

ISSN 0917-0707

h161e

富山県衛生研究所年報

(平成3年度)

第15号

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH

(APRIL 1991~MARCH 1992)

NO. 15

1992



富山県衛生研究所

富山県衛生研究所年報

(平成3年度)

第15号

富山県衛生研究所

は じ め に

平成3年度の年報を皆様のご高覧に供します。

日本の中でも特に加速の早い高齢化社会の到来に備えて、富山県では、がん対策事業に引き続いて寝たきり・痴呆防止対策事業が策定されています。また、益々進展する国際化に向けて、国際交通網整備の一環として、近々韓国ソウルへの定期便が開設される運びです。

このような社会的背景の中で、当研究所としては、従来からの検査業務を可能な限り身軽にして、時代の要請に応じた調査研究に重点を移すように努力しているところです。このことを念頭に置きながら、がんその他の成人病の予防、先天異常の予防に関する疫学的調査研究、輸入感染症、食中毒、リケッチア症やウイルス性下痢症等に関する分子疫学的研究、さらには、検査法の開発、迅速化や簡易化に関する研究などに取り組んでいます。学際的な知見の要求されるテーマでは、富山医薬大、国立予防衛生研究所、国立公衆衛生院、県公害センターや県食品研究所との共同研究も行っています。

ここに掲載された論文は、必ずしもまとまった研究とは言えないものもありますが、業績の項の、学会発表や、他の学術雑誌への投稿論文の要旨もあわせてご参照の上、ご批判、ご鞭撻を頂ければ幸いです。

平成3年度には、上述の業務のほか、ビッグイベントとして、日本食品衛生学会第62回学術講演会の開催がありました。同学会は、当研究所が事務局となって、平成3年10月24、25の両日、富山市で開催されました。所員一同はじめ関係者の非常な努力によって、学会は、特別講演、シンポジウム、一般講演から関連の公開講演まで、盛況なうちにつつがなく幕を閉じました。学会長として企画・運営を総括された佐藤茂秋前所長のご労苦をねぎらうとともに、いろいろな面で学会を支援して頂いた県内外の関係各位に、あらためて厚く御礼申し上げます。

平成4年7月10日からは、第1回“ジャパンエキスポ富山”が研究所のすぐ横で開催されています。メインテーマは、「人間—その内と外 富山から世界へ・未来へ」ということですが、開催の意味は、日本ばかりでなく、世界に向けて富山の良さを知って貰いたい、ということでもあります。皆様のご来場をお待ちしています。

富山県衛生研究所長

児 玉 博 英

Titles

Reports

• A Survey Report on Neonatal Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism, Congenital Hypothyroidism and Congenital Adrenal Hyperplasia in Toyama Prefecture	33
• Chromosome Analysis of Peripheral Blood Cells and Bone Marrow Cells	44
• Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells and Chorionic Villus Cells	52
• Chromosome Analysis of Patients Suspected of Turner's Syndrome	59
• Mutagenicity of Diethylstilbestrol in Mouse Micronucleus Test	65
• Observations on the Mating Activity of Stinky-Bug, <i>Halyomorpha mista</i> by Video Monitoring	71
• Seasonal Prevalence of Mosquitoes Breeding along the Sight-seeing Rout of Mts. Tateyama in Chubu-Sangaku National Park in 1991	76
• Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture	81
• Epidemiological Surveillance for Poliovirus in Toyama Prefecture	92
• Epidemiological Surveillance for Rubella Antibodies	99
• Epidemiological Surveillance for Influenzavirus Infection in Toyama Prefecture	102
• Antibodies against Various Rickettsiae and HFRS Virus among Small Field Rodents Captured from Mountainous Areas in Toyama Prefecture	109
• Ecology of Hemolytic Streptococci in Toyama Prefecture and Change in Drug Sensitivity of the Isolates	115
• Plasmid Profile of Major Salmonellas Isolated in Toyama Prefecture from 1964 to 1991	121
• Salmonella Surveillance on River Water in an Urban Area	127
• Analysis of Copper Chlorophylls in Foods	134
• Simultaneous Determination of 22 Kinds of Organophosphorus Pesticides in Imported Fruits by FPD-GC with Capillary Column	139
• A Follow-up Study on the Blood Pesticide Concentration, Urinary Metabolite Excretion and Serum Enzyme Activity after Single Exposure to Organophosphorus Pesticides	147
• Serum Alkaline Phosphatase Isoenzyme in Middle-aged and Elderly Women	152
• Correlation between Urinary Hydroxyproline and Serum Alkaline Phosphatase in Middle-aged and Elderly Women	156
• Serum Levels of Uric Acid in Inhabitants of Toyama Prefecture—The Relation to the Life Style and the Past Medical History—	161
• Selenium Excretion in 24-Hours Urine and Its Serum Concentration in Healthy Adults	168

Notes

• Influence of Iodine-Containing Disinfectants on Neonatal Screening for Congenital Hypothyroidism	175
• Virological Examination in Infectious Diseases in Toyama Prefecture	178
• Incidence of Tsutsugamushi Disease in Toyama Prefecture in 1991	180
• An Epidemiological Analysis on the Serotype of Group A Human Rotavirus in Acute Gastroenteritis	184
• Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 1991	187
• First Incidence of Infectious Enteritis Caused by <i>Escherichia coli</i> O157:H7 in Toyama Prefecture	192
• Antibody Measurement by ELISA against <i>Bordetella pertussis</i> —Comparison between Polystyrene Ball Method and Microplate Method—	195
• <i>Fusarium oxysporum</i> Isolated from the Towel for the Kitchen Use	198
• A Simple Analytical Method for Pesticides Used in Golf Courses	203
• On-Line Solid-Phase Extraction of Thiuram in Water with HPLC Analysis	206
• A Case Study on the Groundwater Polluted with Tetrachloroethylene(2)	208
• Concentration of Organophosphorus Pesticides in Serum, Organ and Tissue in an Acute Pesticide-Poisoning Case	211

1. 運 營

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公布により、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）。旧研究所の増築。
- 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公布により「所長代理」制を「次長」制に変更。
- 昭和44年 4月 1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、従来の課制を廃し、部制を設置し、部に主任研究員を配置（病理生化学部、微生物部、食品科学部、公害調査部）。
- 昭和46年 4月15日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、公害調査部所管の業務が公害センターに移管され、また、各部の名称を変更（病理部、ウイルス部、細菌部、化学部、環境保健部）。
- 昭和51年 9月10日 「地方衛生研究所設置要綱」が改正され、「公衆衛生情報の解析提供」が設置目的に追加。
- 昭和55年12月20日 研究所新庁舎小杉町中太閤山で建設着工。
- 昭和57年 6月10日 小杉町中太閤山に新庁舎完成。
- 平成元年 4月 1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、病理部をがん研究部に名称を変更。
- 平成4年 4月 1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、庶務課を総務課に名称を変更。

(2) 施設の概要

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

(3) 職 員 数

(平成4年5月1日現在)

区 分	所・次長 部・課長	技 術 員 技 吏	主 幹 研究員	副主幹 研究員	主 任	主 任 研究員	研究員	技術員	(嘱 託)	計
所 長	1									1
総 務 課	1				2				1	4
がん研究部	1	1				4	2			8
ウイルス部	1			1		4				6
細 菌 部	所 長 事務取扱		2				3	1		6
化 学 部	1		1	1		2	2			7
環境保健部	1		1			2	2			6
計	6	1	4	2	2	12	9	1	1	38

(4) 職 員 一 覧

(平成4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	児 玉 博 英	25.2	所内事務総括
総 務 課 長 (出 納 員)	大 屋 重 行	1.2	人事, 予算, 出納員業務及び課内事務総括
主 任 (会 計 員)	前 田 進	2.11	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 任 (会 計 員)	筒 井 外志子	4.2	給与, 旅費, 賃金の支給, 収入事務及び会計員業務
(嘱 託)	金 岡 寛	0.2	公用車の操車, 整備保全業務
がん研究部長	柏 樹 久 雄	2.2	部内事務総括及びがん発生要因の調査研究
技 術 吏 員	横 川 博	0.2	がん発生要因の疫学的調査研究
主任 研究員	渡 辺 護	23.4	衛生動物の検査研究及び防除対策に関する調査研究
”	本 田 幸 子	21.8	環境変異原物質の影響調査研究
”	林 美貴子	21.5	染色体異常の検査及び調査研究
”	品 川 保 弘	3.1	がん発生要因の実験的調査研究
研 究 員	高 橋 雅 子	8.11	先天性代謝病の検査及び調査研究
”	川 幡 映 二	0.2	先天性代謝異常マスキリーニングの検査
ウイルス部長	森 田 修 行	16.11	部内事務総括及びウイルス等の調査研究
副主幹研究員	石 倉 康 宏	28.2	リケッチャ感染症及び免疫学的調査研究
主任 研究員	松 浦 久美子	27.2	ウイルス疾患の病因究明及び予防のための調査研究
”	中 山 喬	22.2	ウイルス疫学に関する調査研究
”	長谷川 澄 代	20.4	ウイルス感染症の検査及び検査法開発の研究
”	庄 司 俊 雄	14.8	ウイルス疾患発生の環境要因の調査研究
細 菌 部 長	所 務 取 長 扱		部内事務総括及び病原細菌の生態学的研究
主 幹 研 究 員	刑 部 陽 宅	29.2	細菌感染症, 食中毒の原因究明及び細菌毒素, DNAの研究
”	井 山 洋 子	7.2	水の細菌学的試験, 検査及び水質汚濁防止の調査研究

平成3年度 歳入決算

款 項 目 節	決 算 額	備 考
使用料及び手数料	10,083,080	
手 数 料	10,083,080	
衛 生 手 数 料	10,083,080	
衛 生 研 究 所	2,617,940	} 収入証紙 2,690,135 円 } 納入通知 7,392,945 円
環 境 衛 生 検 査	7,465,140	
財 産 収 入	3,600	
財 産 売 払 収 入	3,600	
物 品 売 払 収 入	3,600	
物 品 売 払 代 金	3,600	
諸 収 入	234,151	
雑 収 入	234,151	
雑 収 入	234,151	
雑 収 入	234,151	
合 計	10,320,831	

平成3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		1,681,055	
				882,325	
				882,325	
			賃 金	413,500	
			旅 費	468,825	
				798,730	
				798,730	
			報 償 費	370,000	
			旅 費	378,730	
				50,000	
民 生 費	児童福祉費	児童福祉対策費	諸 費	3,869,327	
				3,869,327	
				3,869,327	
			賃 金	1,834,612	
			旅 費	54,715	
			需 用 費	1,900,000	
			役 務 費	80,000	
				117,516,447	
				114,340,763	
			衛 生 費	公衆衛生費	予 防 費
旅 費	292,135				
需 用 費	2,587,000				
役 務 費	26,000				
備 品 購 入 費	1,297,800				
	50,000				
母 子 保 健 費	50,000				
需 用 費	50,000				
	10,184,114				
	494,314				
	337,800				
	4,511,000				

款	項	目	節	決 算 額	摘 要
			諸 費	20,000 ^円	
			使用料及び賃借料	4,821,000	
		衛 生 研 究 費		99,903,714	
			賃 金	4,485,496	
			報 償 費	105,000	
			旅 費	5,296,910	
			需 用 費	70,795,000	
			諸 費	404,000	
			役 務 費	1,971,000	
			委 託 料	12,798,968	
			使用料及び賃借料	798,000	
			備 品 購 入 費	3,163,340	
			負 担 金 補 助 金	86,000	
	環 境 衛 生 費			2,756,544	
		環 境 衛 生 総 務 費		1,186,000	
			需 用 費	1,163,000	
			役 務 費	23,000	
		食 品 衛 生 指 導 費		563,000	
			需 用 費	560,000	
			役 務 費	3,000	
		環 境 衛 生 指 導 費		659,544	
			旅 費	67,544	
			需 用 費	592,000	
		水 道 指 導 費		348,000	
			需 用 費	348,000	
	医 務 費			109,140	
		保 健 婦 等 指 導 管 理 費		109,140	
			旅 費	109,140	
	公 害 防 止 費			310,000	
		公 害 防 止 対 策 費		310,000	
			需 用 費	310,000	
	合 計			123,066,829	

重要物品一覧

(購入価格100万円以上)

品名	購入年月日	数量	型式
倒立型顕微鏡	50. 10. 30	1	日本光学 MD型
万能顕微鏡	57. 9. 30	1	オリンパス
高速冷却遠心分離機	54. 11. 26	1	久保田
真空凍結乾燥機	50. 10. 31	1	アトモパック 卓上型 No.2003型
横型超低温槽	50. 3. 31	1	レブコ ULT-975型
超低温槽	52. 12. 20	1	〃 ULT-1275型
原子吸光光度計	45. 8. 31	1	日立208型
蛍光分光光度計	49. 3. 30	1	日本分光 EP-4型
二波長分光光度計	49. 3. 30	1	日立 デジタル 156型
水銀分析計	50. 3. 31	1	島津 UV-201型
赤外線分光光度計	54. 1. 26	1	日立 260-0613型
原子吸光炎光分光光度計	54. 9. 19	1	島津 AA-640-12型
自動連続比色装置	55. 12. 15	1	パーキンエルマーモデル55E
カーボンロッドアトマイザー	56. 1. 31	1	バリアン CRA-90
ガスクロマトグラフ	48. 2. 23	1	島津 GC-5AP EE型
〃	49. 2. 8	1	島津 GC-5AP FE型
〃	52. 12. 15	1	日立 163型
〃	57. 1. 8	1	島津 GC-7AP r FFT型
〃	57. 10. 12	1	島津 GC-7AP r FFT型
ガスクロマトグラフ質量分析計	58. 2. 25	1	島津 GCMS-QP1,000
低温乾燥灰化装置	45. 12. 7	1	トラテロ LTA-505型

品名	購入年月日	数量	型式
バイオペレレーター	49. 9. 4	1	ミツミ科学 ST-1500-BP
等電点分画装置	49. 9. 4	1	KLB 8100
クリオスタット	53. 1. 10	1	アメリカンオプチカル「ADクリオカット」 840C型
ガンマーカウンター	57. 9. 30	1	アロカ ARC-305
全自動コロニーカウンター	57. 9. 30	1	東海医理化 COP-1000
高速冷却遠心分離機	57. 9. 30	1	久保田 KR-20000T
フレームレスアトマイザー	57. 9. 30	1	島津 GFA-4
超音波洗浄機	57. 9. 30	1	神明台 UD-2400FA
超低温槽	57. 9. 30	2	フォーマ 8107型
〃	57. 9. 30	1	〃 8200型
〃	57. 9. 30	1	〃 8255型
炭酸ガス培養装置	57. 9. 30	1	〃 3158型
〃	57. 9. 30	1	ナプコ 5200型
超遠心機	57. 10. 15	1	日立 SCP-70H
高速液体クロマトグラフ	57. 10. 2	1	島津 LC-4A
赤外線放射温度計	57. 10. 8	1	三栄測器 6T53
液体シンチレーションカウンター	57. 10. 12	1	アロカ SC-703
低バックグラウンド 液体シンチレーションカウンター	57. 10. 14	1	アロカ LSC-LB1
ウサギ、マウス感染動物飼育装置	57. 10. 15	2	東洋理工 TAR-23改良型
原子吸光分析装置	57. 10. 5	1	日本ジャーレル, アッシュ AA-860
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
アミノ酸分析計	57. 11. 30	1	日本分光 SR-1

品名	購入年月日	数量	型式
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
高速液体クロマトグラフ	58. 3. 30	1	島津 LC-5Aシステム
超低温槽	58. 3. 24	1	フォーマ 8107型
〃	58. 3. 24	1	〃 8138型
炭酸ガス培養装置	58. 3. 31	1	〃 3158型
酵素免疫システム	58. 3. 31	1	三光純薬 MR580 ミニウオッシャー 2-315
炭酸ガス培養装置	59. 1. 10	1	フォーマ 3158型
超低温槽	59. 7. 16	1	〃 8319型
高速冷却遠心機	59. 9. 20	1	久保田 KP-20000T
ガスクロマトグラフ	59. 9. 28	1	島津 GC-7APFE
電子顕微鏡	60. 2. 28	1	日立 H-600A
超低温槽	60. 8. 30	1	レブコ ULT-1490型
ガスクロマトフラグ	61. 9. 6	1	島津 GC-15APEF
分光光度計	61. 9. 6	1	島津 UV-160
原子吸光分光光度計	62. 9. 30	1	日立偏光ゼーマン Z-8000
分光光度計	62. 9. 10	1	日立 U-2000
パンチ&インデクサー	62. 8. 31	1	米国ファンダメンタルプロダクツ社製 MODEL VIIA
デンストメーター	63. 7. 20	1	島津 二波長フライングスポットスキャナ CS-9000
電気泳動装置	63. 10. 11	1	ファルマシア社ファーストシステム
高速液体クロマトグラフ	63. 10. 21	1	東ソー, CCP-8000
落射蛍光顕微鏡装置	1. 8. 11	1	オリンパス BHT-RFK-A2型
蛍光測定システム	1. 9. 8	1	島津 デンストメータ (CS-9000) 用

品名	購入年月日	数量	型式
フォトダイオードアレイ検出器	1. 9. 14	1	島津 SPD-M6A
遠心分離機用ローター	1. 11. 19	1	日立工機 スイングローターRPS50-2
純水製造装置	1. 12. 19	1	ミリポア ミリ-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 グラジェント装置	2. 9. 20	1	島津 LC-9A
ガスクロマトグラフ質量分析計	2. 11. 5	1	島津 GCMS-QP2000GF
超低温槽	2. 11. 6	1	レプコ ULT-2050
炭酸ガスインキュベーター	3. 2. 8	1	サンヨーフォーマMIP-3193
スローモーション解析装置付 ビデオ撮影記録機	3. 9. 30	1	ソニー
パルスフィールド電気泳動装置	3. 9. 30	1	バイオラッド CHEF-DR II
分光蛍光光度計	3. 11. 30	1	日本分光 FP-777
高速液体クロマトグラフ用 分光蛍光検出器	4. 3. 6	1	島津 RF-550
パラフィンブロック作製装置	4. 3. 12	1	サクラ精機 テイシュー・エンベンディング 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

(平成4年3月31日)

(6) 各部の業務概要

がん研究部

[行政および依頼検査]

先天性代謝異常等マススクリーニング：今年度の検体総数は11,546件で、県内74か所の医療機関で採血し、送付されたものである。

受検児は出生数の101.6%（里帰り分娩を含む）であり、前年度同様高い受検率であった。検査項目は、フェニールケトン尿症、ホモシスチン尿症、ヒスチジン血症、楓糖尿症（メイプルシロップ尿症）、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）および先天性副腎過形成症の7疾患である。その結果、要精密検査児として60名（フェニールケトン尿症疑い1名、ホモシスチン尿症疑い3名、ヒスチジン血症疑い3名、ガラクトース血症疑い7名、クレチン症疑い26名、先天性副腎過形成症疑い20名）がスクリーニングされ、このうち患児が11名（高フェニールアラニン血症1名、ヒスチジン血症2名、クレチン症5名、先天性副腎過形成症3名）、正常45名、経過観察中のものは4名であった。

染色体検査：今年度の検査実施件数は血液52件、骨髓液4件、羊水33件、絨毛2件、流産胎児5件と悪性腫瘍9件の計105件で、うち染色体異常を示したものは、血液2件（均衡転座保因者、トリプルX）、羊水1件（均衡転座保因者）、流産胎児1件（48, XX, +15, +16）と悪性腫瘍1件の計5件であった。検査受付時の主訴は、血液では、流産を繰り返すため、先天異常児の家族等が多く、羊水では高齢妊娠、前子が異常等であった。

衛生動物検査：行政検査として、日本脳炎流行予測事業の媒介蚊の発生調査を継続して行った。平成3年度は前年度に比べ発生数は減少し、平成元年度と同様のレベルになった。ここ数年、蚊の捕集数の変動が著しく、その原因について引き続き解析中である。また、ライム病の媒介マダニの分布調査を、福光町医王山、立山美女平、有峰などで行い、各地点でライム病スピロヘータを媒介するシュルツェマダニ、ヤマトマダニが分布していることを確認した。以上の調査のほかに、分類同定検査として、保健所から依頼の食品混入昆虫類4件など、合計3,802件の検査を行った。

一般依頼検査として、昆虫、ダニ、クモ、ムカデ・ヤスデ、内部寄生虫などの分類同定検査および駆除指導を227件行い、さらに食品に混入した昆虫類、小動物の糞の分析を16件行った。

[調査研究]

胃がん発生の背景要因の疫学的研究：これまで多くの疫学的研究から、胃がんの発生は食習慣または喫煙習慣等によることが多いとされている。しかし、主たるものが何であるかは不明の点も多い。そこで本県特有の原因となる食習慣があるか否かについて、詳細なケース・コントロール・スタディーを継続して行っている。

がん発生要因の実験的研究：環境中化学物質とDNAとの共有結合体（DNA付加体）を検出する方法である³²P-ポストラベル法を用いて、種々の化学物質のDNA修飾能、変異原性に基づくリスク評価について、研究を行っている。

先天性代謝異常症等患児の実態に関する研究：新生児マススクリーニングで発見された患児について、引

き続き追跡調査を実施した。その結果、クレチン症の患児で、スクリーニング検査では早期に見つかっているにもかかわらず、小児科受診が遅れたり、治療開始が遅かった例が2例あった。いずれも1か月以上経ってから治療を始めており、発育発達の遅れが懸念されている。また、これまで発見された患児のうち、ヒスチジン血症で2組4例、先天性副腎過形成症で2組4例の同胞例があった。一過性と診断された要精検者の中にも、何例かの同胞例が見つかっており、このような症例についても実態調査を行っている。

姉妹染色分体交換法に関する研究：姉妹染色分体交換法を用いて、組織培養時の酸素分圧を5～80%の間で変化させて、細胞、人末梢血液を培養したところ、姉妹染色分体交換頻度は、酸素分圧の低い方が低いことを明らかにした。さらに、このことが先天異常の成因にどのように関与しているか検討している。

環境汚染物質等の突然変異原性に関する研究：マウスの骨髄細胞、末梢血、肝臓等の小核試験により、環境汚染物質の変異原性の有無を明らかにしてきたが、引き続きこの方法により発がん性との相関性を検討している。

衛生動物に関する研究：立山山岳観光地の、主に美女平、上の小平、追分で、1989年度から蚊の発生生態調査を行っている。この3年間蚊の発生状況には大きな変化はみられず、安定した発生を繰り返していることが確認された。このことから、初夏の大量発生時に観光客などが吸血の被害に会うことが懸念され、今後の対策を考える必要が認められた。

クサギカメムシの駆除研究は、1988年度から、黒部保健所と協力して行っているが、本年度はホテル、一般民家などへのクサギカメムシ侵入阻止を、ピレスロイド系シフェノトリン水性懸濁剤を窓枠などへ重点処理する方法と、シフェノトリン水性懸濁剤浸漬網・紐の窓および壁面覆い法など、の実用試験を行った。その結果、ホテルなどでは侵入阻止に成功したが、一般民家では未だ不十分であり、この点は今後の課題である。

1991年度秋から、各種事業所に侵入する飛翔性昆虫の、侵入阻止法の開発研究を開始した。1991年度は侵入する昆虫の実態調査を行い、秋から春に掛けての侵入飛翔性昆虫の大部分がユスリカ類であることを確認した。

ウ イ ル ス 部

[行政検査および依頼検査]

富山県結核・感染症サーベイランス事業および病院小児科などからの依頼によるウイルス学的検査では、351名の患者について検査を行い、295名からの検体でウイルスを検出した。前年度に引き続いて小児の急性胃腸炎について定点観測を行い、電子顕微鏡による検索で多数のロタウイルスや小型球形ウイルス、アデノウイルスを検出した。エンテロウイルスの分離では、6月から9月にかけて多発した無菌性髄膜炎の患者の大部分からエコーウイルス30型が分離された。同じ時期の6～8月に手足口病も多発し、エンテロウイルス71型とコクサッキーウイルスA16型の同時流行であることが明らかになった。

恙虫病患者は5月に1名、10月に5名、11月に9名の合計15名発生した。地区別では従来と同様に、入善町と黒部市の患者が多く、それぞれ6名と4名であった。その他、宇奈月町2名、富山市1名、上市町1名

と東京在住者が朝日町に逗留中に発病した1名が確定診断された。

その他、報道機関によるエイズ患者増加の情報の影響で、H I V抗体の検査件数が増加傾向となり、前年度の約1.5倍の132件を検査した。

[流行予測調査]

日本脳炎について、7月16日から10月3日までの期間、毎週1回県内産（高岡市と氷見市）の豚から採血し、日本脳炎ウイルスに対するH I抗体の保有状況を調査した。9月中旬から2ME感受性抗体を保有する豚がみられるようになり、ウイルス新鮮感染が確認された。しかし、コガタアカイエカの発生状況が前年度より低調であったことが影響して、最高の抗体保有率は60%にとどまった。また、県内で日本脳炎患者の発生はなかった。

ポリオでは、感染源調査と昭和63年度以来の感受性調査が行われた。感染源は小矢部市と黒部市の小児211名（0～6歳）から糞便を採取してウイルス分離を行った。エンテロウイルス71型など40株のウイルスが分離されたが、ポリオウイルスはみられなかった。一方、抗体保有調査は対象年齢を0～1歳から40歳以上まで10区分に分けて行われた。1型および2型の中和抗体陽性率は、いずれの年齢群も高く、80%以上であったが、3型の抗体陽性率は一部の年齢層（15～24歳）で60～67%とやや低い傾向であった。

風疹の感受性調査は、前年度より対象者の年齢区分を広げて0～4歳から40歳以上までの9区分に分けて行われた。各年齢区分における感受性者（H I抗体価8倍未満）の割合は、前年度と比較すると15～19歳と20～24歳でやや多くなっていた。その詳細な理由は不明だが、意外にもワクチン接種者のなかに抗体を保有しない者が少なからず認められた。その他では、ワクチン接種者がほとんどいない年齢層（0歳から14歳および30歳以上）なので、2人ないし3人に1人の割合で感受性者がみられた。

インフルエンザウイルスは平成4年1月12日発病の患者から今シーズン初めて分離された。1月末頃から学校などで集団発生がみられ、2月下旬までに5施設で840名の患者発生の届出があった。定点観測および集団発生で分離されたウイルスは、A（H₁）型が32株、A（H₃）型が20株であった。

[調査研究]

河川のレオウイルス汚染調査で、分離ウイルス株をRNA電気泳動パターンで比較した成績から、レオウイルスの汚染源がヒトであることを示唆したが、さらに、野ネズミおよび豚から分離されたウイルス株の電泳パターンは、河川、下水およびヒト由来株とは異なっていることが判明した。

富山県の小児における下痢症ウイルスについて定点観測を行い、電子顕微鏡観察でロタウイルス、小型球形ウイルスおよびアデノウイルスの月別消長を調査した。さらに、ロタウイルスの血清型別を行ったところ、血清型1型が常に優勢であることが明らかになった。

風疹ワクチン接種による抗体獲得率は約95%であることを示してきたが、一般女性の意識調査は、ワクチン接種後の抗体陰性が「信じがたい」との認識であることを示した。

細 菌 部

[伝染病、食中毒等にかかわる検査]

4月早々、富山県初の腸管出血性大腸菌O157:H7による感染性腸炎2例を経験した。母子の事例で、高岡市の総合病院からの依頼により当部で同定したものである。前年の11月、2回にわたって保健所および病院の検査担当者に対して、本菌に関する研修を行った成果の現れであろう。伝染病関係では、大きな集団発生はなく、腸チフス5件、赤痢1件が発生した。そのうち、腸チフス4件は同一家族内の発生であり、分離株のフェージ型などから、長期保菌の老婦人が感染源と考えられた。海外からの輸入事例は、上記赤痢の1例（推定感染国はタイ、ベトナム）と、Non-01 *Vibrio cholerae*と病原大腸菌の混合感染1例（インドネシア）であった。

食中毒は、腸炎ビブリオ5件、黄色ブドウ球菌4件の合計9事例について、それぞれ菌型、耐熱性溶血毒産生性とコアグラゼ型、毒素型を決定した。過去2年に比べて、件数は減少したが、特に腸炎ビブリオについては、多発時期の8月20日からの1か月間、各保健所が管内の施設に対し、重点監視とスタンプ法による簡易検査を実施し、検査結果に応じた指導を行っていることも、本菌食中毒の減少に効果を表しているものと思われる。黄色ブドウ球菌の増加は、1992年夏のジャパンエキスポ富山の開催にむけて、警戒警報と解釈すべきであろう。

[その他の行政および依頼検査]

行政検査：食品については、夏期および年末の収去検査、食肉のカンピロバクター、サルモネラ検査および生食用カキの規格試験を行った。水質関係では、海水浴場のふん便性大腸菌群の定量と、海域水の大腸菌群検査を行った。

依頼検査：食品の検査件数は前年に比べて大幅に増加したが、これは明らかに富山で開催された日本食品衛生学会の影響であろう。水質関係はほぼ前年なみ、医薬品の検査件数はかなり減少した。

[流行予測、感染症サーベイランスと病原細菌検出情報]

厚生省委託流行予測事業：百日咳、ジフテリアは本年度は該当年ではなく、本事業は行われなかったが、百日ぜきについて、ELISAによる抗体測定法の検討を、本事業に参加している11か所の衛生研究所で行った。従来から用いられているマイクロプレート法と、新たに開発されたポリスチレンボール法との比較について、予研から配布された盲検血清によるクロスチェックの結果、各衛生研究所のデータは極めてよく一致し、しかもボール法では抗体価の低いレベルで非特異反応がなく、感度もすぐれていた。溶血レンサ球菌については、前年に引き続いて健康児童の腸管保菌状況を調べ、保菌率の低いこと、A群の保菌が全く見られないことを確認した。

感染症サーベイランスと病原細菌検出情報：感染症サーベイランスによれば、百日ぜきは、1991年前期、後期とも患者数は前年に比べ著しく減少した。逆に、溶血レンサ球菌感染症は前期、後期ともかなり増加した。異型肺炎は前期は減少、後期にはかなり増加し、オリンピック年に流行するというぎざしをみせている。病原細菌検出情報に関して、特筆すべきことは、前述の食中毒の増加も反映して、黄色ブドウ球菌の分離株数が、前年比560%と大幅に増加したことである。この傾向はその後も続き、1992年は4月の時点で、分離株数が前年の87%にも達している。溶血レンサ球菌A群もまた、感染症サーベイランスでの患者数の増加を

反映して、かなり分離株数が多くなった。腸管病原細菌では、腸炎ビブリオは前年に比べかなり減少したが、サルモネラ、大腸菌は増加の傾向で、1986年以来漸減の傾向を示していたカンピロバクターは、前年と同様で横ばい状態であった。

[調査研究]

当部で長期間研究の対象としてきたNon-01 *Vibrio cholerae*の疫学と腸管起病性に関する研究の集大成が、感染症学雑誌（65巻）の5編の論文である。*Vibrio mimicus*の腸管起病性についても、Non-01 *V.cholerae*と同様に溶血毒の役割が重要であることを明らかにした（同66巻）。

溶血レンサ球菌の生態について、特に高齢者と小児の保菌状況が、それぞれ極めて特徴的であることを明らかにし、これも感染症学雑誌（65巻）にまとめた。臨床材料由来のA、B両群については、型別の変遷をみているが、B群は特に型別不能株が多いので、本菌について、より有用な疫学的情報を得るためには、染色体DNAやプラスミドの比較検討の必要があろう。この点に関して、ヒト由来と動物由来のB群の比較も興味のあるところである。

サルモネラについては、富山県の主流行菌型のプラスミドプロファイル調べている。多くの菌型がプラスミドプロファイルにより細別され、その年次変遷に関しても興味ある知見が得られている。最近、食中毒の多発で問題になっている血清型Enteritidisに関しては、ファージ型とプラスミドプロファイルの関係など、興味ある知見が得られつつある。

都市河川水の定点観測では、コレラ菌（0-1）、チフス菌などは全く分離されず、サルモネラ汚染も年々改善されている状況が把握されている。

富山県での初発事例から分離した腸管出血性大腸菌O157:H7について、その詳細な性状と毒素産生性を調べ、本菌は埼玉県の幼稚園の集団発生事例からの分離株とは、糖分解のパターンと産生毒素の型が異なることを明らかにした。

県公害センターとの共同研究で、担当している常願寺川の底生動物についてまとめ、本年は引き続き同様の調査を黒部川について行った。

最後に、台所用ふきんが何らかの原因によって汚染され、紫色に着色する、という事例の原因を追及し、それが*Fusarium oxysporum*の汚染によることを明らかにし、その防止対策についても検討した。

化 学 部

[行政および依頼検査]

1. 実施計画に基づく食品等の行政検査

本年度も、厚生部の「食品等の検査実施計画」に基づき、各種食品の検査を行った。

(1) 食品の成分および添加物等の含有量検査並びに規格試験

清涼飲料水10件の成分規格試験と保存料の定量を行ったところ、すべて規格に適合した。3件から安息香酸とパラオキシ安息香酸ブチルエステルを検出し、他1件から安息香酸0.59 g/kgと使用基準（0.6 g/kg）に近い値を検出した。乳酸菌飲料4件の無脂乳固形分を定量したところ、いずれも基準に適合

していた。他に、生麺やギョウザの皮等21件につき、品質保持剤プロピレングリコールを検査したところ、ギョウザの皮およびシュウマイの皮各々1件から基準値を超える量を検出した。煮干し等魚介乾燥品10件につき、酸化防止剤BHAおよびBHTを分析したところ、煮干し1件からBHA0.15g/kg(基準以下)を検出し、他9件からはいずれも検出しなかった。

(2) 食品中の残留農薬および重金属の含有量検査

県下で収穫された野菜や果物合計13件について、農薬の残留実態を把握するため、食品衛生法や環境庁告示により残留基準が設定されている項目およびその他、合計14項目を検査した。その結果、なし3件からキャプタンを各々0.04, 0.084, 0.135ppmを検出した。また、かぶおよびかぶ葉各々2件からキントゼンを0.003, 0.041, および0.069, 0.144ppmを検出した。食品衛生法では、なし、かぶおよびかぶ葉について、キャプタンやキントゼンの残留基準はない。しかし、これらの農薬の1日摂取許容量から考えて、特に問題となる量ではなかった。また、富山湾産魚介類23種の水銀を分析したところ、定量値は0.01~0.25ppmの範囲で、すべて基準値に適合していた。

2. 実施計画に基づかない食品等の検査

年度当初の計画とは別に、突発的に依頼されて次のような行政検査を行った。

まず、異種脂肪を混入した疑いで保健所から搬入された牛乳について、異種脂肪の指標成分であるβ-シトステロール等の検査を行ったが、異種脂肪の混入を認めなかった。また、苦味を呈したという学校給食用牛乳8件について、カルシウムやマグネシウムイオンを分析したが、異常値を認めなかった。さらに、これらの紙製容器の溶質試験も行ったが、異常を認めなかった。その後の保健所の調査で、本件は牛乳製造業者の保存タンクの洗浄操作が不完全であったためと判明した。

1991年12月末に、県下の一保健所が赤色の生菓子を収去検査したところ、エオシンを検出した。当所へ再確認の依頼があり、フォトダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフを用いて精密検査をしたところ、生菓子1件および生菓子的用色粉2件から各々エオシンを検出した。これは同保健所管内の生菓子的用色粉の製造業従業員が、誤ってエオシン粉末を配合したものと判明した。

3. 家庭用品検査

行政検査において、家庭用品のメタノール、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレンおよびディルドリンを検査したところ、すべて基準に適合していた。

4. 水質検査

(1) ゴルフ場使用農薬による井戸水汚染検査

ゴルフ場付近に住民の井戸がある6市3町村から依頼され、6月、8月、11月および3月に検査を行った。このうち、6月および11月の検査は依頼検査として、8月および3月の検査は行政検査として行った。この結果、6月に行った27件のうち、1件からシマジン0.6μg/l(水質目標3μg/l)を検出したが、その他の月の検査では、すべて不検出であった。

(2) 水道水や井戸水中の有機塩素化合物等の特殊項目検査

水道水やその原水中のトリハロメタンやテトラクロロエチレン等182件(926項目)を依頼検査として行ったが、すべて基準に適合していた。

5. 温泉分析

小分析として5件検査し、2件が温泉に該当するものと推定された。中分析は15件検査し、13件が温泉に該当した。従来、温泉であった2件が不適となり、1件は鉄、他は遊離炭酸の含有量が低下したためであった。なお、前年に続き14件のラドンの測定を行ったが、測定値は基準の1/1000~1/6の範囲にあった。

[調査研究]

1. 食品中の成分および添加物に関する調査研究

(1) 偏光吸光度検出法の開発

光学活性物質による旋光度変化を吸光度変化として捉える「偏光吸光度検出法」を開発した。この方法により、従来の吸光度検出器に簡単な付属品を付着することにより、旋光度の測定が可能となった。そこで糖類の分析に応用し、市販菓子中のパラチノースやしょ糖の使用実態を調査したところ、パラチノースの含有量に関しては、不適切な使用表示のものもみられた。

(2) イオンクロマトグラフィー（IC）の多塩基酸溶離液における保持・溶出機構の解析

多成分からなる溶離剤イオンと試料イオンが存在するICにおいて、試料イオンの保持機構を解析するため、新たに溶離剤間分離係数という概念を導入し、低交換容量ICカラムにおける多価溶離剤の化学量論的な挙動の解析を可能にした。

(3) 魚肉ねり製品の製造工程におけるポリリン酸塩の消長

魚肉ねり製品の製造工程、特に、坐り工程において、ピロ（P2）およびトリポリリン酸塩（P3）が酵素的に分解されることは、既に明らかにした。続いて酵素分解に及ぼす水晒しの影響について、魚肉落とし身から肉糊を調製して検討を行ったところ、水晒しの洗浄回数増加にともない、坐り工程の肉糊中でのP2およびP3の分解速度は減少した。この原因は、P3については分解酵素量の減少によるものではなく、活性発現因子であるマグネシウム濃度が減少したためであり、またP2については、P2分解酵素量が減少したことに起因すると推定された。

(4) 食品中の銅クロロフィルについて

銅クロロフィル（Cu-Chl）はその標準物質が市販されていないため、食品中の含有量は銅を指標として分析されている（公定法）。そこで、まず、Cu-Chlを合成し精製して、その標品を調製した。これを用いて、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により、添加表示のある市販食品を分析したところ、Cu-Chlはほとんど含まれておらず、公定法により測定した値と大きく異なった。この原因については、引き続き検討中である。

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

輸入果実について、果皮および果肉抽出物に含まれる脂溶性妨害物（脂溶性色素、油脂成分およびワックス等）の除去法と有機リン農薬のFPD付ガスクロマトグラフ（FPD-GC）による一斉測定条件を検討した。脂溶性妨害物（カラムの汚染や検出器の感度低下をもたらす）は、前処理操作にヘキサン・アセトニトリル分配法を導入して除去し、キャピラリーカラムを用いたFPD-GCを使用することにより、サリチオン等20種類の有機リン農薬の一斉分析が可能となった。なお、この方法の回収率はほぼ70%以上であった。

3. 飲料水に関する調査研究

(1) ゴルフ場使用農薬の固相抽出法の検討

ゴルフ場使用農薬による井戸水の汚染を把握するため、厚生省が提示した検査方法により分析を行っている。この方法は煩雑で、多量の溶媒を用い、濃縮操作等に時間を要する。そこで改良法として、Sep-Pak tC18カートリッジ（ウォーターズ社製）を用いた固相抽出法を検討した。対象農薬は規制30品目中、メコプロップ、チウラム、アッシュラムおよびオキシシン銅を除いた26品目で、溶出液としてジクロロメタンを用いたところ、おおむね良好な結果が得られた。

(2) ゴルフ場使用農薬のオンライン固相抽出によるHPLC分析

(1)の固相抽出対象外の農薬について、直接濃縮法を用いたHPLC分析を試みた。インジェクションループの代わりに、逆相系ガードカートリッジを装着する系を組み、オンライン固相抽出法の検討を行い、アッシュラムおよびチウラムの微量分析法を確立した。

環 境 保 健 部

〔行政検査〕

カドミウム汚染地域住民の健康調査として、次の検査を行なった。

(1) 神通川流域住民健康調査

平成2年度より実施された45～55歳の若い年齢層について2年目の調査が実施され、対象者1,096名中713名が受診した。その後1次B検診121名、2次検診11名が受診し、延べ845名の検査を行った。

この他、昭和54年から59年までの調査結果に基づき、腎尿細管機能のgrade分けされたものについて追跡調査が行われ、177名の検査を実施した。

(2) イタイイタイ病要観察者を対象とした管理検診は5名、また同病の認定申請に伴うもの2名について、それぞれに該当する検査を実施した。

〔調査研究〕

1. イタイイタイ病要観察者やカドミウム汚染地域住民の健康管理に資するため、次の研究を行なった。

(1) 骨障害に関する研究：骨代謝の生化学指標とされる血清骨型アルカリフォスファターゼの従来からの分析法（電気泳動法）は、肝由来のアイソザイムとの分離が困難であり、正確性に欠けていた。そこで、小麦胚芽レクチンにより、骨型のみを選択的に沈殿分離する新しい方法の実用化をはかった。

(2) 腎障害に関する研究：婦中町を中心としたカドミウム汚染地域の検診対象者全員について、尿中低分子蛋白レベルや異常値出現頻度等を解析している。

2. 環境汚染物質の生体影響に関する研究

(1) 農薬散布従事者の中毒発生予防の観点から、暴露後の血中農薬および尿中代謝物の消長と生体影響との関係を経時的に観察した。その結果、暴露直後から血中農薬および尿中代謝物が検出され、同時に血清中コリンエステラーゼの低下が認められた。

また、農薬服用による急性中毒死患者1例の血液と臓器・組織内農薬の分析を行い、脂肪組織では30日後も農薬が高濃度に蓄積している等体内での農薬の残留状態を知る資料を得た。

(2) セレンは抗酸化作用を有し、疾病や障害との関連が注目されている微量必須金属の一つであるが、そ

の生体内レベルや機能については充分解明されていない。そこで、生体内の正常値の評価に資するため、24時間尿中排泄量と血清濃度を測定し、性、年齢別分布状態を知る資料を得た。

3. 成人病予防に関する疫学的研究

- (1) 血清尿酸濃度と生活環境に関する調査を行ってきたが、今年度は、尿酸値の変動に関連があるとされる飲酒、喫煙、運動等の生活習慣および疾病との関連を調査した。その結果、尿酸は飲酒習慣のあるものや高血圧者で高いことがわかった。
- (2) 骨粗しょう症やねたきり予防の見地から、骨形成に関係する血清中骨型アルカリフォスファターゼの鋭敏な分析法を検討し、中高年女性について測定した。その結果、本酵素のレベルは、50歳代の閉経後に上昇し、60歳代、70歳代でも高値を示すことがわかった。また、骨吸収を反映する尿中ヒドロキシプロリンのレベルと密接な相互関連が認められた。

(7) 検 査 状 況

() 内項目数

部 名	区 分	行 政 検 査	依 頼 検 査
が ん 研 究 部	先天性代謝異常等検査	11,546 (80,822)	
	染色体検査	81 (81)	24 (24)
	衛生動物等検査	2,090 (3,802)	243 (259)
	小 計	13,717 (84,705)	267 (283)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	1,646 (1,646)	
	血清学的検査	2,491 (3,501)	134 (134)
	病原微生物の動物試験	200 (200)	
	小 計	4,337 (5,347)	134 (134)
細 菌 部	伝染病にかかわる検査	590 (677)	
	食中毒にかかわる検査	144 (226)	
	血清学的検査	104 (203)	
	食品検査	32 (58)	198 (447)
	医薬品検査		63 (96)
	水質検査	362 (626)	281 (504)
	その他の検査		320 (608)
	小 計	1,232 (1,790)	862 (1,655)
化 学 部	食品にかかわる検査	196 (1,660)	
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	144 (1,683)	396 (2,408)
	温泉分析	14 (14)	20 (520)
	小 計	369 (3,377)	416 (2,928)
環 境 保 健 部	カドミウム住民健康調査	1,029 (5,410)	
	小 計	1,029 (5,410)	
合 計		20,684 (100,629)	1,679 (5,000)

検 査 内 容

() 内項目数

が ん 研 究 部

[行政検査]

1. 先天性代謝異常等検査	11,564 (80,822)
2. 染色体検査	
(1) 血液・骨髓液	55 (55)
(2) 羊 水	15 (15)
(3) 胎 児	2 (2)
(4) 悪性腫瘍	9 (9)
3. 衛生動物等検査	
(1) 衛生動物	2,086 (3,798)
(2) 食品混入異物	4 (4)

[一般依頼検査]

1. 染色体検査	
(1) 血 液	1 (1)
(2) 羊 水	18 (18)
(3) 胎 児	3 (3)
(4) 絨 毛	2 (2)
2. 衛生動物等検査	
(1) 衛生動物	227 (243)
(2) 食品混入異物	16 (16)

ウ イ ル ス 部

[行政検査]

1. 感染源検査	
(1) インフルエンザ	113 (113)
(2) ポリオ	213 (213)
(3) その他のウイルス	1,244 (1,244)
(4) リケッチア	
{ 人	16 (16)
{ ねずみ	60 (60)
2. 血清学的検査	
(1) インフルエンザ	218 (445)
(2) ポリオ	270 (810)
(3) 日本脳炎(豚)	240 (240)
(4) 風 疹	666 (666)
(5) その他のウイルス	684 (684)
(6) リケッチア	
{ 人	94 (235)
{ ねずみ	68 (170)
(7) トキソプラズマ	251 (251)
3. 病原微生物の動物試験	200 (200)

[一般依頼検査]

1. 血清学的検査	
(1) 風 疹	2 (2)
(2) その他のウイルス	132 (132)

()内項目数

細 菌 部

[行政検査]

1. 伝染病にかかわる検査

(1) 保菌者検索

溶 連 菌 115 (115)

NAGビブリオ 2 (6)

そ の 他 6 (18)

(2) 同定検査

溶 連 菌 389 (389)

チフス, パラチフスA, サルモネラ 71 (142)

赤 痢 2 (2)

そ の 他 5 (5)

2. 食中毒にかかわる検査

(1) 黄色ブドウ球菌 64 (111)

(2) 腸炎ビブリオ 35 (70)

(3) 病原大腸菌 45 (45)

3. 血清学的検査

(1) 百日咳 80 (160)

(2) 梅毒蛍光抗体法 5 (5)

(3) ヴィダール反応 19 (38)

4. 食品検査

収去食品 32 (58)

5. 水質検査

(1) 海 域 水 276 (276)

(2) 河 川 水 66 (330)

(3) 湖 水 20 (20)

[一般依頼検査]

1. 食品検査 198 (447)

2. 医薬品検査 63 (96)

3. 水質検査

(1) 海 水 40 (40)

(2) 冷 却 水 18 (18)

(3) 飲 料 水 223 (446)

4. その他の検査

(1) 空調ダクト菌数 288 (576)

(2) 接着剤抗菌試験 32 (32)

() 内項目数

化 学 部

[行政検査]

1. 食品にかかわる検査

(1) 食品添加物等	99 (364)
(2) 食品中の残留農薬	38 (757)
(3) 食品中の成分	34 (514)
(4) 食品中の重金属	23 (23)
(5) 容器および包装	2 (2)

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) ディルドリン	5 (5)

3. 水質検査

(1) ゴルフ場使用農薬検査	77 (1,482)
(2) 飲料水等の特殊項目検査 (トリハロメタン等)	67 (201)

4. 温泉分析

14 (14)

[一般依頼検査]

1. 水質検査

(1) ゴルフ場使用農薬等検査	58 (1,178)
(2) 飲料水等の特殊項目検査 (トリハロメタン等)	338 (1,230)

2. 温泉分析

20 (520)

環 境 保 健 部

[行政検査]

1. カドミウムにかかわる検査

(1) 神通川流域住民健康調査

1次検診 A 尿検査	713 (1,426)
” B ”	121 (363)

2次検診

尿, 血液, 腎機能検査	131 (3,167)
--------------	--------------

短期入院検査

尿検査	57 (285)
-----	-----------

(2) 神通川流域要観察者の管理検診

尿, 血液, 腎機能検査	5 (135)
--------------	----------

(3) 患者認定申請に基づく検査

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

(8) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
微生物学	石 倉 康 宏	総合衛生学院 第1看護学科	平. 3. 4～ 平. 4. 3 週1回	総合衛生学院
統計学	松 浦 久美子	総合衛生学院 第2看護学科	平. 3. 4～7 週1回	総合衛生学院
微生物学	児 玉 博 英	総合衛生学院 第2看護学科	平. 3. 4～9 週1回	総合衛生学院
生化学	品 川 保 弘	厚生連高岡看護専門学校	平. 3. 4～9 週1回	厚生連高岡 看護専門学校
公衆衛生学	庄 司 俊 雄	富山大学教育学部体育科	平. 3. 5. 14, 21, 28, 6. 4, 7. 9	富 山 大 学 教 育 学 部
衛生害虫駆除講習会	渡 辺 護	上市町保健衛生協会	平. 3. 5. 30	生涯学習会館
がんの発生と予防について	佐 藤 茂 秋	富山健康科学専門学校 公開ウェルネス講座	平. 3. 7. 6	富山健康科学 専 門 学 校
学校における感染症の管理 と指導	森 田 修 行	平成3年度北信越・東海 ブロック養護教諭講習会	平. 3. 7. 9	高 志 会 館
ねずみと害虫の駆除	渡 辺 護	ビルメンテナンス 管理技術者講習会	平. 3. 7. 29	石 川 県 産 業 教 育 会 館
ビルの消毒	児 玉 博 英	ビル管理者講習会	平. 3. 8. 6	富 山 県 民 会 館
食中毒の予防	児 玉 博 英	新湊市婦人会	平. 3. 8. 9	新 湊 市 福 社 会 館
ねずみ, 害虫防除	渡 辺 護	建築物環境衛生 管理技術者講習会	平. 3. 8. 10	富 山 県 民 会 館

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
生化学	品川保弘	高岡市立看護専門学校 第2看護学科	平. 3. 8～ 平. 4. 2 週1回	高岡市立 看護専門学校
微生物学	石倉康宏	高岡市立看護専門学校	平. 3. 8～ 平. 4. 3 週1回	高岡市立 看護専門学校
ヒトのがん発生と環境－富 山県のがん対策推進事業か ら－	佐藤茂秋	筑波大学医学研究科	平. 3. 10. 1	筑波大学
食品衛生学	児玉博英	富山女子短期大学 食物栄養科	平. 3. 10～ 平. 4. 2	富山女子 短期大学
衛生動物学	渡辺護	富山医科薬科大学医学部	平. 3. 10. 30	富山医科 薬科大学
発育発達論	品川保弘	富山健康科学専門学校 健康体力科学科	平. 3. 11～ 平. 4. 2	富山健康科学 専門学校
最近話題の衛生害虫	渡辺護	新潟県PCO協会講習会	平. 3. 11. 18	新潟県庁
食品衛生学	児玉博英	管理栄養士講習会	平. 3. 12. 4	富山女子 短期大学
エンテロウイルス学	森田修行	富山医科薬科大学医学部	平. 4. 1. 21	富山医科 薬科大学
食品微生物によるヒトの健 康障害	児玉博英	富山医科薬科大学医学部	平. 4. 2. 4	衛生研究所

(9) 研 修 指 導

対象者および所属	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
西部家畜保健衛生所 後藤 利隆	平. 3. 5. 20～6. 19	細菌検査技術全般	細 菌 部
富山保健所 西永 慧次 寺崎さち子	平. 3. 5. 20～5. 24 平. 3. 6. 24～6. 28	食品添加物の分析 残留農薬の分析	化 学 部
アースコンサル(株) 佐伯 広行 他3名	平. 3. 5. 28	上下水道水の細菌検査手技	細 菌 部
農業試験場 松本美枝子 瀬川 洋子	平. 3. 6. 6～6. 7 6. 10～6. 12	米の有機リン農薬の検査	化 学 部
富山県医薬品検査センター 水島 愛美	平. 3. 7. 22～7. 26 平. 4. 2. 3	細菌検査技術, 水質検査法および 無菌試験法	細 菌 部
高岡保健所 石田 美樹	平. 3. 12. 3 平. 4. 3. 4	着色料の確認 GC/MSによるBHAの確認	化 学 部
高岡地区公害センター 井淵 順悟	平. 4. 3. 16	GC/MSによる農薬分析	化 学 部

(10) 研 修 受 講

受講生氏名	研修期間	研修内容	研修機関	講師所属氏名
林 美貴子	平. 3. 6. 14～6. 23	姉妹染色分体交換法の 技術習得	大阪大学医学部	環境医学教室 森本 兼襄先生
渡 辺 護	平. 3. 6. 20～6. 29	ライム病媒介マダニの 検査手技の習得	旭川医科大学	寄生虫学教室 宮本 健司先生 中尾 稔先生
磯 部 順 子	平. 3. 7. 9～7. 10 7. 22～7. 23 8. 6～8. 9	動物細胞培養 モノクローナル抗体の 作製	薬事研究所	富士薬品工業 岩田 和士先生
松 永 明 信	平. 3. 7. 28～8. 4	食品添加物の食品中での 挙動	北海道大学	水産学部食品学科 生化学講座 教授 新井 健一先生
細呂木 志 保	平. 3. 9. 2～9. 7	遺伝子操作の基本技術 の習得と基礎, 現状の 理解	金沢大学	遺伝子実験施設 教授 山口 和男先生
大 戸 幹 也	平. 3. 11. 5～11. 12	着色料の分析法	国立衛生試験所大 阪支所	食品試験部 部長 伊藤誉志男先生
渡 辺 護	平. 4. 1. 29～2. 6	化学生態学を利用した 衛生害虫の駆除法	東京大学農学部	害虫学教室 池庄司敏明先生
細呂木 志 保	平. 4. 1. 30～1. 31	希少感染症診断技術研 修	国立公衆衛生院	国立予防衛生研究所 体液免疫部 森 守先生 他
高 橋 雅 子	平. 4. 2. 21～2. 22	PCRによる乾燥濾紙 血を用いるDNA診断 酵素法によるPhe, Gal の蛍光定量	札幌市衛生研究所	杏林大学小児科 客員教授 成瀬 浩先生 札幌市衛生研究所 疫学課 臨床検査係長 福士 勝先生

(1) 客員研究員等招へい

1. 客員研究員招へい事業

客員研究員氏名	職 名	招へい期間	指 導 内 容
池庄司 敏 明	東京大学農学部 害虫学教室 教授	平. 3. 4. 23~26	クサギカメムシのフェロモンの有無 確認法とフェロモン利用法
嵯峨井 勝	国立環境研究所 地域環境総合研究部 大気影響評価研究チーム 総合研究官	平. 4. 1. 23~24	成人病発生に関するリスク評価の手法について 農薬による健康影響指標について 微量化学物質と健康障害について
根路銘 国 昭	国立予防衛生研究所 ウイルス・リケッチア部 ウイルス第三室 室長	平. 4. 1. 29~30	インフルエンザワクチンの開発—その後の進展と将来展望— 遺伝子工学によるインフルエンザの迅速診断
後 藤 真 康	残留農薬研究所 技術顧問	平. 4. 3. 12~13	農薬の分析, 安全性評価, 環境動態 解析
成 瀬 浩	杏林大学医学部 小児科客員教授 代謝異常研究施設長	平. 4. 3. 16~17	新生児マススクリーニングの現状と 今後の検査法について

2. 試験研究機関講師招へい事業

講師氏名	職 名	期 日	講 演 の 主 題
林 真	国立衛生試験所 変異遺伝部 室長	平. 3. 5. 17	小核試験法の現状について

(12) セミナー開催

1. 衛生研究所, 薬事研究所, 公害センター3研究機関合同セミナー

演 題	講 師		期 日
	氏 名	所 属	
抗痴呆薬の薬効評価法について—実験薬理学の立場から—	亀 山 勉	名城大学薬学部 薬品作用学 教授	平. 3. 6. 20
地下水汚染の実態と問題点	永 井 茂	工業技術院地質調査所 環境地質部 主任研究官	平. 3. 7. 4
地域環境問題と地球環境問題—酸性霧と地球温暖化に寄与するメタンの動態—	村 野 健太郎	国立環境研究所 地球環境グループ 酸性雨研究チーム 主任研究官	平. 3. 7. 29
食品分野におけるバイオテクノロジーについて	義 平 邦 利	東亜大学総合研究所 教授	平. 3. 10. 23
植物による大気浄化作用とその生体画像計測	大 政 謙 次	国立環境研究所 生物圏環境部 環境植物研究室 室長	平. 3. 10. 23
環境汚染物質による生体影響についての最近の知見—特にフリーラジカル作用の面から—	嵯峨井 勝	国立環境研究所 地域環境総合研究部 大気影響評価研究チーム 総合研究官	平. 4. 1. 24
近年のインフルエンザ流行の様式と今後の流行予測	根路銘 国 昭	国立予防衛生研究所 ウイルス・リケッチャ部 ウイルス第3室 室長	平. 4. 1. 29
農薬の使用実態と安全性評価ならびに環境での動態について	後 藤 真 康	財団法人 残留農薬研究所 技術顧問	平. 4. 3. 12

2. 調 査 研 究 報 告

平成4年9月1日

先天性代謝異常等マススクリーニングの 成果について

高橋 雅子 本田 幸子 林 美貴子
井山 一郎 佐藤 茂秋 盛永 宏子¹

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

Masako TAKAHASHI, Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI,
Ichiro IYAMA, Shigeaki SATO
and Hiroko MORINAGA¹

要 旨 本年度の検体総数は11,546件で、スクリーニングの結果、高フェニールアラニン血症1名、ヒスチジン血症2名、クレチン症5名、先天性副腎過形成症3名の患者を発見した。

また、スクリーニング開始当初から現在までの患者数は、代謝異常症が15年間で44名、クレチン症が12年間で36名、副腎過形成症が3年間で5名となり、ヒスチジン血症、クレチン症は全国に比べその発生率が高い。

先天性代謝異常マススクリーニングは代謝異常症を早期に発見し、早期に治療することにより、心身の障害を未然に防止するという目的で全国的に実施されている。富山県においては、昭和52年10月より富山県先天性代謝異常検査実施要綱に基づき、フェニールケトン尿症等の5疾患についてマススクリーニングを開始し、昭和55年4月より先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）、平成元年4月より先天性副腎過形成症の検査を追加し、現在は7疾患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. 対象疾患

フェニールケトン尿症、ホモシスチン尿症、ヒスチジン血症、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。

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。

3. 検査期間

平成3年4月より、平成4年3月までの検査実施状況をまとめた。

4. スクリーニング方法

① 検査検体

県内の各医療機関において採血されたろ紙血液。

② アミノ酸代謝異常症

フェニルケトン尿症等の4疾患については、枯草菌を用いるGuthrie法 (Bacterial inhibition assay-BIA法) で行い、そのうちヒスチジン血症については、一部に薄層クロマトグラフィー法を併用し、ウロカニン酸の有無を確認した〔1〕。

③ ガラクトース血症

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

④ 先天性甲状腺機能低下症 (クレチン症)

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

⑤ 先天性副腎過形成症

委託機関 (勸石川県予防医学協会) においてELISA法により17-α-OHP (17-α-hydroxy progesterone) 値の測定を行った。

⑥ 判定基準

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

結果および考察

1. 検査実施状況

本年度の受付総数は、11,546件で、県内73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。

本年度の出生数は、10,613人であり、受検率は101.6%となった。100%を越えているのは、里帰り

表1. 判定基準

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

平成4年9月1日

分娩が増加したため、県内の新生児のほとんどが、この検査を受けているものと思われる。

また、再採血検体数は、766件で、受付検査総数

の6.6%にあたり、そのうち約60%が疑陽性になったための再採血検体であった。再採血を依頼したもののうち、疑陽性の理由以外では検体不良が46件と

表2. 先天性代謝異常等検査実施状況

区 分 期 間	受付総数 (件)	検 査 実人員数 (人)	対象者 (出生数) (人)	受検率 (%)	疑陽性数 (人)			要精検数 (人)		
					代 謝 異常症	クハシ 症	副 腎 過形成症	代 謝 異常症	クハシ 症	副 腎 過形成症
52年10月 ～53年 3月	3,449	3,285	7,987	41.1	33	—	—	0	—	—
53年 4月 ～54年 3月	11,972	11,658	16,319	71.4	105	—	—	5(3)	—	—
54年 4月 ～55年 3月	13,808	13,507	15,382	87.8	124	—	—	1(1)	—	—
55年 4月 ～56年 3月	14,142	13,519	14,513	93.2	189	113	—	8(6)	6(4)	—
56年 4月 ～57年 3月	14,198	13,599	13,998	97.1	148	54	—	6(2)	7(3)	—
57年 4月 ～58年 3月	14,297	13,532	13,821	97.9	213	37	—	9(6)	8(2)	—
58年 4月 ～59年 3月	14,369	13,531	13,658	99.1	194	125	—	10(3)	33(3)	—
59年 4月 ～60年 3月	13,948	13,087	13,278	98.6	242	64	—	13(6)	14(2)	—
60年 4月 ～61年 3月	13,744	12,603	12,680	99.4	222	129	—	6(2)	20(4)	—
61年 4月 ～62年 3月	13,415	12,367	11,977	103.3	184	130	—	7(1)	20(2)	—
62年 4月 ～63年 3月	12,294	11,545	11,477	100.6	195	83	—	10(4)	7(1)	—
63年 4月 ～1年 3月	12,434	11,652	11,554	100.8	224	106	—	6(2)	15(4)	—
1年 4月 ～2年 3月	11,633	10,859	10,802	100.5	228	129	84	12(4)	29(2)	14(1)
2年 4月 ～3年 3月	11,356	10,594	10,122	104.7	187	190	71	5(1)	35(4)	16(1)
3年 4月 ～4年 3月	11,546	10,780	10,613	101.6	172	219	58	14(3)	26(5)	20(3)
計	186,605	176,118	188,181	—	2,660	1,379	213	112(44)	220(36)	50(5)

() は 患者数

表3. 月別検査実施状況

年 月	平成3年										平成4年			計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
受付検体総数(件)	944	1,042	938	1,006	1,029	932	1,006	921	859	1,089	891	889	11,546	
内 訳	初回検査数(件)	866	965	884	945	960	865	945	863	799	1,034	822	832	10,780
	再採血総数(件)	78	77	54	61	69	67	61	58	60	55	69	57	766
	2 回 目	66	67	49	60	59	66	53	56	53	51	62	51	693
	3 回 目	11	9	5	1	10	1	8	2	6	3	5	6	67
	4 回 以上	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0	6
出生数(人)	905	890	889	933	962	878	880	859	906	916	781	814	10,613	

多かった。46件の内訳は採血後日数が経ちすぎているものが33件、血液が十分しみ込んでいないものが9件、汚染が4件であった。これらは、直ちに再採血を依頼した。また哺乳状態のよくないものが36件、抗生物質の使用等で枯草菌の発生が阻害されるスケ現象を示し、判定不能となったものが70件あり、期間をおいて（哺乳不良の場合は哺乳状態が良くなってから）再採血を依頼した。これらの理由で再採血を依頼した検体のうち、回収できなかったのは17件で、88.8%の回収率となった。一方、疑陽性の理由で再採血を依頼した分については、病院のほうで再検、追跡するというので、再採血分の検体が届かないケースもあり、回収率は97.9%であった。

低出生体重児の場合には、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、念のため1か月後に再採血を依頼し、2度検査を行っている。本年度は95人に再採血を依頼したが、そのうち14人は哺乳不良であった。これらの回収率は91.6%であった。

採血は、生後5～7日目に行うことになっているが、4日以内に行われたものが48件あり、これらのほとんどが生後4日目の採血であった。

採血日から受付までの日数は、ほとんどが7日以内であるが、23件（0.2%）が8日以上かかっている。特に先天性副腎過形成症は、診断の迅速性を要するため、初回採血は必ず生後5～7日目にいき、

採血後は直ちに郵送してもらおうよう更に徹底したい。

2. 検査結果

検査成績について、表2には年度別、表4には月別の疑陽性及び要精密検査数を示した。本年度の疑陽性人数は、代謝異常症が172人（1.6%）、クレチン症が219人（2.0%）、先天性副腎過形成症が58人（0.5%）であり、そのうちそれぞれ14人、26人、20人に精密検査の必要が認められた。

表5には、要精密検査児の検査状況をまとめて示した。

症例1は、フェニールアラニン値が6～8 mg/dlで要精密検査となり、その後も血中のフェニールアラニンは同程度の値が持続し、高フェニールアラニン血症と診断された。

症例2～4はメチオニン高値のため要精密検査となった。症例4は一過性と診断されたが、この児の姉（S62.12.21生）もマススクリーニング検査時にメチオニンが高値であり、精密検査の結果、一過性と診断されている。

症例5～7は、いずれもヒスチジン高値で、ウロカニン酸が検出されなかったもので、精密検査の結果、症例6、7はヒスチジン血症であった。2例とも治療の必要はないとのことであった。

症例15～40は、いずれもクレチン症の検査でTSH高値のため、要精密検査となったものである。ク

表4. 月別疑陽性件数及び要精密検査数

年 月 対象疾患	平成3年									平成4年			計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
フェニールアラニン尿症					1	1(1)							2(1)
ホモシチン尿症		2	1	1	4(1)			7	5(2)	1	1		22(3)
ヒスチジン血症	1	1(1)		1			1	1	1(1)			3(1)	9(3)
メイプルシロップ尿症	3	4	4	8	3	2	6	4	1	1			36
ガラクトース血症	12(1)	19	8(1)	10	8	8	5(1)	3	6	21	13(2)	12(2)	125(7)
クレチン症	27(1)	20(2)	13(3)	20(1)	21(3)	20(1)	14(5)	20(4)	17(2)	12(1)	19(3)	16	219(25)
副腎過形成症	9(3)	4	2(2)	(2)	4(1)	1(1)	2(1)	4(1)	8	8(2)	9(2)	10(5)	61(20)
計	52(5)	50(3)	28(6)	40(3)	41(5)	32(3)	28(7)	39(5)	38(5)	43(3)	42(7)	41(8)	474(60)

() は 要精密検査数

平成4年9月1日

表5. 要精密検査児の検査状況

* ; 患児

対象疾患	症例	性別	生年月日	採血月日	日令	検査成績	精検結果
フェニルケトン尿症	1*	女	3. 9. 9	3. 9.16 9.19	7 10	Phe 8 mg/dl Phe 6~8 mg/dl	高フェニールアラニン血症
ホモシスチン血症	2	男	3. 8.11	3. 8.17 8.22 8.29	6 11 18	Met 1 mg/dl Met 1 mg/dl Met 1~2 mg/dl	経過観察中
	3	女	3.11.15	3.11.21 11.28 12. 4	6 13 19	Met 1 mg/dl Met 1 mg/dl Met 2 mg/dl	一過性 高メチオニン血症
	4	女	3.12. 3	3.12. 9 12.14 12.19	6 11 16	Met 2 mg/dl Met 2 mg/dl Met 2 mg/dl	一過性 高メチオニン血症
ヒスチジン血症	5	女	3. 4.28	3. 5. 7 5.11	9 13	His 6 mg/dl ウロカニン酸 (-) His 6 mg/dl ウロカニン酸 (±)	正 常
	6*	女	3.12.11	3.12.17 12.24	6 13	His 6 mg/dl ウロカニン酸 (-) His 6~8 mg/dl ウロカニン酸 (-)	ヒスチジン血症
	7*	男	4. 3.12	4. 3.21 3.28	9 16	His 6 mg/dl ウロカニン酸 (-) His 8 mg/dl ウロカニン酸 (-)	ヒスチジン血症
ガラクトース血症	8	女	3. 4. 1	3. 4. 8 4.11	7 10	Gal+Gal-1-P 4~6 mg/dl ポイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 8 mg/dl ポイトラー 蛍光微弱	一過性 高ガラクトース血症
	9	男	3. 6. 6	3. 6.11 6.17 6.25	5 11 19	Gal+Gal-1-P 20 mg/dl以上 ポイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 10~16 mg/dl ポイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 10~16 mg/dl ポイトラー 正常	一過性 高ガラクトース血症
	10	女	3.10. 4	3.10.10 10.17	6 13	Gal+Gal-1-P 16~20 mg/dl ポイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 20 mg/dl以上 ポイトラー 正常	経過観察中
	11	女	4. 1.31	4. 2. 6 2.14 2.19	6 14 19	Gal+Gal-1-P 16 mg/dl ポイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 10~16 mg/dl ポイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 10 mg/dl ポイトラー 正常	一過性 高ガラクトース血症
	12	男	4. 2.14	4. 2.19 2.21	5 32	Gal+Gal-1-P 8 mg/dl ポイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 10~16 mg/dl ポイトラー 正常	一過性 高ガラクトース血症
	13	男	4. 2.11	4. 2.17 2.24 2.28	6 13 17	Gal+Gal-1-P 10~16 mg/dl ポイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 10 mg/dl ポイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 8~10 mg/dl ポイトラー 正常	一過性 高ガラクトース血症

対象疾患	症例	性別	生年月日	採血月日	日令	検査成績	精検結果
	14	女	4. 2. 22	4. 2. 28 3. 4	6 11	Gal+Gal-1-P 6~8 mg/dl ポイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 10~16 mg/dl ポイトラー 正常	一過性 高ガラクトース血症
クレチン症	15	女	3. 1. 21	3. 1. 28 2. 12 4. 4	7 22 43	TSH 1.7 μ U/ml TSH 9.7 μ U/ml TSH 9.6 μ U/ml TSH 9.4 μ U/ml	一過性 高TSH血症
	16	男	3. 4. 17	3. 4. 23 4. 30	6 13	TSH 9.7 μ U/ml 10.4 μ U/ml TSH 9.9 μ U/ml FT ₄ 2.5 ng/dl	一過性 高TSH血症
	17	女	3. 4. 25	3. 4. 30 5. 8	5 13	TSH 9.9 μ U/ml 10.5 μ U/ml TSH 33.2 μ U/ml FT ₄ 0.9 ng/dl	正 常
	18*	女	3. 5. 28	3. 6. 3	6	TSH 80 μ U/ml 以上 FT ₄ 0.3 ng/dl	クレチン症
	19	男	3. 6. 10	3. 6. 17 6. 22	7 12	TSH 27.0 μ U/ml 30.0 μ U/ml TSH 15.8 μ U/ml FT ₄ 1.4 ng/dl	一過性 高TSH血症
	20	男	3. 6. 16	3. 6. 21 6. 27	5 11	TSH 35.9 μ U/ml 41.0 μ U/ml TSH 17.6 μ U/ml FT ₄ 1.2 ng/dl	一過性 高TSH血症
	21	女	3. 6. 20	3. 6. 26 7. 4	6 14	TSH 8.0 μ U/ml 10.7 μ U/ml TSH 9.3 μ U/ml FT ₄ 1.4 ng/dl	一過性 高TSH血症
	22*	女	3. 7. 17	3. 7. 22 7. 30	5 13	TSH 8.4 μ U/ml 10.7 μ U/ml TSH 8.9 μ U/ml FT ₄ 0.8 ng/dl	クレチン症
	23	男	3. 7. 20	3. 7. 26 8. 3	6 14	TSH 9.7 μ U/ml 10.2 μ U/ml TSH 9.0 μ U/ml FT ₄ 1.4 ng/dl	一過性 高TSH血症
	24	女	3. 8. 20	3. 8. 25 8. 30	5 10	TSH 15.3 μ U/ml 15.1 μ U/ml TSH 12.3 μ U/ml FT ₄ 1.7 ng/dl	一過性 高TSH血症
	25	男	3. 8. 22	3. 8. 28 9. 6	6 15	TSH 12.3 μ U/ml 12.3 μ U/ml TSH 12.9 μ U/ml FT ₄ 1.2 ng/dl	一過性 高TSH血症
	26	男	3. 9. 15	3. 9. 20 9. 27	5 12	TSH 16.6 μ U/ml 14.4 μ U/ml TSH 10.6 μ U/ml FT ₄ 1.4 ng/dl	一過性 高TSH血症
	27	女	3. 9. 22	3. 9. 28 10. 5	6 13	TSH 18.9 μ U/ml 13.2 μ U/ml TSH 10.6 μ U/ml FT ₄ 1.1 ng/dl	一過性 高TSH血症

平成4年9月1日

対象疾患	症例	性別	生年月日	採血月日	日令	検査成績	精検結果
	28	男	3. 9.24	3. 9.30 10. 9	6 15	TSH 21.4 μ U/ml 27.3 μ U/ml TSH 33.7 μ U/ml FT ₄ 0.5 ng/dl	経過観察中
	29*	女	3.10. 5	3.10.12	7	TSH 80 μ U/ml 以上 FT ₄ 0.4 ng/dl	クレチン症
	30*	男	3. 9.13	3. 9.18 10.13	5 30	TSH 1.4 μ U/ml TSH 59.5 μ U/ml 57.6 μ U/ml FT ₄ 0.2 ng/dl	クレチン症
	31	女	3.10.30	3.11. 5 11.11	6 12	TSH 8.6 μ U/ml 8.0 μ U/ml TSH 11.5 μ U/ml FT ₄ 1.1 ng/dl	一過性 高TSH血症
	32	女	3.10.22	3.10.28 11. 5 11.11	6 14 20	TSH 17.0 μ U/ml 17.9 μ U/ml TSH 5.6 μ U/ml FT ₄ 1.2 ng/dl TSH 10.4 μ U/ml 9.5 μ U/ml FT ₄ 0.9 ng/dl	一過性 高TSH血症
	33	男	3.11.11	3.11.17 11.26	6 15	TSH 16.5 μ U/ml 16.1 μ U/ml TSH 9.7 μ U/ml FT ₄ 1.6 ng/dl	一過性 高TSH血症
	34	男	3.11.16	3.11.21 11.28	5 12	TSH 9.7 μ U/ml 11.9 μ U/ml TSH 11.3 μ U/ml FT ₄ 1.4 ng/dl	一過性 高TSH血症
	35	女	3.11.21	3.11.27 12. 6	6 15	TSH 13.7 μ U/ml 12.1 μ U/ml TSH 10.1 μ U/ml FT ₄ 1.7 ng/dl	一過性 高TSH血症
	36	女	3.12. 8	3.12.13 12.25	5 17	TSH 9.7 μ U/ml 8.9 μ U/ml TSH 12.8 μ U/ml FT ₄ 1.6 ng/dl	一過性 高TSH血症
	37	男	4. 1.21	4. 1.26 2. 5	5 15	TSH 11.5 μ U/ml 12.6 μ U/ml TSH 10.8 μ U/ml FT ₄ 1.8 ng/dl	一過性 高TSH血症
	38	女	4. 2. 4	4. 2.10 2.18	6 14	TSH 11.7 μ U/ml 14.5 μ U/ml TSH 9.5 μ U/ml FT ₄ 2.2 ng/dl	経過観察中
	39	男	4. 1.31	4. 2. 5 2.18	5 18	TSH 14.0 μ U/ml 16.4 μ U/ml TSH 12.5 μ U/ml FT ₄ 1.7 ng/dl	一過性 高TSH血症
	40*	女	3.12.18	3.12.23 4. 1.19	5 32	TSH 4.3 μ U/ml TSH 26.7 μ U/ml 29.8 μ U/ml FT ₄ 1.1 ng/dl	クレチン症

対象疾患	症例	性別	生年月日	採血月日	日令	検査成績	精検結果	
副腎過形成症	41	男	3. 3.23	3. 4. 3	11	17-OHP (直接法) 20.5 ng/ml 23.2 ng/ml (抽出法) 4.9 ng/ml	一過性 在胎週数 25週 生下時体重 1023g	
				3. 4.10	18	17-OHP (直接法) 42.8 ng/ml 46.6 ng/ml (抽出法) 11.0 ng/ml		
				3. 4.22	30	17-OHP (直接法) 55.0 ng/ml 50.2 ng/ml (抽出法) 14.2 ng/ml		
		42	男	3. 3.27	3. 4. 9	13	17-OHP (直接法) 24.7 ng/ml 23.5 ng/ml (抽出法) 5.8 ng/ml	正 常 在胎週数 31週 生下時体重 1910g
				3. 4.19	23	17-OHP (直接法) 41.2 ng/ml 39.9 ng/ml (抽出法) 7.3 ng/ml		
				3. 4.22	26	17-OHP (直接法) 69.1 ng/ml 67.1 ng/ml (抽出法) 14.0 ng/ml		
		43	女	3. 4.21	3. 4.25	4	17-OHP (直接法) 28.7 ng/ml 29.2 ng/ml (抽出法) 12.4 ng/ml	正 常 在胎週数 32週 生下時体重 1820g
		44	男	3. 6.14	3. 6.19	5	17-OHP (直接法) 40.8 ng/ml 31.7 ng/ml (抽出法) 21.4 ng/ml	正 常 在胎週数 31週 生下時体重 1710g
		45	男	3. 6.22	3. 6.27	5	17-OHP (直接法) 80 ng/ml 以上 (抽出法) 22.5 ng/ml	正 常 在胎週数 27週 生下時体重 1286g
		46	男	3. 7.17	3. 7.24	7	17-OHP (直接法) 52.3 ng/ml 48.9 ng/ml (抽出法) 20.4 ng/ml	正 常 在胎週数 31週 生下時体重 2126g
	47	男	3. 7.17	3. 7.24	7	17-OHP (直接法) 45.4 ng/ml 44.5 ng/ml (抽出法) 19.3 ng/ml	正 常 在胎週数 31週 生下時体重 2034g	
	48	男	3. 8. 6	3. 8.13	7	17-OHP (直接法) 24.8 ng/ml 21.8 ng/ml (抽出法) 10.8 ng/ml	正 常 在胎週数 34週 生下時体重 2170g	
	49	男	3. 9.15	3. 9.23	8	17-OHP (直接法) 34.9 ng/ml 31.6 ng/ml (抽出法) 15.9 ng/ml	正 常 在胎週数 32週 生下時体重 1922g	
	50	女	3.10. 6	3.10.13	7	17-OHP (直接法) 39.3 ng/ml 41.3 ng/ml (抽出法) 12.7 ng/ml	正 常 在胎週数 33週 生下時体重 2176g	

平成4年9月1日

对象疾患	症例	性別	生年月日	採血月日	日令	検査成績	精検結果
	51*	女	3.11.20	3.11.28	8	17-OHP (直接法) 80 ng/ml 以上 (抽出法) 17.9 ng/ml	21-水酸化酵素欠損症 (臨床失型) 在胎週数 38週 生下時体重 2950g
	52	男	4.1.17	4.1.23	6	17-OHP (直接法) 30.4 ng/ml (抽出法) 46.9 ng/ml (抽出法) 15.0 ng/ml	正 常 在胎週数 40週 生下時体重 2792g
	53	男	4.1.20	4.1.26	6	17-OHP (直接法) 38.5 ng/ml (抽出法) 50.5 ng/ml (抽出法) 13.2 ng/ml	正 常 在胎週数 27週 生下時体重 1450g
	54	女	4.2.3	4.2.11	8	17-OHP (直接法) 46.2 ng/ml (抽出法) 43.2 ng/ml (抽出法) 20.5 ng/ml	正 常 在胎週数 29週 生下時体重 1326g
	55	女	4.2.3	4.2.11	8	17-OHP (直接法) 28.5 ng/ml (抽出法) 32.5 ng/ml (抽出法) 13.5 ng/ml	正 常 在胎週数 29週 生下時体重 1290g
	56	男	4.2.27	4.3.4	6	17-OHP (直接法) 28.0 ng/ml (抽出法) 29.2 ng/ml (抽出法) 26.8 ng/ml	正 常 在胎週数 38週 生下時体重 2844g
	57	女	4.2.15	4.2.21 3.9	6 23	17-OHP (直接法) 24.4 ng/ml (抽出法) 24.9 ng/ml (抽出法) 7.0 ng/ml 17-OHP (直接法) 27.5 ng/ml (抽出法) 31.0 ng/ml (抽出法) 7.3 ng/ml	正 常 在胎週数 38週 生下時体重 2710g
	58*	男	4.3.5	4.3.17	12	17-OHP (直接法) 80 ng/ml 以上 (抽出法) 80 ng/ml 以上	21-水酸化酵素欠損症 在胎週数 39週 生下時体重 2700g
	59*	男	4.3.5	4.3.11 3.18	6 13	17-OHP (直接法) 80 ng/ml 以上 (抽出法) 80 ng/ml 以上 17-OHP (直接法) 80 ng/ml 以上 (抽出法) 80 ng/ml 以上	21-水酸化酵素欠損症 在胎週数 39週 生下時体重 3376g
	60	男	4.2.24	4.3.2 3.13 3.21	7 18 26	17-OHP (直接法) 23.2 ng/ml (抽出法) 25.8 ng/ml (抽出法) 4.4 ng/ml 17-OHP (直接法) 51.1 ng/ml (抽出法) 52.8 ng/ml (抽出法) 4.4 ng/ml 17-OHP (直接法) 40.9 ng/ml (抽出法) 47.1 ng/ml (抽出法) 8.2 ng/ml	正 常 在胎週数 33週 生下時体重 2238g

レチン症と診断されたのは症例18, 22, 29, 30, 40であった。症例29は、最初に受診した精密検査機関では高TSH血症として無治療で経過観察されていたが、その後症状が悪化し、2か月後に転院して、クレチン症と判明した。治療開始時期が遅れているため、今後の発育、発達が心配される例である。また要精検となった26人のうち3人(症例15, 30, 40)が低出生体重児(2,000g以下)で、初回検査では異常なかったものの、1か月後の再検査でTSH高値となったものである。しかも、症例30, 40はクレチン症であり、低出生体重児の場合の再検査の重要性を痛感した。

症例41~60までは、副腎過形成症の疑いで精密検査を要した例である。検査の結果、患児と診断されたのは症例51, 58, 59であった。症例51は、兄(H1.3.29)が本県のマススクリーニングで最初に発

見された患者であることから、検体の到着時(日令9日)に主治医に問い合わせたところ、すでに外生殖器異常(男性化)、高K血症、嘔吐の症状があり、診断の結果、兄と同様の塩喪失型21-水酸化酵素欠損症であった。症例58, 59は双子で、両方とも日令15日(結果連絡時)では17-OHPが80ng/ml以上と高値にもかかわらず特に症状は出ていないとのことであったが、この直後から電解質異常が認められ精密検査を行った結果、塩喪失型21-水酸化酵素欠損症であった。要精検となった20人のうち、2,000g以下の低出生体重児は9人であった。

全国および富山県の患者発見状況を表6に示した。富山県における現在までの患者発見率は、代謝異常症が1/4,000、クレチン症が1/4,100、副腎過形成症が1/6,500である。全国の患者発見率と比較すると、ヒスチジン血症、クレチン症について、そ

表6. マスクリーニングによる全国および富山県の患者発見状況

区 分	全 国		富 山 県					
	患者数	発見率	患者	発見率	患者	発見率	患者	発見率
実 施 人 数 (期 間)	18,671,590 人 (S52.4~H3.3)		165,338 人 (S52.10~H3.3)		10,780 人 (H3.4~H4.3)		176,118 人 (S52.10~H4.3)	
患者数, 発見率 病名	患者 (人)	発見率	患者	発見率	患者	発見率	患者	発見率
フェニールケトン尿症	232	1 / 80,500	4	1 / 41,300	0		4	1 / 44,000
ホモシスチン尿症	100	1 / 186,700	0		0		0	
ヒスチジン血症	2,066	1 / 9,000	31	1 / 5,300	2	1 / 5,400	33	1 / 5,300
メイプルシロップ尿症	46	1 / 405,900	1	1 / 165,300	0		1	1 / 176,100
ガラクトース血症	416	1 / 44,900	0		0		0	
そ の 他	201	1 / 92,900	5	1 / 33,100	1	1 / 10,800	6	1 / 29,400
計	3,061	1 / 6,100	41	1 / 4,000	3	1 / 3,600	44	1 / 4,000
実 施 人 数 (期 間)	15,339,854 人 (S54.4~H3.3)		136,888 人 (S55.4~H3.3)		10,780 人 (H3.4~H4.3)		147,668 人 (S55.4~H4.3)	
ク レ チ ン 症	2,447	1 / 6,300	31	1 / 4,400	5	1 / 2,200	36	1 / 4,100
実 施 人 数 (期 間)	2,587,049 人 (S63.4~H3.3)		21,453 人 (H1.4~H3.3)		10,780 人 (H3.4~H4.3)		32,233 人 (H1.4~H4.3)	
先 天 性 副 腎 過 形 成 症	164	1 / 15,800	2	1 / 10,700	3	1 / 3,600	5	1 / 6,500

平成4年9月1日

の発生頻度が有意に高いといえる（ヒスチジン血症； $P < 0.01$ ，クレチン症； $P < 0.05$ ）。

精度管理については，アミノ酸は当所において検査し，TSHについては委託機関へ送付した。アミノ酸については正答率100%，TSHについては，異常検体は全てカットオフポイント以上で拾い上げられている。

現在，これらの代謝異常症の簡便迅速なスクリーニング法の研究開発が行われており，先天異常児に対する対策は今後さらに充実するであろう。

文 献

1. 本田幸子，林美貴子，西田義雄，林 圭子（1977）．富山衛研年報，昭和52年度，22-26.
2. 本田幸子，林美貴子，森田修行，林 圭子，西田義雄，渡辺正雄（1978）．富山衛研年報，昭和53年度，122-125.
3. 本田幸子，林美貴子，徳満尚子，吉川俊夫，植竹久雄，中島千賀子，木下清美（1981）．富山衛研年報，昭和56年度，125-131.
4. 先天性代謝異常検査技術者研修会研修テキスト65-74，総合母子保健センター編.

ヒト染色体に関する調査研究 — 血液・骨髄液 —

林 美貴子 本田 幸子 柏樹 久雄 佐藤 茂秋

Chromosome Analysis of Peripheral Blood Cells and Bone Marrow Cells

Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA, Hisao KASHIWAGI
and Shigeaki SATO

要 旨 平成3年度の血液と骨髄液の染色体検査件数は56件（56人）で、うち染色体異常は2人であった。検査受付時の依頼理由は流産を繰り返す夫婦が最も多く、続いて先天異常児の家族、先天奇形、悪性腫瘍を持つため、などが主なものであった。染色体異常の内訳は、流産を繰り返すために検査を行い発見されたトリプルX（超女性）1人と先天異常児の家族（前子染色体異常）で検査を行い発見された均衡転座保因者1人の計2人であった。

また、昭和48年度から平成3年度までに検査を行った872人中、849人が検査可能であり、そのうち164人に染色体異常がみられた（異常率19.3%）。その主なものはダウン症候群（21トリソミー）91人、次いで、ターナー症候群15人、18トリソミー症候群9人などであった。

近年の細胞遺伝学の進歩にともない、ヒトの染色体に関する研究も急激に発展してきている。一般に染色体検査は細胞培養を用いて行われるが、最近、高精度分染法をはじめとした種々の分染法の開発、普及にともない、染色体分析の精度も向上してきている。現在、染色体検査は先天異常児、白血病、悪性腫瘍等の診断やハイリスク妊婦の羊水検査等の目的で行われている。

新生児集団の約0.6%が何らかの染色体異常をもつと報告されており〔1, 2〕, また、最近、出生率の低下が問題になってきているが、富山県の年間出生数は1万人余りであり、単純に計算すると約60人の染色体異常児が毎年生まれ、それが年々加算されていくことになる。このことは、母子衛生を考える上でかなり大きな比重を占めると考えられ、染色体検査の需要は潜在的なものも含めるともっと多いと思われる現状である。

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

ここに、平成3年度の血液と骨髄液の染色体検査の内容について報告するとともに過去19年間に検査を行った872人（実人数）の検査内容についても報告する。

実 施 方 法

平成3年度の染色体依頼検査件数は血液52件、骨髄液4件の計56件であった。全て県内の病院よりの依頼で、その内訳については、表1に示した。

検査方法は通常の培養方法にしたがい、末梢血液

表1. 検体区分

病院名	血液	骨髓液	計
県立中央病院	30		30
高志学園	8		8
富山赤十字病院	4	4	8
厚生連高岡病院	4		4
砺波総合病院	4		4
富山医科薬科大学	1		1
黒部市民病院	1		1
計 (件)	52	4	56

1 mlに対し、培養液（主として20%牛胎児血清加 RPMI1640）10mlとPHA-P0.01mlを添加し、37°Cにて3日間培養した。染色体標本作成法および染色法は既報〔3〕にしたがった。

染色体分析は主にG-バンド染色で20個以上の染色体分裂中期細胞の写真を取り、その中から5個以上の写真の核型分析を行い判定した。

また、脆弱X染色体検査法とR-バンドおよび後期複製X染色体検査法は既報〔4〕にしたがった。

結 果

検査受付時の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。血液では、流産を繰り返す夫婦が27人と最も多く、次いで、先天異常児の家族7人、先天奇形5人、体に悪性腫瘍を持ったため5人、

表2. 染色体検査内容（平成3年度）

依頼理由	検査数	判定数	異常数
血液	52	52	2
流産を繰り返すため	27	27	1
先天異常児の家族	7	7	1
先天奇形	5	5	
肛門部腫瘍等をもつ	5	5	
精神運動発育遅延	3	3	
ベルテス病	2	2	
急性白血病	1	1	
低身長	1	1	
子宮低形成	1	1	
骨髓液	4	4	0
急性リンパ性白血病	1	1	
白血病	1	1	
悪性組織球症	1	1	
好酸球増多症	1	1	
計 (件)	56	56	2

精神運動発育遅延3人等であった。骨髓液では急性リンパ性白血病、白血病等であった。

染色体異常は、自然流産を繰り返す中で2回の自然流産と1回の胎児死亡のため検査を行い発見されたトリプルX（超女性）1人（妻）（表3、症例1）と先天異常児の家族の中で前子染色体異常のため検査を行い発見された均衡転座保因者1人（表3、症

表3. 染色体異常の内訳（平成3年度）

症例	疾患名	核型	主要症状等
血液			
1	トリプルX（超女性）	47,XXX	2回自然流産1回胎児死亡
2	均衡転座保因者	46,XX,1qh+,t(7;14)(p13;q11.2)	前子染色体異常

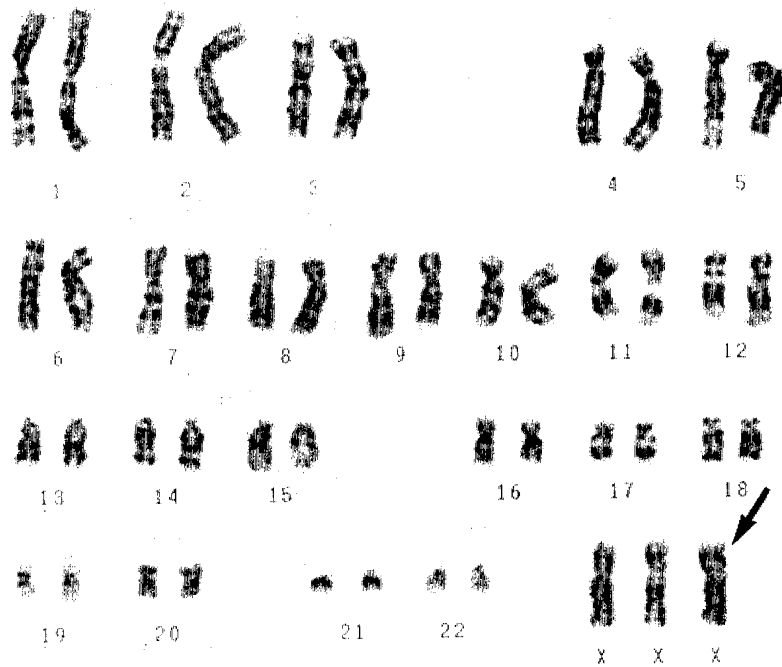


図1. 症例1の核型
47,XXX

例2)の計2人であった。

症例1の核型は47,XXXの細胞が100%であった(図1)。5-ブロモデオキシウリジンを添加した後期複製X染色体の検査では2本のX染色体の後期複製が観察された(図2)。

先天異常児の家族7人の内訳はペルテス病, 精神発育遅延児, 前子が染色体異常を疑われた親であった。そのうち, 前子が染色体異常を疑われた中で1人が46, XX, 1qh+, t(7;14)(p13;q11.2)の均衡転座保因者であった(図3, 4)。この患者の1番染色体は動原体近くの異質染色質部分が非常に長く, 異常染色体と間違う程であった。患者は妊娠中であったので, 胎児の絨毛組織および羊水細胞の染色体検査も行ったが, その結果については本田らが本誌に詳しく報告している[5]。しかし, この患者の両親等の染色体検査は行われなかった。

先天奇形(小奇形を含む)5人にはいずれも染色体異常はみられなかった。

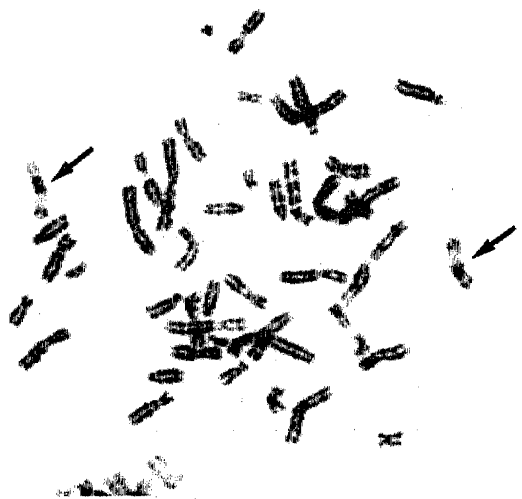


図2. 症例1の後期複製X染色体(矢印)

平成4年9月1日

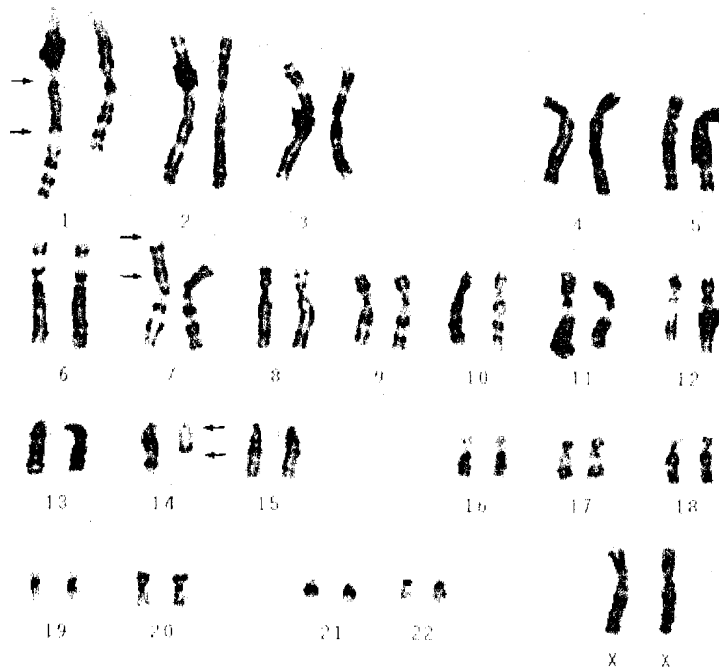


図3. 症例2の核型 (G-バンド)
46, XX, 1qh+, t(7;14) (p13;q11.2)



図4. 症例2の核型 (C-バンド)
46, XX, 1qh+, t(7;14) (p13;q11.2)

体に悪性腫瘍を持つため検査を受けた5人（肛門部腫瘍2人，母子同時発生の甲状腺腫2人，神経芽細胞腫1人）の血液検査では，いずれも染色体異常はみられなかった。

精神運動発育遅延等の理由で検査を行った3人には，いずれも染色体異常はみられず，脆弱X染色体検査も母子同時に行ったが，脆弱X（Fra(X））染

色体も検出されなかった。

骨髓液の検査では白血病の1例で45，-21/45，-19/45，-CorXの細胞が若干観察されたが，異常とは断定できなかった。

表4に昭和48年度から平成3年度までに検査を行った872人（実人数）の依頼理由と染色体異常の有無等についてまとめて示した。検査可能であった849

表4. 染色体検査結果一覧（血液，骨髓液）
（昭和48～平成3年度）

依頼理由	検査数	判定数	異常有数	その他*
血液				
染色体異常者の家族	132	131	7	
その他の先天異常者の家族	73	73	0	
流早産を繰り返す	130	130	8	
ダウン（21トリソミー）症候群の疑い	115	113	91	
先天奇形	13（D）トリソミー症候群の疑い	4	4	4
	18トリソミー症候群の疑い	9	9	9
	他の奇形症候群の疑い	88	84	7
猫なき症候群（5p部分モノソミー）の疑い	4	4	1	
発育不良、発育遅延	45	45	1	2
脆弱X染色体症候群の疑い	4	4	0	
副腎性器症候群の疑い	4	4	1	
白血病	30	27	2	1
ファンコニー貧血	1	1	1	
色素性乾皮症	1	1	1	
クラインフェルター症候群の疑い	6	6	5	
ターナー症候群の疑い	64	64	15	4
半陰陽	10	8	3	
他の性染色体異常の疑い	3	3	0	
その他	123	117	2	1
小計	846	828	158	8
骨髓液				
白血病等	26	21	6	
計（人）	872	849	164	8

その他*：9番染色体逆位保因者、睾丸性女性化症候群

平成4年9月1日

表5. 常染色体異常と主な核型

疾患名	人数	主な核型
ダウン症候群	91	
(トリソミー型 85)		47,XY,+21 47,XX,+21
(モザイク型 3)		46,XY/47,XY,+21
(転座型 3)		46,XX,-13,+t(13;21) 46,XX,-21,+t(21;21)
13トリソミー症候群等	4	
(トリソミー型 2)		47,XY,+13 47,XX,+D
(モザイク型 1)		46,XX/47,XX,+D
(転座型 2)		47,XY,-13,+t(13;13)
18トリソミー症候群	9	
(トリソミー型 8)		47,XY,+18 47,XX,+18
(転座型 1)		46,XX,-18,+iso psu dic(18)(p113)
13リング症候群等	2	46,XX,r(13) 46,XX,r(D)
9pトリソミー症候群	1	46,XX,t(9;21)
2pトリソミー	1	46,XY,t(2;17)
猫なき症候群(5p 部分モノソミー)	1	46,XX,del(5)(qter →p14:)
由来不明部分過剰	4	47,XY,+mar 46,XX,t(9;?)
均衡転座保因者	16	45,XX,t(14;21) 45,XX,t(13;15) 45,XX,t(13;21) 46,XY,t(8;14) 46,XY,t(2;17) 46,XX,t(9;21)
ファンコニー貧血	1	切断、ギャップが多い
白血病	8	46,XY,t(9;22)(q34;q11) 46,XX/46,XX,Ph ¹ + 47,XX,+19 47,XXX,t(4;11) 48,XX,+21,+mar
悪性腫瘍を持つ	1	不特定の染色体異常を持つ
計 (人)	139	

(139人 / 765人 異常率18.1%)

表6. 性染色体異常と主な核型

疾患名	人数	主な核型
クラインフェルター症候群	6	
(トリソミー型)	5	47,XXY
(モザイク型)	1	46,XY/47,XXY
ターナー症候群	15	
(モノソミー型)	5	45,X
(モザイク型)	10	45,X/46,XX 45,X/47,XXX 45,X/46,X,r(X) 45,X/46,X,del(X)
トリプルX (超女性)	1	47,XXX
半陰陽	3	45,X/46,XY
計 (人)	25	

(25人/84人 異常率29.8%)

人中164人に染色体異常(異常率19.3%)がみられた。染色体異常の内訳については、表5に常染色体異常の内訳(異常率18.1%)、および表6に性染色体異常の内訳(異常率29.8%)を示した。常染色体異常ではダウン症候群が最も多く65.5%(91/139)をしめ、以下、18トリソミー症候群6.5%、13トリソミー症候群等2.9%、均衡転座保因者があわせて11.5%とその他が13.6%であった。一方、性染色体異常ではターナー症候群62.5%(15/24)、クラインフェルター症候群24%等であった。ターナー症候群の疑い64人中15人が45,Xあるいは多彩なモザイク型の染色体異常だったが、その核型については表7にまとめた。

考 察

今年度受付けた56件はすべて検査が可能で、うち2人が染色体異常であり、単純に異常率を計算すると3.6%であった。

昨年度に引き続き、依頼理由として最も多かったのは流産を繰り返す夫婦であり、27人のうち1人に染色体異常が発見された。これまでに、当所で妊娠初期に自然流産を繰り返すために検査を行った130人中8人(6.2%)、61組の夫婦中8組(13.1%)

表7. ターナー症候群15例の核型

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

に均衡転座保因者が発見されたことになった。8例の核型と既応歴について表8にまとめた。習慣性流産と染色体異常の関係については既に多くの報告がされており、その異常率に関しては2~20%の範囲である[6~8]。

白血病あるいはその疑いの依頼、特に骨髓液の検査依頼が年々増加する傾向にあったが、今年度は血液では1件、骨髓液では4件と意外に少なかった。

当所で19年間に検査した872人(実人数)について染色体異常の頻度を計算したところ、検査が可能であった849人中164人に染色体異常が認められ、その異常率は19.3%であった。これは検査対象者の約5人に1人は何らかの染色体異常を有していたこと

表8. 染色体異常のあった習慣性流産患者8例の核型と既応歴

核 型	既 応 歴
47,XXX	2回流産1回胎児死亡
45,XX,t(13q21q)	2回流産
46,XX,t(1;15)(q42;q26)	2回流産
46,XX,t(3;10)(q29;q22)	3回流産
46,XX,t(3;4)(p13;p16)	3回流産
46,XY,inv(9)(p11q13),t(4;10)(q31;q25)	3回流産
46,XY,t(8;14)(p11;q32)	4回流産
46,XY,t(8;21)(q24.2;q21.2)	4回流産

になる。また、常染色体異常の疑い765人中139人18.1% (表5), 性染色体異常の疑い84人中25人29.8% (表6) に染色体異常がみられた。

前述したように、前田らの研究によれば、新生児集団における染色体異常率はいずれも約0.6%と報告されており、これに比べると非常に高い異常率になる。しかし、横沢[9]は検査依頼のあったうち22.8%に染色体異常を報告しており、これは我々の成績とほぼ同様の値であった。このように、臨床的に染色体異常の疑いがある場合は高い異常率になるのも当然であり、さらに0歳児に限れば約35% (当所) と非常に高い値になった。

最近では臨床検査の分野で、自動分析機が導入され、検体を入れれば自動的に検査結果が得られ、場合によっては原理や手技を知らなくてもよいという状況になってきている。しかし、一方、検査の内容が高度になり手技も複雑で自動化はごく一部で、大半を人の手技と経験に依存するという分野も増えてきている。染色体検査は後者に属する。以前から、染色体自動分析の試みがなされてきてはいるが、その場合も充分な染色体分析の知識をもって操作しなければならない。また、染色体分析は技術のみで行えるものではなく、遺伝学的知識の蓄積から分析の意義を十分に理解することによって、興味も深まり技術面も修得されるところがあるので、さらに、精度の高い技術および知識の修得とともに、単に検査結果を報告するにとどまらず、臨床的対応および今後の処置などについて、臨床家側との連携プレーが

さらに重要になると考えられる。

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

文 献

1. 前田 徹 (1988). 慶応医学, 65(5), 649-655.
2. 美甘和哉 (1978). 染色体異常, 外村晶編, 196-197, 朝倉書店, 東京.
3. 林美貴子, 本田幸子, 山崎茂一, 佐藤茂秋 (1989). 富山衛研年報, 12, 46-53.
4. 林美貴子, 本田幸子, 井山一郎, 佐藤茂秋 (1991). 富山衛研年報, 14, 49-57.
5. 本田幸子, 林美貴子, 柏樹久雄, 佐藤茂秋 (1992). 富山衛研年報, 15, 52-58.
6. U. Diedrich, I. Hansmann, D. Janke, O. Opitz, H. D. Probeck (1983). Hum. Genet., 65, 24-52.
7. G. Bourrouillou, P. Colombies, N. Dastugue (1986). Hum. Genet., 74, 399-401.
8. 林美貴子, 本田幸子, 山崎茂一, 佐藤茂秋 (1989). 富山衛研年報, 12, 231-235.
9. 横沢拓郎 (1982). 医学のあゆみ, 121, 787-797.

ヒト染色体に関する調査研究 — 羊水・絨毛 —

本田幸子 林 美貴子 柏樹久雄 佐藤茂秋

Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells
and Chorionic Villus CellsSachiko HONDA, Mikiko HAYASHI, Hisao KASHIWAGI
and Shigeaki SATO

要旨 平成3年度の羊水および絨毛の染色体の検査は、受付件数が羊水33件、絨毛2件で、昭和49年度から併せると、羊水528件、絨毛11件となった。検査の結果、今年度は染色体異常が羊水、絨毛それぞれ1件ずつみられ、その核型は、前者が46, XX, t(5;6) (q31p23), 後者が46, XX, 1qh+, t(7;14) (p13q11)であった。しかし、この絨毛の異常核型は、後に、母親の核型であることが判明した。羊水では、全年度で16件の異常がみられている。染色体検査依頼の理由（主訴）は高齢妊娠、染色体異常児出産経験者等が多かった。

羊水中に浮遊している羊水細胞は、胎児由来の細胞で、1960年代後半には、この細胞を用い、染色体異常や先天性代謝異常等の遺伝性疾患の出生前診断が可能となった。最近では、染色体検査技術の進歩や超音波断層法等の応用により、安全で精度の高い検査法が確立され、羊水の染色体検査は広く一般に普及してきた。また、妊娠早期の絨毛組織等を用いた検査法も検討され、羊水より早い結果が得られるようになった。しかし、その反面、まだ先天性代謝異常症の一部を除き、ほとんどが治療困難であり、また診断結果の信頼性や社会的、倫理的な問題等も残されている。

当衛生研究所における羊水細胞の染色体検査は昭和49年度より、富山県総合母子保健対策の一環として血液と共に検査を実施してきた。その間、胎児組織、絨毛組織等の検査も加わり15年余りとなった。ここに平成3年度の羊水、絨毛の検査結果とともに昭和49年度からの結果をも併せ報告する。

実施方法

1. 羊水

昭和50年1月(49年度)より平成4年3月(平成3年度)までに検査依頼のあった病院名および依頼検査件数は表1に示した。

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

平成4年9月1日

表1. 検体区分(羊水)(昭和49~平成3年度)

県	病 院	年 度	
		平 3	昭49~平3
富山県	県立中央病院	6	68
	富山医科薬科大学	1	42
	富山赤十字病院	5	39
	厚生連高岡病院	3	20
	砺波総合病院	4	13
	高岡市民病院	1	13
	富山市民病院	1	12
	富山通信病院	1	5
	黒部市民病院	1	2
	上市厚生病院	1	2
	舌野産婦人科医院	1	3
	矢後産婦人科医院	1	2
	ピーチクリニック	1	1
	その他		12
小 計 (件)		27	234
石川県	珠洲総合病院	1	7
	恵愛会松南病院	1	7
	荒木産婦人科医院	1	7
	松田産婦人科医院	1	4
	泉野産婦人科医院	1	3
	金沢精霊病院	1	1
	その他		241
小 計 (件)		6	270
福井県			22
新潟県			2
計 (件)		33	528

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も行った。1検体につき10個以上の中期核板の顕微鏡写真を撮り、判定した。

2. 絨毛

今年度までに検査依頼のあった病院名および件数は表3に示した。

表3. 検体区分(絨毛)(昭和49~平成3年度)

県	病 院	年 度	
		平 3	昭49~平3
富山県	富山医科薬科大学		5
	厚生連高岡病院		4
	砺波総合病院	1	1
	黒部市民病院	1	1
計 (件)		2	11

依頼された絨毛は、ほぼ8週から11週までである。これらの組織はハサミで細切するかピペットでよく攪拌し、細胞懸濁液を作り、それをシャーレに分注し培養した。以下は羊水と同じ方法で染色体標本を作成した。分析も同様に中期核板の顕微鏡写真を撮り判定した。

表2. 染色体標本作成法

羊水	羊水10ml以上を無菌試験管に入れ3時間~1晩静置し、羊水細胞を収集
培養液	Chang Medium (Hana Media, Inc.)
培養	シャーレ (Falcon plastic petri dish 35 × 10 ml) で、37°C 5% CO ₂ 培養
細胞遊離	0.025 % トリプシン・EDTA 37 °C 5分
遠心	1,000 rpm 5分
低張処理	0.075 M 塩化カリウム 3 : 0.9 % クエン酸ナトリウム 1
コルセミド処理	最終濃度 0.1 v / ml 37°C 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°C) の蒸気上で乾燥し、その後自然乾燥

結果および考察

1. 羊 水

今年度依頼された検体は、ほとんどが富山県、石川県の公立病院（表1）からで、受付件数は33件（受付総件数：528件）であった。今年度はそのうち32件が染色体分析可能であった。表4に年度別の受付件数、染色体異常数等の検査状況を示した。この染色体分析不能原因は、主に検体採取時の羊水量および細胞の不足によるもので、細菌やカビ等の混入による判定不能はほとんどない。最近、分析不能数は少なくなってきたが、63年度、急に増加したのは、一部の病院で採取された検体の分析不能によるもので、器具の滅菌や、羊水採取時の消毒等による細胞の死滅等が考えられた。これはその後、検体

表4. 検査状況（昭和49～平成3年度）

年 度	受 付 件 数	分 析 不 能 数	染 色 体 分 析 数	染 色 体 異 常 数
昭和49	1	0	1	1
50	5	2	3	0
51	8	0	8	0
52	1	1	0	0
53	10	1	9	1
54	15	1	14	2
55	16	2	14	0
56	23	5	18	3(1)
57	32	6	26	1
58	26	4	22	0
59	37	1	36	1
60	66	2	64	0
61	59	3	56	1
62	40	1	39	0(1)
63	65	8	57	0
平成元	48	3	45	4(2)
2	43	0	43	1
3	33	1	32	1
計(件)	528	41	487	16(4)

() モザイク等

採取の注射器をガス滅菌からγ線滅菌に替えたことから一部解決されたが、今年度の分析不能の1件も原因不明の細胞の死滅であった。

平成3年度および検査開始時から平成3年度までの検査依頼理由（主訴）とその検査結果は表5に示したが、今年度は染色体異常が1件みられた。

この症例の検査依頼の理由は、第1子が水頭症で死産をしたため、今回は3回目の妊娠16週であった。2回目の妊娠中にも当所で羊水検査を受けており、その子の結果は正常核型であった。しかし今回の妊娠の羊水検査の結果、46,XX,t(5;6)(q31p23)の相互転座染色体異常の核型(図1)を示した。そのため担当医師等に問い合わせたところ、初めて母親が転座型染色体保因者であることが判明した。これは本人が第1子出産後、染色体検査を受け、その時、保因者であることは知らされていたが、その後転院をしたため、医師にはその結果を知らせず、死産のみを主訴として2回目、3回目の妊娠中、羊水検査を受けていたものとわかった。結局、児の核型は母親と同じ核型の相互転座染色体保因者と推定された。これらについては事前にもっと遺伝相談等の必要があったのではないかと思われる症例であった。

49年度からの異常症例の詳細は既報[1～5]で述べた。

今年度、検査依頼の理由の中で一番多かったのは、高齢妊娠のため、ということで16件あり、受付件数の48%にあたる。その年齢は34歳から44歳で、49年度からの年齢分布では、36歳から38歳が一番多くなっている。

次に多いのは、以前にde novo染色体異常児を出産した経験者が5件、近親者がDown症候群や障害児であるという理由が4件であった。

高齢妊娠と前子がDown症候群であるという二つの適応理由を併せると今年度は全件数の61%、全年度では69%を占める。昭和54年度あたりまでは、前子がDown症候群であるという理由が一番多かったが、それ以後は高齢妊娠の占める割合が急激に多くなり、60年度あたりからは60%以上を占めるようになった。今後もこの傾向は続くと思われる。母親

表5. 羊水検査の依頼理由とその結果 (昭和49~平成3年度)

理由 (主訴)	昭和49~平成3年度				平成3年度				染色体異常の核型
	検査数	判定可能数	異常数	受付検査数	検査数	判定可能数	異常数	受付検査数	
高齢妊娠	263	249	1(3*)	16	16				47, XX, +18 (46, XX/46, XY) 2件、(46, XX, inv(9)/46, XY) 47, XY, +E, 47, XX, +D, 46, XX, iso psu dic(18) 69, XXX, 46, XX, t(5;6) (q31p23) (46, XX/47, XX, +2)
羊水過多症	20	19	3						
流産、死産歴がある	12	10	2	1	1				
親類にダウン症や障害児がいる	15	14	(1*)	4	4				
近親婚である	4	3							
風疹に感染の疑い	4	4							
トキソプラズマ症の疑い	2	2							
本人の強い希望	3	3							
その他	5	3		1	1				
不明	12	8							
親が染色体異常を保有	5	5	2						45, XY, t(14q21q), 46, XY, -D, +t(Dq6q) 45, XX, t(13q15q) 2件 46, XX, inv(3)
転座型 D/G	3	3	2						
D/O	2	1	1						
inv 3	1	1		1	1				
3/4	1	1							
7/14	1	1							
父親に 9p- の疑い	1	1							
母親に XX/XXX の疑い	1	1							
前子が de novo の染色体異常を保有	100	95	3	4	3				47, XX, +G 2件、 47, XY, +E
ダウン症 (トリソミー型)	1	1							
18トリソミー	6	6							
その他	8	8		1	1				
胎児異常の疑い	4	4							45, X
無胎児	5	4	1						
胎児水腫	4	3							
血友病	4	3							
胎児リンパ管腫	2	2	1						47, XX, +21
その他 (奇形 等)	20	17		2	2				
前子が異常 (染色体異常を除く)	4	2							
代謝異常	3	2		1	1				
脳性マヒ	17	15		1	1				
その他 (奇形 等)									
計 (件)	528	487	16(4*)	33	32				1

(*) モザイク等

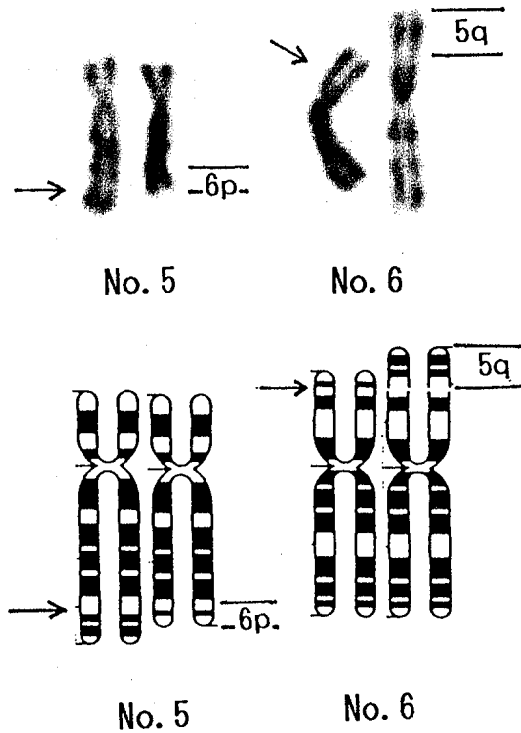


図1. 部分核型

46, XX, t(5;6) (q31; p23)

の加齢と共に異常の出生率が高くなることはよく知られているとおりで、今年度までに当所においてみられた染色体異常15件のうち、高齢妊娠を主訴とした検体は1件であるが、他の主訴による染色体異常4件が高齢妊娠（35歳以上）であった。特に40歳を越えると、染色体異常は約5%にもなるといわれている〔6〕。当所においても今年度まで40歳以上の検体が70件で、全検体の13%、高齢妊娠中の27%となっており、これらは特に検査が必要と思われる。厚生省の人口動態統計などから、高齢出産は増加する一方で、今後は、全国的にますます検査希望が増加すると言われている。実際、当所においても、依頼件数は急激に多くなってきている。しかし当所の

検査可能数は限られ、そのため県外からの依頼等については、場合により断らざるを得ない状況である。

またトリソミー型ダウン症候群児を出産した母親の再発危険率は、Tonomuraら〔7〕は1%、藤田〔8〕は2%と報告しているが、当所では今年度まで、これらの成績より高い3/95の3%と高い率を維持しており、羊水診断の必要性が痛感された。

ただ、羊水、絨毛等の染色体検査には、後にも述べるように、母体細胞混入の危険性があること、染色体異常がすべて把握されるわけではないこと、異常を発見してもほとんどが治療困難であること、などの問題があり、さらに倫理的、社会的な問題等も多く残されている。従って、今後は、これらのこ

平成4年9月1日

とを念頭に置き、医師の適切な指導や遺伝相談による染色体検査の運用や、検査体制を整える必要があると思われる。

2. 絨毛

絨毛の検査は妊娠早期に結果が出るため、最近特に注目されている。当所でも、61年度から検査を始め、今年度2件、全年度で11件検査を行った。いずれも8～11週の絨毛である。今年度の2件は依頼理

由が共に前子が染色体異常のため、全年度では8件になる。そのほか、1件が転座型染色体で流産歴があるため、1件が高齢妊娠、1件が前子の異常のため、という理由であった。

今年度検査の結果、転座型染色体異常が1件みられた。しかし後にこの異常核型は、実は母親由来の細胞を検査していたため、胎児の核型を表したものであるのではないことが判明した症例である。主訴は前子が染色体異常で、母親が相互転座保因者の疑いとい

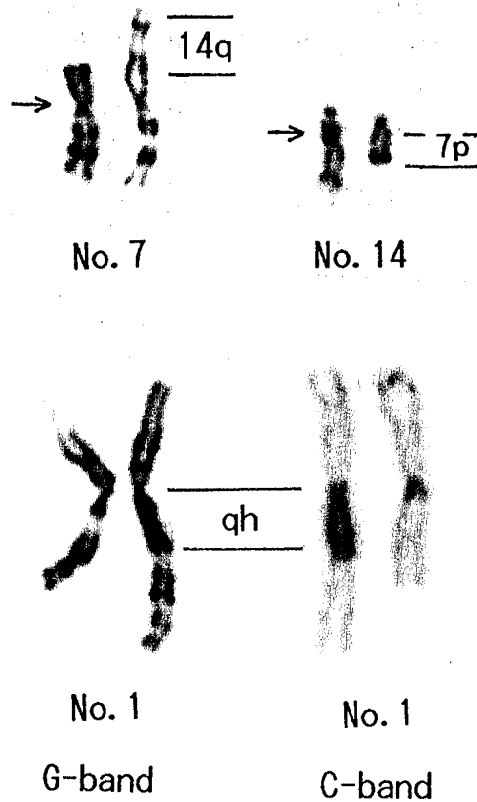


図2. 部分核型
46, XX, 1 qh+, t(7;14) (p13;q11)

うことで、妊娠9週で絨毛穿刺が行われ、その組織による染色体検査を著者らが行った。その分析の結果、46, XX, 1qh+, t(7;14) (p13;q11) の核型(図2) が得られた。確認のため、母親の血液の染色体検査を行ったところ、その核型は46, XX, 1qh+, t(7;14) (p13:q11) で胎児と全く一致していた。この核型の詳細は、本誌で林ら [9] も述べているが、相互転座の他に極めて特異な染色体を1本持っていることが特徴であった。この染色体は1番染色体で、動原体近くの異質染色質部分が非常に長く、異常染色体と間違えるほどであった。親と子が同じ核型であることは不思議ではないが、一部疑問もあったので、念のため、妊娠19週でさらに羊水による染色体検査も行うことになった。その結果、46, XY の核型が得られた。これらのことから、胎児側の絨毛と思われていた組織が、実は母体側の組織を採取し、検査をしていたと考えられた。妊娠早期の絨毛の検査における母体細胞の混入の危険性は、従来指摘されてはいるが、実際、今後の絨毛検査の問題点として注意すべきである。

謝辞：ここに発表した症例の羊水採取や家系調査に御協力を頂いた各病院の関係の方々に深謝致します。

文 献

1. 本田幸子, 林 美貴子, 吉川俊夫, 植竹久雄 (1986). 富山衛研年報, 9, 51-56.
2. 本田幸子, 林 美貴子, 吉川俊夫, 植竹久雄 (1987). 富山衛研年報, 10, 50-54.
3. 本田幸子, 林 美貴子, 吉川俊夫, 植竹久雄 (1988). 富山衛研年報, 11, 48-51.
4. 本田幸子, 林 美貴子, 井山一郎, 佐藤茂秋 (1990). 富山衛研年報, 13, 47-54.
5. 本田幸子, 林 美貴子, 井山一郎, 佐藤茂秋 (1991). 富山衛研年報, 14, 44-48.
6. 外村 晶 (1978). 染色体異常, 191-193
7. Tonomuta, A., Aoki, H. and Kisii, K (1975). Jap.J. Hum. Genet., 20, 73.
8. 藤田弘子 (1977). 人遺誌, 23, 257.
9. 林 美貴子, 本田幸子, 柏樹久雄, 佐藤茂秋 (1992). 富山衛研年報, 15, 44-51.

平成4年9月1日

ターナー症候群の疑いで依頼された 染色体検査の結果について

林 美貴子 本田 幸子 鏡森 定信¹

Chromosome Analysis of Patients Suspected of Turner's Syndrome

Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA
and Sadanobu KAGAMIMORI¹

要旨 ターナー症候群の疑いで依頼された64人の染色体検査を行った結果、15人にXモノソミー、モザイク、X染色体構造異常等の多彩な染色体異常が発見された。その核型と臨床像についてまとめたところ、ほとんどの症例で低身長がみられ、原発性無月経、生理不順も観察された。しかしながら、精神発育は良好なものが多かった。

Neuhansが1890年に、卵巣の欠如、知的発育の欠如、低身長を認めた症例を報告して以来、次々に同様の症例が発表された。1938年になって、Turnerが原発性無月経症に外反肘、翼状頸、低身長をともなった症例7例を報告した〔1〕が、彼の報告は、それまでと違って、外表奇形と知的発育の欠如を結びつけたところに、その大きな意義があるといわれている。しかし、その後、症状の似ている他の症候群との間に混乱がみられたが、血液による染色体検査方法の確立にともない、1959年にFordらが、Turnerが報告したのと同様の患者にXモノソミー(45,X)の核型を発見〔2〕して以来、X染色体の構造および数的変化を含む多彩な染色体異常が発表されてきている。その結果、現在では、ターナー症候群とはTurnerが記載した性腺発育不全、翼状頸、外反肘、低身長の4つの症状を呈しなくても、X染色体の欠損(部分欠損を含む)と二次性徴の不全があれば、広くターナー症候群と呼ばれている〔3〕。

我々は、当所でターナー症候群(無月経のみの症状のものも含む)の疑いで染色体検査を行った64人

についてまとめたので、その概要を報告する。

材料および方法

昭和48年度から平成3年度までに富山県、石川県の病院から、ターナー症候群等の疑いで検査依頼のあった64人について、染色体分析を行った。検査受付時の主訴等については表1にまとめた。

染色体検査方法、後期X染色体分析法等は既報〔4,5〕にしたがった。

結果および考察

検査受付時の主訴と受付数、染色体異常数とその核型については表1に示したとおりである。無月経を主な理由とした25人中2人(8%)、低身長を主な理由とした12人中3人(25%)、典型的なターナー症候群の疑い8人中5人(62.5%)、鎖脛による無

1. 富山医科薬科大学医学部保健医学教室

表1. 検査受付時の主訴と染色体異常

主訴	受付数	異常数	核型
無月経	25	2	45, X/46, XX 45, X/46, X, +m
低身長	12	3	45, X 45, X/46, X, +m 45, X/46, X, del (X)
ターナー症候群	8	5	45, X(×3) 45, X/46, X, r (X) 45, X/47, XXX
鎖脰	8	1	45, X/46, XX
不妊、卵巣機能低下	3	1	45, X/46, XX
生理不順	2	2	45, X 45, X/46, X, i (Xq)
MR、短頸等	1	0	
MR、卵巣腫	1	0	
翼状頸等	1	0	
子宮低形成等	1	0	
尿道口不明	1	0	
心房中隔欠損等	1	1	45, X/46, XX
計 (人)	64	15	

MR ; 精神發育遅延

月経等を主な理由とした8人中1人(12.5%)、不妊、卵巣機能低下を主な理由にした3人中1人(33.3%)、生理不順を主な理由にした2人中2人(100%)と心房中隔欠損症で念のため検査を行い発見された1人の、検査依頼のあった64人中15人(23.4%)に染色体異常が発見された。また、原発性無月経の症状を示した中で、3人が睾丸性女性化症候群(表現型女性、染色体46, XY)で、そのうち1人は睾丸を摘出した。また、正常変異といわれている9番染色体逆位保因者(46, XY, inv(9)(p11q13))が1人みられ、原発性無月経と子宮が小さい症状を示した。

ターナー症候群15例の核型と症状について表2にまとめたが、ほとんどの例で低身長が認められ、-1SD~+3SDの範囲であった。図1に諏訪らが表わした正常な身長体重成長曲線と、藤田が関西の78人のターナー症候群で調査した身長成長曲線[6]を示し、我々の調査した結果を図中に表したところ、

身長はターナー症候群の平均身長成長曲線に大体沿っていた。

15歳以上の11人のうち6人が原発性無月経で、4人は11~13歳時に初経があり、その後数回あるいは数年順調な月経を経験しているものまでであったが、その後、生理不順、不妊等の理由で検査を受けていた。1人は心臓疾患と他の臨床症状からダウン症候群を疑われ、染色体検査を行ったところ、モザイク型のターナー症候群であったため、臨床症状を再調査したところ、心房中隔欠損症の他に、生理不順、低身長、やや肥満があり、さらに正常に2児を出産していた。学齢期に検査を受けている中では、低身長のため、学校から病院で検査を受けるようにいわれたものもみられた。

症例11~15の核型は図2~6に示した。症例10は性染色体8%陽性(+4個, ++4個)、症例12ではdouble ringが若干認められ、症例14, 15では性染色体陰性であった。症例14の小型マーカー染色体

平成4年9月1日

表2. ターナー症候群15症例の核型と臨床像等

症例	核型	年齢	身長	体重	臨床像等
1	45,X	8	113cm	28.5kg	低身長(-2SD)、肥満、短い手指 (在胎40週 2400g)
2	45,X	13	137cm	36.4kg	低身長(-2SD)
3	45,X	16	140cm	46.5kg	低身長(-3SD)、肥満、無月経、性器発育不全、川崎病既往
4	45,X	18			低身長、原発性無月経、外性器正常、翼状頸、外反肘、腋毛恥毛(-)
5	45,X	29	149cm	41.5kg	低身長(-1.5SD)、月経不順
6	45,X/46,XX (36 : 64)	18			原発性無月経
7	45,X/46,XX (32 : 68)	29		49kg	月経不順、卵巢機能低下
8	45,X/46,XX (50 : 50)	39			低身長、月経不順、2子出産、心房中隔欠損症
9	45,X/46,XX (14 : 86)	59	142cm	41kg	低身長(-3SD)、難聴、外性器発育不全、鎖嚥、乳房発育不全、蛋白尿、腋毛恥毛(-)、I Q40以下
10	45,X/47,XXX (50 : 50)	15	145cm	41kg	低身長(-2SD)、原発性無月経、乳房小、腋毛恥毛(-)
11	45,X/46,X,del(X) (70 : 30)	10	119cm	24kg	低身長(-2.5SD)、二次性徴(-)、翼状頸(-)、外反肘 (在胎40週 2520g)
12	45,X/46,X,r(X) (60 : 40)	20	143cm	58kg	低身長(-3SD)、肥満、原発性無月経、乳房発育不全、翼状頸、外反肘、糖尿
13	45,X/46,X,dic(X) (30 : 70)	32	147cm	55.4kg	低身長(-1.5SD)、肥満、月経不順、卵巢機能不全
14	45,X/46,X,+mar (40 : 60)	12	132cm	34.5kg	低身長(-2.5SD)、肥満、糖尿(在胎41週 47cm 3250g)
15	45,X/46,X,tetra(Y) (30 : 70)	21	142cm	43kg	低身長(-3SD)、原発性無月経、乳腺発育不良、短頸、外反肘、腋毛恥毛少

(:) ; モザイク頻度 (72時間培養)

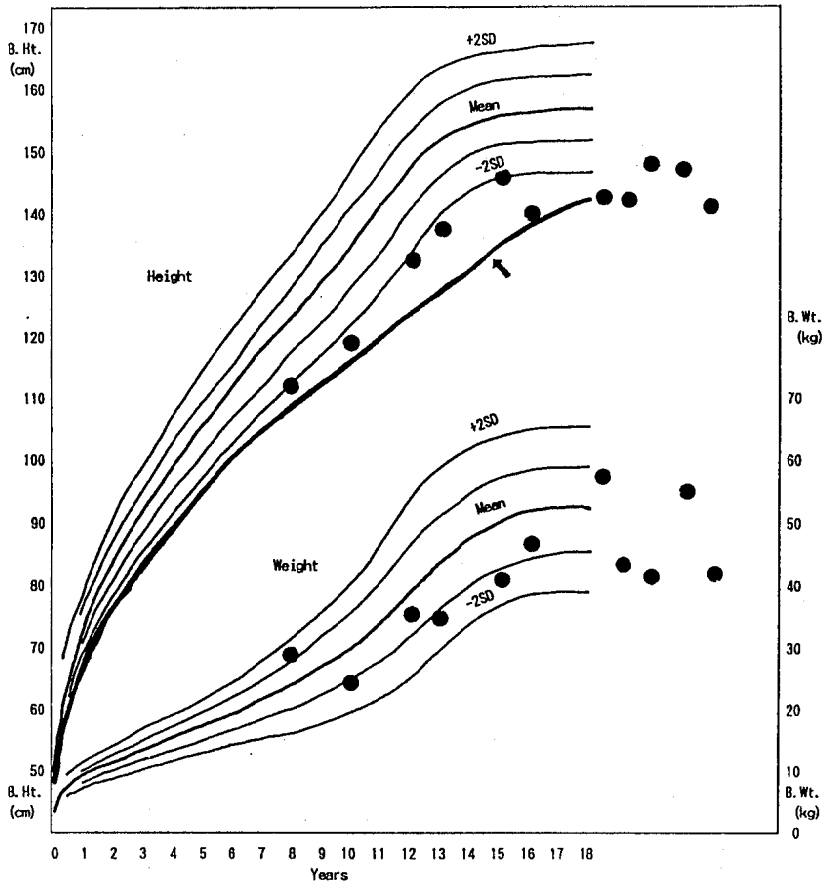
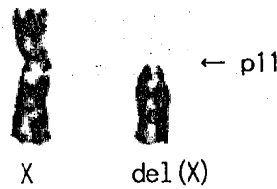


図1. 身長, 体重成長曲線

▲ ターナー症候群の平均 (藤田)

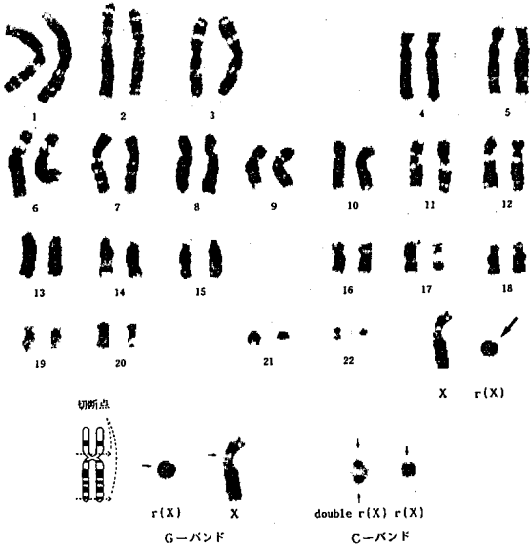
● 自験例 (初診時)



45, X / 46, X, del(X) (qter →p11:)

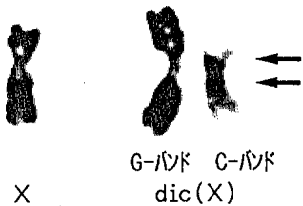
図2. 症例11の部分核型

平成4年9月1日



45, X / 46, X, r(X) (p11→q28)

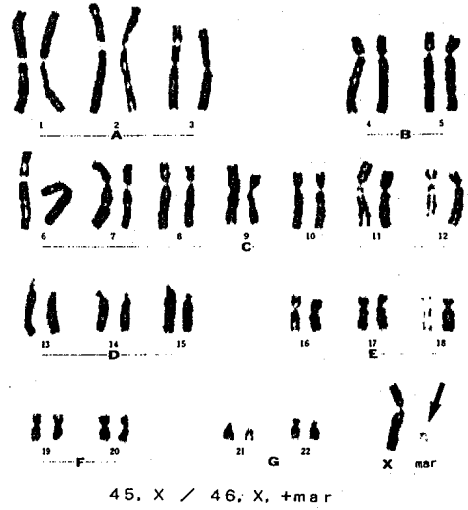
図3. 症例12の核型



45, X / 46, X, dic(X) (qter → p11::p11 → qter)

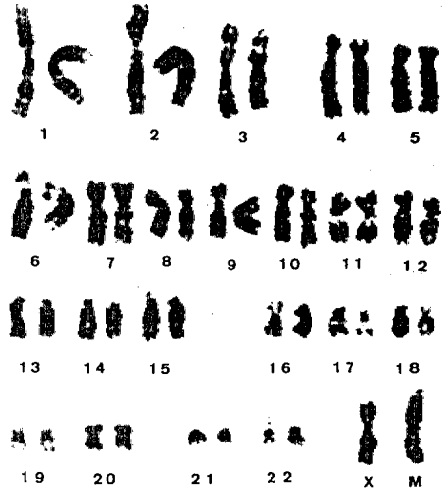
図4. 症例13の部分核型

は、DA/DAPI染色、後期複製X染色体等の分染を行ったが、由来不明であった。症例15の大型マーカー染色体も同様に、C-, G-, Q-, R-バンド、DA/DAPI染色、後期複製X染色体等の分染、5-アザシチジン添加培養 [7] 等を試み、tetra (Yq) と推定されたが、断定することはでき



45, X / 46, X, +mar

図5. 症例14の核型



45, X / 46, X, +tetra(Y) (pter → q12::q12 → q11::q11 → q12::q12 → ter)

図6. 症例15の核型

なかった。このことから、症例14, 15は、ともにDNA診断が必要と考えられた。症例8では47, XXXの細胞が1個観察され、さらにモザイクの割合を48時間培養、72時間培養で比較したところ、45, X : 46, XXが各6 : 4, 5 : 5で、その間に変化がみられた。他の症例では全て72時間培養で観察した。

生体に近いモザイクの割合は、48時間培養と考えられ、モザイクの割合と臨床症状との関連性は簡単に論ずることはできないと考えられた。

ターナー症候群の出生率は女児1万人に対して4人(0.04%)と推定されているが、全妊娠の約15%は自然流産に至り、そのうち半数は染色体異常である。さらにその自然流産胎児の約20%は45,Xの核型を示すことなどから、Xモノソミーは強い致死作用をもち、最終的に出生に至るのは300例中1例と考えられている。しかし、このように強い致死作用をもつにも関わらず生れた例では、一般に生命予後は良く、思春期に至るまで気づかずにいる例も多く、また、気づかずに成人し、社会に貢献している人々も少なくないと考えられている。従来から、ターナー症候群は知能が低く、精薄施設、養護学校等に多いといわれてきたが、藤田〔6〕は知能は一般とあまり変わらず、その就いている職業では、会社員、保母、看護婦の人もおり、主婦もいたと報告している。我々の今報告でも学齢期、成人例とも、精神発育良好なものが多く、会社員や病院勤務の人、主婦もいた。

ターナー症候群の出産例は、今までに約80例報告されているが、そのほとんどはモザイク型ターナー症候群で、しかも排卵誘発剤を使ったものが多いとみられている。今回、我々が経験した例の様に、自然に妊娠出産した例は少ないものと考えられる。

染色体分析の際に、ターナー症候群が疑われた場合、X染色体の構造異常やモザイク型が多いことから、核型と表現型が一致するよう繰り返し検査を行うことや、注意深い判断が必要と考えられる。

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

文 献

1. Turner, H. H. (1938). *Endocr.*, 23, 566-574.
2. Ford, C. E., Jones, K. W., Miller, O. J., Mittwoch, O. J. (1959). *Lancet*, i, 709-719.
3. 藤田弘子(1981). 染色体異常アトラス, 安部達生, 藤田弘子共編, 230-236.
4. 林 美貴子, 本田幸子, 山崎茂一, 佐藤茂秋(1989). 富山衛研年報, 12, 46-53.
5. 林 美貴子, 本田幸子, 井山一郎, 佐藤茂秋(1991). 富山衛研年報, 14, 49-57.
6. 藤田弘子(1982). 医学のあゆみ, 121, 760-764.
7. Schmid, T., Haaf, T., Grunert, D. (1984). *Hum. Genet.*, 67, 257-263.

平成4年9月1日

小核試験を用いた diethylstilbestrol の変異原性 — ヒトの発癌性とマウス小核試験の相関性 —

本田 幸子 林 美貴子 品川 保弘
佐藤 茂秋 成瀬 優知¹ 鏡森 定信¹

Mutagenicity of Diethylstilbestrol in Mouse Micronucleus Test

Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI,
Yasuhiro SHINAGAWA, Shigeaki SATO,
Yuchi NARUSE¹ and Sadanobu KAGAMIMORI¹

要旨 マウスの小核試験とヒトの発癌性との相関性を見るために、発癌物質として知られている合成ホルモン、Diethylstilbestrol (DES), のマウス末梢血、骨髄における小核誘発を試みた。その結果、DES75, 150および300mg/kg投与のCD-1雌雄マウス末梢血および300mg/kg投与CD-1雄マウス骨髄の小核誘発頻度はいずれも陰性対照群と有意な差は見られなかった。これらのことから、DES等の発癌物質のマウス小核試験においては、その物質の性状等を考慮して試験を検討する必要があると考えられる。

Diethylstilbestrol (DES) はステロイド骨格を持たない合成女性ホルモンのひとつで、 17β -estradiol等と同様に、発情ホルモン作用を示し、経口的にも有効なので、発情ホルモン療法他に、前立腺肥大症や前立腺癌、進行乳癌等の治療や避妊薬、家畜の餌の添加物等にも使用されてきた。一方、DESはまた国際癌研究機関 (IARC) で、グループ1にランクされる強力なヒト発癌物質として知られている。この性ホルモンのヒト発癌性については多くの報告 [1] があり、変異原性についても、現在まで報告はあるものの、マウス *in vivo* 小核誘発性については、未だ不明となっている。

小核試験は、化学物質の染色体異常誘発性を調べる *in vivo* の簡便な試験法として、一般に使用されている。最近、マウス骨髄の小核試験だけでなく、末梢血網状赤血球の小核を観察する方法により、骨

髄同様の結果が得られることが確かめられた [2]。従って、今回は主に、*in vivo* におけるマウスの末梢血、骨髄の小核誘発を試み、性ホルモンDESのヒト発癌性とマウス小核試験との相関性を検討した。

材料および方法

使用したマウスは、8週齢のCD-1雌雄マウス (Charles River Japan, Inc.) である。

DES (Sigma Chemical Company U.S.A.) の化学構造は、Fig. 1 に示した。DESは局法オリブオイル (丸石製薬KK) に懸濁し、投与量はマウス体重kg当り、末梢血観察群で、75, 150および300mg、骨髄観察群では300mgを、各群のマウスに1回腹腔内投与した。この投与濃度は予備実験で決定した。

1. 富山医科薬科大学医学部保健医学教室

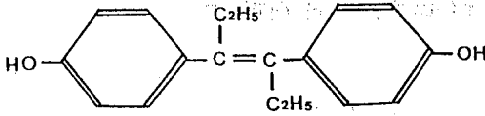


Fig. 1. Diethylstilbestrol (DES)

陽性対照として、Mitomycin C (MMC, 協和醗酵工業KK) 0.5mg/kgを同様に投与した。採取方法は、末梢血では投与後0, 24, 48, 72および96時間目に尾部より採血し、スライド標本を作成観察した。骨髄では投与後24および48時間目にマウスを放血により殺し、大腿骨を取り出し、骨髄液を採取後、通常の方法で標本を作成しギムザ染色を行った。

観察は、末梢血は落射蛍光顕微鏡下で、網状赤血球 (Reticulocyte:RET) 1,000個、骨髄では、多染色赤血球 (Polychromatic erythrocyte:PCE) 1,000個を顕微鏡下で観察し、それぞれ、その中の小核を持つRET (Micronucleated RET:MNRET) およびPCE (MNPCE) を数えた。

さらに、細胞の毒性を見るために、骨髄標本中の正染色赤血球 (Normochromatic erythrocyte:NC E) およびPCEを合わせて1,000個数え、その中のPCEの割合を表した。

得られた成績の検定は、分散分析およびKastenbaum and Bowman (1970) [3] の方法に従った。

末梢血の標本の作成方法および観察方法の詳細は以下の通りである。

I. 網状赤血球小核試験標本の作成方法

1. マウス尾部の血管を注射針で刺す。
2. マイクロピペットで5 μ lの血液を採取する。
3. アクリジンオレンジ (AO) 塗布スライド*の表面の異物をふき取る。
4. 採取した血液をAO塗布スライドの中央に載せる。
5. 直ちに24 \times 40mmのカバーガラスをかける。
6. 細胞の動きが止まってから、蛍光顕微鏡で観察する。

II. *AO塗布スライドの作成方法

1. 脱脂洗浄済みのスライドガラスを70 $^{\circ}$ C程度に加熱する。
2. AO水溶液 (1 mg/ml) 10 μ lをスライドガラスの中央に載せる。
3. ガラス棒で一様に広げ、乾燥させる。

III. 観察方法

1. 観察は、蛍光顕微鏡のB励起とオレンジ系フィルターを使用する。
2. 低倍率でスライドガラスの全面を観察し、適した場所を選ぶ。
 - 赤血球の重なりや破損がない。
 - 有核細胞の核が黄緑色の蛍光を発している。
 - 網状赤血球 (Reticulocyte, RET) の網状構造**が赤色の蛍光を発している。
3. 40 \times または60 \times の対物レンズを用い、RET 1,000個中の小核を有するRET (Micronucleated RET, MNRET) の数を計測する。

** RETの型

- I型: 網状顆粒質 (SG) が細胞の中央部に多数集積している。
- II型: SGが薄い網状をしている。
- III型: SGが少なく、破れた網のように見える。
- IV型: SGが少数、点状に散在する。

結 果

末梢血小核試験において、CD-1雄および雌マウスを使い、濃度75, 150および300mg/kg, 1回投与後、0~96時間に5回採血して、MNRETの出現頻度を求めた (Table 1, Fig. 2)。その結果、300mg/kg投与群の雌で、48時間までに1匹、72時間目までに2匹死亡したが、小核出現頻度はDES300mg/kg投与群の雄に0.38 \pm 0.15%とわずかに高い値が見られたものの、陰性対照群 (オリーブオイル) と比較して、DES投与群すべてにおいて、採血時間、性に

平成4年9月1日

Table 1.
Results of the peripheral blood micronucleus test of CD-1 mice after single injection of diethylstilbestrol.

Chemical	Dose (mg/kg)	Sampling time (h)	Sex	Number of mice	% MNRET based on 1,000RET assessed per mouse							
					Individual data						Mean ± SD	
Diethylstilbestrol	75	0	M	6	0.2,	0,	0.3,	0,	0.1,	0.1	0.12 ± 0.12	
			F	6	0.3,	0.2,	0.2,	0.2,	0.3,	0.4		0.27 ± 0.08
		24	M	6	0.3,	0.4,	0.2,	0.1,	0.1,	0.1	0.20 ± 0.13	
			F	6	0.2,	0.2,	0.1,	0,	0.1,	0	0.10 ± 0.09	
		48	M	6	0,	0.2,	0.3,	0.2,	0.2,	0.1	0.17 ± 0.10	
			F	6	0.1,	0.2,	0.3,	0.1,	0.3,	0.1	0.20 ± 0.09	
		72	M	6	0.4,	0.3,	0,	0.2,	0.1,	0.1	0.19 ± 0.15	
			F	6	0.2,	0,	0.1,	0.1,	0.2,	0.1	0.12 ± 0.08	
		96	M	6	0.2,	0.2,	0,	0.2,	0.4,	0,	0.17 ± 0.15	
			F	6	0.1,	0.3,	0.4,	0.1,	0.2,	0.4	0.25 ± 0.12	
		150	0	M	6	0.1,	0.2,	0.3,	0.1,	0.3,	0	0.17 ± 0.12
				F	6	0.1,	0.2,	0.3,	0.1,	0.4,	0.3	0.23 ± 0.12
	24		M	6	0.2,	0.1,	0.3,	0.2,	0.3,	0.3	0.23 ± 0.08	
			F	6	0.2,	0,	0.2,	0,	0,	0.2	0.10 ± 0.11	
	48		M	6	0,	0.1,	0,	0.2,	0.3,	0	0.10 ± 0.13	
			F	6	0.1,	0,	0.1,	0.4,	0.3,	0.2	0.18 ± 0.15	
	72		M	6	0.3,	0.1,	0,	0.3,	0.3,	0.1	0.18 ± 0.13	
			F	6	0,	0.1,	0,	0.7,	0,	0.1	0.15 ± 0.27	
	96		M	6	0.2,	0.1,	0.2,	0.2,	0.4,	0.1	0.20 ± 0.11	
			F	6	0.3,	0,	0.2,	0.1,	0,	0	0.10 ± 0.13	
	300		0	M	6	0,	0,	0.1,	0.3,	0.2,	0.1	0.12 ± 0.12
				F	6	0.1,	0.2,	0.1,	0.3,	0.1,	0	0.13 ± 0.10
		24	M	6	0.3,	0.1,	0,	0.2,	0.1,	0.1	0.13 ± 0.10	
			F	6	0,	0.1,	0.1,	0,	0.1,	0	0.05 ± 0.05	
48		M	6	0.3,	0.2,	0.4,	0.6,	0.5,	0.3	0.38 ± 0.15		
		F	5	0,	Dth,	0.4,	0.3,	0,	0	0.14 ± 0.19		
72		M	6	0.3,	0.3,	0.1,	0,	0.3,	0.2	0.20 ± 0.13		
		F	3	0.3,	-	0.1,	Dth,	Dth,	0	0.13 ± 0.15		
96		M	6	0.3,	0.2,	0.4,	0.6,	0.1,	0.1	0.28 ± 0.19		
		F	3	0.2,	-	0.1,	-	-	0.1	0.13 ± 0.06		
Olive oil ^a		0	M	6	0.3,	0.2,	0.3,	0.1,	0.1,	0.1	0.18 ± 0.10	
			F	6	0.4,	0.1,	0.1,	0.1,	0.2,	0.1	0.17 ± 0.12	
	24	M	6	0.3,	0.2,	0.1,	0,	0.4,	0	0.17 ± 0.16		
		F	6	0.1,	0.1,	0.4,	0.1,	0,	0	0.12 ± 0.15		
	48	M	6	0.3,	0.1,	0.2,	0,	0.3,	0.2	0.18 ± 0.12		
		F	6	0.1,	0.2,	0.1,	0.2,	0.3,	0.3	0.20 ± 0.09		
	72	M	6	0.3,	0.2,	0.1,	0.2,	0.5,	0.3	0.27 ± 0.14		
		F	6	0.2,	0.1,	0.1,	0,	0.3,	0.1	0.13 ± 0.10		
	96	M	6	0.1,	0.2,	0.2,	0,	0,	0.1	0.10 ± 0.09		
		F	6	0.2,	0.4,	0.3,	0.1,	0.1,	0.2	0.22 ± 0.12		
	Mitomycin C ^b	0.5	0	M	6	0.1,	0,	0.1,	0,	0.1,	0.2	0.08 ± 0.08
				F	6	0.3,	0.4,	0.2,	0.1,	0.3,	0.3	0.27 ± 0.10
24		M	6	0.5,	0.7,	0.2,	0.8,	0.6,	0.9	0.62 ± 0.25*		
		F	6	0.2,	1.0,	0.8,	0.6,	0.3,	0.5	0.57 ± 0.30*		
48		M	6	2.2,	1.3,	1.3,	1.2,	0.9,	1.8	1.45 ± 0.47*		
		F	6	1.6,	0.9,	1.2,	0.8,	0.8,	1.8	1.15 ± 0.38*		
72		M	6	0.3,	0.2,	0.7,	0.5,	0.2,	0.3	0.37 ± 0.20		
		F	6	0.1,	0.3,	0.3,	0.1,	0.1,	0.3	0.20 ± 0.11		
96		M	6	0.4,	0,	0.2,	0.2,	0.2,	0.4	0.23 ± 0.15		
		F	6	0.3,	0.2,	0.2,	0.3,	0.1,	0	0.18 ± 0.12		

M : Male
 F : Female
 Dth : Death
^a : Negative control
^b : Positive control
 * : p < 0.01

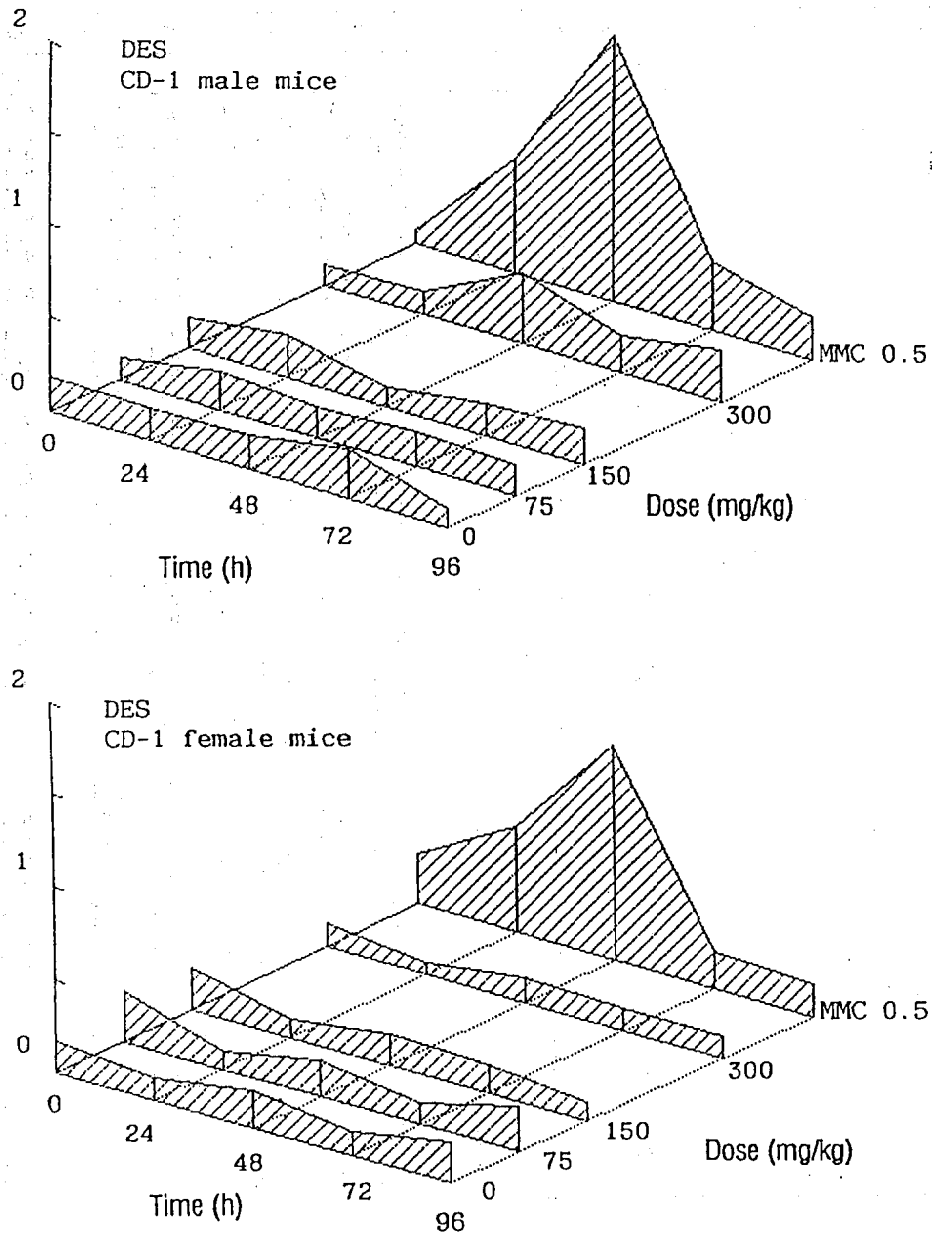


Fig. 2. Results of the peripheral blood micronucleus test after single injection of diethylstilbestrol (DES)

Table 2. Results of the bone marrow micronucleus test after single injection of diethylstilbestrol.

Chemical	Dose (mg/kg)	Sampling time (h)	Number of mice (male)	PCE/PCE+NCE Mean±SD (%)	% MNPCE based on 1,000PCE assessed per mouse						
					Individual data					Mean ± SD	
Diethylstilbestrol	300	24	6	44.2± 4.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.3	0.6	0.25 ± 0.19
		48	6	46.3± 8.3	0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.4	0.15 ± 0.14
Olive oil		24	6	48.0± 5.9	0	0	0	0.1	0.2	0.4	0.12 ± 0.16
		48	6	49.5± 5.3	0	0.1	0.2	0.3	0.3	0.3	0.20 ± 0.12
Mitomycin C	0.5	24	6	43.7± 4.4	1.2	1.6	1.8	2.0	2.0	2.2	1.80 ± 0.38*
		48	6	37.7±10.4	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.3	0.18 ± 0.08
non-treatment			6	50.7± 7.0	0	0	0.1	0.2	0.4	0.4	0.18 ± 0.18

PCE : polichromatic erithrocyte

NCE : normochromatic erithrocyte

MNPCE : Micronucleated PCE

* : p<0.01

よる有意な差は見られなかった。一方、陽性対照のMMC投与群では雄雌ともに、24および48時間後に、有意に高い小核出現が見られた。

骨髄小核試験においては、CD-1雄マウスを使い、DES300mg/kgを投与し、24および48時間後にMNPCEを計数した (Table 2)。その結果、DES投与群と対照群との間には有意な差は見られなかった。またMMC投与群では、24時間後に有意に高い小核出現が見られた。

PCE出現頻度は、すべての実験群で有意な差は見られなかった。

考 察

強力な発癌剤として知られているDESは、紡錘体形成阻害剤といわれており、in vitroの培養細胞等の変異原性については、いくつかの報告があり、高倍体、異数体の検出やSCEの誘発が知られている。

一方、小核試験は染色体の構造異常だけでなく、紡錘体阻害剤、分裂阻害剤も検出できることが知られており、我々もVincristine等の報告をしている [4, 5]。今回、我々はin vivoにおける変異原性の検討として、マウスへのDES投与における末梢血、

骨髄での小核誘発を試みた。

小核試験では、一般に使用するマウスの雌雄に差はないと言われ、雄だけが使用されている。しかし性ホルモンや2-AAF等では雌雄に感受性の違いがあるという報告 [6] があり、またDESの発癌性が、親を通して娘に現れるという特異な性質もあることから、今回は雌雄のマウスの末梢血を使い、小核誘発性を比較検討した。その結果、DES300mg投与群で雌マウスが3匹死亡し、雄では有意差はないものの、わずかに小核出現頻度が高い傾向にあった、という違いがみられたが、小核出現頻度に雌雄の差はなく、陰性対照群と比較しても、小核出現は見られなかった。また、雄マウスの骨髄においても同様に、小核の出現は見られなかった。

DES以外の性ホルモンとしては、JEMS・MMS共同研究において、Hexestrole, 17-estradiol, Teststeroneの検討を行い、同様に陰性の結果を得ている [7]。

以上のような結果から、DESのマウスin vivoにおける末梢血、骨髄での小核誘発は陰性であり、この性ホルモンの標的がこれらの細胞ではないということが考えられた。

ただし投与物質が骨髄等に到達する前に壊されてしまうこと等も考えられるため、現在、経胎盤法に

よる小核の誘発を試みている。体内に取り込まれた化学物質は、肝臓で代謝され活性化されるが、骨髄に到達する前に壊れてしまう不安定な物質でも、この方法では検出できることや、胎児の肝細胞の増殖能が活発であることから、検出感度が高いと言われている。従って、今後はこの結果等も考慮したうえで、DESの発癌性と小核試験との検討を行いたい。

なお、この報告の一部は、日本環境変異原学会(JEMS)、哺乳動物試験(MMS)分科会、第6回小核試験共同研究の一環として行われたものである。

謝辞：ご指導いただきました、国立衛生試験所 林真博士に感謝いたします。

文 献

1. Herbst, A. L., H. Ulfelder and D. C. Poskanzer (1971). *New Engl. J. Msd.*, 284, 878-881.
2. The Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (1991). *Mut. Res.*, 278, 83-98.
3. Kastenbaum, M. A. and K. O. Bowman (1970). *Mut. Res.*, 9, 527-549.
4. 本田幸子, 林 美貴子, 品川保弘, 佐藤茂秋 (1991). *富山衛研年報*, 14, 58-61.
5. Kondo, Y., S. Honda, M. Nakajima, K. Miyahara, M. Hayashi, Y. Shinagawa, S. Sato, K. Inoue, S. Nito and F. Ariyuki (1991). *Mut. Res.*, 278, 187-191.
6. The Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (1986). *Mut. Res.*, 172, 151-163.
7. 本田幸子, 大内田昭信, 浅野哲秀, 杉山千代美, 小林 浩, 佐藤茂秋 (1991). *環境変異原研究*, 13, 233.

平成4年9月1日

ビデオ記録によるクサギカメムシの交尾活動の観察

渡辺 護 荒川 良¹ 品川保弘 岡沢孝雄²

Observations on the Mating Activity of Stinky-Bug, *Halyomorpha mista* by Video Monitoring.

Mamoru WATANABE, Ryō ARAKAWA¹, Yasuhiro SHINAGAWA
and Takao OKAZAWA²

要旨 クサギカメムシの雌雄の行動を明らかにするために、雌雄一対を小型のプラスチック箱(12W×10L×9Hcm)に餌と水と共に入れ、温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、16明10暗(最初と最後の1時間は5 lux、残り14時間は1,400 lux)の環境条件で観察を行った。観察は8mmビデオによって4秒毎に、0.25秒の連続撮影を、最低12日間連続して行い記録した。

その結果、本種は多数回交尾を行う種として知られているが、室内累代飼育中の個体と、野外採集の越冬覚醒個体とでは、活動性が異なっていることが明らかになった。とくに、前者は1日当たり、および全体を通しての交接回数が少ない傾向にあった。越冬覚醒個体は、多い場合、5時から16時まで、約1時間毎に約10分間の交接を14回繰り返し行った。また、産卵の前後は雌が交尾を拒否するケースが多いが、ほぼ毎日交尾することが明らかになった。なお、一般的に雄が雌を追尾し、交尾に至る場合がほとんどであったが、累代飼育個体では雌が雄を追尾する行動が時々観察された。しかし、覚醒個体ではそのような行動は全くみられなかった。この相違については、内分泌が影響していることが推察されるが、それらの解析は今後の課題である。

クサギカメムシの交尾活動については、すでに Kawada and Kitamura [1] の報告があるが、越冬覚醒個体だけの、しかも短期間の観察である。

今回、著者らは8mmビデオカメラ、およびタイムラプスレコーダーを用いて、最低12日間の連続観察を行い、クサギカメムシの交尾活動について新知見を得たので報告する。

供試個体と観察方法

クサギカメムシ：当所で1978年から累代飼育を行っている系統(常時 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、16明8暗で飼育)と、

1991年秋に越冬のために飛来した個体を、4週間 8°C で春化处理を行い、その後 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、16明8暗で飼育を行ったもの、および1992年3月に採集した越冬覚醒個体を、 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、16明8暗で飼育しているものを用いた。

実験容器は、温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、照明は16明8暗で最初と最後の1時間は5 lux、残りの14時間を1,400 luxの条件に静置した。なお、ビデオカメラは2.5 luxから撮影が可能である。

餌としては1/8個のリングと乾燥大豆、および種皮を外したひまわりの種を与えた。これらの餌を覆う様に、 5×8 cmの網目3mmのプラスチックネットを被せ、交尾および産卵場所とした。

1. 富山医科薬科大学医学部寄生虫学教室 2. 金沢大学医学部公衆衛生学教室

観察方法：12W×10L×9 Hcmのプラスチック容器に、前述のクサギカメムシを一对入れ、8mmビデオカメラ（ソニーSSC-C350，レンズVCL-806XR）で撮影を行い、タイムラプスレコーダー（ソニーウォッチコーダーEVT-820）で、4秒毎に0.25秒最低12日間連続記録した。後日ビデオテー

プを観察して、行動を記録した。

観 察 結 果

累代飼育個体の活動記録を図1に示した。羽化

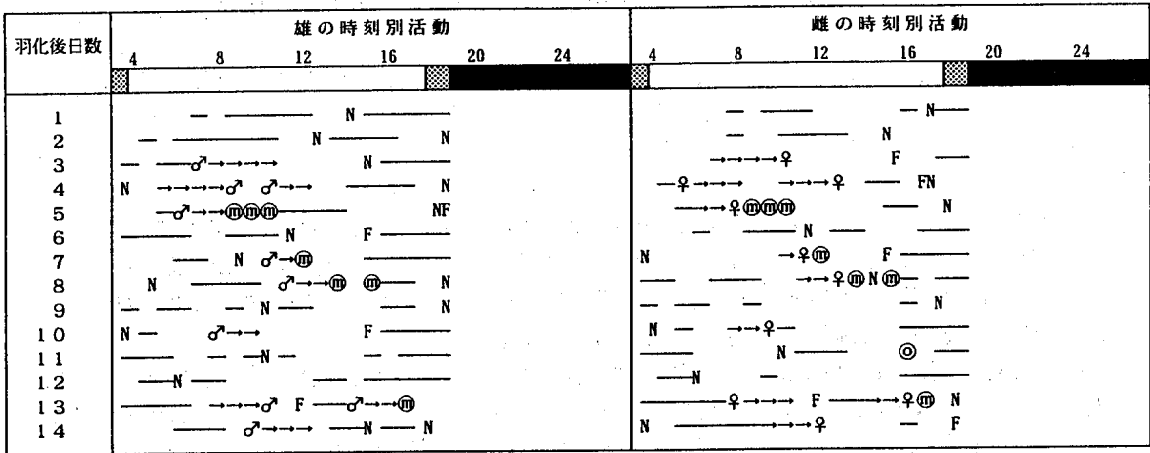


図1. クサギカメムシ一对飼育時の活動性（累代飼育個体の一例）

— 動き回る，♂→ 雄が雌を追う，♀→ 雌が雄を追う，
 →♂ 雄が雌に追われる，→♀ 雌が雄に追われる，
 F 食餌，N 吸蜜，⊕ 交尾，⊙ 産卵
 温度23±2℃，照明は16明8暗で観察（最初と最後の1時間は薄明）。

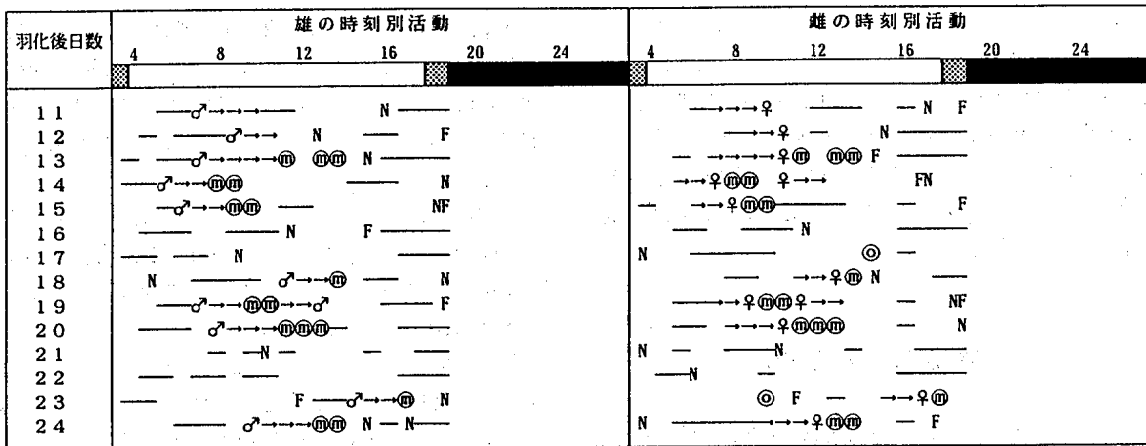


図2. クサギカメムシ一对飼育時の活動性（累代飼育個体・1回産卵後ペアの一例）

記号，飼育条件は図1. と同じ。

平成4年9月1日

当日に実験容器に入れ、翌日から撮影を開始したグループ（5ペア）の一例である。羽化後2日間は雌雄とも独自に、比較的活発に動き回るが、3日目から雄の雌追尾行動がみられる様になり（一部雌の追尾行動もみられる）、5日目には追尾行動の後に交尾（交接）が成立した。1回だけの交接で終る個体が1ペアみられたが、他のペアは2～3回の交接を3時間内に行った。1回の交接時間は9分から12分で、それが約1時間毎に行われた。

最初の交接が成立してから産卵までは約7日間（6～8日間）かかるが、その間全く交接を行わない個体が3ペア、図1の様に産卵までの間にも交接を行ったペアが2例みられた。産卵後すぐに交接を行うペアはなく、最も早いペアでも翌日で、産卵後約18時間経過していた。

図2に、羽化後10日目に産卵を行い、その翌日から観察を行った例を示した。産卵後2日間は雄が雌を追尾しても、交接までには至らず、交接が成立したのは3日目で、それ以後3日間毎日2～3回の交接が行われた。交接時間は羽化直後ペアと同様約10分であった。その後2日間は全く追尾行動も交接も無く、その間に2度目の産卵が行われた。羽化後17日目、1回目産卵後7日目であった。産卵後は初回産卵および前述同様、すぐには追尾行動・交接はみられず、22時間後に1回だけの交接であったが、交

尾行動は先と同様3日間続いた。その後、再び2日間は全く追尾行動も交接も無く、その翌日に3回目の産卵が行われた。羽化後23日目、1回目産卵後13日目、2回目産卵後6日目であった。産卵8時間後には再び交接が行われ、前2回の約1日後と異なっていた。

図3に、10月に越冬に飛来した個体を低温で春化处理した個体（7ペア）の観察結果の1例を示した。春化处理による越冬覚醒後は $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、18明6暗で飼育を行った。その結果、覚醒後10日目から雄の雌追尾行動がみられる様になり、14日目から交接が始まった。交接は1日に2～4回、4日間行われ、最初の交尾が行われてから5日目に産卵が行われた。産卵の1日前は、雄の雌追尾行動や交接がみられなかったのは、前述の2例と酷似している。産卵後の交接は18時間後にみられた。

図4、5に春（3月18日）に採集した越冬覚醒個体の例を示した。採集後は前例と同様、 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、18明6暗で観察を行った。実験後10日目（図4）または11日目（図5）から雄の雌追尾行動がみられ、後者はそのまま交接まで進行した。前者は追尾行動が始まってから、3日目に交接が行われ、それは13時間に14回連続して行われた。次の日からは1日の交接回数は減少したが、それでも前述の3例よりは多かった。しかし、産卵が近づくると雄の追尾行動は

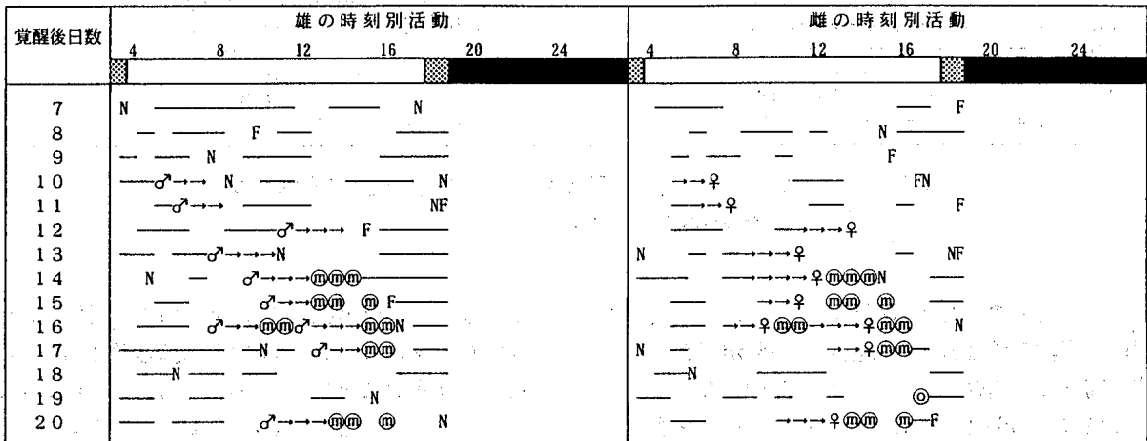


図3. クサギカメムシ一対飼育時の活動性（越冬覚醒後個体の例）
記号、飼育条件は図1. と同じ。

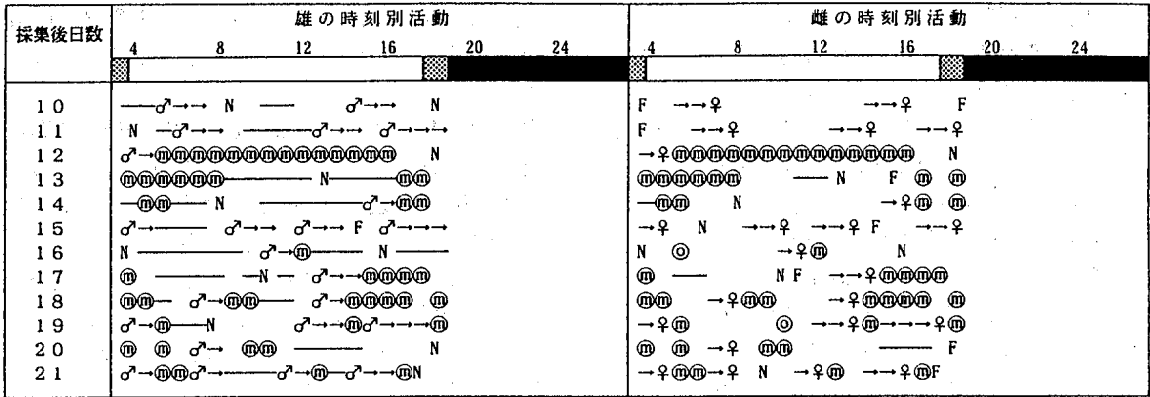


図4. クサギカメムシ一対飼育時の活動性 (越冬覚醒野外個体の例)
記号, 飼育条件は図1. と同じ.

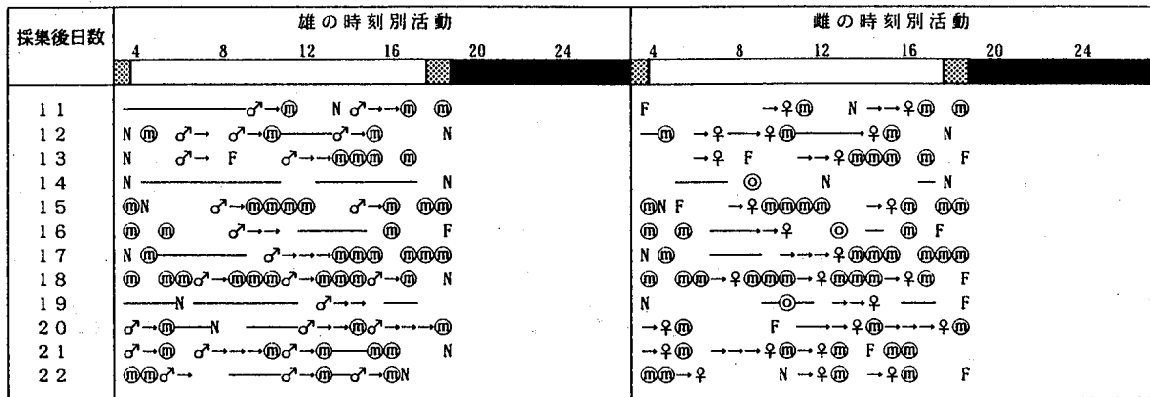


図5. クサギカメムシ一対飼育時の活動性 (越冬覚醒野外個体の例)
記号, 飼育条件は図1. と同じ.

みられるものの、交接は行われなかった。交接の再開は、産卵7時間後で、2回目の産卵が行われる5時間前まで、断続的にみられた。産卵後の交接は4時間後には再開され、この例(ペア)はいままでに観察した中(18例)では最も交接回数が多い例である。

このように、野外採集の越冬覚醒個体は図5にも示す様に、累代飼育個体群や春化处理個体群よりも、交接回数が多いことは今回のビデオ観察で明らかになった。これが何を意味するかは現段階では不明であるが、野外採集の越冬覚醒個体が通常の交尾活動であり、累代飼育個体群や春化处理個体群の行動が、

平成4年9月1日

内分泌の影響などで変化したものと考えられる。越冬覚醒個体の交尾回数は、Kawada and Kitamura [1] の観察結果とも略々一致する。今後は個体群により交尾活動が異なることを、ホルモン分泌などの相違との関連や、Abasa [2] が *Antestiopsis lineaticollis* (メクラカメムシの1種) で実験した如く、雌の単独飼育などを行い純然たる行動学の面から追求したい。また、これらの交尾活動と繁殖力(総産卵数、孵化率など)との関係などを、ミナミアオカメムシ (*Nezara viridula*) で実験されたように (McLain et al. [3])、個体の大きさとの関係も含めて、明らかにしたい。

なお、交尾行動はKawada and Kitamura [1]、が報告している通りであるが、頻回に交尾が行われる際には、途中の行動が略される場合が観察された。とくに、雄のアンテナেশョン後の、触角で雌の腹部を持ち上げる行動“頭突き”(近 他 [4]、Borges et al. [5]) が省略され、すぐに“腹部上げ”に入り、交尾に至る場合が多くなった。

謝辞：クサギカメムシの飼育を行って頂いた堀三枝子氏に厚く御礼申し上げます。

文 献

1. Kawada, H. and C. Kitamura (1983). *Appl. Ent. Zool.*, 18, 234-242.
2. McLain, D. K., Lanier, D. L., and N. B. Marsh (1990). *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 83, 1130-1136.
3. Abasa, R. O. (1973). *Ent. Exp. Appl.*, 16, 178-184.
4. 近 雅博, 大江あけみ, 沼田栄治 (1989). *インセクタリアム*, 26, 320-325.
5. Borges, M., Jepson, P. C. and P. E. Wovse (1987). *Ent. Exp. Appl.*, 44, 205-212.

中部山岳国立公園立山の観光ルート沿いで発生する蚊類の季節消長 (1991年度)

渡辺 護 荒川 良¹ 岡沢孝雄² 上村 清¹

Seasonal Prevalence of Mosquitoes Breeding along the Sight-seeing Rout of Mts. Tateyama in Chubu-Sangaku National Park in 1991

Mamoru WATANABE, Ryo ARAKAWA¹, Takao OKAZAWA²
and Kiyoshi KAMIMURA¹

要旨 中部山岳国立公園立山の観光道路沿いで発生する蚊類の季節消長について、1989年、1990年に引き続き調査した。美女平の樹洞、放置古タイヤともこれまでの調査結果と同様、春にブナノキヤブカ、ヤマトヤブカを中心に個体数が最も多く、夏場は蚊幼虫を捕食するトワダオオカ、トラフカクイカ幼虫が採集され、他の蚊類幼虫の個体数は減少した。6月にはミスジシマカが、現地で調査者1名から吸血を行った。また、昨年までは得られなかったヒトスジシマカが8月にタイヤ内溜まり水から採集されたが、低地から偶発的に移動、産卵したと推定された。上の小平の草原内地上雪解け水溜まりからは、6月に多数のエゾヤブカ、7月にはハマダライエカが採集された。弥陀ヶ原追分の道路脇雪解け水溜まりからは6月に多数のハクサンヤブカとエゾヤブカが採集された。7月には、同地で調査者1名がハクサンヤブカに吸血された。以上のように、美女平周辺の標高1,000m前後の地帯では春、弥陀ヶ原などの標高2,000m前後の地帯では6月下旬～7月の雪解け時に、蚊類による吸血刺咬被害が生じることが予想された。

富山県下の中部山岳国立公園立山では、リゾートブームの影響で、立山-黒部アルペンルートを訪れる観光客が年々増加している。同時に、自動車道路をはなれて林内や草原を散策する人も増加しており、称名滝とアルペンルートをつなぐ八郎坂登山道が整備されたことから、登山者数もさらに増大していくことと考えられる。従って、これら観光客や登山者に、観光ルート沿いで発生する蚊やブユなどの吸血昆虫による刺咬被害が増大することが懸念される。著者らは、この地域の樹洞、雪解け水溜まり、人工容器などで発生する蚊類の季節消長を調査して、その生態を明らかにし、今後の発生の予測と対策を考

えるための基礎データを得ることを目的に、1989年度より調査を行って来た [1, 2]。本報では1991年度の調査結果を報告する。

調査方法

現地調査は、1991年5月から11月まで毎月1回行った。標高980mの美女平では、ブナの木々の樹洞（地上2mの樹幹分岐部にあり、幅12×35cm、深さ30cm）、ブナ林縁の地上に1988年秋以前より放置されたままの大型トラック用古タイヤ2個、それぞれについて

平成4年9月1日

内部の溜まり水と蚊幼虫、落ち葉や木屑などを採集し持ち帰った。この地域での調査は、1989年以来継続している。1991年度はさらに、上の小平の草原内地上水溜まり（標高1,500m）、弥陀ヶ原追分料金所近くの道路沿い水溜まり（標高1,900m）からも適宜採集した。採集した材料の処理方法は既報〔1〕に準じた。

結果および考察

美女平のブナ樹洞での蚊類の採集飼育結果をTable 1 に示した。1991年は、2月末にまとまった積雪があり、そのため、美女平の雪解けも前年より大幅に遅れた。最初に調査した5月24日も、ブナ林内の地上は残雪に覆われた状態であった。この時、樹洞では蚊の蛹や蛹殻は得られなかったが、ヤマトヤブカ *Aedes japonicus* の老熟幼虫が得られ、24℃の実験室内で飼育したところ、採集翌日から蛹化が始まり、採集後5日目からは成虫の羽化が始まった。したがって、ヤマトヤブカはこの地域では5月下旬が羽化時期であると推察された。樹洞で最も個体数の多かったブナノキヤブカ *Ae. oreophilus* をはじめ、他の蚊類は室内飼育での成虫羽化まで採集後7日～31日かかり、若令幼虫だけでなく、卵でも採集されたと考えられた。樹洞のブナノキヤブカは、昨年ま

で〔1, 2〕と異なり、6月18日採集分が最も個体数が多かったが、5月の調査時点で、卵のステージであったため、採集できなかったのか、次世代の産卵が行われたためか、判断できなかった。7月、8月は捕食性のトワダオオカ *Toxorhynchites towadensis* が採集された。7月は卵のみが採集されたので、捕食によると思われる他の蚊類幼虫個体数の減少は認められなかった。8月は4令幼虫が採集され、他の蚊類幼虫は、老熟幼虫を中心にほとんど採集されなかった。また、例年同様、8月から10月まではキョウトクシヒゲカ *Culex kyotoensis* が採集された。コバヤシヤブカ *Ae. kobayashii* は調査期間を通じて3～43個体採集され、例年個体数の少ないオオモリハマダラカ *Anopheles omorii* は、7～11月に、8月を除いて2～8個体得られた。しかし、過去2年同じ樹洞より採集されたヤマダシマカ *Ae. flavopictus* とミスジシマカ *Ae. galloisii* は、調査期間中全く得られなかった。

地上の放置タイヤ2個での採集結果をTable 2 に示した。両タイヤで採集された蚊の種類と個体数については、顕著な差はなかった。5月24日採集分では、老熟幼虫は採集されず、いずれの種類も羽化までは採集後10日～57日かかったため、若令幼虫の他に、卵のステージでも採集されたとと思われる。この時の採集個体数が、ヤマトヤブカを中心に調査期間の内最大で、以後個体数は月を追って漸減したが、

Table 1. Seasonal prevalence of mosquito species in the tree hole of beach tree at Bijo-daira* in 1991.

	May 24	Jun.18	Jul.23	Aug.28	Sep.20	Oct.22	Nov.15
<i>Anopheles omorii</i>	0	0	7	0	6	8	2
<i>Toxorhynchites towadensis</i>	0	0	2	4	0	0	0
<i>Tripteroides bambusa</i>	6	4	0	1	2	3	1
<i>Aedes japonicus</i>	9	6	6	1	11	12	3
<i>Ae. oreophilus</i>	61	277	74	1	9	20	4
<i>Ae. kobayashii</i>	6	33	15	28	43	11	3
<i>Ae. koreicoides</i>	0	0	0	0	4	4	2
<i>Culex kyotoensis</i>	0	0	0	4	44	1	0

*Altitude: 980m

Table 2. Seasonal prevalence of mosquito species in two pieces the ground at the edge of beach forest at Bijodaira in 1991. The data from each tire were separately shown by upper and under side.

	May 24	Jun.18	Jul.23	Aug.28	Sep.20	Oct.22	Nov.15
<i>An. omorii</i>	0	0	1	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
<i>An. lindesayi</i>	0	0	0	0	7	12	1
	0	1	1	1	3	2	0
<i>Toxorhynchites towadensis</i>	0	0	2	4	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
<i>Tripteroides bambusa</i>	20	24	0	3	35	83	109
	43	11	11	9	55	3	14
<i>Aedes japonicus</i>	456	224	160	8	50	106	160
	444	363	558	9	116	34	27
<i>Ae. oreophilus</i>	100	89	4	8	7	10	31
	11	3	7	1	4	3	1
<i>Ae. kobayashii</i>	1	0	0	1	1	1	6
	1	0	0	2	5	3	0
<i>Ae. koreicoides</i>	0	1	2	1	6	24	25
	5	0	0	26	86	80	4
<i>Ae. flavopictus</i>	0	0	5	2	7	1	1
	5	1	0	2	0	0	0
<i>Ae. albopictus</i>	0	0	0	1	0	0	0
	0	0	0	3	0	0	0
<i>Culex halifaxii</i>	0	0	0	14	0	0	0
	0	0	0	6	0	0	0
<i>Cx. kyotoensis</i>	0	0	32	35	148	40	0
	0	0	9	37	164	284	1

これまでの調査同様、秋から増加傾向に転じた。捕食性のトワダオオカはAのタイヤから6月に卵と1齢幼虫が得られ、トラフカクイカ*Cx. halifaxii*は、両タイヤとも8月28日の調査で得られただけであった。種類別個体数では、昨年までの調査同様、ヤマトヤブカの方がブナノキヤブカよりはるかに多く、月によってはエセチョウセンヤブカ*Ae. koreicoides*やキンパラナガハシカ*Tripteroides bambusa*、キョウトクシヒゲカが優占種になることがあった。さらに本年は、8月に初めてヒトスジシマカ*Ae. albopictus*が採集された。ヒトスジシマカは平地で最も普通のヤブカで、ヒトを激しく襲うが、昨年ま

での調査では、美女平はじめ、より標高の高い地帯からはまったく記録されなかった。従って、偶発的に低地から吹き上げられた雌がこの地のタイヤに産卵したものと推定されるが、ヒトスジシマカの分布域を今後調べる必要がある。6月18日タイヤでの幼虫採集中に、調査者1名がミスジシマカ*Ae. galloisi*に吸血され、白昼での本種によるヒト吸血行動が確認された。また、この吸血個体を室内に持ち帰り、産卵させ継代を試みたところ、成功した。

上の小平の草原上の地上雪解け水溜まりでの採集結果をTable 3に示した。ここでは、6月18日に多数のエゾヤブカ*Ae. esoensis*幼虫を確認し、7月23

平成4年9月1日

Table 3. Seasonal prevalence of mosquito species in the ground pool at Kaminokodaira*, in 1991.

	May 24	Jun.18	Jul.23	Aug.28	Sep.20	Oct.22	Nov.15
<i>Aedes esoensis</i>	snow	170	2	dry	dry	0	0
<i>Culex orientalis</i>		0	23			0	0

*Altitude:1,500m

Table 4. Seasonal prevalence of mosquito species in the ground pool at Oiwake*, in 1991.

	May 24	Jun.18	Jul.23	Aug.28	Sep.20	Oct.22	Nov.15
<i>Aedes hakusanensis</i>	snow	54	0	dry	dry	0	snow
<i>Ae. esoensis</i>		101	68			0	
<i>Ae. japonicus</i>		1	0			0	
<i>Culex orientalis</i>		0	1			0	

*Altitude:1,900m

日にはエゾヤブカに代わってハマダライエカ *Cx. orientalis* 幼虫が得られた。8月28日以降の調査では、この水溜まりは完全に干上がってしまい、これらの、卵越冬をされると思われる蚊類が、いつ、どの場所に産卵するのか興味もたれた。

弥陀ヶ原追分の道路沿いの水溜まりでの採集結果をTable 4に示した。ここは5月の調査の時点では雪に覆われていたが、6月には多数のエゾヤブカとハクサンヤブカ *Ae. hakusanensis* が採集され、ヤマトヤブカも1個体採集された。7月にはエゾヤブカとハマダライエカが得られたが、8、9月には水溜まりが干上がってしまった。10月には再び水が溜まったが、蚊幼虫は全く採集できず、11月には雪に覆われた。また7月23日、幼虫採集中に調査者1名がハクサンヤブカに吸血され、本種も白昼にヒトから吸血する事が確認された。

以上の結果から、立山の観光ルート沿いの蚊の個体群は、3年間の調査では、種数、個体数とも大きな変動はなく、非常に安定していると考えられた。

特にどの調査場所においても、雪解けの時期に幼虫数が著しく多かった。これまでと同様、美女平周辺では、吸血性の蚊類の産卵活動が活発になると考えられる夏場に、蚊幼虫捕食性のトワダオオカ、トラフクイカの幼虫も、吸血性蚊類幼虫と同じ発生源で個体数を増加させており、吸血性蚊類の個体数を制御していることが示唆された。また、本年の調査で、野外でのミスジシマカとハクサンヤブカによるヒト吸血が確認された。これまでの調査でも、ヤマトヤブカとブナノキヤブカによる野外でのヒト吸血が確認されており、雪解け後の成虫が多発する時期に、観光客などへの刺咬被害が生じる事が予想される。実際、雪解け後の時期に蚊に刺されるのは観光客などにとっては想像がつかない事であり、それだけ無防備であると思われる。したがって、今後もこれら吸血性蚊類の動態を継続して調査を行なう必要がある。また、本年の調査で、ヒトスジシマカが美女平で初めて採集されたが、偶発的なものか、分布拡大の傾向なのかを見極めるためにも、立山山麓部

での蚊類の発生活長も同様に調査していく必要があると考えられた。

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

文 献

1. 荒川 良, 渡辺 護, 上村 清 (1990). 富山衛研年報, 13, 70-75.
2. 渡辺 護, 荒川 良, 岡沢孝雄, 上村 清 (1991). 富山衛研年報, 14, 62-66.

平成4年9月1日

日本脳炎流行予測調査

渡辺 護 長谷川 澄代 森田 修行 南部 厚子¹
橋爪 淑子² 松原 勝博³ 布野 純子⁴ 草山 真由美⁴
布村 洋子⁵ 金木 潤⁶

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 1991

Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Osayuki MORITA
Atsuko NANBU¹, Yoshiko HASHIZUME², Katsuhiko
MATSUBARA³, Junko NUNO⁴, Mayumi KUSAYAMA⁴,
Yoko NUNOMURA⁵ and Jun KANAKI⁶

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9ヶ所の定点（畜舎）で、6月から9月まで、コガタアカイエカの捕集調査を行うと共に、豚のHI抗体保有調査を行った。

蚊の捕集数は、上市で前年度よりも1.1倍に増加したが、他の定点では1990年に比べ1/3～1/8に減少した。発生活長は各定点で異なっていたが、例年の如く7月中・下旬に捕集数が最高になった定点は、富山月岡、富山萩原、婦中友坂、小矢部、黒部、舟橋の6か所であった。他の定点は8月上旬に最高になった。豚血清の日本脳炎ウイルスHI抗体調査では、7月24日から9月3日まで抗体価10～20倍の陽性例が連続して認められたが、ウイルスの新鮮感染が認められたのは9月10日になってからであった。しかし、10月上旬には2MEに感受性の豚は見られなくなった。また、前年度は10月2日に抗体陽性率が100%に達したが、今年度は9月24日の60%が最高であった。

このように蚊の発生ピークと、豚のウイルス感染の時期が著しく遅れたことによって、平成3年度も日本脳炎患者は発生しなかったと考えられた。

富山県における最近10年間の日本脳炎真性患者の発生は、1982年の1例のみである。1982年には、コガタアカイエカに非常に強度な殺虫剤抵抗性の発現が明らかになった〔1, 2〕。それが主因で、近年はコガタアカイエカ発生量が非常に多い傾向にある〔3～6〕。そして、コガタアカイエカの発生量が7月から多い年には、日脳ウイルスの浸淫の時期が早く、しかも拡大も早い事が明らかになってきた〔5〕。このことは1960年代のように、ウイルスの

侵入が7月中・下旬に始まると日本脳炎の流行が起こる可能性が示唆される。そこで、それらの危険を未然に防ぐ目的で、昨年度に引き続き、日本脳炎を媒介するコガタアカイエカおよび日脳ウイルスの動態を、6月から9月まで監視して来たので報告する。

I. 蚊の発生調査

-
1. 黒部保健所
 2. 上市保健所
 3. 氷見保健所
 4. 福野保健所
 5. 小矢部保健所
 6. 県公衆衛生課

表1. 1991年度調査定点(トラップ設置畜舎)の概要

番号	地点名	類別	地点の概要
1	富山月岡	牛舎	富山市大井、合田初男所有。乳牛15頭。 平野部水田地帯、約1km離れたところに他牛舎あり。 300m南に熊野川が流れ、対岸は水田、そして丘陵に連なる。
2	富山萩原	牛舎	富山市萩原、愛場正治所有。乳牛12頭。 平野部の水田と人家など混在した地域。 脇に高速道路。東100mに熊野川、西300mに神通川が流れる。
3	婦中友坂	豚舎	婦中町友坂、数井白三郎所有。親豚14頭、肥育豚40頭。 丘陵部縁の水田地帯、集落の外れ。近くに他畜舎なし。 丘陵の雑木林、竹林および杉植林地帯まで約100m。
4	上市	牛舎	上市町青井出新、沖田竹雄所有。肉牛8頭。 平野部水田地帯、集落内。近くに他畜舎なし。 人家周辺に水田あり。
5	福野	牛舎	福野町二日町、河合精一所有。乳牛26頭。 平野部水田地帯、人家点在。 近くに他畜舎なし。
6	小矢部	牛舎	小矢部市金屋本江、西田芳夫所有。乳牛50頭。 平野部水田地帯、人家点在。近くに他畜舎なし。 西150mに小矢部川が流れる。
7	黒部	牛舎	黒部市植木、松村 彰所有。乳牛11頭。 平野部水田地帯、人家点在。近くに他畜舎なし 北300mに海岸、東200mに黒部川。
8	氷見	牛舎	氷見市加納、桜打 寛所有。乳牛44頭。 丘陵部の縁、集落内。 前面は水田、裏手は雑木林および杉植林。
9	舟橋	牛舎	舟橋村海老江、明和玄三所有、肉牛12頭。 平野部水田地帯、学校および人家点在、近くに他畜舎なし。 牛舎脇に幅約5mの水量豊かな水路がある。

1. 調査地と調査方法

蚊の捕集定点は表1に示す通りで、前年度と同一である。また、調査期間、調査方法ともに過去5年間同じで「富山月岡」、「富山萩原」、「婦中友坂」の3定点は連日捕集を、他の6定点は週1回の捕集調査を行った〔3, 4〕。ただ、蚊の捕集は、黒部、富山萩原、婦中友坂、舟橋の定点は今までと同様NEC6Wブラックライトを用いた野沢式トラップ

を使用した。富山月岡、上市、福野、小矢部、氷見の各定点は、National 15W円管ブラックライトを用いたライトエース社のトラップを使用した。

2. 調査結果と考察

表2. に各調査定点別の捕集成績を、図1に定点別年間捕集数の過去23年間の年変動を示した。各定点とも調査開始の6月中旬から前年に比べ発生数は

平成4年9月1日

表2-1. 1991年度定点別雌蚊捕集成績

定点 種類 調査日	① 富山月岡					② 富山萩原				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 12	0	71	5	0	76	0	58	1	0	59
19	0	152	27	0	179	0	121	3	0	124
26	0	260	9	0	269	0	202	3	0	205
7. 3	0	558	71	0	629	0	503	2	0	505
10	0	1,409	24	0	1,433	0	1,054	3	0	1,057
17	0	263	43	0	306	0	119	1	0	120
24	0	549	19	0	568	0	317	2	0	319
31	0	493	12	0	505	0	751	1	0	752
8. 7	0	916	14	0	930	0	948	2	0	950
14	0	690	7	0	697	0	571	2	0	573
21	0	401	3	0	404	0	368	1	0	369
28	0	447	9	0	456	0	388	2	0	390
9. 4	0	438	2	0	440	0	239	3	0	242
11	0	338	1	0	339	0	92	3	0	95
18	0	328	1	0	329	0	235	2	0	237
25	0	327	1	0	328	0	265	2	0	267
計	0	7,640	248	0	7,888	0	6,231	33	0	6,264

定点 種類 調査日	③ 婦中友坂					④ 上市青井出新				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 12	0	50	0	0	50	0	71	0	0	71
19	0	147	0	0	147	0	85	3	0	88
26	0	229	0	0	229	0	193	1	0	194
7. 3	0	375	0	0	375	0	570	3	1	574
10	0	674	0	0	674	0	1,112	1	0	1,113
17	2	755	0	2	759	0	681	0	0	681
24	3	1,391	0	3	1,397	0	1,838	0	0	1,838
31	0	169	0	7	176	1	437	0	0	438
8. 7	0	64	0	6	70	0	5,244	2	0	5,246
14	0	720	0	2	722	0	1,712	4	0	1,716
21	0	479	0	3	482	0	972	0	0	972
28	0	145	0	1	146	0	650	1	0	651
9. 4	0	199	0	0	199	0	238	0	0	238
11	0	32	0	1	33	0	210	2	0	212
18	0	272	1	2	275	0	255	2	1	258
25	0	118	1	0	119	0	54	2	0	56
計	5	5,819	2	27	5,853	1	14,322	21	2	14,346

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* アカイエカを表わし, その他にはカラツイエカ, オオクロヤブカ, ヒトスジシマカなどが含まれる。

2. 捕集数は毎週水曜日一晩のブラックライト・トラップによる成績である。

表2-2. 1991年度定点別雌蚊捕集成績

定点 種類 調査日	⑤ 福野二日					⑥ 小矢部金屋本江				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 12	0	29	7	0	36	0	6	0	0	6
19	0	254	10	0	264	0	91	0	0	91
26	0	309	24	0	333	0	114	2	0	116
7. 3	0	640	256	0	896	0	439	0	0	439
10	0	1,027	83	0	1,110	0	560	2	0	562
17	1	562	29	0	592	0	595	0	0	595
24	0	1,480	284	0	1,764	0	800	2	0	802
31	0	350	52	0	402	0	31	1	0	32
8. 7	0	127	5	0	132	0	5	0	0	5
14	0	918	73	0	991	0	241	0	0	241
21	0	1,752	14	0	1,766	0	166	3	0	169
28	0	778	89	0	867	0	55	1	0	56
9. 4	0	791	7	0	798	0	185	0	0	185
11	0	676	27	0	703	0	592	1	0	593
18	0	860	45	0	905	0	253	0	0	253
25	0	720	10	0	730	1	185	0	0	186
計	1	11,273	1,015	0	12,289	1	4,318	12	0	4,331

定点 種類 調査日	⑦ 黒部植木					⑧ 氷見加納				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 12	0	19	1	0	20	12	55	0	0	67
19	0	19	1	0	20	15	98	1	0	114
26	0	48	0	0	48	6	78	2	0	86
7. 3	0	62	3	0	65	6	108	3	0	117
10	0	328	4	0	332	11	131	4	0	146
17	0	59	0	0	59	48	330	3	0	381
24	0	403	2	0	405	51	92	1	0	144
31	0	274	0	0	274	8	262	1	0	271
8. 7	0	212	0	0	212	61	835	6	0	902
14	0	81	0	0	81	2	88	5	0	95
21	0	48	1	0	49	2	540	1	0	543
28	0	27	0	0	27	3	412	5	0	420
9. 4	0	39	0	0	39	9	438	0	0	447
11	0	21	0	0	21	4	173	7	0	184
18	0	47	0	0	47	8	306	1	0	315
25	0	15	0	0	15	6	177	1	0	184
計	0	1,702	12	0	1,714	252	4,123	41	0	4,416

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

2. 捕集数は毎週水曜日一晩のブラックライト・トラップによる成績である。

表2-3. 1991年度定点別雌蚊捕集成績

定点 種類 調査日	⑨ 舟橋海老江				計
	As	Ct	Cp	その他	
6. 12	0	4	16	3	25
19	0	30	29	0	63
26	0	86	14	0	100
7. 3	0	70	12	1	83
10	0	146	34	0	180
17	0	25	14	0	39
24	0	286	0	0	286
31	0	129	2	0	131
8. 7	0	164	8	0	172
14	0	166	16	0	182
21	0	133	1	0	134
28	0	0	0	0	0
9. 4	0	110	0	0	110
11	0	23	5	0	28
18	0	26	7	1	34
25	0	45	1	0	46
計	0	1,449	159	5	1,613

- 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
わし, その他にはカラツイエカ, オオクロヤ
ブカ, ヒトスジシマカなどが含まれる。
2. 捕集数は毎週水曜日一晩のブラックライト・
トラップによる成績である。

少ない傾向にあり, 年間捕集数は上市を除いて前年よりも少なくなった。全定点を合計した総捕集数は, 前年に比べ約30%に減少した。以下, 各定点別に捕集傾向を述べる。

「富山月岡」表3に連日捕集成績を示した。調査開始の6月上旬から捕集数は前年よりも少なく, 年間捕集数は前年の75%に減少した。日最高捕集数は9月7日の1,985個体であった。

「富山萩原」年間捕集数は, 前年度の約半分に相当する38,000個体に減少した。日最高捕集数は比較的早い時期の7月4日に1,312個体捕集されたが, 前年度の約1/3(8月31日)にすぎなかった(表3)。

「婦中友坂」6月上旬から前年度よりも捕集数は明瞭に少なく, 年間捕集数は前年度の1/8の43,200個体に減少した。しかも, 日最高数は前年度の10,000個体(7月30日)に対し, 今年度は1,781

個体(7月14日)であった(表3)。

「上市青井出新」前年度とはほぼ同じ消長を示し, 年間捕集数も前年度の約1.1倍とはほぼ同じであった。日最高数は8月7日の5,200個体で, 前年度(9月12日)の約1.7倍であった。本調査地点だけが, 前年度よりもわずかに捕集数が増加した(表2-1.)。

「福野二日」年間捕集数は前年度の40%, 11,300個体に減少した。日最高捕集数は8月21日の1,752個体であり, 前年度(9月12日)の1/5であった(表2-2.)。

「小矢部金屋」この定点はほぼ毎年「福野」と発生消長, 捕集傾向も酷似しているが, 今年度は異なった消長を示した。すなわち, 小矢部の日最高捕集日は7月24日(800個体)に対し, 福野は8月21日(1,750個体)であったし, 年間捕集数は4,300個体で福野のそれよりも明瞭に少なかった(表2-2.)。

「黒部植木」前年度は捕集数が多かったが, 今年度は前年度の約1/5の1,700個体になった(表2-2.)。発生消長は7月に年間捕集数の60%が捕集される, 盛夏発生型を示した。

「氷見加納」捕集数は前年度の約1/3に減少した。日最高数は8月7日に835個体が捕集されたが, 前年度の25%にすぎなかった(表2-2.)。

「舟橋海老江」今年度の捕集数は前年度の1/3に減少した。日最高数も1/3に(286個体)減少した(表2-3)。

近年は各定点とも, おおむね7月中・下旬と8月中旬に発生数の山がみられる年2峰型が多いが[4], 今年度は7月上・中旬と8月上・中旬に山がみられ, 発生がやや早い傾向を示した。しかし, これは本来多数の個体が捕集されるべき時期(7月下旬)に, 低温などの気象の影響で捕獲されず, 結果的にこのような消長になったと考えられる。

年間捕集数はここ数年, 1年毎に増減を繰り返す様な変動を示すが(図1), 1988年, 1989年は連続して減少傾向を, 1990年は増加, 1991年は再び減少を示した。このように, 近年のコガタアカイエカの発生状況には年変動がみられ, その原因については気象状況(表4, 1991年は気温が低温傾向を示し, 日照量も少ない), 発生源の水田の状況など2,

表3-1. 1991年度連日捕集3定点におけるコダカアカイエカ雌成虫捕集成績

定点 捕集日	富山月岡	富山萩原	婦中友坂	計	定点 捕集日	富山月岡	富山萩原	婦中友坂	計
6. 1	25	-	0	25	7. 1	984	667	220	1,871
2	41	-	0	41	2	861	808	55	1,724
3	78	54 [▲]	21	153	3	558	503	375	1,436
4	35	42	8	85	4	1,485	1,312	476	3,273
5	64	56	16	136	5	534	794	1,035	2,363
6	36	44	5	85	6	378	-	384	762
7	76	52	31	159	7	147	391 [△]	443	981
8	146	-	20	166	8	322	196	384	902
9	11	89 [△]	43	143	9	1,166	913	298	2,377
10	40	35	48	123	10	1,409	1,054	674	3,137
11	67	44	27	138	11	352	190	1,721	2,263
12	71	58	50	179	12	276	-	1,901	2,177
13	77	49	85	211	13	197	-	1,572	1,769
14	180	73	255	508	14	402	423 [▲]	1,781	2,606
15	175	-	26	201	15	485	252	667	1,404
16	53	140	149	342	16	404	141	633	1,178
17	64	46 [△]	102	212	17	263	119	755	1,137
18	57	53	78	188	18	272	162	755	1,189
19	152	121	147	420	19	374	195	630	1,199
20	98	75	257	430	20	218	-	801	1,019
21	150	-	231	381	21	345	359 [△]	801	1,505
22	35	-	73	108	22	407	187	1,546	2,140
23	151	169 [▲]	184	504	23	703	269	899	1,871
24	83	61	167	311	24	549	317	1,391	2,257
25	277	201	291	769	25	927	344	820	2,091
26	260	202	229	691	26	339	-	895	1,234
27	371	299	363	1,033	27	277	-	718	995
28	405	321	201	927	28	541	586 [▲]	655	1,782
29	570	-	240	810	29	721	318	343	1,382
30	545	880 [△]	209	1,634	30	111	284	508	903
31					31	493	751	169	1,413
計	4,393	3,164	3,556	11,113		16,500	11,535	14,305	42,340

注. 1. △の数値は前日との2日分, ▲の数値は前々日, 前日と3日分の捕集数を示す。

2. ×印はトラップなどの故障による欠測を示す。

平成4年9月1日

表3-2. 1991年度連日捕集3定点におけるコガタアカイエカ雌成虫捕集成績

捕集日	定点				捕集日	定点			
	富山月岡	富山萩原	婦中友坂	計		富山月岡	富山萩原	婦中友坂	計
8. 1	333	316	272	921	9. 1	482	719 [△]	552	1,753
2	318	303	295	916	2	121	366	487	974
3	297	291	136	724	3	300	375	346	1,021
4	104	-	88	192	4	438	239	199	876
5	301	535 [△]	75	911	5	466	283	148	897
6	675	480	37	1,192	6	743	229	177	1,149
7	916	948	64	1,928	7	1,985	-	180	2,165
8	284	285	669	1,238	8	1,525	478 [△]	233	2,236
9	381	666	33	1,080	9	1,568	403	287	2,258
10	768	-	101	869	10	239	98	72	409
11	617	-	106	723	11	338	92	32	462
12	351	2,142 [▲]	417	2,910	12	549	184	177	910
13	427	409	355	1,191	13	433	-	82	515
14	690	571	720	1,981	14	694	-	70	764
15	1,306	1,181	463	2,950	15	135	486 [▲]	178	799
16	1,106	1,047	427	2,580	16	182	284	153	619
17	692	644	620	1,956	17	95	207	128	430
18	600	-	659	1,259	18	328	235	272	835
19	721	1,318 [△]	865	2,904	19	171	101	353	625
20	643	606	459	1,708	20	551	225	225	1,001
21	401	368	479	1,248	21	291	-	186	477
22	887	867	454	2,208	22	204	365 [△]	366	935
23	293	695	366	1,354	23	×	148	439	587
24	228	-	182	410	24	141	154	200	495
25	237	-	197	434	25	327	265	118	710
26	765	1,037 [▲]	130	1,932	26	344	257	78	679
27	251	237	195	683	27	55	-	52	107
28	447	388	145	980	28	123	-	68	191
29	722	648	72	1,442	29	125	317 [▲]	10	452
30	614	583	104	1,301	30	251	279	60	590
31	746	-	221	967	31				
計	17,121	16,565	9,406	43,092	計	13,204	6,789	5,928	25,921

注. 1. △の数値は前日との2日分, ▲の数値は前々日, 前日と3日分の捕集数を示す。
 2. ×印はトラップなどの故障による欠測を示す。

3 考えられ、現在資料を収集中である。

今後は、気象状況と発生源の水田、および吸血源の畜舎などと、コガタアカイエカ自身の生産性（繁殖能力）を細部にわたって研究し、コガタアカイエカの発生量におよぼす要因を明らかにしたい。

II. 豚血清の日本脳炎HI抗体保有調査

1. 調査対象と検査方法

7月16日から10月3日まで、毎週火曜日に富山食肉総合センターに搬入される、生後6ヶ月の県内産（主として高岡市と氷見市）の豚を対象として、毎回20頭から血液を採取して、日本脳炎抗体の保有状

況を調査した。抗体価の測定は、例年の如く伝染病流行予測検査術式〔7〕に従った。被検血清は2回アセトン処理を行って、非特異阻止物質（インヒビター）除去し、市販の日本脳炎ウイルスJaGA01株（デンカ生研）を抗原として、赤血球凝集抑制（HI）反応で抗体価を測定した。血球は生後1日のニワトリの赤血球を用い、反応はマイクロタイター法で行った。抗体価が40倍以上の血清については、2-メルカプトエタノール（2-ME）処理を行い、抗体価低下の有無を検討した。抗体価が1/8以下に低下した場合は、日本脳炎ウイルスに対する特異IgM抗体が多く含まれているので、日本脳炎の新鮮感染と判定した。

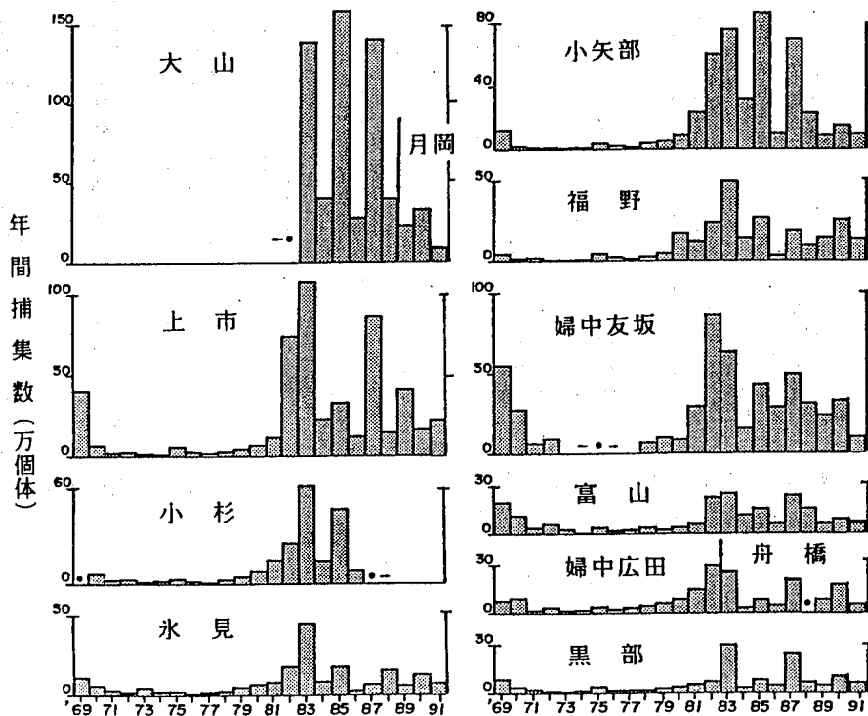


図1. 富山県の各調査定点におけるコガタアカイエカ捕集数の年変動

（月岡、富山（萩原）、大山、婦中友坂、婦中広田の各定点は6～9月の毎日、その他の定点は週1回の捕集を行ったが、全定点で毎日捕集したとして年間捕集数を図示した。

*印は調査が出来なかったことを示す。）

表4. 1991年度の富山県の気象状況と平年値との比較

月、旬	気温 (°C)		降水量 (mm)		日照時間 (hrs)		
	1991年値	平年値	1991年値	平年値	1991年値	平年値	
5月	上旬	13.3	15.4	29.5	45.9	59.6	62.7
	中旬	17.9	16.7	7.5	43.5	60.9	63.9
	下旬	18.2	17.4	28.5	35.4	49.4	74.2
6月	上旬	20.9	19.7	35.5	49.1	54.5	61.3
	中旬	22.1	20.4	75.5	57.3	48.6	54.4
	下旬	23.3	21.3	217.0	90.5	29.4	37.0
7月	上旬	23.1	23.0	69.0	89.9	42.0	43.2
	中旬	23.5	24.3	183.5	102.7	29.1	42.9
	下旬	27.5	26.4	22.0	49.2	40.5	79.8
8月	上旬	23.9	26.3	168.5	51.3	30.7	69.4
	中旬	24.8	26.4	41.0	46.6	63.4	67.6
	下旬	25.2	25.4	67.0	78.7	48.6	63.3
9月	上旬	25.4	23.7	25.5	79.4	(39.7)	48.2
	中旬	21.2	21.5	88.0	87.6	(27.1)	42.8
	下旬	21.0	19.5	16.5	66.1	33.2	42.9
10月	上旬	18.8	17.5	113.5	55.6	14.3	43.8
	中旬	16.2	15.7	94.5	50.8	30.8	45.2
	下旬	14.8	13.7	27.5	59.5	44.7	49.7

(気象データは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を引用した。()内は雷災で欠測があることを示す。)

2. 調査結果と考察

採血日とHI抗体価の測定結果を表5に示した。調査日7月16日から9月3日までは、抗体価10倍、20倍を保有する例がみられたが、抗体保有率は5～20%であった。9月10日の調査では陽性率は40%になり、抗体価40倍以上の陽性血清が2例認められた。そのうちの1例が2-MEに感受性を示した。その後、9月24日まで2-ME感受性を示す陽性例が認められたが、10月1日と3日には抗体価の高い陽性例が認められたにもかかわらず、2-MEに感受性を示す血清はなかった。以上の結果から、豚の間では8月下旬から9月上旬に掛けて日本脳炎ウイルス

の新鮮感染が始まり、広がったと考えられる。前年度の調査では8月下旬に新鮮感染がみられ、その後急速に陽性率も上昇し、10月2日には100%に達したのに対し、今年度は9月24日の陽性率60%が最高で、10月1、3日には50%に低下し、しかも新鮮感染例が認められなかった。このことから、今年度は日本脳炎ウイルスが、豚の間で急速に広がったのは9月中旬以降であったと考えられ、この時期には既に蚊の数が少なくなったことも関係し、ウイルスの拡大は長く続かなかったと推定された。

表5. 1991年度豚血清における日本脳炎ウイルスのHI抗体保有状況の調査成績

検体 採取日	抗 体 価								2-ME 感受性 陽性数
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320	≥640	
7. 16	20 (100)								
24	23 (95)	1 (5)							
30	19 (95)	1 (5)							
8. 6	16 (80)	3 (15)	1 (5)						
13	18 (90)	2 (10)							
20	19 (95)	1 (5)							
27	20 (100)								
9. 3	19 (95)		1 (5)						
10	12 (60)	6 (30)			1 (5)	1 (5)			1 (50.0)
17	15 (75)	2 (10)			1 (5)	1 (5)	1 (5)		2 (66.7)
24	8 (40)			3 (15)	5 (25)	2 (10)	2 (10)		8 (66.7)
10. 1	10 (50)	1 (5)	1 (5)	2 (10)	6 (30)				0 (0.0)
3									
計	195 (81.3)	16 (7.1)	3 (1.3)	5 (2.1)	13 (5.4)	4 (1.7)	3 (1.3)	0 (0.0)	11 (44.0)

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

平成4年9月1日

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

参 考 文 献

1. 上村 清, 丸山由紀子 (1983), 衛生動物, 34, 33~37.
2. 渡辺 護, 竹部幸子, 荒川 良, 上村 清, 小橋恭一 (1985), 富山衛研年報, 8, 33~37.
3. 渡辺 護, 長谷川澄代, 森田修行, 南部厚子, 橋爪淑子, 布野純子, 草山真由美, 布村洋子, 今井隆治, 金木 潤 (1991), 富山衛研年報, 14, 67~78.
4. 富山県厚生部編 (1991), 平成2年度伝染病流行予測調査報告書, 36~51.
5. 渡辺 護 (1988), 生活と環境, 1988年5月号, 33~38.
6. 渡辺 護, 荒川 良, 上村 清 (1990), 衛生動物, 41, 51~58.
7. 厚生省保健医療局結核難病感染課感染症対策室 (1986), 伝染病流行予測検査術式, 57~80.

ポリオ流行予測調査

中山 喬 松浦 久美子 森田 修行 布村 洋子¹
 南部 厚子² 吉田 慶子³ 田中 桂子⁴ 橋爪 淑子⁵
 大垣 由香里⁶ 川越 久美子⁷ 松尾 貞義⁸ 松原 勝博⁹
 布野 純子¹⁰

Epidemiological Surveillance for Poliovirus
in Toyama Prefecture

Takashi NAKAYAMA, Kumiko MATSUURA, Osayuki MORITA,
 Youko NUNOMURA¹, Atsuko NAMBU², Keiko YOSHIDA³, Keiko TANAKA⁴,
 Yoshiko HASHIZUME⁵, Yukari OHGAKI⁶, Kumiko KAWAGOSHI⁷,
 Sadayoshi MATSUO⁸, Katsuhiko MATSUBARA⁹ and Junko NUNO¹⁰,

要 旨 平成3年度は、感染源調査および感受性調査を実施した。感染源調査は、0歳から6歳までの乳幼児を対象とし、ワクチン接種後2か月以上経過した時点で採便した検体211件について、ウイルス分離検査を実施した。その結果ポリオウイルスは分離できなかったが、コクサッキーウイルスB1型(Cox.B1)が1株、エコーウイルス9型(Echo9)が1株、エコーウイルス25型(Echo25)が1株、エコーウイルス30型(Echo30)が9株、エンテロウイルス71型(Enterovirus71)が25株、未同定ウイルスが3株、合計40株の腸内ウイルスを分離した。感受性調査は、全年齢層を対象に270名から採血し、中和抗体価を測定した。各型の抗体保有率は、1型が90.7%、2型が97.4%、3型が79.3%であった。また抗体保有者の平均抗体価は、1型が73.0倍、2型が55.7倍、3型が23.8倍で、前回の昭和63年度の調査結果と同様であった。

ポリオウイルスの動向を監視するために毎年実施している調査であるが、平成3年度はウイルス分離による感染源調査と、昭和63年度以来3年ぶりに住民抗体保有状況を把握するための感受性調査を実施した。

県東部の黒部保健所管内および県西部の小矢部保健所管内を調査地区に選定した。調査時期は春期生ワクチン投与後2か月以上経過した時点とし、6歳以下の乳幼児から糞便を採取した。採取した糞便を、Eagle-MEM培養液で10%乳剤とし、その遠心上清に抗生物質を加えたものを検体としてウイルス分離検査を実施した。培養細胞はウイルス分離にはVero細胞およびMA-104細胞を使用した。ウイルス分離陽性の場合、シュミットプール血清、エンテ

I 感染源調査
調査および検査方法

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

平成4年9月1日

ロウイルス混合血清（ともに国立予防衛生研究所分与）および型特異抗血清（デンカ生研K.K, 日本ポリオ研究所および自家製）を用いてウイルスの型を同定した。なおウイルスの同定試験では前記の細胞に加えてRD-18S細胞を使用した。

結果および考察

小矢部保健所管内で145名、黒部保健所管内で66名の合計211名から糞便を採取し、ウイルス分離検査を実施した。その結果はTable 1に示すとおりである。検査した211検体からポリオウイルスは分離できなかったが、40株の腸内ウイルスが分離され、分離率は19.0%であった。分離ウイルスの内訳は、コクサッキーウイルスB1型（Cox.B1）が1株、エコーウイルス9型（Echo9）が1株、エコーウイルス25型（Echo25）が1株、エコーウイルス30型（Echo30）が9株、エンテロウイルス71型（Enterovirus71）が25株、未同定ウイルスが3株であった。

地区別にみると、小矢部地区で29株、黒部地区では11株が分離され、分離率はそれぞれ20.0%、16.7%であり、両地区のウイルス分離率に有意差は認められなかった。しかし分離したウイルスの種類について見ると、両地区で主流を占めたウイルスに違いが見られた。すなわち小矢部地区で分離した29株のうち25株（86.2%）がEnterovirus71であり、このウイルスは調査を実施した保育園の全ての年齢層（2歳～6歳）にわたって高率（陽性率80.0%～5.6%）に感染していたことがうかがえた。一方黒部地区で分離した11株のうちEcho30が7株（63.6%）を占め、この場合保育園入園前の年齢層からも高率（33.3%～23.1%）に分離された。

Enterovirus71は口内炎や手足に水疱ができるいわゆる手足口病の起因ウイルスの1種として知られているが、最近胃腸炎や無菌性髄膜炎患者からの分離例が増えていると報告されている〔1〕。また、Echo30は無菌性髄膜炎のほか、胃腸炎、上気道炎、発熱などの患者から分離されるウイルスである。両ウイルスとも夏期を中心に流行するウイルスであるが、

このうちEcho30は本年6月から10月にかけて多数の分離例が報告されている〔2〕。当研究所で実施している感染症サーベイランス事業のウイルス分離検査の結果においても、Echo30とEnterovirus71が県内の無菌性髄膜炎患者から分離されている。本調査では、小矢部地区と黒部地区で分離されたウイルス種に相違が見られたが、前述のとおり県内や全国での患者からの分離報告などからみて、ウイルスの流行に地域差があったとは考えにくく、この調査の検体採取時では、両地区でのウイルスの流行が時期的にずれていたものと考えられる。これらのことから、本年度はEnterovirus71とEcho30を主流とした腸内ウイルスが広く県内に浸淫していたものと考えられる。

II 感受性調査 調査および検査方法

黒部、富山、高岡、福野、魚津、八尾、小杉、上市、氷見の各保健所管内において、乳児から成人までの全年齢層を対象として採血した。実施時期は平成3年7月から11月にかけて実施し、0歳から9歳までの年齢については、この期間中に県内の病医院小児科を受診した患者の血清を利用した。

中和抗体価の測定方法は、伝染病流行予測調査検査術式〔3〕に従った。細胞はVero細胞を用い、抗原は1型、2型、3型とも昭和59年度に国立予防衛生研究所から分与されたSabin株を、当研究所でVero細胞に7代継代したウイルスを使用した。

結果および考察

採血された血清は0歳から56歳までの合計270件である。ポリオウイルスの3種の型に対する中和抗体価の測定結果をTable 2に示した。年齢層別に見た抗体価4倍以上の抗体保有率は、1型においては80.0%～100.0%、2型では89.5%～100.0%、3型では60.0%～95.8%であった。1型と2型については全年齢層とも高い保有率を示しているが、3型の

Table 1. Virus Isolation from Feces of Children

Area	Age (year)	No. of feces	Virus isolation positive		Identification of isolates									
			No.	Rate(%)	Cox.B 1	Echo 9	Echo 25	Echo 30	Entero	71	Unidentified			
	0	24	1	4.2		1								
	1	0												
	2	5	4	80.0							4			
Oyabe	3	22	3	13.6							3			
	4	36	8	22.2					1		7			
	5	40	12	30.0			1		1		10			
	6	18	1	5.6							1			
Total		145	29	20.0	1	1	2	2	25					
	0	6	2	33.3						1				1
	1	13	3	23.1						3				
	2	13	2	15.4										2
Kurobe	3	12	2	16.7						2				
	4	15	1	6.7										
	5	6	1	16.7			1				1			
	6	1	0	0.0										
Total		66	11	16.7	1	1	7	3						
Total		211	40	19.0	1	1	9	25	3					

Date of survey : Oyabe ; Sep.10~17,1991, Kurobe ; Sep.17~19,1991

平成4年9月1日

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

Type 1

Age (year)	Total	No. of serum with neutralizing antibody titer									Positive rate(%)	Geometric* mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512		
0~1	19	2		1				1	1	14	89.5	354.6
2~3	22				1		2	2	5	12	100.0	272.5
4~6	22	1			2	1	3	6	5	4	95.5	137.2
7~9	21	1				3	4	5	7	1	95.2	123.6
10~14	35	5		3	5	7	6	5	3	1	85.7	48.5
15~19	46	7	2	3	8	10	6	5	4	1	84.8	39.7
20~24	30	6	1	1	2	7	4	4	5		80.0	56.9
25~29	26	1	1	5	3	7	5	2	1	1	96.2	32.0
30~39	24	1		1	4	4	3	8	3		95.8	62.2
40~	25	1	2	2	3	7	2	4	4		96.0	41.6
Total	270	25	6	16	28	46	35	42	38	34	90.7	73.0
Rate(%)	100	9.3	2.2	5.9	10.4	17.0	13.0	15.6	14.1	12.6	—	—

Type 2

Age (year)	Total	No. of serum with neutralizing antibody titer									Positive rate(%)	Geometric* mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512		
0~1	19	2				1		2	5	9	89.5	302.3
2~3	22						4	8	5	5	100.0	181.0
4~6	22	1	1		1	1	10	6	2		95.5	70.5
7~9	21			2	2	7	6	2	2		100.0	44.6
10~14	35		1	2	3	11	6	6	6		100.0	53.4
15~19	46	1	1	1	9	16	9	7	1	1	97.8	41.1
20~24	30	1	1	2	4	5	5	8	4		96.7	54.2
25~29	26			2	5	7	5	4	2	1	100.0	46.5
30~39	24	1	2	5	4	4	3	4	1		95.8	26.7
40~	25	1	2	3	3	9	5	2			96.0	26.9
Total	270	7	8	17	31	61	53	49	28	16	97.4	55.7
Rate(%)	100	2.6	3.0	6.3	11.5	22.6	19.6	18.1	10.4	5.9	—	—

Type 3

Age (year)	Total	No. of serum with neutralizing antibody titer									Positive rate(%)	Geometric* mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512		
0~1	19	6		1	2	2	2	3	2	1	68.4	67.6
2~3	22	3	1	1	3	5	5	3		1	86.4	41.4
4~6	22	4		5	6	3	3			1	81.8	22.6
7~9	21	5	6	2	5	2		1			76.2	10.9
10~14	35	6	4	6	8	7	3	1			82.9	16.8
15~19	46	15	5	4	12	8	2				67.4	15.3
20~24	30	12		4	7	4	3				60.0	20.1
25~29	26	2	1	3	7	8	3	1	1		92.3	25.5
30~39	24	1	2	2	5	4	6	4			95.8	31.1
40~	25	2		1	6	7	7	2			92.0	35.0
Total	270	56	19	29	61	50	34	15	3	3	79.3	23.8
Rate(%)	100	20.7	7.0	10.7	22.6	18.5	12.6	5.6	1.1	1.1	—	—

* Titer of ≥512 was calculated as 512

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

Age (year)	No. of serum	Negative against all types	Positive against						
			Type1	Type2	Type3	Types1&2	Types2&3	Types1&3	Types1, 2&3
0~1	19	1	1			4	1		12
2~3	22					3			19
4~6	22	1				3			18
7~9	21					5	1		15
10~14	35			2		4	3		26
15~19	46	1		1		14	4		26
20~24	30	1		4		7	1		17
25~29	26					2	1		23
30~39	24			1				1	22
40~	25					2	1	1	21
Total (%)	270 (100)	4 (1.5)	1 (0.4)	8 (3.0)	0 (0.0)	44 (16.3)	12 (4.4)	2 (0.7)	199 (73.7)

15歳から24歳の年齢層の抗体保有率がやや低い傾向が見られた。これは以前の報告〔4〕で見られた、抗体獲得率の低かった年齢層の人たちが、この年齢層に達してきたものと考えられる。全体の抗体保有率の平均は1型では90.7%、2型は97.4%、3型は79.3%を示し、2型が最も高く、次いで1型、3型の順で、各型とも例年と同様な傾向であった。抗体保有者の平均抗体価は（抗体価512倍以上は512倍として計算）、1型は73.0倍、2型は55.7倍、3型は23.8倍を示し、前回調査の昭和63年度と同様1型が最も高く、次いで2型、3型の順であった〔5〕。

検査した270人の中で、1型、2型、3型のすべての型に対する抗体の保有者は199人（73.7%）であり、逆に1、2、3型すべての抗体陰性者は4人（1.5%）で、その他の人は1種または2種の型に対してのみ抗体を保有していた（Table 3）。

ワクチンの接種歴と抗体保有状況の関係をTable 4に示した。ワクチン接種群170人の抗体保有率は、1型が90.0%（153/170）、2型が99.4%（169/170）、3型が75.9%（129/170）であった。ワクチン非接

種群については、1型および2型がともに83.9%（26/31）、3型が74.2%（23/31）であった。本年度は採血対象年齢区分が広げられ、40歳以上の年齢層でも25検体が採血された。そのためワクチン歴の調査が難しくなり、20歳以上になるとワクチン歴不明者が多くなっている。また40歳以上の非接種群では、不顕性感染による抗体保有者が多いと考えられるので、ワクチン歴と抗体保有率を検討する場合、19歳以下の年齢層で検討する方が適当と思われる。すなわち、19歳以下の接種群の抗体保有率は、1型が93.3%（112/120）、2型が100%（120/120）、3型が80.8%（97/120）を示しているのに対し、非接種群では1型および2型が33.3%（2/6）、3型が16.7%（1/6）を示すにすぎない。また接種回数については、2型は1回の接種で100%の保有率となるが、1型と3型は2回接種群が1回接種群よりも有意（1型 $P < 0.01$ 、3型 $P < 0.05$ ）に保有率が高かった。このことはポリオワクチンの有効性を示すとともに、1型と3型においては2回接種の必要性をも示している。1、2、3型ともに陰性であった。

平成4年9月1日

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

Type 1	Times of vaccination						No vaccination		Unknown		
	Age (year)	Twice No.*	Twice Rate#	Once No.	Once Rate	Unknown No.	Unknown Rate	No.	Rate	No.	Rate
	0~1	7/7	100.0	9/10	90.0			1/2	50.0		
	2~3	22/22	100.0								
	4~6	18/18	100.0	1/1	100.0	1/1	100.0	0/1	0.0	1/1	100.0
	7~9	15/16	93.8	2/2	100.0					3/3	100.0
	10~14	27/30	90.0	1/3	33.3	1/1	100.0			1/1	100.0
	15~19	23/27	85.2	4/4	100.0	3/3	100.0	1/3	33.3	8/9	88.9
	20~24	6/7	85.7	0/2	0.0	2/3	66.7	1/1	100.0	15/17	88.2
	25~29	3/3	100.0	0/1	0.0	1/1	100.0	2/2	100.0	19/19	100.0
	30~39	2/2	100.0			5/6	83.3			16/16	100.0
	40~							21/22	95.5	3/3	100.0
Total		123/132	93.2	17/23	73.9	13/15	86.7	26/31	83.9	66/69	95.6
		153 / 170 , 90.0 %									
Type 2	Times of vaccination						No vaccination		Unknown		
	Age (year)	Twice No.*	Twice Rate#	Once No.	Once Rate	Unknown No.	Unknown Rate	No.	Rate	No.	Rate
	0~1	7/7	100.0	10/10	100.0			0/2	0.0		
	2~3	22/22	100.0								
	4~6	18/18	100.0	1/1	100.0	1/1	100.0	0/1	0.0	1/1	100.0
	7~9	15/16	100.0	2/2	100.0					3/3	100.0
	10~14	30/30	100.0	3/3	100.0	1/1	100.0			1/1	100.0
	15~19	27/27	100.0	4/4	100.0	3/3	100.0	2/3	66.7	9/9	100.0
	20~24	7/7	100.0	2/2	100.0	3/3	100.0	1/1	100.0	16/17	94.1
	25~29	3/3	100.0	1/1	100.0	1/1	100.0	2/2	100.0	19/19	100.0
	30~39	2/2	100.0			5/6	83.3			16/16	100.0
	40~							21/22	95.5	3/3	100.0
Total		132/132	100.0	23/23	100.0	14/15	93.3	26/31	83.9	68/69	98.6
		169 / 170 , 99.4 %									
Type 3	Times of vaccination						No vaccination		Unknown		
	Age (year)	Twice No.*	Twice Rate#	Once No.	Once Rate	Unknown No.	Unknown Rate	No.	Rate	No.	Rate
	0~1	6/7	85.7	7/10	70.0			0/2	0.0		
	2~3	19/22	86.4								
	4~6	15/18	83.3	1/1	100.0	1/1	100.0	0/1	0.0	1/1	100.0
	7~9	12/16	75.0	1/2	50.0					3/3	100.0
	10~14	25/30	83.3	2/3	66.7	1/1	100.0			1/1	100.0
	15~19	20/27	74.1	1/4	25.0	2/3	66.7	1/3	33.3	7/9	77.8
	20~24	3/7	42.9	0/2	0.0	1/3	33.3	0/1	0.0	14/17	82.4
	25~29	3/3	100.0	1/1	100.0	1/1	100.0	2/2	100.0	17/19	89.5
	30~39	2/2	100.0			5/6	83.3			16/16	100.0
	40~							20/22	90.9	3/3	100.0
Total		105/132	79.5	13/23	56.5	11/15	73.3	23/31	74.2	62/69	89.9
		129 / 170 , 75.9 %									

* : Number of positive serum (≥ 4) / Number of tested serum
 # : Percentage

4人 (Table 3) のワクチン歴については、3人 (それぞれ1歳, 6歳, 17歳) はワクチン歴がなく、他の1人 (24歳) はワクチン歴不明であった。

以上の結果から、ポリオウイルスに対する抗体保有率は1型, 2型, 3型とも高く、国内においてはポリオ流行の可能性は少ないと考えられる。しかし、Table 2, Table 3 で見られるように、15~24歳の年齢層では3型の抗体保有率が、他の年齢層より低い傾向が見られ、それにともない1, 2, 3型ともに抗体を保有する人の割合 (43/76, 56.6%) も低くなっている。海外旅行の機会の多くなる年齢でもあり、特にポリオウイルスの常在国へ出かける場合は、各自の抗体保有状態を把握し、どれか1種類の型に対してでも抗体が陰性の方は十分注意する必要があると考える。

文 献

1. 国立予防衛生研究所, 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室編 (1991). 病原微生物検出情報月報, 12, 11, 1-24.
2. 国立予防衛生研究所, 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室編 (1992). 病原微生物検出情報月報, 13, 4, 13-19.
3. 厚生省保健医療局結核難病感染症課感染症対策室編 (1986). 伝染病流行予測調査検査術式, 1-18.
4. 中山 喬, 松浦久美子, 森田修行, 植竹久雄, 南部厚子, 浦島秀夫, 柴 利子, 園家敏雄, 城野 晃, 吉田慶子, 田中桂子, 高藤 昭 (1986). 富山衛研年報, 9, 87-92.
5. 中山 喬, 松浦久美子, 森田修行, 早山登世美, 川越久美子, 尾崎一郎, 城野 晃, 布野純子, 園家敏雄, 津野敏紀, 藤崎敬子, 南部厚子 (1989). 富山衛研年報, 12, 92-98.

平成4年9月1日

風疹流行予測調査

庄司俊雄 吉田慶子¹ 橋爪淑子² 南部厚子³
大垣由香里⁴ 川越久美子⁵ 布野純子⁶ 田中桂子⁷
松尾貞義⁸ 松原勝博⁹

Epidemiological Surveillance for Rubella Antibodies

Toshio SHOJI, Keiko YOSHIDA¹, Yoshiko HASHIZUME², Atsuko NAMBU³,
Yukari OHGAKI⁴, Kumiko KAWAKOSHI⁵, Junko NUNO⁶, Keiko TANAKA⁷,
Sadayoshi MATSUO⁸ and Katsuhiko MATSUBARA⁹

要旨 平成3年度風疹流行予測調査は、風疹流行の影響を検討することと、女子中学生に対する風疹生ワクチン定期接種の効果をみることを目的に、富山県内全年齢層の女性を対象に、9年
齢区分で風疹抗体価調査が実施された。その結果は次のとおりである。

風疹抗体陰性率は0～14歳では39%、15～29歳は20%、30歳以上は38%であることが示され、ほとんどの年齢層において抗体陰性率は20%以上であった。

風疹流行予測調査は対象者の風疹抗体価を測定し、抗体価分布を疫学的に観察することにより、風疹ワクチンの効果を明らかにするとともに、今後の流行推定と予防接種計画のための資料とすることを目的として行われている [1]。

調査対象と検査方法

平成3年度は厚生省の実施要領 [2] によって、県内に居住する女性を対象に全年齢を9区分に分け実施された。年齢区分は0～4歳、5～9歳、10～14歳、15～19歳、20～24歳、25～29歳、30～34歳、35～39歳、40歳以上、である。本年度の調査では、

これまでの30歳以上の年齢区分が30～34、35～39、40歳以上の年齢区分に細分化された。県内の各保健所が年齢区分別に検体採取を分担し、対象者全員の風疹ワクチン接種の有無を調査した。各保健所が担当した年齢区分と調査数は、富山（0～9歳と35～39歳）15名と25名、計40名、上市（25～29歳）25名、黒部（0～9歳）15名、八尾（15～19歳）25名、小杉（15～24歳）26名、魚津（10～14歳）35名、福野（0～9歳）14名、高岡（0～9歳と30～34歳）14名と26名、計40名、氷見（40歳以上）25名、調査数は合計264名であった。血清中の風疹抗体価測定は、伝染病流行予測調査検査術式 [3] に準じ、マイクロタイター法による赤血球凝集抑制 (HI) 試験で行った [4]。HI抗体価が8倍かそれ以上の場合

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

を風疹抗体陽性、8倍未満を抗体陰性とした。

結果と考察

県内 264名の女性の年齢区分別風疹抗体価分布状況および陰性率をTable 1に示す。風疹抗体陰性率は、本調査の全年齢層で平均32%であった。これは近年の調査成績、昭和61年度37%、昭和62年度30%、昭和63年度22%、平成元年度32%、平成2年度18%などと比較して、ほぼ平均的な抗体陰性率であった。

陰性率を年齢区分別にみると、0～4歳55%、5～9歳35%、10～14歳29%であった。本年度風疹ワクチン接種歴調査で、14歳以下の女性に「接種あり」と回答した者はなく、この年齢層は全て自然感染によって風疹に対する抗体を獲得したものと考えられる。風疹に感染するのは大部分が子供であり、特に集団生活に入る頃に多くの患者発生をみる〔5〕ことから、本年度の5～14歳の抗体陰性率は、昭和61～63年の風疹流行が終了した後の抗体獲得状況を示していると考えられる。0～14歳全体の陰性率は、本年度が39% (37/95)、平成2年度が40%であり、同様の傾向が続いていると考えられる。

次に中学校卒業後の年齢層の陰性率は、15～19歳24%、20～24歳27%、25～29歳8%であった。この年齢層は中学校で定期風疹生ワクチンの接種対象となった年齢層であり、俗に風疹ワクチン接種世代と呼ばれている。本年度の風疹ワクチン接種率は15～19歳71% (30/42)、20～24歳46% (12/26)、25～29歳56% (14/25)、合わせて15～29歳60% (56/93)であった。これは昨年度の同成績、15～29歳38% (52/137)に比べて高い傾向がみられた。しかし、昨年度の同年齢層の抗体陰性率3% (4/137)に対して、本年度は20% (19/93)と有意に高い陰性率であることが示された(カイ2乗検定 $P < 0.01$)。15～29歳で本年度と昨年度を比較し、風疹ワクチン接種率が増加し抗体陰性率が増加するという、一見

矛盾した結果が得られた。この原因として、中学での風疹ワクチン接種前に抗体を持っていなかった者が極めて多かったことが考えられる。本調査は、各年齢層ごとに各保健所が分担するという、地域差の現れ易い方法なので、この世代は妊娠可能年齢でもあり、今後継続して風疹抗体価分布の推移を観察する必要があると考えられる。

今回新たに細分化された30歳以上の年齢層の陰性率はTable 1に示す通りであり、30歳以上の年齢層全体の陰性率は38% (29/76)であった。

風疹感染における重大関心事である、妊娠初期の風疹罹患によって起こる先天異常児(先天性風疹症候群)出生の危険性について、Millerら〔6〕は、妊婦のなかに2～3%の風疹感受性者がいる地域において、風疹による先天異常児の発生が継続して見られると報告している。本調査においては、15～24歳の女性に20%台と多くの風疹感受性者が認められている。従って、妊娠の可能性のある女性は風疹抗体検査を受け、抗体陰性であれば風疹ワクチン接種による予防対策が強く望まれる。

文 献

1. 宮村紀久子(1988). 昭和61年度伝染病流行予測調査報告書, 97-113.
2. 富山県伝染病流行予測調査委員会議(1991), 平成3年度伝染病流行予測調査事業実施要領.
3. 厚生省保健医療局結核難病感染症課感染症対策室(1986). 伝染病流行予測調査検査術式, 81-94.
4. 庄司俊雄, 田中桂子, 高藤 昭, 園家敏雄, 城野晃, 柴 利子, 梅沢照明, 林 淑子(1987). 富山衛研年報, 10, 84-86.
5. 社団法人予防接種リサーチセンター刊(1989). 最新予防接種の知識, 102-113.
6. Miller, C. L., Miller, E. and Waight, P. A. (1987). Br. Med. J., 294, 1277-1278.

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

Age group (years)	Number of examinees	Rubella HI antibody titer					Negative rate		Rubella vaccination			
		<8	8	16	32	64	128	256	512	(%)	Number	Rate(%)
0~4	31	17		4	1	2	4	1	2	55	0	0
5~9	29	10		9	3	2	2	2	1	35	0	0
10~14	35	10			6	10	7	2	2	29	0	0
15~19	42	10	2	6	8	6	8	1	1	24	30	71
20~24	26	7		3	6	8	2			27	12	46
25~29	25	2	1	4	10	7	1			8	14	56
30~34	26	11		2	10		2	1	1	42	6	23
35~39	25	6		7	6		5	1		24	6	24
40~	25	12		5	5	1	2			48	0	0
Total	264	85	3	40	55	36	33	8	4	32	68	26

インフルエンザ流行予測調査

松浦 久美子 中山 喬 長谷川 澄代 森田 修行
吉田 慶子¹ 松尾 貞義² 有沢 義夫³ 布村 洋子⁴
草山 真由美⁵ 田中 桂子⁶

Epidemiological Surveillance for Influenzavirus Infection in Toyama Prefecture

Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA, Sumiyo HASEGAWA
Osayuki MORITA, Keiko YOSHIDA¹, Sadayoshi MATSUO²
Yoshio ARISAWA³, Youko NUNOMURA⁴
Mayumi KUSAYAMA⁵ and Keiko TANAKA⁶

要 旨 1991年10月から1992年3月にかけて、インフルエンザ様疾患の集団発生例と散発例の患者113名について、ウイルス分離とインフルエンザHI抗体を調べた結果、A(H1)型インフルエンザウイルスの罹患者が39名、A(H3)型インフルエンザウイルスの罹患者が20名およびA(H1)型とA(H3)型の両ウイルスの罹患者が1名認められた。これより、今冬の富山県で発生したインフルエンザはA(H1)型とA(H3)型の2種類のウイルスによるものと判明した。集団発生は1月の下旬から2月の下旬にかけて5施設で起こり、患者数は840人で、調査した3施設のうち2施設はA(H1)型、1施設はA(H3)型ウイルスによる流行であった。A(H1)型分離株(32株)に対する抗A/山形/32/89(ワクチン株)血清のHI価は64から512倍(ホモ:512倍)、A(H3)型分離株(20株)に対する抗A/北京/352/89(ワクチン株)血清のHI価は128~256倍(ホモ:1024倍)、および抗A/滋賀/2/91血清のHI価は512~1024倍(ホモ:512倍)であった。

本調査は、インフルエンザの発生および流行状況を、定点観測と集団発生例について調査することにより把握し、インフルエンザの流行予測、予防に資することを目的とするものである。患者からのインフルエンザウイルスの分離と血清抗体の測定を実施した。

調査および検査方法

1. 調査期間: 1991年10月~1992年3月
2. 調査対象: 定点観測として館小児科医院(高岡市)、正木医院(福光町)、小児科諸橋医院(富山市)、青木内科医院(小矢部市)および江幡医院(魚津市)を訪れたインフルエンザ様患者、さらに集団発生が起きた場合の患者から咽頭ぬぐい液と血

1. 富山保健所
2. 高岡保健所
3. 小杉保健所
4. 小矢部保健所
5. 福野保健所
6. 魚津保健所

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

Sampling station	Virus isolation		HI antibody examination		No. of Influenza patients	Type
	Throat swab date of sampling	No. of isolates	No. of sera Acute Convalescent	No. of significant increase ¹⁾ A(H1N1) A(H3N2) B		
Epidemic case						
T primary school (Toyama)	Jan. 30, 1992	6 1	6 5	1 0	0 0	1 A(H1)
O primary school (Ohsima)	Jan. 30, 1992	7 2	7 7	4 0	0 0	4 A(H1)
I junior high school (Inami)	Feb. 5, 1992	10 3	10 10	0 3	0 0	4 A(H3)
Sporadic case						
M pediatric clinic (Toyama)	Oct. 24, 1991 ~ Feb. 18, 1992	35 10	35 23	4 0	0 0	12 A(H1)
M internal clinic (Fukumitsu)	Nov. 13, 1991 ~ Mar. 6, 1992	30 6 15	30 30	6 13	0 0	6 A(H1) 15 A(H3)
T pediatric clinic (Takaoka)	Jan. 17, 1992 ~ Mar. 2, 1992	16 6 1	16 11	6 1	0 0	9 A(H1) 1 A(H3)
A internal clinic (Oyabe)	Jan. 31, 1992	4 2 1	4 1	1 1	0 0	3 A(H1) 1 A(H3)
E clinic (Uozu)	Feb. 10, 1992 ~ Feb. 12, 1992	5 5	5 5	5 0	0 0	5 A(H1)
Total		113 32 20	113 92	27 18	0 0	40 ²⁾ A(H1) 21 ²⁾ A(H3)

1) Antigen, A(H1N1): A/Yamagata/32/89, A(H3N2): A/Beijing/352/89, B: B/Bangkok/163/90

2) One patient was infected with both A(H1) and A(H3) influenza viruses.

液を採取した。

3. 検査方法：咽頭ぬぐい液からのウイルス分離は森下らのMDCK細胞浮遊培養法で行った〔1〕。すなわち、0.1%BSA、2.5 μ g/mlアセチルトリプシン加イーグルMEMでMDCK細胞数を50万/mlに調整し、24穴のマルチプレート（CORNING社）に1 wellあたり0.5mlを分注、同時に検体0.1mlを接種した。34 $^{\circ}$ C、5%炭酸ガス培養器で培養し、細胞変性やニワトリ赤血球またはヒトO型赤血球との凝集を指標として、ウイルス分離を行った。分離ウイルスの同定は、日本インフルエンザセンターから分与された抗A/山形/32/89（H1N1）血清、抗A/北京/352/89（H3N2）血清、抗A/滋賀/2/91（H3N2）血清、抗B/バンコク/163/90血清および抗B/パナマ/45/90血清を用いて行った。急性期血清と回復期血清については、インフルエンザHI抗体価を測定した。HI抗体価測定用の抗原は今期のワクチンとして使用された株のA/山形/32/89（H1N1）株、A/北京/352/89（H3N2）株およびB/バンコク/163/90株（日本インフルエンザセンター分与）を用い

た。

結 果

1. インフルエンザ様疾患の発生状況

インフルエンザ様疾患の患者は1991年10月下旬頃より散発的に発生していた。12月22日に発病した患者からはウイルスは分離されなかったが、血清学的検査でA（H1）型ウイルスに感染していたことが判明し、この患者が今冬における富山県内での初発インフルエンザ患者であった。3月上旬までインフルエンザの患者が確認された。集団発生は1月30日に富山市内の小学校で起こり、2月下旬までに5施設（幼稚園1、小学校3、中学校1）、在籍者数2088人のうち患者数840人（欠席者数303人）の発生があった。

2. ウイルス分離

集団発生例や定点観測における患者から採取した咽頭ぬぐい液113検体について、インフルエンザウ

Table 2. Comparative Hemagglutinating Activity of Isolated Strains against Chicken and Human Type O Erythrocytes

Erythrocytes	Hemagglu- ¹⁾ tination	Isolated strains ²⁾	
		No. of A(H1) strains	No. of A(H3) strains
Chicken	—	16	0
Human O	+		
Chicken	±	9	0
Human O	+		
Chicken	+	7	20
Human O	+		
Total		32	20

1) — : Negative, + : Positive, ± : Incomplete hemagglutination

2) Isolated strain: Strain passaged once in MDCK cells

平成4年9月1日

イルスの分離を試みた成績をTable 1に示す。

A (H1) 型ウイルスが初めて分離されたのが1月12日に発病した患者から、A (H3) 型は1月18日に発病した患者から、であった。3月までに52株のウイルスが分離され、そのうちの32株はインフルエンザウイルスA (H1) 型、20株はA (H3) 型と同定された。これらの分離株 (MDCK細胞1代株) について、ニワトリ赤血球とヒトO型赤血球を用いたHA活性を調べたところ、Table 2のようであった。A (H1) 型株ではヒトO型赤血球とは凝集するが、ニワトリ赤血球とは凝集しない (不完全な凝集も含む) のが32株中25株も存在し、凝集する7株もしばらく時間が経つと陰性化する傾向がみられた。一方、A (H3) 型株では両赤血球共に凝集した。今年度のMDCK 1代分離株でのニワトリとヒトO型赤血球の凝集像は、A (H1) 型とA (H3) 型を同定する際に一つの指標となった。

ニワトリ赤血球とのHA活性を高めるために、分離株を発育鶏卵に1代から2代継代し、これらの継代株に対するインフルエンザ抗血清のHI価を調べた。その結果をTable 3に示す。A (H1) 型の32株に対する抗A/山形/32/89血清のHI価は64~512倍 (ホモのHI価は512倍) を示し、A (H3) 型の20株に対する抗A/北京/352/89血清のHI価は128~256倍 (ホモのHI価は1024倍)、および抗A/滋賀/2/91血清のHI価は512~1024倍 (ホモのHI価は512倍) であった。抗B/バンコク/163/90血清と抗B/パナマ/45/90血清のHI価は52株とも32倍未満であった。

3. 患者の血清HI抗体価

急性期血清113件、回復期血清92件について、HI抗体価を測定した (Table 1)。ペアで揃った例において、ワクチン株のA/山形/32/89 (H1N1) 抗原に対して抗体価が有意上昇 (4倍以上) したのは27件、A/北京/352/89 (H3N2) 抗原に対して抗体価が有意上昇したのが18件認められた。B/バンコク/163/90抗原に対しては有意上昇したものはなかった。

ウイルス分離陽性または血清HI抗体価の有意上昇によって、インフルエンザの罹患者と診断されたのは113名の検査中60名 (53.1%) で、A (H1) 型

罹患者が39名、A (H3) 型罹患者が20名およびA (H1) 型とA (H3) 型両方の罹患者が1名であった。この両型罹患者の咽頭ぬぐい液からはA (H3) 型ウイルスが分離され、血清HI価の有意上昇値 (A/山形/54/89 : <16→32, A/北京/352/89 : <16→64) から判断すると、A (H3) 型に感染後まもなくA (H1) 型に感染したと推測される。A (H1) 型、A (H3) 型罹患者の急性期と回復期血清について年齢別、ワクチン接種別にHI価をプロットした結果、Fig. 1, Fig. 2の様な分布を得た。

A (H1) 型罹患者におけるワクチン株のA/山形/54/89 (H1N1) 抗原に対するHI価は急性期が<16~512倍、回復期が<16~1.024倍であり、低年齢層 (0~7歳) で抗体価の有意上昇 (4倍以上) を示さなかった4名を除き、急性期から回復期にかけて抗体価の有意上昇を示す分布が認められた。次に、A (H3) 型罹患者におけるワクチン株のA/北京/352/89 (H3N2) 抗原に対するHI価は急性期が<16~128倍、回復期が64~512倍であり、有意上昇の分布となった。A (H1) 型罹患者とA (H3) 型罹患者の急性期HI価を比較すると、A (H1) 型罹患者には低いHI価 (<16~16) の保有者がA (H3) 型罹患者より多かった。これら罹患者のワクチン歴をみると、ワクチン接種者6名、非接種者49名および不明5名であり、接種者の人数は少なかった。

考 察

インフルエンザ様患者からのウイルス分離や血清HI抗体調査の結果 (Table 1) から、富山県では今シーズンもA (H1) 型とA (H3) 型の2種類のウイルスによってインフルエンザが発生したことが判明した。調査した患者113名のうちA (H1) 型罹患者が40名とA (H3) 型罹患者が21名 (1名は両型に罹患) が確認され、県内においては、A (H1) 型罹患者がA (H3) 型より多かったと推定される。A (H1) 型罹患者の急性期血清のHI価をみると、低いHI価 (<16~16) の保有者がA (H3) 型罹患者より多く (Fig. 1, Fig. 2)、このような

Table 3. HI Titers of Influenza Antisera against Isolated Strains

Antigen ¹⁾	Passage ²⁾ history	HI titer ³⁾ of		
		Anti- A/Yamagata/32/89 (H1N1)	Anti- A/Beijing/352/89 (H3N2)	Anti- A/Shiga/2/91 (H3N2)
A/Yamagata/32/89		512	— ⁴⁾	—
A/Beijing/352/89		—	1024	1024
A/Shiga/2/91		—	512	512
<hr/>				
A/Toyama/1/92	M1, E1	256	—	—
A/Toyama/2/92	M1, E1	—	128	512
A/Toyama/3/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/4/92	M1, E1	—	128	512
A/Toyama/5/92	M1, E1	—	128	1024
A/Toyama/6/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/7/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/8/92	M1, E1	256	—	—
A/Toyama/9/92	M1, E1	256	—	—
A/Toyama/10/92	M1, E1	256	—	—
A/Toyama/11/92	M1, E1	256	—	—
A/Toyama/12/92	M1, E1	512	—	—
A/Toyama/13/92	M1, E1	512	—	—
A/Toyama/14/92	M1, E1	256	—	—
A/Toyama/15/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/16/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/17/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/18/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/19/92	M1, E1	128	—	—
A/Toyama/20/92	M1, E1	512	—	—
A/Toyama/21/92	M1, E1	512	—	—
A/Toyama/22/92	M1, E1	256	—	—
A/Toyama/23/92	M1, E1	128	—	—
A/Toyama/24/92	M1, E1	128	—	—
A/Toyama/25/92	M1, E1	512	—	—
A/Toyama/26/92	M1, E1	64	—	—
A/Toyama/27/92	M1, E1	64	—	—
A/Toyama/28/92	M1, E1	64	—	—
A/Toyama/29/92	M1, E1	256	—	—
A/Toyama/30/92	M1, E2	128	—	—
A/Toyama/31/92	M1, E1	512	—	—
A/Toyama/32/92	M1, E1	256	—	—
A/Toyama/33/92	M1, E1	128	—	—
A/Toyama/34/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/35/92	M1, E2	512	—	—
A/Toyama/36/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/37/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/38/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/39/92	M1, E1	—	128	512
A/Toyama/40/92	M1, E1	—	128	512
A/Toyama/41/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/42/92	M1, E1	128	—	—
A/Toyama/43/92	M1, E1	—	256	512
A/Toyama/44/92	M1, E1	512	—	—
A/Toyama/45/92	M1, E1	512	—	—
A/Toyama/46/92	M1, E1	128	—	—
A/Toyama/47/92	M1, E2	512	—	—
A/Toyama/48/92	M1, E1	256	—	—
A/Toyama/49/92	M1, E1	128	—	—
A/Toyama/50/92	M1, E1	64	—	—
A/Toyama/51/92	M1, E1	—	128	512
A/Toyama/52/92	M1, E1	—	256	512

1) Antigens (A/yamagata/32/89, A/Beijing/352/89, A/Shiga/2/91) were supplied from Japan Influenza Center. A/Toyama/1/92~A/Toyama/52/92 antigens were isolated from January to March 1992.

2) Passage history. E: Egg cells, M: MDCK cells

3) Antisera were supplied from Japan Influenza Center.

4) — : <32

平成4年9月1日

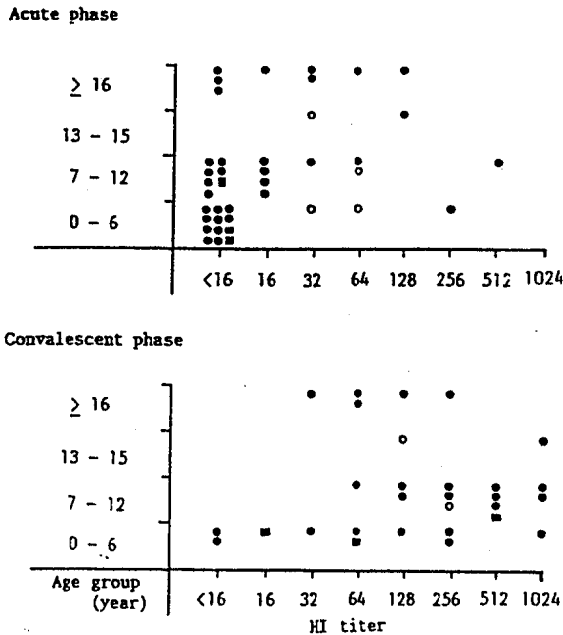


Fig.1. Distribution of HI Antibody Titers against A/Yamagata/32/89(H1 N1) among A(H1)Patients.

○: Vaccinee, ●: Non-vaccinee,
■: Unkounwn

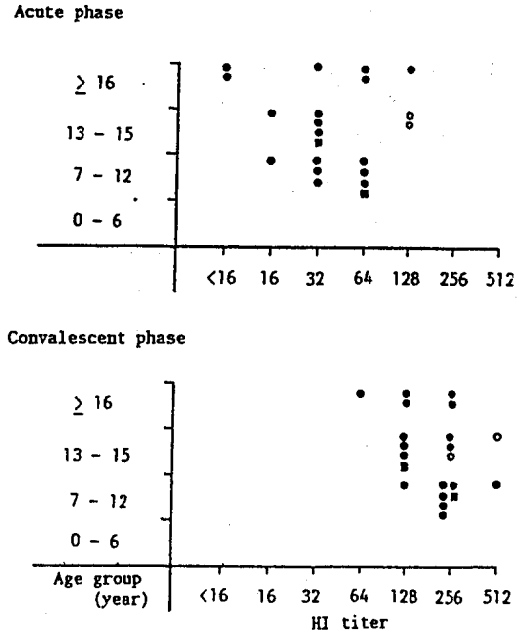


Fig.2. Distribution of HI Antibody Titers against A/Beijing/352/89(H3 N2) among A(H3)Patients.

○: Vaccinee, ●: Non-vaccinee,
■: Unkounwn

抗体保有状況がA(H3)型よりA(H1)型罹患者の多数発生につながったと考えられる。全国のウイルス分離状況は、A(H1)型が2240株(72.4%)、A(H3)型が847株(27.4%)、B型は8株(0.8%)で、A(H1)型株が大多数をしめていた(日本インフルエンザセンター、1991/1992シーズンインフルエンザ流行情報 5)。また、インフルエンザワクチンに関する研究班の報告書(平成3年度)では、今季流行のインフルエンザは全体としてはA(H1)

型が主流であったが、北海道、東北、関東等東日本ではA(H1)型が特に多く、近畿、中国、九州等西日本ではA(H3)型が多く分離されるなど地域分布が認められたと述べられている[2]。富山県は小さい県であるが、東部ではA(H1)型のみが分離され、西部ではA(H1)型とA(H3)型が両方分離されたので、地域性が認められるようであった。

1987年以前は、1シーズン中のインフルエンザ流行は1種類のウイルスによって発生した場合が殆どであったが、その後、多種類のウイルスによるインフルエンザが全国的に発生している。富山県では1988年2月から3月にかけてはA(H3)型とB型、1989年12月から1990年3月にかけてもA(H3)型とB型、1991年1月から3月にかけてはA(H3)型とA(H1)型によるインフルエンザが発生した[3, 4, 5]。次シーズンの流行株の予測には、春から初夏にかけてのウイルスの動きが重要視されているが、1991年4月から9月までの非流行期にもA(H1)型、A(H3)型、B型の3種類が全国で分離されていた[2]。このように多種類の型のウイルスによってインフルエンザが発生していることが、次シーズンにおけるインフルエンザ流行のウイルスの型や株の予測をさらに難しくしている。

分離株の52株に対する抗血清のHI価 (Table 3) をみると、A(H3)型分離株(20株)に対する抗A/滋賀/2/91血清のHI価がA/滋賀/2/91株に対するHI価と殆ど一致したことから、分離株の抗原性はワクチン株のA/北京/352/89株よりA/滋賀/2/91株に類似していると推察される。一方、A(H1)型分離株(32株)に対する抗A/山形/32/89血清のHI価は一様でなく、その抗原性についてHI価からは判断できなかった。日本インフルエンザセンターに日本各地から送られてきた分離株の抗原分析の結果では、A(H1)型の殆どがワクチン株のA/山形/32/89類似株、A(H3)型の大部分がA/滋賀/2/91

類似株であったと報告された(日本インフルエンザセンター、1991/1992シーズンインフルエンザ流行情報5)。

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

文 献

1. 森下高行, 小林慎一, 三宅恭司, 西尾 治, 山下照夫, 栄 賢司, 石原祐式, 磯村思无 (1990). 第36回東海公衆衛生学会抄録, 60-61.
2. 松崎 稔 (1992). インフルエンザワクチンに関する研究班, 分担研究報告書.
3. 松浦久美子, 中山 喬, 長谷川澄代, 森田修行, 高藤 昭, 園家敏雄, 城野 晃, 林 淑子, 津野敏紀, 吉田慶子 (1988). 富山衛研年報, 11, 94-99.
4. 松浦久美子, 中山 喬, 長谷川澄代, 森田修行, 富田良一, 津野敏紀, 橋爪淑子, 藤崎啓子, 布野純子, 大垣由香里, 南部厚子 (1990). 富山衛研年報, 13, 90-96.
5. 松浦久美子, 中山 喬, 長谷川澄代, 森田修行, 植野 一, 川越久美子, 布野純子 (1991). 富山衛研年報, 14, 84-91.

平成4年9月1日

山岳地で捕獲した野鼠の各種リケッチアと 腎症候性出血熱ウイルスに対する抗体保有状況

石倉康宏 渡辺 護 中山 喬 松浦久美子

Antibodies against Various Rickettsiae and HFRS Virus among Small Field Rodents Captured from Mountainous Areas in Toyama Prefecture

Mitsuhiro ISHIKURA, Mamoru WATANABE,
Takashi NAKAYAMA and Kumiko MATSUURA

要 旨 立山(弥陀ヶ原, 天狗平, 室堂), 有峰湖周辺, 黒部溪谷(樺平, 阿層原)で野鼠を捕獲し, 各種のリケッチアと腎症候性出血熱(HFRS)ウイルスに対する抗体の保有状況を蛍光抗体法で検索した。

恙虫病リケッチアに対しては, 立山山岳地捕獲野鼠で13%, 有峰湖周辺で11%, 黒部溪谷で3%の抗体保有率であった。この保有率は平野部の患者非発生地捕獲野鼠よりも若干低い値であった。

紅斑熱群リケッチア(*R. japonica*)に対する抗体保有率は, 立山山岳地捕獲野鼠で53%, 有峰湖で42%, 黒部溪谷で58%であった。野鼠の種類別の抗体保有率は, アカネズミで98%, スミスネズミで24%, ヒメネズミで8%であり, 抗体価もアカネズミが他の野鼠に比べ有意に高値を示した。*Rickettsia typhi*とHFRSウイルス(SR-11)に対する抗体は, いずれの地点から捕獲された野鼠も保有していなかった。

恙虫病リケッチア(Rt)や紅斑熱群リケッチア(SFG-R)はこれらのリケッチアを保有するベクター(ツツガムシ, マダニ)を介してヒトや動物に感染する。そして, これらのベクターの標的(体液を吸うために吸着寄生する動物)の主役は野鼠である。したがって, 野鼠の各種リケッチアに対する抗体を検索し, 感染状況を把握することは, 野鼠を捕獲した地域におけるリケッチアを保有するベクターの分布や数を知るうえで良い指標となり, リケッチア症の予防のための重要な知見を与えてくれる。一方, 腎症候性出血熱(HFRS)ウイルスは野鼠に持続感染しており, 野鼠の尿から排泄されるウイルスがヒトに感染する。したがって, このウイルスの浸淫状況もまた, 野鼠の抗体検索によって知ることが

可能である。我々はこのような観点から, これまでに県内各地の平野部と山脚部で野鼠を捕獲し, 抗体検索を続けている[1-7]。

今年度は, 山岳地であるが観光客や登山者が多数訪れる立山と黒部溪谷, 青少年のキャンプ地である有峰湖周辺で野鼠を捕獲し, 抗体検索を行った成績を報告する。

材 料 と 方 法

1. 野鼠の捕獲地

a) 立山山岳地: 標高1,980mの弥陀ヶ原(弥陀ヶ原ホテル, 立山荘), 標高2,200mの天狗平(天

狗山荘, 高原ホテル) および標高2,450mの室堂(自然保護センター)を捕獲定点とした。

b) 有峰湖周辺: 標高1,100~1,200mの有峰湖周辺を捕獲定点とした。

c) 黒部渓谷: 標高800mの樺平の山荘と標高1,000mの阿層原の山小屋の周辺を捕獲定点とした。

2. 野鼠の捕獲時期

立山山岳地は1984年から1991年の8年間調査した。1984年には7月と10月の2回, 1985年には6月, 8月, 9月, 10月の計4回野鼠の捕獲を行った。1986年から1991年の間は, 立山山岳地の衛生監視のため上市保健所が毎年8月に野鼠の捕獲を行っているので, その野鼠の血清の分与を受けた。有峰湖周辺では, 1982年10月, 1983年, 1984年, 1987年の6月の計4回野鼠の捕獲を行った。黒部渓谷では1984年10月に樺平で, 1988年と1989年の10月に阿層原で野鼠の捕獲を行った。

3. 野鼠の捕獲方法

野鼠はサツマイモを餌にして金網トラップを用いて生け捕り捕獲をした。山岳地では夜温度が低下するとトラップ内の野鼠が死亡することが多いのでトラップを仕掛ける時にトラップのまわりを草で覆ったり, トラップを岩陰や藪の中に仕掛けたりして死亡しないように注意した。

4. 抗体の測定法

a) 血清の採取: 野鼠が捕獲されたトラップには餌(サツマイモ)を入れ, 研究所に持ち帰った。持ち帰った野鼠はエーテル麻酔を施し, ハサミで頸動脈を切って採血し, 血清を得た。

b) 抗原の作製: RtはKato, Karp, Gilliamの標準株を用い, これをL細胞に感染させ, その感染細胞を抗原とした[1]。SFG-Rとしては*Rickettsia japonica* (YH株)と*Rickettsia montana* (V R611株)を用いた。発疹チフス群リケッチアである*Rickettsia typhi*はWilmington株をもちいた。これらのリケッチアはVero細胞に感染させ, その感染細胞を抗原として使用した[2]。一方, HFRSウイルスはVero E6細胞に感染させその感染細胞を用いた[3, 4]。これらの感染細胞はリン酸緩衝液(PH 7.2)に浮遊させ, 予めスポット

のプリントが施されているスライドガラスに3 μ lづつ滴下, 乾燥後, アセトンで10分間固定した。作製した抗原用のスライドガラスは使用するまで-40°Cで保存した。

c) 抗体の測定: 抗体の測定は間接蛍光抗体法で行った。アカネズミとヒメネズミの抗体測定のための2次血清は蛍光色素(FITC)標識抗ラットIgG(カベル社製)を, スミスネズミの抗体はFITC標識抗ハタネズミIg(自家製)を用いた。血清反応の判定は被検血清を1:10希釈で反応させた時, リケッチアを抗原にした場合には, 細胞内外にリケッチア粒子が蛍光色に染まって見える血清を, HFRSウイルスの場合は細胞質内に顆粒状の強い蛍光のみられる血清を陽性とした。抗体価は特異蛍光の認められる血清の最高希釈倍数の逆数で示した。

結 果

1. Rtに対する抗体保有状況

立山山岳地では13%(17/136)の野鼠がRtに対する抗体を保有していた(Table 1)。野鼠の種類別の保有率, 捕獲地の標高別の保有率および抗原別(Kato, Karp, Gilliam)の保有率に大きな差は認められなかった。有峰湖周辺では19匹の野鼠が捕獲され, その内の2匹(11%)のアカネズミがRtに対する抗体を保有していた。黒部渓谷では31匹の野鼠が捕獲され, この内, 樺平で捕獲された1匹のスミスネズミ(3%)のみがRt抗体を保有していた。

2. SFG-Rに対する抗体保有状況

立山山岳地, 有峰湖周辺, 黒部渓谷で捕獲された野鼠のSFG-Rに対する抗体保有率は高率で, *R. japonica*に対して42~58%, *R. montana*に対して42~52%の保有率であった。野鼠の種類別の保有率を見ると, *R. japonica*に対してアカネズミは98%, スミスネズミは24%, ヒメネズミは8%と大きな差が見られた(Table 1)。このような野鼠の種類別による抗体保有率の違いは三か所の捕獲地ともアカネズミとヒメネズミについては同様な傾向を示したが, スミスネズミについては異なった成績が

Table 1. Proportions of Small Field Rodents in Mountainous Areas Possessing Antibodies Against Various Rickettsiae and Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Virus

Capturing areas	Field rodents	Number of sera	Antigen						
			R. tsutsugamushi		SFG rickettsiae		R. typhi (Wilmington) (SR-11)	HFRS virus (SR-11)	
			Kato	Karp	Gilliam	R. japonica			R. montana
Tateyama mountains (1980 - 2450m ²⁾)	Apodemus speciosus	69	9(13) ¹⁾	7(10)	7(10)	68(99)	67(97)	0	0
	Apodemus argenteus	57	6(11)	6(11)	6(11)	4(7)	4(7)	0	0
	Eothenomys smithi	10	2(20)	2(20)	2(20)	0	0	0	0
	total	136	17(13)	15(11)	15(11)	72(53)	71(52)	0	0
Arimine lake (1100 - 1200m)	Apodemus speciosus	8	1(13)	1(13)	2(25)	7(88)	7(88)	0	0
	Apodemus argenteus	3	0	0	0	1(33)	1(33)	0	0
	Eothenomys smithi	8	0	0	0	0	0	0	0
	total	19	1(5)	1(5)	2(11)	8(42)	8(42)	0	0
Krobe valley (800 - 1000m)	Apodemus speciosus	9	0	0	0	9(100)	9(100)	0	0
	Apodemus argenteus	2	0	0	0	0	0	0	0
	Eothenomys smithi	20	1(5)	1(5)	1(5)	9(45)	7(35)	0	0
	total	31	1(3)	1(3)	1(3)	18(58)	16(52)	0	0
Total		186	19(10)	17(9)	18(10)	98(53)	95(51)	0	0

Antibodies was measured by immunofluorescence(IF) test. IF titers of 10 or higher were taken as positive.

¹⁾ Number of positive sera (figures in parentheses show per cent). ²⁾ Above sea level. SFG; spotted fever group, HFRS; hemorrhagic fever renal syndrome, R.; Rickettsia.

Table 2. Distribution of Antibody Levels Against *R. japonica* among Sera from Small Field Rodents in Mountainous Areas

Field rodents	Number of positive sera	Antibody titer					
		10 - 20 ¹⁾	%	40 - 80	%	160 - 320	%
<i>Apodemus speciosus</i>	84	8 ²⁾	10	51	61	21	30
<i>Apodemus argenteus</i>	5	3	60	2	40	0	0
<i>Eothenomys smithi</i>	9	7	78	2	22	0	0

¹⁾ Range of antibody titers.

²⁾ Number of serum specimens.

得られた。即ち、立山山岳地 (0/10) と有峰湖周辺 (0/8) で捕獲したスミスネズミは全例抗体を保有していなかったのに反し、黒部溪谷の阿層原で捕獲したスミスネズミは高率に (9/20) 抗体を保有していた。

野鼠別の抗体価を見ると、アカネズミは40倍以上の抗体価を示すものが90%であるのに、スミスネズミは20%、ヒメネズミは40%と低率であり、前者が後二者より有意に抗体価が高かった (Table 2)。

3. *R. typhi*およびHFRSウイルスに対する抗体保有状況

*R. typhi*とHFRSウイルスに対する抗体は三か所で捕獲した186匹の野鼠の総てが陰性であった。

考 察

山岳地に生息する野鼠のRtに対する抗体保有率は3~13%であった。この保有率は、平野部の患者非発生地のそれと同程度かそれより若干低率であった [1, 5, 6]。立山山岳地と黒部溪谷は全国的

に有名な観光地であり、初夏から秋にかけて多くの観光客で賑わうが、以前にも指摘したように [7]、野鼠の抗体保有率が患者発生地の野鼠に比べて著しく低いこと [1, 5, 6]、これまでの調査でヒトにRtを媒介するフトゲツツガムシやタテツツガムシが発見されていない [8-10] ことから、観光客の中から恙虫病患者が発生する危険性はないであろう。そして、同様の推察は有峰湖周辺にも適応される。

富山県の恙虫病患者は県東部の黒部川扇状地に局限して発生している [1, 5, 6]。そしてこの扇状地にはヒトにRtを媒介するフトゲツツガムシとタテツツガムシが多数生息している [1, 5, 6]。このRt媒介ツツガムシはどこからきたのであろうか。我々はこれらのツツガムシが本来黒部川上流に生息していて洪水によって下流に流され扇状地で繁殖したのではないかという作業仮説を持っていた。しかしながら、今回の黒部川上流の黒部溪谷での調査結果はこの仮説を否定した。Rt媒介ツツガムシの起源については、その外に、鳥が持ち込んだのではないかという渡り鳥説などがあるが、いずれにしても、この扇状地で患者が発生するまでに繁殖する

には多くの年数が必要であろう。そこで、もうひとつの説として、従来からこの扇状地には多数のフトゲツガムシやタテツガムシが生息しているが、保有するRtがヒトに対して病原性が弱く患者発生までに至らなかった。ところが最近何らかの原因(例えば農薬等の化学物質)によって、Rtのヒトに対する病原性に変異が生じ、患者が発生するようになったというRt変異説が考えられる。このRt変異説は黒部川扇状地における突然の患者発生を説明するのに都合がよい。

平野部で捕獲されるアカネズミはSFG-Rに対して80%以上の抗体を保有し、抗体価も高いことはすでに報告した[2]。山岳地に生息するアカネズミは抗体保有率、抗体価ともに平野部生息アカネズミと同程度であった。山岳地ではアカネズミ、ヒメネズミ、スミスネズミの三者が同じ定点で捕獲される。このように、あまり距離をおかない範囲で捕獲された上記三者の野鼠の抗体保有率に大きな差がみられた。これらの成績から考察すると、野鼠の種類別の抗体保有率の違いは、野鼠にSFG-Rを媒介するベクターの生息分布の違いによるのではなく、ベクターの宿主嗜好性の違いを反映していると考えられる。即ち、立山山岳地や有峰湖周辺において、野鼠にSFG-Rを媒介するベクターは、スミスネズミやヒメネズミよりもアカネズミに嗜好性が強いことが考えられる。立山山岳地と有峰湖周辺で捕獲されたスミスネズミはSFG-Rに対する抗体を保有していなかったのに、黒部溪谷の阿層原で捕獲したスミスネズミは高率に抗体を保有していた。この成績は、阿層原にはスミスネズミに嗜好性の強い別種のベクターが生息している可能性を示唆している。

平野部で生息するドブネズミ、クマネズミ、アカネズミ[2]、そして山岳地で生息するアカネズミはSFG-Rに対する抗体を高率に保有している。このことは野鼠の間にSFG-Rが高率に感染していることを示唆する。このように野鼠の間でSFG-Rが高率に感染しているにも関わらず、富山県では1名も紅斑熱患者は発生していない。この事実、野鼠にSFG-Rを媒介しているベクターはヒトに対して著しく嗜好性が低くヒトに寄生しないか、あるいは、

ヒトに寄生したとしても、このベクターの保有するSFG-Rはヒトに対して病原性が弱く発病までには至らないか、そのどちらかを示唆している。一般住民のSFG-Rに対する抗体を調査すると、低率ながら抗体を保有している(未発表)。この成績から、患者が発生しない理由を考えると、上記した理由の両方の可能性が強い。

*R. typhi*は発疹熱の病原体である。この*R. typhi*に対する抗体を平野部に生息する野鼠について検索したところ、1%(8/716)の野鼠(ドブネズミ6匹、アカネズミ2匹)が抗体を保有していた。しかしながら、この抗体はSFG-Rとの共通抗体であり、*R. typhi*に対して特異的な抗体ではなかった[2]。今回、山岳地の野鼠についても検索したが、全例陰性であった。この結果は、富山県には発疹熱リケッチアが存在しないことを示唆している。

HFRSウイルスは野鼠が持続感染の状態を保有している。韓国ではセズジアカネズミ、中国ではセズジアカネズミとドブネズミ、スカンジナビアではヨーロッパヤチネズミ、ヒメヤチネズミが本ウイルスを保有し、ヒトへの感染源になっている。我々はこれまでに平野部の野鼠758匹について抗体検索を行いドブネズミ3匹、アカネズミ1匹が抗体を保有していたことを報告している[3]。今回、山岳地の野鼠についても抗体検索を行ったが全例陰性(0/186)であった。これらの成績は平野部や山岳地を問わず富山県内に生息する一般に野ねずみ(アカネズミ、ハタネズミ、ヒメネズミ、スミスネズミ)と呼ばれる野鼠の間にHFRSウイルスの浸淫が殆どないことを示唆している。

謝辞：立山山岳地で捕獲した野鼠血清を分与していただいた上市保健所の衛生課および予防課の関係各位に感謝いたします。

文 献

1. Ishikura, M., Watanabe, M., Morita, O., and Uetake, H. (1985). Microbiol. Immunol.

- 29, 859-872.
2. 石倉康宏, 渡辺 護, 中山 喬, 松浦久美子, 森田修行, 内田孝宏 (1991). 富山衛研年報, 14, 98-103.
3. 石倉康宏, 森田修行, 植竹久雄 (1984). 富山衛研年報, 7, 148-150.
4. 石倉康宏 (1989). 富山衛研年報, 12, 73-77.
5. 石倉康宏, 渡辺 護, 森田修行, 植竹久雄 (1988). 臨床とウイルス, 15, 505-510.
6. 石倉康宏 (1988). 環境管理技術, 6, 45-52.
7. 石倉康宏, 渡辺 護, 中山 喬, 松浦久美子, 植竹久雄 (1986). 富山衛研年報, 9, 99-102.
8. 渡辺 護, 広田昌幸, 大江 勇, 葛 靖男, 水馬博, 中川昭忠 (1984). 富山衛研年報, 7, 219-220.
9. 渡辺 護, 石倉康宏, 森田修行, 吉川俊夫 (1986). 富山衛研年報, 9, 216-217.
10. 渡辺 護, 石倉康宏, 山崎茂一, 佐藤茂秋 (1989). 富山衛研年報, 12, 54-63.

平成4年9月1日

富山県における溶血レンサ球菌の 生態と分離株の薬剤感受性の推移

児玉博英 林 美千代 細呂木 志保 磯部 順子
香取幸治¹ 山形美津江² 柏木義勝³ 遠藤美代子³

Ecology of Hemolytic Streptococci in Toyama Prefecture and Change in Drug Sensitivity of the Isolates

Hirohide KODAMA, Michiyo HAYASHI, Shiho HOSOROGI, Junko ISOBE, Koji KATORI
Mitsue YAMAGATA, Yoshikatsu KASHIWAGI and Miyoko ENDOH

要旨 1991年までの5年間に富山県で分離された臨床材料由来溶血レンサ球菌の一部について、材料別の群別分布、A、B両群の型別分布および分離株の薬剤感受性の推移を調べた。結果は次のようであった。

1. 分離株の群別分布では、1990年からはA群とB群が逆転してB群が最も優勢になり、次いでA群で、両者が全体の80%以上を占めた。G群は全体の10~18%であったが、C群は極めて少なく1~2%であった。A群は主として小児の咽頭から、B群とG群は高齢者の喀痰、化膿巣や尿からの分離であった。

2. A群の型別分布の変遷を見ると、1988~89年に激減した12型が1990年から再び増加し1991年には最優勢の菌型となった。4型は1980年代後半から一貫して主流菌の一つであったが、3型が1985~86年、1型が1987~88年、6型は1988~89年、28型は1989~90年に、それぞれ流行した。

3. B群の中では、従来優勢であったⅢ型、1a型とともにM-9型が1990年から増加し、1991年には本菌型が最も優勢になった。

4. 分離株の薬剤感受性の推移に関して、総体的に耐性菌の比率が減少している傾向の中で、A群4型菌は依然として総てがテトラサイクリン単独耐性を示し、B群とG群の一部もエリスロマイシンに高度耐性であった。

富山県では、1980年6月と10月の大山町での幼稚園、保育所を中心とした流行を最後に、その後11年間溶血レンサ球菌感染症の集団発生はない。しかしながら、病原微生物検出情報〔1〕によれば、咽頭など上気道材料から最も多く検出されるのは依然としてA群溶血レンサ球菌（以下溶レン菌）であり、

喀痰、気管吸引液など下気道材料からは、A群を上まわる数のB群溶レン菌が報告されている。B群溶レン菌はまた、最近では高齢者の周手術期感染症の起因为菌の一つとして重要視されている〔2〕。著者らは、本菌感染症の流行を未然に防いだり、流行の拡大を阻止することを目的として、健康者、患者の

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

両面から本菌の生態を調べてきた。ここでは、1980年代後半から富山県下で臨床材料から分離された溶レン菌の一部について、患者の年齢、材料別の群別分布の変遷、A、B両群分離株の型別分布と薬剤感受性パターンの推移を観察した。その概要を報告する。

材料と方法

病原微生物検出情報収集定点である県内12か所の公立病院のうち2病院の細菌検査室から分与を受けた溶レン菌を用いた。

血清学的群・型別：群別はストレプトLA「生研」(デンカ生研)を用いて、感作ラテックス凝集反応によって実施し、A、B両群の型別はそれぞれの型別血清(デンカ生研)を用いて、トリプシン処理菌体との凝集反応により行った。B群のNT-6、WHO 7271およびM-9型(JM-9型)については、デンカ生研からそれぞれ対応する抗血清の分与を受け、

同様の方法で行った。

結 果

Table 1は1991年までの5年間、実際に分与を受けた臨床材料由来の溶レン菌分離株について、材料別に、患者の平均年齢と分離された溶レン菌の群別分布の関係をみたものである。数字は、平均年齢、かっこ内の数字は供試菌株数である。5年前と比べると、全体の分離株中に占めるA群とB群の比率が逆転し、1990年からはB群の方が多くなって、A群が40%以下、B群が50%前後になっている。C群は一定して少なく毎年1~2%、G群も全体の10~18%で特に増加の傾向はない。材料別と年齢の関係は一定しており、咽頭からA群が分離される場合の平均年齢は最も低く、他のB、CまたはG群が咽頭から分離される場合も、比較的平均年齢は低い。化膿巣等からA群が分離される場合も、咽頭ほどではないが平均年齢は低い。それに反して、喀痰からB群

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

Year	Specimen	Group distribution of isolates				Total
		A	B	C	G	
1987	Throat swab	7.2(203)*	15.6(8)	15.2(6)	25.5(13)	(230)
	Sputum	53.4(19)	62.2(46)	74.0(1)	62.7(32)	(98)
	Pus, exudate etc.	17.6(20)	57.6(16)	37.0(2)	44.5(6)	(44)
	Urine etc.	74.0(1)	55.2(34)		50.0(3)	(38)
	Total	(243;59.3%)	(104;25.4%)	(9;2.2%)	(54;13.2%)	(410)
1988	Throat swab	9.0(147)	26.0(8)	13.5(4)	26.3(3)	(162)
	Sputum	48.9(8)	67.2(27)	24.0(1)	52.0(14)	(50)
	Pus, exudate etc.	19.7(15)	44.1(12)		49.9(11)	(38)
	Urine etc.	51.0(3)	60.7(43)		63.4(5)	(51)
	Total	(173;58.9%)	(90;29.9%)	(5;1.7%)	(33;11.0%)	(301)
1989	Throat swab	11.2(114)	15.2(14)	9.7(3)	22.0(15)	(146)
	Sputum	62.7(12)	66.4(56)		60.7(30)	(98)
	Pus, exudate etc.	22.5(24)	53.3(14)		42.7(14)	(52)
	Urine etc.		55.9(50)		70.5(4)	(54)
	Total	(150;42.8%)	(134;38.3%)	(3;0.9%)	(63;18.0%)	(350)
1990	Throat swab	9.2(92)	33.9(11)	34.0(2)	13.1(6)	(111)
	Sputum	49.5(2)	72.4(59)	48.3(3)	55.7(13)	(77)
	Pus, exudate etc.	25.5(22)	42.8(30)		36.8(8)	(60)
	Urine etc.	35.0(1)	58.2(65)	62.5(2)	61.0(5)	(73)
	Total	(117;36.4%)	(165;51.4%)	(7;2.1%)	(32;10.0%)	(321)
1991	Throat swab	11.5(102)	19.0(6)	22.5(2)	25.1(11)	(121)
	Sputum	44.0(7)	65.3(51)	62.0(1)	62.4(17)	(76)
	Pus, exudate etc.	18.9(26)	47.2(33)		47.8(15)	(74)
	Urine		60.5(73)		57.3(3)	(76)
	Total	(135;38.9%)	(163;46.9%)	(3;0.9%)	(46;13.2%)	(347)

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

平成4年9月1日

やG群が分離される場合や、尿からB群が分離される場合は、平均年齢は極めて高い。

Table 2は1991年のA群分離株のT型別分布を示している。下段の数字は12か所の定点医療機関からの月別の報告数であり、分離材料は90%以上が咽頭、一部が喀痰などである。1～3月、6月、11～12月

に分離株数が多いのはA群の定型的パターンである。最も優勢な菌型は12型で、本菌型は1988～89年に激減したものが1990年後半から再び増加し現在に至っている。次いで、1型、4型、B3264型、28型が優勢であった。

Table 2. Monthly Distribution of Types of Group A Isolates in 1991

Type	Month	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total
1		2	5	2	2	3	2		1		1		2	20
4		3	4	2	3	1		1	2			2	2	20
8											1			1
9				2	1									3
11									3			1		4
12		6	6	10	10	5	6		4	2	2			51
13					1									1
28			1	2	2	1		1	1	1	2		1	12
B3264		2	1	1	2		1	3	3	1		1		15
14/49												1	1	2
UT		1	1	1	2			1	1				2	9
Total		14	18	20	23	10	9	6	15	4	6	5	8	138
Reported number of strains from 71 12 hospitals		104	94	61	57	81	33	35	22	36	68	71	733*	

*25% increase from 1990. Source of specimen; upper and lower respiratory tracts

Table 3は同じくB群分離株の月別の型別分布を示している。合計欄のカッコ内の数字は1990年の型別分布である。1991年のB群の型別分布の特徴は、

M-9型がさらに多くなって、最も優勢な菌型になったこと、前年に引き続いて型別不能株の比率が約25%と高いことであった。

Table 3. Monthly Distribution of Types of Group B Isolates in 1991

Type	Month	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total (Total in 1990)
Ia		2	1	1	2	1	1	1	3	2	3		1	18 (21)
Ib		1	2			2	1	1				1	2	10 (10)
II									1					1 (0)
III		3	6	8	1	4	1	2	1		1	1	2	30 (33)
IV			1											1 (0)
V		3				1			2		1	1	1	9 (4)
-NT-6				1			3			3	2			9 (12)
WHO-7271									1			3		4 (0)
M-9		4		3	7	9	5	4	1	3	8	2	2	48 (28)
UT		4	2	3	4	2	1	5	5	1	4	10	2	43 (60)
Total		17	12	16	14	19	12	13	14	9	19	18	10	173 (168)

Table 4 は1980年代後半からの7年間の、富山県の臨床材料由来A群の菌型分布の変遷をみたものである。1型は1987~88年、3型は1985年~86年、4型は1985年から7年間一貫して、それぞれ高頻度に

分離されている。また、6型は1988~89年、12型は1985~87年と1990~91年、28型は1989~90年に、それぞれかなり優勢な菌型となっている。

Table 4. Type Distribution of Clinical Isolates of Group A Strains in Toyama since 1985

Year	T type distribution															Total	Dominant type	
	1	3	4	5	6	8	9	11	12	13	18	22	28	3264	14/49 UT			
1985	3	55 ^{1*} (38.5)	26 ³ (18.2)**		1			3	31 ² (21.7)	8	1	1	7	2	5	143	3;12;4	
1986	1	64 ² (23.1)	27 ³ (9.7)	1	1	6		11	125 ¹ (45.1)	8	8	1	15		9	277	12;3;4	
1987	29 ³ (11.9)	13	44 ² (18.0)	1	17	1		5	69 ¹ (28.3)	4	22		22	2	15	244	12;4;1	
1988	66 ¹ (36.9)	2	43 ² (24.0)		15 ³ (8.4)	1		1	14		7		6		24	179	1;4;6	
1989	11		46 ¹ (30.2)		29 ² (19.3)			4	8	2	2		18 ³ (12.0)	8	22	150	4;6;28	
1990	14	1	26 ¹ (22.0)		8		1	3	22 ² (18.6)		1		16 ³ (13.6)	3	23	118	4;12;28	
1991	20 ² (14.5)		20 ² (14.5)			1	3	4	51 ¹ (36.9)	1			12	15	2	9	138	12;4;1

*Order of prevalence

**Percentage occupied by the corresponding type

Table 5 はA群の主な優勢菌型とB群、G群について、1980年代前期(表中のI)、中期(M)および後期(F)に分けて、それらの菌株に対するペニシリンG(PCG)、セファロリジン(CER)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)およびエリスロマイシン(EM)の5種抗生剤の最小発育阻止濃度(MIC)を集計したものである。共試した菌株は総てPCGとCERには感受性であって、MICは0.1 µg/mlかそれ以下であった。以下菌型別に薬剤感受性の推移の特徴を述べる。A群1型はTCに対しては前期の菌株の過半数は耐性(MIC ≥ 25 µg/ml)であったが、後期の菌株は総て感受性であった。CPとEMに対しては総ての菌株が感受性であった。A群3型は前期と後期には殆ど菌が分離されていないので中期の菌株のみであるが、84株中4株がTCに対して、1株がCPに対してそれぞれ耐性

であった以外は、総て感受性であった。A群4型はTCに対して、前期の菌株も大部分が耐性であったが、年代とともに耐性菌の比率が高くなり、中期の菌株はほとんどが、後期の菌株は総て耐性であった。本菌型は他の抗生剤に対しては、EM耐性の1株を除き総て感受性であった。A群6型は後期のみの菌株であるが、総ての抗生剤に対して感受性であった。A群12型はTCに対して、前期の菌株61株中52株が耐性であったが、中期の菌株では93株中26株、後期の菌株では29株中5株と耐性菌の比率が減少した。CPに対しても同様の傾向がみられ、前期の菌株は61株中12株が耐性であったが、中期では93株中2株のみ、後期には全く耐性菌はなかった。EMに対しても、前期の菌株61株中24株は耐性であったが、中期では93株中1株のみ、後期の菌株は総て感受性であった。A群28型は菌株数が少ないが、TCに対し

平成4年9月1日

ては年代とともに耐性菌の比率が減少の傾向であった。本菌型は他の抗生剤に対しては総て感受性であった。B群について、PCGとCERのMICは一般にA群に対するよりも2~3段階高かった。TCに対しては、年代とともに耐性菌の比率は減少の傾向ではあったが、後期の菌株309株中50株が耐性であり、その中の数株はEMに対しても耐性であった。G群について、PCGとCERのMICはA群の場合とほぼ同じレ

ベルであった。TCに対しては、B群と同様に徐々に耐性菌の比率は減少したが、後期の95株中21株は耐性であった。CPに対して耐性菌はなかったが、EMに対しては、前期の20株中4株と後期の95株中17株が耐性を示した。B群とは異り、G群のTCとEMに対する耐性はそれぞれ単独耐性であって、多剤耐性は全く認められなかった。

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

MIC(µg/ml)	A-1			A-3			A-4			A-6			A-12			A-28			B			G			
	I*	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	
PCG																									
0.1																									
0.05		1																	38	34	4				
0.025		6				1		2	1	1				1				26	151	258				1	
0.013		15	1	25		75	1	55	33	64				35	46	84	27	9	15	31				1	
0.006						8		2	5					2	2	3	2		1	2				1	
CER																									
0.1																									
0.05																									
0.025																									
0.013		22	1	25		7		4	1					35	53	77	28	10	6	2	54	134	275	2	
0.006						7		15	2	1				2	7	6	1		1		10	18	6	18	
TC																									
25		14				4		49	34	70				52	26	5		4	3	2	26	48	50	9	
12.5														1	1	4								7	
6.25																								1	
3.12		1																						1	
1.56		1	1	4		1		4						1	4	2	1	1		5	1	10	8	1	
0.78		2	11			38		2	1					7	1	29	15	1	8	23	5	95	126	3	
0.39		2		10		39		2	1					29	3	33	4	3	5	3	33	124	4	7	
0.20		2				2															1	1	1	1	
CP																									
25																									
12.5																									
6.25		3	1	2		2		1	2	2				2	4	2		2	1	4	8	7	7	1	
3.12		19		23		78	1	32	26	64				33	39	80	29	8	14	26	49	174	292	4	
1.56						3		24	8	4				2	6	9				1	3	3	4	17	
EM																									
25																									
12.5																									
6.25																									
3.12																									
1.56																									
0.78																									
0.39																									
0.20																									
0.10		15	1	8		4	1	15	3	13				15	7	8	8	5	3	12	57	135	51	2	
0.05		7		17		77		39	31	54				22	22	81	21	5	12	20	6	47	242	2	
0.025						2		2	3												1	1	1	6	
Number of strains examined	22	1	25		0	84	1	57	36	70		0	0	37	61	93	29	10	16	33	66	187	309	20	
																									28
																									95

*I: strains from 1981 to 84; M: strains from 1985 to 86; F: strains from 1989 to 90

考 察

富山県の臨床材料由来容レン菌の中では、1990年に初めてB群がそれまでのA群にかわって最も多く分離されるようになったが、1991年の分離株についても、群別分布は類似していた。B群の分離材料と

して最も多いのは尿と喀痰であった。病原微生物検出情報[1, 3]によって全国の状況を見ると、尿からのB群分離の報告はなされていないので不明であるが、喀痰、気管吸引液等下気道からは、毎月A群より遥かに多いB群分離の報告があり、1990年にはA群の680株に対してB群が2,521株、1991年にも

A群の660株に対して、B群が3,154株も分離されている。

A群は大部分が咽頭からの分離であるが、例年富山県、全国ともに分離株数のピークは11月～3月と6月にあり、富山県の過去のA群感染症の集団発生もこの時期に集中していた〔4〕。1991年のA群中の最優勢菌型は再び12型となったが、本菌型は1988～89年の激減した2年間を除いては、1970年代から一貫して主流菌型であり、県下の集団発生例も1970年代からはA群の場合は総て12型であった。1991年には1型と4型もかなり多かったが、1型は後半には少なくなったので今後の流行はないものと思われる。4型は12型とともに1980年代から常に主流菌型の一つであるが、不思議なことに県下で本菌型による集団発生はない。12型とは菌体のM蛋白に質的な違いがあるので、感染力に差があることも考えられる。B-3264型も比較的多く分離されているが、本菌型も10月からは極めて少なくなっており、今後流行の可能性は低い。4型と12型以外の菌型の流行は長続きせず、通常1～2年である。当研究所は溶レン菌に関して地研東海北陸ブロックのレファレンスセンターとして、県外の分離株の菌型を調べる機会が多いが、1991年には福井県の臨床材料由来A群株の中でも4型と12型が最も多かった。また、愛知県の一医療機関におけるA群の型別の情報〔7〕でも、最も多いのは12型、次いで4型であった。

1991年のB群分離株の中で最も優勢な菌型はM-9型であったが、この傾向は富山県ばかりでなく、奥山ら〔5〕は大阪市の臨床材料由来株について、西山ら〔6〕は名古屋市の子婦由来株について、それぞれM-9型が優勢であると報告している。B群については、1991年分離の173株中43株(25%)が型別不能であり、A群の138株中9株(6.5%)に比べると型別不能の率はかなり高く、現行の型別システムは、疫学的追求にはなお不十分であるように思われる。

1980年代の富山県の分離株の薬剤感受性の推移を総体的にみると、全く耐性菌のないPCGとCERは別として、A群の多くの菌型では、TC、CP、EMに対する耐性菌の比率が著しく低下の傾向である。1980年代後期のA群分離株では、CPとEMに対する

耐性菌は全く認められなくなった。そのような中で、A群4型だけは依然としてTC単独耐性が続いているのが注目される。TC耐性菌は日本では1963年から出現し、1970年代後半には、A群4型ばかりでなく、6型、12型もほとんどがTC耐性であることが確認されている〔8〕。しかし、1980年代後期の富山県の分離株のうち、6型にはTC耐性菌は全くなく、12型も大部分がTC感受性であった。B群とG群についても、一般に耐性菌の比率が徐々に減少の傾向ではあるが、1980年代後期の分離株についても、TCに対してはB群の16%、G群の22%が耐性を示しており、EMに対してはB群では耐性菌は極めて少なかったが、G群の18%は耐性であり、中にはMIC 200 μg/mlという高度耐性もかなり認められた。

謝辞：愛知県の医療機関の情報を提供して頂いた愛知県衛生研究所 船橋 満先生に感謝します。

文 献

1. 国立予防衛生研究所編, 病原微生物検出情報月報, 12巻3号(1991)～13巻2号(1992).
2. 大久保 憲(1991). 第33回日本感染症学会中日本地方会総会 講演抄録 p17.
3. 国立予防衛生研究所編, 病原微生物検出情報月報, 11巻3号(1990)～12巻2号(1991).
4. 児玉博英(1987). レンサ球菌感染症研究会第20回学術講演会抄録集 p4.
5. 奥山道子, 濱崎和子, 足立利幸, 比良野和子, 奥田清(1992). 感染症誌, 66, 臨時増刊号, 161.
6. 西山泰暢, 清水聖一, 橋村正人, 堀 好博, 杉山正子, 楯 信太郎, 村井貞子, 稲積温子(1992). 感染症誌, 66, 臨時増刊号, 163.
7. 船橋 満(1992). 私信.
8. 柏木義勝, 遠藤美代子(1987). レンサ球菌感染症研究会 第20回学術講演会抄録集, p13.

平成4年9月1日

1964～1991年の間に富山県で分離された主要なサルモネラのプラスミドプロフィール

刑部陽宅 細呂木志保 磯部順子 児玉博英

Plasmid Profile of Major Salmonellas Isolated in Toyama Prefecture from 1964 to 1991.

Yotaku GYOBU, Shiho HOSOROGI, Junko ISOBE
and Hirohide KODAMA.

要旨 富山県内の主に病院で分離された散発下痢症由来の主要な血清型のサルモネラについて、プラスミドプロフィールを調べ、次の結果を得た。

1. プラスミド保有株の頻度はS.Enteritidisで93%, S.Typhimuriumで59%, S.Hadarで56%, S.Braenderupで53%, S.Litchfieldで33%, S.Montevideoで22%, S.Infantisで0%であった。

2. プラスミドプロフィールにより、S.Enteritidisは9型、S.Typhimuriumは27型、S.Hadarは9型、S.Braenderupは7型、S.Litchfieldは14型、S.Montevideoは2型に型別された。この型別にもとづいて、各血清型のサルモネラの型の年次推移をみると、S.Typhimurium、S.Litchfield、S.BraenderupおよびS.Hadarでは、同一の型の菌（同一サイズのプラスミド保有菌）が2年以上継続して検出される例は少なかった。しかし、S.Montevideoでは、1989～1991年分離菌はすべて同一の型（2.8Mdのプラスミド保有）であった。またS.Enteritidisでは、60Mdのプラスミド保有菌は1964年から1991年までほとんど毎年認められ、35と40Mdのプラスミド保有菌は1989～1991年にみられた。以上の結果、S.Typhimurium、S.Litchfield、S.Braenderup、S.Hadarによる散発下痢では、原因菌の起源はさまざまであると推定される。

磯部ら〔1〕は富山県で1964～1991年の間に、ヒトから分離されたサルモネラについて報告している。この報告によれば、分離菌の血清型は69菌型におよんでおり、S.Typhimurium、S.Enteritidis、S.Paratyphi B、S.Typhi、S.Litchfieldなどが多く、この数年では、全国同様、S.Enteritidisの増加がみられる。もとより、サルモネラの感染源は法定伝染病であるS.TyphiとS.Paratyphi Aではヒトであるが、その他の多くのサルモネラは、家畜、家禽、ヒト等に分布し、食品を介してヒトに腸炎を起こすとされ、

近年のS.Enteritidisの増加は鶏卵の該菌汚染も原因と推定されている〔2〕。しかし、多くのサルモネラでは、流行株の変遷に関する検討はほとんどなされていない。このことより、本研究は富山県内の病院で分離された主要な血清型のサルモネラについて、年代別の菌型推移と散発下痢分離株相互の関係を明らかにすることを目的とした。この目的のため、疫学的追求手段として有効とされるプラスミドプロフィールを、多数の保存株について調べた。

材料と方法

1) 菌株

1964～1991年の間に、富山県内の病院、保健所で主に散発下痢患者から分離されたサルモネラの内、分離頻度の高い血清型の菌304株を用いた。

2) プラスミドプロファイルの解析

プラスミドDNA抽出はアルカリ-SDS法〔3〕によった。抽出後、Mupid 3 (アドバンス製)を用い、0.7% Agarose, Tris-Borate Bufferで100V, 40～130分間、電気泳動し、Ethidium-Bromide染色、写真撮影を行い、プラスミドの確認をした。サイズ測定には、標準品として、既知プラスミド保有大腸菌、K12W3350/R222 (70Md), C600/RP 4 (36Md), C600/RSa (23Md) および市販プラスミド (日本ジーン製 pBR322, pUC19, Col E 1) を用

いた。なお、判定では、不明瞭なDNAバンドは成績から除外した。

結 果

1. プラスミド保有率

Table 1 に示すごとく、*S. Enteritidis* で93%と最も高く、次に、*S. Typhimurium*, *S. Hadar*, *S. Braenderup* で50～60%, *S. Litchfield*, *S. Montevideo*, *S. Paratyphi B* で10～30%であった。また、*S. Infantis* にはプラスミド保有株は認められなかった。以下、保有率20%以上の血清型の菌について、サイズを調べ、得られた結果から、それぞれの菌についてのプラスミドプロファイルの型 (以下、型) を仮に設定した。

Table 1. Frequency of Plasmid-Carrying *Salmonella* Isolates among the Serovars Tested

Serovar	Year of isolation	No. of isolates examined	No. of isolates carrying plasmid (%)
<i>S. Enteritidis</i>	1973-1991	85	79 (93%)
<i>S. Typhimurium</i>	1972-1990	80	47 (59%)
<i>S. Hadar</i>	1986-1991	16	9 (56%)
<i>S. Braenderup</i>	1978-1991	15	8 (53%)
<i>S. Litchfield</i>	1980-1990	51	17 (33%)
<i>S. Montevideo</i>	1978-1991	34	7 (21%)
<i>S. Paratyphi B</i>	1987-1990	15	2 (13%)
<i>S. Infantis</i>	1987-1990	8	0 (0%)

2. *S. Typhimurium*のプラスミド型の年次推移

結果はTable 2 に示した。プラスミドプロファイルにより*S. Typhimurium*は27の型に分けられた。年次別にみると、1型 (65Md保有) と27型 (非保有) は多くはないが、ほとんど例年認められ、最近

の2年間では、1型が減少し、27型が増加していた。一方、2から26型では特定の型が数年にまたがって認められることも、同一年次に集中して認められることも少なかった。

平成4年9月1日

Table 2. Plasmid Profile of *Salmonella* Typhimurium

Provisional type of plasmid profile (Size of plasmid detected)	No. of isolates								
	1972-1973	1976-1977	1978-1979	1980-1981	1982-1983	1984-1985	1986-1987	1988-1989	1990-1991
1 (65 Md)	1	1	1	3	1	1	1	3	
2 (2.5, 4.1, 65)	2								
3 (2.3, 3.8)	1								
4 (18, 65)		1							
5 (1.8, 65)			1						
6 (8.4, 65)			1						
7 (2.5, 3.8)				2		2			
8 (2.5)				1				1	
9 (42, 65)				1					
10 (60, 65)				1					
11 (2.3, 3.5)				4					
12 (5.8, 9.3)				1					
13 (2.5, 3.8, 23)				1					
14 (4.1, 7.4, 65)				1					
15 (2.5, 65)				1				1	
16 (3.1, 5.8, 9.3, 65)					1				
17 (42)					1				
18 (5.8, 65)						1			
19 (2.5, 5.4, 65)						1			
20 (3.5)							1		
21 (3.1, 4.5, 65)							1		
22 (2.5, 3.8, 65)								2	
23 (1.7)								1	
24 (2.5, 3.5, 65)									1
25 (3.1, 3.5)									1
26 (2.3, 3.1, 65)									1
27 (None)		1	2	2	3	7	6	6	6
Total	4	3	5	18	6	12	9	14	9

3. S.Litchfield, S.Braenderup, S.HadarならびにS.Montevideoのプラスミド型の年次推移

Table 3～5に示すごとく, S.Litchfieldは14型, S.Braenderupは7型, S.Hadarは9型に分けられた。いずれの血清型の菌でも, プラスミド非保有株がほとんど毎年認められたが, 保有株についてみると,

S.Litchfield, S.Braenderup, S.Hadar, いずれの場合にも, 型は分離年次だけではなく, 同一年次内でも変動する傾向であった。一方, S.Montevideoでは, Table 6に示すごとく, 1987年以前の菌株はプラスミドを保有しない2型で, 1988年以後の菌株は2.8Mdのプラスミドを有する1型であった。

Table 3. Plasmid Profile of *Salmonella* Litchfield

Provisional type of plasmid profile (Size of plasmid detected)	No. of isolates					
	1980- 1981	1982- 1983	1984- 1985	1986- 1987	1988- 1989	1990- 1991
1 (2.4 Md)		1		1		
2 (1.4, 2.5, 25)			1			
3 (25)			1	1		
4 (7.5, 25)			1			
5 (11)			1			
6 (2.4, 3.4)			2			
7 (1.4, 2.4)			1			
8 (2.8)				1		
9 (1.7)				1	1	
10 (1.4, 2.8)					1	
11 (1.4)					1	2
12 (3.4)					1	
13 (1.4, 3.4)						1
14 (None)	8	4	12	4	2	2
Total	8	5	19	8	6	5

Table 4. Plasmid Profile of *Salmonella* Braenderup

Provisional type of plasmid profile (Size of plasmid detected)	No. of isolates					
	1980	1985	1986	1987	1990	1991
1 (1.3, 90 Md)		2				
2 (1.3)			1			
3 (1.6, 2.7, 3.7)			1			
4 (90)				2		
5 (2.7, 5.4)						1
6 (2.7, 3.1)					1	
7 (None)		3		1		2
Total	3	2	2	3	1	3

Table 5. Plasmid Profile of *Salmonella* Hadar

Provisional type of plasmid profile (Size of plasmid detected)	No. of isolates				
	1986- 1987	1988	1989	1990	1991
1 (3.6 Md)		1			
2 (2.1, 2.8, 3.6, 20)			1		
3 (2.5)			2		
4 (2.8, 3.6, 5.9)			1		
5 (1.4)			1	1	
6 (2.5, 5.2, 20)			1		
7 (5.9)				1	
8 (40)					1
9 (None)	2	1	1	2	
Total	2	2	7	4	1

Table 6. Plasmid Profile of *Salmonella* Montevideo

Provisional type of plasmid profile (Size of plasmid detected)	No. of isolates		
	1978-1983	1984-1987	1988-1991
1 (2.8 Md)	0	0	7
2 (None)	12	15	0
Total	12	15	7

4. S.Enteritidisのプラスミド型の年次推移

Table 7に示すごとく、S.Enteritidisはプラスミドプロファイルにより9型に分けられたが、全体の86%は1型、4型、あるいは6型のいずれかであった。型の年次別推移をみると、1型は1964年から

1991年まで、ほとんど毎年認められ、6型は1989年に出現し、1991年にも認められた。また、分離株数は1981年、1989および1991年に多いが、主要な型は1981年では1型、1989年では1、6、9型、1991年では1、6型であった。

Table 7. Plasmid Profile of *Salmonella* Enteritidis

Provisional type of plasmid profile (Size of plasmid detected)	No. of isolates								Total
	1964-1966	1973-1980	1981	1982-1986	1988	1989	1990	1991	
1 (40 Md)	3	2	26	4		8	3	9	55
2 (2.5, 2.7, 4.1, 45)		1							1
3 (1.9, 40)				1					1
4 (45)					5				5
5 (1.7)					1				1
6 (35, 40)						7		5	12
7 (1.7, 2.6, 45, 60)						2			2
8 (18)						1			1
9 (none)						6			6
Total	3	3	26	5	6	24	3	14	84

考 察

近年、サルモネラでは、食中毒等において感染源追求にフェージ型、プラスミドプロファイル、薬剤感受性等が調べられている〔4-6〕。これらの内では、フェージ型別の信頼性が高いとされているが、この方法は精度管理上の問題があり、我が国では、国立予防衛生研究所でのみ実施され、他の機関では実施されていない。一方、他の方法では、Holmberg

ら〔4〕はS.Typhimuriumについての実験から、疫学的追求手段として、プラスミドプロファイルは薬剤感受性より、識別性、安定性ですぐれ、フェージ型別と同程度に有効であると述べている。また、堀内ら〔5〕、村瀬ら〔6〕は同一食中毒分離菌は同一プラスミドプロファイルを示すと述べている。このことから、近年わが国では、本法は血清型S.Enteritidisの型別に、特に利用されるようになった。本実験では、他の血清型のサルモネラにも、この方

法は適用できるものと考え、S.Montevideo, S.Hadar, S.Litchfield, S.Braenderupについても、プラスミドプロファイル調べた。

得られた結果から、各血清型の菌における流行菌型の変遷を考察する場合、プラスミドを保有しない菌はすべて質的にも同じとするには、まだ、検討すべき点があるので、除外する必要があるように思われる。それ故、プラスミド保有株のみを対象とすると、S.Typhimuriumでは、少数の例外（1型とした60Mdのプラスミド保有菌）を除く大部分の菌株では、プラスミド型はさまざまで、特定のプラスミド型の菌が同一年次で多数認められることも、2年以上連続して認められることも少なかった。

このことから、S.Typhimuriumでは、主流菌型と思われるものはなく、散発下痢原因菌の起源はさまざまであることが推定される。

同様のことは、S.Litchfield, S.Braenderup, S.Hadarでも推定される。一方、S.Montevideoの場合には、1987年以前の菌株はプラスミドを保有しないのに対して、1988年以降の菌株はすべて、2.8Mdのプラスミドを保有していることから、1987～1988年を境に流行菌型は入れかわったものと推定される。

また、S.Enteritidisの場合には、1964年から1991年までは、ほとんど毎年1型が、1988年には4型が、1989年と1991年には6型が多く認められたことから、この菌では、年次によって主流菌型があるように思われる。

詳細は次報で述べるが、最近、S.Enteritidisのフェージ型別を国立予防衛生研究所細菌部、中村明子博

士に依頼したところ、プラスミド型が1型の場合には、1981年の株にフェージ型8、1989～1991年の株にフェージ型4が多く、プラスミド型が6型の場合には、フェージ型34が多かった。

この結果は、S.Enteritidisでは1～数年単位で、流行菌型が変遷していることを裏付けるようで、大変興味深い。

謝辞：稿を終わるに当たり、既知プラスミド保有大腸菌を分与していただいた、神戸市環境保健研究所、村瀬 稔博士、名古屋市衛生研究所、森 正司博士に深謝の意を表します。

文 献

1. 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.
2. 病原微生物検出情報 (1992). 13, 1-22.
3. 太田美智男, (1989). 新しい遺伝子操作技術の基礎 26-28, 日本細菌学会教育委員会編, 菜根出版.
4. Holmberg, S. Wachsmuth, I.K. Hickman-Brenner, F.W and Cohen, M.L. (1984). J.Clin. Microbiol, 19, 100-104.
5. 堀内三吉, 後藤延一, 中谷林太郎, 小川正之, 伊藤武, 高橋正樹, 大橋 誠, (1988). 感染症学雑誌, 61, 167-176.
6. 村瀬 稔 (1988). 食品と微生物, 5, 33-39.

平成4年9月1日

都市河川水のサルモネラ定点観測

磯部 順子 井山 洋子

Salmonella Surveillance on River Water in an Urban Area

Junko ISOBE and Yōko IYAMA

要 旨 昭和54年から平成3年までの13年間、富山市中心部を流れる3河川に10定点を定め(昭和58年7月から1定点追加)、毎月又は隔月採水して、サルモネラの分離状況を調べ、次のような成績を得た。

1. 平成3年の調査では、サルモネラの検出率は平均27.3%であり、この13年間では最も低かった。
2. 13年間のサルモネラ検出率の平均は59.1%で、昭和54年から60年までの7年間の平均は73.0%であるのに対し、61年からの6年間の平均は40.4%とかなり低下した。昭和61年からは、富山市内を流れる河川の浄化の目的で、上流部で他の河川から本格的に取水を開始しているの、このことがサルモネラ汚染率低下の主因と考えられる。
3. この1年間に河川から分離されたサルモネラは、*Salmonella* Typhimurium 2株、*S. Tennessee* 2株など10菌型18株で、13年間では94菌型825株であった。過去によく分離された*S. Paratyphi B*、*S. Typhi*については、この2年間は1株も分離されなかった。
4. ヒトから分離されたサルモネラは、この1年間は17菌型58株で、その内*S. Enteritidis*は16株(27.6%)とかなり多く、今後その動向に注目すべきである。

サルモネラは自然界に広く生息し、ヒトや家畜などを含めてあらゆる種類の哺乳動物、鳥類、は虫類および両棲類から分離される。近年は、海外旅行者および輸入飼料、輸入畜肉が激増し、本菌が持ち込まれる機会も増え、サルモネラ感染症の増加の一因になっているように思われる。われわれは、環境のサルモネラ汚染の実態を把握するとともに、ヒト由来のサルモネラとの関連を知る目的で、都市河川水について定点観測を実施している。本報告では、平成3年の成績とともに過去13年間のデータを総括して、サルモネラの分離状況および菌型分布とヒト由来菌のそれとの比較について述べる。

調 査 方 法

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

検査方法は既報[1]のとおりである。

ヒト由来サルモネラは、13年間に県内の公立病院および保健所で、患者および保菌者から分離され、同定のため当所に送付された合計812株である。

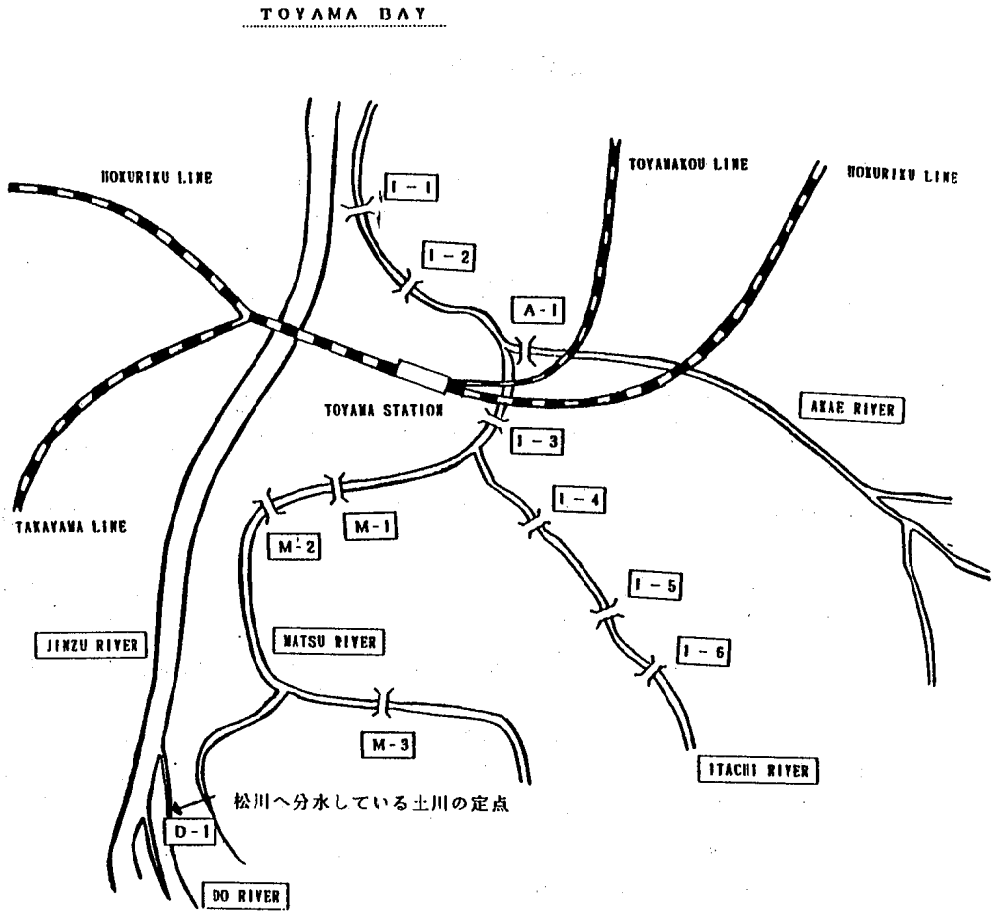


図1 各河川における採水場所

結果および考察

表1は、本年の各定点からの月別のサルモネラ分離状況を示したものである。各定点からの分離数は極めて少なく、定点I-3, I-6については1年を通じて1株も分離されなかった。月別には、最も多い7月でさえ5菌型7株の分離であり、3月は1

株も分離されなかった。本年の分離菌型の中で最も多かったのは、血清型S.IIIb48:1,v,z13:1,5の4株、次いでS.Typhimurium, S.Hadar, S.I 4:d:-の各2株等であった。前年最も多く分離されたS.Ohioは本年は1株も分離されなかった。なお、過去によく分離されたS.Typhi, S.Paratyphi Bについては、この2年間全く分離されていない。

平成4年9月1日

表1. 都市河川水のサルモネラ定点観測成績(平成3年)

定 点	1 月	3 月	5 月	7 月	9 月	11 月
I-1				16:k:1.5	48:l.v.z13:l.5	
I-2	S.lyphimurium					
I-3						
I-4				48:l.z13:l.5	4:d:-	
I-5	S.lyphimurium			S.hadar	4:d:- 48:l.v.z13:l.5	
I-6						
M-1				16:k:1.5		
M-2			S.meleagridis	48:l.z13:l.5		
M-3	S.singapore					S.tennessec
A-1	S.hadar			S.infantis S.loanda		
D-1					48:l.v.z13:l.5	

表2. 年別・定点別サルモネラ分離状況

年	定 点	I-1	I-2	I-3	I-4	I-5	I-6	M-1	M-2	M-3	A-1	D-1	計 (%)
昭和	54年	7/7	7/7	7/7	6/7	4/7	5/7	5/7	3/7	6/7	7/7		57/70 (81.4)
	55年	10/12	11/12	11/12	7/12	6/12	10/12	11/12	9/12	10/12	9/12		94/120 (78.3)
	56年	8/8	8/8	7/8	4/8	2/8	7/8	6/8	6/8	8/8	5/8		61/80 (76.3)
	57年	5/6	6/6	4/6	4/6	4/6	3/6	2/6	4/6	4/6	4/6		40/60 (66.7)
	58年	6/6	6/6	5/6	3/6	4/6	4/6	4/6	4/6	3/6	2/6	2/3	43/63 (68.3)
	59年	5/6	5/6	3/6	3/6	3/6	3/6	3/6	5/6	4/6	3/6	3/6	41/66 (62.1)
	60年	5/6	6/6	5/6	5/6	4/6	5/6	6/6	6/6	3/6	5/6	3/6	53/66 (80.3)
	61年	2/6	3/6	3/6	2/6	4/6	2/6	3/6	2/6	4/6	4/6	1/6	30/65 (46.2)
	62年	1/6	3/6	0/6	3/6	2/6	0/6	4/6	2/6	2/6	3/6	2/6	22/66 (33.3)
	63年	0/6	2/6	3/6	2/6	0/6	2/6	3/6	4/6	2/6	4/6	2/6	24/66 (36.4)
平成	元年	4/6	4/6	3/6	3/6	3/6	2/6	3/6	1/6	2/6	6/6	1/6	37/66 (56.1)
	2年	2/6	3/6	4/6	4/6	3/6	1/6	3/6	2/6	1/6	2/6	3/6	23/66 (34.8)
	3年	2/6	1/6	0/6	2/6	4/6	0/6	1/6	2/6	2/6	3/6	1/6	16/66 (24.2)
	計 (%)	57/87 (65.6)	65/87 (74.7)	55/87 (63.2)	48/87 (55.1)	43/87 (49.4)	44/87 (50.7)	54/87 (62.1)	50/87 (57.5)	51/87 (58.6)	51/87 (65.5)	20/51 (39.2)	544/920 (59.1)

表3 浄化用水導入によるサルモネラ汚染の変化

	I-1	I-2	I-3	I-4	I-5	I-6	M-1	M-2	M-3	A-1	D-1	
昭54	46/51	49/51	42/51	28/51	26/51	36/51	37/51	41/51	33/51	35/51	10/15	383/525
~60	90.2	96.1	82.4	54.9	51.0	70.6	72.5	80.4	64.7	68.6	66.7	73.0
昭61	11/36	22/36	13/36	16/36	16/36	8/36	17/36	13/36	13/36	21/36	10/36	160/396
~平3	30.5	61.0	36.1	44.4	44.4	22.2	47.2	36.1	36.1	58.3	27.8	40.4

表4 河川水およびヒト由来サルモネラの菌型分布 (昭和54~平成3年)

菌 型	河 川 水 由 来		ヒ ト 由 来	
	昭54-平2年	平成3年	昭54-平2年	平成3年
02群 S.paratyphi A			6	
04群 S.paratyphi B	107		107	5
S.stanley	13		8	
S.schwarzengrund	4		7	
S.saintpaul	2		2	1
S.chester	8		2	
S.sandiego	9			3
S.derby	14		5	
S.agona	28		12	
S.typhimurium	50	2	95	2
S.gloucester	1			
S.fyris	1			
S.bredenev	3		5	
S.brandenberg			1	
S.heidelberg	1		4	
S.haifa			8	
S.I	11			
S.I 4:--			2	
S.I 4:d:-		2		
07群 S.ohio	6		2	2
S.isangi	8		5	
S.livingstone	4		3	
S.norwich	1			
S.braenderup	21		22	3
S.montevideo	15		42	2
S.menston	2			1
S.oranienburg	11		10	
S.thompson	18		15	
S.singapore	4	1	3	
S.escanaba	1			
S.bonn	3		2	
S.potsdam	1		1	
S.virchow	3		5	
S.infantis	57	1	41	2
S.bareilly	19		7	
S.mbandaka	4		2	1
S.tennessee	15	1	4	3
S.I	2			
S.I 7:--			1	

平成4年9月1日

菌 型	河 川 水 由 来		ヒ ト 由 来	
	昭54-平2年	平成3年	昭54-平2年	平成3年
08 群 S.narasino	2		5	
S.nagoya	8			
S.muenchen	8		6	
S.manhattan	5		4	
S.newport	7		4	3
S.emek			1	
S.blockley	2		5	
S.kottbus	1			
S.litchfield	31		50	2
S.loanda		1		
S.bovismoribificans	2		3	
S.chailey				1
S.duesseldorf			2	
S.istanbul			1	
S.hadar	5	2	18	2
S. I 6,8:z32:-	1			
09 群 S.typhi	31		71	5
S.enteritidis	31		75	16
S.mendoza	1			
S.panama	3		3	
S. I	4			
S.dublin			1	
S.javiana			1	
03,010群 S.anatum	7		4	
S.london	9		2	1
S.give	22		3	
S.orion	5			
S. I	2			
S.meleagridis		1	1	
S.weltevreden			1	
S. I 3,10:r:-			1	
01.3.10群 S.senftenberg	4		3	
S.krefeld	2		1	
S.putten			1	
011 群 S.rubisaw	1			
013 群 S.havana	7		36	
S.worthington	3		4	
S.poona	2		1	
S. I 13:y:-	1			
S.cubana			1	
016 群 S.hvittingfoss			1	
S.saphara	2			
S. I 16:K:1,5		2		
018 群 S.cerro	3		4	3
030 群 S.giessen			1	
035 群 S.alachua			1	
040 群 S.johannesburg			1	

菌 型	河 川 水 由 来		ヒ ト 由 来	
	昭54-平2年	平成3年	昭54-平2年	平成3年
群不明 S. I	34			
S. I --:g,z51:-			1	
S. I --:k:1,5			2	
S. II [sofia] 4:b:-			1	
S. III 41:z23:-	4			
48:l,v:-	2			
48:z35:-	1			
?:z35:-	1			
4:z10:z53	1			
38:i:z	1			
38:z10:z51	1			
38:z10:z52	4			
38:z10:z53	28			
38:z52:z53	5			
48:i:z	1			
48:k:z35	2			
48:l,v:1,2	1			
48:l,v:1,5(7)	28		2	
48:l,v:z53	1			
48:l,z13:1,5(7)	12	2	1	
48:l,v,z13:1,5	3	3		
48:z10:1,5	1			
48:z10:z53	3			
60:r:z	1			
60:z6:z53	1			
60:z10:z53	1			
?:l,z13:1,5	3			
S. III 群不明	6			
S. IV [sachsenwald]040群	3			
44:z4,z24:-	2			
[seminole]040群			1	
計	90菌型 807株	10菌型 18株	71菌型 754株	17菌型 58株

平成4年9月1日

表2は、過去13年間のサルモネラの検出状況を示したものである。これを、河川DからMへの本格的な取水が始まった昭和61年の前後で分けてみると、表3のごとく、昭和54年から60年までの7年間の検出率の平均は73.0%であるのに対し、昭和61年からの6年間は40.4%と、かなり大きな差がみられる。これは、前報〔2〕に報告したとおり、流水量の増加による希釈効果と考えられる。一方、本年の調査で検出率が更に低下したことについての明確な理由は、いまのところ不明であるが、最近の富山市周辺部の下水道普及率の向上とも関係づけられるであろう。

図1は、各河川における採水場所を示したものである。表2で最も低い検出率39.2%を示した定点D-1は河川Mの取水地点であり、最も高い74.7%を示した定点I-2は河川Iのかかなり下流である。

表4は、過去13年間の調査において、河川水から分離されたサルモネラの菌型と、同期間中にヒトから分離されたサルモネラの菌型とを示したものである。河川水からは94菌型825株が分離され、*S. Paratyphi B*の107株、次いで*S. Infantis*の58株、*S. Typhimurium*の52株、*S. Litchfield*、*S. Typhi*、*S. Enteritidis*の各31株の順に多い。

ヒトからは、73菌型812株の分離があり、そのうち*S. Enteritidis*については、本年の分離が16株

(平成3年分の27.6%にあたる)で最も多く、13年間の合計も91株となり、*S. Paratyphi B*の112株に次いで第2位の分離数となった。この菌型は、全国的にも平成元年以降検出率が急増し〔3〕、原因食の判明した食中毒事例では鶏卵関連の食品が多いとされている〔4〕。また、英・米等の諸外国でも鶏卵による*S. Enteritidis*食中毒が多発している。富山県では、平成3年には本菌型による食中毒の発生はないが、散発症例に対しても鶏卵との関係についての疫学調査が必要と思われる。本菌型が今後どのように推移するか、その動向に注目したい。

富山市の周辺部の下水道の整備に伴い、河川水のサルモネラ汚染率も低下しつつあると思われるが、本年のように低い検出率が続くか否か、今後も調査を継続したい。

文 献

1. 山崎茂一、國家敏雄、畑 祥子(1981). 富山衛研年報, 4, 221-226.
2. 磯部順子、安井伊津子、兒玉博英、山崎茂一(1991). 富山衛研年報, 14, 142-149.
3. 国立予防衛生研究所編, 病原微生物検出情報(1990). 10, 189-212.
4. 中村明子(1991). 食品衛生研究, 7, 17-28.

食品中の銅クロロフィルの分析

大戸 幹也 松永 明信 山本 敦 水上 英一

Analysis of Copper Chlorophylls in Foods

Mikiya OHTO, Akinobu MATSUNAGA
 Atsushi YAMAMOTO and Eiichi MIZUKAMI

要旨 食品中の銅クロロフィルを、HPLC法と公定法に採用されている原子吸光法により分析した。

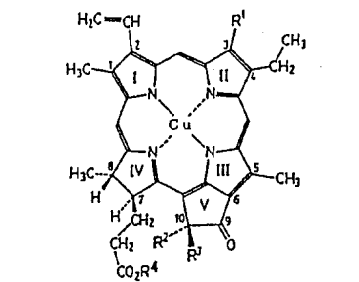
試料として、富山県内で市販されている4種食品13検体を試験に供した。

銅クロロフィル標準品は市販されていないため、合成を行った。HPLC法では、ガムや寒天製品から銅クロロフィルは検出しなかったが、惣菜製品からは、1.75, 6.72および15.82 μg/g検出した。HPLC法による定量の限界は、銅クロロフィル a, bそれぞれ0.6 μg/g, 0.3 μg/gであった。

原子吸光法では、ガム製品は平均13.02, 惣菜製品は平均61.10, 昆布は平均3.03 μg/g, 寒天製品は平均4.95 μg/gの銅クロロフィルをそれぞれ検出した。両分析法の比較を行ったところ、原子吸光法による含有量がHPLC法によるものを上回る結果が得られた。これは、原子吸光法では、食品中の銅クロロフィル以外の有機銅も、銅クロロフィルとして定量するためであると考えられた。

銅クロロフィルは、食品や医薬品等に幅広く用いられている緑色合成色素である。この色素の構造は Fig. 1 に示したが、クロロフィル分子中のポルフィリン環マグネシウム原子が銅原子に置換したものである。比較的安定で油溶性が高い特性を有するため、ガム、野菜・果実類貯蔵品、昆布および長期間保管される可能性の高い缶詰中の寒天に使用が許可されている。

食品中の銅クロロフィルの分析法としては、公定法の他に、牛山らの TLC と原子吸光による方法 [1] がある。両方法とも銅クロロフィルを定量する場合、原子吸光分光光度計により銅含有量を測定し、銅クロロフィルに換算する必要がある。しかし、これらの方法では、銅クロロフィル以外の有機銅も測定してしまうため、必ずしも正確な値が得られるとは限らないと考えられる。そのため、著者らは、他の有機銅と分けて定量が可能であると考えられる



	R ¹	R ²	R ³
Copper Chlorophyll a	CH ₃	CO ₂ CH ₃	H
Copper Chlorophyll a'	CH ₃	H	CO ₂ CH ₃
Copper Chlorophyll b	CHO	CO ₂ CH ₃	H
Copper Chlorophyll b'	CHO	H	CO ₂ CH ₃

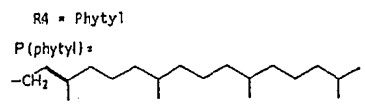


Fig. 1. Structure of Copper Chlorophylls

平成4年9月1日

HPLCを使用し、分析を試みた。

現在純度が高い標準品は市販されていないため、標準品はInoueら[2]の方法により合成し、これを用いてHPLCにより分析を行った。また公定法との比較も行い、興味ある知見が得られたので報告する。

材料と実験方法

1. 試料

富山県内で市販されているガム5検体、惣菜3検体、昆布3検体およびみつ豆缶詰又はみつ豆合成樹脂製容器包装中の寒天2検体を試験に供した。ただし、寒天は特に緑色の物を選出し、試験に供した。

2. 試薬

銅クロロフィルの合成は、次のように行った。まず、クロロフィルは、高等植物の葉からAOAC法によって抽出した。これを原料にInoueらの方法[2]に準じてフェオフィチンを経由したのち、銅クロロフィル合成を行った。合成した自家製の銅クロロフィル溶液をHPLCに注入し、銅クロロフィルaあるいはbピーク画分を分取した。集めた溶液は、それぞれ銅クロロフィル標準原液a、bとした。

標準品の合成および試験溶液の調製に用いる試薬は特級品を、それ以外は液体クロマトグラフ用を使用した。

3. 装置

高速液体クロマトグラフは、(株)島津製作所製LC-9A型ポンプ、レオダイン社製7125型インジェクター、(株)島津製作所製SPD-6AV型紫外可視吸光検出器および同社製C-R3A型データ処理装置を用いて構成した。

原子吸光分析は、日本ジャーレルアッシュ製FLA-100型フレームレス原子化装置および同社製AA-860型原子吸光分光光度計を用いた。

分光光度計は、(株)島津製作所製UV-160型(層長1cm、石英セル)を用いた。

4. HPLC分析条件

Inoueら[2]の分析条件にほぼ準拠し、以下のように行った。

カラム: LiChrospher 100 RP-18 (5 μ m), 250 mm X 4.6mm i.d. (Merck社製)

ガードカラム: LiChrosorb RP-18, 4mm X 4mm i.d. (Merck社製)

移動相: アセトン-アセトニトリル(1:1)溶液

移動相流量: 1.0ml/min

カラム温度: 25 $^{\circ}$ C

検出波長: 424nm

注入量: 20 μ l

5. 原子吸光分析の条件

(1) 原子化装置

Dry-18A 30sec Step mode

Ash-90A 60sec Step mode

Atomize-280A 7.5sec Lamp mode

Sample volume 20 μ l

(2) 原子吸光分光光度計

波長 3247.5nm D2補正

6. 試験溶液の調製

試験溶液の調製は、厚生省食品化学課編“食品中の食品添加物分析法”[3]にほぼ準じて、以下のように行った。

(1) HPLC分析用試験溶液の調製

試料としてガムは10g、惣菜は5g、昆布は2g、寒天は5gをそれぞれ量り、水30mlを加えてホモジナイズした後、0.5%水酸化ナトリウム溶液を加えて弱アルカリ性とし、酢酸エチル50mlで2回抽出する。酢酸エチル層を水30mlで3回洗浄後、無水硫酸ナトリウム10gで脱水し、ロータリーエバポレーターで濃縮乾固した。残留物をアセトン-アセトニトリル(1:1)溶液に溶解した後遠心分離(3000rpm, 5分)し、上清を必要があれば0.45 μ mのテフロン製メンブランフィルターでろ過し、HPLC試験溶液とした。

(2) 原子吸光分析用試験溶液の調製

“食品中の食品添加物分析法”に準じた。

結果および考察

1. 銅クロロフィル標準溶液

合成後分画して調製した銅クロロフィル原液 a, b それぞれについて, 原子吸光法によって銅含有量を求めた後, 銅クロロフィル換算値 [銅クロロフィル a は 14.69 (M.W. 932.75/Cu63.5=14.69), b は 14.91 (M.W. 946.73/Cu63.5=14.91)] を乗じて, 銅クロロフィル a, b それぞれの濃度を算出した。原液の可視吸収スペクトルを Fig. 2 に示したが, 銅クロロフィル a は 400, 424 および 651 nm, 銅クロロフィル b は 441 および 631 nm にそれぞれ吸収極大を持つスペクトルが得られ, Inoue ら [2] の結果とほぼ一致した。また, 彼らのモル吸光率から算出した銅クロロフィル a, b の濃度は, それぞれ原子吸光法によって得られた濃度と一致した。したがって, この原液を適宜希釈したものを, 銅クロロフィル標準溶液とした。

クロロフィル a, b にはそれぞれ立体異性体が存在することから, 銅クロロフィル a, b にもそれぞれ立体異性体が存在する (Fig. 1)。前述した HPLC 条件によって分析した銅クロロフィル a と b の標準溶液のクロマトグラムを Fig. 3 に示したが, それぞれの標準溶液ともピークは 2 つ存在した。これらはそれぞれ銅クロロフィル a, a' および b, b' のピークと考えられた。

2. 検量線および定量限界

銅クロロフィル a, b 標準溶液をそれぞれ HPLC に注入した。銅クロロフィル a と a' のピーク面積の和, 銅クロロフィル b と b' のピーク面積の和を用いて検量線を作成したところ, 銅クロロフィル a, b とも 0.1~10 μg/ml で原点を通る良好な直線が得られた。

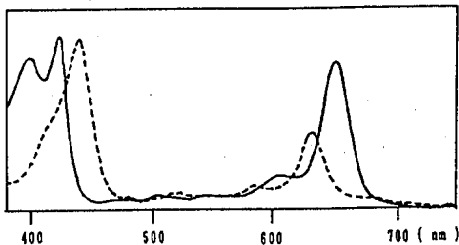


Fig. 2. Absorption Spectra of Copper Chlorophyll a (—) and b (---)

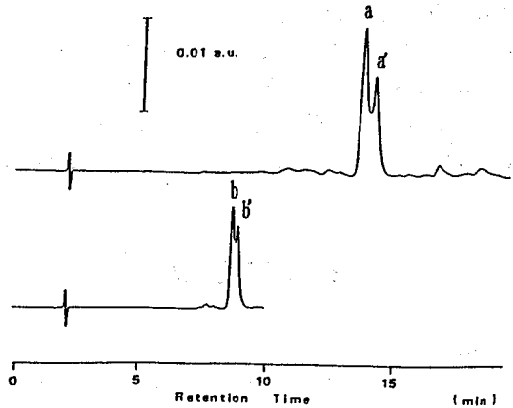


Fig. 3. Chromatograms of Synthetic Standard Copper Chlorophylls

copper chlorophyll a, 10 ppm; b 5 ppm

3. 市販食品の分析

各種検体の銅クロロフィルを HPLC で分析し, その含有量をまとめて Table 1 に示した。ガムや寒天についても, 他の妨害ピークによる影響を受ける事無く分析できた。惣菜については, Fig. 4 にそのクロマトグラムの 1 例を示した。惣菜の原料中に多量のクロロフィル類似化合物が存在しているため, これらが分析に影響を及ぼすのではないかと考えられたが, 支障無く分析できた。分析した三製品の銅クロロフィル含有量は 6.72 (a : 6.38, b : 0.34), 1.75 (a : 1.75, b : ND) および 15.82 (a : 13.35, b : 2.47) μg/g であった。昆布については, 前処理で酢酸エチル抽出乾固後溶解した試験溶液は不透明であったため, 更に公定法のカラムクロマトグラフィーによる精製を行って HPLC 分析を行ったが, 大量の妨害成分が存在し, 定量は困難であった。このため, この妨害物の確認を行った。昆布から得た試験溶液を HPLC に注入し, 溶出した妨害物質を分取した。この分取液の吸収スペクトルを測定したところ, フェオフィチン a のスペクトルと一致した。また, 妨害成分の HPLC の保持時間が市販標準品のフェオフィチン a のそれと一致し, この妨害物質は

平成4年9月1日

Table 1. Concentration of Copper Chlorophylls in Commercial Food Products by HPLC and the Official Methods

Sample	H P L C Method			Official Method		
	Copper Chlorophyll			Copper	Copper Chlorophylls ($\mu\text{g/g}$)	
	a	b	a+b			
Chewing Gum	1	n. d. ¹⁾	n. d.	0	0.88	13.0
	2	n. d.	n. d.	0	0.63	9.3
	3	n. d.	n. d.	0	1.28	18.9
	4	n. d.	n. d.	0	0.47	6.9
	5	n. d.	n. d.	0	1.15	17.0
av.	0	0	0	0.88	13.02	
Household Dish	1	6.38	0.34	6.72	4.84	71.4
	2	1.75	n. d.	1.75	0.64	9.4
	3	13.35	2.47	15.82	6.95	102.5
av.	7.16	0.94	8.10	4.14	61.10	
Konbu	1	—	—	—	0.28	4.1
	2	—	—	—	0.23	3.4
	3	—	—	—	0.11	1.6
av.	—	—	—	0.21	3.03	
Agar-agar	1	n. d.	n. d.	0	0.66	9.7
	2	n. d.	n. d.	0	0.01	0.2
av.	0	0	0	0.34	4.95	

1) not detected

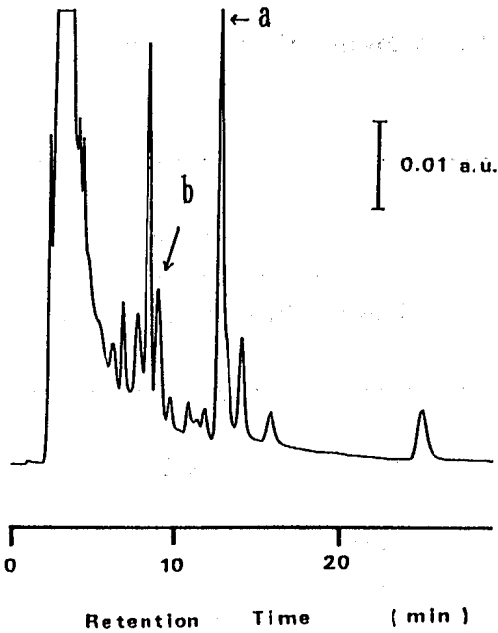


Fig. 4. Chromatogram of an Extract from Commercial food Product; Household Dish

フェオフィチン a であると考えられた。したがって、昆布についてHPLCで分析する場合は、さらに前処理方法に検討を加える必要があると考えられた。

4. 公定法との比較

原子吸光法によって得られた銅クロロフィル含有量もTable 1 に付記した。原子吸光法ではガムで6.9~18.9 (平均13.02) $\mu\text{g/g}$, 惣菜で9.4, 71.4および

102.5 (平均61.10) $\mu\text{g/g}$, 昆布で1.6, 3.4および4.1 (平均3.03) $\mu\text{g/g}$, 寒天で0.2および9.7 (平均4.95) $\mu\text{g/g}$ の銅クロロフィルを検出した。これらの値をHPLCによる値と比較すると昆布を除く全ての製品について、原子吸光法による含有量がHPLC法による含有量を上回る結果が得られた。これは、原子吸光法では、食品中の銅クロロフィル以外の有機銅も銅クロロフィルとして定量してしまうためであると考えられた。

現行の公定法は、正確な銅クロロフィル量の把握には適したものではないと考えられる。今後、純度が高い標準品を供給する体制を整えることや前処理方法に関して若干の検討が必要であるが、銅クロロフィルの測定には正確な含有量が得られるHPLCによる分析法を採用すべきであると考ええる。

文 献

1. 牛山博文, 西島基弘, 安田和男, 上村 尚, 田端節子, 二島太一郎 (1986). 食品衛生学雑誌, 27, 416-420.
2. Inoue, H., Furuya, K., Watanabe, K., Tanaka, K., Shirai, T. and Miyoshi, E. (1988). Anal. Sci., 4, 599-603.
3. 厚生省食品化学課編 (1988). "食品中の食品添加物分析法", pp174-176.

平成4年9月1日

キャピラリーカラム付きFPD-GCによる輸入果実中の有機リン農薬22種の一斉分析法

齊藤行雄 山本 敦 水上英一

Simultaneous Determination of 22 Kinds of Organophosphorus Pesticides in Imported Fruits by FPD-GC with Capillary Column

Yukio SAITO, Atsushi YAMAMOTO
and Eiichi MIZUKAMI

要 旨 輸入果実中の有機リン農薬の一斉分析法を検討した。残留農薬分析Draft法に、キャピラリーカラム付きガスクロマトグラフィー (GC) とヘキサン・アセトニトリル分配を導入し、その効果を調べたところ、以下の結果を得た。

1. キャピラリーカラム付きGCでは、カラムにウルトラ1とDB-210を用いることにより、22種の農薬を分離測定することができた。また、ウルトラ1による各農薬の保持時間 (Rt) およびピークの高さの再現性を調べたところ、良好であった。
2. ヘキサン・アセトニトリル分配による油脂成分除去操作は、GCにおけるキャピラリーカラムの汚染を防止し、農薬の高分離と高検出感度を維持するために有効であり、アボガドなど脂質含量の多い果実の外に、低脂質含量の果実でも、この操作が必要であった。
3. 農薬22種の添加回収実験から、DDVPとジメトエート以外は、70%以上と良好な回収率であった。回収の低い2農薬については、現在その原因を検討中である。

近年、アメリカ、オセアニアおよびアジアからの果実等の食品輸入量が増加傾向にあり [1] , 有機塩素系農薬や有機リン系農薬が検出される場合が多いため [2 , 3] , 輸入食品中の残留農薬分析に対する要望が高まっている。

一般に果実中の農薬分析は、残留農薬分析Draft法 [4] , 衛生試験法注解 [5] 等で行なわれている。これらの方法では、パックドカラム付きGCのため、3種類以上のカラムを用いても、農薬相互の分離は不十分である。また、Draft法では、農薬の多成分分析に有効であるアセトン抽出法をとっているが、抽出液の精製操作は活性炭カラムクロマトグラフィー (CC) のみで、油脂成分の除去操作の必

要がないことになっている。しかしながら、輸入果実の中には、アボガドやオリーブなど多量の脂質を含むものもある。また、果実類には、防虫や鮮度保持の表皮被膜として、動物ワックスおよび鉱物ワックスが使用されたり [6] , 果実のポストハーベスト農薬処理でも、ワックス類に農薬を混ぜて噴霧される [7] 。このため、果肉および果皮の試験溶液では、脂質成分、脂溶性色素、ワックス類が混入してくる。後述するように、この試験溶液を多数回分析するとカラム、検出器の汚染によって農薬の検出感度の低下をおこした。そこで今回、著者らは輸入果実を試料とし、有機リン農薬の多成分一斉分析を目的として、Draft法にキャピラリーカラム付きG

Cと、油脂成分除去法としてのヘキサン・アセトニトリル分配を導入し、その効果を検討した。

材料と実験方法

1. 試料

オレンジ（カリフォルニア産）、グレープフルーツ（フロリダ産）、アボガド（メキシコ産）を用いた。柑橘類では、果皮もマーマレードや果実酒等に利用されることと、今後、果実生産国で使用された農薬の果皮から果肉への移行量を調べるため、果皮と果肉に分けて試料とした。

2. 試薬

各農薬標準品：ジクロロボス（DDVP）、サリチオン、ジメトエート、シアノホス（CYAP）、ダイアジノン、ホルモチオン、ジクロフェンチオン（ECP）、クロルピリホスメチル、フェニトロチオン（MEP）、ピリミホスメチル、マラチオン、フェンチオン（MPP）、パラチオン、クロルピリホス、フェントエート（PAP）、プロチオホス、イソキサチオン、エチオン、エディフェンホス（EDDP）、ピリダフェンチオン、EPN、ホサロンは、それぞれ和光純薬工業㈱の標準品を用いた。

各農薬標準原液：各農薬標準品50mgをアセトン5mlに溶かした後に、ヘキサンで全量50mlとした（1mg/ml）。

各農薬標準溶液：農薬のGC感度に応じて、標準原液を適宜ヘキサンで希釈して調製した。

農薬22種混合溶液(A)：1ml中にDDVP0.2 μ g、サリチオン0.2 μ g、ジメトエート0.5 μ g、CYAP0.2 μ g、ダイアジノン0.4 μ g、ホルモチオン0.5 μ g、ECP0.5 μ g、クロルピリホスメチル0.25 μ g、MEP0.5 μ g、ピリミホスメチル0.25 μ g、マラチオン0.25 μ g、MPP0.5 μ g、パラチオン0.5 μ g、クロルピリホス0.5 μ g、PAP0.5 μ g、プロチオホス0.5 μ g、イソキサチオン1.04 μ g、エチオン0.5 μ g、EDDP2.0 μ g、ピリダフェンチオン2.0 μ g、EPN2.0 μ g、ホサロン2.0 μ gの各濃度になるように、ヘキサンで調製した。

農薬22種混合溶液(B)：混合溶液(A)と同濃度にアセトンで調製したが、6農薬についてはホルモチオン1.0 μ g、クロルピリホスメチル0.5 μ g、ピリミホスメチル0.5 μ g、マラチオン0.5 μ g、ピリダフェンチオン2.5 μ g、EPN2.5 μ gと濃度を変更した溶液である。

活性炭：ダルコG-60でアトラス・パウダー社製を用いた。

微結晶セルロース：カラム用アビセルで旭化成工業㈱製を用いた。

各種有機溶媒：アセトン、ジクロロメタン、ベンゼン、ヘキサン、アセトニトリルは和光純薬工業㈱の残留農薬分析用を用いた。

3. 装置

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

活性炭カラム：内径1.5cm、長さ30cmのコック付きクロマト管の下端に無水硫酸ナトリウム約5gをつめた後、活性炭・微結晶セルロース（1：10）混合物の5gをベンゼンで湿式充填し、さらに、無水硫酸ナトリウム約5gを積層した。

ガスクロマトグラフ：島津製作所製のFPD付きGC-14Aに、同社製のオートインジェクターAOC-14およびクロマトパックC-R3Aを装着して使用した。

4. 分析操作

4-1. 試料の抽出

細切均一化した試料20gをコニカルビーカーにとり、アセトン100mlを加え3分間ホモジナイズした。セライト545を1cmの厚さに敷いたガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過した後、アセトン・水（7：3）混液50mlで2回同様に操作し、合わせたろ液に5%塩化ナトリウム溶液400mlおよびジクロロメタン・ベンゼン（2：8）混液100mlを加え、5分間振り混ぜた。2層に分離後、下層に同溶媒100mlを加え同様に処理した。上層を合わせ無水硫酸ナトリウムで脱水後、40℃の水浴中で約5mlに減圧濃縮し、さらに常圧下で空気を吹きつけ溶媒を留去後、アセトニトリル飽和ヘキサン15mlに溶解した。

平成4年9月1日

4-2. 試料抽出液の精製

4-1で得た抽出液にヘキサン飽和アセトニトリル30mlを加え、5分間振り混ぜた後、下層を分取した。ヘキサン層に同溶媒30mlを加え、同様に3回操作しアセトニトリル層を合わせた。アセトニトリル層にアセトニトリル飽和ヘキサン50mlを加え、振り混ぜて洗浄し除去した。アセトニトリル層に5%塩化ナトリウム溶液400mlおよびジクロロメタン・ベンゼン(2:8)混液100mlを加え、5分間振り混ぜた。上層を無水硫酸ナトリウムで脱水後、40℃の水浴中で約5mlに減圧濃縮し、さらに常圧下で空気を吹きつけ溶媒を留去した。残留物を約5mlのベンゼンに溶解して活性炭カラムに負荷し、ベンゼン150mlで溶出した。溶出液を約5mlに減圧濃縮し、さら

に常圧下で空気を吹き付けて溶媒を留去後、ヘキサンで全量5mlとし、GC用試験溶液とした。

4-3. ガスクロマトグラフィー条件

キャピラリーカラムにウルトラ1, DB-210およびDB-1701を使用し、Table 1に示した条件で測定した。

結果と考察

1. キャピラリーカラム付きGC

有機リン農薬の多成分一斉分析を目的として、キャピラリーカラムを装着したFPD-GCによる各農薬の分離パターンおよびRt等の再現性を、農薬22

Table 1. Gas Chromatography Conditions for the Analysis of 22 Organophosphorus Pesticides

Gas chromatograph	Shimadzu GC-14A
Detector	Flame photometric detector (FPD)
Column	(1) Ultra 1 (HP, 0.2mm i.d. x 25m, 0.33 μ m) (2) DB-210 (J&W, 0.25mm i.d. x 30m, 0.25 μ m) (3) DB-1701 (J&W, 0.25mm i.d. x 30m, 0.25 μ m)
Column temperature program	(1) 60 $^{\circ}$ C (2min) \rightarrow 180 $^{\circ}$ C \rightarrow 280 $^{\circ}$ C (10min) 8 $^{\circ}$ C/min 4 $^{\circ}$ C/min (2) 60 $^{\circ}$ C (2min) \rightarrow 235 $^{\circ}$ C (28.5min) 10 $^{\circ}$ C/min (3) 60 $^{\circ}$ C (2min) \rightarrow 260 $^{\circ}$ C (30min) 10 $^{\circ}$ C/min
Splitless injector	Shimadzu SPL-14
Autoinjector	Shimadzu AOC-14
Injection temperature	240 $^{\circ}$ C
Detector temperature	240 $^{\circ}$ C
Carrier gas	He 1.0kg/cm 2
Make up gas	He 0.5kg/cm 2
Flame gas	H $_2$ 0.75kg/cm 2 , Air 0.95kg/cm 2
Injection size	2 μ l

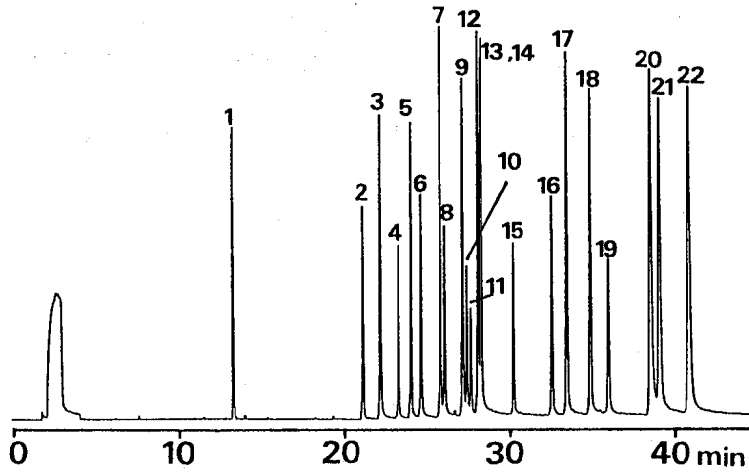


Fig. 1. Gas Chromatogram of 22 Organophosphorus Pesticides by FPD-GC with Capillary Column (Ultra 1)

1:DDVP, 2:Salithion, 3:Dimethoate, 4:CYAP, 5:Diazinon, 6:Formothion, 7:ECP, 8:Chlorpyrifosmethyl, 9:MEP, 10:Pirimiphosmethyl, 11:Malathion, 12:MPP, 13:Parathion, 14:Chlorpyrifos, 15:PAP, 16:Prothiofos, 17:Isoxathion, 18:Ethion, 19:EDDP, 20:Pyridaphenthion, 21:EPN, 22:Phosalone

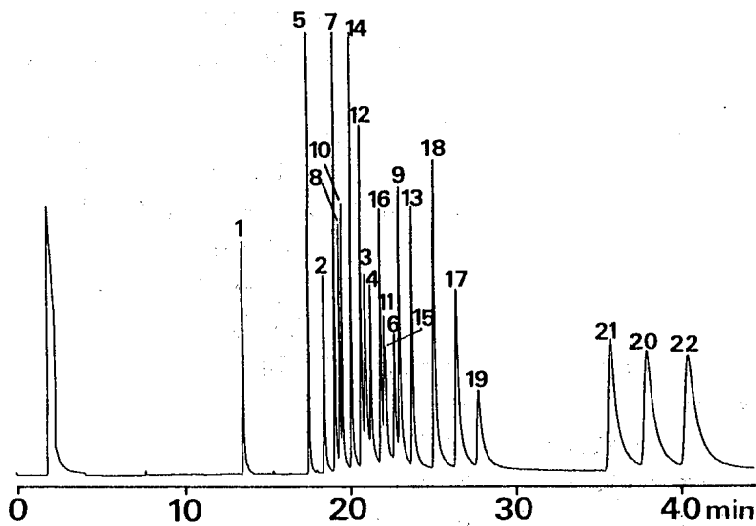


Fig. 2. Gas Chromatogram of 22 Organophosphorus Pesticides by FPD-GC with Capillary Column (DB-210)

Pesticide numbers are the same to those in Fig.1 .

平成4年9月1日

種混合溶液(A)を用いて調べた。キャピラリーカラムにウルトラ1 (OV-1相当, メチル) およびDB-210 (OV-210相当, トリフルオロプロピルメチル)を用いたときの, 有機リン剤22種のガスクロマトグラムをFig. 1 および2に示した。ウルトラ1では, パラチオンとクロルピリホスが重なるが, その外はそれぞれ分離したピークパターンを示した。これに対して, DB-210では, パラチオンとクロルピリ

ホスは十分に分離し, マラチオンとPAPが重なって検出された。

一方, DB-1701 (OV-1701相当, シアノプロピルフェニルメチル)を用いた場合のパターンは, ジメトエート, CYAPおよびクロルピリホスメチルが重なる。また, クロルピリホス, ホルモチオン, MPPおよびマラチオンでも重なり, ウルトラ1やDB-210の場合と比較して, 各農薬の分離状況が

Table 2. Reproducibility of the Retention Time and the Peak Height of 22 Organophosphorus Pesticides by FPD-GC with Capillary Column(Ultra 1)

No.	Pesticide	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Retention time(min)		Peak height(μV)	
			Mean \pm S.D.	C.V. (%)	Mean \pm S.D.	C.V. (%)
1	DDVP	0.2	13.31 \pm 0.01	0.08	2,610 \pm 39	1.5
2	Salithion	0.2	21.11 \pm 0.02	0.09	1,769 \pm 53	3.0
3	Dimethoate	0.5	22.13 \pm 0.03	0.14	2,336 \pm 59	2.5
4	CYAP	0.2	23.23 \pm 0.03	0.13	1,441 \pm 48	3.3
5	Diazinon	0.4	24.01 \pm 0.03	0.12	2,544 \pm 71	2.8
6	Formpthon	0.5	24.59 \pm 0.03	0.12	1,733 \pm 47	2.7
7	ECP	0.5	25.75 \pm 0.03	0.12	3,638 \pm 87	2.4
8	Chlorpyrifosmethyl	0.25	26.03 \pm 0.04	0.15	1,724 \pm 32	1.9
9	MEP	0.5	27.08 \pm 0.04	0.15	2,885 \pm 98	3.4
10	Pirimiphosmethyl	0.25	27.32 \pm 0.04	0.15	1,296 \pm 45	3.5
11	Malathion	0.25	27.56 \pm 0.04	0.15	852 \pm 16	1.9
12	MPP	0.5	27.99 \pm 0.04	0.14	3,300 \pm 74	2.2
13	Parathion ^{a)}	0.5	28.22 \pm 0.04	0.14	3,439 \pm 72	2.1
14	Chlorpyrifos ^{a)}	0.5	28.22 \pm 0.04	0.14	3,439 \pm 72	2.1
15	PAP	0.5	30.10 \pm 0.13	0.13	1,492 \pm 53	3.6
16	Prothiofos	0.5	32.40 \pm 0.05	0.15	1,965 \pm 45	2.3
17	Isoxathion	1.04	33.33 \pm 0.05	0.15	2,775 \pm 124	4.5
18	Ethion	0.5	34.71 \pm 0.05	0.14	2,812 \pm 76	2.7
19	EDDP	2.0	35.84 \pm 0.06	0.17	1,110 \pm 85	7.7
20	Pyridaphenthion	2.0	38.38 \pm 0.06	0.16	2,446 \pm 129	5.3
21	EPN	2.0	38.91 \pm 0.06	0.15	2,693 \pm 91	3.4
22	Phosalone	2.0	40.67 \pm 0.06	0.15	2,685 \pm 77	2.9

(n=6)

a) Peaks of parathion and chlorpyrifos are overlapping on the gas chromatogram.

良好ではなかった。したがって、以後の実験では、極性の異なるウルトラ1とDB-210の両キャピラリーカラムを併用することにより、22種の農薬を測定することとした。次に、ウルトラ1による各農薬のRtおよびピークの高さの再現性を調べた。手動注入によるスプリットレス方式では、再現性が低かったため、オートインジェクターによる自動注入を試みた。ただし、6個の試料ボトルにそれぞれ同一溶液を入れ、オートインジェクターで順次注入し測定した。得られた結果をTable 2に示した。各農薬の変動係数は、Rtでは0.17%以下、ピークの高さでは7.7%以下と良好な結果であった。

2. ヘキサン・アセトニトリル分配による油脂成分除去効果

Draft法では、野菜および果実試料はアセトン抽出後、食塩水で希釈し、ジクロロメタン・ベンゼン(2:8)混液で再抽出する。この再抽出液を、CCで精製後にパックドカラム付GCで測定する方法

をとっている。このDraft法で輸入果実の果皮および果肉を処理すると、CC後の最終試験溶液が特に果皮で濃く着色した。これら着色した試験溶液のFPD-GC測定では、ガスクロマトグラム上にピークはなく、直接には測定の妨害とならなかった。しかしながら、多数の着色した試験溶液をキャピラリーカラムに導入するとカラムが劣化し、ジメトエート、DDVP、PAP等の検出感度が低下した。劣化したキャピラリーカラムは、有機溶媒洗浄をすることによってこれらの農薬の感度が回復した。これは、果肉や果皮中の脂質成分、テルペン類、脂溶性色素およびワックス類などが抽出液中に混在し、CCの活性炭の色素吸着能力を低下させ、脂質成分と共に色素等が溶出したためと考えられた。すなわち、これらの高沸点化合物がキャピラリーカラムを汚染して、農薬の検出感度を低下させたものと想定された。そこでGCの注入口部、キャピラリーカラムおよび検出部の汚染防止を目的として、オレンジ、グレー

Table 3. Effects of n-Hexane-Acetonitrile Partition and Activated Charcoal Column Chromatography on the Removal of Fats and Color Ingredients from Various Fruits

Sample (20g)	Residue (mg)		
	n-Hexane-CH ₃ CN partition		Column Chromatography
	Before	After	After
Orange			
Flesh	37(100%)	11(29.7%)	3(8.1%)
Peel	163(")	59(36.2)	37(22.7)
Grapefruit			
Peel	104(")	44(42.3)	24(23.1)
Avocado			
Flesh	1,113(") ^{a)}	283(25.4)	264(23.7)
Peel	176(")	119(67.6)	91(51.7)

a) Sample was weighed from CH₂Cl₂-benzene extract of 3,583mg.

平成4年9月1日

ブフルーツおよびアボガドを用いて、CCの前にヘキサン・アセトニトリル分配を導入し、試験溶液中に混入してくる脂質成分など混在物の除去を検討した。その結果をTable 3に示した。ここでは、分配およびCCの効果を残留物量の推移で示した。オレンジの果肉および果皮、グレープフルーツ果皮、アボガドの果肉では、分配前の残留物の25~40%程度が、分配後のアセトニトリル層に移行した。これに対して、アボガドの果皮では約70%がアセトニトリル層へ移行したが、分配前の残留物に含まれる大部分の脂質成分等は、ヘキサン層へ移り、分離除去できたものと考えられる。

なお、どのアセトニトリル層も濃く着色しており、さらにCCにより精製すると、大半の色素を除去できた。このCC後の残留物量は、CC前より20~30mg程度低下しており、主として色素が除去されたのであろうと考えられた。

3. 添加回収実験

オレンジの果肉および果皮各20gに農薬22種混合溶液(B)5mlを添加後、材料と実験方法4の分析操作に従って操作し、添加回収率を求めた。その結果をTable 4に示した。果肉ではDDVPおよびジメトエートが、果皮でもジメトエートが低い回収率を示した外は、ほぼ70%以上と良好な回収率であった。

添加回収率が真の抽出率を示すとは限らないが、本法の20農薬における検出限界については、EDDPが0.04ppm、ピリダフェンチオン、EPN、ホサロンが各々0.02ppm、ホルモチオン、マラチオン、PAP、イソキサチオンが各0.01ppmであり、その他の農薬は0.005ppmであった。

DDVP、ジメトエートの低回収率は、両農薬の水に対する溶解度(DDVP室温で1%、ジメトエート21°Cで2.5%)が高く、抽出率が低値であったためと考えられる。また、DDVPは蒸気圧(20°Cで 1.2×10^{-2} mmHg)が高く、抽出液やCC溶出液の減圧濃縮および常圧下での溶媒の留去時に揮散し、回収率に影響したとも考えられる。これらの2農薬については、ジクロロメタン・ベンゼンによる再抽出時の食塩水濃度を高めるか、アセトン抽出液のアセトンを留去後、食塩水で希釈し、ジクロロメタン・

ベンゼンで再抽出する必要があり、また、DDVPの揮散については、揮散防止剤の添加後に濃縮するなど、今後検討を要する。

Table 4. Recoveries of 22 Organophosphorus Pesticides Added to Imported Orange

No.	Pesticide	Amount added ($\mu\text{g/g}$)	Recovery(%)	
			Flesh	Peel
1	DDVP	0.05	28.0	68.0
2	Salithion	0.05	96.0	93.0
3	Dimethoate	0.125	54.8	28.8
4	CYAP	0.05	104.0	88.0
5	Diazinon	0.1	73.5	86.5
6	Formothion	0.25	88.4	68.0
7	ECP	0.125	73.6	83.2
8	Chlorpyrifosmethyl	0.125	100.8	98.4
9	MEP	0.125	81.6	86.4
10	Pirimiphosmethyl	0.125	83.2	99.2
11	Malathion	0.125	92.4	102.0
12	MPP	0.125	92.0	60.0
13	Parathion	0.125	81.0	84.0
14	Chlorpyrifos	0.125	80.8	84.4
15	PAP	0.125	108.0	90.4
16	Prothiofos	0.125	77.2	80.8
17	Isoxathion	0.26	119.6	80.4
18	Ethion	0.125	99.2	104.0
19	EDDP	0.5	101.3	98.9
20	Pyridaphenthion	0.625	94.2	96.4
21	EPN	0.625	89.1	74.6
22	Phosalone	0.5	87.1	96.1

(n=2)

文 献

1. 川口洋二(1991). 食品衛生研究, 41, 23-32.
2. 永山敏廣, 小林麻紀, 塩田寛子, 真木俊夫, 舘 公 子, 橋本秀樹, 川合由華, 二島太一郎(1991). 東京衛 研年報, 42, 134-140.

3. 斉藤行雄, 山本 敦, 水上英一 (1991). 富山衛研年報, 14, 199-201.
4. 厚生省生活衛生局食品化学課 (1985). 残留農薬分析法Draft, 厚生省食品化学レポートシリーズNo.40, 21-28.
5. 日本薬学会 (1990). 衛生試験法・注解, 628-630,

金原出版.

6. 日本食品添加物協会技術委員会 (1991). 第一版化学的合成品以外の食品添加物リスト注解書, 339-356, 日本食品添加物協会.
7. 小若順一, 三宅征子 (1992). 生活衛生, 36, 3-10.

平成4年9月1日

農薬一回暴露後の血中濃度、尿中代謝物および 血中酵素活性の追跡的研究

中崎 美峰子 林 徹雄 佐藤 茂秋
大浦 栄次¹ 寺中正昭¹

A Follow-up Study on the Blood Pesticide Concentration, Urinary Metabolite Excretion and Serum Enzyme Activity after Single Exposure to Organophosphorus Pesticides

Mineko NAKAZAKI, Tetsuo HAYASHI, Shigeaki SATO,
Eiji OOURA¹ and Masaaki TERANAKA¹

要 旨 有機リン系農薬（ヒノバイジット粉剤）散布後の血中農薬濃度と尿中への代謝物の排泄、および血液生化学性状の推移を経時的に観察し、以下の結果を得た。

1. 血中農薬濃度は散布終了後1時間で最高となり、48時間後には検出限界以下となった。
2. 尿中代謝物の排泄は、1日目に多く次第に減少するが、3～4日目に再び増加がみられ、6日目にもまだ排泄されていた。
3. 代謝物の6日目までの総排泄量から、体内に吸収されたMPPは約50mgと推定された。これは、一日許容摂取量（ADI）の1000倍に近い量であった。
4. 血清中のコリンエステラーゼ活性は、散布終了直後から低下が観察され、一週間以上低下状態が続いた。

近代的農業にとって農薬使用は不可欠であり、富山県の主要作物である水稲に対しても多種、多量の農薬が使用されている。中でも大きな割合を占める有機リン系農薬は、低毒性とはいわれているが、生体影響が全く無いわけではない。我々はこれまでに農薬暴露量と生体影響の関係について、暴露量の指標として血液中の農薬及び尿中に排泄される代謝物を暴露前後において分析し、血液生化学性状の変化との関連について検討した。その結果、血中農薬濃度の高いものでトランスアミナーゼなどの酵素活性に上昇がみられたこと、尿中代謝物濃度と散布作業量、コリンエステラーゼ活性の低下について、相互

に相関関係が認められたことなどを報告した〔1, 2〕。今回、1回暴露後の農薬の消長と生体影響の推移を知る目的で、血中農薬濃度、尿中代謝物および血液生化学性状について経時的に測定し、若干の知見を得たので報告する。

材 料 と 方 法

健康な男性2名を被験者とし、動力散布機を用いて農薬を散布した。被験者の年齢はA；41歳、B；56歳であり、両者とも自宅の水田に年数回の農薬散

1. 富山県農村医学研究会

布を行なっている。今回の散布を行なった日は、その直前の散布から一週間以上間隔をあけて選んだ。散布した農薬はヒノバイジット粉剤25DLで、主成分はフェンチオン (MPP) 2.0%, エディフェンホス (EDDP) 2.5%である。この粉剤72kgを1.6 haの水田に散布した。作業時間は60分であった。なお、この散布作業中は、マスク等の防護具は着用しなかった。

血液は、散布直前、直後、1, 2, 3, 6, 12, 24, 48時間後の計9回採取し、MPPとEDDPをガスクロマトグラフ法 (FTD) により分析した。また前報 [2] と同様に、血液生化学項目についても分析した。尿は散布前2時間以内に一度採取したあと、散布後72時間 (3日後) までは随時別々にとり、その後144時間 (6日後) までは24時間毎の蓄尿とした。これらについて、MPPの代謝物であるDMPとDMTPを、ガスクロマトグラフ法 (FPD) により分析した。

[FTD-GC条件]

装置 : 島津GC-7A (FTD)

カラム : J&W DB-210 0.53mm φ × 30m (膜厚1 μm)

カラム温度 : 80°C → 昇温速度16°C/min → 235°C

注入口温度 : 230°C

キャリアガス : He 6ml/min

フレームガス : H₂ 3.5ml/min, 混合Air (N₂ : O₂ = 79 : 21) 150ml/min

[FPD-GC条件]

装置 : 島津GC-5A (FPD)

カラム : 3mm φ × 2m 2%OV101 (Gas ChromQ 80-100mesh)

カラム温度 : 200°C

注入口温度 : 230°C

キャリアガス : N₂ 25ml/min

フレームガス : H₂ 180ml/min, 混合Air (N₂ : O₂ = 79 : 21) 70ml/min

Table 1. Concentration of Pesticides in Blood

Time after dusting(hours)	MPP		EDDP	
	A ¹	B ²	A ¹	B ²
Before dusting	n. d.	n. d.	n. d.	2.3(ng/g)
0	7.4	7.6	6.6	4.6
1	18.0	8.0	11.3	6.1
2	7.4	6.1	3.8	3.8
3	6.5	4.0	4.1	3.7
6	2.2	3.3	3.9	5.2
12	2.4	3.0	2.0	2.6
24	1.5	1.8	n. d.	1.8
48	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
Biological half life	8.3	12.0	5.8	16.1(hours)

MPP: fenthion EDDP: edifenphos

¹ 41 year old male ² 56 year old male

n. d. <0.8ng/g

結 果

1. 血液中農薬濃度

血液中農薬の分析結果をTable 1 に示した。MPPは、被験者A, Bとも散布終了直後から検出された。1時間後にA, Bそれぞれ18.0, 8.0ng/gと最も高い値を示し、その後漸減して48時間後には検出限界以下となった。EDDPは、Aでは散布終了直後から検出され、1時間後に最高濃度 (11.3ng/g) となった後急速に減少し、24時間後には検出限界以下となった。一方Bでは、散布前にも検出され、散布後1時間で6.1ng/gと最高濃度を示し、48時間後には不検出であった。

血中からの農薬の消失速度の指標として、生物学的半減期 (BHL) を算出したところMPPではA, Bそれぞれ8.3と12.0時間であり、EDDPでは5.8と16.1時間であった。山中ら [3] の急性中毒事例

平成4年9月1日

での報告によると、MPPとよく似た構造のMEPのBHLは平均30時間、マラチオンで平均19時間であり、今回得られた値はこれらに比べてやや短かった。

2. MPPの尿中代謝物

ジメチルリン酸 (DMP) とジメチルチオリン酸 (DMTP) は、ジアルキルリン酸エステル型の農薬に共通の代謝物として、これらの農薬暴露の指標に用いられる。今回散布した農薬の成分のうち、MPPの代謝物としてDMP、DMTPを分析した。Fig. 1にDMP、DMTPの尿中濃度の推移を示した。散布後72時間までは6時間毎の、その後144時間までは24時間毎の、平均濃度をCre補正值で表した。代謝物は、散布後12時間前後に尿中濃度が最も高くなり、以後次第に低下するが、72時間ごろに再び上昇がみられた。そして散布後120時間を過ぎてもなお代謝物の排泄が続いていた。Fig. 2には代謝物の累積排泄量を示した。調査を行なった144時間までの総排泄量は、AではDMP4.6mg、DMTP2.1mgであり、Bではそれぞれ2.5mgと2.7mgであった。これらをもとのMPP量に換算すると、Aは

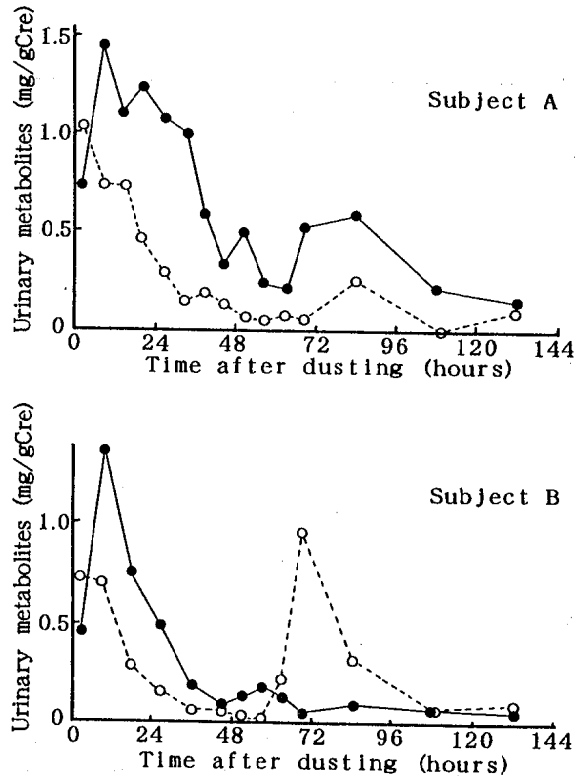


Fig. 1. Urinary Excretion Levels of Dialkylphosphate Metabolites

●: DMP ○: DMTP

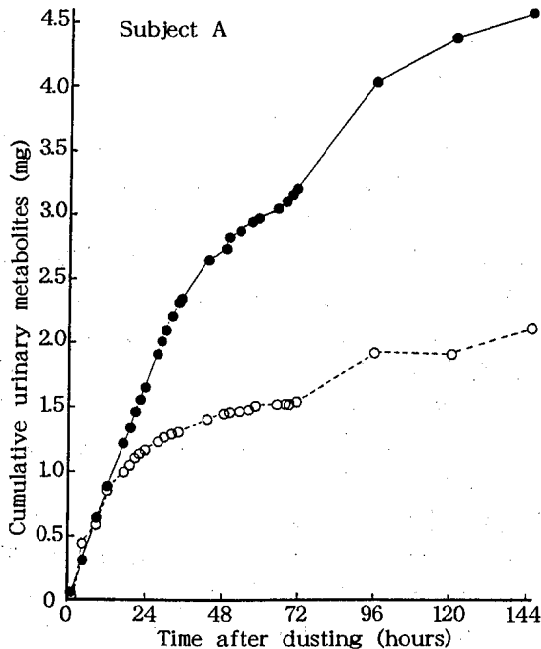


Fig. 2. Cumulative Urinary Excretion Amounts of Dialkylphosphate Metabolites

●: DMP ○: DMTP

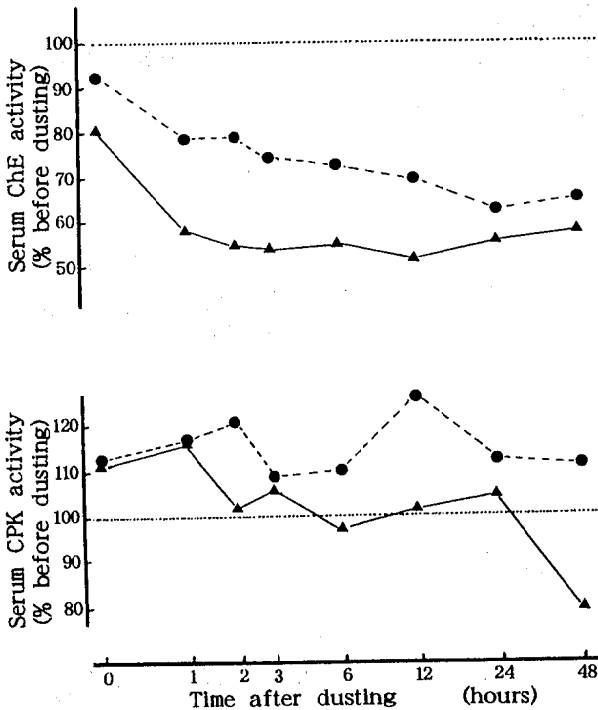


Fig. 3. Change in Serum Enzyme Activities after Dusting ▲: Subject A ●: Subject B

10.9mg, Bは8.4mgとなり、散布した全MPPの約15万分の1に相当する量であった。

3. 血清中酵素活性の変動

有機リン剤はコリンエステラーゼ (ChE) 活性を低下させることが知られているが、血清中のChE活性は、散布直後にすでに低下がみられ (Fig. 3) Aでは1時間後から48時間後まで、散布前の50~60%の状態がつづいた。Bは24時間後まで徐々に低下しつづけ、散布前の62.6%にまで低下した。血中から農薬が検出されなくなってもChE活性の低下状態は続いており、参考として測定した9日後においても、Aで72.8%, Bでは68.4%までしか回復していなかった。前回の調査では、農薬散布後の血清トランスアミナーゼや γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (γ -GTP), 乳酸脱水素酵素 (LDH), オルニチンカルバミルトランスフェラーゼ (OCT), クレアチンフォスフォキナーゼ (CPK), アルド

ラーゼ等に上昇傾向がみられ、肝、筋への影響が示唆された [2]。今回の調査では、CPKに散布後わずかに上昇がみられたものの、その他には農薬散布の影響をうかがわせるような変動を示したものはなかった。

考 察

一般に有機リン剤は、代謝排泄が速やかで、毒性は低いといわれている。今回、一回暴露後の血中農薬濃度の推移をみたところ、1時間後に最高濃度を示した後次第に減少し、48時間後には検出限界以下となった。一方尿中に排泄される代謝物は、散布後144時間 (6日後) にもなお検出された。このことから、吸収された農薬は、血中から消失した後も組織に残留し、代謝排泄が続いていたと考えられる。有機リン剤の残留性について、特に脂肪組織に高濃度に分布することが、動物実験や剖検例で報告されている [4, 5]。今後、農作業レベルの暴露についても、生体内残留に関する検討が必要と思われる。

被験者Bで散布前の血液にEDDPが検出されたが、2週間前に行なった散布の影響とは考えにくく、あるいは前日の準備作業中の暴露を示すものとも考えられるが、原因を特定することはできなかった。

尿中への代謝物の排泄は、はじめの24時間に多く次第に減少するが、散布後72時間前後、すなわち3日目の終わりから4日目ごろに、再び増加した。これは、一旦組織へ移行したものが徐々に放出されるのに加えて、より複雑な経路で代謝されたものが排泄されたためかもしれない。動物実験では、ほぼ3日で代謝物の排泄は終了しており、このような変動は観察されていない [6]。また、散布作業者についての断面調査 [7] でも、このような傾向はみられていない。

6日間での総排泄量は、DMPとDMTPを合わせてA6.6mg, B5.2mgであり、これはMPPに換算すると、それぞれ10.9mgと8.4mgに相当する量であった。しかし、体内に吸収されたMPPのすべてがDMP, DMTPとして排泄されるわけではないので、

平成4年9月1日

実際の吸収量はもっと多いと考えられる。奥野ら〔6〕は、家兎を用いた実験で、DDVPとMEPの2種の農薬について、投与量の20~40%に相当する量がDMP、DMTPとして排泄されたと報告している。そこで、MEPによく似た化学構造をもつMPPの場合も同様であると仮定すると、被験者2名が吸収したMPP量は、A27~55mg、B21~42mgと推定される。MPPの1日あたり許容摂取量(A DI)は0.001mg/kg〔8〕であるから、この吸収量はA DIの400~900倍に達する量ということになる。

今回の農薬散布では、散布後の自覚症状としては鼻や喉の粘膜に刺激を訴えたものの、頭痛、めまい、悪心、嘔吐といった急性中毒症状はみられなかった。しかし、血清中のChE活性は散布前の60%程度に低下しており、血中農薬濃度が高く、代謝物の排泄量も多かった被験者Aの方が、より低下割合が大きかった。また、散布から9日後でも散布前のレベルには回復しておらず、一旦低下したChE活性の回復には時間がかかることがわかった。

今回のように、1回だけの暴露であっても、マスク等の防護をしない場合には、A DIの数百倍もの農薬が吸収されたと考えられ、6日間以上にわたって尿中に代謝物の排泄が観察された。しかも血清のChE活性が低下し、その回復には時間がかかっていた。複数の農家から散布作業を請け負うような職業的な暴露では、さらに影響が大きいのと思われ、実際、前回行なった調査では、ChE活性が散布前のレベル

の20%にまで低下した例があった。毒性の低い農薬だからといって、大量に繰り返し散布を行なうことは、危険性を増大させることを認識し、マスク、手袋等の防護を徹底することが重要である。

文 献

1. 城石和子, 西淵富蔵, 堀井裕子, 新村哲夫, 大浦栄次, 川口京子, 寺中正昭 (1990). 富山衛研年報, 13, 177-182.
2. 城石和子, 中崎美峰子, 西淵富蔵, 大浦栄次, 寺中正昭 (1991). 富山衛研年報, 14, 160-163.
3. 山中すみへ, 西村正雄, 吉田 稔, 山村行夫, 山本保博 (1989). 日衛誌, 44, 116.
4. 山中すみへ, 西村正雄, 島田悦子, 吉田 稔, 山村行夫 (1987). 日衛誌, 42, 405.
5. 浅沼信治, 鈴木 彰, 黒沢和雄, 阿部栄四郎, 佐々木喜一郎 (1978). 農村医学, 27, 772-781.
6. 奥野俊博, 逸見希子, 村山ヒサ子 (1986). 兵庫県衛生研究所研究報告, 21, 16-24.
7. 斉藤 勲, 久長直見, 竹内康浩, 小野雄一郎, 岩田全充, 舛田和比古, 後藤雅博, 松本忠雄, 深谷幸生, 奥谷博俊, 関知次郎, 古池保雄 (1984). 産業医学, 26, 15-21.
8. 関沢 純編 (1991). 農薬の安全性評価データ集, P 104, 株式会社エル・アイ・シー.

中高年女性の血清中アルカリフォスファターゼ アイソザイムについて

田中 朋子 西野 治身 梶田 悦子¹ 伊木 雅之²

Serum Alkaline Phosphatase Isoenzyme in Middle-aged and Elderly Women

Tomoko TANAKA, Harumi NISHINO, Etsuko KAJITA¹
and Masayuki IKI²

要 旨 35歳以上の女性について、血清中のアルカリフォスファターゼ (ALP) のアイソザイムを測定し、以下の事がわかった。

1. 総ALP, 骨型ALPは, 30, 40歳代に比べ50歳代以上で高値を示した。
2. 非骨型ALPは, 加齢に伴い上昇傾向を示し, 60歳代は30, 40歳代に比し高かった。
3. 骨型ALP, 非骨型ALPはともに総ALPとよい相関を示したが, 骨型と非骨型の間には関連は認められなかった。

血清中のアルカリフォスファターゼ (ALP) には、肝、骨、小腸、胎盤等の臓器に由来するいくつかのアイソザイムがあることがよく知られており、電気泳動像によるアイソザイム分析は、障害臓器の推定や、病態解析に用いられてきた。しかし、肝型と骨型ALPは、電気泳動上きわめて近距離に泳動されるため、その分離は困難であった。最近、Rosalkiらにより、小麦胚芽レクチン (WGA) が骨型ALPと選択的に結合することが見いだされ [1]、両アイソザイムを分離することが可能になった。窪田らはこの方法をさらに改良し、自動分析装置による骨型ALPの測定を行っている [2]。そこで我々は、窪田らの方法に従って、血清中骨型ALPの測定法の応用を検討した。

一方、我々はこれまでに、尿中ヒドロキシプロリンが骨代謝の生化学指標として有用であることを明らかにした [3]。さらに、中高年女性について尿中ヒドロキシプロリンを調べたところ、50歳以

上で増加しており、骨代謝に変化がみられることもわかった [4]。そこで、今回は、中高年女性を対象に、血清中のALPアイソザイムの加齢による変化を調べ、骨代謝との関連を検討した。

対象及び方法

対象は、福井県内の2地区に住む寝たきりや入院患者を除く、健常な女性188名 (35~81歳) である。WGA処理については、窪田らの方法 [2] に従い、以下の手順で行った。

血清50 μ lにTriton X-100の20%溶液を5 μ l加え、37°Cで30分加温の後、レクチン溶液 (139 μ mol/ml) を50 μ l添加、さらに、30分37°Cで加温し冷蔵庫内で一晚放置し、2,000Gで15分遠心の後、上清はそのまま、沈殿はSDS溶液にて溶解させ、測定に用いた。前処理の概要をFig. 1に示した。

平成4年9月1日

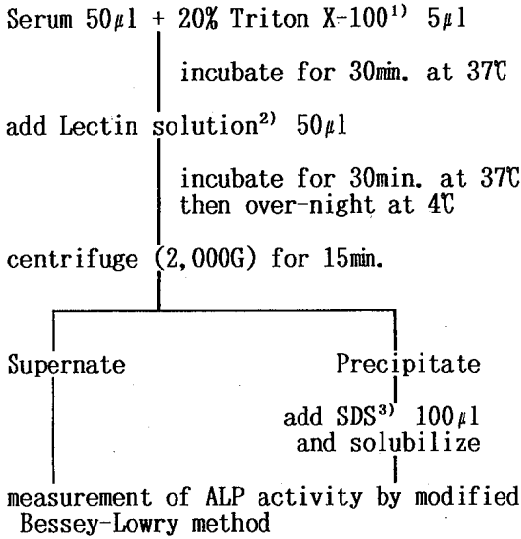


Fig.1. Precipitation Procedure of Bone ALP by Lectine

- 1) Isoetylphenoxypolyethoxyethanol, 2ml/dl in distilled water
- 2) Wheat germ lectin solution, 139µmol/ml in distilled water
- 3) Sodium dodecyl sulfate, 35mmol/L in 154mmol/L NaCl

酵素活性は、血清中の総ALPと同様に、テクニコンSSR-XTを用い、Bessey-Lowry法により測定した。

結 果

沈澱中のALPを骨型ALP、上清中のALPを非骨型ALP (NB-ALP) とした。総ALP (T-ALP) からNB-ALPを差し引いたものと、沈澱中のALPが等しくなるかどうか検討したところ、両者は $Y=X$ の式にのったよい相関を示した ($r=0.99$, Fig. 2)。そこで、T-ALPからNB-ALPを差し引いたものを、骨型ALP (B-ALP) とし、以下の検討をおこなった。35歳以上の中高年女性における各年代別のT-ALP、B-ALP、NB-ALP、さらに、T-ALPに占めるB-ALP

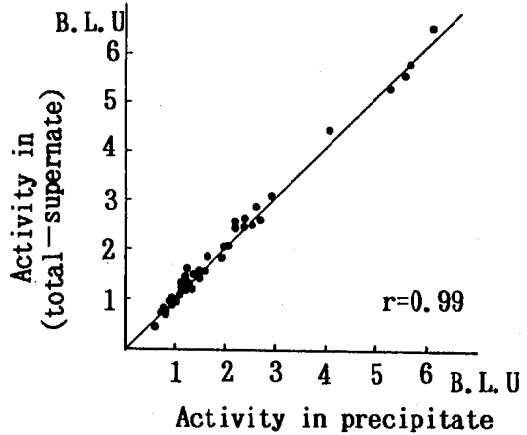


Fig.2. Alkaline Phosphatase Activity in Precipitate and that by Subtracting the Activity in Supernate from the Total

の割合 ($B-ALP/T-ALP \times 100$) を算出し、Table 1 に示した。

T-ALP は、最高3.9BL単位、最低0.7BL単位、平均1.9BL単位であった。各年齢階層を30歳代と比較すると、40歳代との間には差はみられなかったが、50歳代は高く ($p < 0.001$)、それ以上の年代も高値を示した。

B-ALPについては、最高、最低、平均がそれぞれ2.8、0.3、1.3BL単位であった。また、年齢階層別にみると、40歳代は30歳代と変わらなかったが、50歳代では30歳代に比し高く ($p < 0.001$)、60歳以上も高値を示した。

NB-ALPについては、2.8BL単位が最高値、0.1BL単位が最低値であり、平均は、1.3BL単位であった。NB-ALPは加齢によりやや高くなる傾向を示し、60歳代は30歳代、40歳代に比し高値であった ($p < 0.05$, $p < 0.01$)。

B-ALPのT-ALPに占める割合は26.5%~96.5%まで幅広く分布し、平均69.1%であった。また、30歳代に低値を示した者が数名みられたが、全体としては、加齢によって低下傾向を示した。

Table 1. Alkaline Phosphatase Activity in Various Age Groups

Age group	Number	T-ALP (B. L. U)	B-ALP (B. L. U)	NB-ALP (B. L. U)	(B-ALP/T-ALP)×100 (%)
35~39	14	1.3±0.28	0.9±0.31	0.5±0.27	65.6±20.1
40~49	27	1.4±0.37	1.1±0.29	0.5±0.20	72.3±11.3
50~59	60	2.1±0.56***	1.5±0.47***	0.6±0.24	70.7±10.9
60~69	64	2.1±0.52***	1.4±0.42***	0.7±0.33*	67.7±12.5
70~81	23	2.0±0.47***	1.4±0.32***	0.7±0.35	66.8±11.0
Total	188	1.9±0.56	1.3±0.45	0.7±0.30	69.1±12.4

***, * Significantly different from the 35-39 age group, *** p<0.001 *p<0.05
 T-ALP Total alkaline phosphatase, B-ALP Bone type alkaline phosphatase
 NB-ALP None bone type alkaline phosphatase

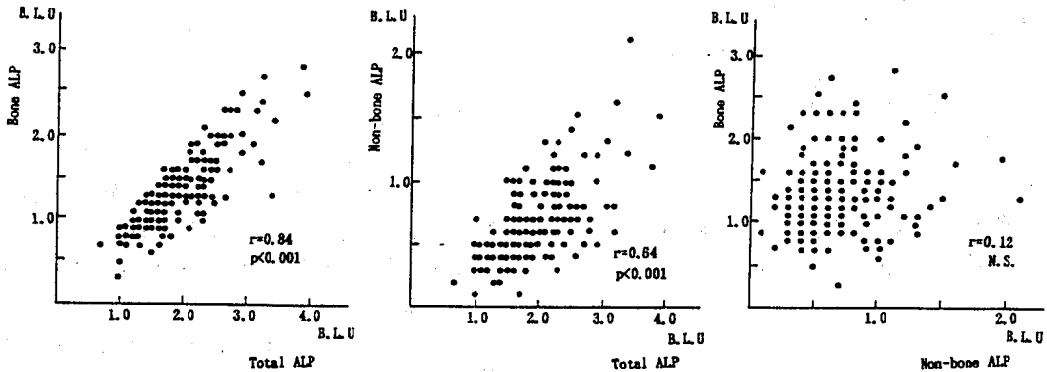


Fig. 3. Relationship between any of the Two among Total, Bone and Non-bone ALPs

各項目間の関連は、T-ALPはB-ALP、NB-ALPとそれぞれよい相関 ($r=0.837, 0.640, p<0.001$) を示すが、B-ALPとNB-ALPの間には関連はみられなかった (Fig. 3)。

考 察

骨型ALPと肝型ALPは、電気泳動支持体中に

WGAを添加することにより、分離することが可能になったが、電気泳動法は操作が煩雑である事や、熟練した技術が必要な事等から、多数の検体処理には不向きである。しかし、今回用いた方法は、自動分析装置を用いるため、多数の検体処理が可能である。さらに、沈殿を再溶解させる操作を省略し、総ALPから上清中のALPを差し引いたものを骨型ALPとするため、より簡便に測定することができた。

平成4年9月1日

T-ALPについては、20～40歳代の女性に比べ、50歳以上では高くなることが判っているが〔5〕、今回の調査でも同様に50歳代以上は高値を示した。

B-ALPは、今回の調査により、50歳代から高くなることがわかった。桑名らはWGA処理電気泳動法により、健常者の骨型ALPを調べ、女性では50歳代で上昇することを認めており〔6〕、我々の結果はこれと同様であった。女性では、閉経後に骨粗しょう症患者が急増するといわれ、内分泌の変化による骨代謝異常が推測されている〔7〕。B-ALPの上昇はこの時期と一致しており、50歳代における骨の変化を反映していると考えられる。骨代謝の生化学指標のひとつである尿中ヒドロキシプロリンとの関連については、本所報で西野〔8〕が報告しているが、今後、他の骨代謝指標との相互の関係についても調査する予定である。

NB-ALPは、主に肝臓由来の酵素が多いと考えられる〔9〕。今回の調査では、加齢に伴う上昇傾向は認められたが、B-ALPと異なり、50歳代での急激な上昇はみられなかった。また、NB-ALPはB-ALPと相関せず、独自に変動するものと考えられる。今後、他の生化学検査データとの関連についても調査検討したい。

B-ALPのT-ALPに占める割合は、レクチン処理による方法では60～70%であったという報告がある〔2, 6〕。今回の調査では、ほとんどが60～80%の範囲にあり、これらの報告と同様骨型の割合が多かった。しかし、耐熱性の違いによって分離した場合の骨型ALPと肝型ALPの割合は、ほぼ1

:1であるという報告がある〔10, 11〕。2つの方法でその割合が異なる原因は不明であるが、ALPアイソザイムについて解析する際には、測定法の違いにより、肝型と骨型の割合が異なることに留意する必要があるものと思われる。

文 献

1. Rosalki, S. and Foo, A.Y.(1984). Clin. Chem., 30, 1182-1186.
2. 窪田一男 (1989). J. Nara Med. Ass. 40, 202-217.
3. 西野治身, 田中朋子, 城石和子, 鏡森定信, 成瀬優知, 渡辺正男 (1989). 富山衛研年報, 12, 186-188.
4. 西野治身, 梶田悦子, 伊木雅之, 城石和子, 緒方昭 (1991) 富山衛研年報, 14, 164-169.
5. 齊藤正行, 大谷秀樹 (1985). 日本臨床, 43, 秋期臨時増刊号, 19-28.
6. 桑名友美, 杉田 収, 屋形 稔 (1987). 臨床病理, 35, 1264-1268.
7. 五十嵐正雄 (1992). 医学のあゆみ, 160, 122-126.
8. 西野治身, 田中朋子, 梶田悦子, 伊木雅之 (1992) 富山衛研年報, 15, 156-160.
9. 飯野四郎 (1988). 臨床検査MOOK, 31, 30-42.
10. Hitz, J.(1980). Clin. Chim. Acta. 107, 203-210.
11. Whitaker, K.B.(1977). Clin. Chim. Acta. 80, 209-220.

中高年女性における骨代謝指標の相互関連
—尿中ヒドロキシプロリンと血清中骨型
アルカリフォスファターゼの検討—

西野 治身 田中 朋子 梶田 悦子¹
伊木 雅之² 緒方 昭²

Correlation between Urinary Hydroxyproline and
Serum Bone Alkaline Phosphatase in Middle-aged
and Elderly Women

Harumi NISHINO, Tomoko TANAKA, Etsuko KAJITA¹,
Masayuki IKI² and Akira OGATA²

要 旨 中高年女性における尿中ヒドロキシプロリン (Hyp) と血清中骨型アルカリフォスファターゼ (ALP) の変動ならびに相互関連を検討し、次の結果を得た。

1. Hypは、50歳、60歳代で有意に高値を示し、血清中骨型ALPは、50歳、60歳代に加え70歳代でも高い値を示した。
2. Hypの増加と骨型ALPの上昇との間には密接な関係が認められ、特に50歳代で顕著であった。
3. 50歳代におけるHypと骨型ALPの増加は、閉経後60か月以上経過した者に有意であった。

骨粗しょう症やねたきり予防の見地から、我々は骨代謝の生化学指標として、尿中ヒドロキシプロリン (Hyp) の有用性を検討してきた。これまでの調査により、尿中Hypは、骨粗しょう症患者の方が歩行可能な老人 (いずれも女性) より増加していることが判明し、骨吸収の程度を反映する指標になりうると考えられた [1]。さらに、中高年女性について尿中Hypを測定したところ、50歳代の閉経後に増加していることがわかり、健康な女性においても尿中Hypは骨吸収の指標として有用と考えられた [2]。一方、骨形成の指標とされている血清中骨型アルカリフォスファターゼ (ALP) は、従来、肝由来のアイソザイムとの分離が困難であったため、正確な測定ができなかったが、最近両者の分離が可能になり [3]、我々はこの方法の応用について検

討した [4]。そして、尿中Hypに加え血清骨型ALPを測定し、各々の変動から、中高年女性における骨吸収と骨形成の相互の関連を明らかにするため、検討を行なった。

対象および方法

対象は昨年度の報告 [2] と同一地区の福井県山間部農村地区の35歳以上の女性91名であるが、今回はそのうち、早朝尿、血液がともに採取できた86名について検討した (Table 1)。

尿中Hypは、尿を6規定塩酸酸性下115°Cで一晩加水分解後、池田らの方法 [5] に従い中和処理を行い、Bergman-Loxley法に準じて定量した。血清

Table 1. Age Distribution of Subjects

Age	35y-	40y-	50y-	60y-	70y-	Total
Numbers	11	16	29	19	11	86
(%)	(13)	(18)	(34)	(22)	(13)	(100)

中骨型ALPは、血清に小麦胚芽レクチンを加えて骨型アイソザイムを沈殿分離する方法[4]で測定した。クレアチニン(Cre)の測定はFolin-Wu法に従った。

結 果

Table 2に、10歳毎の年齢階級別尿中Hyp濃度と血清中骨型ALP活性を、平均値と標準偏差で表した。Hyp濃度(mg/l)は、30歳代に比べ50歳代で有

Table 2. Urinary Hydroxyproline(Hyp) and Serum Bone Alkaline Phosphatase (B-ALP) by Age Groups

Age	N	Hyp (mg/l)	Hyp/c (mg/gCre)	B-ALP (BLU)
35-39y	11	23.6±11.2	26.8±6.1	0.94±0.29
40-49y	16	20.2±8.5	29.6±12.2	1.10±0.27
50-59y	29	34.5±14.9*	37.0±11.1**	1.50±0.44***
60-69y	19	21.4±6.3	37.5±16.3*	1.42±0.39**
70y-	11	19.6±7.4	38.2±18.6	1.37±0.26**

(Mean±SD)

*, **, *** ; Significantly different from the 35-39y group at p<0.05, p<0.01 and p<0.001, respectively

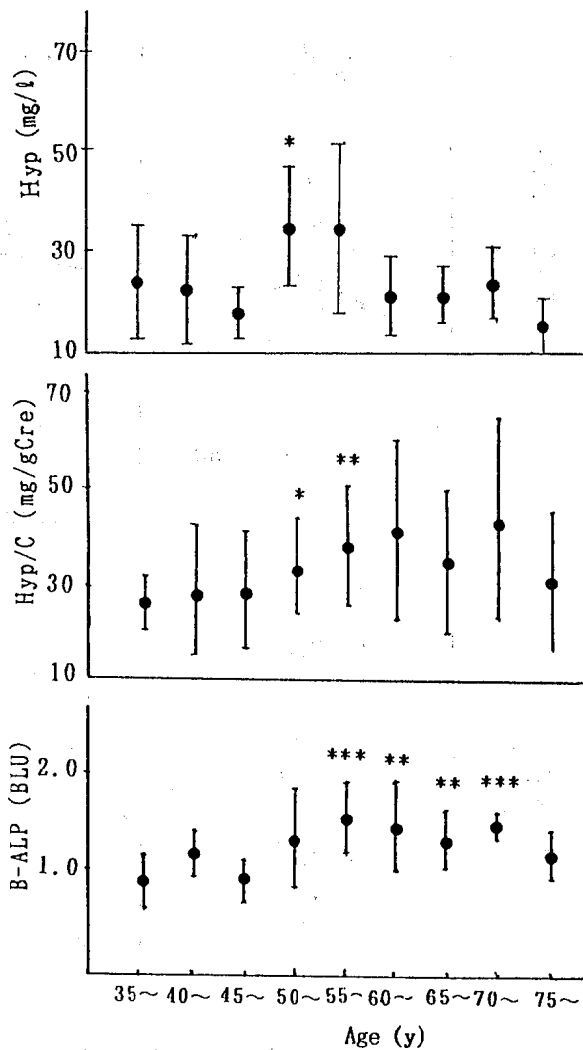


Fig.1. Urinary Hydroxyproline and Serum Bone Alkaline Phosphatase by Age Groups
*, **, *** ; Significantly different from the 35-39y group, p<0.05, p<0.01 and p<0.001, respectively

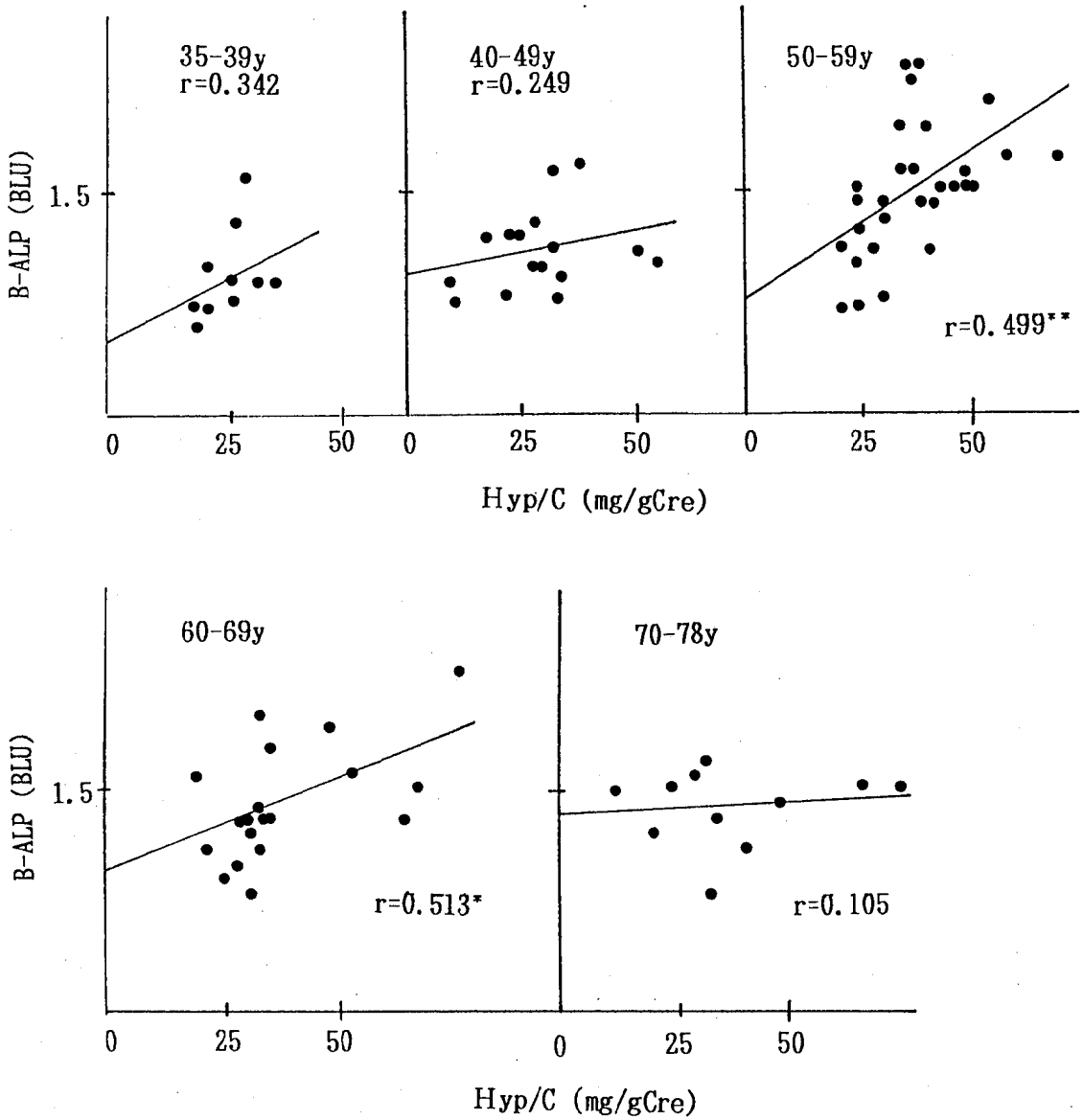


Fig.2. Relationship between Urinary Hydroxyproline and Serum Bone Alkaline Phosphatase by Age Groups
* p<0.05, ** p<0.01

Table 3. Correlation Coefficients between Urinary Hydroxyproline and Serum Bone Alkaline Phosphatase by Age Groups

Age	Hyp _{vs} B-ALP	Hyp/C _{vs} B-ALP
35-39y	0.286	0.342
40-49y	0.107	0.249
50-59y	0.559**	0.499**
60-69y	0.151	0.513*
70y-	0.149	0.105
Total	0.429***	0.464***

* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

意に高値を示し、Cre補正によりさらに60歳代でも高い値を示すことがわかった。骨型ALPは、50歳、60歳代で高値を示したのに加え、70歳代でも有意に高い値を示した。このように、Hypと骨型ALPはいずれも50歳代の同年代で高い値が認められた。ところが、5歳毎の年齢階級別にみると (Fig. 1), Hyp濃度 (mg/l) は50歳代前半 (50~54歳) で有意に高く、Cre補正值 (mg/gCre) でも50歳代前半で増加していたが、血清骨型ALP活性は、50歳代前半では有意な上昇がみられず、後半 (55~59歳) で上昇していた。このことから、両指標の変動する時期がずれているのではないかと思われた。次に、両指標の相互関連を検討した (Table 3)。Cre補正の有無にかかわらず、Hyp濃度と骨型ALP活性の間には、 $r=0.429$ ($p<0.001$), $r=0.464$ ($p<0.001$, Cre補正) と高い正の相関がみられた。年齢階級別にみると、30歳、40歳代の若年層では相関がみられず、50歳代において高い相関が認められた。

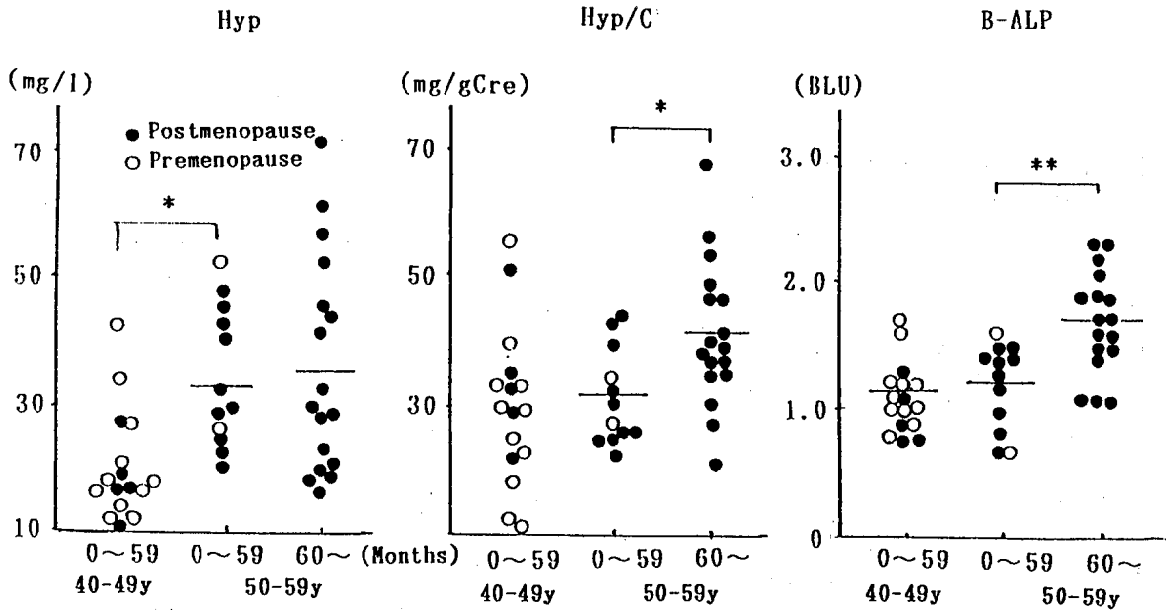


Fig.3. Urinary Hydroxyproline and Serum Bone Alkaline Phosphatase by Postmenopausal Periods

*, ** ; Significantly different, $p<0.05$, $p<0.01$, respectively

Cre補正值では、60歳代においても関連性がみられた (Fig. 2)。

以上の結果から、50歳代女性では、骨代謝に変化が生じている可能性が考えられた。また、この年代は閉経期に相当し、閉経による影響は無視できないと思われた。そこで、年齢要因を極力除くため、40歳と50歳代の同年代毎に、閉経後の月数別Hypと骨型ALPの分布を調べた。Fig. 3に示すように、40歳代ではHyp濃度と骨型ALP活性はいずれも閉経前後の間に有意差がなく、その影響は明らかではなかった。50歳代については、閉経後60か月を境に2群に分けて検討した [2]。Hyp(mg/l)は59か月以下で、閉経後の40歳代より増加していたが、Cre補正值では、閉経後の40歳代と有意差はみられなかった。しかし、閉経後60か月以上経過した50歳代では増加がみられた。骨型ALPについても同様な傾向が認められた。

形成も刺激された可能性が考えられた。ALPは、骨の成長と関係があり、小児では成人より高値を示すことが知られている [6] が、今回の調査で高齢者でも高くなることがわかった。

閉経との関連では、Hyp (mg/l) は50歳代の閉経後59か月以下でも増加していたが、Cre補正值では60か月以上、即ち5年以上経過した時点で、骨型ALPとともに増加が認められた。これは、ねたきり老人のHyp増加が、ねたきり期間1年未満で観察された [7] のに比べると、増加までの期間が長いと判断された。この期間の違いは、生体側の反応が、外からの要因に対する場合と、体内での要因に対する場合とで、異なることを示すのかもしれない。

また、骨型ALPが、70歳代の高齢者においても上昇し、骨の形成機能に継続的に刺激が加わっている可能性が推測された。その臨床的意義については明らかではないが、興味ある知見であり、今後さらに検討したい。

考 察

これまでの我々の研究により、尿中Hypは骨吸収の亢進状態を反映する指標として有用であることが実証された。一方、血清中骨型ALPは、骨芽細胞に多量に存在することから、骨形成と深い関連があると考えられている。

そこで著者らは、これら両指標の変動と相互関連を明らかにすることにより、中高年女性における骨代謝回転を推測しようと考えた。

尿中Hypおよび血清中骨型ALPはともに、50歳代で30歳代に比べ著しく増加し、かつ相互に密接な関係があることが判明した。従って、骨代謝の生化学指標をとおしてみた場合、50歳代女性では、30歳代より、骨代謝回転が亢進しているのではないかと考えられた。5歳毎の年齢階級別にみると、50歳代のなかでも、尿中Hypは前半で既に増加しているのに対し、骨型ALPは後半で上昇していることがわかり、骨吸収が著しく亢進したために、二次的に骨

文 献

1. Nishino, H., Tanaka, T., Shiroishi, K., Sato, S., Naruse, Y., and Kagamimori, S. (1991). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 47, 609-616.
2. 西野治身, 梶田悦子, 伊木雅之, 城石和子, 緒方昭 (1991). 富山衛研年報, 14, 164-169.
3. Rosalki, S.B. and Foo, A.Y. (1984). Clin. Chem., 30, 1182-1186.
4. 田中朋子, 西野治身, 梶田悦子, 伊木雅之 (1992). 富山衛研年報, 15, 152-155.
5. 池田真吾, 大澤誠喜, 鈴木孝人, 加納亮子, 溝口勲 (1987). 東京衛研年報, 38, 277-281.
6. 坂野四郎 (1985). 日本臨床, 43, 秋季臨時増刊号, 159-162.
7. 西野治身, 田中朋子, 城石和子, 鏡森定信, 成瀬優知, 渡辺正男 (1989). 富山衛研年報, 12, 185-188.

平成4年9月1日

富山県住民の血清尿酸値
—生活習慣、疾病との関連について—

堀井裕子 田中朋子 中崎美峰子
西野治身 林 徹雄

Serum Levels of Uric Acid in Inhabitants
of Toyama Prefecture
—The Relation to the Life Style and
the Past Medical History—

Yuko HORII, Tomoko TANAKA, Mineko
NAKAZAKI, Harumi NISHINO
and Tetsuo HAYASHI

要旨 富山県内11地区住民について、血清尿酸値の変動に関わりがあるとされる生活習慣、疾病、栄養摂取状況と血清尿酸値との関連を解析したところ、次の結果が得られた。

1. 飲酒習慣のある男性では尿酸値が高く、飲酒量が多いほど高値を示す傾向があった。また、酒の種類別では日本酒とビールの両方を摂取した者が高かった。女性についても、飲酒習慣のある者は尿酸値が高かった。
2. 喫煙習慣、生活活動強度や運動状況と尿酸値の間には関係はみられなかった。
3. 既往症との関連は、男性では糖尿病および肝疾患の尿酸値が低値を示した。女性では50歳以上の高血圧者の尿酸値が高い傾向にあった。

我々はこれまでに、富山県住民の血清尿酸レベルを調べ、肥満や脂質代謝の他、肝機能、腎機能とも関わりのあることを明らかにした。また、漁業者では飲酒習慣と関連のあることがわかった。そこで、今回は富山県住民について、飲酒習慣のほか、新たに喫煙、運動等の生活習慣についても検討し、栄養摂取状況についての解析もあわせて行なった。

対象及び方法

対象は県内11地区〔1〕における12歳以上の767名（男性317名、女性450名）のうち、栄養摂取状況、

身体状況、生活状況の調査で回答の得られた20歳以上の456名（男性192名、女性264名）である。

調査方法は、栄養摂取状況、身体状況調査は聞きとり方式、生活状況はアンケート方式により行なった。尿酸と比較検討した項目は、血圧降剤使用の有無、飲酒・喫煙習慣の有無（喫煙については本数）、調査当日の飲酒量と酒の種類、生活活動強度、運動の実施状況とその種類、過去2～3年の既往症である。栄養素別摂取量については、総エネルギー、総蛋白、動物性蛋白、総脂質、炭水化物の5項目について検討した。

尿酸はUricase EHSPT法により測定した。

結 果

I 血圧降下剤について

血圧降下剤使用の有無と尿酸値との関係のみた (Table 1)。血圧降下剤使用者は男女共に高年齢層に多く、男性の83%が50歳以上、女性では93%が50歳以上であった。男性の尿酸値は20歳以上ではほぼ一定と考え [2], 全年齢層を合わせて検討した。女性は閉経期を境に尿酸値が上昇するため [2], 49歳以下と50歳以上に分けた。

男性では、血圧降下剤使用の有無で尿酸値に違いはみられなかった。女性については、50歳以上で、血圧降下剤使用者の尿酸値が高かった (p<0.001)。高尿酸血症者 (男性7 mg/dl, 女性6 mg/dl以上) の出現率は、男女共に血圧降下剤使用の有無による違

いはみられなかった。しかし、一般には、血圧降下剤の使用は尿酸値を上昇させるといわれており [3], 本調査も、50歳以上の女性では血圧降下剤使用者の尿酸値は上昇していた。今回は、尿酸値に変化がみられなかった男性や49歳以下の女性についても、血圧降下剤の影響の可能性をなくするために、以下のII~IVの検討は血圧降下剤使用者を除いた391名 (男性168名, 女性223名) について行なった。

II 飲酒・喫煙について

飲酒習慣のみの者を“飲酒”, 喫煙習慣のみの者を“喫煙”, 飲酒と喫煙の両習慣がある者を“飲酒+喫煙”, 習慣のない者を“習慣なし”とし、これらの尿酸値をTable 2に示した。男性は、約60%が飲酒習慣や喫煙習慣を持ち、30~50歳代に多かった。女性では、4%が飲酒習慣を持ち、その半数以上は

Table 1. Serum Levels of Uric Acid and Incidence of Hyperuricemia in Relation to the Use of Hypotensor

Sex	Serum uric acid(mg/dl)			Hyperuricemia			
	Male		Female		Male	Female	
	20~85 N. Mean±S.D.	20~49 N. Mean±S.D.	50~92 N. Mean±S.D.	20~85 N. (%)	20~49 N. (%)	50~92 N. (%)	
Yes	24 5.8±1.00	3 4.1±0.91	38 5.2±1.0	4 (17)	0 (0)	6 (16)	
No	168 5.7±1.38	131 4.0±0.90	92 4.4±0.9	26 (16)	5 (4)	10 (11)	

N. Number, S.D. Standard deviation
*** p<0.001 Statistical differences by t-test

Table 2. Serum Levels of Uric Acid and Incidence of Hyperuricemia in Relation to the Habits of Drinking and Smoking

Sex	Serum uric acid(mg/dl)			Hyperuricemia			
	Male		Female		Male	Female	
	20~85 N. Mean±S.D.	20~49 N. Mean±S.D.	50~92 N. Mean±S.D.	20~85 N. (%)	20~49 N. (%)	50~92 N. (%)	
Drinking	35 5.9±1.33	6 4.8±0.75	1 6.7	7 (20)	1 (17)	1 (100)	
Smoking	36 5.8±1.22	3 3.9±0.89	3 5.3±1.86	8 (22)	0 (0)	1 (33)	
Drinking+Smoking	60 5.7±1.53	2 3.9	0	10 (17)	0 (0)	0 (0)	
No habit	37 5.3±1.28	120 4.0±0.90	88 4.3±0.90	1 (3)	4 (3)	8 (9)	

* p<0.05 ★ p<0.05 Statistical differences by x²-test

平成4年9月1日

30歳代であった。喫煙についても4%に習慣があり、20~70歳代まで幅広い年代にみられた。飲酒、喫煙の両習慣を持つ者が、男性で36%、女性で1%いた。血清尿酸値は、男性では、いずれかの習慣がある者が高い傾向にあり、“飲酒”は有意に高値を示した($p < 0.05$)。女性では、49歳以下の“飲酒”の尿酸値は高値を示した($p < 0.05$)。また、高尿酸血症の出現率は、男性の“喫煙”で高かった($p < 0.05$)。

次に飲酒量、酒の種類と尿酸値との関係を見た。女性では飲酒習慣のある者が少なかったため、男性についてのみ検討した。飲酒量については調査当日の一日の調査なので、飲酒習慣がないにもかかわらず酒類を摂取していた者が5名おり、それを除いた68名を“非飲酒者”とした。又、飲酒習慣を持つ者で、当日酒を飲んでた者49名を“飲酒者”とした。これらの飲酒量を日本酒に換算し、1日360ml以下の者を“軽度飲酒者”、360mlを超えるものを“高度飲酒者”とし、各群の尿酸値を比較した(Fig. 1)。各群で尿酸値に有意な差はなかったが、“非飲酒者”(尿酸値 5.5 ± 1.3 mg/dl)に比べ“軽度飲酒者”は 5.9 ± 1.5 mg/dl(40名)、“高度飲酒者”は 6.4 ± 2.1 mg/dl(9名)と、飲酒量の多い者が高値を示す傾向があった。酒の種類については飲酒者のほとんどが日本酒を飲んでおり(44名、90%)、ビールが9名(18%)で、日本酒とビールの両方を飲んでいた者が6名(12%)いた。日本酒のみ飲んでいた者を“日本酒”、ビールのみ飲んでいた者を“ビール”、両方飲んでいた者を“日本酒+ビール”とし、酒の種類別に尿酸値をみた(Fig. 2)。“非飲酒者”に比べ“日本酒”(尿酸値 5.7 ± 1.3 mg/dl)、“ビール”(5.8 ± 1.7 mg/dl)については差がなかったが、“日本酒+ビール”は 8.1 ± 2.4 mg/dlと高値を示した($p < 0.05$)。さらに、高尿酸血症者の出現率も83.3%(6名中5名)で、非飲酒者の13.2%(68名中9名)に比べ高かった($p < 0.001$)。

次に、喫煙量と尿酸値との関連を見た(Fig. 3)。女性では喫煙習慣者が少なかったため男性についてのみ検討した。喫煙習慣者をタバコの本数別に分け、非喫煙者と比較したが、尿酸値、高尿酸血症の出現数共に違いはみられなかった。

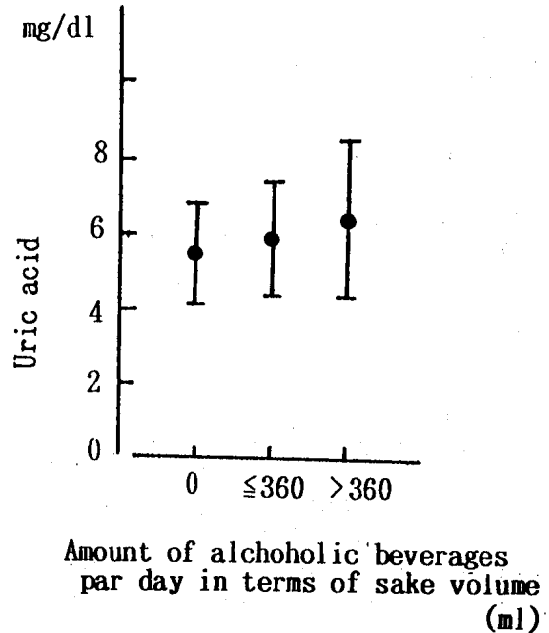


Fig.1. Serum Levels of Uric Acid in Relation to the Intake of Alcoholic Beverages

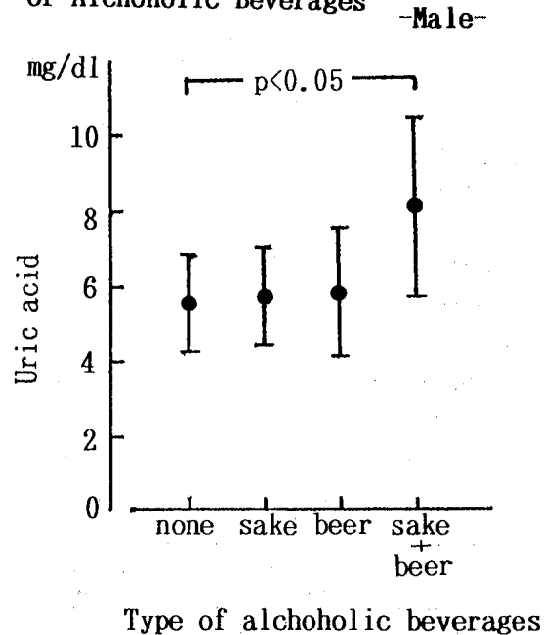


Fig.2. Serum Levels of Uric Acid in Relation to the Type of Alcoholic Beverages

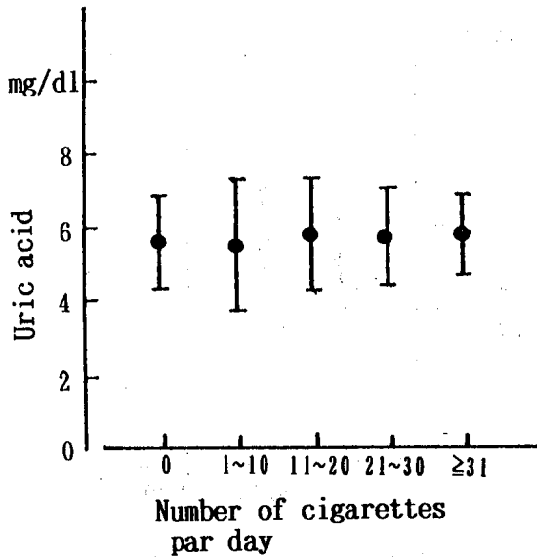


Fig.3 Serum Levels of Uric Acid in Relation to the Smoking Habit -Male-

III 生活活動強度, 運動状況について

生活活動強度は“ I 軽い”, “ II 中等度”, “ III やや重い”, “ IV 重い”の4段階に分けた。これらの日常生活の内容は, “ I 軽い”は1時間程度の歩行の他は大部分座位の場合, “ II 中等度”は2時間程度の歩行の他に立位時間の多い場合, “ III やや重い”は1日のうち1時間程度は重い筋作業に従事している場合, “ IV 重い”は1日のうち2時間程度は重い筋作業に従事している場合である。各強度での尿酸値をみると, 男性の“ IV 重い”が“ II 中等度”より低値を示した ($p < 0.05$, Table 3)。

運動の実施状況を, “ やらない”, “ 週1~2回”, “ 週3~4回”, “ 毎日”の4段階に分け尿酸値をみたが, 関係はみられなかった (Table 4)。運動の種類では歩行・散歩をする者が, 男性27名 (36%), 女性38名 (46%) で最も多く, ラジオ体操, ゲート

Table 3. Serum Levels of Uric Acid and Incidence of Hyperuricemia in Relation to the Intensity of Living Activity

Sex	Serum uric acid(mg/dl)			Hyperuricemia								
	Male		Female	Male		Female						
	20~85	20~49	50~92	20~85	20~49	50~92						
Intensity of living activity	N.	Mean±S.D.	N.	Mean±S.D.	N.	Mean±S.D.	N.	(%)	N.	(%)	N.	(%)
I light	46	5.5±1.03	39	4.2±0.92	40	4.5±1.19	4	(9)	3	(8)	6	(15)
II medium	81	5.8±1.40	69	4.0±0.90	38	4.3±0.8	16	(20)	2	(3)	3	(8)
III fairly heavy	37	5.6±1.67 *	19	4.0±0.82	14	4.3±0.7	6	(16)	0	(0)	1	(7)
IV heavy	4	4.4±0.99	4	3.3±0.87	0		0	(0)	0	(0)	0	(0)

* $p < 0.05$

Table 4. Serum Levels of Uric Acid and Incidence of Hyperuricemia in Relation to the State of Exercise

Sex	Serum uric acid(mg/dl)			Hyperuricemia								
	Male		Female	Male		Female						
	20~85	20~49	50~92	20~85	20~49	50~92						
Age(year)	N.	Mean±S.D.	N.	Mean±S.D.	N.	Mean±S.D.	N.	(%)	N.	(%)	N.	(%)
No-Exercise	92	5.7±1.14	89	4.0±0.85	52	4.3±0.95	14	(15)	3	(3)	4	(8)
1-2day/week	41	5.6±1.63	23	4.1±1.08	11	4.7±1.22	8	(20)	1	(4)	2	(18)
3-4day/week	10	6.0±1.21	4	3.8±0.57	7	4.4±1.63	2	(20)	0	(0)	2	(29)
Every day	25	5.5±1.81	15	4.0±0.99	22	4.3±0.64	2	(8)	1	(7)	2	(9)

平成4年9月1日

ボール, 自転車, テニスをする者もそれぞれ2~4名みられた。しかし, これらと尿酸値の間にも関連は認められなかった。

IV 既往症について

調査した疾患は“高血圧”, “心疾患”, “糖尿病”, “肝疾患”, “腎疾患”で, それ以外を“その他”とし, 健康と答えた者を“既往なし”とした。既往のあった者は男性54名(33%), 女性57名(26%)で, 最も多かった疾患は男女共に高血圧(男性17名, 31%, 女性13名, 23%)であった。複数の疾患をもつ者が男性1名, 女性5名おり, これらを除いて, 各疾患ごとに尿酸値を示した(Table 5)。男性では“既往なし”に比べて“糖尿病”, “肝疾患”の尿酸値が低値を示したが($p < 0.05$), 高尿酸血症の出現率に違いは認められなかった。女性では49歳以下については尿酸との関連はなかったが, 50歳以上の“高血圧”で尿酸値が高い傾向を示し, 高尿酸血症者も多くみられた($p < 0.05$)。

V 栄養摂取状況について

各栄養素の年齢層別の摂取量をTable 6 および7に示した。栄養素と血清尿酸値との検討には, 栄養摂取状況データの得られた20歳以上の全対象者639名(男性254名, 女性385名)を用いた。各項目の摂

取量は男女共加齢に伴い低下し, 70歳以上では60歳代に比し有意に低値を示した。そこで, 男性については, 20~69歳と70歳以上の2つのグループに, 女性は20~49歳と50~69歳, 70歳以上の3グループに分け尿酸との関連を検討した。しかし, どのグループについても各項目と尿酸値との間には相関は認められなかった。

考 察

飲酒について

飲酒が尿酸値を高くすることは一般にいわれている[4]。我々も, これまで, 飲酒量が多い者の尿酸値は高いことを報告している[5]。しかし, 飲酒量そのものが尿酸値を上昇させることは別に, 酒の種類によっても尿酸値に与える影響が異なることが判ってきた[6]。ビール大ビン1本の飲用により6.7mg/dlから7.3mg/dlへ尿酸値の上昇を認めたという報告や[7], 痛風患者にはビールを好む者が多いこと[8]も報告されている。今回, “日本酒+ビール”の尿酸値が高かったのは, 主に, 飲酒量が多かったため(日本酒に換算して360ml以上摂

Table 5. Serum Levels of Uric Acid and Incidence of Hyperuricemia in Relation to the Past Medical History

Sex	Serum uric acid(mg/dl)			Hyperuricemia					
	Male		Female		Male	Female			
Age(year)	20~85		20~49	50~92	20~85	20~49	50~92		
	N.	Mean±S.D.	N.	Mean±S.D.	N.	(%)	N.	(%)	
Hypertention	17	6.1±1.04	7	3.8±0.69	4	5.2±1.38	3 (18)	0 (0)	2 (50)
Heart disease	3	6.4±2.31	2	3.9	7	4.6±1.06	1 (33)	0 (0)	1 (14)
Diabetes	11	4.4±1.13	1	6.2	2	4.7	0 (0)	1 (100)	1 (50)
Liver disease	3	4.4±0.38	0		4	4.2±0.93	0 (0)	0 (0)	0 (0) *
Renal disease	2	5.4	2	3.8	0		0 (0)	0 (0)	0 (0)
Others	17	5.9±1.38	14	4.1±0.75	9	4.9±0.87	3 (18)	0 (0)	1 (11)
Asymptomatic	112	5.7±1.38	100	4.0±0.93	60	4.2±0.86	19 (17)	4 (4)	4 (7)

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ ★ $p < 0.05$

Table 6. Dairly Intake of Total Energy and Various Nutrients in Male Subjects

Age group	Number	T-Eng (Kcal)	T-Pro (g)	A-Pro (g)	T-Fat (g)	Carb (g)
20~29	24	2490±774	95±36	48±29	71±30	351±112
30~39	47	2400±657	94±26	47±22	65±27	325±95
40~49	45	2510±719	96±34	47±30	59±30	352±98
50~59	57	2450±586	94±23	48±19	54±21	348±103
60~69	41	2240±573	87±26	42±21	50±20	324±108
70~	40	1940±615*	73±25*	34±21	38±17**	291±98

T-Eng:Total energy, T-Pro:Total protein, A-Pro:Animal protein, T-Fat:Total fat
Carb:Carbohydrate

*:p<0.05 **:p<0.01 Statistical differences by t-test

Table 7. Dairly Intake of Total Energy and Various Nutrients in Female Subjects

Age group	Number	T-Eng (Kcal)	T-Pro (g)	A-Pro (g)	T-Fat (g)	Carb (g)
20~29	35	1910±570	78±28	41±26	55±27	268±79
30~39	73	1950±402	80±22	41±23	54±24	277±69
40~49	85	1860±536	76±27	38±24	47±21	277±88
50~59	79	1900±468	76±20	36±17	49±23	280±27
60~69	62	1750±433	69±22	32±20	40±87	270±87
70~	51	1380±509***	52±20***	22±16**	29±16	224±87**

T-Eng:Total energy, T-Pro:Total protein, A-Pro:Animal protein, T-Fat:Total fat
Carb:Carbohydrate

** :p<0.01 ***:p<0.001

取したものは6名中4名)と考えられるが、その他に、ビール飲用による影響も考えられるかもしれない。

一方、女性についても、例数は少なかったが、飲酒は尿酸値を高くすることが判った。飲酒と尿酸値の関連を調査した報告は多いが、女性については調

査対象が限られるため、十分な解析は行なわれていない。しかし、最近は女性飲酒者が増加しており、今後、女性における飲酒の影響を調査することも必要であろう。

喫煙について

山中らは、成人男性について喫煙量、喫煙期間と

平成4年9月1日

尿酸値との間には、正の相関が認められたと述べている[9]。今回の調査でも、男性の喫煙習慣者には高尿酸血症者が多く、尿酸値もやや高い傾向があった。しかし、我々が以前行なった40歳の男性についての調査では、喫煙との関連はみられなかった[5]。その差異は不明であり、今後、さらに、詳細な検討が必要と考えられる。

生活活動強度、運動状況について

筋肉運動は血中尿酸値を上昇させるといわれている[10]。しかし、本調査では、生活活動強度別の“IV重い”が“II中等度”に比し、低値を示したのみであり、尿酸値を上昇させる因子かどうか、明らかにすることはできなかった。

既往症について

男性は“糖尿病”、“肝疾患”の尿酸値が低かったが、糖尿病については尿酸排泄が増加し、血清尿酸値が低下するという報告がある[11, 12]。また、“肝疾患”についても肝硬変の尿酸値は低い[13]という報告がある。今回の調査では、“肝疾患”の各々の疾患名は不明だが、両疾病と尿酸値との間には、これらの報告と同様の結果が得られた。

高血圧で尿酸値が高いという報告は多い[14]が、その原因として、血圧降下剤の影響が考えられている[3]。そこで、今回の検討は血圧降下剤使用者を除いて行なった。その結果、50歳以上の女性については例数は少ないものの、尿酸値は高い傾向にあり、高尿酸血症者も4名中2名みられた。我々は、前報[1]で、60歳代の女性では、高血圧者の尿酸値が高いことを報告している。今回、血圧降下剤の影響を除いても同じ結果を得ることができた。

栄養摂取状況について

我々は、漁業者について蛋白質と尿酸値との関連を調査したが、両者の関連をみいだすまでにはいたらなかった[15]。今回、蛋白質の他尿酸値に影響を与える可能性が考えられている総エネルギー、脂質、炭水化物[16]についても検討を加えた。しかし、これらと尿酸値の間には、男女共関連をみいだすことはできなかった。

今回の栄養摂取状況調査は、1日のみの調査であり、必ずしも日常の栄養摂取状況を反映していない

のではないかと考えられる。その結果、尿酸値との関連がみられなかったのかもしれない。

謝辞：本調査に御協力頂いた健康課ならびに各保健所の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 田中朋子, 堀井裕子, 中崎美峰子, 城石和子 (1991). 富山衛研年報, 14, 170-174.
2. 城石和子, 田中朋子, 中崎美峰子, 堀井裕子 (1989). 富山衛研年報, 12, 189-192.
3. 岸本道太 (1977). 尿酸, 1, 155-164.
4. M.A. Ogggryzlo (1965). Arthr. Rheum. 8, 799-822.
5. 田中朋子, 中崎美峰子, 城石和子, 植竹久雄, 緑禮子, 林 淑子, 寺井街子 (1986). 富山衛研年報, 9, 207-211.
6. 金子希代子, 赤岡家雄 (1989). 治療, 71, 2315-2320.
7. 岩谷征子, 仁科甫啓, 作山理子, 渡辺富博, 山中寿, 西岡久寿樹, 御巫清允, 柏崎禎夫 (1991). プリン・ピリミジン代謝学会抄録, 62.
8. 山内俊一, 赤岡家雄 (1992). プリン・ピリミジン代謝学会抄録, 38-39.
9. 山中 寿, 西岡久寿樹 (1983). 臨床成人病, 13, 15-19.
10. 伊藤 朗, 三上俊夫, 丹 信介, 後藤浩史, 井川幸雄 (1984). 尿酸, 8, 38-45.
11. 塩 浩 (1982). 尿酸, 5, 129-133.
12. 佐々木紀仁, 久留一郎, 石川利一郎, 浦部啓太, 吉田明雄, 小竹 寛, 真柴裕人, 武田 倬 (1991). プリン・ピリミジン代謝, 15, 9-14.
13. 樋口富彦, 安藤精章, 太田 光, 内田三千彦, 中村徹, 内野治人 (1979). 尿酸, 3, 155-159.
14. 網野皓之, 澤井廣量, 高橋正名, 尾形悦郎 (1981). 尿酸, 5, 116-121.
15. 城石和子, 中崎美峰子, 田中朋子, 米生 泉, 平田久美子, 飯田恭子 (1988). 富山衛研年報, 11, 179-184.
16. 向野 栄 (1983). 臨床成人病, 13, 39-44.

健康成人におけるセレンの24時間尿中 排泄量と血清濃度

新村 哲夫 中崎 美峰子 林 徹雄
成瀬 優知¹ 鏡森 定信¹

Selenium Excretion in 24-Hours Urine and Its Serum Concentration in Healthy Adults

Tetsuo SHIMMURA, Mineko NAKAZAKI, Tetsuo
HAYASHI, Yuchi NARUSE¹ and Sadanobu
KAGAMIMORI¹

要 旨 セレン (Se) の24時間尿中排泄量および血清濃度について、年齢20～59歳の工場従業員272名 (男155名, 女117名) を対象として調査を行い、以下の結果を得た。

1. 尿中Se濃度は、男 $30.8 \mu\text{g/gCre}$ (幾何平均値, 以下同様), 女 $39.0 \mu\text{g/gCre}$ であり、女が男に比べて高値を示した。それに対し、24時間排泄量は、男 $47.4 \mu\text{g/day}$, 女 $38.3 \mu\text{g/day}$ であり、男が逆に高値を示し、男女とも加齢により減少した。
2. 血清Se濃度は、男 126ng/ml , 女 116ng/ml であり、男が女に比べて高値を示し、年齢差はみられなかった。
3. 尿中Se排泄量と血清Se濃度との間には、女では、有意な正の相関がみられたが、男ではみられなかった。
4. 尿中Se排泄量と腎機能 (Ccre) との間には正の相関がみられた。

セレン (Se) は、抗酸化酵素であるグルタチオン・ペルオキシダーゼを構成する元素であり、種々の疾患との関連性が報告されている [1 - 6]。最近、がんなどの成人病の危険因子である喫煙によって血清Se濃度が低下することや [7]、動脈硬化症の危険因子である、高コレステロールや粥状硬化指数と、血清Se濃度が相関することが報告されている [8, 9]。しかしながら、これらの成人病危険因子と、尿中Se濃度や排泄量との関連等については明らかにされていない。

これまで、健康人の血清やスポット尿についてのSeの調査は行われているが [11, 12], 24時間の尿

中排泄量を測定した日本での報告は見当たらない。また、Seの尿中排泄量と血清濃度の関係について検討した報告もわずかである [13]。そこで、今回、Seと成人病危険因子との関係を明らかにするための基礎調査として、まず24時間の尿中Se濃度および排泄量と血清Se濃度を測定し、性、年齢別に検討し、その関連性をみたところ、興味ある知見が得られたので報告する。

材 料 と 方 法

1. 富山医科薬科大学

調査の対象は、富山県東部にある工場の従業員約7,000名から無作為に抽出した年齢20~59歳の272名(男155名, 女117名)である。対象者の性, 年齢別構成をTable 1 に示す。

用いた検体は、24時間尿と血清である。検体の採取は、1985年10月から12月に行い、24時間尿は、主に午前中から次の日の午前まで蓄尿し、防腐剤としてホウ酸を加え測定時まで-20度に凍結保存した。血液の採取は、原則として蓄尿中か終了時の午前中の空腹時に行い、血清として測定時まで-20度に凍結保存した。

尿中Se濃度の測定は、2,3-ジアミノナフタレインによる蛍光法を用いた[14, 15]。尿2.5~5.0mlをケルダールフラスコに取り、硝酸を加えて一晩放置後、硝酸・過塩素酸でSeの気散に十分に注意を払って分解を行ったのち、定法にしたがって測定した。

血清Se濃度の測定は、先に報告したパラジウム・アンモニア希釈液を用いたゼーeman・フレイムレス原子吸光法によって行った[16]。

そのほか、尿中および血清クレアチニン(Cre)濃度は、自動分析法(Jaffe法)、尿中尿素窒素濃度は自動分析法(ウレアゼ・グルタミン酸脱水素酵素法)によって測定した。

Table 1. Sex and Age of Subjects

Sex	Age				Total
	20 - 29	30 - 39	40 - 49	50 - 59	
Male	39	39	39	38	155
Female	29	28	30	30	117

結 果

Seの24時間尿中濃度の測定結果をTable 2 に、その分布状況をFig. 1 に示す。尿中濃度は対数正規分布を示したので、以下の検討には幾何平均値を用いた。24時間尿中濃度の平均値は、男32.0 $\mu\text{g/l}$ 、女

29.6 $\mu\text{g/l}$ であり男がやや高い傾向を示したが、男女間に有意差はみられなかった。年齢別にみると、男女とも20歳代に比べて40歳代と50歳代で有意に低く($p < 0.001$)、年齢とともに減少する傾向を示した。

Seの尿中濃度を表わすのによく用いられているクレアチニン(Cre)補正値をTable 3 に表わした。Cre補正値も対数正規分布を示した(Fig. 1)。Cre補正値の平均値は、男30.8 $\mu\text{g/gCre}$ 、女39.0 $\mu\text{g/gCre}$ であり、女が男に比べ有意に高値を示した($p < 0.001$)。この傾向はいずれの年代においてもみられた。しかし、尿中濃度(Cre未補正値)でみられた加齢により減少する傾向は、男女とも顕著にはみられなかった。

次に、Seの24時間尿中濃度と尿量から、24時間の尿中排泄量を求め、その結果をTable 4 に表わした。尿中排泄量も対数正規分布を示した(Fig. 1)。尿中排泄量の平均値は、男47.4 $\mu\text{g/day}$ 、女38.3 $\mu\text{g/day}$ であり、Cre補正値とは逆に男が女に比べて有意に高値を示した($p < 0.001$)。この傾向はいずれの年代においてもみられた。年齢別にみると、男では20歳代に比べて、40歳代($p < 0.05$)と50歳代($p < 0.001$)で、女では、50歳代($p < 0.01$)で有意に低く、尿中濃度(Cre未補正値)と同様に年齢とともに減少する傾向を示した。

Table 2. Urinary Concentration of Selenium ($\mu\text{g/l}$)

Age	Male		Female	
	No.	G.M. (G.S.D.)	No.	G.M. (G.S.D.)
20 - 29	39	39.7 (1.53)	29	41.4 (1.50)
30 - 39	39	35.7 (1.34)	28	32.9 (1.43)*
40 - 49	39	29.0 (1.42)***	30	25.8 (1.52)***
50 - 59	38	25.2 (1.48)***	30	22.5 (1.43)***
Total	155	32.0 (1.50)	117	29.6 (1.56)

No., number of subjects; G.M., geometric mean. G.S.D., geometric standard deviation. *, ***, significant difference ($p < 0.05$ and $p < 0.001$, respectively) compared with age of 20 - 29.

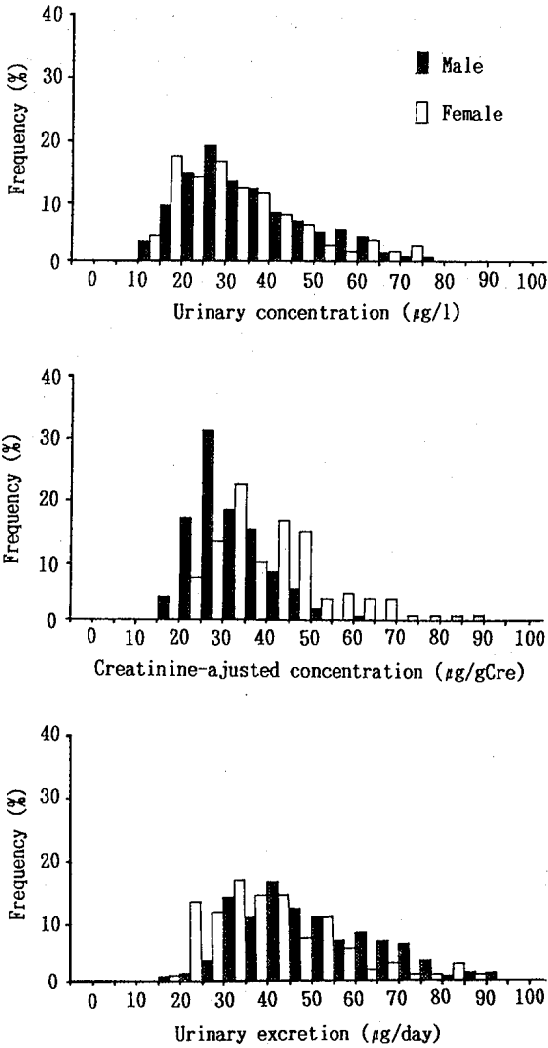


Fig. 1. Distributions of Urinary and Creatinine-Ajusted Concentrations of Selenium and Its Urinary Excretion.

このようにSeの尿中排泄量と尿中濃度 (Cre補正値) は性、年齢によって異なる傾向を示した。その理由を探るため、Seの尿中排泄量とCreの尿中排泄量の関係について調べた。今回の対象者の尿中Cre排泄量の平均値は、男1.57g/day, 女1.00g/dayであり、男に比べて女が有意に低値を示し ($p < 0.001$), 男女とも20歳代~30歳代に比べて40歳代~50歳代が

Table 3. Urinary Selenium Concentration Adjusted by Creatinine Excretion ($\mu\text{g/g creatinine}$)

Age	Male		Female	
	No.	G.M. (G.S.D.)	No.	G.M. (G.S.D.)
20 - 29	39	31.6 (1.20)	29	39.8 (1.28)***
30 - 39	39	31.8 (1.24)	28	40.8 (1.39)***
40 - 49	39	30.4 (1.33)	30	38.2 (1.36)**
50 - 59	38	29.4 (1.36)	30	37.2 (1.42)**
Total	155	30.8 (1.28)	117	39.0 (1.36)***

** , ***, significant difference ($p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively) compared with male of the same age group.

Table 4. Urinary Excretion of Selenium ($\mu\text{g/day}$)

Age	Male		Female	
	No.	G.M. (G.S.D.)	No.	G.M. (G.S.D.)
20 - 29	39	52.6 (1.31)	29	42.2 (1.32)**
30 - 39	39	53.1 (1.31)	28	41.9 (1.44)**
40 - 49	39	44.9 (1.34)*	30	37.1 (1.37)*
50 - 59	38	40.4 (1.42)***	30	33.1 (1.47):*
Total	155	47.4 (1.37)	117	38.3 (1.42)***

* , ** , ***, significant difference ($p < 0.05$, $p < 0.01$, and $p < 0.001$, respectively) compared with male of the same age group.

:*, ***, ****, significant difference ($p < 0.05$, $p < 0.01$, and $p < 0.001$, respectively) compared with age of 20 - 29.

有意に低値を示した。Fig. 2 にSeとCreの尿中排泄量の関係を示した。両者の間には有意の正の相関がみられたが、男と女では異なる傾きをもった回帰直線を示した (男女とも $p < 0.001$) 。

次に、尿中Se排泄量と尿中尿素窒素排泄量との関係について検討した。今回の対象者の尿中尿素窒素排泄量の平均値は、男9.55g/day, 女7.94g/dayで

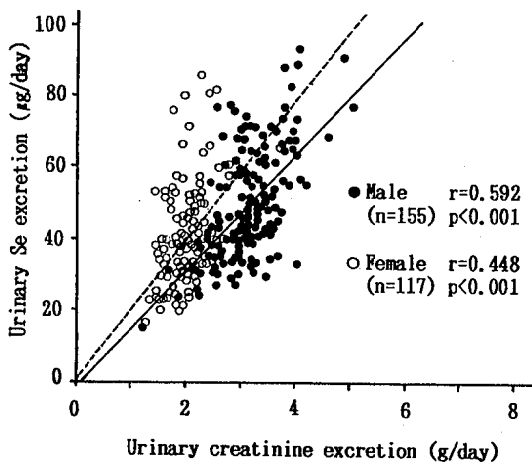


Fig. 2. Relationship between Urinary Excretions of Selenium and Creatinine.
 — Male regression line.
 ---- Female regression line.

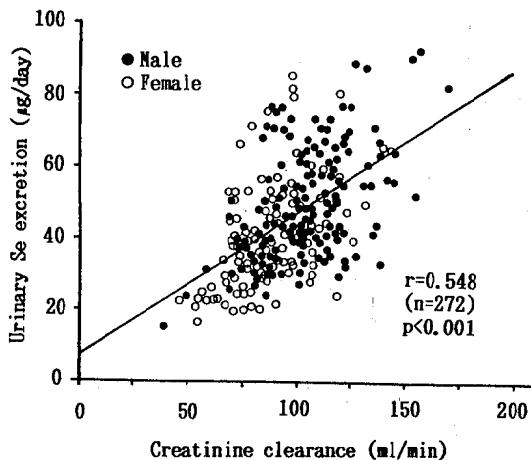


Fig. 4. Relationship between Urinary Excretion of Selenium and Creatinine Clearance.

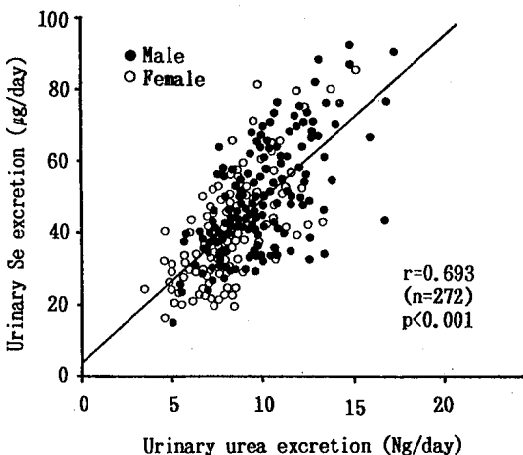


Fig. 3. Relationship between Urinary Excretions of Selenium and Urea.

あり女に比べて男が有意に高値を示した ($p < 0.01$)。男では20歳代~30歳代に比べて40歳代~50歳代で低くなる傾向を示したが、女ではその傾向はみられなかった。Fig. 3 にSeと尿素窒素の尿中排泄量の関係を示した。両者の間には有意の正の相関がみられ ($p < 0.001$)、Creの場合と異なり、男女とも同様の

Table 5. Serum Concentration of Selenium (ng/ml)

Age	Male		Female	
	No.	G.M. (G.S.D.)	No.	G.M. (G.S.D.)
20 - 29	39	128 (1.18)	29	119 (1.13)*
30 - 39	39	124 (1.15)	28	118 (1.15)
40 - 49	39	127 (1.16)	30	115 (1.11)**
50 - 59	38	127 (1.14)	30	112 (1.13)***
Total	155	126 (1.16)	117	116 (1.13)***

*.***. significant difference ($p < 0.05$, $p < 0.01$, and $p < 0.001$, respectively) compared with male of the same age group.

回帰直線を示した。

次に、腎機能とSeの尿中排泄量との関係について検討した。腎機能の指標として、クレアチニン・クリアランス (Ccre) を求めた。Fig. 4 に示したように、Ccreと尿中Se排泄量との間には正の相関がみられ ($p < 0.001$)、Ccreが低い者では尿中Se排泄量

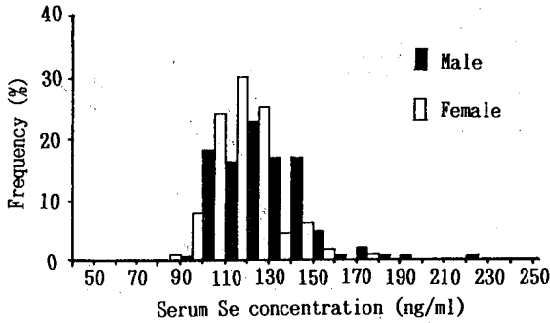


Fig. 5. Distributions of Serum Concentration of Selenium.

が低い傾向を示した。この相関関係の回帰直線は男女とも同様であった。

血清Se濃度の測定結果をTable 5 に、その濃度分布の状況をFig. 5 に示した。血清濃度も対数正規分布を示した。血清濃度の幾何平均値は、男126ng/ml、女116ng/mlであり、男が有意に高い値を示した ($p < 0.001$)。年齢別にみると、男では変化がみられなかったが、女では有意差はないが、50歳代でやや低い傾向がみられた。

次に、血清濃度と尿中排泄量の関係について調べた (Fig. 6)。両者の間には、女では正の相関がみられ ($p < 0.001$)、尿中排泄量が多い者では血清濃度が高い傾向がみられたが、男では有意の相関はみられなかった。

考 察

今回、工場従業員の24時間尿中Se濃度を測定し、尿中排泄量を求め検討したところ、これまで尿中濃度としてよく用いられているCre補正值が、実際の尿中排泄量とは性、年齢により異なる傾向を示すことが明らかになった。すなわち、尿中排泄量は男が女より多く、年齢とともに低下する傾向を示したにもかかわらず、尿中濃度 (Cre補正值) は逆に女が男より高値を示し、年齢による低下がCre補正によ

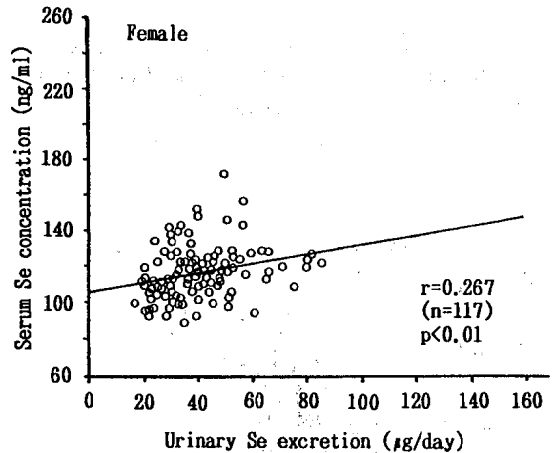
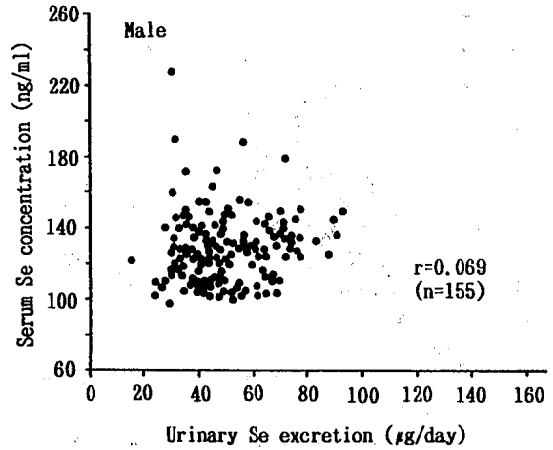


Fig. 6. Relationship between Urinary Excretion and Serum Concentration of Selenium.

てみられなくなった。これは、これまで報告されているように [13]、尿中Cre排泄量が食事の影響を受けるだけでなく、筋肉の運動量に依存し、男が女より多く排泄し、かつ年齢による低下がみられるためと考えられる。したがって、尿中Se濃度の評価にあたっては、Cre補正值での男女間および異なる年齢間の比較は問題があると思われる。Seの尿中排泄量を推測するには、尿中濃度 (Cre未補正值) が排泄量と性、年齢別の検討で同じ傾向を示すことから、むしろ尿中濃度 (Cre未補正值) を用いるのが

平成4年9月1日

よいものと考えられる。

尿中Seの24時間排泄量は、対象者の食生活を含む生活環境要因によって大きく異なることが報告されており、今回の測定値は、これまでの報告と比較して、ドイツ[13]やニュージーランド[18]の健康人の調査よりは高い値を、アメリカの土壤中Se濃度が高い地域住民の調査[19]よりは低い値を示した。また、これまで報告されている日本人のスポット尿中Se濃度と比較すると、今回の値は、Hojoの尿中Se濃度[11]よりは低かった。また、Hasunumaら[12]は、日本各地の住民について尿中Se濃度(Cre補正值)を報告しているが、今回のCre補正值は彼らの北陸地方住民の値と同レベルであった。

文献では、摂取されたSeのほとんどが尿を通じて排泄され[10]、またSeの尿中排泄量と摂取量との間には強い相関がみられることが報告されている[19]。本報告は、蛋白質やアミノ酸の代謝量に依存し、蛋白摂取量を反映しているとされる尿中尿素窒素の排泄量[13, 17]とSeの尿中排泄量との間に正の相関がみられることを明らかにした。Seは、セレンシステインやセレンメチオニンの形で、主に蛋白質として摂取されると考えられることから、上述の結果は、Seの尿中排泄量がSeの摂取量を強く反映していることを裏付けるものといえよう。しかしながら、健康と考えられる工場従業員においても、腎機能の指標であるCcreが低値を示す者では、Seの尿中排泄量が少ない傾向がみられた。先に報告したように、イタイイタイ病要観察者のような腎機能の低下者においては、尿中Se濃度が低値を示すことから[6]、尿中Se排泄量をSeの摂取量の指標と考える場合には、腎機能の低下者に注意する必要があると思われる。

血清Se濃度も、測定した国、地域によって異なることや、測定方法によっても異なることが報告されている。今回の血清濃度は、日本の一般健康人についてのKurodaらの報告[5]よりは低い値を示し、出口らの報告[9]とは同レベルであった。また、これまで血清濃度の性差は明らかにされていないが、本調査では男が女より高値を示した。血清Se濃度もSeの摂取量に影響されているとの多くの報告がある

ことから、Seの尿中排泄量と血清濃度との間には正の相関がみられるものと予想されたが、女では有意な相関がみられたものの、男ではみられなかった。これまでの調査では、Seの全血中濃度と尿中排泄量の関係については、正の相関がみられることが報告されているが[18]、血清Se濃度と尿中排泄量との間には相関がみられないことも報告されている[13]。このことについて、血清Se濃度は、全血中濃度や尿中排泄量よりもホメオスタシスが保たれているためではないかと述べられている[13]。しかしながら、今回の測定では、特に男で、Seの尿中排泄量が少ないにもかかわらず血清濃度が高い例や、尿中排泄量が多いにもかかわらず血清濃度が低い例がみられた。このことから、男で血清Se濃度と尿中排泄量との間に相関がみられなかったのは、種々の要因によって血清濃度が変動しているためではないかとも考えられる。そこで、今後、喫煙やその他の成人病危険因子と、血清Se濃度および尿中排泄量との関連について検討を加え、血清Se濃度の変動要因を明らかにするとともに、その変動の機序を探っていきたい。

文 献

1. 浜島信之(1987). 日本公衛誌, 34, 405-412.
2. Salonen, J.T.(1982). Lancet, 2, 175-179.
3. Korpela, H. and Kumpulainen, J.(1985). Am. J. Clin. Nutr., 42, 147-151.
4. Kallistratos, G., Evanigelou, A., Sefriadis, K., Veezyraki, P. and Barboutis, K.(1985). Nephron, 41, 217-222.
5. Kuroda, M., Imura, T. and Hasegawa, T. (1988). Trace Elements in Medicine, 5, 97-103.
6. 新村哲夫, 中崎美峰子, 徳名智子, 城石和子(1987). 富山衛研年報, 10, 191-196.
7. 出口洋二, 緒方 昭, 山本和子, 西川美紀, 古沢すみえ, 梶田悦子(1987). 日衛誌, 42, 144.
8. Jossa, F., Trevisan, M., Krogh, U., Farnaro, E., Giumetti, D., Fusco, G., Galasso, R., Panico,

- S. and Mellone, C.(1991). *Atherosclerosis*, 87, 129-134.
9. 出口洋二, 緒方 昭, 高木靖弘 (1991). *日衛誌*, 46, 554.
10. Burk, R.F., Brown, D.G., Seely, R.J. and Scaief, C.C.(1972). *J. Nutr.*, 102, 1049-1055.
11. Hojo, Y.(1981). *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 26, 466-471.
12. Hasunuma, R., Tsuda, M., Ogawa, T. and Kawanishi, K.(1990). *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 44, 501-507.
13. Oster, O. and Prellwitz, W.(1990). *Biological Trace Element Research*, 24, 119-146.
14. Watkinson, J.H.(1966). *Anal. Chem.*, 38, 59-97.
15. 佐谷戸安好, 中室克彦 (1977). *衛生化学*, 23, 59-72.
16. 新村哲夫, 中崎美峰子, 城石和子 (1991). *富山衛研年報*, 14, 175-181.
17. 入部美則, 永原良美, 志賀美智子, 鏡森定信, 渡辺正男 (1981). *日本公衛誌*, 28 (10), 174.
18. Griffiths, N.M. and Thomson, C.D.(1974). *New Zealand Med. J.*, 80, 199-202.
19. Swanson, C.A., Longnecker, M.P., Veillon, C., Howe, M., Levander, O.A., Taylor, P.R., McAdam, P.A., Brown, C.C., Stampfer, M.J. and Willette, W.C.(1990). *Am. J. Clin. Nutr.*, 52, 858-862.

3. 資 料

クレチン症マススクリーニングにおけるヨード含有 消毒剤の影響 — アンケート調査の結果 —

高橋 雅子 柏樹 久雄

Influence of Iodine-Containing Disinfectants on Neonatal Screening for Congenital Hypothyroidism

Masako TAKAHASHI and Hisao KASHIWAGI

周産期のヨード含有消毒剤使用による新生児へのヨード負荷は、新生児甲状腺機能に大きな影響を与え、特にクレチン症マススクリーニングでの偽陽性者の増加をもたらすと報告がある [1]。

最近、富山県でのクレチン症マススクリーニング

で、再採血依頼が特定医療機関に集中する傾向が見られ、その主な理由のひとつにヨード含有消毒剤の使用が考えられたことから、本県の周産期における消毒剤の使用実態について、アンケート調査を実施し、再採血率との関係などについて検討した。

表1. アンケート用紙

<p>貴病院名 _____ 記入者 (_____)</p> <p>I 平成4年3月現在使用中の消毒剤についてお答え下さい。</p> <p>1. 分娩前後の母体(外陰部) a. ヨード剤 b. 陽イオン界面活性剤 c. ビグアナイド系 d. アルコール類 e. 金属化合物 f. 色素類 g. 抗生物質 h. その他 (_____)</p> <p>2. 新生児の臍帯(切断時) a. ヨード剤 b. 陽イオン界面活性剤 c. ビグアナイド系 d. アルコール類 e. 金属化合物 f. 色素類 g. 抗生物質 h. その他 (_____)</p> <p>3. 沐浴時の臍消毒 a. ヨード剤 b. 陽イオン界面活性剤 c. ビグアナイド系 d. アルコール類 e. 金属化合物 f. 色素類 g. 抗生物質 h. その他 (_____)</p> <p>4. 新生児の足底(採血時) a. ヨード剤 b. 陽イオン界面活性剤 c. ビグアナイド系 d. アルコール類 e. 金属化合物 f. 色素類 g. 抗生物質 h. その他 (_____)</p> <p>5. 授乳時の乳頭 a. ヨード剤 b. 陽イオン界面活性剤 c. ビグアナイド系 d. アルコール類 e. 金属化合物 f. 色素類 g. 抗生物質 h. その他 (_____)</p> <p>【参考】 a. ヨード剤；ヨードチンキ、ヨードホルム、ポビドンヨード(イソジン) b. 陽イオン界面活性剤、逆性石けん；塩化ベンザルコニウム(オスパン)、塩化ベンゼトニウム(ハイアミン) c. ビグアナイド系；グルコン酸クロルヘキシジン(ヒビテン) d. アルコール類；エタノール、イソプロパノール e. 金属化合物；チメロサル、マーキュロクロム f. 色素類；アクリノール g. 抗生物質；フラセチンTパウダー h. その他</p>	<p>II 過去に消毒剤を変更されたことがありますか。</p> <p>1. a. ある b. ない</p> <p>2. 「a. ある」とお答えの場合 ①いつからですか。 _____ 年 _____ 月から</p> <p>②変更前に使用していた消毒剤(商品名でも結構です)とその使用部位</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin: 10px 0;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">消毒剤</th> <th style="width: 50%;">使用部位</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="height: 40px;"></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>③さしつかえがなければ変更の理由をお聞かせ下さい。</p> <p>III 新生児の栄養方法は、どの場合が多いですか。</p> <p>a. 母乳のみ b. 人工乳のみ c. 混合 d. その他 (_____)</p> <p style="text-align: right;">御協力ありがとうございました。</p>	消毒剤	使用部位		
消毒剤	使用部位				

表2. 消毒剤の使用状況 — アンケート結果 —

(対象数54施設 ただし複数回答があるため合計数は一致しない。)

使用部位	a. 3-F剤	b. 陽イオン界面活性剤	c. ビグアイド系	d. アルコール類	e. 金属化合物	f. 色素類	g. 抗生物質	h. その他	i. 使用せず	j. 不明
分娩時母体	10 (18.5%)	39 (72.2%)	7 (13.0%)	2 (3.7%)	2 (3.7%)			1 (1.9%)		1
新生児臍帯	15 (27.8%)	15 (27.8%)	7 (13.0%)	7 (13.0%)	11 (20.4%)	1 (1.9%)	3 (5.6%)	2 (3.7%)	1 (1.9%)	1
新生児臍部	3 (5.6%)	4 (7.4%)	5 (9.3%)	20 (37.0%)	6 (11.0%)	2 (3.7%)	12 (22.2%)	7 (13.0%)	2 (3.7%)	
新生児足底	2 (3.7%)	3 (5.6%)	2 (3.7%)	48 (88.9%)	1 (1.9%)					
授乳時乳頭		23 (42.6%)	12 (22.2%)	7 (13.0%)				11 (20.4%)	2 (3.7%)	

(%)は54施設に対する割合

方法：1. アンケートは、表1に示した内容で、平成4年4月に県内の産科医療機関74施設に依頼し、回答が得られた分について集計した。

2. 平成4年1～3月の期間で、再採血率(%) = (TSH高値のため再採血が必要となった者のうち精検対象者を除いた数 ÷ 初回検体数) × 100を計算した。

結果および考察：1. アンケートは、74施設に送付し、その時点で分娩取り扱いを中止していた4施設を除いた、70施設中54施設から回答が得られた(回答率77.1%)。

2. 消毒剤の使用状況(表2)

1) 分娩時の母体(外陰部)

ヨード剤を使用していたのは、54施設中10施設(18.5%)で、もっとも使用頻度が高かったのは、陽イオン界面活性剤で39施設(72.2%)であった。現在は、陽イオン界面活性剤やビグアイド系消毒剤を使用しているが、過去にヨード剤を使用していたという施設が2か所あった。また、商品名ヒピテンによる母体のショックの報告などの理由により、ビグアイド系の消毒剤を、ヨード剤に変更した施設が2か所、陽イオン界面活性剤に変更した施設が1か所あった。なお、10か月以前の前期破水の場合には子宮内などにヨード剤を注入するケースがあり、胎児の甲状腺機能への影響を心配しているとの報告が2施設の産科医からあった。

2) 新生児の臍帯(切断時)

ヨード剤使用施設は54施設中15か所(27.8%)で、

陽イオン界面活性剤15施設と同じ数であった。チメロサルなどの金属化合物は11施設(20.4%)、ビグアイド系とアルコール類はそれぞれ7施設(13.0%)であった。

3) 新生児臍部(沐浴時の臍消毒)

ヨード剤を使用していたのは、54施設中3施設(5.6%)と少なく、アルコール類が20施設(37.0%)、抗生物質が12施設(22.2%)と多かった。その他の項目の7施設については、次没食子酸ビスマス(商品名デルマトール)や50%サリチル酸亜鉛華デンプンを使用していた。また、2施設が、過去に抗生物質のフランセチンTパウダーを使用していたが、臍脱が遅れるとの理由から、それぞれヨード剤と、アルコール類に変更していた。

4) 新生児の足底(採血時)

54施設中48施設(88.9%)がアルコール類を使用していた。ヨード剤を使用していたのは、2施設(3.7%)であった。

5) 授乳時乳頭

ヨード剤を使用している施設は無く、陽イオン界面活性剤が23施設(42.6%)、ビグアイド系が12施設(22.2%)、アルコール類が7施設(13.0%)であった。その他の項目の11施設は、滅菌蒸留水、ホウ酸などを使用していた。

3. 周産期消毒法とクレチン症マスキング

原田ら[2]は、分娩時ヨード剤を使用した施設での母乳栄養児に、尿中ヨード排泄量の増加が見られたことを報告し、ヨード剤が母乳を介して新生児

表3. 周産期消毒法とクレチン症マスキリング結果

群	ヨード含有消毒剤の使用部位				栄養 方法	施設数	新生児数 H4.1~3 (人)	再採血数 (人)	再採血率 (%)	精検数 (人)
	分娩時 母体	新生児 臍帯	新生児 臍部	新生児 足底						
A	○	×	×	×	母乳	1	26	2	7.7	0
B	○	×	×	×	混合	3	173	4	2.3	0
C	×	○	×	×	母乳	5	373	14	3.8	0
D	×	○	×	×	混合	3	48	0	0	0
E	×	×	×	○	混合	1	0	0	0	0
F	○	○	×	×	母乳	1	20	1	5.0	0
G	○	○	×	×	混合	2	127	1	0.8	0
H	○	○	○	×	母乳	1	48	3	6.3	1
I	○	○	○	×	混合	2	24	1	4.2	0
J	×	○	×	○	母乳	1	0	0	0	0
K	×	×	×	×	母乳	14	601	8	1.3	2
L	×	×	×	×	混合	20	516	4	0.8	1

に負荷され、甲状腺機能に影響を及ぼすことを示唆している。そこで、今回の調査では、新生児の栄養法についての質問を、アンケートに加えた。

表3に示すように、周産期の消毒法と新生児栄養法により、分娩施設を12群(A~L群)に分け、それぞれの群でのクレチン症マスキリングの採血率を比較した。再採血数とは、一時的にTSH高値であったが、再検査の結果正常となったいわゆる偽陽性者の数である。今回の調査では、ヨード剤の使用部位による再採血率の差は見られないようであるが、いずれかの部位にヨード剤を使用し、栄養方法は母乳が主である群(A, C, F, H群)で、再採血率が高い傾向にあることが分かった。特に、A, C, H群は、ヨード剤を全く使わず混合栄養を主とするL群に対して有意に再採血率が高いといえる(A; $P < 0.05$, C; $P < 0.01$, H; $P < 0.01$)。また、分娩時母体、新生児臍帯、新生児臍部にすべてヨード剤を使用し母乳栄養が主であるH群は、母乳栄養でも全くヨード剤を使用しないK群と比較すると、有意に高い再採血率であった($P < 0.05$)。

これらの調査結果から、周産期におけるヨード剤の使用は、新生児を母乳哺育とした場合に、新生児の甲状腺機能に影響を及ぼし、偽陽性者の増加をもたらす可能性があることが示唆された。

謝辞：アンケート調査にご協力いただきました各産科医療機関の諸先生方に感謝の意を表します。

文 献

1. 原田正平, 市原侃, 松浦信夫. (1990), 日児誌. 94, 2384-2388. クレチン症マスキリング, 乾燥血液濾紙の甲状腺刺激ホルモン値の地域差・施設差の検討
2. 原田正平, 市原侃, 松浦信夫. (1991), 日児誌. 95, 1116-1121. 周産期ヨード代謝のクレチン症マスキリングへの影響の検討-特に分娩時の母体消毒法と新生児尿中ヨード排泄量の関係

富山県におけるウイルス検査状況

森田 修行 長谷川 澄代 水木 路男¹
吉田 慶子² 草山 真由美³ 南部 厚子⁴

Virological Examination in Infectious Diseases in Toyama Prefecture

Osayuki MORITA, Sumiyo HASEGAWA,
Michio MIZUKI¹, Keiko YOSHIDA²,
Mayumi KUSAYAMA³ and Atsuko NAMBU⁴

平成3年度の富山県結核・感染症サーベイランス事業および行政依頼検査と一般依頼検査で、ウイルス検出を行った結果について報告する。

ウイルス分離検査は、疾患の種類に応じて適当な材料を採取して、ウイルス検出と血清抗体価の測定を行った。糞便、咽頭ぬぐい液および水疱内容は除菌処理を行った後、髄液はそのまま培養細胞に接種した。培養細胞は、RD-18S細胞、LLC-MD₂細胞およびVero細胞を用い、細胞変性効果（CPE）を指標にウイルス分離を行った。分離ウイルスはエンテロ混合抗血清（国立予防衛生研究所分与）および型特異抗血清（デンカ生研および自家製）を用いて中和試験により同定した。

急性胃腸炎の検査では、患者の糞便を約10%の乳剤とし、その遠心上清を電子顕微鏡で観察してウイルス粒子を検索した。さらに、乳児嘔吐下痢症の場合は診断用キットのロタRPHA（デンカ生研）を用いてA群ロタウイルス抗原を検出した。

平成3年4月から平成4年3月までに行なったウイルス検査状況を疾病別、月別にTable 1に示す。

急性胃腸炎（Gastroenteritis）前年度に引き続いて、館小児科医院（高岡市）のご協力を得て、乳幼児の急性胃腸炎に関与するロタウイルス（Rota）、アデノウイルス（Ad）および小型球形ウ

イルス（SRV）の定点観測を行った。さらに、11月からは新湊市民病院小児科および正木医院（福光町）のご協力で患者から糞便を採取した。186検体をロタRPHAでスクリーニングを行い、81例にA群Rotaの抗原を認めたと、電子顕微鏡観察では85例にRota粒子を検出した。ここで、ロタRPHA陰性の4例のうち3例はA群以外のRotaの可能性が高いが、残りの1例は粒子数が少なく、電顕観察でもようやく検出された。一方、AdとSRVはすべて電子顕微鏡観察によって検出したものであり、それぞれ全検出ウイルスの9%と35%を占めていた。特に、11～12月の患者の多くはSRV感染であった。

無菌性髄膜炎（Aseptic meningitis）平成3年3月に1名の患者からエコーウイルス30型（Echo 30）が分離され〔1〕、夏期には大きな流行が起こる危険性が予測されていた。5月末頃から患者が発生しはじめ、6月から9月にかけて多数のウイルス検査を受けることになった。分離ウイルスは、ほとんどがEcho30であり、他に少数のコクサッキーウイルスB3型（Cox. B3）、エコーウイルス9型（Echo 9）およびエコーウイルス16型（Echo16）であった。

手足口病（Hand foot and mouth disease）前年はコクサッキーウイルスA16型（Cox. A16）

1. 高岡保健所 2. 富山保健所 3. 福野保健所 4. 黒部保健所

平成4年9月1日

Table 1. Virus Detection from Infectious Disease Patients

Illnesses	Viruses	Virus detection												Total
		1991						1992						
		Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	
Gastroenteritis		(9)	(11)	(5)				(1)	(30)	(17)	(20)	(50)	(43)	(186)
	Rota	4	1						1		15	37	24	82
	Ad ¹⁾	1		1					6	3	1		2	14
	SRV ²⁾	1	6	1				1	17	11		8	16	61
	Rota+Ad											1		1
	Rota+SRV										1	1		2
	AD+SRV									1			1	2
Aseptic meningitis		(2)	(32)	(84)	(15)	(6)						(2)		(141)
	Cox. B3				1									1
	Echo 9			1	1									2
	Echo16				1									1
	Echo30	2	25	67	13	4								112
Hand foot and mouth disease		(12)	(5)	(1)										(18)
	Cox. A16			3	1									4
	Enterov71			8	4	1								13
Others		(1)	(4)			(1)								(6)

1) Ad : Adenovirus

2) SRV: Small round virus

Figures in parentheses are the numbers of patients examined.

が分離された [1] ので、今年の流行ウイルスはエンテロウイルス71型 (Enterov71) であろうと予測された。6月から8月にかけて、福光町と新湊市で発生した患者について検査し、Cox. A16とEnterov71が両地区ともに分離された。分離頻度はEnterov71がやや多い傾向であった。このように、同一地域で2種類のウイルスが同時に流行したのは珍しいことである。

その他 (Others) 流行性角結膜炎、発疹症、ヘルパンギーナ、筋肉炎の患者について検査を行ったが、ウイルスが分離されず、病因を明らかにすることができなかった。

謝辞：検査材料の採取にご協力頂いた館小児科医院、小児科諸橋医院、正木医院、厚生連高岡病院小児科、富山市民病院小児科および新湊市民病院小児科の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 森田修行, 長谷川澄代, 草山真由美, 布野純子, 植野 一, 川越久美子 (1991). 富山衛研年報, 14, 189-191.

富山県における恙虫病患者発生状況 (平成3年度)

森田 修行 石倉 康宏 岩城 稔¹
橋爪 淑子² 田中 桂子³ 前多 隆志⁴

Incidence of Tsutsugamushi Disease in Toyama Prefecture in 1991

Osayuki MORITA, Mitsuhiro ISHIKURA
Minoru IWAKI¹, Yoshiko HASHIJUME²
Keiko TANAKA³ and Takeshi MAEDA⁴

わが国の恙虫病は、かつては極めて限られた地域に発生した致命率の高い感染症であった。この古典型恙虫病は、夏期に幼虫が地上に現れるアカツガムシによって病原体 (*Rickettsia tsutsugamushi*: Rtと略) が媒介されたが、今日この種の患者は極めて少なくなった。一方、1945年以降、非アカムシ媒介性の恙虫病の存在が知られるようになり、新型恙虫病 (または非アカムシ媒介性恙虫病) とよんで、従来のものと区別された [1]。この新型恙虫病は1974年に従来発生のなかった新潟県糸魚川市での患者確認 [2] 以来、1975年から群馬県などでも患者が発生するようになり [3]、年毎に全国各地へと拡がっていった。

富山県では、1976年と1977年の秋にそれぞれ4名と5名の発疹性熱性疾患が発生し、検査の機会はなかったが、恙虫病に酷似した患者であった。1978年以後、血清学的検査による確定診断を行い、毎年の患者発生を確認している。今年も15名患者を認めたので、その概要について報告する。

臨床的に恙虫病を疑われた患者について、感染状況などを調査するとともに、すでに報告した検査法 [4] によって血清学的に確認検査を行った。多くの患者は2回以上の採血で抗体価の有意上昇を確認したが、一部の患者では、Rtに特異的なIgM抗体の検出をもって確定診断した。

Table 1 に1978年から1991年までに本県で発生した患者 (臨床症状のみによって診断された患者を含む) を地区別、年次別に示す。14年間の患者累計は170名となったが、そのうちの158名 (93%) が県東部の黒部川扇状地に広がる田園地帯 (入善町、黒部市、宇奈月町、朝日町) で発生した。今年もやはりこの扇状地で多くの患者がみられたことから、Rt媒介ツツガムシの生息状況が少しも減衰していないことを示唆している。その他、上市町と富山市の住人が各1名であった。

平成3年5月に1名、10月に5名、11月に9名の患者が発生した。これら患者の年齢や臨床所見などをTable 2 に示す。年齢は14歳から80歳まで広範囲に分布していた。性別は女8名、男7名であった。職業は農業4名、会社員4名、無職3名の他に、主婦、会社社長、クリーニング業、中学生が各1名であった。臨床所見は、発熱が37.5°Cから39.6°Cの間であり、発疹は全例にみられた。リンパ節の膨張は頸部や腋窩、鼠蹊が腫脹した例が多くみられたが、ほとんど腫脹を認めない例もあった。ツツガムシ幼虫の刺し口は14名の患者の躯幹部 (胸部、腹部) や四肢 (腕、肘、大腿部、膝) に認められたが、残りの1名には見つけることができなかった。

いずれの患者もツツガムシ幼虫に刺されたことをまったく自覚しておらず、リケッチアの感染場所が

平成4年9月1日

Table 1: Numbers of Tsutsugamushi Disease Patients in Toyama Prefecture

Area	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	Total
Asahi					1								1		2
Nyuzen	9	9	8	9	6	1	16	6	5	5	5	3	8	6	96
Kurobe	2	6	9	8	3	2		4	4	4		1	3	5	51
Unazuki			2	1	1			1		1	1			2	9
Uozu									1				1		2
Kamiichi								2	1					1	4
Tateyama												1			1
Toyama							1	1						1	3
Oyabe								1							1
Himi										1					1
Total	11	15	19	18	11	3	17	15	11	11	6	5	13	15	170

Table 2. Clinical Findings of Tsutsugamushi Disease Patients

No.	Age (years)	Sex	Occupation	Residence	Date of onset	Clinical findings			
						Fever (°C)	Rash	Lymphnode swelling	Eschar
1	56	F	Farmer	Toyama	May 10	39.0	+	-	Abdomen
2	80	F	None	Nyuzen	Oct 18	39.0	+	+	Abdomen
3	74	F	None	Kurobe	Oct 18	37.5	+	+	Abdomen
4	46	F	Office-worker	Kurobe	Oct 19	39.0	+	-	Breast
5	28	M	Factory-worker	Nyuzen	Oct 30	39.0	+	+	Arm
6	59	M	Farmer	Kamiichi	Oct 30	39.0	+	+	Knee
7	67	F	None	Kurobe	Nov 3	39.3	+	+	Breast
8	49	F	Housewife	Nyuzen	Nov 5	Unknown	+	Unknown	Thigh
9	68	M	Farmer	Nyuzen	Nov 7	39.0	+	+	Elbow
10	65	M	Company-proprietor	Tokyo	Nov 7	39.0	+	+	Abdomen
11	54	M	Laundry	Nyuzen	Nov 8	38.0	+	+	Knee
12	51	F	Factory-worker	Nyuzen	Nov 10	39.6	+	-	Unclear
13	22	M	Factory-worker	Kurobe	Nov 14	38.0	+	+	Abdomen
14	14	M	Student	Unazuki	Nov 14	38.4	+	+	Armpit
15	62	F	Farmer	Unazuki	Nov 16	38.0	+	+	Thigh

Table 3. Serological Findings of Tsutsugamushi Disease Patients

No.	Days after onset	Antibody titers against antigens			No.	Days after onset	Antibody titers against antigens		
		Kato	Karp	Gilliam			Kato	Karp	Gilliam
1	7	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)	9	4	10 (<10)	10 (<10)	10 (<10)
	21	2,560 (1,280)	2,560 (1,280)	5,120 (2,560)		11	160 (10)	160 (<10)	320 (20)
2	6	<10 (<10)	<10 (<10)	10 (<10)	10	4	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)
	11	10 (10)	10 (<10)	20 (20)		11	320 (20)	320 (20)	1,280 (1,280)
3	7	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)	11	1	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)
	32	80 (10)	80 (<10)	80 (80)		10	160 (80)	160 (80)	320 (160)
4	10	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)	12	11	320	160	640
	17	640 (40)	160 (20)	640 (160)		28	1,280	320	2,560
5	19	<10 (<10)	<10 (<10)	10 (10)	13	4	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)
6	13	<10 (<10)	<10 (<10)	20 (20)		11	80 (10)	40 (<10)	160 (160)
	21	80 (80)	80 (<10)	160 (160)	18	40 (20)	40 (<10)	80 (80)	
7	12	320 (10)	320 (<10)	640 (320)	14	4	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)
	21	1,280 (20)	320 (<10)	1,280 (320)		9	40 (<10)	20 (<10)	160 (160)
8	8	160 (160)	160 (80)	320 (320)	15	2	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)
	14	320 (320)	320 (320)	1,280 (640)		9	80 (10)	40 (<10)	160 (80)
	22	160 (40)	160 (20)	320 (80)					

Figures in parentheses are specific IgM antibody titer.

平成4年9月1日

どこであったのか特定することができなかった。5月に発病した患者No.1は、4月28日に白岩ダム付近に出かけて山菜取りをしていたことがあり、その時に感染した可能性が強いが、自宅（富山市）近くでの畑作業中の感染とも考えられるケースであった。No.10の患者は、自宅は東京であるが、朝日町にある縫製工場のオーナーなので、11月3～11日の間、入善町に逗留していた。この間に感染したと考えられるが、発病が11月7日であり、潜伏期が短すぎることから、感染場所が入善町なのかどうかは不明である。これら2例以外の患者は、農作業や畑仕事をしていて、あるいは自宅の周辺で感染したものと推測された。なぜなら、これら患者は黒部川扇状地で生活しており、感染の機会は十分にあったと考えられる。われわれが行った調査〔4〕では、宇奈月町愛本から、黒部川の下流に広がる扇状地の各調査地点すべてにマウス病原性Rtが存在していることが明らかになっている。しかも、田畑の畦や住宅の庭で捕獲した野ネズミからもRtが分離されたことから、地区住民には感染防止に十分注意するように啓蒙活動が行われてきた。その効果の現れとして、患者が多発しないですんでいるものと考えられる。

Table 3はこれら患者の血清抗体価を間接蛍光抗体法で測定した結果を示す。15名のうち13名の患者は2回の採血で抗体価の有意上昇が認められ、恙虫病の罹患であったことが確認された。残りの2名（No.2とNo.5）はGilliam株に対する特異的IgM抗体が検出されたことをもって確定診断した。

3種類のRt標準株に対する抗体価を比較すると、

前年の検査成績〔5〕と同様に、全グロブリン抗体でみる限り抗原の間の著しい差を示す血清はほとんどみられなかったが、IgM抗体はGilliam株に対し他の抗原より高い抗体価を示す傾向であった。これらの結果から、県東部ではGilliam型のRt感染による患者の発生が続いているものと考えられる。

謝辞：患者の臨床所見などのご提供と採血にご協力頂きました富山県立中央病院の泉三郎先生、黒部市民病院の福井米正先生、竹谷徳雄先生、竹田慎一先生、富山労災病院の西田哲也先生、上市厚生病院の重田浩一先生、藤岡医院（黒部市）の藤岡三郎先生に感謝いたします。

文 献

1. Tamiya, T. (1962). Recent advances in studies of Tsutsugamushi disease in Japan. Medical Culture Inc., Tokyo.
2. 関川弘雄, 監物 実, 渡部久実, 高井昭彦, 橋本鉄男, 田崎 力 (1984). 新潟医学会雑誌, 98, 318-324.
3. 川村明義 (1979). 日細菌誌, 34, 375-393.
4. 石倉康宏, 渡辺 護, 西永慧次, 森田修行, 植竹久雄, 清水宗則, 松沢孝信, 笠木清孝, 小川寿人, 野崎理貞, 山崎義時, 松原勝博, 松原昌世, 小島正作, 倉本安隆 (1981). 富山衛研年報, 4, 44-57.
5. 森田修行, 石倉康宏, 南部厚子, 田中桂子, 前多隆志 (1991). 富山衛研年報, 14, 183-186.

急性胃腸炎におけるA群ヒトロタウイルス (HRV) 血清型の疫学的解析

長谷川 澄代 森田 修行

An Epidemiological Analysis on the Serotype of Group A Human Rotavirus in Acute Gastroenteritis

Sumiyo HASEGAWA and Osayuki MORITA

乳児嘔吐下痢症は、主として冬期に多発する疾病であり、病因としてウイルスが関与している例が多い。その主要起因ウイルスであるA群ヒトロタウイルス (HRV) について、平成3年度厚生科学医療研究課題「A群ヒトロタウイルス (HRV) 流行における血清型疫学解析研究」のもとに、関越、中部、山陰、山陽 (日本横断面) 8 県の研究分担者 (衛生研究所) が共同研究班を組織し、冬期胃腸炎下痢症を対象に、A群HRVとその血清型について疫学的調査研究を実施した。

材料と方法：糞便検体は、高岡市、新湊市、福光町およびその周辺に居住する小児を対象に、急性胃腸炎患者から糞便を採取した。A群HRVスクリーニングは、糞便を10~20%乳剤とし、診断用キットのロタRPHA (デンカ生研) を用いて、ロタウイルス抗原を検出した。同時に、糞便の一部を0.2% Sucrose液で10~20%の乳剤とし、遠心上清をリントングステン酸でネガティブ染色し、電子顕微鏡 (日立H600A) で観察した。A群HRV陽性例についての血清型別は、研究班で標準化した「各血清特異単クローン抗体によるELISA血清型別法」の術式に従い、検査試薬も研究班で標準化したものを使用した。

1991年10月から1992年3月までの6か月間に、急性胃腸炎患者168名から糞便を採取した。そのウイルス検出結果をTable 1 に示す。RPHA法で陽性となったのは81例 (48.2%) であった。1991年10月

から12月にかけて、RPHA法でHRVの陽性例は認められなかったが、1992年1月は17例、2月は39例、3月は25例が陽性を示した。これらの検体のなかで、RPHA法では陰性であったが、電子顕微鏡観察で2例にロタウイルス様の粒子を認めた。その他の多くは、小型球形ウイルス (SRV) 33.3%、またはアデノウイルス7.7%であった。また、以前の報告 [1] にみられたようにHRVとアデノウイルス、HRVとSRV、アデノウイルスとSRVなどの混合感染を5例観察した。

今冬期の急性下痢症患者からのロタウイルスの検出は、1月から始まり、例年より1か月遅かった [1]。1月には平均気温が4.2°Cに下がり、2月には検体数も多くRPHA法による陽性例も多かった。

これら検出されたHRVの血清型をTable 2 に示す。1型は30例 (36.1%)、2型は28例 (33.7%)、3型は5例 (6.0%)、4型はなく、型別未定は20例 (24.1%) であった。これらA群HRVの血清型別の分布は、1型と2型が多く、月別にみると、3型は1月に少数みられるが、1型と2型は1、2および3月にほぼ同じ頻度で検出され、1型と2型が優勢であり、3型は少数であることが示唆された。

急性胃腸炎は毎年流行を繰り返しているが、その主なる起因ウイルスはHRVである [2]。HRVはA~E群の5種に分類されているが、現在まで唯一、細胞培養で分離可能となったHRVはA群のみに属している。A群には、2種の亜群と複数の血清

平成4年9月1日

Table 1. Virus Detection from Gastroenteritis Patients

Procedure	Virus	Virus detection						Total
		1991 Oct	Nov	Dec	1992 Jan	Feb	Mar	
Rota RPHA	Rota				17	39	25	81
Electron Microscope	Rota-like		1			1		2
	Adeno	1	6	3	1		2	13
	SRV		17	12	1	12	14	56
	Rota. Adeno					1		1
	Rota. SRV				1	1		2
	Adeno. SRV			1			1	2
	N D		6	3	3	2		14

N D: Not detected

Table 2. Serotyping of HRV in Stools using Monoclonal Antibodies

	Month of sample collection						Total
	1991 Oct	Nov	Dec	1992 Jan	Feb	Mar	
Temp. (°C) ¹⁾	16.6	10.4	7.4	4.2	3.3	7.0	
Type 1				6	15	9	30
Type 2				5	14	9	28
Type 3				5	0	0	5
Type 4				0	0	0	0
- ²⁾		1		1	11	7	20

1) Temp. (°C) : Monthly mean atmospheric temperature

2) - : Not ascribable to any serotype

型が報告され、ヒトの感染には血清型1～4型が流行の主役を占めている。本邦では、A群が流行主体を担っているので、この研究班は、A群とその血清型に着目し、関越・中部・山陰・山陽の観測地域で、流行期間の抗原検出と型別を行い、各地の血清型の相対出現頻度等を比較解析し、流行実態の把握と将来の流行予測に資するためにこの調査を行なった。

今後、これら急性胃腸炎の起因ウイルスを特定していくためには、十分な疫学調査と病原検索を実施し、起因ウイルスとしてのHRVの血清型別調査とともに、SRVを考慮にいれてウイルス検索を継続していくべきである。

文 献

1. 長谷川澄代, 森田修行, 館一矩 (1991). 富山衛研年報, 14
2. 病原微生物検出情報 (1990), 月報, 11, 1-20

平成4年9月1日

富山県における1991年の病原微生物検出情報

細呂木 志保 林 美千代 刑部 陽宅 児玉 博英

Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 1991

Shiho HOSOROGI, Michiyo HAYASHI, Yotaku GYOBU
and Hirohide KODAMA

医療機関については、1990年1月から、材料別・菌種別の収集が行われるようになった。保健所・衛生研究所からの情報はほとんどが糞便からの分離例なので、それらを含めて1991年1月から12月までの県内の病原細菌検出情報を、材料別・菌種別に集計した。このシステムが行われるようになって2年目なので、今回は材料別に前年のデータとの比較も試みた。表中の○で囲んだ数字は、食中毒等、同一フォーカスからの分離株が含まれていることを示し、()内の数字は海外からの持ち込み例の再掲である。なお各表の欄外の菌種は全国集計に含まれない。

【糞便】 分離株総数は665株で、前年比134%であった。増加の主因は黄色ブドウ球菌とサルモネラの増加であり、黄色ブドウ球菌は214株で前年比563%、6月から急増し、食中毒も4事例が6～8月に発生した。サルモネラについては血清型Enteritidisの増加が目立った。大腸菌はやや増加し、カンピロバクターは前年とほぼ同数であった。腸炎ビブリオは、本菌食中毒の減少もあって分離株数は前年に比べて著しく減少した。

法定伝染病関係では、チフス菌と赤痢菌が各1株分離されている。

海外からの持ち込みは、上記赤痢菌1株（推定感染国 インド）、大腸菌3株（インド・ネパール、タイ、インドネシア）、Non-O1 *Vibrio cholerae* (O-7) 1株（インドネシア）の合計5株であった。なお、4月の大腸菌分離例のうち、2株は腸管

出血性大腸菌O 157 : H 7であり、同一家族の母子からの分離例であった。これは富山県の初発例であり、水系感染の可能性は否定されたが、感染源等については不明であった。

【穿刺液】 分離株総数273株、前年比105%。最も多かったのは黄色ブドウ球菌、ついでコアグラゼ陰性ブドウ球菌、大腸菌、嫌気性菌であった。

【髄液】 分離株総数16株、前年比114%。大部分が黄色ブドウ球菌であった。珍しい例として全国集計の菌種に入っていない*Campylobacter fetus*が1株分離されている。

【血液】 分離株総数298株、前年比105%。最も多かったのは、コアグラゼ陰性ブドウ球菌、次いで大腸菌、黄色ブドウ球菌、緑膿菌、嫌気性菌であった。チフス菌が5、6月に4株分離されているが、いずれも同一家族で、祖母が感染源と考えられた。その他、全国集計には含まれないが、セレウス菌5株、*Campylobacter fetus*と*Vibrio vulnificus*が各1株分離されている。

【咽頭および鼻咽喉】 分離株総数1,297株、前年比106%。50%以上はA群溶血レンサ球菌で657株（前年比120%）が分離されている。残りは*Haemophilus influenzae*と肺炎球菌であった。

【喀痰、気管吸引液および下気道】 分離株総数4,375株、前年比91%。黄色ブドウ球菌と緑膿菌が最も多く、両菌種で過半数を占めていた。その他、肺炎桿菌、*Haemophilus influenzae*、肺炎球菌、

B群溶血レンサ球菌、結核菌であった。

【尿】 分離株総数6,934株、前年比105%。最も多かったのは大腸菌、次いで、腸球菌、緑膿菌、黄色ブドウ球菌、*Candida albicans*、コアグラエゼ陰性ブドウ球菌、肺炎桿菌の順であった。

【陰部尿道頸管擦過物】 分離株総数は2,000株、前年比105%。*Candida albicans*が全体の80%以上を占めていた。その他は*Chlamydia trachomatis*、B群溶血レンサ球菌、*Trichomonas vaginalis*、淋菌であった。

謝辞：毎月の集計にご協力を頂いている県内12か所の公立病院と10か所の保健所の検査担当各位に感謝します。

月別・菌種別の病原微生物検出状況

1) 分離材料：糞便

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Salmonella typhi</i>				1									1
<i>Salmonella paratyphi</i>													
<i>Salmonella</i> O 4				1	2	5	6	6	6	1	2	2	31
<i>Salmonella</i> O 7	2		1	1	1	1	3	3	32	3	2	1	50
<i>Salmonella</i> O 8						3	1	4					8
<i>Salmonella</i> O 9					3	3	2	3	3	3	5	2	24
<i>Salmonella</i> その他			1			2		6	5	1			15
<i>Salmonella</i> 群不明													
<i>Yersinia enterocolitica</i>							1	2	3		1	3	10
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	1												1
<i>Vibrio cholerae</i> O1 Ogawa													
<i>Vibrio cholerae</i> O1 Inaba								1					2(1)
<i>Vibrio cholerae</i> non-O1				1(1)				45	37	2			90
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>						2	4	1					1
<i>Vibrio fluvialis</i>								1					1
<i>Vibrio mimicus</i>													
<i>Aeromonas</i>			1		1	2	2	3	1	2			12
<i>Plesiomonas shigelloides</i>									1				1
<i>Campylobacter</i>	11	9	7	14	22	7	10	15	12	9	6	8	130
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	4	4	8	4	17	29	24	29	23	31	36	214
<i>Clostridium perfringens</i>													
<i>Clostridium botulinum</i>													
<i>Bacillus cereus</i>													
<i>Entamoeba histolytica</i>													
<i>Escherichia coli</i> 細菌侵人性				1		2		1				1	5
” 毒素賦性		2	1	1	1	3	1	2		1	1		13
” 病原大腸菌血清型	2		2(1)	6(1)	5	3	7	4	2	4	4	3	42(2)
” その他・不明	1	3	2(1)	3	1				3	1			14(1)
<i>Shigella</i>			1(1)										1(1)
合計	22	18	20(3)	37(2)	40	50	66	120	134	50	52	56	665(5)
<i>Clostridium difficile</i>		1						1		1	1		4

平成4年9月1日

2) 分離材料：穿刺液（胸水、腹水、関節液など）

Escherichia coli	1	8	11	2	4	8	3		5	3	4	1	50
Klebsiella pneumoniae	3	3	2	2	1	3		1	1	2	3		21
Haemophilus influenzae						1							1
Neisseria meningitidis													
Pseudomonas aeruginosa	2	1	3		4	2	2	3	5	5	3		30
Mycobacterium spp.											1	1	2
Staphylococcus aureus	4	29	5	2	4	4	3	2	7	3	5	3	71
Staphylococcus, 3777-陰性	7	5	5	4	4	6	2	7	6	5	1	1	53
Streptococcus pneumoniae												1	1
Anaerobes	1	8	8		1	5		2	3	2	11	3	44
Mycoplasma pneumoniae													
合計	18	54	34	10	18	29	10	15	27	20	28	10	273

3) 分離材料：髄液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Escherichia coli													
Haemophilus influenzae									1				1
Neisseria meningitidis													
Staphylococcus aureus	2		1	2	2	2			1	2			12
Streptococcus, B					1								1
Streptococcus pneumoniae											1	1	2
合計	2	0	1	2	3	2	0	0	2	2	1	1	16
Campylobacter fetus	1												1
Staphylococcus, 3777-陰性		1											1
Cryptococcus neoformans							1						1

4) 分離材料：血液

Escherichia coli	5	4	5	5	2	7	7	4	6	3	6	7	61
Salmonella typhi					①	③							4
Salmonella paratyphi A													
Salmonella spp.													
Haemophilus influenzae							1		1			1	3
Neisseria meningitidis													
Pseudomonas aeruginosa		1	1	5	2	1	3	2	4	2	5	2	28
Staphylococcus aureus	3	3		3	6	7	7	4	6	6	5	10	60
Staphylococcus, 3777-陰性	9	4	13	5	11	10	15	13	13	5	6	2	106
Streptococcus, B		1			2		1			1	1		6
Streptococcus pneumoniae			1		1	1				1	1	2	7
Anaerobes	2	6	5	2	1		1			3	2	1	23
合計	19	19	25	20	26	29	35	23	30	21	26	25	298
Bacillus cereus	1	1				3							5
Campylobacter fetus	1												1
Streptococcus, A		1											1
Streptococcus, sanguis II						1							1
Cryptococcus neoformans							1						1
Pseudomonas pickettii							1						1
V. vulnificus							1						1
Streptococcus, sanguis I								1					1
Klebsiella oxytoca									1				1

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>	23	39	31	30	59	76	26	18	26	21	36	61	446
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Streptococcus, A</i>	65	98	87	60	52	61	29	31	19	31	65	59	657
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	12	21	9	20	27	30	14	3	7	8	17	26	194
<i>C. diphtheriae</i>													
合 計	100	158	127	110	138	167	69	52	52	60	118	146	1297
<i>Streptococcus, G</i>		1			1								2
<i>B. catarrhalis</i>				5									5
<i>Streptococcus, B</i>										1			1

6) 分離材料: 喀痰、気管吸引液および下気道からの材料

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>M. tuberculosis</i>	5	2	4	9	12	3	7	6	10	1	8	10	77
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	31	43	37	28	36	34	54	63	63	67	70	43	569
<i>Haemophilus influenzae</i>	26	27	34	48	45	51	36	33	37	17	35	29	418
<i>Legionella pneumophila</i>													
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	74	93	95	98	115	92	97	123	104	123	98	112	1224
<i>Staphylococcus aureus</i>	95	149	114	169	115	112	126	114	130	126	141	148	1539
<i>Streptococcus, A</i>	6	6	7	1	5	20	4	4	6	5	3	12	79
<i>Streptococcus, B</i>	7	8	5	3	8	5	9	9	8	6	10	16	95
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	28	22	21	34	51	45	25	21	19	23	36	37	362
Anaerobs		2				4							6
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	4	2											6
合 計	276	354	317	390	387	367	358	373	377	368	401	407	4375
<i>Streptococcus, G</i>	1	1	1		1								6
<i>Acinetobacter</i>						1							1
<i>M. avium complex</i>											1		1

7) 分離材料: 尿

<i>Escherichia coli</i>	162	160	155	187	127	166	185	185	146	170	144	137	1924
<i>Enterobacter spp.</i>	12	18	17	15	24	16	23	26	29	26	26	15	247
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	22	31	30	32	39	26	33	43	51	52	51	34	444
<i>Acinetobacter spp.</i>	6	7	2	4	14	3	10	9	6	15	5	6	87
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	76	75	72	83	102	91	115	112	107	116	89	68	1106
<i>Staphylococcus aureus</i>	47	57	48	53	62	56	54	56	56	65	57	43	654
<i>Staphylococcus, グラム陽性</i>	45	43	44	48	52	40	58	62	53	49	29	31	554
<i>Enterococcus spp.</i>	88	124	90	118	124	104	97	113	110	121	94	93	1276
<i>Candida albicans</i>	48	52	36	56	61	50	53	62	53	64	59	48	642
合 計	506	567	494	596	605	552	628	668	611	678	554	475	6934
<i>Streptococcus, B</i>	4				5						4	1	14
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1												1
<i>Streptococcus, G</i>		2	4										6
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>											1		1
グラム陽性球菌	17	12	14	12	11	13	13	19	26	8	9	8	162
グラム陰性桿菌	18	12	22	18	14	15	27	31	35	29	20	14	255
真菌	10	10	5	8	9	4	6	3	4	5	7	1	72

平成4年9月1日

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

Neisseria gonorrhoeae	1	7	3	2	3		6	2	4	3		1	32
Streptococcus, B	5	7	8	17	13	19	16	10	14	9	10	13	141
Chlamydia trachomatis	13	10	13	14	18	9	8	7	13	10	9	11	135
Ureaplasma													
Candida albicans	107	112	170	136	152	166	152	180	161	108	104	87	1635
Trichomonas vaginalis	5	1	1	2	12	4	4	5	3	2	11	7	57
合計	131	137	195	171	198	198	186	204	195	132	134	119	2000

注：（）内は海外旅行者分再掲、○で囲んだ数字は同一フォーカスからの分離株を含む。
各表の合計より下の欄は、全国集計には入れていないが、各機関から報告された菌種等についての記載。

腸管出血性大腸菌O157:H7による 感染性腸炎の富山県初発例

児玉博英 林 美千代 刑部陽宅 吉田喜美子¹
岩口力男¹

First Incidence of Infectious Enteritis Caused by *Escherichia coli* O157:H7 in Toyama Prefecture

Hirohide KODAMA, Michiyo HAYASHI, Yotaku
GYOBU, Kimiko YOSHIDA and Rikio IWAGUCHI

Rileyら[1]は、1982年2～3月米国オレゴン州で、同年5月ミシガン州で、ともに大腸菌O157:H7による集団下痢症の発生を報告した。原因食品は同じファーストフードチェーンのレストランのハンバーグパティであった。小林ら[2]は1985年、同菌による小児下痢症2例を日本で初めて報告した。その後、1990年10月には、埼玉県の某幼稚園で本菌による集団下痢症も発生し[3]、園児2名が死亡したため、大きな社会問題となった。1991年4月には、著者らも富山県初の本菌による感染性腸炎を経験したので、その概要を報告する。

[患者の臨床経過]

症例1：N.Y., 6才女子、1991年4月2日発病。主訴は腹痛と下痢、下痢は泥状血便で1日約10回。食欲はやや低下するが元気あり。同日高岡市K病院にて受診、感染性腸炎と診断され即刻入院し、直ちに便培養後、ホスミン（経口）1,500mg/分3/日；ロベミン0.6mg、タンナルビン1.5mg/分3/日；4日間投与。経過良好のため4月6日退院した。

症例2：N.K., 32才女。症例1の母親で4月3日発病。主訴は腹痛と下痢、下痢は血便1日5回。4月6日、子供の退院時に同病院にて便培養。入院はせず、子供同様の治療を受け、良好な経過をとり回復した。

[細菌学的検査結果]

K病院検査部において、症例1からは直接培養平板で純培養状に、症例2からは他の腸内細菌にまじって少数の大腸菌様コロニーを認め、いずれもソルビット非分解で、大腸菌診断用血清の混合3に凝集したため、衛生研究所で同定および毒素産生試験を行った。両症例ともに他の腸管起病菌は分離されなかった。両菌株は生化学性状と抗原性状から、腸管出血性大腸菌O157:H7と同定され、ともにVero毒素(VT)を産生した。後に都立衛生研究所による毒素型別の結果、VT-2単独産生株であることが判明した。表1および表2に、本症例分離株と埼玉県の集団下痢症患者由来の大腸菌O157:H7株との比較を示す。コロニーの性状に関しては、本症例分離株が変法ドリガルスキー平板上でやや小型、黄色味が強く、マッコンキー平板上でやや乾燥していた以外は埼玉株とほぼ同様で、馬血液寒天平板では両者はともに強い溶血性を示し、平板全面が完全溶血した。生化学性状に関しては、本症例分離株と埼玉株の間に、特に糖分解速度に違いがみられ、本症例分離株は埼玉株に比べてサッカロースの分解はやや速く、ズルシット、ラフィノース、トレハロースの分解はやや遅く、キシロースの分解は著しく遅かった。また、本症例分離株はソルビットを6～7日後に分

解したが、埼玉株は14日後も非分解であった。また産生する毒素型にも違いがみられ、本症例分離株はVT-2単独産生であったが、埼玉株はVT-1とVT-2の両毒素を産生した。なお、本症例分離株、埼玉株ともにH抗原の決定には時日を要し、クレイギー管4代経代後に漸くH7であることが確認された。

表3は1983年以來の富山県の病原微生物検出情報から、腸管病原細菌上位5菌種の分離状況を示したものである。腸管出血性大腸菌の分離は、今回が富山県の初発例であるが、腸管起病性大腸菌全体としては、最近はむしろ減少の傾向である。1991年は黄色ブドウ球菌が本菌食中毒の多発を反映して第1位、次いでカンピロバクター、サルモネラ、腸炎ビブリオ、大腸菌の順であった。

謝辞：菌株を分与して頂いた埼玉県衛生研究所奥山雄介博士と分離株の毒素型を決定して頂いた東京都立衛生研究所甲斐明美先生に感謝します。

文 献

1. Riley, L.W., Remis, R.S., Hergerson, S.D., McGee, H.B., Wells, J.G., Davis, B.R., Hebert, R.J., Olcott, E.S., Johnson, L.M., Hargrett, N.T., Blake, P.A. and Cohen, M.L.(1983). New Eng. J. Med., 308, 681~685.
2. 小林一寛 (1985). 衛生微生物技術協議会第6回研究会 口演要旨集, p40.
3. 奥山雄介 (1991). 衛生微生物技術協議会第12回研究会 講演抄録, p42.

表1. 分離株の平板上のコロニー形態

平板	菌株	富山県N.Y.株	埼玉県EC7-1株(菌株0157:H7)
変法ドリガルスキー		S型 縞縞縞縞 縞縞かなり透明 湿潤 やや隆起	S型 大きさ中等度 淡黄色かなり透明 湿潤 やや隆起
マッコンキー		S型 大きさ中等度 ピンク中心不透 縞縞縞縞 やや隆起	S型 大きさ中等度 ピンク中心不透 湿潤 やや隆起
ソルビットマッコンキー		S型 大きさ中等度 灰白色かなり透明 湿潤 やや偏平	同左
馬血液寒天		平板全面完全溶血 S型 大きさ中等度 灰白色中心不透 湿潤 やや偏平	同左

表2. 分離株の諸性状

項目	富山県		埼玉県
	N. Y. 株	N. K. 株	EC7-1株
TSI	A/AG	A/AG	A/AG
SIM	-, +w, +	-, +w, +	-, +, +
MR	+	+	+
VP	-	-	-
β-Glucuronidase	-	-	-
クエン酸塩(シモンズ)	-	-	-
ラクトース	+(1)	+(1)	+(1)
サッカロース	+/+	+/+	-(1)→+w(4)
マンニット	+(1)	+(1)	+(1)
ズルシット	+/+	+/+	+(1)
サリシン	-(14)	-(14)	-(14)
アドニット	-(14)	-(14)	-(14)
イノシット	-(14)	-(14)	-(14)
ソルビット	+/+	+/+	-(14)
アラビノース	+(1)	+(1)	+(1)
ラフィノース	+/+	+/+	+(1)
ラムノース	±(1)→+w(2)→+(3)	±(1)→+(2)	+w(1)→+(2)
キシロース	+/+	+/+	+(1)
トレハロース	+/+	+/+	+(1)
セロビオース	-(14)	-(14)	-(14)
病原大腸菌			
混合血清(生菌、死菌)	混合3	混合3	混合3
O因子血清(生菌、死菌)	O157	O157	O157
H因子血清 ¹⁾	H7	H7	H7
Vero毒素産生 ²⁾	+(64倍以上)	+(64倍以上)	+
毒素型 ³⁾ LA法	VT-2	VT-2	(VT-1 + VT-2)
PCR法	VT-2	VT-2	
薬剤感受性			
アンピシリン	S	S	S
コリスチン	S	S	S
カナマイシン	S	S	S
ストレプトマイシン	S	S	S
テトラサイクリン	S	S	S
クロラムフェニコール	S	S	S
ゲンタマイシン	S	S	S
セファロチン	S	S	S
ナリジクス酸	S	S	S

1) 富山N. Y. 株、N. K. 株、埼玉EC7-1株は総てクレイギー管25℃培養4代継代後の培養液で初めて凝集を示す。

2) 分離株の trypticase Soy Broth 一夜振盪培養除菌上清の原液～64倍希釈まで Vero毒素+。

3) 都立衛研 甲斐による検査成績。

表3. 富山県における腸管起病性大腸菌の分離状況¹⁾

菌株	1983	84	85	86	87	88	89	90	91
1	Camp 317 ²⁾	Camp 240	Camp 306	Camp 259	Camp 212	Camp 179	Camp 185	V. p 149(1)	Sta 214
2	Sal 219(2)	Sal 128(2)	Sal 147(1)	+/+	Sal 138(1)	+/+	V. p 141(1)	Camp 128	Camp 130
3	+/+	+/+	+/+	V. p 93	+/+	Sal 88	Sal 136(6)	Sal 103(1)	Sal 128
4	V. p 52	V. p 60(1)	V. p 75	Sal 84(1)	V. p 49	V. p 55	+/+	+/+	V. p 90
5	Sta 21	Shi 9(1) Typhi 9	Sta 18	Sta 17	Y. e 9	Sta 22	Sta 59	Sta 38	+/+

1) 医療機関からの情報も行われるようになった1983年からの病原微生物検出情報のうち、腸管起病細菌の分離株数を集計したもの。

2) 10保健所および12医療機関からの年間報告数。

平成4年9月1日

ELISAによる百日咳抗体測定法の検討 —ポリスチレンボール法とプレート法（従来法）の比較—

林 美千代 細呂木 志保 児玉 博英

Antibody Measurement by ELISA against *Bordetella pertussis* — Comparison between Polystyrene Ball Method and Microplate Method —

Michiyo HAYASHI, Shiho HOSOROGI and Hirohide KODAMA

日本では、百日咳菌体抗原のうち、感染防御に関係があるとされる2種の抗原—FHA (Filamentous Hemagglutinin) とPT (Pertussis toxin) —を主成分とする毒性の低いコンポーネントワクチンが開発され、従来の副作用の強い死菌ワクチンにかわって、昭和56年からこのワクチンが採用され、ジフテリア、破傷風のトキシドと共に、3種混合ワクチンとして定期接種のスケジュールに組みこまれている。それにともなって、百日咳流行予測の感受性調査では、従来からの凝集抗体の測定に加えて、上述の2種の抗原に対する抗体をマイクロプレートを用いたELISA (プレート法) で測定する方式が行われるようになって、現在に至っている。しかしながら、このマイクロプレート法では、抗体低レベル域で時に非特異反応が認められることがあり、ワクチン未接種で感染の既往歴もないと思われる例にも、1単位以上10単位未満の抗体が観察されることがある。最近、上述の2種の抗原をポリスチレンボール表面に感作して抗体を測定するELISAキットが武田薬品によって開発されたので (ボール法)、前年度の流行予測に供試した血清70検体について、ボール法と従来からのプレート法を併用して抗体を測定し、両法を比較してみた。その概要を述べる。

プレート法の詳細は既報[1]の通りである。ボール法の概略は次のようである。武田薬品のキット、TH-100を用いた。PTとFHAの2種の抗原をそ

れぞれ吸着させたボールを、細胞培養用の24穴の平底プレートの各ウェル内で、被検血清原液および12倍希釈液と反応させる。ボールを洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgGヤギIgG適量と反応させ、洗浄後、ボールを小試験管に移す。最後に基質液 (オルトフェニレンジアミンと過酸化水素) を加え、一定時間反応後492nmの波長で吸光度を測定する。予め、抗体価既知の血清により作成した標準曲線から抗体価 (単位/ml) を算出する。

表1は被検血清について、ボール法とプレート法による抗PTおよび抗FHA抗体の実測値である。ワクチン接種歴のない17例の中で、2例は感染の機会があった可能性がある (1例は抗PT抗体が両法でともに10単位以上、他の1例は抗FHA抗体が両法でともに10単位以上)。残りの15例に関して、抗PT抗体についてみると、ボール法では総て1単位かそれ以下であったが、プレート法では9例が1単位以下、残り6例は2~4単位であった。同じ15例の抗FHA抗体についてみると、ボール法では総て1単位以下であったが、プレート法では13例が1単位以下、残り2例は3~4単位であった。ワクチン接種歴があって、プレート法で抗PT、抗FHA抗体ともに10単位以上の例についてみると、一般に抗PT、抗FHAともに抗体価が高い場合には、ボール法の値がプレート法より高くなる傾向であった。

図1は、横軸にボール法、縦軸にプレート法のそ

それぞれの抗体価を両対数グラフ上にプロットしたもので、左側は抗PT抗体、右側は抗FHA抗体である。抗PT、抗FHAともに総体的に測定値はよく一致していたが、抗体価の低いレベルではプレート法の値がやや高く、抗体価の高いレベルではボール法がやや高いという傾向が明らかであった。

以上の結果から、ボール法は従来のプレート法と比べて、抗体陰性例では反応特異性がすぐれており、抗体陽性例では鋭敏度もすぐれていることが判明した。その理由として、ボール法では希釈液に低濃度の陰性血清が加えられていることと、洗浄効率がよ

表1. ELISAボール法とプレート法の抗体価実測値

単位: EU/ml

No	抗PT抗体		抗FHA抗体		No	抗PT抗体		抗FHA抗体	
	ボール法	プレート法	ボール法	プレート法		ボール法	プレート法	ボール法	プレート法
1*	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	36	19.0	19.0	167.0	211.0
2*	1.3	2.0	<1.0	<1.0	37	51.0	30.0	327.0	90.0
3*	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	38	6.9	8.0	689.0	224.0
4*	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	39*	1.1	5.0	48.0	16.0
5*	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	40	23.0	17.0	414.0	91.0
6*	31.0	16.0	2.7	5.0	41	30.0	22.0	327.0	195.0
7*	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	42	5.9	9.0	993.0	408.0
8*	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	43	4.2	11.0	133.0	39.0
9*	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	44	<1.0	6.0	25.0	12.0
10*	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	45	43.0	16.0	678.0	256.0
11*	<1.0	4.0	<1.0	4.0	46	30.0	18.0	799.0	263.0
12*	<1.0	2.0	<1.0	1.0	47	48.0	17.0	155.0	53.0
13*	<1.0	3.0	<1.0	3.0	48	85.0	32.0	102.0	31.0
14*	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	49	37.0	31.0	133.0	126.0
15	45.0	11.0	21.0	11.0	50	104.0	13.0	36.0	10.0
16	16.0	9.0	12.0	7.0	51	50.0	20.0	448.0	296.0
17	22.0	4.0	1.7	2.0	52	70.0	29.0	375.0	227.0
18	94.0	24.0	84.0	34.0	53	4.4	4.0	17.0	12.0
19	16.0	8.0	<1.0	7.0	54	88.0	30.0	81.0	45.0
20	78.0	21.0	61.0	35.0	55	67.0	40.0	375.0	93.0
21	69.0	39.0	170.0	127.0	56	242.0	133.0	102.0	43.0
22	200.0	123.0	161.0	216.0	57	3.2	2.0	<1.0	9.0
23	56.0	20.0	75.0	48.0	58	72.0	97.0	169.0	126.0
24	125.0	69.0	111.0	117.0	59	37.0	65.0	92.0	172.0
25	55.0	26.0	107.0	53.0	60	52.0	74.0	98.0	290.0
26*	1.1	4.0	<1.0	<1.0	61	71.0	59.0	92.0	76.0
27	40.0	8.0	50.0	7.0	62	13.0	20.0	44.0	32.0
28	135.0	38.0	105.0	56.0	63	50.0	57.0	206.0	444.0
29*	<1.0	3.0	<1.0	<1.0	64	278.0	157.0	120.0	106.0
30	75.0	26.0	105.0	59.0	65	3.1	11.0	55.0	24.0
31	25.0	33.0	136.0	51.0	66	78.0	40.0	218.0	93.0
32	22.0	12.0	87.0	33.0	67	18.0	29.0	182.0	130.0
33	12.0	18.0	145.0	193.0	68	46.0	10.0	75.0	32.0
34	39.0	40.0	125.0	94.0	69	<1.0	6.0	50.0	33.0
35	14.0	31.0	24.0	23.0	70	61.0	12.0	472.0	38.0

* ワクチン接種歴なし

平成4年9月1日

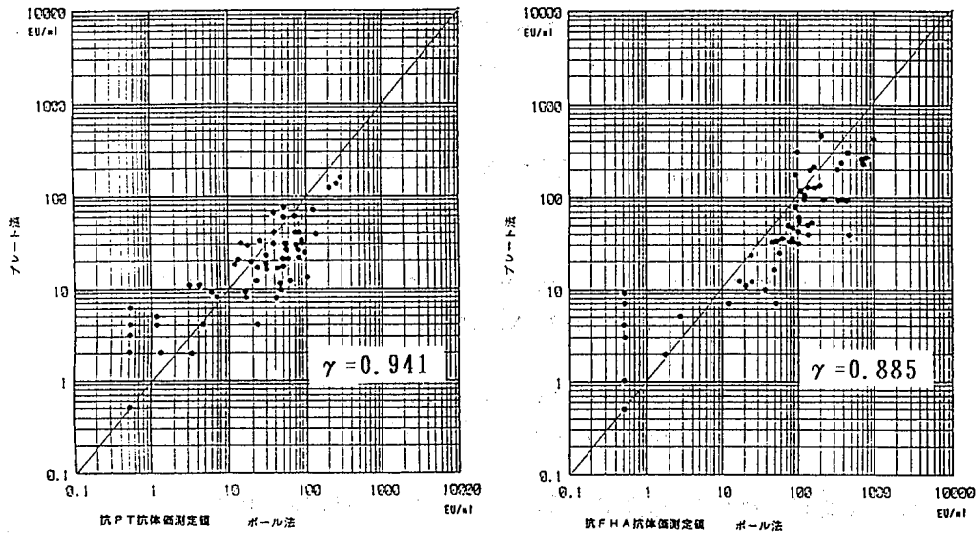


図1. ELISAボール法とプレート法の抗体価の比較

いために非特異反応が起こりにくいこと、また反応をおだやかな攪拌状態で行うために反応効率がよいこと、が考えられる。今後の流行予測の感受性調査には、コストは高いがこの方法を採用することがのぞまれる。

文 献

1. 児玉博英, 徳満尚子, 高田厚史, 刑部陽宅, 安井伊津子, 延谷平八郎, 園家敏雄, 古城伸一 (1986). 富山衛研年報, 9, 108~113.

台所用雑巾（タオル）から分離した *Fusarium oxysporum*について

井山 洋子 高柳 信孝 戸矢崎 紀結¹

Fusarium oxysporum isolated from the Towel for the Kitchen Use

Yōko IYAMA, Nobutaka TAKAYANAGI
and Noritsuna TOYAZAKI¹

平成元年9月に、H保健所管内の一家庭で台所の流し台用の雑巾として使用しているタオルが数日間で赤から青紫色に変化するという事例が発生し、その原因の調査を依頼された。化学物質による化学反応と微生物汚染の両面から、検査を開始した。

家庭で使用している井戸水、水道水の全項目試験を行ったが、いずれも水質基準に適合しており、特に問題となる鉄やマンガンなどの重金属も検出限界以下であった。

台所の拭き取りと検体の変色タオルの一部を各種の細菌・真菌用培地で培養し、*Pseudomonas* spp., *Flavobacterium* spp., 酵母菌、かび類等を多数分離したが、紫色のコロニーはみられなかった。

一方、タオルの変色部分を検鏡すると、繊維中に紫色の顆粒状のものが点々と付着しており、その大きさは5 μ m前後のものが多く、中には10 μ mを超える細胞様の球形のものもあったが、大部分は不定形でしかも輪郭が不鮮明であった。また、3 μ m程度の胞子や茶褐色で1～数個が連鎖する厚膜胞子も認められた（写真1参照）。

平成2年2月に県繊維研究所で変色タオルの繊維を走査型電子顕微鏡で観察してもらった結果、白色部分に比し青紫色の繊維には付着物が多くみられた（写真2, 3）。また、変色タオルを新しいタオルで包み、25 $^{\circ}$ C、95%の高湿度で保存したところ、変色部分が伝染、拡大したため微生物による汚染では

ないかとの助言を受けた。

そのため、当所でも乾燥を防ぐため、CaSO₄・2H₂Oの飽和溶液を入れたタイトボックスに変色タオルと新しいタオルを重ねて培養（28 \pm 2 $^{\circ}$ C）した結果、1～2週間後わずかながら新しいタオルに青紫色の斑点が認められた。

その後、平成2年4月と3年6月に同じような台所用タオルの変色事例が2か所の施設で発生した。いずれも水道水を使用しており、台所以外の洗面所や浴室では発生していないとのことであった。

再度、細菌・真菌用の各種培地を使い、分離を試みた。

その結果、3年8月に変色タオルの抽出液をポテトデキストロース寒天（PDA）培地、コンラージ法で培養（28 $^{\circ}$ C）した平板上に紫色のかびが発育してきた。

このかびの形態は次のようであった。

小分生子は7 \times 3 μ m位の卵型、楕円形が多いが、球形、棍棒型、洋梨型などさまざまである（写真4）。大分生子は35 \times 5 μ m程度の4 septumのものが最も多く、形状は鎌型あるいは紡錘形で多少カーブしている。単独、あるいは分生子柄上で球状群をなしている（写真5）。

厚膜胞子は直径10 μ m、球形で1個あるいは数個連鎖している（写真6）。

気生菌糸は所々膨化し、綿毛状で色調は最初は白

平成4年9月1日

くサーモンピンク色から次第に青紫色に変化していった。菌糸体全体が紫色に着色しているものと、中の細胞質の顆粒だけが点々と着色しているものと両方あったが、分生子の着色はみられなかった。

純培養では1日で直径10 μ m, 3日で20 μ m, 4日で45 μ m, 6日間で55 μ mに発育した(写真7)。

培養した紫色かびの平板上にタオルを付着させ、汚染の再現試験を行ったところ、数日で検体のタオルと非常によく似た色調の染色斑を呈した(写真8)。

平成3年12月, 本菌を不完全菌類の *Fusarium oxysporum* と同定した。

本真菌は世界中に広く分布し, 元来は植物病害菌であるが, 最近では角膜真菌症の重要原因の一つとされている[1]。

管轄の保健所では台所の流し台周辺の清拭消毒と雑巾, ふきん等はローテーションして使用するよう衛生指導を行い, その後発生はなくなった。

一般家庭の台所では防菌防かび対策として, おもに逆性石けん液や次亜塩素酸ナトリウムを使用しているため, 本菌に対するそれらの薬剤の殺菌効果について試験した。予備試験として最小発育阻止濃度(Minimum Inhibitory Concentration-MIC)と定量的細菌懸濁法により最小殺菌濃度(Minimum Bactericidal Concentration-MBC)の測定を行った。

使用した薬剤;

- ・塩化ベンゼトニウム(ハイアミンT液; 使用期限1995.10 製造番号M089W 三共株式会社)
- ・次亜塩素酸ナトリウム(キッチンハイター; 製造番号W22141, ハイター; 製造番号W11609 花王株式会社)

試験方法は主として文献[2]に従った。

その結果, MICは表1に示すように, ハイアミンT液は5,000ppm(0.5%), キッチンハイターとハイターは625ppm(0.06%)であった。これを薬剤濃度に換算すると, ハイアミンT液には塩化ベンゼトニウムが10w/v%含まれ, これは500ppmに相当する。またキッチンハイターとハイターの有効塩素濃度を測定したところ, それぞれ5.4%と2.9%で

表1. 各種薬剤の *F. oxysporum* に対する最小発育阻止濃度

濃度 ppm	5,000	2,500	1,250	625	313	156
ハイアミンT液	-	+	+	+	+	+
キッチンハイター	-	-	-	-	+(3H)	+
ハイター	-	-	-	-	+	+

(28°C, 2~7日間)

あった。従って両液の有効塩素量は33.8ppmと18.1ppmに相当する。表2に各薬剤のMBCの測定結果を示した。

試験は処理温度30°C, 処理時間30分, 夾雑物なしの条件下で行った。

ハイアミンT液は500ppm(0.05%), キッチンハイターは31ppm(0.003%), ハイターは63ppm(0.006%)でかび胞子は全く発育してこなかった。これを薬剤濃度に換算すると, 塩化ベンゼトニウムは50ppm, キッチンハイターとハイターの有効塩素量はそれぞれ1.67ppmと1.83ppmで, いずれも2ppm以下で完全に死滅することが分かった。

MICがMBCの10倍も上回ったのは, テストに寒天培地法を使用したためである。消毒剤の効果を左右する因子として, 逆性石けんや次亜塩素酸ナトリウムは特に有機物やpHの影響を受けやすく, PDA培地に薬剤を添加したため, その効果が激減したものと考えられる。

また殺菌効果を指数で表わすと, ハイアミンT液は2.91, キッチンハイターは7.11, ハイターは3.88であった。

塩化ベンゼトニウムは最も普遍的な消毒剤で芽胞のできない細菌類に広く抗菌作用を有するが, 結核菌, ウイルスにはあまり有効ではないとされている。次亜塩素酸ナトリウムは強い殺菌性を有し, グラム陽性細菌, 真菌類には効力を有するが, 力価の低下が早く, しかも不快な塩素臭を伴うなどの欠点がある[3]。

製造メーカーによると次亜塩素酸ナトリウムはキッチンハイターとハイターの区別なく, 家庭用で4~

表2. 各種薬剤の *F. oxysporum* に対する殺菌効果の比較

薬剤	濃度ppm 希釈	濃度							
		1,000	500	250	125	63	31	16	8
ハイミンT液	10 ⁰	0 -	0 -	10*(1)	+++ -	+++ -	+++ -		
	10 ⁻¹	0 -	0 -	1 (0)	360(2.56)	+++ -	+++ -		
	10 ⁻²	0 -	0 -	0 -	54(1.73)	200(2.30)	160(2.20)		
	10 ⁻³	0 -	0 -	0 -	8(0.90)	16(1.20)	23(1.36)		
キッチンハイター	10 ⁰			0 -	0 -	0 -	0 -	63(1.80)	+++ -
	10 ⁻¹			0 -	0 -	0 -	0 -	11(1.04)	+++ -
	10 ⁻²			0 -	0 -	0 -	0 -	0 -	75(1.89)
	10 ⁻³			0 -	0 -	0 -	0 -	0 -	8(0.90)
ハイミンT液	10 ⁰			0 -	0 -	0 -	+++ -	+++ -	+++ -
	10 ⁻¹			0 -	0 -	0 -	170(2.23)	+++ -	+++ -
	10 ⁻²			0 -	0 -	0 -	19(1.28)	90(1.95)	100(2.00)
	10 ⁻³			0 -	0 -	0 -	5(0.70)	17(1.23)	15(1.18)
対照群	10 ⁰	+++ -							
	10 ⁻¹	+++ -							
	10 ⁻²	+++ -							
	10 ⁻³	+++ -							
	10 ⁻⁴	1,300(3.11)							

*生残菌数, () 内はその対数, +++は菌数多く測定不能 (28℃, 2~7日間)

殺菌効果: ハイミンT液 (4+3.11)-(2+2.20)=2.91
 キッチンハイター (4+3.11)-(0)=7.11
 ハイター (4+3.11)-(1+2.23)=3.88

ま と め

6%添加して出荷しているとのことであった。メーカーの表示する標準使用量はハイミンT液は0.1%, ハイター類は0.6%で特に後者の場合は、力価の低下や有機物の存在を考慮しても10~100倍と高い濃度なので、使用の際は過剰にならないよう正確に計量、希釈する必要がある。

平成元年9月から3年6月にかけて台所用のタオルが赤から青紫色に着色する事例が県内の3施設で発生したため、その原因の調査を行った。

その結果、変色タオルの抽出液をPDA培地で培養(28±2℃)した平板から、不完全菌類の*Fusarium oxysporum*を分離した。

平成4年9月1日

次に、一般家庭で使用している消毒剤の本真菌に対する薬剤効果を測定した。

その結果、最小殺菌濃度は処理温度30℃、処理時間30分、夾雑物なしの条件下では、ハイアミンT液は500ppm (0.05%)、キッチンハイターは31ppm (0.003%)、ハイターは63ppm (0.006%)で、かび胞子は総て死滅した。これを薬剤濃度に換算すると塩化ベンゼトニウムは50ppm、次亜塩素酸ナトリウムは有効塩素量で1.67~1.83ppmに相当した。本真菌に対しては、殺菌効果を変動させる因子は種々存在するものの、市販の家庭用薬剤で十分な効果が期待できることが分かった。

謝辞：変色タオルの電子顕微鏡写真撮影等の労をおかけした県繊維研究所（現 工業技術センター、

中央研究所）の鈴木久之氏に感謝いたします。また検体搬入にご協力下さった保健所衛生課の関係各位に御礼申し上げます。

文 献

1. 宇田川俊一・椿 啓介ほか著 (1986). 菌類図鑑下. p.1059~1061. 講談社
2. 高島浩介監修 (1988). わかりやすい真菌 (かび) 検査法と汚染防止対策. p.161~165. 株式会社テクノシステム
3. 都築正和監修 (1992). 殺菌・消毒マニュアル. p.6~20. 医歯薬出版株式会社



写真1. 検体タオル中の厚膜胞子 (×200)

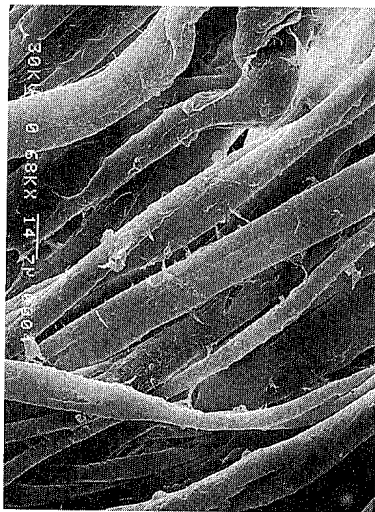


写真2. 検体タオルの白色部分のSEM像

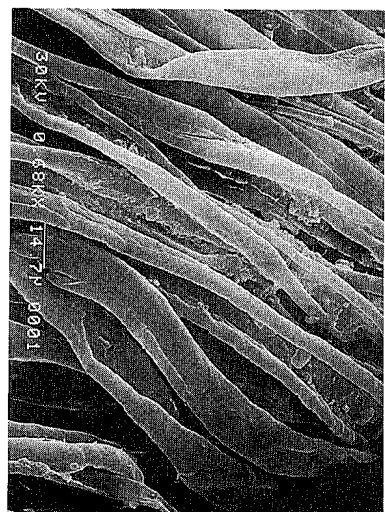


写真3. 検体タオルの青色部分のSEM像



写真4. 小分生子と分生子柄
(×200)

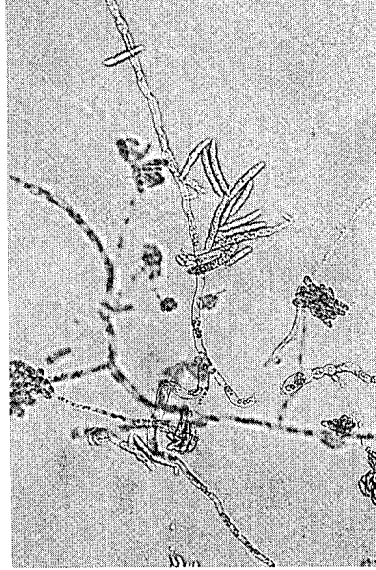


写真5. 分生子球状群と大分生子
(×200)



写真6. 厚膜孢子 (×200)

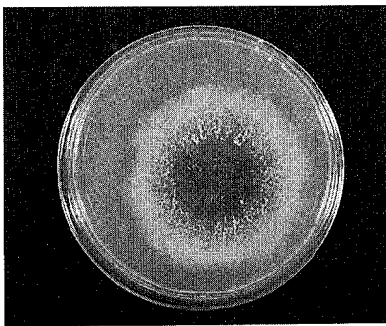


写真7. PDA培地上, 6日後の
コロニー

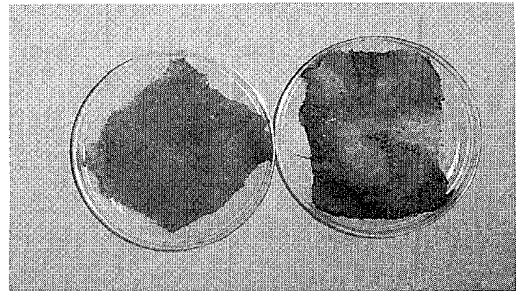


写真8. タオル片の変色再現試験

平成4年9月1日

ゴルフ場使用農薬の簡易分析法

高柳 信孝 健名 智子

A Simple Analytical Method for Pesticides Used in Golf Courses

Nobutaka TAKAYANAGI and Tomoko KEMMEI

現在、ゴルフ場使用農薬のうち、30種について水質目標が定められている。厚生省が定める分析法では、ガスクロマトグラフを用いて測定する農薬の前処理として、ジクロロメタンを用いた液-液抽出を採用している。しかし、この方法は濃縮に時間がかかることや、多量の有機溶媒の使用による健康被害が危惧されるなどの欠点がある。近年、水系の農薬分析の前処理として、多孔性化学結合型シリカゲルを充填したミニカートリッジカラムやフィルターを使用し、農薬を吸着濃縮する固相抽出法が用いられている。たとえば玉川等〔1〕はジフェニール系除草剤に、津山等〔2〕は有機塩素系農薬に、奥村と今村〔3〕は140種の農薬に、小林等〔4〕、高木等〔5〕および尾辺〔6〕はゴルフ場使用農薬を中心に検討している。今回当所でもこの方法を用いて、チウラム、オキシシン銅、アシュラムおよびメコプロップを除いた農薬26種について検討したので、その結果を報告する。

実験に用いた試薬および装置はつぎのとおりである。農薬標準品は、和光純薬工業(株)製、ジーエルサイエンス(株)製および林純薬工業(株)製のものを用い、これらをアセトンに溶解して200mg/lとしたものを農薬標準原液とし、使用の都度、適宜希釈して用いた。有機溶媒は和光純薬工業(株)製残留農薬試験用を使用し、ミニカートリッジカラムはWaters社製tC18Sep-Pak Plus Cartridge Short Body (tC18カラム)を用いた。ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)は(株)島津製QP-2000GFで、クールオンカラム注入方式、自動注入装置AOC-14付

きのものを用いた。データ処理は島津GC/MS用データ処理システムGC-MS PAC200Sを用いた。

GC/MS測定条件(SIMモード)は、つぎのとおりである。

カラム; DB-1 (30m×0.32mm×0.25 μ m)
カラム温度; 50°C (1min) → (20°C/min) → 100°C → (10°C/min) → 170°C → (5°C/min) → 245°C (5min)

注入口温度; 90°C (1.5min) → (30°C/min) → 280°C (15min)

注入量; 1 μ l

モニターイオン; Table 1 参照

試験溶液の調製は、つぎのように行った。検水1 μ lを、あらかじめ溶離液、メタノール、水各5mlで洗浄したtC18カラムに、アスピレータで毎分15~25mlの流速で吸引注入した。カラム内の水分を除くため、さらに20分間空気を吸引したのち、カートリッジを注射筒に付けかえ、有機溶媒5mlで遠沈管に溶出し、窒素ガスを吹き付けて乾固し、ヘキサン1mlで溶解して試験溶液とした。

まず、GC/MS測定における各農薬のピーク面積の再現性について調べた。検査対象農薬26種の標準原液を混合し、アセトンをほとんど揮散させ、n-ヘキサンに溶解して1mg/lとした標準液を、GC/MS(SIM)で3回測定したところ、変動係数はTable 1に示すように、すべて10%以下であった。

つぎに、カートリッジからの溶離液について検討した。尾辺〔6〕は、ゴルフ場使用農薬7種について

Table 1. Reproducibility of the Peak Area by GC/MS

Pesticide ^{a)}	Monitoring Time (min)	Peak Area ^{b)} ± S.D.	C.V. (%)
DEP	145	12681 ± 680	5.4
Echlomezol	211	108745 ± 4852	4.5
Chloroneb	191	551152 ± 4679	0.8
Pencycuron	125	317676 ± 24912	7.8
Bethrodine	292	208693 ± 3419	1.6
CAT	201	247428 ± 5737	2.3
TPN	266	577838 ± 7516	1.3
Propyzamide	173	510293 ± 9273	1.8
Diazinone	179	156733 ± 3858	2.5
Tolclofosmethyl	265	674999 ± 15709	2.3
MBPMC	205	996425 ± 25696	2.6
MEP	277	75235 ± 1402	1.9
Chlorpyrifos	199	188005 ± 6307	3.4
Captan	79	644335 ± 18232	2.8
Pendimethalin	252	170746 ± 2993	1.8
Methyldymron	107	1442114 ± 48487	3.4
Isophenfos	213	159087 ± 5937	3.7
Isoprothiolane	118	427901 ± 16341	3.8
Butamifos	286	65052 ± 1138	1.7
Napropamide	128	441198 ± 14934	3.4
Flutolanil	173	1543136 ± 49091	3.2
Isoxathion	105	371121 ± 25489	6.9
Mepronil	119	1248679 ± 90555	7.3
Pyridaphenthion	340	74919 ± 1951	2.6
Iprodione	314	188108 ± 8647	4.6
SAP	77	23783 ± 599	2.5

a) Concentration; 1mg/l each

b) Mean of three determinations

て、BNVI-18 SPE 6ml (1g) カートリッジを用いた固相抽出を行い、溶離液としてアセトン、ジクロロメタン、酢酸エチル、メタノール、n-ヘキサン、ベンゼン、四塩化炭素、トルエンおよびキシレンについて検討し、アセトンおよびジクロロメタンが適当であると述べている。小林等 [4] は、Sep-Pak C18にn-ヘキサン・アセトン (1+1) を、エムボアディスクについてはアセトンおよびn-ヘキサンを、高木等 [5] は、C8の官能基を有するフィルターに酢酸エチルを溶離液として用いている。そこでジクロロメタン、酢酸エチルおよびアセトンを用いて予備試験を行ったところ、Table 2 に示すように、ジクロロメタンと酢酸エチルでは回収

率にほとんど差が認められず、アセトンはやや劣ると思われたので、以後の実験は、揮散しやすいジクロロメタンを用いて行った。

つぎに、井戸水に1ℓに、農薬26種 (各々1mg/l) 混合標準アセトン溶液1mlを添加し、試験溶液の調製法に従って操作し、回収率を求めた。結果をTable 3に示す。DEP、エクロメゾール、クロロネブおよびCATは回収率が低く、このうちエクロメゾールとクロロネブは変動も大きかった。これは、カートリッジからの溶出液が水分を含んでいるため、

Table 2. Recovery of Pesticides from Spiked Deionized Water with Different Eluents

Pesticide ^{a)}	Recovery (%)		
	Dichloro- methane	Ethyl Acetate	Acetone
DEP	49	47	44
Echlomezol	78	37	15
Chloroneb	89	72	8
Pencycuron	103	88	94
Bethrodine	93	92	50
CAT	39	41	40
TPN	100	103	92
Propyzamide	97	98	89
Diazinone	99	100	83
Tolclofosmethyl	98	99	79
MBPMC	103	104	96
MEP	104	102	95
Chlorpyrifos	101	95	77
Captan	73	60	61
Pendimethalin	95	89	77
Methyldymron	105	106	99
Isophenfos	88	84	82
Isoprothiolane	98	99	96
Butamifos	89	85	88
Napropamide	100	98	95
Flutolanil	100	103	98
Isoxathion	103	101	98
Mepronil	104	105	97
Pyridaphenthion	99	102	95
Iprodione	102	104	97
SAP	98	111	99

a) Amount spiked to 1ℓ of Sample; 1μg each

平成4年9月1日

Table 3. Recovery of Pesticides from Spiked Well Water

Pesticide ^{a)}	Recovery ^{b)} (%) ± S. D.
DEP	49 ± 1
Echloomezol	55 ± 25
Chloroneb	67 ± 22
Pencycuron	85 ± 12
Bethrodine	85 ± 6
CAT	43 ± 3
TPN	100 ± 2
Propyzamide	92 ± 4
Diazinone	97 ± 2
Tolclofosmethyl	96 ± 3
MBPMC	89 ± 5
MEP	93 ± 1
Chlorpyrifos	98 ± 2
Captan	82 ± 2
Pendimethalin	90 ± 1
Methyldymron	100 ± 4
Isophenfos	75 ± 4
Isoprothiolane	95 ± 4
Butamifos	82 ± 2
Napropamide	94 ± 4
Flutolanil	85 ± 6
Isoxathion	105 ± 3
Mepronil	94 ± 6
Pyridaphenthion	95 ± 4
Iprodione	92 ± 7
SAP	94 ± 8

a) Amount spiked to 1l of Sample; 1µg each

b) Mean of five determinations

乾固する際に時間を要し、揮散したものと考えられる。高木等[5]もフィルターからの溶出液に水分が混入することが、回収率を変動させる大きな要因となることを指摘している。またDEPについては、水溶解度が154 g/lと非常に高いので他の処理法が

必要である。CATについては、奥村等がSep-Pak C18を用いた結果では、88%の回収率が得られている。この相違はカートリッジの違いだけでなく、アセトン添加量（奥村等は100 µl, 著者等は1 mlを添加している）も影響しているものと考えられる。

以上のように、この前処理法は、26農薬中22農薬に適用可能であることが分かった。今後、溶出液中の水分の除去、容量の大きいカートリッジの使用あるいは種類の違うカートリッジとの組み合わせにより、より広範囲の一斉分析が可能であると思われる。

文 献

1. 玉川勝美, 大金由夫, 相原良之, 広島紀以子, 加藤 恵, 三島靖子, 関 敏彦 (1984). 仙台市衛生試験所報, 14, 261-266.
2. 津山明宣, 青山大器, 大野浩之, 服部昌子, 中島重人, 岩間雅彦 (1989). 名古屋市衛生研究所報, 35, 109-113.
3. 奥村為男, 今村 清 (1991). 水質汚濁研究, 14, 109-122.
4. 小林規矩夫, 茅野陽子, 飛田修作, 堤 充紀 (1991). 第25回水質汚濁学会講演集, 296-297.
5. 高木博夫, 中村靖男, 相沢貴子, 真柄泰基 (1991). 第25回水質汚濁学会講演集, 298-299.
6. 尾辺俊之 (1991). 平成3年度地研全国協議会東海北陸支部衛生化学部会資料.

オンライン固相抽出による水中チウラムの HPLC分析

山本 敦 大戸 幹也 松永 明信

On-Line Solid-Phase Extraction of Thiuram in Water with HPLC Analysis

Atsushi YAMAMOTO, Mikiya OHTO
and Akinobu MATSUNAGA

ゴルフ場に使用される農薬による環境汚染、特に上水の汚染を懸念した厚生省は、30種類の農薬成分について暫定水質目標値および検査方法を定めた[1]。これら農薬の測定方法として、ガスクロマトグラフ・質量分析法及び高速液体クロマトグラフ法(HPLC)が指定されたが、いずれの成分も溶媒抽出による濃縮操作を要する。この操作は非常に煩雑で、しかも多量の検水と有機溶媒を必要とする。

近年、水中の微量農薬の濃縮法として、多数の検体の処理能力に優れ、また有機溶媒の使用を極力抑えた固相抽出法が試みられるようになった[2-5]。しかしながらこの方法も、濃縮操作に多大の時間と検水を要する。

著者らは、この煩雑な濃縮操作を省くことを目的として、基本構成を有するHPLCを用いた微量農薬オンライン分析法の確立を試みた。その結果、インジェクターのサンプルループ部位にガードカラムを装着することにより、特別な流路切り換えバルブなしに、検体大量注入法による微量分析が可能となることを明らかにした。そして、この方法による除草剤アシュラムの分析例については、既に報告した[6]。そこで今回、本法の適用範囲を拡大する目的で、殺菌剤チウラムの分析を試みた。

実験方法：HPLC装置は既報[6]に準じた。すなわち、(株)島津製作所製LC-5A型ポンプ、同CTO-6A型恒温槽、同SPD-6AV型検出器にレオダイン社製7125型インジェクターを組合せて構成した。た

だし、インジェクションループの代わりにメルク社のガードカートリッジLiChroCART(RP-18)をホルダーにより接続した。

分析カラムには、逆相分配カラムWakosil 5C18(和光純薬工業(株)、4.6mm i.d. x 25cm)をカラム温度40°Cで用い、アセトニトリル-水(1:1)溶液を移動相とし、1.0ml/minで送液した。検出は270nm、0.02aufsで行ない、定量はピーク高の絶対検量線法を用いた。

チウラムの標準試料は和光純薬工業(株)の残留農薬試験用、アセトニトリルは同HPLC用を使用した。

検体には、地下水20件を用いた。検水1mlを0.45μmのフィルター(ミリポアSJHV)を通して直接ガードカラムに注入した。

結果と考察：厚生省は、チウラムの暫定水質目標を6μg/l、測定時の検出限界を0.6μg/lと定めている。測定条件によっても異なるが、通常の吸光度検出HPLCでは、絶対注入量1ng以下のチウラムの検出が可能である。したがって、本法での測定に必要な検水の量は約1mlで済むことになる。チウラムはアシュラムと異なり、極性の小さな化合物であるため、逆相分配系のカートリッジへは定量的に保持されるものと考えられた。0.5μg/lチウラムの標準溶液をカートリッジへ注入した結果、注入量5mlでもチウラムは完全に保持された。そこで、検水はフィルターでろ過するだけでカートリッジへ注入することとした。

平成4年9月1日

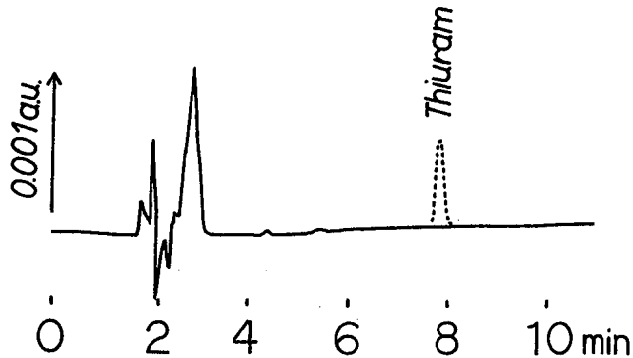


Fig.1. Typical Chromatogram of On-Line Solid-Phase Extraction Technique.

Broken line represents the peak of 2.4 ppb Thiuram added to groundwater (solid line).

厚生省法によりチウラムが存在しないことを確認した検体1ℓに、チウラムを2.4μg添加し、本法での回収率および分析精度を調べた。Fig. 1の実線は検体でのクロマトグラムを示す。妨害ピークの出現も無く、また10分以降のベースラインは安定しており、約10分間隔での試料注入が可能であった。Fig. 1の破線でチウラム添加によるピークを示したが、ピーク高法による回収率は90.2%、変動係数は8.2% (n=7)であった。したがって、本法は充分実用に耐え得る分析法と考えられる。

そこで、地下水20検体に本法を適用したところ、チウラムはすべて不検出であった。これらの検体については、厚生省法でもチウラムが検出されないことを確認した。

以上、本法は水中微量農薬のオンライン分析法として実試料への適用が可能なが示された。本法は、他のゴルフ場使用農薬への適用も可能であると考えられる。

文 献

1. 平成2年5月31日付厚生省生活衛生局水道環境部長通知第152号：平成3年7月30日付同第192号。
2. 月岡 忠, 小沢秀明, 武田洋一, 寺沢潤一, 清水重徳 (1990). 環境技術, 19, 652-655.
3. 古谷 博, 下田秀美, 山口信夫 (1991). 水道協会雑誌, 60 (11), 21-28.
4. 山田直樹, 富田伴一, 茶谷邦男, 村上啓寿 (1992). 衛生化学, 38, 188-191.
5. 大野浩之, 青山大器 (1992). 衛生化学, 38, 202-208.
6. 山本 敦, 大戸幹也, 細呂木志保, 松永明信, 水上英一 (1992). 衛生化学, 38, 374-377.

テトラクロロエチレンによる地下水汚染事例(2)

健名 智子 高柳 信孝

A Case Study on the Groundwater
Polluted with Tetrachloroethylene (2)

Tomoko KEMMEI and Nobutaka TAKAYANAGI

富山県内の井波町において、平成元年10月に発覚したテトラクロロエチレンによる地下水汚染について、平成元年10～12月（第1回）及び平成3年3月（第2回）に調査を行ったが〔1〕、平成4年3月に再調査（第3回）を行ったので、その結果を報告する。

試料は、「飲用自粛地域」内及びその周辺の井戸水〔1〕で、給水栓から採水を行った。

低沸点有機塩素化合物類の分析は、厚生省のヘッドスペース法〔2〕により行った。ただし、検出器として、テトラクロロエチレン（PCE）についてはECDとFIDを併用し〔3〕、トリクロロエチレン

（TCE）についてはECDを、またシス-1,2-ジクロロエチレン（cDCE）についてはMSを用いた。一般水質項目の分析は、陽イオンについてはJIS法〔4〕により、陰イオンについては上水試験法〔5〕により行った。

第3回の調査では、計79か所の井戸について測定を行ったが、そのうち70か所の井戸が3回の調査に共通しており、以後この70か所の井戸水について種々の検討を行った。

PCE濃度の第1回と第2回、第2回と第3回の関係をFig. 1に示す。程度の差はあるものの、第1回にくらべ第2回ではかなり汚染の状況が改善され

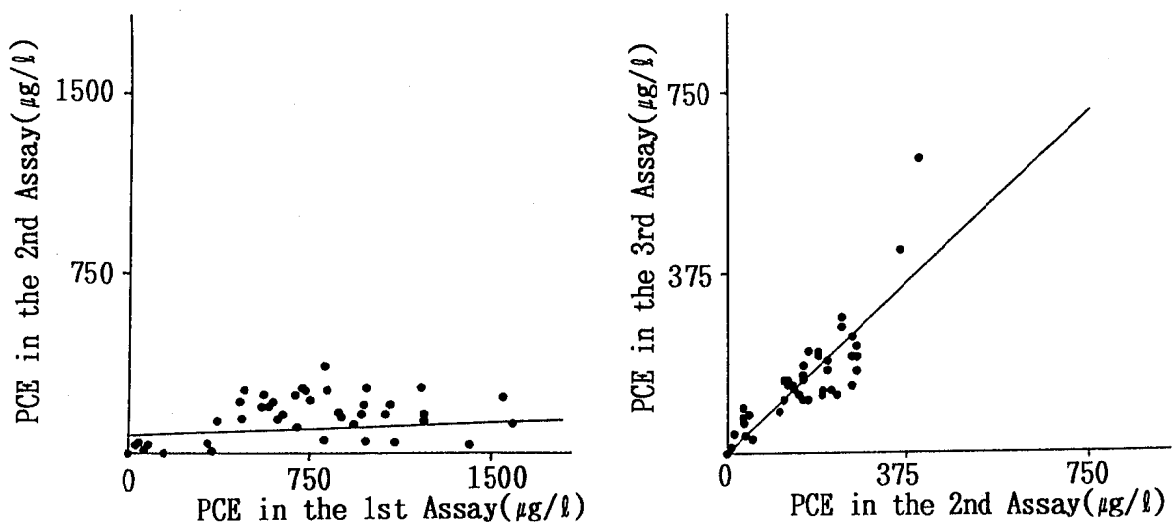


Fig. 1. Relationship of the Assay for PCE between the 1st and the 2nd or the 2nd and the 3rd

平成4年9月1日

たが、第2回と第3回の間にはほとんど変化がなかった。

第2回及び第3回の調査においては、PCEのみでなく、TCE及びcDCEについても測定を行った。TCE及びcDCEの第2回と第3回の間をFig. 2に示す。PCEと同様、TCE、cDCEについても2回の調査の間に差がみられず、汚染の状況が恒常化しているものと思われた。第2回及び第3回の調査におけるPCE、TCE及びcDCE3者間の相関係数をTable 1に示す。2回の調査とも3者間には高い相関係数がみられ、TCEはPCEの2～3%、cDCEはPCEの3～6%存在した。cDCEはTCEより若干多く存在していた。

第3回の調査では、低沸点有機塩素化合物のほか、調査地域における地下水の水質を調べるため、陽イオンとして、Na、K、Ca、Mgを、陰イオンとして、 HCO_3 、Cl、 SO_4 、 NO_3 を測定した。井戸70か所のうち、深さのわかっているものは51か所であったが、うち45か所は10m以下で、一番深い井戸で18mとすべて浅井戸であった。また、同地域は背後に山地をかかえた扇頂部にあり、古くから門前町として発達しており、住宅が密集している。井戸70か所の平均濃度(M)におけるヘキサダイアグラムをFig. 3に示す。陽イオンでは、NaとKの合計量(うちNaが95%を占める)とCaがほぼ等量、そしてCaとMgは3:1の割合で含まれていた。陰イオ

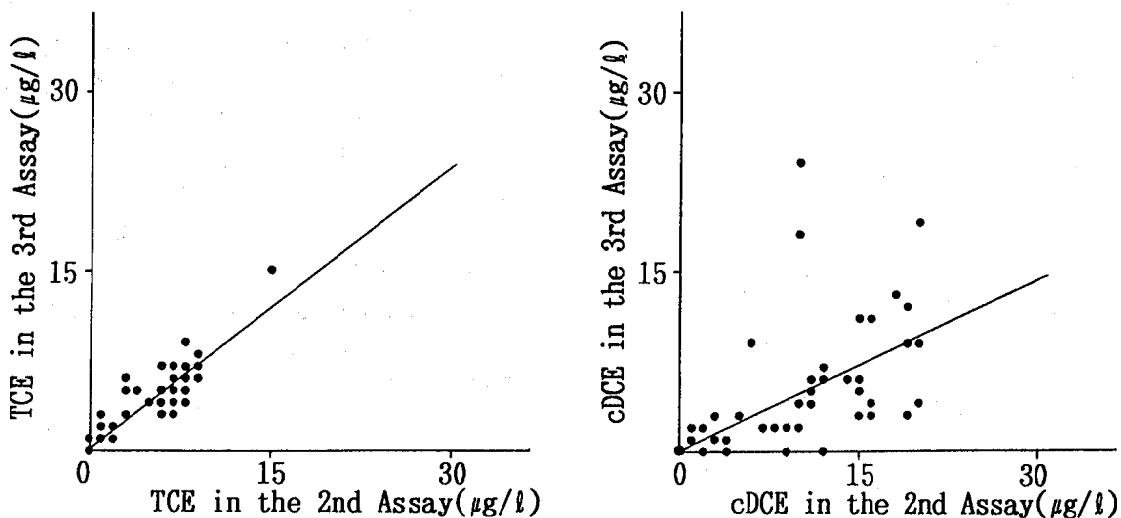


Fig. 2. Relationship of the Assays for TCE and cDCE between the 2nd and the 3rd

Table 1. Correlation Coefficients among PCE, TCE, cDCE in the 2nd and the 3rd Assay (***) ; $p < 0.001$

	The 2nd Assay			The 3rd Assay		
	PCE	TCE	cDCE	PCE	TCE	cDCE
PCE	---	0.8837***	0.8244***	---	0.8498***	0.7488***
TCE		---	0.8791***		---	0.6895***
cDCE			---			---

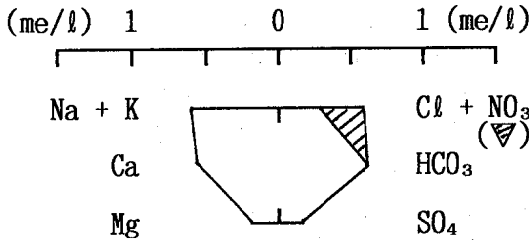


Fig.3. Hexadiagram of Groundwater

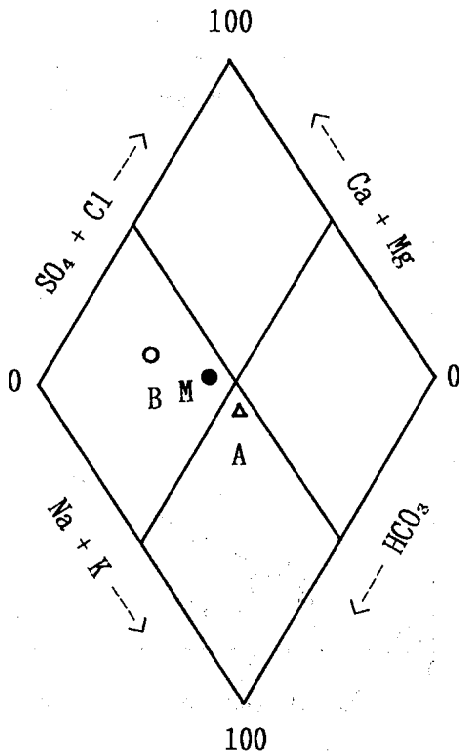


Fig.4. Key Diagram of Groundwater

M; Mean $\{(Na+K) \div (Ca)\}$ (n=70)
 A; groupA $\{(Na+K) > (Ca)\}$ (n= 6)
 B; groupB $\{(Na+K) < (Ca)\}$ (n= 3)

ンでは、 HCO_3 が約45%を占め、Clと NO_3 が等量ずつ、合わせて HCO_3 と同程度含まれていた。またClと SO_4 の割合は1.6:1であった。70か所のうち、陽イオンとしてNaとKの合計量がCa量とくらべて多いもの(A)が6か所、少ないもの(B)が3か所あり、Aは同地域の中央部に、Bははずれにある。

M, A及びBそれぞれに、 $(Na+K)$, $(Ca+Mg)$, $(Cl+SO_4)$, (HCO_3) の当量相対比率をキーダイヤグラムに表し、Fig. 4に示す。同地域における地下水はほとんどがアルカリ土類炭酸塩型に属しているが、一部アルカリ非炭酸塩型に移行しており、またヘキサダイヤグラムに示す通り NO_3 量も多いことから、全体的にある程度人為的汚染を受けており、一部その程度の大きい所があるものと思われた。

このように、同地域の井戸は同一帯水層から揚水していると考えられるが、PCEによる汚染は、事件発覚後に汚染源が取り除かれた際に減少して以後改善が見られず、更に個々の井戸における値にも変化がないことから、この地域の地下水の流動性は低いものと考えられた。また、PCEは微生物により分解を受け、TCE、更にcDCEが生成すると報告されている[6]。同地域においても3者の間には高い相関関係がみられたが、第2回と第3回の調査の間に、PCEに対するTCE、cDCEの割合が増えたということはなく、3者の関係に変化はなかった。

以上、井波町におけるPCEによる地下水汚染の再調査を行ったが、状況に変化は見られなかった。現在は地下水を飲用に使用していないことから、飲用に伴って生ずる健康上の問題はないものと思われる[7]が、地下水の水質保全是重要な問題であり今後の対策が望まれる。

文 献

1. 徒名智子, 高柳信孝, 井山洋子 (1991). 富山衛研年報, 14, 205-207.
2. 厚生省 (1984). 昭和59年2月18日環水第15号厚生省環境衛生局水道環境部長通知.
3. 黒崎裕人, 大泉 毅, 富永泰子, 尾崎邦雄, 高橋達男, 市川義夫 (1985). 新濁理化学, 11, 27-32.
4. 日本規格協会 (1986). 工業用水試験方法JIS K 0101.
5. 日本水道協会 (1985). 上水試験方法.
6. 川本克也 (1988). 化学と工業, 41, 1177-1178.
7. 富山県 (1991). 井波町テトラクロロエチレン地下水汚染住民健康調査報告書.

平成4年9月1日

有機リン系農薬急性中毒例における 血清および臓器・組織中農薬濃度

中崎 美峰子 齊藤 行雄 林 徹雄

Concentration of Organophosphorus Pesticides in Serum, Organ and Tissue in an Acute Pesticide-Poisoning Case

Mineko NAKAZAKI, Yukio SAITO and Tetsuo HAYASHI

我々はこれまで、農作業に伴う農薬暴露の生体影響について調査を行ってきたが、このほどある農薬急性中毒事例について、その血液と臓器・組織内の農薬濃度を分析する機会を得た。

症例は63歳の男性で、有機リン系殺虫剤のフェントロチオン (MEP) 35 g と マラチオン 65 g を自殺目的で服用した。即日県立中央病院救命救急センターへ入院し治療を受けたが、30日後に死亡した。この症例について、農薬服用後第1日、第7日の血清および病理解剖により提供された第30日の肝臓、腎臓、脳、腹腔内脂肪を試料とし、MEP と マラチオンの分析を行った。

血清中農薬は従来の方法 [1] により、また臓器・組織中農薬は日本薬学会衛生試験法の食品汚染物試験法 [2] に準じて前処理を行ない、いずれもガスクロマトグラフ法で分析した。

測定条件は以下の通りである。

〔血清〕 装置：島津 GC-7A (FTD)

カラム：J & W DB-210 (膜厚 1 μ m)

0.53mm ϕ × 30m

注入口温度：230 $^{\circ}$ C

カラム温度：190 $^{\circ}$ C

キャリアガス：He 30ml/min

〔臓器・組織〕 装置：島津 GC-14A (FPD)

カラム：J & W DB-210 (膜厚 0.25 μ m)

0.25mm ϕ × 25m

注入口温度：230 $^{\circ}$ C

カラム温度：60 $^{\circ}$ C (2min) \rightarrow (10 $^{\circ}$ C/min) \rightarrow 235 $^{\circ}$ C (28.5min)

キャリアガス：He 1ml/min

メークアップガス：He 50ml/min

フレイムガス：H₂ 60ml/min, Air 60ml/min

各試料の分析結果をTable 1 に示した。血清は第1日、第7日とも、MEP と マラチオンの両方が検出された。第7日にはMEP と マラチオンの濃度は、それぞれ第1日の約6分の1、10分の1に低下していた。

第30日の臓器・組織について分析したところ、腹腔内脂肪と腎臓からMEP が検出された。とくに脂肪組織中のMEP 濃度は湿重量当たり1.83 μ g/g と、腎臓の46倍の高濃度であった。肝臓と脳からはMEP は検出されず、マラチオンはどの臓器・組織からも検出されなかった。山中ら [3] はMEP 急性中毒死亡例 (7日目) について、脂肪、肺、心臓、脳、肝臓、腎臓などの臓器・組織中MEP を分析し、とくに脂肪組織に高濃度に分布していたことを報告している。今回の例では、山中らの例に比べて服用後の経過時間が長かったためか、腹腔内脂肪と腎臓に農薬を検出したのみであったが、やはり脂肪中の濃度が高かった。マラチオンは、服用量がMEP よりも多かったにもかかわらず臓器・組織からは検出されなかったことから、MEP よりも残留性は低いと思われる。

有機リン剤は一般に代謝排泄が早いといわれてい

Table 1. Concentration of MEP and Malathion in Serum, Organ and Tissues

Sample	Time after ingestion	Concentration of	
		MEP	Malathion
Serum	1 (day)	3.32 ($\mu\text{g/ml}$)	1.06 ($\mu\text{g/ml}$)
Serum	7	0.52	0.11
Fat	30	1.83 ($\mu\text{g/g}$)	n. d.
Kidney	30	0.04	n. d.
Liver	30	n. d.	n. d.
Cerebrum	30	n. d.	n. d.

るが、化合物によっては脂肪組織に移行したものが未変化のままかなり長期間残留する場合があることがわかった。

謝辞：検体の採取にご協力いただいた県立中央病院の北俊之先生に感謝いたします。

文 献

1. 西淵富蔵, 斉藤行雄, 城石和子 (1989). 富山衛研年報, 12, 211-221.
2. 日本薬学会編 (1990). 衛生試験法・注解, 628-630. 金原出版.
3. 山中すみへ, 西村正雄, 島田悦子, 吉田 稔, 山村行夫 (1987). 日衛誌, 42, 405.

4. 業 績

平成4年9月1日

4. 業 績

(1) 受賞, 学位授与, 研究助成等

1) 学位授与

西野 治身

平成3年1月9日, 富山医科薬科大学から医学博士の学位を授与された。

学位論文: 「イタイイタイ病患者におけるアミノ酸代謝異常に関する研究」

庄司 俊雄

平成3年3月20日, 金沢大学から医学博士の学位を授与された。

学位論文: 「風疹生ワクチン接種後の免疫抗体に関する横断的および追跡的研究」

山本 敦

平成3年3月25日, 金沢大学から学術博士の学位を授与された。

学位論文: 「吸光度検出イオンクロマトグラフィーの分離機構に関する基礎的考察とその展開」

渡辺 護

平成3年9月4日, 富山医科薬科大学から薬学博士の学位を授与された。

学位論文: 「コガタアカイエカの大量発生の原因としての殺虫剤抵抗性発現に関する酵素化学的研究」

(2) 誌 上 発 表

[原 著]

- 1) Ligand-exchange Ion Chromatographic Determination of Malic Acid Enantiomers in Apple Juice with Photometric Detection

Atsushi YAMAMOTO, Akinobu MATSUNAGA, Eiichi MIZUKAMI, Kazuichi HAYAKAWA* and Motoichi MIYAZAKI*

Journal of Chromatography, 585, 315-317, 1991

An ion chromatographic separation with photometric detection using a chiral copper (II) complex as the eluent has been developed for resolution of enantiomers of malic acid in commercially available apple juices. The results obtained by this method were in good agreement with those by an enzymatic method with separation by high-performance liquid chromatography.

- 2) Polarized Photometric Detector for High-Performance Liquid Chromatography

Atsushi YAMAMOTO, Akinobu MATSUNAGA, Kazuichi HAYAKAWA*, Eiichi MIZUKAMI and Motoichi MIYAZAKI*

ANALYTICAL SCIENCES, 7, 719~721, 1991

A photometric detector for an optically active compound is described in which two polarizers are set on both sides of the flow cell. When a nonchromophoric, optically active compound passes through the cell, the intensity of natural light transmitted through the polarizers and flow cell is changed. The detection of such a sample is possible photometrically. A large inclination angle between the polarizers increases the absorbance change and allows dextrorotatory and levorotatory to be differentiated. The direct HPLC/photometric detection of sugars is presented as an example of this device.

平成4年9月1日

3) Photometric Ion Chromatography of Biological Compounds Using Metal-Complex Formation

Kazuichi HAYAKAWA*, Atsushi YAMAMOTO and Motoichi MIYAZAKI*.

J. Pharmacobio-Dyn., 14, s-138, 1991

Indirect photometric ion chromatography (IPC) using ultraviolet (UV) -absorbing eluents has extended the application of ion chromatography to any high-performance liquid chromatography system capable of UV absorbance detection. On the other hand though, several metal-complexes are known to have large UV-absorptions, strong ion-exchange abilities and interesting enantiomeric interactions. Using these characteristics, we have achieved new separation and detection mechanisms for IPC.

Copper (Cu) -ethylenediaminetetraacetate (EDTA) complex is a large UV-absorbing anion. With a CuEDTA eluent, both inorganic and carboxylic anions were separately determined on an anion exchange column. By adding excess EDTA to this eluent, other divalent metal ions such as alkaline earth metal ions were also determined, as their EDTA anion complexes. This method was applied to the simultaneous determination of chloride, nitrate, sulfate, magnesium and calcium ions in biological fluids.

Cu-triethylenetetramine and Cu-ethylenediamine complexes are larger UV-absorbing cations than Cu^{2+} . The optimum concentrations of these eluents for the separation of inorganic cations on a cation exchange column were much lower than the previous Cu^{2+} eluent. This resulted in the significant improvement of their detection limits.

Enantiomeric separation and determination of malate was achieved with a chiral Cu-tartrate complex eluent on an anion exchange column. With this system ligand-exchange between tartrate and malate enantiomers occurs, the difference in the stability constants of the resulting complexes enabling separation of the malate enantiomers, and the differing UV-absorbance of each complex producing either a positive or negative peak. This IPC method effectively determined not only L-malate but also D-malate in commercial fruit juices.

4) Increase of Urinary and Serum Hydroxyproline in Subjects Exposed to Cadmium

Harumi NISHINO, Tomoko TANAKA, Kazuko SHIROISHI, Shigeaki SATO, Yuchi NARUSE*
and Sadanobu KAGAMIMORI*

Bull. Environ. Contam. Toxicol. 47, 609~616, 1991

The increased concentrations of both urine and serum free hydroxyproline in the Cadmium-exposed group were considered to be associated with disorders of collagen and/or amino acid metabolism caused by cadmium exposure. On the other hand, it is suggested that for the Bed-rest group the increased concentrations of urine and serum (total-free) hydroxyproline may depend on the release of peptide-type hydroxyproline from bone matrix under the absorption process.

5) 先天性代謝異常等患児の事後フォローについて

—特にヒスチジン血症とクレチン症—

垣内 孝子*, 森尻悠一郎*, 高林知佳子*, 松村美智代*, 倉本 安隆*, 中野 信子*, 武田 幸子*, 沼田佳奈子*, 村本 玲子*, 西川 朱実*, 新畑マサ子*, 土肥裕美子*, 盛永 宏子*, 高橋 雅子, 林 美貴子, 本田 幸子, 井山 一郎, 佐藤 茂秋, 渡辺 正男*

小児保健研究 50(5), 607-613, 1991

心身傷害の発生防止に資するために、先天性代謝異常等患児について受療状況や発育状況の追跡調査、発達検査、アンケート調査を行った。

疾患の大半はヒスチジン血症とクレチン症であった。

ヒスチジン血症児の大部分は、医療機関受診を終了していたが、現在7歳以下児で発達に遅れのみられるものが3名いた。また、アンケートでは、子供の発育発達について気になることのある人が多かった。

スクリーニング開始以降群のクレチン症は、すべて治療中であったが、現在7歳以下児で、発達に遅れのみられるものが4名いた。以上より、今後もフォローが必要と思われた。

平成4年9月1日

6) High Paraoxon-Hydrolyzing Activity in Organophosphorous Insecticide-Resistant Mosquitoes

Mamoru WATANABE, Sachiko TAKEBE* and Kyoichi KOBASHI*

Chem. Pharm. Bull. 39(4), 980-985, 1991

We found a strong paraoxon-hydrolyzing activity (23.4 ± 8.50 nmol/h/individual and 137 ± 86.2 nmol/h/mg protein) in the crude extract from larvae of *Culex tritaeniorhynchus* Toyama 89, which is markedly resistant to organophosphorous insecticides. The activity was higher than those from *Cx. tritaeniorhynchus re-e-ae* (0.175 ± 0.0336 and 1.83 ± 0.651), *Anopheles omorii* (0.112 ± 0.0301 and 1.86 ± 0.746) and *An. stephensi* (0.0651 ± 0.0713 and 0.789 ± 0.910), which are susceptible to organophosphorous insecticides. These facts suggest that the high paraoxon-hydrolyzing activity plays a role in the development of organophosphorous resistance in *Cx. tritaeniorhynchus*. The enzyme preparation obtained from Toyama 89 showed higher activity in the alkaline pH range and its K_m values to paraoxon were 0.67 mM in larvae and 0.50 mM in adults. A calcium ion was strictly required for the hydrolysis of paraoxon. Fenitroxon was also hydrolyzed, in addition to paraoxon. However, it did not degrade parathion and fenitrothion at all. Dichlorvos and phenyl acetate competitively inhibited the enzyme. The phenyl acetate-hydrolyzing activity in the preparation of Toyama 89 was significantly ($p < 0.01$) lower than those in susceptible strains, and was irreversibly inhibited by paraoxon. Therefore, the paraoxon-hydrolyzing activity belongs to the class of organophosphate compound hydrolases; it must be thus distinguished from bacterial phosphotriesterase.

7) 中部山岳国立公園立山で多発するクロバエ類のマーキングによる高所移動の確認

荒川 良*, 上村 清*, 渡辺 護, 倉橋 弘*, 河合 潜二*

衛生動物 42(4), 275-280, 1991

中部山岳国立公園立山で、春から初夏にかけて山麓部で活動していたクロバエ類が初夏に山岳地帯に移動していることを確認するため、記号放逐法で調査を行った。1985年と1986年の初夏に立山山麓の称名川沿いで、ベイトトラップにより、クロバエ類の成虫を捕獲し、マークを施して後、標高660mの地点で放逐した。放逐数は1985年が8,909頭、1986年が13,990頭で、大半はオオクロバエとミヤマクロバ

エであった。山岳地帯への移動を確認するため、再捕獲は標高1,000mから、標高差500mごとに常設した予研式のベイトトラップで行い、さらに、標高2,300mの山小屋がハエ駆除のため屋外に設置した金網式トラップも利用した。その結果、ミヤマクロバエが標高2,000mをこえた地点で1985年、1986年ともマーク雌が10頭以上再捕獲され、高所移動が確認された、一方、山麓部で固体数の多いオオクロバエは標高1,500m地点で雌が1頭再捕獲されたのみであった。さらに、放逐地点周辺の山麓部でのベイトトラップでは、ミヤマクロバエが放逐地点およびより高標高の地点で、オオクロバエでは放逐地点より低標高の地点でも再捕獲され、ミヤマクロバエのほうがオオクロバエより高標高へ移動する傾向の強いことが示唆された。

8) アブ類に対する新殺虫忌避スプレー剤の効果試験

早川 博文*, 渡辺 護, 長谷川 勉*, 椿 洋一郎*, 小菅 喜昭*

北日本病虫研報 42, 170-172, 1991

アブ避け剤として新たに開発されたピレスロイド系殺虫剤とアルコール系忌避剤の混合スプレー剤は、アカウシアブ等を対象とした虫体へのスプレーでは、飛翔固体は1分以内でみられなくなり、きわめて速効的な飛翔阻害と殺虫効果を有していた。また、イヨシロオビアブを対象とした人と蚊帳でのスプレーでは、2～3時間の有効な襲来阻止効果を有していた。

9) Non-O1 *Vibrio cholerae* の腸管起病メカニズムに関する研究

I. 臨床および環境由来株の腸管起病性

刑部 陽宅, 児玉 博英, 佐藤 茂秋

感染症学雑誌 65(5), 531-536, 1991

食中毒, 海外旅行者下痢症, 魚介, 海水および河川水由来Non-O1 *V. cholerae* の腸管起病性とプラスミドを調べた。結果は次のようであった。1) 生菌による家兎結紮腸管反応 (RIL) と乳呑みマウス反応の両者又はいずれかで、腸管起病性陽性を示す菌の割合は海外旅行者下痢症由来で36/38 (95%), 食中毒由来で15/15 (100%), 魚介, 海水由来で33/44 (75%), 河川水由来で, 1/10 (10%) であった。2) 各種材料由来菌40株のうち8株にプラスミド性DNAを認めたが、その分子サイズは菌株によ

平成4年9月1日

て異なっていた。また、腸管起病性とプラスミドの間には相関は認められなかった。

以上の結果は腸管起病菌は食中毒や海外旅行者下痢症由来菌に多いが、魚介、海水由来菌の多くも腸管起病性であること、本菌の病原性に関係する遺伝子は染色体上にあることを示している。

10) Non-O1 *Vibrio cholerae* の腸管起病メカニズムに関する研究

II. 腸管起病株のマウス致死能、付着性、定着性および培養細胞変性能

刑部 陽宅，児玉 博英，佐藤 茂秋

感染症学雑誌 65(6), 655～671, 1991

Non-O1 *V. cholerae* のマウス致死能、腸管への付着能と定着能、血球凝集能、培養細胞変性能、細胞侵入能を腸管起病菌と非起病菌について比較した。結果は以下のようであった。1) マウス致死能 (MLD値) は腸管非起病菌より起病菌で高かった。2) 腸管起病菌は非起病菌に比し、かならずしも強い血球凝集能と腸管への付着能を示さなかった。しかし、腸管起病菌は非起病菌に比し、多量菌接種という条件下で腸管へ良く定着する傾向であった。3) 細胞侵入性は腸管起病菌にも非起病菌にも認められなかった。4) 培養細胞変性作用は多くの腸管起病菌に認められ、多くの非起病菌に認められなかった。以上の結果は腸管起病菌と非起菌は腸管への付着性、定着性で明確に区別出来ないこと、本菌の腸管起病性とマウス致死能あるいは細胞変性作用との間に相関のあることを示唆する。

11) Non-O1 *Vibrio cholerae* の腸管起病メカニズムに関する研究

III. 各種材料由来菌の腸管毒産生性

刑部 陽宅，児玉 博英，佐藤 茂秋

感染症学雑誌 65(7), 781～787, 1991

Non-O1 *V. cholerae*, ヒト (海外旅行者下痢症および食中毒) 由来菌58株、魚介および環境由来菌76株、計134株について、各種腸管毒産生性を調べた。1) コレラ毒素 (CT) 遺伝子陽性菌の頻度はヒト由来で3.4%、魚介、環境由来で2.6%であった。2) 溶血毒、プロテアーゼと関係ある家兎結紮腸管反応陽性物質 (FAF)、乳呑みマウス腸管液貯溜因子、NAG-rTDH、NAG-STおよびVero

毒素様毒素産生菌の割合は臨床由来で、それぞれ100, 72, 31, 2, 0, および0%, 魚介, 環境由来で、それぞれ100, 57, 24, 0, 1, 3, および0%であった。また、多くの菌株の乳呑みマウス腸管液貯溜因子は溶血毒であった。3) 腸管起病菌の家兎結紮腸管反応で得られた腸管貯溜液(31株)からのCT様毒素, 溶血毒, FAF, NAG-rTDH, NAG-STおよびVero毒素検出率はそれぞれ0, 100, 3.2, 3.2, 0, および0%であった。

以上の結果から、多くのNon-O1 *V. cholerae* の腸管起病メカニズムでは、溶血毒が関与しているように思われ、CT様毒素, Vero毒素, NAG-STおよびNAG-rTDHはあまり重要ではないと推定される。

12) Non-O1 *Vibrio cholerae* の腸管起病メカニズムに関する研究

IV. 溶血毒の役割

刑部 陽宅, 児玉 博英, 佐藤 茂秋

感染症学雑誌 65(8), 897~904, 1991

Non-O1 *V. cholerae* の腸管起病メカニズムにおける溶血毒の役割を各種の観点から検討した。結果は次のようであった。1) 腸管起病菌の多くは10%仔牛血清加Eagle MEM培地中と家兎結紮腸管内で、溶血毒を良く生産した。しかし、腸管非起病菌の多くは同条件下で溶血毒を生産しなかった。2) 腸管起病菌から得られた腸管非起病性変異株の溶血毒産生量は親株に比し著しく少なかった。3) 精製溶血毒で免疫された高い血中溶血毒抗体を有する家兎では、本菌による下痢の抑制がみられた。

以上の結果は本菌の腸管起病メカニズムにおいて、溶血毒は最も重要な病原因子であることを示している。

13) 高齢者と小児の正常咽頭および腸管溶血レンサ球菌保菌状態の比較

児玉 博英, 林 美千代, 刑部 陽宅

感染症学雑誌 65(8), 977~982, 1991

臨床材料から溶血レンサ球菌が分離される場合、高齢者と小児では、材料別の分離株の群別分布は著しく異なっている。その背景を知ることを目的として、高齢者と小児の正常咽頭および腸管の溶血レンサ球菌保菌状態の比較を行った。結果は次のようであった。

平成4年9月1日

1. 咽頭の保菌状態は、高齢者と小児では極めて対照的であった。高齢者では、保菌率は低く、分離菌の群別分布では、B群 (*Streptococcus agalactiae* 以下 *S. agalactiae*) が最も多く、次いでG群 (*Streptococcus equisimilis* 以下 *S. equisimilis* と同定) であり、A群 (*Streptococcus pyogenes* 以下 *S. pyogenes*) は極めて希であった。小児では、従来から知られているように、保菌率は高く、分離菌の中ではA群が圧倒的に多く、G群も少数見出されたが、B群は希であった。

2. 腸管の保菌状態は、高齢者と小児で類似しており、両者とも保菌率は低く、分離菌の中ではB群が最も多く、次いでG群であったが、A群は全く見出されなかった。

以上の結果は、高齢者と小児の臨床材料から溶レン菌が分離される場合の、材料別の群別分布の特徴をよく説明するように思われる。

14) *Vibrio mimicus* の腸管起病性と腸管毒産生性

刑部 陽宅，磯部 順子，児玉 博英，佐藤 茂秋，島田 俊雄*

感染症学雑誌 66(2), 115~120, 1992

各種材料由来の *Vibrio mimicus* 66株の腸管起病性と腸管毒産生性を調べ、次の結果を得た。

乳呑みマウス胃内生菌接種で、腸管起病性陽性と判定される菌の頻度はヒト下痢症由来で85%、魚介、環境由来で66%であった。コレラ毒素遺伝子、NAG-ST遺伝子陽性菌の頻度は腸管起病菌(48株)で、それぞれ2、15%、非起病菌(18株)でそれぞれ0、6%、NAG-rTDH、FAFおよび溶血毒産生菌の頻度は腸管起病菌(48株)で、それぞれ4、63および100%、非起病菌(18株)でそれぞれ6、50および100%であった。血清型と腸管起病性との間には密接な相関を認めるに至らなかった。家兎結紮腸管内で溶血毒を産生する菌の頻度は腸管起病菌で6/12、非起病菌で1/12であった。Non-O1 *Vibrio cholerae* の溶血毒で免疫された高い血中抗体を有する家兎では、本菌による下痢の抑制が認められた。

以上の結果は、自然界に分布する本菌の多くは腸管起病性であること、溶血毒を主な下痢毒素とする腸管起病菌があることを示している。

15) 魚肉ねり製品の製造工程におけるポリリン酸塩の消長に及ぼす水晒しの影響

松永 明信, 大泉 徹*, 山本 敦, 川崎 賢一*, 水上 英一

日水誌, 58(1), 79-83, 1992

魚肉落とし身を0-4回洗浄して製造したすり身に食塩とトリポリリン酸塩(P3)を加えて肉糊を調製し, P3とピロリン酸塩(P2)の消長を経時的に測定した。落とし身から調製した肉糊中では, P3は速やかにP2に分解され, 生成したP2も速やかに分解された。洗浄回数の増加に伴い, P3の分解は遅くなり, P2は分解されなくなった。これらの現象は, 筋肉の洗浄によって活性発因子であるMgが減少し, P3分解酵素の活性発現が抑制されることおよびP2分解酵素量が著しく減少することに起因すると推定された。

16) Micronucleus Test with Vincristine Sulfate and Colchicine in Peripheral Blood Reticulocytes of Mice Using Acridine Orange Supravital Staining

Yasushi KONDO*, Sachiko HONDA, Madoka NAKAJIMA*, Koichi MIYAHANA*, Mikiko HAYASHI, Yasuhiro SHINAGAWA, Shigeaki SATO, Kazuyoshi INOUE*, Shinji NITO*, and Fumio ARIYUKI*

Mutation Research, 278, 187-191, 1992

The induction of micronuclei in mouse peripheral blood reticulocytes (RETs) was studied with the spindle poisons vincristine sulfate (VINC) and colchicine (COL) using acridine orange (AO) supravital staining. Each chemical was studied independently in two laboratories using the same protocol. Blood samples were prepared at 0, 24, 48, and 72 h after a single intraperitoneal treatment with VINC (0.0625, 0.125, and 0.25 mg/kg) or COL (0.25, 0.5, 1.0, and 2.0 mg/kg). Both VINC and COL induced micronucleated RETs (MNRETs) significantly and dose-dependently with a peak at 48 h after treatment. Maximum frequencies of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCEs) were observed 24 h after treatment with VINC; thus, the transition time from MNPCEs to MNRETs was about 24 h. Both spindle poisons gave comparable results in the paired laboratories, indicating that the present AO supravital staining method is highly reproducible.

平成4年9月1日

17) Selective Peak Enhancement and Suppression in Conductometric Ion Chromatography and Its Application to the Determination of Trace Levels of Orthophosphate in Environmental Samples

Kazuichi HAYAKAWA*, Akio KATO*, Atsushi YAMAMOTO and Motoichi MIYAZAKI*

ANALYTICAL SCIENCES 8, 25~29, 1992

In non-suppressed conductometric ion chromatography, when a carboxylic acid eluent of low pH is used, the signal intensity (ΔHc) is proportional to the sum of the conductivity change caused by changes in the sample concentration (ΔCs) as well as conductivity changes caused by changes in the eluent concentration (ΔCe). This can be expressed as $\Delta Hc = B (\Delta Cs) + B (\Delta Ce)$, where B is a constant. In this equation, ΔCs is constant for any sample species. However, ΔCe varies with changes in the sample capacity factors. This value is positive when the sample elutes before the system peak ($k's < k'e$), and is negative when it elutes after the system peak ($k's > k'e$). Therefore, the sample peak intensity (ΔHc) is enhanced prior to the system peak and is suppressed after it. These effects increase the closer the sample and the system peaks. The effect of this theory was proved by a determination of orthophosphate using a TSK gel IC-Anion-PW column and a 0.75 mM phthalic acid eluent. The detection limit of this method for orthophosphate (1×10^{-11} mol, with an S/N of three) was smaller (by a factor of 10-30) than those by previous conventional ion chromatographic methods. Also, the interference of chloride or nitrate, often observed in the previous methods, was removed by suppressing their peak intensities. When this method was applied for the determination of orthophosphate in environmental samples, other interfering compounds were effectively removed by a column-switching system attached to the ion chromatograph, and a trace level of the orthophosphate was determined.

[総説・解説]

1) これでよいのか、問題害虫の防除

- 不快害虫 -

渡辺 護

環動昆 3(2), 119-124, 1991

全国的に駆除が難しくなっていると言われているゴキブリと、富山県を始め日本海側で問題になっている、悪臭害虫のクサギカメムシ、吸血害虫のイヨシロオビアブ、そして家屋侵入性の小バエ類として、クロショウジョウバエ、ユスリカを取り上げ話題を提供した。

2) 魚肉ねり製品の製造工程におけるポリリン酸塩の消長

大泉 徹*, 松永 明信

水産ねり製品技術研究会誌 17(4), 161~167, 1991

冷凍すり身に添加されるポリリン酸塩のうち、トリポリリン酸は塩ずりおよび坐りの過程で酵素的に分解されるが、十分に水晒ししたすり身ではピロリン酸はほとんど分解されないことが明らかになった。ただし、水晒しの程度や用いる晒し用水中の二価金属 (Mg^{2+}) の濃度によって、ポリリン酸塩の分解の様相はかなり異なると考えられる。すなわち、落し身や水晒しを十分に行わなかったすり身の場合にはピロリン酸フォスファターゼもすり身中に多く残存し、かつ Mg^{2+} の濃度も高いために、トリポリリン酸およびピロリン酸はいずれも分解されることが予想される。また、十分に水晒ししたすり身でも用水中の Mg^{2+} の濃度が高い場合には、低い場合に比べて、トリポリリン酸は速やかに分解すると考えられる。当然のことながら坐りの温度や時間によっても、ポリリン酸塩の分解量は異なる。従って、最終的に製品に残存するポリリン酸塩の量はこれらの要素が複雑に影響した結果の反映であることは疑う余地がない。

ポリリン酸塩は塩ずりおよび坐りの過程で魚肉タンパク質の構造を変化させることを通じて、ねり製品の品質に影響を及ぼしていることが徐々に明らかにされつつあるが、本稿で述べた塩ずりおよび坐り中に起こるポリリン酸塩の分解反応と製品の品質との関わりについては未だ明らかではない。従って、添加するポリリン酸塩の組成（トリポリリン酸とピロリン酸の比率）やそれを魚肉に添加する時期など、ポリリン酸塩の使用法の再検討も含め今後に残された課題は多いように考えられる。本研究の成果はこうしたねり製品の品質の制御という観点から有用であるだけでなく、食品添加物の安全性をも含めた消

平成4年9月1日

費者の関心に応える知見を整備するうえでも重要であると思われる。

3) イオンクロマトグラフィー

— 基礎研究の進歩 —

早川 和一*, 山本 敦, 宮崎 元一*

ぶんせき 5, 358~363, 1991

イオンクロマトグラフィーは、1975年の発表以来目覚ましい発展を遂げ、現在は各種領域での公定法化が進んでいる。このような情勢の中、イオン成分の検出法や検出器の開発・改良は著しく、本法による分析では、試料や目的成分に合わせた系の構成が重要となってきた。一方、イオン交換系でのイオン成分の分離・保持機構は、ここ数年で急速に解明されつつある。そこで本総説では、過去3年間に報告された文献を中心に、基礎研究の進歩について論述した。

[報 告]

1) 常願寺川の底生動物（ユスリカ科を除く）

井山 洋子, 安田 郁子*

富山県公害センター研究報告 24~33, 1991

1990年5月から翌年の1月までの四季にわたり、常願寺川水系の6地点について、底生動物相の調査を行い、次のような結論を得た。

(1)本調査で蜉蝣目25種、毛翅目21種、せき翅目10種、その他の水生昆虫8種、上記以外の無脊椎動物4種類を確認した。

(2)本河川のファウナの特徴は、山地溪流や湧泉流に多い毛翅目の*Apatania* sp. が優占種で、河川の極普通種である鞘翅目の*Metaeopsephus japonicus* が全く出現しなかったことである。このことは、本河川の水質と物理的環境要因に起因するものと思われる。

(3)生物学的水質判定の結果は6地点すべて貧腐水性水域であった。優占種はすべて清水性の毛翅目、蜉蝣目、せき翅目で、その清冽さがうかがわれる。

(3) 特別講演等

1) 特別講演

① 溶血レンサ球菌感染症発生の背景としてのヒトの保菌状況

第24回レンサ球菌感染症研究会

平成3年6月15日

次長 児玉博英

東京都 青山メトロ会館

② 富山県民の食生活と癌との関係について

第137回必須アミノ酸研究協議会

富山シンポジウム

平成3年8月23日

所長 佐藤茂秋

富山市 富山第一ホテル

2) シンポジウム

① 食品微生物のリスク

日本食品衛生学会第62回学術講演会

平成3年10月25日

次長 児玉博英

富山市 県民会館

平成4年9月1日

(4) 学 会 発 表

- 1) 有機リン剤抵抗性コガタアカイエカのparaoxon水解活性に対するCa⁺⁺の効果
渡辺 護, 竹部幸子*, 久光健一*, 小橋恭一*
日本衛生動物学会第43回大会, 平. 3. 4. 1~3, 神戸市
- 2) 高い風疹ワクチン接種率による集団免疫の効果
庄司俊雄
第61回日本衛生学会, 平. 3. 4. 2~4, 京都市
- 3) 水晒しによる魚肉中のピロ, トリポリリン酸塩分解酵素の消長およびそれらの性質
松永明信, 大泉 徹*, 山本 敦, 川崎賢一*, 水上英一
平成3年度日本水産学会春季大会, 平. 3. 4. 2~5, 東京都
- 4) *Vibrio mimicus* の腸管起病メカニズムに関する検討
刑部陽宅, 磯部順子, 児玉博英, 島田俊雄*, 竹田多恵*
第65回日本感染症学会総会, 平3. 4. 26~27, 大阪市
- 5) 食品中の銅クロロフィルについて
大戸幹也, 松永明信, 山本 敦, 水上英一
日本食品衛生学会第61回学術講演会, 平. 3. 5. 15~17, 東京都
- 6) 多塩基性酸溶離剤における保持・溶出機構の解析
山本 敦, 松永明信, 水上英一, 早川和一*, 宮崎元一*
第8回イオンクロマトグラフィー討論会, 平. 3. 6. 6~7, 新潟市
- 7) 富山県における先天性代謝異常等患児の実態
土肥裕美子*, 沼田佳奈子*, 武田幸子*, 垣内孝子*, 中野信子*, 高林知佳子*, 松村美智代*,
倉本安隆*, 村本玲子*, 西川朱実*, 新畑マサ子*, 盛永宏子*, 高橋雅子, 本田幸子,
林美貴子, 佐藤茂秋, 森尻悠一郎*, 渡辺正男*
第17回富山県小児保健学会, 平3. 8. 25, 富山市
- 8) テトラクロロエチレンによる井戸水汚染の健康影響の検討
徳名智子, 水上英一, 佐藤茂秋
第50回日本癌学会, 平. 3. 9. 10~12, 東京都

9) 輸入果実中の残留有機リン農薬

斉藤行雄, 山本 敦, 水上英一

日本薬学会衛生化学調査委員会北陸部会第6回学術講演会, 平. 3. 9. 14, 金沢市

10) 魚肉ねり製品の製造工程におけるポリリン酸塩の消長

松永明信, 山本 敦, 水上英一, 大泉 徹*, 川崎賢一*

平成3年度地研東海北陸支部衛生化学部会, 平. 3. 9. 19~20, 岐阜市

11) テトラクロロエチレンによる地下水汚染事例

高柳信孝

平成3年度地研東海北陸支部衛生化学部会, 平. 3. 9. 19~20, 岐阜市

12) 中高年女性のヒドロキシプロリンと骨代謝に関連する諸要因との関係

西野治身, 梶田悦子*, 伊木雅之*, 城石和子, 緒方 昭*

第50回日本公衆衛生学会総会, 平. 3. 10. 16~18, 盛岡市

13) 富山県衛生研究所における染色体検査(血液, 骨髓液)の実施状況と問題点

林美貴子, 本田幸子, 井上一郎, 佐藤茂秋

第50回日本公衆衛生学会, 平. 3. 10. 16~18, 盛岡市

14) 富山県における新生児マススクリーニングの実施状況——過去14年間の成績

高橋雅子, 本田幸子, 林美貴子, 井山一郎, 佐藤茂秋

第50回日本公衆衛生学会, 平. 3. 10. 16~18, 盛岡市

15) クサギカメムシの卵巣発育におよぼす明るさの影響

渡辺 護

日本衛生動物学会第46回西日本大会, 平. 3. 10. 19~20, 福井市

16) 中部山岳国立公園立山の観光ルート沿いで発生する蚊類の季節消長

荒川 良*, 渡辺 護, 上村 清*

日本衛生動物学会第46回西日本大会, 平. 3. 10. 19~20, 福井市

平成4年9月1日

- 17) 河川のウイルス汚染に関する生態学的観察
松浦久美子, 石倉康宏, 中山 喬, 長谷川澄代, 森田修行, 香取幸治*,
山下照夫*, 栄 賢司*, 石原祐弍*, 磯村思无*, 植竹久雄*
第39回日本ウイルス学会総会, 平3. 10. 23~25, 福岡市
- 18) 偏光吸光度検出HPLCによる食品中のパラチノースの分析
山本 敦, 松永明信, 水上英一
日本食品衛生学会第62回学術講演会, 平. 3. 10. 24~25, 富山市
- 19) 神通川, 常願寺川水系の生物相と水質
井山洋子, 安田郁子*, 新村行雄*, 浦谷一彦*
日本陸水学会第56回大会, 平. 3. 11. 2~5, 奈良市
- 20) マウス小核試験とヒト癌原性との相関性——第一報
森田 健*, 本田幸子, 林美貴子, 品川保弘, 佐藤茂秋, 小核試験共同研究グループ*
第20回日本環境変異原学会, 平. 3. 11. 6~8, 東京都
- 21) マウス小核試験におけるヒト癌原性物質の反応——性ホルモンについて
本田幸子, 大内田昭信*, 浅野哲秀*, 杉山千代美*, 小林 浩*, 佐藤茂秋
第20回日本環境変異原学会, 平. 3. 11. 6~8, 東京都
- 22) 富山県の乳幼児におけるヒトロタウイルス血清型分布
森田修行, 長谷川澄代
第28回日本細菌学会中部支部総会, 平. 3. 11. 8~9, 金沢市
- 23) クサギカメムシの家屋侵入阻止の1方法
渡辺 護, 品川保弘, 真柄 隆*, 川原たま子*, 荒川 良*, 小浜卓司*, 小菅喜昭*, 池庄司敏明*
日本ペストロジー学会第7回大会, 平. 3. 11. 19, 静岡市
- 24) 中高年女性の尿中ヒドロキシプロリンと年齢, 閉経との関係
西野治身
平成3年度地研東海北陸支部環境保健部会, 平. 3. 11. 28~29, 名古屋市

- 25) 有機リン系農薬急性中毒例における血液および組織内農薬濃度
中崎美峰子
平成3年度地研東海北陸支部環境保健部会, 平. 3. 11. 28~29, 名古屋市
- 26) 人リンパ球姉妹染色分体交換誘発に及ぼす培養酸素濃度の影響
林美貴子, 本田幸子, 成瀬優知*, 鏡森定信*
北陸先天異常研究会第12回学術集会, 平. 3. 12. 14, 福井市
- 27) 小核試験を用いたDiethylstilbestrol (DES) の変異原性——ヒトの発癌性とマウス小核試験の相関性の検討
本田幸子, 林美貴子, 品川保弘, 佐藤茂秋, 成瀬優知*, 鏡森定信*
北陸先天異常研究会第12回学術集会, 平. 3. 12. 14, 福井市
- 28) 農薬散布作業者の農薬暴露について
中崎美峰子, 林 徹雄, 大浦英次*, 寺中正昭*, 佐藤茂秋
第9回富山県農村医学研究及び健康管理活動発表集会, 平. 4. 2. 15, 高岡市
- 29) 風疹抗体陰性女子大生に対するワクチン接種の勧奨
庄司俊雄, 山下直宏*, 家城栄子*
第4回富山県母性衛生学会総会・学術集会, 平. 4. 2. 22, 富山市
- 30) 富山県における1991年の腸管系病原細菌検出情報と食中毒発生状況
細呂木志保
平成3年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 4. 3. 5~6, 福井県池田町
- 31) サルモネラ主流行菌型のプラスミドプロファイルの年次推移
刑部陽宅
平成3年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 4. 3. 5~6, 福井県池田町
- 32) 実験動物消化器系における腸炎ピブリオの消長
刑部陽宅
平成3年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 4. 3. 5~6, 福井県池田町

平成4年9月1日

- 33) 腸管出血性大腸菌 O157 : H7 による感染性腸炎の富山県初発例
林美千代
平成3年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 4. 3. 5~6, 福井県池田町
- 34) 富山県における溶血レンサ球菌の生態
児玉博英
平成3年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 4. 3. 5~6, 福井県池田町
- 35) 単クローン抗体によるロタウイルスの血清型別
森田修行
平成3年度地研東海北陸支部ウイルス部会, 平. 4. 3. 12~13, 名古屋市
- 36) 富山県におけるインフルエンザウイルスの分離状況
松浦久美子
平成3年度地研東海北陸支部ウイルス部会, 平. 4. 3. 12~13, 名古屋市
- 37) 1991年感染症サーベイランス・ウイルス検査
森田修行
平成3年度地研東海北陸支部ウイルス部会, 平. 4. 3. 12~13, 名古屋市
- 38) 中高年女性における骨代謝指標の相互関連——尿中ハイドロキシプロリンと血清中骨性アルカリフォスファターゼの検討
西野治身, 田中朋子, 梶田悦子*, 伊木雅之*, 緒方 昭*
第62回日本衛生学会総会, 平. 4. 3. 26~27, 松山市
- 39) 偏光吸光度法の開発——旋光度測定への応用
山本 敦, 松永明信, 水上英一, 早川和一*, 宮崎元一*
日本薬学会第112年会, 平. 4. 3. 29~31, 福岡市

編 集 委 員

委 員 長	森 田 修 行
委 員	刑 部 陽 宅
	石 倉 康 宏
	西 野 治 身
	松 永 明 信
	渡 辺 護
	前 田 進

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成 3 年 度 (1991)

1992 年 9 月 1 日 発 行

発 行 富 山 県 衛 生 研 究 所

〒939-03

富 山 県 射 水 郡 小 杉 町 中 太 閤 山 17-1

電 話 (0766) 56-5506

F A X (0766) 56-7326

印 刷 あ け ぼ の 企 画 (株)

富 山 市 住 吉 町 1 丁 目 5-18

電 話 (0764) 24-1755 (代)

F A X (0764) 23-8899