視して来たので、その結果について報告する。

1. 蚊の発生調査

1. 調査地と調査方法

蚊の捕集定点は表1に示す通りである。「大山東黒牧」は1998年から新たに開始した定点であり、「黒部荻生」は1998年に、「上市湯上野」は1994年に従来の定点から移動変更した定点である。「福野二日町」は牛の飼養を中止したため20年に及んだ調査が不可能になった。他の2定点は15～20年間同一である。調査期間、調査方法は前年までと同じで、「富山大井」と「大山東黒牧」は6月1日から9月30日まで、ブラックライト・トラップ（東京エース製）で連日捕集を、他の3定点は6月中

表1. 2000年度における調査地点の概要 (平成12年度)

番号	地点名	類別	地点の概要
1	富山大井	牛 舎	富山市大井、合田初男所有。乳牛24頭、子牛4頭。平野部水田地帯、北側500mに新興住宅街がある。南東1kmに熊野川。近くには他畜舎は無い。
2	大山東黒牧	牛 舎	大山町東黒牧上野、畔田 茂所有。乳牛30頭。丘陵稜線部、周辺は大学などの教育機関と雑木林、民家が点在する。水田は半径300mの範囲には無い。
3	黒部荻生	豚 舎	黒部市荻生、南 進所有。肥育豚90頭、親豚30頭。平野部水田。畑作地帯、南西側に幅10mほどの黒瀬川、北東側に養魚場がある。
4	上市湯上野	牛 舎	上市町湯上野、稲場栄伸所有。乳牛48頭、和牛20頭。水田地帯はずれの丘陵地、背面は杉植林地/雑木林。西100mに厩あり、北300mに上市川。
5	福野二日町	牛 舎	牛の飼養を中止したため調査地点から除外した。
6	小矢部金屋本江	牛 舎	小矢部市金屋本江、西田芳夫所有。乳牛40頭。平野部水田地帯、人家点在。近くに他畜舎は無い。西500mに宮川。

旬から9月末まで、基本的に毎週水曜日に前述のトラップを一晩点灯することで行った。前2定点では畜舎管理者が毎朝トラップ捕集ケージをクロロホルムで麻酔した後、70%エタノールの入ったポリ瓶に、捕集物を移してもらい、それを20日毎に回収して捕集された蚊類だけを選び出し種ごとに性と数を記録した。後3定点は毎週木曜日に捕

集ケージを交換・回収して、検査室に持ち帰り、前2定点と同様に記録した。

2. 調査結果および考察

表2に各調査定点における毎週水曜日の蚊全体の捕集成績を示し、表3に最近10年間のコガタアカイエカの捕集数を定点別に示した。

表2-1. 5定点における蚊雌成虫の捕集数 (2000年, 平成12年)

調査日	1. 富山大井					2. 大山東黒牧				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6.14	0	192	4	ヒスジ 1	197	0	87	0	0	87
21	0	1,689	2	0	1,691	0	45	4	0	49
28	0	1,175	0	0	1,175	0	114	2	ヤマト 1	117
7.5	0	3,927	3	0	3,930	0	19	0	0	19
12	0	2,151	14	0	2,165	0	32	0	0	32
20	0	6,027	0	0	6,027	0	67	0	0	67
26	0	2,730	1	0	2,731	0	31	0	0	31
8.2	0	841	0	0	841	0	30	0	0	30
9	0	982	0	0	982	0	22	0	0	22
16	0	0	0	0	0	0	98	0	0	98
23	0	7,590	0	0	7,590	0	191	0	0	191
30	1	9,176	0	カラツ 1	9,178	0	68	0	0	68
9.6	0	11,022	0	0	11,022	1	119	0	0	120
13	1	17,154	6	0	17,161	0	0	0	0	0
20	0	2,454	0	0	2,454	1	5	0	ヤマト 1	7
27	0	647	1	0	648	0	37	0	ヤマト 1	38
計	2	67,757	31	2	67,792	2	965	6	3	976

As = シナハマダラカ、Ct = コガタアカイエカ、Cp = アカイエカ、その他のヤマトはヤマトヤブカ、オオクロはオオクロヤブカを指す。

表2-2. 5定点における蚊雌成虫の捕集数(2000年, 平成12年)

調査日	3. 黒部荻生					4. 上市湯上野				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6.14	0	18	0	0	18	0	29	0	0	29
21	0	19	0	0	19	0	31	0	0	31
28	0	39	17	0	56	0	79	0	0	79
7.5	0	45	3	0	48	-	-	-	-	-
12	0	29	6	0	35	0	90	0	0	90
20	0	85	0	0	85	0	148	0	0	148
27	0	51	2	0	53	0	32	0	0	32
8.2	0	107	0	0	107	0	78	0	0	78
9	0	14	0	0	14	0	154	0	0	154
16	-	-	-	-	-	0	221	0	0	221
23	0	67	2	0	69	0	326	0	0	326
30	0	144	0	0	144	3	552	0	0	555
9.6	0	181	0	0	181	2	602	0	0	604
13	0	257	0	0	257	0	446	0	0	446
20	0	71	2	0	73	0	60	0	0	60
27	0	54	6	カヲツ 11	71	0	117	0	0	117
計	0	1,181	38	11	1,230	5	2,965	0	0	2,970

調査日	5. 福野二日町					6. 小矢部金屋本江				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6.14	-	-	-	-	-	0	124	0	0	124
21	-	-	-	-	-	0	314	3	0	314
28	-	-	-	-	-	0	156	3	0	156
7.5	-	牛の飼養を中止したため、			-	1	247	0	0	248
12	-	調査出来なかった。			-	0	252	5	0	257
20	-	-	-	-	-	0	603	0	0	603
27	-	-	-	-	-	0	158	0	0	158
8.2	-	-	-	-	-	0	204	0	0	204
9	-	-	-	-	-	0	267	0	0	267
16	-	-	-	-	-	0	1,016	0	0	1,016
23	-	-	-	-	-	0	1,634	0	0	1,634
30	-	-	-	-	-	2	2,014	0	0	2,016
9.6	-	-	-	-	-	3	5,184	0	0	5,187
13	-	-	-	-	-	9	5,168	0	0	5,177
20	-	-	-	-	-	0	1,824	0	0	1,824
27	-	-	-	-	-	0	312	0	0	312
計	-	-	-	-	-	15	19,477	11	0	19,497

As = シナハマダラカ、Ct = コガタアカイエカ、Cp = アカイエカ、その他のヤマトはヤマトヤブカ、オオクロはオオクロヤブカを指す。
 - はトラップの故障などで捕獲が出来なかったことを示す。

5定点の内「富山大井」と「上市湯上野」で前年よりも捕集数が増加したが、他の3定点では減少した。とくに、県東部の「黒部荻生」では前年の60.4%に、県西部の「小矢部金屋本江」でも69.7%に減少した。1999年度に最もコガタアカイエカ捕集数が多かった「富山大井」は、今年度も最も多く捕集され、6～9月間毎週水曜日集計で

67,757個体であった。2番目に多く捕獲された定点は、「小矢部金屋本江」で19,477個体であり、県東部に比べ県中央部と西部とで蚊の発生が多い傾向がみられた。一方、最も少なかった定点は、「富山大井」から直線距離で2 kmしか離れていない「大山東黒牧」で965個体、「富山大井」の約1/70であった。これは、「大山東黒牧」定点が、水田地

表3. 5 定点における近年のコガタアカイエカ雌成虫の捕集数変動

年度	定 点 名							
	1. 富山大井		2. 大山東黒牧		3. 黒部	4. 上市	5. 福野	6. 小矢部
1991	7,640	51,218	-	-	1,702	14,322	11,273	4,318
1992	9,998	59,735	-	-	1,968	5,025	6,531	5,992
1993	8,827	72,509	-	-	642	1,100	7,112	5,093
1994	26,275	169,307	-	-	13,655	3,527	95,954	94,055
1995	26,247	161,391	-	-	6,398	1,790	10,138	21,751
1996	36,305	275,957	-	-	2,034	1,562	8,617	7,683
1997	23,743	172,373	-	-	7,054	1,466	34,680	45,250
1998	96,196	657,900	1,843	11,814	6,250	5,620	21,157	31,158
1999	52,436	344,498	1,319	11,379	1,954	2,676	17,676	27,944
2000	67,757	495,004	965	9,147	1,181	2,965	-	19,477

注. 1. 6月中旬から9月末までの、毎週水曜日にライトトラップ一晩捕集による成績。
 2. 富山大井、大山東黒牧の右側の数値は、6月1日から9月30日までの連日捕集による成績。
 3. 2. 大山東黒牧は1998年から調査開始、4. 上市は1994年から、3. 黒部は1998年から
 定点の場所（畜舎）を変更した。5. 福野は2000年から調査を中止した。

帯から300m 離れ、標高差で90m 高い丘陵地にあることが関係していると思われる。

県全体の発生推移状況は、調査開始当初から捕集数の増加速度は1999年よりも遅く、しかも、8月第2週までその傾向が顕著であった。しかし、8月第4週からは全定点で、捕集数が増加傾向を示し、9月第2週までの間に捕集数が最大になり、以後減少し調査を終了した。

以下、各定点別に捕集結果を述べる。

〔1. 富山大井〕表4に連日捕集成績を示した。調査当初から前年よりも捕集数が少なかったが〔1〕、6月中旬以降は前年よりも多いことが9月末まで続いた。日最大捕集数は9月8日39,541個体であり、前年の9月1日17,019個体よりも約1週間遅いピークの形成であった〔1〕。今年度は8月下旬から9月中旬まで長い発生の山が形成され、それが前年よりも年間の捕集数が増加した原因と思われる。

〔2. 大山東黒牧〕この定点は前述の「富山大井」から、直線距離で約2 km しか離れていない丘陵地の稜線上に位置する（標高162m、標高差90m）。また、そのほぼ中間に幅75～100m の熊野川が流れ、それに沿って水田が広がっている。定点牛舎に最も近い水田とは300m 離れ、その間の標高差50m の斜面は竹林、雑木林、杉植林地などである。

また、牛舎の周辺には畑地、杉植林、雑木林や民家および教育施設がある。これらの環境状況が、調査定点5か所の中で最も捕集数が少ない原因と思われる（表3）。表4に連日捕集成績を示した。日最大捕集日は8月27日、671個体であった。前年度の日最大捕集日は9月25日、446個体であり〔1〕、今年度の方が1ヶ月早いピークであった。年間捕集数は前年の80.4%、9,147個体と減少したが、その原因は9月の捕集数が減った事に起因する。「富山大井」とは年間連日捕集数で1/70（表3）、日最大捕集数で1/59（表4）の捕集差がみられた。しかし、蚊の種類が5種類も認められ、5定点の内では環境の多様性が高いことが示唆される。

〔3. 黒部荻生〕「黒部植木」から移動して3年目になる。捕集数は前年度よりも明瞭に減少した（表3）。また、日最高捕集数も、前年の9月8日344個体に対し、今年は9月13日の257個体であった。発生活長曲線は9月13日に第1の山、8月2日に第2の山を形成する年2峰型を示した（表2）。

〔4. 上市湯上野〕年間捕集数（表3）は前年の110.8%、2,965個体と増加したが、日最高捕集数は前年の9月8日、1,018個体に対し、9月6日の602個体、59.1%に減少した。発生活長曲線は8月第4週から9月第2週まで高い山が続く、年1峰型を示した（表2）。

表4-1. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (2000年, 平成12年)

調査日	1. 富山大井牛舎					2. 大山東黒牧牛舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6月1日	0	90	0	0	90	0	35	0	ヤマト 1	36
2	0	204	5	0	209	0	30	0	ヤマト 4	34
3	0	193	3	0	196	0	67	0	ヤマト 2	69
4	0	251	2	0	253	0	94	0	ヤマト 1	95
5	0	269	11	0	280	-	-	-	-	-
6	0	433	34	0	467	0	29	0	ヤマト 1	30
7	0	534	20	0	554	0	9	0	0	9
8	0	280	15	0	295	0	100	0	ヤマト 2	102
9	0	81	0	0	81	0	18	0	0	18
10	0	110	1	0	111	0	119	0	ヤマト 3	122
11	0	268	1	0	269	0	87	0	0	87
12	0	276	0	0	276	0	70	0	0	70
13	0	142	5	0	147	0	127	0	ヤマト 4	131
14	0	192	4	ヒトスジ [*]	197	0	87	0	0	87
15	0	423	4	0	427	0	130	0	0	130
16	0	698	5	カラツ	704	0	66	0	0	66
17	0	171	0	0	171	-	-	-	-	-
18	0	988	3	0	991	-	-	-	-	-
19	0	1,526	5	0	1531	-	-	-	-	-
20	0	1,309	3	0	1312	-	-	-	-	-
21	0	1,689	2	0	1691	0	45	4	0	49
22	0	2,476	0	0	2476	0	52	1	0	53
23	0	1,482	0	0	1482	0	38	0	0	38
24	0	398	0	0	398	1	33	0	0	34
25	0	631	0	0	631	0	18	0	ヤマト 1	19
26	0	2,028	1	0	2,029	1	41	0	0	42
27	0	1,038	2	0	1040	1	71	0	ヤマト 1	73
28	0	1,175	0	0	1175	0	114	2	ヤマト 1	117
29	0	2,240	0	0	2240	0	44	0	0	44
30	0	1,132	2	0	1134	0	76	0	0	76
計	0	22,727	128	2	22,857	3	1,600	7	ヤマト 21	1,631

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* アカイエカを表し、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、ヤマトヤブカなどが含まれる。
 注2. - はトラップの故障などで調査が出来なかったことを示す。

[5. 福野二日町] この定点は牛の飼養を中止したため、調査が出来なかった。近くに他の畜舎が無かったため、今後調査定点から「福野」を外すこととした。

[6. 小矢部金屋本江] 年間捕集数は前年度の69.7%, 19,477個体と顕著に減少した(表3)。また、日最高捕集数(9月6日; 5,184個体)も前年度(9月8日; 7,488個体)に比べ減少した。発消長曲線は8月第3週から9月第3週まで、高い

山が約1ヶ月続く年1峰型を示した。

最近のコガタアカイエカの発消長は、8月上旬に多くなる盛夏発生型、さらに9月中旬にも多くなる初秋追加型であった[1]。しかし、今年度の発生型は8月中下旬から9月中下旬にかけて長い山を形成する、これまでにみられない消長曲線を描いた。この原因については、現時点では明らかに出来ないが、1つには今年度の降雨状況が影響している事が推定される。すなわち、7~8月

表4-2. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績(2000年, 平成12年)

調査日	1. 富山大井牛舎					2. 大山東黒牧牛舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
7月1日	0	3,074	9	0	3,083	0	154	0	0	154
2	0	4,714	0	0	4,714	0	39	0	0	39
3	0	3,137	3	0	3,140	0	7	0	0	7
4	0	4,545	1	0	4,546	0	19	0	0	19
5	0	3,927	3	0	3,930	0	19	0	0	19
6	0	2,181	14	カラツ 1	2,196	0	23	0	0	23
7	0	2,805	3	0	2,808	0	7	0	0	7
8	0	1,751	11	0	1,762	0	10	0	0	10
9	0	3,228	0	0	3,228	0	8	0	0	8
10	0	2,000	0	0	2,000	0	8	0	0	8
11	0	13,734	2	0	13,736	0	58	0	0	58
12	0	2,151	14	0	2,165	0	32	0	0	32
13	0	5,904	2	0	5,906	0	39	0	0	39
14	0	9,291	15	キンイロ 1	9,307	0	28	0	0	28
15	0	6,383	12	0	6,395	0	28	0	0	28
16	0	3,813	1	0	3,814	0	81	0	0	81
17	0	2,753	4	0	2,757	0	68	0	0	68
18	0	3,345	0	0	3,345	0	40	0	0	40
19	0	5,547	0	0	5,547	0	81	0	0	81
20	0	6,027	0	0	6,027	0	67	0	0	67
21	0	4,218	0	0	4,218	0	134	0	0	134
22	0	3,942	1	0	3,943	0	82	0	0	82
23	0	2,856	0	0	2,856	0	61	0	0	61
24	0	3,768	0	0	3,768	0	21	0	0	21
25	0	1,840	2	0	1,842	0	208	0	0	208
26	0	2,730	1	0	2,731	0	31	0	0	31
27	0	3,711	0	0	3,711	0	62	0	0	62
28	1	1,226	0	0	1,227	0	63	0	0	63
29	0	1,110	0	0	1,110	0	67	0	0	67
30	0	945	0	0	945	0	61	0	0	61
31	0	1,608	0	0	1,608	0	23	0	0	23
計	1	118,264	98	2	118,365	0	1,629	0	0	1,629

注. 表4-1の脚注を参照のこと.

の雨が顕著に少なく, 9月に多くなる推移を示したことは(表5), 7~8月のコガタアカイエカを例年に比べ少なくさせた原因と思われ, 相対的に9月の捕獲数が目立ったためと思われる. 県東部と西部とでの捕獲数の減少程度の相違についても, 気象状況が微妙に異なっていることが考えられる.

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11日から10月10日までの3ヵ月間, 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, 日本脳炎の抗体保有状況を調査した. 抗体価の測定は,

表4-3. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (2000年, 平成12年)

調査日	1. 富山大井牛舎					2. 大山東黒牧牛舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
8月1日	0	4,707	0	0	4,707	-	-	-	-	-
2	0	841	0	0	841	0	30	0	0	30
3	0	886	0	0	886	0	102	0	0	102
4	0	483	0	0	483	-	-	-	-	-
5	0	1,166	0	0	1,166	0	2	0	0	2
6	0	1,161	0	0	1,161	0	14	0	0	14
7	0	2,322	0	0	2,322	0	9	0	0	9
8	0	2,667	0	0	2,667	0	22	0	0	22
9	0	982	0	0	982	0	22	0	0	22
10	0	4,650	0	0	4,650	0	33	0	0	33
11	0	2,793	0	0	2,793	0	47	0	0	47
12	0	4,908	0	0	4,908	0	18	0	0	18
13	0	4,232	0	0	4,232	0	33	0	0	33
14	0	2,514	0	0	2,514	0	66	0	0	66
15	0	3,249	0	0	3,249	0	44	0	0	44
16	-	-	-	-	-	0	98	0	0	98
17	0	5,862	0	0	5,862	0	17	0	0	17
18	0	1,656	0	0	1,656	0	50	0	0	50
19	-	-	-	-	-	0	27	0	0	27
20	-	-	-	-	-	0	183	0	0	183
21	0	8,697	0	0	8,697	0	143	0	0	143
22	0	7,803	0	0	7,803	0	109	0	0	109
23	0	7,590	0	0	7,590	0	191	0	0	191
24	0	5,928	0	0	5,928	0	217	1	カラツ	219
25	0	11,334	0	0	11,334	2	238	0	0	240
26	1	10,701	0	0	10,702	0	87	1	0	88
27	0	15,369	0	0	15,369	2	671	1	0	674
28	2	4,620	2	0	4,624	0	125	0	0	125
29	0	6,423	0	0	6,423	1	139	0	0	140
30	1	9,176	0	カラツ	9,178	0	68	0	0	68
31	0	4,461	0	0	4,461	0	37	0	0	37
計	4	137,181	2	1	137,188	5	2,842	3	1	2,851

注. 表4-1の脚注を参照のこと.

例年のごとく伝染病流行予測検査術式〔2〕に従った。被検血清はアセトン処理を2回行い、非特異的赤血球凝集 (HA) 抑制物質を除去し、市販の日本脳炎ウイルス JaGAr01株 (デンカ生研) を抗原として、赤血球凝集抑制反応 (HI) で抗体価を測定した。血球は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. 調査結果および考察

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、10月10日は19頭であった。

最初の採血日の7月11日から4回目の8月1日まで、抗体を保有している豚は認められなかった。5回目の8月10日に初めて抗体保有豚が出現したが、保有率は15% (3/20) で、抗体価も10倍が1例、20倍が2例であった。その後8月22日と29日には抗体価40倍の豚が1例出現したが、2-ME 感

表4-4. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績(2000年, 平成12年)

調査日	1. 富山大井牛舎					2. 大山東黒牧牛舎				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
9月1日	0	7,149	0	0	7,149	0	131	0	0	131
2	0	19,929	0	0	19,929	2	251	1	0	254
3	1	11,646	0	0	11,647	1	101	0	0	102
4	0	5,862	0	0	5,862	0	226	0	0	226
5	0	18,609	0	0	18,609	2	161	0	0	163
6	0	11,022	0	0	11,022	1	119	0	0	120
7	0	6,778	1	0	6,779	0	194	0	0	194
8	0	39,541	0	0	39,541	0	99	0	0	99
9	1	3,927	0	0	3,928	0	218	1	カラツ	221
10	0	5,490	0	0	5,490	3	306	1	0	310
11	0	13,728	0	0	13,728	1	211	0	カラツ	213
12	0	6,150	0	0	6,150	1	198	1	0	200
13	1	17,154	6	0	17,161	0	0	0	0	0
14	0	12,397	3	0	12,400	0	106	0	0	106
15	1	4,299	3	0	4,303	0	34	0	0	34
16	2	4,357	4	0	4,363	1	17	0	0	18
17	4	3,774	5	0	3,783	0	18	0	0	18
18	0	1,835	4	0	1,839	3	30	1	カラツ	35
19	0	2,394	0	0	2,394	2	12	0	0	14
20	0	2,454	0	0	2,454	1	5	0	ヤマト	7
21	0	2,744	0	0	2,744	0	16	0	0	16
22	0	4,625	0	0	4,625	0	37	0	0	37
23	0	2,886	0	0	2,886	0	38	0	0	38
24	0	2,339	0	0	2,339	0	22	0	0	22
25	0	1,505	1	0	1,506	0	13	0	0	13
26	0	993	1	0	994	0	16	0	0	16
27	0	647	1	0	648	0	37	0	ヤマト	38
28	0	815	0	0	815	1	65	0	0	66
29	0	555	0	0	555	0	44	0	0	44
30	0	1,228	1	0	1,229	9	351	0	カラツ	362
計	10	216,832	30	0	216,872	28	3,076	5	8	3,117

注. 表4-1の脚注を参照のこと.

受性は擬陽性であった。9月5日には抗体保有率が35%になり、抗体価40倍以上の6例のうち1例が2-ME感受性が陽性であり、新鮮感染であることが確認された。翌週の9月12日も抗体保有率が30%になり、新鮮感染が1例確認された。さらに、9月19日には抗体保有率が70%になったが、2-ME感受性例は認められなかった。しかし、9月26日には抗体保有率が55%に下がったが、抗体価40倍以上11例のうち4例が2-ME感受性であった。10月3日には抗体保有率は75%に再上昇し、

陽性例15例のうち2例が2-ME感受性であった。最終回の10月10日は19頭のうち14頭が40倍以上の抗体を保有(74%)しており、そのうち1例が2-ME感受性であった。

前年の場合、9月21日になって高い抗体価の豚が出現し、2-ME感受性である新鮮感染が認められた。今年は昨年より2週間早い9月5日に、抗体価の高い豚が出現し、それ以降2-ME感受性である新鮮感染の豚が最終採血日まで出現した。このことから今年は前年に比べ、2週間も早く日本

表5. 富山県における近年の気象要因の変動(富山気象台)

比較因子	月	年 度										平年値
		1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	
平均気温 (℃)	5	16.5	15.1	15.7	17.9	16.6	16.3	17.6	18.6	17.6	17.6	16.7
	6	22.1	19.9	19.7	20.7	19.3	21.0	21.5	20.7	20.9	21.4	20.5
	7	24.8	24.6	23.2	26.9	25.0	25.1	24.8	25.2	24.9	27.0	24.6
	8	24.6	26.1	23.3	29.1	27.7	26.0	26.4	25.5	27.7	28.1	26.0
	9	22.5	21.9	20.4	23.3	21.0	21.0	21.4	23.3	24.5	23.5	21.6
日照時間 (hrs)	5	169.9	165.5	204.9	214.6	160.1	212.1	167.8	207.0	224.9	184.8	200.9
	6	132.5	169.8	100.1	154.8	105.9	117.3	162.5	86.5	137.3	148.4	152.3
	7	111.6	164.6	100.2	195.4	122.1	192.2	136.3	130.9	134.5	232.7	165.7
	8	142.7	184.3	102.0	285.9	232.4	226.4	199.8	101.6	201.8	271.8	200.4
	9	(129)	157.5	112.5	(156)	129.2	150.4	95.5	125.5	129.9	151.0	133.9
降雨量 (mm)	5	65.5	101.0	180.5	(55)	103.0	126.0	197.5	245.5	132.5	48.5	124.8
	6	328.0	185.5	179.0	50.0	116.5	305.0	143.0	135.0	247.0	197.0	196.9
	7	274.5	113.5	283.0	29.5	536.5	60.5	325.0	161.5	88.0	65.0	241.9
	8	276.5	137.0	328.0	18.0	176.0	149.0	129.5	630.5	155.0	39.5	176.6
	9	130.0	92.0	243.5	208.5	80.5	159.0	213.0	303.0	424.5	287.0	233.1

注. 1. 日本気象協会富山支部発行の「富山県気象月報」から富山気象台のデーターを引用した。

2. () 内の数値は欠測があったことを示し、参考に伏木気象台のデーターを引用した。

表6. 平成12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(2000年)

検 体 採取日	坑 体 価								2-ME 感受性 陽性数
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320	≥640	
7月11日	20 (100)								
18日	20 (100)								
25日	20 (100)								
8月1日	20 (100)								
10日	17 (85.0)	1 (5.0)	2 (10.0)						
22日	19 (95.0)			1 (5.0)					0 (0)
29日	19 (95.0)			1 (5.0)					0 (0)
9月5日	13 (65.0)	1 (5.0)		1 (5.0)	4 (20.0)	1 (5.0)			3 (50.0)
12日	12 (60.0)			1 (5.0)	6 (30.0)	1 (5.0)			1 (12.5)
19日	6 (30.0)		1 (5.0)	2 (10.0)	7 (35.0)	4 (20.0)			0 (0)
26日	9 (45.0)			2 (10.0)	4 (20.0)	3 (15.0)	2 (10.0)		4 (36.4)
10月3日	5 (25.0)				6 (30.0)	8 (40.0)	1 (5.0)		2 (13.3)
10日	5 (26.0)			1 (5.0)	5 (26.0)	6 (32.0)	1 (5.0)	1 (5.0)	1 (7.1)
計	185 (71.4)	2 (0.8)	3 (1.2)	9 (3.5)	32 (12.4)	23 (8.9)	4 (1.5)	1 (0.3)	11 (15.9)

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。

脳炎ウイルスが富山県内に侵入し、媒介蚊のコガタアカイエカの発生消長と連携して、10月上旬まで豚の間に拡大して行ったと推定される。この豚

における感染推移は日本脳炎患者が発生した1997年(平成9年)[3]よりも危険な消長を示し、患者発生が危惧されたが結果的には患者の発生は起

こらなかった。その原因については現在精査中であるが、コガタアカイエカの発生量もそれらの一因と考えられる。

ま と め

今年度の蚊の発生状況は盛夏に少なく、晩夏に多い「晩夏発生型」を示した。一方、豚のHI抗体保有推移は日本脳炎患者が発生した1997年の状況をさらに強調する「晩夏急上昇型」を示した。しかし、媒介蚊コガタアカイエカの発生量が県西部で明瞭に1997年より少なく、それが原因の一つになり日本脳炎に罹患する県民が出現しなかったと推定される。すなわち、蚊の発生量が1997年に比べ少なく、しかも発生のピークが9月にずれ込んだことで、日本脳炎ウイルスを持った蚊に刺さ

れる事態が極めて少なくなったことが考えられる。

謝辞：本調査の実施にあたり、ご協力を頂いている各定点畜舎、関係保健所・支所および食肉総合センター・検査所の各位に深謝いたします。

文 献

1. 渡辺 護, 長谷川澄代, 高田ちはる (2000), 富山衛研年報, 23, 79-86.
2. 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.
3. 渡辺 護, 長谷川澄代, 品川保弘, 上村 清, 田中佳子, 浦田祐子, 川越久美子, 藤崎啓子, 広明秀一 (1998), 富山衛研年報, 21, 90-103.

ポリオ流行予測調査

中山 喬 安藤 秀二 松浦久美子 長谷川澄代
石倉康宏 北村 敬 遠藤京子¹ 田中桂子²
南部 章³ 松田和久⁴ 池田英二⁵

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture

Takashi NAKAYAMA, Shuji ANDO, Kumiko MATSUURA, Sumiyo HASEGAWA,
Mitsuhiro ISHIKURA, Takashi KITAMURA, Kyouko ENDOU¹, Keiko TANAKA²,
Akira NAMBU³, Kazuhisa MATSUDA⁴ and Eiji IKEDA⁵

要 旨 平成12年度は、厚生労働省委託事業としては感染源調査のみをおこない、感受性調査は県単独事業として実施した。感染源調査は、ポリオワクチン接種後2カ月以上経過した時点で、0歳から4歳までの乳幼児から糞便を採取し、ウイルス分離検査を実施した。その結果、ポリオウイルスは分離されなかったが、アデノウイルス1型1株、コクサッキーウイルスB3型10株および型別同定不能のウイルス1株が分離された。

感受性調査は、全年齢層を対象として採血し、235名（0歳～82歳）の血清についてポリオウイルスに対する中和抗体価を測定した。ポリオウイルス各型に対する抗体価4倍以上の抗体保有率は、1型が94.0%、2型が97.9%、3型が79.6%であった。年齢区分別では、1型および2型では各年齢区分とも80%以上を示したが、3型は0～1歳の42.9%から7～9歳および40～49歳の100%まで、年齢区分でばらつきが見られた。また、抗体保有者の平均抗体価は、1型では141.1倍、2型では144.8倍、3型では38.1倍であった。

厚生労働省感染症流行予測事業で、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。本年度も昨年同様感染源調査のみの委託であった。

過去の流行予測調査の結果では、ポリオウイルスの野生株は分離されておらず、また、富山県住民のポリオウイルスに対する抗体保有率は、1型、2型、3型ともポリオの流行を十分に阻止しうる免疫状態であった。しかし、3種類のポリオウイルス全てに対する抗体を保有している人は県民の約

4分の3であり、約4人に1人は少なくとも1種類またはそれ以上の種類の抗体を保有していないという結果が示されている。ポリオ流行の可能性は少ないが、個人レベルでの感染防御は完璧とはいえない状況の中で、海外からのポリオウイルスの侵入に対する監視体制をゆるめることはできない。

ポリオウイルスに対する抗体の保有状況を把握するための感受性調査は、本年度も富山県単独事業で実施したので、両調査結果を合わせて報告する。

1 高岡保健所 2 新川保健所 3 中部保健所 4 砺波保健所 5 富山市保健所

I 感染源調査

調査および検査方法

新川保健所管内および砺波保健所管内の健康な乳幼児を対象に、当該地区の秋期ポリオワクチン投与実施後、2ヵ月以上経過した平成13年1月に調査を実施した。検体採取計画は、検査対象年齢区分0～1歳、2～3歳、4～6歳で、男女を問わず各区分20名、計60名を予定したが、採取された検体は0～4歳合計62名であった。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）

[1] に準じて行った。採取した糞便から Eagle-MEM 培養液（日水製薬KK）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、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。分離したウイルスは、ポリオウイルスプール抗血清、エンテロウイルスプール抗血清（ともにデンカ生研KK）および各種ウイルスの型特異抗血清（感染研、デンカ生研KK、日本ポリオ研究

所）を用いた中和反応を行い、ウイルスの種と型を同定した。

結果および考察

本年度の検体採取対象地区は新川保健所管内の黒部市であったが、0歳～2歳までの乳幼児については、砺波保健所管内の小矢部市も対象地区として検体採取を行い、男児28名、女児34名の乳幼児合計62名（0～4歳）の糞便についてウイルス分離検査を行い、同時に各保健所においてポリオワクチン接種歴などを調査した。その結果、ポリオウイルスは分離されなかったが、コクサッキーウイルス B 3 型が10株、アデノウイルス 1 型が1株、型別同定不能のウイルスが1株の合計12株のウイルスが分離され、分離率は19.4%であった（Table 1）。

コクサッキーウイルス B 3 型は4歳23例中5例（21.7%）、3歳16例中4例（25.0%）、2歳15例中1例（6.7%）から分離された。全国的に見るとコクサッキーウイルス B 3 型は例年夏季から秋

Table 1. Virus Isolation from Feces of Children

Area	Age (Year)	No. of feces	Virus isolation positive		Identification of isolates *		
			No.	(%)	Ad. 1	Cox. B3	unidentified
Kurobe	0	1	0	0			
	1	4	0	0			
	2	9	2	22.2	1	1	
	3	16	4	25.0		4	
	4	23	5	21.7		5	
	5	0					
	6	0					
	Subtotal	53	11	20.8	1	10	
Oyabe	0	0					
	1	3	0	0			
	2	6	1	16.7			1
	3	0					
	4	0					
	5	0					
	6	0					
	Subtotal	9	1	11.1			1
Total		62	12	19.4	1	10	1

Date of survey : Kurobe ; Jan. 22～24, 2001. Oyabe ; Jan. 15～17, 2001.

* Ad. 1 : Adenovirus type 1. Cox. B3 : Coxsackievirus B type 3.

季にかけて、主に無菌性髄膜炎、ヘルパンギーナなどの患者から分離されている。本調査の検体採取は1月であり、感染症発生動向調査においても、この時期当該地区で特に無菌性髄膜炎等の患者の増加は認められてはいなかった。2歳15例のうち9例は黒部市で採取され、コクサッキーウイルスB 3型が1株とアデノウイルス1型が1株分離されたが、小矢部市で採取された6例からは型別同定不能ウイルスが1株分離されたのみであった。検体数が少ないので両地区間の比較はできないが、少なくともコクサッキーウイルスB 3型は夏季ばかりでなく冬季においても、乳幼児の間に侵淫している場合のあることを示唆している。

本年度の調査において、ポリオウイルスは分離されなかったが、後述の感受性調査成績からみても、県内ではポリオウイルスの侵淫は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

平成12年7月から10月にかけて、高岡、新川、中部、砺波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）[1]に準じて行った。被験血清をEagle-MEM培養液で4倍希釈（血清量不足の1件は16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2倍階段希釈した。希釈血清それぞれに、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℃一晩の中和反応を行った。中和後、Vero細胞浮遊液（1～2 $\times 10^5$ 細胞/ml）を100 μ lずつ加え、37℃、5%CO₂の条件下で培養した。ウイルスによる細胞変性効果を1週間観察し、中和抗体価を測定した。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年度に感染研

から分与され、当研究所においてVero細胞で7代継代したウイルスを使用した。

結果および考察

本年度の感受性調査は、昨年度同様、県単独事業として実施した。採血された血清（0～82歳）236件についてポリオウイルスに対する中和抗体価を測定したが、このうち1検体は血清量が少なく、血清を16倍に希釈の後非働化し、各型に対する抗体を測定したところ、1型1024倍以上、2型512倍、3型16倍以下を示したため、以下の集計においてはこの検体を除いた235件で集計した。

ポリオウイルス各型に対する中和抗体価の保有状況をウイルス型別、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、1型は94.0%（221/235）、2型が97.9%（230/235）、3型は79.6%（187/235）であり、いずれの型に対しても集団免疫として十分な抗体保有状況であった。

各年齢区分の抗体保有率をみると、1型では、0～1歳の81.0%をはじめ各年齢区分とも80%以上を示した。2型では0～1歳が85.7%を示した以外は、各年齢区分とも90%以上の保有率であった。一方、3型は0～1歳が42.9%、4～6歳が66.7%、20～24歳が70.0%であり、90%以上を示した年齢区分は7～9歳と40歳代以上の年齢層であるなど、年齢区分でばらつきが見られた。

抗体保有者の平均抗体価は、1型では30～39歳の48.5倍から2～3歳の724.1倍までを示し全年齢平均は141.1倍であった。2型は1型同様40～49歳の77.0倍から2～3歳の597.3倍までを示し平均抗体価は144.8倍であった。一方、3型では15～19歳の18.2倍から0～1歳の128倍までを示し、平均抗体価は38.1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型のワクチン接種者全体の各抗体保有率は、各々97.8%（132/135）、100.0%（135/135）であり、また、1回のみのワクチン接種でも十分な抗体獲得率を示している（1型、2

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	4	1	0	1	0	0	0	2	1	12	21	81.0%	471.9
2~3	2	0	0	0	0	0	0	2	4	10	18	88.9%	724.1
4~6	0	0	1	0	1	1	2	6	2	11	24	100.0%	362.0
7~9	0	0	0	0	0	1	2	2	2	3	10	100.0%	337.8
10~14	0	0	0	2	2	6	3	4	2	2	21	100.0%	119.8
15~19	0	0	0	0	1	4	4	3	3	4	19	100.0%	221.2
20~24	2	0	1	1	5	1	2	4	3	1	20	90.0%	105.6
25~29	1	2	0	1	1	0	1	3	0	1	10	90.0%	64.0
30~39	2	2	2	4	2	6	6	2	0	1	27	92.6%	48.5
40~49	0	0	0	2	4	0	2	2	3	2	15	100.0%	128.0
50~59	3	2	1	3	2	5	4	5	0	0	25	88.0%	54.7
60~	0	1	5	2	3	2	5	3	4	0	25	100.0%	58.9
Total	14	8	10	16	21	26	31	38	24	47	235	94.0%	141.1
	6.0%	3.4%	4.3%	6.8%	8.9%	11.1%	13.2%	16.2%	10.2%	20.0%	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	3	2	0	1	0	0	2	1	4	8	21	85.7%	276.5
2~3	0	0	0	0	0	0	1	1	9	7	18	100.0%	597.3
4~6	0	0	0	0	1	3	4	9	5	2	24	100.0%	228.1
7~9	0	0	0	0	2	1	3	1	3	0	10	100.0%	147.0
10~14	0	0	0	1	2	7	5	4	2	0	21	100.0%	105.0
15~19	0	0	0	0	2	4	8	3	2	0	19	100.0%	123.4
20~24	0	1	0	1	4	4	4	3	3	0	20	100.0%	87.4
25~29	0	0	0	1	1	2	2	1	2	1	10	100.0%	137.2
30~39	1	1	0	0	2	7	5	8	2	1	27	96.3%	124.6
40~49	0	1	1	1	2	1	7	0	0	2	15	100.0%	77.0
50~59	0	2	1	1	3	8	4	1	1	4	25	100.0%	82.1
60~	1	0	0	0	6	0	9	3	5	1	25	96.0%	143.7
Total	5	7	2	6	25	37	54	35	38	26	235	97.9%	144.8
	2.1%	3.0%	0.9%	2.6%	10.6%	15.7%	23.0%	14.9%	16.2%	11.1%	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	12	0	0	1	1	3	0	1	2	1	21	42.9%	128.0
2~3	5	0	1	1	0	4	5	1	0	1	18	72.2%	88.1
4~6	8	0	4	2	4	4	1	1	0	0	24	66.7%	30.6
7~9	0	3	1	1	2	1	1	1	0	0	10	100.0%	21.1
10~14	6	0	2	4	5	1	3	0	0	0	21	71.4%	30.6
15~19	3	2	4	4	2	3	1	0	0	0	19	84.2%	18.2
20~24	6	1	2	3	4	2	1	1	0	0	20	70.0%	27.6
25~29	2	1	0	2	2	1	1	1	0	0	10	80.0%	34.9
30~39	4	3	6	1	3	2	3	3	2	0	27	85.2%	35.0
40~49	0	0	1	1	4	7	0	1	1	0	15	100.0%	53.2
50~59	1	0	4	4	5	6	2	3	0	0	25	96.0%	39.2
60~	1	1	0	3	9	7	1	3	0	0	25	96.0%	45.3
Total	48	11	25	27	41	41	19	16	5	2	235	79.6%	38.1
	20.4%	4.7%	10.6%	11.5%	17.4%	17.4%	8.1%	6.8%	2.1%	0.9%	100.0%		

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(%)
	No.*	Rate(%)	No.*	Rate(%)	No.*	Rate(%)				
0~1	8/8	100.0	6/7	85.7			2/4	50.0	1/2	50.0
2~3	13/13	100.0	2/2	100.0			0/2	0.0	1/1	100.0
4~6	23/23	100.0							1/1	100.0
7~9	8/8	100.0			1/1	100.0			1/1	100.0
10~14	14/14	100.0			4/4	100.0			3/3	100.0
15~19	16/16	100.0	1/1	100.0	2/2	100.0				
20~24	3/3	100.0			8/9	88.9			7/8	87.5
25~29	4/4	100.0			4/5	80.0			1/1	100.0
30~39			1/1	100.0	11/11	100.0			13/15	86.7
40~49	1/1	100.0			2/2	100.0	5/5	100.0	7/7	100.0
50~59									22/25	88.0
60~							2/2	100.0	23/23	100.0
Total	90/90	100.0	10/11	90.9	32/34	94.1	9/13	69.2	80/87	92.0
			132/135	97.8%						

Type 2 Age group (years)	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
	Twice		Once		Unknown		No.*	Rate(%)	No.*	Rate(%)
	No.*	Rate(%)	No.*	Rate(%)	No.*	Rate(%)				
0~1	8/8	100.0	6/7	85.7			3/4	75.0	1/2	50.0
2~3	13/13	100.0	2/2	100.0			2/2	100.0	1/1	100.0
4~6	23/23	100.0							1/1	100.0
7~9	8/8	100.0			1/1	100.0			1/1	100.0
10~14	14/14	100.0			4/4	100.0			3/3	100.0
15~19	16/16	100.0	1/1	100.0	2/2	100.0				
20~24	3/3	100.0			9/9	100.0			8/8	100.0
25~29	4/4	100.0			5/5	100.0			1/1	100.0
30~39			1/1	100.0	11/11	100.0			14/15	93.3
40~49	1/1	100.0			2/2	100.0	5/5	100.0	7/7	100.0
50~59									25/25	100.0
60~							2/2	100.0	22/23	95.7
Total	90/90	100.0	10/11	90.9	34/34	100.0	12/13	92.3	84/87	96.6
			134/135	99.3%						

Type 3 Age group (years)	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
	Twice		Once		Unknown		No.*	Rate(%)	No.*	Rate(%)
	No.*	Rate(%)	No.*	Rate(%)	No.*	Rate(%)				
0~1	4/8	50.0	4/7	57.1			0/4	0.0	1/2	50.0
2~3	10/13	76.9	2/2	100.0			0/2	0.0	1/1	100.0
4~6	15/23	65.2							1/1	100.0
7~9	8/8	100.0			1/1	100.0			1/1	100.0
10~14	11/14	78.6			3/4	75.0			1/3	33.3
15~19	14/16	87.5	1/1	100.0	1/2	50.0				
20~24	3/3	100.0			5/9	55.6			6/8	75.0
25~29	4/4	100.0			3/5	60.0			1/1	100.0
30~39			0/1	0.0	11/11	100.0			12/15	80.0
40~49	1/1	100.0			2/2	100.0	5/5	100.0	7/7	100.0
50~59									24/25	96.0
60~							2/2	100.0	22/23	95.7
Total	70/90	77.8	7/11	63.6	26/34	76.5	7/13	53.8	77/87	88.5
			103/135	76.3%						

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

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

Age group (years)	No. of sera	Negative against all types	Positive against						
			Type1	Type2	Type3	Type1&2	Type2&3	Type1&3	Type1,2&3
0~1	21	3	0	1	0	8	0	0	9 (42.9%)
2~3	18	0	0	2	0	3	0	0	13 (72.2%)
4~6	24	0	0	0	0	8	0	0	16 (66.7%)
7~9	10	0	0	0	0	0	0	0	10 (100.0%)
10~14	21	0	0	0	0	6	0	0	15 (71.4%)
15~19	19	0	0	0	0	3	0	0	16 (84.2%)
20~24	20	0	0	2	0	4	0	0	14 (70.0%)
25~29	10	0	0	1	0	1	0	0	8 (80.0%)
30~39	27	1	0	0	0	3	1	0	22 (81.5%)
40~49	15	0	0	0	0	0	0	0	15 (100.0%)
50~59	25	0	0	0	0	1	3	0	21 (84.0%)
60~	25	0	0	0	0	1	0	1	23 (92.0%)
Total	235	4	0	6	0	38	4	1	182 (77.4%)
(%)	(100.0)	(1.7)	(0.0)	(2.6)	(0.0)	(16.2)	(1.7)	(0.4)	

型ともに90.9%;10/11)。しかし、3型の場合ワクチン接種者全体の陽性率は76.3% (103/135)で、1型、2型と比べてやや低く、1回接種者が63.6% (7/11)であった。これらの結果は過去の調査結果と同様であった。3型にたいしてはワクチンの2回接種は不可欠であると考えられた。

Table 4に各個人レベルの型別抗体保有状況を示した。3種類の型すべてに対する抗体を保有している人は、全体では77.4% (182/235)であったが、0~1歳は42.9%、4~6歳は66.7%であり、その他の年齢区分では70.0%以上であった。一方、全型抗体陰性者は4名 (1.7%)で、0~1歳3名のワクチン接種歴は、接種歴なし、1回接種、ワクチン歴不明がそれぞれ1名ずつであり、30~39歳の1名はワクチン歴不明であった。上記以外の49名 (20.9%)は3種のウイルスのうち1種または2種のウイルスに対する抗体を持っていなかった。

本調査の結果、調査した235名のうちの32.6%が、1型、2型、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ことが明らかになった。インド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おり、ポリオ常在国からの野生株ポリオ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、父親がワクチン接種児からの二次感染によりポリオ麻痺を発症した事例[2]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。現在のわが国では、ポリオウイルスの自然感染がないために、ワクチンでしか抗体を獲得する機会がない。したがって、ワクチン接種年齢を過ぎても抗体を獲得できなかった人は、特に、海外渡航時や育児に携わる期間には注意が必要であると思われた。

ま と め

感染源調査：平成13年1月に新川保健所管内および砺波保健所管内の健康な乳幼児62名を対象に調査し、コクサッキーウイルスB 3型が10株、アデノウイルス1型が1株、型別同定不能のウイルスが1株分離されたが、ポリオウイルスは分離されなかった。

感受性調査：0歳から82歳までの235名の血清について、測定したポリオウイルス (弱毒セービンウイルス)に対する中和抗体価を集計したところ、

平成13年10月1日

抗体保有率は1型94.0%, 2型97.9%, 3型79.6%であった。また, 平均抗体価は1型141.0倍, 2型144.8倍, 3型38.1倍を示し, 集団免疫としては良好な抗体保有状況であった。

これらの結果から, 野生株ウイルスの侵淫や, ポリオ流行の可能性は少ないと考えられた。

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. 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.
2. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課編 (2001). 病原微生物検出情報月報, 22, 63.

インフルエンザ流行予測調査

松浦久美子 長谷川澄代 石倉康宏 中山 喬
 安藤秀二 北村 敬 田中桂子¹ 斎藤尚仁²
 遠藤京子³ 松田和久⁴ 池田英二⁵

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture

Kumiko MATSUURA, Sumiyo HASEGAWA, Mitsuhiro ISHIKURA, Takashi NAKAYAMA,
 Shuji ANDO, Takashi KITAMURA, Keiko TANAKA¹, Naohito SAITO²,
 Kyoko ENDO³, Kazuhisa MATSUDA⁴ and Eizi IKEDA⁵

要 旨 インフルエンザ流行前の時期における富山県住民の抗体保有状況（2000年6～10月）と豚の抗体保有状況（2000年7～10月）の調査，およびインフルエンザ様患者からのウイルス検出を試みた。その結果，以下の様な成績を得た。

1. インフルエンザ流行前における富山県住民236名の A/New Caledonia/20/99 (H1N1) 株, A/Moscow/13/98 (H1N1) 株, A/Panama/2007/99 (H3N2) 株, B/Yamanashi/166/98株 および B/Shangdong/07/97株に対する10倍以上の抗体保有率は，各々 23.3%, 52.5%, 56.8%, 30.1%, 12.3%であった。感染防御能があると考えられている40倍以上の抗体保有率は各々 8.9%, 27.5%, 22.5%, 5.1%, 3.4%で，低い保有率を示した。豚における A/HK/ 9-1-1 (H5N1) 株および A/HK/1073/99 (H9N2) 株に対する10倍以上の抗体保有は皆無（0%）であった。

2. 今冬は1月から4月まで長期間 A (H1) 型, A (H3) 型, B 型によるインフルエンザ患者が発生していたが，「集団かぜ」の発生は，3月上旬と4月中旬に合計10施設，患者数214人のみで少なかった。脳炎患者（2歳）の咽頭ぬぐい液から A (H3) 型インフルエンザウイルス遺伝子が RT-PCR 法によって検出され，インフルエンザ関連の脳炎であることが示唆された。

本調査は，インフルエンザウイルスに対する集団免疫の現況把握（感受性調査）及びウイルスの検索（感染源調査）等を行い，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した。厚生省保健医療局結核感染症課が主体となつて，全国の地方衛生研究所等が協力して実施した。

感受性調査は，インフルエンザ流行前の時期に

おける人のインフルエンザウイルス抗体保有状況と，新型インフルエンザの出現を想定して豚におけるインフルエンザウイルス抗体保有状況を調べた。感染源調査は，インフルエンザ様患者についてウイルスの検出と血清抗体を調べた。同様の調査をインフルエンザの関連が疑われた脳炎患者についても行った。これらの結果について報告する。

I 感受性調査

調査および検査方法

1. 調査期間

人の感受性調査：2000年6月～10月

豚の感受性調査：2000年7月～10月

2. 調査対象

人血清は県内住民の236名（0～83歳）から採取し、豚血清は富山食肉総合センターに搬入された県内産豚（生後6ヶ月）から80検体を採取した。

3. 検査方法

「伝染病流行予測調査検査術式」（昭和61年発行）に従いインフルエンザウイルス HI 抗体価を測定した。抗体価は血清希釈1：10より測定し、血清希釈倍数のみで表示した。抗原は人では A/New Caledonia/20/99（H1N1）株、A/Moscow/13/98（H1N1）株、A/Panama/2007/99（H3N2）株、B/Yamanashi/166/98株 および B/Shangdong/07/97を用い、豚では A/HK/9-1-1（H5N1）株および A/HK/1073/99（H9N2）株を用いた。A/New Caledonia/20/99株、A/Panama/2007/99（H3N2）株、B/Yamanashi/166/98株は今年度のワクチン株である。これらの抗原は国立感染症研究所より分与された。

結果および考察

1. 人のインフルエンザ感受性調査

年齢群別検体数は0～4歳：44例、5～9歳：30例、10～14歳：21例、15～19歳：19例、20～29歳：30例、30～39歳：27例、40～49歳：15例、50～59歳：25例、60歳以上：25例で、合計236検体である。これらの検体について、Aソ連型（H1N1）、A香港型（H3N2）、B型ウイルスに対するHI抗体を調べ、HI価10倍以上と40倍以上の抗体保有率を年齢群別に示すと Fig.1 のようであった。40倍以上の抗体は感染防御能があると考えられている。

A/New Caledonia/20/99（H1N1）株に対する抗体保有率：前シーズン（1999.12～2000.3）の主

な流行株は、A/Beijing/262/95類似株と A/New Caledonia/20/99類似株であり、流行予想株として New Caledonia 株が選定され、ワクチン株として用いられた。この株に対する HI 価10倍以上の抗体保有率は23.3%（55/236）、40倍以上は8.9%（21/236）であり、抗体保有者は少なかった。年齢群別にみると、10倍以上の抗体保有率は5～19歳群では38～50%と比較的高いが、ほかの年齢群では低い。40倍以上は10～14歳群（33%）以外の年齢層では低い。低年齢層で抗体保有者が比較的多いのは、前シーズンの A ソ連型による集団かぜの発生を反映している。

A/Moscow/13/98（H1N1）株に対する抗体保有率：本株は、A/New Caledonia/20/99株とは抗原的にも遺伝子的にも大きく異なるグループに属する抗原変異株であり、4年前（1995.11～1996.3）に流行した株と共通の抗原性を持つ。この株の類似株が前シーズンに神奈川県や千葉県などで数株分離されたので、この株に対する抗体保有状況を測定した。HI 価10倍以上の抗体保有率は52.5%（124/236）、40倍以上は27.5%（65/236）であった。年齢群別にみると、10倍以上、40倍以上の抗体保有率は0～4歳群や高齢層では低いが、5～29歳群では高かった（10倍以上：53.3～100.0%、40倍以上：33.3～73.7%）。0～4歳群の抗体保有率が低く、5歳以上で高い保有率を示したのは4年前の流行を反映したもの、またこのような高い抗体保有状況から、この株による流行は少ないであろうと推測された。

A/Panama/2007/99（H3N2）株に対する抗体保有率：前シーズンは A/Sydney/5/97株と A/Panama/2007/99類似株が流行したので、Panama 株がワクチン株として選定された。この株に対する HI 価10倍以上の抗体保有率は56.8%（134/236）、40倍以上は22.5%（53/236）であった。年齢群別にみると、10倍以上の抗体保有率は0～39歳までの年齢層では50%以上であったが、それ以上の年齢では32.0～40.0%であった。40倍以上は0～14歳の年齢群では28.6～50.0%の保有率であったが、15歳以上の年齢層では、0.0～16.0%と低い保有率を示した。10倍以上の保有率が比較的高

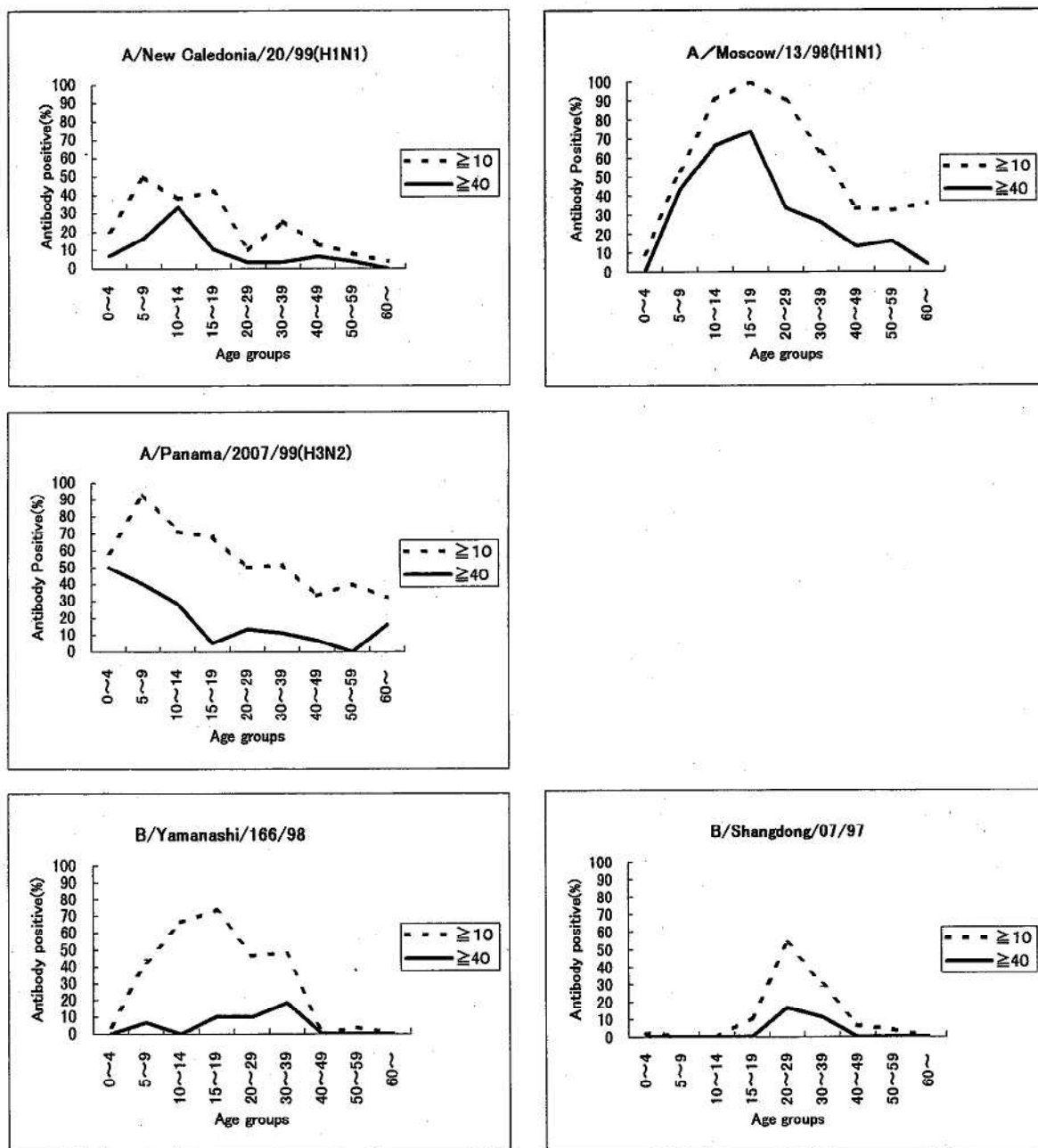


Fig. 1. Prevalence of Influenza Virus Strains in Age Groups (2000.6~10)

かったのは、過去10年間、A 香港型によるインフルエンザが毎年発生していたことによる。

B/Yamanashi/166/98株に対する抗体保有率：前シーズンはB型による流行は発生しなかったため、その前のシーズンに流行した本株がワクチン株として採用された。これに対するHI価10倍以上の抗体保有率は30.1% (71/236)、40倍以上は5.1% (12/236)であり、保有率は低かった。年齢群別にみると、10倍以上の抗体保有率は5~39歳群では43.3~73.7%と比較的高いが、4歳以下および

40歳以上では0~4.5%と低かった。40倍以上の保有率は全年齢層で低かった。

B/Shangdong/07/97株に対する抗体保有率：本株はYamanashi株とは異なる系統のウイルスで、東アジア地域で少数であるが分離されつづけている。これに対するHI価10倍以上の抗体保有率は12.3% (29/236)、40倍以上は3.4% (8/236)であり、低い保有率を示した。年齢群別にみると、10倍以上の抗体保有率は20~29歳の年齢群では高い (53.3%) が、その他の年齢群では低い。40倍

以上は全年齢で低く、高い HI 抗体価の保有者も少なかった。本株の流行は世界的にも2年間発生しておらず、今シーズンも患者発生は少ないと推測された。

富山県住民におけるインフルエンザ流行前の時期の抗体保有状況を調べた結果、Aソ連型、A香港型およびB型ワクチン株に対する10倍以上の抗体保有率は、5～39歳の年齢層では高い傾向が認められた。一方、感染防御能があると考えられている40倍以上の抗体保有率は、いずれの株に対しても低い状況であった。国立感染症情報センターで集計された全国の抗体保有状況にも同様の傾向がみられた。

2. 豚のインフルエンザ感受性調査

新型インフルエンザウイルスの出現を想定して、豚における抗体保有状況を調べた。豚血清80検体についてA(H5N1)およびA(H9N2)型ウイルス株に対するHI抗体を調べた結果、抗体価は全て10倍未満であり、保有率は0%であった。豚の間ではこれらのウイルス株による流行はなかったと推測される。豚の月齢は6ヶ月と若い豚が対象であった為、抗体保有率が0%になった可能性もある。

II 感染源調査

調査および検査方法

1. 調査期間

2000年11月～2001年4月

2. 調査対象

定点観測として、正木医院（福光町）、宗玄医院（高岡市）、二本垣医院（黒部市）、坂本小児科医院（富山市）および池田内科医院（上市町）の協力により、インフルエンザ様疾患の患者を調査した。2施設で発生した「集団かぜ」の患者、インフルエンザの関連が疑われた脳炎患者および上記とは別の医療機関の依頼検体についても調べた。

3. 検査方法

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をMDCK細胞に接種して行い、分離されたウイルスの同定は、国立感染症研究所から分与された抗A/New Caledonia/20/99(H1N1)血清、抗A/Moscow/13/98(H1N1)血清、抗A/Panama/2007/99(H3N2)血清、抗B/Yamanashi/166/98血清および抗B/Shangdong/7/97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森下ら[1]が設定したプライマーを用い、RT-PCR法で行った。

2) インフルエンザウイルス HI 抗体

患者の急性期血清と回復期血清について、インフルエンザ HI 抗体価を感受性調査と同様の方法で測定した。

結果および考察

1. インフルエンザ様疾患の発生状況

インフルエンザ様患者の発生は、1月上旬より散発では発生していたが、「集団かぜ」は3月上旬まで発生しなかった。3月6日に今シーズン初めての「集団かぜ」がH小学校で発生、そして3月13日までに7施設で発生した。その後、しばらく「集団かぜ」患者の報告はなかったが、4月10日、16日、17日に3小学校で発生した。「集団かぜ」による休校、学年または学級閉鎖などの措置は合計10施設でとられ、累積患者数は214人で、昨シーズンの約1/20にとどまった。

2. インフルエンザウイルスの検出状況と血清 HI 抗体

2000年11月から2001年4月までに採取した定点観測113検体、集団かぜ（2集団）11検体、脳炎患者2名からの3検体および検査依頼1検体の合計128検体について、インフルエンザウイルスの検出および患者の急性期と回復期血清抗体の成績をTable 1に示す。

定点観測では、今冬初のインフルエンザウイルスは2001年1月11日に発病した患者からA(H1)型が分離された。その後、B型が1月28日、A(H3)型が2月20日に発病した患者から分離され、4月上旬までの患者よりA(H1)型が20株、A

Table 2. HI Titers of Reference Antiserum against Influenza A Isolates

Antigen	HI titer of ¹⁾		
	Anti-A/New Caledonia /20/99(H1N1)	Anti-A/Moscow/ 13/98(H1N1)	Anti-A/Panama/ 2007/99(H3N2)
A/New Caledonia/20/99	160	— ²⁾	—
A/Moscow/13/98	—	640	—
A/Panama/2007/99	—	—	640
A/Toyama/1/2001	160	10	—
A/Toyama/2/2001	160	10	—
A/Toyama/3/2001	160	10	—
A/Toyama/4/2001	160	—	—
A/Toyama/5/2001	160	10	—
A/Toyama/6/2001	80	10	—
A/Toyama/7/2001	80	10	—
A/Toyama/8/2001	80	10	—
A/Toyama/9/2001	80	10	—
A/Toyama/10/2001	80	—	—
A/Toyama/11/2001	80	10	—
A/Toyama/12/2001	80	10	—
A/Toyama/13/2001	80	10	—
A/Toyama/14/2001	160	10	—
A/Toyama/15/2001	160	10	—
A/Toyama/16/2001	80	10	—
A/Toyama/17/2001	—	—	320
A/Toyama/18/2001	—	—	160
A/Toyama/19/2001	80	—	—
A/Toyama/20/2001	80	—	—
A/Toyama/21/2001	80	—	—
A/Toyama/22/2001	80	—	—
A/Toyama/23/2001	40	—	—
A/Toyama/24/2001	—	—	160
A/Toyama/25/2001	40	—	—

1) Reference antigens and antiserum were supplied from National Institute of Infectious Diseases.

A/Toyama/1/2001 ~ A/Toyama/25/2000 antigens were isolated from throat swabes of patients with influenza-like disease in Toyama Prefecture from Jan. to Apr. 2001.

2) — : HI titer < 10

(H3) 型が3株, B型が10株分離された。

「集団かぜ」では2施設 (H小学校, S小学校) の患者について調べた結果, H小学校の患者から A (H1) 型が分離され, 急性期から回復期にかけて A (H1) 型に対する HI 抗体価の有意上昇 (4倍以上の上昇) も認められた。S小学校の患者からはウイルスは検出されなかったが, 急性期から回復期にかけて B 型に対する HI 抗体価の有意上

昇が認められ, B 型の感染によるインフルエンザであるとみなされた。

脳炎患者2名ではウイルスは分離されなかったが, RT-PCR 法によって1名の患者 (2歳) の咽頭ぬぐい液より A (H3) 型ウイルスの遺伝子が検出され, 急性期から回復期にかけて A (H3) 型に対する HI 抗体価の有意上昇も認められた。臨床症状は発熱 (40.0℃), 上気道炎, 気管支炎, 意

Table 3. HI Titers of Reference Antiserum against Influenza B Isolates

Antigen	HI titer of ¹⁾	
	Anti-B/Yamanashi/166/98	Anti-B/Shangdong/07/97
B/Yamanashi/166/98 ¹⁾	320	—
B/Shangdong/07/97	— ²⁾	20
B/Toyama/1/2001	160	—
B/Toyama/2/2001	160	—
B/Toyama/3/2001	10	—
B/Toyama/4/2001	10	—
B/Toyama/5/2001	10	—
B/Toyama/6/2001	10	—
B/Toyama/7/2001	10	—
B/Toyama/8/2001	40	—
B/Toyama/9/2001	20	—
B/Toyama/10/2001	10	—

1) Reference antigens and antiserum were supplied from National Institute of Infectious Diseases.
B/Toyama/1/2001 ~ B/Toyama/10/2001 antigens were isolated from throat swabs of patients with influenza-like disease in Toyama Prefecture from Jan. to Apr. 2001.

2) — : HI titer < 10

識障害、痙攣などであった。

合計128検体中22検体より A (H 1) 型, 3検体より A (H 3) 型, 10検体より B 型株が分離された。一方, 分離はされなかったが, A (H 1) 型と A (H 3) 型遺伝子が RT-PCR 法で検出されたのが各々 1 検体あった。分離株に対するインフルエンザ標準抗血清の HI 価を Table 2, 3 に示す。A (H 1) 型の分離株 (22株) に対する抗 A/New Caredonia/20/99 (H1N1) 血清と抗 A/Moscow/13/98 株 (H 1 N 1) 血清の HI 価は, 40~160倍 (ホモ:160倍), <10~10倍 (ホモ:640倍) であり, 分離株はワクチン株の New Caredonia 株に近いと判断された。A (H 3) 型の分離株 (3株) に対する抗 A/Panama/2007/99 (H 3 N 2) 血清の HI 価は160~320倍 (ホモ:640倍) であり, ワクチン株の Panama 株とは抗原性に大きな差は認められなかった。B 型の分離株 (10株) に対する抗 B/Yamanashi/166/98血清 HI 価は10~160倍 (ホモ:320倍) で, 分離株には Yamanashi 株の HI 価よりかなり低い HI 価 (10倍) の株が6株含まれていた。従って, 分離株にはワクチンの Yamanashi に類似の株とかなり異なる株とが混在していたと判

断された。国立感染症研究所で調べた全国の B 型分離株の解析成績でも, 今シーズン日本で分離された B 型ウイルス株の大半は Yamanashi 株とは抗原性が異なっていたことが報告されている [2]。そして, B 型分離株に対する抗 B/Shangdong/07/97血清の HI 価は, 全て10倍未満 (ホモ:20倍) で, Shangdong 株とも抗原性が異なっていると考えられる。

以上の検査結果より, 被検者127名のうち A (H 1) 型感染者が26名, A (H 3) 型感染者が4名, B 型感染者が12名確認された。ウイルスの検出状況や集団の発生事例の調査結果より, 富山県でのインフルエンザの流行は昨シーズンに比べて立ち上がりが遅く, また, 小規模 (集団発生の施設数: 昨シーズンの約1/10, 患者数: 約1/20) であった。しかし, 3種類のウイルスによるインフルエンザが1月から4月まで長期間にわたり発生していた。富山県内では1シーズン中での3種類のウイルスによるインフルエンザの発生は殆ど経験がない。

流行前の住民において, 感染防御能があると考

えられている40倍以上の抗体保有率はいずれの株に対しても低い状況であったことから、流行が始まるとまん延が懸念されていた。それにもかかわらず、このように小規模の流行で終息した要因を解明することは難しいが、感染症の流行などに大きく関与している因子（病原体、宿主、環境）について検討すると、次のようなことが推測される。

①患者から検出されたA(H1)型、A(H3)型はワクチン類似株、B型はワクチン類似株と変異株との混在であった。②A(H1)型は前シーズンに、A(H3)型は過去10年間連続して発生していたので、低価(10~20倍)の抗体保有者がかなりおり、大きな流行につながらなかった。③近年、高齢者での重症化や死亡例の発生、乳幼児における脳炎・脳症患者の発生例がみられ、住民はインフルエンザに注意するようになった。そして、ワクチン接種者が多くなり、予防に心がけるようになった。④富山県のインフルエンザの初発は、太平洋側の人口の多い地域におけるインフルエンザ患者の県内持ち込み(年末、年始における移動)が影響している場合が多い。従って、人口密度の高い地域の流行規模が県内の流行を左右しているかもしれない。久保田ら[3]は、今シーズンの流行の遅れと小規模となった要因の一つと

して、太平洋側は平年よりも低温且つ多湿(多雨、多雪)の気候の影響をあげている。富山県では低温であったが、湿度は例年と同程度であった。

今シーズンは小規模流行であった為、次シーズン(2001.12~2002.3)には抗体保有者が少ない状況になることが予想される。大きな流行にならないよう予防の総合対策が必要である。

謝辞：検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力頂いた正木医院、宗玄医院、二本垣医院、池田内科医院、および坂本小児科医院の関係各位に深謝致します。

文 献

1. 森下高行, 小林慎一, 三宅恭司, 石原佑式, 磯村思无, 中島節子, 中島捷久(1992). 感染症学雑誌, 66, 944-949
2. 小田切孝人, 西藤岳彦, 斎藤利憲ら(2001). 病原微生物検出情報, 22, 112-114
3. 久保田昭彦, 宮本秀樹(2001). 健康科学総合研究事業, 分担研究報告書(厚生科学研究), 18-27

一般住民の *Coxiella burnetii* に対する抗体保有状況

石倉 康宏 安藤 秀二 松浦久美子
 中山 喬 長谷川澄代

Prevalence of Antibodies Against *Coxiella burnetii* in Inhabitants in Toyama Prefecture

Mitsuhiro ISHIKURA, Syuji ANDO, Kumiko MATSUURA,
 Takashi NAKAYAMA and Sumiyo HASEGAWA

要 旨 ヒトにおける *Coxiella burnetii* の感染実態を解明する手がかりとして、一般住民を対象に *C. burnetii* に対する抗体保有状況を蛍光抗体間接 (IF) 法で検索した。

C. burnetii (II 相菌) 感染 Vero 細胞を抗原 (封入体抗原) とする IF 法の特異性を *Orientia tsutsugamushi*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, *Vibrio parahaemolyticus* (K 抗原), *Yersinia enterocolitica* (O 抗原), *Escherichia coli* (O 抗原), *Salmonella choleraesuis* (O,H 抗原), *Rickettsia*, *Legionella* の各抗血清を用いて調べた。使用した封入体抗原はこれらの抗血清とは反応せず、これらの病原体との間には共通抗原は認められなかった。県内住民の血清希釈16倍以上を陽性とした場合の抗体保有率は38% (301/790), 64倍以上では16% (128/790) であった。これを年齢別に見ると (16倍以上), 0歳では0%, 1歳で8%, 2歳で27%, 3歳で22%, 4歳で28%, 5歳で40%と徐々に上昇し、最も高い抗体保有率を示した年齢群は41~59歳で、抗体保有率は59%であった。抗体価は16倍~512倍に分布し、各年齢群における平均抗体価 (幾何平均) に有意な差は認められなかった。一般住民血清による IF 反応の蛍光像は抗体価とは関係なく、Vero 細胞内の封入体抗原のみが染まり、患者血清のように封入体 (中型粒子と大型粒子) と細胞外の粒子状抗原 (小型粒子) の両方が染まることは稀であった。

Q 熱 (*Coxiella* 症) は *C. burnetii* の感染によって起こる人畜共通感染症で、欧米では広く分布しているが、日本では存在しないとされていた。感染宿主は家畜、愛玩動物、野生動物や鳥類など極めて広い。*C. burnetii* はヒトの経気道や経口で感染し、急性の熱性疾患、肺炎、慢性の肝炎、心内膜炎などを起こすため、古くから重要な疾病として関心が高く、欧米では現在でも多くの集団発生例が報告されている。最近、国内では家畜や、多くの野生動物が *C. burnetii* の感染を受けていること (1-3)、ヒトにおいては、一般人に比べ家畜に

接触する機会の多い獣医師や屠畜場従事者が抗体保有率が高いこと (4)、インフルエンザ様患者や異型肺炎患者から高率に *C. burnetii* が分離され (5, 6)、心内膜炎患者の病理標本から遺伝子が検出されること (7)、また、抗体陽性の健康者血清からも遺伝子が検出されることなどが報告され (8)、日本にも急性および慢性の *Coxiella* 症が存在することが明らかにされてきた。これらの報告を総合すると、*Coxiella* 症は希少感染症ではなく、我々の身近にある常在感染症の一つである可能性が強く示唆される。そこで *C. burnetii* の浸淫状況

を明らかにするために一般住民の抗体保有状況を調査した。

材 料 と 方 法

1. *Coxiella burnetii*

国立感染研究所から分与を受け、Vero細胞で継代維持されている *Coxiella burnetii* の nine mile 株の II 相菌を使用した。

2. 住民血清

1998～2000年に富山県内に居住する 0～87歳の一般住民から採血され、富山県衛生研究所に保存されていた血清を使用した。

3. 患者血清

C.burnetii に対する抗体陽性血清として Q 熱の患者血清を使用した。患者血清は国立感染症研究所からと（患者 1）、酪農学園大学から（患者 2）それぞれ分与を受けたものである。両患者とも急性感染か慢性感染患者かは不明である。患者 1 は IgM 抗体が 32 倍認められたが、患者 2 には IgM 抗体が認められなかった。

4. 抗血清

蛍光抗体法に用いた抗原の特異性を確認するための各種の抗血清を使用した。抗 *Orientia tsutsugamushi* 血清、抗 *Rickettsia* 血清、抗 *Legionella* 血清 (*L.pneumophila* 3, 6 群) は当研究所の自家製、抗 *Salmonella choleraesuis* 血清 (O, H 抗原)、抗 *Yersinia enterocolitica* 血清 (O 抗原)、抗 *Ehrlichia coli* (病原大腸菌) 血清 (O 抗原)、抗 *Legionella* 血清 (O 抗原)、抗 *Vibrio parahaemolyticus* 血清 (K 抗原) はデンカ生研製、抗 *Mycoplasma pneumoniae* 血清、抗 *Chlamydia trachomatis* 血清は Biogenesis 社製をそれぞれ使用した。蛍光色素標識抗ヒト γ グロブリン (H+L 鎖) 血清と抗ヒト IgM (H 鎖) 血清はカベル社製を用いた。*C.burnetii* に対するマウス抗血清は酪農学園大学の森田教授から分与を受けた。

5. 抗原の作成

抗原は、Vero細胞に *C.burnetii* の nine mile (II 相菌) を感染させ、5日間培養して、細胞内に多数

の封入体を形成させた。細胞はトリプシンで剥し、リン酸緩衝食塩水 (pH7.2, PBS) で 3 回遠心洗浄した。洗浄細胞は PBS に浮遊させ、安全キャビネット内で 12 穴のスライドグラスに滴下 ($7\mu\text{L}$ 穴) し、乾燥後、アセトンで固定した。抗原スライドグラスは使用するまで -40°C で凍結保存した。

1. 蛍光抗体間接法 (IF 法)

検体である住民血清 (一次抗体) は 16 倍から 2 倍段階希釈し、これを抗原スライドグラスに滴下して 37°C で 30 分間反応させた。反応後、抗原スライドグラスは PBS でよく洗浄した。洗浄、乾燥させたスライドグラスに、IgG と IgM の総抗体を測定する場合には FITC 標識抗ヒト IgG (H+L 鎖) 血清 (2 次抗体) を、IgM 抗体のみ測定する場合には FITC 標識抗ヒト IgM (H 鎖) 血清 (2 次抗体) を滴下し、 37°C で 30 分間反応させた。反応後のスライドグラスは PBS でよく洗浄し、乾燥させた。そして、スライドグラスはグリセリン封入剤で封入し、透過型蛍光顕微鏡 (オリンパス) で観察した。蛍光抗体価は細胞内の封入体の特異的に染まる血清希釈の逆数で表した。

結 果

1. 封入体抗原の特異性

我々が作製した封入体抗原と Q 熱患者血清を反応させると、16 倍の低希釈でも非感染細胞は染まらず、感染細胞も封入体と細胞外に飛散した *C.burnetii* 粒子のみが鮮やかに染まって見えた (Fig.1)。そこで、この封入体抗原が *C.burnetii* 特異的な抗原であるかどうかを各種の抗血清と反応させて調べた。結果は Table 1 と Table 2 示した。

封入体抗原は、患者血清と抗 *C.burnetii* (II 相菌) マウス血清に対してはよく反応するのに反し、抗 *Orientia tsutsugamushi* 血清 (抗 Gilliam, 抗 Karp, 抗 Ks washaki), 抗 *Rickettsia* 血清 (抗 *R.montana*, 抗 *R.japonica*, 抗 *R.rickettii*, 抗 *R.typhi*), *M.pneumoniae* および *Chl.trachomatis* の全菌に対する抗血清、病原性大腸菌および *Y.enterocolitica* の O 抗原

Table 1. Response of Various Antisera Against Vero Cells Infected (Inclusion Body) with *Coxiella burnetii*

Antisera	Immunized animals	Maker	Antigen	
			Homologous antigen	Vero cell- <i>C. burnetii</i>
<i>Orientia tsustugamushi</i>				
Gilliam	Mouse	Laboratory	320	< 16
Karp			640	< 16
Kawasaki			320	< 16
<i>Rickettsia</i>				
<i>R. montana</i>	Mouse	Laboratory	320	< 16
<i>R. japonica</i>			640	< 16
<i>R. rickettsii</i>			640	< 16
<i>R. typhi</i>			1,280	< 16
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Rabbit	Biogenesis	Nt	< 16
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Guineapig		Nt	< 16
<i>Escherichia coli</i> (O antigen)	Rabbit	Denkaseiken	Nt	< Undilution
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (K antigen)		Denkaseiken	Nt	< Undilution
<i>Yersinia enterocolitica</i> (O antigen)		Denkaseiken	Nt	< Undilution
<i>Salmonella choleraesuis</i> (O, H antigen)				
<i>Coxiella burnetii</i>	Mouse	Rakuno university		4,096
Patient's serum 1				1,024
Patient's serum 2				128

The antisera of Denkaseiken are antisera adjusted in order to identify bacteria by slide glass agglutination test
Nt; not test, Laboratory; our laboratory, Vero cell-*C. burnetii*; Vero cells infected with *Coxiella burnetii*

Table 2. Response of Anti-Legionella Sera Against Vero Cells Infected(Inclusion Body)with *Coxiella burnetii*

Antisera	Immunized animals	Maker	Antigen		
			Vero cell- <i>C. burnetii</i>	<i>L. pneumophila</i> 3	<i>L. pneumophila</i> 6
<i>Legionella</i> (O antigen)					
<i>L. pneumophila</i> 1	Rabbit	Denkaseiken	< Undilution	Undilution	Undilution
2			< Undilution	2	Undilution
3			< Undilution	32	Undilution
4			< Undilution	Undilution	Undilution
5			< Undilution	Undilution	Undilution
6			< Undilution	< Undilution	32
<i>L. bozemanii</i>	Rabbit	Denkaseiken	< Undilution	4	Undilution
<i>L. dumoffii</i>	Rabbit	Denkaseiken	< Undilution	2	2
<i>L. gormanii</i>	Rabbit	Denkaseiken	< Undilution	Undilution	< Undilution
<i>L. micdadei</i>	Rabbit	Denkaseiken	< Undilution	Undilution	2
<i>Legionella</i> (living cells)					
<i>L. pneumophila</i> 3	Mouse	Laboratory	< 16	1,024	256.
6			< 16	128	1,024

に対する抗血清, 腸炎ビブリオの K 抗原に対する抗血清, *S. choleraesuis* の O および H 抗原に対する抗血清とは全く反応しなかった。 *C. burnetii* を r-RNA の塩基配列を基に系統分類すると, *Regionellaceae* group に入る (9)。そこで *Regionella* との抗原性の関係をしらべた (Table 2)。封入体抗原は, *L. pneumophila* (1 ~ 6 群), *L. bozemanii*, *L.*

dumoffii, *L. gormanii*, *L. micdadei* の O 抗原に対する抗血清と反応しなかった。また, *L. pneumophila* 3 群と 6 群の生菌で免疫したマウスの抗血清とも反応しなかった。

1. 一般住民の抗体保有状況

富山県内住民の *C. burnetii* に対する抗体保有率は, 16倍以上を陽性にした場合38% (301/790),

64倍以上を陽性にした場合16% (106/790) であった。採血年別では、1998年が47% (135/286) と21% (60/286), 1999年 が39% (104/268) と17% (46/268), 2000年が26% (62/236) と9% (22/236) で年々保有率が減少する傾向が見られた (Table 3)。

年齢別の保有率を見ると(16倍以上), 0歳で0% (0/29), 1歳で8% (3/36), 2歳で27% (11/41) と上昇し, 5歳で40% (9/22) に達した。最も抗体保有率の高かった年齢層は41~50歳で, 保有率は59% (41/70) であった (Fig. 1)。

居住者の環境, 即ち, 居住地の違いによって抗体保有率に差が見られるかどうかを市内と農村部居住者の間で検索した。両者の間には統計的に有意な差は認められなかった。

IgM 抗体は790名中2名が陽性であった。2名の陽性者の抗体価は16倍であった。

二人の患者血清と抗血清(マウス)で染めた *C.burnetii* 感染 Vero 細胞(封入体抗原)像は, 細胞内の封入体(中型および大型粒子, 芽胞)と細胞外に飛散した *C.burnetii* 粒子(小型粒子)の両方が明瞭に染まって観察された。これに反して, 陽性と判定された住民の血清で染まった蛍光像は, 抗体価に関係なく, 封入体のみが明瞭に染まった像で, *C.burnetii* 粒子は染まらない像であった (Fig. 2)。患者血清と同様に, 封入体と *C.burnetii* 粒子の両方を染めることが出来た住民血清は790名の血清中, 3名の血清(粒子に対する抗体価は16~32倍)であった。

Table 3. Prevalence of Antibodies Against *Coxiella burnetii* in Inhabitants in Toyama Prefecture

Year of bleeding	Number of sera	Dilution of sera			
		≥ 16		≥ 64	
		Number of positive	%	Number of positive	%
1998	286	135	47	60	21
1999	268	104	39	46	17
2000	236	61	26	22	9
Total	790	300	38	128	16

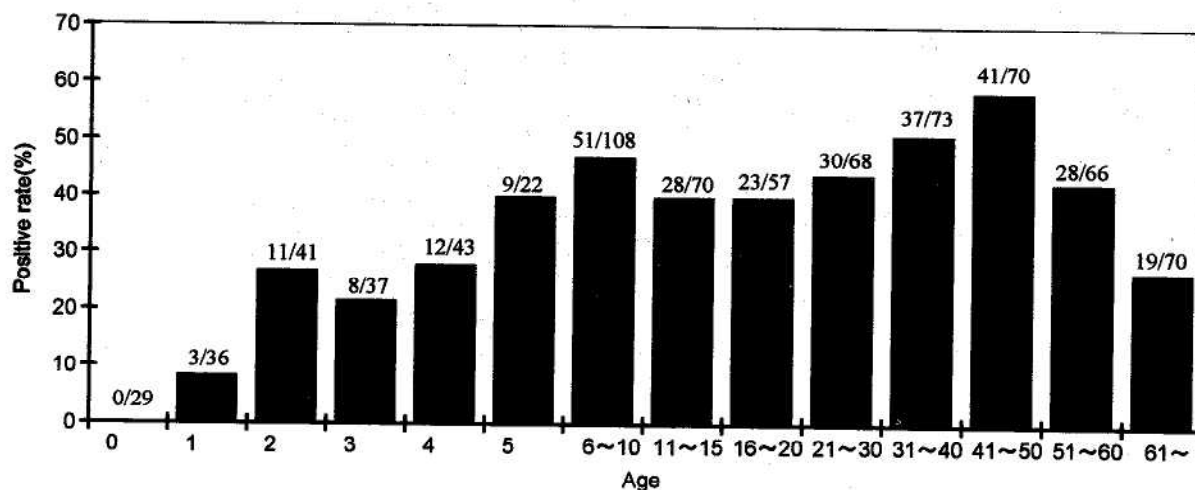


Fig. 1. Distribution by Age of Anti-*C.burnetii* Antibody-Positive Rate of Inhabitants in Toyama Prefecture

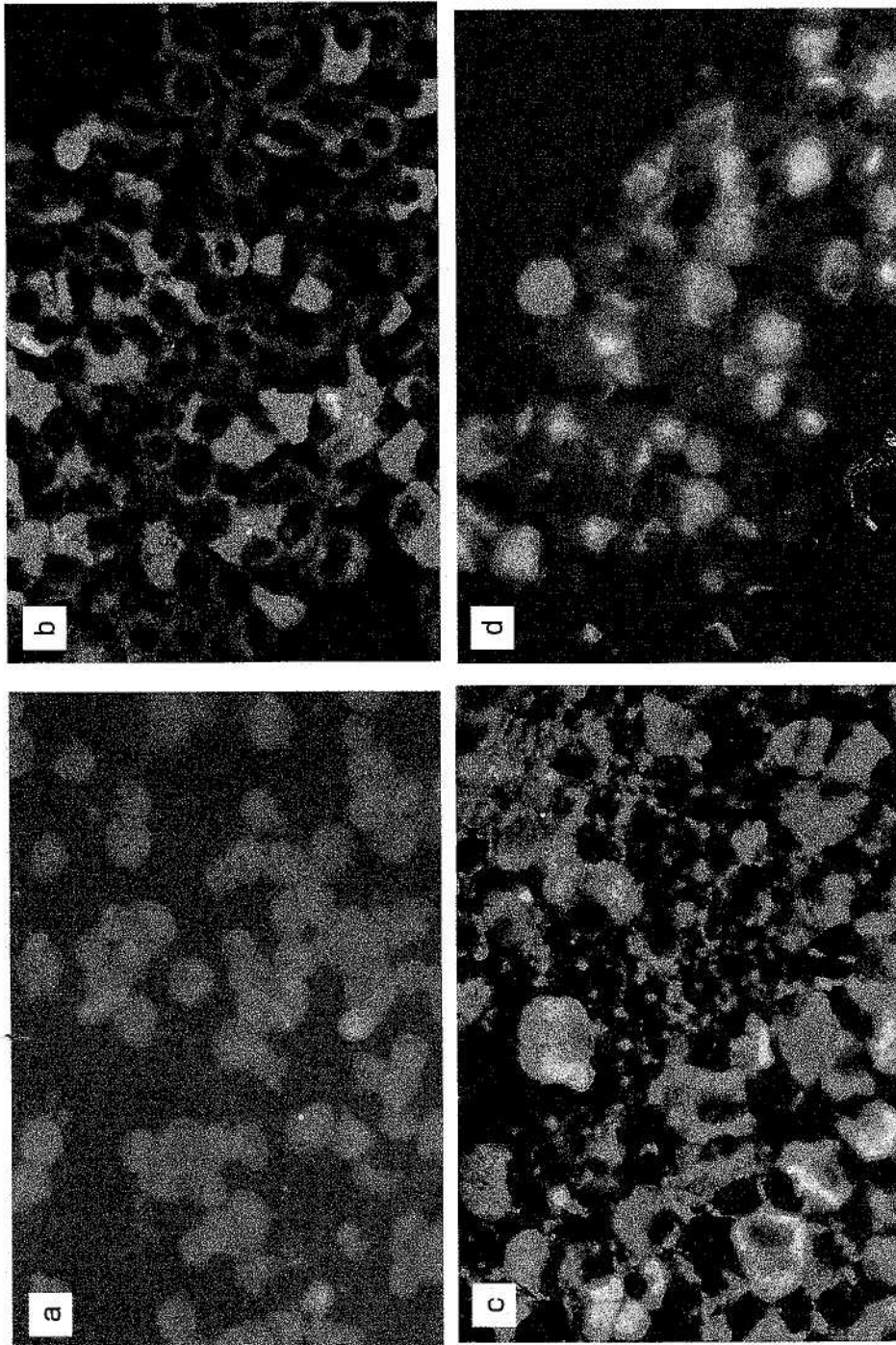


Fig. 2. Photomicrography of Immunofluorescent Stain with Serum of Patient (Q fever) and Inhabitant (magnification : $\times 400$, serum dilution : $\times 16$).
 Panel a : staining with inhabitant's serum of No. 125(antibody titer : <16), b : staining with inhabitant's serum of No. 268(antibody titer : 32), c : staining with patient's serum of No. 1(antibody titer : 1024), d : staining with inhabitant's serum of No. 16(antibody titer : 128)

考 察

C.burnetii に対する抗体の測定には、IF 法が常用されている。そして、抗原としては卵黄囊または培養細胞内で増殖させた *C.burnetii* 粒子を精製したものが使用されてきた。この精製粒子抗原は同一視野中に陰性となる対象物が存在しないために、低希釈の血清と反応させた時、特異的な蛍光像と非特異的な蛍光像の区別が難しい。また、抗体価が低い場合、粒子（小型粒子）の一部のみが染まり、陽性と陰性の区別が付きにくい欠点がある。そこで我々は、感染細胞を抗原として使うことを試みた。感染細胞といっても100%が感染細胞という訳ではなく、60%が感染細胞で、残りの40%は非感染細胞で、細胞の周辺には *C.burnetii* 粒子も散在している抗原である。この抗原を用いて16倍希釈の患者血清と反応させると、感染細胞内の封入体と *C.burnetii* 粒子が明瞭に染まり、同じ視野にある非感染細胞は全く染まらなかった。この結果、封入体抗原を低希釈（16倍）の血清と反応させても、陰性と陽性を明確に判別することが可能であることが明らかとなった。次に、この封入体抗原が *C.burnetii* に特異的な抗原であるかどうかについて検討した。*C.burnetii* と近縁関係の深い *Legionella* をはじめとして各種細菌の抗血清を用いて反応させた。その結果、封入体抗原はいずれの抗血清とも反応せず、封入体抗原が *C.burnetii* に特異的であることが明らかとなった。

封入体抗原を用いた県内住民の抗体検索成績は、血清希釈16倍以上を陽性とした場合38%、64倍以上を陽性とした場合16%の抗体保有率を示し、Htwe ら（4）の報告に比べるとはるかに高率であった。これは封入体抗原がファゴゾーム内で密集状態で存在しているため、散在した状態の粒子抗原（精製抗原）よりも蛍光光度が強く、蛍光抗体法の感度が高くなることと、封入体抗原は従来の精製抗原（小型粒子）よりも多くの抗体（封入体に特異的なエピトープにたいする抗体）と反応出来るからであろう。そして、この封入体抗原を用いた成績は日本で最初の報告である。

年齢別の抗体保有状況を見ると、ヒトは1歳頃からは *C.burnetii* の感染を受けはじめ、10歳までにおよそ50%が *C.burnetii* の感染を受けることが明らかとなった。この年齢別の成績もわが国では初めての報告である。以上示した成績は、Q熱（*Coxiella* 症）がわが国においても欧米同様、常在の感染症で、決して希少感染症でないことを示唆するものである。

上記したように、*C.burnetii* の感染がかなり高率であるにもかかわらず、わが国での *Coxiella* 症の報告が少ないのは何故であろうか、第一に考えられることは、*C.burnetii* 感染症の症状にはこれといった特徴が見られず、臨床診断が困難であることが上げられる。今後、医師の関心と、それに血清および遺伝子診断が加われば患者数は増加するものと考えられる。*Coxiella* 症の急性感染者のうち、1～10%は慢性感染に移行して心内膜炎や肝炎になることが知られている。現に、Yuasa ら（7）は、日本にも *C.burnetii* 感染による心内膜炎患者が存在することを報告している。今後、わが国においても、*C.burnetii* の慢性感染者がどれくらいの率で存在し、どのような臨床所見を呈しているかを明らかにすることは重要な課題の一つである。

患者血清と住民血清を用いての IF 反応を行うと、その蛍光像が異なっていた。2例の患者血清のみの反応で最終的な結論は得られないが、仮にこれが不変的な結果であるとしたらどのように考えたらよいであろうか。患者血清中には封入体抗原（中型粒子と大型粒子）と細胞外に放出される小型粒子とに反応する両方の抗体が産生されている。一方、多くの住民血清には封入体抗原と反応する抗体しか含まれていない。このことは、小型粒子が多数細胞外に放出され、小型粒子が急激に増幅されるような感染の場合、何らかの臨床症状を呈して発病にいたる。それに反して、大型粒子や中型粒子が小型粒子に進展せず、細胞内にとどまり、cell to cell での緩やかに感染した場合、不顕性感染か、軽い症状で終わる。そして、この二つ感染様式を決定する因子は、感染した *C.burnetii* のビルレンスの強弱によることなどが考察される（10-13）。もしそうだと仮定したら、細胞内の封

入体抗原はいかなる方法で免疫細胞に認識され、抗体を産生するようになるであろうか。第一は、封入体抗原のみがもつエピトープがマクロファージなどの感染細胞膜上に出現し、それをリンパ球が認識する。第二は、感染細胞に特異的な細胞障害性T細胞(killer T cell)が誘導され、それにより感染細胞が破壊され、細胞内の大型および中型粒子が露出して認識される。第三は、マクロファージの貪食、補体単独または抗体と補体による感染細胞の破壊や溶解などが考えられる。多くの住民血清中には小型粒子に対する抗体が認められないこと、封入体(中型および大型粒子)には小型粒子には存在しない抗原あることが指摘されている(14, 15)ことから、第一の認識機構が最も考えやすい。いずれにせよ、もし我々の仮説が正しいければ、封入体抗原を用いてIF反応を行い、その蛍光像により、感染者がいかなるビルレンスを持つ*C.burnetii*の感染を受けたか、顕性であったか、それとも不顕性感染であったか等の情報を知ることが可能かもしれない。

文 献

1. Htwe, K. K., Amano, K., Sugiyama, Y., Yagami, K., Minamoto, N., Fukushima, H., and Hirai, K. (1992). *Veterinary Record*, 131, 490.
2. Ejercito, C.L.A., Cai, L., Htwe, K.K., Taki, M., Inoshima, Y., Kondo, T., Kano, C., Abe, S., Shiota, K., Sugimoto, T., Yamaguchi, T., Fukushima, H., Minamoto, N., Kinjo, T., Isogai, E., and Hirai, K. (1993). *J. Wildlif Dise.*, 29, 489-484.
3. Ho, T., Htwe, K.K., Yamashaki, N., Zhang, G.Q., Ogawa, M., Yamaguchi, T., Fukushima, H., and Hirai, K. (1995). *Microbiol. Immunol.*, 39, 663-667.
4. Htwe, K.K., Yoshida, T., Hayashi, S., Miyake, T., Amano, K., Morita, C., Yamaguchi, T., Fukushima, H., and Hirai, K. (1993). *J. Clin. Microbiol.*, 31, 722-723.
5. To, H., Zhang, G.O., Otuka, H., Ogawa, M., Ochiai, O., Nguyen, SA V., Yamaguchi, T., Fukushima, H., Nagaoka, N., Akiyama, M., Amano, K., and Hirai, K. (1996). *J. Clin. Microbiol.*, 34, 647-651.
6. Nagaoka, H., Akiyama, M., Sugieda, M., Nishio, T., Akahane, S., Hattori, H., Ho, T., Fukushima, H., and Hirai, K. (1996). *Microbiol. Immunol.*, 40, 147-151.
7. Yuasa, Y., Yoshiie, K., Takashaki, T., Yoshida, H. and Oda H. (1996). *J. Clin. Microbiol.*, 34, 824-827.
8. Zhang, G.O., Nguyen, SA V., To, H., Ogawa, M., Hotta, A., Yamaguchi, T., Kim, H.J., Fukushima, H., and Hirai, K. (1998). *J. Clin. Microbiol.*, 36, 77-80.
9. Weisburg, W.G., Dobson, M.E., Samuel, J.E., Dasch, G.A., Mallavia, L.P., Baca, O., Mandelco, L., Sechrest, J.E., Weiss, E., and Woese, C.R. (1989). *J. Bacteriol.*, 171, 4202-4205.
10. Oda, H. and Yosii, K. (1989). *Microbiol. Immunol.*, 33, 969-973.
11. To, H., Htwe, K.K., Yamashai, N., Zhang, G.Q., Ogawa, M., Yamaguchi, T., Fukushima, H., and Hirai, K. (1995). *Microbiol. Immunol.*, 39, 663-671.
12. KazzJ., Lesny, M., Propper, P., Valkov, D. and Brezina, R. (1993). *Acta Virol.*, 37, 437-448.
13. Stoenner, H.G., and Lackman D.B. (1960). *Am. J. Hyg.*, 71, 45-51.
14. Amano, K.I., Williams, J.C., McCaul, T.F., and Peacock, M.G. (1984). *J. Bacteriol.*, 160, 982-986.
15. Williams, J.C. and Thompson, H.A. (1991). *Q fever: The Biology of Coxiella burnetii*, p.197-199, CRC press, Boca Raton Ann Arbor Boston London.

ポリオウイルス Sabin 1 型由来変異株に対する 住民の抗体保有状況

中山 喬 松浦久美子 安藤 秀二 長谷川澄代
石倉 康宏 北村 敬

Prevalence in inhabitants of neutralizing antibodies against a poliovirus
Sabin 1-derived variant

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

要 旨 現在わが国では、予防接種の普及により高い抗体保有率が維持され、ポリオウイルスの流行は見られない。また、野生株ウイルスも分離されていない。しかし、ごくまれにワクチン接種者から二次感染し、麻痺症状を発症した事例が報告されている。ポリオウイルス常在国から侵入する可能性のある野生株や毒性の復帰したワクチン由来株に対する感染予防対策のためには、これらのウイルスに対する抗体保有状況を把握しておく必要がある。われわれは以前に下水からワクチン由来変異株・G 4-12を分離した。今回は本株に対する住民の中和抗体保有状況を調査した。

G 4-12に対する中和抗体保有率は93.9%、平均抗体価は73.3倍であった。一方、ワクチン株の Sabin 1 型に対する抗体保有率は95.5%、平均抗体価は213.5倍であり、強毒株である Mahoney に対する抗体保有率は93.0%、平均抗体価は83.0倍であった。変異株および強毒株とも、平均抗体価はワクチン株の約3分の1の値であったが、抗体保有率はワクチン株と同様に高く、現在のワクチン接種体制を維持しておれば、ワクチン由来変異株および強毒株流行の危険はないものと考えられた。

現在日本国内では野生株ポリオウイルスによるポリオ患者の発生はなく、野生株ウイルスも分離されていない。また、一般住民のポリオウイルスに対する抗体保有状況は、ポリオの流行を十分防衛できる抗体保有率を示していた。

一方、インド、アフリカなどの一部の地域では、現在も野生株ポリオウイルスが常在しており、分離されたウイルスの中には、遺伝的にかなり変異したウイルスが見つまっている[1]。さらに、河川水や下水中から塩基配列に変異を示したワクチ

ン由来ポリオウイルスが分離されている[2]。また、抗体陰性者が病原性を回復したワクチン由来株の感染によって麻痺症状を呈した例も報告されている[3]。我々は、これらの変異株に対する感染防御の観点から、第1段階として、ポリオウイルス強毒株に対する抗体保有状況を調査し、その結果を昨年度富山衛研年報で報告した[4]。本年度は下水から分離されたワクチン株由来 Sabin 1 型変異株に対する住民抗体保有状況を調査した。

材料および方法

調査に供した血清は、ポリオ流行予測調査のために1998年9～12月に採血された244件（0～76歳）で、その内訳を表1に示した。中和抗体価の測定は伝染病流行予測調査検査術式（一部改訂）

〔5〕に準じて行った。その概要は、被験血清をEagle's MEM 培養液（日水製薬KK）で4倍希釈し、56℃、30分間非働化の後、その50 μ lを96穴マイクロプレート上で2倍階段希釈した。希釈血清各々に、100TCID₅₀/50 μ lとなるように調製した抗原ウイルス50 μ lを加えてよく混和し、37℃、3時間および4℃一晩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℃、5% CO₂の条件下で培養した。ウイルスによる細胞変性効果を1週間観察して中和抗体価を測定し、抗体価4倍以上を示した場合に抗体陽性とした。

抗原ウイルスは、ワクチン株のSabin 1型株（感染研から分与され、当研究所においてVero細胞で継代）、ポリオウイルス1型強毒株のMahoney株（感染研分与）およびワクチン由来G 4-12株を使用した。G 4-12は我々が下水から分離した1型ポリオウイルスである。ポリオウイルス遺伝子のVP 1領域について塩基配列を解析した結果、G 4-12ではSabin 1に対し2塩基の置換があっ

た。この塩基置換の差異は0.5%であり、G 4-12はSabin 1型由来の変異株とみなされた。アミノ酸配列では抗原決定部位Ag 1近傍の塩基（塩基配列位置2795）がSabin 1型のAからGの置換により、スレオニンからアラニンへ変異していた〔6, 7〕。

結 果

G 4-12, Sabin 1, Mahoney に対する中和抗体の測定結果を、ポリオ流行予測調査の集計方法に従い、年齢区分別、抗体価別にまとめて表2に示した。

抗体保有率：G 4-12, Sabin 1, Mahoney に対する抗体保有率は、それぞれ93.9%, 95.5%, 93.0%であった。年齢区分別で見ると、Sabin 1は81.8%（25～29歳）～100%, Mahoney 株およびG 4-12は80.0%（20～24歳）～100%で、3株に対して、各年齢区分においてはほぼ同様の抗体保有率を示した（図1）。しかし、各抗体価を基準にスクリーニングした抗体保有率を3株について比較すると、抗体価が高くなるにしたがってG 4-12およびMahoneyとSabin 1との抗体保有率に有意差が認められた。一方、G 4-12とMahoneyとの間では有意差は認められなかった（図2）。

平均抗体価：Sabin 1に対する抗体価は61.6倍

表1. 検査血清の内訳

年齢区分 (歳)	検査件数 (人)	ワクチン歴あり				ワクチン歴 なし	ワクチン歴 不明
		2回	1回	回数不明	小計		
0～1	20	4	10		14	1	5
2～3	29	21		2	23	1	5
4～6	36	29		1	30	1	5
7～9	28	18	2	2	22	2	4
10～14	23	22			22	1	
15～19	6	5			5		1
20～24	15	6		4	10	1	4
25～29	11	4	1	1	6	1	4
30～39	16	1	1		2		14
40～49	25			5	5	4	16
50～59	19					18	1
60～	16					16	
合 計	244	110	14	15	139	46	59

表2. ウイルス株別年齢区分別中和抗体測定結果

G4-12株														
年齢区分 (歳)	検査数 (人)	中 和 抗 体 価										陽性者 合計	抗体価4倍以上	
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024		保有率(%)	平均
0~1	20	1	1	1				2	3	5	7	19	95.0	318.6
2~3	29	2				2	2	8	9	3	3	27	93.1	203.2
4~6	36		2			2	7	12	7	5	1	36	100.0	125.8
7~9	28				3	3	9	7	5	1		28	100.0	84.0
10~14	23	1	2	1	3	5	7	3			1	22	95.7	39.9
15~19	6	1			1	1	1	1	1			5	83.3	64.0
20~24	15	3	2	2	3	3	2					12	80.0	17.0
25~29	11	2	1	2	2	2	2					9	81.8	18.7
30~39	16	2	2	3	1	4	3	1				14	87.5	21.5
40~49	25	2		1	6	7	4	1	2	2		23	92.0	45.9
50~59	19	1	1		3	5	5	2	2			18	94.7	45.3
60~	16			1		3	7	1	2	1	1	16	100.0	83.0
合計	244	15	11	11	22	37	49	38	31	17	13	229	93.9	73.3
(%)	100.0	6.1	4.5	4.5	9.0	15.2	20.1	15.6	12.7	7.0	5.3	93.9		

Sabin 1株														
年齢区分 (歳)	検査数 (人)	中 和 抗 体 価										陽性者 合計	抗体価4倍以上	
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024		保有率(%)	平均
0~1	20	1		1		1				1	16	19	95.0	637.3
2~3	29	2						1	4	2	20	27	93.1	733.4
4~6	36				1	1	1	1	4	11	17	36	100.0	502.2
7~9	28					1	1	4	6	5	11	28	100.0	399.7
10~14	23	1			1	3	1	3	7	6	1	22	95.7	186.8
15~19	6	1					1	2	1		1	5	83.3	194.0
20~24	15	2	1	1		2	3	2	3	1		13	86.7	71.2
25~29	11	2				4	1	3			1	9	81.8	80.6
30~39	16	1	2	1	2	1	2	3	1	2	1	15	93.8	61.1
40~49	25		1	1	1	5	6	4	2	2	3	25	100.0	89.3
50~59	19	1		1	2	2	7	4	2			18	94.7	61.6
60~	16			1		2	7	2	1	2	1	16	100.0	94.5
合計	244	11	4	6	7	22	30	29	31	32	72	233	95.5	213.5
(%)	100.0	4.5	1.6	2.5	2.9	9.0	12.3	11.9	12.7	13.1	29.5	95.5		

Mahoney 株														
年齢区分 (歳)	検査数 (人)	中 和 抗 体 価										陽性者 合計	抗体価4倍以上	
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024		保有率(%)	平均
0~1	20	2		1			1	2	2	4	8	18	90.0	391.0
2~3	29	2			1	1	3	8	6	5	3	27	93.1	198.0
4~6	36		2			6	5	9	9	4	1	36	100.0	111.9
7~9	28				2	5	6	11	4			28	100.0	82.0
10~14	23	1	1	2	1	6	5	4	2		1	22	95.7	53.0
15~19	6	1		1		1	1	1		1		5	83.3	64.0
20~24	15	3	3	1	3	2	2	1				12	80.0	18.0
25~29	11	2	2	2	2	1	2					9	81.8	14.8
30~39	16	3	1	2	2	5	2		1			13	81.3	25.9
40~49	25	2	1	1	4	7	4	1	1	2	2	23	92.0	55.0
50~59	19	1		2	1	2	4	4	4	1		18	94.7	77.6
60~	16				1		4	5	3	2	1	16	100.0	145.8
合計	244	17	10	12	17	36	39	46	32	19	16	227	93.0	83.0
(%)	100.0	7.0	4.1	4.9	7.0	14.8	16.0	18.9	13.1	7.8	6.6	93.0		

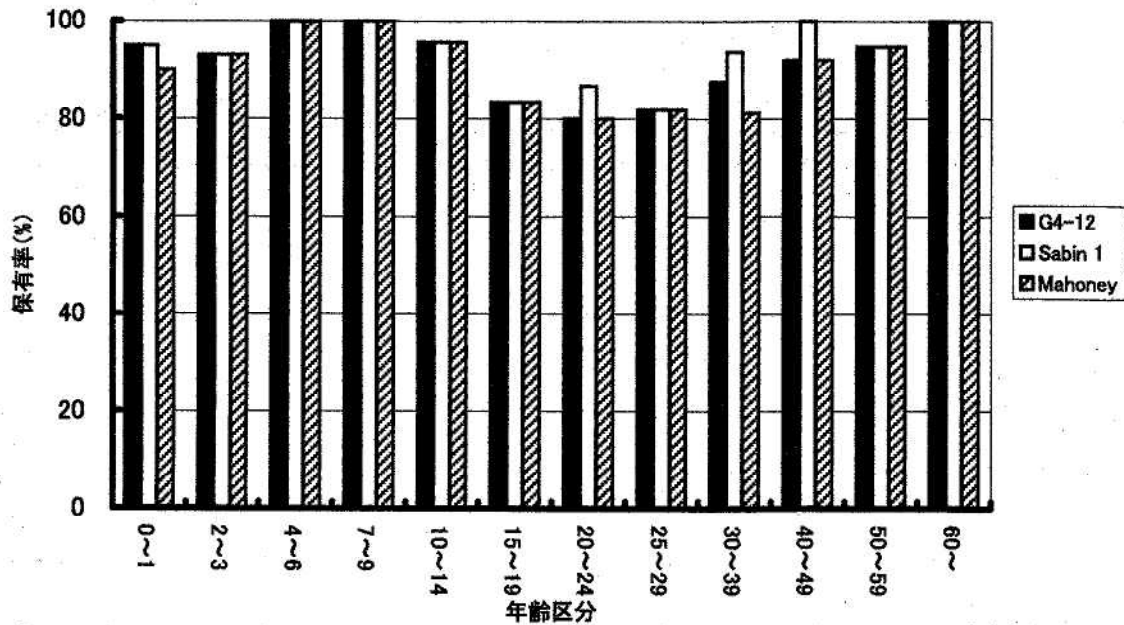


図1. 年齢区分別抗体保有率 (4倍以上)

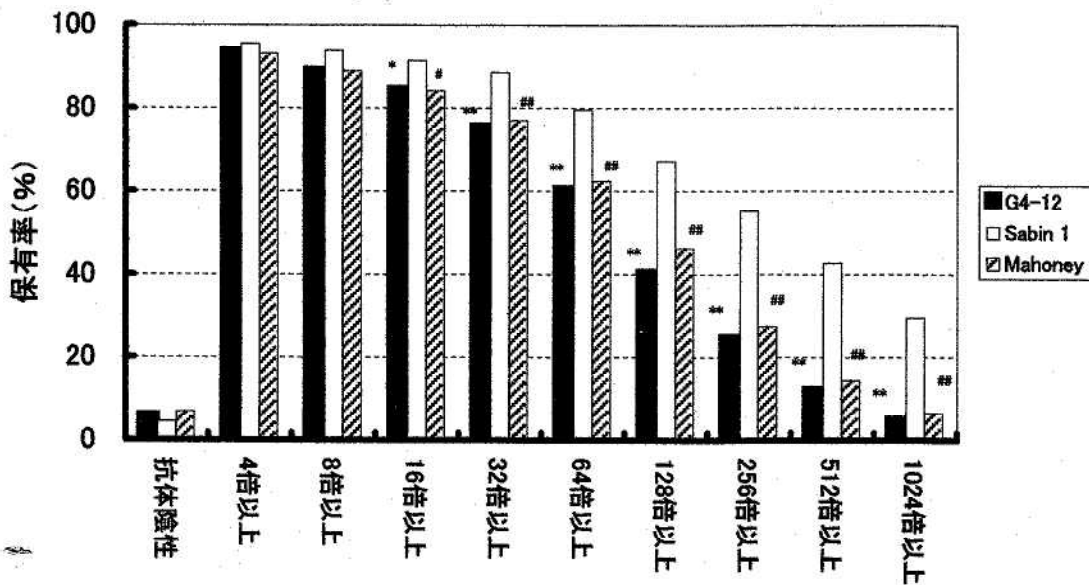


図2. 抗体価別スクリーニングによる抗体保有率

*: Sabin に対する G 4-12 の有意差, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$
 #: Sabin に対する Mahoney の有意差, #: $p < 0.05$, ##: $p < 0.01$

(30~39歳) ~733.4倍 (2~3歳) を示し, 平均213.5倍であった. Mahoney では14.8倍 (25~29歳) ~391.0倍 (0~1歳) を示し平均83.0倍であった. 40歳代以下の年齢区分では Sabin 1 が Mahoney より高い平均抗体価を示したが, 50~59歳および60歳以上では Mahoney が77.6倍, 145.8倍を示し, Sabin 1 の61.6倍, 94.5倍より高かった. G 4-12に対する抗体価は17.0倍 (20~24歳)

~318.6倍 (0~1歳) を示し, 平均抗体価は73.3倍であった. G 4-12は平均抗体価および年齢区分別抗体価とも Mahoney と同様の傾向を示したが, 50歳~59歳および60歳以上では45.3倍, 83.0倍を示し, Mahoney とは異なり Sabin 1 より低かった (図3).

株間における抗体価の相関: 検査した244件の血清について Sabin 1, Mahoney, G 4-12に対する

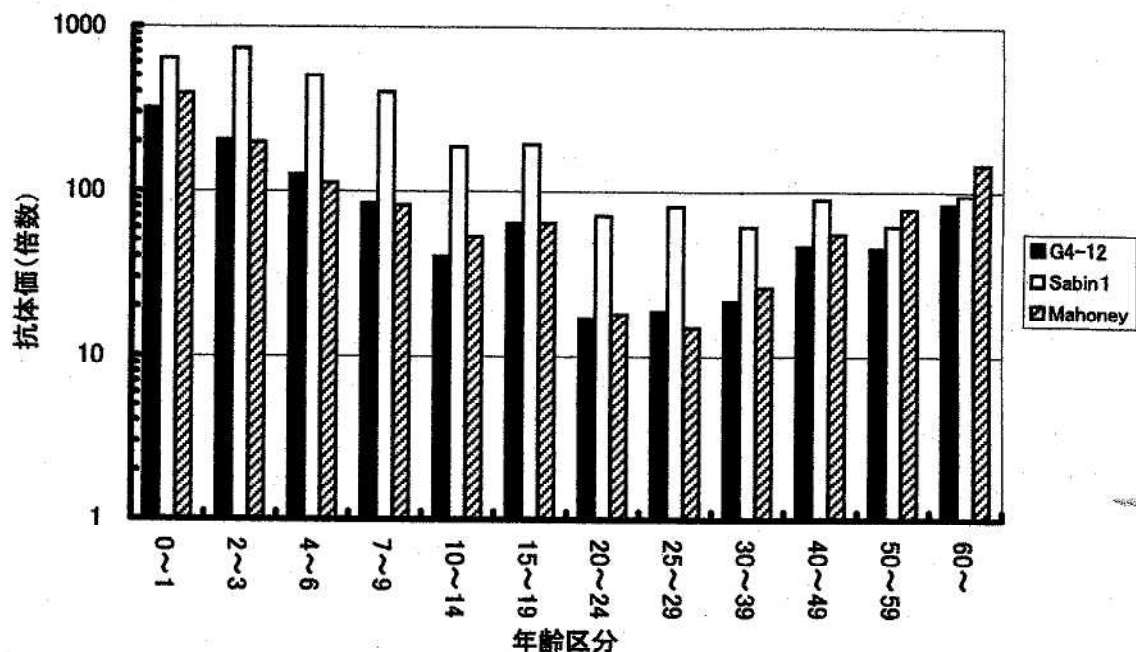


図3. 年齢区分別平均抗体価（4倍以上）

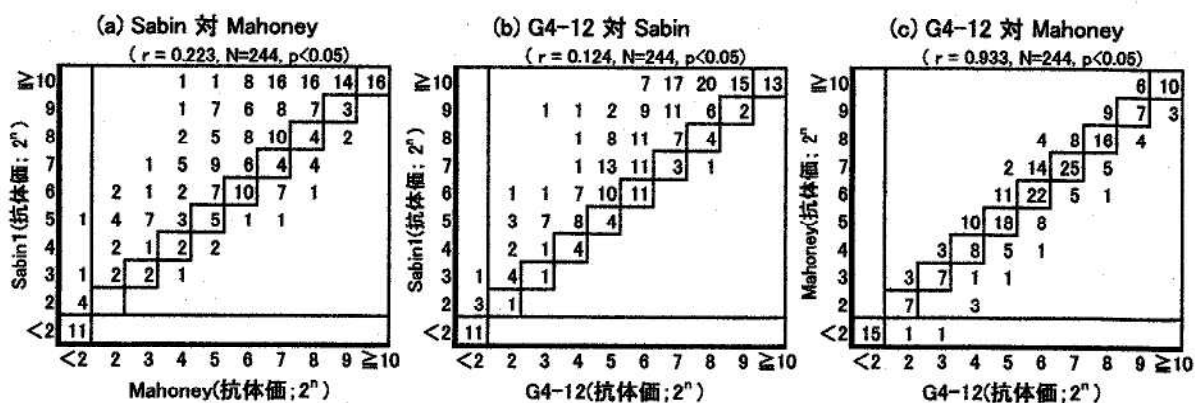


図4. 抗体価分布による G 4-12株, Sabin 1株, Mahoney 株間の比較

抗体価の分布を比較し、各株間の相関を検討した（図4）。Sabin 1とMahoneyとの間では、30歳代以下ではSabin 1の抗体価が高く、50歳代以上ではMahoneyの抗体価の高い検体が増え、年齢区分によって偏りを示した。全年齢で見ても両株間に相関関係は低かった（ $r=0.223, p<0.05$ ）（図4-a）。Sabin 1とG 4-12との間では、各年齢区分にわたってSabin 1の抗体価が高い傾向を示し、相関関係は低かった（ $r=0.124, p<0.05$ ）（図4-b）。一方、MahoneyとG 4-12との間では、各年齢区分において両株とも同様の抗体分布を示し高い相関関係が認められた（ $r=0.933, p<$

0.05 ）（図4-c）。

ワクチン歴：ポリオワクチン定期接種開始後に生まれた40歳未満184件について、各株の抗体保有率とワクチン接種歴について検討した。ワクチン接種者134件の抗体保有率は、G 4-12およびMahoneyでは97.0%、Sabin 1が97.8%であり、平均抗体価はそれぞれ94.0倍、92.5倍、372.7倍であった。一方、ワクチン接種歴のない8件の抗体保有率はG 4-12が62.5%、Mahoneyが50.0%、Sabin 1が62.5%であり、平均抗体価はそれぞれ51.1倍、128.0倍、194.0倍であった（図5）。

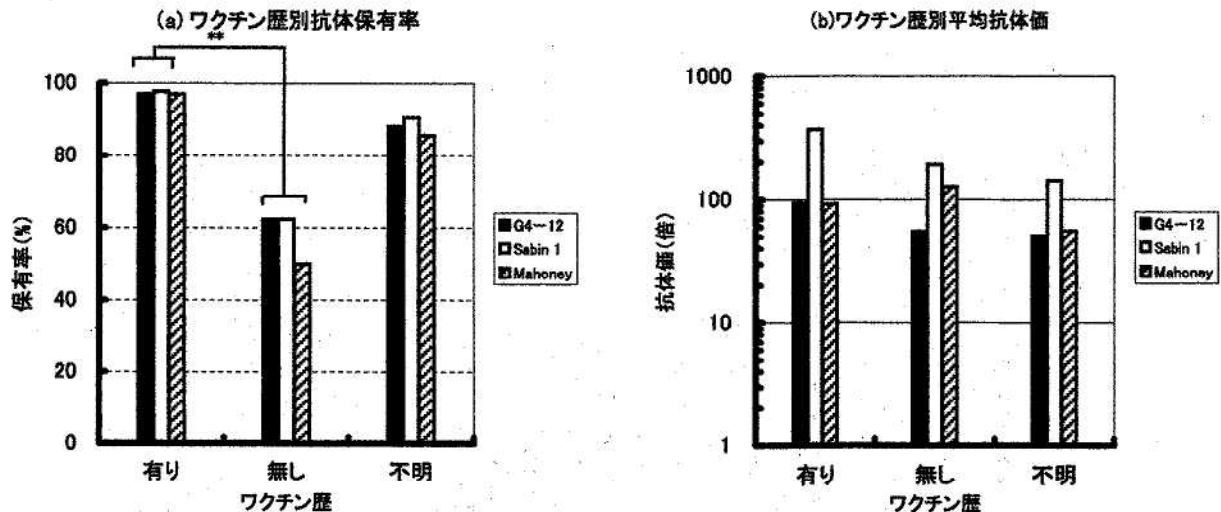


図5. ワクチン歴別抗体保有率および平均抗体価（4倍以上）

** : $p < 0.01$

考 察

下水から分離された G 4-12 株は、ポリオウイルス 1 型抗原決定部位の近傍で塩基置換を起こし、その結果 106 番アミノ酸が Sabin 1 型のスレオニンから強毒株の Mahoney 株と同じアラニンへ変異した Sabin 1 型変異株であった [6, 7]。このように変異を起こしたウイルス株に対する抗体の保有状況を知ることは、ワクチン接種者からの二次感染による麻痺症状の発症予防や、ワクチン接種率の低下による抗体保有者の減少をきたすような事態になったときの予防対策の資料として重要であると考えられる。0 歳～76 歳までの血清 244 件を対象に中和抗体を測定し、G 4-12 に対する住民抗体保有状況を把握するとともに、Sabin 1 および Mahoney に対する抗体保有状況と比較して G 4-12 の抗原性についても検討を加えた。

抗体価 4 倍以上の抗体保有率は G 4-12 が 93.9%，Mahoney は 93.0%，Sabin 1 では 95.5% を示した。年齢区分別の抗体保有率においても 3 株ともに 80%～100% の保有率であり、抗体価 4 倍以上の保有率では 3 株の間に有意差は認められなかった。G 4-12 および Mahoney の平均抗体価はそれぞれ 73.3 倍、83.0 倍であり、Sabin 1 の平均抗体価 213.5 倍の約 3 分の 1 であった。年齢区分別に見ても G 4-12 と Mahoney に対してはほぼ

同様の抗体価を示したが、40 歳未満では Sabin 1 に対して約 2 分の 1 から 4 分の 1 の抗体価を示した。抗体価別スクリーニングを行った結果、G 4-12 と Mahoney は各抗体価ではほぼ同様の保有率を示し、スクリーニング抗体価の上昇に伴って、G 4-12 および Mahoney と Sabin 1 との抗体保有率に有意差が認められた。G 4-12, Sabin 1, Mahoney に対する抗体価の分布から、各株間の相関を検討したところ、Sabin 1 と Mahoney, Sabin 1 と G 4-12 との間に相関は認められなかったが、G 4-12 と Mahoney とは高い相関が認められた。これらのことから、下水から分離されたワクチン由来 Sabin 1 型変異株である G 4-12 は、強毒株の Mahoney と非常によく似た抗原性を示すことが明らかになった。

ポリオワクチン定期接種開始以後に生まれた 40 歳未満 184 件について、ワクチン接種歴と抗体保有状況とについて検討した。ワクチン接種歴を有する 134 件の抗体保有率は Sabin 1 が 97.8%，Mahoney および G 4-12 はともに 97.0% で、3 株の間に有意差は認められなかった。ワクチン歴のない 8 件においては、G 4-12 が 62.5%，Mahoney は 50.0%，Sabin 1 では 62.5% であり、ワクチン歴を有するグループと同様に有意差は認められなかった。しかし、G 4-12, Sabin 1, Mahoney とともに、ワクチン接種歴を有するグループと接種歴のないグループの抗体保有率においては有意差が

認められた ($p < 0.01$)。これらのことから、G 4-12および Mahoney に対する抗体はポリオワクチン接種歴に関連しており、ワクチン接種によって抗体を保有しておれば、ワクチン由来変異株や強毒株に対しても感染を十分防御し得ると考えられた。

ま と め

一般住民の血清244件について、下水から分離されたワクチン由来変異株 G 4-12に対する中和抗体を測定し、同時に測定した Sabin 1 および Mahoney に対する抗体保有状況と比較検討した。その結果、G 4-12は Sabin 1 株由来であるが、変異を起こした結果強毒株の Mahoney と同様の抗原性を示すことが分かった。しかし、抗体価4倍以上の抗体保有率は、G 4-12および Mahoney とともに各年齢区分において80%以上であり、ワクチンを接種してポリオウイルスに対する抗体を保有しておれば、ワクチン由来変異株に対しても感染を十分防御し得ることが示唆された。

参 考 文 献

1. 橋戸円, 米山徹夫, 萩原昭雄 (1998). 日本ウイルス学会第46回学術集会・総会抄録集, p160.
 2. 松浦久美子, 石倉康宏, 中山喬, 長谷川澄代, 安藤秀二, 北村敬 (1998). 富山衛研年報, 21, 117-120
 3. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課編 (2001). 病原微生物検出情報月報, 22, 63.
 4. 中山喬, 松浦久美子, 安藤秀二, 長谷川澄代, 石倉康宏, 北村敬 (2000). 富山衛研年報, 23, 100-107.
 5. 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 (一部改訂), 2-8
 6. 松浦久美子, 石倉康宏, 中山喬, 長谷川澄代, 安藤秀二, 北村敬 (1999). 富山衛研年報, 22, 91-96
 7. Matsuura, K., Ishikura, M., Yoshida, H., Nakayama, T., Hasegawa, S., Ando, S., Horie, H., Miyamura, T. and Kitamura, T. (2000). Appl. Environ. Microbiol., 66, 5087-5091.
1. 橋戸円, 米山徹夫, 萩原昭雄 (1998). 日本ウ

河川水および下水から分離されたポリオウイルス 5' 非翻訳領域の遺伝子解析

松浦久美子 石倉康宏 北村 敬
吉田 弘¹ 堀江 均²

Genetic Analysis of the 5' Non-coding Region of
Poliovirus Isolates from River Water and Sewage

Kumiko MATSUURA, Mituhiro ISHIKURA, Takashi KITAMURA,
Hiromu YOSHIDA¹ and Hitoshi HORIE²

要 旨 河川水および下水から分離された3型ポリオウイルス株の神経毒性を解明するために、5' 非翻訳領域の472番目の塩基（弱毒型U、強毒型C）をMAPREC法（Mutant Analysis by PCR and Restriction Enzyme Cleavage）により調べた。29分離株のうち13株（45%）は、ワクチン株と同じ弱毒型の塩基“U”を有していたが、残りの16株（55%）は、強毒型の塩基“C”を2～91%の割合で有していた。以上の結果より、ワクチン株は人の腸管での増殖中に、かなりの頻度で塩基の置換を起こし、排泄されたウイルスには弱毒型から強毒型へのrevertant株が含まれていることが示唆された。

日本では、ポリオ生ワクチン定期投与が開始された1963年以後は、ポリオの流行が見られなくなり、1980年における1型ポリオ患者の1事例を最後に、野生株による麻痺症例は発生していない。健康小児の調査、また我々が行った環境水（河川水、下水）の調査などでも野生株は見つからず、国内には野生株は常在しないことが明らかとなった。これらの調査に基づいて、日本の属する西太平洋地域におけるポリオ根絶が2000年10月に宣言された。しかし、東アジアやアフリカでは依然としてポリオ患者は発生しており、野生株の輸入に対する警戒が必要である。また、すでにポリオ消滅地域とされていたドミニカやハイチで、ワクチン由来株によるポリオの流行が2000年に発生した

[1]。この流行は同地域のワクチン投与率が低下していたことが原因と考えられている。しかし、ワクチン投与率が高い日本でもワクチンに関連した麻痺患者が、稀に発生して問題となっている。

我々は、河川水や下水から分離されたポリオウイルス株について、VP1領域の遺伝子解析を行い、分離株がワクチン由来株であることを報告してきた[2, 3, 4, 5]。今回は、神経毒性に関与している5' 非翻訳領域の遺伝子部位について調べた結果を報告する。

材 料 と 方 法

1. 3型ポリオウイルス株

1 国立感染症研究所 2 日本ポリオ研究所

分離株の分離方法は、前年報の記載どおりである [6]。弱毒型のワクチン株 (F313株) と強毒型の Leon 株 (ワクチンの親株) を標準株として使用した。

2. 5' 非翻訳領域の遺伝子解析

神経毒性に関与している 5' 非翻訳領域の塩基番号472の塩基を調べる方法は、K. Chumakov ら [7] の MAPREC 法 (Mutant Analysis by PCR and Restriction Enzyme Cleavage) を用いて行なった。ポリオウイルスより RNA を抽出し、RT-PCR 法で塩基番号440-532部位を増幅した。プライマーは pS: 5' TGAGTCCTCCGGCCCCCTGAATGCGGCTGAT3', pA: 5' ACGGACTTGCGCGTTACGACAGGCTGGCTGC 3' を用い、pA は [γ ³²] ATP でラベルした。PCR 産物 (93bp) を制限酵素 *Mbo* I で処理後、電気泳動を行い、DNA バンドを確認した。次に、DNA バンドを切り出し、その放射線量を測定した。弱毒型の場合には塩基番号472の塩基は U: 「472-U」、強毒型の場合には C: 「472-C」であり、制限酵素 *Mbo* I は塩基配列 GATC を認識して、強毒型の 「472-C」 の部位で61bp と32bp のバンドに切断した。切断バンド (61bp) の放射線量を制限酵素未処理バンド (93bp) の量と比較し、切断されたバンドの量 (割合、%cut) を求めた。

結果と考察

分離株の MAPREC 法による解析の結果を、Fig. 1 に示す。ワクチン株 (F313株)、野生株 (Leon 株) および分離株はいずれも単クローンでなく、塩基番号472番の塩基に不均一性が見られた。すなわち、F313株は99.6%が「472-U」であるが、「472-C」を0.4%含んでいた。一方、Leon 株は90.1%が「472-C」で、「472-U」を9.9%含んでいた。分離株では、「472-U」を多く含む株、「472-C」を多く含む株と2グループに大きく分かれた。

ポリオウイルスの変異は人の腸管で増殖する間や細胞継代によって起きることが多く報告されている。また、K. Chumakov らは、ワクチン中に強毒型遺伝子「472-C」の混入割合がある一定以上

の値をとる場合には、サル神経毒性試験が陽性となることを示した。3型の場合、強毒型遺伝子が1%以上の混入はワクチンとして不合格と判定されている。この基準で分離株を分類すると、13株は「472-C」が0.25%以下で弱毒型株、16株は「472-C」を2~91%の割合で含み、サブ集団として強毒型への revertant を含むことが示唆された。

これらの株の分離状況は Fig. 2 に示す。ほとんどの株が乳幼児へのポリオ生ワクチン投与後3ヶ月以内に分離された。29株中3株は河川水から分離されたが、この3株は「472-C」を88.1~90.7%と高い割合で含んでいた。近年、環境が整備されて、環境水中の変異株から直接感染するリスクは小さいかもしれないが、環境中にワクチン由来の強毒復帰型が存在するとすれば大きな問題であろう。

鉄塚ら [8] はワクチン投与乳幼児及びその母親20組を対象にして、ウイルス感染の状況を調べたところ、16倍~32倍の抗体を保有している母親3名 (15%) が乳幼児から接触感染していた。このことはワクチンウイルスが接触者へ容易に再感染することを意味すると報告している。これら接触者の感染ウイルスは、我々の今回のデータから推測すると、revertant 株であったかもしれない。そうであっても、我が国の生ワクチン投与率は高く、抗体保有者が多数をしめているため、revertant 株による発症を押さええていると考えられる。

以上の結果より、①ワクチン株は変異しやすく、②日本では野性株によるポリオ根絶を宣言したが、生ワクチン投与が実施されている状況では、revertant 株による感染の危険性が残されており、ポリオ麻痺患者の完全な根絶は難しい、ことなどが示唆された。従って、ポリオ根絶の最終段階として不活化ワクチンの使用、そして今後もポリオウイルスの動態調査が重要である。本研究の要旨は The Lancet (Vol.1356, 1461-1463, 2000) に掲載した。

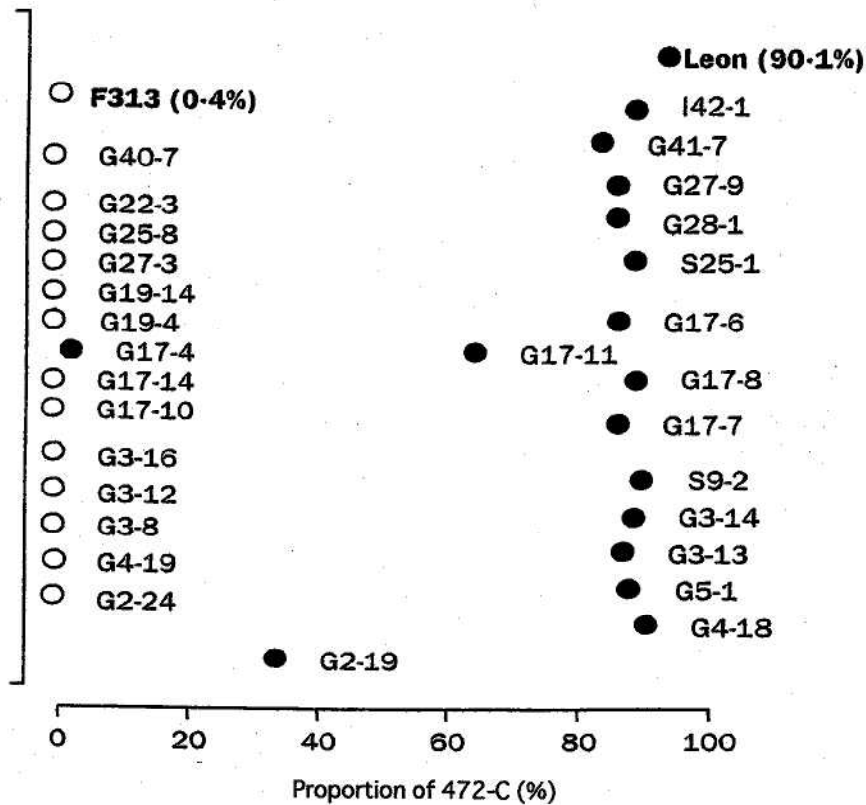


Fig. 1. Proportion of 472-C in Strains Isolated from Sewage and River Water
G : Sewage strain, S : Strain from river Sembo, I : Strain from river Itachi

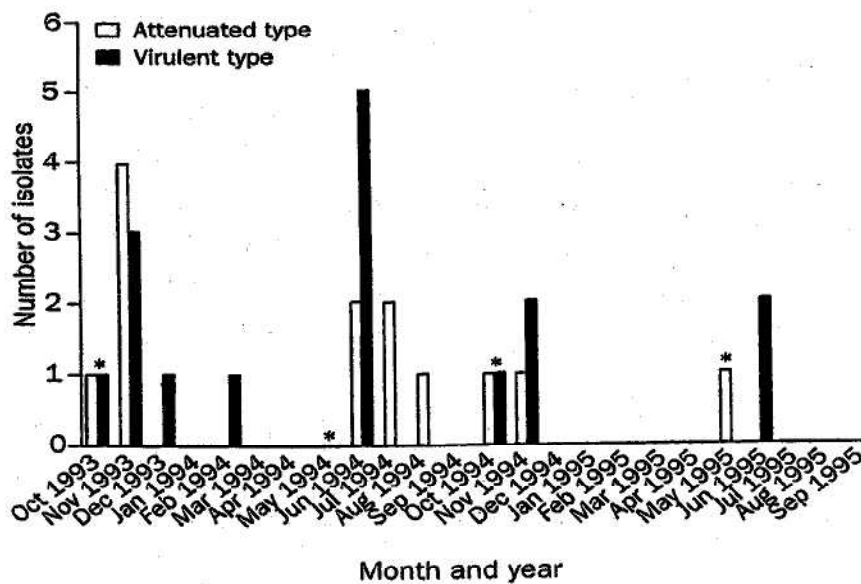


Fig. 2. Distribution of Type 3 Poliovirus strains Isolated from Sewage and River Water.
* : Months in which routine immunization was done.

文 献

1. Clarks. T. (2001). *nature*, 409, 278-280
2. 松浦久美子, 石倉康宏, 長谷川澄代, 中山喬, 安藤秀二, 北村敬(1998). 富山衛研年報, 21, 117-119
3. 松浦久美子, 石倉康宏, 中山喬, 長谷川澄代, 安藤秀二, 北村敬 (1999). 富山衛研年報, 22, 91-96
4. 松浦久美子, 石倉康宏, 中山喬, 長谷川澄代, 安藤秀二, 北村敬(1999). 富山衛研年報, 23, 108-112
5. Matsuura K., Ishikura M., Yoshida H., Nakayama T., Hasegawa S., Ando S., Horie H., Miyamura T. and Kitamura T.(2000). *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 5087-5091
6. 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
7. Chumakov K. M., Powers L. B., Noonan K. E., Roninson I. Band Levenbook I. S.(1991). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 199-203
8. 鯨塚眞, 上田竜生, 右田雄二, 野口栄太郎, 米山徹夫, 清水博之, 吉田弘, 吉井久美子, 萩原昭夫 (2000). 臨床とウイルス, 28, 143-150

ノーウォーク様ウイルス (NLV) による急性胃腸炎の 集団発生について (2000年度)

長谷川澄代 松浦久美子 中山 喬
安藤 秀二 石倉 康宏

Outbreaks of Gastroenteritis Caused by Norwalk-like Virus(NLV) in Toyama
Prefecture in the Fiscal Year 2000

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

要 旨 2000年4月から2001年3月までの1年間に発生したウイルス性の食中毒および感染性胃腸炎の集団発生事件について調査した。さらに1999年度の食中毒事件の一事例について追跡調査を行った。

1. 2000年度にはウイルス性の急性胃腸炎の集団発生が5件あった。これらは全てがノーウォーク様ウイルス (Norwalk-like Virus: NLV) 感染によるものであった。
2. 糞便検体からの NLV の検出は電子顕微鏡 (electron Microscope: EM) 観察法では、28件、ELISA 法では18件であった。
3. ELISA 法で陽性となった糞便検体の NLV の遺伝子型は G I が3件、G II が7件、G I + G II が9件であり、カキ関連の事例では G I と G II の混在型であった。
4. カキが関連していない食中毒事件が1例、感染性胃腸炎の集団発生が1例あった。感染源・感染経路としてカキが関与している食中毒事件が3例であった。
5. 無症状でウイルスを糞便中に排泄している感染者を認めた。

近年、非細菌性の食中毒の主な原因物質として NLV が注目されている。NLV の感染経路としてはウイルスに汚染された二枚貝（特にカキの養殖中に、中腸腺にウイルスを蓄積）の生食によるものが多い。

しかし、カキが関与していない食中毒事例の報告も数多くある。このような NLV の感染例は、生カキを原因とする事例に比べて発生数は少ないが、その規模（一事例あたりの感染者数）は大きい。これは、NLV に不顕性感染している調理人の手指を介するなどして、何らかの経路で、食品が

ウイルス汚染され、それが感染源となったと考えられる。

NLV は、『食中毒』の原因ウイルスのひとつとして知られている一方で、『感染症』ウイルスとしての性質もあり、乳幼児の急性胃腸炎は NLV によるものが多く、ほぼ年間を通して NLV の感染が認められる [1]。また介護施設などで、NLV 感染者の吐物や糞便で汚染され手指などを介してヒトからヒトへ直接伝播したと考えられる事例の報告がいくつかある [2, 3]。今回、2000年度に富山県で起こった NLV 感染による胃腸炎の集団発生

事例と1999年度に発生した一事例の追跡調査について報告する。

材 料 と 方 法

(1) 対象事例

2000年4月～2001年3月までの間に発生した食中毒事例4件、感染性胃腸炎の集団発生事例1件を検査対象とした。また、1999年度のNLV感染事例の調理人3名の糞便について追跡調査を行っ

た。

(2) 検査材料

2000年度にみられたNLVの集団感染事例は表1に示したとおり5例である。検査材料は5事例から糞便が採取された。胃腸炎症状のあった患者22名の糞便、調理人1名の糞便、推定原因食としてカキ3件、アサリ1件、患者の血液（急性期と回復期の対）を事例1は5名、事例2は5名、事例4は11名、事例5は7名から採取した。1999年度の追跡調査は、事件後約2か月経過した4月中旬に糞便を採取した。

表1. 富山県においてNLVが検出された食中毒事例・集団感染性胃腸炎事例

No.	発生時期	発生地区・状況 騒動 / 騒動	検 体	NLV 陽性例	電顕法	ELISA 法 (I II I+II)
1	00.4.19~ 4.23	調市 学生寮 高校生 9/15	調 糞便: 5	5	5	1 (1)
2*	00.5.21~ 5.23	調市 小学校 小学生 217/741 (欠調/騒動)	調 糞便: 4	4	4	2 (2)
3	01.1.28~ 1.30	調市・調市 スーパー 試食 17歳~成人 生きた調市 牡蠣	調 糞便: 4 カキ (7~10人用): 2	4 1	4	4 (1 3) 1 (1)
4	01.1.29~ 2.1	調市 飲食店 成人 11/22 牡蠣	調 糞便: 3 調理人糞便: 1 カキ (14人用): 1 アサリ (8人用): 1	3 1 0 ^P 0 ^P	3 1	3 (1 1 1) 1 (1) 0 0
5	01.2.17~ 2.19	調市 レストラン 成人 11/15 牡蠣	調 糞便: 6 カキ (5人用): 6	6 2	6	5 (3 2) 2 (2)

※: 集団感染性胃腸炎 P: RT-PCR 法で検査を行った

表2. 健康者(調理人)の糞便からNLVが検出された事例

発生時期 2000.2.20~21	場 所 富山市 レストラン	糞 便 採取日	NLV 陽性例	電顕法	ELISA 法 (I II I+II)
被検者名	T. Y.	2000.2.26	+	+	()
		4.13	+	+	()
	T. K.	2000.2.26	+	+	()
		4.13	+	+	(+)
	S. Y.	2000.2.26	+	+	(+)
		4.13	+	+	(+)

(3) ウイルスの検出方法

ウイルスの検索は電子顕微鏡観察(EM法)と昨年と同じく[4]「ウイルス下痢症研究会」で開発したノーウォークウイルス検出ELISAキットを用いて行った。食品(カキの中腸腺)からのNLVの検出はELISA法とRT-PCR法で行った。

結果および考察

2000年度にみられたNLVの集団感染事例は表1に示した5事例である。検査を行った5事例のうち4例が食中毒扱いでそのうち3例が、発症者に共通するNLV感染源・感染経路として、ウイルスに汚染されたカキが関与していた。

事例1：2000年4月24日、高岡市内の医療機関(I医院)から高岡保健所に市内D高校学生寮の生徒が、「吐き気」「嘔吐」「下痢」の症状を呈し、I医院を受診したとの報告があった。調査の結果、19名の入寮生のうち5名が4月22日から4月23日にかけて胃腸炎症状を呈して医療機関を受診しており、初発患者は4月19日に1名、その後、20日1名、21日1名、22日3名、23日3名の合計9名の患者が出ていることがわかった。そこで患者5名から糞便と、血液(急性期と回復期の対)を採取した。患者糞便からウイルスの検出を試みたと

ころ、EM法で5名からNLVを検出した。ELISA法では1名が陽性であった。患者の糞便を粗精製してNLV抗原として免疫電子顕微鏡法(IEM法)で、患者5名のNLVに対する抗体を測定したところ、急性期と回復期で有意な抗体の上昇が認められ、全員がNLVに感染したことが判明した。聞き取り調査で、この寮の調理人が4月18日頃に「嘔吐」「下痢」の胃腸炎症状を呈していたとの情報が入った。このことからNLV感染者である調理人の排泄物が、何らかの経路で食品を汚染させ、それが感染源となったと推定された。しかし、調理人に関しては調査が出来ず、感染源・感染経路を特定出来なかった。

事例2：2000年5月24日に富山市保健所に、市内のH小学校で「嘔吐」「下痢」「吐き気」の食中毒様の症状で5月22日(月)に在籍者741名中73名が欠席しているとの報告が入った。調査の結果5月22日には有症者が217名出ており、学年別では4年生49名(49/119.41%)、5年生33名(33/120.28%)、6年生86名(86/135.63%)と特に6年生が多かった。6年生の患者5名から糞便4件と急性期と回復期の対血清5件を採取した。さらにNLV以外の感染症を疑って咽頭ぬぐい液も採取した。EM法で4名の患者糞便からNLVが検出され、ELISA法では2名が陽性であった。また、培養細胞を用いて咽頭ぬぐい液からのNLV以外のウイルス分

離を試みたが、ウイルスは検出されなかった。患者糞便を粗精製してNLV抗原としてIEM法で患者の抗体を測定したところ、急性期と回復期で有意な抗体の上昇がみられNLV感染が確認された。保健所の聞き取り調査では、5月10日頃から、5年生の中で不調を訴えながら登校している児童が30～37名いたとのことであった。5月19日（金）に4、5、6年生の「縦割り部活動」があり、5月21日（日）から4、6年生に患者が、多数発生していたことがわかった。これらの情報から5月上旬頃に5年生にNLV感染者が出現し、5年生のなかでヒトからヒトへ感染が広がっていたが、5月19日の4、5、6年生の「縦割り部活動」で、ヒトからヒトへの感染がさらに拡大され、5年生以外の4、6年生の感染者が爆発的に増え、大規模な事件になったと推定された。

事例3：2001年1月30日に中部保健所八尾支所に1月28日から30日にかけて「腹痛」「下痢」を訴える患者が医療機関を受診しているとの報告が入った。調査の結果、患者らは1月27日（土）、1月28日（日）に大沢野町・婦中町のスーパーでカキの試食をしてから、28日～30日に発症したことがわかった。患者3名から糞便を採取した。さらに、試食に供した時と同じロットのカキが搬入された。3名の患者糞便からEM法とELISA法でNLVが確認された。カキの中腸腺（1グループあたり7～10個体プール）2グループをELISA法で検査したところ1グループからNLVが検出された。この事例は、NLVに汚染された加熱不良のカキを食することにより、NLVに感染したものと考えられた。

事例4：2001年2月2日、富山市保健所に市内のN病院からN病院の職員が1月29日夜より、食中毒症状を呈している旨の連絡が入った。調査の結果、1月29日病院職員22名が富山市内飲食店で、18時40分～21時に会食し、1月30日0時から2月1日7時にかけて11名が「下痢」、「嘔吐」、「発熱」の症状を呈していることがわかった。そこで、飲食店の調理人1名、患者3名から糞便を採取し、さらに患者11名から急性期と回復期の対血清を採取した。飲食店で供された食材のカキと

アサリが検査のため搬入された。

調理人1名、患者3名の糞便からEM法とELISA法でNLVが検出された。患者の糞便を粗精製してNLV抗原として患者11名の抗体をIEM法で測定したところ急性期と回復期で有意な上昇が認められ、NLVに感染したことが判明した。患者らはカキ料理を食べており、感染源はNLVに汚染された食品（カキ）と考えられた。検査用に搬入されたカキ（14個体プール）とアサリ（8個体プール）についてELISA法でNLVの検出を試みたが検出できなかった。さらに、RT-PCR法でNLV遺伝子の検出法を試みたが検出することは出来なかった。この事例では、2000年2月のカキ関連の食中毒事件〔4〕と同様に無症状の調理人の糞便からNLVが検出された。このことからこの事件の感染源は「NLVに汚染されたカキ」と考えられたが、カキを食べても無症状の調理人が何らかの経路で食品を汚染したことも考えられ、本事例の感染源・感染経路を特定することは出来なかった。

事例5：2001年2月19日、砺波保健所に、国立療養所H病院から、食中毒患者を治療したとの報告が入った。保健所で調査した結果、H病院の看護職員15名が、2月16日（金）18時30分頃から城端町の飲食店で食事をしたところ、17日（土）の昼頃より10名が「発熱」「下痢」の食中毒症状を呈したとのことであった。患者6名の糞便と患者7名の急性期と回復期の対血清が採取された。原因食としてカキ（1缶）が搬入された。患者6名の糞便からEM法でNLV粒子が確認され、ELISA法では5名が陽性であった。患者糞便を粗精製してIEM法で7名の患者のNLVに対する抗体を測定したところ急性期と回復期で有意な抗体上昇がみられ、NLV感染が確認された。カキの中腸腺を5個体ずつプールして6グループについてELISA法でNLVの検出を試みたところ、2グループが陽性であった。このことから、この事件はNLVに汚染されたカキを食することによりNLVに感染したものと考えられた。

追跡調査：昨年〔4〕に報告した食中毒事例のうち2000年2月20日に発生したカキ関連の食中毒事例のレストラン調理人（カキを食べても無症状）

3名の糞便(事件発生時に採取, 事件後1か月以上経過して採取)についてNLVの検査を行った。結果は表2に示した。これによると, 調理人3名とも, 2000年2月26日に採取した糞便と, 4月13日に採取した糞便からNLVが検出された。このことから, NLV汚染食品(カキ)を食べて, 胃腸炎症状がなくても1か月以上も糞便中にNLV粒子を排泄していることがわかった。

松岡ら[5]は, 3歳の子供がNLV感染後, 3週間にわたりNLV粒子を糞便中に排泄した事例を報告している。今回, 2000年度の5例の事例と, 1999年度の1事例の追跡調査について報告したが, 患者糞便からのNLVの検出については, EM法では28件中全例が陽性でELISA法では18例が陽性であった。食品(カキの中腸腺)からのNLVの検出については10グループのうち3グループが陽性であった。NLVの感染源がカキ関連の事例3, 4, 5と1999年の追跡調査の場合は, 糞便検体に遺伝子型の異なったNLVが混在しているケースが見られた。今回使用したELISAキットは, 現在, 試作中のものであり, まだ市販されていない。原理はマイクロプレートに抗NLV抗体を固相し, 捕捉されたNLVをペルオキシダーゼ標識抗NLV抗体で検出するキットである。陽性コントロールは組換えバキュロウイルスで作成された中空ウイルス粒子を用いている。このキットは昨年と比べると検出率は上がったが, まだまだ改良の余地があると思われる。

NLVの感染源・感染経路として, 一般的に考えられることは1. ヒトの糞便中のNLVが下水を経て河川, 海に流れ込み, カキ等の2枚貝がウイルスを物理的に中腸腺にとり込み, その貝類をヒトが生で食べることでヒトに感染するルートがある。また, カキが直接関与しない経路として2. カキなどの2枚貝類が調理の過程で他の食品を二次的に汚染し, それを食べることでヒトに感染するルート, 3. 糞便が下水を通じ, 飲料水に混入してヒトに感染する水系感染のルート, 4. 糞便が食品を汚染してヒトに感染するルート, 5. 糞便が介護人の手など介してヒトからヒトへ感染するルートが推定される。このようにカキが直接関与

しないルートはNLVが含まれる糞便による二次感染の影響が大きい。

食中毒の防止にはカキ等(二枚貝)や魚介類を調理する場合は十分に注意し, NLV汚染が他の食材へ広がるのを阻止することが重要である。我々は1999年度[4]に, 無症状の調理人の糞便中にNLV粒子を確認したが, 今年度の事例4でも無症状の調理人の糞便中にNLV粒子を確認した。さらに1999年度の事例の追跡調査で無症状で1か月以上NLV粒子を糞便中に排泄していることがわかった。このことから, NLVに感染していても, 無症状の一見健康者が, 長期にわたりNLVを糞便中に排泄し続け, 感染源となりうる可能性が十分に示唆された。事例2の小学校での発生状況は患者が特定の学年に限られており, 感染がヒトからヒトへの兆候が認められ, 事件の規模も大きかった。このようにカキが直接関連しない感染ルートはNLVを含む糞便による二次汚染の影響が大きい。以上の結果より食中毒防止には症状の有無にかかわらず, NLV感染者の糞便については, 長期にわたり感染源になりうることからその取扱に十分に注意する必要があると考えられる。これからのNLV対策には, 食中毒の調査以上にさらに, 感染症発生動向調査情報もとりにいれるなど, 食中毒と感染症の両面で進めていく必要があると考えられた。

謝辞: 検体採取等にご協力いただきました高岡, 富山市, 中部, 砺波保健所の関係者各位に感謝します。

文 献

1. 長谷川澄代, 館一矩, 北村敬(1999). 富山衛研年報, 178-182.
2. 斉藤博之, 八柳潤, 佐藤広康, 宮島嘉道, 鈴木紀行, 森田盛大(1997). 病原微生物検出情報, 月報, 6, 5-6.
3. 入谷展弘, 勢戸祥介, 春木孝祐, 浅香策雄(1998). 病原微生物検出情報, 月報, 1, 3.

平成13年10月1日

4. 長谷川澄代, 松浦久美子, 中山喬, 安藤秀二,
石倉康宏(2000). 富山衛研年報, 23, 113-117.
5. 松岡由美子, 阿蘇品早苗, 本田れい子, 松野

重雄(1999). 病原微生物検出情報, 月報,
11, 3.

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 清水美和子 細呂木志保 磯部順子
刑部陽宅 香取幸治 林喜代志¹ 中村政雄²
遠藤美代子³

Serotype and Drug Sensitivity of the Hemolytic Streptococcus Isolates in Toyama Prefecture

Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU, Shiho HOSOROGI, Junko ISOBE,
Yotaku GYOBU, Koji KATORI, Kiyoshi HAYASHI¹, Masao NAKAMURA²
and Miyoko ENDO³

要 旨 富山県内で分離された臨床材料由来溶血レンサ球菌について、A群及びB群の菌株の型別分布、薬剤感受性を調べ、以下の結果を得た。

1. 1980~2000年の間に分離されたA群のT型別分布の変遷を見ると、T12型、T4型、T1型の検出率が長期間高かった。2000年に分離されたA群77株において、検出率の高いT型は、順にT1型(18株, 23.4%), T12型(17株, 22.1%), TB3264型(10株, 13.0%), T4型(9株, 11.7%), T25型(7株, 9.1%)であった。

2. 2000年に分離されたB群170株において、検出率の高い型は、順にNT-6型(53株, 31.2%), Ib型(34株, 20.0%), JM-9型(33株, 19.4%), Ia型(17株, 10.0%)であった。

3. 薬剤感受性に関して、1999年分離株は、A群ではテトラサイクリン、エリスロマイシン、クラリスロマイシン、リンコマイシン、に対して一部の菌株が耐性であった。また、B群ではTCに対して一部の菌株が耐性であった。C群及びG群では被検菌株数は少ないが、耐性菌は見られなかった。 β ラクタム系薬剤(アンピシリン、セフジニル、セファレキシン、セフジトレン)に対しては、耐性菌は認められなかった。

A群溶血レンサ球菌(溶連菌)は、咽頭炎、扁桃炎、中耳炎、皮膚感染症、猩紅熱、リウマチ熱、腎炎、劇症型A群レンサ球菌感染症(Toxic shock-like syndrome; TSLS)など様々な疾患を引き起こす。また、近年、食品を原因とした大規模なA群溶連菌集団感染事例が発生している[1, 2, 3]。一方、B群溶連菌は、新生児の敗血症や髄膜炎の

原因として重要であり[4]、C群及びG群溶連菌は、ときに上気道炎などを起こす。

ここでは、このような溶連菌の流行の実態と治療に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、薬剤感受性を調べた。

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

材 料 と 方 法

被検菌は県内2か所の公立病院で分離された溶連菌を用いた。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抗血清(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(ABPC)、セフジニル(CFDN)、セファレキシン(CEX)、セフトレム(CDTR)、テトラサイクリン(TC)、ク

ロラムフェニコール(CP)、エリスロマイシン(EM)、クラリスロマイシン(CAM)、リンコマイシン(LCM)の9剤について微量液体希釈法で行った。

結 果 と 考 察

2000年に分離されたA群77株のT型別結果をTable 1に示す。検出率が高いT型は、順にT1型(18株, 23.4%), T12型(17株, 22.1%), TB3264

Table 1. Monthly Distribution of T Types of Group A Streptococci in 2000

T type	No. of Isolates												Total
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	
T-1		1	2	3	2	4					1	5	18 (23.4%)
T-2				1									1 (1.3%)
T-3													0 (0.0%)
T-4			1		1	1	1				2	3	9 (11.7%)
T-6													0 (0.0%)
T-8													0 (0.0%)
T-9													0 (0.0%)
T-11													0 (0.0%)
T-12		1	1	7	2	1	1		1	1	2		17 (22.1%)
T-13		1			1		1			1			4 (5.2%)
T-18													0 (0.0%)
T-22													0 (0.0%)
T-23													0 (0.0%)
T-25	2	1		1		1						2	7 (9.1%)
T-28				1		5			1		1		8 (10.4%)
T-B3264	1	1	1	2		1			2	2			10 (13.0%)
T-Imp. 19													0 (0.0%)
T-5/27/44													0 (0.0%)
T-14/49													0 (0.0%)
Untypeable	1								1	1			3 (3.9%)
Total	4	5	5	15	6	13	3	0	5	5	6	10	77 (100.0%)

Table 2. T Type Distribution of Clinical Isolates of Group A Streptococci between 1980 and 2000

Year	T type																			Total	
	1	2	3	4	6	8	9	11	12	13	18	22	23	25	28	B3264	Imp. 19	5/27/44	14/49		UT**
1980	9*		1	6	33				97						1	4				14	156
1981	29			4					29			2			1	5				27	97
1982	20			2					27	4		3			2	3	6			9	76
1983	2			69					41	22		1			11	6				10	162
1984	6		8	30		1		2	42	9		1	1		10	3	1	1		11	125
1985	3		55	26	1			3	31	8	1	1			7	2				5	143
1986	1		64	27	1	6		11	125	8	8	1			15			1		9	277
1987	29		13	44	17	1		5	69	4	22				22	2		1		15	244
1988	66		2	43	15	1		1	14		7				6					24	179
1989	11			46	29			4	8	2	2				18	8				22	150
1990	14		1	26	8		1	3	22		1				16	3				23	118
1991	20			20		1	3	4	51	1					12	15			2	9	138
1992	21		14	19		1		2	6	3	4				4	15				13	102
1993	18		21	18		2	1	2	14						6	6				9	97
1994	12		17	14		1		1	34		2				7	3				6	97
1995	8	1	12	19					9						5	3				4	61
1996	7	31	2	4			1	2	11	1					5	7				8	79
1997	32	18		4	9			2	15	1				2	9	2				6	100
1998	9	13	1	10	22				25	1				3	5	1				5	95
1999	5	4		3	3		1	1	28	2				3	5	3					58
2000	18	1		9					17	4				7	8	10				3	77
Total	331	68	211	443	138	14	7	43	715	70	47	9	0	15	175	101	7	3	2	232	2631
	12.6%	2.6%	8.0%	16.8%	5.2%	0.5%	0.3%	1.6%	27.2%	2.7%	1.8%	0.3%	0.0%	0.6%	6.7%	3.8%	0.3%	0.1%	0.1%	8.8%	100.0%

*; No. of Isolates, **; Untypeable

型 (10株, 13.0%), T 4 型 (9株, 11.7%), T25 型 (7株, 9.1%) であった。分離菌株数が多い月は, 4月, 6月, 12月であった。

1980年～2000年の21年間に分離されたA群のT型別分布をTable 2に示す。21年間に型別した2631株についてみると, T型は検出率が高い順に, T12型 (715株, 27.2%), T 4 型 (443株, 16.8%), T 1 型 (331株, 12.6%), T 3 型 (211株, 8.0%), T28型 (175株, 6.7%), T 6 型 (138株, 5.2%), TB3264型 (101株, 3.8%), T13型 (70株, 2.7%), T 2 型 (68株, 2.6%), T18型 (47株, 1.8%), T11型 (43株, 1.6%) であった。T 1 型, T 4 型, T11型, T12型, T28型, TB3264型は長期間連続して検出されていた。一方, T 2 型, T 3 型, T 6 型, T13型, T18型は10年以上の連続した検出はなかった。T型の年次分布の傾向について, 同様な結果が全国集計でも報告されている[5]。近年は, T13型とT25型が増加傾向, T 2 型とT 6 型が減少傾向となっている。当研究所は溶連菌の東海北陸ブロックのレファレンス支部センターとして, 県外で分離された菌株の型別も行っている。表には示さなかったが, 福井県の一公立病院から送付された菌株を調べたところ, 菌株数は多くはないが, 2000年は富山県と異なりT 4 型が多かった。

2000年に分離されたB群170株の型別結果を

Table 3に示す。検出率が高い型は, 順にNT-6型 (53株, 31.2%), I b 型 (34株, 20.0%), JM-9型 (33株, 19.4%), I a 型 (17株, 10.0%) であった。表には示さないが, 昨年度の成績と比較するとNT-6型は昨年同様最も検出率が高かったが, 次に検出率が高い型が昨年と異なっていた。即ち, 昨年の検出率は, 第2位がJM-9型 (20.8%), 第3位がI b 型 (16.9%) であった。I b 型の検出率は1995年の8.6%から上昇傾向にある。一方, JM-9型は1998年の26.3%をピークに減少傾向にある。今後, B群分離株の型分布の年次推移が注目される。

1999年に分離された溶連菌50株について調べた薬剤感受性試験の結果をTable 4に示す。MIC値が $16\mu\text{g/ml}$ 以上を耐性とする, 耐性菌の割合は, A群32株ではTCに対して18.8% (T 4 型3株, T 9 型1株, T11型1株, TB3264型1株, 合計6株), EMに対して9.4% (T12型3株), CAMに対して9.4% (T12型3株), LCMに対して9.4% (T12型3株) であった。B群14株ではTCに対して21.4% (I a 型1株, III型1株, V型1株, 合計3株) であった。C群1株及びG群3株では耐性菌は見られなかったが, 解析菌株数が少ないので耐性の傾向を論ずることはできない。 β ラクタム系薬剤 (ABPC, CFDN, CEX, CDTR) に対し

Table 3. Monthly Distribution of Types of Group B Streptococci in 2000

Type	No. of Isolates												Total
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	
I a	1		3		2			4	2	3	1	1	17 (10.0%)
I b	5	4	1		2	3	2	2	1	6	5	3	34 (20.0%)
II	1			1						1			3 (1.8%)
III	1			2			1	1				3	8 (4.7%)
IV													0 (0.0%)
V		1										2	3 (1.8%)
NT6	8	2	5	5	2	5	3	1	4	9		9	53 (31.2%)
JM9	3	1	6	2		2	2	5	3	3	3	3	33 (19.4%)
7271													0 (0.0%)
Untypeable	1	1	1	2	1	3	1	2	1	2		4	19 (11.2%)
Total	20	9	16	12	7	13	9	15	11	24	9	25	170 (100.0%)

Table 4. Antibiotic Susceptibility of Hemolytic Streptococci in 1999

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
A	ABPC		32*												
	CFDN	23	9												
	CEX					5	27								
	CDTR	11	21												
	TC					3	19	1		2		1	2	3	1
	CP									10	22				
	EM				29										
	CAM			8	21								3**		3
B	LCM				1	8	19	1							3
	ABPC			1	13										
	CFDN			14											
	CEX								1	11	2				
	CDTR			14											
	TC						2	9						2	1
	CP											14			
	EM				2	12									
C	CAM				9	5									
	LCM							14							
	ABPC			1											
	CFDN		1												
	CEX							1							
	CDTR		1												
	TC									1					
	CP										1				
G	EM					1									
	CAM					1									
	LCM							1							
	ABPC		1	2											
	CFDN		2	1											
	CEX							3							
	CDTR		3												
	TC						1								
	CP								1						
	EM					3									
	CAM				2	1									
	LCM						1	2							

*: No. of tested isolates, **: > 16 (MIC)

ては、耐性菌は認められなかった。遠藤ら [6] は、1967～1996年の30年間に全国で分離されたA群溶連菌において β ラクタム系薬剤に対して耐性菌が存在しなかったことを報告している。

文 献

1. 国立感染症研究所編(1997). 病原微生物検出情報月報, 18巻11号, 264.
2. 国立感染症研究所編(1998). 病原微生物検出情報月報, 19巻12号, 279.
3. 国立感染症研究所編(1999). 病原微生物検出情報月報, 20巻5号, 115.
4. 保科清(1996). 臨床と微生物, 23巻1号, 65-67.
5. 国立感染症研究所編(2000). 病原微生物検出情報月報, 21巻11号, 240-241.
6. 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回学術講演会抄録集.

児童の咽頭溶血レンサ球菌保菌状況

田中大祐 磯部順子 細呂木志保 清水美和子
田中桂子¹ 松田和久²

Distribution of Pharyngeal Hemolytic Streptococci among Healthy Children

Daisuke TANAKA, Junko ISOBE, Shiho HOSOROGI, Miwako SHIMIZU,
Keiko TANAKA¹ and Kazuhisa MATSUDA²

要 旨 平成13年1月に富山県内の東西2ヶ所（小矢部市、黒部市）の保育園で、2～5才の児童合計83名を対象に、咽頭の溶血レンサ球菌（溶連菌）保菌状況を調べた。その結果、小矢部市内の保育園では児童25名中9名（36.0%）が溶連菌陽性で、検出菌はA群T2型8株、B群NT6型1株であった。また、黒部市内の保育園では児童58名中5名（8.6%）が溶連菌陽性で、検出菌はA群T1型2株、B群Ia型1株、B群Ib型1株、G群2株であった。このうち1名はA群T1型とG群を混合保菌していた。

溶血レンサ球菌（溶連菌）による感染症およびその続発症の集団発生を防ぐことを目的として、富山県では、長期間、健康者、患者の両面から、同菌の分布が調べられてきた。昭和56年頃には集団発生施設における継続調査、平成2年から6年までは、小児、老人の腸管中の溶連菌調査が実施され、それぞれ一定の成果を得てきた。

近年、溶連菌を原因とする感染症の集団発生は、昭和40～50年代に比べ明らかに減少している。しかし、平成12年の富山県の感染症サーベイランス結果をみると、1年間のA群溶血レンサ球菌咽頭炎患者数は1954名と多く、3～9才児を中心に散発的に本菌感染症が発生していることが伺われる。今回、富山県内東西2ヶ所の保育園の児童を対象に咽頭溶連菌保菌状況を調査したので、ここに結果の概要を述べる。

調査対象、期日、および検査方法

調査は県内の東西2ヶ所の保育園で行った。西の小矢部市石動T保育所では、平成13年1月17日に、4～5才児の25名、東の黒部市O保育所では、平成13年1月24日に、2～4才児の58名を対象として行った。児童の咽頭両側をぬぐった綿棒は血液寒天平板へ直接塗抹した後、SEB培地に投入した。直接塗抹した血液寒天平板は37℃で一夜培養した後、溶血コロニーを釣菌し、成書〔1〕の方法で溶連菌の検査を行った。群別はストレプトLA「生研」（デンカ生研製）を用いた感作ラテックス凝集反応にて行い、A群のT型別及びB群の型別はそれぞれの型別用抗血清（デンカ生研製）を用いてスライド凝集反応にて行った。SEB培地は37℃で一夜増菌培養後、その培養液を血液寒天平板に塗

沫し、以後直接塗抹した場合と同様に検査を行った。

結果および考察

平成12年度の調査における児童の溶連菌保菌状況を表1に示す。石動T保育所の園児では25名中9名(36.0%)が溶連菌陽性で、検出菌はA群T2型8株、B群NT6型1株であった。5歳児は4歳児に比し、菌陽性は19名のうち8名(42.1%)と高率であった。この8名のうち、7名からA群T2型の菌が検出されたことから、5歳児のクラスではT2型の菌の児童から児童への伝播があったものと思われる。本年報で、富山県内の病院で患者より分離された菌株の調査において、A群T2型は1996年をピークとして近年多く検出されていることは別に述べた。2000年(平成12年)の

調査では患者分離菌に占めるT2型の割合は77株中1株(1.3%)と多くはないが、今回調査した保育園では、A群T2型の保菌者が高率にみられることから、本菌型の動向は注視する必要があると思われる。なお、4歳児のうち1名は、調査を行った日の前日まで溶連菌による感染症により欠席していたが、投薬後であった為か溶連菌は検出されなかった。この児童が感染していた溶連菌の菌型は明らかでない。

O保育所の園児では58名中5名(8.6%)が溶連菌陽性で、検出菌はA群T1型2株、B群Ia型1株、B群Ib型1株、G群2株であった。菌陽性5名のうち1名はA群T1型とG群を混合保菌していた。風邪気味の児童が1名、咳があり服薬していた児童が1名あったが、これらの児童から菌は検出されなかった。本年報で、2000年(平成12年)の富山県内の患者分離菌株の調査において、A群T1型は77株中18株(23.4%)であり、

表1. 児童の咽頭溶連菌保菌状況(平成12年度)

施設名	年齢	検体数 (児童数)	菌陽性 者数	保菌率 (%)	検出菌の血清型(菌株数)
石動T保育所 (小矢部市)	4	6	1	16.7	A群T2型(1)
	5	19	8	42.1	A群T2型(7)、B群NT6型(1)
	合計	25	9	36.0	A群T2型(8)、B群NT6型(1)
O保育所 (黒部市)	2	7	1	14.3	A群T1型(1)
	3	21	2	9.5	B群Ib型(1)、G群(1)
	4	30	2	6.7	A群T1型(1*)、B群Ia型(1)、G群(1*)
	合計	58	5	8.6	A群T1型(2)、B群Ia型(1)、B群Ib型(1)、G群(2)

*: A群T1型とG群の混合保菌

表2. 平成7～12年度調査における児童の溶連菌保菌状況

年度	施設	検体数 (児童数)	菌陽性 者数	保菌率 (%)	検出菌の血清型(菌株数)
平7	小矢部市石動T保育所	43	1	2.3	C群(1)
	魚津市M保育園	46	1	2.2	B群NT6型(1)
平8	小矢部市石動T保育所	35	1	2.9	C群(1)
	魚津市A保育園	52	3	5.8	A群T1型(1)、B群Ib型(1)、B群NT6型(1)
平9	小矢部市石動T保育所	34	3	8.8	A群T28型(3)
	魚津市A保育園	53	7	13.2	A群T1型(2)、G群(5)
平10	小矢部市石動T保育所	29	6	20.7	A群T4型(4)、A群T22型(2)
	魚津市H保育園	35	2	5.7	A群T6型(1)、G群(1)
平11	小矢部市石動T保育所	38	4	11.8	A群T4型(2)、G群(2)
	魚津市H保育園	50	2	4.0	B群NT6型(2)
平12	小矢部市石動T保育所	25	9	36.0	A群T2型(8)、B群NT6型(1)
	黒部市O保育園	58	5	8.6	A群T1型(2*)、B群Ia型(1)、B群Ib型(1)、G群(2*)
合計		498	44	8.8	A群(25) [T1型(5)、T2型(8)、T4型(6)、T6型(1)、T22型(2)、T28型(3)] B群(8) [Ia型(1)、Ib型(2)、NT6型(5)] C群(2) G群(10)

*: 混合保菌者の菌株を含む

最も検出率が高かったと述べた。今回、健康児童にも A 群 T 1 型の菌が分布していることが確認された。

今年度を含め過去 7 年間の調査では、保育園児の溶連菌保菌率は 2～36%であった(表 2)。今年度、石動 T 保育所の保菌率 36.0%はこれまでの調査で最も高い。平成 12 年の感染症サーベイランスのデータによれば、県下定点から報告された溶連菌感染症患者発生数は 1954 名で、前年比 24.1%増となっている。通常、患者の背後に多くの保菌者がいるといわれている。溶連菌感染症患者数は平

成 11 年より平成 12 年において高くなっているの
で、平成 13 年度も散発患者の発生の背後にある児
童の溶連菌保菌率及び検出菌の菌型を明らかに
し、患者発生防止に役立てる必要があろう。

文 献

1. 日本公衆衛生協会編 (1987) 微生物検査必携細菌・真菌検査 第 3 版 F 2～F30.

富山市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
清水美和子 香取 幸治

Salmonella Surveillance in River Water
in an Urban Area of Toyama City

Junko ISOBE, Daisuke TANAKA, Shiho HOSOROGI,
Miwako SHIMIZU and Kouji KATORI

要 旨 1979年から2000年までの過去22年間、富山市内の4河川に11定点を設け、定期的に採水してサルモネラの分布状況を調べた。あわせてヒトから分離されたサルモネラとの比較をおこない、以下の結果を得た。

1. 2000年に富山市内の河川水から分離されたサルモネラは、15血清型、25株であった。分離されたサルモネラは血清型 *Salmonella* Agona が7株と最も多く、次いで *S. Infantis* が2株、その他10血清型が各1株、計10株であった。*S. Agona* は1株を除いて、すべていたち川水系からの分離であった。
2. 22年間の調査において、前半の12年間（主に1980年代）は各定点におけるサルモネラの陽性率が33.3～81.5（平均56.0）%と高かったが、後半の10年間（1990年代）は9.4～58.3（平均29.1）%と低かった。1980年代においても1987年以降陽性率が低下したが、その主な原因として、上流部において他の河川から取水し、河川水の流量を増加させたことによる河川浄化と、富山市周辺部での下水道の普及が考えられた。
3. 2000年にヒトから分離されたサルモネラは11血清型51株で、*S. Enteritidis* が37株（72.5%）、*S. Typhimurium* が4株（7.8%）、その他の血清型がそれぞれ1株であった。ヒトから分離されたサルモネラ全体に占める *S. Enteritidis* の割合はこの22年間で最も高かった。
4. 分離されたサルモネラの主な血清型の薬剤耐性を調べると、耐性株の頻度は *S. Typhimurium* で156株中76株（49.0%）と最も高く、次いで *S. Enteritidis* で594株中212株（36.0%）、*S. Litchfield* で99株中37株（38.0%）であった。上位5血清型において1990年代の耐性株の頻度が1980年代のそれより高かった。なかでも *S. Enteritidis* の耐性株の頻度は1980年代のおよそ3倍と著しく高かった。

サルモネラは主に動物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は、発生件数で細菌性食中毒の原因の第1

位となった1992年以降、患者数で常に上位のまま推移している〔1〕。一部の県では、1997年より患者数1人の事例の報告がおこなわれるようになっ

たが、1999年の統計では患者1人の事件数においても、サルモネラが全事件数の約4割と最も多かった[2]。さらに1995～1999年の5年間はサルモネラ食中毒による死者が毎年1～3人報告されている[2, 3]。このようなサルモネラについて、環境汚染の実態を知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と、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、富山市内を流れるいたち川 (I)、松川 (M)、赤江川 (A)、土川 (D) の4河川に設けた11か所とした(図1)。しかし、1996年からは、これらの定点の中で比較的近い距離にある3か所を省いて8定点とした。採水は1979年6月～1981年5月までは毎月1回、1981年6月～1986

年12月は隔月、また、1997年は毎月1回、1998年～2000年10月は夏期に3～6回おこなった。

サルモネラの分離法は既報[4, 5]のとおりである。ただし1999年より、硫化水素を産生しないサルモネラを分離する目的で、ブリリアントグリーン寒天培地(栄研化学)あるいはCHROMagar Salmonella (CHROMagar社)を併用した。薬剤耐性試験法は、既報[4]のとおりである。

ヒト由来のサルモネラは、県内の医療機関および保健所より、同定のために送付された患者および保菌者からの分離菌1699株について調査した。

結果と考察

2000年に実施した河川からのサルモネラ分離の成績を表1に示した。定点別にみると、サルモネラはいずれの定点からも分離され、その分離率は全体で18/48 (37.5%)であった。I-3とM-1

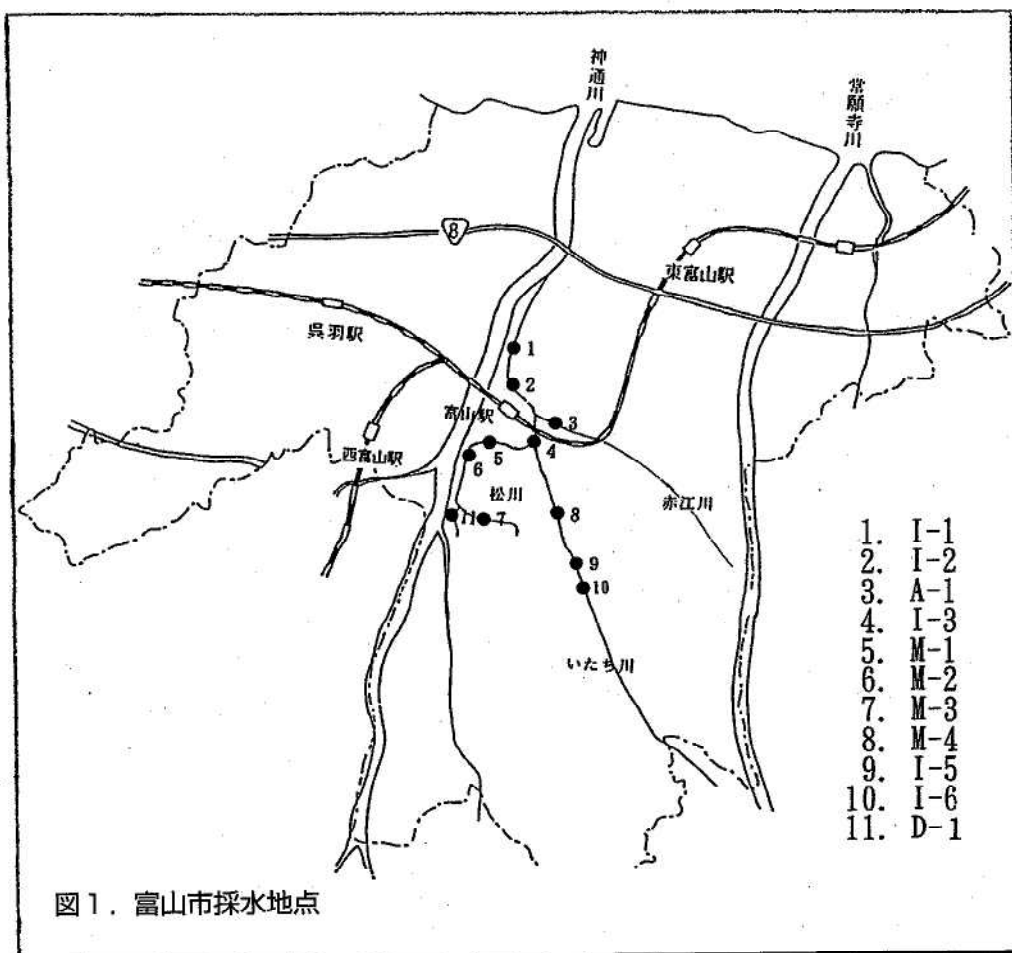


図1. 富山市採水地点

表1. 地点別月別サルモネラ分離状況 (2000年)

調査月 定点	5月	6月	7月	8月	9月	10月	陽性頻度
I-1			S.Newport(6,8:eh:1,2) ¹⁾ S.Singapore(4:eh:1,2)		S.Agona(4:gfs:-)		2/6 ²⁾
I-3				S.Agona(4:gfs:-)	S.Agona(4:gfs:-)		2/6
I-4			S.Kobol(8:b:1,5)	S.Agona(4:gfs:-) 4:I:-	S.Agona(4:gfs:-) S.Typhimurium (4:i:1,2) S.Enteritidis(9:gm:-)		3/6
I-6				4:I:-	S.Agona(4:gfs:-) S.Infantis(7:r:1,5)		2/6
A-1				4:I:-	S.Kentucky(8:i:z6) S.Brandenburg (4:lv:1,5)		2/6
M-1	S.Montevidео (7:gms:-)	8:UT					2/6
M-3		S.Uno(6,8:z29:-)		4:I:-	S.Agona(4:gfs:-)		3/6
D		8:UT			S.Infantis(7:r:1,5) S.Havana(13:gf:-)		2/6
陽性 頻度	1/8 ³⁾	3/8	2/8	5/8	7/8	0/8	18/48

1) 血清型名 (サルモネラ抗原構造)

2) サルモネラ分離回数 (月数) / 調査回数 (月数)

3) サルモネラ分離定点数 / 調査定点数

では分離率は3/6(50.0%), その他の定点ではいずれも2/6(33.3%)で, 定点による分離率に大きな差異はみられなかった. 月別では, 8, 9月の分離率がそれぞれ5/8, 7/8と高く, 10月にはサルモネラの分離はなかった. 血清型の判明したものに

ついてみると, S. Agona (7株, 5定点), S. Infantis (2株, 2定点) の順に多く分離され, 他の10血清型のサルモネラはいずれも1株の分離であった. 最も分離数の多かった S. Agona は河川 M で1株分離されたが, それ以外はすべて I 河川水系

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	小計	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	小計	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	小計	合計
S.Paratyphi B	5 ¹⁾	20	5	8	15	20	17	19	3	1		3	86			3		1	1	4	1			10	121	
S.Typhimurium	13	11	24	9	1	4	8	2		6		2	2	34	2		3	1	4	1		5	2	4	22	80
S.Infantis	4	20	24	14		1	1	6	3	2	1	2	1	31	1					1				3	5	60
S.Agona	1	2	3	1	8	2	4	5			5		2	27		2		1		1	1	4		8	17	47
S.Enteritidis	2	3	5	9	6	3	2					4	3	27			2	1	4		3	1		2	13	45
S.Typhi		1	1	12	5	1	1	2	4	5			3	33											0	34
38:z10:z53	12		12		4	5	2	4	2			1	3	21											0	33
S.Tennessee		3	3	1				1			1	3	5	11	2	4		9	2	1					18	32
S.Thompson	3	1	4	7	2	1		2		1	1		2	16			3	5			4				12	32
S.Litchfield	1	5	6	11	1	1	3	2	4	2			24							1					1	31
UT			0		2			5	2		2	2	1	14		1	1	5			11				18	32
その他血清型	77	59	156	27	21	35	35	34	23	3	22	27	13	240	14	11	4	11	0	1	24	10	1	11	87	463
合計	118	125	243	99	63	73	73	77	39	20	30	45	31	550	19	20	12	28	12	6	38	21	3	28	185	978

1) サルモネラ分離株数

表3. ヒトからサルモネラの年次別分離状況

血清型	1979	1980	小計	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	小計	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	小計	合計
S.Enteritidis	1 ¹⁾	4	1	46	1	4	1	1	3	1	7	26	4	94	16	20	41	150	18	54	40	44	39	37	459	558
S.Typhimurium	1	21	22	12	4	6	8	12	6	9	5	10	7	79	2	12	7	18	8	4	4	10	8	4	77	178
S.Paratyphi B	11	21	32	7	11	16	11	13	5	5	22	6	2	98	5	12	1	2	2	1		1	5		29	159
S.Infantis	3	11	14	3	1	1	7	7	2	3			7	31	2	2	1	3	4	19		1	7	2	41	86
S.Typhi	12	7	19	15	9	5	9	2	3	4	1	3	5	56	5		3	1		2					11	86
S.Litchfield	1	8	9	5	3	4	9	13	6	5	6	2	3	56	2	2	4	3	1	1	1	1	1		16	81
S.Montevidео			0			30	18	3		1	1	2	2	57	2	1	3	5	2	2	1		2		18	75
S.Braenderup		3	3	1		4	1	5	3	3				17	3	11	3	4	1	2					25	45
S.Havana		1	1								35			35											2	38
その他血清型	0	13	17	12	15	15	12	18	16	14	19	25	28	174	17	11	13	44	25	33	12	12	31	8	206	393
合計	29	89	118	101	44	85	76	74	44	80	61	74	58	697	54	72	76	230	61	119	58	70	93	51	884	1699

1) サルモネラ分離株数

にて分離された。この時期に上流部で何らかの汚染があったと考えられるが、その原因は明らかではない。多く分離された血清型 4:i:- については血清型名が不明で、1994年と1998年にヒトから分離されていた。分離されたこの血清型の菌株が同一クローンであるのか否か、また、既知血清型との関連性等、詳細な性状についてさらに検討を加える必要があろう。それとともに、今後の分離状況などの動向に注意したい。

表2、3に過去22年間に分離されたサルモネラの主な血清型の年次分布を示す。河川からのサルモネラの分離株総数は22年間で978株であった。しかし、その多くは1990年以前の12年間に分離され(793株, 81.1%), 1991年以後の10年間の分離数は185株であった。この分離数は採水の回数が異なるので単純に比較できないが、毎月採水をおこなった1980年と1997年で見ると、年間分離数はそれぞれ125株, 36株で、後者で分離数は明らかに減少している。さらに年次別に詳細にみると1986年からその分離数は著しく減少している。これは既報[7, 8]にもあるとおり、原因は河川の浄化を目的として、他の河川から取水し、その流量を増加させたことによると思われる。また、富山市周辺部における下水道の普及も影響したものと思われる。血清型でみると全期間を通じた分離数は *S. Paratyphi B* (121株, 12.4%), *S. Typhimurium* (80株, 8.2%), *S. Infantis* (60株, 6.1%) の順に多かった。しかし、1991年から2000年までの10年間に限定すると、*S. Infantis* が22株と最も多く、*S. Paratyphi B* は、分離数が10株で、1980年代の約11.2%と少なかった。*S. Typhi* についてはその傾向はより顕著で、1980年代の分離数は22株であったが、1990年以降の10年間は1株も分離されなかった。似たことは、ヒト分離株においても認められた。次いでヒトから分離されたサルモネラについてみると、22年間の分離総数は1699株で、最も分離の多かった1994年には *S. Enteritidis* による大規模な食中毒があった。分離数は *S. Enteritidis* (558株, 32.8%) が最も多く、次いで *S. Typhimurium* (178株, 10.5%), *S. Paratyphi B* (159株, 9.4%)

の順であった。*S. Enteritidis* については、1989年から分離数が増加し、これは全国統計と同様の傾向であった[1]。1年間にヒトから分離されるサルモネラに占める *S. Enteritidis* の割合も1989年より高くなり、2000年にはその割合は72.5%と、この22年間で最も高かった。河川およびヒトから分離されたサルモネラの血清型別状況を比較すると、前述の *S. Typhi* も含めて、河川から分離されたサルモネラはヒトのサルモネラ感染症に密接に関連しているように思われる。

1980~2000年に分離された主な血清型のサルモネラの薬剤耐性を表4に示した。20年間全体で見ると、耐性菌の割合は *S. Typhimurium* において212株中100株(47.2%)と最も高かった。次いで *S. Litchfield* (37.4%), *S. Enteritidis* (35.7%) の順であった。これを1980年代と1990年代に分けてみると、耐性株の頻度は、1980年代が143/755株(18.9%)であったのに対し、1990年代は280/774株(36.2%)とその値は1980年代より1990年代でおよそ2倍と高かった。由来別では、両年代ともに河川由来よりヒト由来において耐性株の頻度が高かった。これらのことは、近年、ヒト由来菌が抗生剤処理をより多く受けていることを示すのではないと思われる。血清型でみると、耐性株の頻度の最も高い *S. Typhimurium* は年代・由来別に関係無く、その頻度は40~50%と高かった。それに対して、*S. Enteritidis* における耐性株の頻度は1980年代分離株で2.4%であったのに対し、1990年代分離株では3倍の41.6%と、後者で耐性株の頻度が高かった。表5は主な血清型のサルモネラの薬剤耐性パターンを示す。*S. Enteritidis* では、11の薬剤耐性パターンが認められ、その中ではS(ストレプトマイシン)単独耐性が最も多く、ついでS・Te(テトラサイクリン)2剤耐性が多かった。*S. Typhimurium* では29種類の薬剤耐性パターンが認められ、単独耐性株の頻度は12/103(11.7%)と他の血清型と比較して低かった。この血清型で最も耐性株の頻度が高かったのは、C(クロラムフェニコール)・Te・S・K(カナマイシン)・AM(アンピシリン)5剤耐性株であった。

既にのべたように、近年、富山市内の河川のサ

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	耐性薬剤名	ヒト	河川	合計
S.Enteritidis	AM	1	0	1
	C,Te,AM	1	0	1
	C,Te,NA,AM	1	0	1
	S	229	4	233
	S,AM	1	0	1
	Te,S	40	4	44
	Te	2	0	2
	Te,S,AM	1	1	2
	Te,S,K,AM	2	0	2
	Te,S,Mi	1	0	1
		279	9	288
S.Infantis	Te,S	2	0	2
	Te,S,K	2	1	3
	S	1	1	2
	C,Te,K,AM	1	0	1
	Te,S,AM	1	0	1
	C,Te,S,K,CF	0	1	1
	C,Te,S,K,AM	0	1	1
	AM,CF	0	1	1
	Te	0	1	1
		7	6	13
S.Litchfield	C,T,S,Mi	2	2	4
	Te	9	1	10
	C,Te,S,NA	1	0	1
	S	1	0	1
	Te,S,AM	1	0	1
	Te,AM	1	2	3
	Te,S	1	0	1
	AM	1	0	1
	S,AM	1	0	1
	C,Te	8	4	12
	Te,S,K,AM	1	0	1
		27	9	36
S.Paratyphi B	S,NA,CF	1	0	1
	NA	2	0	2
	S,NA,AM	1	0	1
	NA,CF,AM	1	0	1
	Te	10	2	12
	C,Te,S,AM	3	0	3
	AM	1	0	1
	Te,S	3	0	3
	C,Te	4	0	4
	C,Te,K,AM	1	0	1
	C,Te,S	2	0	2
	C,Te,S,K,AM	1	0	1
	Te,S,NA	1	0	1
	S	0	1	1
	K	0	1	1
		31	4	35
S.Typhimurium	AM	2	0	2
	C,S,AM	1	0	1
	C,Te,AM	2	0	2
	C,Te,K	1	1	2
	C,Te,K,AM	3	0	3
	C,Te,Mi,K	1	0	1
	C,Te,NA,Mi	1	0	1
	C,Te,S	2	0	2
	C,Te,S,AM	8	7	15
	C,Te,S,AM,Mi,K	3	0	3
	C,Te,S,K	1	2	3
	C,Te,S,K,AM	17	4	21
	C,Te,S,NA,AM	3	0	3
	K	2	0	2
	S,K,AM	1	0	1
	S,K,CF	1	0	1
	Te	4	3	7
	Te,S	6	0	6
	Te,S,K,AM,GM	5	0	5
	Te,S,K,AM,NA	1	0	1
	Te,CL	0	1	1
	Te,K	1	2	3
	C,Te	3	0	3
	C,Te,S,K,CL,AM	1	0	1
	S	1	0	1
	Te,S,AM	2	2	4
	Te,S,K	2	0	2
	Te,S,K,AM	2	0	2
	C,Te,S,K,CL	0	4	4
		77	26	103

1) 菌株数

ルモネラによる汚染は非常に低下している。これは、下水道の普及等環境整備によるところが大きいと考えられる。1980年～2000年の間に河川から分離されたサルモネラの多くは、ヒトが浄化槽を通して排出した菌である可能性もある。今後、さらなる下水道の普及により、サルモネラ汚染がさらに少なくなるのか、調査を続けたい。

文 献

1. 国立感染症研究所編, 病原微生物検出情報 (2000) 8, 1-3.
2. 厚生省生活衛生局食品保健課, 食品衛生研究 (2000). 50, 117-195.
3. 金子通治, 高橋照美, 野田裕之, 浅川洋美, 高橋 要, 菊島慶彦, 大橋 衛, 山口幸久, 寺嶋 淳, 泉谷秀昌. (1999), 日本食品微生物学会雑誌, 1, 51-56.
4. 山崎茂一, 園家俊雄, 畑 祥子, (1981), 富山衛研年報, 4, 221-226.
5. 磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保, 井山洋子 (1997), 富山衛研年報, 19, 111-116.
6. 磯部順子, 安井伊津子, 児玉博英, 山崎茂一 (1991), 富山衛研年報, 14, 142-149.
7. 磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保 (1998), 富山衛研年報, 21, 133-140.

環境に分布するコレラ毒素非産生性 *Vibrio cholerae* O1の起源に関する研究

刑部 陽宅 細呂木志保 田中大祐
磯部 順子 北村 敬

Studies on the Origin of CT-negative *Vibrio cholerae* O1 Distributed in the Environment

Yotaku GYOBU, Shiho HOSOROGI, Daisuke TANAKA,
Junko ISOBE and Takashi KITAMURA

要 旨 国内の河川或いは海水から分離されたコレラ毒素 (CT) 非産生性 *Vibrio cholerae* O1, コレラ患者由来 CT 産生性 *Vibrio cholerae* O1, 食中毒由来 *Vibrio cholerae* Non-O1について, パルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) を用いた染色体 DNA 制限酵素切断パターン, 菌体あるいは菌体外膜蛋白の SDS-PAGE パターンを調べ, 以下の結果を得た. 1) 海水由来 CT 非産生性 *V. cholerae* O1 の PFGE パターンは患者由来 CT 産生性 *Vibrio cholerae* O1 より食中毒由来 CT 非産生性 *V. cholerae* Non-O1 のそれに似ていた. 2) CT 非産生性 *V. cholerae* O1 の細胞外膜の SDS-PAGE パターンに似たパターンは CT 産生性 *Vibrio cholerae* O1 に認められず, CT 非産生性 *V. cholerae* Non-O1 に認められた. 以上の結果は国内の沿岸の海水に分布する CT 非産生性 *Vibrio cholerae* O1 の祖先は患者由来 CT 産生性 *Vibrio cholerae* O1 よりは沿岸海水に多く分布する *V. cholerae* Non-O1 に近いことを示唆する.

児玉ら〔1〕は富山県内の沿岸海水について *Vibrio* 属細菌の調査を行い, *Vibrio cholerae* Non-O1 を高頻度に検出した. この調査では, 低頻度であるが *V. cholerae* O1 が検出されている〔未発表〕. このような国内の環境から分離される *V. cholerae* O1 はヒト由来 *V. cholerae* O1 と生化学性状では区別出来ない. しかし患者由来と異なり殆どがコレラ毒素非産生性であることが明らかにされている〔2-3〕.

著者らは前報〔4-5〕で海水から分離された CT 非産生性 *V. cholerae* O1 と国内でヒトから分離された CT 産生性 *V. cholerae* O1 について, 生存性, 薬剤感受性, 界面活性剤感受性を比較し, 海水由来株とヒト由来株は, 1~2 の性状を異にするこ

とを指摘した.

国内の海水から分離された CT 非産生性 *V. cholerae* O1 の起源については, 1) 患者由来の CT 産生性 *V. cholerae* O1 が CT 非産生性に変異した. 2) 環境中の CT 非産生性 *V. cholerae* Non-O1 が *V. cholerae* O1 に変異した. 3) その他が考えられる. しかし, いずれであるかについては, かならずしも明確ではない. ここではこの問題についての知見を得るため, *V. cholerae* O1 の CT 産生株と非産生株, 並びに *V. cholerae* Non-O1 について細胞外膜タンパク質の SDS-PAGE 像, パルスフィールドゲル電気泳動像等を調べた.

材 料 と 方 法

1) 菌株

Vibrio cholerae O1: ヒト由来 CT 産生性菌はコレラ患者から分離された5株 (小川型3株, 稲葉型2株), 環境由来 CT 非産生菌は国内海水から分離された5株を用い, *V. cholerae* Non-O1は食中毒3事例 (長野県, 高知県, 堺市で発生) 由来の3株と海水由来の1株 (TNV13) を用いた。これらは著者らが富山県内で分離したものを除き, *V. cholerae* O1は国立感染症研究所 島田俊雄博士, *V. cholerae* Non-O1は高知県南国保健所今村先生, 堺市衛生研究所 大中隆史先生, 長野県衛生公害研究所 村松紘一先生から分与された。詳細はTable 1に示した。

Table 1. *Vibrio cholerae* O1 and non-O1 strains used in this study

No. Strain	Serovar	Cholera toxin	Isolation		
			year	source	place
1	NIH 126-90	O1 Ogawa +	1990	Human	Thailand
2	NIH 146-90	O1 Ogawa +	1990	Human	Thailand
3	NIH 1-91	O1 Ogawa +	1991	Human	Indonesia
4	NIH 2212-80	O1 Inaba +	1980	Human	Philippine
5	NIH 43	O1 Inaba +	1989	Human	Nagoya (Outbreak)
6	NIH 507-85	O1 Ogawa -	1985	Sea water	Toyama
7	NIH 742-87	O1 Ogawa -	1987	Sea water	Amagasaki
8	NIH 760-80	O1 Inaba -	1980	River water	Okinawa
9	NIH 1097-81	O1 Inaba -	1981	River water	Kanagawa
10	NIH 924-79	O1 Inaba -	1979	River water	Chiba
11	TNV13	Non-O1 -	1985	Fish	Toyama
12	Sakai 225	Non-O1 -	1986	Human	Sakai
13	Nagano 3	Non-O1 -	1978	Human	Nagano
14	Kochi 28	Non-O1 -	1984	Human	Kochi

2) パルスフィールドゲル電気泳動

前報 [3] によった。

3) サザンハイブリダイゼーション

パルスフィールドゲル電気泳動後の寒天ゲルについて CT 遺伝子, 溶血毒遺伝子をプローブ DNA として, アマーシャム社 (株) の Gene Images™ ラベリング・検出システムを用いて実施した。DNA プローブとして使用した CT 遺伝子と溶血毒遺伝子はそれぞれ, 前者についてはタカラ (株) のプライマー, 後者については自家製のプライマー [6] を用いて PCR 法で増幅して得た。

4) 菌体抽出液と細胞壁の調製

(1) 菌体抽出液: トリプトソイ寒天培地, 37C

1 夜培養菌を生理食塩水に懸濁し超音波により菌体を破碎した。遠心 (8000rpm, 20分) 上澄を0.45 μ m のフィルターで濾過し, 菌体抽出液とした。

(2) 外膜蛋白質: Choudhuri らの方法 [7] によって抽出した。外膜蛋白質のプロテナーゼ K 処理は試料にプロテナーゼ K を0.4mg/ml になるように加え, 60C, 30分行った。

5) SDS-PAGE

電気泳動は装置にミニプロテイン (BIO-RAD 社), ゲルにレディーゲル (BIO-RAD 社) を用い, BIO-RAD 社の SDS-PAGE ガイドに従って実施した。また, 泳動後のゲルの写真撮影はクマシーブルー R250 で染色後行った。

結 果

1. PFGE 像

PFGE は SfiI 処理染色体 DNA について行なった。結果は Fig 1 に示した。ヒト由来 CT 陽性菌

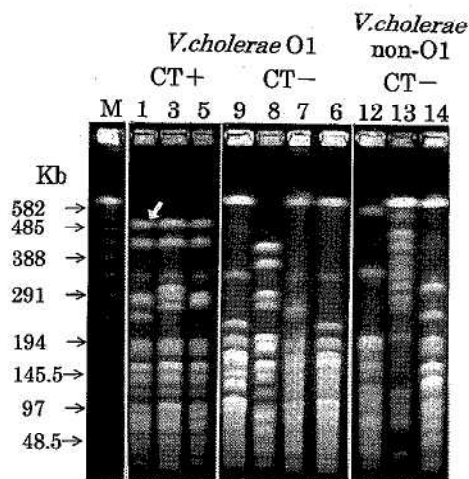


Fig 1. PFGE analysis of toxigenic and nontoxigenic strains of *V. cholerae* O1.

の場合には, 供試3株すべてに, 500Kb 付近に2本の DNA バンドが認められた。しかし, この2本のバンドは CT 非産生性の *V. cholerae* O1 および *V. cholerae* Non-O1 には認められなかった。一方, 600Kb 以上のバンドは CT 非産生性の *V. cholerae* O1 と *V. cholerae* Non-O1 では, それぞれ4株中3株, 3株中2株において認められ, CT 陽性 *V. cholerae* O1 では認められなかった。

2. サザンハイブリダイゼーション

Fig.1に示した寒天ゲルについてサザンハイブリダイゼーションを行った。CT 遺伝子をプローブとした場合の結果は図示しなかったが、CT 遺伝子は CT 陽性 3 株の場合にのみ、いずれも 500Kb 付近の最も大きな DNA バンドに認められた。一方、溶血毒遺伝子をプローブとした場合には、Fig 2 にみられるように、溶血毒遺伝子は CT 産生性

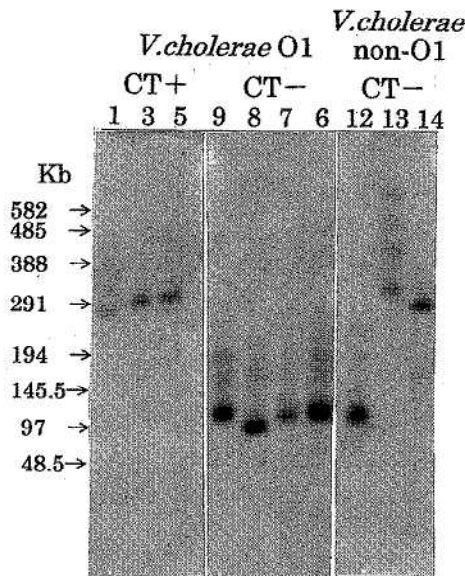


Fig 2. Sfi I-digested chromosomal DNA, hybridized with hemolysin gene.

の *V. cholerae* では 3 株中 3 株、*V. cholerae* non-O1 では 3 株中 2 株において 290Kb 付近の DNA バンドに認められた。しかし、CT 非産生性の *V. cholerae* では 4 株中 4 株でよりサイズの小さい 97Kb 付近のバンドに認められた。

3. 菌体抽出液の SDS-PAGE

結果は Fig.3 に示した。供試 9 株すべてにおいて、16 本以上のタンパク質のバンドが 20 から 67Kd の範囲に認められた。しかし、その泳動パターンを CT 陽性株と陰性株について比較した時、菌株差が大きく CT 陽性株と CT 陰性株間に明確な泳動パターンの差は認められなかった。

4. 外膜タンパク質の SDS-PAGE

Fig.4 にみられるように、調べた *V. cholerae* O1, *V. cholerae* Non-O1 計 9 株すべてに、3 本のタンパク質のバンドが 30-43Kd の範囲に認められた。サイズはそれぞれ約 31Kd 付近、32-33Kd、40Kd 付近

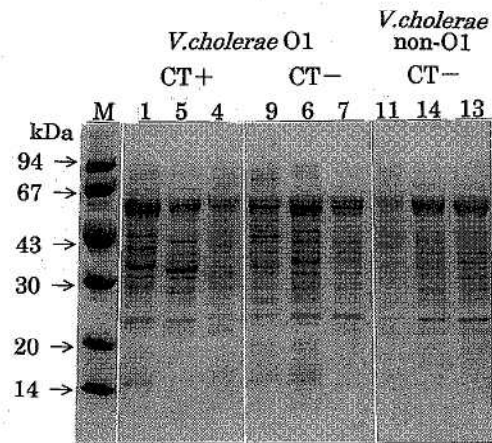


Fig 3. Cell extract of *V. cholerae* O1 strains separated by SDS-PAGE.

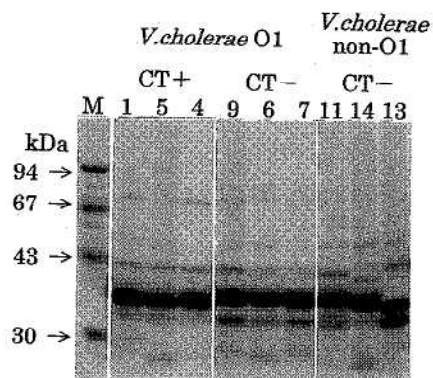


Fig 4. Outer membrane proteins profiles of *V. cholerae* O1 strains separated by SDS-PAGE.

で、その内では 32-33Kd の蛋白が量的に最も多かった。

CT 陽性 *V. cholerae* O1, CT 陰性 *V. cholerae* O1, CT 陰性 *V. cholerae* Non-O1, 3 者の泳動パターンを比較すると、*V. cholerae* O1 の CT 陽性株は陰性株に比較して、35Kd 付近のバンドの分子サイズがやや大きかった。また、CT 陽性株は陰性株に較べて、31Kd 付近の蛋白バンドが量的に少なかった。なお、CT 陰性 *V. cholerae* O1 と同じパターンを示す菌株は CT 陽性 *V. cholerae* O1 に認められず、CT 陰性 *V. cholerae* Non-O1, 3 株中 1 株 (レーン 11) に認められた。

5. プロテナーゼ K 消化外膜タンパク質の SDS-PAGE

外膜タンパク質をプロテナーゼ K 処理し、SDS-PAGE を行った時の泳動パターンを観察すると、

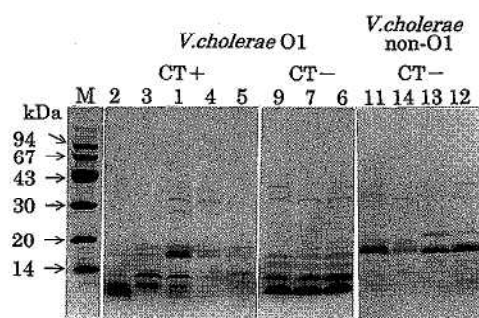


Fig 5. Proteinase K-digested outer membrane proteins, separated by SDS-PAGE.

Fig. 5 にみられるごとく、CT 陽性株では20Kd 以下に6本 (18.5, 18, 16, 12.5, 11.5, 10Kd) のバンドがみられるのに対して、CT 陰性株では4本のバンド (15.5, 15, 13, 10.7Kd) しか認められなかった。一方、CT 陰性 *V. cholerae* Non-O1では明確なバンドは認められなかった。

考 察

国内の環境のビブリオ属細菌の分布調査において検出される少数の *V. cholerae* O1はコレラ患者から分離される *V. cholerae* O1と異なり CT 非産生性であることが報告されている [2-3]。著者ら [4, 5] はこれまで、CT 陽性株と CT 陰性株の PFGE パターンは異なること、また CT 陽性株は CT 陰性株に比してノボジオシンに対してより耐性、SDS に対してより感受性であることを報告した。本実験では、更に細胞外膜蛋白の SDS-PAGE を行い CT 陽性株と陰性株でその構成成分の比較を行ったところ、両者はやや異なることが明らかとなった。これらの結果は *V. cholerae* O1は CT 陽性株と陰性株でクローンが異なり、細胞壁構成成分が少し異なることを示唆している。

CT 陰性 *V. cholerae* O1は CT 陽性 *V. cholerae* O1に近いのか、或いはまた *V. cholerae* Non-O1に近いのかを考察すると、次の3事実から CT 陰性 *V. cholerae* O1は患者由来 CT 陽性 *V. cholerae* O1より CT 陰性 *V. cholerae* Non-O1に近いように思われ

る。1) CT 陰性 *V. cholerae* O1の PFGE 像は CT 陽性 *V. cholerae* O1のそれより *V. cholerae* Non-O1のそれに似ている。2) CT 陰性 *V. cholerae* O1の染色体上の溶血毒遺伝子の位置は *V. cholerae* Non-O1の一部の菌株に類似している。3) CT 陰性 *V. cholerae* O1の細胞壁外膜の SDS-PAGE 像と似た泳動像の菌株は CT 陽性 *V. cholerae* O1より CT 陰性 *V. cholerae* Non-O1の間に認められる。

V. cholerae Non-O1については少なくとも139以上の O 抗原にもとづく血清型が知られており、富山湾でも様々な血清型の菌が分布していることが報告されている [1]。今回調べた *V. cholerae* Non-O1の中に CT 陰性 *V. cholerae* O1に近い PFGE や SDS-PAGE 像の菌株が認められるが、さらに自然界に分布する多くの菌株について調べれば抗原性を除く多くの性状で CT 陰性 *V. cholerae* O1と区別が出来ない CT 陰性 *V. cholerae* Non-O1が見いだされるのではないかとと思われる。

文 献

1. Kodama, H., Gyobu, Y., Tokumann, N., Okada, I., Uetake, H., Shimada, T. and Sakazaki, R. (1984). Microbiol. Immunol. 28, 311-325.
2. Minami, A., Hashimoto, S., Abe, H., Arita, M., Taniguchi, T., Honda, T., Miwatani, T. and Nishibuchi, M. (1991). Appl. Environ. Microbiol. 57, 2152-2157.
3. 刑部陽宅, 細呂木志保, 島田俊雄 (1998). 感染症学雑誌, 72, 575-584.
4. 刑部陽宅, 細呂木志保, 児玉博英, 島田俊雄 (1993). 富山衛研年報, 17, 125-128.
5. 刑部陽宅, 細呂木志保, 北村 敬 (1996). 富山衛研年報, 19, 132-137.
6. 刑部陽宅, 細呂木志保 (1992). 富山衛研年報, 16, 204-205.
7. Chaudhuri, K., Bhadra, P. K and Das, J (1992). Appl. Environ. Microbiol. 58, 3567-3573.

イオンクロマトグラフィーによる海洋深層水中の 硝酸塩の連続自動分析

松永 明信 小善 圭一* 黒川 弘子
山本 敦 大浦 徹

A Method for Continuous and fully-automated Determination of Nitrate
in Supplying Deep Seawater by Ion Chromatography

Akinobu MATSUNAGA, Keiichi SHOZEN, Hiroko KUROKAWA,
Atsushi YAMAMOTO and Takashi OHURA

要 旨 海洋深層水は表層水に比べて硝酸塩、リン酸塩及びケイ酸塩等の栄養塩が豊富であると言われている。水産試験場に揚水されている富山湾深層水中の栄養塩濃度は何らかの要因で変動することが明らかにされている。変動する要因を解明するためには、まずは栄養塩濃度を連続的に自動分析することが必要である。硝酸塩 (NO_3^-) 及び亜硝酸塩 (NO_2^-) をイオンクロマトグラフ (IC) で測定する検討を行い、高速液体クロマトグラフの構成装置等を組み合わせて試作装置を構築した。本装置では、揚水されている深層水中の NO_3^- 、 NO_2^- 及び臭素イオン (Br^-) を30分間隔で連続自動分析することが可能であった。各成分の測定精度 (CV) は1%程度と良好であり、移動相の消費は1日当たり72mlと少ない。深層海水中の NO_3^- 等を長期間にわたり連続自動分析できる本装置は、 NO_3^- 濃度の推移を把握するための計測装置として、十分に実用的なものであると考えられる。

海洋深層水 (300m 以深) は表層水に比較して、一般的に①温度が低いこと (低温性)、②硝酸塩、リン酸塩、ケイ酸塩等の栄養塩類の含有量が多いこと (富栄養性)、③雑菌等が少なく微生物学的に清浄であること (清浄性) 等の特性を有すると言われている。滑川市沖の水深321m から富山県水産試験場に揚水する施設が平成6年11月から稼働を開始し、水産分野及び非水産分野における利用技術の調査研究が進められてきた。富山湾深層水の栄養塩等について、水産試験場等が深度別に季節的な濃度変化を精力的に調査している。深度の増

加にともなっていずれの成分も増加し、深層水は表層水の10倍程度であり、季節的な変動も観測されている [1]。また、321m から揚水された深層水を1日1回測定した栄養塩の濃度は、硝酸及び亜硝酸塩は $4.5 \sim 22.4 \mu\text{M}$ 、リン酸塩は $0.86 \sim 1.98 \mu\text{M}$ 、ケイ酸塩は $9.9 \sim 47.7 \mu\text{M}$ の範囲で変動していた [2]。予想以上にその変動は大きい。季節的あるいは規則的な周期は認められていない。同時に測定した塩分及び水温 (1時間毎) は極めて安定していることから [3, 4]、鉛直的な水塊移動・混合に起因する変動とは考え難く、栄養塩濃

*) 富山県水産試験場

度の異なる水塊の水平移動の可能性は否定できない。この変動の原因を解明するためには、水温計測の場合と同様に、栄養塩等の1時間毎の連続自動分析が必要であると考えられる。そこで、既設の高速液体クロマトグラフ (HPLC) 等の構成装置を組み合わせ、一部は改造してイオンクロマトグラフ (IC) 試作装置を構築して、水産試験場に揚水されている深層水中の NO_3 及び NO_2 濃度を無人で長期間連続して自動分析できる装置の開発を行ったので、その概要と性能を報告する。

実験方法

1. 試料

滑川市沖の水深321m から富山県水産試験場に常時揚水されている海洋深層水を用いた。

2. 標準溶液等

擬似海水：食塩、硝酸性窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$)、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 及び臭素イオン (Br) の濃度が、それぞれ0.6M, 0.3mg/L, 0.1mg/L 及び60mg/L となるように混合液を調製した。混合標準原液： $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 及び Br の濃度が、それぞれ2.0mg/L, 0.2mg/L 及び100mg/L となるようにを調製し、これを適宜希釈して標準溶液とした。

3. IC 装置

連続自動分析装置の構成概要を図1に示した。各構成装置は基本的に島津製品を使用した。移動相送液ポンプ：イオンクロマトグラフ PIA-1000装

置に組み込まれている IC 仕様ポンプ、スイッチングバルブ (SV)：オートインジェクター SIL-10Ai の SV に7 μL の試料ループを装着したもの、カラム恒温槽：PIA-1000装置に組み込まれているカラム恒温槽、吸光度検出器：SPD- 6 AV, データ処理及び解析装置：クロマトパック C-R 5 A 及びクロマトパック・サーバー、脱気装置：DGU- 2 A, 試料送液ポンプ：PRR- 2 A 型ペリスタポンプ及びコンセントユニット (電源のオン・オフ制御), システム制御装置：SCL-10Avp; 試料送液ポンプのオン・オフ, SV の切り替え及びデータ処理装置の始動等を制御して、一定時間間隔での連続自動分析を制御する装置。

4. IC 測定条件

移動相：0.2M NaCl, 流量：0.05ml/ 分, 分析カラム：TSK GEL DEAE- 5 PW (2.0mm ϕ x 75mm); 東ソー製, カラム温度：35℃, 検出波長：215nm, 試料送液流量：0.3ml/ 分。連続分析するための各構成装置へ送る制御信号のタイムプログラム：

- (1) 試料送液ポンプは測定開始10分前に始動させ、連続的に揚水されている新鮮な深層海水を分析系へ送り、測定開始1分後に停止する。次の測定を開始する10分前に再始動する。
- (2) SV は測定開始1分前に切り替えて新鮮な海水で試料ループを1分間置換する。測定開始時に SV を切り替えて、試料海水を分析カラムに送ると同時にデータ処理装置を始動する。
- (3) 1回の分析が終了する約25分後にデータ処理装置は停止し、得られたクロマトグラム及び定量

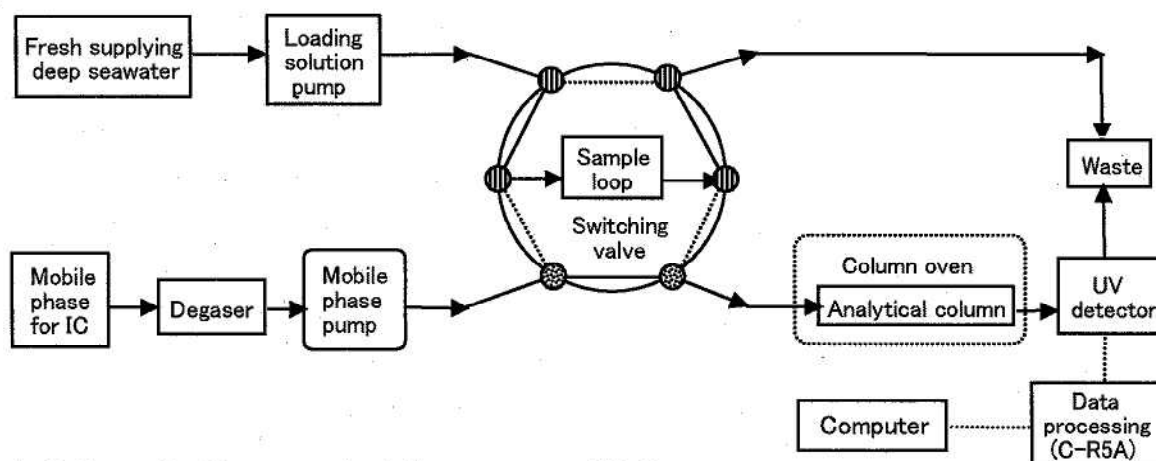


Fig 1. Schematic Diagram of a fully-automated IC System

結果等を特定のファイル形式に変換してクロマトバック・サーバー [クロマトバックマネージャー (ソフトウェア) を組み込んだパソコン] に転送して記録・保存する。1回の分析毎に、クロマトグラム、波形処理方法及び検量線等のパラメータ、定量結果等の情報を含むテキストファイル等、複数のファイルが発生する。

結果と考察

1. IC 条件の検討

海水の主要成分はナトリウム、マグネシウム、カルシウム、カリウム、ストロンチウム等の陽イオン及び塩素、硫酸、臭素、重炭酸、ホウ酸等の陰イオンであり、リン酸塩、硝酸塩及びケイ酸塩等の栄養塩は微量成分である。IC 法では多成分の一斉分析が可能であり、水質分析に広く利用されている。しかしながら、特定のイオンを多量に含む試料中の微量イオンの測定には困難がともなう。温泉水及び海水を試料とした場合には、前処理によって塩化物イオンを除去する方法[5-7]、長いカラムを用いる方法が利用されてきた[8, 9]。近年、交換容量の大きな分離カラムと高塩濃度の移動相を用いることにより、前処理操作を行うことなく、高塩濃度試料中の微量イオンを直接定量する方法及びその分離機構が報告されている[10, 11]。この方法を利用して、海水中の $\text{NO}_2\text{-N}$ 、Br 及び $\text{NO}_3\text{-N}$ を連続測定する条件の検討を行った。

分析用カラムとして、長期間の連続使用に耐えられるポリマー基材に交換基を導入したイオン交換樹脂を充填したカラム、東ソー社製の① TSK-GEL IC-Anion-PW_{XL} (交換容量0.03eq/L)、② TSK-GEL IC-SuperQ-5PW (交換容量0.13eq/L)、③ TSK-GEL DEAE-5PW (交換容量0.1eq/L)、④ TSK-GEL SAX (交換容量1.0eq/L) 及び⑤昭和電工社製の Shodex IEC QA-825 (交換容量0.5eq/kg) を用いて、試料として実験方法に記載した擬似海水を注入し、カラムの交換容量に対応する食塩濃度の移動相を選択して各成分の分離状況を検討した。交換

容量の小さいカラム①を用いた場合には、試料中食塩の影響によって各成分は互いに完全には分離しなかった。その他4種類のカラムでは各成分は完全に分離した。いずれの場合も NO_2 、Br、 NO_3 の順に溶出するが、多量のBrと NO_3 が充分に分離するカラム③を選択して、カラム温度は35℃、吸光度検出の波長は215nmに設定した。長期間の連続自動分析を行うことを目的とするので、移動相の消費を極力抑えるために、カラム③のサイズは(2 mm ϕ x 75mm)のものを選択し、移動相として0.2M NaClを0.05ml/分で送液した。実験方

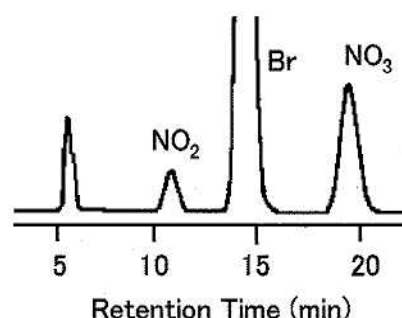


Fig 2. Typical Chromatogram of a Standard Mixture

法で記載した条件を用いて、擬似海水を分析したクロマトグラムを図2に示した。1回の測定は約25分で完了するので、30分間隔の測定が可能である。移動相の消費量は1日当たり72mlであり、2Lの移動相で約1ヶ月の連続無人分析が可能となる。

2. 検量線

各種濃度の混合標準溶液のクロマトグラムのピーク面積から検量線を作成した。 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 及びBrの検量線は図3に示すように、それぞれ0.005~0.2mg/L、0.01~2.0mg/L及び1~100mg/Lの範囲で原点を通る良好な直線性を示した。なお、標準溶液は食塩を含まないが、食塩を添加しても各成分の分離及びピーク形状等は変わらなかった。

3. 海水分析の再現性

1時間毎に擬似海水を24回連続分析した $\text{NO}_2\text{-N}$ 、Br及び $\text{NO}_3\text{-N}$ の測定値の変動係数(CV)は、それぞれ0.6%、1.0%及び0.2%であり、良好な再現性が得られた。但し、Brの測定値については、図4に示すように夜間の室温降下によっても減

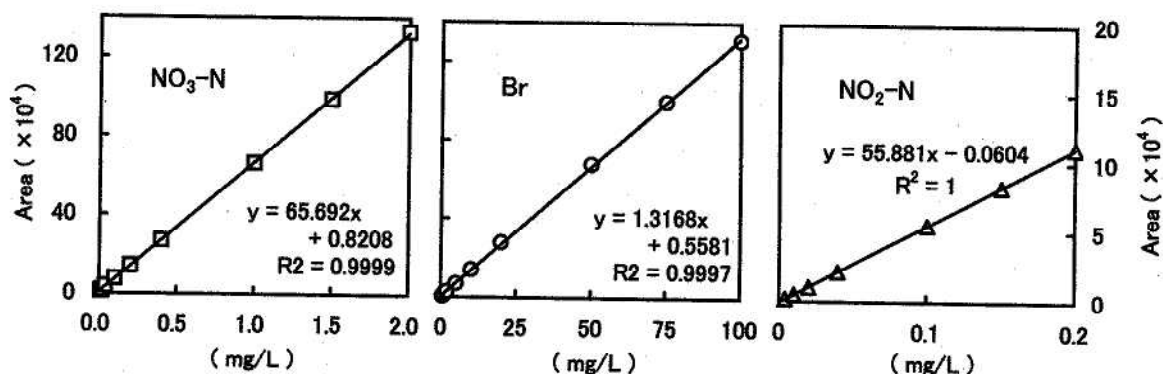


Fig 3. Calibration Curves

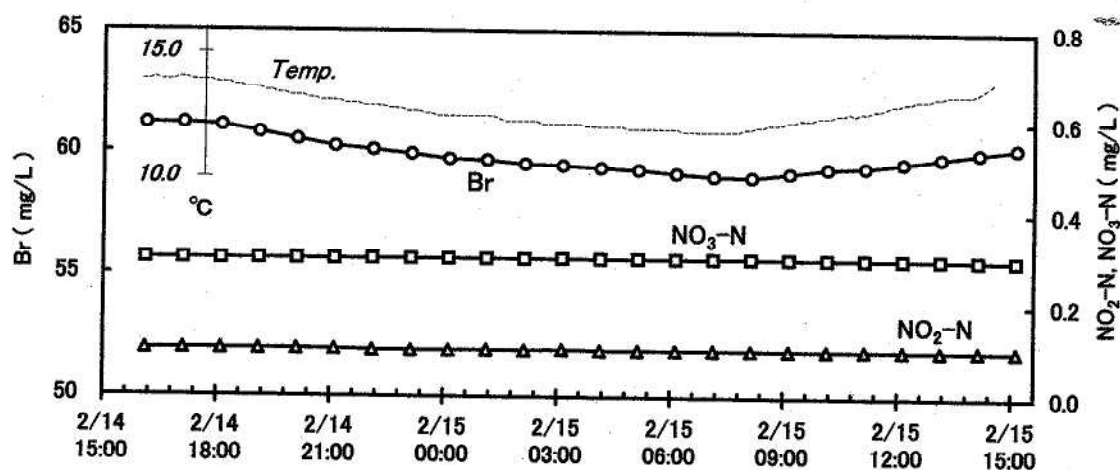


Fig 4. Reproducibilities of Measured Values of Standard Mixture

少し、日中の温度上昇につれて増加する明瞭な変化が観察された。5 $^{\circ}\text{C}$ 程度の温度変化にたいしては、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 及び $\text{NO}_3\text{-N}$ についての温度依存性はみられなかった。この原因の詳細は不明であるが、検出波長がBrの吸収スペクトルの極大波長から離れていること、移動相の流速が小さいために、検出器のセルに流入する移動相温度が室温に依存して変化すること等に起因する可能性が考えられる。

同一の深層水を連続して24回分析したところ、1昼夜の温度変化が4 $^{\circ}\text{C}$ の場合には、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 及びBrの測定値の変動係数は0.4% (平均値0.32mg/L) 及び1.2% (平均値66mg/L) であり、擬似海水と同程度であった。本試作装置は硝酸塩の連続自動分析装置として、再現性は極めて高く、信頼性の高い分析が可能と想定される。海水中のBr濃度は海域、深度が異なっても一定であり、約66mg/Lであると言われている。海水中のBrを内部標準物質

とみなして、Br測定値の変化を把握することで、本分析装置の運転状況の管理・監視に利用することができる。構成装置の性能の関係から、室温変化によって1%程度の誤差が発生するが、Br濃度の温度補正を特に行わなくても、装置の運転状況を管理する指標として実用に耐えらると思えられる。

4. 深層水中の硝酸塩濃度の推移

水産試験場に揚水されている深層水について、1時間毎の連続分析を平成13年2月中旬から開始した。膨大なデータがクロマトパック・サーバーのハードディスク上に記録・保存されている。手作業で多量の定量値等を集計することは極めて困難である。まず、1回の分析毎に発生する定量結果等を含むテキストファイルを全て別のパソコンに複写した。1回の分析で発生した情報の中から必要な情報(ファイル名、分析年月日、開始時刻、各成分の保持時間、ピーク面積、定量値等)だけを

MS Excel のシートの 1 行に抽出し、この操作を分析の回数(N)だけ繰り返して N 行から成る表に集計した後、各成分濃度の推移を作図する操作を行うマクロを作成して解析した。このように解析した深層水中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 及び Br 濃度の推移を図 5 に示した。なお、 $\text{NO}_2\text{-N}$ は全て不検出であった。前述したように Br の値は室温変化に対応して 1 日周期の変動を繰り返している。本装置は水産試験場の低温飼育棟に設置されており、土曜日は研究員の出入りがないから室温変化が小さく、Br の変動も小さいことは図 5 から明瞭である。前後の時間帯に比べて、不定期に $\text{NO}_3\text{-N}$ と Br 濃度が比例して著しく減少することが観察された。深層水の温度は室温より低いので、試料送液配管内に気泡が発生することがあり、試料ループが深層水で完全に置換されないことに起因すると推定された。このような値は棄却した。Br の値が 66mg/L 程度で変化が無い場合には、 $\text{NO}_3\text{-N}$ の値及びその変化は信頼性が高いと考えられる。 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の特異的変動が 3 月 6 日～9 日に観察された。その要因の解析については、水産試験場等と共同で引き続く予定である。なお、本研究は海洋深層水中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 等を IC 法で連続自動分析した初めての報告であると思われる。

海洋科学技術センター (JAMSTEC) と富山県との海洋深層水の共同研究の一環に、栄養塩の連続自動分析装置の開発がある。最終的には洋上に設置して、計測結果を人工衛星を経由して地上で受信することを JAMSTEC は目指しているとのこと

である。現在は、陸上設置型タイプで NTT 回線を経由して遠隔地へ送信することが目標である (平成 12～14 年度計画)。当所は水産試験場と IC 装置の構築とデータ解析を主に分担している。目標とする構成装置の性能が不十分な部分は順次改良中である。実際に深層水を連続分析して初めて判明する問題点等を把握するために、試作装置を構築して運用を開始した。今後発生する問題点の把握と対策及び装置の保守・維持管理、耐久性の確保、データ解析機能等の検討を引き続き行い、実用的な連続自動分析装置の開発を進めるとともに、深層水の栄養塩濃度の変動要因解明への一助となることを期待している。

文 献 等

1. 小善圭一 (1999). 富山水試年報 (平成 10 年度), 53-54.
2. M. Watanabe et al. (2000). J. Oceanography, 56, 553-558.
3. 内山 勇「富山湾—神秘性とロマンの宝庫—」, 藤井昭二編, pp88-91 新興出版社, (1997).
4. 内山 勇 (1998). 富山水試研究報告, 10, 1-12.
5. 高柳信孝ら (1997). 分析化学, 46, 719-723.
6. P. R. Haddad (1989). J. Chromatogr., 482, 267-278.
7. M. T. Galceran, et al. (1993). J. Chromatogr. A,

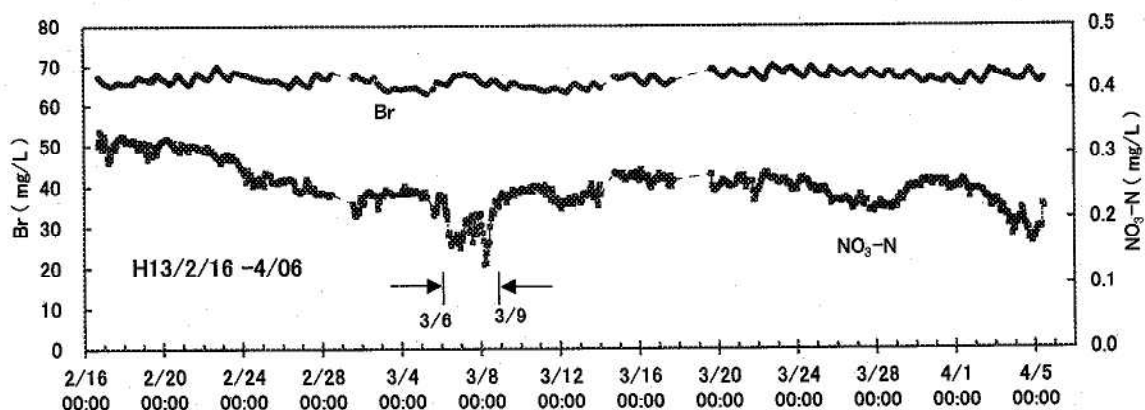


Fig 5. Changes on Standing of Nitrate and Bromide Concentration in Supplying Deep Seawater

平成13年10月1日

- 657, 77-85.
8. 伊藤久昭ら (1980). 分析化学, 29, 239-242.
9. K. Ito et al. (1991). Anal. Chem., 63, 273-276.
10. 中村栄子ら (1996). 分析化学, 45, 711-715.
11. 中村栄子ら (1999). 同上, 48, 519-522.

閉経女性を対象としたライフスタイルの変化と骨密度 および骨代謝指標との関係についての介入調査

中崎美峰子 堀井裕子 田中朋子 西野治身
稗苗智恵子¹ 南 幹雄² 上野真理子³ 横川 博³
守田万寿夫⁴ 福島啓子⁵ 木屋 昭⁵ 松倉知晴⁵

An Intervention Study on the Relationship between Stiffness of Calcaneus, Biochemical Markers of Bone Resorption and Changes of Lifestyle in Post-menopausal Women

Mineko NAKAZAKI, Yuko HORII, Tomoko TANAKA, Harumi NISHINO,
Chieko HIENAE¹, Mikio MINAMI², Mariko UENO³, Hiroshi YOKOKAWA³,
Masuo MORITA⁴, Keiko FUKUSHIMA⁵, Akira KIYA⁵ and Tomoharu MATSUKURA⁵

要 旨 平成10年度から3ヶ年の事業として、骨代謝指標を取り入れた骨粗鬆症予防検診を閉経後の女性を対象として実施した。継続して受診した60名についてライフスタイルおよびその変化と骨代謝との関連を検討し、以下の結果を得た。

1. Stiffness (踵骨骨密度) は年齢が高いほど低値を示し、1年半の追跡期間で有意な低下がみられた。年間変化率の平均値は $-4.4 \pm 5.8\%$ であった。
2. 骨吸収指標では、ハイドロキシプロリン (Hyp/Cr) に年齢との正の相関傾向がみられた。ピリジノリン (Pyr/Cr) とデオキシピリジノリン (Dpyr/Cr) は初回に比べ、1年後、1年半後に有意に上昇した。
3. 対象者の半数以上が運動習慣を有し、新たに運動習慣を持つように変容した者が8名(13%)あった。この変容群では追跡時に Hyp/Cr が低下を示し、骨吸収の抑制が示唆された。
4. 閉経後年数が10年以上の者では、Ca 摂取量が1日700mg以上の者で500mg以下の者に比べて骨吸収指標が低値を示した。600mg以上と以下では骨吸収指標に差がみられなかったことから、閉経後年数の経過とともに一層のCa摂取の指導が必要と考えられた。
5. ライフスタイルの改善について、意欲はあるものの実際に改善できたと評価した者は食習慣で59%、運動習慣で52%であったが、評価によらずCaなど栄養摂取量の増加、歩行時間の増加などがみられ、指導の効果が現れたと考えられた。
6. ライフスタイルの変化と骨吸収指標の変化に関連がみられ、指導によるライフスタイル変容の評価に骨代謝指標は有用であることが示唆された。

1 富山県立中央病院 2 新川保健所 3 砺波保健所 4 新川保健所魚津支所
5 富山県健康課

超高齢社会ともいわれる時代をひかえ、誰もが健康で長生きをしたいという願望を持っている。骨粗鬆症は、高齢者の骨折、寝たきりの背景にある疾患として、生活の質（QOL）維持の観点からその予防はますます重要となっている。近年超音波法による骨密度測定装置の普及で骨密度検診が各地で行われ、適度な運動と十分なカルシウム（Ca）摂取などが推奨されているが、どの要因がどの程度効果があるのかについては十分に明らかにされてはいない。

富山県では、平成10年度から3カ年にわたり骨密度に加えて骨代謝指標を取り入れた骨粗鬆症予防事業をモデル的に実施した。骨粗鬆症の発症リスクが増大する中高年女性を対象とした追跡調査により、ライフスタイルの変化が骨代謝に及ぼす影響について検討し、指導効果の評価につながる骨代謝指標の活用についても検討を行った。

対象および方法

富山県内の2保健所が管内で募集した骨粗鬆症予防教室に応募のあった50歳以上の閉経女性を対象とした。平成10年度に初回調査を行い、半年後、1年後、1年半後の計4回の調査を実施した。初回受診者は100名であり、半年後の調査以降受診の無い者が7名、1年半後の調査を受診しなかった者が12名あった。継続して受診した81名から骨粗鬆症、婦人科疾患、慢性関節リウマチで治療中の者13名を除き、さらに4回の調査すべてで骨代謝指標を測定できた60名を今回の解析対象者とした。この中で手術による閉経者は10名であった。

調査内容は骨密度、骨代謝指標、身体計測、歩数調査、身体状況や生活習慣・食習慣に関するアンケート調査などである。

骨密度：Lunar社製 Achilles（超音波法）で測定した右踵骨の Stiffness を指標とした。また、Stiffness の年間変化率を $\{(\text{追跡時 Stiffness} - \text{初回 Stiffness}) / \text{初回 Stiffness} / \text{観察期間 (年)}\} \times 100$ として算出した。Achilles の測定精度は、山崎ら [1] の報告によると健常者3名の10回繰り返し

測定の変動係数は0.87%であり、良好と考えられた。なお、1年後の調査では Stiffness の測定は行わなかった。

骨代謝指標：骨吸収指標として早朝尿中のピリジノリン（Pyr）、デオキシピリジノリン（DPyr）、ハイドロキシプロリン（Hyp）を測定した。Pyr、DPyr は HPLC 法で、Hyp は Ehrlich 比色法で測定し、クレアチニン（Cr, Jaffe 法）補正值とした。各指標は幾何平均、幾何標準偏差で表した。

身体計測：身長、体重、体脂肪率のほか、血圧と握力を測定した。

歩数記録：万歩計を用いて7日間の歩数を記録してもらい、その平均値を算出した。

問診：「身長低下」「腰曲がり」など最近の身体状況の変化や既往歴、閉経年齢を調査した。

生活習慣アンケート：日常の活動度や運動習慣、飲酒、喫煙などについて自記式質問票により調べた。また、健康づくりや骨粗鬆症に対する意識、食事指導と運動指導に対する理解と改善意識に関しても調査を行った。

食生活診断問診票：食品摂取頻度から栄養素摂取量を算出し、個別に算定された所要量から充足率を推定した。

結 果

1. 対象者の基本特性

対象者の基本特性を表1に示した。対象者の年齢は52歳から82歳で、60歳代(45%)、70歳代(37%)

表1. 対象者60名の基本特性

	平均	標準偏差	最小値	最大値
年齢	67.4 ± 7.3		52	82
身長 (cm)	149.1 ± 5.8		134.0	162.0
体重 (kg)	52.9 ± 7.6		35.0	71.9
BMI	23.7 ± 2.9		15.0	29.7
体脂肪率 (%)	31.2 ± 6.0		14.6	43.5
閉経後年数	19.1 ± 8.5		2.0	34.0

が多かった。身長と体重は加齢ともなって低下を示したが($r = -0.471$, $p < 0.001$, $r = -0.262$, $p < 0.05$), BMI, 体脂肪率, 閉経年齢は年齢による違いはみられなかった。身体状況の変化で「身長が低下した」と答えた者が36名(60%)あり, 「腰曲がり」と答えた者が21名(35%)あった。これらは年齢が高い者に多い傾向であった。

2. 骨密度および骨吸収指標測定値について

初回の Stiffness と骨吸収指標測定結果を年代別に表2に示した。Stiffness は高齢になるほど低値を示し, 年齢との間に負の相関が見られた($r = -0.484$, $p < 0.001$)。骨吸収指標については, いずれも年齢層による差はみられなかったが, Hyp/Cr は加齢に伴ってやや上昇する傾向にあった。

追跡による変化では(表3), Stiffness は初回に比べて半年後, 1年半後はいずれも低値を示し($p < 0.001$), 初回と1年半後の値から算出した年間変化率の平均は $-4.4 \pm 5.8\%$ であった。骨吸収指標のうち Pyr/Cr と DPyr/Cr は, 1年後, 1年半後の値が初回よりも高値を示した。一方 Hyp/Cr は半

年後に有意な低下を示し, 1年後, 1年半後は初回と差がなかった。

各調査時における Stiffness と骨吸収指標との関連をみたところ, 初回では Stiffness と DPyr/Cr に負の相関傾向がみられた($p < 0.1$)。1年半後では Stiffness と DPyr/Cr に有意な負の相関がみとめられ, Hyp/Cr と Pyr/Cr でも同様の傾向にあった(図1)。Stiffness 年間変化率との関係では, 初回, 追跡時のいずれの骨吸収指標でも有意な関連はみられず, 骨吸収指標の変動とも関連を見出すことはできなかった。

初回調査時における Stiffness, 骨吸収指標と体格との関連をみると(図表なし), Stiffness は身長, 体重, 体脂肪率との間にそれぞれ $r = 0.236$ ($p < 0.1$), $r = 0.343$ ($p < 0.01$), $r = 0.302$ ($p < 0.05$) と正の相関がみられ, 体格が大きいほど Stiffness が高いと考えられた。しかし, Stiffness 変化率と体格の関係では, 体脂肪率と負の相関傾向($r = -0.243$, $p < 0.1$)を示したのみであった。骨吸収指標はいずれも体格との関連がみられなかった。

表2. 年齢別にみた調査開始時における Stiffness および骨吸収指標測定値

年齢	n	Stiffness			Pyr/Cr(nmol/mmolCr)		DPyr/Cr(nmol/mmolCr)		Hyp/Cr(mg/gCr)	
		平均	標準偏差		平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
50-59	9	77.6	10.3	+ ***	23.2	$\times \div 1.25$	5.0	$\times \div 1.31$	38.7	$\times \div 1.59$
60-69	27	68.2	13.5		22.9	$\times \div 1.24$	4.9	$\times \div 1.30$	43.1	$\times \div 1.43$
70-79	22	58.4	9.9		23.1	$\times \div 1.28$	5.2	$\times \div 1.36$	44.8	$\times \div 1.31$
80-89	2	51.5			25.9		4.4		40.5	
計	60	65.5	13.7		23.1	$\times \div 1.25$	5.0	$\times \div 1.32$	42.9	$\times \div 1.40$

+ $p < 0.1$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$
Pyr/Cr, DPyr/Cr, Hyp/Cr は幾何平均と幾何標準偏差

表3. 調査開始時および追跡時における Stiffness と骨吸収指標

	Stiffness(N=57)			Pyr/Cr(N=60)			DPyr/Cr(N=60)			Hyp/Cr(N=60)	
	平均	標準偏差		平均	標準偏差		平均	標準偏差		平均	標準偏差
初回	65.3	± 13.94	***	23.1	$\times \div 1.25$	**	5.0	$\times \div 1.32$	***	42.9	$\times \div 1.40$
半年後	61.5	± 14.1		22.8	$\times \div 1.22$		5.2	$\times \div 1.36$		37.8	$\times \div 1.47$
1年後	-	-		25.6	$\times \div 1.25$		6.6	$\times \div 1.33$		44.5	$\times \div 1.55$
1年半後	60.8	± 13.7		24.8	$\times \div 1.26$		6.3	$\times \div 1.36$		40.1	$\times \div 1.49$

Pyr/Cr, DPyr/Cr : nmol/mmol Cr, Hyp/Cr : mg/gCr
Pyr/Cr, DPyr/Cr, Hyp/Cr は幾何平均と幾何標準偏差
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 対応のある t-検定

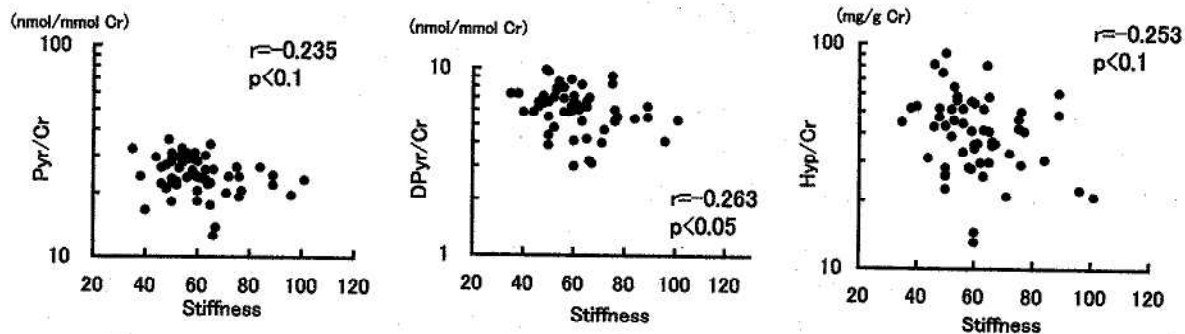


図1. 追跡時（1年半後）における Stiffness と各骨吸収指標との相関

今回の調査では閉経後年数5年以上を目安に募集したが、実際には5年未満の者が3名あり、これを含む閉経後10年未満の者（10名）では、1年半後に Stiffness は低下していなかった。また、Hyp/Cr は初回には10年以上の者より低値であったが、1年後、1年半後に上昇傾向を示し（ $p < 0.1$ ），差はみられなくなった。

3. 対象者のライフスタイルの特徴

対象者はほとんどが主婦または無職（91.6%）であり、その他は農業，事務職，労務職がそれぞれ1名，2名，1名のみであった。喫煙者はみられ

ず，飲酒については毎日飲む者は1名，たまに飲む者が9名であったが，月に数回以下と摂取頻度は低かった。

初回時に定期的な運動を行っていると感じた者は31名（51.7%）で，運動内容は体操と散歩が多かった。そのほかゲートボール，フレッシュテニス，ターゲットバードゴルフ，ペタンクなど他種目にわたっていた。学生時代に運動経験がある者は7名のみであり，中高年になって運動を始めた者が多かった。

初回の Ca 摂取量は平均 533 ± 138 mg で 260 mg

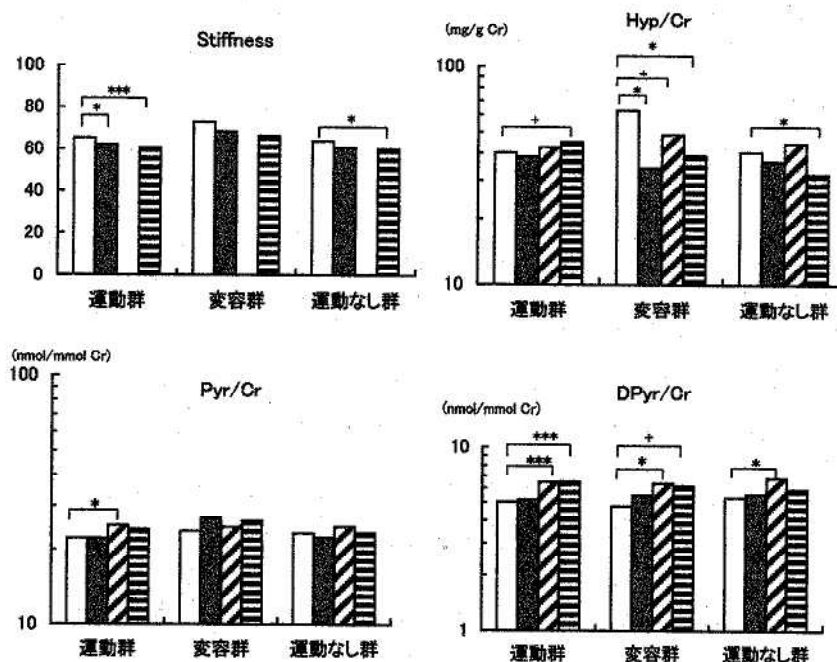


図2. 運動習慣の有無別にみた Stiffness および骨吸収指標値の変化

□ 初回 ■ 半年後 ▨ 1年後 ▩ 1年半後

運動群：初回、追跡時とも定期的な運動あり

変容群：初回時運動なく、半年後以降運動あり

運動なし群：初回、追跡時とも定期的な運動なし

対応ある検定 + $p < 0.1$, * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$

から961mgの範囲にあり、年齢が高いほど摂取量が少なかった。

健康のため気をつけていることをたずねたところ、「多様な食品をとるようにしている」(76.7%),「栄養や食事、健康についての情報を得るようにしている」(83.3%),「規則正しい生活を送るようにしている」(71.7%)といった答えが多く、「特に何もしていない」者は6.7%と少なかった。

骨粗鬆症に対するイメージでは93.3%が「骨がすかすかになりもろくなる」と答え、「生活習慣を正しくすればある程度防げる」とした者が71.7%あり、「年をとるとかかる」や「一度かかったら治らない」よりも高率であった。

4. 運動習慣との関連

初回に「運動あり」と答えた31名のうち、半年後、1年半後の追跡時にも運動習慣を有していた者は27名で、維持率は87.1%と高率であった。この27名を「運動群」、初回には運動習慣が無く半年後以降運動するように習慣が変容した者8名を「変容群」、調査期間を通して運動習慣を持たなかった者13名を「運動なし群」として、3群のStiffnessおよび骨吸収指標の変化をみた(図2)。Stiffnessの初回値は3群間に差はなく、調査開始時に運動習慣があった者のStiffnessが高いということとはなかった。Stiffnessの変化についてみると、「運動群」、「非運動群」では1年半後に有意な低下がみられたが($p < 0.001$, $p < 0.05$),「変容群」ではStiffnessの低下は有意ではなかった。

骨吸収指標の変動では、「変容群」において、DPyr/Crは表3における結果と同様に1年後に上昇がみられたものの、Pyr/Crでは上昇がみられな

かった。さらにHyp/Crは、初回に比べて半年後、1年後、1年半後のいずれでも低値を示し($p < 0.05$, $p < 0.1$, $p < 0.05$),骨吸収が抑制されたと考えられた。

5. Ca摂取量との関係

初回時のCa摂取量について、50歳以上の女性のCa所要量[2]600mgを境に2群に分け、Stiffnessや骨吸収指標の比較を行ったところ、閉経後年数が10年未満の者では、Stiffnessには差が見られなかったが、Ca摂取の多い方がPyr/Cr, DPyr/Crが低い値であった($p < 0.1$, $p < 0.01$)。一方、閉経後10年以上の者ではStiffness、骨吸収指標ともに差がみられなかった。そこで閉経後10年以上の者についてCa摂取量700mg以上と500mg以下の者とに分けたところ(表4)、Stiffnessには差がなかったがPyr/Cr, DPyr/Cr, Hyp/Crはいずれも700mg以上のほうが有意に低値を示した($p < 0.01$, $p < 0.001$, $p < 0.01$)。

1年半後のCa摂取量の平均は 617 ± 179 mgと、600mgをこえ、初回に対して有意な増加を認めた($p < 0.01$)。Ca摂取の増加量は平均84mgで、初回の摂取量が少なかった者ほど多い傾向にあった。しかしCa摂取の増減とStiffnessおよび骨吸収指標の変化との間に関連を見出すことはできなかった。

6. 教室終了後の指導効果の評価

教室終了後に食事指導、運動指導に対する理解についてたずねたところ、どちらもすべての者が「理解できた」、「ほぼ理解できた」と答えた。また、今後の改善予測では、「改善できるかわからない」と答えた者が食習慣で1名、運動習慣で2名

表4. 初回調査時のCa摂取量別にみたStiffnessおよび骨吸収指標
(閉経後年数10年以上)

	0~500mg (N=21)			700mg $\leq$ (N=3)			t-test
	平均	標準偏差		平均	標準偏差		
年齢	70.8	$\pm$ 6.1		70.0	$\pm$ 9.2		
Stiffness	62.4	$\pm$ 16.6		62.0	$\pm$ 13.1		
Pyr/Cr	24.4	$\times \div$ 1.24		16.9	$\times \div$ 1.14		**
DPyr/Cr	5.3	$\times \div$ 1.29		3.6	$\times \div$ 1.03		***
Hyp/Cr	43.5	$\times \div$ 1.29		26.9	$\times \div$ 1.19		**

Pyr/Cr, DPyr/Cr, Hyp/Crは幾何平均と幾何標準偏差

** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

あり、「改善できそうにない」とした者は運動習慣に1名あったのみで、ほとんどの者が「改善できそう」、「ほぼ改善できそう」と答えていた。しかし、実際に改善できたかという問いに対しては、「改善でき継続されている」、「ほぼ改善でき継続されている」と答えた者は、食習慣で33名(59%)、運動習慣で29名(52%)であり、意欲はあるが実践は難しいと考えているようであった。

食習慣について「改善でき継続されている」「ほぼ改善でき継続されている」と答えた者を「改善できた」群、「改善できたかわからない」「一時改善できたが元に戻った」「改善できなかった」者を「できなかった」群として、食習慣改善の評価別に栄養素摂取量の変化をみると(表5)、エネルギー、脂質、糖質、Caは、「改善できた」群も「できなかった」群も1年半後には摂取量が有意に増加しており、「できなかった」群では蛋白質の摂取量も増加していた。また、牛乳を1日1本以上飲む者、チーズやヨーグルトを週1回以上食べる者も両群とも増加傾向であり、改善の評価にかかわらず食事指導の効果が現れたものと考えられた。

運動習慣の改善について、同様に分けて比較したところ、7日間の平均歩数は、有意差はないもの

の「改善できた」群がやや多く、いずれの群も初回に比べ1年半後に増加傾向であった。歩行時間の変化では、「改善できた」群は初回 1.7 ± 0.4 時間から1年半後 2.2 ± 1.6 時間に、「できなかった」群でも 1.6 ± 1.2 時間から 2.2 ± 1.4 時間へ歩行時間が増えていた。また、図3に示したように「改善できた」群は初回時から日常の活動度が高い者、運動習慣を有する者の割合が「できなかった」群よりも高く($p < 0.05$, $p < 0.001$)、1年半後にはさらに高くなっていた。

生活習慣改善の評価にかかわらず Stiffness は追跡時に低下していた。運動習慣では習慣改善の実際と評価が一致していたが、骨吸収指標の変化をみると(表6)改善が「できなかった」群でのみ Pyr/Cr が1年後、1年半後に上昇を示した($p < 0.01$, $p < 0.05$)。また、1年後の Dpyr/Cr は「できた」群よりもやや高値であり($p < 0.1$)、「できなかった」群で骨吸収が昂進している可能性が考えられた。

表5. 食習慣改善の評価別にみた栄養素摂取量の変化

		食生活が改善でき継続していますか			
		できた(N=33)		できなかった(N=23)	
		平均	標準偏差	平均	標準偏差
エネルギー(kcal)	初回	1327	± 195	1345	± 151
	1年半後	1465	± 188]**	1490	± 147]***
蛋白質(g)	初回	56.2	± 10.6	56.7	± 8.5
	1年半後	59.2	± 14.0	60.1	± 7.9]*
脂質(g)	初回	34.2	± 10.4	33.5	± 9.3
	1年半後	41.1	± 8.6]***	42.1	± 6.4]**
炭水化物(g)	初回	179	± 27	186	± 15
	1年半後	195	± 23]*	200	± 20]*
Ca(mg)	初回	535	± 157	523	± 109
	1年半後	625	± 202]*	615	± 158]**
Fe(mg)	初回	7.6	± 1.3	7.3	± 1.1
	1年半後	7.8	± 1.9	7.7	± 1.2

できた：ほぼ改善でき継続されている、少し改善でき継続されている

できなかった：改善できたかわからない、一時改善できたが元にもどった、改善できなかった

対応ある検定 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

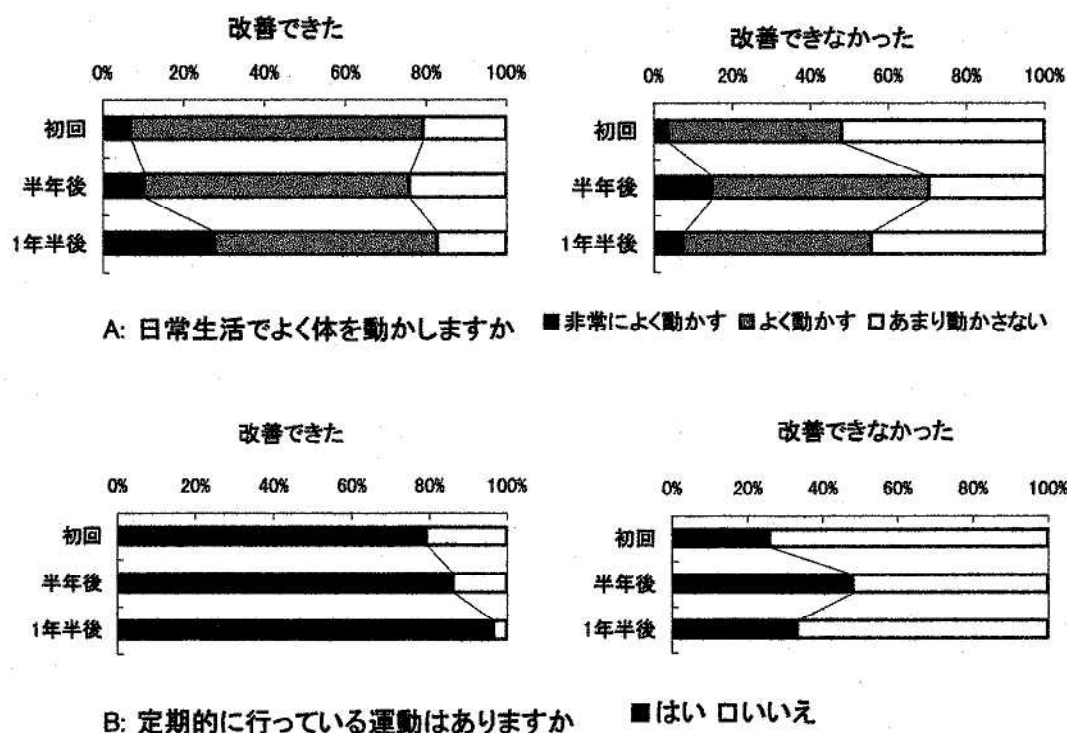


図3. 運動習慣改善の評価別にみた日常の活動度(A)および運動習慣の有無(B)の推移

表6. 運動習慣改善の評価別にみた骨吸収指標の推移

		運動習慣が改善でき継続していますか			
		できた (N=29)		できなかった (N=27)	
		平均	標準偏差	平均	標準偏差
年齢		68.0	± 7.4	66.9	± 7.2
Pyr/Cr (nmol/mmol Cr)	初回	23.0	× ÷ 1.26	23.0	× ÷ 1.26
	1年後	24.9	× ÷ 1.22	27.0	× ÷ 1.28
	1年半後	23.9	× ÷ 1.29	25.6	× ÷ 1.23
DPyr/Cr (nmol/mmol Cr)	初回	4.8	× ÷ 1.37	5.1	× ÷ 1.28
	1年後	6.3	× ÷ 1.32	7.2	× ÷ 1.34
	1年半後	6.2	× ÷ 1.39	6.5	× ÷ 1.35
Hyp/Cr (mg/gCr)	初回	44.2	× ÷ 1.41	41.9	× ÷ 1.42
	1年後	41.8	× ÷ 1.52	47.2	× ÷ 1.63
	1年半後	43.7	× ÷ 1.48	36.7	× ÷ 1.52

できた：ほぼ改善でき継続されている，少し改善でき継続されている

できなかった：改善できたかわからない，一時改善できたが元にもどった，改善できなかった

対応ある検定 * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

t-検定 + p < 0.1

考 察

今回の対象者は60代と70代が中心の中高年女性で、60%の者が身長低下を自覚しており、腰曲がりのある者もいたが、以前に行った調査〔3〕の閉経女性に比べて身長、体重、BMIに違いはなかった。定期的な運動を行っている者が半数以上あり、追跡調査終了時まで継続していた者の割合も高かったことから、年齢のわりに活動度が高い集団と考えられた。また、健康づくりに対する意識が高く、骨粗鬆症の病態についても正しく理解されているようであった。

Stiffnessは追跡時には有意な低下を示し、その年間変化率は-4.4%であったが、これは萩野ら〔4〕の報告よりも大きかった。Ikiら〔5〕は、超音波法による測定値が周囲の気温の影響を受け、低温では測定値が高くなると報告している。今回は初回調査が冬季であり、追跡時は夏季のみであったため変化率が大きくなったとも考えられた。Stiffnessは高齢者ほど低値を示し、追跡期間中に低下が認められたことから、高齢者では骨密度低下を抑えるための指導に加えて転倒防止など骨折に至らないための指導が重要と思われた。また、体格が大きいことはStiffnessを高める要因と考えられたが、Stiffness変化率と体脂肪率との負の相関傾向がみられたことから、Stiffness低下の抑制には筋肉量の維持が重要であるとも考えられる。われわれの以前の調査〔6〕では腰椎骨密度は閉経直後がもっとも低下が大きく、閉経後10年以降は緩やかな低下であった。今回の調査では閉経後10年未満ではStiffnessの低下は有意ではなかったが、測定部位や方法の違いによるのか、今後さらに例数を増やして検討したい。

骨吸収指標は、以前富山県内で行った調査の同年代女性に比べて、いずれも同レベルであった〔7, 8〕。骨吸収指標とStiffnessには負の相関がみられたものの強いものではなかった。骨吸収指標とその後のStiffnessあるいはStiffness変化率との関連について検討を行ったが、今回これらの関係を見出すことはできなかった。

新たに定期的な運動をするように習慣が変容した者ではPyr/Crの上昇抑制やHyp/Crの低下がみられ、散歩、体操など軽い運動の週1～2時間の実施を継続すれば骨吸収を抑制する効果が期待できると考えられた。但し初回時から継続して運動習慣を有する者での骨吸収の抑制は明らかではなく、運動の内容や頻度、継続期間などについてはさらに検討が必要と思われた。Ca摂取について、閉経後10年未満では600mg以上摂取する者で骨吸収指標が低値傾向であったが、閉経後10年以上では700mg以上の摂取で骨吸収指標が低値を示した。したがって、閉経後年数の経過とともに高齢者ではより一層のCa摂取を指導する必要があると考えられた。

今回の調査では、運動習慣が変容した群は初回のHyp/Crが他に比べて高値であり、初回のCa摂取量が少ない者ほど追跡時に摂取が増加していたことから、初回調査の結果がその後の運動や食習慣改善の動機になった可能性も考えられた。

追跡終了時のライフスタイル改善に対する評価では、「改善できた」とした者は全体の約半数であった。しかし実際には評価の如何によらず習慣の改善傾向がうかがえ、骨粗鬆症予防教室を継続して受講した者では指導の効果が現れたと考えられた。

ライフスタイルの改善と骨代謝の関連について、運動習慣や食習慣の改善がStiffness低下の抑制に効果があるとの結果は得られなかった。一方、骨吸収指標では関連がみられ、Ca摂取が多い者、運動習慣を持つようになった者、運動習慣が改善できたと評価した者では骨吸収指標が低値を示すなど、骨吸収の抑制につながることを示唆され、骨代謝指標は、ライフスタイル改善の評価に有用であると考えられた。今後、Ca摂取量や運動量と骨代謝への影響の程度などについてさらに検討を行い、骨代謝指標の有効な活用に役立てたい。

文 献

1. 山崎薫, 串田一博, 大村亮宏, 佐野倫生, 佐

- 藤義弘, 井上哲郎 (1992). *Therapeutic Research*, 13 (8), 585-593.
2. 健康・栄養情報研究会編 (1999). 第六次改訂「日本人の栄養所要量」130-134, 第一出版株式会社.
3. 西野治身, 田中朋子, 堀井裕子, 熊西忠郎, 伊木雅之, 梶田悦子, 土肥祥子, 日下幸則, 鏡森定信 (1996). 富山衛研年報, 19, 138-147.
4. 萩野浩 (2000). (財)骨粗鬆症財団 平成11年度老人保健健康増進事業骨粗鬆症対策のための縦断的方法によるライフスタイルおよび骨量と骨折発生の関係に関する調査研究報告書, 27-32.
5. M. Iki, E. Kajita, S. Mitamura, H. Nishino, T. Yamagami and N. Nagahama (1999). *Osteoporos. Int.*, 10, 462-467.
6. 西野治身, 田中朋子, 堀井裕子, 伊木雅之, 日下幸則, 梶田悦子, 鏡森定信 (1994). 富山衛研年報, 17, 155-160.
7. 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.
8. 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 西野治身, 尾崎一郎, 中村志富, 加藤一之, 桑守豊美 (1999). 富山衛研年報, 22, 223-225.

骨粗鬆症予防教室参加若年女子の骨代謝と 生活習慣の関連についての追跡調査

堀井 裕子 中崎美峰子 田中 朋子 西野 治身
萩原千佳子¹ 飯田 恭子¹ 高井なおみ² 加藤 一之²
守田万寿夫³ 福島 啓子⁴ 木屋 昭⁴ 松倉知晴⁴

A Follow-up Study on Relationship between Biochemical Markers of Bone Metabolism and Lifestyle Factors on the Young Women Participants in a Program for Prevention of Osteoporosis

Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Harumi NISHINO, Tikako HAGIWARA¹,
Kyoko HANDA¹, Naomi TAKAI², Kazuyuki KATO², Masuo MORITA³, Keiko FUKUSHIMA⁴,
Akira KIYA⁴ and Tomoharu MATSUKURA⁴

要 旨 若年者の骨量および骨量増加に影響する要因を明らかにするために、骨粗鬆症予防教室に参加した専門学校・健康体力科学科1年生および短期大学・食物栄養学科1年生について踵骨骨密度 (Stiffness)、骨代謝指標を1年間追跡調査し、生活習慣要因との関連を検討した。さらに、予防教室での栄養・運動指導が骨代謝に与える効果についても生化学指標を用いて解析した。それらの結果は、以下のとおりである。

1. Stiffness と骨代謝指標との関連を検討したところ、初回調査時では Stiffness は骨吸収指標のデオキシピリジノリン (DPyr) と有意な負の相関を示し、ハイドロキシプロリン (Hyp)、ピリジノリン (Pyr) とともに負の傾向がみられ、若年者の Stiffness は骨吸収指標が低いもので高い傾向が示された。

2. 体格との関連では、Stiffness は体重、BMI、体脂肪率との間に正の相関がみられた。骨代謝指標は全ての指標が身長と正の相関を示し、また Hyp, Pyr, DPyr は身長の伸びとも正の相関傾向がみられた。初潮年齢との関連では、Stiffness と負の相関があり、骨代謝指標では骨型アルカリフォスファターゼ (B-ALP)、Pyr/Cr, DPyr/Cr と正の相関を示した。従って、初潮年齢が高いほど Stiffness は低く、骨代謝は高回転型の傾向を示した。

3. 専門学校生と短大生の生活習慣については、専門学校生は短大生に比べて、現在の定期的な運動習慣を持つものの割合および1日歩数が多かった。短大生は、専門学校生よりカルシウム摂取量が多かったが、その摂取量は376mg (充足率61%) で所要量の600mg には達していなかった。

4. 専門学校生と短大生で初回調査時の Stiffness および骨代謝指標を比較すると、Stiffness は専門学校生が高く、骨代謝指標では Hyp, DPyr が専門学校生で低値を示した。1年間の変化をみると、専門学校生、短大生ともに Stiffness は1年後に増加傾向があったが有意な変化

ではなかった。骨代謝指標は Hyp を除いて低下傾向にあった。

5. 生活習慣と骨代謝との関連では、「中学・高校運動習慣あり」は専門学校生、短大生ともに初回時の Stiffness が高値を示した。さらに短大生では1年間の Stiffness 増加率も高く、1年後の Pyr, DPyr は低値であった。「中学・高校運動あり」は現在の歩行時間が「運動なし」より長い傾向にあった。食習慣では、短大生の「間食しない」ものの Stiffness 増加率が高く、初回時の Pyr が低値であった。

6. 予防教室の栄養・運動指導についての理解度と Stiffness, 骨代謝指標との関連を検討したところ、「理解できた」と答えたものは専門学校生、短大生ともに Stiffness が増加する傾向を示し、指導の理解が生活習慣改善への行動変容につながり、骨量増加に有効であることが示唆された。

骨粗鬆症は高齢者の生活の質を損ない、ねたきりの原因疾患として重要視されており、その1次予防には若年期の骨量獲得時期にできるだけ高い骨量を得ることが重要であるといわれている。踵骨などの海綿骨は10代後半に最大骨密度に達すると報告されているが[1]、現在、若年者についてはやせ志向によるダイエットの実行や、食生活が不規則である等の問題があるといわれ、このような問題のある生活習慣が、高い骨密度を得ることに對して負の要因になることが危惧される。

富山県では、平成10、11年度に、骨量形成に重要な10代後半の若年者を対象に、骨粗鬆症予防のための望ましい生活習慣確立を目的として、骨粗鬆症予防教室を開催した。その対象者について骨代謝および生活習慣の実態等を把握し、骨代謝に影響する要因について追跡調査を行った。同時に、骨代謝指標を活用した予防検診および保健指導の評価について検討した。

対象および方法

対象者は富山県内の専門学校・健康体力学科1年生(18~21歳、平均年齢18.8歳)31人および短期大学・食物栄養学科1年生(18~28歳、平均年齢18.9歳)96人のいずれも女子学生である。調査は1年生時の10~12月に初回時の調査を実施し、その1年後に追跡を行った。調査内容は踵骨骨密度、骨代謝指標の測定、身体計測、身体状況・生

活習慣・食生活等のアンケート、歩数測定である。骨代謝指標の測定結果については対象者の充分な理解が得られるように予防教室の場で説明会を行った。

踵骨骨密度は超音波装置 Achilles (Lunar 社製、米国)により右踵骨を測定し、Stiffness 値を骨密度の指標とした。また、1年間の Stiffness の変化を Stiffness 変化率 $\{(1 \text{ 年後値} - \text{初回時値}) / \text{初回時値} \times 100\}$ で表した。

骨代謝指標は骨形成指標として血清中の骨型アルカリフォスファターゼ (B-ALP)、骨吸収指標として早朝尿中のハイドロキシプロリン (Hyp)、ピリジノリン (Pyr)、デオキシピリジノリン (DPyr) を測定した。尿中成分は濃度補正のため対クレアチニン比 (/Cr) として表した。それぞれの測定方法はすでに報告したとおりである[2]。解析にあたっては尿中の骨代謝指標は対数正規分布を示したので対数変換した値を用いた。

生活習慣に関しては自記式の調査票でダイエットの実施状況、初潮年齢および生理の状況、日常の活動度、歩行時間、喫煙・飲酒・コーヒー摂取習慣、中学・高校時代および現在の定期的な運動の実施状況、牛乳等の食品の摂取量を調査した。また、食習慣として朝食、間食、夜食の摂取状況、食事時間の規則性など10項目について調査した。さらに運動の指標として3日間の歩数測定を行った。1年後には予防教室での栄養および運動指導の理解度、今後の改善予測に関するアンケートを実施した。

解析に際しては初回時、1年後の2回の Stiffness, 骨代謝指標測定値, アンケート調査結果が得られたものを対象とした。さらに, 短大生については年齢が26歳以上で骨代謝指標が有意に低値を示した3人と Stiffness が初回時から1年後にかけて2倍になったもの1名を除き, 解析対象者は専門学校生(18~21歳, 平均年齢18.8歳)26人, 短大生(18~19歳, 平均年齢18.6歳)53人であった。

統計処理は, 2群間の平均値の比較にt検定または対応のあるt検定を行い, 比率の差の検定には χ^2 検定を行った。各変数の相関の検討には Pearson の相関係数を用いた。有意水準は5%未満とした。

結 果

初回時の Stiffness と骨代謝指標との関連を専門学校生と短大生の合計79人で検討した(図1)。Stiffness は骨形成指標の B-ALP との間に関連は認められなかったが, 骨吸収指標の DPyr/Cr とは負の有意な相関を示した。また, Hyp/Cr, Pyr/Cr との間には有意ではないものの負の関係がみられ, 骨吸収指標は Stiffness が高いもので低値を示した。Stiffness の1年間の変化率と初回時の骨代謝指標との間に関連はみられなかった。

次に, Stiffness および骨代謝指標と体格との関連を検討した。Stiffness は体重, BMI, 体脂肪率と正の相関があり($r=0.246, r=0.239, r=0.245$ 全て $p<0.05$), 体格が大きいものほど高い値を示

した。骨代謝指標では, 身長と Hyp/Cr ($r=0.232$ $p<0.05$), Pyr/Cr ($r=0.343$ $p<0.01$), DPyr/Cr ($r=0.237$ $p<0.05$) は有意な正の相関を示し, B-ALP も正の傾向($r=0.221$ $p<0.1$)があった。また, 1年間の身長伸びと Hyp/Cr ($r=0.235$ $p<0.05$) の間には有意な正の相関が, Pyr/Cr, DPyr/Cr ($r=0.207, r=0.190$ ともに $p<0.1$) とは正の傾向が認められ, 骨代謝指標は身長が大きいものや身長の伸びが大きいもので高い傾向であった。

初潮年齢との関連では, Stiffness は負の有意な相関を示し($r=-0.263$ $p<0.05$), 初潮が遅いもので低かった。一方骨代謝指標では, B-ALP ($r=0.387$ $p<0.001$), Pyr/Cr ($r=0.294$ $p<0.01$), DPyr/Cr ($r=0.262$ $p<0.05$) は有意な正の相関を示し, 初潮が遅いものでは骨代謝指標が高かった。

専門学校生と短大生の生活習慣について検討した(図2)。居住形態は専門学校生では一人暮らしや下宿が多く, 一方, 短大生は家族と同居が多かった。食事量を3分の2以下にするようなダイエットについては過去および現在ともに対象者間で実行しているものの割合に違いはなかった。さらに運動量の指標として, 日常の活動度, 中学・高校時代(中学・高校)の運動および現在の定期的な運動の有無, 1日歩数について調べたところ, 活動度では体を「非常によく動かす」または「よく動かす」と答えたものは専門学校生で77%であったが短大生は19%と少なかった。「中学・高校運動あり」は両対象者に差はなかったが, 「現在運動あり」は専門学校生では77%, 短大生は11%で短

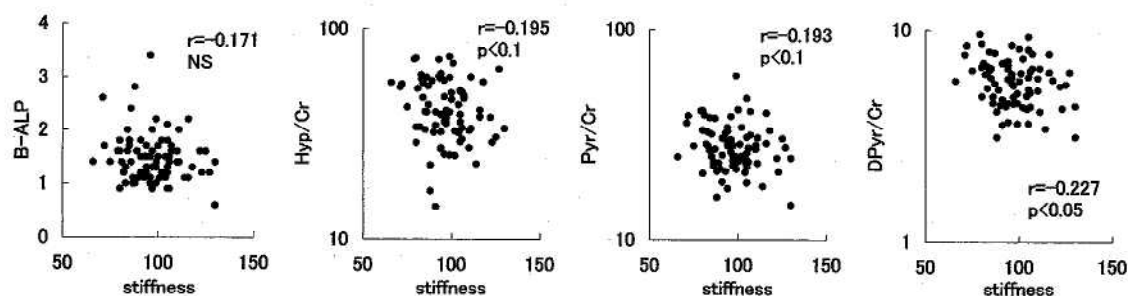


図1. 初回時 Stiffness と骨代謝指標との関連

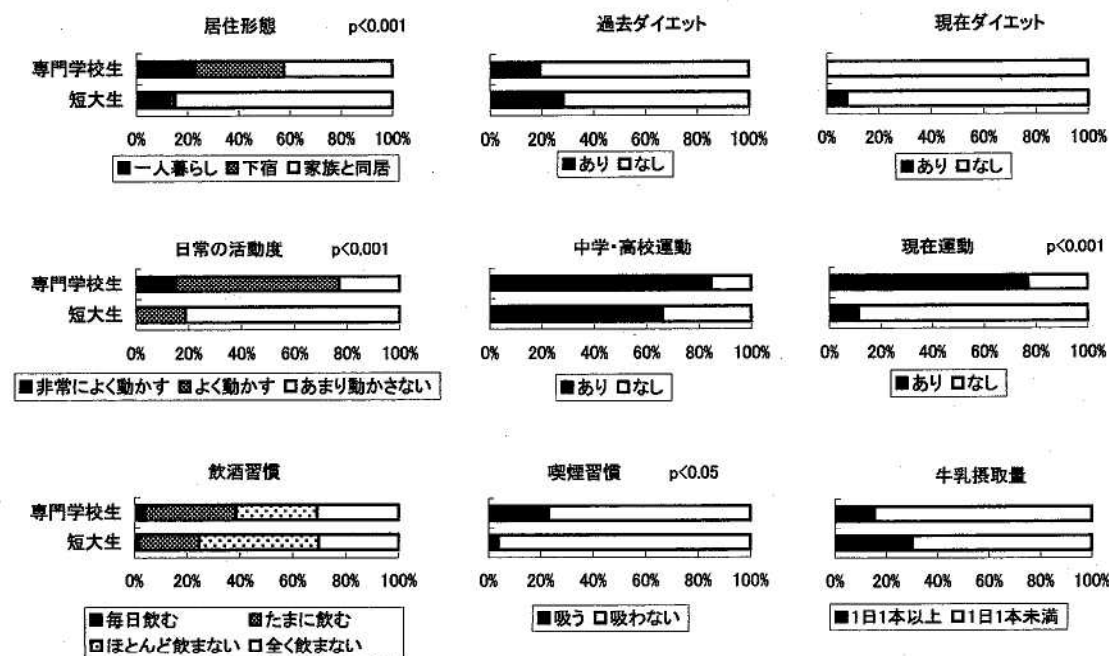


図2. 初回調査時の生活習慣

有意確率は専門学校生と短大生における各カテゴリー出現頻度の比較 (χ^2 検定)

大生では有意に少なかった。歩数計による1日平均歩数は専門学校生9208歩、短大生6246歩で、専門学校生が有意に多く ($p < 0.05$)、運動量は専門学校生が短大生より多かった。飲酒習慣は両群に差はなかったが、喫煙習慣では「喫煙あり」が専門学校生で多かった。牛乳摂取量では専門学校生と短大生で差はなかった。食品摂取頻度調査から求めたカルシウム摂取量の平均は専門学校生303mg/日、短大生376mg/日で有意に短大生が多かった ($p < 0.05$)ものの、所要量の600mg/日よりはるかに少なかった。食習慣では、「朝食欠食あり」が専門学校生では65%みられ、短大生の28%に比べて多かった (図なし)。

以上の結果から、専門学校生と短大生には生活習慣に大きな違いがあったので、同一集団とみな

すことは難しく、以下の検討は専門学校生、短大生に分けて検討した。

専門学校生と短大生の初回時の基本特性を表1に示した。年齢、体格、初潮年齢に差はみられなかった。生理の状況では生理不順と答えたものは専門学校生8人 (32%)、短大生11人 (21%) で、差はなかった。

Stiffness および骨代謝指標の初回時、1年後の値を専門学校生と短大生で比較すると (表2)、前者は後者より Stiffness は初回時、1年後ともに高い値を示した (初回時 $p < 0.05$, 1年後 $p < 0.1$)。骨代謝指標では骨形成を表す B-ALP に差はなかった。骨吸収指標は初回時の Hyp/Cr, DPyr/Cr が専門学校生で短大生より有意に低く ($p < 0.05$)、1年後の DPyr/Cr も低い傾向を示した ($p < 0.1$)。

表1. 初回調査時の基本特性

	専門学校生(N=26)		短大生(N=53)	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
年齢	18.8	± 0.8	18.6	± 0.5
身長 (cm)	158.0	± 5.9	158.2	± 4.3
体重 (Kg)	53.3	± 5.8	53.1	± 6.8
BMI (Kg/m ²)	21.4	± 2.0	21.2	± 2.6
体脂肪率 (%)	28.5	± 3.9	27.7	± 6.3
初潮年齢	12.5	± 1.3	12.3	± 1.2

初回時からの1年間の Stiffness, 骨代謝指標の変化をみると, Stiffness は専門学校生, 短大生ともに初回に比べ1年後が高い値を示したが, 有意な差はなかった. 骨代謝指標では専門学校生の Hyp/Cr を除き全て1年後に低下傾向を示した.

次に, 専門学校生, 短大生それぞれについて初回時の生活習慣別に初回時の Stiffness および Stiffness 変化率を比較した. 居住形態, 過去および現在のダイエット有無, 生理の状況, 喫煙, 飲酒習慣別では専門学校生, 短大生ともに Stiffness および変化率には差がみられなかった (表なし). しかし運動習慣では (表3) 活動度や現在の運動有無別に違いがみられなかったが, 「中学・高校運動あり」は, 初回時の Stiffness が専門学校生では高い傾向を示し, 短大生では有意に高かった ($p < 0.05$). また短大生では Stiffness 変化率が大きく, 1年後の Stiffness は増加していた.

食習慣では, カルシウム摂取量について600mg以上と未満に分け Stiffness および Stiffness 変化率を比較した. 600mg 以上摂取していたものは専門学校生で2人, 短大生では3人と少なかったものの, 短大生では Stiffness の増加が大きい傾向を示した. 牛乳摂取量別では1日1本以上と1本未満に差は認められなかった. また, 専門学校生では「食品組み合わせを考えて食べるか」という問に「はい」と答えたものは「いいえ」に比べ初回時

Stiffness が高かった ($p < 0.05$). 「朝食欠食あり」と答えたものも高い傾向を示したが有意ではなかった. 短大生では初回時 Stiffness に差はみられなかったものの, Stiffness 変化率では「間食をしない」, 「腹いっぱい食べない」と答えたもので Stiffness の増加が大きかった (各 $p < 0.05$).

そこで, 次に1年後の Stiffness 変化率に差がみられた中学・高校の運動, 食習慣 (間食をしない, 腹いっぱい食べない) の項目について骨代謝指標を比較した. 中学・高校の運動有無別では (図3), 専門学校生, 短大生ともに初回時の指標は差がなかったが, 1年後では専門学校生の「運動あり」は B-ALP が低い傾向を示し, 短大生では Pyr/Cr, DPyr/Cr が有意に低値を示していた. 食習慣「間食をするか」では (図表なし) 短大生の「間食をしない」で初回時の Pyr/Cr が低値であった. 食習慣「腹いっぱい食べるか」では指標に差はなかった.

次に, 予防教室での栄養および運動指導の効果について検討した. 指導の理解度に関しては, とてもよく理解できた, ほとんど理解できたと答えたものを「理解できた」, 難しく理解できないところがあった, ほとんどわからなかったを「理解できない」の2群に分け, 改善予測では, ほぼ改善できそうである, 少し改善できそうであるを「改善できそう」, 改善できるかどうか分からない, 改

表2. 対象者の Stiffness と骨代謝指標測定値

		専門学校生(N=26)			短大生(N=53)			t-検定
		平均値	標準偏差		平均値	標準偏差		
Stiffess	初回	102.1	±	13.0	95.2	±	13.6	※
	1年後	103.5	±	16.0	96.9	±	16.9	◇
	変化率(%)	1.5	±	9.4	1.6	±	8.6	
B-ALP (BLU)	初回	1.6	±	0.6	1.4	±	0.3	***
	1年後	1.4	±	0.4	1.3	±	0.3	
Hyp/C [#] (mg/ gCr)	初回	35.2	× ÷	1.41	43.4	× ÷	1.38	※
	1年後	39.2	× ÷	1.29	41.9	× ÷	1.32	
Pyr/Cr [#] (nmol/mmolCr)	初回	25.5	× ÷	1.36	28.4	× ÷	1.24	*]
	1年後	24.2	× ÷	1.28	26.4	× ÷	1.18	
DPyr/Cr [#] (nmol/mmolCr)	初回	5.2	× ÷	1.39	6.0	× ÷	1.28	※
	1年後	4.6	× ÷	1.38	5.2	× ÷	1.26	*** ◇

: 幾何平均と幾何標準偏差

*, **, *** : $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$

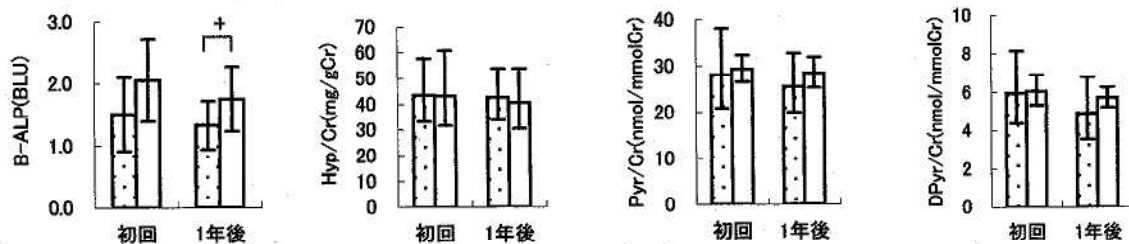
◇, ※ 専門学校生と短大生の比較 $p < 0.1$, $p < 0.05$

表3. 初回調査時の生活習慣別にみた Stiffness および Stiffness 変化率

項目		専門学校生				短大生			
		Stiffness		Stiffness変化率(%)		Stiffness		Stiffness変化率(%)	
		N	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	N	平均値	標準偏差
〔運動習慣〕									
活動度	非常によく動かす	4	94.5 ± 14.5		4.4 ± 4.2		0		
	よく動かす	16	103.3 ± 13.2		2.8 ± 10.8		10	97.3 ± 14.0	1.3 ± 8.4
	あまり動かさない	6	104.0 ± 12.0		-4.1 ± 5.4		43	94.7 ± 13.6	1.7 ± 8.7
現在運動	あり	20	101.7 ± 13.3		1.7 ± 10.5		6	96.2 ± 12.6	1.4 ± 3.8
	なし	6	103.7 ± 13.0		0.6 ± 5.0		47	95.1 ± 13.9	1.6 ± 9.0
中学・高校の運動	あり	22	103.7 ± 12.9		1.8 ± 10.0		35	97.9 ± 11.4	3.3 ± 9.0
	なし	4	93.3 ± 11.2		-0.2 ± 5.3		18	89.9 ± 16.2	-1.6 ± 6.7
〔食習慣〕									
牛乳摂取量	1日1本以上	4	99.8 ± 10.2		-3.1 ± 6.2		16	93.5 ± 12.7	0.7 ± 7.0
	1日1本未満	22	102.5 ± 13.6		2.3 ± 9.7		37	95.9 ± 14.1	2.0 ± 9.2
カルシウム摂取量	600mg/日以上	2	94.5		-7.2		3	102.0 ± 22.1	10.3 ± 8.2
	600mg/日未満	24	102.8 ± 13.3		2.2 ± 9.3		50	94.8 ± 13.2	1.1 ± 8.4
食品組み合わせを考えて食べるか	はい	12	108.3 ± 14.2		3.4 ± 12.4		17	95.1 ± 11.5	0.9 ± 5.6
	いいえ	14	96.9 ± 9.4		-0.2 ± 5.8		36	95.3 ± 14.6	1.9 ± 9.7
朝食欠食することがあるか	はい	17	105.4 ± 13.5		2.7 ± 10.6		15	95.7 ± 10.8	0.3 ± 7.2
	いいえ	9	95.9 ± 9.8		-0.8 ± 6.5		38	95.0 ± 14.7	2.1 ± 9.1
間食1/日以上するか	はい	12	98.6 ± 11.8		1.6 ± 5.6		28	96.3 ± 13.7	-0.6 ± 7.6
	いいえ	14	105.1 ± 13.7		1.3 ± 12.0		25	94.0 ± 13.7	4.1 ± 9.0
腹いっぱい食べるか	はい	20	102.3 ± 11.3		1.3 ± 10.2		32	93.5 ± 12.8	-0.7 ± 6.9
	いいえ	6	101.7 ± 19.0		2.0 ± 7.0		21	97.8 ± 14.7	5.1 ± 9.7
食べるのが早い	はい	12	105.9 ± 14.0		-0.4 ± 7.3		32	93.8 ± 12.7	1.7 ± 9.6
	いいえ	14	98.9 ± 11.6		3.0 ± 10.9		21	97.2 ± 15.0	1.4 ± 7.0
外食3/週以上するか	はい	7	96.4 ± 16.8		4.9 ± 15.6		8	97.0 ± 13.8	1.1 ± 4.9
	いいえ	19	104.2 ± 11.1		0.2 ± 6.0		45	94.9 ± 13.7	1.7 ± 9.1
食物の好き嫌いあるか	はい	11	99.1 ± 11.2		-0.3 ± 5.9		29	94.4 ± 14.6	0.4 ± 7.2
	いいえ	15	104.3 ± 14.2		2.7 ± 11.4		24	96.2 ± 12.5	3.1 ± 10.0
食事時間は決まっているか	はい	16	102.1 ± 14.3		0.2 ± 5.5		41	95.1 ± 12.9	2.2 ± 8.1
	いいえ	10	102.2 ± 11.4		3.5 ± 13.7		12	95.3 ± 16.5	-0.5 ± 10.1
野菜・レトルト3/週以上食べるか	はい	13	100.0 ± 13.3		3.0 ± 12.6		23	95.7 ± 12.1	1.9 ± 6.5
	いいえ	13	104.2 ± 12.9		-0.1 ± 4.5		30	94.8 ± 14.9	1.4 ± 10.0
夜食後1時間以内に寝るか	はい	2	87.5		2.8		3	100.7 ± 9.1	3.5 ± 10.1
	いいえ	24	103.3 ± 12.8		1.3 ± 9.8		50	94.9 ± 13.8	1.5 ± 8.6

+, *: $p < 0.1$, $p < 0.05$

専門学校生



短大生

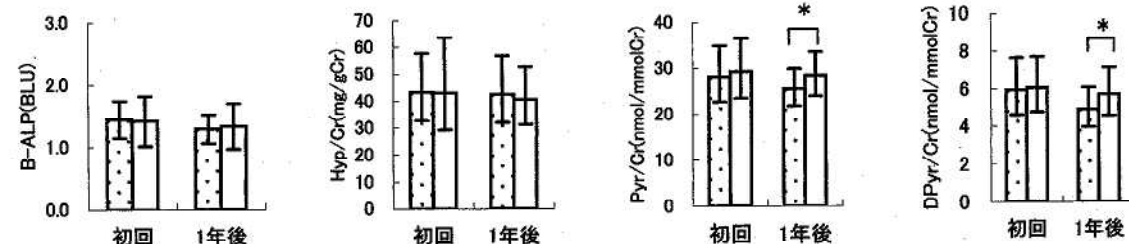


図3. 中学・高校の運動習慣と骨代謝指標測定値

中学・高校の運動 あり なし
 +, * $p < 0.1$, $p < 0.05$

善できそうにないを「改善できない」とした。栄養および運動指導の理解度については、「理解できた」が専門学校生では栄養指導で74%，運動指導で75%であり，短大生ではそれぞれ94%，96%で，短大生の方が理解度が高かった。また，両対象者ともに栄養指導を「理解できた」と答えたもののほとんどが運動指導を「理解できた」と答え，栄養と運動に対する「理解できた」割合はほぼ一致していた。改善予測については「改善できそう」の率は両対象者ともに「理解できた」に比べて低下し，栄養について「改善できそう」は専門学校生12人（50%），短大生39人（78%）で，運動について「改善できそう」は専門学校生17人（68%），短大生31人（62%）であった。改善予測については，専門学校生は運動について，短大生は栄養について「改善できそう」が多く，個人の関心事に関する改善意識が高いと考えられた。

指導の理解度別に初回時と1年後の生活習慣を比較し行動変容を調べた。栄養についてはカルシウム摂取量やカルシウムを多く含む食品（牛乳，ヨーグルト，チーズ，小魚）の摂取頻度の変化を検討したところ，短大生の「理解できた」は1年後のヨーグルトの摂取頻度（週4回以上）が6人（13%）から13人（28%）に増えていた（ $p < 0.05$ ）。運動については歩数，歩行時間，現在の運動有無，日常の活動度を比較したが，両対象者ともに生活習慣の明らかな変化はみられなかった。

指導の理解度別に Stiffness および1年後の骨代謝指標を比較した。栄養指導の理解度別で Stiffness 変化率は（表4），専門学校生，短大生ともに「理解できた」もので Stiffness が増加する方向に変化し，短大生の「理解できた」では Stiffness が初回に比べ1年後に高くなる傾向を示した（ $p < 0.1$ ）。運動指導でも「理解できた」の Stiffness は1年間で増加する方向に変化したものの，有意差はみられなかった（表なし）。しかし，専門学校生について運動指導が「理解できた」と「理解できない」を比較すると，初回時の Stiffness に差はなかったが，1年後の Stiffness（「理解できた」 106.6 ± 17.0 ，「理解できない」 93.2 ± 10.3 ）は「理解できた」が高い傾向を示した（ $p < 0.1$ ）。骨代謝指標については，専門学校生の栄養指導および運動指導の「理解できない」で Pyr/Cr が低い傾向（各 $p < 0.1$ ）を示したが，他の指標に違いはみられなかった。短大生では理解度別で指標に差は認められなかった。次に改善予測について「改善できそう」と「改善できない」を比較すると，専門学校生は栄養および運動指導ともに「改善できそう」は Stiffness 変化率が増加し，「改善できない」は変化率が減少する方向に変化していたものの，差はみられなかった。短大生では改善予測の違いで Stiffness 変化率に差は認められなかった。また，骨代謝指標には両対象者ともに差はみられなかった（表なし）。

表4. 栄養指導の理解度別にみた Stiffness と骨代謝指標測定値

		専門学校生				短大生			
		理解できた(N=17)		理解できない(N=6)		理解できた(N=47)		理解できない(N=3)	
		平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
Stiffness	初回	102.5	± 13.6	95.0	± 8.7	95.5	± 13.9	87.7	± 7.6
	1年後	106.0	± 17.4	93.2	± 10.3	97.7	± 17.1	84.7	± 9.1
	変化率	3.5	± 10.7	-1.9	± 5.2	2.2	± 8.8	-3.5	± 5.1
B-ALP (BLU)	1年後	1.4	± 0.5	1.2	± 0.2	1.3	± 0.3	1.3	± 0.3
Hyp/C [#] (mg/gCr)	1年後	39.4	× ÷ 1.27	37.1	× ÷ 1.42	42.3	× ÷ 1.30	35.6	× ÷ 1.77
Pyr/Cr [#] (nmol/mmolCr)	1年後	25.5	× ÷ 1.25	20.8	× ÷ 1.31 ◇	26.3	× ÷ 1.18	27.7	× ÷ 1.14
DPyr/Cr [#] (nmol/mmolCr)	1年後	4.7	× ÷ 1.30	3.8	× ÷ 1.42	5.1	× ÷ 1.26	5.4	× ÷ 1.11

#：幾何平均と幾何標準偏差

+ $p < 0.1$

◇「理解できた」と「理解できない」の比較 $p < 0.1$

考 察

本調査において Stiffness は骨吸収指標が低いもので高値を示しており、若年者では骨吸収が抑制されることで相対的に骨形成が活性化し、高い骨量が得られる可能性が示唆された。

Stiffness および骨代謝指標と体格との関連では、これまでの報告 [3, 4] と同様に Stiffness は体重や BMI が大きいものほど高く、骨代謝指標は身長伸びと正相関を示し、骨格の成長との関係がみられた。骨代謝と二次性徴との関連では、初潮が遅いものほど Stiffness は低かったが、骨代謝指標は骨形成、骨吸収とも高値を示し、高回転型の骨代謝を示した。このことは、初潮が遅いものでは、今後まだ Stiffness が増加する可能性があると考えられた。

Stiffness、骨代謝指標の1年間の変化では、両対象者ともに Stiffness はやや増加傾向を示し、骨代謝指標はほとんどの指標が低下していた。1年後の値を以前に調査した30歳代の有経女性（以下、成人女性）（ $n = 8$ Stiffness 100.1, B-ALP 0.9BLU, Hyp/Cr 25.6mg/gCr, Pyr/Cr 23.7nmol/mmolCr, DPyr/Cr 4.2nmol/mmolCr）と比較すると、短大生の Stiffness は成人女性よりやや低いものの、専門学校生は成人女性の値に達していた。骨代謝指標は両対象者とも全ての指標が成人女性より高かった。志賀らによると、女子では思春期から青年期前半が急激な骨成長を示す時期にあたり、Stiffness のピークは10歳代後半（18～19歳）にあると報告されている [1]。今回の対象者では年齢的に Stiffness がピークを迎える時期にあたるが、骨代謝指標は成人女性に比べまだ高値であり、骨密度がさらに増加する可能性がある。そのため、この年代について骨量を増加させるような生活指導を行うことは最大骨量を高めるのに有効に働くと思われる。

今回対象とした専門学校生と短大生について生活習慣を比較したところ、専門学校生は短大生に比べ現在の運動量が有意に多かった。また、カルシウム摂取量についても対象者間で差があり、短

大生（376mg 充足率61%）が専門学校生（303mg 充足率47%）より摂取が多かったが、その摂取量はどちらも所要量にははるかに達しておらず、若年者のカルシウム摂取不足が大きな問題である。特に専門学校生において摂取が少なかった原因としては、一人暮らしや下宿生活が関係すると思われる。伊海らは女子大生についての調査で一人暮らしの学生は台所設備・道具の不揃、調理技術の未熟、生活時間の乱れ等から栄養素摂取量不足に陥りやすいと指摘している [6]。専門学校生の一人暮らしや下宿生活者ではその80%に朝食欠食がみられ、栄養素が十分に摂取されていないと考えられた。

専門学校生と短大生で Stiffness、骨代謝指標を比較したところ、専門学校生の方が Stiffness は高く、骨吸収指標は低値を示したが、両対象者間には体格や初潮年齢に差はなく、骨代謝の違いは生活習慣の違いによると考えられた。生活習慣については、専門学校生と短大生では先に述べたように運動量に差があった。運動と骨代謝との関連について著者らは、高校生女子生徒の調査で、運動クラブに所属しているものは所属しないものより骨吸収指標が低く、Stiffness が高値であったことを報告した [5]。従って、専門学校生と短大生の間にみられた骨代謝の違いには、運動量の差が反映されていると考えられた。また、短大生の「中学・高校運動あり」は「運動なし」より現在の骨吸収指標が低く、Stiffness が増加していた。短大生の「中学・高校運動あり」は、統計的な有意差はないものの現在の歩行時間が長い傾向にあり、また、現在運動ありの6人中5人が「中学・高校運動あり」であった。このことは「中学・高校運動あり」は現在も活動性が高く、それが現在の骨代謝により影響を与えたものと思われる。

食習慣に関してカルシウム摂取量は、短大生は専門学校生より多いが、所要量より大きく下回っており、Stiffness は低値を示した。しかし、短大生のカルシウム摂取が多いもの（600mg 以上）では Stiffness 増加率が大きく、所要量以上のカルシウム摂取は Stiffness 増加に対し有効であることが示唆された。また、短大生の「間食しない」では

骨吸収が抑制され、「腹いっぱい食べない」、「間食しない」では Stiffness 増加率が大であった。短大生の食習慣アンケートについて、「腹いっぱい食べない」ものでは「間食しない」と答えたものが多く、このような好ましい食習慣を持つことはバランスのとれた栄養素の摂取につながり、Stiffness 増加に有効に働くことが示唆された。

生活習慣では「中学・高校運動」と「間食」が骨代謝に影響していたが、この2つの習慣は互いに関係しておらず、運動およびバランスのとれた食習慣は骨吸収を抑制し、Stiffness 増加につながると推測された。

予防教室で実施した栄養および運動指導の理解度と骨代謝の関連では、骨代謝指標に明らかな違いは認められなかったものの、Stiffness は「理解できた」で増加の方向に変化した。実際の生活習慣（カルシウム関連食品の摂取および運動習慣）は、運動指導の理解度では変化がみられなかったものの、栄養指導を「理解できた」短大生で、ヨーグルト摂取頻度が増え、栄養や運動指導を理解

することが好ましい生活習慣への行動変容につながり、Stiffness 増加に有効であると推測された。

文 献

1. 志賀令明, 福島峰子, 田中俊誠 (1996). 日本産科婦人科学会雑誌, 48 (11), 1085-1092.
2. 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.
3. 秋坂真史, 座光寺秀元, 有泉 誠 (1997). 日衛誌, 52, 481-489.
4. 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 (1998). 富山衛研年報, 21, 161-170.
5. 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.
6. 伊海公子, 坂本裕子, 三好正満 (1999). 栄養学雑誌, 57, 1.

無機成分摂取量と尿中排泄量, 骨代謝指標との関連

田中 朋子 堀井 裕子 中崎美峰子 新村 哲夫
西野 治身 新 広昭¹ 田島 隆俊¹

Relationship among Minerals Intake, Urinary Excretion of the Minerals and
Bone Metabolic Markers

Tomoko TANAKA, Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tetsuo SHIMMURA,
Harumi NISHINO, Hiroaki SHIN and Takatoshi TAJIMA

要 旨 骨粗鬆症予防に重要な無機成分の摂取量と尿中排泄ならびに骨代謝との関連を中高年男女を対象に検討し、以下の結果を得た。

1. 無機成分摂取量について

男性はカルシウム (Ca), リン (P) は所要量を満たしていたがマグネシウム (Mg) は不足していた。一方、女性では閉経者、未閉経者とも P のみ所要量を満たしており Ca, Mg は不足していた。

2. 無機成分摂取量と無機成分の尿中排泄量との関連について

未閉経者では Ca 摂取量と尿中無機成分排泄量は負の相関を示したが、男性および閉経者では無機成分摂取量と尿中無機成分排泄量との間に関連は認められなかった。

3. 無機成分摂取量と骨代謝指標との関連について

未閉経者では Ca 摂取量が400mg 未満は400mg 以上に比べ尿中ハイドロキシプロリンが高かった。

男性では摂取した Ca/Mg 比と骨型アルカリフォスファターゼは負の相関を示した。

骨粗鬆症の有効な予防対策の一つとしてカルシウム (Ca) 摂取は重要である。近年、Ca の摂取不足が指摘され、特に骨粗鬆症予防を目的に中高年女性で増加傾向にある [1]。しかし、Ca の過剰摂取は、それ以外の無機成分とのアンバランスを生じ、その結果相対的な摂取量不足を招く可能性も指摘されている [2]。しかし、Ca 以外の無機成分摂取量を男女別、閉経の有無別に正確に把握し、骨代謝との関連を検討した報告は少ない [3]。

今回、国民栄養調査法に基づく秤量法と陰膳法による無機成分摂取量調査を実施する事ができたので、それらと尿中無機成分排泄量、骨代謝指標との関連を検討した。

対象および方法

対象は健常な女性26名 (31~59歳) と、男性10

1 石川県保健環境センター

名 (45~58歳), 計36名である。

栄養調査は国民栄養調査法に基づいて1日間の食事調査を実施し, Ca, マグネシウム (Mg), リン (P) の摂取量を求めそれぞれ秤量法 Ca, Mg, P とし, Ca と Mg の比を Ca/Mg 比とした。同一日について陰膳法により採取した食品すべてを灰化し, ICP-AES (発光分析) 法により測定したものを陰膳法 Ca, Mg, P, さらに, 陰膳法 Ca/Mg 比とした。

女性については同一日中の早朝尿を採取, 男性は24時間尿を採取した。尿中無機成分として Ca, P を自動分析装置 OPERA (バイエルメディカル製, 米国) により, Mg を原子吸光分光光度計 (日立製) により測定した。

採血は同一日の昼食前の空腹時に実施した。

骨代謝指標は骨形成指標として血清中の骨型アルカリフォスファターゼ (B-ALP), 骨吸収指標として早朝尿または全日尿中のヒドロキシプロリン (Hyp), ピリジノリン (Pyr), デオキシピリジノリン (DPyr) を測定した。尿中成分はクレアチニン (Cr) により補正し以下の解析には幾何平均

値を用いた。

また女性についてはアンケートにより月経の有無と状態を調べた。

結 果

女性では骨代謝について検討する際, 閉経が大きく影響するので, 対象者を閉経の有無で分け解析を行った。閉経群は月経無しと回答した6名のうち, Ca 摂取量が秤量法と陰膳法で大きくかい離していた1名 (秤量法787g, 陰膳法2110g) を除いた5名とし, 未閉経群は月経有りと回答した20名のうち月経が順調な13名のみとした。

1. 身体状況等について

各群の年齢, 身体状況を Table 1 に示した。閉経群と未閉経群の BMI に有意差はなかったが, 男性は女性2群に比し高い傾向を示した。

2. 無機成分摂取量について

無機成分摂取量および Ca/Mg 比を Table 2 に示した。Ca 摂取量は, 男性では秤量法, 陰膳法とも所要量の600mg に達していたが, 女性では両方法で所要量を満たしていなかった。Mg は男女とも両方法で所要量 (男性50歳代300mg, 女性40, 50歳代260mg) に達していなかった。P については全ての群で所要量 (700mg) を満たしていた。Ca/Mg 比は男女とも適正とされている値2 (Ca : Mg = 2 : 1) より高かった。

Table 1. Physical Characteristics

	Female		Male
	Premenopausal	Postmenopausal	
	n=13	n=5	n=10
	Mean S.D.	Mean S.D.	Mean S.D.
Age	38.0±6.14	52.8±5.84	54.2±3.71
Height	158.3±4.43	153.2±7.05	167.8±6.05
Weight	54.1±8.46	50.6±5.41	67.6±7.58
BMI	21.6±2.54	21.7±3.16	24.0±1.92

Table 2. Mean Values and Standard Deviation of Minerals Intake

		Female		Male
		Premenopausal	Postmenopausal	
		n=13	n=5	n=10
		Mean S.D.	Mean S.D.	Mean S.D.
Calculated	Ca(mg/day)	525±232	481±234	697±204
	Mg(mg/day)	246±89	220±70	284±67
	P(mg/day)	1217±380	1030±426	1409±186
	Ca/Mg ratio	2.19±0.84	2.20±0.84	2.50±0.727
Assayed	Ca(mg/day)	578±211	449±341	641±164
	Mg(mg/day)	197±62	159±35	233±54
	P(mg/day)	1238±307	934±254	1051±169
	Ca/Mg ratio	3.09±1.35	2.69±1.72	2.89±0.992

◇: p<0.1

秤量法と陰膳法の相関係数は全対象者 (n=28) では Ca, Mg, P がそれぞれ $r=0.485$ ($p<0.01$), $r=0.725$ ($p<0.001$), $r=0.669$ ($p<0.001$) であった。

3. 尿中無機成分排泄量, 骨代謝指標について

尿中無機成分排泄量を Table 3 に示した。女性の2群と男性を比較すると, 閉経群は Ca/Cr, Mg/Cr が男性に比し高く ($p<0.01$), 未閉経群では P/Cr が男性より高かった ($p<0.05$)。閉経群と未閉経群を比較したところ, Ca/Cr, Mg/Cr は閉経群が未閉経群に比べ高かった ($p<0.05$)。

骨代謝指標の測定値を Table 4 に示した。女性の2群と男性を比較すると, 未閉経群は B-ALP が男性に比し低値を示した ($p<0.001$)。骨吸収指標については, Hyp/Cr は閉経群のみが男性に比べ高かったが ($p<0.01$), Pyr/Cr, DPyr/Cr は閉経群, 未閉経群ともに男性に比し高値であった (閉経群 $p<0.001$, $p<0.01$, 未閉経群 $p<0.01$, p

$p<0.05$)。次に, 閉経群と未閉経群を比較すると, 閉経群は, B-ALP, Hyp/Cr が有意に高く ($p<0.05$), Pyr/Cr, DPyr/Cr は高い傾向を示した ($p<0.1$)。

4. 無機成分摂取量と尿中無機成分排泄量, 骨代謝指標との関連について

無機成分の摂取量として, より実際の摂取量に近いとされる陰膳法による摂取量と尿中無機成分排泄量, 骨代謝指標との関連を検討した。

無機成分の摂取量と尿中無機成分排泄量との関連を Table 5 に示した。男性および閉経群では有意な関連は認められなかった。未閉経群では Ca 摂取量と尿中 Mg/Cr および P/Cr との間に負の相関が認められ ($p<0.05$), さらに, P 摂取量と Mg/Cr の間にも負の相関が認められた ($p<0.05$)。

無機成分摂取量と骨代謝指標の関連を検討したところ (Table 無し), 相関が認められたのは男性の Ca/Mg 比と B-ALP ($p<0.01$) のみであり (Fig 1), 女性では閉経の有無に関わらず関連は認めら

Table 3. Mean Values and Standard Deviation of Excretion of Urinary Minerals

		Female		Male
		Premenopausal n=13	Postmenopausal n=5	n=10
		G.M. (G.S.D.)	G.M. (G.S.D.)	G.M. (G.S.D.)
Ca/Cr [#]	mg/gCr	※		114.6(1.56)
		85.2(2.22)	224.5(1.75)**	
P/Cr [#]	mg/gCr	764(1.27)*	663(1.37)	577(1.30)
		※		
Mg/Cr [#]	mg/gCr	※		85.3(1.16)
		72.5(1.33)	104.5(1.46)**	

: Geometric mean and geometric standard deviation

※ : $p<0.05$

*, **: Significant difference ($p<0.05$, $p<0.01$) compared with Male

Table 4. Mean Values and Standard Deviation of Biochemical Markers of Bone Metabolism

		Female				Male
		Premenopausal n=13		Postmenopausal n=5		n=10
		Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean S.D.
B-ALP	BLU	※				1.67±0.39
		1.05±0.23***		1.50±0.45		
Hyp/Cr [#]	mg/gCr	※				22.4(1.39)
		27.5(1.42)		51.1(2.08)**		
Pyr/Cr [#]	nmol/mmolCr	◇				12.0(1.21)
		19.9(1.32)**		28.0(1.53)***		
DPyr/Cr [#]	nmol/mmolCr	◇				2.35(1.31)
		3.8(1.53)*		6.17(1.90)**		

: Geometric mean and geometric standard deviation

※ : $p<0.05$, ◇ : $p<0.1$

*, **, *** : Significant difference ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$) compared with Male

Table 5. Correlation Coefficients between Minerals Intake and Urinary Excretion of Minerals

	Urinary Excretion of Minerals	Minerals Intake			
		Ca	Mg	P	Ca/Mg ratio
Premenopausal n=13	Ca/Cr	-0.540	-0.287	-0.543	-0.381
	Mg/Cr	-0.571*	-0.410	-0.669*	-0.347
	P/Cr	-0.604*	-0.286	-0.482	-0.391
Postmenopausal n=5	Ca/Cr	0.310	0.788	0.732	0.229
	Mg/Cr	0.226	0.843	0.851	0.087
	P/Cr	-0.346	-0.405	-0.386	-0.255
Male n=10	Ca/Cr	0.120	0.001	-0.077	0.091
	Mg/Cr	0.318	0.453	-0.311	-0.172
	P/Cr	-0.397	0.134	-0.146	-0.349

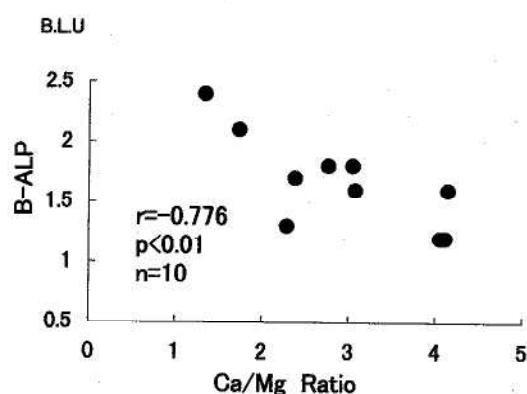
※: $p < 0.05$ 

Fig 1. Relationship between Serum Bone Alkaline Phosphatase and Dietary Ca/Mg Ratio — Male —

れなかった。しかし、未閉経群について Ca 摂取量で 400mg 未満 ($n = 4$) と 400mg 以上 ($n = 9$) に分け骨代謝指標を比較したところ (Fig. 2), 400mg 未満は 400mg 以上に比べ、尿中 Hyp/Cr が高かった ($p < 0.05$)。

考 察

女性について

閉経者では骨吸収指標、骨形成指標がともに高いことから、骨吸収の亢進に伴い 2 次的に骨形成も亢進された高回転の状態と考えられた。さらに、尿中の Ca, Mg 排泄量が未閉経者に比べ高かった。早朝尿中の Ca は中高年者では骨吸収を反映するとされている [4]。閉経後の 10 年間は特に骨量の減少が著しい時期であるが [5]、無機成分の腸管

からの吸収が加齢に伴い低下することもあり [6]、より多くの Ca や Mg を摂取する事が望ましいとされている [6, 7]。しかし、今回の調査では所要量を満たしていたのは P のみであった。このように閉経者では、無機成分の摂取量不足、尿中無機成分排泄量の増加、骨代謝の亢進は認められたが、3 者間の関連は認められなかった。

未閉経者では Ca と Mg の摂取量は閉経者と同様所要量に達していなかった。また、無機成分の摂取量と骨代謝指標との関連もみられなかった。しかし、Ca 摂取量と尿中の無機成分の排泄量は負の関連を示し、Ca 摂取の少ない者ほど尿中無機成分の排泄が多くなっていた。さらに、Ca 摂取量が 400mg 以下では骨吸収指標も高値を示し、骨吸収が亢進している可能性が示された。

近年、骨粗鬆症予防を目的に Ca の大量摂取が行われる例がしばしばみられ、その結果、相対的な Mg 不足をきたす可能性が指摘されている [2]。しかし、今回の対象となった女性は、閉経の有無に関わらず Mg の他 Ca の摂取も明らかに不足していた。このように Ca, Mg がともに不足した状態では、Ca/Mg 比の高値 (Mg 不足) と骨代謝の関連を明らかにする事はできなかった。

男性について

Ca, P の摂取量は所要量を満たしていたが、Mg は不足していた。骨形成指標の B-ALP は未閉経女性に比し高く、閉経女性とほぼ同レベルであった。一方、尿中骨吸収指標は、女性 (閉経、未閉経とも) に比し低値を示した。これらのことから男性

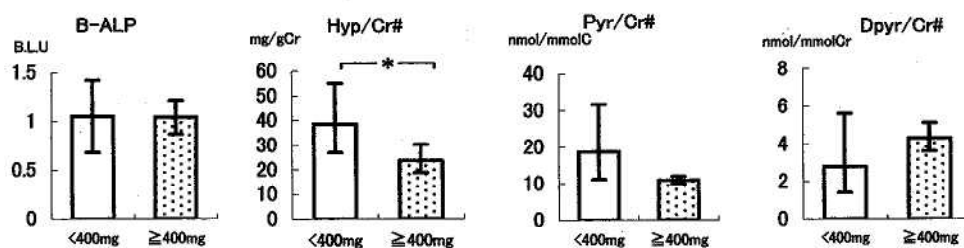


Fig 2. Biochemical Markers of Bone Metabolism by Dietary Ca Intake in Premenopausal Female

□ : Ca intake <400mg
 ▨ : Ca intake ≥400mg

* : $p < 0.05$

: Geometric mean and geometric standard deviation

の骨代謝は女性に比べ骨形成が優位な状態にある可能性が示された。無機成分摂取量と尿中無機成分排泄量、骨代謝指標との関連では Ca/Mg 比と骨形成指標の B-ALP と負の相関を示した。このように Ca 摂取量が十分な場合は Ca/Mg 比が低い者ほど (Mg 摂取が多い者ほど) 骨形成が優位になっている可能性が示された。

本研究は、平成10, 11年度厚生科学研究費 (健康科学総合事業)「地方衛生研究所の機能強化に関する総合研究」の一部として実施されたものである。検体の提供、アンケート調査への回答等にご尽力いただいた地方衛生研究所全国協議会・東海北陸支部の地方衛生研究所の関係者各位に感謝いたします。

(1999).

2. 木村美恵子 (1999). カルシウムその基礎・臨床・栄養, 236-251, 社団法人全国牛乳普及協会.
3. New SA, Robins SP, Campbell MK, et al, Am. J. Clin. Nutr. 71(2000) 142-151.
4. 三木隆己 (1996). 骨・カルシウム検査ハンドブック, 24-27, 中山書店.
5. 水口弘司, 五来逸雄 (1993). 医学のあゆみ, 165, 504-507.
6. 麻見直美, 江澤郁子 (1998). THE BONE, 8. 1093-1097.
7. Ivor E. Deosti, Ph. D., D. Sc. (1996) 微量栄養素 33-39. 建帛社.

文 献

1. 厚生省：平成10年国民栄養調査結果の概要

3. 資 料

富山県における平成12年度の ウイルスおよびリケッチア検査状況

安藤 秀二 中山 喬 長谷川澄代
松浦久美子 石倉 康宏 北村 敬

Virological and Rickettsiological Examinations of Infectious Diseases
in Toyama Prefecture, April 2000 to March 2001

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

平成12年度に実施した感染症発生動向調査事業、感染症流行予測調査事業、行政依頼検査、一般依頼検査および調査研究におけるウイルスおよびリケッチアの検出結果を報告する。検査の実施方法は、臨床症状に応じ常法によって行った。平成12年度受け付けた患者は312症例、検体別では糞便186、咽頭拭い液145、水泡内容物9、髄液6、血液13、胸水1、尿1、吐物1の他、食材（カキ、アサリ）5の計367検体であった。このうち、平成13年6月現在、検査継続中の21症例を除いた291症例中144例から146株のウイルスおよびリケッチアが分離・検出された。また食材5件から2株のウイルスが検出された。

以上の成績を疾患別、患者別に表に示し、若干の解説を加えた。（表1）

インフルエンザおよび呼吸器系疾患：インフルエンザ流行期の2000年11月から2001年3月まで、県内の定点病院および集団発生の当該保健所から117件の検査依頼があり、臨床診断名は、インフルエンザおよびインフルエンザ疑い51、急性気管支炎28、上気道炎21、咽頭炎16、咽頭気管支炎1であった。分離されたウイルスは、A（H1）型インフルエンザウイルス23株、A（H3）型インフルエンザウイルス3株、B型インフルエンザウイ

ルス9株、アデノウイルス3型11株であった。今シーズンの特徴は3種類のインフルエンザウイルスがほぼ同時期に流行したことである。異なった亜型あるいは型のウイルスが時期をずらして流行した例はあるが、3種類が同時期に流行した例は少ない。また、流行期全体でのインフルエンザ患者数が例年に比べて少なく、発生も遅くインフルエンザによる集団かぜは3月に入ってから発生した。詳細については、本年報に掲載されているインフルエンザ流行予測調査の報告を参照されたい。また2000/2001インフルエンザシーズンには、アデノウイルスも分離され、インフルエンザと混在して同時期にアデノウイルスによる呼吸器疾患も流行していたと考えられた。

脳炎、脳症：インフルエンザ脳症を疑った3例中1例からPCRによりA（H3）型インフルエンザウイルス遺伝子を検出した。また、手足口病の治療中に脳炎症状を示した症例からエンテロウイルス71が分離された。手足口病の原因ウイルスにはエンテロウイルス71、コクサッキーウイルスA16の他いくつかのウイルスが知られているが、エンテロウイルス71は時として脳炎症状を示すことが知られており、注意が必要である。

感染性胃腸炎：下痢症4例を含む72例について

平成12年度 疾患別、月別ウイルスおよびリケッチア検出状況

臨床診断名	検出病原体	H12 3 ^{*1}	4	5	6	7	8	9	10	11	12	H13 1	2	3	合計
インフルエンザ 及び呼吸器疾患	(被験者数)									(1)	(17)	(23)	(51)	(25)	(117)
	インフルエンザA(H1)											3	9	11	23
	インフルエンザA(H3)												1	2	3
	インフルエンザB											1	7	1	9
	アデノ3										1	5	4	1	11
脳炎	(被験者数)			(1)		(1)			(1)		(2)	(1)		(1)	(7)
	インフルエンザA(H3)													1	1
	エンテロ71					1									1
感染性胃腸炎	(被験者数)	(5)	(16)	(9)	(5)	(4)	(3)	(3)	(6)	(13)		(1)	(2)	(5)	(72)
	A群ロタ	1	14	1	1	1									18
	SRSV	4	2	7	4	3	3	3	2					2	30
食中毒	(被験者数)		(5)				(6)	(4)				(4)	(10)		(29)
	SRSV		5									4	10		19
手足口病	(被験者数)					(8)		(6)							(14)
	コクサッキーA16					8		2							10
	コクサッキーA16+コクサッキーA9							1							1
	コクサッキーA16+エンテロNT*8							1							1
	エンテロNT							1							1
恙虫病	(被験者数)								(1)	(4)	(1)				(6)
	恙虫病リケッチア								1	1					2
無症状 (ポリオ流行予測)	(被験者数)											(62)			(62)
	コクサッキーB3											10			10
	アデノ1											1			1
	エンテロNT											1			1
無症状 ^{*2}	(被験者数)		(3)												(3)
	SRSV		2												2
その他 ^{*3}	(被験者数)				(1)	(1)									(2)
症例合計		(5)	(24)	(10)	(6)	(13)	(10)	(13)	(8)	(18)	(20)	(91)	(63)	(31)	(312)
		5	23	8	5	13	3	8	3	1	1	25	31	18	144
食材 ^{*4}	(検体数)											(2)	(3)		(5)
	SRSV											1	1		2

*1: 検体採取3月、搬入4月。 *2: SRSV感染者の追跡調査。

*3: 無菌性髄膜炎1、心筋炎1。 *4: アサリ1プール、カキ4プール。

*網掛け枠の症例中21例は現在検査中であるが、患者発生状況を見るため集計に加えた。

検査を依頼されたが、21例については現在も検査中であり、検査を終えた51例からはA群ロタウイルス18株、小型球形ウイルス(SRSV)30株が検出された。

食中毒: 食中毒として扱った7事例のうち4事例からSRSVが検出された。また原因と考えられた食材5件(カキ4、アサリ1)のうち1月および2月のカキ各1件からSRSVが検出された。

手足口病: 富山県西部の患者14例のうち13例からコクサッキーウイルスA16が12株、コクサッキーウイルスA9が1株、型別同定不能(NT)の

腸管系ウイルスが2株分離された。分離陽性13例のうち、コクサッキーウイルスA16とコクサッキーウイルスA9の同時分離が1例、コクサッキーウイルスA16と型別同定不能ウイルスの同時分離が1例あった。

恙虫病: 恙虫病が疑われた6例のうち5例は血清学的に恙虫病と診断された。さらに5例中2例については恙虫病リケッチア(*Orientia tsutsugamushi*)遺伝子をPCRにより検出した。

その他疾患、無症状: 6月の心筋炎1例、8月の無菌性髄膜炎1例は、ともにウイルスは分離さ

平成13年10月1日

れなかった。

平成12年2月発生の食中毒関連で SRSV 感染既往歴のある成人について追跡調査を行った。約2ヶ月後の検体（無症状）3例中2例から SRSV が検出され、SRSV に感染後長期間にわたる持続的なウイルス排出が示唆された。

ポリオ流行予測事業により、0～4歳までの健康な乳幼児62例を対象にウイルス検索を行い、コクサッキーウイルス B 3 型10株、アデノウイルス 1 型 1 株と型別同定不能ウイルス 1 株を分離し

た。詳細については本年報ポリオ流行予測調査の報告を参照されたい。

ウイルス分離検査は結果判明までに時間がかかり、当該患者の臨床診断には間に合わない場合も多いものの、今後の感染症発生動向を知るうえで重要な資料となります。ご多忙なかでウイルスおよびリケッチア検出の意義をご理解、ご協力いただいた多くの医療機関および防疫機関の関係各位に深くお礼申し上げます。

感染症発生動向調査情報による 患者発生状況(2000年)

庄 司 俊 雄

Infectious Diseases Surveillance in Toyama Prefecture,
An Annual Report for 2000.

Toshio SHOJI

要 旨 2000年7月より富山県衛生研究所内に富山県感染症情報センターが開設された。

感染症対策の基礎資料とすべく、感染症新法の対象となった全ての疾病について、2000年（平成12年）の県内の発生状況を報告する。

1999年（平成11年）4月「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（以下「感染症新法」）が施行され、翌2000年7月より富山県感染症情報センターが富山県衛生研究所内に開設された。

感染症情報センターの役割は新しい感染症の分類型であるⅠ類感染症からⅣ類感染症の全ての疾病について、疾患の発生状況を早期に、かつ的確に捉え、それらを速やかに関係者に提供して対策につなげることである。

上記の目的の基礎資料として、感染症新法の対象となった全ての疾病について、富山県内の2000年（平成12年）における発生状況を集計したので報告する。

調査方法

感染症発生動向調査は、大きく全数把握調査と定点把握調査に分けられるが、そのいずれもが県内各保健所から国のサーバーに報告される。富山県感染症情報センターは国のサーバー上のデータ

に基づき、県内集計を行い、国立感染症情報センターに報告している。

毎週の富山県内集計結果は、毎週発信されているインターネットホームページの画面により公開されているが、今回、本調査全体を1年間の単位で集計整理したので、2000年第1週から第52週までの集計結果を報告する。

結 果

1) Ⅰ類感染症

Ⅰ類に指定された感染症は、エボラ出血熱、クリミア・コンゴ出血熱、バスタ、マールブルグ病、ラッサ熱、の各感染症であり、全て全数把握調査、すなわち発生すれば報告される疾病である。

表1のとおりにⅠ類感染症の発生報告は平成12年にはなかった。

2) Ⅱ類感染症

Ⅱ類に指定された感染症は、コレラ、細菌性赤痢、腸チフス、パラチフス、急性灰白髄炎、ジフテリア、の各感染症で全数把握調査の疾病である。

表1のとおりにⅡ類感染症で発生報告があったのは細菌性赤痢の5件であった。

3) Ⅲ類感染症

Ⅲ類感染症は腸管出血性大腸菌感染症のみであ

平成13年10月1日

り、全数把握調査の疾病である。

表1のとおり52件の発生報告があった。

4) IV類感染症

IV類感染症は全数把握調査と、定点把握調査とに分かれており、定点把握調査はさらに、週の単位で報告する疾病と、月の単位で報告する疾病に

表1. I、II、III類感染症 平成12年発生状況

		Ⅰ 類感染症					Ⅱ 類感染症						Ⅲ 類
週	週の日付	エボラ 出血熱	クリミ ア・コン ゴ出血 熱	ペスト	マール ブルグ 病	ラッサ 熱	コレラ	細菌性 赤痢	腸チフ ス	パラチ フス	急性灰 白髄炎	ジフテリ ア	腸管出 血性大 腸菌感 染症
1	1. 3～ 1. 9												
2	1.10～ 1.16												
3	1.17～ 1.23												
4	1.24～ 1.30												
5	1.31～ 2. 6												
6	2. 7～ 2.13												
7	2.14～ 2.20												
8	2.21～ 2.27												1
9	2.28～ 3. 5												
10	3. 6～ 3.12												
11	3.13～ 3.19												
12	3.20～ 3.26												
13	3.27～ 4. 2												
14	4. 3～ 4. 9												
15	4.10～ 4.16												
16	4.17～ 4.23												
17	4.24～ 4.30												
18	5. 1～ 5. 7							1					1
19	5. 8～ 5.14												1
20	5.15～ 5.21												
21	5.22～ 5.28												15
22	5.29～ 6. 4							1					1
23	6. 5～ 6.11												1
24	6.12～ 6.18												
25	6.19～ 6.25												1
26	6.26～ 7. 2												
27	7. 3～ 7. 9												3
28	7.10～ 7.16												
29	7.17～ 7.23							1					
30	7.24～ 7.30												
31	7.31～ 8. 6												1
32	8. 7～ 8.13												1
33	8.14～ 8.20												
34	8.21～ 8.27												4
35	8.28～ 9. 3												13
36	9. 4～ 9.10												3
37	9.11～ 9.17												
38	9.18～ 9.24												
39	9.25～ 10. 1												
40	10. 2～ 10. 8												
41	10. 9～ 10.15												
42	10.16～ 10.22												2
43	10.23～ 10.29							2					1
44	10.30～ 11. 5												
45	11. 6～ 11.12												1
46	11.13～ 11.19												2
47	11.20～ 11.26												
48	11.27～ 12. 3												
49	12. 4～ 12.10												
50	12.11～ 12.17												
51	12.18～ 12.24												
52	12.25～ 12.31												
計								5					52

1

分かれている。

4-1) IV類感染症全数把握調査

IV類感染症の全数把握調査の対象疾病は表2のとおりであり、平成12年の発生報告はアメーバ赤痢（報告数1）、急性ウイルス性肝炎（7）、クロイツフェルト・ヤコブ病（2）、後天性免疫不全症候群（2）、ツツガムシ病（6）、梅毒（3）、マラリア（1）、レジオネラ症（3）と、表2のとおりであった。

4-2) IV類感染症定点把握調査

定点把握調査とは、あらかじめ発生報告をする医療機関（定点）を依頼しておき、週又は月の単位で報告を受けるもので、実数調査でなく、指票調査である。

表3に定点の種類と、定点が担当する感染症病名、富山県内の各定点の数を示した。

表4にIV類感染症定点把握の週の単位で集計さ

れる感染症病名と平成12年の報告数を示した。急性脳炎を除く全ての感染症に発生報告があった。

表5にIV類感染症定点把握の月の単位で集計される感染症病名と平成12年の報告数を示した。

また、表6にIV類感染症定点把握の週の単位で報告される各感染症について、定点あたりの発生率に換算して示した。冬季はインフルエンザが、夏季はヘルパンギーナが優勢な発生を占め、その他の季節では感染性胃腸炎が優勢であった。（表7）。

考 察

昨年7月に設置された富山県感染症情報センターの主な役割りは、県内感染症発生状況の集約と、報告、公開を週毎に行うことである。

そのため今回のように1年という期間を区切った資料集計は初めての試みであった。過去から連続しているデータの中から1年間のデータペー

表3. 定点医療機関の分担内訳

定点の種類 ⁽¹⁾	病 名	富山市保健所	新川保健所	中部保健所	高岡保健所	砺波保健所	計
インフルエンザ定点	インフルエンザ	5	3	3	5	3	19
小児科定点	咽頭結膜熱						
	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎						
	感染性胃腸炎						
	水痘						
	手足口病						
	伝染性紅斑						
	突発性発疹						
	百日咳						
	風疹						
	ヘルパンギーナ						
	麻疹						
	流行性耳下腺炎						
眼科定点	急性出血性結膜炎	2	1	1	2	1	7
	流行性角結膜炎						
STD定点 (月単位で報告)	性器クラミジア感染症						
	性器ヘルペスウイルス感染症	2	1	1	2	1	7
	尖形コンジローム						
	淋菌感染症						
基幹定点	急性脳炎(日本脳炎を除く)						
	細菌性髄膜炎(真菌性を含む)						
	無菌性髄膜炎						
	マイコプラズマ肺炎	1	1	1	1	1	5
	クラミジア肺炎(オウム病は除く)						
	成人麻疹						
基幹定点 (月単位で報告)	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症						
	ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	1	1	1	1	1	5
	薬剤耐性緑膿菌感染症						
計		19	11	12	19	11	72

※ (1)月単位以外はすべて週単位で報告

表4. IV類定点把握感染症(週単位) 平成12年発生状況

週	インフルエンザ	咽頭結核熱	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	感染性胃腸炎	水痘	手足口病	伝染性紅斑	突発性発疹	百日咳	風疹	ヘルパンギーナ	麻疹	流行性耳下腺炎	急性出血性結膜炎	流行性角結膜炎	急性脳炎(日本脳炎を除く)	細菌性髄膜炎	無菌性髄膜炎	マイコプラズマ肺炎	クラミジア肺炎(オウム病を除く)	成人麻疹
1	310	0	17	122	111	0	0	30	1	3	2	0	7	0	1	0	0	0	1	0	0
2	757	0	31	159	70	0	2	22	0	0	0	0	3	0	4	0	0	2	0	0	0
3	2398	0	34	193	77	0	2	24	0	0	0	0	5	0	1	0	0	1	0	0	0
4	2961	1	36	149	76	0	1	20	0	0	0	0	5	0	1	0	0	1	0	0	0
5	3264	0	32	200	68	0	1	18	0	0	1	2	2	1	5	0	0	1	0	0	0
6	2518	0	32	144	62	0	0	21	0	2	0	0	9	0	2	0	0	3	0	0	0
7	1457	0	25	195	83	0	1	13	0	0	0	0	4	0	2	0	0	1	0	0	0
8	643	3	42	238	42	1	2	25	0	0	0	0	8	0	4	0	0	0	0	0	0
9	374	0	45	337	69	0	0	25	0	0	0	0	5	0	0	0	0	1	0	0	0
10	255	0	56	337	47	0	0	28	0	0	0	0	8	0	0	0	0	1	0	0	0
11	160	0	57	371	42	0	1	27	0	0	0	0	7	0	0	0	0	1	0	1	1
12	64	0	51	287	57	1	3	25	1	0	2	0	5	0	1	0	0	0	0	1	0
13	18	0	44	307	47	0	2	30	0	0	1	0	2	0	2	0	1	0	0	0	0
14	11	0	36	408	71	0	0	19	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	0	0	0
15	8	0	42	353	50	3	2	28	0	0	3	0	5	0	0	0	0	1	0	0	0
16	2	0	44	356	63	0	1	11	3	0	2	2	2	4	0	0	0	0	0	0	0
17	6	0	57	258	71	1	0	22	0	0	0	0	2	4	0	0	0	0	0	0	0
18	1	0	40	219	89	1	5	22	0	2	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	41	254	84	2	7	24	1	0	1	0	1	0	0	5	0	0	0	0	0
20	0	0	69	178	91	1	9	17	0	0	2	1	9	0	2	0	0	0	1	0	0
21	0	1	54	192	87	1	9	26	0	5	9	0	5	0	4	0	0	0	1	0	0
22	0	0	35	173	75	4	0	30	0	0	10	0	12	0	3	0	0	0	0	1	0
23	0	2	46	140	59	5	8	33	0	0	9	2	5	0	0	0	0	0	0	0	0
24	2	0	35	177	55	9	2	39	0	0	23	1	6	0	1	0	0	0	0	0	0
25	0	1	27	123	63	19	2	35	1	0	25	2	10	0	3	0	0	0	0	0	0
26	0	0	46	119	64	28	4	27	1	0	40	0	5	0	1	0	0	0	0	0	0
27	0	3	36	97	31	27	2	28	1	0	54	2	11	0	1	0	0	0	0	0	0
28	1	7	24	62	45	37	5	25	1	0	75	0	16	0	1	0	0	0	0	0	0
29	0	3	18	53	25	38	3	32	0	1	74	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	11	26	46	21	51	0	26	0	0	132	2	6	0	1	0	0	0	0	0	0
31	0	1	14	37	18	58	2	22	0	0	136	0	6	0	1	0	0	0	0	0	0
32	0	6	14	49	12	71	0	24	0	1	149	2	6	0	2	0	0	0	0	0	0
33	1	2	6	45	10	37	0	18	0	0	108	0	7	0	1	0	0	0	0	0	0
34	0	9	19	42	14	53	1	25	3	0	161	0	9	0	6	0	2	0	1	0	0
35	0	13	12	40	9	89	0	24	0	0	172	0	5	0	1	0	0	0	0	0	0
36	0	4	23	49	12	89	0	32	0	1	141	0	3	0	7	0	0	0	0	0	0
37	0	7	31	59	9	90	0	26	1	0	138	0	3	0	1	0	0	1	0	0	0
38	0	2	13	51	12	85	1	33	0	0	129	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	2	1	27	68	11	51	0	25	0	0	81	0	6	1	4	0	0	0	0	0	0
40	0	1	28	53	13	56	1	24	0	0	68	1	4	0	4	0	0	0	0	0	0
41	1	0	26	43	15	49	0	25	0	0	40	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
42	2	0	40	59	16	59	1	28	0	0	27	0	10	0	1	0	0	0	0	0	0
43	2	0	51	85	30	43	0	24	0	0	25	2	6	0	2	0	0	1	0	0	0
44	0	2	33	98	23	41	1	23	2	0	20	0	8	0	4	0	0	0	1	0	0
45	0	1	46	119	35	44	0	22	1	0	7	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0
46	0	5	45	140	57	42	0	20	0	1	7	0	7	0	0	0	0	2	0	0	1
47	1	6	50	167	46	47	1	17	0	0	2	0	9	0	1	0	0	0	0	0	0
48	1	0	70	243	80	38	2	19	1	0	8	0	7	0	2	0	0	0	0	0	0
49	4	2	64	483	84	37	0	32	0	1	5	0	7	0	1	0	0	0	2	0	0
50	8	1	52	499	111	25	0	27	0	1	2	0	6	0	0	0	0	0	1	0	0
51	6	2	59	479	98	19	0	20	0	1	4	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
52	9	2	62	364	120	25	1	25	0	1	0	0	8	0	0	0	0	0	1	1	0
計	15237	99	1954	9545	2730	1378	83	1283	18	20	1895	24	309	4	84	0	3	17	11	5	2

表5. IV類定点把握感染症(月単位) 平成12年発生状況

月	性器クラミジア感染症	性器ヘルペスウイルス感染症	尖形コンジローム	淋菌感染症	メシチリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	薬剤耐性緑膿菌感染症
1	27	2	6	2	17	1	0
2	19	4	6	1	24	3	2
3	24	6	3	1	18	4	1
4	27	2	4	3	32	4	1
5	24	5	7	1	32	10	0
6	26	8	7	7	24	9	0
7	16	8	6	2	29	8	0
8	27	2	4	5	33	13	0
9	26	6	7	8	30	8	2
10	16	4	8	3	34	9	1
11	23	3	5	7	22	8	0
12	24	1	3	7	30	19	0
計	279	51	66	47	325	96	7

表6. 定点あたり発生率 平成12年状況

週	インフル エンザ	咽頭結 核熱	A群溶 血性 レンサ 球菌咽 頭炎	水痘	手足口 病	伝染性 紅斑	突発性 麻疹	百日咳	風疹	ヘルパ ーエン ゼ	麻疹	流行性 耳下腺 炎	急性出 血性 結膜炎	流行性 角結膜 炎	急性脳 炎(日本脳 炎を除く)	細菌性 髄膜炎	無菌性 髄膜炎	マイコバ クテラ 肺炎	クラミジ ア肺炎 (オウム 病を除く)	成人麻 疹
1	8.46	-	0.99	4.21	3.83	-	1.03	0.03	0.10	0.07	-	0.24	-	0.14	-	-	-	0.20	-	-
2	15.77	-	1.07	5.48	2.41	-	0.07	0.76	-	-	-	0.10	-	0.57	-	-	0.40	-	-	-
3	49.75	-	1.17	6.66	2.66	-	0.07	0.83	-	-	-	0.17	-	0.14	-	-	0.20	-	-	-
4	61.89	0.03	1.24	5.14	2.62	-	0.03	0.69	-	-	-	0.17	-	0.14	-	-	0.20	-	-	-
5	69.00	-	1.10	6.90	2.34	-	0.03	0.62	-	0.03	0.07	0.14	0.14	0.71	-	-	0.20	-	-	-
6	52.46	-	1.10	4.97	2.14	-	-	0.72	0.07	-	-	0.31	-	0.28	-	-	0.60	-	-	-
7	30.35	-	0.86	6.72	2.86	-	0.03	0.45	-	-	-	0.14	-	0.28	-	-	0.20	-	-	-
8	13.40	0.10	1.45	8.21	1.45	0.03	0.07	0.86	-	-	-	0.28	-	0.57	-	-	-	-	-	-
9	7.79	-	1.55	11.82	2.38	-	-	0.86	-	-	-	0.17	-	-	-	-	0.20	-	-	-
10	5.31	-	1.93	11.82	1.92	-	-	0.97	-	-	-	0.24	-	-	-	-	0.20	-	-	-
11	3.33	-	1.97	12.79	1.45	-	0.03	0.93	-	-	-	0.24	-	-	-	-	0.20	-	0.20	0.20
12	1.33	-	1.76	9.90	1.97	0.03	0.10	0.86	0.03	0.07	-	0.17	-	0.14	-	-	-	-	0.20	-
13	0.38	-	1.52	10.59	1.82	-	0.07	1.03	-	0.03	-	0.07	-	0.28	-	0.20	-	-	-	-
14	0.23	-	1.24	14.07	2.45	-	-	0.66	-	-	0.03	0.03	-	-	-	-	0.40	-	-	-
15	0.17	-	1.45	12.17	1.72	0.10	0.07	0.97	-	0.10	0.07	0.17	-	-	-	-	0.20	-	-	-
16	0.04	-	1.52	12.28	2.17	-	0.03	0.38	0.10	-	0.07	0.24	-	-	-	-	-	-	-	-
17	0.13	-	1.97	8.90	2.45	0.03	-	0.76	-	-	0.07	0.14	-	-	-	-	-	-	-	-
18	0.02	-	1.38	7.55	3.07	0.03	0.17	0.76	-	0.07	0.07	0.03	0.29	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	1.41	8.76	2.90	0.07	0.24	0.83	0.03	0.03	0.03	0.14	-	0.71	-	-	-	-	-	-
20	-	-	2.38	6.14	3.14	0.03	0.31	0.89	-	0.03	0.03	0.14	-	0.14	-	-	-	-	0.20	-
21	-	0.03	1.86	6.52	3.00	0.03	0.31	0.90	-	0.07	0.03	0.14	-	0.14	-	-	-	0.20	-	-
22	-	-	1.21	5.97	2.59	0.14	-	1.03	-	0.34	-	0.41	-	0.57	-	-	-	0.20	-	-
23	-	0.07	1.59	4.83	2.03	0.17	0.21	1.14	-	0.31	0.07	0.17	-	0.43	-	-	-	-	-	-
24	0.04	-	1.21	6.10	1.90	0.31	0.07	1.21	-	0.79	0.03	0.21	-	0.14	-	-	-	-	-	-
25	-	0.03	0.93	4.24	2.17	0.66	0.07	1.21	0.03	0.86	0.07	0.34	-	0.14	-	-	-	-	-	-
26	-	-	1.59	4.10	2.21	1.00	0.14	0.93	0.03	1.38	-	0.17	-	0.14	-	-	-	-	-	-
27	-	0.10	1.24	3.34	1.07	0.93	0.07	0.97	0.03	1.38	-	0.17	-	0.14	-	-	-	-	-	-
28	0.02	0.24	0.83	2.14	1.55	1.28	0.17	0.86	0.03	2.59	0.07	0.55	-	0.14	-	-	-	-	-	-
29	-	0.10	0.62	1.83	0.86	1.31	0.10	1.10	-	0.03	2.55	0.10	-	0.14	-	-	-	-	-	-
30	-	0.38	0.90	1.59	0.72	1.76	-	0.90	-	4.55	0.07	0.21	-	0.14	-	-	-	-	-	-
31	-	0.03	0.48	1.28	0.62	2.00	0.07	0.76	-	4.69	-	0.21	-	0.14	-	-	-	-	-	-
32	-	0.21	0.48	1.69	0.41	2.45	-	0.83	-	0.03	5.14	0.07	0.21	0.29	-	-	-	-	-	-
33	0.02	0.07	0.21	1.55	0.34	1.28	-	0.82	-	3.72	-	0.24	-	0.14	-	-	-	-	-	-
34	-	0.31	0.66	1.45	0.48	1.83	0.03	0.86	0.10	5.55	-	0.31	-	0.86	-	0.40	-	0.20	-	-
35	-	0.45	0.41	1.38	0.31	3.07	-	0.83	-	5.93	-	0.17	-	0.14	-	-	-	-	-	-
36	-	0.14	0.79	1.69	0.41	3.07	-	1.10	-	4.88	-	0.10	-	1.00	-	-	-	-	-	-
37	-	0.24	1.07	2.03	0.31	3.10	-	0.90	0.03	4.76	-	0.10	-	0.14	-	-	0.20	-	-	-
38	-	0.07	0.45	1.76	0.41	2.93	0.03	1.14	-	4.45	-	-	-	0.14	-	-	-	-	-	-
39	0.04	0.03	0.93	2.34	0.38	1.76	-	0.86	-	2.79	-	0.21	0.14	0.57	-	-	-	-	-	-
40	-	0.03	0.97	1.83	0.45	1.93	0.03	0.86	-	2.34	0.03	0.14	-	0.57	-	-	-	-	-	-
41	0.02	-	0.90	1.48	0.52	1.69	-	0.86	-	1.38	-	0.17	-	0.57	-	-	-	-	-	-
42	0.04	-	1.38	2.03	0.55	2.03	0.03	0.97	-	0.83	-	0.34	-	0.14	-	-	-	-	-	-
43	0.04	-	1.76	2.93	1.03	1.48	-	0.83	-	0.83	-	0.28	-	0.29	-	-	0.20	-	-	-
44	-	-	1.14	3.38	0.79	1.41	0.03	0.76	0.07	0.86	0.07	0.21	-	0.57	-	-	-	-	-	-
45	-	0.03	1.59	4.10	1.21	1.52	-	0.76	0.03	0.24	0.03	0.14	-	0.14	-	-	-	-	-	-
46	-	0.17	1.55	4.83	1.97	1.45	-	0.89	-	0.24	0.03	0.24	-	0.14	-	-	-	-	-	-
47	0.02	0.21	1.72	6.79	1.59	1.62	0.03	0.59	-	0.07	-	0.24	-	0.29	-	-	-	0.40	-	0.20
48	0.02	-	2.41	8.38	2.76	1.31	0.07	0.66	0.03	0.21	-	0.24	-	0.14	-	-	-	-	-	-
49	0.08	0.07	2.21	16.66	2.90	1.28	-	1.10	-	0.03	0.17	0.24	-	0.14	-	-	-	0.40	-	-
50	0.17	0.03	1.79	17.21	3.83	0.86	-	0.93	-	0.03	0.07	0.21	-	0.14	-	-	-	0.20	-	-
51	0.13	0.07	1.72	16.38	3.38	0.66	-	0.89	-	0.03	0.14	0.07	-	-	-	-	-	-	-	-
52	0.19	0.07	2.14	12.55	4.14	0.86	0.03	0.86	-	0.03	-	0.28	-	-	-	-	-	0.20	0.20	-

表7. 平成12年

各週の定点あたり発生率第1位の疾病

週	週の日付	病 名
第1週 ～ 第8週	1. 3～ 1. 9	インフルエンザ ↓
第9週 ～ 第27週	2. 21～ 2. 27	インフルエンザ ↓
第28週 ～ 第40週	2. 28～ 3. 5	感染性胃腸炎 ↓
第41週 ～ 第42週	7. 3～ 7. 9	ヘルパンギーナ ↓
第43週 ～ 第52週	7. 10～ 7. 16	ヘルパンギーナ ↓
	10. 2～ 10. 8	手足口病 ↓
	10. 9～ 10. 15	手足口病 ↓
	10. 16～ 10. 22	感染性胃腸炎 ↓
	10. 23～ 10. 29	感染性胃腸炎 ↓
	12. 25～ 12. 31	感染性胃腸炎

スの抽出は手作業によらざるをえず、容易な作業ではなかった。

これからの富山県感染症情報センターには、蓄積された資料の解析と利用という役割りも期待される。そのため、今後、当センターとしては、今回の様な基礎的集計作業が円滑に進められるシステムを持つことが必要である。

漁港における腸炎ビブリオ調査(平成12年)

細呂木志保 磯部 順子 田中大祐 清水美和子
香取幸治 刑部陽宅 竹内 崇¹ 富田良一²

Vibrio parahaemolyticus Surveillance at
Fishing Ports in Toyama Prefecture in 2000

Shiho HOSOROGI, Junko ISOBE, Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU,
Koji KATORI, Yotaku GYOBU, Takashi TAKEUCHI¹ and Ryouichi TOMITA²

腸炎ビブリオ食中毒の発生は、平成8年以降、血清型 O3:K6の増加に伴い急増し、富山県内でも平成10年には11件の腸炎ビブリオ食中毒が発生した。近年、夏期の腸炎ビブリオ食中毒の防止が、大きな課題となっている。

平成12年6月～10月の間、食品衛生調査会からの報告書を受け、全国で生産者から消費者までの各段階において腸炎ビブリオの特別対策が実施された。県厚生部では、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、昭和54年から平成7年まで市販魚介類の調査を実施してきた。その後、平成8年度からは「VP(腸炎ビブリオ)マリン実態調査」として県内の漁港の海水、海泥中の腸炎ビブリオの定量調査を行っている。

ここでは平成12年の調査結果を報告する。

材料および方法 調査定点：県内の生地、魚津、四方、新湊、氷見漁港を定点とした。調査期間：平成12年6月から9月までは隔週ごとに、10、11月は月1回、調査を実施した。検体の採取：海水は表層水(0 m)を、海泥はエクマンバジ採泥器を用いて、底泥を採取した。腸炎ビブリオ数の

測定：前報[1]のMPN法によった。海水の塩分濃度：赤沼式比重計を用いて算出した[2]。耐熱性溶血毒(TDH)遺伝子の検索：海水は1,000mlをポアサイズ0.45 μ mのメンブランフィルターでろ過し、そのフィルターを3%NaCl加Trypticase soy broth(3%TSB)で37℃、6時間培養した。海泥は、10gを同様に培養した。培養液の100℃10分、加熱遠心上清についてTDF-1、2プライマーを使用し、PCRを行った。TDH産生腸炎ビブリオの分離：TDH遺伝子が陽性となった検体は、前報[3]に従って、免疫磁気ビーズによる血清型O3:K6、O4:K68の分離を試みた。血清型別：腸炎ビブリオ型別用免疫血清「生研」を用い、メーカーの説明書に従って、O群別試験、K型別試験を行った。パルスフィールドゲル電気泳動：前報[4]に従った。

結果と考察 海水中の菌数は $<3\sim4.6\times10^2/100\text{ml}$ 、海泥中の菌数は $<30\sim4.6\times10^3/100\text{ml}$ であった(表1)。成績は示さなかったが、平成8～10年の調査では、7月後半から菌数が $10^2\sim10^3/100\text{ml}$ 、 $10^3\sim10^4/100\text{g}$ レベルまで増加し、9月後半まで菌数の低下は認められなかった。しかし、

表1. 海水、海泥中の腸炎ビブリオ菌数の月別変動

		調 査 月 日									
		6月13日	6月26日	7月10日	7月24日	8月7日	8月21日	9月4日	9月18日	10月2日	11月6日
生地	海水	3.0*	4.0	2.1×10 ¹	9.0	2.3×10 ¹	9.3×10 ¹	1.5×10 ¹	4.6×10 ¹	4.3×10 ¹	9.3×10 ¹
	海泥	<30	9.0×10 ¹	3.0×10 ¹	7.0×10 ¹	3.6×10 ¹	6.0×10 ¹	1.5×10 ¹	7.0×10 ¹	2.9×10 ¹	1.5×10 ¹
	塩分(‰)	10.3	6.0	9.0	5.3	7.5	10.4	9.3	9.2	7.1	8.6
	気温(℃)	19.5	25.2	26.3	33.0	30.8	29.2	24.2	25.7	21.6	18.4
	水温(℃)	16.0	19.0	22.0	21.0	23.0	23.0	21.0	20.0	24.0	16.0
	pH	7.4	7.1	7.1	7.6	7.4	7.6	7.3	7.2	7.4	7.4
魚津	海水	4.0	<3	9.0	2.3×10 ¹	2.4×10 ¹	2.3×10 ¹	1.6×10 ¹	2.3×10 ¹	1.1×10 ¹	9.3×10 ¹
	海泥	<30	1.5×10 ¹	9.0×10 ¹	1.6×10 ¹	2.9×10 ¹	2.4×10 ¹	1.5×10 ¹	4.6×10 ¹	2.1×10 ¹	9.3×10 ¹
	塩分(‰)	20.7	13.0	29.0	27.5	27.9	31.6	30.7	24.1	31.6	24.8
	気温(℃)	19.5	25.2	26.3	33.0	30.8	29.2	24.2	25.7	21.6	18.4
	水温(℃)	20.0	19.0	25.2	27.0	28.0	28.5	27.0	25.0	25.0	18.0
	pH	8.1	7.6	8.1	8.1	8.3	8.3	8.1	7.8	8.1	8.1
新湊	海水	4.0	2.0×10 ¹	9.3×10 ¹	2.9×10 ¹	1.1×10 ¹	2.1×10 ¹	2.4×10 ¹	1.6×10 ¹	9.3×10 ¹	9.3×10 ¹
	海泥	4.0×10 ¹	<30	9.3×10 ¹	<30	4.0×10 ¹	2.9×10 ¹	7.0×10 ¹	2.3×10 ¹	2.1×10 ¹	9.0×10 ¹
	塩分(‰)	16.0	17.6	28.7	31.2	26.7	27.6	30.3	33.4	27.6	28.3
	気温(℃)	19.2	22.8	25.6	33.5	29.3	32.6	25.0	25.0	21.4	16.8
	水温(℃)	22.5	24.5	26.0	28.0	31.0	31.0	28.5	27.5	25.0	21.0
	pH	8.1	8.6	8.4	8.4	8.6	8.5	8.4	8.3	8.4	8.3
氷見	海水	9.0	<3	1.5×10 ¹	4.0	1.1×10 ¹	2.9×10 ¹	4.3×10 ¹	2.4×10 ¹	2.9×10 ¹	2.4×10 ¹
	海泥	9.0×10 ¹	<30	<30	<30	9.0×10 ¹	9.3×10 ¹	9.3×10 ¹	9.3×10 ¹	7.0×10 ¹	9.3×10 ¹
	塩分(‰)	25.9	31.8	34.5	34.6	32.1	33.9	33.5	34.4	32.7	31.9
	気温(℃)	19.2	22.8	25.6	33.5	29.3	32.6	25.0	25.0	21.4	16.8
	水温(℃)	22.0	24.5	27.0	28.0	31.0	31.0	29.0	27.0	25.0	21.0
	pH	8.3	8.5	8.5	8.7	8.8	8.5	8.7	8.3	8.4	8.5
四方	海水	3.0	7.0	9.3×10 ¹	1.1×10 ¹	1.5×10 ¹	7.5×10 ¹	2.4×10 ¹	2.9×10 ¹	2.3×10 ¹	2.9×10 ¹
	海泥	4.0×10 ¹	<30	2.3×10 ¹	4.0×10 ¹	9.0×10 ¹	2.3×10 ¹	1.1×10 ¹	3.6×10 ¹	2.3×10 ¹	3.6×10 ¹
	塩分(‰)	27.4	20.3	33.8	32.9	31.0	32.9	31.5	32.8	31.3	26.9
	気温(℃)	22.2	24.5	25.9	32.3	30.0	32.6	23.7	24.5	21.0	17.1
	水温(℃)	20.1	24.7	26.3	27.4	29.3	29.5	28.2	26.3	29.4	19.2
	pH	8.2	8.2	8.1	8.2	8.4	8.2	8.5	8.4	8.6	8.7

* : *Vibrio parahaemolyticus* の菌数は MPN 値 (100ml, 100g)。

平成11, 12年の調査では, 最も多い時期となる8月中でも, 海水は10¹/100ml, 海泥は10²/100gのレベルであることが多く, 平成12年の菌数は平成8~10年と比較して少ない傾向であった。また, 平成12年の調査では, 海水の場合には, 定点による菌数の差は, ほとんどみられなかったが, 海泥の場合には, 定点によって菌数にバラツキがみられた。漁港で採取される底泥の外観は, 各漁港によって異なり, 泥質の漁港や, 貝殻等が多く含ま

れるヘドロ状の漁港があったので, これが菌数のバラツキに関係していることが考えられる。なお, 生地漁港は, 塩分濃度が, 5.3~10.4‰と他の定点の20~34‰比べ低かったが, 塩分と菌数の間に明確な相関は認められなかった。

MPNによる菌数測定の際に分離された腸炎ビブリオ436株について, O群別, K型別をおこなったところ, 17の血清型が認められた(表2)。平成12年に食中毒患者から分離された血清型O3:K

表2. 海水、海泥からの tdh 遺伝子検出と TDH 産生性腸炎ビブリオの分離

		調 査 月 日									
		6/13	6/26	7/10	7/24	8/7	8/21	9/4	9/18	10/2	11/6
海水	tdh 遺伝子	0/5	0/5	1/5*	4/5	4/5	2/5	0/5	2/5	0/5	0/5
	O3:K6	0/5	0/5	1/5**	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	O4:K68	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
海泥	tdh 遺伝子	0/5	0/5	2/5	3/5	2/5	4/5	0/5	1/5	3/5	1/5
	O3:K6	0/5	0/5	1/5	1/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5
	O4:K68	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

* : PCR による tdh 遺伝子検出数/検体数

** : ピーズ法による血清型 O3:K6, O4:K68 の分離数/検体数

6や、過去、分離の多かったO4:K8は、調査期間を通じ、いずれの検体からも分離されなかった。最も高頻度に検出された血清型はO5:K17で、7月前半以降すべての地点（海水17件、海泥19件）において分離された。他に多く分離された血清型はO5:K30, O1:K32, O10:K24, O5:K15などであった。これらの血清型は、平成8年以降、食中毒患者から分離されていない。神奈川現象も陰性と推定されることから、これらは、富山湾の漁港内に多く生息する非病原性の腸炎ビブリオであると推定される。

海水1,000ml または泥10g を培養した3% TSB について、PCR 法により耐熱性溶血毒（TDH）遺伝子の有無を調べた。100検体中29検体がtdh 遺伝子陽性であった。その内訳は、6月0/20件、7月10/20件、8月12/20件、9月3/20件、10月3/10件、11月1/10件であり、7、8月の陽性率が高かった（表3）。TDH 遺伝子陽性となった検体からTDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6と O4:K68 の分離を試みたところ、29検体中5件（海水2件、海泥3件）より O3:K6 が分離された。また、O4:K68 は1件（海泥）より分離された。TDH 遺伝子が陽性となった検体は、検水250ml、125ml、60ml をそれぞれろ過したフィルターの培養液について、TDH 遺伝子の有無を調べたが、1件のみが250ml、125ml 培養で陽性となったほかは、いずれ

も陰性であった。このことは、前報[3]で考察したように、1,000ml あたり数個のレベルでしか TDH 産生菌が存在しないことを示している。

パルスフィールドゲル電気泳動により平成12年に分離された食中毒患者および散発患者由来株と環境（漁港）由来株の染色体 DNA 制限酵素切断パターンを比較した。ヒト由来 O3:K6 株は2つのパターンに分けられた。環境由来株 O3:K6 の3株のパターンは同じでこれと同じパターンはヒト由来株に認められた。散発患者と食中毒患者から分離された株と同じパターンを示した。また、8月に

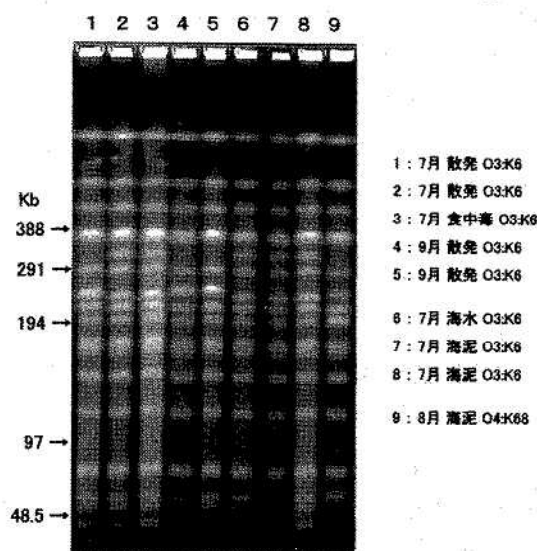


図1. 漁港海水および食中毒患者から分離された腸炎ビブリオのPFGEパターン

表3. 海水、海泥から分離された腸炎ビブリオの血清型分布

漁港	試料	6/13	6/26	7/10	7/24	8/7	8/21	9/4	9/18	10/2	11/6
生地	海水					O5:K17	O1:K32 O10:K24	O5:K17	O2:K28 O5:K15	O5:K17	O5:K17
	海泥					O5:K17				O5:K15 O5:K17	O5:K17
魚津	海水			O2:K28	O5:K17	O5:K17		O4:K13	O5:K17 O11:K18	O5:K15 O5:K17	O5:K17 O10:K24
	海泥			O5:K17 O5:K30		O5:K17 O10:K24	O5:K17 O11:K15		O5:K17 O9:K1	O5:K15	O5:K17
新湊	海水		O2:K28	O1:K32 O5:K17		O1:K32	O5:K17 O5:K30	O5:K17			O5:K17
	海泥			O1:K32 O5:K17 O5:K30			O5:K17	O5:K17	O5:K17	O4:K4 O5:K17	
氷見	海水	O10:K24	O3:K45		O1:K32 O5:K17	O3:K37	O5:K20 O10:K24	O5:K17 O10:K24	O5:K17	O5:K17	O5:K17
	海泥			O5:K17			O1:K33 O3:K7 O10:K24	O5:K17 O5:K20	O5:K17	O5:K28	
四方	海水					O5:K17	O5:K17	O5:K30	O5:K17 O5:K30	O5:K17 O5:K30	O5:K17
	海泥						O5:K17	O2:K28 O5:K17	O5:K17	O5:K17 O5:K30	

表4. 富山県における過去10年間の腸炎ビブリオ食中毒発生の推移

	平成3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
食中毒事件数	5	1	1	2	10	1	1	11	2	1
散発患者分離株数*	73	11	18	58	69	100	118	252	92	45

*：県内の定点公立病院で分離された菌株数

海泥より分離された O4: K68 は 8 月に食中毒患者より分離された O3: K6 と同一のパターンを示した。O4: K68 の食中毒事例からの分離は、県内でははないが、国内ではすでに報告がある [5]。血清型 O4: K68 は O3: K6 と抗原性は異なっているが遺伝学的に同じクローンであるとされており [6]、血清型 O3: K6 と同様にその動向が注目されている。富山県内の漁港内から O3: K6, O4: K68 が分離されたことは、いずれの菌も国内の環境に広く定着していることを示唆するものと思われる。患者からの分離だけでなく、環境中の分布状況の監視が重要である。

汚染実態調査は当面、非病原性株を含めた腸炎ビブリオを指標として行うことが考えられている [7] が、PCR 等による病原遺伝子のモニターや、TDH 産生菌を検出することもまた、汚染実態を把握し、食中毒発生の背景を知る上で有効であると考ええる。

謝辞：本調査にご協力いただいた富山県業務食品課および各保健所の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 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.
2. 小久保清治 (1969). 海洋生物学, 恒星社厚生閣水産学全集11, 200-202.
3. 刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 北村敬 (2000). 日食微誌, 17, 5-10.
4. 刑部陽宅, 細呂木志保, 島田俊雄 (1998). 感染症学雑誌, 72, 575-584.
5. 国立感染症研究所編 (1999). 病原微生物検出情報, 20, 167.
6. C. Matsumoto, J. Okuda, M. Ishibashi, M. Iwanaga, et.al (2000). J. Clin. Microbiol., 38, 578-585.
7. 食品衛生調査会乳肉水産食品部会水産食品衛生対策分科会 (平成12) 腸炎ビブリオによる食中毒防止対策に関する報告書

富山県における2000年の病原微生物検出情報

清水美和子 細呂木志保 田中大祐
磯部順子 北村 敬

Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 2000

Miwako SHIMIZU, Siho HOSOROGI, Daisuke TANAKA,
Junko ISOBE and Takashi KITAMURA

われわれは県内11か所（昨年までは12か所）の公立病院検査室、5か所の保健所、衛生研究所を定点として病原細菌検出の情報収集を行なっている。表1に2000年1月から12月までの検出情報を材料別・菌種別に集計した結果を示した。保健所と衛生研究所で検出された病原菌は、ほとんどが糞便材料由来であるが、それらを医療機関からの情報に含めた。また医療機関の各材料から分離される黄色ブドウ球菌については、MRSA（メチシリン耐性ブドウ球菌）の割合も本文中に示した。

表中の○で囲んだ数字は、食中毒など同一フォークスからの分離株が含まれていることを示し、（ ）内の数字は、海外旅行者の再掲である。

【糞便】分離株総数1,581株、前年比104%。最も多かったのは大腸菌の637株で、前年比109%であった。腸管出血性大腸菌は52株で、内訳は血清型O157が30株、O26が7株、O111が15株であるが、これらの中には5月にK病院で発生したO157集団感染症事例の12株、8～9月に保育園で発生したO111集団感染症事例の14株が含まれる。次は黄色ブドウ球菌で598株（そのうちMRSAは49%）であった。カンピロバクターは154株で前年比114%と増加した。サルモネラは105株で前年比74%と減少していたが、血清型O9（主にS. Enteritidis）は全体の72%で平成5年以来最も高率であり、前年比123%と増加していた。腸炎ビブリ

オは52株で前年比55%と減少していた。一方、9月には海外旅行帰りの集団食中毒事例があり、数種類の菌株が分離された。

2類感染症では、赤痢菌が5株分離され、すべてS. sonneiであった。3株は海外渡航歴のない患者、1株はインド旅行歴、1株はタイ旅行歴のある患者から分離された。

【穿刺液】分離株総数340株、前年比126%で、黄色ブドウ球菌（MRSAは60%）、大腸菌、コアグラゼ陰性ブドウ球菌などが多く分離された。

【髄液】分離株総数20株、前年比154%で、黄色ブドウ球菌（MRSAは50%）が半数の10株で、他にインフルエンザ菌が7株分離された。

【血液】分離株総数567株、前年比108%で、コアグラゼ陰性ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌（MRSAは66%）、大腸菌が多く分離された。

【咽頭および鼻咽喉】分離株総数1,361株、前年比113%で、インフルエンザ菌、肺炎球菌、A群溶レン菌が分離された。

【喀痰、気管吸引液および下気道】分離株総数6,760株、前年比102%で、黄色ブドウ球菌（MRSAは69%）、緑膿菌が特に多く、他に肺炎桿菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌などが多く分離された。

【尿】分離株総数7,013株、前年比92%で、最も分離株数が多い分離材料であった。大腸菌、腸球菌、緑膿菌、コアグラゼ陰性ブドウ球菌が特に多か

表1. 月別・菌種別の病原微生物検出状況 (2000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		1				4		1	3	3	1		13
Salmonella O7						1	2	1	1			1	6
Salmonella O8							1						1
Salmonella O9	2	2		5	1	1	8	15	11	19	9	3	76
Salmonella その他							3		1	3	1	1	9
Salmonella 群不明													
Yersinia enterocolitica					1		1		1	1			4
Y. pseudotuberculosis													
Vibrio cholerae O1													
Vibrio cholerae O139							1	1	1		1		4
Vibrio cholerae O1,139以外							3	29	7				52
Vibrio parahaemolyticus		1					12						1
Vibrio fluvialis								1					
Vibrio mimicus													
Aeromonas		1		1	2		2	3	1	2	1		13
Plesiomonas shigelloides									4(4)				4(4)
Campylobacter	6	2	7	13	25	15	13	23	7	11	19	14	154
Staphylococcus aureus	51	57	51	48	40	45	47	52	52	55	42	58	598
Clostridium perfringens									4(4)				4(4)
Clostridium botulinum													
Bacillus cereus													
Entamoeba histolytica													
Escherichia coli組織侵入性													
Escherichia coli毒素原性			2		1	2	2	24	10(10)				41(10)
Escherichia coli病原大腸菌	31	24	35	35	43	31	28	33	6(4)	21	30	38	410(4)
Escherichia coliEHEC/VTEC		1			18	2	4	18	3	3(1)	3		52(1)
Escherichia coliその他、不明	14	12	11	8	12	12	13	12	15(6)	9	7	9	134(6)
Shigella					1(1)	1	1(1)			2			5(2)
合 計	104	101	106	110	144(1)	118	138(1)	212	181(28)	129(1)	114	124	1581(31)

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。

2) 分離材料: 穿刺液 (胸水、腹水、関節液など)

Escherichia coli	9	5	6	7	8	3	5	2	5	2	13	6	71
Klebsiella pneumoniae	4	4	3	1	1	1	1	3	1	2	1	1	23
Haemophilus influenzae				1								1	2
Neisseria meningitidis													
Pseudomonas aeruginosa	9	4		6	3	3	1	3	7	3	1	4	44
Mycobacterium spp.						1							1
Staphylococcus aureus	8	5	5	6	9	12	12	11	5	6	13	17	109
Staphylococcus コアグラーゼ陰性	4	9	3	4	3	6	8	3	3	3	7	3	56
Streptococcus pneumoniae	1				2								3
Anaerobes	1	1	1	5		4	3		1	12	3		31
Mycoplasma pneumoniae													
合 計	36	28	18	30	26	30	30	22	22	28	38	32	340

平成13年10月1日

3) 分離材料: 髄液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>													
<i>Haemophilus influenzae</i>	1		1		1	1		2		1			7
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Listeria monocytogenes</i>		1											1
<i>Staphylococcus aureus</i>			1		1	1	1	1		1	4		10
<i>Streptococcus, B</i>													
<i>Streptococcus pneumoniae</i>					1	1							2
合 計	1	1	2	0	3	3	1	3	0	2	4	0	20

4) 分離材料: 血液

<i>Escherichia coli</i>	12	5	10	10	16	14	16	13	9	8	11	9	133
<i>Salmonella Typhi</i>													
<i>Salmonella Paratyphi A</i>													
<i>Salmonella spp.</i>									1			2	3
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	1			1	1		2			3	1	10
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	5	4	6	6	3	6	8	4	5	3	3	57
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	13	13	12	15	15	9	13	10	16	9	13	148
<i>Staphylococcus コグラーゼ陰性</i>	15	13	12	10	15	14	24	23	17	14	13	13	183
<i>Streptococcus, B</i>				1	2			1		2		2	8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4			2	2		1	1	1	1	2	2	16
<i>Anaerobes</i>	3				1		1		2		1	1	9
合 計	49	37	39	41	58	47	57	61	44	46	42	46	567

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>	60	36	53	46	74	51	30	31	31	45	59	70	586
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Streptococcus, A</i>	32	35	41	37	31	39	18	11	7	15	15	43	324
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	30	18	23	24	53	42	20	30	24	44	66	77	451
<i>C. diphtheriae</i>													
合 計	122	89	117	107	158	132	68	72	62	104	140	190	1361

6) 分離材料: 喀痰、気管吸引液および下気道の材料

<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	9	3	8	3	10	2	2	6	11	1	9	3	67
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	81	70	70	63	74	80	85	107	102	94	86	64	976
<i>Haemophilus influenzae</i>	44	56	43	31	65	46	41	25	29	35	32	32	479
<i>Legionella pneumophila</i>													
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	120	131	128	115	114	112	151	143	123	126	124	123	1510
<i>Staphylococcus aureus</i>	254	248	241	218	253	286	265	273	230	259	228	246	3001
<i>Streptococcus, A</i>	2	6	1	2	1	4	7	3	1		1		28
<i>Streptococcus, B</i>	21	13	10	12	18	20	15	14	11	19	15	15	183
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	50	51	40	35	39	48	33	47	39	53	39	42	516
<i>Anaerobes</i>													
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													
合 計	581	578	541	479	574	598	599	618	546	587	534	525	6760

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>	151	159	167	144	210	196	191	188	154	148	152	176	2036
<i>Enterobacter</i> spp.	20	18	12	18	20	16	34	27	18	21	25	21	250
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	29	25	25	27	36	42	36	52	42	42	44	46	446
<i>Acinetobacter</i> spp.	3	7	4	5	2	12	3	11	9	8	14	5	83
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	76	76	82	68	92	85	96	87	83	70	97	82	994
<i>Staphylococcus aureus</i>	35	57	48	55	50	62	51	49	39	41	43	53	583
<i>Staphylococcus</i> コアグラゼ陰性	72	80	81	81	56	89	92	91	75	63	76	55	911
<i>Enterococcus</i> spp.	120	99	116	103	137	108	104	97	85	86	98	105	1258
<i>Candida albicans</i>	42	33	27	43	55	36	39	39	36	31	32	39	452
合 計	548	554	562	544	658	646	646	641	541	510	581	582	7013

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	5	1		2	2	1		4	4	1	4	7	31
<i>Streptococcus</i> , B	56	52	58	26	28	44	53	37	42	51	35	58	540
<i>Chlamydia trachomatis</i>	11	5	7	8	6	9	3	10	10	17	7	7	100
<i>Ureaplasma</i>													
<i>Candida albicans</i>	127	103	119	100	104	138	135	156	141	142	120	112	1497
<i>Trichomonas vaginalis</i>	3	1	2	3	4	2	3	4	3		1	1	27
合 計	202	162	186	139	144	194	194	211	200	211	167	185	2195

ったが、黄色ブドウ球菌（MRSA は68%）、*Candida albicans*、肺炎桿菌なども多かった。

【陰部尿道頸管擦過（分泌）物】分離株総数2,195株、前年比95%で、特に *Candida albicans* が多く、その他に B 群溶連菌などが分離された。なお、

Chlamydia trachomatis、*Trichomonas vaginalis* は抗原検出による。

謝辞：県内11か所の公立病院と 5 か所の保健所の検査担当各位に感謝致します。

農産物中の残留農薬調査

齊藤行雄 大浦 徹 松永明信

Pesticide Residues in Agricultural Commodities

Yukio SAITO, Takashi OHURA and Akinobu MATSUNAGA

食糧を安定的に確保するうえで、農薬の使用は不可欠である。しかし、農薬は本来食品中に存在するものではなく、その安全性についての消費者の関心が高い。国内では安全性を最優先し人体に対してより低毒性であり、農作物への残留性の少ない薬剤が使用されている[1]。また、農薬取締法により、農薬安全使用基準[2]に合致した適正な農薬使用を散布者に義務づけているが、多量や多数回散布などの不正使用が行われた場合には食品や環境中に農薬が残留し、ヒト及び環境生物に有害な影響を及ぼす可能性がありうる。

そこで食品の安全性を確保するため、毎年、富山県内で生産される主要農産物中の残留農薬について、継続的調査を行っているところである。今回、1999年から2000年の調査結果を報告する。

材料と方法：試料は1999年7月から2000年11月にかけて県内生産のなす（試料数：4）、なし（2）、かき（2）、キャベツ（2）、だいこん（根、8）、玄米（12）及び米国産のオレンジ（1）、グレープフルーツ（1）の8種32試料を用いた。

試薬及び装置は、前報[3]及び厚生省通知[4]に従った。

調査農薬は、総計74農薬である。

含窒素系農薬ではイソプロカルブ、イプロジオン（イプロジオン代謝物含む）、エスプロカルブ、クロロプロファム、ジェットフェンカルブ、ジフェノコナゾール、チオベンカルブ、テニルクロール、

テブフェンピラド、トリアジメノール、パクロブトラゾール、ピテルタノール、ピリダベン、フェナリモル、フルシラゾール、フルトラニル、プレチラクロール、プロピコナゾール、ペンディメタリン、ミクロブタニル、メフェナセット、メプロニル及びレナシルの合計23農薬である。

N-メチルカーバメート系農薬はアルジカルブ、オキサミル、カルバリル（NAC）、フェノブカルブ（BPMC）、ベンダイオカルブ及びメチオカルブ（メチオカルブスルホキシド、メチオカルブスルホンを含む）の合計6農薬である。

有機リン系農薬ではEPN、アセフェート、イソフェンホス（イソフェンホスオキソン含む）、エディフェンホス（EDDP）、エトプロホス、エトリムホス、カズサホス、キナルホス、クロルピリホス、クロルフェンビンホス（E体及びZ体）、ジクロロボス（DDVP）、ジメトエート、ジメチルビンホス（E体及びZ体）、ダイアジノン、テルブホス、トルクロホスメチル、バミドチオン、パラチオン、パラチオンメチル、ピラクロホス、ピリミホスメチル、フェニトロチオン（MEP）、フェンスルホチオン、フェンチオン（MPP）、フェントエート（PAP）、ブタミホス、プロチオホス、ホサロン、ホスチアゼート及びマラチオンの合計30農薬である。

ピレスロイド系農薬はシハロトリン、シフルトリン、シベルメトリン、テフルトリン、デルタメトリン、トラロメトリン、フェンバレレート、フ

ルシトリネート、フルバリネート及びペルメトリンの合計10農薬である。

有機塩素系農薬はフサライド1農薬である。

その他の農薬はイマザリル、オルトフェニルフェノール、ジフェニル、チアベンダゾールの4農薬である。

分析方法は厚生省通知の残留農薬迅速分析法[4]を用いた。かんきつ類については厚生省告示法[5]で分析した。

結果及び考察：かんきつ類を除く農産物は含窒素系、N-メチルカーバメート系、有機リン系、ピレスロイド系及び有機塩素系農薬の合計70農薬を分析した。含窒素系農薬では、玄米2試料（検出率：17%）から殺菌剤フルトラニルが0.07ppm、0.10ppmの濃度で検出した。残留基準値は2.0ppmが設定されており、検出値は基準値の1/20～1/30であった。その他の試料は全てに不検出であった。フルトラニルは過去にも玄米から検出しており、1994年には6試料中4試料から0.02～0.04ppm[6]、1996年は4試料中1試料から0.11ppm[7]の各残留値であったことから、現在の使用農薬の中では残留し易い薬剤の一つと考えられる。N-メチルカーバメート系、有機リン系、ピレスロイド系及び有機塩素系農薬については、全試料で不検出であった。

かんきつ類については、その他の農薬である4農薬を分析した。オレンジからイマザリル1.6ppmを検出した。残留基準値は5.0ppmが設定されており、検出値は基準値の1/3であった。グレープフルーツからはチアベンダゾール6.0ppmを検出した。残留基準値はFAO/WHOのCODEX残留基準[8]や食品添加物の残存許容基準である10mg/kgの約1/2であった。これら2農薬の米国の残留基準値[8]は、ポストハーベスト処理のかんきつ類で各々10mg/kgが設定されている。数値が県内産農産物中の検出農薬に比較して高く、米国において収穫後の防かび処理に使用されたものと考えられる。

最近の国内における残留農薬調査の中では、玄米中のフルトラニル[9]、かんきつ類中のイマザ

リル[10, 11, 12]及びチアベンダゾール[10, 11, 12]の残留報告例がある。本調査でのこれら農薬残留量は報告例と比べて同程度であった。

調査した農産物は、告示の残留農薬検体採取部位に基づいて玄米は未精白のまま粉碎し、かんきつ類は剥皮せず果実全体（全果）を分析したものである。かんきつ類果肉中のイマザリル及びチアベンダゾール濃度では全果の約5%以下の濃度で検出される[11]ことから、実際の喫食では精白、剥皮などにより、更に農薬が減少するものと推察される。これらのことから農産物中に残留していた農薬は、喫食上特に問題はないものと考えられる。

文 献

1. 総合食品安全事典編集委員会(1995). 総合食品安全事典, 136-169, 産業調査会事典出版センター.
2. 化学工業日報社 (1998). 1998年版農薬の手引, 867-908, 化学工業日報社.
3. 齊藤行雄, 大浦敏, 大戸幹也, 松永明信(1999). 富山衛研年報, 22, 198-200.
4. 厚生省通知衛化第43号. 平成9年4月8日.
5. 厚生省告示第200号. 平成5年9月14日.
6. 齊藤行雄, 山本 敦, 松永明信 (1995). 富山衛研年報, 18, 151-157.
7. 齊藤行雄, 大浦 敏, 大戸幹也, 松永明信 (1997). 富山衛研年報, 20, 197-198.
8. 食品薬品安全センター編(2000). 残留農薬基準2000, Commodity/Chemical Database Ver3.10.
9. 愛知県衛生研究所 (2000). 愛知衛研年報, 28, 81-84.
10. 小林麻紀, 永山敏廣, 高野伊知郎, 伊藤正子, 田村康宏, 木村奈穂子, 北山恭子, 高田千恵子, 安田和雄 (1999). 東京衛研年報, 50, 151-157.
11. 兵庫県衛生研究所 (1999). 兵庫衛研年報, 34, 58-61.
12. 細貝祐太郎, 中澤裕之, 西島基弘 (1998). 食品衛生化学物質データブック, 983-986, 1145-1146, 中央法規出版.

富山湾内産魚類中の10元素の含有量調査

大戸 幹也 高柳 信孝 大浦 徹 松永 明信

Survey of 10 Elements in Fishes Collected from Toyama Bay

Mikiya OHTO, Nobutaka TAKAYANAGI, Takashi OHURA and Akinobu MATSUNAGA

富山湾は、日本海側最大級の湾で、自然的条件に恵まれ、多種多様な魚が水揚げされる豊富な漁場となっている。鮮度の良い魚は本県が誇る特産の一つであり、県民の魚介し好も根強い。一方、消費者の意識も変化しており、価格より安全で安心な食材を求める要求が高まっている。そこで我々は富山湾内産魚類の安全性を確認するため、含有量によっては有害な生理作用が考えられる10種類の元素〔ヒ素 (As)、カドミウム (Cd)、コバルト (Co)、クロム (Cr)、銅 (Cu)、マンガン (Mn)、ニッケル (Ni)、鉛 (Pb)、セレン (Se) 及び亜鉛 (Zn)] を選択し、富山湾内産魚類中の無機元素含有量調査を行い、昭和50年に測定したデータ〔1〕と比較して約四半世紀間の経時変化の観察を行った。

材料および方法：

(1) 検体の採取：検体は、平成9年11月17、18日及び平成12年11月13、14日に富山湾内で捕獲され、富山県内の魚市場で販売された25魚種総計41検体を用いた。サンプリング方法は、昭和48年7月23日付け、厚生省環境衛生局長通知環乳第99号に従い、可食部をホモジナイズ後、試験に供した。

(2) 試験溶液の調製と原子吸光分析

(a) 分解液の調製：検体1 gに硝酸10mlを添加し、マイクロウエーブ分解装置（アステック社製、MARS 5）で高圧湿式分解を行った。装置は、1200W 出力、温度制御方式で以下の条件で行っ

た。

Stage 1：室温→100℃（10分間昇温，5分間保持）

Stage 2：100℃→125℃（3分間昇温，2分間保持）

Stage 3：125℃→150℃（3分間昇温，2分間保持）

Stage 4：150℃→175℃（3分間昇温，2分間保持）

Stage 5：175℃→200℃（3分間昇温，5分間保持）

冷却後、分解液を精製水で50mlに希釈して試験溶液を調製した。

(b) 原子吸光分析：食品衛生指針〔2〕、上水試験方法〔3〕に準拠してCd、Co、Cr、Cu、Mn、Ni及びPbは、フレイムレス-原子吸光分析（島津GFA-6500グラファイト炉原子化装置、AA-6700F原子吸光分光光度計）を、Znは、フレイム-原子吸光分析を行った。Seは、試験溶液5 mlを0.2N塩酸で20mlに希釈し、これを島津HVG-1水素化物発生装置（水素化物発生用試薬として、①水素化ホウ素ナトリウム溶液：0.5%水酸化ナトリウム含有0.4%水素化ホウ素ナトリウム溶液及び②酸液：5 N塩酸を使用）で水素化物に還元し、島津SARF-16アトミックマッフル炉（原子化温度：1000℃）で原子化して原子吸光分析した。また、Asは、試験溶液5 mlを2%ヨウ化カリウム-1 N塩酸溶液で50mlに希釈し、以下Seと同様な方法で分析した。

結果及び考察：

(1) 前処理及び測定方法

多数の検体を無機物に迅速に分解するため、今

Table Contents of 10 Elements in Fishes collected from Toyama Bay

No.	Sample	As	Cd	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Se	Zn
1	Sake (Dog salmon)	nd	0.0023	nd	nd	0.24	0.064	nd	nd	0.267	3.35
2	Shiira (Dolphinfish)	nd	nd	nd	nd	0.17	0.059	nd	0.10	0.351	3.18
3	Fugu (Puffer)	nd	0.0025	nd	0.125	0.14	0.048	nd	0.20	0.289	7.06
4	Aji (Japanese horse mackerel)	0.138	nd	nd	nd	0.25	0.042	nd	nd	0.368	4.13
5	Kawahagi (Filefish)	nd	nd	nd	nd	0.12	0.124	nd	0.20	0.301	3.57
6	Katsuo (Skipjack)	nd	nd	nd	nd	1.52	0.156	nd	0.13	0.304	4.81
7	Mejina (Girella)	0.110	nd	nd	nd	0.17	0.061	nd	0.28	1.17	3.48
8	Koulika (Cuttlefish)	0.072	0.0166	nd	nd	0.49	0.030	nd	nd	0.391	18.3
9	Madai (Red sea-bream)	nd	nd	nd	nd	0.15	0.050	nd	nd	0.336	3.67
10	Buri (Yellowtail)	nd	nd	nd	0.020	0.41	0.080	nd	nd	0.286	3.76
11	Buri (Yellow tail)	nd	nd	nd	nd	0.55	0.116	nd	0.33	0.344	4.31
12	Sake (Dog salmon)	nd	0.0298	nd	nd	0.69	0.033	nd	0.11	0.260	4.48
13	Suzuki (Japanese sea bass)	nd	nd	nd	nd	1.07	0.038	nd	0.17	0.196	4.87
14	Katsuo (Skipjack)	nd	0.0085	nd	nd	1.12	0.113	nd	nd	0.696	4.62
15	Kamasu (Brown barracuda)	nd	nd	nd	nd	0.28	0.073	nd	nd	0.311	3.79
16	Hokke (Pacific ribbed sculpin)	nd	0.0096	nd	nd	0.38	0.049	nd	nd	0.289	3.75
17	Aorika (Bigfin reef squid)	nd	nd	nd	nd	0.52	0.059	nd	nd	0.236	10.1
18	Tara (Pacific cod)	0.091	0.0055	nd	nd	0.25	0.060	nd	nd	0.111	4.50
19	Madai (nature) (Red sea-bream(nature))	nd	nd	nd	nd	0.10	0.045	nd	nd	0.214	2.95
20	Madai (culture) (Red sea-bream(culture))	nd	nd	nd	nd	0.13	0.040	nd	nd	0.257	3.30
21	Hirame (Bastard halibut)	nd	nd	nd	nd	0.22	0.227	nd	nd	0.342	4.44
22	Shirosabafugu (Lagocephalus wheeleri)	0.050	nd	nd	nd	0.22	0.049	nd	nd	0.225	9.94
23	Kawahagi (Filefish)	0.090	nd	nd	nd	0.11	0.570	nd	nd	0.294	3.35
24	Ishidai (Japanese parrot fish)	0.069	nd	nd	nd	0.12	0.289	nd	nd	0.165	3.32
25	Watarigani (Swimming crab)	0.062	0.0026	nd	0.025	2.69	0.258	nd	nd	0.316	38.5
26	Kamasu (Brown barracuda)	nd	nd	nd	nd	0.30	0.052	nd	nd	0.290	3.22
27	Aji (Japanese horse mackerel)	nd	0.0040	nd	0.106	0.31	0.112	nd	0.23	0.325	3.09
28	Sayori (Halfbeak)	0.180	0.0045	nd	nd	0.27	0.238	nd	0.25	0.405	9.54
29	Katsuo (Skipjack)	nd	0.0101	nd	0.026	0.96	0.155	nd	nd	0.910	5.29
30	Megimuguro (Black tuna)	nd	nd	nd	nd	0.81	0.095	nd	nd	0.556	4.44
31	Kawahagi (Filefish)	nd	nd	nd	nd	0.81	0.163	nd	0.16	0.270	3.34
32	Kochi (Flat head)	nd	nd	nd	nd	0.25	0.072	nd	nd	0.736	3.63
33	Shirosabafugu (Lagocephalus wheeleri)	0.050	nd	nd	nd	0.16	0.050	nd	nd	0.231	5.40
34	Aorika (Bigfin reef squid)	0.070	nd	nd	nd	0.78	0.090	nd	1.33	0.267	11.8
35	Buri (Yellow tail)	nd	nd	nd	nd	0.48	0.042	nd	nd	0.195	4.73
36	Surumeika (Calamary)	0.057	0.0653	nd	nd	1.88	0.106	nd	nd	0.259	11.4
37	Mejina (Girella)	0.208	nd	nd	0.301	0.18	0.148	0.13	nd	0.086	3.29
38	Kamasu (Brown barracuda)	nd	nd	nd	nd	0.11	0.077	nd	nd	0.294	3.82
39	Aji (Japanese horse mackerel)	nd	0.0033	nd	0.042	0.79	0.124	nd	nd	0.461	6.68
40	Shimadai (Japanese parrot fish)	0.141	nd	nd	nd	0.27	0.108	nd	0.28	0.203	3.97
41	Iwashi (Sardine)	0.063	nd	nd	0.026	0.70	0.935	nd	nd	0.439	9.87
Detected Sample Number		15	13	0	8	41	41	1	13	41	41
Mean		0.097	0.0127	-	0.084	0.516	0.129	0.13	0.29	0.347	6.22
SD		0.049	0.0176	-	0.097	0.532	0.162	-	0.320	0.205	6.07
Min.		nd	nd	nd	nd	0.10	0.030	nd	nd	0.086	2.95
Max.		0.208	0.0653	nd	0.301	2.69	0.935	0.13	1.33	1.17	38.5

nd: As < 0.05, Cd < 0.002, Co < 0.05, Cr < 0.02, Ni < 0.1, Pb < 0.1

回マイクロウェーブ高圧湿式分解装置を使用した。1検体を試験溶液まで調製する処理に要した時間は、約2時間で、従来2～3昼夜要した作業を極めて短時間で行った。また、この後緊急時の大量試験にも対応できるように分解溶液の希釈操作後直ちに原子吸光分析した。

検体へのCd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Se及びZnの9元素の各添加回収試験（添加レベル0.2または2 $\mu\text{g/g}$, $n=5$ ）は、87.5～108.8%の範囲にあり、CVも10%以内で満足できる結果が得られた。

Asは、試験溶液を直接測定すると、高濃度で含まれる酸化性の強い硝酸の影響を受けて、水素化物への還元反応が妨害されることが予想された。そこで硝酸濃度と添加回収試験（2 $\mu\text{g/g}$, $n=5$ ）の回収率の関係を調査したところ、硝酸濃度1.1Nでは回収率30%、硝酸濃度0.56Nでは64.5%（CV2.4%）、硝酸濃度が0.28Nでは、90.0%（CV2.5%）であった。硝酸濃度の減少に従って回収率が上昇する傾向が得られ、0.28Nでは良好に測定できることが判明した。従ってAsの測定は試験溶液を10倍希釈して行った。

(2) 調査結果

41検体中の10種類の元素含有量をTableに示した。

As含有量：41検体中15検体に検出され（不検出は0.05 $\mu\text{g/g}$ 未満）、検出率は36.6%、最も高い含有量は、メジナの0.208 $\mu\text{g/g}$ であった。検体の平均値は、検出された検体の平均で算出し、0.097 $\mu\text{g/g}$ であった。昭和50年11月及び昭和51年2月に採取された魚類の分析値（昭和51年度当所年報報告値）[1]では、分析した74検体全てにAsが検出され、平均値は1.05 $\mu\text{g/g}$ であった。今回の平均値はこの値と比較すると約1/10になっており、四半世紀の間に魚類中の含有量は非常に低くなっている傾向がみられた。

Cd含有量：13検体に検出され（不検出は0.002 $\mu\text{g/g}$ 未満）、検出率は31.7%、最大値は、スルメイカの0.0653 $\mu\text{g/g}$ であり、平均値は0.0127 $\mu\text{g/g}$ であった。昭和51年度年報値では、魚類79検体中48検体から検出され（不検出は、0.01 $\mu\text{g/g}$ 未満）、

検出率は60.8%、最大値はイワシの0.10 $\mu\text{g/g}$ 、平均値は、0.02 $\mu\text{g/g}$ であった。今回の値はこれと比較すると不検出値が低くなっているにもかかわらず検出率は約1/2に、平均値は約1/1.6となっており、魚類中の含有量は低くなっている傾向がみられた。Cdは、イカ、カニ類には、多量に含まれている報告[4]がある。これらを除いて平均値の比較を行ったが、約1/2.6で低くなった傾向は変わらなかった。

Cu含有量：検体全てに検出された。最大値はワタリガニの2.69 $\mu\text{g/g}$ で、最小値はマダイの0.10 $\mu\text{g/g}$ 、平均値は、0.516 $\mu\text{g/g}$ であった。イカ、カニ類で含有量が高い傾向が見られた。昭和51年度年報値でも魚類全ての77検体で検出され、最大値は、イカの8.9 $\mu\text{g/g}$ 、最小値はヒラメの0.10 $\mu\text{g/g}$ 、平均値は、0.868 $\mu\text{g/g}$ であった。CuもCdと同じく魚種による差が考えられ[4]、イカ、カニ類を除いて比較を行ったところ、平均値は、約1/1.3の減少であり、ほぼ変わらない傾向であった。

Mn含有量：検体全てに検出された。含有量の最大値は、イワシの0.94 $\mu\text{g/g}$ 、最小値はコウイカの0.03 $\mu\text{g/g}$ で平均値は、0.129 $\mu\text{g/g}$ であった。昭和51年度年報値でも魚類全ての79検体で検出され、含有量の最大値は、カマスの1.80 $\mu\text{g/g}$ 、最小値はタラの0.060 $\mu\text{g/g}$ 、平均値は、0.341 $\mu\text{g/g}$ であった。平均値を比較すると、1/2以下になっておりであり、魚類中の含有量は低くなっている傾向がみられた。

Ni含有量：メジナ1検体のみから0.13 $\mu\text{g/g}$ 検出した（不検出は0.1 $\mu\text{g/g}$ 未満）。昭和51年度年報値では、魚類75検体中45検体から検出され（不検出は0.1 $\mu\text{g/g}$ 未満）、最大値は、ハマチの1.90 $\mu\text{g/g}$ 、平均値は、0.296 $\mu\text{g/g}$ であり、魚類中の含有量は低くなっている傾向がみられた。

Pb含有量：13検体に検出され（不検出は0.1 $\mu\text{g/g}$ 未満）、検出率は31.7%、検出された検体の最大値はアオリイカの1.33 $\mu\text{g/g}$ 、平均値は、0.290 $\mu\text{g/g}$ であった。昭和51年度年報値では、魚類78検体中53検体から検出され（不検出は0.1 $\mu\text{g/g}$ 未満）、検出率は、67.9%、最大値は、イカの0.50 $\mu\text{g/g}$ 、平均値は、0.172 $\mu\text{g/g}$ であった。検出率では、ほ

は半減した。しかし、平均値は、約1.7倍高くなった傾向がみられた。

Se 含有量：検体全てに検出された。最大値は、平成12年採取メジナの $1.17 \mu\text{g/g}$ 、最小値は平成9年採取メジナの $0.086 \mu\text{g/g}$ で、平均値は、 $0.347 \mu\text{g/g}$ であった。昭和51年度年報値でも魚類全ての77検体で検出され、最大値は、カレイの $1.22 \mu\text{g/g}$ 、最小値はタラの $0.060 \mu\text{g/g}$ 、平均値は、 $0.330 \mu\text{g/g}$ であった。魚類中の含有量はほぼ変わらない傾向であった。

Zn 含有量：検体全てに検出された。最大値は、ワタリガニの $38.5 \mu\text{g/g}$ 、最小値はマダイの $2.95 \mu\text{g/g}$ で平均値は、 $6.22 \mu\text{g/g}$ であった。昭和51年度年報値でも魚類全ての77検体で検出され、最大値は、カタクチイワシの $20.3 \mu\text{g/g}$ 、最小値はクロハチメの $2.8 \mu\text{g/g}$ 、平均値は、 $6.24 \mu\text{g/g}$ であり、魚類中の含有量はほぼ変わらない傾向であった。Znは、CdやCuと同じく、魚類に比べてイカ、カニ類では多量に含まれている報告があり[4]、これらを除いて平均値の比較を行ったが、約1/1.2ではほぼ変わらない傾向は一致した。

Co 含有量：今回はじめて調査したが、全て不検出であった。（不検出は $0.05 \mu\text{g/g}$ ）

Cr 含有量：今回はじめて調査した。8検体に検出され（不検出は $0.02 \mu\text{g/g}$ 未満）、最大値は、メ

ジナの $0.301 \mu\text{g/g}$ であり、検出率は19.5%、平均値は $0.084 \mu\text{g/g}$ であった。

マイクロウェーブ高圧湿式分解装置を用いて、富山湾内産25魚種41検体中の10種類の元素含有量調査を行ったところ、極めて短時間に前処理が実行でき、緊急時の大量試験への適用の可能性が確認できた。元素含有量を前回約25年前の値と比較したところ、検出検体の平均値でAsは約1/10に減少した傾向が認められた。As以外の9元素については大きな変動はなかった。現在も富山湾の豊富な魚類は安全な資源であることが確認できた。安心して暮らせる生活を守るためにも今後も衛生学的調査は続けて行きたい。

文 献

1. 化学部 (1976). 富山県衛生研究所年報, 107-110.
2. (社) 日本食品衛生協会 (1991), 食品衛生検査指針, p168-211.
3. 日本水道協会 (1993), 上水試験方法, p246-323.
4. 岡威, 甲山祥彦, 末木賢二, 住本建夫, 田口修三, 田中涼一 (1987). 大阪府立公衛研所報, 18, 47-58

アシュラムのオンライン固相抽出 HPLC 分析に適した充填剤

山本 敦 古野正浩* 松永 明信

A Resin Suitable for On-Line Solid-Phase Extraction of Asulam with HPLC Analysis

Atsushi YAMAMOTO, Masahiro FURUNO and Akinobu MATSUNAGA

ゴルフ場で使用された農薬による環境汚染を発端として、水道水中における残留農薬の基準値、指針値、目標値が定められ[1]、現在規制農薬は45種にも及ぶ。基本的にこれらの農薬は、溶媒抽出による濃縮操作を行なった後、ガスクロマトグラフ/質量分析計や高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で測定される。多量の有機溶剤の使用が環境や人体へ及ぼす影響を考慮し、環境水中農薬の濃縮においては溶媒使用量を低減した固相抽出(SPE)法が直ちに普及した[2]。さらにHPLCで分析される農薬については、固相抽出カラムを分析ラインに直接導入したオンラインSPE法も開発されている[3]。オンラインSPE-HPLC法では濃縮した試料の全量をHPLCに導入できるので試料量の低減が図れる。また、溶出液の濃縮やメスアップが必要無いので、分析時間の短縮も可能になる。

ところでHPLC分析農薬に含まれるアシュラムは、他の農薬に比べて極性が高く、水溶性も高いため($\log P_{o/w} = -0.27$)、普遍的なSPE用基材であるオクタデシルシラン基(ODS)導入シリカゲルによる捕集は難しい。著者らはアシュラムの陰イオン性を利用し、試験溶液中に四級アンモニウム塩を添加してイオン対を形成させ、ODSカートリッジに捕集することに成功した[4]。しかしこの方法では、過剰のアンモニウム塩がベース

ラインを不安定化し、試験溶液の調製にも手間がかかる。そこで今回、HPLC分析ゴルフ場農薬の一斉分析を視野に入れて、アシュラムが直接捕集可能な充填剤の探索を試みた。

実験方法: HPLC装置は、東ソーのCCPDポンプ、Shodexのデガッサ、レオダインの7125インジェクタ、島津のCTO-10AC恒温槽及び同SPD-10AV吸光度検出器で構成した。インジェクタのループ部分にはジーエルサイエンス社製極性ポリマ樹脂(PLS-3をベースに改良したもの)が充填されたカートリッジを装着したガードカラムホルダを接続した。分析カラムには和光のWakosil-II 5 C18Rs (4.6 mm i.d. $\times$ 25 cm)を用い、7 mM リン酸/アセトニトリル(3+1)移動相を0.7 mL/minで送液した。カラム温度は40℃、検出は270 nmで行なった。

アシュラムはジーエルサイエンス社より購入した。リン酸は和光特級品、アセトニトリルは同HPLC用を用いた。超純水の調製は東レ(株)のTORAYPURE LV-05によった。

検水は0.45 μ mのメンブランフィルタでろ過後、その500 μ LをLCに注入した。SPEカートリッジへの通液量を確認する目的で、カートリッジからの溶出液の重量を測定した。定量は絶対検量線法を用いてピーク高さにより行なった。

結果および考察: まず、ODSを高い化学修飾率で

* ジーエルサイエンス(株)技術開発部

導入し、従来の ODS 基材に比べて保持の強いと言われている ジーエルサイエンス社製の Inertsil ODS-3 について検討した。しかし、疎水性相互作用を利用する ODS カラムでは、アシュラムのような高極性物質を効率よく捕集することはできなかった (Table 1)。

そこで、極性を持ったアクリルアミド系のポリマ樹脂 (PLS-3) を 4 mm i.d. $\times$ 10 mm のステンレスカラムに乾式充填したものを濃縮カラムに用いた。この樹脂は、表流水 1 検体を除いて、アシュラムをほぼ定量的に捕集することができた (Table 1)。しかし樹脂からの脱着に難があり、クロマトグラム上でのアシュラムのピークはブロードなものとなった (Fig. 1 a)。これは移動相の溶出力に問題があるのではなく、樹脂の充填密度が疎なために空隙が広く、注入したアシュラムが濃縮カラム内に広く分布した結果と推定された。

Table 1. Recoveries of Asulam spiked at 2 μ g/L in water samples

sample water	ODS-3	polymer (60 μ m)	polymer (20-30 μ m)
surface water	-	42%	85%
ground water #1	-	84%	108%
ground water #2	12%	-	95%
ground water #3	13%	-	100%
ground water #4	-	-	87%
ground water #5	-	-	100%
ground water #6	-	112%	103%
ground water #7	14%	85%	113%

このポリマの物性値を改良した樹脂 (比表面積 600 m²/g, 細孔系 60 Å, 粒径 20-30 μ m) がガードカートリッジ (3 mm i.d. $\times$ 10 mm) に充填されたものについて検討した。充填密度の高い本カートリッジでは、アシュラムがカートリッジ先端部分に濃縮され、バックフラッシュ方向の移動相によって容易に脱着されるため、アシュラムのピークは非常にシャープなものとなって感度が改善された結果、試料注入量を減らすことができた (Fig. 1 b)。井戸水 7 検体、表流水 1 検体について本カートリッジでの添加回収実験を行なったと

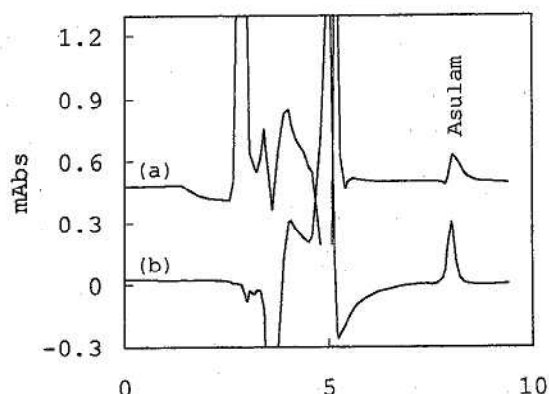


Fig 1. Chromatograms of ground water spiked with 2 μ g/L Asulam submitted to on-line solid-phase extraction. (a) 2 mL of sample was injected onto polymer resin with particle size of 60 μ m and (b) 500 μ L was done onto improved polymer of 20-30 μ m.

ころ、アシュラム 2 μ g/L 添加時では 98.9% $\pm$ 9.7% と良好であった (Table 1)。また検水 500 μ L 注入時には、アシュラム 0.1 μ g/L 程度のピークが確認でき、水質目標値 0.2 mg μ L に対して充分すぎるほどの感度を示した。

今後は、オキシ銅やイプロジオンといった他の HPLC 分析農薬との一斉分析が可能な移動相条件の構築に取り組みたい。

文 献

1. 厚生省令第69号：「水質基準に関する省令」，平成4年12月21日；厚生省生活衛生局水道環境部長通達 衛水第264号：「水道水質に関する基準の制定について」，平成4年12月21日。
2. 古谷博，下田秀美，山口信夫，水道協会雑誌，60 (11)，1991，21。
3. 大戸幹也，山本敦，松永明信，水上英一，分析化学，43，1994，71。
4. 山本敦，大戸幹也，細呂木志保，松永明信，水上英一，衛生化学，38，1992，371。

イオンクロマトグラフィーによる温泉水中の陽イオンの分析

高柳 信孝 健名 智子 松永 明信

Analysis of Inorganic Cations in Mineral Spring Water by Ion Chromatography

Nobutaka TAKAYANAGI, Tomoko KEMMEI and Akinobu MATSUNAGA

イオンクロマトグラフィー (IC 法) はイオンの一斉分析が可能な分析法であり、種々公定法に採用されている。1997年の鉱泉分析法指針改定の際にも、陰イオンの一斉分析法として採用されている。一方、温泉水中の主要陽イオンであるアルカリ金属及びアルカリ土類金属について、鉱泉分析法指針では、炎光光度法あるいは原子吸光光度法の個別試験法のままである。しかし、深澤が温泉法施行規則第5条第2項の規定に基づく指定分析機関を対象として行ったアンケート調査 [1] では、主要陽イオンの分析に、省力化および高精度分析が期待できる IC 法や ICP 法などの一斉分析可能な方法が、かなりの機関で採用されていることが報告されている。IC 法による温泉水中の陽イオンの分析については、世取山等 [2] が溶離液のグラジエントあるいは流速の切り換えにより、二価イオンの一斉分析を行っている。また、市本等 [3] はアイソクラティックな条件の IC 法を報告している。いずれもリチウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム及びカルシウムの各イオンを分析対象としている。著者等は、これらの対象イオンに、アンモニウムイオンと温泉の定義に係るイオンであるストロンチウムイオン及びバリウムイオンを追加し、温泉水中陽イオン分析への IC 法適用の是非について検討を行った。

材料と方法：富山県内の温泉水25検体 (泉質の内訳は Na-Cl・HCO₃ 泉 5 検体, Na-Cl 泉 4 検体, アルカリ性単純温泉 3 検体, 泉質なし 3 検体, 単純

温泉 2 検体, 酸性・含 Fe (II)-Al-SO₄ 泉, 含 S-Na・Ca-Cl 泉, 単純鉄泉, Na-SO₄ 泉, Na-HCO₃ 泉, 含 Fe (II)・S-Na-Cl 泉, Na・Ca-Cl 泉, 及び Na・Ca-SO₄・Cl 泉が各々 1 検体) について、IC 法により、リチウム、ナトリウム、アンモニウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、ストロンチウム及びバリウムの各イオンを測定した。IC 装置はダイオネクス DX-500 (装置構成は、グラジエントポンプ GP-40, 恒温槽 LC-30, 電気伝導度セル付電気化学検出器 ED-40 及びオートサンプラー AS-3500) を用いた。分析カラムは IonPac CS12A (4×250mm) を、ガードカラムは IonPac CG12A (4×50mm) を用いた。溶離液はメタンスルホン酸の濃度を 10mM → (0.4/min.) → 22mM と変化させ、流速は 1.0ml/min. とした。なお、溶離液中の陽イオンはカチオントラップ CTC-1 を接続して除去した。カラム温度は 33℃, 注入量は 10μl とした。サプレッサーは、CSRS-ULTRA を使いオートサプレッションリサイクルモードで使した。定量はピーク面積法で行った。また、同じ検体について、従来法としてナトリウムイオン及びカリウムイオンは炎光光度法 (FES 法), カルシウム、マグネシウム、リチウム及びストロンチウムの各イオンは原子吸光光度法 (AAS 法) で測定し、このうちリチウムイオン及びストロンチウムイオンは標準添加法で行った。アンモニウムイオンは、インドフェノール法 (直接法) で測定した。

結果及び考察：今回用いた分析カラム IonPac CS12A では、8成分のうちナトリウムイオンとアンモニウムイオンのピークが接近しており、温泉水のようにナトリウムイオン濃度が高く、アンモニウムイオンに対する比率も高い場合は、アイソクラティックな溶離条件で短時間に分析することは困難であったため、グラジエント溶離を行った。IC 装置に各イオンの種々濃度の標準液を注入して検量線を作成した。Fig. 1 に混合標準液のクロマトグラムを示した。リチウムイオンでは $0.01 \sim 1 \text{ mg/l}$ 、ナトリウムイオンでは $1 \sim 100 \text{ mg/l}$ 、カリウムイオンでは $1 \sim 100 \text{ mg/l}$ 、マグネシウムイオンでは $0.05 \sim 5 \text{ mg/l}$ 、カルシウムイオンでは $0.5 \sim 50 \text{ mg/l}$ 、ストロンチウム

イオンでは $0.05 \sim 5 \text{ mg/l}$ 、バリウムイオンでは $0.05 \sim 5 \text{ mg/l}$ の範囲で良好な直線性が確認された（バリウムイオンは $r=0.999$ 、その他はすべて $r=1.000$ ）。アンモニウムイオンは $0.1 \sim 10 \text{ mg/l}$ の範囲では上に凸の2次曲線に近似されることが確認された（ $r=1.000$ ）。この現象は、サプレッサーにより試料水中の陰イオンが水酸イオンと交換されて pH が高くなり、アンモニウムイオンの一部が非解離性となることに起因するものと考えられる。

今回対象とした陽イオン以外で、比較的多く含まれる鉄およびマンガンの影響を調べた。鉄イオン 10 mg/l の標準液を IC 装置に注入したところ、微量のナトリウムイオン以外は検出されな

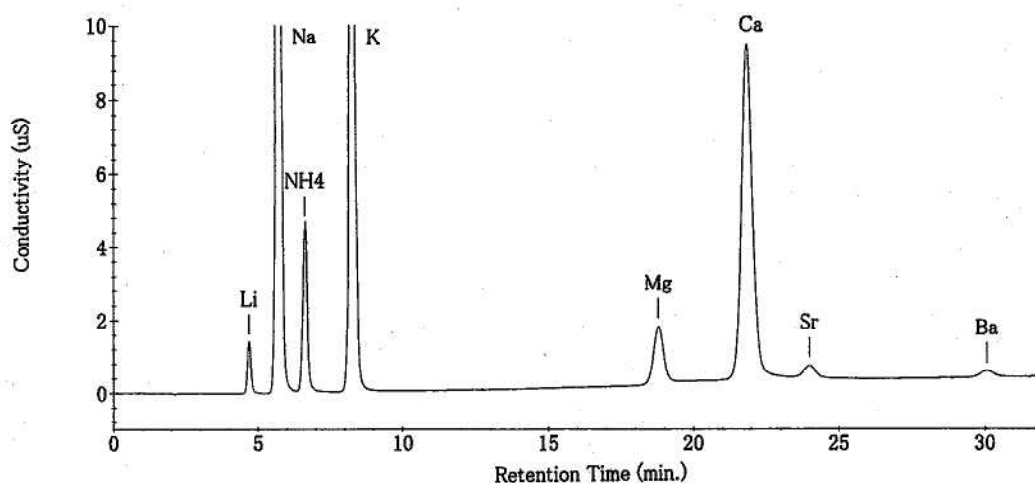


Fig. 1. Ion Chromatogram of Standard Solution

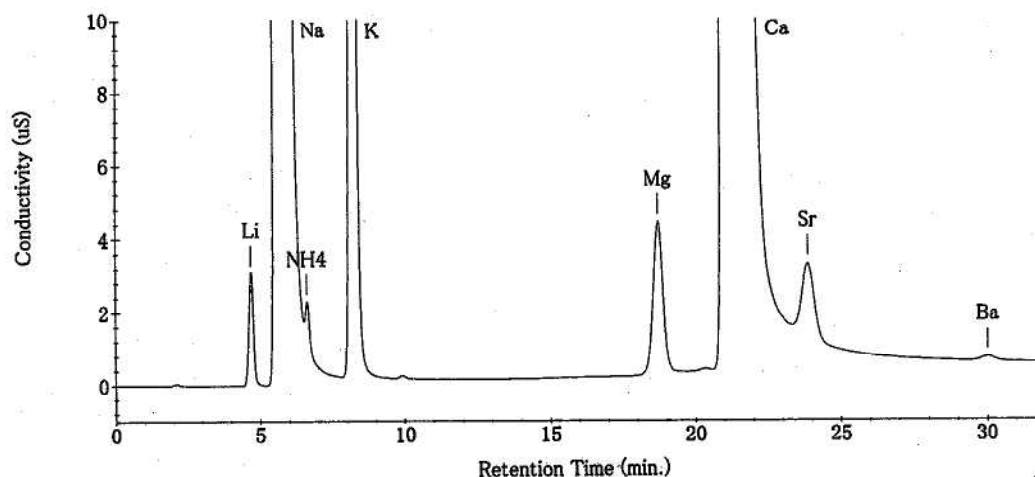


Fig. 2. Ion Chromatogram of Mineral Spring Water

った。これは、サプレッサー方式の陽イオンクロマトグラフィーでは陰イオンが水酸イオンに交換されるため、鉄（Ⅱ，Ⅲ）イオンは溶解度積定数の小さい水酸化物となり、電気伝導度検出器では検出されないものと考えられる。また、マンガンイオン10mg/lの標準液を注入したところ、マグ

ネシウムイオンとカルシウムイオンの間にピークが出現するが、他のイオンの測定の妨害とはならないことが分かった。

県内の温泉水25検体（100ml 当たり有害金属測定用塩酸1 mlを添加したもの）を、超純水で5～100倍に希釈してIC装置に供した。Fig. 2に温

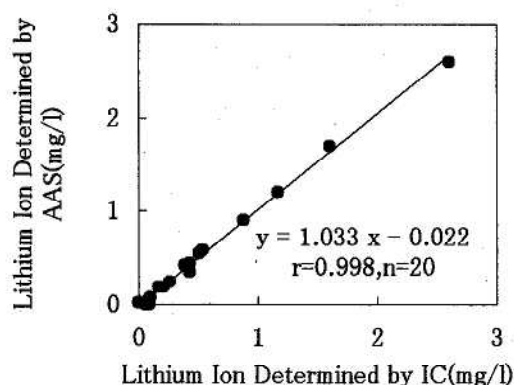


Fig. 3. Comparison of the Results for the Determination of Lithium Ion by IC and AAS

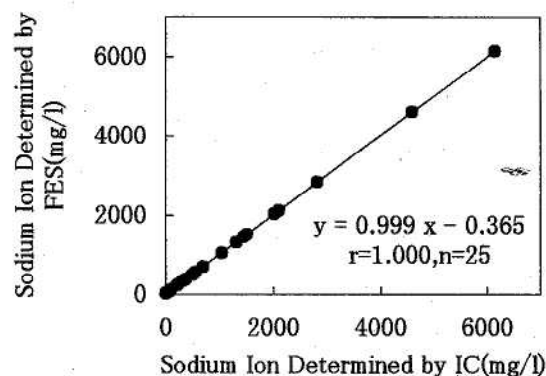


Fig. 4. Comparison of the Results for the Determination of sodium Ion by IC and FES

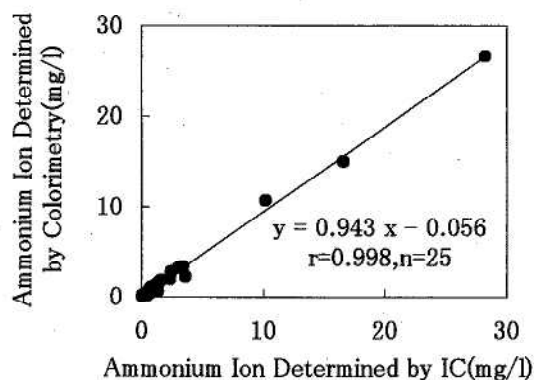


Fig. 5. Comparison of the Results for the Determination of Ammonium Ion by IC and Colorimetry

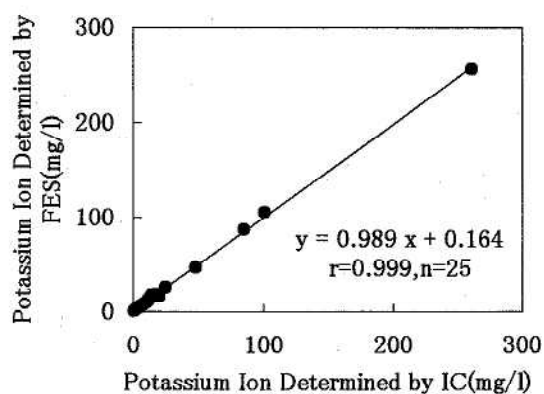


Fig. 6. Comparison of the Results for the Determination of Potassium Ion by IC and FES

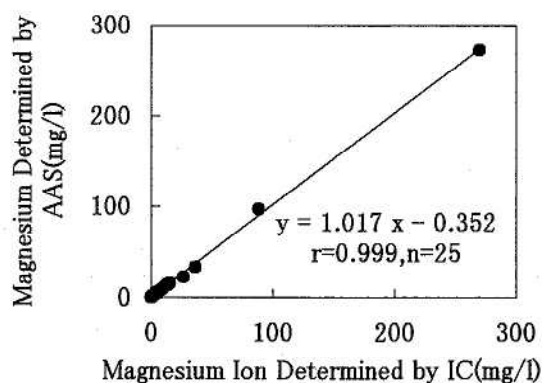


Fig. 7. Comparison of the Results for the Determination of Magnesium Ion by IC and AAS

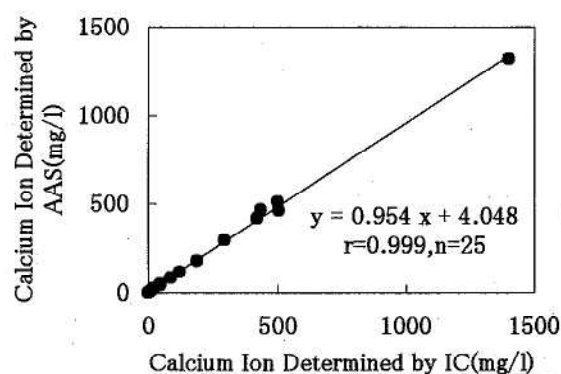


Fig. 8. Comparison of the Results for the Determination of Calcium Ion by IC and AAS

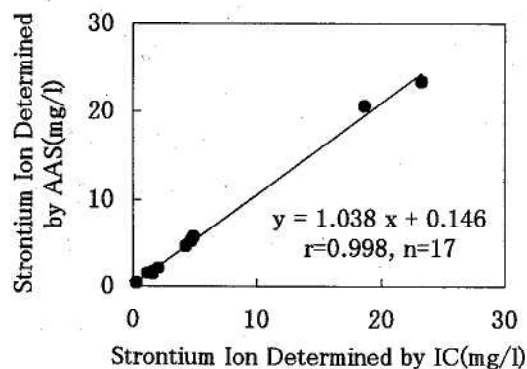


Fig. 9. Comparison of the Results for the Determination of Strontium Ion by IC and AAS

泉水のクロマトグラムの一例を示した。得られた各イオンの測定値と、従来法による測定値と比較したところ、Fig. 3～9に示したように、回帰方程式の傾きは0.943～1.038と1に近い値であり、相関係数も0.998以上と高い値が得られた。

以上の結果から、従来法に代えてIC法を用いて

もほとんど問題ないものと考えられる。ただし、アンモニウムイオンの濃度が低く、且つナトリウムイオン濃度が高い場合には、両者のピークの重なりが大きくなり、試料水希釈倍率の適切な選択あるいはアンモニウムイオンのピークの波形処理に工夫が必要であった。ストロンチウムとカルシウムのピークも同様の関係にあり、同様の措置が必要となることがあった。今後はさらに分離を良くする条件を確立することが課題であろう。

文 献

1. 深澤喜延 (1999). 温泉科学, 49, 65-75.
2. 世取山守, 仁木喜治, 八島里美, 江連陽子, 大森亮一, 鈴木秀夫 (1989). 温泉工学会誌, 23, 15-21.
3. 市本範子, 寺門信子, 田崎貞男, 今井清人, 岡田安雄 (1995). 栃木衛研所報, 25, 50-53.

平成12年度食品衛生(理化学)検査の精度管理調査について

大戸 幹也 松永 明信 尾崎 一郎

Quality Control Testing of Sorbic Acid and Sodium Saccharin in Food

Mikiya OHTO, Akinobu MATSUNAGA and Ichiro OZAKI

平成7年の食品衛生法の一部改正により、食品衛生検査機関には検査業務管理基準（GLP）が適用された。これにより、保健所、食肉検査所及び衛生研究所においても、GLP基準を満たすために精度管理を実施することになった[1]。精度管理は、外部精度管理と内部精度管理に分けられ、それぞれ両方行うことになっている。内部精度管理での点検項目の中では、各検査機関単独よりむしろ合同で実施する方が安価で効率的である場合も少なくない。そこで、昨年度当所が中心となって保健所、食肉検査所と合同で内部精度管理調査を行った[2]。この結果、検査機関別に再検討項目の指摘や、検査実施標準作業書内容面の共通課題等を提示することが出来た。今年度は、各検査機関（各試験担当者）間での測定精度の均一化とその向上を目的として、同一の濃度未知試料を測定する方法で調査を実施することになった。当所は、試料や検査方法の選定、各検査機関からの報告書の解析や結果評価等を行ったので、その概要を報告する。

調査方法：

- (1)実施期間：平成13年1月15日～1月26日
- (2)対象：県内で食品理化学検査を行う保健所、食肉検査所及び衛生研究所
- (3)調査項目：かまぼこ中のソルビン酸（SOA、保存料）及びサッカリンナトリウム（SA、甘味料）
- (4)検査試料の作製：食品研究所に依頼し、平成13

年1月11日に、次のように作製した。冷凍すり身、デンプン、卵白、砂糖、塩、調味料を材料とした肉糊14.0kgを調製した。またサッカリンナトリウム二水和物（和光純薬工業製、特級品、純度99%以上）4.5g及びソルビン酸カリウム（和光純薬工業製、一級品、純度98%以上）20.09gをそれぞれ水に溶解して正確に1Lとした食品添加物混合溶液を調製した。肉糊に添加物混合溶液全量をそれぞれ数度に分けて徐々に混合し、更に高速カッターで混合し、均一化した後、塩化ビニリデンフィルム（クレハ製）で約300gづつ包装し、95℃で30分間加熱してこれを検査試料とした。なお、本試料は、配布する平成13年1月15日まで4℃で保管した。

(5)検査試料の配布量：各機関に検査試料（かまぼこ300g品）2個を配布した。

(6)測定方法：各機関の検査実施標準作業書（検査SOP）に基づく方法による。

(7)測定結果等の報告：各項目5回の測定値、検量線及びチャート等データ類を平成13年1月26日までに当所に送付することとした。

結果：

(1) SOA

SOAについての集計結果をTable 1に示した。各機関が5回測定した平均値（ $\bar{X}$ ）の最大値（Max.）は0.966g/kg、最小値（Min.）は0.902g/kg、その平均値（全機関平均値、 $\bar{x}$ ）±標準偏差（S.D.）

Table 1. Analytical Results of Sorbic Acid (SOA)

Laboratory	Content (g/kg)	C.V. (%)	Range (g/kg)	Recovery (%)
A	0.942	0.5	0.01	94.4
B	0.912	0.9	0.02	91.4
C	0.930	0.8	0.02	93.2
D	0.902	0.5	0.01	90.4
E	0.966	0.6	0.01	96.8
Max.	0.966	0.9	0.02	96.8
Min.	0.902	0.5	0.01	90.4
Average	0.930	0.66	0.014	93.2
S.D.	0.0252	—	—	—
C.V.(%)	2.71	—	—	—

は、 $0.9304 \pm 0.0252 \text{g/kg}$ であった。機関間の変動係数 (C.V.) は、2.71% と比較的小さい値が得られ、機関間のばらつきは小さかった。各機関内の併行測定における C.V. は、0.5~0.9% の範囲にあり、全て 1% 以内の非常に小さい値であった。

検査試料に SOA をカリウム塩で添加したが、添加した試薬の純度を 100%、検査試料作製中の水分減少に伴う重量変化を無しとして、SOA としての添加濃度を計算すると、試料中の濃度は 0.9980g/kg と想定された。仮にこれを真の含有量とした場合、最も測定値の平均値が低い D 機関の誤差率 (真値に対する誤差の百分率) [3] を求めると -9.6% であった、また最もその値が高い E 機関の誤差率は -3.2% で、全ての機関の誤差率は $\pm 10\%$ の範囲内にあり、良好な結果であった。 $\bar{X}$ -R 管理図を作成し [4]、Fig. 1-1 に示した。 $\bar{X}$ 管理図では、各機関の $\bar{X}$ 値は、 $\bar{x}$ 値を中心にした $\pm 2 \times \text{S.D.}$ の範囲に入っていた。また R 管理図では、各機関の測定値範囲は、全て上方管理限界 (UCL) 以内であって「良好」と判断できた。Z-スコアを Fig. 1-2 に示した。Z-スコアは、各機関の $\bar{X}$ 値と $\bar{x}$ 値の差が、各機関 $\bar{X}$ 値の S.D. に対して何倍かを示すもので基本的な統計指標である。通常その絶対値が 2 以内であれば「充分管理されている」と判断する。各機関の Z-スコアの絶対値は全て 2 以内であった。従って「充分管理されている」と判定できた。以上により、SOA 検査では全機関の管理状態は、「良好」と判断できた。

(2) SA

SA の集計結果を Table 2 に示した。各機関が 5

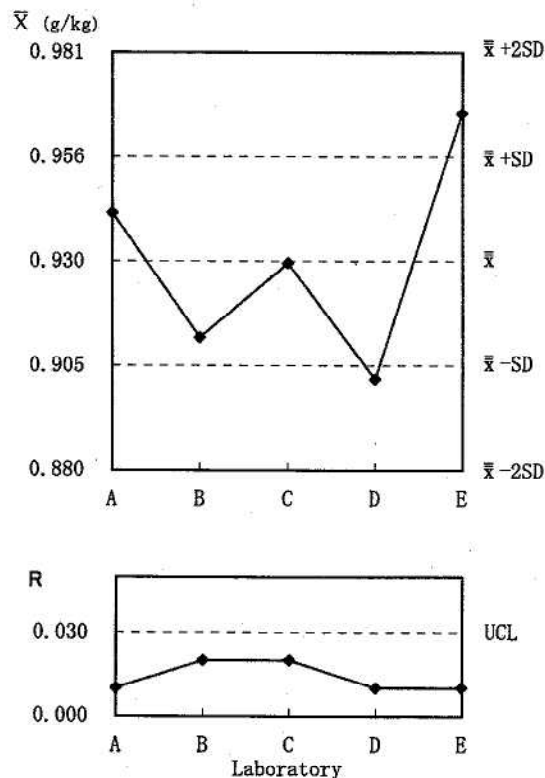
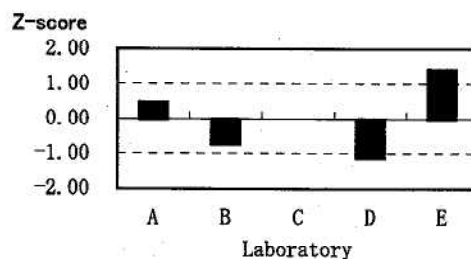
Fig 1-1. $\bar{X}$ -R Chart of SOA

Fig 1-2. Z-Score of SOA

Table 2. Analytical Results of Sodium Saccharin (SA)

Laboratory	Content (g/kg)	C.V. (%)	Range (g/kg)	Recovery (%)
A	0.250	0	0	97.7
B	0.262	1.7	0.01	102.4
C	0.242	1.8	0.01	94.6
D	0.242	1.8	0.01	94.6
E	0.250	0	0	97.7
Max.	0.262	1.8	0.01	102.4
Min.	0.242	0	0	94.6
Average	0.2492	1.06	0.006	97.4
S.D.	0.0082	—	—	—
C.V.(%)	3.29	—	—	—

回測定した平均値の最大値は 0.262g/kg 、最小値は 0.242g/kg 、 $\bar{x} \pm \text{S.D.}$ は、 $0.2492 \pm 0.0082 \text{g/kg}$ であ

った。機関間のC.V.は、3.29%と比較的小さい値が得られ、機関間のばらつきは小さかった。各機関内の併行測定におけるC.V.は、AとE機関は、0と際立って小さく、最大の機関でも1.8%であり、良好な結果であった。

検査試料には二水和物品で添加するため、添加品を120℃で一夜(17時間)乾燥して乾燥減量率を求め、SOAの場合と同じように検査試料中の添加濃度を算出すると、SA無水物としての濃度は0.2558g/kgと想定された。仮にこれを真の含有量とした場合、最も測定値の平均値が低いC及びD機関の誤差率は、-5.4%であり、最もその値が高いB機関の誤差率は、+2.4%となった。誤差率の絶対値が最も小さかったのはAとE機関であった。全ての機関の誤差率は±10%の範囲内にあり、良好な結果であった。 $\bar{X}$ -R管理図を作成し、Fig. 2-1に示した。 $\bar{X}$ 管理図では、各機関の $\bar{X}$ 値は、 $\bar{x}$ 値を中心にした $\pm 2 \times S.D.$ の範囲に入っていた。またR管理図では、各機関の測定値範囲は、全てUCL以内にあって「良好」と判断できた。ZスコアをFig. 2-2に示した。各機関のZスコアの絶対値は全て2以内であった。従って「充分管理されている」と判定できた。以上により、SA検査では全機関の管理状態は、「良好」と判断できた。

考察：

全ての機関のSOAとSAそれぞれの検量線は、その相関係数が全て0.999以上の極めて1に近いほぼ原点を通る良好な直線性が得られていた。このことは、間接的に分析装置の測定条件、使用方法、生データ(クロマトグラム)のピーク定量範囲等解析処理方法が適正に行われ、装置の動作状態や維持管理が良好であったことを示す結果であると考えられる。

昨年度はSOAとSAを含めた4項目の調査で、検査機関自らが陰性試料に調査項目成分を一定量添加し、その回収率を求めるものであった。その結果、SAで回収率80.34%(前回 $\bar{x}$ 回収率 $\pm S.D.$ ：88.48% ± 4.77)の機関があった。この機関は今回濃度未知試料の検査であるにもかかわらず、誤差

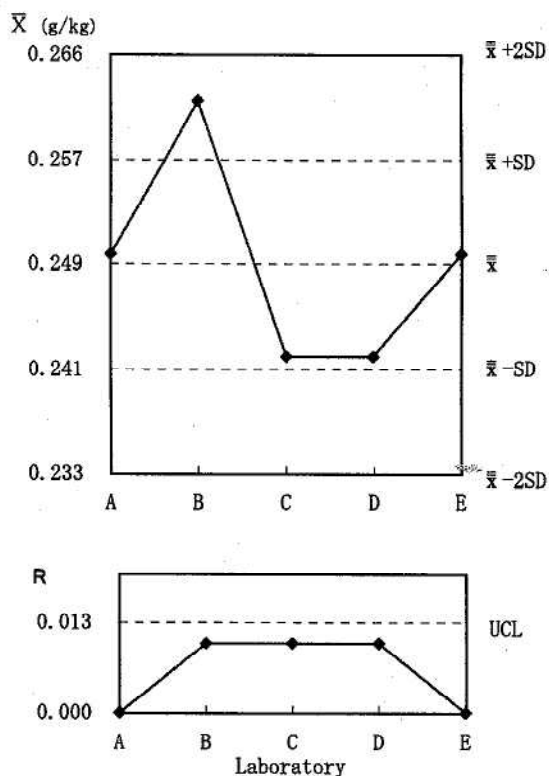


Fig 2-1. $\bar{X}$ -R Chart of SA

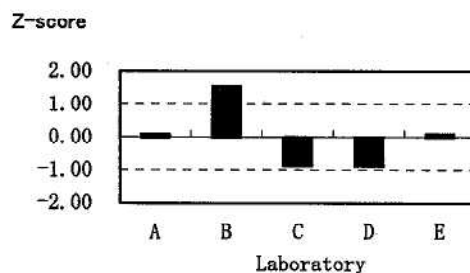


Fig 2-2. Z-Score of SA

率は+2.4%と小さい値であった。 $\bar{x}$ 値からの偏りが小さくなったことは、昨年と比較して管理状態の改善を示した結果と考えられた。

富山県食品衛生検査業務管理要綱に基づき、食品衛生検査を実施する5機関を対象として、食品(かまぼこ)中の食品添加物(SOA及びSA)検査の精度管理調査を実施したところ、5機関全てが管理状態は、「良好」であった。今後も食品衛生検査精度を高水準に維持し続けるために、精度管理調査は続ける必要があると考えられた。

文 献

1. 厚生部長通知, 薬食第1,229号. 平成10年12月16日
2. 大戸幹也, 松永明信, 尾崎一郎 (2000). 富山衛研年報, 175-177.
3. 日本水道協会 (1993). 上水試験法解説編. p16.
4. 日本規格協会 (1994). JIS Z 9021

平成12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 Quality Control of Potassium Permanganate Consumed and Lead 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12年度は過マンガン酸カリウム消費量および鉛の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。

調査方法

- (1) 実施時期：平成13年1月23日～2月2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，5保健所及び当所の計11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：過マンガン酸カリウム消費量，鉛
- (4) 配布試料：過マンガン酸カリウム消費量測定用試料は自然水より調製した。平成13年1月17日，当所近くにある薬勝寺池表層より採水した自然水（色度6.1度，濁度3.6度）を冷蔵庫にて6日間放置し，試料配布前日の平成13年1月22日にろ紙（GS-25 47mm）ろ過し，得られたろ液（色度3.3度，濁度0.2度）20Lを1L丸型ポリ瓶に小分けして配布した。また，鉛測定用試料は，市販ミネラル水に鉛標準液及び超高純度硝酸（1Lにつき10ml）を添加して調製した20L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過マンガン酸カリウム消費量の濃度範囲は1.0～10.0mg/L，鉛の濃度範囲は0.001～0.100mg/Lと明示した。また今回は標準原液等を配布せず，

各機関が管理しているものを用いることとした。

- (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，過マンガン酸カリウム消費量については小数点以下1桁で，鉛については小数点以下3桁で記載することとした。

結果

- (1) 過マンガン酸カリウム消費量

過マンガン酸カリウム消費量については，11検査機関のうち1機関より2名の測定者による測定値の報告があったことから，12検査機関として統計処理を行った。今回調製した過マンガン酸カリウム消費量測定用試料の過マンガン酸カリウム消費量の値は，冷蔵庫保存で少なくとも2週間，変化がないことを確認している。ただし，12検査機関のうち8機関は試料配布当日に，残り4機関においても試料配布翌日に過マンガン酸カリウム消費量の測定を行っていた。各機関から過マンガン酸カリウム消費量の測定結果として小数点以下1桁で報告された5回の併行測定値より，平均値を小数点以下2桁まで求め，各機関の測定値とし，小さい方から順に並べTable 1に示した。なお過マンガン酸カリウム消費量における検査機関番号は，過マンガン酸カリウム消費量に関する図表において統一した。12検査機関はすべて滴定法を用いており，測定値の平均値±標準偏差は 2.38 ± 0.249 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、棄却される機関はなかった。各機関内での併行測定における室内変動係数は0.0~4.3%であり、すべて判断基準である10%未満であった。全機関の測定値の変動係数（室間変動係数）は10.5%とほぼ判断基準を満たしていた。

過マンガン酸カリウム消費量の $\bar{x}$ -R管理図をFig. 1に示した。すべての機関の測定値は平均値 ± 2 標準偏差の範囲内に収まっていた。R管理図においてUCL（上方管理限界）を超える機関はなかった。

過マンガン酸カリウム消費量におけるzスコアの順位をFig. 2に示す。すべての機関において、

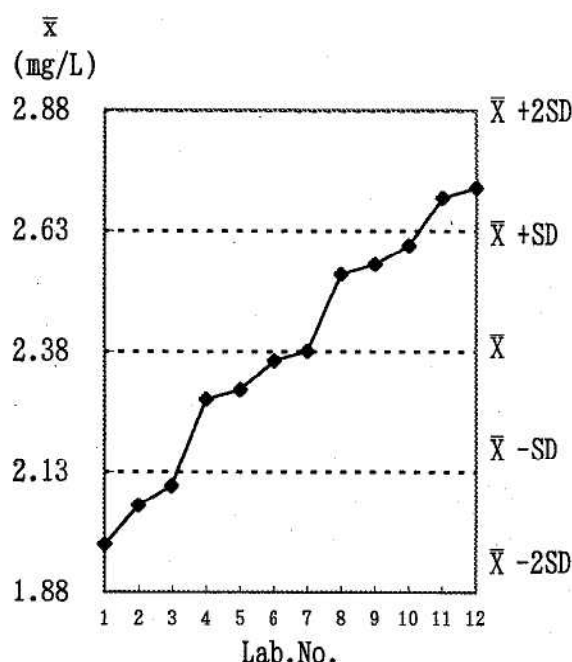


Fig 1. $\bar{x}$ -R Chart of Potassium Permanganate Consumed
 $\bar{x}$: Average
 SD: Standard Deviation
 UCL: Upper Control Limit

| z-スコア | はすべて2未満で、「満足」と評価された。

11機関の平均値2.38mg/Lを真の値と仮定し、回収率（＝測定値／真の値）を求めると、Table 1に示すとおり、良好と判断される0.9~1.1の範囲内に含まれた機関は7機関であった。

過マンガン酸カリウム消費量の精度管理は昨年度に引き続き行った。昨年度は室間変動係数が20.2%と10%を大きく超えており、測定機関ごとの加熱条件の違いがその原因と考えられた[1]。昨年度調査した3つの加熱条件、①加熱に用いる器具、②試料を煮沸する容器、③5回の併行測定における煮沸までの時間のうち、今年度は試料を

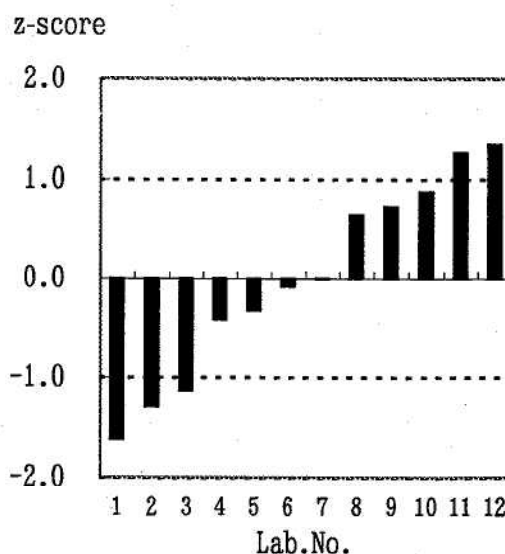


Fig 2. Z-score Order of Potassium Permanganate Consumed

煮沸する容器として300ml 三角フラスコを各検査機関に配布し、容器サイズの違いによる加熱効率の差を取り除き、加熱条件の一律化を試みた。Table 1に煮沸までの時間と加熱器具を併記する。煮沸までの時間は、機関により最短で1分50秒、最長で5分41秒とかなり異なっており、加熱器具に依存していることが明らかである。これは、加熱器具はその加熱力を調節することが難しく、使用する個々の器具により加熱力が定まっているためと考えられる。ただし、煮沸までの時間と過マンガン酸カリウム消費量の値との間には一定の関係はみられず、過マンガン酸カリウム消費量の値

Table 1. Summary of Analytical Results of Potassium Permanganate Consumed

Laboratory No.	Concentration (mg/L)		Recovery (= Concentration/Average)	Time for coming to boil (mm:ss)		Heater
	Mean value of 5runs			Mean value of 5runs		
1	1.98	2.3	0.83	5:06	electric heater 1200W	
2	2.06	4.3	0.86	3:01	electric heater 1500W	
3	2.10	0.0	0.88	4:41	gas burner	
4	2.28	3.7	0.96	3:58	electric hot plate 1400W	
5	2.30	0.0	0.97	3:53	electric hot plate 600W	
6	2.36	3.8	0.99	3:23	electric hot plate 1000W	
7	2.38	1.9	1.00	3:26	electric hot plate 600W	
8	2.54	2.2	1.07	4:39	electric heater 600W	
9	2.56	2.1	1.07	4:50	electric hot plate 2000W	
10	2.60	2.7	1.09	3:06	electric heater 600W	
11	2.70	3.7	1.13	1:50	electric heater 1200W	
12	2.72	1.6	1.14	5:41	gas hot plate	
Number of lab.	12	12	12	12		
Max(mg/L)	2.72	4.3	1.14	5:41		
Min(mg/L)	1.98	0.0	0.83	1:50		
Average(mg/L)	2.38	2.4	1.00	3:58		
SD(mg/L)	0.249	1.40	0.105	—		
CV(%)	10.5		10.5	—		

Table 2. Summary of Analytical Results of Lead

Laboratory No.	Method	Concentration (mg/L) Mean value of 5 runs	CV(%)	Recovery (= Concentration/0.028)	Pretreatment
1	FLAA	0.0132	6.3	0.47	10-fold concentration
2	ICP	0.0170	7.2	0.61	10-fold concentration
3	FLAA	0.0172	6.4	0.61	2-fold dilution
4	FLAA	0.0174	3.1	0.62	—
5	ICP	0.0204	2.7	0.73	10-fold concentration
6	FLAA	0.0248	5.3	0.89	5-fold dilution
7	FLAA	0.0270	0.0	0.96	matrix modifier addition
8	ICPMS	0.0278	9.7	0.99	—
9	ICPMS	0.0280	0.0	1.00	—
10	ICPMS	0.0304	1.8	1.09	—
Number of lab.		10	10	10	
Max(mg/L)		0.0304	9.7	1.09	
Min(mg/L)		0.0132	0.0	0.47	
Average(mg/L)		0.0223	4.25	0.797	
SD(mg/L)		0.00597	3.22	0.213	
CV(%)		26.8	—	—	

FLAA:Flameless Atomic Absorption Spectrometry

ICP :Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry

ICPMS :Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

が加熱器具による加熱力のみに左右されるのではないことがわかる。12検査機関のうち同一機関の2名の測定者による測定値の報告があったのは検査機関No 5, 7であるが、両者の過マンガン酸カリウム消費量の値は近似していた。両者は煮沸までの時間の差も27秒であり、使用する器具が同一であるため加熱条件が近似し、過マンガン酸カリウム消費量の値も近似したものと思われる。今年度は、容器サイズを統一したこと、また、検査機関によっては昨年度の精度管理の結果より操作の内容や使用器具を変更したことより、室間変動係数が昨年度の20.2%から10.5%と改善されたと考えられる。

(2) 鉛

鉛については、県内の水質検査全11機関のうち8機関が参加し、またこのうち2機関が2通りの方法を使用し報告したことから、10検査機関として統計処理を行った。このうち検査方法としてフレイムレス原子吸光光度法を用いた機関は5機関、ICP法を用いた機関は2機関、ICP-MS法を用いた機関は3機関であった。

各機関から小数点以下3桁で報告された5回の併行測定値より、平均値を小数点以下4桁まで求め、各機関の測定値とし、小さい方から順に並べTable 2に示した。この鉛における検査機関番号は、Table 1の過マンガン酸カリウム消費量のそれとは一致しない。

全機関の測定値の平均値±標準偏差は $0.0223 \pm 0.00597 \text{ mg/L}$ であり、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

機関はなかった。各機関内での併行測定における室内変動係数は、0.0~9.7%であり、すべて判断基準である10%未満であった。全機関の測定値の変動係数(室間変動係数)は26.8%と10%を大きく上回っていた。

今回の鉛測定用試料は、あらかじめ鉛濃度が 0.001 mg/L 未満であることを確認した市販ミネラル水に鉛標準液を添加し 0.028 mg/L となるように調製したものである。これまでの水質検査精度管理においては、測定値の平均値を真の値と仮定してきたが、今回はこの調製濃度を真の値と仮定し検討することとする。

上水試験法においては、回収率(=測定値/真の値)が0.9~1.1となる範囲内であれば良好と判断される。今回の鉛の精度管理において、回収率が0.9~1.1である範囲は $0.0252 \sim 0.0308 \text{ mg/L}$ であり、良好と判断されたのは機関No 7-10の4機関のみで、うち3機関はICP-MS法を用いて測定していた。

報告された全測定値を検査方法ごとにまとめた結果をTable 3に示す。ICP-MS法による測定値は回収率ほぼ100%であったのに対し、フレイムレス原子吸光光度法、ICP法による測定値は共にほぼ回収率70%と低かった。

フレイムレス原子吸光光度法において回収率が低かった原因として、試料水中マトリックスの影響が考えられる。この影響を除くためには、マトリックス修飾剤の添加が有効であり[2]、マトリックス修飾剤の添加の有無による鉛の回収率の違いをピークの高さ、面積別にTable 4に示す。Milli-

Table 3. Differences in Analytical Results of Lead obtained by the Three Analytical Methods

Method	Number of Data	Average (mg/L)	SD (mg/L)	CV (%)	Recovery
FLAA	25	0.0199	0.00532	26.7	0.71
ICP	10	0.0187	0.00200	10.7	0.67
ICPMS	15	0.0287	0.00191	6.6	1.03

FLAA:Flameless Atomic Absorption Spectrometry

ICP :Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry

ICPMS :Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

Table 4. Effect of Matrix Modifier on the Recovery of Lead

Matrix Modifier	added		not-added	
	Height	Area	Height	Area
Recovery	2.11	1.03	0.33	0.50

Sample : Pb 0.028mg/L in Mineral Water

Matrix Modifier : Pd 200mg/L in 0.3% HNO₃

Dilute Solution : 1v/v% HNO₃ in Milli-Q Water

added : Dilute Solution 8 +Matrix Modifier 2 +Sample(or Standard)10 μ l

not-added : Dilute Solution 10 +Sample(or Standard)10 μ l

Q水を用いて作製した標準液による検量線を用いて今回の鉛測定用検体を定量した場合、マトリックス修飾剤を使用しない場合は、ピークの高さ、面積いずれを用いても回収率は低くなる。マトリックス修飾剤(Pd 200mg/L in 0.3% HNO₃)を使用した場合、ピーク面積を用いるとほぼ100%の回収率が得られるが、ピークの高さを用いると回収率はぐーんと大きくなってしまふ。これは、標準液と試料ではピークの形状が異なり、試料のピークがシャープとなるためである。今回のミネラル水は、マグネシウム5.4mg/L、カルシウム29.5mg/L、ナトリウム9.5mg/Lを含むが、このような通常の濃度の水試料においても、鉛の測定においてはマトリックスが大きく影響すると考えられる。

Table 2に鉛測定における前処理方法を併記したが、フレイムレス原子吸光光度法を用いた機関のうち回収率の上で良好と判断された検査機関No 7はマトリックス修飾剤を使用していた。検査機関No 6は試料を5倍希釈して測定したことにより、マトリックスの影響が小さくなったと考えられる。これに対し、試料を10倍濃縮して測定した検査機関No 1の場合、おおよそマグネシウム50mg/L、カルシウム300mg/L、ナトリウム100mg/Lとなり、マトリックスによる妨害が大きかったと考えられる。

ICP法において回収率が低かった原因として、

添加した酸や試料の濃縮による塩濃度の増加により、試料の粘性が高くなり、試料の噴霧量が減少したためかと思われる。上水試験法解説編[3]には、この妨害が確認できた場合、内部標準法や標準添加法による補正が必要とある。

ICP-MS法では、試料マトリックスにより妨害を受けることがあるが、今回のミネラル水の蒸発残留物は185mg/L(約0.02%)で、妨害を受けるとされる0.1%以下であるため、良好な結果が得られたと思われる。

考 察

今年度の精度管理結果として、昨年度に引き続き行った過マンガン酸カリウム消費量については、機関間のばらつきの程度が改善された。

また鉛については、検査方法により測定値の回収率が低く、その原因として、フレイムレス原子吸光光度法では試料水中マトリックスの影響、ICP法では物理干渉の影響が考えられた。

文 献

1. 健名智子, 高柳信孝, 松永明信 (2000). 富山衛研年報, 23, 178-183.
2. 日浦盛夫, 高田久美代, 信宗正男 (1997). 広島県保健環境センター研究報告, 5, 23-26.
3. 日本水道協会(1993). 上水試験法解説編. p281.

4. 業 績

4. 業 績

(1) 受賞, 学位授与, 資格取得など

1) 受 賞

松永明信

日本食品衛生学会 奨励賞

受賞日 平成12年5月11日

松浦久美子

地方衛生研究所全国協議会長表彰

受賞日 平成12年10月17日

石倉康宏

日本公衆衛生協会会長表彰

受賞日 平成12年11月9日

山本 敦

富山県優良職員表彰

受賞日 平成13年1月5日

(2) 誌 上 発 表

[原 著]

1) 免疫磁気ビーズによる海水からの耐熱性溶血毒産生性腸炎ビブリオ O3: K6の分離

刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 北村 敬

日本食品微生物学会誌. 17. 5-10, 2000

Dynabeads M-280 (ダイナル社) を腸炎ビブリオ K6抗血清で感作した. この免疫磁気ビーズを海水培養液からの耐熱性溶血毒産生性腸炎ビブリオ血清型 K6 (TDH⁺ V.p K6) の分離に使用した. 海水は富山湾の4漁港で1998年9~10月に採水し, 1,000ml を3% NaCl 加トリプトソイブイオン培地で前培養後, 食塩ポリミキシブイオンで培養した. その結果, 海水からの TDH⁺ V.p O3: K6の分離率は4/10 (40%) で, 海水中の総 V.p 数は $2.3 \times 10^2 \sim 1.1 \times 10^4$ / 1,000ml の範囲, TDH⁺ V.p O3: K6の数は0~3.6 / 1,000ml の範囲であった. 海水由来 TDH⁺ V.p O3: K6のパルスフィールド電気泳動パターンは2型 (仮称 1 a, 1 b) に分けられた. 国内で1998年に食中毒例から分離された血清型 O3: K6の大部分 (33/36, 92%) も 1a 型または 1b 型であった. 富山県で1998年に発生した腸炎ビブリオ食中毒原因菌の血清型は11事例中8事例で O3: K6であった. これらの結果は海水中に分布する TDH⁺ V.p K6 の分離にビーズ法が有効であること, また漁港海水中に食中毒の原因になる TDH⁺ V.p O3: K6が分布していることを示す.

2) Determination of saccharides in sake by high-performance liquid chromatography with polarized photometric detection

Biomed. Chromatogr., 14, 72-76, 2000.

Kazuichi Hayakawa *, Kyoko Ando *, Natsue Yoshida *, Atsushi Yamamoto, Akinobu Matsunaga, Masayuki Nishimura *, Mitsuko Kitaoka *, Keizo Matsui

A high-performance liquid chromatographic method has been developed for the determination of saccharides in sake, an alcoholic beverage brewed from rice. Saccharides in sake were separated on a normal phase (carbamoyl bonded silica) column using a linear gradient elution of water in acetonitrile. Seven saccharides, glucose, isomaltose, maltotriose, panose, isomaltotriose and ethyl α -D-glucoside, were determined by a polarized photometric detector. Unidentified peaks suggesting saccharides with polymerization degrees over 4 were also observed. The proposed method did not require any sample clean-up treatment. As an application, saccharide compositions in various kinds of sake were compared.

3) Protective immune responses induced by a non-pathogenic simian/human immunodeficiency virus (SHIV) against a challenge of a pathogenic SHIV in monkeys

平成13年10月1日

Yoshino, N. *, Ami, Y. *, Someya, K. *, Ando, S., Shinohara, K. *, Tashiro, F. *, Lu, Y. *, Honda, M. *

Microbiol. Immunol., 44, 363-372, 2000.

Abstract: A simian/human immunodeficiency virus (SHIV) -NM3n containing the human *nef*, but not the monkey *nef*, and *vpr* genes of SIV was inoculated into two cynomolgus monkeys, resulting in systemic infection with a minimum level of transient virus load. In order to study the nature of immune responses associated with the prevention of a pathogenic SHIV, the SHIV-NM3n-inoculated monkeys and three naive monkeys were intravenously challenged with a pathogenic SHIV containing the envelope gene of HIV-1 89.6. After the heterologous virus challenge, all of the SHIV-NM3n-inoculated animals completely avoided the loss of CD4⁺T lymphocytes in PBMC as well as lymphoid tissues compared to pathogenic SHIV-injected control animals. The inhibition of CD4⁺ cell depletion was associated with maintaining the proliferative response of helper T-cells against SIV p27 in the previously nonpathogenic virus-inoculated animals following the pathogenic virus challenge. Furthermore, the decline of CD28⁺ cells, the increase in CD95⁺ cells, and the enhancement of *in vitro* apoptosis in PBMC were inhibited in the non-pathogenic virus-inoculated animals. These results suggest that nonpathogenic SHIV-NM3n infection induces the protection of monkeys from heterologous pathogenic viruses that may be associated with blocking the change in immune responses and the cell loss induced by a pathogenic virus.

4) Direct chiral resolution of lactic acid in food products by capillary electrophoresis

Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto, Akinobu Matsunaga, Tomoyoshi Soga *, Kaho Minoura *

J. Chromatogr. A, 875, 371-377, 2000.

Chiral resolution of native DL-lactic acid was performed by capillary electrophoresis using 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin as a chiral selector. Various factors affecting chiral resolution, migration time, and peak area of lactic acid were studied. The running conditions for optimum separation of lactic acid were found to be 90 mM phosphate buffer (pH 6.0) containing 240 mM 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin with an effective voltage of -30 kV at 16 °C, using direct detection at 200 nm. In order to enhance the sensitivity, sample injection was done under a pressure of 50 mbar for 200 s. On-line sample concentration was accomplished by sample stacking. With this system, D- and L-lactic acids in food products were analyzed successfully.

5) 非散布作業における有機リン系農薬の尿中代謝物追跡調査

中崎美峰子, 西野治身, 大浦栄次*

日本農村医学会雑誌, 49, 142-145, 2000

有機リン系農薬の代謝物として, 尿中のジメチルリン酸とジメチルチオリン酸の濃度を, 農薬散布作業

を行わない人について分析した。その結果、尿中代謝物は農繁期、農閑期を問わずほぼ一年中検出され、散発的な濃度の上昇が観察されたことから、農薬散布にかかわらない者でも年間を通して有機リン系化合物の暴露を受ける機会があり、それらが体内にとどまっている可能性も考えられた。

6) 漁港の海水・海泥における腸炎ビブリオ実態調査（富山県厚生部 Vp マリン実態調査事業）について

細呂木志保, 田中大祐, 磯部順子, 刑部陽宅, 北村 敬, ほか

食品衛生研究, Vol.50, No.8, 91-95, 2000

富山県における腸炎ビブリオ食中毒は、年間あたり10件を超えて多発する年と1～数件の少ない年がある。今回の調査によると、腸炎ビブリオ食中毒が多発する年は、海水等の腸炎ビブリオ菌数が比較的早い時期から増加していた。この現象が、その年に食中毒が多発するかどうかを予測するための指標となる可能性がある。また、漁港の海水中に近年のヒト食中毒の主因である神奈川現象陽性腸炎ビブリオが実際に分布していることが証明された。

7) Induction of CD95 ligand expression on T lymphocytes and B lymphocytes and its contribution to apoptosis of CD95-up-regulated CD4⁺ T lymphocytes in macaques by infection with a pathogenic simian/human immunodeficiency virus

Sasaki, Y. *, Ami, Y. *, Nakasone, T. *, Shinohara, K. *, Takahashi, E. *, Ando, S., Someya, K. *, Suzuki, Y. * and Honda, M. *

Clin. Exp. Immunol., 122, 381-389, 2000.

Using an established SIV/HIV-C2/1-infected cynomolgus monkey model displaying stable CD4⁺T cell depletion, the kinetics of apoptosis and the levels of expression of CD95 membrane-associated CD95L on lymphocytes were investigated to test the involvement of the CD95/CD95L system in CD4⁺T lymphocyte loss *in vivo*. Rapid depletion of CD4⁺T cells occurred up to 2 weeks after infection, with chronic CD4⁺T lymphopenia thereafter. During the initial CD4⁺T cell loss, which was accompanied by viraemia, about 90% of the peripheral CD4⁺ T cell subset underwent spontaneous apoptotic cell death during 24h of culture. Increased expression of CD95 was observed on both CD4⁺ and CD8⁺T cell subsets, with CD95 expression on CD8⁺ cells declining rapidly, but high CD95 expression being maintained on CD4⁺ cells. Since CD95L was expressed on CD8⁺T cells, B cells and to a lesser extent on CD4⁺T cells, this suggests that CD95-mediated apoptosis might be controlled in an autocrine/paracrine fashion.

平成13年10月1日

8) 医療機関で発生した腸管出血性大腸菌 O157:H7による集団感染事例

磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保, 西坂美和子, 北村敬,
安井良夫*, 齊藤尚人*, 今井茂憲*

病原微生物検出情報 Vol. 21, No. 9 (No. 247), 2000

2000年5月、富山県内の医療機関において腸管出血性大腸菌 O157:H7 (以下 O157) による集団感染症が発生した。この集団感染では、検食および食材 (レタス) それぞれ1検体から O157が検出された。感染者の発生状況、検食および食材の検査、分離菌のパルスフィールド電気泳動と疫学調査の概要について紹介した。

9) Analysis of condensed phosphates in food products by ion chromatography with an on-line hydroxide eluent generator

Yoko Sekiguchi *, Akinobu Matsunaga, Atsushi Yamamoto, Yoshinori Inoue *

J. Chromatogr. A, 881, 639-644, 2000.

An ion chromatographic method with gradient elution using an automated eluent generator was developed for the simultaneous determination of condensed phosphates (CPs) such as orthophosphate (P1), pyrophosphate (P2), poly-phosphate, trimetaphosphate and phytate in food products. The linear calibration curves for P1, P2, tripolyphosphate, and tetrapolyphosphate in the range 0.5-500 μ M had a correlation factor of 0.999 or better. The precision of the method for the CP peak areas obtained with the hydroxide eluent generator was better than that obtained with potassium hydroxide eluents prepared off-line. This method was applied to the determination of CPs in food products such as ham, fish paste, and cheese extracted by trichloroacetic acid.

10) Characterization of vaccine-derived polioviruses isolated from sewage and river water in Japan

Yoshida, H. *, Horie, H. *, Matsuura, K., Miyamura, T. *

The Lancet, 356, 1461-1463, 2000.

Background: A nucleotide change from U to C at position 472 in the 5' non-coding region of the type 3 poliovirus is associated with increased neurovirulence. Moreover, the proportion of type 3 polioviruses containing this mutation (472-C revertants) correlates with the neurovirulence of a particular sample. We used mutant analysis by PCR and restriction-enzyme cleavage (MAPREC) to estimate the neurovirulence of environmental samples obtained from Toyama prefecture, Japan.

Methods: Sewage and river water were collected between October, 1993, and September, 1995, and concentrated. Samples were inoculated into three different cell types. Isolated type 3 viruses were analysed to determine whether they were derived from the live oral poliovirus vaccine strain; they were then tested for neurovirulence by MAPREC.

Results: 29 type 3 strains were isolated — all of which were vaccine-derived. 16 (55%) comprised between 2% and 91% 472-C revertants by MAPREC and were expected to have high neurovirulence. The remaining strains included less than 0.25% revertants, and were regarded as attenuated viruses. Both types were isolated about 3 months after routine oral poliovirus vaccine administrations in May and October. Three strains isolated from river water were of the virulent type.

Interpretation: Our results emphasise that there is an environmental risk of vaccine-associated paralytic poliomyelitis as long as live oral poliovirus vaccine is not replaced by inactivated polio vaccine.

11) 試料大量注入法を用いた GC-ECD によるワイン類中の農薬迅速分析

齊藤行雄, 山本 敦, 小玉修嗣, 大戸幹也, 大浦 徹, 松永明信

食品衛生学雑誌, 41, 321-325, 2000.

昇温プログラム気化 (PTV) 大量注入法を用いた GC-ECD により, ワイン類中の 6 農薬 1 代謝物の微量分析法を確立した. 試料を C18 で固相抽出し, フロリジルミニカラムで精製後, 本システムで定性, 定量を行った. 迅速化を図るために, 2 種のカラムには同じ溶出溶媒を使用し, 溶媒の濃縮・置換操作を省略した. ワイン類に定量下限値 (ピנקロゾリン, キャプタン, プロモプロピレート: 0.25ng/g, プロシミドン, カプタホール: 0.5ng/g, イプロジオン, 同代謝物: 1.0ng/g) の 2 及び 20 倍濃度レベルを添加したときの回収率は, 76.7~124.3%, 標準偏差 0.6~21.9 であった. 本分析法を 15 検体のワイン類に適用した結果, 9 検体からジカルボキシイミド系農薬を検出した.

12) Assessment of poliovirus eradication in Japan: Genomic analysis of polioviruses isolated from river water and sewage in Toyama prefecture

Matsuura, K., Ishikura, M., Yoshida, H. *, Nakayama, T., Hasegawa, S., Ando, S., Horie, H. *, Miyamura, T. * and Kitamura, T.

Appl. Environ. Microbiol., 66, 5087-5091, 2000.

Seventy-eight poliovirus strains isolated from river water and sewage in Toyama Prefecture, Japan, during 1993 to 1995 were characterized by the PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) method and by partially sequencing the VP3 and VP1 regions of the viral genome. Of these isolates, 36 were identified as Sabin vaccine strains, and 42 were identified as vaccine variant strains that had less than 1.4% nucleotide divergence from the Sabin strains, including 7 isolates with patterns different from those of Sabin strains as determined by PCR-RFLP.

平成13年10月1日

analysis. These findings suggest that wild-type poliovirus was not circulating in Toyama Prefecture.

13) Micellar electrokinetic chromatography of monohydroxybenzo[a]pyrene positional isomers using γ -cyclodextrin

Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto, Akinobu Matsunaga, Akira Toriba *, Kazuichi Hayakawa *

Analyst, 125, 1555-1559, 2000.

Cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography was applied to the separation of benzo[a]pyrene and 12 positional isomers of monohydroxybenzo[a]pyrenes using γ -cyclodextrin together with sodium dodecyl sulfate. The optimum running conditions were found to be 20 mM phosphate-5 mM borate buffer (pH 8.5) containing 20 mM γ -cyclodextrin and 50 mM sodium dodecyl sulfate with an effective voltage of 12 kV at 20 °C. Octanol-water distribution coefficients of the compounds in the presence of γ -cyclodextrin were measured as an index of the association constants for complexes of γ -CD with these compounds. The migration time of the analytes correlated well with their distribution coefficients, suggesting that their migration order could be correctly predicted on the basis of calculations of host-guest interaction energies. The relationship between the migration order and the structures of monohydroxybenzo[a]pyrene isomers is also discussed.

14) Reference Data of Forearm Bone Mineral Density in Healthy Japanese Male and Female Subjects in the Second Decade Based on Calendar Age and Puberty Onset: Japanese Population based Osteoporosis (JPOS) Study

T. Matsukura *, S. Kagamimori *, T. Yamagami *, H. Nishino, M. Iki *, E. Kajita *, Y. Kagawa *,
H. Yoneshima *, T. Matsuzaki * and F. Marumo *

Osteoporosis International, 11, 858-865, 2000

Osteoporosis is a major public health problem in Japan. The second decade is an important period in which to attain high peak bone mass. However, normal values of forearm bone mineral density (BMD) are not well known in children and adolescents. BMD at one-third of forearm length proximal to the ulnar end plate (BMD1/3) and the ultradistal forearm (BMDud) was measured using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) in 1207 (631 males, 576 females) Japanese subjects aged 9-18 years. Puberty onset was assessed by questionnaire, by obtaining the time that pubic hair appeared in males and the time that menstruation started in females. BMD1/3 and BMDud increased steadily with age in males. In relation to puberty development, these parameters also increased after puberty onset although the increase in BMD1/3 was not statistically significant after the fifth year from puberty onset and that of BMDud was not significant after the sixth year from puberty onset. BMD1/3 and BMDud increased with age and then plateaued in females. The increase in BMD1/3 was not statistically significant after 15-16 years of age and that of BMDud was not significant after 13-14 years of age. In relation to puberty development, the increase in BMD1/3

leveled out after the fourth year from puberty onset and that of BMD_{ul} also plateaued after the third year from puberty onset. We provide reference values of forearm BMD in Japanese children and adolescents by DXA according to calendar age and puberty development. Peak bone mass of the forearm may be in the late second decade in Japanese females.

15) マルソウダ魚醤油中のポリアミン量と重金属量

船津保浩*, 川崎賢一*, 松永明信, 小長谷史郎*

日水誌, 67, 306-307, 2001.

原料形態が異なる種類の製品, すなわちセミドレス形態のマルソウダ, マルソウダ落し身およびマルソウダすり身加工残滓から調製した魚醤油中のポリアミン量と重金属量を市販魚醤油および大豆こいくち醤油と比較検討したところ, マルソウダ魚醤油のポリアミン量や重金属量は, 大豆こいくち醤油とほぼ同レベルであり, 食品衛生上の問題はないと考えられる。

16) Multi-beam polarized photometric detector for high-performance liquid chromatography

Atsushi Yamamoto, Shuji Kodama, Akinobu Matsunaga, Kazuichi Hayakawa *, Yoshihide Yasui *, Mitsuo Kitaoka *

J. Chromatogr. A, 910, 217-222, 2001.

HPLC 用の新規マルチビーム方式の偏光吸光度検出器 (PPD) を開発した。水晶板の光軸に45° (傾いて入射した平面偏光は、水晶板の1/2波長毎に位相が交互に直交する平面偏光を作り出す。試料セルの背面にもう一つ偏光プリズムを、その偏光面を最初のプリズムのそれに対して45° (傾くように配置すれば、水晶板の1/2波長で交互に符号の異なる PPD 現象が生じる。この原理を三次元検出器に適用したのがマルチビーム PPD である。光学活性物質のコットン吸収帯近傍で生じる旋光度の異常分散を利用すれば、高感度で検出可能なことを明らかにした。

[報 告]

1) Q 熱病原体 *Coxiella burnetii* の浸淫状況

平成11年度動物由来感染症情報分析体制整備事業結果報告書, 分担執筆, 富山県厚生部, 2000年.

平成11年4月に施行された, 感染症予防法に規定される多くの動物由来感染症の検査体制を整備することを目的に, 犬猫人を対象とした検査体制の構築と Q 熱の調査について検討解析した。

2) 地域における健康・栄養状況等の評価に関する調査

新 広昭*, 塚林 裕*, 宮川茂樹*, 田嶋隆俊*, 砺波和子*, 大西道代*, 安田能生弘*,
岡 秀夫*, 堀 秀朗*, 橋本桂輔*, 田中朋子, 西野治身

石川県保健環境センター研究所報告書, 37, 30-38, 2000.

今回の調査結果からは BMI と栄養状況との関連について栄養素レベルでは対象集団の特性, 意識による栄養・食物の摂取状況の変動が大きいことが示唆され, 食習慣レベルでは肥満傾向のグループに特徴的な食生活パターンが統計的に把握できる可能性が得られた. 骨代謝と栄養状況との関連については今回の調査では十分な関連を把握することはできなかった. また, 栄養調査法としての秤量法と陰膳法との比較では, 調査対象者が自らの食生活に十分な意識を持っている場合にはいくつかの事項に留意すればよい精度が得られることが推察された.

3) 各ライフステージにおける骨代謝指標を活用した骨粗鬆症予防検診と指導の評価に関する追跡研究
骨粗鬆症予防対策モデル事業報告書, 分担執筆, 富山県厚生部健康課, 平成13年3月

本調査で骨密度の測定に骨代謝指標を加えた新しい予防検診を実施したところ, 骨量へのライフスタイルの影響や指導効果を評価するうえで骨代謝指標は多くの有効な結果を与えた. さらに, 骨量の測定は場所や労力, 費用の面から限界があり, 多数回の測定は難しいが, 骨代謝指標は頻回の採血や採尿によって時間や場所を問わず測定が可能であり, 介入効果の評価にも有用であると考えられた.

[著書・総説・解説]

1) 北村敬; バイオテロリズム. 感染・炎症・免疫, 30 (2), 154-156, 2000.

(内容) 1980年の天然痘根絶宣言に伴う全世界的な種痘廃止の結果, 20歳以下の若者が全世界的に天然痘に無抵抗となり, これを標的とした生物兵器の開発を研究している国がある. 生物兵器を用いた戦争又はテロの可能性と, それへの対応をウイルス学的に検討した.

2) 北村 敬; バイオセーフティ最近の話題: 経口感染と接触感染. BMSA 会誌, 11 (4), 10, 8-13, 2000

(内容) バイオセーフティ技術は感染性エロゾールの封じ込めによる感染の予防を基本にしているが, 基本的な実験手技で予防すべきとされている経口感染と接触感染についても技術的, 定量的に検討した.

3) 北村 敬; ウイルス病の化学療法. 富薬, 22 (8), 6-8, 2000.

(内容) 細菌と違ってウイルスは, 自らの代謝系を持たず, 宿主の, 生きた細胞に寄生して, 自己を

複製し、病気を起こす。宿主と寄生体の代謝系の違いを利用した化学療法は成り立たない。個々のウイルスの複製の過程に、化学的阻害に感受性の部分を探索することで開発されたヘルペスウイルス、ミクソウイルス、レトロウイルス等の化学療法の状況を解説した。

4) 食品中のリン酸化合物及びリン酸塩の分析並びに食品製造工程中における挙動に関する研究

松永明信

食衛誌 41, J-267 - J-270, 2000.

ポリリン酸塩 (PP) は総称名であり、縮合度や化学結合様式の違い等によって多様な作用を有し、広範な食品に固有な混合製剤が使用されている。著者らは、高速液体クロマトグラフィー (ポストカラム反応法) 及びイオンクロマトグラフィー (サプレッサー方式) により、食品中の PP を一斉分析する実用的な方法を開発した。これらの方法で PP とミオ-イノシトールのリン酸エステルであるフィチン酸塩の識別が初めて可能になり、チーズ、魚肉練り製品、畜肉加工品等の食品への使用実態を明らかにした。更に、魚肉練り製品の原料 (すり身) に使用される PP 製剤と市販練り製品中の PP 組成が著しく異なることを見出し、魚肉練り製品の製造工程における PP 組成変化とその要因の解明を進め、① PP は加熱工程では分解されず、坐り工程で酵素分解されること、②トリポリリン酸 (P 3) はピロリン酸 (P 2) とオルソリン酸 (P 1) に、P 2 は 2 分子の P 1 に分解されること、③両分解の至適温度は 20℃ 前後であり、弾力増強のゲル化反応の至適温度と一致すること、④分解にはマグネシウムが必須であること、⑤魚肉の水晒し操作で、P 2 分解酵素とマグネシウムは筋肉から溶出するが、P 3 分解酵素は溶出しないこと、等を解明した。

5) 北村 敬; バイオセーフティ最近の話題: セルソーターとバイオハザード. BMSA 会誌, 12, 10 ~16, 2000

(内容) 最近、臨床免疫学的検査として日常的に行われるようになったセルソーターは、細胞浮遊液をジェット噴流として噴出させるので、大量の感染性エロゾルを産生する。セルソーターの構造と操作上の安全性をどう確保すべきかを解説した。

6) 北村 敬; ウイルス疾患の変遷 (A century of viral disease control.) 臨床とウイルス, 29 (1), 3-8, 2001.

(内容) 20世紀は、ワクチンを活用したウイルス感染症制圧の世紀であり、痘瘡 (天然痘) ポリオ (急性灰白髄炎) は全世界的根絶に成功している。このような結果は、人類の幸福に貢献したことは勿論であるが、同時に、定期的ワクチン接種の中止は、おなじウイルスを用いた生物兵器又はテロリズムの可能性を生んだ。研究の成果を生かした疾患制圧と、その齎す意外な可能性について臨床ウイルス学的に解説した。

平成13年10月1日

(3) 特 別 講 演 等

1) 食品中のリン酸化合物及びリン酸塩の分析並びに食品製造工程中における挙動に関する研究

松永明信

日本食品衛生学会第79回学術講演会 奨励賞受賞講演

平12. 5. 10~12, 東京都

2) 臨床ウイルス学—20世紀から21世紀へ：ウイルス疾患の変遷

北村 敬

第41回日本臨床ウイルス学会総会

平12. 5. 25, 広島国際会議場 (広島市)

(4) 学 会 発 表 等

- 1) マレイズトラップによるイヨシロオビアブの発生消長調査
渡辺 護
第52回日本衛生動物学会, 平12. 4. 1~3, 那覇市
- 2) サシガメ2種の潜みに関する実験的検討, 2
渡辺 護
第52回日本衛生動物学会, 平12. 4. 1~3, 那覇市
- 3) 高岡市で多発した腸管出血性大腸菌O26:H11感染症の細菌学的検討
磯部順子, 平田清久*, 刑部陽宅, 北村 敬
第74回日本感染症学会総会, 平12. 4. 19~21, 福岡市
- 4) 大量注入・GCシステムによる農薬の迅速分析—アルコール飲料への適用—
斎藤行雄, 山本 敦, 小玉修嗣, 大戸幹也, 大浦 徹, 松永明信
日本食品衛生学会第79回学術講演会, 平12. 5. 10~12, 東京都
- 5) A群溶レン菌T1型の流行クローンに関する分子疫学
田中大祐, 刑部陽宅, 磯部順子, 細呂木志保, 山川清孝, 北村 敬, 瀧 祐一*, 八柳 潤*, 中村信一*
第73回日本細菌学会総会, 平12. 5. 29~31, 札幌市
- 6) 富山県における河川や下水から分離したポリオウイルスのVP3/VP1領域遺伝子の解析
北村 敬, 松浦久美子, 長谷川澄代, 安藤秀二, 石倉康宏
平成12年度北陸腸内細菌研究会総会・研究発表会, 平12. 7. 1, 金沢市
- 7) アミノ酸代謝異常症の1次検査法としてのHPLC分析法の現状と課題
米田 豊
第28回日本マス・スクリーニング学会第23回技術部会, 平12. 9. 1~2, 東京都
- 8) 牛乳を多量摂取した場合の摂取時刻差によるカルシウム, 鉄の吸収量への影響
桑守豊美*, 原田澄子*, 新村哲夫
第47回日本栄養改善学会学術総会, 平12. 9. 7~8, 東京都
- 9) 時間軸変調型偏光吸光度検出法
山本 敦, 小玉修嗣, 松永明信, 早川和一*, 中澤裕之*, 安居義秀*, 北岡光夫*
日本分析化学会第49年会, 平12. 9. 26~28, 岡山市
- 10) 不斉硫黄原子をもつチオベンカルブスルホキシドのキャピラリー電気泳動による光学分割
小玉修嗣, 山本 敦, 松永明信, 曾我朋義*, 箕浦加穂*, 早川和一*

平成13年10月1日

日本分析化学会第49年会, 平12. 9. 26~28, 岡山市

- 11) カルシウム摂取量, 尿中無機成分および骨代謝指標の関連性

田中朋子

平成12年度地研東海北陸支部環境保健部会, 平12. 9. 27~28, 山中町

- 12) 高齢者の活動度および骨代謝と生活視機能との関連

中崎美峰子

平成12年度地研東海北陸支部環境保健部会, 平12. 9. 27~28, 山中町

- 13) 一般住民の *Coxiella burnetii* に対する抗体保有状況

石倉康宏, 安藤秀二, 松浦久美子, 中山 喬, 長谷川澄代, 北村 敬

日本ウイルス学会第48回学術集会・総会, 平12. 10. 12~14, 三重県津市

- 14) 富山県における河川水や下水から分離されたポリオウイルスの VP 3 /VP 1 領域の遺伝子解析

松浦久美子, 石倉康宏, 吉田 弘*, 中山 喬, 長谷川澄代, 安藤秀二, 堀江 均*, 宮村達男*, 北村 敬

日本ウイルス学会第48回学術集会・総会, 平12. 10. 12~14, 三重県津市

- 15) 下水から分離された Sabin1型変異株に対する住民抗体保有状況

中山 喬, 松浦久美子, 安藤秀二, 長谷川澄代, 石倉康宏, 吉田 弘*, 堀江 均*, 北村 敬

日本ウイルス学会第48回学術集会・総会, 平12. 10. 12~14, 三重県津市

- 16) 富山県の5ヶ所におけるイヨシロオビアブの発生量と発生消長

渡辺 護

第55回日本衛生動物学会西日本支部大会, 平12. 10. 13~14, 名古屋市

- 17) 中国内モンゴル自治区の有経女性における骨代謝マーカーと年齢, フッ素暴露との関連

西野治身, 新村哲夫, 梶田悦子*, 伊木雅之*, 鏡森定信*

第59回日本公衆衛生学会総会, 平12. 10. 18~20, 前橋市

- 18) 骨折患者と非骨折患者別にみた生活要因

梶田悦子*, 西野治身, 細川淳子*, 山口悦子*, 鏡森定信*

第59回日本公衆衛生学会総会, 平12. 10. 18~20, 前橋市

- 19) 高齢者の生活関連視機能の低下と活動能力および骨代謝

中崎美峰子, 西野治身, 梶田悦子*, 鏡森定信*

第59回日本公衆衛生学会総会, 平12. 10. 18~20, 前橋市

- 20) イオンクロマトグラフィーによる飲料水中の陰イオン、カルシウム及びマグネシウムイオンの一斉分析

松永明信, 高柳信孝, 山本 敦, 岡田 滋*

Takizawa, M. *, Someya, K. *, Ohsu, T. *, Shinohara, K. *, Sasaki, Y. *, Suzaki, Y. *, Sakai, K. *, Yamada, T. *
and Yamazaki, S. *

13th US-Japan Joint Meeting of AIDS, March 21-23, 2001, Kumamoto

40) Fluorescence-detected CD は定量手法となりうるか？

山本 敦, 小玉修嗣, 松永明信, 秋葉奈美*, 中澤裕之*, 早川和一*

日本薬学会第121年会 平13. 3. 28~30, 札幌市

41) γ -シクロデキストリンを用いたミセル動電クロマトグラフィーによるワイン中ピンクロゾリンの光学分割

小玉修嗣, 山本 敦, 斎藤行雄, 松永明信, 曾我朋義*, 木津良一*, 早川和一*

日本薬学会第121年会 平13. 3. 28~30, 札幌市

— 編 集 委 員 —

委 員 長 加 藤 丈 士

委 員 加 納 晴 美

林 美貴子

長谷川 澄 代

細呂木 志 保

高 柳 信 孝

堀 井 裕 子

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成12年度 (2000)

2001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 北日本印刷株式会社

富山市安住町7-36

電 話 (076) 432-2126