

ISSN 0917-0707

g161e

富山県衛生研究所年報

(平成4年度)

第16号

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH

(APRIL 1992~MARCH 1993)

NO. 16

1993



富山県衛生研究所

富山県衛生研究所年報

(平成 4 年 度)

第 16 号

富山県衛生研究所

は　じ　め　に

平成4年度の年報が上梓の運びとなりました。掲載された論文とともに、学会発表や他の学術雑誌への投稿論文の要旨もご参照の上、ご批判、ご鞭撻を頂ければ幸いです。

本年度は、科学技術庁の生活・地域流動研究費による、病原微生物の分子疫学的研究と、骨粗しょう症の発症要因に関する疫学的研究、の3年計画の初年度にあたります。発足したばかりですから、未だ大きな成果は望めませんが、2年後にはそれなりの成果が得られるように、関係者一同鋭意努力しているところです。また、県単独の新規事業として、遺伝子工学による食中毒・集団下痢症の迅速診断に関する研究、も始められ、DNA合成装置が威力を発揮しています。

エイズ抗体検査は、スクリーニングが富山保健所に移管され、当研究所は確認検査のみを分担することになりました。このように、従来からの検査業務の負担は徐々に軽減されつつありますが、染色体検査や先天性代謝異常等の検査は今後も漸増の見込みです。平成5年度からは、水道水質基準改正や、食品中の残留基準設定農薬の種類の倍増、などに新たに対応しなければなりません。本県には、この分野で厚生省指定の民間検査機関がありませんので、必然的に当研究所と一部の保健所がそれらの業務を分担することになります。保健所との密接な連携はいうまでもありませんが、業務効率をあげるためには、迅速簡便な検査法の開発もおろそかにできません。

平成4年度は、第1回ジャパンエキスポ富山が、研究所に近接する県民公園太閤山ランドで、7月末から80日間開催されました。当研究所としては、開催期間中に食品衛生上の事故が起こらないように、所轄の小杉保健所と協力して万全を期しました。幸い、236万人という予想以上の賑わいにもかかわらず、無事閉会となりました。関係者の熱意が食中毒菌を加熱死させたものと思われます。

平成5年度は、ささやかな国際協力の一助として、ブラジルから病原微生物の同定検査技術修得のための研修生を1名、7月から8か月間受け入れることになり、既に1か月が経過しています。日本語、英語でのコミュニケーションはままなりません、本人の明るい性格と熱意により、スケジュール通りに進行しています。指導する側の所員にとっても、今後の国際協力のために、よい経験になるでしょう。

平成5年8月

富山県衛生研究所長

児　玉　博　英

目 次

1. 運 営

(1) 沿革および組織機構	1
(2) 施設の概要	2
(3) 職員数	2
(4) 職員一覧	3
(5) 予算概要	5
(6) 各部の業務概要	13
(7) 検査状況	22
(8) 講師派遣	26
(9) 研修指導	28
(10) 研修受講	29
(11) 客員研究員等招へい	30
(12) セミナー、談話会の開催	31

2. 調査研究報告

・先天性代謝異常等マススクリーニングの成果について	33
・ヒト染色体に関する調査研究－血液・骨髄液－	44
・ヒト染色体に関する調査研究－羊水・流産胎児－	56
・小核試験を用いた methylthiouracil の変異原性－ヒトの発癌性とマウス小核試験の相関性－	62
・転移巣より樹立されたヒト総排泄腔癌患者由来細胞株（SHK-1）について	67
・家屋侵入性カメムシの侵入・潜みの実験的検討	72
・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（1992年度）	78
・日本脳炎流行予測調査	84
・ポリオ流行予測調査	94
・風疹流行予測調査	103
・インフルエンザ流行予測調査	106
・富山県における小児の急性胃腸炎に関与するウイルスの疫学調査	115
・富山県における溶血レンサ球菌分離株の菌型と薬剤感受性の推移	122
・散発事例由来 <i>Salmonella</i> Enteritidis のプラスミドプロファイル、染色体 DNA および ファージによる型別とその年次分布	127
・都市河川水のサルモネラ定点観測	132

・クライオフォーカス装置を使用しないパージ・トラップ／キャピラリーGC／MS法による 水道水中の揮発性有機化合物の定量	139
・中高年女性における骨代謝指標の相互関連 (第2報) 血清骨型アルカリフォスファターゼとオステオカルシンとの検討	146
・学童期における尿中ハイドロキシプロリンと運動習慣との関連	152
・喫煙・飲酒習慣と血清セレン濃度および尿中排泄量	156

3. 資 料

・ELISA法による先天性副腎過形成症マスキングの基礎的検討	163
・姉妹染色分体交換に及ぼす培養酸素濃度の影響 1. CHL細胞について	170
・富山県におけるマダニからのライム・ボレリア検索	173
・富山県におけるウイルス検査状況	177
・富山県における恙虫病患者発生状況(1992年)	179
・急性胃腸炎におけるA群ヒトロタウイルス血清型の疫学的解析(平成4年度)	183
・C型肝炎ウイルスの抗体保有調査	187
・富山県における1992年の病原微生物検出情報	190
・健康児の腸管溶血レンサ球菌保菌状態	195
・プレシオモナス・シゲロイデスによる集団下痢症	198
・市販魚類におけるビブリオ・フルビアリスおよびビブリオ・ファニシの汚染実態	201
・PCRおよびサザンハイブリダイゼーションによる Non-O1 <i>Vibrio cholerae</i> の Hemolysin 遺伝子の検出	204
・市販冷凍すり身中のポリリン酸塩、マグネシウムおよびカルシウム含有量	206
・野菜・果実中の残留農薬分析ーゲル浸透クロマトグラフィーによる植物性脂質類中の有機リン 農薬の分離精製法についてー	210
・飲料水中農薬の固相抽出法の検討	215
・閉経による血液成分の変化	218
・有機リン系農薬散布後の尿中代謝物濃度	222
・健康成人における血清および全血中グルタチオン・ペルオキシダーゼ活性とセレン濃度	225

4. 業 績

(1) 受 賞	229
(2) 誌上発表	230
(3) 特別講演	237
(4) 学会発表	238

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 Human Blood and Bone Marrow Cells	44
• Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells and Fetal Cells	56
• Mutagenicity of Methylthiouracil in Mouse Micronucleus Test	62
• Establishment of Human Cultured Cell Line (SHK-1) Derived from Metastatic Lesion of Cloacogenic Carcinoma Patient	67
• Experimental Studies on Invading and Hiding of Pentatomid Bugs Entering into Dwelling Houses	72
• Seasonal Prevalence of Mosquitoes Breeding along the Sight-seeing Rout of Mts. Tateyama in Chubu Sangaku National Park in 1992	78
• Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 1992	84
• Epidemiological Surveillance for Poliovirus in Toyama Prefecture	94
• Epidemiological Surveillance for Rubella Antibodies	103
• Epidemiological Surveillance for Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture	106
• Epidemiological Studies on Viruses Associated with Gastroenteritis in Children in Toyama Prefecture	115
• Changes in Serotype Distribution and Drug Sensitivity among Hemolytic <i>Streptococcus</i> Isolates in Toyama Prefecture	122
• Typings of <i>Salmonella</i> Enteritidis from Sporadic Cases by Plasmid Profile, Chromosomal DNA and Phage and Their Yearly Distributions	127
• <i>Salmonella</i> Surveillance on River Water in an Urban Area	132
• Determination of Volatile Organic Compounds in Tap Water Using Purge and Trap/ Capillary-GC/MS Method without Cryofocusing Apparatus	139
• Interrelations of Bone Metabolic Indices in Middle-aged and Elderly Women. Part 2. Correlation between Serum Bone Alkaline Phosphatase and Osteocalcin	146
• Correlation between Urinary Hydroxyproline Concentration and Physical Practice in School Children	152
• Effects of Smoking and Drinking on Selenium Concentration in Serum and Its Urinary Excretion in Healthy Adults	156

Notes

• Basic Study for Neonatal Mass Screening of Congenital Adrenal Hyperplasia Using ELISA	163
• Effect of Oxygen Concentration in Culture on the Frequency of Sister Chromatid Exchanges in CHL Cells	170
• A Survey on the Detection of <i>Borrelia burgdorferi</i> from Ticks in Toyama Prefecture	173
• Virological Examination in Infectious Diseases in Toyama Prefecture	177
• Incidence of Tsutsugamushi Disease in Toyama Prefecture in 1992	179
• An Epidemiological Analysis on the Serotype of Group A Human Rotavirus in Acute Gastroenteritis from April 1992 to March 1993	183
• Prevalence of Antibody against Hepatitis C Virus among Delivery Women	187
• Isolation of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 1992	190
• Intestinal <i>Streptococcus</i> Carriers among Healthy Children	195
• An Outbreak of Diarrheal Disease Caused by <i>Plesiomonas shigelloides</i>	198
• Incidence of <i>Vibrio fluvialis</i> and <i>Vibrio furnissii</i> in Market Fish	201
• Detection of Non-O1 <i>Vibrio cholerae</i> Hemolysin Gene by PCR and Southern Hybridization	204
• Polyphosphates, Magnesium and Calcium Contents in the Commercially Available Products of Frozen Surimi	206
• Analysis of Pesticide Residues in Vegetables and Fruits—Separation and Purification of Organophosphorus Pesticides from Vegetable Lipids by Gel Permeation Chromatography ..	210
• Solid Phase Extraction Method for Pesticides in Drinking Water	215
• Changes in Biochemical Indices of Blood around the Menopause	218
• Changes in Urinary Dialkylphosphate Levels of Farm Sprayers after Exposure to Organophosphorus Pesticide	222
• Glutathione Peroxidase Activities and Selenium Concentrations Both in Serum and Whole Blood among Healthy Adults	225

1. 運 営

1. 運 営

(1) 沿革および組織機構

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

職 名	氏 名	当 所 勤続年数	主 な 担 当 事 務
研 究 員	磯 部 順 子	3.2	食品の細菌学的試験検査及び食中毒起因細菌の生態調査
〃	田 中 大 祐	1.2	病原細菌のレファレンス業務及び輸入感染症の検査
〃	細呂木 志 保	2.1	医薬品、血清学的試験検査及び病原細菌情報の収集
化 学 部 長	水 上 英 一	6.8	部内事務総括及び食品、環境中の汚染物質の調査研究
主 幹 研 究 員	松 永 明 信	19.1	化学物質による食中毒及び食品添加物の調査研究
副主幹研究員	高 柳 信 孝	11.2	温泉の成分分析及び調査研究
主 任 研 究 員	齊 藤 行 雄	15.2	食品中の残留農薬及び環境汚染物質の検査研究
〃	山 本 敦	14.2	家庭用品、食品中の成分の検査研究
研 究 員	健 名 智 子	9.1	飲料水等の検査研究
〃	大 戸 幹 也	7.8	食品中の重金属、器具、容器、包装等の検査研究
環境保健部長	林 徹 雄	2.2	部内事務総括及び環境化学物質の汚染にかかわる健康調査研究
主 幹 研 究 員	西 野 治 身	28.2	環境汚染に伴う地域住民の健康調査及び生化学調査研究
主 任 研 究 員	新 村 哲 夫	21.1	生体中の重金属及び成人病における重金属代謝の調査研究
〃	田 中 朋 子	15.5	成人病及び各種疾病の生化学的検査研究
研 究 員	中 崎 美峰子	8.1	生体中有害物質の検査研究
〃	堀 井 裕 子	6.1	健康調査における生化学的検査研究

(5) 予 算 概 要

総 務 課

平成4年度 予算概要

事業名	予算額	財 源 内 訳		事業内容
		使、手数料	一般財源	
	千円	千円	千円	
衛生研究所費	72,483	1,793	70,690	研究所運営，維持管理，試験検査等 調査研究（16項目） 1. 染色体に関する研究 2. 環境汚染物質等の突然変異原性に関する研究 3. 衛生害虫の殺虫剤抵抗性の発現機構に関する研究 4. ウイルス感染症の疫学的研究 5. ウイルスウォッチプログラム 6. ウイルス感染症の電子顕微鏡的検査に関する研究 7. リケッチアの感染免疫に関する研究 8. 溶連菌の生態に関する研究 9. 都市河川水の病原微生物学的定点観測 10. 病原性海水ビブリオに関する研究 11. 細菌の病原遺伝子に関する研究 12. 飲料水に関する調査研究 13. 食品中の成分及び添加物に関する調査研究 14. 温泉に関する調査研究 15. 食品中の残留農薬及びその他の有害物質に関する調査研究 16. 環境汚染物質の生体影響に関する調査研究
試験研究費	15,467		15,467	
設備充実費	10,584		10,584	
暴露量測定による成人病発生予測研究費	1,566		1,566	
がん等特別研究費	14,445		14,445	
計（衛生研究費）	114,545	1,793	112,752	試験研究及び検査用機械器具の更新等 調査研究（5項目） 1. がん発生の背景要因の疫学的研究 2. がん発生の要因の実験的研究 3. 生体高分子物質に結合した化学発がん物質の微量定量法の開発 4. DNAまたはRNAを指標とした病原微生物の迅速，敏感な同定法の開発 5. 遺伝子工学による食中毒および集団下痢症の迅速診断に関する研究

款	項	目	節	決 算 額	摘 要
				円	
			旅 費	372,545	
			需 要 費	4,583,000	
			諸 費	20,000	
			役 務 費	8,000	
			使用料及び賃借料	4,821,000	
		衛 生 研 究 費		103,340,725	
			賃 金	4,933,385	
			報 償 費	185,000	
			旅 費	5,016,311	
			需 要 費	71,285,000	
			諸 費	354,302	
			役 務 費	1,767,000	
			委 託 料	13,230,329	
			使用料及び賃借料	1,207,994	
			備 品 購 入 費	5,251,404	
			負担金補助及び交付金	110,000	
	環 境 衛 生 費			3,159,556	
		環境衛生総務費		1,317,000	
			旅 費	24,000	
			需 要 費	1,270,000	
			役 務 費	23,000	
		食品衛生指導費		1,264,000	
			需 要 費	1,261,000	
			役 務 費	3,000	
		環境衛生指導費		161,166	
			旅 費	31,166	
			需 要 費	130,000	
		水 道 指 導 費		417,390	
			旅 費	72,390	
			需 要 費	345,000	
	医 務 費			121,610	
		保健婦等指導管理費		121,610	
			旅 費	121,610	
	公 害 防 止 費			365,000	
		公害防止対策費		365,000	
			需 要 費	365,000	
	合	計		138,303,557	

重 要 物 品 一 覧

(購入価格100万円)

品 名	購入年月日	数 量	型 式
倒 立 型 顕 微 鏡	50. 10. 30	1	日本光学 MD型
万 能 顕 微 鏡	57. 9. 30	1	オリンパス
高 速 冷 却 遠 心 分 離 機	54. 11. 26	1	久保田
真 空 凍 結 乾 燥 機	50. 10. 31	1	アトモパック 卓上型 No.2003型
超 低 温 槽	52. 12. 20	1	レブコ ULT-1275型
二 波 長 分 光 光 度 計	49. 3. 30	1	日立 デジタル 156型
水 銀 分 析 計	50. 3. 31	1	島津 UV-201型
赤 外 線 分 光 光 度 計	54. 1. 26	1	日立 260-0613型
原 子 吸 光 炎 光 分 光 光 度 計	54. 9. 19	1	島津 AA-640-12型
自 動 連 続 比 色 装 置	55. 12. 15	1	パーキンエルマーモデル55E
ガ ス ク ロ マ ト グ ラ フ	48. 2. 23	1	島津 GC-5 A P E E 型
〃	52. 12. 15	1	日立 163型
〃	57. 1. 8	1	島津 GC-7 A P r F F T 型
〃	57. 10. 12	1	島津 GC-7 A P r F F T 型
ガ ス ク ロ マ ト グ ラ フ 質 量 分 析 計	58. 2. 25	1	島津 GCMS-Q P1,000
低 温 乾 燥 灰 化 装 置	45. 12. 7	1	トラテロ LTA-505型
バ イ オ プ レ パ レ ー タ ー	49. 9. 4	1	ミツミ科学 ST-1500-BP
等 電 点 分 画 装 置	49. 9. 4	1	KLB 8100
ク リ オ ス タ ッ ト	53. 1. 10	1	アメリカンオプチカル「ADクリオカット」 840C型
ガ ン マ ー カ ウ ン タ ー	57. 9. 30	1	アロカ ARC-305
全 自 動 コ ロ ニ ー カ ウ ン タ ー	57. 9. 30	1	東海医理化 COP-1000

品 名	購入年月日	数 量	型 式
高速液体クロマトグラフ グラジュント装置	2. 9. 20	1	島津 LC-9A
ガスクロマトグラフ質量分析計	2. 11. 5	1	島津 GCMS-QP2000GF
超 低 温 槽	2. 11. 6	1	レブコ ULT-2050
炭酸ガスインキュベーター	3. 2. 8	1	サンヨーフォマMIP-3193
スローモーション解析装置付 ビデオ撮影記録機	3. 9. 30	1	ソニー
パルスフィールド電気泳動装置	3. 9. 30	1	バイオラッド CHEF-DR II
分光蛍光光度計	3. 11. 3	1	日本分光 FP-777
高速液体クロマトグラフ用 分光蛍光検出器	4. 3. 6	1	島津 RF-550
パラフィンブロック作製装置	4. 3. 12	1	サクラ精機 テイシュー・エンベンディング ・コンソール #4596
ク リ ー ン ベ ン チ	4. 3. 31	1	日立冷熱 CCV-1301EC型
万 能 顕 微 鏡	4. 9. 30	1	オリンパス
ガ ス ク ロ マ ト グ ラ フ	4. 11. 30	1	島津 GC-14B
D N A 合 成 装 置	4. 11. 30	1	ファルマシアLKB ジーンアッセンブラー スペシャル
マイクロプレートウォッシャー	5. 3. 10	1	米国ダイナテック ウルトラウォッシャーII
紫 外 可 視 分 光 光 度 計	5. 3. 25	1	島津 UV-160A
濃 縮 導 入 装 置	5. 3. 25	1	テクマー社 LSC-2000

(平成5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、11,311件で、県内69か所の医療機関で採血され、送付されたものである。受検児は出生数の107.5%（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55名（ヒスチジン血症疑い4名、ガラクトース血症疑い3名、クレチン症疑い26名、先天性副腎過形成症疑い22名）がスクリーニングされ、このうち患児が7名（クレチン症6名、先天性副腎過形成症1名）、正常28名、他の疾患で死亡が3名、里帰り分娩で県外転出後不明となっているものが1名、経過観察中のものは16名であった。

染色体検査：検査実施件数は、血液86件、骨髓液9件、羊水41件、流産胎児10件と悪性腫瘍2件の計148件で、うち染色体異常を示したものは、血液10件（ダウン症候群3名、白血病等4名等）、骨髓液3件（白血病等）、羊水2件（ダウン症候群等）と流産胎児5件（ダウン症候群、ターナー症候群等）の計20件であった。検査受付時の主訴は、血液では反復流産、先天性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4年度は前年に比べ発生数はわずかに増加し、平成2年度と同様の状況を示した。近年、蚊の発生数の年変動が著しく、その原因について、気象要因、発生源の水田の状況などと、蚊の生理特性との関連を解析中である。ライム病の富山県における侵入拡大状況を調べるため、前年に引き続き、福光町医王山、立山町立山美女平、大山町有峰、上市町馬場島などで媒介マダニの分布調査と、それらからのボレリアの検出を行った。各地からライム病ボレリアを媒介するシュルツェマダニ、ヤマトマダニが採集された。しかも、各地のヤマトマダニの30～75%からライム病ボレリアが検出された。シュルツェマダニからは医王山の1個体のみであった。以上の調査のほかに、分類同定検査として、保健所から依頼の食品混入昆虫など5件と、行政機関からの分類同定分を含め、合計3,751件の検査を行った。

一般依頼検査として、昆虫、ダニ、クモ、ムカデ・ヤスデなどの分類同定検査および駆除指導を115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9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や喫煙習慣等と密接に関連しているとされている。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等があるか否かについて詳細な調査票を用い胃がん患者、一定条件を備えた対照者について調査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

と血清型別について検討した。

本県に紅斑熱患者の発生はないが、住人血清や野ネズミなどの動物の血清には、紅斑熱群リケッチア（SFG R）に対する特異抗体が検出されることを明らかにしてきた。その感染源を追求するために、マダニ類におけるSFG Rの遺伝子をPCRによって検出する手法を検討した。

細 菌 部

〔伝染病、食中毒等にかかわる検査〕

平成4年7月と12月に、黒部市と富山市でそれぞれ1名のコレラ患者が発生した。12月の事例は検疫所で菌分離であったが、7月の事例は当研究所で検査を行った。通常の菌分離、同定と培養液についてのコレラ毒素の確認と平行して、PCR法による毒素遺伝子の検出を行い、これが迅速な行政対応に役立った。その他、伝染病関係では、本年度も集団発生はなく、赤痢2例、腸チフス1例、パラチフス2例が発生した。海外からの輸入事例は、上記のコレラ2例のほか、赤痢1例、サルモネラ3例、大腸菌2例、腸炎ビブリオ2例、合計10例であった。

食中毒に関して、届出は4件（黄色ブドウ球菌、セレウス、サルモネラ、ツキヨダケ各1件）のみであった。それらのうち、サルモネラは血清型 S.Typhimurium によるもので、病院給食のウズラ卵が原因食品として疑われた。本菌型は、S.Enteritidis とともに、鶏卵では親鶏からの垂直感染が知られている。富山県では臨床材料由来サルモネラの中でも S.Enteritidis に次いで多く、今後も監視をおろそかにできない。その他の食中毒としては、県外を原因施設とするものなどが4件（プレシオモナス、腸炎ビブリオ、サルモネラ、病原大腸菌各1件）あった。それらのうち、プレシオモナスの事例は、関西の旅行グループが県外で感染を受け、たまたま富山県の宇奈月温泉に宿泊中に発病したため、管轄の黒部保健所と当部が検査を担当したものである。詳細は別項に述べられているが、本菌による集団下痢症事例は富山県では31年ぶりのことであった。サルモネラの事例は、全国的に多発している血清型 S.Enteritidis であった。

〔その他の行政および依頼検査〕

行政検査：食品については、前年の約9倍の検査件数であったが、例年通りの夏期および年末の収去検査のほかは、大部分が夏の80日間にわたって開催された第1回ジャパンエキスポとやま（JET）の会場で販売された、弁当、アイスクリームなどの検査であった。限られた期間内に検査が集中したために、細菌部だけでなく他の部からの応援も受けて検査に対応し、万全を期した。

水質関係では、前年と同様、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、医薬品の依頼検査は、JETの関係もあって前年よりやや少なかった。水質関係では、県企業局の水道源水の検査依頼が増えた分件数が増加した。

〔流行予測、感染症サーベイランスと病原細菌検出情報〕

流行予測：厚生省委託の百日咳とジフテリアは、前年同様に該当年ではなく、県単独事業である溶血レン

サ球菌のみが実施された。臨床材料由来のA群溶レン菌の中では、前年までの3年間最も優勢であった12型がすっかり影をひそめ、かわって1型と4型が優勢になった。それとともに、3型が1985～86年の大流行以来7年ぶりに流行の兆しをみせた。健康児童の腸管溶レン菌保菌状態については、本年までの4年間の調査で、保菌率は極めて低いこと、A群の保菌は全くみられずB群が優勢であって、腸管の保菌状態については高齢者と小児の間に質的な違いがないこと、を明らかにした。

感染症サーベイランスと病原体検出情報：感染症サーベイランスによれば、百日咳は1992年は前・後期ともに前年に比べて増加の傾向であった。溶レン菌感染症は、前期は著しい増加、後期はやや減少し、年間では微増にとどまった。異型肺炎は前年から流行の兆しをみせていたが、予想どおりオリンピック年の1992年には前・後期ともに著しく増加し、明らかに流行であった。病原細菌検出情報に関して、前年に引き続いて黄色ブドウ球菌の増加傾向が著しかった。サルモネラは、合計の分離株数は前年同様であったが、血清型S.Typhimuriumの増加が目立った。カンピロバクターは前年の半数に減少し、最も分離株数の多かった1985年当時に比べると1/4になった。腸炎ビブリオは前年も減少の傾向であったが、本年も本菌食中毒は県外が原因施設であった1件のみで、分離株数は激減した。これは富山県ばかりでなく、全国的傾向であった。A群溶レン菌の分離株数は前年なみであった。

【調査研究】

科学技術庁の生活・地域流動研究の一環として、本年度からウイルス部と共同で、「病原微生物の分子疫学的研究」がスタートした。細菌部では3年計画の初年度として、コレラ菌(0-1)の分子疫学的研究を行った。コレラ患者からの分離株は、従来の血清型別では稲葉型と小川型の2型に大別されるのみであり、フェージ型別も限られているが、それぞれの分離株のDNAを適当な制限酵素で切断してパルスフィールド電気泳動を行うと、各血清型の菌株がそれぞれ多くのパターンに分類され、菌の由来あるいは分離年次によって特徴があることを明らかにした。さらに、国内の環境由来株は、患者由来株にはみられないパターンを示すことも明らかにした(第66回日本細菌学会、1993年3月)。

本年度はまた、当研究所の新規事業として、ウイルス部と共同で「遺伝子工学による食中毒・集団下痢症の迅速診断に関する研究」も始まった。細菌部では、長年研究の対象としてきた非0-1コレラ菌について、その腸管起病性に関与すると考えられる溶血毒遺伝子を、PCRまたはサザンハイブリダイゼーションで迅速に検出する方法を確立した。

そのほか、現在日本を含めて先進各国で、鶏卵が関係した食中毒で非常に問題になっているサルモネラ血清型S.Enteritidisについて、そのプラスミドプロファイル、DNA型別、フェージ型別の組合わせが、本菌の分子疫学的マーカーとして、非常に有用であることを明らかにした。

都市河川水の定点観測では、かつてのように、チフス菌や希にはコレラ菌(0-1)が分離されるようなことは全くなり、サルモネラによる汚染も年々改善されつつある状況が把握されている。

富山湾産魚介の病原ビブリオ汚染については、食中毒との関連から、腸炎ビブリオ、非0-1コレラ菌、ビブリオ・フルビアリスを対象として定点観測を行っているが、本年度は特にビブリオ・フルビアリスについて、効率よく分離するための増菌培地と分離培地の組合わせについて検討するとともに、一部の検体について汚染濃度を調べた。

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検査および規格試験

第1回ジャパンエキスポ富山の会場で販売されていた代表的輸入食品など6件の検査を行った。その結果、かまぼこから保存料と着色料が、稚鮎甘露煮から保存料が検出されたが、これらはすべて使用基準に適合し、他からは保存料、着色料とも検出されなかった。

別に毎年の収去検査として、清涼飲料水10件につき保存料3種および甘味料1種の検査と成分規格試験を行ったところ、3件から保存料が検出されたがいずれも使用基準に適合していた。残り7件から保存料、甘味料は検出されなかった。なお10件とも成分規格に適合していた。また、生麺やギョウザの皮等20件につき品質保持剤（プロピレングリコール）の検査を行ったが、すべて使用基準に適合していた。次に煮干し等魚介乾燥品11件につき酸化防止剤2種を分析したところ、煮干しからBHAが検出されたが（基準以下）、他からはいずれも検出されなかった。他に無菌充てん食品10件につき過酸化水素の検査を行った。清涼飲料水と天然果汁から過酸化水素が検出された例もあったが、これらは原料に由来するものと考えられた。なお他からは検出されなかった。

この他一般依頼検査として、異種脂肪が混入された疑いで牛乳3種が搬入され、植物脂肪のフィステロールを検査したが、いずれも検出されなかった。

(2) 食品中の残留農薬および重金属の検査

県内産農産物16品目（野菜や果物各4種ずつ）を対象に、1品目につき有機リン農薬23種ずつを検査したが、いずれからも農薬は検出されなかった。また、富山湾産魚介類25種につき水銀を分析したが、すべて基準に適合していた。

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、輸入イタリア産ワインに農薬のメチルイソチオシアネートが検出されたとの連絡をうけ、県内で収去された輸入イタリア産ワイン8種につきメチルイソチオシアネートを検査したところ、いずれからも検出されなかった。他に、厚生省生活衛生局から依頼され、業務用井戸水20件につき水質検査項目25ずつを検査したところ、1件からマンガンの新基準「0.05ppm」を超える量が検出された。

3. 家庭用品検査

下着など5種につきディルドリンを、芳香消臭剤やガラスクリーナーなどの家庭用エアゾル製品5種につきメタノールを、さらに浴槽クリーナーやカビ防止品などの家庭用エアゾル製品5種につきテトラクロロエチレンおよびトリクロロエチレンを各々検査したところ、いずれからも検出されなかった。

4. 水質検査

(1) ゴルフ場使用農薬による井戸水汚染検査

昨年に続き、市町村からの一般依頼検査として、6月には水道水や水道原水など23件を、10月には行政検査16件と一般依頼検査7件を、平成5年1月にも一般依頼検査1件を行ったが、いずれからも農薬は検出されなかった。

(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

飲料水中のトリハロメタン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンおよび1,1,1-トリクロロエタンなどにつき一般依頼検査388件を行ったが、過去にテトラクロロエチレンにより汚染された井戸水から、一部、基準を超えて検出された。

5. 温泉分析

小分析5件と中分析7件を検査し、小分析1件が不適であった。

[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—光学純度測定への応用

偏光吸光度検出法により、比較的低旋光性の有機酸、食品添加物としての酒石酸、リンゴ酸などの吸光度検出器併用HPLCによる食品中の異性体の使用実態の把握を試みた。 α -ヒドロキシカルボン酸はモリブデン酸と錯体を形成しその旋光性を増大し、またこの錯体は陰イオン交換カラムに保持された。従って、モリブデン酸を溶離液とした偏光吸光度／紫外吸収検出HPLCにより、光学異性体の相互分離なしに、その存在率測定が可能になり、本法を市販清涼飲料水に適用したところ、酸味料として添加された合成酒石酸、リンゴ酸の存在が容易に識別できた。

(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—酵素分解に及ぼすマグネシウムの影響

魚肉ねり製品の原料の冷凍すり身には、その保存・流通中のタンパク質の変性防止および最終製品の弾力増強などのため、ピロリン酸塩(P2)とトリポリリン酸塩(P3)の混合製剤が添加されている。既に同ねり製品の製造工程におけるこれらポリリン酸塩(PP)の消長の検討を行ってきたが、本年度は坐り工程におけるPPの消長に及ぼすMgの影響を検討した。その結果P3分解活性とMg濃度の間に双曲線的な関係があり、基質濃度の増加に対応して最大活性も増大した。一方、P2分解活性とMg濃度との間にはシグモイド曲線的な関係がみられ、最大活性は基質濃度と無関係に一定値を示した。坐り加熱ゲルのゼリー強度はMg濃度の増加に伴って大きくなり、やがて一定となった。Mg濃度が高い程ミオシン重鎖の多量化が進行しており、物性の変化と対応する傾向がみられた。Mgは坐り工程におけるPPの消長に、さらに製品の品質にも影響を及ぼしているものと推定された。

2. 食品中の残留農薬およびその他の有害物質に関する調査研究

(1) 野菜・果実中の有機リン農薬23種の一斉分析法について

国内外で使用される農薬の一斉分析法の検討を行った。抽出にはアセトン、再抽出にはジクロロメタン・ベンゼンを、精製にはゲル浸透クロマトグラフィ(GPC)、分離・定量にはキャピラリーカラム付きFPD-GCを用いた。GPCには充てん剤にバイオビーズS-X3を、溶出液にジクロロメタン・シクロヘキサン(1:1)混液を使用し、植物脂肪、油溶性色素をまず除き、FPD-GCにはカラムにウルトラ1とDB-201を用いて有機リン農薬23種を測定した。その結果、一部の農薬に低回収

のものもあったが、全体として多成分分析としては十分な回収率であった。

3. 飲料水に関する調査研究

(1) 飲料水中の農薬の固相抽出法を用いた分析法の検討

ゴルフ場使用農薬30項目中、GC/MSで測定できる26項目および新水質基準に取り入れられたジクロロボスなど6項目の合計32項目につき、SEP・PAK PS-2とSEP・PAK tC18の固相を用いて検討した。井戸水に添加して回収する場合は、SEP・PAK PS-2ではシマジンを除き、他の31項目はすべて良好な回収率を示した。またtC18では、DDVPを除き、他の31項目はすべて良好な回収率を示したが、PS-2による回収率よりはやや低かった。

(2) 塩素処理中のゴルフ場使用農薬の分解

浄水過程で殺菌・消毒のため添加される塩素は水中の有機物に様々な化学変化を引き起こす。本年度はゴルフ場使用農薬によって水道水源が汚染された場合の塩素処理による影響を検討した。その結果、農薬の種類により分解速度に大きな差がみられ、分解の速い農薬については、浄水からの検出率が水道原水からのそれに比べて低いこと、また、有機リン農薬からはオキシ体の生成が推定された。

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、次の検査を行った。

神通川流域住民健康調査として、平成2年度より実施された45～55歳の年齢層について3年目の調査が実施され、対象者1,169名中785名が受診した。その後1次B検診に90名、2次検診に10名が受診し、延べ885名の検査を行った。

この他に、昭和54年から59年までの調査結果に基づき、腎尿管機能のグレード分けされたものについて追跡調査が行われ、175名の検査を実施した。

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6名について、それぞれに該当する検査を実施した。

〔調査研究〕

1. イタイイタイ病に関する研究

イタイイタイ病における骨障害の早期診断および治療効果の判定に資するため、骨形成の指標である血清骨型アルカリフォスファターゼおよび骨吸収の指標とされている血清酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼの多検体測定法を確立した。

2. 成人病予防に関する疫学的研究

(1) 骨粗しょう症に関する研究

高齢化社会を迎え、寝たきり老人防止対策の一環として、加齢による骨量の減少を予測して骨粗しょう

う症を予防するため、中高年女性の正常時における骨代謝の変動と腰椎骨密度との関連を検討した。その結果、50歳以上の高齢者では、30歳代に比べ骨吸収と骨形成の生化学指標がともに上昇し、骨代謝回転の亢進が示唆された。このような骨代謝の変化は腰椎骨密度の低下と密接に関連していると考えられた。(科学技術庁生活・地域流動研究費による)

(2) 小児期からの成人病予防に関する研究

小児期からの望ましいライフスタイルを確立することにより成人病を予防するため、学童の運動習慣と尿中ハイドロキシプロリン(Hyp)との関係を生化学的に検討した結果、尿中Hypは身長伸びや体重の増加量と正の相関を示し、成長度の等しい児童では運動量の多い群で尿中Hypが低値を示す傾向がみられた。

3. 環境汚染物質の生体影響に関する研究

(1) 農薬の生体影響に関する研究

農薬散布従事者の健康被害防止の観点から、農薬散布作業による農薬暴露と生体内残留期間の関係をj知るため、散布後2～4週間の早朝尿について代謝物の分析をした結果、暴露から1カ月近く経過しても尿中代謝物の排泄が続いていることが判明した。

(2) 生体中セレンに関する研究

環境汚染物質による影響や疾病および障害との関連が注目されているセレンについて、喫煙や飲酒などの生活習慣によるセレンの血清濃度や尿中排泄量への影響を検討した結果、男性におけるセレンの血清濃度は喫煙習慣により低値を示し、飲酒習慣によって高値を示すことが明らかになった。また、セレンを構成元素とするグルタチオン・ペルオキシダーゼの血清および全血中での活性について検討中である。

(7) 検 査 状 況

() 内項目数

部 名	区 分	行 政 検 査	依 頼 検 査
が ん 研 究 部	先天性代謝異常等検査	11,311 (79,117)	
	染色体検査	122 (122)	26 (26)
	衛生動物等検査	1,765 (3,751)	124 (154)
	小 計	13,198 (83,050)	150 (180)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	2,050 (2,050)	
	血清学的検査	3,601 (4,705)	164 (164)
	病原微生物の動物試験	120 (120)	
	小 計	5,771 (6,875)	164 (164)
細 菌 部	伝染病にかかわる検査	456 (574)	
	食中毒にかかわる検査	139 (322)	
	血清学的検査	13 (13)	
	食品検査	271 (901)	120 (279)
	医薬品検査		48 (126)
	水質検査	368 (632)	345 (623)
	その他の検査		189 (335)
	小 計	1,247 (2,442)	702 (1,363)
化 学 部	食品にかかわる検査	246 (1,421)	3 (12)
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	98 (762)	388 (2,041)
	温泉分析	3 (3)	12 (312)
	小 計	362 (2,206)	403 (2,365)
環 境 保 健 部	カドミウム住民健康調査	1,074 (5,657)	
	小 計	1,074 (5,657)	
合 計		21,652 (100,230)	1,419 (4,072)

検 査 内 容

() 内項目数

が ん 研 究 部

〔行政検査〕		〔一般依頼検査〕	
1. 先天性代謝異常等検査	11,311 (79,117)	1. 染色体検査	
2. 染色体検査		(1) 血 液	2 (2)
(1) 血液・骨髓液	93 (93)	(2) 羊 水	22 (22)
(2) 羊 水	19 (19)	(3) 胎 児	2 (2)
(3) 胎 児	8 (8)	2. 衛生動物等検査	
(4) 悪性腫瘍	2 (2)	(1) 衛生動物	115 (145)
3. 衛生動物等検査		(2) 食品混入異物	9 (9)
(1) 衛生動物	1,760 (3,746)		
(2) 食品混入異物	5 (5)		

ウ イ ル ス 部

〔行政検査〕		〔一般依頼検査〕	
1. 感染源検査		1. 血清学的検査	
(1) インフルエンザ	130 (130)	(1) 風 疹	1 (1)
(2) ポ リ オ	150 (150)	(2) その他のウイルス	163 (163)
(3) その他のウイルス	1,594 (1,594)		
(4) リケッチア：ネズミ	176 (176)		
2. 血清学的検査			
(1) インフルエンザ	234 (702)		
(2) ポ リ オ	249 (747)		
(3) 日本脳炎：ブタ	250 (250)		
(4) 風 疹	705 (705)		
(5) その他のウイルス	2,071 (2,071)		
(6) リケッチア：ヒト	60 (150)		
ネズミ	32 (80)		
3. 病原微生物の動物試験	120 (120)		

() 内項目数

細菌部

〔行政検査〕

1. 伝染病にかかわる検査

(1) 保菌者検査

溶連菌 86 (86)

コレラ菌 33 (36)

その他 1 (3)

(2) 同定検査

溶連菌 217 (217)

チフス, パラチフスA, サルモネラ 113 (226)

赤痢菌 2 (2)

コレラ菌 1 (1)

その他 3 (3)

2. 食中毒にかかわる検査

(1) セレウス菌 38 (76)

(2) 黄色ブドウ球菌 35 (63)

(3) カンピロバクター 28 (48)

(4) 病原大腸菌 17 (17)

(5) プレシオモナス 12 (76)

(6) その他 9 (42)

3. 血清学的検査

梅毒蛍光抗体法 13 (13)

4. 食品検査

収去食品 271 (901)

5. 水質検査

(1) 海域水 268 (268)

(2) 河川水 66 (330)

(3) 湖水 20 (20)

〔一般依頼検査〕

1. 食品検査 120 (279)

2. 医薬品検査 48 (126)

3. 水質検査

(1) 海水 50 (50)

(2) 冷却水 17 (17)

(3) 飲料水 230 (460)

(4) 河川水 48 (96)

4. その他の検査

(1) 空調ダクト菌数 154 (300)

(2) 接着剤抗菌試験 32 (32)

(3) 粘土菌数測定 3 (3)

() 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	177 (520)
(2) 食品中の残留農薬	16 (368)
(3) 食品中の成分	28 (508)
(4) 食品中の重金属	25 (25)

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	23 (612)
(2) 飲料水等の特殊項目検査 (トリハロメタン等)	75 (150)

4. 温泉分析	3 (3)
---------	--------

[一般依頼検査]

1. 食品にかかわる検査

(1) 食品中の成分	3 (12)
------------	---------

2. 水質検査

(1) ゴルフ場使用農薬等検査	31 (794)
(2) 飲料水等の特殊項目検査 (トリハロメタン等)	357 (1,247)

3. 温泉分析	12 (312)
---------	-----------

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	785 (1,570)
“ B “	90 (270)

2次検診

尿, 血液, 腎機能検査	124 (3,250)
--------------	--------------

短期入院検査

尿検査	64 (320)
-----	-----------

(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診

尿, 血液, 腎機能検査	5 (145)
--------------	----------

(3) イタイイタイ病患者認定申請に基づく検査

尿, 血液, 腎機能検査	6 (102)
--------------	----------

(8) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
微 生 物 学	児 玉 博 英	総 合 衛 生 学 院 第 2 看 護 学 科	平. 4. 4～9 週 1 回	総合衛生学院
微 生 物 学	石 倉 康 宏	総 合 衛 生 学 院 第 1 看 護 学 科	平. 4. 4～9 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. 4. 4～7 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. 4. 4～9 週 1 回	厚生連高岡 看護専門学校
発 育 発 達 論	品 川 保 弘	富山健康科学専門学校	平. 4. 4. 22, 5. 6	富山健康科学 専 門 学 校
海外旅行後の下痢症の予防	児 玉 博 英	N H K 健康アドバイス	平. 4. 4. 24	NHK富山支局
発 育 発 達 論	庄 司 俊 雄	富山健康科学専門学校	平. 4. 5. 13 ～7. 22 週 1 回	富山健康科学 専 門 学 校
食品衛生学および公衆衛生学	児 玉 博 英	調 理 師 研 修 会	平. 4. 5. 17	富山県民会館
食品が原因となる感染症 ・食中毒	児 玉 博 英	(株) 源 衛 生 講 話	平. 4. 6. 10	(株) 源
細菌による食中毒の予防	児 玉 博 英	N H K 健康アドバイス	平. 4. 6. 19	NHK富山支局
細 菌 に よ る 食 中 毒	児 玉 博 英	公開ウェルネス講座	平. 4. 6. 20	富山健康科学 専 門 学 校
食品衛生学および公衆衛生学	児 玉 博 英	調理師研修会（石川県）	平. 4. 6. 21	石川県青年会館
細 菌 に よ る 食 中 毒 ・ 集団下痢症とその予防	児 玉 博 英	食品衛生監視員研修会	平. 4. 6. 23	富山県民会館
食中毒の予防について	児 玉 博 英	氷見市調理師研修会	平. 4. 6. 30	氷見保健所
微 生 物 学	石 倉 康 宏	高岡市立看護専門学校	平. 4. 9 ～平. 5. 3 週 1 回	高岡市立看護 専 門 学 校
カメムシ駆除現地指導	渡 辺 護	朝日町立糸魚小学校 (北海道)	平. 4. 9. 5 ～6	北海道上川郡 朝 日 町
細菌感染症の集団発生の 経験から	児 玉 博 英	埼玉県衛生研究所 職 員 研 修 会	平. 4. 9. 25	埼 玉 県 衛生研究所

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
病院内における院内感染の防止について	刑 部 陽 宅	富山県ビルメンテナン協会 青年部会	平. 4. 9. 29	富山市体育文化センター
食 品 衛 生 学	児 玉 博 英	富山女子短期大学 食物栄養学科	平. 4. 10 ～平. 5. 2 週1回	富山女子短期大学
穀類が原因となる細菌による食中毒	児 玉 博 英	在宅栄養士研修会	平. 4. 10. 2	富山県婦人会 館
食品衛生学および公衆衛生学	児 玉 博 英	調理師研修会	平. 4. 10. 18	関西資格研修所富山講習所
衛 生 動 物 学	渡 辺 護	富山医科薬科大学医学部	平. 4. 10. 28	富山医科薬科大学
食 品 衛 生 学	児 玉 博 英	管理栄養士講習会	平. 4. 11. 15	富山女子短期大学
食品衛生最近の話題	児 玉 博 英	栄養士会生涯教育講座	平. 4. 11. 26	富山女子短期大学
公 衆 衛 生 学	庄 司 俊 雄	富山健康科学専門学校	平. 4. 12. 7 平. 5. 1. 11	富山健康科学専門学校
エイズの正しい理解とその予防	児 玉 博 英	呉羽高校教職員のための講演 会	平. 4. 12. 8	富山県立呉羽高等学校
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. 5. 1. 12	富山医科薬科大学
H I V（ヒト免疫不全ウイルス）感染とエイズ	森 田 修 行	第一薬品工業(株) 新春大研修会	平. 5. 1. 12	名鉄トヤマホテル
インフルエンザについて	森 田 修 行	N H K いきいき情報	平. 5. 1. 20	NHK富山支局
富山県におけるポリオおよび風疹の抗体保有調査	森 田 修 行	富山医科薬科大学医学部	平. 5. 1. 26	衛生研究所
P C R 法 について	刑 部 陽 宅	富山県臨床衛生検査担当者会議	平. 5. 1. 29	富山県婦人会 館
エイズの正しい理解とその予防	児 玉 博 英	労働保険事務組合研修会	平. 5. 2. 18	宇奈月ニューオータニホテル
感染予防対策について	森 田 修 行	周産期保健医療研修会	平. 5. 2. 18	富山県婦人会 館
風 疹 に つ い て	森 田 修 行	N H K いきいき情報	平. 5. 3. 3	NHK富山支局
チェルノブイリ体験－新しい医療と看護の視点	品 川 保 弘	厚生連高岡看護専門学校 卒業記念講演会	平. 5. 3. 8	厚生連高岡看護専門学校

(9) 研 修 指 導

対象者および所属	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
保 健 所 予 防 課 防 疫 担 当 者	平. 4. 6. 11	日本脳炎流行予測調査における 捕集蚊の分類	がん研究部
高 岡 保 健 所 大 谷 真由美	平. 4. 6. 16, 8. 19~20, 8. 31	着色料の試験	化 学 部
大洋漁業(株)中央研究所 松 川 雅 仁	平. 4. 11. 16~20, 12. 14~18	高速液体クロマトグラフィーに よる食品添加物の分析	化 学 部
富 山 第 一 高 等 学 校 西 村 実	平. 4. 12. 16, 18	細菌検査手技	細 菌 部
リ ー ド ケ ミ カ ル (株) 小 川 まゆみ	平. 5. 3. 9~17	クロストリジウム属菌の検査法	細 菌 部

(10) 研 修 受 講

受講者氏名	研 修 期 間	研 修 内 容	研 修 機 関	講師所属氏名
高 橋 雅 子	平. 4. 6. 18～6. 19	クレチン症検査技術者研修	総合母子保健センター	所長 坂元 正一先生
渡 辺 護	平. 4. 6. 23～7. 2	ライム病病原体の検出法	旭 川 医 科 大 学	寄生虫学教室 中尾 稔先生
松 浦 久美子	平. 4. 7. 28～7. 31	組換えDNA実習 (DNAの合成, PCRによる増幅等)	富山県バイオ産業 振 興 協 会	(株)ファルマシア バイオシステム 戸須真理子先生
田 中 大 祐	平. 4. 7. 27～8. 1	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 山口 和男先生 他
健 名 智 子	平. 4. 9. 20～9. 26	飲料水中の揮発性物質 の濃縮法	国立公衆衛生院	衛生薬学部室長 中澤 裕之先生
長谷川 澄 代	平. 5. 1. 11～2. 10	教育訓練特別課程 ウイルスコース	国立公衆衛生院	衛生微生物学部 分子疫学室長 中島 節子先生 他
高 橋 雅 子	平. 5. 1. 25～2. 1	マイクロプレートを用 いた酵素によるアミノ 酸ガラクトースの定量	杏 林 大 学	代謝異常研究施設 施設長 小児科客員教授 成瀬 浩先生
細呂木 志 保	平. 5. 2. 4～2. 5	希少感染症診断技術研修	国立予防衛生研究所	細菌部 全身性感染 細菌室長 森 守先生 他
庄 司 俊 雄	平. 5. 2. 24～3. 5	組換えDNA基礎トレ ーニングコース	東 北 大 学	遺伝子実験施設 教授 山本 徳男先生 他
中 山 喬	平. 5. 3. 22～3. 24	HIV検査法(PCR 法)の技術研修	国立予防衛生研究所	エイズ研究センター エイズ疫学室長 武部 豊先生 他

(11) 客員研究員等招へい

客員研究員招へい事業

客員研究員氏名	所 属 職 名	招へい期間	指 導 内 容
蓑 輪 眞 澄	国立公衆衛生院 疫学部部長	平. 4. 5. 26～27	がんの疫学的調査の手技および解析
林 眞	国立衛生試験所 変異遺伝部室長	平. 4. 8. 26～27	突然変異原性試験および小核試験 の手技
小 島 貞 男	(株)日水コン・中央研究所所長	平. 4. 9. 2～3	上水道における水質管理と今後の課題
伊 木 雅 之	福井医科大学 環境保健学 講座 文部教官助手	平. 4. 9. 28～29	骨変化に対するスクリーニング指標 について 骨代謝指標の臨床的評価と問題点について
新 井 健 一	北海道大学 水産学部教授	平. 4. 10. 19～21	魚肉ねり製品の製造工程における添 加物の消長の解析
金 城 俊 夫	岐阜大学 農学部獣医公衆 衛生学講座 教授	平. 4. 11. 26～27	人獣共通感染症：ヒトの予防対策に ついて
祖父尼 俊 雄	国立衛生試験所 変異遺伝部 部長	平. 4. 12. 14～15	染色体異常検査および手技

(12) セミナー，談話会の開催

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	講師氏名	所 属 職 名	年 月 日
1. 上水道における水質管理 と今後の課題 2. 貯水池における水質改善	小 島 貞 夫	(株)日水コン・中央研究所所長	平. 4. 9. 3
「寝たきり老人」の発生防止 にはたす骨粗鬆症予防の意義	伊 木 雅 之	福井医科大学 環境保健学講座 文部教官助手	平. 4. 9. 28
魚肉ねり製品に添加物を加える 意義とその消長について	新 井 健 一	北海道大学 水産学部 教授	平. 4. 10. 20
エイズを考える	植 竹 久 雄	京都大学 名誉教授	平. 4. 11. 20
人獣共通感染症について	金 城 俊 夫	岐阜大学 農学部獣医公衆衛生学講座 教授	平. 4. 11. 26

2. 衛生研究所談話会

第14回 平成5年3月12日

話 題 : 感染症・食中毒の集団発生の経験とそれに関連した研究

—特に腸内細菌，病原ビブリオおよび溶血レンサ球菌—

所 長 児 玉 博 英

2. 調 査 研 究 報 告

平成5年9月1日

先天性代謝異常等マスクリーニングの 成果について

高橋 雅子 川幡 映二 本田 幸子 林 美貴子
柏樹 久雄 武田 幸子¹

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

Masako TAKAHASHI, Eiji KAWAHATA, Sachiko HONDA,
Mikiko HAYASHI, Hisao KASHIWAGI
and Sachiko TAKEDA¹

要 旨 本年度の検体総数は11,311件で、スクリーニングの結果、クレチン症6名、先天性副腎過形成症1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16年間で44名、クレチン症が13年間で42名、副腎過形成症が4年間で6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クリーニングは代謝異常症を早期に発見し、早期に治療することにより、心身の障害を未然に防止するという目的で全国的に実施されている。富山県においては、昭和52年10月より富山県先天性代謝異常等検査事業実施要綱に基づき、フェニールケトン尿症等の5疾患についてマス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4年4月より、平成5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（財石川県予防医学協会）においてELISA法によりTSH（Thyroid-stimulating hormone）値の測定を行った。なお、一部の検体については、FT₄の測定を（財）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（財石川県予防医学協会）においてELISA法により17- α -OHP（17- α -hydroxy 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、11,311件で、県内69か所の医療機関（おもに産婦人科医院）より送付されてきたものである。

表2および表3に年度別、月別検査実施状況を示した。

本年度の出生数は、9,840人であり、受検率は107.5%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	4mg/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5年9月1日

表2. 先天性代謝異常等検査実施状況

区 分 期 間	受付総数 (件)	検 査 実人員数 (人)	対象者 (出生数) (人)	受検率 (%)	疑陽性数 (人)			要精検数 (人)		
					代 謝 異常症	ルチン 症	副 腎 過形成症	代 謝 異常症	ルチン 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)
4年 4月 ～5年 3月	11,311	10,577	9,840	107.5	183	141	88	7(0)	26(6)	22(1)
計	197,916	186,695	198,021	—	2,843	1,520	301	119(44)	246(42)	72(5)

() は 患者数

表3. 月別検査実施状況

年 月		平成 4 年									平成5年			計
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
受付検体総数(件)		909	966	969	1,031	964	981	973	865	818	991	871	973	11,311
内	初回検査数(件)	841	908	897	941	909	923	912	830	767	936	804	909	10,577
	再採血総数(件)	68	58	72	90	55	58	61	35	51	55	67	64	734
訳	2 回 目	60	53	64	81	53	53	55	33	48	53	57	50	670
	3 回 目	8	3	8	8	2	5	5	2	3	2	7	4	57
	4 回 以上	0	2	0	1	0	0	1	0	0	0	3	0	7
出生数(人)		843	845	833	880	861	848	853	716	822	820	715	804	9,840

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734件で、受付検査総数の6.5%にあたり、そのうち約59%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うち、疑陽性の理由以外では検体不良が40件と多かった。40件の内訳は採血後日数が経ちすぎているものが31件、血液が十分しみ込んでいないものが7件、汚染が2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59件、抗生物質の使用等で枯草菌の発育が阻害されるヌケ現象を示し、判定不能となったものが47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10件（うち死亡4件）で、93.9%の回収率となった。一方、疑陽性の理由で再採血を依頼した分については、回収できなかったのは11件で、そのうち、死亡が2件、病院のほうで再検、追跡するというケースが3件あった。回収率は97.4%であった。

低出生体重児（2000g以下）の場合には、哺乳が不十分であったり機能が未熟であったりするので、2000gに達した時か1か月時のうち、いずれか早い時期に再採血を依頼し、2度検査を行っている。本年度は111人に再採血を依頼したが、そのうち23人

は哺乳不良であった。これらの回収率は95.5%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、28件（0.2%）が8日以上かかっていた。このなかには、原因は不明だが53日かかったケースがあった。特に先天性副腎過形成症は、診断の迅速性を要するため、初回採血は必ず生後5～7日目に行い、採血後は直ちに郵送してもらうよう更に徹底したい。

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183人（1.7%）、クレチン症が141人（1.3%）、先天性副腎過形成症が88人（0.8%）であり、そのうちそれぞれ7人、26人、22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1～4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ある。精密検査の結果、症例2は正常、症例1、3、4はその後の検査でヒスチジン値が低くなっており、経過をみる

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4年									平成5年			計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
フェニルケトン尿症	1					1							2
ホモシチン尿症					1			1	3	1	1	3	10
ヒスチジン血症	(2)										2(1)	2(1)	4(4)
メバロン酸尿症	2	4	6	17	7	6	1		1	2		1	47
ガラクトース血症	20(1)	19	15	4	5	12	11(1)	9(1)	6	16	17	12	146(3)
クレチン症	13(5)	12(1)	13(1)	14(5)	9(1)	11	10(2)	9(2)	11(4)	15(1)	14(2)	10(2)	141(26)
副腎過形成症	6	11(3)	6(2)	5	4	8(2)	7(5)	4(2)	8(3)	10(1)	6(1)	5(3)	80(22)
計	42(8)	46(4)	40(3)	40(5)	26(1)	38(2)	29(8)	23(5)	29(7)	44(2)	40(4)	33(6)	430(55)

() は 要精密検査数

平成5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
ヒスチジン血症	1	女	4. 3.19	4. 3.25 4. 5	6 17	His 8 mg/dl ウロカニン酸 (-) His 12~16 mg/dl ウロカニン酸 (-)	経過観察中
	2	男	4. 3.20	4. 3.27 4. 6	7 17	His 6 mg/dl ウロカニン酸 (-) His 4 mg/dl ウロカニン酸 (-)	正 常
	3	男	5. 2. 8	5. 2.14 2.21	6 13	His 6 mg/dl ウロカニン酸 (-) His 6~8 mg/dl ウロカニン酸 (-)	経過観察中
	4	女	5. 3. 2	5. 3. 8 3.15	6 13	His 4 mg/dl ウロカニン酸 (-) His 10 mg/dl ウロカニン酸 (-)	経過観察中
ガラクトース血症	5	女	4. 4. 3	4. 4. 8 4.13 4.17	5 10 14	Gal+Gal-1-P 20 mg/dl ボイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 8~10 mg/dl ボイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 8~10 mg/dl ボイトラー 正常	一過性 高ガラクトース血症
	6	女	4. 9. 4	4. 9.10 9.21 10. 3	6 17 29	Gal+Gal-1-P 6~8 mg/dl ボイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 8~10 mg/dl ボイトラー 蛍光微弱 Gal+Gal-1-P 8~10 mg/dl ボイトラー 蛍光微弱	一過性 高ガラクトース血症
	7	男	4.11.11	4.11.16 11.20 11.25	5 9 14	Gal+Gal-1-P 8 mg/dl ボイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 10 mg/dl ボイトラー 正常 Gal+Gal-1-P 10~16 mg/dl ボイトラー 正常	一過性 高ガラクトース血症
クレチン症	8	女	4. 3.18	4. 3.24 4. 1	6 14	TSH 12.6 μ U/ml 12.1 μ U/ml TSH 8.5 μ U/ml FT ₄ 2.1 ng/dl	一過性 高TSH血症
	9	女	4. 3.19	4. 3.25 4. 2	6 14	TSH 9.0 μ U/ml 8.3 μ U/ml TSH 12.7 μ U/ml FT ₄ 1.4 ng/dl	一過性 高TSH血症の疑い
	10	女	4. 3.29	4. 4. 4 4.10	6 12	TSH 9.4 μ U/ml 8.9 μ U/ml TSH 10.8 μ U/ml FT ₄ 2.0 ng/dl	一過性 高TSH血症
	11	男	4. 4. 7	4. 4.13 4.20	6 13	TSH 14.7 μ U/ml 14.9 μ U/ml TSH 9.8 μ U/ml FT ₄ 2.1 ng/dl	正 常
	12*	女	4. 4.16	4. 4.22 4.28	6 12	TSH 10.3 μ U/ml 11.2 μ U/ml TSH 10.6 μ U/ml FT ₄ 1.5 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
	13	男	4. 5. 1	4. 5. 7 5.13	6 12	TSH 9.2 μ U/ml 9.5 μ U/ml TSH 13.7 μ U/ml FT ₄ 1.8 ng/dl	不 明
	14	女	4. 5.18	4. 5.25 6. 1	7 14	TSH 10.5 μ U/ml 9.0 μ U/ml TSH 13.8 μ U/ml FT ₄ 1.4 ng/dl	一過性 高TSH血症
	15	女	4. 5.29	4. 6.14 6.29	16 31	TSH 9.3 μ U/ml 10.2 μ U/ml TSH 80 μ U/ml 以上 FT ₄ 0.2 ng/dl	正 常
	16	女	4. 7. 7	4. 7.12 7.16	5 9	TSH 12.3 μ U/ml 15.8 μ U/ml TSH 10.5 μ U/ml FT ₄ 1.3 ng/dl	一過性 高TSH血症
	17	男	4. 7. 6	4. 7.11 7.17	5 11	TSH 11.4 μ U/ml 13.1 μ U/ml TSH 11.8 μ U/ml FT ₄ 1.7 ng/dl	一過性 高TSH血症
	18*	女	4. 7.13	4. 7.19	6	TSH 80 μ U/ml 以上	クレチン症 (欠損型)
	19	男	4. 6.19	4. 6.24 7.20 7.29	5 30 39	TSH 4.8 μ U/ml 15.2 μ U/ml 16.9 μ U/ml TSH 8.6 μ U/ml FT ₄ 0.8 ng/dl	正 常
	20	男	4. 8.17	4. 8.24 8.27	7 10	TSH 12.6 μ U/ml 15.2 μ U/ml TSH 8.6 μ U/ml FT ₄ 1.5 ng/dl	一過性 高TSH血症
	21*	男	4. 9.17	4. 9.23 9.30	6 13	TSH 7.8 μ U/ml 8.6 μ U/ml TSH 8.5 μ U/ml FT ₄ 1.0 ng/dl	クレチン症
	22*	男	4. 9.30	4.10. 5 10.18	5 18	TSH 8.2 μ U/ml 9.3 μ U/ml TSH 18.6 μ U/ml FT ₄ 1.6 ng/dl	クレチン症 (有機化障害か 合成障害)
	23	男	4.10.19	4.10.24 11. 2	5 14	TSH 10.3 μ U/ml 10.6 μ U/ml TSH 9.9 μ U/ml FT ₄ 1.4 ng/dl	一過性 高TSH血症の疑い
	24	男	4.11.16	4.11.21	5	TSH 35.1 μ U/ml 35.2 μ U/ml FT ₄ 1.6 ng/dl	一過性 高TSH血症の疑い
	25	女	4.11.19	4.11.25 12. 3	6 14	TSH 23.6 μ U/ml 22.4 μ U/ml TSH 20.6 μ U/ml FT ₄ 1.7 ng/dl	一過性 高TSH血症
	26*	女	4.12. 1	4.12. 7	6	TSH 80 μ U/ml 以上 FT ₄ 0.5 ng/dl	クレチン症

平成5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
	27	男	4.11.23	4.11.29 12.17	6 24	TSH 9.9 μ U/ml 12.8 μ U/ml TSH 17.5 μ U/ml FT ₄ 1.1 ng/dl	一過性 高TSH血症
	28*	女	4.12.10	4.12.16 12.22	6 12	TSH 9.4 μ U/ml 12.6 μ U/ml TSH 18.2 μ U/ml FT ₄ 1.2 ng/dl	クレチン症 (異所性 舌根部)
	29	男	5. 1.13	5. 1.18 1.23	5 10	TSH 9.1 μ U/ml TSH 9.0 μ U/ml FT ₄ 1.3 ng/dl	一過性 高TSH血症
	30	男	5. 1.24	5. 1.30 2. 8	6 15	TSH 8.7 μ U/ml 10.2 μ U/ml TSH 9.6 μ U/ml FT ₄ 1.4 ng/dl	一過性 高TSH血症の疑い
	31	男	5. 2.10	5. 2.16 2.19	6 9	TSH 12.6 μ U/ml 15.5 μ U/ml TSH 11.9 μ U/ml FT ₄ 2.5 ng/dl	一過性 高TSH血症
	32	男	5. 2.23	5. 3. 1 3. 9	6 14	TSH 12.0 μ U/ml 11.9 μ U/ml TSH 29.7 μ U/ml FT ₄ 1.3 ng/dl	一過性 高TSH血症の疑い
	33	男	5. 2.27	5. 3. 5 3.10	6 11	TSH 9.6 μ U/ml 10.3 μ U/ml TSH 13.1 μ U/ml FT ₄ 1.5 ng/dl	一過性 高TSH血症
副腎過形成症	34	男	4. 4. 2	4. 4.13 5. 6 5.11	11 34 39	17- OHP (直接法) 29.2 ng/ml 31.9 ng/ml (抽出法) 5.3 ng/ml 17- OHP (直接法) 37.6 ng/ml 48.7 ng/ml (抽出法) 13.1 ng/ml 17- OHP (直接法) 88.0 ng/ml以上 (抽出法) 44.2 ng/ml	敗血症で死亡 在胎週数 26週 生下時体重 932g
	35	女	4. 5.11	4. 5.15	4	17- OHP (直接法) 44.2 ng/ml以上 (抽出法) 11.7 ng/ml	正 常 在胎週数 37週 生下時体重 2422g
	36*	女	4. 5. 9	4. 5.15 5.21	6 12	17- OHP (直接法) 57.4 ng/ml (抽出法) 23.1 ng/ml 17- OHP (直接法) 45.7 ng/ml (抽出法) 44.6 ng/ml 11.8 ng/ml	21-水酸化酵素欠損症 (単純型) 在胎週数 39週 生下時体重 3368g
	37	男	4. 5.22	4. 5.27 6. 5	5 14	17- OHP (直接法) 88.0 ng/ml 73.0 ng/ml (抽出法) 6.0 ng/ml 17- OHP (直接法) 63.4 ng/ml 59.4 ng/ml (抽出法) 13.2 ng/ml	正 常 在胎週数 26週 生下時体重 968g

対 象 疾 患	症 例	性 別	生 年 月 日	採 血 月 日	日 令	検 査 成 績	精 査 結 果
	38	女	4. 6. 4	4. 6. 10 6. 19	6 15	17- OHP (直接法) 35.6 ng/ml 28.5 ng/ml (抽出法) 5.9 ng/ml 17- OHP (直接法) 45.7 ng/ml 49.2 ng/ml (抽出法) 7.6 ng/ml	正 常 在胎週数 29週 生下時体重 1006g
	39	女	4. 9. 11	4. 9. 16	5	17- OHP (直接法) 75.6 ng/ml 74.5 ng/ml (抽出法) 34.4 ng/ml	正 常 在胎週数 34週 生下時体重 3475g
	40	女	4. 9. 12	4. 9. 17	5	17- OHP (直接法) 75.6 ng/ml以上 (抽出法) 24.4 ng/ml	正 常 在胎週数 26週 生下時体重 892g
	41	女	4. 9. 12	4. 9. 17 10. 5	5 23	17- OHP (直接法) 75.6 ng/ml以上 (抽出法) 9.5 ng/ml 17- OHP (直接法) 75.6 ng/ml以上 (抽出法) 12.2 ng/ml	正 常 在胎週数 25週 生下時体重 931g
	42	男	4. 9. 29	4. 10. 6	7	17- OHP (直接法) 75.6 ng/ml以上 (抽出法) 39.7 ng/ml	経過観察中 在胎週数 25週 生下時体重 752g
	43	女	4. 9. 29	4. 10. 6	7	17- OHP (直接法) 75.6 ng/ml以上 (抽出法) 26.3 ng/ml	経過観察中 在胎週数 25週 生下時体重 710g
	44	男	4. 10. 8	4. 10. 13	5	17- OHP (直接法) 75.6 ng/ml以上 (抽出法) 31.0 ng/ml	死 亡 在胎週数 25週 生下時体重 732g
	45	男	4. 10. 22	4. 10. 28	6	17- OHP (直接法) 62.8 ng/ml 56.3 ng/ml (抽出法) 13.6 ng/ml	死 亡 在胎週数 23週 生下時体重 750g
	46	女	4. 10. 31	4. 11. 6	6	17- OHP (直接法) 30.4 ng/ml 26.2 ng/ml (抽出法) 11.3 ng/ml	正 常 在胎週数 39週 生下時体重 2587g
	47	男	4. 11. 7	4. 11. 13	6	17- OHP (直接法) 32.4 ng/ml 37.5 ng/ml (抽出法) 16.7 ng/ml	正 常 在胎週数 40週 生下時体重 3672g
	48	女	4. 11. 25	4. 11. 30 12. 7	5 12	17- OHP (直接法) 29.7 ng/ml 28.6 ng/ml (抽出法) 8.0 ng/ml 17- OHP (直接法) 31.7 ng/ml 28.0 ng/ml (抽出法) 9.0 ng/ml	経過観察中 在胎週数 29週 生下時体重 1258g
	49	男	4. 12. 6	4. 12. 14	8	17- OHP (直接法) 75.6 ng/ml以上 (抽出法) 23.8 ng/ml	経過観察中 在胎週数 28週 生下時体重 1278g

平成5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
	50	男	4.12.12	4.12.18 12.24	6 12	17- OHP (直接法) 50.3 ng/ml 38.7 ng/ml (抽出法) 4.5 ng/ml 17- OHP (直接法) 75.6 ng/ml以上 (抽出法) 13.7 ng/ml	正 常 在胎週数 30週 生下時体重 1338g
	51	男	5. 1.14	5. 1.19 1.26	5 12	17- OHP (直接法) 22.8 ng/ml 23.4 ng/ml (抽出法) 7.7 ng/ml 17- OHP (直接法) 32.7 ng/ml 32.4 ng/ml (抽出法) 7.9 ng/ml	経過観察中 在胎週数 34週 生下時体重 2181g
	52	男	5. 1.14	5. 1.25 2. 1	11 15	17- OHP (直接法) 14.4 ng/ml 17- OHP (直接法) 57.2 ng/ml 49.1 ng/ml (抽出法) 15.3 ng/ml	経過観察中 在胎週数 28週 生下時体重 1344g
	53	女	5. 2. 8	5. 2.22 3. 2	14 22	17- OHP (直接法) 27.5 ng/ml 31.3 ng/ml (抽出法) 8.5 ng/ml 17- OHP (直接法) 58.4 ng/ml 57.7 ng/ml (抽出法) 18.7 ng/ml	経過観察中 在胎週数 30週 生下時体重 1322g
	54	男	5. 2.19	5. 2.24 3. 7	5 16	17- OHP (直接法) 37.8 ng/ml 34.2 ng/ml (抽出法) 3.6 ng/ml 17- OHP (直接法) 32.7 ng/ml 30.6 ng/ml (抽出法) 7.2 ng/ml	経過観察中 在胎週数 42週 生下時体重 3032g
	55	男	5. 3.18	5. 3.23 3.29	5 11	17- OHP (直接法) 35.4 ng/ml 33.0 ng/ml (抽出法) 4.0 ng/ml 17- OHP (直接法) 52.6 ng/ml 46.8 ng/ml (抽出法) 11.8 ng/ml	正 常 在胎週数 30週 生下時体重 1736g

表6. マススクリーニングによる全国および富山県の患者発見状況

区 分	全 国		富 山 県					
実 施 人 数 (施 期 間)	19,902,039 人 (S52.4～H4.3)		176,118 人 (S52.10～H4.3)		10,577 人 (H4.4～H5.3)		186,695 人 (S52.10～H5.3)	
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	252	1 / 79,000	4	1/ 44,000	0		4	1/ 46,700
ホモシスチン尿症	114	1 / 174,600	0		0		0	
ヒスチジン血症	2,177	1 / 9,100	33	1/ 5,300	0		33	1/ 5,700
メイプルシロップ尿症	48	1 / 414,600	1	1/ 176,100	0		1	1/ 186,700
ガラクトース血症	461	1 / 43,200	0		0		0	
そ の 他	226	1 / 88,100	6	1/ 29,400	0		6	1/ 31,100
計	3,278	1 / 6,100	44	1/ 4,000	0		44	1/ 4,200
実 施 人 数 (施 期 間)	16,572,311 人 (S54.4～H4.3)		147,668 人 (S55.4～H4.3)		10,577 人 (H4.4～H5.3)		158,245 人 (S55.4～H5.3)	
クレチン症	2,792	1 / 5,900	36	1/ 4,100	5	1/ 1,800	42	1/ 3,800
実 施 人 数 (施 期 間)	3,817,498 人 (S63.4～H4.3)		32,233 人 (H1.4～H4.3)		10,577 人 (H4.4～H5.3)		42,810 人 (H1.4～H5.3)	
先天性副腎過形成症	250	1/ 15,300	5	1/ 6,500	1	1/ 10,800	6	1/ 7,100

とのことであった。なお、症例4は前子(S63. 6. 25生)もヒスチジン血症(治療の必要無)であった。

症例8～33は、いずれもクレチン症の検査でTSH高値のため、要精密検査となったものである。クレチン症と診断されたのは、症例12, 18, 21, 22, 26および28であった。このうち、症例12, 21, 22および28は、TSHが比較的低値で発見されている患児であるが、いずれも1か月近くたってから徐々に高くなった例である。また、症例19は、低出生体重児(1,723g)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。症例13と23は里帰り分娩のため県外転出し、その後追跡不能になった例である。

症例34～55は、副腎過形成症の疑いで精密検査を要した例である。症例36は、初回検体の採血時(日令6日)体重は3,108g(生下時より260g減)で体重増加不良があり、初回検査の抽出法結果連絡時(日令14日)には臃形成無(男性化)、色素沈着が認められるとのことで、単純型21-水酸化酵素欠損

症と診断され、直ちに治療開始された。要精検となった22人のうち、2,000g以下の低出生体重児は15人であった。

全国及び富山県の患者発見状況は表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1/4,200、クレチン症が1/3,800、副腎過形成症が1/7,100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; $P<0.01$)。

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。

平成5年9月1日

文 献

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

林 美貴子 本田 幸子 柏樹 久雄

Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells

Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA
and Hisao KASHIWAGI

要 旨 平成4年度の染色体検査件数は血液86件と骨髓液9件の95件(91人)で、うち染色体異常は血液10件と骨髓液3件の13件(12人)であった。検査受付時の依頼理由は反復流産が41人と最も多く、続いて先天異常児の家族、胎児異常の疑い(胎児血液)、白血病等血液疾患のためが主なものであった。発見された染色体異常の内訳は、ダウン症候群3人、18トリソミー症候群1人、ターナー症候群1人、均衡転座保因者1人と白血病M7、急性白血病、等7件(6人)の計13件(12人)であった。

また、昭和48年度から平成4年度までに検査を行った983件(955人)中、953件(931人)が検査可能であり、そのうち175人に染色体異常がみられ、その異常率は18.8%であった(実人数)。その主なものはダウン症候群(21トリソミー)94人、次いで、ターナー症候群16人、18トリソミー症候群10人などであった。

ヒト染色体に関する研究は細胞遺伝学の進歩、種々の分染法の開発や普及にともない、急激に発展し、染色体分析の精度も向上してきた。現在、染色体検査は先天異常児、流産を繰り返す夫婦、白血病等の血液疾患、悪性腫瘍等の診断、ハイリスク妊婦の羊水検査や流産の原因検索、等の目的で行われている現状である。

一般に、新生児集団の約0.6%が何らかの染色体異常をもつことが報告されている[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約1万人であることから、単純に計算すると約60人の染色体異常児が毎年生まれ、それが年々加算されていくことになる。このことは、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かなり多いと思われる。

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

ここに、平成4年度の血液と骨髓液の染色体検査の内容とともに過去20年間に検査を行った983件の検査内容についても報告する。

実 施 方 法

平成4年度の染色体依頼検査件数は血液86件、骨髓液9件の計95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。

検査方法は通常の方法[3]にしたがったが、そ

平成5年9月1日

表1. 検査依頼病院内訳 (昭和48~平成4年度)

県別	病院名	年 度	
		4	48~4
県内	県立中央病院	46	471 (5) *
	富山赤十字病院	22 (9) *	179 (33) *
	高志学園	5	78
	富山市民病院		74
	富山医科薬科大学	18	45
	厚生連高岡病院		18
	富山保健所		17
	砺波総合病院	2	9
	済生会富山病院		6
	富山通信病院		6
	国立富山病院		6
	社会保険高岡病院		2
	黒部市民病院	1	2
	済生会高岡病院		1
	小杉保健所		1
	他		19
小計 (件)		95 (9) *	933 (38) *
県外	国立金沢病院		43
	福井愛育病院		4
	他		2
小計 (件)			49
計 (件)		95 (9) *	983 (38) *

() * : 骨髓液

の概要は以下のとおりである。

1. 血液 (普通)

①培養: 末梢血液 3~5 ml をヘパリン採血し, 培養瓶に血液 1 ml, 培養液 10 ml (20% 牛胎児血清加 RPMI1640) と PHA-P0.1 ml を添加し, 37℃ のふ卵器にて 2~3 日間培養した。

②コルセミド処理: 培養終了 2 時間前にコルセミド 0.02 μ g/ml, 臭化エチジウム 20 μ g/ml 添加し, 軽くふって, さらに 2 時間培養した (この段階まで無菌操作)。

③細胞の収穫: 培養瓶からスピッツ管に移し, 遠心分離 (1000rpm, 5 分) し, 沈渣を約 2 ml 残し, 上清を除去した。

④低張処理: 低張液 (0.075M 塩化カリウム 3 : 0.9 % クエン酸ナトリウム 1) を 20~30 ml 添加, 攪拌し, 37℃ で 25 分間放置した。遠心分離 (1000rpm, 5 分) し, 沈渣を約 2 ml 残し, 上清を除去した。

⑤固定処理: カルノア液 (メタノール 3 : 酢酸 1) を添加, 攪拌し, 10~20 分間放置した。遠心分離 (1000rpm, 5 分) し, 沈渣を約 2 ml 残し, 上清を除去した。固定液を添加し, 遠心分離する操作を 2~3 回繰り返した。

⑥標本の作製: 沈渣 (細胞) に固定液を 1~5 ml 添加し, 細胞懸濁液を作製し, スライドガラス (-20℃ に保存) 上に 1~2 滴滴下し, 湯気の上っている湯煎器 (65℃) 上で 1~3 分間乾燥した (蒸気乾燥法) [4]。

⑦染色: 染色体標本 (プレパラート) は 1~3 日間室内乾燥した後, G-1 分染を行った (0.05mg/ml トリプシン液 pH6.8 に 1~5 秒間→水洗→5% ギムザ液 15 分間→水洗→乾燥)。その他, 必要に応じて, C-, Q-, R-1 分染等を行った。

⑧鏡検・分析: 顕微鏡観察し, 1 検体について 20 個以上の中期分裂像を写真撮影し, 5 枚以上の写真を核型分析した。モザイクの場合は 100 個以上の中期分裂像を観察または写真撮影をした。

⑨結果判定: 報告。

2. 血液 (脆弱 X 染色体)

①培養: 末梢血液 3~5 ml をヘパリン採血し, 培養瓶に血液 1 ml 弱, 培養液 10 ml (15% 牛胎児血清加 199) と PHA-P0.1 ml を添加し, 37℃ にて 3~4 日間培養した。

②メトトレキセート処理: 培養終了 24 時間前にメトトレキセートを 0.2mg/10ml 添加した。この処理は行うものと行わないものに分けた。

③コルセミド処理: 培養終了 2 時間前にコルセミドを 0.02 μ g/ml 添加した。

以下は前記 (1. 血液 (普通)) の③~⑨のとおりであるが, さらに 100 個の中期分裂像で脆弱 X の有無を観察し, 判定した。

3. 血液（白血病）

I法：前記（1. 血液（普通））のとおりに（PHA添加培養）。

II法：末梢血液3～5mlをへパリン採血し、血液1mlに対して培養液10ml（20%牛胎児血清加RPMI 1640）を添加し、37℃にて2～3日間培養した（PHA無添加培養）。以下はI. のとおり。

4. 骨髓液

①培養：骨髓液0.3～1mlをへパリン採血し、骨髓液0.3mlに対して培養液10ml（20%牛胎児血清加RPMI1640）を添加し、37℃にて1～2日間培養した（PHA無添加培養）。

以下は前記（1. 血液（普通））のとおりにであるが、低張処理は30～50分間と長くした。

結 果

昭和48年度より平成4年度までの血液、骨髓液の染色体検査受付状況について、表2に示した。

平成4年度は血液86件、骨髓液9件の計95件であったが、白血病等のため、4人が1～3か月後に再検査を行ったため血液、骨髓液の両方に重複し、実人数は91人になり、過去20年間で最高に検査数が多かった。また、昭和48年度よりの合計件数は血液945件、骨髓液38件の計983件になったが、重複分を除くと、実人数は血液922人、骨髓液33人の計955人であった。

表2. 検査受付状況（昭和48～平成4年度）

年度	血 液			骨 髄 液		
	受付数	不能数*	異常数**	受付数	不能数*	異常数**
昭和48	26	1	5			
49	40		10			
50	20	2	9			
51	53		13	1		1
52	50	2	6			
53	55	3	10			
54	46	1	9			
55	51	2	11			
56	49	1	9			
57	60	2	12	1	1	
58	47	2	16	1	1	
59	37	1	8	1		1
60	32		2			
61	33	1	5	2		1
62	39	1	9			
63	49	2	7	7	2	1
平成元	40	1	7	3	1	
2	60		7	9	2	1
3	52		2	4		
4	86	1	10	9		3
計（件）	945	23	172	38	7	8

* 染色体分析不能数

** 染色体異常有数

数は91人になり、過去20年間で最高に検査数が多かった。また、昭和48年度よりの合計件数は血液945件、骨髓液38件の計983件になったが、重複分を除くと、実人数は血液922人、骨髓液33人の計955人であった。

平成4年度の検査受付時の依頼理由と染色体異常の有無等について表3に示した。血液では、反復流産が41人と最も多く、次いで、先天異常児の家族11人、胎児異常の疑い8人、白血病等7人、ダウン症候群の疑い4人等であった。骨髓液では急性リンパ性白血病、慢性リンパ性白血病等であった。

染色体異常は、ダウン症候群3人（モザイク1人）、

表3. 染色体検査内容（平成4年度）

依頼理由	検査数	判定数	異常数
血液	86	85	10

内訳			
反復流産	41	41	0
先天異常児の家族	11	11	1
胎児異常の疑い（胎児血）	8	8	0
白血病等	7	7	4
ダウン症候群の疑い	4	4	3
先天奇形	3	3	1
精神運動発育遅延	3	3	0
半陰陽	3	2	0
原発性無月経	2	2	1
生理不順等	2	2	0
肛門部腫瘍をもつ	2	2	0

骨髓液	9	9	3

内訳			
白血病	2	2	2
不応性貧血	2	2	1
多発性骨髄腫	2	2	0
その他	3	3	0

計（件）	95	94	13

表4. 染色体異常の内訳 (平成4年度)

症例	疾患名	核型	主要症状等
血液			
1.	ダウン症候群	47,XY,+21	肺動脈閉鎖症,エカナス,鞍鼻,鼻根扁平,第5指内弯
2.	ダウン症候群	47,XY,+21	エカナス,鞍鼻,鼻根扁平,巨大舌,心奇形等
3.	ダウン症候群	46,XX,inv(9)/47,XX,inv(9),+21	エカナス,鞍鼻,鼻根扁平等
4.	18トリソミー 症候群	47,XX,+18	脊椎破裂,臍帯ヘルニア,外陰下裂,心奇形,鎖肛等
5.	ターナー症候群	45,X/46,XX,dic(X)(pter→q24::q24→pter)	低身長(143cm,45kg),原発性無月経,知能正常
6.	均衡転座保因者	46,XY,t(5;16)(p13;p13)	遺伝相談(流産胎児が猫なき症候群であったため)
7.	白血病M7	+Ph ⁺ ,+M*(巨大マ-カ染色体) (PHA-培養)	症例11.と同一人
8.	急性白血病	46,XX/47,XX,t(1;9;22),+Ph ⁺ 等(PHA-培養)	全身倦怠,3か月後正常核型(寛解)
9.	急性リンパ性白血病	45,XX,+M*/46,XX等 (PHA-培養)	微熱,貧血
10.	多発性骨髄腫	46,XX/47,XX,+M* (PHA+培養)	貧血,3か月後正常核型

骨髄液			
11.	白血病M7	+Ph ⁺ ,+M*(巨大マ-カ染色体) (PHA-培養)	症例7.と同一人
12.	慢性リンパ性白血病	46,X,+M* (PHA-培養)	全身倦怠,1か月後血液検査で正常核型
13.	不良性貧血	46,XY/47,XY,+M* (PHA-培養)	

M* : マーカ-染色体 (由来不明染色体)

18トリソミー症候群1人, 転座型保因者1人, モザイク型ターナー症候群1人と白血病等による7件(6人)の13件(12人)であった(表4)。

依頼理由のうちで, 最も多かった反復流産のために検査を行った41人(20組夫婦+夫1人)中に染色体異常は発見されなかった。そのため, 当所で過去に同じ理由で検査を行った171人中8人に染色体異常が発見されたことになり, その異常率は4.7%になった。

先天異常児の家族の中で発見された均衡転座保因者は, 流産胎児が猫なき症候群(5p-)の核型を示したため, 両親の検査を行ったところ, 父親が46,XY,t(5;16)(p13;p13)の均衡転座保因者であった(図1)[5]。

胎児異常の疑い8人は, 羊水過多症3人, 子宮内胎児発育不全3人, 胎児水腫1人と胎児奇形の疑い

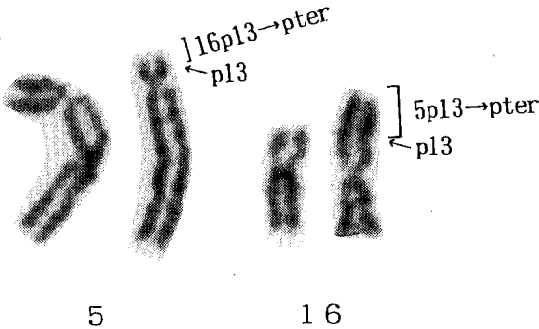


図1. 症例6の部分核型

46,XY,t(5;16)(p13;p13)

1人であった。妊娠週数は21週から36週であり、羊水検査では結果が遅くなるため、妊娠の積極的継続あるいは帝王切開の有無等のため、胎児血液からの検査に踏み切ったものであった。胎児血液は普通の末梢血液と同様に検査でき、培養時間を48時間にするにより、約1週間以内に検査結果を報告することができた。胎児血液を使った出生前診断は羊水検査よりも早く結果がでるという利点があるが、母体血液の混入が8人中2人でみられたことから（胎児の性別と血液組成で判定）、偽陰性または偽陽性の可能性があるという欠点もある。

白血病等16件（血液7件+骨髓液9件）のうち、7件（6人）に染色体異常が観察された。症例7（症例11）は白血病M7と診断された78歳男性で、骨髓液の検査では染色体数が低2倍体性（43本）と低4倍体性の細胞が多かったが、いずれの細胞にもPh¹染色体と大型のマーカー染色体が観察された。約1か月後に行った血液の検査でPHA無添加培養では染色体数が43本の細胞がほとんどで、主な核型は下記のとおりである（図3）。

43, XY, +A, -2B, -3C, -4E, +F, +2G, +Ph¹, +M
43, XY, +A, -2B, -6C, -2D, +4G, +Ph¹, +M
43, XY, -2B, -C, -5E, +F, +2G, +Ph¹, +M

一方、PHA添加培養ではほとんどの細胞が正常核型を示した。この例では、染色体異常のある中期分裂像の染色体はけばだてきたなく、正確な核型を判定することは不可能であった。そのため、顕微鏡下で観察すると異常のある細胞と正常細胞は低倍率の状態でも区別できた。

症例8は全身倦怠を訴え、急性白血病と診断された50歳女性で、血液の検査では46, XX/46, XX, t(1;9:22)(q23;q24;q11)/47, XX, t(1;9:22), +Ph¹(22/75/3)の複雑な核型を示した（図2）が、寛解したため3か月後に骨髓液で検査した結果、正常核型を示した。

症例9は発熱が続き、頸部リンパ節腫張、貧血が認められ、白血球数30万個（白血病細胞92%）であり、急性リンパ性白血病と診断された8歳女児で、血液による検査の結果、46, XX/46, XX, -22, +M/45, XX, -20, -22, +M等の複雑な核型を示した。

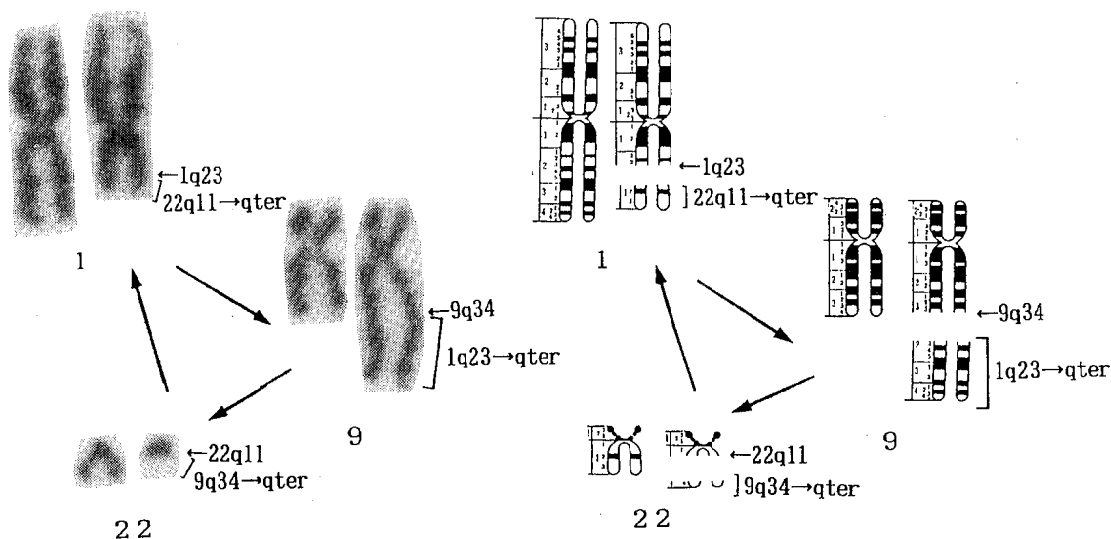


図2. 症例8の部分核型と切断点の模式図

46, XX, t(1;9:22)(q23;q34;q11)

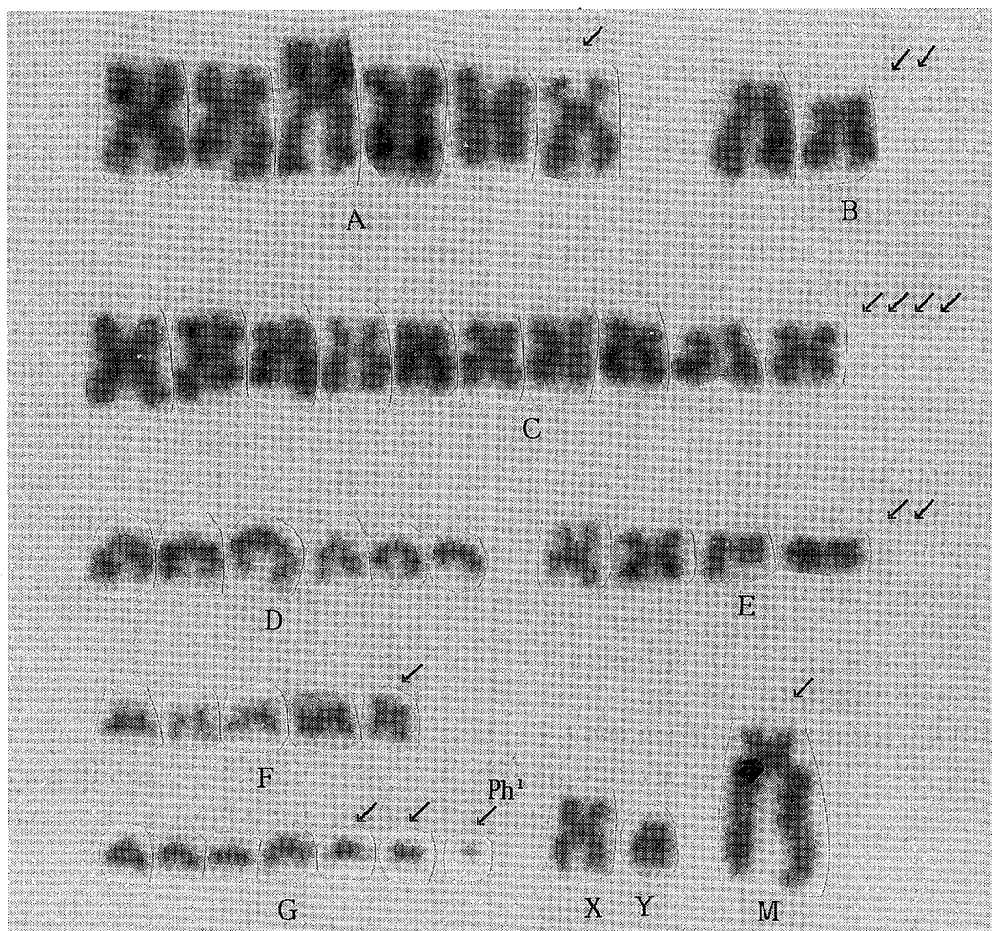


図3. 症例11の核型 (矢印: 過不足染色体)

43, XY, +A, -2B, -4C, -2E, +F, +2G, +Ph¹, +M

症例10は多発性骨髄腫の72歳女性で、血液の検査で46, XX/47, XX, +Mの核型を示したが、3か月後の骨髄液による検査では正常核型を示した。

症例12は全身倦怠を訴え、白血球数5.5万個であった慢性白血病の75歳男性で、骨髄液の検査では、46, X, +Mの核型を示したが、1か月後の血液の検査ではPHA添加培養で正常核型を示した。

症例13は不良性貧血の31歳男性で、46, XX/47, X X, +Mの核型を示した。

ダウン症候群の疑い4人のうち、2人(症例1,

2)がトリソミー型、1人(症例3)がモザイク型の21トリソミーであった。その主な症状については表4に示したとおりである。モザイク型の1例には9番染色体の正常逆位もあり、モザイクの割合は5:5であった。残る1例については、両眼隔離、エピカンサス、鞍鼻、鼻根扁平、巨大舌、頸部翼状皺、心奇形等が認められたが、染色体に異常は認められなかった。

先天奇形3人のうち1人が47, XX, +18の18トリソミー症候群であった。この症例4は26歳の母から

36週で早産し、脊椎破裂、臍帯ヘルニア、外陰下裂、猿線、心奇形（心室中核欠損、肺動脈弁狭窄症）、鎖肛の特殊型等が認められた。他はくも膜嚢胞、脳梁欠損等を示した1人と、嘔吐、筋緊張亢進、外表奇形等を示した1人であった。

精神運動発育遅延等の理由で検査を行った3人は、いずれも染色体異常はみられず、脆弱X染色体検査も同時に行ったが、脆弱X (Fra (X)) 染色体も検出されなかった。

半陰陽3人のうち1人は細菌汚染により検査不能であった。残る2人にはいずれも染色体異常はみられなかった。

原発性無月経を主訴とした2人のうち1人は、45, X/46, X, dic(X)(pter→q24::q24→pter) (50/50) のモザイク型ターナー症候群であった（図4）。この症例5は16歳女性、低身長（143cm）、体重（45kg）、原発性無月経、下垂体ホルモン検査では卵巣形成障害が疑われたが、他のターナー症候群としての特徴はみられず、知能も正常であった。

他に生理不順、女性化乳房、肛門部に腫瘍をもつために検査をうけた例には、いずれも染色体異常はみられなかった。

表5に昭和48年度から平成4年度までに検査を行った955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931人中175人に染色体異常（異常率18.8%）がみられた。染色体異常の内訳については、表6に常染色体異常の内訳（異常率17.3%）、および表7に性染色体異常の内訳（異常率28.3%）を示した。常染色体異常ではダウン症候群が最も多く63.1%（94/149）をしめ、以下、18トリソミー症候群6.7%（10/149）、13トリソミー症候群等2.7%（4/149）、均衡転座保因者があわせて11.4%（17/149）とその他が16.1%であった。一方、性染色体異常ではターナー症候群66.7%（16/25）、クラインフェルター症候群23.1%（6/25）等であった。ターナー症候群の疑い68人中16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8にまとめた。

考 察

今年度受付けた95件のうち94件が検査が可能で、うち13件（12）人が染色体異常であり、単純に異常

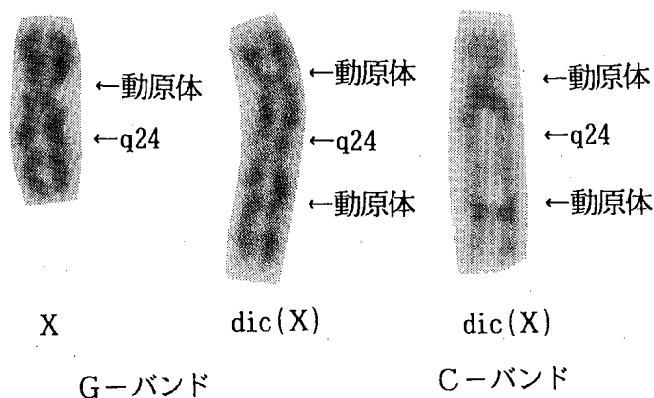


図4. 症例5の部分核型

45, X/46, X, dic(X) (pter→q24::q24→pter)

平成5年9月1日

表5. 染色体検査結果一覧(実人数*) (昭和48～平成4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	136	135	8	
その他の先天異常者の家族	80	80	0	
反復流産	171	171	8	
ダウン(21トリソミー)症候群の疑い	119	117	94	
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	10	10	10
	他の奇形症候群の疑い	90	86	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	48	48	1	2
胎児異常の疑い	8	8	0	
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	35	32	5	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	68	68	16	4
半陰陽	13	10	3	
他の性染色体異常の疑い	3	3	0	
その他	125	119	2	1
小計	922	903	167	8
骨髄液				
白血病等	33	28	8	
計(人)	955	931	175	8

実人数* : 白血病等の理由による再検査は除く

その他* : 9番染色体逆位保因者、睾丸性女性化症候群

表6. 常染色体異常と主な核型

疾患名	人数	主な核型
ダウン症候群	94	
(トリソミー型 89)		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	10	
(トリソミー型 9)		47,XY,+18 47,XX,+18
(転座型 1)		46,XX,-18,+iso psu dic(18) (p113)
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-)	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	17	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	138	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)	149	

(149人 / 863人 異常率17.3%)

表7. 性染色体異常と主な核型

疾患名	人数	主な核型
クラインフェルター症候群	6	
(トリソミー型 5)	47,XXY	
(モザイク型 1)	46,XY/47,XXY	
ターナー症候群	16	
(モノソミー型 5)	45,X	
(モザイク型 11)	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)	26	

(26人/92人 異常率28.3%)

表8. ターナー症候群16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,dic(X) (pter →q24::q24→pter)	1例
45,X/46,X,+mar (由来不明の小型染色体)	1例
45,X/46,X,+mar (由来不明の大型染色体)	1例

率を計算すると13.8%であった。

昨年度にひき続き、依頼理由として最も多かったのは反復流産夫婦であり、41人検査を行ったが、染色体異常は発見されなかった。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

171人中8人(4.7%)、81組の夫婦中8組(9.9%)に均衡転座保因者が発見されたことになった。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%の範囲であった[6~8]。しかし、今年度検査を行った41人中2人に47,XXX, 48,XXX, 47,XX,+M等の細胞がわずかながら、観察され、再検査を行っても同様であったため、培養上の二時産物の可能性もあるが、流産との関連性も否定できないと考えられた。

しかし、上記の2人を除き、さらに5人に全分析中の1~2個の細胞に47,XX,+17, 47,XX,+M等が観察され、これは培養上の二時産物か、もともと体細胞中にあるのか、あるいは体内に腫瘍をもったためかは断定できなかった。また、流産防止処置を施している患者血液の検査で神経芽細胞腫などにみられるDMs染色体が観察された(図5)。この胎児は羊水検査の結果、21トリソミーであった[5]。

白血病またはその疑いの依頼、特に骨髓液の検査依頼が年々増加する傾向にあるが、今年度も血液では7件、骨髓液では9件と多かった。また、異常率も高かった。



図5. 妊娠中女性に観察されたDM_s染色体 (矢印)

今年度、初めて出生前診断を目的とする胎児血液の染色体検査を行った。これは、胎児異常が疑われるが、羊水による検査には妊娠週数が進み過ぎているなどの理由のため、積極的に延命を行う必要があるか、あるいは出産方法の選択等の問題に対応するために行われた。胎児血液では検査結果がほぼ1週間以内にでるという長所はあるが、母体血液の混入の可能性という問題もあった。

当所で20年間に検査した955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931人中175人に染色体異常が認められ、その異常率は18.8%であった。これは検査対象者の約5.5人に1人は何らかの染色体異常を有していたことになった。また、常染色体異常の疑い863人中149人17.3%(表6)、性染色体異常の疑い92人中26人

28.3%(表7)に染色体異常がみられた。

染色体検査結果は、特に染色体異常がある場合、患者、家族に大きな影響をあたえるため、検査には細心の注意を払わなければならない。そのため、検査担当者は分析の重要性を十分に理解するとともに、精度の高い技術を修得し、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一層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依頼病院と保健所の関係の方々に深く感謝いたします。

平成5年9月1日

文 献

1. 前田 徹 (1988). 慶応医学, 65 (5), 649-655.
2. 美甘和哉 (1978). 染色体異常, 外村晶編, 196-197, 朝倉書店, 東京.
3. 林美貴子, 本田幸子, 山崎茂一, 佐藤茂秋 (1989). 富山衛研年報, 12, 46-59.
4. 福岡義光, 井上信夫 (1984). 臨床検査, 28, 760-770.
5. 本田幸子, 林美貴子, 柏樹久雄 (1993). 富山衛研年報, 16, 56-61.
6. Diedrich, U., I. Hansmann, D. Janke, O. Opitz, H. D. Probeck (1983). Hum. Genet., 65, 24-52.
7. Bourrouillou, G., 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・流産胎児 —

本田 幸子 林 美貴子 柏 樹久雄

Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells
and Fetal CellsSachiko HONDA, Mikiko HAYASHI
and Hisao KASHIWAGI

要 旨 平成4年度の羊水および自然流産胎児の染色体の検査は、受付件数が羊水41件、流産胎児10件で、昭和49年度から併せると、羊水569件、流産胎児53件となった。検査の結果、今年度は染色体異常が羊水と流産胎児にそれぞれ2件、および5件みられ、その核型は、前者が47, XY, +21: 46, XX, t(2;17)(p23;q25), 後者が46, XX, del(5)(p13)? : 47, XX, +21: 45, X: 47, XX, +16: 46, XX, t(15/D)であった。羊水では、全年度で18件の異常がみられ、流産胎児では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、羊水では高齢妊娠、流産胎児では流早産を繰り返すため、等が多かった。

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

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

ここに平成4年度の羊水、流産胎児の検査結果とともに昭和49年度からの結果をまとめ報告する。

実 施 方 法

1. 羊 水

昭和50年1月(49年度)より平成5年3月(平成4年度)までに検査依頼のあった病院名および依頼検査件数は表1に示した。

染色体標本作成法はそのつど改良を加えてきてい

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

昭和50年度より平成4年度までに検査依頼のあった病院名および依頼検査件数は表1に示すとおりである。

平成5年9月1日

表1. 検体区分(昭和49～平成4年度)

県	病 院	羊 水		流産胎児	
		平 4	昭49～平4	平 4	昭49～平4
富山県	県立中央病院	2	70		10
	富山医科大学	9	51	7	15
	富山赤十字病院	5	44		
	厚生連高岡病院	3	23		6
	富山市民病院	2	14		
	富山通信病院	1	6		1
	黒部市民病院	3	5	1	1
	矢後産婦人科クリニック	2	4	1	1
	細川産婦人科クリニック	4	4		
	あわの産婦人科医院	2	4		
	氷見市民病院	1	2		
	菅田産婦人科医院			1	1
	その他		41		10
	小 計 (件)	34	268	10	45
石川県	珠洲総合病院	1	8		
	その他		263		4
	小 計 (件)	1	271		4
福井県	福井愛育病院	3	16		
	春日クリニック	1	2		
	その他		8		4
	小 計 (件)	4	26		4
新潟県	糸魚川病院	2	4		
	小 計 (件)	2	4		
計 (件)		41	569	10	53

表2. 染色体標本作成法(羊水)

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

び胎児の付属物として、絨毛、羊膜等の組織であった。これらは、大きさによりハサミで細切し、シャーレ (Plastic petri dish 35×10mm) の上に並べ、培養液を添加し、培養を行った。小さな組織片はピペットで攪拌し、細胞懸濁液を作り、それをシャーレに分注し、同様に培養した。培養液はEagle MEM・20%牛胎児血清を用い、炭酸ガス培養を行った。倒立顕微鏡下で細胞の増殖状況を観察しながら、適当な時期に培養液の交換を行った。以下は羊水細胞と同様の方法で標本作成を行い、染色体分析を行った。

結果および考察

1. 羊 水

今年度依頼された検体は、ほとんどが富山県の公立病院 (表1) からで、受付件数は41件 (受付総件数: 569件) であった。今年度はそのうち40件が染

色体分析可能であった。表3に年度別の受付件数、染色体異常数等の検査状況を示した。この染色体分析不能の原因は、主に検体採取時の羊水量および細胞の不足や、検体採取の注射器のガス滅菌による細胞の死滅等が考えられた。今年度の分析不能1件の原因は、妊娠36週の羊水のため、細胞がほとんど死滅していたためであった。

平成4年度および検査開始時から平成4年度までの検査依頼理由 (主訴) とその検査結果は表4に示したが、今年度は下記の染色体異常2件がみられた。

症例A: 検査依頼の理由は、羊水過多症で、今回が初めての妊娠、母親年齢39歳、検体採取時、妊娠26週であった。核型分析の結果、47, XY, +21のダウン症候群と判明した。

症例B: 第1子が染色体異常 (46, XY, +17q?) であり、父親が転座型染色体保因者の疑いのための検査依頼であった。母親年齢は31歳、妊娠4か月の羊水検査の結果、核型は46, XX, t(2;17)(p23q25)

表.3 検査状況 (昭和49～平成4年度)

年度	受付数		分析不能数		分析数		異常数	
	羊水	胎児	羊水	胎児	羊水	胎児	羊水	胎児
昭和49	1		0		1		1	
50	5	3	2	1	3	2	0	
51	8	4	0	2	8	2	0	
52	1	2	1	1	0	1	0	1
53	10	1	1		9	1	1	1
54	15	1	1	1	14		2	
55	16		2		14		0	
56	23	7	5	1	18	6	3 (1)	5
57	32	2	6	1	26	1	1	
58	26	1	4		22	1	0	
59	37	2	1	1	36	1	1	1
60	66	1	2		64	1	0	
61	59	2	3	1	56	1	1	
62	40	1	1		39	1	0 (1)	
63	65	3	8	2	57	1	0	1
平成元	48	7	3	2	45	5	4 (2)	
2	43	1	0		43	1	1	1
3	33	5	1		32	5	1	1
4	41	10	1	2	40	8	2	5
計 (件)	569	53	42	15	527	38	18 (4)	16

() モザイク等

表4. 羊水検査の依頼理由とその結果 (昭和49～平成4年度)

理 由 (主 訴)	昭和49～平成4年度				平成4年度				染色体異常の核型
	受 付 検査数	判 定 可能数	異常数	受 付 検査数	判 定 可能数	異常数			
高齢妊娠	280	266	1(3*)	17	17	1*	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), 47, XY, +21 69, XXX, 46, XX, t(5;6) (q31p23) (46, XX/47, XX, +2)		
羊水過多症	25	23	4	5	4				
流産、死産歴がある	13	11	2	1	1				
近親交配によるもの疑い	16	15	(1*)	1	1				
近親結婚歴がある	4	3							
胎児にダウン症や障害児がいる	4	4							
トキソプラズマ感染の疑い	4	4							
風疹に感染スズメ症の疑い	2	2							
本人の強い希望	3	3							
本人の他	6	4		1	1				
不明	12	8							
親が染色体異常を保有									
転座型	5	5	2				45, XY, t(14q21q)、46, XY, -D, +t(DqGq) 45, XX, t(13q15q) 2件 46, XX, inv(3)		
D/G	3	3	2						
D/D	2	1	1						
inv 3	1	1							
3/4	1	1							
7/14	1	1							
2/17	1	1	1	1	1	1*	46, XX, t(2;17) (p23;q25)		
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									
ダウン症 (トリソミー型)	103	98	3	3	3		47, XX, +G 2件、47, XY, +E		
18トリソミー (転座型)	1	1							
その他	6	6		1	1				
胎児異常の疑い	9	9							
無胎児	4	4							
胎児水腫	7	6	1	2	2		45, X		
胎児水腫	4	3							
血友病	2	2	1				47, XX, +21		
胎児リンパ管腫	2	2							
胎児リンパ管腫	22	19		2	2				
その他 (奇形 等)									
前子が異常 (染色体異常を除く)									
代償性ミトコンドリア病	4	2							
胎児ミトコンドリア病	3	2							
その他 (奇形 等)	24	22		7	7				
計 (件)	569	527	18(4*)	41	40	2			

(*) : モザイク等、 A B : 症例 A、B

と判明した。結局、児の核型は父親と同じ核型の相互転座染色体保因者と推定された。

49年度からの異常症例の詳細は既報〔1～6〕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17件あり、受付件数の41%にあたる。その年齢は30歳から42歳で、49年度からの年齢分布では、36歳から38歳が一番多くなっている。母親の加齢と共に異常の出産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18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5件が高齢妊娠（35歳以上）であった。特に40歳を越えると、染色体異常は約5%にもなるといわれている〔7〕。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た。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。にもかかわらず今年度、30歳で高齢妊娠という依頼や、34歳以下の依頼がかなりあること、また、症例Bのように高齢でありながら、他の理由で検査をし、偶然、異常が判明したが、時期が遅れていた、等の問題もあった。

依頼理由で次に多いのは、前子が染色体異常ではないが、奇形等の異常があるためで、7件あった。

次は、羊水過多症の5件で、このうち1件に染色体異常がみられた（症例A）。羊水過多は胎児の異常が原因で起こることが多く、当然ながら49年度から、判定可能23件中、4件に染色体異常がみられている。

続いて、以前に染色体異常児（両親由来ではない染色体異常）を出産した経験者が4件、胎児に奇形等の異常が疑われるという理由で4件、検査依頼があった。

また、今年度はみられなかったが、当所におけるトリソミー型ダウン症候群児を出産した母親の再発危険率は、Tonomuraら〔7〕の1%、藤田〔8〕の2%等と比較して、3/98で3%と高い率を維持して

おり、羊水診断の必要性が認められた。

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

2. 自然流産胎児

依頼された検体はほとんどが富山県の公立病院からで、受付総件数は53件であった（表1）。そのうち分析可能であったのは38件で、その割合は72%である。細胞培養成功率も72%となり、細胞培養が成功すれば、100%染色体分析は可能となった。牧野〔9〕は流産胎児組織ならびに、その付属物（羊膜、卵膜、絨毛、臍帯等）の組織培養の成功率は、24～78%と開きがあり、平均60%前後としている。当所における不成功の原因の主なものは、細菌の混入によるものであった。これは流産過程や検体送付中の汚染と考えられた。

分析38件中、染色体異常がみられたのは16件であった。異常の種類は数値的異常が多く、48が1件、47が10件の常染色体異常、45が1件の性染色体異常、69の三倍性が2件であった。構造異常はD/15, del(5)(p13)の2件であった。

検査依頼の理由および受付件数等は表3および表5に示した。一番多かったのは、過去にも流産をしたことがあるためと、初めてではあるが原因不明の流産をしたためで、それぞれ、53件中19件づつあり、そのうち5回流産している症例が2件あった。分析可能は、前者が12件で、その6件に異常があり、このうち5件はトリソミー型の異常であった。前の流産胎児については検査をしていないため、確たることは言えないが、羊水の項でも述べたように、再発の可能性も考えられる。他の1件はNo.5の部分欠失の猫泣き症候群で、両親の核型検査の結果、父親が転座染色体保因者と判明した。後者（初めての流産）の分析は13件で、6件に異常がみられた。これ

表 5. 胎児検査の依頼理由および分析結果 (昭和50～平成4年度)

理由 (主訴)	受付数	分析数	異常数	染色体異常の核型
過去にも流産をした	19	12	6	47, XX, +B、47, XX, +E (2件)、47, XX, +16 47, XX, +21、47, XX, del (15) (p13)
初めての流産 (原因不明)	19	13	6	47, XX, +D、47, XY, +E、47, XY, +F、 47, XY, +G、47, XY, +18、69, XXX
流産胎児に奇形等があった	8	8	2	69, XXY、45, X
子宮内胎児死亡	2	2	1	46, XX, t (15/D)
胎状奇胎	2	2		
前子が染色体異常	1	1	1	48, XX, +15, +16
母が染色体異常	1	1		
妊娠中に風疹に罹った	1			
計 (件)	53	39	16	

はすべて、トリソミー型の異常であった。次に多い理由は、流産した胎児に奇形等があったための8件で、そのうち2件に数的異常が見られた。そのほか子宮内胎児死亡に1件転座型異常がみられたが、両親の核型分析は実施できず、不明であった。また前子が染色体異常 (核型は不明) という主訴で1件数的異常がみられ、これも再発の可能性があった。

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

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

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

文 献

1. 本田幸子, 林美貴子, 吉川俊夫, 植竹久雄 (1986). 富山衛研年報. 9, 51-56.
2. 本田幸子, 林美貴子, 吉川俊夫, 植竹久雄 (1987). 富山衛研年報. 10, 50-54.
3. 本田幸子, 林美貴子, 吉川俊夫, 植竹久雄 (1988). 富山衛研年報. 11, 48-51.
4. 本田幸子, 林美貴子, 井山一郎, 佐藤茂秋 (1990). 富山衛研年報. 13, 47-54.
5. 本田幸子, 林美貴子, 井山一郎, 佐藤茂秋 (1991). 富山衛研年報. 14, 44-48.
6. 本田幸子, 林美貴子, 柏樹久雄, 佐藤茂秋 (1992). 富山衛研年報. 15, 52-58.
7. Tonomura, 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. 牧野佐二郎 (1979). 染色体, 人類の細胞遺伝, 医学書院.

小核試験を用いたmethylthiouracil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¹ 成瀬 優知² 鏡森 定信²

Mutagenicity of Methylthiouracil in Mouse Micronucleus Test

Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI,
Yasuhiro SHINAGAWA, Shigeaki SATO¹
Yuchi NARUSE² and Sadanobu KAGAMIMORI²

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、ヒトの発癌物質であると疑われている、methylthiouracil (MTU) のマウス末梢血における小核誘発を試みた。その結果、MTU250, 500, 1,000および2,000mg/kg投与のCD-1雄マウス末梢血の小核誘発頻度は、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、MTU等の化学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、試験方法を検討する必要があると考えられる。

Methylthiouracil (MTU) は抗甲状腺薬として甲状腺腫の治療薬等に使用されてきた。一方、MTUはまた、国際癌研究機関 (IARC) で、グループ 2 Bにランクされ、ヒトに対し発癌の可能性の高い物質として知られている。しかし、変異原性については、現在まで報告はあまりなく、マウス *in vivo* 小核誘発性についても、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、マウス骨髓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、骨髓同様の結果が得られることが確かめられた [1]。

我々も、今まで vincristine や diethylstilbestrol の癌原性や変異原性について検討を行ってきた [2~4]。今回はMTUについて、*in vivo* におけるマウスの末梢血の小核誘発を試み、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週令のCD-1雄マウス (Charles River Japan, Inc.) である。

MTU (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) の化学構造は、Fig. 1に示した。MTUは局法オリーブオイル (丸石製薬KK) に懸濁し、投与量はマウス体重kg当り、腹腔内1回投与群 (6匹/群) では、250, 500, 1,000および2,000mgを1回、腹腔内2回投与群 (5匹/群) では、500, 1,000および2,000mgを、各群のマウスに24時間の間隔で2回投与した。経口投与群 (5匹/群) では、500, 1,000および2,000mgを、マウスに1回投与した。なお投与濃度は予備実験で決定した。陰性対照として、オリーブオイルを単独投与し、陽性対照は、mitomycin C (MMC, 協和醗酵工業KK) 0.5mg/kgを同様に投与した。1回目投与後、0, 24, 48, 72時間および2回投与群

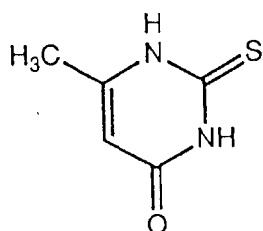


Fig.1. Methylthiouracil

のみ96時間目にも尾部より採血し、スライド標本を作成、観察した。

観察は、落射蛍光顕微鏡下で、網状赤血球 (Reticulocyte: RET) を1,000個観察し、その中の小核を持つRET (Micronucleated RET: MNRET) を数えた。

得られた成績の検定は、分散分析およびKastenbaum and Bowman (1970) [5]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った。

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、下記の条件に適した場所を選ぶ。
 - 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雄マウスを使い、MTU250, 500, 1,000および2,000mg/kgを、腹腔内1回投与後、0 $\sim$ 72時間に4回採血して、MNRETの出現頻度を求めた (Table 1)。腹腔内2回投与群では500, 1,000および2,000mg/kgを、1回目投与後、0 $\sim$ 96時間に5回採血した (Table 2)。経口1回投与群では500, 1,000および2,000mg/kgを、1回目投与後、0 $\sim$ 72時間に4回採血した (Table 3)。その結果、小核出現頻度は、MTU腹腔内1回投与群で $0.05 \pm 0.05\% \sim 0.15 \pm 0.10\%$ 、腹腔内2回投与群で $0.06 \pm 0.09\% \sim 0.20 \pm 0.16\%$ 、経口1回投与群で $0.06 \pm 0.13\% \sim 0.24 \pm 0.13\%$ となり、陰性対照群 (オリブオイル) $0.08 \pm 0.08\% \sim 0.28 \pm 0.08\%$ と比較して、MTU投与群すべてにおいて、濃度、採血時間、投与経路および投与回数の違いに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、24, 48および72 (2回投与のみ) 時間後に、有意に高い小核出現が見られた。

Table 1. Peripheral Blood Micronucleus Test of CD-1 Mice after Single Intraperitoneal Injection

Chemicals	Dose (mg/kg)	Sampling time (h)	Number of animals (male)	% MNRET based on 1,000RET assessed per animal						
				Individual animal data						Mean $\pm$ SD
Methylthiouracil	250	0	5	0.1,	0,	0.1,	0.1,	0.1,	0.2	0.10 $\pm$ 0.06
		24	5	0.2,	0.2,	0,	0,	0.1,	0.2	0.12 $\pm$ 0.10
		48	5	0.1,	0.1,	0.3,	0.2,	0,	0	0.12 $\pm$ 0.12
		72	5	0.3,	0,	0,	0.1,	0,	0.1	0.08 $\pm$ 0.12
	500	0	5	0,	0.2,	0.2,	0.3,	0,	0	0.12 $\pm$ 0.13
		24	5	0,	0.1,	0,	0.1,	0,	0.1	0.05 $\pm$ 0.05
		48	5	0.2,	0,	0.3,	0.3,	0,	0	0.13 $\pm$ 0.15
		72	5	0,	0.1,	0.2,	0.2,	0.2,	0	0.12 $\pm$ 0.10
	1,000	0	5	0.1,	0.3,	0,	0.1,	0,	0	0.08 $\pm$ 0.12
		24	5	0.1,	0.4,	0.1,	0,	0.1,	0.1	0.13 $\pm$ 0.14
		48	5	0.2,	0,	0.2,	0.1,	0.3,	0.1	0.15 $\pm$ 0.10
		72	5	0.2,	0.1,	0,	0.1,	0,	0	0.07 $\pm$ 0.08
	2,000	0	5	0.1,	0,	0.2,	0.1,	0.1,	0.1	0.10 $\pm$ 0.06
		24	5	0,	0,	0.3,	0.1,	0.1,	0.1	0.10 $\pm$ 0.11
		48	5	0.2,	0.1,	0.1,	0.1,	0.3,	0.1	0.15 $\pm$ 0.08
		72	5	0.1,	0.1,	0.2,	0,	0.3,	0.1	0.13 $\pm$ 0.10
Olive oil ^a		0	5	0.3,	0.1,	0,	0.1,	0.3,	0.1	0.15 $\pm$ 0.12
		24	5	0.2,	0.2,	0.1,	0.2,	0,	0.1	0.13 $\pm$ 0.08
		48	5	0.1,	0.1,	0.3,	0.1,	0.1,	0.1	0.13 $\pm$ 0.08
		72	5	0.2,	0.1,	0.1,	0.1,	0,	0	0.08 $\pm$ 0.08
Mitomycin C ^b	0.5	0	5	0.2,	0.4,	0.1,	0,	0.1,	0.1	0.15 $\pm$ 0.14
		24	5	0.3,	0.2,	0.3,	0.2,	0.6,	0.4	0.33 $\pm$ 0.15
		48	5	1.3,	2.3,	0.9,	1.5,	1.4,	1.5	1.50 $\pm$ 0.50*
		72	5	0.3,	0.3,	0.1,	0.2,	0.4,	0.3	0.27 $\pm$ 0.10

* Negative control ^b Positive control * $p < 0.01$

Table 2. Peripheral Blood Micronucleus Test of CD-1 Mice after Double Intraperitoneal Injection

Chemicals	Dose (mg/kg)	Sampling time (h)	Number of animals (male)	% MNRET based on 1,000RET assessed per animal						
				Individual animal data						Mean $\pm$ SD
Methylthiouracil	500	0	5	0.1,	0.2,	0,	0.4,	0.1		0.16 $\pm$ 0.15
		24	5	0.1,	0,	0.1,	0.3,	0.1		0.12 $\pm$ 0.11
		48	5	0.3,	0.4,	0.1,	0.2,	0		0.20 $\pm$ 0.16
		72	5	0,	0.3,	0.1,	0.1,	0.1		0.12 $\pm$ 0.11
		96	5	0.2,	0.1,	0.3,	0,	0.1		0.14 $\pm$ 0.11
	1,000	0	5	0.1,	0.1,	0,	0.1,	0.3		0.12 $\pm$ 0.11
		24	5	0,	0,	0,	0.2,	0.1		0.06 $\pm$ 0.09
		48	5	0.4,	0.1,	0.1,	0.1,	0.1		0.16 $\pm$ 0.13
		72	5	0,	0,	0.2,	0.1,	0.1		0.08 $\pm$ 0.08
		96	5	0,	0.2,	0,	0,	0.2		0.08 $\pm$ 0.11
	2,000	0	5	0.1,	0.1,	0.1,	0.3,	0.1		0.14 $\pm$ 0.09
		24	5	0,	0.2,	0.1,	0,	0.1		0.08 $\pm$ 0.08
		48	5	0.1,	0.3,	0.2,	0,	0.1		0.14 $\pm$ 0.11
		72	5	0,	0,	0.1,	0.2,	0.2		0.10 $\pm$ 0.10
		96	5	0,	0,	0.1,	0,	0		0.02 $\pm$ 0.04
Olive oil ^a		0	5	0.2,	0.3,	0.4,	0.2,	0.3		0.28 $\pm$ 0.08
		24	5	0.5,	0,	0,	0,	0.1		0.12 $\pm$ 0.22
		48	5	0.4,	0.3,	0.2,	0.2,	0.3		0.28 $\pm$ 0.08
		72	5	0.2,	0.2,	0,	0,	0		0.08 $\pm$ 0.11
		96	5	0.1,	0.1,	0,	0.1,	0.3		0.12 $\pm$ 0.11
Mitomycin C ^b	0.5	0	5	0.2,	0.1,	0.2,	0,	0.1		0.12 $\pm$ 0.08
		24	5	0.4,	1.6,	0.3,	0.4,	0.2		0.58 $\pm$ 0.58*
		48	5	0.7,	2.6,	1.0,	0.8,	1.1		1.24 $\pm$ 0.78*
		72	5	0.7,	1.1,	1.0,	0.5,	1.4		0.94 $\pm$ 0.35*
		96	5	0,	0.2,	0,	0.1,	0.5		0.16 $\pm$ 0.21

* Negative control ^b Positive control * $p < 0.01$

Table 3. Peripheral Blood Micronucleus Test of CD-1 Mice after Single Oral Administration

Chemicals	Dose (mg/kg)	Sampling time (h)	Number of animals (male)	% MNRET based on 1,000RET assessed per animal					
				Individual animal data					Mean $\pm$ SD
Methylthiouracil	500	0	5	0,	0.1,	0.1,	0.2,	0.2	0.12 $\pm$ 0.08
		24	5	0.1,	0.3,	0.3,	0.2,	0.2	0.22 $\pm$ 0.08
		48	5	0,	0.2,	0,	0.3,	0.4	0.18 $\pm$ 0.18
		72	5	0.1,	0.3,	0.4,	0.1,	0.3	0.24 $\pm$ 0.13
	1,000	0	5	0,	0,	0,	0,	0.3	0.06 $\pm$ 0.13
		24	5	0.2,	0.2,	0.3,	0.1,	0	0.16 $\pm$ 0.11
		48	5	0,	0.1,	0.1,	0.3,	0.2	0.14 $\pm$ 0.11
		72	5	0.2,	0.3,	0,	0.5,	0.2	0.24 $\pm$ 0.18
	2,000	0	5	0.1,	0,	0,	0.1,	0.1	0.06 $\pm$ 0.05
		24	5	0,	0.3,	0,	0.4,	0.4	0.22 $\pm$ 0.20
		48	5	0.4,	0,	0.2,	0.1,	0.2	0.18 $\pm$ 0.15
		72	5	0.1,	0.2,	0.4,	0,	0.2	0.18 $\pm$ 0.15
Olive oil*		0	5	0.2,	0.3,	0.1,	0,	0	0.12 $\pm$ 0.13
		24	5	0,	0.1,	0.2,	0.1,	0	0.08 $\pm$ 0.08
		48	5	0,	0.3,	0.1,	0.2,	0.1	0.14 $\pm$ 0.11
		72	5	0.1,	0.3,	0,	0.3,	0.2	0.18 $\pm$ 0.13

* Negative control

考 察

MTUは国際癌研究機関 (IARC) で、グループ 2 Bにランクされ、動物に対しては発癌性が認められ、ヒトに対しても発癌の可能性の高い物質として知られている。しかし、変異原性については、現在まで報告はあまりなく、マウス *in vivo* 小核誘発性についても、報告 [6] はあるものの、未だ結論は得られていない。

一方、小核試験は染色体異常誘発試験法の一つで、構造異常だけでなく、紡錘体阻害剤、分裂阻害剤による影響も検出できることが知られており、我々も、Vincristine, diethylstilbestrol 等の検討を行い、報告をしている [2~4]。今回、我々は *in vivo* における MTU の変異原性の検討を目的として、マウスへの MTU 投与における末梢血での小核誘発を試みた。

マウス小核試験では、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 [7] があるものの、一般には、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。また骨髓と末梢血についても差がないと言われている。従って、今回も雄の末梢血を使用し、その小核誘発性を

比較検討した。その結果、すべて陰性対照群と有意な差は見られなかった。

しかし Ioan [6] は、AG₂マウスを用い、MTU 5~50mg/kg 経口投与後、骨髓および経胎盤法により、非常に高頻度の小核誘発を観察し、最高で経胎盤法 5.9% (陰性対照 0.04%)、骨髓 0.8% (陰性対照 0.01%) と報告し、今回の我々の結果と矛盾している。これだけの大きな違いはマウスの系統差や、末梢血、骨髓の差とは考えられない。また MTU が我々の 1/50~1/40 の低い濃度であることから、投与薬剤の違いがあるのかもしれない。また陰性対照値が低過ぎること等、いくつかの疑問がある。ただ経胎盤法の検出精度が高いことは我々も diethylstilbestrol で経験している。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、骨髓に到達する前に壊れてしまう不安定な物質でも、経胎盤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、我々も現在 MTU について、経胎盤法による小核試験を検討中である。

今回の我々の結果から、MTU のマウス *in vivo* における末梢血での小核誘発は陰性であり、この物質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。今後は、経胎盤法の結果等も考慮してMTUの発癌性と小核試験との検討を行いたい。

なお、今回の発表の一部は、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. The Collaborative Study Group for the Micro-nucleus Test (1991). *Mut. Res.*, 278, 83-98.
2. 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.
3. 本田幸子, 林美貴子, 品川保弘, 佐藤茂秋, 成瀬優知, 鏡森定信 (1992). 富山衛研年報, 15, 65-70.
4. 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.
5. Kastenbaum, M. A. and K. O. Bowman (1970). *Mut. Res.*, 9, 527-549.
6. Ioan, D., (1980). *Rev. Roum. Med. Endocrinol.*, 18 (4), 247-250.
7. The Collaborative Study Group for the Micro-nucleus Test (1986). *Mut. Res.*, 172, 151-163.

平成5年9月1日

転移巣より樹立されたヒト総排泄腔癌患者由来 細胞株 (SHK-1) について

品川 保弘 本田 幸子 林 美貴子
小杉 光世¹ 柏樹 久雄

Establishment of Human Cultured Cell Line (SHK-1) Derived from Metastatic Lesion of Cloacogenic Carcinoma Patient

Yasuhiro SHINAGAWA, Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI,
Mitsuyo KOSUGI¹ and Hisao KASHIWAGI

要 旨 ヒト総排泄腔（肛門管）癌患者より摘出された腫瘍組織、および所属リンパ節組織から得た細胞を長期間培養し、転移巣と思われるリンパ節試料からの株細胞の樹立に成功した。形態学的には不均一な細胞集団であり、単一浮遊細胞、接着性細胞、葡萄房状大型クラスター形成細胞の三種類からなる混合型株細胞であった。接着性細胞にマクロファージ（食細胞）様、神経細胞様など種々の細胞群が混在することが特徴の一つであり、これを積極的に利用すれば、分化のモデル系となることが期待される。単一浮遊型の細胞についてだけみると、リンパ芽球様細胞であるが、継代前後で浮遊細胞から接着性細胞への変化が一定の比率で起こることから、リンパ芽球よりも、さらに多能性幹細胞に近い未分化な細胞と思われる。染色体核型分析の結果は46, XXで、正常であった。

当所がん研究部では、ヒト血液・羊水を主要な対象として染色体検査を行っている。これは流産を繰り返す夫婦や、高齢妊娠、妊娠胎児にダウン症などの遺伝的障害が予測されるケースを主な対象としているが、この他にも、白血病患者や固形癌患者における癌と染色体異常との関連についての研究を目的とした検体が、県内各地の病院から主治医の判断あるいは依頼のもとに、当部に持ち込まれている。今回我々は、県内T病院外科より染色体検査を依頼された総排泄腔（肛門管）癌患者からの摘出組織材料の長期培養を行い、株細胞の樹立に成功したので報告する。

材料および方法

腫瘍組織：臨床的に総排泄腔（肛門管）癌と診断された62歳女性（K. N.）の腫瘍組織および転移を疑われた所属リンパ節を材料として用いた。生検材料（＃1）、摘出後の腫瘍組織片（＃2・＃3）および転移を疑われた所属リンパ節（＃4）の各々について、ハサミとメスによる細切後、60mmプラスチックシャーレ（Falcon #3002, Becton Dickinson & Co.）中で37℃、5%CO₂条件下での静置培養を行った。当初の培養には、非動化（56℃、30分）牛胎児血清（GIBCO Life Tech. Inc. USA）（HIA-FBS）20%添加および非必須アミノ酸（＃320-1140

1. 砺波総合病院外科

AG. GIBCO Life Tech. Inc. USA) 強化イーグル MEM 培地 (#05900, 日水製薬) を使用した。培養開始後, 細胞の増殖および生存率の状態に応じて非必須アミノ酸強化を中止したり, 10% HIA-FBS-MEM 培地を適宜使用した。試料 #1・#2・#3・#4 の各々について, 1 枚 (#1)・8 枚 (#2-1~#2-8)・3 枚 (#3-1~#3-3)・4 枚 (#4-1~#4-4) のシャーレを初代培養用に準備した。術前に採取した血液試料は通常の方法 [1] により染色体検査に供した。組織片は培養 6 日目 (試料 #3-1), 7 日目 (#2-4) および 19 日目 (#4-3) に染色体検査を行った。染色体標本作成法は本田ら [2] のヒト胎盤絨毛の場合に準じて行った。試料 #4-3 については, その後も随時染色体検査を行った。品質管理を目的とした微生物汚染の有無に関する検査は, 国内外の主要な細胞バンク (国立衛生試験所細胞バンク・米国 American Type Culture Collection) での品質管理マニュアルに準じて行った [3, 4]。

結 果

染色体検査では, 血液試料, 初代培養後の組織片試料ともに 46, XX の正常核型を示し, トリプシンギムザ分染法によっては異常は検出されなかった。組織片のうち #4-3 については, 継代培養が可能となった後 (14 代・培養開始後 120 日目) に染色体検査を行ったが, 異常は見いだされなかった (図 1)。

培養初期の組織片由来細胞の, 位相差顕微鏡下での形態を図 2 に示した。腫瘍摘出時には腫瘍周辺の正常組織の混入が避けられないため, 培養後も正常繊維芽細胞の増殖が大半のシャーレで認められたが (図 2 a), 明らかに繊維芽細胞とは形態の異なる, 巨大多核細胞のシャーレ底面への付着およびコロニーの形成が認められた (図 2 b)。しかしながらこれらの巨大多核細胞のその後の増殖は認められず, 1/2 分割継代後には死滅消失し, 繊維芽細胞への置換がみられた。

試料 #4-3 の培養 3 代目 (培養開始後 28 日) に

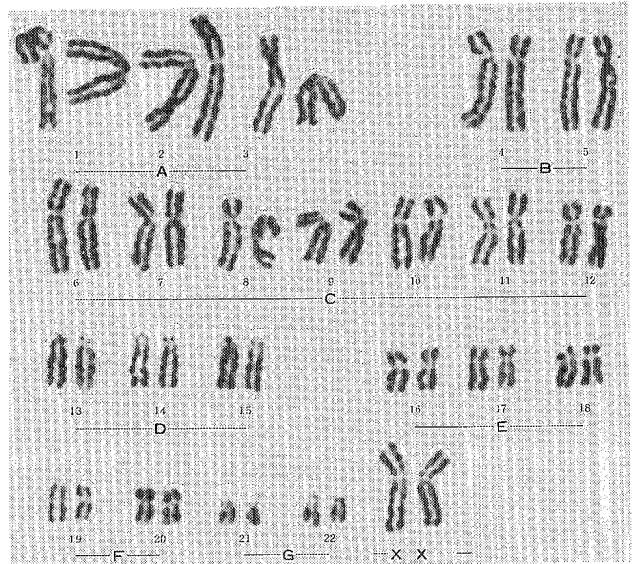


図 1. #4-3: 継代 14 代における染色体核型

小型球形細胞の増殖が認められた。この細胞はプラスチックシャーレ底面への接着性が弱く, トリプシン等の酵素処理を要せずに, ピペッティングだけでの継代が可能であった。継代 25 代目における培養開始時の細胞形態を図 3 a に, また継代培養 4 日目の細胞形態を図 3 b に示した。単一浮遊細胞の増殖, 葡萄房状のクラスターの増殖成長, そして接着性細胞の増加が並行して認められた。

継代 10 代から 30 代の間における細胞数倍加時間は 35.6 時間であった。

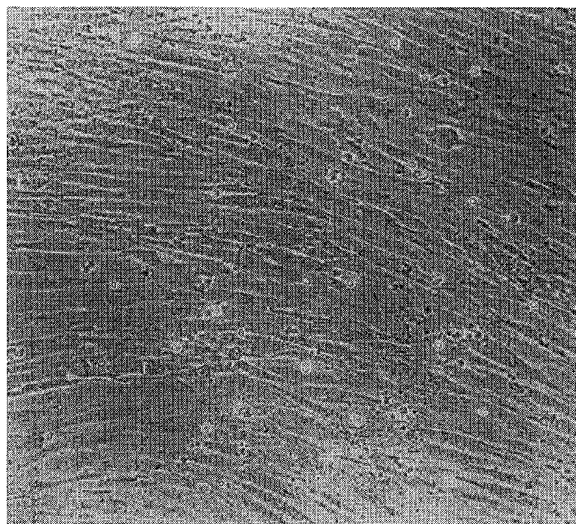
バクテリア, 真菌およびマイコプラズマによる汚染は, 継代 33 代目の検査時点で認められなかった。

#4-3 を含めて, 初代培養以後, 6 カ月以上のあいだ継代培養が可能となっている試料について, 202 日目時点での継代数, PDL (細胞数倍加回数) および細胞の形態を表 1 に示した。

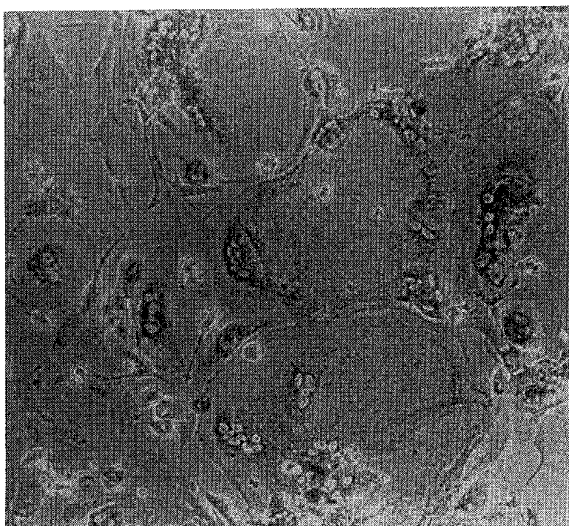
考 察

ヒト総排泄腔 (肛門管) 癌患者から得られた外科摘出腫瘍組織および所属リンパ節組織からの細胞株の樹立を試みた。ヒト固形癌からの細胞株樹立の方

平成5年9月1日

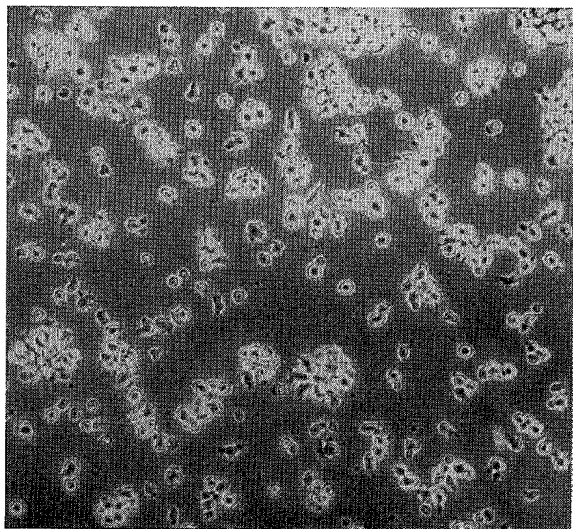


(a) 試料 #1: 継代2代

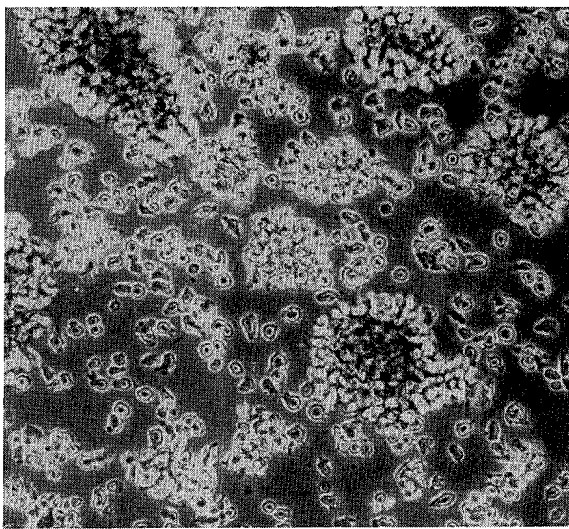


(b) 試料 #2-1: 継代2代

図2. 培養初期の細胞形態



(a) 継代 25 代: 培養 1 日目



(b) 継代 25 代: 培養 4 日目

図3. SHK-1細胞(#4-3)樹立後の細胞形態

法には、最初から試験管内で行う方法と、ヌードマウス等の実験動物に移植し、一度生着させてから試験管内に移行させる方法とがある。前者の場合はさらに、ハサミとメスによる細切だけで培養を開始する方法と、蛋白分解酵素を用いた細胞分散後にメッシュを通過させて、単一細胞群としてから培養に供する方法とがある。使用する培地の組成に関しても、牛胎児血清濃度や糖濃度、アミノ酸添加量、特殊な増殖因子の添加の有無など、技術的に多くの方法がある。今回の試料から樹立を試みるにあたっては、顕微鏡下で状況把握を逐次行える点と、スピナー・カルチャーによる酵素処理が細胞に与える物理化学的影響とを考慮して、ハサミとメスによる細切だけで最初から試験管内で培養する方法を選択した。牛胎児血清濃度は経験的に20%を選択したが、継代10代目以降は10%濃度に馴化させた。既に広く研究に利用されている株細胞の中には、培地への非必須アミノ酸の強化を必要とするものがあることにヒントを得て、非必須アミノ酸を添加した培地を本試料の当初の培養に用いた。リンパ節転移巣組織片 #4-3 の継代第3代において、小型紡錘形の付着性細胞と小型球形クラスター形成性細胞および単一浮遊性細胞との混合コロニーが多数出現し始めた。当初、単一浮遊性細胞の大部分はTear drop type (涙粒状)、つまり球体の一部に突起を生じた形状を示していたが、継代数を重ねる毎に不定型となり、個々の細胞の形態は多様性に富んでいた。付着性細胞の形態も多様であり、紡錘形のもの、マクロファージ様のもの、神経細胞様のものなどが認められた。浮遊性細胞については限界希釈法によるクローニングを試みたが、形態的な多様性に変化はみられず、均一な細胞集団は得られていない。付着性細胞自体の増殖は今のところ認められず、また継代時に付着性細胞の混入を避けながら、浮遊性細胞のみの継代を行っても、培養後、一定の割合(培養48時間で1%程度)で付着性細胞が生ずる。継代数にして37代、PDL換算98回でいまだ均一な細胞集団を構成しないことなどを考え合わせると、この#4-3 (SHK-1細胞と命名)は複数方向への分化の可能性を有する、比較的未分化な細胞と推定される。

表1. 継代状況と細胞形態

試料番号	継代数	細胞数 倍加回数	細胞形態
#1	16	40	繊維芽細胞様
#2-1	18	38	繊維芽細胞様
#2-2	9	30	上皮性細胞様
#3-2	10	28	上皮性細胞様
#4-3	37	98	リンパ芽球様

#4-3 (SHK-1) の他にも、表1に示したごとく、同じ患者からいくつかの培養細胞が得られている。しかし、PDLに換算して30回から60回のあたりに細胞の寿命、つまり老化に伴う細胞死があるとするのが一般的であり[5]、その意味では、#2-2および#3-2の細胞は、極端に細胞数倍加時間の長い細胞であると仮定しない限り株化は望めない。また#1と#2-1に関しても、PDLが#4-3の半分以下であること、試料採取時の患者の年齢が比較的高齢であること、そして明らかに繊維芽細胞であることから分裂増殖の限界に近づいているものと推定される。

初代培養より継代4代目、PDLに換算して7回目における染色体検査の結果、#4-3細胞は46, XXという正常核型を示し、培養14代目、PDL36回目においても正常核型を維持していた。主に老化の研究に用いられている正常組織由来の繊維芽細胞の多くは正常核型を示すが、腫瘍組織由来細胞株の大半は染色体本数、動原体数、転座の有無、染色体断片の有無、トリソミー、欠失等の異常を伴い、異常核型を示す。例外的にリンパ球系の株細胞では正常核型を示す細胞が多数知られている。今回樹立された株細胞はリンパ節転移巣を出発材料としていること、原発巣組織材料からの樹立はなし得なかったこと、両者ともに染色体核型は正常であり、マーカー染色体が存在しないことから、このSHK-1細胞の起源は明らかではない。一般に白血病やリンパ腫に由来する血球系細胞株を除けば、リンパ芽球様を示す単一浮遊性細胞株は非常に希であると考えられるが、これまで知られているリンパ芽球様細胞株と較

平成5年9月1日

べて、個々の細胞の形態が多様であること、分化に伴う形態変化と推定される接着性細胞への移行がみられること、葡萄房状の巨大なクラスターを形成することなど、いくつかの特徴がみられる。

ヒト総排泄腔（肛門管）癌患者由来細胞株については既に多くの試みがなされている。そのいくつかは既に株化もなされていると考えられるが、世界最大規模の細胞バンク、米国のATCC（American Type Culture Collection）発行のカタログ〔6〕によると直腸癌（Rectal carcinoma）由来の2株が登録されているだけで、総排泄腔癌（Cloacogenic carcinoma）あるいは肛門管癌（Anal duct carcinoma）という名称ないし由来での細胞株は登録されていない。樹立細胞株が必ずしも由来する腫瘍組織の性状を維持し続けるわけではなく、また本細胞株のように原発巣からではなく、転移巣から得られた細胞の場合には、比較すべき細胞株が見あたらない現時点では、総排泄腔癌由来細胞株という呼称に、さほど大きな意味は無い。しかしながら今後、同種の癌由来細胞株の樹立が実現ないしは確認されれば、近年めざましい発展を遂げている癌遺伝子の研究等において、また臨床での化学療法剤の選択などの面で、本細胞株の樹立は、なんらかの寄与を期待するものと思う。また葡萄房状のクラスターを形成する性質に関しては、形態学的な特徴との関連のみな

らず、接着分子の発現の有無との関連からも、癌の転移機構の解明への応用が期待される。さらに一定比率での接着性細胞の出現を制御することが可能であれば、分化誘導物質のスクリーニング系として、また分化による治療のモデル実験系としての利用も可能であろう。なお、本細胞名SHK-1は、著者らの姓のイニシャルに由来する。

文 献

1. 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.
2. 本田幸子, 林美貴子, 山崎茂一, 佐藤茂秋 (1989). 富山衛研年報, 12, 41-45.
3. 水沢 博, 川瀬雅子, 佐々木澄志, Harnois, M., 石館 基 (1986). 蛋白質・核酸・酵素, 31, 1470-1480.
4. Hay, R., J. (1985). JCRB News Letter, 1985, Oct. (suppl.), 3-50.
5. 田内 久, 黒田行昭 (1981). 細胞の老化, 123-156, 共立出版.
6. Catalogue of Cell Lines & Hybridomas, 7th edition (1992). American Type Culture Collection, 125-126.

家屋侵入性カメムシの侵入・潜みの実験的検討

渡 辺 護 荒 川 良¹ 稲 岡 徹²Experimental Studies on Invading and Hiding of
Pentatomid Bugs Entering into Dwelling Houses.Mamoru WATANABE, Ryo ARAKAWA¹
and Tohru INAOKA²

要 旨 家屋侵入性のカメムシ類は、秋に越冬のため家屋などに飛来し、侵入して畳の下、押し入れ、タンス、本箱の中などで翌春まで潜む。しかし、飛来してすぐに隙間に潜入を開始するか、壁などで一定時間過ごしてから（越冬に好適な隙間をさがす）潜入するのか不明であるため、隙間のモデルを作り潜み行動を観察した。

その結果、供試した3種のカメムシで、夕刻から夜には潜入性は高まるが、日中は再び隙間から出て歩き回る個体が観察された。しかし、種類や採集時期の違いにもよるが、放逐してからの日数が経過するに従い、隙間への潜入率は高まり、しかも、日中隙間からはい出し、歩き回る個体が少なくなる傾向が観察された。概して、クサギカメムシとマダラナガカメムシは飛来してすぐには隙間に潜入しない傾向がみられ、スコットカメムシはクサギカメムシよりも早く隙間に潜む傾向が観察された。

越冬のために家屋に飛来・侵入するカメムシ類は、北海道ではスコットカメムシ、マダラナガカメムシ、ヨツモンカメムシの3種類、東北・北陸・信州・東海ではクサギカメムシとスコットカメムシの2種類が主要な種類である。これらは秋の晴れた暖かい日に集団で家屋などの壁に飛来し、まもなく室内への侵入を開始する〔1〕。しかし、飛来から侵入までの生態（行動）を観察したデータは、駆除の際に必要な情報にもかかわらず〔2〕、ほとんどない。今回、隙間のモデルを作り、それへの潜みの行動を観察したので報告する。

実験材料および方法

供試虫：クサギカメムシは富山県宇奈月町で実験の都度、K社職員寮の壁に飛来した個体を採集して用いた。スコットカメムシ、マダラナガカメムシは北海道朝日町の小学校の壁に飛来した個体を用いた。実験方法：29W×21L×27Hcmのプラスチック水槽に、厚さ3mmのベニア板（20×30cm）を隙間3mmで5枚重ね、水槽内に斜めに立てかけ、その中に雌雄各50個体のカメムシを放し、蓋をして経過時間ごとの隙間への潜入を観察した（ベニア板隙間法、図1）。また、20×30cmのアルミサッシを取り付けたアルミフレーム・アクリル箱（40W×20L×30Hcm）を作り、その中に雌雄各25個体のカメムシを放し、経過時間ごとのアルミサッシの隙間への潜入を観察した（アルミサッシ法、図2）。なお、実験箱内には吸水のために、十分に水を浸した脱脂綿を入れたシャー

1. 富山医科薬科大学医学部寄生虫学研究室 2. 旭川医科大学寄生虫学教室

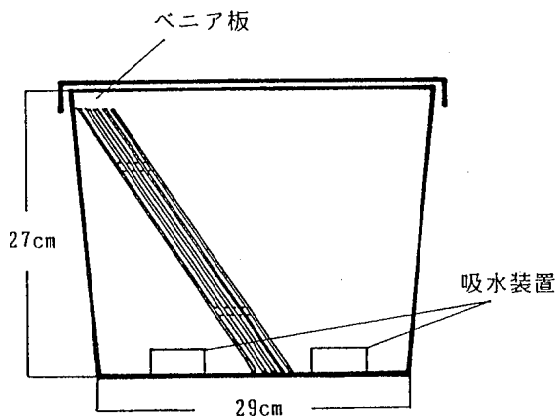


図1. ベニア板隙間潜入試験用アクリル箱

3 mmの隙間でベニア板を(30×20cm)を5枚重ねたものを斜めに静置した。

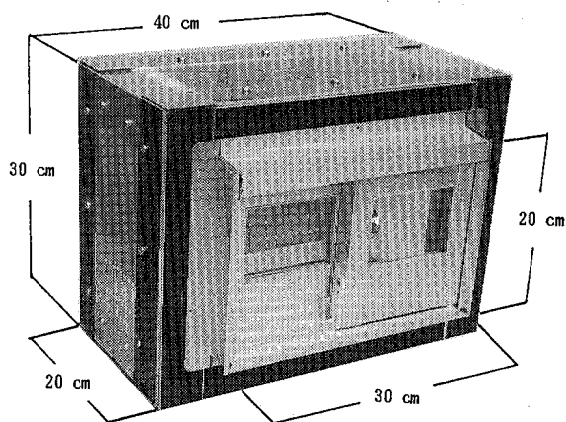


図2. サッシ隙間潜入試験用「アルミサッシ箱」

レを2個配置した。

実験結果および考察

1. ベニア板隙間法

飛来の最盛期になったばかりのクサギカメムシを

用いた場合(図3, 10月7日), 実験箱内に放した直後から隙間への潜入がみられ, 気温の下降とともにそれらは多くなったが, その夜は潜み率43%どまりであった。翌日, 前日に潜入した個体は気温の上昇とともに隙間からはい出し, 箱内を動き回るが, 気温の下降とともに再び隙間に潜入した。潜み率は50%に上昇した。その後, 実験日数が経過するに従い隙間に潜む個体が多くなり, 日中の気温が20℃を越えても隙間からはい出てこない個体が顕著に多くなり, 実験(放逐)開始21日後(10月28日)には, 日中でも95%の個体が潜んだままであった。

最盛期後期のクサギカメムシを用いた場合では(図4), 潜み率の上昇速度が最盛期初期の個体群よりも早く, しかも夕方から夜には全ての個体が潜むようになった。放逐開始21日後(11月11日)には1日中全個体が隙間に潜んだままであった。なお, 図示しなかったが, これ以後も全個体は完全に潜んだままであった。また, 潜みは各個体が単独で行うことは稀で, 大多数の個体は集団で潜むのが観察された。

同じように飛来最盛期のスコットカメムシを用いた場合(図5), 箱内に放した直後から隙間への潜入が多数みられ, 夜には86%になった。実験日数が経過するに従い潜み率は高くなり, 5日後(10月26日)の夕刻から夜には100%に達し, 21日後(11月11日)には一日中100%になり, クサギカメムシ同様それ以後もその状態を保った。

マダラナガカメムシは最盛期後期の個体群を用いたにもかかわらず(図6), 前2種に比べ日中, 箱内を動き回る個体がいっまでもみられる傾向が観察された。

なお, ベニア板の代わりに透明のプラスチック板を用いて, クサギカメムシの潜みを観察すると, 隙間に潜む個体はほとんどみられず, 箱の隅に集団で静止するのが観察された。このことは, カメムシが隙間に潜むのは“接触”による“落ち着き”の欲求だけではなく, 温度や明暗などの変化が少なく安定した環境をも選択する現れと考えられる。しかも, 集団で越冬する利点の一つは, 生存のために最も重要な, 乾燥から身を守る行動であることが示唆され

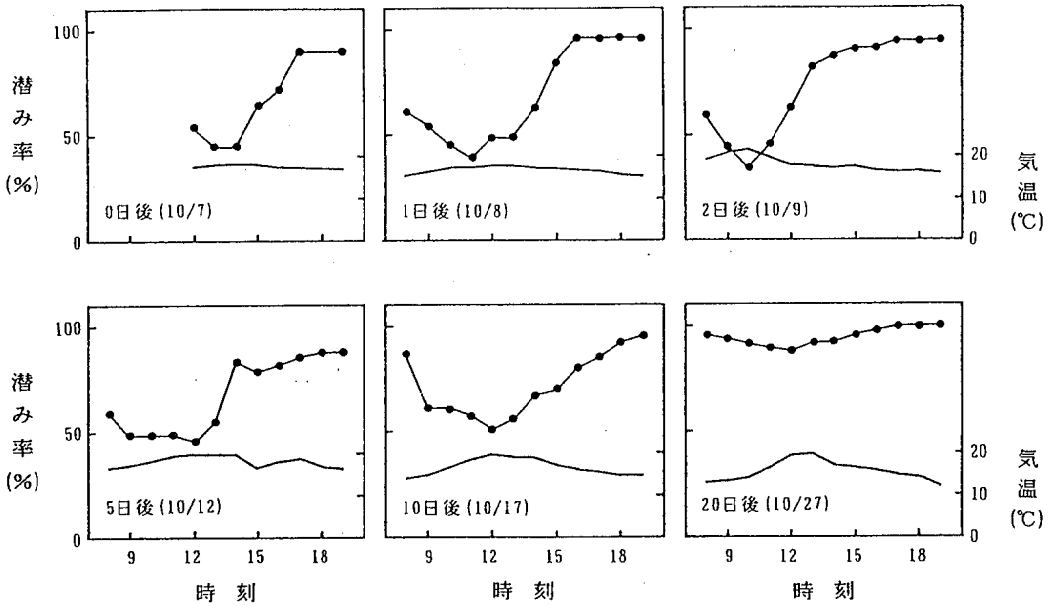


図3. ペニア板隙間法によるクサギカメムシの隙間への“潜み率”の経日変化
(越冬飛来最盛初期)

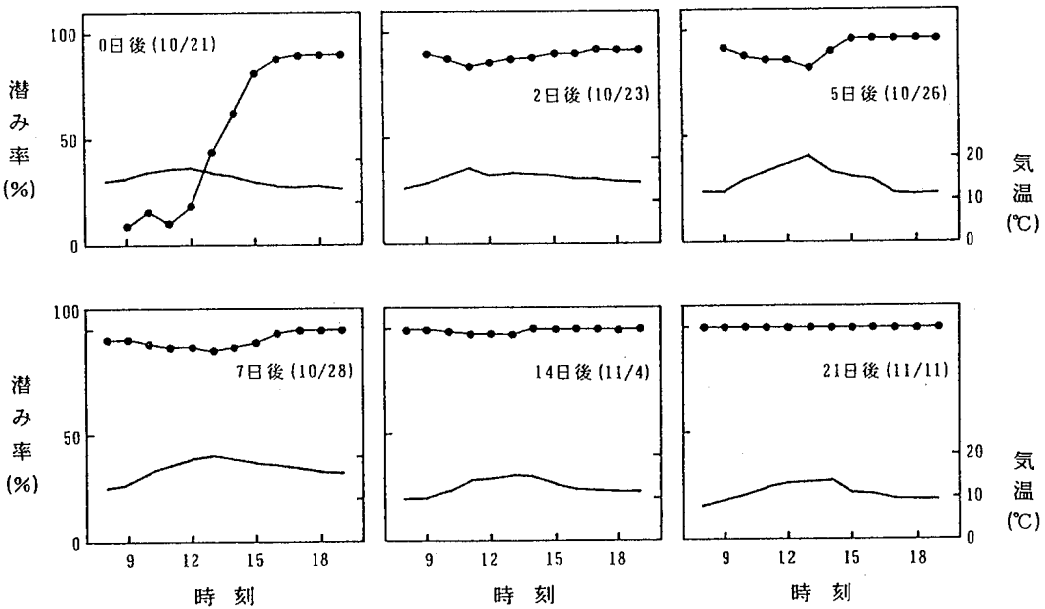


図4. ペニア板隙間法によるクサギカメムシの隙間への“潜み率”の経日変化
(越冬飛来最盛後期)

平成5年9月1日

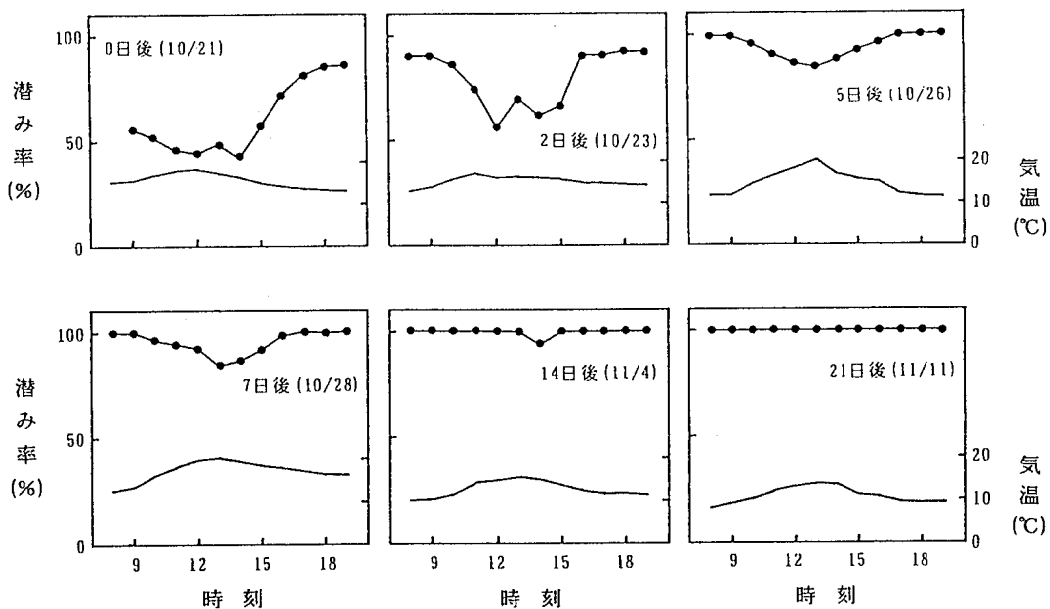


図5. ベニア板隙間法によるスコットカメムシの隙間への“潜み率”の経日変化

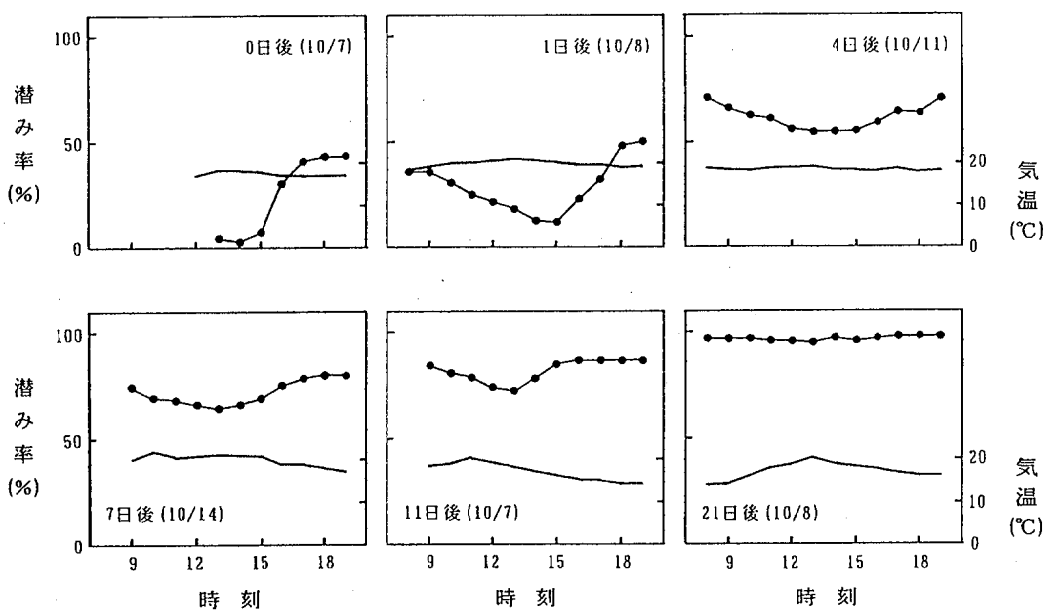


図6. ベニア板隙間法によるマダラナガカメムシの隙間への“潜み率”の経日変化

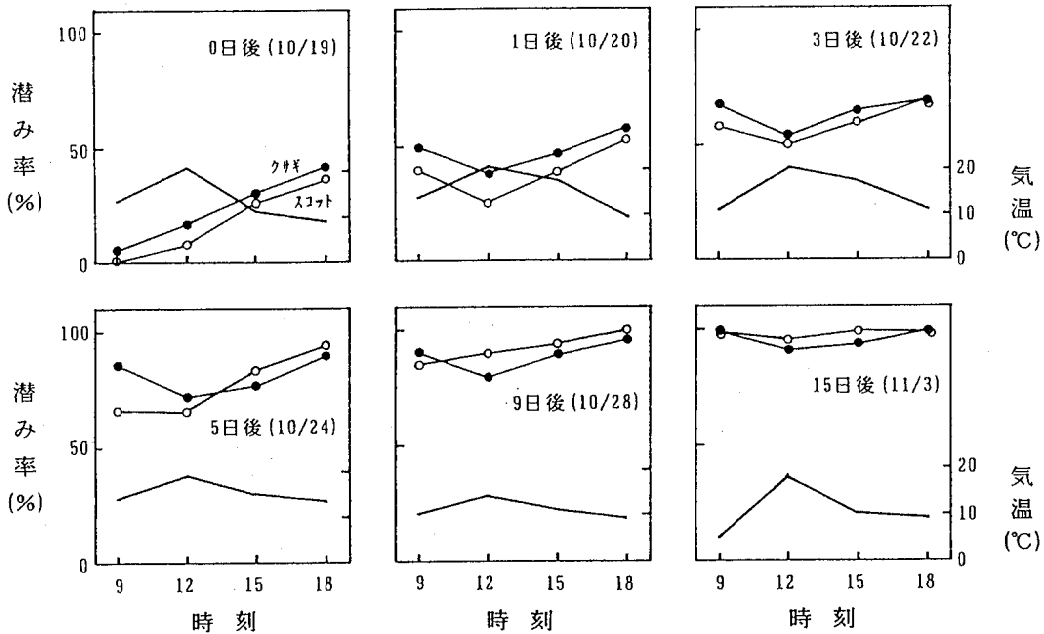


図7. アルミサッシ箱法によるクサギカメムシとスコットカメムシのサッシへの“潜み率”の経日変化

る。

2. アルミサッシ箱法

飛来最盛期のクサギカメムシを用いた場合、箱内に放した直後から、アルミサッシの隙間に入り込む個体がみられたが(図7)、全ての個体が潜んだのは放逐後15日目の18時であった。一方、同じように飛来最盛期のスコットカメムシは、放逐後3日目まではクサギカメムシよりも潜み率は低率を示したが、5日目からはクサギカメムシよりも高い値を示し、9日目には100%に達した。しかし、クサギカメムシは夕刻に観察された潜み率が、翌朝にはさらに高くなっているのに対して、スコットカメムシは逆に低くなっているのが観察された。このことはスコットカメムシの夜間から早朝にかけての活動が示唆される。また、アルミサッシの隙間は、ベニア板を用いた隙間が解放的であるのに対し、閉鎖的であることが、体が大きいクサギカメムシに、出入りを難しくした可能性が考えられる。一方、スコットカメムシはサッシの隙間を擦り抜け、向う側に出て

しまう個体が観察され、サッシにとどまる性質がクサギカメムシよりも低いことも関係していると思われる。

カメムシの隙間への潜入行動は、透明な隙間では潜まないことなどを考えると、越冬中の気温などの環境の変化から死亡を避けるための行動と理解される。また、クサギカメムシは飛来してから潜むまでには、ある程度の期間が必要な傾向にあり、スコットカメムシは短期間で隙間に潜む傾向が観察された。これはクサギカメムシの飛来期間が、スコットカメムシよりも長い[3]ことに由来していると考えられる。

謝辞：カメムシの採集にご協力をいただいた黒部溪谷鉄道黒ゆり荘の皆様、および北海道朝日町糸魚小学校の服部忠雄校長はじめ諸先生方に御礼申し上げます。

平成5年9月1日

文 献

1. 富山県環境衛生課（渡辺 護，品川保弘，荒川 良，岡沢孝雄，川原たま子，飛田忠嗣）（1992）. クサギカメムシの駆除に関する調査報告書，71pp 富山県.
2. 渡辺 護，品川保弘，麻柄 隆，川原たま子，荒川 良，小浜卓司，小菅喜昭，池庄司敏明（1992）. ペストロジー学会誌，7：17-21.
3. 稲岡 徹，渡辺 護，小菅喜昭，小浜卓司（1993）. 衛生動物，投稿中.

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（1992年度）

渡 辺 護 荒 川 良¹ 上 村 清¹

Seasonal Prevalence of Mosquitoes Breeding
along the Sight-seeing Rout of Mts. Tateyama
in Chubu Sangaku National Park in 1992

Mamoru WATANABE, Ryo ARAKAWA¹
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—1991年に引き続き調査した。1992年は1991年までの標高1,000m以上の地点の樹洞、放置古タイヤ、地上水溜まりに加えて、立山山麓部の横江（標高250m）と千寿ヶ原（標高500m）のスギ林林縁部に設置した古タイヤから発生する蚊類の季節消長も調べた。横江では他の地域では全く得られていないフタクロホシチビカが多数得られたほか、ヤマトヤブカ、キンバラナガハシカの個体数が特に多かった。千寿ヶ原では、種構成は美女平のタイヤに酷似していたが、個体数はどの種類も著しく少なかった。また、両地域ともトワダオオカが得られ、本種が立山の低山帯でも重要な蚊捕食者になっていることが考えられた。山地帯の美女平の樹洞、放置古タイヤからは、これまでの調査結果と同様、春にブナノキヤブカ、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。また、昨年までは得られなかったシロカタヤブカが9月に樹洞から1個体採集され、ヤマトクシヒゲカも夏以降多数得られた。ブナ坂で新たに発見した樹洞からは、7種類の蚊が得られたが、美女平の樹洞に比べて種類数、個体数とも少なかった。弥陀ヶ原追分の道路脇雪解け水溜まりからは、これまで同様6、7月にハクサンヤブカと多数のエゾヤブカが採集された。調査地域で得られたヤブカ類の多くとキンバラナガハシカはヒトから吸血する事が知られており、特にヤマトヤブカ、キンバラナガハシカは山地帯～低山帯にかけて個体数が多く、ヒトへの吸血被害が懸念される。

富山県下の観光のメッカである中部山岳国立公園の立山—黒部アルペンルートを訪れる観光客は年間100万人を越えるようになった。市街地では都市化が進んで自然に親しむ機会が少なくなり、立山などで林内や草原を散策する人が今後さらに増加していくと考えられる。これら観光客や登山者に、観光ルート沿いで発生する蚊やブユなどの吸血昆虫による刺

咬被害が増加することが従来から懸念されてきた。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年より調査を行ってきた〔1—3〕。本報では1992年の調査結果を報告する。

調査方法

現地調査は、1992年4月から11月まで毎月1回行った。立山山麓部では、1991年11月15日に横江（標高250m）の水田地帯と民家に挟まれた狭いスギ林内、千寿ヶ原（標高500m）のスギ林内に古タイヤを設置し、内部の溜まり水と蚊幼虫、落ち葉や木屑を採集し、持ち帰った。標高980mの美女平では、ブナの木の新樹洞（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、山麓部同様内部の溜まり水と蚊幼虫等を採集した。標高1,200mのブナ坂では、1991年10月に新たに発見したブナの木の新樹洞（地上2.5mの樹幹分岐部にあり、幅10×30cm、深さ45cm）からも7月を除いて採集した。弥陀ヶ原追分の料金所近くの道路沿い水溜まり（標高1,900m）からは、柄杓を用いて適宜採集した。採取した材料の処理方法は既報〔1〕に準じた。

結果および考察

山麓部の横江（標高250m）と千寿ヶ原（標高500m）では、4月14日と5月20日の調査では蚊幼虫は全く採集されず、タイヤを設置した1991年11月15日以降に蚊の産卵はなかったと推察された。初めて蚊幼虫が得られたのは、両地域とも6月20日採集分であ

った。横江ではTable 1に示したように6月はヤマトヤブカ *Aedes japonicus* とトワダオオカ *Toxorhynchites towadaensis* のみが採集された。トワダオオカは3齢幼虫が3個体と2齢幼虫が1個体であった。ヤマトヤブカはこの後調査を終えた11月17日まで得られた。7月以降はキンバラナガハシカ *Tripteroides bambusa* の数が増加し、美女平より高い標高地ではこれまで全く得られていないフタクロホシヒカ *Uranotaenia bimaculata* が8月以降多数採集された。8月以降はクシヒゲカ類の個体数も増加した。クシヒゲカ類は一部幼虫の検査でキョウトクシヒゲカ *Culex kyotoensis* とヤマトクシヒゲカ *Cx. sasai* が混じていることを確認した。両種は成虫での区別は困難であるが、本調査では採集した幼虫を大半は羽化させてから同定したので、Table 1では両種を併せて示した。トワダオオカは6月以降、7月7日に4齢幼虫が1個体、9月27日に3齢幼虫が2個体と2齢幼虫が1個体採集された。このように横江では7種類の蚊が採集されたが、過去の美女平の古タイヤで得られた蚊の種類数が13種であることと比較して、種構成が単純であることが示された。

千寿ヶ原ではTable 2に示したように6月にはヤマトヤブカのみが得られた。以降、ヤマトヤブカが常に多く、ブナノキヤブカ *Ae. oreophilus*、エセチョウセンヤブカ *Ae. koreicoides* も少数得られた。夏以降はヤマトクシヒゲカが得られたが、横江同様キョウトクシヒゲカが混じていた可能性がある。トワダオオカも9月に3齢幼虫が1個体採集された。こ

Table 1. Seasonal Prevalence of Mosquito Species in a Piece of Tire on the Ground at the Edge of Cedar Forest at Yokoe (250m alt.) in 1992.

	Apr.14	May 20	Jun.18	Jul.7	Jul.21	Aug.18	Sep.17	Oct.22	Nov.17
<i>Toxorhynchites towadaensis</i>	0	0	4	1	0	0	3	0	0
<i>Tripteroides bambusa</i>	0	0	0	132	350	94	232	72	101
<i>Uranotaenia bimaculata</i>	0	0	0	0	0	151	105	115	39
<i>Aedes japonicus</i>	0	0	46	58	190	82	11	34	89
<i>Ae. flavopictus</i>	0	0	0	0	7	3	10	2	18
<i>Culex sasai</i> and <i>Cx. kyotoensis</i>	0	0	0	0	0	13	99	80	27

Table 2. Seasonal Prevalence of Mosquito Species in a Piece of Tire on the Ground at the Edge of Cedar Forest at Senjugahara (500m alt.) in 1992.

	Apr.14	May 20	Jun.18	Jul.7	Jul.21	Aug.18	Sep.17	Oct.22	Nov.17
<i>Toxorhynchites towadensis</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Tripteroides bambusa</i>	0	0	0	3	5	0	8	4	0
<i>Aedes japonicus</i>	0	0	13	56	229	102	41	3	4
<i>Ae. oreophilus</i>	0	0	0	0	0	0	2	0	0
<i>Ae. koreicoides</i>	0	0	0	0	2	0	0	0	0
<i>Ae. flavopictus</i>	0	0	0	0	0	0	22	8	0
<i>Culex sasai</i>	0	0	0	0	1	156	0	236	0

Table 3. Seasonal Prevalence of Mosquito Species in the Tree Hole of Beach Tree at Bijodaira (980m alt.) in 1992.

	Apr.14	May 20	Jun.18	Jul.21	Aug.18	Sep.17	Oct.22	Nov.17
<i>Anopheles omorii</i>	0	0	0	3	0	3	0	0
<i>Toxorhynchites towadensis</i>	0	0	6	0	5	0	0	0
<i>Tripteroides bambusa</i>	3	0	0	0	0	0	7	0
<i>Aedes japonicus</i>	21	30	3	2	0	1	3	2
<i>Ae. oreophilus</i>	264	229	54	44	0	11	1	0
<i>Ae. kobayashii</i>	61	61	43	60	6	59	8	1
<i>Ae. koreicoides</i>	1	1	2	0	0	0	0	0
<i>Ae. nipponicus</i>	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Ae. flavopictus</i>	4	3	0	0	0	0	0	0
<i>Culex sasai</i>	0	0	0	0	0	0	230	12

で記録できた種類は7種類であるが、美女平で得られるブナノキヤブカやエセチョウセンヤブカも得られ、種構成は横江よりも美女平の方に類似していることがわかった。

美女平のブナ樹洞での蚊類の採集飼育結果をTable 3に示した。1992年は、暖冬で積雪が少なく、4月14日には美女平で調査ができたが、地表部はまだ雪におおわれており、樹洞からのみ採集できた。この時、樹洞では蚊の蛹や蛹殻は得られず、採集した材料を24℃の実験室内で飼育したところ、採集後10日以上たってから蛹化が始まり、採集後13日目からヤ

マトヤブカ、ブナノキヤブカ、コバヤシヤブカ *Ae. kobayashii*、ヤマダシマカ *Ae. flavopictus* が羽化してきた。5月20日採集分にはヤマトヤブカの蛹殻も含まれており、既に羽化時期に達していることがわかった。調査期間の合計では例年同様ブナノキヤブカが最も個体数が多く、コバヤシヤブカがこれに次いだ。捕食性のトワダオオカは6月18日に6卵、8月18日に4齢幼虫5個体が採集され、8月には他の幼虫はコバヤシヤブカが6個体採集されただけで、オオカの捕食圧の強さが再確認された。10月から11月まで採集されたクシヒゲカ類は、幼虫期の肉眼お

平成5年9月1日

よび一部幼虫の標本作製により、1991年まで記録されていないヤマトクシヒゲカと同定された。先にも述べたようにキョウトクシヒゲカが混じている可能性は否定できず、また昨年までのキョウトクシヒゲカと報告した中にヤマトクシヒゲカが混じていた可能性もある。次年度以降はクシヒゲカに関しては幼虫期にすべて標本作製する必要性が感じられた。また9月17日採集分でシロカタヤブカが1989年の調査以来初めて1個体だけ採集された。エセチョウセンヤブカ、オオモリハマダラカ *Anopheles omorii*, ヤマダシマカも少数採集されたが、ミスジシマカ *Ae. galloisi* は昨年に引き続き採集されなかった。

地上の放置タイヤ2個での採集結果をTable 4にそれぞれA, Bとして示した。両タイヤで採集された蚊の種類と個体数については、顕著な差はなかつ

た。5月20日採集分では、ヤマトヤブカが羽化までは採集後7日以上かかり、樹洞に比べ雪に覆われている期間が長い地上では蚊の羽化時期が遅れることが確認された。個体数は例年同様ヤマトヤブカが著しく多く、キンバラナガハシカがこれに次いだ。捕食性のトワダオオカはAのタイヤからは得られず、Bのタイヤから7月に15卵、9月に4齢幼虫が1個体得られた。トラフカクイカ *Cx. halifaxii* は、両タイヤとも9月の調査で得られたただけであった。7月以降に採集されたクシヒゲカ類は、幼虫期の肉眼および一部幼虫の標本作製により、ヤマトクシヒゲカと同定されたが、他の地域同様キョウトクシヒゲカが混じている可能性は否定できない。

ブナ坂の樹洞での採集結果をTable 5に示した。この樹洞は1991年10月に発見したもので、当初、樹

Table 4. Seasonal Prevalence of Mosquito Species in Two Pieces of Tire on the Ground at th Edge of Beach Forest at Bijodaira in 1992.

		Apr.14	May 20	Jun.18	Jul.21	Aug.18	Sep.17	Oct.22	Nov.17
<i>Toxorhynchites</i>	A	*	0	0	0	0	0	0	0
<i>towardensis</i>	B		-	0	15	0	1	0	0
<i>Tripteroides bambusa</i>	A		174	76	12	64	68	187	196
	B		-	4	48	138	228	141	313
<i>Aedes japonicus</i>	A		1021	299	162	127	6	38	29
	B		-	104	309	132	5	14	28
<i>Ae. oreophilus</i>	A		47	24	11	0	2	0	1
	B		-	0	0	0	6	0	0
<i>Ae. kobayashii</i>	A		1	2	1	0	12	0	0
	B		-	4	1	2	16	0	0
<i>Ae. koreicoides</i>	A		2	31	2	0	19	15	17
	B		-	6	1	46	4	12	3
<i>Ae. flavopictus</i>	A		3	4	2	0	1	0	0
	B		-	3	0	1	0	0	0
<i>Culex halifaxii</i>	A		0	0	0	0	10	0	0
	B		-	0	0	0	1	0	0
<i>Cx. sasai</i>	A		0	0	0	72	13	44	3
	B		-	0	58	2	85	0	0

The data from each tire were separately shown by upper (A) and under (B) side.

*: The tires were covered by snow.

-.: No data.

Table 5. Seasonal Prevalence of Mosquito Species in the Tree Hole of Beach Tree at Bunazaka (1,200m alt.) in 1992.

	May 20	Jun.18	Jul.21	Aug.18	Sep.17	Oct.22	Nov.17
<i>Toxorhynchites towadensis</i>	0	3	-	4	1	0	0
<i>Tripteroides bambusa</i>	0	0	-	10	16	10	0
<i>Aedes japonicus</i>	0	0	-	1	0	0	0
<i>Ae. oreophilus</i>	21	0	-	5	1	9	0
<i>Ae. kobayashii</i>	0	0	-	0	6	14	0
<i>Ae. koreicoides</i>	0	0	-	0	0	0	1
<i>Culex sasai</i>	0	0	-	0	0	0	2

-: No data.

Table 6. Seasonal prevalence of mosquito species in the ground pool at Oiwake (1,900m alt.) in 1992.

	May 20	Jun.18	Jul.21	Aug.18	Sep.17	Oct.22	Nov.17
<i>Aedes hakusanensis</i>	*	12	0	0	**	**	*
<i>Ae. esoensis</i>		122	85	0			
<i>Culex orientalis</i>		0	0	2			

*: The ground was covered by snow.

**: The ground pool dried up.

洞内は木の葉、小枝、木屑などでほとんど埋まっており、水は少量しかなかった。そこで、ただちにこれらをすべて取り出したが、5月20日にブナノキヤブカが少数得られただけで、6月18日にはトワダオオカのみ3卵、8月以降はトワダオオカの捕食の影響もあって、他の蚊は種類数、個体数とも著しく少なかった。種類構成は美女平の樹洞に類似していた。

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

以上の結果から、標高1,000mを越える立山の観

光ルート沿いの蚊の個体群は、毎年、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。標高500mの千寿ヶ原の森林内でも美女平の森林内と同様の蚊の種類構成であることがわかった。一方、人家が多くなる横江では、ブナノキヤブカ、コバヤシヤブカ、エセチョウセンヤブカといったヤブカ類が得られなくなり、かわってフタクロホシチビカが多くなった。また、富山の低地で普通に産するヒトスジシマカは1992年度の調査ではどこからも得られなかった。また、蚊幼虫捕食性のトワダオオカは横江からブナ坂にいたる広い範囲に生息することがわかり、森林地帯から発生する蚊類の重要な天敵であることが再確認された。

平成5年9月1日

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する。

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

3. 渡辺 護，荒川 良，岡沢孝雄，上村 清（1992）.
富山衛研年報，15，76-80.

文 献

1. 荒川 良，渡辺 護，上村 清（1990）. 富山衛研年報，13，70-75.

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 布野 純子³ 草山 真由美⁴ 遠藤 京子⁵
 斉藤 尚仁⁶

Epidemiological Surveillance of Japanese
 Encephalitis in Toyama Prefecture in 1992

Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Osayuki MORITA,
 Atsuko NANBU¹, Yoshiko HASHIZUME², Junko NUNO³
 Mayumi KUSAYAMA⁴, Kyoko ENDO⁵ and Naohito SAITO⁶

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

蚊の捕集数は、上市と福野で前年度よりもわずかに減少したが、富山月岡、富山萩原、婦中友坂、黒部、小矢部、氷見の6定点では増加した。発消長は各定点で異なっていたが、例年の如く7月下旬に捕集数が最高になった定点は上市と黒部のみで、他の6定点では8月上・中旬、もしくは9月上旬に最高になった。しかしながら、全ての地点で両期にピークを形成する二峰型の消長を示した。

豚血清の日本脳炎ウイルスH I抗体調査では、7月14日、7月28日、8月4日、8月17、18日に10～20倍の陽性例が認められたが、ウイルスの新鮮感染が認められたのは9月21日になってからであった。また、前年よりも抗体保有率は低く、最高でも10%にすぎなかった。

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多少遅れたことによって、1992年も日本脳炎患者は発生しなかったと考えられる。

富山県における近年の日本脳炎真性患者の発生は、1982年の1例のみである。1982年には、コガタアカイエカに非常に強度な殺虫剤抵抗性の発現が明らかになった〔1, 2〕。それが主因で、近年はコガタアカイエカ発生量も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月から多くなる年には、日脳ウイルスの侵淫の時期が早く、しかも拡大も早いことが明らかになってきた〔5〕。このことは1960年代のように、ウイルスの

侵入が7月中・下旬に始まると日本脳炎の流行が起こる可能性が示唆される。そこで、それらの危険を未然に防ぐ目的で、1991年に引き続き日本脳炎を媒介するコガタアカイエカおよび日脳ウイルスの動態を、6月から9月まで監視してきたので報告する。

I. 蚊の発生調査

-
- | | | | |
|-----------|----------|----------|----------|
| 1. 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. 県健康課 | | |

表1. 1992年度(平成4年度)調査地点(トラップ設置畜舎)の概要

番 号	地点名	類 別	地 点 の 概 要
1	富山月岡	牛 舎	富山市大井、合田初男所有。乳牛15頭。 平野部水田地帯、約1km離れたところに他牛舎あり。 300m南に熊野川が流れ、対岸は水田、そして丘陵に連なる。
2	富山萩原	牛 舎	富山市萩原、愛場正治所有。乳牛12頭。 平野部の水田と人家など混在した地域。 脇に高速道路。東100mに熊野川、西300mに神通川が流れる。
3	婦中友坂	豚 舎	婦中町友坂、数井白三郎所有。親豚14頭、肥育豚40頭。 丘陵部縁の水田地帯、集落の外れ。近くに他畜舎なし。 丘陵の雑木林、竹林および杉植林地まで約100m。
4	上 市	牛 舎	上市町青井出新、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。

1. 調査地と調査方法

蚊の捕集定点は表1に示す通りで、1991年度はこの他に舟橋があったが、同定点は家畜の飼養を止めたため定点から除外した。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〕。ただし、蚊の捕集は従来のNEC6Wブラックライトを用いた野沢式トラッ

プから、1991～1992年にかけて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に変更した。

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24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多い傾向にあり、年間捕集数は上市、福野を除いて前

表2-1. 1992年8定点(畜舎)における蚊雌成虫の捕集数

(毎週水曜日ライトトラップ一晩捕集)

定点 種類 調査日	① 富 山 月 岡					② 富 山 萩 原				
	A s	C t	C p	その他	計	A s	C t	C p	その他	計
6. 10	0	134	0	1	135	0	115	0	0	115
17	0	109	2	0	111	0	88	0	0	88
24	0	116	0	0	116	0	133	0	0	133
7. 1	0	403	0	0	403	0	452	0	0	452
8	0	910	5	0	915	0	863	0	0	863
15	0	160	0	0	160	0	211	0	0	211
22	0	483	0	0	483	0	385	0	0	385
29	0	780	0	0	780	0	667	0	0	667
8. 5	0	416	5	0	421	0	391	0	0	391
12	0	618	1	0	619	0	511	0	0	511
19	0	1,557	10	0	1,567	0	1,375	0	0	1,375
26	0	1,063	13	0	1,076	0	888	0	0	888
9. 2	0	2,088	1	0	2,089	0	1,895	0	0	1,895
9	0	948	0	0	948	0	768	0	0	768
16	0	164	0	0	164	0	186	0	0	186
24	0	49	1	0	50	0	59	0	0	59
計	0	9,998	38	1	10,037	0	8,987	0	0	8,987

定点 種類 調査日	③ 婦 中 友 坂					④ 上 市 青 井 出 新				
	A s	C t	C p	その他	計	A s	C t	C p	その他	計
6. 10	0	54	0	0	54	0	12	0	0	12
17	0	5	0	0	5	0	14	0	0	14
24	0	35	1	0	36	0	8	2	0	10
7. 1	0	188	1	0	189	0	132	2	0	134
8	0	262	2	0	264	0	135	0	0	135
15	0	236	0	2	238	0	202	0	0	202
22	0	381	0	0	381	0	963	1	0	964
29	0	648	2	0	650	0	623	0	0	623
8. 5	0	522	0	1	523	0	713	0	0	713
12	0	3,244	1	1	3,246	0	254	0	0	254
19	0	1,192	0	0	1,192	0	474	0	0	474
26	0	1,442	1	0	1,443	0	436	0	0	436
9. 2	0	1,425	1	1	1,427	0	831	0	0	831
9	0	896	0	3	899	0	167	0	0	167
16	0	250	2	2	254	0	51	0	0	51
24	0	72	0	0	72	0	10	0	0	10
計	0	10,852	11	10	10,873	0	5,025	5	0	5,030

注1. A s = *Anopheles sinensis* シナハマダラカ、C t = *Culex tritaeniorhynchus* コガタアカイエカ、C p = *Culex pipiens* アカイエカ表わし、その他にはカラツイエカ、オオクロヤブカ、ヒトスジャブカなどが含まれる。

2. 一印はトラップなどの故障で捕集が出来なかったことを示す。

平成5年9月1日

表2-2. 1992年8定点(畜舎)における蚊雌成虫の捕集数

(毎週水曜日ライトトラップー晩捕集)

定点 種類 調査日	⑤ 福 野 二 日					⑥ 小 矢 部 金 屋 本 江				
	A s	C t	C p	その他	計	A s	C t	C p	その他	計
6. 10	0	18	21	0	39	0	7	1	0	8
17	0	23	3	0	26	0	12	7	0	19
24	0	30	6	0	36	0	41	17	0	58
7. 1	0	242	33	0	275	0	90	64	0	154
8	0	248	14	0	262	0	84	24	0	108
15	0	303	33	0	336	1	291	8	0	300
22	1	618	32	0	651	0	362	2	0	364
29	0	431	34	0	465	1	613	15	0	629
8. 5	0	29	9	0	38	0	69	2	0	71
12	0	631	62	0	693	0	53	0	0	53
19	0	597	85	0	682	0	522	3	0	525
26	0	410	49	0	459	0	320	2	0	322
9. 2	0	1,496	230	0	1,726	0	0	0	0	0
9	0	939	356	0	1,295	0	2,510	18	0	2,528
16	0	285	128	3	416	0	620	20	0	640
24	0	231	86	0	317	1	398	2	0	401
計	1	6,531	1,181	3	7,716	3	5,992	185	0	6,180

定点 種類 調査日	⑦ 黒 部 植 木					⑧ 氷 見 加 納				
	A s	C t	C p	その他	計	A s	C t	C p	その他	計
6. 10	0	6	0	0	6	4	30	2	9	45
17	0	15	0	0	15	10	32	1	4	47
24	0	10	0	0	10	21	50	7	7	85
7. 1	0	52	1	0	53	26	105	17	4	152
8	0	64	1	0	65	10	149	16	1	176
15	0	66	1	0	67	20	277	10	2	309
22	0	365	4	0	369	86	279	2	0	367
29	0	665	1	0	666	60	304	9	3	376
8. 5	0	257	0	0	257	133	207	5	0	345
12	0	10	0	0	10	152	1,574	51	11	1,788
19	0	49	0	0	49	18	300	6	0	324
26	0	73	0	0	73	18	228	3	1	250
9. 2	0	289	1	0	290	23	1,530	26	14	1,593
9	0	22	0	0	22	10	1,200	22	2	1,234
16	0	15	0	0	15	8	414	21	2	445
24	0	10	0	0	10	5	298	6	0	309
計	0	1,968	9	0	1,977	604	6,977	204	60	7,845

注. 1. A s = *Anopheles sinensis* シナハマダラカ、C t = *Culex tritaeniorhynchus* コガタアカイエカ、C p = *Culex pipiens* アカイエカ表わし、その他にはカラツイエカ、オオクロヤブカ、ヒトスジャブカなどが含まれる。

2. 一印はトラップなどの故障で捕集が出来なかったことを示す。

年よりも多くなった。全定点を合計した総捕集数は、前年に比べ1.2倍に増加した。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わずかに多く、年間捕集数は前年の1.2倍に増加した。日最高捕集数は8月6日の2,134個体であり、前年に比べ1か

月早まった。

〔富山萩原〕年間捕集数は、前年度の1.3倍に相当する50,000個体に増加した。日最高捕集数は8月16日に2,875個体捕集され、前年度の2倍（8月16日）になった（表3）。

〔婦中友坂〕6月上旬から前年度よりも捕集数は多く、年間捕集数は前年度の1.6倍の75,000個体に増

表3-1. 1992年連日捕集3定点におけるコガタアカイエカ雌成虫捕集成績

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	14	4	0	18	7. 1	403	452	189	1,044
2	12	8	0	20	2	439	427	141	1,007
3	40	19	2	61	3	270	244	120	634
4	65	28	10	103	4	405	-	203	608
5	87	55	5	147	5	452	726 ^a	151	1,329
6	126	-	12	138	6	478	438	149	1,065
7	45	117 ^a	36	198	7	464	398	162	1,024
8	66	60	34	160	8	915	860	264	2,039
9	70	65	16	151	9	-*	745	131	876
10	135	115	54	304	10	-*	-	283	283
11	99	85	18	202	11	433	-	210	643
12	130	-	28	158	12	-*	1,357 ^b	189	1,546
13	102	-	0	102	13	169	275	265	709
14	89	206 ^b	0	295	14	210	308	242	760
15	76	63	0	139	15	160	211	238	609
16	150	115	23	288	16	231	208	207	646
17	111	88	5	204	17	338	-	437	775
18	114	106	31	251	18	550	-	264	814
19	137	110	0	247	19	848	766 ^b	263	1,877
20	144	-	23	167	20	556	495	428	1,479
21	63	216 ^a	40	319	21	556	541	409	1,506
22	220	155	23	398	22	483	385	381	1,249
23	234	174	10	418	23	497	379	651	1,527
24	116	133	36	285	24	1,087	-	818	1,905
25	269	105	84	458	25	559	-	617	1,176
26	218	-	30	248	26	626	1,884 ^b	552	3,062
27	346	-	54	400	27	734	592	823	2,249
28	402	621 ^b	96	1,119	28	895	816	1,029	2,740
29	860	790	63	1,713	29	780	567	650	2,097
30	522	487	68	1,077	30	502	455	517	1,474
31					31	347	330	389	1,066
計	5,062	3,925	801	9,788	計	14,387	14,059	11,372	39,818

注. 1. a は前日と当日分、b は前々日、前日と当日分の捕集数を示す。

2. * はトラップなどの故障による欠測を示す。

平成5年9月1日

加した。しかも、日最高数は前年度の1,781個体（7月14日）に対し、今年度は2倍の3,504個体（8月10日）であった（表3）。

〔上市青井出新〕前年度とほぼ同じ消長を示したが、年間捕集数は前年度の約90%に減少した。日最高数は7月22日の964個体で、前年度（8月7日）の約1/5であった。本調査地点は捕集数が前年度よりも

わずかに減少した（表2-1）。

〔福野二日〕年間捕集数は前年度の90%に減少した。日最高捕集数も9月2日の1,496個体であり、前年度（8月21日）の83%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おり、今年度も同様な消長を示した。すなわち、小矢部の日最高捕集日は9月9日

表3-2. 1992年連日捕集3定点におけるコガタアカイエカ雌成虫捕集成績

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
8. 1	347	-	106	453	9. 1	959	788 ^a	1,194	2,941
2	209	593 ^a	170	972	2	2,089	1,895	1,427	5,411
3	196	164	396	756	3	1,412	1,168	1,222	3,802
4	302	266	433	1,001	4	789	-	1,076	1,865
5	421	391	523	1,335	5	1,071	-	1,249	2,320
6	2,134	1,566	512	4,212	6	573	1,578 ^b	604	2,755
7	42	-	768	810	7	977	832	764	2,573
8	1,728	-	961	2,689	8	-*	914	812	1,726
9	701	2,853 ^b	931	4,485	9	949	768	899	2,616
10	22	49	3,504	3,575	10	264	246	601	1,111
11	32	72	3,379	3,483	11	246	-	903	1,149
12	625	511	3,246	4,382	12	548	-	456	1,004
13	877	637	1,389	2,903	13	501	855 ^b	232	1,588
14	1,207	-	1,320	2,527	14	126	-	334	460
15	1,238	-	1,936	3,174	15	204	272 ^a	203	679
16	1,218	2,875 ^b	1,234	5,327	16	238	186	254	678
17	759	657	1,157	2,573	17	290	224	500	1,014
18	1,049	879	1,344	3,272	18	293	-	235	528
19	1,567	1,375	1,192	4,134	19	86	-	174	260
20	1,547	1,406	1,684	4,637	20	73	337 ^b	164	574
21	1,263	-	2,361	3,624	21	29	20	95	144
22	717	-	1,529	2,246	22	65	-	102	167
23	1,081	892 ^b	1,291	3,264	23	77	115 ^a	42	234
24	-*	1,137	3,264	4,401	24	50	59	72	181
25	1,787	1,235	1,013	4,035	25	152	-	85	237
26	1,076	888	1,443	3,407	26	109	-	50	159
27	1,302	1,013	2,412	4,727	27	13	206 ^b	57	276
28	1,941	-	2,696	4,637	28	27	21	15	63
29	852	-	1,616	2,468	29	54	41	8	103
30	818	2,264 ^b	2,609	5,691	30	23	19	16	58
31	941	-	2,356	3,297	31				
計	27,999	21,723	48,775	98,497	計	12,287	10,544	13,845	36,676

注. 1. a は前日と当日分、b は前々日、前日と当日分の捕集数を示す。

2. * はトラップなどの故障による欠測を示す。

の2,528個体に対し、福野は9月2日の1,496個体、年間捕集数は5,992個体に対し6,531個体と近似している(表2-2)。

〔黒部植木〕前年度は捕集数が1,700個体と少なかったが、今年度は前年度の約1.2倍になった(表2-2)。発生源は7月に年間捕集数の50%が捕集される盛夏発生源に近い消長を示した。

〔氷見加納〕捕集数は前年度の約1.3倍に増加した。日最高数は8月12日の1,788個体で、前年度の8月7日835個体の2倍に達した(表2-2)。

近年は各定点とも、おおむね7月中・下旬と8月中旬に発生数の山がみられる年二峰型が多い傾向があり〔4〕、今年度もその型の消長を示した。しか

し、これは本来多数の個体が捕集されるべき7月下旬に、降水量不足、農薬一斉散布などの影響で捕集されず、結果的にこのような消長になったとも考えられる。

年間捕集数はここ数年、1年ごとに増減を繰り返す動きを示し(図1)、近年のコガタアカイエカの発生状況には年変動がみられる。その原因については気象状況(表4、1992年は気温が平年値よりもやや高い傾向を示し、日照量も多い)、発生源の水田の状況など2、3考えられ、現在検討中である。

今後は、気象状況と発生源の水田および吸血源の畜舎などと、コガタアカイエカ自身の生産性(繁殖能力)を細部にわたって調査研究を行い、コガタア

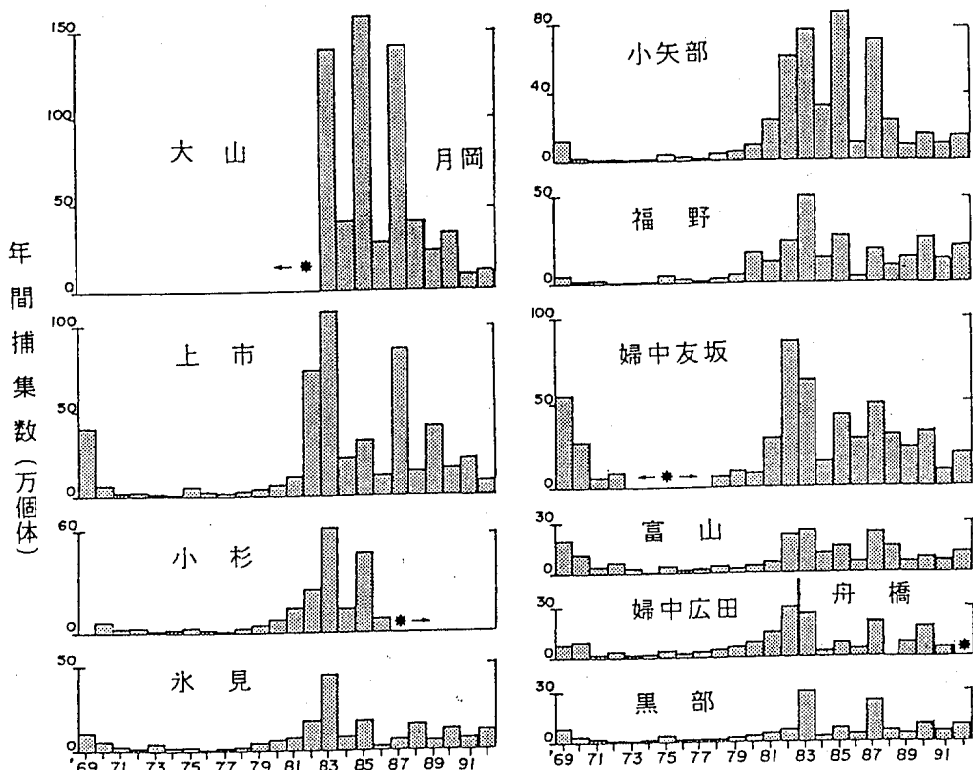


図1. 富山県の各調査地点におけるコガタアカイエカ捕集数の年変動

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

表4. 1992年の富山地方の気象状況と平年値との比較

月、旬	気 温 (℃)		降水量 (mm)		日照時間 (hrs)		
	1992年値	平年値	1992年値	平年値	1992年値	平年値	
5 月	上旬	14.1	15.4	27.5	45.9	56.2	62.7
	中旬	15.4	16.7	39.5	43.5	45.2	63.9
	下旬	15.8	17.4	34.0	35.4	64.1	74.2
6 月	上旬	20.9	19.7	4.0	49.1	70.3	61.3
	中旬	19.7	20.4	8.5	57.3	45.2	54.4
	下旬	19.1	21.3	173.0	90.5	54.3	37.0
7 月	上旬	23.0	23.0	10.5	89.9	56.8	43.2
	中旬	23.2	24.3	81.0	102.7	34.5	42.9
	下旬	27.4	26.4	22.0	49.2	73.3	79.8
8 月	上旬	25.1	26.3	48.0	51.3	56.0	69.4
	中旬	26.4	26.4	29.0	46.6	48.0	67.6
	下旬	26.8	25.4	60.0	78.7	80.3	63.3
9 月	上旬	25.5	23.7	20.5	79.4	63.5	48.2
	中旬	21.0	21.5	30.5	87.6	46.0	42.8
	下旬	19.5	19.5	41.0	66.1	48.0	42.9
10月	上旬	17.5	17.5	48.5	55.6	46.8	43.8
	中旬	17.0	15.7	31.5	50.8	31.7	45.2
	下旬	14.3	13.7	53.0	59.5	40.5	49.7

(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。)

カイエカの発生量に及ぼす要因を明らかにしたい。

II. 豚血清の日本脳炎H I 抗体保有調査

1. 調査対象と検査方法

7月14日から9月29日まで、毎週火曜日に富山食肉総合センターに搬入される生後6か月の県内産(主として高岡市と氷見市)の豚を対象として、毎回20頭から血液を採取して、日本脳炎抗体の保有状況を調査した。抗体価の測定は、例年の如く伝染病流行予測検査術式〔7〕に従った。被検血清は2回アセトン処理を行って、非特異阻止物質(インヒビ

ター)を除去し、市販の日本脳炎ウイルスJaGAr 01株(デンカ生研)を抗原として、赤血球凝集抑制反応(HI)で抗体価を測定した。血球は1日齢のニワトリの赤血球を用い、反応はマイクロタイター法で行った。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8分の1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。

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14日から8月17、18日までは、抗体価

表5. 1992年の豚血清における日本脳炎ウイルスのHI抗体保有状況

検体 採取日	抗 体 価								2-ME 感受性 陽性数
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320	≥640	
7. 14	18 (90)	2 (10)							
21	20 (100)								
28	19 (95)	1 (5)							
8. 4	18 (90)	1 (5)	1 (5)						
11	20 (100)								
17	19 (95)	1 (5)							
18									
25	20 (100)								
9. 1	20 (100)								
8	20 (100)								
14	20 (100)								
21	18 (90)				2 (10)				2 (100)
22									
29	20 (100)								
計	232 (96.7)	5 (2.1)	1 (0.4)	0 (0.0)	2 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100)

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

2. 表中の数字は観察実数を表わし、括弧内の数字はパーセントを示す。

平成5年9月1日

10～20倍を保有する例がみられたが、抗体保有率は5～10%と低率であった。9月21、22日の調査で陽性率は10%であったが、2例とも抗体価80倍以上で、しかも2例とも2-MEに感受性を示し、日本脳炎ウイルスの拡大が懸念された。しかし、9月29日の調査では抗体価10倍以上を保有する豚はみられなくなった。

以上の結果から、豚の間では9月中旬に日本脳炎ウイルスの新鮮感染が始まったと考えられるが、拡大は起こらなかったと判断される。1991年の調査では8月下旬に新鮮感染がみられ、その後陽性率も上昇し、9月24日には60%に達したのに対し、1992年は7月14日と9月21、22日の陽性率10%が最高で、9月29日の調査では陽性例は認められなくなった。このことから蚊の発生数は1991年よりも増加したが、日本脳炎ウイルスが豚の間で急速に拡がることはなかったと考えられ、従ってヒトへの感染も起こらなかったと判断される。

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

文 献

1. 上村 清, 丸山由紀子 (1983). 衛生動物, 34, 33-37.
2. 渡辺 護, 竹部幸子, 荒川 良, 上村 清, 小橋恭一 (1985). 富山衛研年報, 8, 33-37.
3. 渡辺 護, 長谷川澄代, 森田修行, 南部厚子, 橋爪淑子, 松原勝博, 布野純子, 草山真由美, 布村洋子, 金木 潤 (1993). 富山衛研年報, 15, 81-91.
4. 富山県厚生部編 (1992). 平成3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症課感染症対策室 (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 草山 真由美¹
 南部 厚子² 吉田 慶子³ 田中 桂子⁴ 橋爪 淑子⁵
 大垣 由香里⁶ 川越 久美子⁷ 水木 路男⁸ 遠藤 京子⁹
 布野 純子¹⁰

Epidemiological Surveillance for Poliovirus in Toyama Prefecture

Takashi NAKAYAMA, Kumiko MATSUURA,
 Osayuki MORITA, Mayumi KUSAYAMA¹, Atsuko NAMBU²,
 Keiko YOSHIDA³, Keiko TANAKA⁴,
 Yoshiko HASHIZUME⁵, Yukari OHGAKI⁶,
 Kumiko KAWAGOSHI⁷, Michio MIZUKI⁸, Kyoko ENDOH⁹ and Junko NUNO¹⁰,

要 旨 平成4年度は、感染源調査及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150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3型（Polio 3）が1株、エコーウイルス5型（Echo 5）が1株、エコーウイルス22型（Echo 22）が3株、エコーウイルス31型（Echo 31）が2株で、合計7株の腸管系ウイルスを分離した。なお、Polio 3のウイルス性状はワクチン株様性状であった。

感受性調査は、全年齢層を対象に248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87.5%、2型が97.2%、3型が78.6%で、前年度の調査結果と同様であった。また、抗体保有者の平均抗体価は、1型が77.7倍、2型が94.4倍、3型が25.8倍で、抗体保有率と同様に2型、1型、3型の順であった。

ポリオウイルスの動向を監視するために毎年実施している調査であるが、平成4年度はウイルス分離による感染源調査と、住民抗体保有状況を把握するための感受性調査を実施した。

I 感染源調査 調査および検査方法

県東部の魚津保健所管内および県西部の小矢部保健所管内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。ただし、小矢部

- | | | | | |
|-----------|----------|----------|----------|-----------|
| 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5年9月1日

保健所管内の0～1歳児の乳児においては、秋期生ワクチン投与後2か月以上経過した平成5年1月に糞便を採取した。採取した糞便を、Eagle-MEM培養液で約10%乳剤とし、その遠心上清に抗生物質を加えたものを検体とし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、エンテロウイルス混合血清（国立予防衛生研究所）および型特異抗血清（国立予防衛生研究所、デンカ生研KK、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細胞も使用した。

結果及び考察

小矢部保健所管内で71名、魚津保健所管内で79名の合計150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150検体から7株の腸管系ウイルスが分離され、分離率は4.7%であった。分離ウイルスの内訳は、ポリオウイルス3型（Polio 3）が1株、エコーウイルス5型（Echo 5）が1株、エコーウイルス22型（Echo 22）が3株、エコーウイルス31型（Echo 31）が2株であった。

Polio 3は小矢部保健所管内の10か月齢の男児から分離された。この男児は平成4年10月29日にポリオワクチンを投与されているが、検体は平成5年1月19日に採取されており、伝染病流行予測調査実

Table 1. Virus Isolation from Feces of Children

Area	Age (year)	No. of feces	Virus isolation positive		Identification of isolates			
			No.	Rate(%)	Polio 3	Echo 5	Echo 22	Echo 31
Oyabe	0	17	1	5.9	1			
	1	1	0	0				
	2	0						
	3	16	0	0				
	4	28	1	3.6				1
	5	9	0	0				
	6	0						
Total		71	2	2.8	1			1
Uozu	0	24	3	12.5			3	
	1	4	1	25.0		1		
	2	10	1	10.0				1
	3	18	0	0				
	4	0						
	5	14	0	0				
	6	9	0	0				
Total		79	5	6.3		1	3	1
Total		150	7	4.7	1	1	3	2

Date of survey : Oyabe ; Sep. 28～Oct. 3, 1992 and Jan. 18～19, 1993,
Uozu ; Sep. 18～Oct. 2, 1992

施要領〔1〕の「生ワクチン投与後2か月以上経過」の検体採取条件に該当している。また、臨床的症状については、検体採取時およびその後においても特に異常の報告を受けていない。国立予防衛生研究所に依頼したウイルス性状の検査の結果、分子生物学的には抗原性がセービン3型とセービン1型のレコンピナントであったが、温度感受性マーカー試験では $rect/40^{\circ}$ で、セービン株（ワクチン株）様性状を示すウイルスであった。以上のことから、分離されたPolio 3はワクチン由来ウイルスで、ワクチン接種後2か月以上にわたってこの男児の腸管で生存していたものと思われる。

ポリオ以外の腸管系ウイルスは、小矢部地区ではEcho 31が1株、魚津地区ではEcho 5が1株、Echo 22が3株、Echo 31が1株の合計6株が分離された。病原微生物検出情報〔2〕によれば、Echo 5は夏期を中心に発熱、上気道炎、髄膜炎などの有症者からの分離が報告されているが、Echo 22、Echo 31の分離報告例は少ない。おそらくEcho 22やEcho 31が感染しても無症状か、あるいは軽症で推移するために検出される機会が少ないものと思われる。以上、本年度の感染源調査の結果、分離されたPolio 3はワクチン由来で、野生株の流行とは関係がなく、またポリオ以外のウイルスでは、分離されたエコーウイルスなどを主とする腸管系ウイルスが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4年7月から10月までで、0歳から9歳までの年齢については、この期間中に県内4か所の病医院小児科を受診した患者の血清を利用した。

中和抗体価の測定方法は、伝染病流行予測調査検査術式〔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63歳までの合計248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に示す。年齢区分別に見た抗体価4倍以上の抗体保有率は、1型は68.8%~100%、2型では72.7%~100%、3型では54.5%~100%であった。ワクチン接種月齢に満たない乳児を含む0~1歳を除けば、3型の15~19歳など一部の年齢区分にやや低い保有率が見られるものの、全体的には各年齢区分とも集団免疫として十分高い抗体保有率を示していた。対象者全体の抗体保有率は、1型は87.5%、2型は97.2%、3型は78.6%を示し、2型が最も高く、次いで1型、3型の順で、この結果は前年度の調査結果と同様な傾向であった〔4〕。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77.7倍、2型は94.4倍、3型は25.8倍であった。

検査した248人の中で、1型、2型、3型のすべての型に対する抗体を保有する人は177人（71.4%）であった（Table 3）。逆に1、2、3型すべてに対して抗体を持たない人は5人（2.0%）であったが、5人ともワクチン接種月齢に満たない乳児であった。その他の66人（22.6%）は3種の型のうち1種または2種の型に対してのみ抗体を保有していた。1、2、3、型全てに対する抗体保有者の割合を年齢区分別に比較してみた。ワクチンを接種していない乳児を含む0~1歳と、ワクチン接種制度実施以前に生まれた人の多い40歳以上の年齢区分を除けば、15~19歳の全型抗体保有者は32人中12人（37.5%）で、その他の年齢区分に比べて低率であった（ $P < 0.05$ ）。これは15~19歳の3型に対する抗体保有率が低い傾向を示していることによるもので、このことは前年度の調査結果と同様であった〔4〕。

平成5年9月1日

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

Type 1

Age group (years)	Total	No. of serum with neutralizing antibody titer									Positive rate(%)	Geometric* mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512		
0~1	22	6	0	1	1	0	1	1	1	11	72.7	245.6
2~3	20	0	0	1	0	0	0	0	3	16	100.0	374.8
4~6	21	1	0	0	0	0	4	5	3	8	95.2	215.3
7~9	19	1	0	0	2	4	0	6	0	6	94.7	118.6
10~14	37	0	0	1	2	2	15	5	5	7	100.0	106.2
15~19	32	10	2	2	5	9	3	0	1	0	68.8	24.1
20~24	21	2	1	2	5	4	5	0	2	0	90.5	30.9
25~29	26	2	2	1	4	3	7	2	5	0	92.3	47.8
30~39	23	3	1	2	2	5	4	4	2	0	87.0	43.7
40~	27	6	3	2	2	8	3	3	0	0	77.8	26.2
Total	248	31	9	12	23	35	42	26	22	48	87.5	77.7
Rate(%)	100	12.5	3.6	4.8	9.3	14.1	16.9	10.5	8.9	19.4	—	—

Type 2

Age group (years)	Total	No. of serum with neutralizing antibody titer									Positive rate(%)	Geometric* mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512		
0~1	22	6	0	1	0	1	1	2	4	7	72.7	206.5
2~3	20	0	0	0	0	0	4	2	6	8	100.0	238.9
4~6	21	0	0	0	0	2	1	9	7	2	100.0	156.5
7~9	19	0	0	0	1	2	6	6	2	2	100.0	99.0
10~14	37	1	0	0	0	5	8	14	7	2	97.3	112.2
15~19	32	0	0	0	3	9	8	7	3	2	100.0	70.0
20~24	21	0	0	1	2	5	6	5	1	1	100.0	59.7
25~29	26	0	0	1	0	6	6	8	2	3	100.0	88.0
30~39	23	0	0	0	2	10	7	1	3	0	100.0	52.0
40~	27	0	1	1	2	6	9	4	3	1	100.0	57.7
Total	248	7	1	4	10	46	56	58	38	28	97.2	94.4
Rate(%)	100	2.8	0.4	1.6	4.0	18.5	22.6	23.4	15.3	11.3	—	—

Type 3

Age group (years)	Total	No. of serum with neutralizing antibody titer									Positive rate(%)	Geometric* mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512		
0~1	22	10	1	1	0	0	4	3	1	2	54.5	80.4
2~3	20	2	1	2	4	3	2	5	1	0	90.0	37.3
4~6	21	2	1	2	4	5	3	4	0	0	90.5	32.0
7~9	19	6	1	6	1	4	1	0	0	0	68.4	14.4
10~14	37	7	4	10	6	6	3	1	0	0	81.1	14.9
15~19	32	13	1	6	7	2	2	0	1	0	59.4	17.1
20~24	21	7	2	5	5	1	1	0	0	0	66.7	11.9
25~29	26	2	0	2	7	4	8	2	1	0	92.3	36.0
30~39	23	0	1	3	1	10	6	2	0	0	100.0	32.0
40~	27	4	2	2	5	4	5	5	0	0	85.2	32.0
Total	248	53	14	39	40	39	35	22	4	2	78.6	25.8
Rate(%)	100	21.4	5.6	15.7	16.1	15.7	14.1	8.9	1.6	0.8	—	—

* Titer of ≥512 was calculated as 512

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

Age group (years)	No. of sera	Negative against all types	Positive against						
			Type1	Type2	Type3	Types1&2	Types2&3	Types1&3	Types1, 2&3
0~1	22	5	1	1	0	3	0	0	12
2~3	20	0	0	0	0	2	0	0	18
4~6	21	0	0	1	0	1	0	0	19
7~9	19	0	0	1	0	5	0	0	13
10~14	37	0	1	0	0	6	0	0	30
15~19	32	0	0	3	0	10	7	0	12
20~24	21	0	0	2	0	5	0	0	14
25~29	26	0	0	0	0	2	2	0	22
30~39	23	0	0	0	0	0	3	0	20
40~	27	0	0	0	0	4	6	0	17
Total (%)	248 (100)	5 (2.0)	2 (0.8)	8 (3.2)	0 (0)	38 (15.3)	18 (7.3)	0 (0)	177 (71.4)

現在国内では、ポリオに対する抗体を獲得する機会にはワクチン接種以外には期待できない。そこで、ワクチン接種歴と抗体保有状況について検討を加えた (Table 4, Table 5)。ワクチン歴別に各型の抗体保有率を見ると (Table 4)、ワクチン接種者 168 人の抗体保有率は、1 型では 94.0% (158/168)、2 型が 100% (168/168)、3 型が 80.4% (135/168) で、3 型の抗体保有率は他の型に比べ有意差が認められた ($P < 0.01$)。また、ワクチン 1 回接種者と 2 回接種者との抗体保有率の比較では、1 型および 2 型では接種回数間に有意差は認められなかったが、3 型では差が認められた ($P < 0.01$)。このことは、現在の 3 型のワクチン株ウイルスによる抗体産生率は他の型の 2 株より低く、抗体保有率を高めるためには、少なくともワクチンの 2 回接種は不可欠であり、場合によっては 3 回接種、あるいは、3 型抗体の抗体価が他の型より全般的に低いこと (Table 2) をも考えると、ワクチンの改良などについても考慮する必要があることを示している。ワクチン非接種者 16 人については、1 型は 50.0% (8/16)、2 型は 56.3% (9/16)、3 型が 37.5% (6/16) で、各型とも低い保有率を示したが、非接種者 16 人中 8 人は 0 歳児であり、いずれワクチンを接種すればその大部分は抗体を保有することが予想される。ワクチン歴不明者 64 人は高年齢区分に多かつ

た。このグループには、ワクチン接種制度実施以前に生まれた人達が、当時流行していた野生株に不顕性感染して抗体を獲得した人も含まれていると考えられるが、1 型は 79.7% (51/64)、2 型は 100% (64/64)、3 型は 84.4% (54/64) と高い抗体保有率を示していた。

全体の抗体保有率では集団免疫として良好な状態を保っているが、各個人のポリオ感染を防御するためには、1, 2, 3 型全てに対して抗体を保有していることが望ましい。この点についてワクチン歴との関連を検討した (Table 5)。まず、ワクチン接種回数との関係では (Table 5-1, 5-2)、1, 2, 3 型全てに対する抗体の保有者の割合は、2 回接種者では 131 人中 105 人で 80.2%、1 回接種者では 23 人中 12 人で 52.2% を示し、1 回接種では有意に ($P < 0.01$) 低かった。その他の人は 1 種または 2 種の抗体のみを保有していたが、その中では 1 型と 2 型を保有する人が多かった (2 回接種 15.3%、1 回接種 39.1%)。このことは、3 型の抗体保有率が他の 2 種に比べて低いこと、特に 3 型の 1 回接種者の抗体保有率の低いこと、が反映されていると考えられる。

ワクチン接種回数不明者 (Table 5-4) およびワクチン歴不明者 (Table 5-5) では、抗体を 3 種とも保有している人はそれぞれ 78.6%、67.2% で

平成5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 group (years)	Twice No.*	Twice Rate#	Once No.	Once Rate	Unknown No.	Unknown Rate	No.	Rate	No. Rate
	0~1	4/4	100.0	10/10	100.0			2/8	25.0	
	2~3	19/19	100.0	1/1	100.0					
	4~6	19/20	95.0	1/1	100.0					
	7~9	16/16	100.0	2/3	66.7					
	10~14	33/33	100.0	3/3	100.0			1/1	100.0	
	15~19	11/15	73.3	3/4	75.0	2/3	66.7	0/1	0	6/9 66.7
	20~24	18/19	94.7					0/1	0	1/1 100.0
	25~29	5/5	100.0	1/1	100.0	3/3	100.0	1/1	100.0	14/16 87.5
	30~39					7/8	87.5			13/15 86.7
	40~							4/4	100.0	17/23 73.9
Total		125/131	95.4	21/23	91.3	12/14	85.7	8/16	50.0	51/64 79.7
158 / 168 , 94.0 %										
Type 2	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
	Age group (years)	Twice No.*	Twice Rate#	Once No.	Once Rate	Unknown No.	Unknown Rate	No.	Rate	No. Rate
	0~1	4/4	100.0	10/10	100.0			2/8	25.0	
	2~3	19/19	100.0	1/1	100.0					
	4~6	20/20	100.0	1/1	100.0					
	7~9	16/16	100.0	3/3	100.0					
	10~14	33/33	100.0	3/3	100.0			0/1	0	
	15~19	15/15	100.0	4/4	100.0	3/3	100.0	1/1	100.0	9/9 100.0
	20~24	19/19	100.0					1/1	100.0	1/1 100.0
	25~29	5/5	100.0	1/1	100.0	3/3	100.0	1/1	100.0	16/16 100.0
	30~39					8/8	100.0			15/15 100.0
	40~							4/4	100.0	23/23 100.0
Total		131/131	100.0	23/23	100.0	14/14	100.0	9/16	56.3	64/64 100.0
168 / 168 , 100.0 %										
Type 3	Times of vaccination						No vaccination		Unknown	
	Age group (years)	Twice No.*	Twice Rate#	Once No.	Once Rate	Unknown No.	Unknown Rate	No.	Rate	No. Rate
	0~1	4/4	100.0	7/10	70.0			1/8	12.5	
	2~3	18/19	94.7	0/1	0					
	4~6	18/20	90.0	1/1	100.0					
	7~9	13/16	81.3	0/3	0					
	10~14	29/33	87.9	1/3	33.3			0/1	0	
	15~19	10/15	66.7	3/4	75.0	2/3	66.7	0/1	0	4/9 44.4
	20~24	13/19	68.4					0/1	0	1/1 100.0
	25~29	4/5	80.0	1/1	100.0	3/3	100.0	1/1	100.0	15/16 93.8
	30~39					8/8	100.0			15/15 100.0
	40~							4/4	100.0	19/23 82.6
Total		109/131	83.2	13/23	56.5	13/14	92.9	6/16	37.5	54/64 84.4
135 / 168 , 80.4 %										

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

Table 5. Neutralizing Antibodies against Each Type of Poliovirus by History of Vaccination

(1) Double vaccination group

Age group (years)	No. of sera	Negative against all types	Positive against						
			Type1	Type2	Type3	Types1&2	Types2&3	Types1&3	Types1, 2&3
0~1	4	0	0	0	0	0	0	0	4
2~3	19	0	0	0	0	1	0	0	18
4~6	20	0	0	1	0	1	0	0	18
7~9	16	0	0	0	0	3	0	0	13
10~14	33	0	0	0	0	4	0	0	29
15~19	15	0	0	0	0	5	4	0	6
20~24	19	0	0	1	0	5	0	0	13
25~29	5	0	0	0	0	1	0	0	4
30~39	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40~	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total (%)	131 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (1.5)	0 (0)	20 (15.3)	4 (3.1)	0 (0)	105 (80.2)

(2) Single vaccination group

Age group (years)	No. of sera	Negative against all types	Positive against						
			Type1	Type2	Type3	Types1&2	Types2&3	Types1&3	Types1, 2&3
0~1	10	0	0	0	0	3	0	0	7
2~3	1	0	0	0	0	1	0	0	0
4~6	1	0	0	0	0	0	0	0	1
7~9	3	0	0	1	0	2	0	0	0
10~14	3	0	0	0	0	2	0	0	1
15~19	4	0	0	0	0	1	1	0	2
20~24	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25~29	1	0	0	0	0	0	0	0	1
30~39	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40~	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total (%)	23 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (4.3)	0 (0)	9 (39.1)	1 (4.3)	0 (0)	12 (52.2)

(3) No vaccination group

Age group (years)	No. of sera	Negative against all types	Positive against						
			Type1	Type2	Type3	Types1&2	Types2&3	Types1&3	Types1, 2&3
0~1	8	5	1	1	0	0	0	0	1
2~3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4~6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7~9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10~14	1	0	1	0	0	0	0	0	0
15~19	1	0	0	1	0	0	0	0	0
20~24	1	0	0	1	0	0	0	0	0
25~29	1	0	0	0	0	0	0	0	1
30~39	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40~	4	0	0	0	0	0	0	0	4
Total (%)	16 (100)	5 (31.3)	2 (12.5)	3 (18.8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (37.5)

平成5年9月1日

(4) Vaccination group of unknown frequency

Age group (years)	No. of sera	Negative against all types	Positive against						
			Type1	Type2	Type3	Types1&2	Types2&3	Types1&3	Types1, 2&3
0~1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2~3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4~6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7~9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10~14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15~19	3	0	0	0	0	1	1	0	1
20~24	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25~29	3	0	0	0	0	0	0	0	3
30~39	8	0	0	0	0	0	1	0	7
40~	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total (%)	14 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (7.1)	2 (14.3)	0 (0)	11 (78.6)

(5) Unknown history group

Age group (years)	No. of sera	Negative against all types	Positive against						
			Type1	Type2	Type3	Types1&2	Types2&3	Types1&3	Types1, 2&3
0~1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2~3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4~6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7~9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10~14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15~19	9	0	0	2	0	3	1	0	3
20~24	1	0	0	0	0	0	0	0	1
25~29	16	0	0	0	0	1	2	0	13
30~39	15	0	0	0	0	0	2	0	13
40~	23	0	0	0	0	4	6	0	13
Total (%)	63 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (3.1)	0 (0)	8 (12.5)	11 (17.2)	0 (0)	43 (67.2)

あり、全体の保有率71.4%と差は見られなかった。一方、ワクチン歴のない人 (Table 5-3) で抗体を3種とも保有する人は37.5% (16人中6人) であった。ワクチン歴がなくても抗体を保有している人の抗体は、0~1歳に見られる母親からの移行抗体と、ワクチン接種制度実施以前に生まれた高齢者に見られるような、野生株ポリオウイルスの不顕性感染によるものと考えられる抗体、およびワクチン接種者から排泄されたワクチン株ウイルスの感染により獲得した抗体が考えられる。しかし、現在国内では野生株の流行は認められず、また、衛生環境が良好に保たれているので、ウイルス感染によって抗体を獲

得することは難しい。たとえ抗体を獲得しても Table 5-3 に見られるように、40歳以上を除けば、どれか1種の型に対する抗体のみを保有している人が多く (10歳から29歳までのワクチン非接種者4人中3人)、ワクチンを接種していない人のポリオ感染予防は不十分であることを示している。

以上の結果から、ポリオウイルスに対する抗体保有率は1型、2型、3型とも高く、国内においてはポリオ流行の可能性は少ないと考えられる。しかし、Table 2, Table 3 で見られるように、年齢区分によっては抗体保有率がやや低い年齢層が見られ、それにともない1, 2, 3型ともに抗体を保有する人

の割合も低くなっている。現在国内には野生株のポリオウイルスの浸淫はなく、高年齢層に見られるような不顕性感染による抗体獲得は起こり得ない。ワクチンを2回接種することが不可欠であるが、接種してもいずれか1種または2種の型に対する抗体しか獲得していない場合もある。したがって、ワクチン接種回数の増加、あるいは、特に3型についてワクチンの改良などの対策が必要と思われる。海外旅行の機会も多く、ポリオウイルスの常在国へ出かける場合には、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人は十分注意する必要があると考える。

文 献

1. 厚生省保健医療局 結核難病感染症課感染症対策室編(1988). 伝染病流行予測調査実施要領, 11-15.
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(1993). 病原微生物検出情報月報, 14, 4, 19-26
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, 布村洋子, 南部厚子, 吉田慶子, 田中桂子, 橋爪淑子, 大垣由香里, 川越久美子, 松尾貞義, 松原勝博, 布野純子(1992). 富山衛研年報, 15, 92-98.

平成5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 水 木 路 男⁸ 遠 藤 京 子⁹

Epidemiological Surveillance for Rubella Antibodies

Toshio SHOJI, Keiko YOSHIDA¹,
Yoshiko HASHIZUME², Atsuko NAMBU³,
Yukari OHGAKI⁴, Kumiko KAWAKOSI⁵, Junko NUNO⁶,
Keiko TANAKA⁷, Michio MIZUKI⁸ and Kyoko ENDOH⁹

要 旨 平成4年度風疹流行予測調査は、風疹流行の影響を検討することと、女性に対する風疹生ワクチン接種の効果をみることを目的に、富山県内の女性を対象に9年齢区分で風疹抗体調査が実施された。その結果は次のとおりである。

風疹抗体陰性率は0～14歳では59%、15～29歳は2%、30歳以上の年齢層は16%であり、特に若年齢層に風疹患者が発生しやすい状況である。

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

調査対象と検査方法

平成4年度は厚生省の実施要領[2]によって、県内に居住する女性を対象に全年齢を9区分に分け実施された。年齢区分は0～4歳、5～9歳、10～14歳、15～19歳、20～24歳、25～29歳、30～34歳、35～39歳、および40歳以上である。県内の各保健所が年齢区分別に検体採取を分担し、対象者全員の風

疹ワクチン接種の有無を調査した。各保健所が担当した年齢区分と調査数内訳は以下のとおりである。富山39名(0～4歳7名、5～9歳7、30～34歳25)、上市15名(30～34歳5名、35～39歳10)、黒部44名(0～4歳8名、5～9歳7、25～29歳25、30～34歳3、他1名)、八尾25名(15～19歳)、小杉72名(15～19歳30名、20～24歳40、25～29歳2)、魚津34名(10～14歳)、福野30名(0～4歳7名、5～9歳7、40歳以上16)、高岡30名(0～4歳7名、5～9歳7、35～39歳15、他1名)、氷見9名(40歳以上)であり、調査数は合計298名であった。血清中の風疹抗体価測定は、伝染病流行予測調査検査術式[3]に準じ、マイクロタイター法による赤血球凝集抑制(HI)試験で行なった[4]。HI抗体価が8倍かそれ以上の場合を風疹抗体陽性とし、

- | | | | | |
|----------|----------|----------|----------|----------|
| 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 | |

8 倍未満を抗体陰性とした。

結 果 と 考 察

Table 1. に298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示す。陰性率を年齢区分

て定期接種として、また妊娠可能年齢女性に対して任意接種として、行われている。Table 1. に示すとおり、ワクチン接種者は、15～19歳に55名中36名（接種率65%）、20～24歳に41名中24名（59%）、25～29歳に27名中10名（37%）、30～34歳に33名中5名（15%）、35～39歳に25名中7名（28%）と、ほぼ予想されたとおりであった。一方、年齢区分0

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	29	22		1		3	1	2		76	0	0	
5~ 9	28	13		3	2	5	3	2		46	3	11	
10~14	35	19		2	2	6	4	2		54	0	0	
15~19	55				8	26	14	6	1	0	36	65	
20~24	41	1		3	3	20	8	5	1	2	24	59	
25~29	27	2		4	6	12	3			7	10	37	
30~34	33	5		2	16	8	7			15	5	15	
35~39	25	2	1	5	8	7	2			8	7	28	
40~	25	7	1	8	5	4				28	0	0	
Total	298	71	2	28	50	91	37	17	2	24	85	29	

別に若い順でみると、0～4歳では76%と高い陰性率であり、風疹に対する感受性者がこの年齢では多いことが明らかになった。5～9歳の陰性率は46%を示し、10～14歳は陰性率54%を示した。一方、15～19歳、20～24歳、25～29歳では抗体陰性率はそれぞれ0%、2%、7%と非常に低率であった。この年齢層の女性は昭和52年以来実施されている風疹生ワクチン定期接種の対象年齢層なので、ワクチンによる抗体獲得者が多いものと考えられる。30歳以上の抗体陰性率をみると、30～34歳は15%を、35～39歳は8%を、40歳以上は28%をそれぞれ示した。以上の成績によって、抗体陰性率から年齢群を3つに大きく分けてみることができる。すなわち、高い陰性率59%（54/92）を示す0～14歳、極めて低い陰性率2%（3/123）を示す15～29歳と、やや低い陰性率16%（14/88）の30歳から40歳以上の年齢層までの各グループである。

我が国では風疹ワクチン接種は女子中学生に対し

～4歳、10～14歳と40歳以上にはワクチン接種者はみられず、5～9歳に28名中3名のワクチン接種者がみられた。ワクチン接種率と抗体陰性率を合わせて検討すると、15～29歳の年齢層において、高いワクチン接種率57%（70/123）と低い陰性率2%である成績が得られ、ワクチン接種の目的が達成されていると考えられる。しかし、5～9歳、25～29歳と35～39歳のワクチン接種者の中にそれぞれ1名の抗体陰性者がみられた。

風疹ワクチン接種の目的は、妊娠初期に母体中の胎児が風疹に感染して引き起こされる危険性のある先天性風疹症候群の発生を、母体側の免疫によって予防することにある。一方、妊婦の抗体陰性者は、風疹流行があれば感染の危険に曝されることとなる。

今後の風疹の流行を予測する場合、0～14歳の年齢層の抗体陰性率が重要な指標となる。その理由は、風疹に感染するのは大部分が子供であり、特に集団生活に入る頃に多くの患者発生をみるからであ

平成5年9月1日

る〔5〕。0～4歳の陰性率が76%と高いのは、この年齢層の乳幼児が前回の全国的な風疹流行期であった昭和61～63年以降に生まれたことに起因しており、再び流行が起これば、この年齢層に患者が多発することが予測される。

本調査の成績から、平成4年度においては、若年齢層に風疹患者が発生しやすい状況であると言える。

文 献

1. 宮村紀久子(1993). 平成2年度伝染病流行予測調査報告書, 94-110.
2. 富山県伝染病流行予測調査委員会議(1992), 平成4年度伝染病流行予測調査事業実施要領.
3. 厚生省保健医療局結核難病感染症課感染症対策室(1986). 伝染病流行予測調査検査術式, 81-94.
4. 庄司俊雄, 田中桂子, 高藤 昭, 園家敏雄, 城野 晃, 柴 利子, 梅沢照明, 林 淑子(1987). 富山衛研年報, 10, 84-86.
5. 社団法人予防接種リサーチセンター刊(1989). 最新予防接種の知識, 102-113.

インフルエンザ流行予測調査

松浦 久美子 中山 喬 長谷川 澄代 森田 修行
吉田 慶子¹ 水木 路男² 布野 純子³ 南部 厚子⁴
大垣 由香里⁵ 遠藤 京子⁶ 田中 桂子⁷

Epidemiological Surveillance for Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture

Kumiko MATSUURA, Takashi NAKAYAMA, Sumiyo HASEGAWA,
Osayuki MORITA, Keiko YOSHIDA¹, Michio MIZUKI²,
Junko NUNO³, Atsuko NUMBU⁴, Yukari OHGAKI⁵,
Kyoko ENDOH⁶, Keiko TANAKA⁷

要 旨 1992年11月から1993年3月にかけてのインフルエンザ様疾患の集団発生例と散发例の患者130名について、咽頭拭い液中のウイルス検索と血清インフルエンザHI抗体を調べた結果、A(H3)型インフルエンザウイルスの罹患者が59名、B型インフルエンザウイルスの罹患者が19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(H3)型とB型の2種類のウイルスによるものと判明した。集団風邪は1月の中旬から2月の下旬にかけて37施設で発生し、患者数が4,923人であった。調査した7施設のうち、5施設はA(H3)型ウイルス、1施設はB型ウイルスによる流行であった。集団発生例と散发例から、A(H3)型ウイルスが54株とB型ウイルスが18株分離された。これらの分離株の抗原性についてA(H3)型とB型抗血清を用いて調べると、A(H3)型株はA/ブラジル/02/91株に近い抗原性を、B型株はB/バンコク/163/90株と同じ抗原性を持つと推察された。なお、ウイルスを分離できなかった患者のうち1名から、2nd PCR法によりA(H3)型ウイルス遺伝子を検出した。

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。患者の咽頭拭い液中のインフルエンザウイルスの検索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 1992年11月～1993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）および小児科諸橋医院（富山市）を訪れたインフルエンザ様患者、さらに集団発生が起きた場合の患者から咽頭拭い液と血液を採取した。

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

3. 検査方法

1) ウイルス分離：咽頭拭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°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A/ブラジル/02/91 (H3N2) 血清および抗B/バンコク/163/90血清を用い

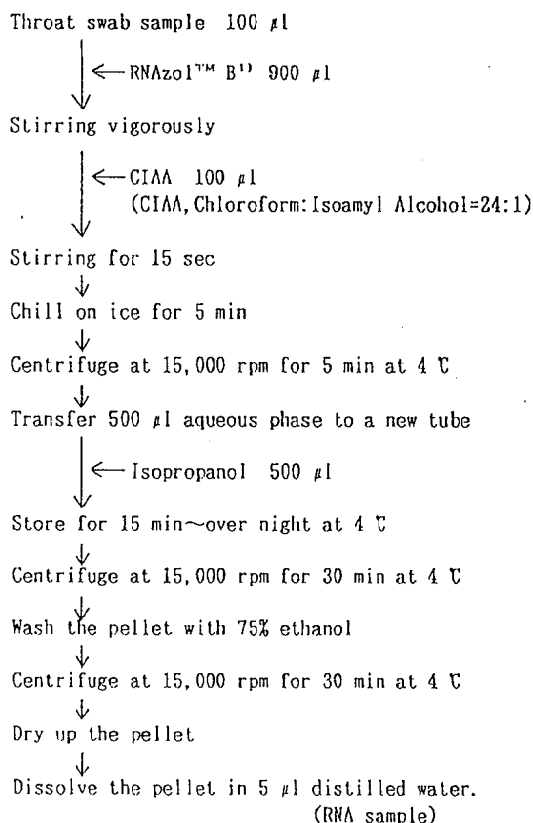


Fig.1. Protocol for RNA Extraction.

¹⁾ RNAzol™ B: BIOTEX LABORATORIES, INC.

て行った。

2) インフルエンザウイルス遺伝子の検出：咽頭拭い液100 μ lをFig.1のプロトコールのように処理して、RNAを抽出、精製し、次に、Fig.2のプロトコールに従ってcDNAの作成、さらにPolymerase chain reaction (PCR)を行った。そのPCR (1st PCR) 産物10 μ lを2.0%アガロースゲルで電気泳動を行った後、エチジウムブロマイド染色によりインフルエンザウイルスの遺伝子バンドを検出した。この1st PCRでバンドが検出できなかった場合は、1st PCR産物20 μ lについて2nd PCRを行った。プライマーは、森下ら[2]が確立したA(H3)型プライマー [(+) primer : position 337-356, 5'-TTGTTGAACGCAGCAAAGCT-3'; (-) primer : position 1047-1063, 5'-TCTAGTTTGTTCCTCTGCTA-3'] とB型プライマー [(+) primer : position 402-421, 5'-AATCTTCTCAGAGGATATGA-3'; (-) primer : position 931-950, 5'-TCTGCTTCACCAATTAAAGG-3'] をGene Assembler DNA合成装置(Pharmacia)にて合成し、それぞれのcDNA作成とPCRに用いた。

3) インフルエンザウイルスHI抗体：急性期血清と回復期血清について、インフルエンザHI抗体価を測定した。HI抗体価測定用の抗原は今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(デンカ生研製)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、1992年11月上旬頃より散発的に発生していた。11月29日に発病した患者からA(H3)型ウイルスが分離され、この患者が今冬における富山県内で確認された初発のインフルエンザ患者であった。3月下旬までインフルエンザの患者が発生した。集団発生は1993年1月19日に朝日町のY小学校で起こり、2月下旬までに37施設(幼稚園2、小学校27、中学校7、養護学校1)で休校、学級閉鎖な

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

Sampling station	Virus isolation		HI antibody examination		No. of influenza patients	
	Throat swab date of sampling	No. of isolates	Type	No. of significant increase ¹⁾		Type
				No. of sera	Conva-lescent	
				Acute	A(H1N1) A(H3N2) B	
Epidemic case Yamazaki primary school(Asahi)	Jan. 21, 1993	5	4 A(H3)	5	5 0 3 0	4 A(H3)
Usaka primary school(Fuchu)	Jan. 26, 1993	5	1 ²⁾ A(H3)	5	5 0 0 0	1 A(H3)
Saniyo junior high school(Toyama)	Jan. 27, 1993	5	3 A(H3)	5	5 0 3 0	4 A(H3)
Saiyo junior high school(Himi)	Jan. 28, 1993	6	0	6	6 0 0 0	0
Seibu junior high school(Uozu)	Feb. 1, 2, 1993	3	1 A(H3)	3	3 0 1 0	1 A(H3)
Kunivoshi primary school(Takaoka)	Feb. 2, 1993	5	1 B	5	5 0	1 B
Wago junior high school(Toyama)	Feb. 5, 1993	9	9 A(H3)	9	9 0 3 0	9 A(H3)
Sporadic case Morohashi pediatric clinic(Toyama)	Nov. 11, 1992 ~Mar. 6, 1993	42 7	13 A(H3) 7 B	42	27 0 5 3	14 A(H3) 7 B
Masaki internal clinic(Fukumitsu)	Nov. 25, 1992 ~Mar. 8, 1993	30 10	12 A(H3) 10 B	30	28 0 7 7	12 A(H3) 10 B
Tachi pediatric clinic(Takaoka)	Dec. 9, 1992 ~Feb. 25, 1993	20	12 A(H3)	20	16 0 12 1	14 A(H3) 1 B
Total		130	54+1 ²⁾ 18	130	104 0 34 11	59 A(H3) 19 B

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

2) Detection of influenza virus gene by polymerase chain reaction.

Table 2. HI Titers of Reference Anti-A(H3) sera against Isolated Strains

Antigen ¹⁾	Passage history	Anti-A/Beijing/352/89 (H3N2)	HI titer ²⁾ of Anti-A/Shiga/2/91 (H3N2)	Anti-A/Brazil/02/91 (H3N2)
A/Beijing/352/89		1024	1024	512
A/Shiga/2/91		512	1024	1024
A/Brazil/02/91		256	1024	512
A/Toyama/53/92	MDCK2	64	128	256
A/Toyama/54/92	MDCK1	32	128	256
A/Toyama/55/92	MDCK1	32	128	256
A/Toyama/1/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/2/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/3/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/4/93	MDCK1	128	256	256
A/Toyama/5/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/6/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/7/93	MDCK1	64	256	512
A/Toyama/8/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/9/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/10/93	MDCK2	64	128	256
A/Toyama/11/93	MDCK4	32	256	512
A/Toyama/12/93	MDCK1	32	128	256
A/Toyama/13/93	MDCK1	32	128	256
A/Toyama/14/93	MDCK1	64	128	512
A/Toyama/15/93	MDCK1	64	128	512
A/Toyama/16/93	MDCK1	128	256	512
A/Toyama/17/93	MDCK1	32	128	256
A/Toyama/18/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/19/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/20/93	MDCK1	128	256	512
A/Toyama/21/93	MDCK3	128	256	512
A/Toyama/22/93	MDCK1	64	256	512
A/Toyama/23/93	MDCK1	32	128	256
A/Toyama/24/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/25/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/26/93	MDCK5	32	256	512
A/Toyama/27/93	MDCK4	64	128	256
A/Toyama/28/93	MDCK3	128	256	512
A/Toyama/29/93	MDCK1	128	256	512
A/Toyama/30/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/31/93	MDCK4	64	256	512
A/Toyama/32/93	MDCK2	128	256	512
A/Toyama/33/93	MDCK1	128	256	256
A/Toyama/34/93	MDCK1	128	256	256
A/Toyama/35/93	MDCK1	128	256	256
A/Toyama/36/93	MDCK1	128	256	256
A/Toyama/37/93	MDCK1	128	256	256
A/Toyama/38/93	MDCK1	128	256	512
A/Toyama/39/93	MDCK1	64	256	512
A/Toyama/40/93	MDCK4	32	128	256
A/Toyama/41/93	MDCK4	32	128	256
A/Toyama/42/93	MDCK1	128	256	512
A/Toyama/43/93	MDCK1	128	256	512
A/Toyama/44/93	MDCK1	128	256	512
A/Toyama/45/93	MDCK3	32	128	256
A/Toyama/46/93	MDCK1	64	128	256
A/Toyama/47/93	MDCK1	128	256	256
A/Toyama/48/93	MDCK1	64	256	512
A/Toyama/49/93	MDCK1	64	256	256
A/Toyama/50/93	MDCK1	64	128	512
A/Toyama/51/93	MDCK1	64	128	256

1) A/Beijing/352/89, A/Shiga/2/91, and A/Brazil/02/91 antigens were supplied from Japan Influenza Center. A/Toyama/53/92~A/Toyama/51/93 antigens were isolated from December 1992 to March 1993.

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

どの措置が行われ、在籍者数14,132人のうち患者数4,923人（欠席者数1,458人）の発生があった。

2. インフルエンザウイルスの分離

集団発生例や定点観測における患者から採取した咽頭拭い液130検体について、インフルエンザウイルスの分離を試みた成績をTable 1に示す。A(H3)型ウイルスが初めて分離されたのが11月29日に発病した患者から、B型ウイルスは12月23日に発病した患者からであった。3月までに72株のウイルスが分離され、そのうちの54株はA(H3)型、18株はB型と同定された。これらの分離株について、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、A(H3)型では全株がヒトO型赤血球とは凝集するが、ニワトリ赤血球とは殆どの株が凝集しなかった。ニワトリ赤血球と凝集する株も不完全な凝集で、しばらく時間が経つと陰性化した。従って、ニワトリ赤血球を用いてHA価を測定することは困難であった。一方、B型株は両赤血球共に凝集した。今年度の分離株でのニワトリとヒトO型赤血球の凝集像は、A(H3)型とB型を同定する際に一つの指標となった。

これらの分離株に対するインフルエンザ抗血清のHI価を、ヒトO型赤血球を用いて測定するとTable 2およびTable 3に示すようであった。A(H3)型の54株に対する抗A/北京/352/89血清のHI価は32～128倍（ホモのHI価は1024倍）、抗A/滋賀/2/91血清のHI価は128～256倍（ホモのHI価は1024倍）および抗A/ブラジル/02/91血清のHI価は256～512倍（ホモのHI価は512倍）であった。B型の18株に対する抗B/バンコク/163/90血清のHI価は、512～1024倍（ホモのHI価は1024倍）であった。抗A/山形/32/89(H1N1)血清のHI価は、全分離株に対して32倍未満であった。

3. インフルエンザウイルス遺伝子の検出

集団発生例で、ウイルス分離が陰性であったU小学校（婦中町）とS小学校（氷見市）の患者の咽頭拭い液について、PCR法によるインフルエンザウイルス遺伝子の検出を試みた。U小学校の患者5名では、Fig. 3に示すように、1名から727bpのバン

ド（Lane 3）すなわちA(H3)型ウイルスの遺伝子が2nd PCRにより検出された。S中学校の6名の患者からは、検出されなかった。

Table 3. HI Titters of Reference Anti-B sera against Isolated Strains

Antigen ¹⁾	Passage history	HI titer ²⁾ of Anti-B/Bangkok/163/90
B/Bangkok/1/90		1024
B/Toyama/1/92	MDCK2	1024
B/Toyama/1/93	MDCK1	512
B/Toyama/2/93	MDCK1	512
B/Toyama/3/93	MDCK1	512
B/Toyama/4/93	MDCK1	512
B/Toyama/5/93	MDCK1	512
B/Toyama/6/93	MDCK1	512
B/Toyama/7/93	MDCK1	512
B/Toyama/8/93	MDCK1	512
B/Toyama/9/93	MDCK1	1024
B/Toyama/10/93	MDCK1	1024
B/Toyama/11/93	MDCK1	512
B/Toyama/12/93	MDCK1	512
B/Toyama/13/93	MDCK1	512
B/Toyama/14/93	MDCK1	512
B/Toyama/15/93	MDCK1	512
B/Toyama/16/93	MDCK1	512
B/Toyama/17/93	MDCK1	512

1) E/Bangkok/163/90 antigen was supplied from Japan Influenza Center. B/Toyama/1/92～B/Toyama/17/93 antigens were isolated from December 1992 to March 1993.

2) HI titer of antiserum was examined with human type O erythrocytes. Antiserum was supplied from Japan Influenza Center.

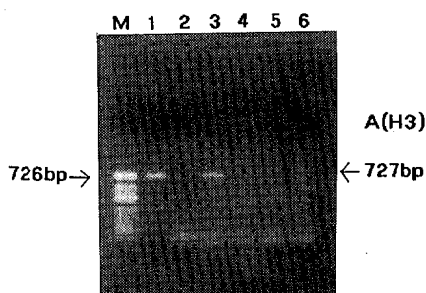


Fig. 3. Detection of Influenza Virus Gene in Throat Swab by PCR.

Lane M: DNA size marker (λx 174/Hinf I digest); Lane 1: A throat swab sample from which influenza A(H3) virus was isolated in MDCK cells; Lane 2-6: Throat swab samples collected from patients in U primary school, from which virus was not isolated in MDCK cells.

4. 患者の血清HI抗体価

急性期血清130件、回復期血清104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/北京/352/89(H3N2)抗原に対して抗体価が有意上昇 (4倍以上) したのは34件、B/バンコク/163/90抗原に対して抗体価が有意上昇したのが11件認められた。A/山形/32/89(H1N1) 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、ウイルス遺伝子検出陽性または血清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130名の検査中78名 (60.0%) で、A(H3)型罹患者が59名、B型罹患者が19名であった。これらの罹患者のうち、A(H3)型とB型両方に感染したのが1名あった。この両型罹患者は、12月28日の発病時にはA(H3)型が、2月17日の発病時にはB型が分離され、血清HI抗体価もそれぞれの感染時期の急性期から回復期にかけて有意の上昇が認められた。A(H3)型、B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. 4およびFig. 5の様な分布を得た。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<16~256倍、回復期が<16~4,096倍であり、B型罹患者におけるワクチン株のB/バンコク/163/90抗原に対するHI価は急性期が<16~128倍、回復期が<16~4,096倍であった。これらの罹患者のうち、ウイルス分離陽性にもかかわらず、急性期から回復期にかけて有意上昇を示さなかった例が、A(H3)型罹患者に15名、B型罹患者に4名いた。この19名のうち15名は急性期の抗体価が128~256倍とすでに高い抗体価を保有し、あとの4名は16倍未満であった。このHI価16倍未満の4名の年齢は2~5歳で、回復期血清の採取時期が発病6~11日目と早く、これらの回復期血清はまだ抗体が有意に上昇してない時期であった可能性がある。罹患者のワクチン歴をみると、ワクチン接種者19名、非接種者52名および不明7名で、接種者の人数は少なかった。

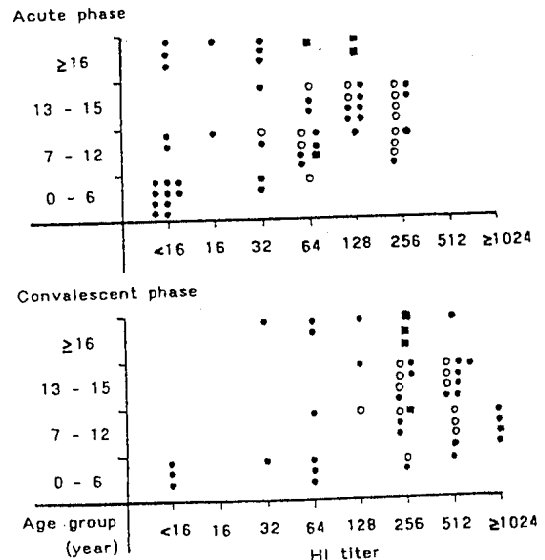


Fig. 4. Distribution of HI Antibody Titers against A/Beijing/352/89(H3N2) among Influenza Type A(H3) Patients.
○: Vaccinee; ●: Non-vaccinee;
■: Unkown

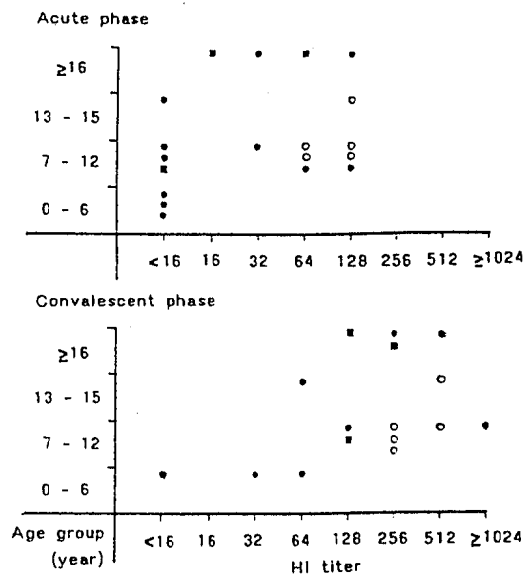


Fig. 5. Distribution of HI Antibody Titers against B/Bangkok/163/90 among Influenza Type B Patients.
○: Vaccinee; ●: Non-vaccinee;
■: Unkown

考 察

今シーズンの日本におけるインフルエンザの流行は例年より早く、11月10日に大分県で発生した集団風邪よりB型インフルエンザウイルスが分離され、また、12月5日に横浜市の集団風邪からA(H3)型ウイルスが分離された。1992年末までに、11都道府県でB型またはA(H3)型ウイルスによる集団風邪が確認された。富山県では、11月29日に発病した患者(散发例)からA(H3)型ウイルスが、12月23日の発病患者(散发例)からB型ウイルスが分離された。このようなインフルエンザ患者の発生状況から、今冬の1月、2月には両ウイルスによるインフルエンザの大流行が予測され、予防に関する情報を住民に知らせた。1月に入り、やはり日本各地で大流行し、3月6日までに全国罹患者数は860,043人までに達した。富山県での集団風邪は、1月19日に発生し、その後2月23日まで続発して、37施設が休校等の措置をする大流行となった。罹患者数は4,923人で、昨年のA(H1)型とA(H3)型による流行の罹患者数840人を大きくしのぎ、近年でもっとも流行した'89~'90年のA(H3)型とB型による罹患者数3,375人よりも多かった〔3, 4〕。

定点観測と集団風邪患者130人の検体を調べ、A(H3)型感染者が59人とB型感染者が19人確認された(Table 1)。これらの患者からのウイルス分離状況から、富山県では、A(H3)型罹患者は1月、2月に多く発生し、B型罹患者は12月、1月にも発生していたが、2月下旬から3月にかけて多く発生した傾向が推察された。この混合流行の様子は、全国の発生状況がまだ完全に集計されていないので明確でないが、地域によって異なったようである。

患者の咽頭拭い液中のウイルス検索には、従来、組織培養法を用いていたが、今年度はPCR法を用いたインフルエンザウイルスの遺伝子検出によるウイルス検索も導入した。森下ら〔2〕によると、PCR法による検出感度は、1st PCRではMDCK細胞でのウイルス分離と同程度であるが、2nd PCRではウイルス分離より2~3倍の検出率だったと報告している。また、この検査法は、組織培養法に比べ

簡便で、迅速に結果が得られる。しかし、検査コストが高いのが欠点である。そこで、ウイルス分離が陰性、かつ血清学的にも判断がつかなかった2つの集団発生例についてのみ、試験的に、PCR法によるウイルス遺伝子検索を試みた。その結果、1つの集団の1名からA(H3)型のウイルス遺伝子が2nd PCRで検出された。検出された検体は、発病してから8日後に採取されたものであった。集団発生例の検体は、発病してから日数が経過した患者や軽い症状の患者から採取された場合が多く、ウイルス分離やHI抗体の有意上昇が認められず、判定困難な場合がある。以上のことから、集団発生例の場合、早く成績を出し、流行の予防に資する為には、今後、本法は有効と考えられる。

A(H3)型分離株(54株)に対する抗A/北京/352/89血清、抗A/滋賀/2/91血清および抗A/ブラジル/02/91血清のHI価を調べると、分離株はワクチン株のA/北京/352/89株よりA/ブラジル/02/91株に近いと判断された(Table 2)。このことが今冬のインフルエンザの大流行を引き起こした一要因とも考えられる。B型分離株に対する抗B/バンコク/163/90血清のHI価は、B/バンコク/163/90株に対するHI価とほぼ一致し、分離株はワクチン株と同じ抗原性を持つと推察された(Table 3)。

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、館小児科医院および正木医院の関係各位に感謝いたします。

文 献

1. 森下高行, 小林眞一, 三宅恭司, 西尾 治, 山下照夫, 栄 賢司, 石原佑式, 磯村思无(1990). 第36回東海公衆衛生学会抄録, 60-61.
2. 森下高行, 小林眞一, 三宅恭司, 石原佑式, 磯村思无, 中島節子, 中島捷久(1992). 感染症学雑誌, 66, 944-949.
3. 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.
4. 松浦久美子, 中山 喬, 長谷川澄代, 森田修行, 吉田慶子, 松尾貞義, 有沢義夫, 布村洋子, 草山真由美, 田中桂子 (1992). 富山衛研年報, 15, 102-108.

平成5年9月1日

富山県における小児の急性胃腸炎に關与する ウイルスの疫学調査

森田 修 行 長谷川 澄代 館 一 矩¹
正 木 明 夫² 金 兼 弘 和³

Epidemiological Studies on Viruses Associated with Gastroenteritis in Children in Toyama Prefecture

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

要 旨 1990年10月から1992年3月までの18か月間、小児の急性胃腸炎に關与するウイルスの調査を行った。患児301名から採取した糞便の電子顕微鏡観察では、268例にウイルス様粒子が検出された。これらのうち、ロタウイルスが61%、小型球形ウイルス（SRV）が29%、アデノウイルスが10%を占めていた。ロタウイルスとSRVは特徴的な季節消長を示し、冬春期に多く検出されたが、夏秋期はほとんど認められなかった。一方、アデノウイルスは低頻度であったが、季節変動なく検出された。さらに、モノクローナル抗体を用いて、A群ヒトロタウイルス（AHRV）の血清型を判定し、その年齢分布と経時的推移について検討した。血清型の年齢分布に著しい差異は認められなかったが、1型が最も多く全体の41%を占め、2型が20%、3型と4型がそれぞれ4%であった。血清型の経時的推移をみると、1990年12月から1991年5月までの流行シーズンは1型が圧倒的に優勢であったが、1992年1～3月の流行シーズンは1型と2型が同頻度に認められた。しかし、約30%の検体は血清型別し得なかったため、逆転写合成・遺伝子増幅法（RT-PCR）によるAHRVの血清型別法を検討した。MA-104細胞で増殖したAHRV標準株では、良好な結果が得られたので、糞便中のAHRVについて血清型別を行った。

非細菌性の急性胃腸炎に罹患した乳児や幼児の糞便に、電子顕微鏡観察でロタウイルスや小型球形ウイルス（SRV）、アデノウイルス様粒子が検出され、胃腸炎を起こす重要な病因ウイルスと考えられている〔1〕。ロタウイルスとSRVは冬春期に集中して検出され、夏秋期に認められることは少ないが、アデノウイルスはほとんど季節的な消長がみられない〔2〕。これらのうち、ロタウイルスによる感染は、激しい嘔吐と下痢を主徴とし、重篤な症例

が少なくないため、予防対策としてワクチンの開発が試みられている。ロタウイルスの感染防御に關与している抗原は、ウイルス粒子構造蛋白の一種であるVP4とVP7に由来し、A群のヒトロタウイルス（AHRV）は6種類の血清型に分類されている〔3〕。しかし、わが国では今までに検出されたのは1～4型のみである。AHRVの血清型別には中和試験法が用いられてきたが、培養細胞によってAHRVを患者糞便から分離するのは極めて困難な

-
1. 館小児科医院 2. 正木医院 3. 新湊市民病院

ので、血清型に関する疫学調査はほとんど行われなかった。Taniguchiら〔4〕は血清型1～4型の各ウイルスに特異なモノクローナル抗体を作製して、固相化酵素抗体法（ELISA）で糞便のAHRVを直接血清型別する方法を開発した。最近、Gouveaら〔5〕は遺伝子増幅法（PCR）でAHRVを血清型別し得ることを報告した。

われわれは富山県における小児の急性胃腸炎に関与しているウイルスの調査を行った。さらに、患児糞便中のAHRVを血清型別し、その年齢分布や経時的推移を調査したので、その概要を報告する。

材 料 と 方 法

1. 糞便のウイルス検索

1990年10月から調査を開始し、1992年3月までの18か月間に、ウイルス感染が疑われた急性胃腸炎の小児から糞便を採取した。患者の住所は高岡市および新湊市を中心とした県西部に広く分布していた。臨床症状は下痢を主徴とし、半数以上の患者は嘔吐や発熱を伴っていた。採取した糞便の約0.1gを0.2%蔗糖液で10～20%乳剤とし、10,000回転、20分遠心した上清をリンタングステン酸でネガティブ染色した後、電子顕微鏡（日立製作所、H-600A）で観察し、ウイルス様粒子を検索した。

一方、A群に属するロタウイルスのスクリーニングには、市販のキットであるロタRPHAデンカ（デンカ生研）を用いた。まず、糞便を生理食塩水で約10%の乳剤とし、3,000回転、20分遠心した上清0.2mlに等量の固定化ヒツジ赤血球浮遊液を加えて、非特異凝集素を除去した後、マイクロプレートで2倍階段希釈し、AHRVのWa株で高度免疫したウサギ抗体を感作した血球を加え凝集価を測定した。未感作血球による凝集価より4倍以上高い価を示したものをAHRV陽性とした。

2. モノクローナル抗体によるAHRVの血清型別

AHRVの血清型別には、市販のモノクローナル抗体キットであるロタMA（セロテック社）を用いた。このキットの構成は、A群特異モノクローナル

抗体としてYO株のVP6に対する抗体を用い、血清型に特異的なモノクローナル抗体としてKU株（血清型1）、S2株（血清型2）、YO株（血清型3）およびST₃株（血清型4）のそれぞれのVP7に対する抗体を用いていた。ELISAによる血清型別は、Taniguchiら〔4〕の方法を一部変更して行った。ELISA用マイクロプレート（グラインナー社）に10mM PBS（pH7.5）で希釈した1～4型の各モノクローナル抗体を吸着させた後、10% skim milk-PBST（0.05% Tween 20加PBS）を1/4容加えた糞便試料を一晩反応させた。十分に洗浄して、各血清型のAHRVで高度免疫したウサギの血清（札幌医科大学、浦沢正三教授より分与）のそれぞれを、モノクローナル抗体に対応して反応させた。洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗ウサギIgGヤギ血清（カッペル社）を反応させ、基質としてo-フェニレンジアミン（カッペル社）を加えた。2M H₂SO₄で反応を停止し、波長495nmの吸光度を測定して、吸光度0.2をカットオフ値とし、血清型を判定した。

3. RT-PCRによるAHRVの血清型別

MA-104細胞で増殖した標準株のAHRVおよび患者糞便からRNAを抽出する場合、RNA_{zol}TMB（Biotex Laboratories社）を用いた。マイクロチューブに試料100μlとRNA_{zol}TMB 900μlを入れて激しく攪拌した。100μlのクロロホルム・イソアミルアルコールを加え攪拌してRNAを抽出した後、遠心分離した上層を新しいマイクロチューブに移した。等量のイソプロパノールを加えてRNAを沈澱させ、75%エタノールで洗った後、RNA試料とした。

AHRVをRT-PCRによって血清型別するために、Gouveaら〔5〕が報告したプライマーを用いた。AHRVのVP7をコードする遺伝子の全長を増幅するためにはBeg 9とEnd 9を用い、血清型特異プライマーとしてaBT1、aCT2、aDT3、aET4、共通プライマーとしてRVG9を用いた。RT-PCRには、市販のGeneAmp RNA PCRキット（Perkin Elmer Cetus社）を使用した。上述のRNA試料にRNase阻害剤110単位、5mM MgCl₂、PCR buffer、2.5mM dNTPおよびEnd9 10pmole/μlを加え、

97℃, 5分加熱, 水中急冷の後, 65℃, 2分加熱し, 氷冷して, 25単位の逆転写酵素(マウス白血病ウイルス由来)を加え, 42℃, 2時間加温した。合成されたcDNAの5 μ lに10pmole/ μ lの各血清型特異プライマーとRVG9および2.5単位のTaq polymeraseを加えて, 94℃ 1分, 55℃ 2分, 72℃ 2分の3段階を30回繰り返した。PCR産物は, TBE緩衝液(トリス, ほう酸, EDTA, pH8.2)の1.5%アガロースS(ニッポンジーン社)で100V, 30分電気泳動し, エチジウムブロマイドで染色後, 紫外線により検出した。

結 果

1. 電子顕微鏡によるウイルス検索

18か月の調査期間中に, 301名の急性胃腸炎患者の糞便を採取して, 電子顕微鏡によるウイルス検索を行った。その結果はFig. 1に示すように, 患者は冬春期の多発し, 夏秋期に減少した。調査中に最も多く検出されたウイルスはロタウイルスであり, このウイルスは特徴ある季節消長を示した。1990年12月から検出されるようになり, 1991年1~3月には被検者の72%がロタウイルスの感染であった。しかし, 4月以降は減少して, 6~12月はほとんど検出

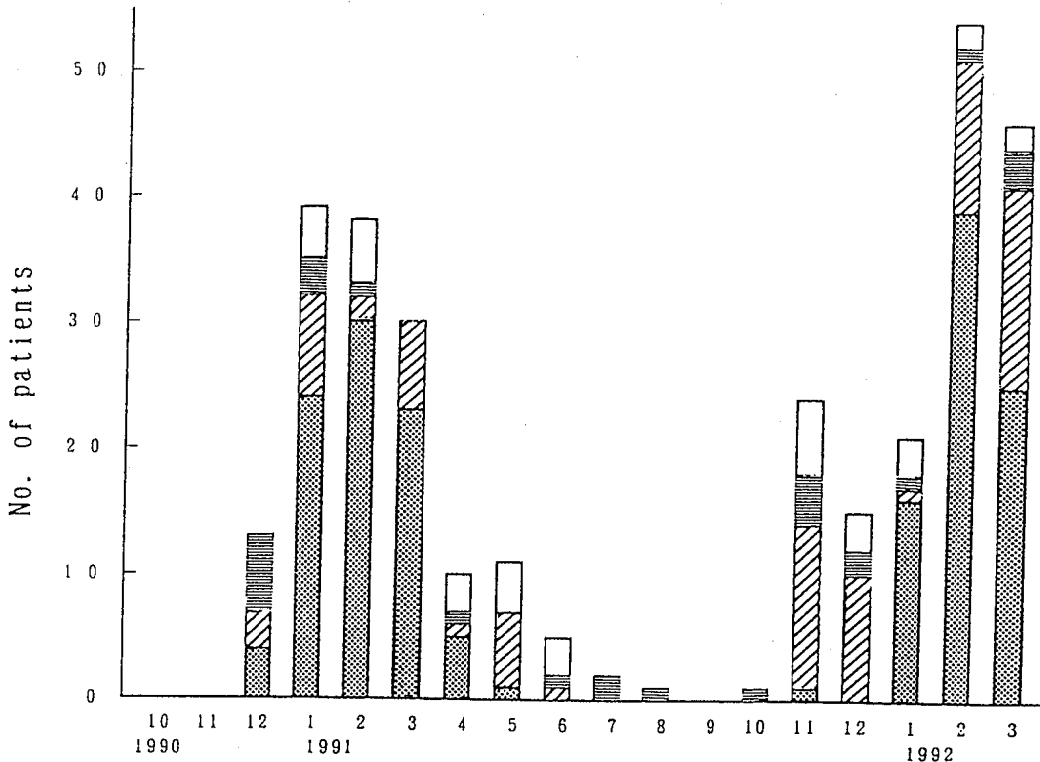


Fig. 1. Virus Infections in Children with Gastroenteritis from October 1990 to March 1992. Bars represent the numbers of patients infected with rotavirus, ; SRV, ; adenovirus, ; or unknown agent, as demonstrated in the stool by electron-microscopy.

Table 1. Age Distribution of Virus Infections in Children
with Gastroenteritis from October 1990 to March 1992

Virus	No. of viruses in age (months)					Total ^{a)}
	0~5	6~11	12~17	18~23	≥24	
Rotavirus	10	57	61	22	17	167
SRV ^{b)}	8	23	22	9	18	80
Adenovirus	3	5	8	5	5	26
Total	21	85	91	36	40	273

a) Dual virus infections in 5 cases among 268 patients

b) SRV : small round virus

されなかった。1992年1月から3月にかけて再びロタウイルスの感染が多発した。これらのことから、ロタウイルスは初冬の12月から翌年の5月まで出現し、特に1~3月に多発している急性胃腸炎の主たる病因をなしていることが示された。一方、SRVも気温の低い季節に出現した。ロタウイルスと比較して、その検出頻度は低かったが、検出される期間にはむしろ長い傾向であった。アデノウイルスは上述の2種のウイルスに比して季節変動はほとんどみられなかった。しかし、検出頻度はかなり低率であった。

301名の患者のうち268名にウイルスが検出されたが、そのうちの5名に2種類のウイルスが観察された。これら273例のウイルス検出結果を年齢群別にTable 1に示す。全体ではロタウイルスが61%を占めて最も多く、次いでSRV 29%、アデノウイルス 10%であった。各ウイルスの年齢分布は、ロタウイルスが生後6~17か月の幼児に集中して検出されたのに比し、SRVとアデノウイルスは年齢的偏りがあまり顕著ではなかった。

2. モノクローナル抗体によるAHRVの血清型別
電子顕微鏡で検出されたロタウイルス167例につ

いて、ロタPRHAを用いたスクリーニングにより、A群に属するロタウイルス159例を選別した。これらAHRVをモノクローナル抗体によって血清型別した結果を年齢群別にTable 2に示す。血清型1~4型のいずれか1種類の抗体と反応したAHRV 115例のうち、1型が全体の41%、2型が20%を占めていた。一方、3型と4型は少なく、ともに4%にすぎなかった。しかし、2種類以上の抗体と反応するか、または反応がみられないため型別できなかったものが31%を占めていた。これらAHRV血清型の年齢分布は、いずれの型も著しい偏りは認められなかった。

AHRV血清型の年別、月別の消長をFig. 2に示す。1990年12月から1991年5月までの流行シーズンは1型が非常に多く、2型、3型および4型は少数であった。ところが、次の流行シーズンである1992年1~3月では、1型と2型がほぼ同頻度で検出された。しかし、3型は依然として少なく、4型はまったくみられなかった。

3. RT-PCRによるAHRV血清型別法の検討
PCR用プライマーの血清型特異性を検討するために、AHRVの標準株であるWa (1型)、S 2

平成5年9月1日

Table 2. Age Distribution of Rotavirus Serotypes Determined by Monoclonal Antibodies in Children with Gastroenteritis

Serotype	No. of rotaviruses in age (months)					Total(%)
	0~5	6~11	12~17	18~23	≥24	
1	5	14	28	13	8	68(41)
2	0	11	15	4	4	34(20)
3	0	4	2	1	0	7(4)
4	1	3	2	0	0	6(4)
Unknown	4	25	14	4	5	52(31)
Total	10	57	61	22	17	167(100)

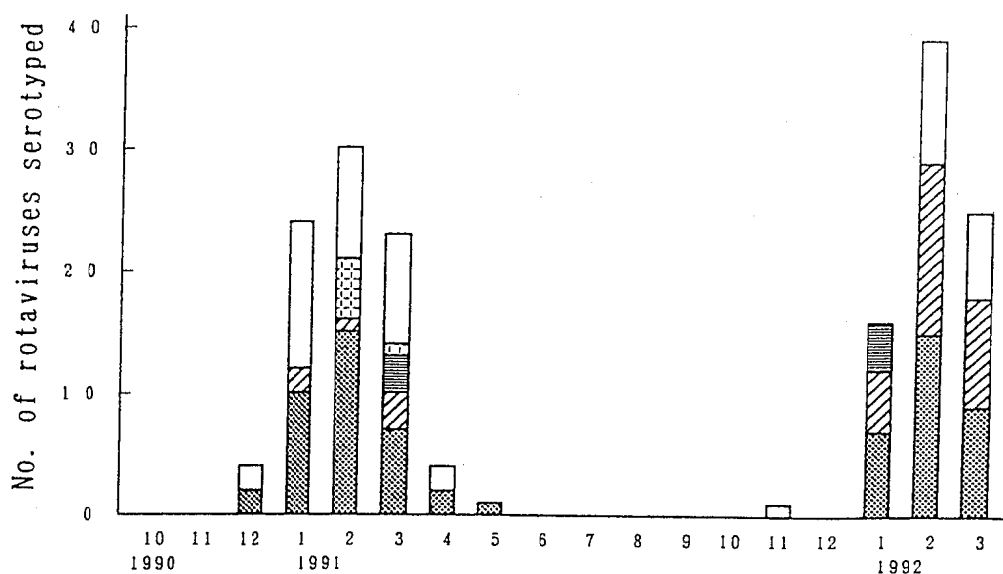


Fig. 2. Serotype Distribution of Human Group A Rotaviruses During the Study Period. Bars represent the numbers of rotaviruses serotyped as 1, 2, 3, 4 or unknown, by type-specific monoclonal antibodies.

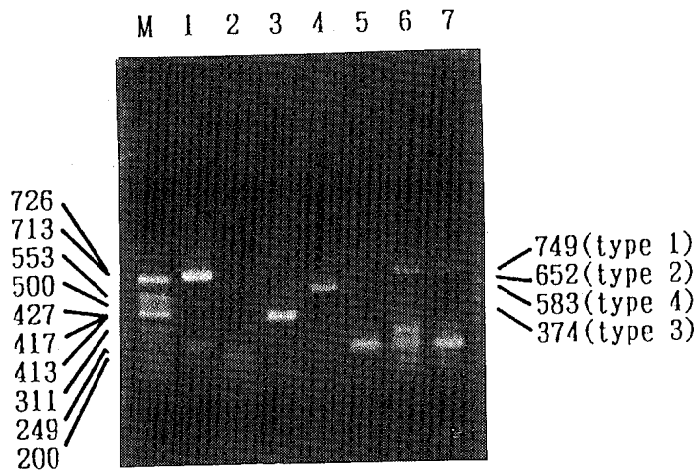


Fig. 3. Electrophoretic Patterns of RT-PCR Products from AHRV Reference Strains and Stool Specimens of Children with Gastroenteritis. Lane 1, Wa (type 1); lane 2, S2 (type 2); lane 3, YO (type 3); lane 4, Hocht (type 4); lanes 5-7, stool specimen of sample No. 674, No. 679 and No. 682, respectively. Lane M shows *Hinf*I-digested ϕ x174 DNA size markers.

(2型), YO (3型) およびHocht (4型) をMA-104細胞で増殖して, PCRに供した。Fig. 3にPCRで作られたDNA産物のアガロースゲル電気泳動パターンを示す。AHRV標準株の場合, Wa, S2, YOおよびHochtからのPCR産物は塩基対数(bp)がそれぞれ749bp, 652bp, 374bp, 583bpの位置で検出され, 予想通りのバンドを示した。これらのバンドの位置を基本にして, 糞便のAHRVを血清型別した。その結果の一部をFig. 3に示したが, 糞便3例のAHRVは, いずれも1型と判定された。しかし, 塩基対が250bp以下の短いDNA産物も認められ, 非特異反応が起こったことが示唆された。

考 察

高岡市と新湊市を中心に富山県西部に居住している小児の急性胃腸炎について, 電子顕微鏡観察によ

るウイルス調査から, 冬春期に多発する急性胃腸炎には, 主にロタウイルスとSRVが関与し, アデノウイルスは低い頻度ながら, 季節変動なく検出されることが明らかになった。

モノクローナル抗体を用いたAHRVの血清型別では, 1990年12月から1991年5月までの流行シーズンは1型が優勢であったが, 1992年1~3月のシーズンは1型と2型がほぼ同頻度に認められた。このことは, AHRVの血清型分布がシーズンごとに変動していることを示唆している。われわれが以前に行った調査でも, 同様の結果を得ている[6]ので, AHRVが流行した後, その血清型に対して集団免疫が成立したことが示唆される。しかし, 約30%の割合で2種類以上の抗体と反応するか, またはカットオフ値以下の反応しかみられない例があり, 型別分布を不明瞭にしている。

これらの不備を補うために, RT-PCRによる血清型別を検討した。MA-104細胞で増殖したロ

平成5年9月1日

タウウイルス標準株を用いた場合、PCR産物は期待どおりのものであった。糞便の場合、モノクローナル抗体に反応しなかった検体でも、血清型別が可能であった。しかし、PCRに際し、4種類の型特異プライマーを混合して用いるので、型特異バンドとそれ以外の少ない塩基対からなるバンドがみられた。糞便にはAHRV以外のRNAも多く含まれているので、非特異的なPCR産物が作られたものと考えられる。これらの非特異バンドは、PCRによる血清型別を妨げることはなかったが、PCRの反応条件については、さらに検討しなければならない。

文 献

1. Cuker, G., and N. R. Blacklow (1984). *Microbiol. Reviews*, 48, 157-179.
2. Brandt, C. D., H. W. Kim, W. J. Rodriguez, J. O. Arrobo, B. C. Jeffries, E. P. Stallings, C. Lewis, R. M. Chanok, A. Z. Kapikian, and R. H. Parrott (1983). *J. Clin. Microbiol.*, 18, 71-78.
3. Estes, M. K., and J. Cohen (1989). *Microbiol. Reviews*, 53, 410-449.
4. Taniguchi, K., T. Urasawa, Y. Morita, H. B. Greenberg, and S. Urasawa (1987). *J. Infect. Dis.*, 155, 1159-1166.
5. Gouvea, V., R. I. Glass, P. Woods, K. Taniguchi, H. F. Clark, B. Forrester, and Z. Y. Fang (1990). *J. Clin. Microbiol.*, 28, 276-282.
6. Urasawa, S., T. Urasawa, K. Taniguchi, F. Wakasugi, H. Kobayashi, S. Chiba, N. Sakurada, M. Morita, O. Morita, M. Tokieda, H. Kawamoto, Y. Minekawa, and M. Ohseto (1989). *J. Infect. Dis.*, 160, 44-51.

富山県における溶血レンサ球菌分離株の菌型と 薬剤感受性の推移

田中大祐 児玉博英 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

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

Daisuke TANAKA, Hirohide KODAMA,
Shiho HOSOROGI, Junko ISOBE,
Koji KATORI¹, Mitsue YAMAGATA²,
Yoshikatsu KASHIWAGI³ and Miyoko ENDOH³

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

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

2. A群の型別分布の変遷を見ると、4型は1983年以来一貫して主流菌型である。一方、1980年代に長期間流行した12型は、1990年から再び増加したが1992年には減少した。1992年は1型が最優勢となり、次いで4型であったが、B3264型と3型も多く分離された。

3. B群の中では、近年増加してきたJM-9型とNT-6型が1992年には最も優勢であった。

4. 薬剤感受性の推移に関して、全体として耐性菌の比率が減少しているが、依然A群4型がテトラサイクリンに対しほとんど全株単独耐性を示し、B群とG群の一部もテトラサイクリンに耐性であった。また、エリスロマイシンに対してはA群は総て感受性になったが、B群とG群の一部は依然として高度耐性であった。

富山県では、1980年6月と10月の大山町での幼稚園、保育所を中心とした流行を最後に、その後12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）である。

A群溶レン菌は扁桃炎、気管支炎、しょう紅熱などの原因となり、溶レン菌感染症の最も重要な起炎菌である。抗生物質が進歩したというものの、最近ではA群溶レン菌によるToxic Shock Like Syndromeによって電撃的な経過をとって死亡するという報告〔2〕もある。B群溶レン菌も特に新生児の敗血症

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

平成5年9月1日

や髄膜炎、高齢者の日和見感染の原因菌として注目されている。

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

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、WHO7271およびJM-9型については、デンカ生研からそれぞれ対応する抗血清の分与を受け、同様の方法で行った。

結果と考察

材料と方法

病原微生物検出情報収集定点である県内12か所の公立病院のうちの2病院の細菌検査室から分与を受けた溶レン菌を用いた。群別はストレプトL A「生研」（デンカ生研）を用いた感作ラテックス凝集反

1992年までの5年間について、分離材料、患者の平均年齢と分離株の群の関係をTable 1に示す。数字は平均年齢、かっこ内の数字は分離菌株数である。5年前と比べて、細菌は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群の方が多くなり、A群が40%以下、B群が50%前後になっ

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	
1988	Throat swab	9(147)*	26(8)	14(4)	26(3)	(162)
	Sputum	49(8)	67(27)	24(1)	52(14)	(50)
	Pus, exudate etc.	20(15)	44(12)		50(11)	(38)
	Urine etc.	51(3)	61(43)		63(5)	(51)
	Total	(173;58.9%)	(90;29.9%)	(5;1.7%)	(33;11.0%)	(301)
1989	Throat swab	A	B	C	G	Total
	Sputum	11(114)	15(14)	10(3)	22(15)	(146)
	Pus, exudate etc.	63(12)	66(56)		61(30)	(98)
	Urine etc.	23(24)	53(13)		43(14)	(52)
	Total	(150;42.8%)	(134;38.3%)	(3;0.9%)	(63;18.0%)	(350)
1990	Throat swab	A	B	C	G	Total
	Sputum	9(92)	34(11)	34(2)	13(6)	(111)
	Pus, exudate etc.	50(2)	72(59)	48(3)	56(13)	(77)
	Urine etc.	26(22)	43(30)		37(8)	(60)
	Total	(117;36.4%)	(165;51.4%)	(7;2.1%)	(32;10.0%)	(321)
1991	Throat swab	A	B	C	G	Total
	Sputum	12(102)	19(6)	23(2)	25(11)	(121)
	Pus, exudate etc.	44(7)	65(51)	62(1)	62(17)	(76)
	Urine etc.	19(26)	47(33)		48(15)	(74)
	Total	(135;38.9%)	(163;46.9%)	(3;0.9%)	(46;13.2%)	(347)
1992	Throat swab	A	B	C	G	Total
	Sputum	13(67)	16(11)	6(2)	26(11)	(91)
	Pus, exudate etc.	53(3)	75(38)	78(1)	50(10)	(52)
	Urine etc.	22(23)	47(30)		48(9)	(62)
	Total	(95;38.8%)	(117;47.8%)	(3;1.2%)	(30;12.2%)	(245)

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

ている。C群は一定して少なく毎年1～2%，G群も10～18%で増加の傾向はない。材料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からほどではないが平均年齢は低い。それに比べ，喀痰からB群や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。

次に，1992年のA群分離株のT型別分布をTable 2に示す。下段の数字は12か所の定点医療機関からの月別の分離株数である。合計欄のかつこ内の数字は1991年の型別分布である。1～3月，6月，11～12月に分離株数が多いのがA群の定型的パターンであり，全国的傾向であるが，この年富山県では4～5月にも分離株数は減少していない。富山県の過去の集団発生は6月の1例を除き総て10～12月に集中していた[3]。最も優勢な菌型は1型，次いで

Table 2. Monthly Distribution of Types of Group A Isolates in 1992

Month	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total	(Total in 1991)
Type														
1	7	5	2	2	3		1				1		21	(20)
3	1			1		3	6			1	2		14	(0)
4	3		3	2	1	2	1	1			1	5	19	(20)
8								1					1	(1)
11			1			1							2	(4)
12		1	1				2	1				1	6	(51)
13		1			1							1	3	(1)
18					1	1	1			1			4	(0)
28	1	1								1		1	4	(12)
B3264	2	3	3	3		1		1		1	1		15	(15)
UT	2		1	2	1		1	2	2	2			13	(9)
Total	16	11	11	10	7	8	12	6	2	6	5	8	102	(138)
Reported number of strains from 12 Hospitals	67	80	73	74	75	79	51	26	18	43	60	65	711	733

4型，B3264型の順であった。12型は，前年は最優勢であったが急激に減少した。また，1985～86年に流行した3型がかなり分離された。当研究所は溶レン菌の東海北陸ブロックのレファレンスセンターとして，県外からの分離株の型別依頼が多いが，福井

県の一医療機関の臨床材料由来株では，表には示していないが1992年は4型と1型が多かった。この結果は富山県の型別分布と類似している。また，愛知県の一医療機関におけるA群の型別情報[4]では，1型と12型が多かったが，12型は1992年の後半に少

Table 3. Monthly Distribution of Types of Group B Isolates in 1992

Month	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Total	(Total in 1990 and 1991)
Type														
Ia		1	2		2	1	3	2	1	1	2	1	16	(21 18)
Ib	4	3					1		1			1	10	(10 10)
II						1							1	(0 1)
III	1	2			1		1	1	1		4	2	13	(33 30)
IV	1												1	(0 1)
V	1	2	1				2		1	1	1		9	(4 9)
NT-6	1	3	1	4	1		3	5	3	3	3	4	31	(12 9)
WHO-7271													0	(0 4)
JM-9	1		2	4	4	3	1	3	4	5	2	2	31	(28 48)
UT		5	2	4	2	2	1	5	3				24	(60 43)
Total	9	16	8	12	10	7	12	16	14	10	12	10	136	(168 173)

平成5年9月1日

なくなっており、富山県の場合と同様に減少傾向にあると思われる。

同じくB群分離株の型別分布をTable 3に示す。最も優勢な菌型は、NT-6型とJM-9型であった。型別不能株の比率は前年ほどではないが高く、17.6%であった。村井ら[5]は、JM-9型が全国的にB群の主流行菌型であるが、韓国とマレーシアに由来するB群分離株からは1株も検出されていないこと、東京近郊ではNT-6型もまたJM-9型に次いで多いことを報告している。

1980年以来13年間のA群分離株のT型別分布の変遷をTable 4に示す。1型は1980~83年、1987~88年、1991~92年に流行した。3型は1985~86年に大流行し、1992年に再び出現した。4型は1983年から

10年間一貫して高頻度に分離され続けている。また、6型は1980年と1988~89年に流行し、12型は1992年と6型の流行した1988~89年を除き長期間流行している。1980年は6型も12型も多く分離されたが、6型は前半、12型は後半に多く、両菌型の流行期間は明らかに異なっていた。28型は1989~90年に多少流行し、B3264型は1991~92年に増加してきた。以上の結果から、1980年以来、他の菌型の流行は一過性であるが、4型と12型だけが長期間流行している様相がうかがえる。

A群の主な優勢菌型とB群、G群について、1980年代の前期(1981~84、表中のI)、中期(1985~88、表中のM)および後期から1990年代初期(1989~91、表中のF)に分けて、それらの菌株に対する

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

Year	T type distribution															Total	Dominant type		
	1	3	4	5	6	8	9	11	12	13	18	22	28	B3264	Imp. 19			14/49	UT
1980	9 ^{3*} (4.9)**	1	6		33 ² (18.1)				97 ¹ (53.3)				1	4			14	182	12:5:1
1981	29 ¹ (29.9)		4						29 ¹ (29.9)			2	1	5 ³ (5.2)			27	97	12.1:B3264
1982	20 ² (26.3)		2						27 ¹ (35.5)	4		3	2	3	6 ³ (7.9)		9	76	12:1:Imp. 19
1983	2		69 ¹ (42.6)						41 ² (25.3)	22 ³ (13.6)		1	11	6			10	162	4:12:13
1984	6	8	30 ² (24.0)	1		1		2	42 ¹ (33.6)	9		1	10 ² (8.0)	3	1		11	125	12:4:28
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 ² (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
1992	21 ¹ (20.6)	14	19 ² (18.6)			1		2	6	3	4		4	15 ³ (14.7)			13	102	1:4:B3264

*Order of prevalence

**Percentage occupied by the corresponding type

3種抗生剤の最小発育阻止濃度(MIC)を集計した結果をTable 5に示す。TC(テトラサイクリン)に対しては、A群の中で4型だけが一貫して殆ど全株単独耐性であり、B群とG群の一部も依然耐性であった。また、1型、12型、28型も一部耐性だが、その比率は年々低下している。CP(クロラムフェニコール)に対しては、A群の総ての菌型とG群は1980年代後期に殆ど感受性となった。但しB群は少数ではあるが、依然として耐性株がある。EM(エリスロマイシン)に対して、1980年代後期以後にはA群分離株は全株感受性となったが、B群のごく一部とG群の一部は依然耐性を示している。藤田らの報告[6]によれば、EM耐性のA群溶レン菌は1983年以後激減して、1986年以降はほとんどないという。なお、供試した菌株はB群の2株を除いて総てPCG(ペニシリンG)、ABPC(アミノベンジルペニシリン)、CER(セファロリジン)とCEX(セファレキシン)に感受性(MIC < 25 µg/ml)であり、表には表示していない。

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，13巻3号(1992)～14巻2号(1993)。
2. 清水可方，大山晃弘，笠間和典，宮崎増美，大江健二(1993)。感染症誌，67，399。
3. 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，P 4。
4. 船橋 満(1992)。私信。
5. 村井貞子，稲積温子，持田福重，富沢 功，滝沢慶彦，今校正行(1993)。感染症誌，67，臨時増刊号，26。
6. 藤田晃三，吉河道人，室野晃一，村井貞子，稲積温子，岸下雅通，山崎伸二，竹田美文(1993)。感染症誌，67，臨時増刊号，29。

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

Table 3. Group and type of Streptococcus isolates and their Antibiotic sensitivity																														
Group & type	A-1			A-3			A-4			A-6			A-11			A-12			A-28			A-B3264			B			G		
MIC(μg/ml)	I*	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F	I	M	F
TC																														
225	14	1	1		5		49	103	89				1	10		52	37	6	4	5	2				26	75	60	9	15	39
12.5																1	1	6										1	9	10
6.25	1																											1	2	11
3.13					1											1												2		4
1.56	1	1	4		1	1	4					1				4	2	1	1		5				1	45	9	1	8	4
0.78	2	64	12		44		2	5		13	7		1	1	1	71	23	1	18	23				3	5	123	172	3	30	55
0.39	2	13	28		41		2	2	1			12	29		1	3	46	43	3	12	11			20	33	95	136	4	17	15
0.20	2				2											1	1		1	2				5	1		1	1		1
CP																														
225			1		1								1	12	3										4	9	7			
12.5																									2	4		7	1	
6.25	3	1	3		3		1	8	2		2		1	1	4	5	1	2	3	4				8	58	12	9	30	45	
3.13	19	71	40		86	1	32	67	77	19	33		1	9	39	133	78	8	31	32			14	49	267	355	4	52	91	
1.56		7	1		4		24	35	11		6	2		1	6	18	1			2	7			14	3	2	4			3
EM																														
225							1									24	4								1	2	6	4	7	17
12.5			1		1											2											5		3	
6.25							2									1			1						1	5	5		1	
3.13																2	1								1	1	1			1
1.56																3									1			1		1
0.78																														
0.39																														
0.20																														
0.10	15	1	9		6	1	15	3	14		15		5	7	9	10		5	3	12			3	57	177	54	13	43	92	
0.05	7	60	35		81		39	63	67		13	22	2	6	22	123	69	5	24	28			17	6	87	303		25	24	
0.025		18			6		44	9			12			1		22	1		8	3			8		67	1		5		
Number of strains examined	22	79	45	0	94	1	57	110	90	0	25	37	0	2	12	61	159	80	10	36	43	0	0	28	66	340	377	20	83	139

*I: strains from 1981 to 84; M: strains from 1985 to 88; F: strains from 1989 to 91

平成5年9月1日

散发事例由来 *Salmonella* Enteritidis のプラスミド プロファイル, 染色体DNAおよびファージによる 型別とその年次分布

刑 部 陽 宅 細呂木 志 保 磯 部 順 子 中 村 明 子¹

Typings of *Salmonella* Enteritidis from Sporadic Cases by Plasmid Profile, Chromosomal DNA and Phage and their Yearly Distributions

Yotaku GYOBU, Shiho HOSOROGI,
Junko ISOBE and Akiko NAKAMURA¹

要 旨 1964～1991年の間に富山県内で、主に散发下痢患者から分離された*Salmonella* Enteritidis 84株の型別を各種の方法で行い、以下の結果を得た。

1) 1988年以前の分離株には、ファージ8型が多く、1989年以後の菌株には4型あるいは34型が多かった。2) ファージ8型菌の多くは40Mdのプラスミド保有のSM感受性菌であり、ファージ34型菌の全部と4型菌の一部は35と40Mdのプラスミド保有のSM耐性菌であった。3) パルスフィールド電気泳動法を用いた染色体DNA制限酵素切断パターンによる型別は、この菌の疫学マーカーとして適当でなかった。以上の結果は、本菌は年の経過と共に質的に変化していることを示している。

国内におけるサルモネラ食中毒は1987年頃までは、患者数で第3位であったが、その後増加し、1991年には第1位となった。このサルモネラ食中毒の増加は血清型*S. Enteritidis*の増加が原因であるが、*S. Enteritidis*の増加は更に鶏卵の本菌による汚染と関係づけられる場合の多いことが示唆されている[1-3]。近年の*S. Enteritidis*の増加は富山県内の病院で分離されたサルモネラの血清型の集計[4]でも認められる。

本調査は、この*S. Enteritidis*について、県内で散发事例から分離された菌株が過去から現在まで、年次によって質的にどのように変化しているかを各種の指標を用いて明らかにすることを目的とした。

材 料 と 方 法

1. 菌 株

富山県内の病院で、散发事例より分離されたヒト由来の*S. Enteritidis* 84株を用いた。

2. プラスミドプロファイル

前報[5]によって調べた。

3. ファージ型別

国立予防衛生研究所で、1990年に英国より導入されたファージ型別システムにより実施した。

4. 染色体DNA制限酵素切断パターンによる型別

パルスフィールド電気泳動装置(Bio-Rad社, CHEF DR II)を用いて実施した。染色体DNAは

1. 国立予防衛生研究所

Grouthuesら [6] によって調製し、その切断は Spe I で行った。また、Spe I 処理 DNA のパルスフィールド電気泳動は電圧150V、パルスタイム、4 から40秒、泳動時間24時間、温度14℃の条件で行った。

5. 薬剤感受性

BBL社製、センシディスクを用いて調べた。

結 果

1. プラスミドプロファイルの年次推移

供試84株はプラスミドプロファイルにより9種類

の型に分けられた (Table 1)。全体の86%は1型、4型あるいは6型のいずれかで、1型は最も多く、1964年から1991年までほとんど毎年認められ、4型は1988年にのみ、また6型は1989年に出現し、1991年にも認められた。

2. ファージ型の年次推移

Table 2 に示すごとく、供試80株は11の型に分けられ、8型、4型、UT、34型、RDNCの順に多かった。優勢な型の年次推移をみると、1981年から1988年までは、8型が多く、1989年の型はさまざまであった。しかし、1989年以降は4型あるいは34型が多かった。

Table 1. Plasmid Profile of *Salmonella* Enteritidis

Provisional type of plasmid profile*	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	56
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

* Size of plasmid detected

Table 2. Phage Type of *Salmonella* Enteritidis

Phage type	No. of isolates								Total
	1964-1966	1973-1980	1981	1982-1986	1988	1989	1990	1991	
4	1					7	3	8	19
7						2	1		3
8		1	21	3	2			1	28
9a	1								1
11a								1	1
13			1			3			4
23				1					1
24		1							1
34						3		4	7
RDNC(7)			1	1	2	2			6
UT			1	1	1	6			9
Total	2	2	24	6	5	23	4	14	80

平成5年9月1日

3. 染色体DNA制限酵素切断パターンによる型別

さまざまなファージ型とプラスミド型の菌を選んで調べた。供試24株は、Fig. 1に示す3種の泳動パターンのいずれかを示した。それぞれのパターンをA, B, C型とすると、Table 4に示すごとく、大部分(22/24, 88%)がA型であった。表示しなかったが、この型の中には、ファージ4型5株、8型4株、13型4株、その他12株が、また、プラスミド1型11株、6型5株、4型4株、その他2株が含まれ、染色体DNA切断パターンとプラスミド型あるいはファージ型との間に相関は認められなかった。

4. 薬剤感受性

結果はTable 3に示した。クロラムフェニコール(CP), テトラサイクリン(TC), カナマイシン(KM), コリスチン(CL), アミノベンジルペニ

シリン(ABPC), ナルジクス酸(NA), ゲンタマイシン(GM)およびセファロチン(CET)耐性菌は認められなかった。しかし、ストレプトマイシン(SM)耐性菌が20/84(24%)の割合で認められた。プラスミドプロファイル1型の一部(8/55, 14%)と6型のすべて(12/12, 100%)がSM耐性で、SM耐性菌はすべて40Mdのプラスミドを保有する1989年以降の分離株であった。

5. 各種の指標の組合せによる型別

各種の指標(ファージ型, プラスミド型, SM感受性)の組合せによる供試菌の分類を試みた。

Table 5に示すごとく、ファージ4型, 13型, RD NC型およびUTはプラスミドあるいはSM感受性により、更に多くの型に分けられた。しかし、8型と34型の菌はそれぞれ、その大部分がプラスミドや

Table 3. Genotype of *Salmonella* Enteritidis

Genotype	No. of isolates					Total
	1973-1980	1981	1988	1989	1991	
A		5	5	7	4	21
B				2		2
C	1					1

Table 4. Relationship between Plasmid Profile and Antibiotic Susceptibility of *Salmonella* Enteritidis

Provisional type of plasmid profile (Size of plasmid detected)	No. of Strains examined	No. of antibiotic-resistant strains	
		SM	CP, TC, KM, CL, ABPC, NA, GM and CET
1 (40 Md)	55	8	0
2 (2.5, 2.7, 4.1, 45)	1	0	0
3 (1.9, 40)	1	0	0
4 (45)	5	0	0
5 (1.7)	1	0	0
6 (35, 40)	12	12	0
7 (1.7, 2.6, 45, 60)	2	0	0
8 (18)	1	0	0
9 (none)	6	0	0

SM感受性でも、同じ型であった。

考 察

サルモネラでは、疫学マーカーとして、ファージ型、プラスミド、薬剤感受性が使用されることが多

い。中でもファージ型別は信頼性が高いとされるが、本法は精度管理上の問題から、国内では国立予防衛生研究所のみで実施されている。本調査では、他の機関でも利用できるプラスミド、薬剤感受性、染色体DNA制限酵素切断パターンによる型別も試みた。しかし、供試菌は、後の2法では2～3型に分けられるのみであり、また、プラスミドでは1型に多く

Table 5. Phage Type, Plasmid Profile and Streptomycin Susceptibility of *Salmonella* Enteritidis

Phage type	Plasmid profile	SM susceptibility	No. of isolates		Total
			1964-1988	1989-1991	
4	1	s	1	10	11
	1	r		5	5
	6	r		3	3
7	1	r		3	3
8	1	s	25	1	26
	4	s	2		2
9a	1	s	1		1
11a	1	r		1	1
13	1	s	1		1
	7	s		2	2
	9	s		1	2
23	1	s	1		1
24	2	s	1		1
34	6	r		7	7
RDNC	1	s	1		1
	3	s	1		1
	4	s	2		2
	6	r		1	1
	9	s		1	1
UT	1	s	1		1
	1	r		1	1
	5	s		1	1
	6	r		1	1
	8	s		1	1
	9	s		3	3

平成5年9月1日

の株が集中しすぎ、いずれの方法もファージよりもすぐれていると思われなかった。薬剤感受性やプラスミドはファージ型別の補強手段として、あるいはファージ型別実施のためのスクリーニング法として実施するのが良いと思われる。

中村〔2, 3〕は国内で発生した食中毒から分離された*S. Enteritidis*のファージ型について、1988年までは8型が主流であったが、1989年には34型が突発して主流となり、1990～1992年では、4型が主で34型が従であると述べている。富山県における散发事例由来株のファージ型は、Table 2にみられるごとく、1989年についてはこれとやや異なるが、その他の年次についてはよく似ている。1989年より、それまであまり認められなかった欧米に多いといわれるファージ4型あるいは34型が増加しているが、4型についてそのSM感受性をみると、耐性菌は1989年分離株に多く(6/7, 86%)、1990～1991年分離株に少ない(2/10, 20%)ので、ファージ4型については、年次による質的な変化があると思われる。既に述べたように、1989年を境に*S. Enteri-*

*tidis*のファージ型は変化し、食中毒例も増加しているが、このような変化によって、菌のvirulenceにかかわる遺伝子がどのように変化しているか明らかでない。今後の究明が必要であろう。

文 献

1. 厚生省生活衛生局食品保健課編(1991). 昭和62, 63年全国食中毒事件録, 23.
2. 国立予防衛生研究所編(1993). 病原微生物検出情報, 14, 1-2.
3. 中村明子(1991). 食品衛生研究, 41, 17-28.
4. 磯部順子, 井山洋子(1992). 富山衛研年報, 15, 127-133.
5. 刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 児玉博英(1992). 富山衛研年報, 15, 121-126.
6. Grothues, D., Koop, U., Hardt, H. and Tummeler, B (1988). J. Clin. Microbiol., 26, 1973-1977.

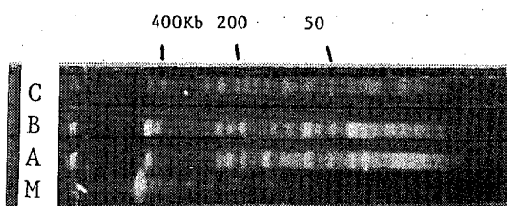


Fig 1. Pulsed field gel electrophoresis of Spe I-cleaved genomic DNA of *S. enteritidis*. Lane A through C represent chromosomal pattern type. Lane M contains lambda DNA.

都市河川水のサルモネラ定点観測

磯部 順子 井山 洋子 田中 大祐

Salmonella Surveillance on River Water in an Urban Area

Junko ISOBE, Yōko IYAMA
and Daisuke TANAKA

要 旨 昭和54年から平成4年までの過去14年間、富山市内を流れる河川において、定点を定め定期的に採水して、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4年の調査では、サルモネラの検出率は24.2%で、前年よりさらに低下し、14年間で最も低かった。

2. 14年間の調査において、昭和54年から60年までの7年間は、サルモネラ検出率は60~80%と高かったが、昭和61年以降は常に50%以下と低く、ここ2年間は20%台とさらに低下している。これは、河川浄化の目的で、上流部で他の河川から本格的に取水を始めた時期（昭和61年）と一致しており、それに加えて、最近の富山市周辺部の下水道の普及が、サルモネラ汚染率を低下させた主な原因と考えられた。

3. 本年の河川水由来株では、*Salmonella* Tennessee 4株、S. Blockley, S. Thompsonの各2株など、9血清型16株が分離された。S. Tennessee以外は、いずれも前年とは異なる血清型であった。

4. 同期間にヒトから分離されたサルモネラは17血清型75株で、その内S. Enteritidisは21株であり、前年同様最も多く分離された。

サルモネラは、自然界に広く生息し、ヒトや家畜などを含めてあらゆる種類の哺乳動物、鳥類、は虫類および両生類から分離される。近年は、海外旅行者、輸入飼料および輸入畜肉が激増し、日本国内に外国からも本菌が持ち込まれる機会が増加しており、サルモネラ感染症の増加の一因にもなっているように思われる。われわれは、環境のサルモネラ汚染の実態を把握する目的で、都市河川水の定点観測を実施し、その分離状況、血清型分布について、ヒト由来菌のそれと比較してきた。本報告では、平成4年の成績とともに、過去14年間のデータについて述べる。

調査定点および方法

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

検査方法は既報〔1〕のとおりである。

平成5年9月1日

ヒト由来サルモネラは、14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886株である。

結果および考察

表1は本年の各定点からの月別のサルモネラ分離状況を示したものである。各定点からの分離数は極

めて少なく、最も多いM-1、M-3でさえ4株が分離されただけで、I-2、I-3、M-2およびM-6からは1年を通じて1株も分離されなかった。月別では、5月に4定点から6菌型と最も分離数が多く、次いで7月の2定点3菌型であった。本年の分離菌型は、S. Tennesseeが4株と最も多く、次いでS. Blockley, S. Thompsonの各2株と続いていた。S. Tennessee以外は、すべて前年とは異なった菌型であり、特に3月、M-3からのS. Lexingtonと5

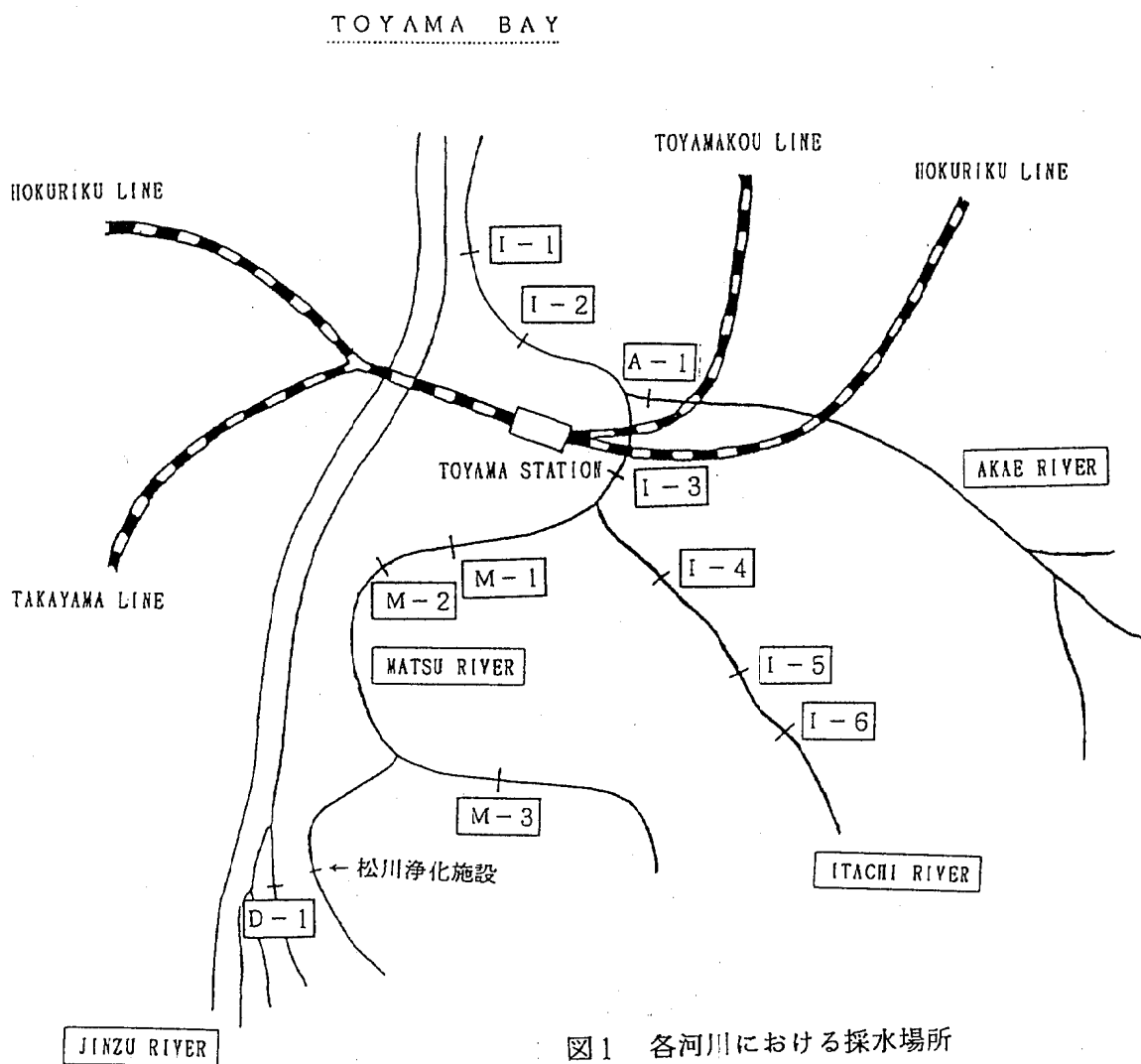


図1 各河川における採水場所

月、I-1からのS. IV 7: z₄, z₂₃: -については、この調査を始めて、ヒトおよび河川から初めて分離された菌型であった。しかし、昭和54年から平成元年の間によく分離されたS. Typhi, S. Paratyphi Bについてはこの3年間1株も分離されなかった。

表2は、過去14年間のサルモネラ分離状況を年別、定点別に示したものである。河川DからMへの本格的な取水が始まった昭和61年以前とその後をわけると、昭和54年から60年までの7年間は、常に60～80%台（平均74.1%）であるのに対し、昭和61年からは50%以下に低下している。これは、既報[2]に報告したとおり、流水量の増加による希釈効果と考えられる。しかし、取水の影響のないI水系の上流部においてもサルモネラ分離率が低下の傾向にあ

ることや、この2年間の分離率の著しい低下は、富山市周辺部の下水道普及率の向上によることも考えられる。定点別にサルモネラの分離率をみると、上流のD-1は河川Mの取水地点でもあり、36.8%と最も低かった。その他の3水系では、分離率に著しい違いはないが、河川Iについてみると最も下流の2定点、I-1、I-2はやや高い傾向にある。

表3は、14年間の調査について河川水およびヒトから分離されたサルモネラの血清型を示したものである。河川水からは合計96血清型844株が分離され、S. Paratyphi Bの107株、S. Infantisの58株、S. Typhimuriumの52株の順に多く、O7群の優勢が著明であった。ヒトからは、74血清型887株の分離があり、本年分は17血清型75株であった。内訳では、

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		S. D _b 48:1, v:1, 5 S. N 7:z ₄ , z ₂₃ : -				
I-2						
I-3						
I-4	S. Tennessee		S. Tennessee			
I-5				S. Bareilly		S. Havana
I-6						
M-1	S. Tennessee			S. Agona S. D _b 48:1, v:1, 5	S. Tompson	
M-2						
M-3		S. Lexington	S. Tennessee S. Blockley 7:z ₉ :1, 5 ?			
A-1			S. Blockley			
D-1			S. Tompson			

平成5年9月1日

S. Enteritidisの21株, S. Braenderupの13株, S. Paratyphi B, S. Typhimuriumの12株の順に多かった。S. Enteritidisについては、前年同様分離数が最も多いが、この中には県外での食中毒に関連したものも含まれている。この血清型は、全国的にも1989年に急増して以来、高い分離率が続いている。一方、S. TyphimuriumやS. Braenderupは、それぞれ前年の2株が12株に、3株が13株に急増しているが、これらの血清型は全国的にも、分離数で上位にランクされるようになっている〔3〕。本年サルモネラ食中毒に関して、われわれが検査したウズラの卵から、S. TyphimuriumとS. Braenderupの両血清型が分離されていることなどから、今後、これらの血清型の動向にも注目したい。

富山市周辺部の下水道の整備に伴い、河川水のサルモネラ汚染率も低下しつつあると思われる。しかし、食中毒に関しては、全国統計で平成4年は件数、

患者数ともにサルモネラが1位を占めるに至り〔4〕、富山県においても、ヒトからのサルモネラの分離数が増加傾向にある。ヒトの本菌感染症と食品や環境の本菌による汚染との関係について、今後も調査を継続したい。

文 献

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

表2. 年別・定点別サルモネラ分離状況

年	定 点	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5	1-6	M-1	M-2	M-3	A-1	D-1	計 (%)
昭和 54年		7/7	7/7	7/7	6/7	4/7	5/7	5/7	3/7	6/7	7/7		57/10 (81.4)
55年		10/12	11/12	11/12	7/12	6/12	10/12	11/12	9/12	10/12	5/12		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)
小 計		46/51 (90.2)	49/51 (96.1)	42/51 (82.4)	28/51 (54.9)	26/51 (51.0)	36/51 (70.6)	37/51 (72.5)	41/51 (80.4)	33/51 (64.7)	35/51 (68.6)	10/51 (19.6)	389/525 (74.1)
61年		2/6	3/6	3/6	2/6	4/6	2/6	3/6	2/6	4/6	4/6	1/5	30/65 (46.2)
62年		1/6	3/6	0/6	3/6	2/6	0/6	4/6	2/6	2/6	3/6	2/6	22/66 (33.3)
63年		0/6	2/6	3/6	2/6	0/6	2/6	3/6	4/6	2/6	4/6	2/6	24/66 (36.4)
平成 元年		4/6	4/6	3/6	3/6	3/6	2/6	3/6	1/6	2/6	6/6	1/6	32/66 (48.5)
2 年		2/6	3/6	4/6	4/6	3/6	1/6	3/6	2/6	1/6	2/6	3/6	28/66 (42.4)
3 年		2/6	1/6	0/6	2/6	4/6	0/6	1/6	2/6	2/6	3/6	1/6	18/66 (27.3)
4 年		2/6	0/6	0/6	2/6	2/6	0/6	4/6	0/6	4/6	1/6	1/6	16/66 (24.2)
小 計		13/42 (31.0)	16/42 (38.1)	13/42 (31.0)	18/42 (42.9)	18/42 (42.9)	7/42 (16.7)	21/42 (50.0)	13/42 (31.0)	17/42 (40.5)	23/42 (54.8)	11/42 (26.2)	170/461 (36.8)
計 (%)		59/93 (63.4)	65/93 (69.9)	55/93 (59.1)	50/93 (53.8)	45/93 (48.4)	44/93 (47.3)	58/93 (62.4)	50/93 (53.8)	55/93 (59.1)	58/93 (62.4)	21/57 (36.8)	559/986 (56.7)

表3. 河川水およびヒト由来サルモネラの血清型分布 (昭和54~平成4年)

血 清 型		河 川 水 山 来		ヒ ト 山 来	
		昭54-平3年	平成4年	昭54-平3年	平成4年
02 群	S. Paratyphi A			6	1
04 群	S. Paratyphi B	107		112	12
	S. Stanley	13		8	
	S. Schwarzengrund	4		7	
	S. Saintpaul	2		3	
	S. Chester	8		2	
	S. San Diego	9		3	1
	S. Derby	14		5	
	S. Agona	28	1	12	3
	S. Typhimurium	52		97	12
	S. Gloucester	1			
	S. Fyris	1			
	S. Bredeney	3		5	
	S. Brandenburg			1	
	S. Heidelberg	1		4	
	S. Haifa			8	
	S. I	11			
	S. I 4:-:-			2	
	S. I 4:d:-	2			
	S. II 4:b:-			1	
07 群	S. Ohio	6		4	
	S. Isangi	8		5	
	S. Livingstone	4		3	
	S. Norwich	1			
	S. Braenderup	21		25	13
	S. Montevideo	15		44	1
	S. Menston	2		1	
	S. Oranienburg	11		10	
	S. Thompson	18	2	15	
	S. Singapore	5		3	1
	S. Escanaba	1			
	S. Bonn	3		2	
	S. Potsdam	1		1	
	S. Virchow	3		5	
	S. Infantis	58		43	2
	S. Bareilly	19	2	7	
	S. IV 7:z ₄ , z ₁₃ :-		1		
	S. Mbandaka	4		3	1
	S. Tennessee	16	4	7	
	S. I	2			
	S. I 7:-:-			1	

平成5年9月1日

血 消 型	河 川 水 由 来		ヒ ト 由 来	
	昭54-平3年	平成4年	昭54-平3年	平成4年
08 群 S. Narasino	2		5	
S. Nagoya	8			
S. Muenchen	8		6	
S. Manhattan	5		4	
S. Newport	7		7	
S. Emek			1	
S. Blockley	2	2	5	
S. Kottbus	1			
S. Litchfield	31		52	2
S. Loanda	1			
S. Bovismorbificans	2		3	
S. Chailey			1	
S. Duesseldorf			2	
S. Istanbul			1	
S. Madar	7		20	1
S. I 6,8:zsz:-	1			
09 群 S. Typhi	31		76	
S. Enteritidis	31		91	21
S. Mendoza	1			
S. Panama	3		3	
S. I	4			
S. Dublin			1	
S. Javiana			1	
S. Lexington		1		
03, 010群 S. Anatum	7		4	
S. London	9		3	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	1	36	1
S. Worthington	3		4	
S. Poona	2		1	
S. I 13:y:-	1			
S. Cubana			1	
016 群 S. Hvitlingfloss			1	
S. Saphara	2			
S. I 16:K:L,5	2			
018 群 S. Cerro	3		7	1
030 群 S. Giessen			1	
035 群 S. Alachua			1	
040 群 S. Johannesburg			1	

血 清 型	河 川 水 由 来		ヒ ト 由 来	
	昭54-平3年	平成4年	昭54-平3年	平成4年
群不明 S. I	34			
S. I - :g, z ₅₁ :-			1	
S. I - :k:l, 5			2	
S. III 41:z ₂₃ :-	4			
48:l, v:-	2			
48:z ₃₅ :-	1			
? :z ₃₅ :-	1			
4:z ₁₀ :z ₅₃	1			
38:i:z	1			
38:z ₁₀ :z ₅₁	1			
38:z ₁₀ :z ₅₂	4			
38:z ₁₀ :z ₅₃	28			
38:z ₅₂ :z ₅₃	5			
48:i:z	1			
48:k:z ₃₅	2			
48:l, v:l, 2	1			
48:l, v:l, 5(7)	28	2	2	
48:l, v:z ₅₃	1			
48:l, z ₁₃ :l, 5(7)	14		1	
48:l, v, z ₁₃ :l, 5	6			
48:z ₁₀ :l, 5	1			
48:z ₁₀ :z ₅₃	3			
60:r:z	1			
60:z ₆ :z ₅₃	1			
60:z ₁₀ :z ₅₃	1			
? :l, z ₁₃ :l, 5	3			
S. III 群不明	6			
S. IV 40:z ₄ , z ₂₃ :-	3			
S. IV 44:z ₄ , z ₂₄ :-	2			
S. IV 40:g, z ₅₁ :-			1	
群不明 R変異				1
計	94血清型 828 株	9血清型 16 株	73血清型 812 株	17血清型 75 株

平成5年9月1日

クライオフォーカス装置を使用しないパージ・トラップ／ キャピラリーGC／MS法による水道水中の揮発性有機化合物の定量

健 名 智 子 松 永 明 信 高 柳 信 孝

Determination of Volatile Organic Compounds in Tap Water Using Purge and Trap/ Capillary-GC/MS Method without Cryofocusing Apparatus

Tomoko KEMMEI, Akinobu MATSUNAGA
and Nobutaka TAKAYANAGI

要 旨 新たに水道水質基準項目に定められた16項目の揮発性化合物について、クライオフォーカス装置を使用することなく、キャピラリーカラムを用いてパージ・トラップ／GC／MS法による一斉分析法を確立した。

トラップ管にVOCARB4000、分離カラムに内径0.32mm、長さ60m、膜厚3.0 μ mのVOCOLを用い、測定を行ったところ、厚生省通知による方法と同等に、各化合物のピークは再現性よく分離された。

水道水中に含まれる揮発性化合物としては、これまで、トリクロロエチレン等3物質および総トリハロメタンについてのみ暫定的に水質基準が定められていた。今回、平成4年12月21日付で水道基準省令が改正され、新たに7種の有機化学物質、1種の農薬及び個々のトリハロメタン4物質について基準値が定められた〔1〕。これら揮発性化合物に関する16の基準項目のうち、総トリハロメタンをのぞく15項目（Table 2に示す）がすべて測定可能である検査方法としては、パージ・トラップ／GC／MS法が掲げられるのみであり、同法による一斉分析法が通知〔2〕により示されている。これによると、分離カラムとして内径0.53mmのワイドボアカラムを用いる場合以外はパージ・トラップ前処理時にクライオフォーカス装置を使用することとなっている。しかしながら、クライオフォーカス装置を使用した場合、クライオフォーカス部における水分の凍結によ

り測定が阻害される場合がある〔3〕。装置や操作も煩雑になり、液体窒素が必要であることから、ランニングコストも高くなり、この供給の如何により機器の使用が制限されることもある。

そこで内径0.32mm、長さ60mで、膜厚が3.0 μ mのカラム（通知では1.0 μ m）を用い、クライオフォーカス装置を使用せずに、パージ・トラップ／GC／MS法による一斉分析を試みた。

実 験 方 法

1. 試薬

標準原液としてジューエルサイエンス社製の15項目各50mg/mlメタノール混合溶液を用いた。

メタノールは和光純薬工業社製の残留農薬試験用を用いた。

2. 装置

パージ・トラップ装置：TEKMAR LSC2000
 ガスクロマトグラフ：SHIMADZU GC-14A
 質量分析計：SHIMADZU QP2000GF
 データ処理装置：SHIMADZU GC-MSPAC200S

3. 測定条件

GC/MS及びパージ・トラップ装置の主な測定条件をTable 1に示した。パージ・トラップ装置に装着するトラップ管にはスペルコ社製 VOCARB 4000を、またGCのカラムには同社製 VOCOL を用いた。

Table 2に示した総トリハロメタンをのぞく15の基準項目のうち、⑪1, 3-ジクロロプロペン、⑫シス・トランス体の混合物である。そのため、測定は16化合物について行い、⑪についてはシス、トランスそれぞれについてデータを処理した後、合計値を求めた。各化合物はTable 2に示したタイムプログラム、モニターイオンによりSIM法で測定した。各化合物の定量は定量用イオンにより、確認は参照用イオンにより行った。

4. 検量線の作成

標準原液をメタノールで段階的に希釈して、0.5, 1.5, 5.0, 15.0, 50.0, 150.0mg/lの標準液を作成し、この各々1μlを、ブランク水5mlに添加し、0.1~30.0μg/lの標準水溶液を調整した。なお、応答値はそのピーク面積値をデータ処理装置により求めた。また、ブランク水として、予めこの装置により該当化合物を含有しないことを確認した地下水を用いた。

結果及び考察

1. ガスクロマトグラフ条件

クライオフォーカス装置を使用しないことから、揮発性化合物の分離カラム液相への保持を高めて分離能を上げることを考慮し、膜厚を3.0μmと、通知に示されているものより厚いものを用いた。

また、カラムオープンの初期温度が、分離カラム液相への分配比に影響を及ぼすと考えられるので、初期温度を30~60℃に変化させて測定を行った。得

られたマスキロマトグラムより、分離状態が良好で、かつ分析期間が短時間であった50℃を、初期温度に設定した。その他、分離カラムの昇温プログラム等、ガスクロマトグラフの条件はTable 1に示した条件を設定した。

2. パージ・トラップ装置条件

パージ・トラップ装置の各操作における温度、時間等の条件により、試料の各成分の測定精度、感度は大きく影響されるが、このうち、パージ時間、デソープ温度、デソープ時間の3条件について、1.0μg/lの標準水溶液を用い、検討を行った。

(1) パージ時間

水溶液中の化合物はパージにより追い出されるのであるから、パージ時間が応答値に影響を及ぼすと考えられる。そこで、パージ時間を1~20分へ変化させた場合の応答値を測定した。なおクロマトグラム上で隣り合う化合物はよく似た応答値の動きを示したので、対象とした15項目のうちTable 2に掲げた奇数番号の化合物について、パージ時間と応答値の関係をFig. 1に示した。

その結果、どの化合物も6分までには応答値はほぼ一定となり、更なるパージの継続においては、若干応答値下がる傾向にあった⑪1, 1-ジクロロエチレンと⑫ジクロロメタンを除いて変化はみられなかった。したがって、パージ時間は6分に設定した。

(2) デソープ温度

トラップ管に捕集された化合物はトラップ管を加熱することにより脱着するのであるから、この加熱脱着時のトラップ管温度（デソープ温度）により応答値は影響を受けると考えられる。そこで、デソープ温度を150~260℃へ変化させた場合の応答値をFig. 1と同様、Table 2の奇数番号の化合物について、Fig. 2に示した。測定にあたっては、各デソープ温度において、ガスクロマトグラフに揮発性成分をより狭いサンプルバンドで注入するため、デソープ温度より5℃低く、デソーププレヒート温度を設定した。⑪1, 1-ジクロロエチレンと⑫ジクロロメタン及び⑧ベンゼンはデソープ温度を上げると応答値が上昇したが、その他の化合物はほとんどデソープ温度による変化がみられなかった。変化がみられたも

ののうち、①と⑧は200℃で、②は230℃で応答値が一定となった。また、ほとんどの化合物でデソープ温度を260℃まで上げた場合応答値が減少する傾向にあったことより、デソープ温度は250℃に設定した。

(3) デソープ時間

デソープ温度を250℃に設定した場合の、デソープ時間による応答値の変化を、デソープ時間を0.1～5分へ変化させて調べてみた結果をFig. 1, 2同様、Table 2の奇数番号の化合物について、Fig. 3に示した。応答値はデソープ時間が0.1分ではゼロであったが、0.2～0.3分で急増し、0.5分ではほぼ一定となり、0.5～5分の間で変化はみられなかった。パージ・トラップ装置においては、デソープモードでガス流路がトラップ管からトランスファーライン(パージ・トラップ装置とガスクロマトグラフを結ぶ)につながるが、LSC2000においては両者の間には外径1/16", 長さ約15cmのガラスラインで、この内容積は約0.2cm³である。キャリアガスの流量がおよそ1.2ml/minであったことから、0.5分のデソープ時間では、0.6cm³のガス量がトラップ管からトランスファーラインへ流れていることになり、トラップ管中の0.4cm³のガス量で揮発性化合物がすべてデソープされたことになる。なお、デソープ時間が0.5～5分の間ではあまり応答値に変化がみられないこと、またこの条件の検討に際しては、1.0μg/lの標準水溶液を用いたが、より濃い濃度の水溶液を測定することを加味し、デソープ時間は余裕をとって2分とした。

以上の検討の結果、パージ・トラップ装置の条件は、Table 1に示した条件に設定した。

3. 応答値の測定精度

各化合物についてTable 1の条件における応答値の測定精度をTable 3に示した。②ジクロロメタンが13.6%と大きめの値を示したが、その他は2.3～8.5%と良好な値を示した。②はこの分析条件においてピークがややテーリングしており、これはデソープ時間を短くすることにより改善される傾向がみられた。この点については今後検討の余地があると思われる。

4. 検量線の直線性

得られた検量線のうち、①1,1-ジクロロエチレン、⑧ベンゼン、⑮ブromホルムについて、Fig. 4に示した。⑧を除く他の化合物については、この濃度範囲において直線性が確認された。⑧は他の化合物にくらべ2～15倍感度がよく、MSのこのEM電圧条件下では30.0μg/lの応答値は振り切れてしまい、直線性は、0.1～10.0μg/lの間でのみ確認された。揮発性化合物の水質基準のうち、一番値の低いものは⑥四塩化炭素と⑪1,3-ジクロロプロペンで共に0.002mg/lであり、測定に際してはこの1/10すなわち0.2μg/lまで測る必要がある。この分析条件では0.1μg/l濃度の水溶液に対し、⑥で応答値 11×10^3 、⑪で応答値 28×10^3 を示しており、検出限界まで測定することが可能である。

5. 検体の分析

本法の用い、富山県内の地下水5件について揮発性化合物を測定した結果を、Table 4に示した。なお、同じ地下水を、通知に示す方法に従い測定した結果もTable 4に併記した。得られた値にほとんど差異はなく、共に、0.1μg/lを検出限界として測定することが可能であった。

以上、クライオフォーカス装置を使用することなく、パージ・トラップ/キャピラリーGC/MS法により、水道水質基準項目中の揮発性有機化合物を測定することが可能であった。今後、監視項目中の揮発性有機化合物をも含めた一斉分析を検討する予定である。

文 献

1. 厚生省(1992). 平成4年12月21日厚生省令第69号.
2. 厚生省(1992). 平成4年12月21日衛水第246号厚生省水道環境部長通知.
3. 瀧川義澄, 羽生 努(1991). 環境化学, 1, 375-380

Table 1. Analytical Conditions

(1)GC/MS ; SHIMADZU GC14A—SHIMADZU QP2000GF	
Column	VOCOL(60m, 0.32mmID, 3.0 μ m film thickness)
Carrier gas	He 0.7kgf/cm ² (about 1.2ml/min)
Oven temperature	50°C(1min)→(10°C/min)→220°C(5min)
Transfer line temperature	250°C
Ion source temperature	250°C
(2)Purge and Trap Concentrator ; TEKMAR LSC2000	
Trap column	VOCARB4000
Sample volume and temperature	5ml, 40°C
Trap column standby temperature	30°C
Purge	6min, He 40ml/min
Dry purge	3min
Desorb preheat	245°C
Desorption	2min at 250°C
Bake	5min at 260°C
Valve, Line, Cryounion temperature	100°C
Mount temperature	50°C

Table 2. Time Program and m/z of Monitoring Ions for SIM

No.	Compounds	Time window (min)	Quantitation ion	Reference ion
①	1,1-Dichloroethylene	3.9~ 8.9	61	96
②	Dichloromethane		49	84
③	cis-1,2-Dichloroethylene		61	96
④	Chloroform		83	47
⑤	1,1,1-Trichloroethane	9.0~10.5	97	61
⑥	Carbon tetrachloride		117	119
⑦	1,2-Dichloroethane		62	49
⑧	Benzene		78	52
⑨	Trichloroethylene	11.0~12.5	130	95
⑩	Bromodichloromethane		83	47
⑪-1	cis-1,3-Dichloropropene	12.8~15.6	75	110
⑪-2	trans-1,3-Dichloropropene		75	110
⑫	1,1,2-Trichloroethane		97	83
⑬	Tetrachloroethylene		166	129
⑭	Dibromochloromethane		129	127
⑮	Bromoform	16.1~19.0	173	175

Table 3. Relative Standard Deviation of Responses

No. Compounds	R. S. D. (%)
① 1,1-Dichloroethylene	2.8
② Dichloromethane	13.6
③ cis-1,2-Dichloroethylene	3.5
④ Chloroform	3.5
⑤ 1,1,1-Trichloroethane	4.0
⑥ Carbon tetrachloride	3.4
⑦ 1,2-Dichloroethane	3.6
⑧ Benzene	8.5
⑨ Trichloroethylene	2.7
⑩ Bromodichloromethane	3.3
⑪ 1,3-Dichloropropene	2.5
⑫ 1,1,2-Trichloroethane	2.8
⑬ Tetrachloroethylene	2.3
⑭ Dibromochloromethane	3.0
⑮ Bromoform	3.5

Table 4. Contents of Volatile Organic Compounds in Groundwater ($\mu\text{g/l}$)

No.	Compounds	Sample No.	The proposed method					Official method				
			1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
①	1,1-Dichloroethylene		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
②	Dichloromethane		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
③	cis-1,2-Dichloroethylene		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
④	Chloroform		0.7	0.1	0.2	—	—	0.7	0.1	0.2	—	—
⑤	1,1,1-Trichloroethane		—	0.7	—	—	—	—	0.6	—	—	—
⑥	Carbon tetrachloride		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
⑦	1,2-Dichloroethane		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
⑧	Benzene		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
⑨	Trichloroethylene		—	0.3	—	—	0.2	—	0.3	—	—	0.1
⑩	Bromodichloromethane		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
⑪	1,3-Dichloropropene		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
⑫	1,1,2-Trichloroethane		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
⑬	Tetrachloroethylene		—	0.1	—	—	3.1	—	0.1	—	—	3.2
⑭	Dibromochloromethane		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
⑮	Bromoform		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— ; Not Detected ($<0.1\mu\text{g/l}$)

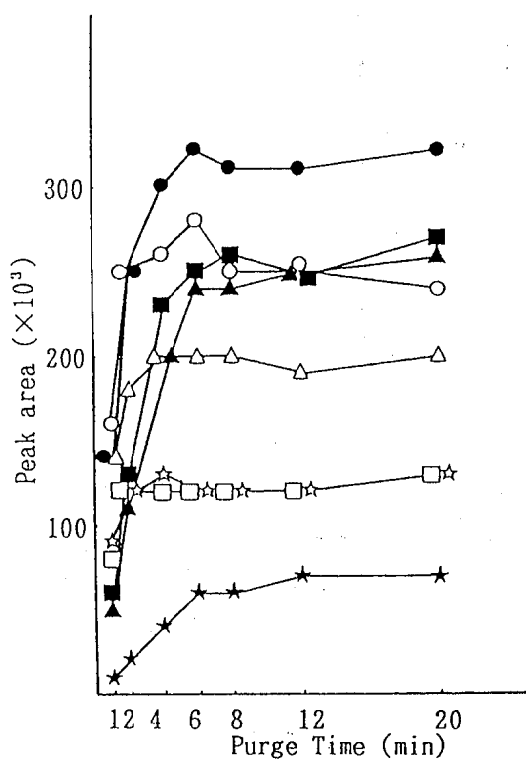


Fig. 1. Effect of Purge Time on Response

○—: ①, ●—: ③, △—: ⑤,
▲—: ⑦, □—: ⑨, ■—: ⑪,
☆—: ⑬, ★—: ⑮

The compound names corresponding to the curves (①~⑮) are the same as in Table 2.

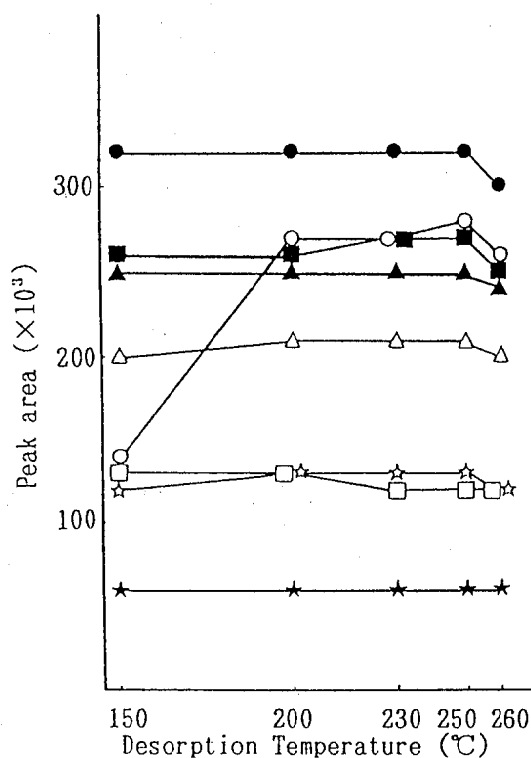


Fig. 2. Effect of Desorption Temperature on Response

○—: ①, ●—: ③, △—: ⑤,
▲—: ⑦, □—: ⑨, ■—: ⑪,
☆—: ⑬, ★—: ⑮

The compound names corresponding to the curves (①~⑮) are the same as in Table 2.

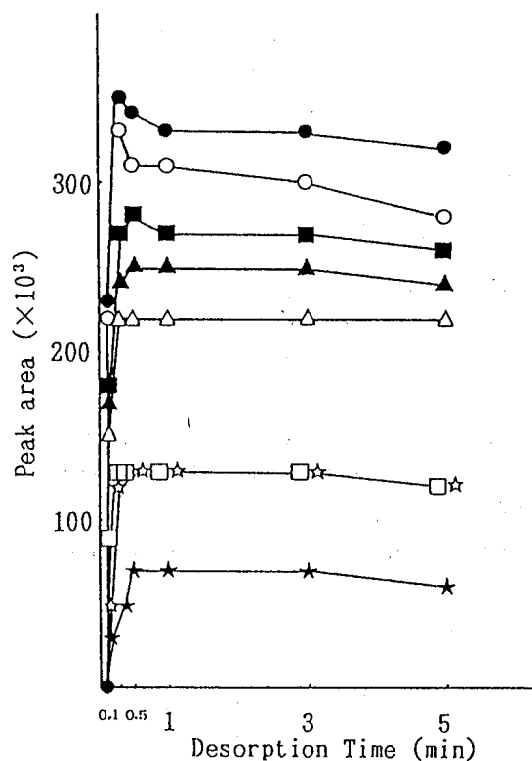


Fig. 3. Effect of Desorption Time on Response

○—: ①, ●—: ③, △—: ⑤,
▲—: ⑦, □—: ⑨, ■—: ⑪,
☆—: ⑬, ★—: ⑮

The compound names corresponding to the curves (①~⑮) are the same as in Table 2.

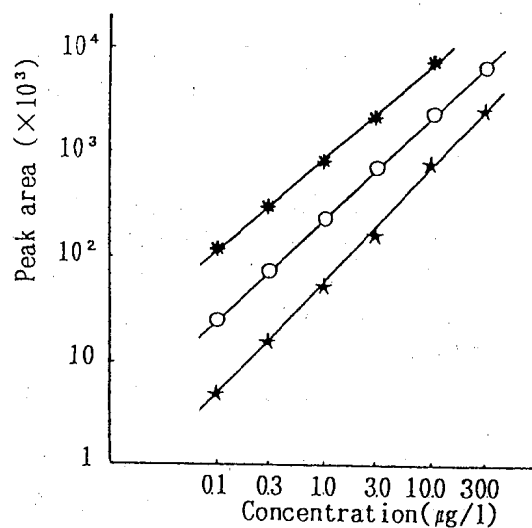


Fig. 4. Calibration curves for 1,1-Dichloroethylene(○—: ①), Benzene(★—: ⑧) and Bromoform(★—: ⑮)

中高年女性における骨代謝指標の相互関連 (第2報) 血清骨型アルカリフォスファターゼとオステオカルシンとの検討

西野 治 身 田 中 朋 子 林 徹 雄
土 肥 祥 子¹ 梶 田 悦 子² 伊 木 雅 之³

Interrelations of Bone Metabolic Indices in Middle-aged and Elderly Women Part 2. Correlation between Serum Bone Alkaline Phosphatase and Osteocalcin

Harumi NISHINO, Tomoko TANAKA, Tetsuo HAYASHI,
Yoshiko DOHI¹, Etsuko KAJITA² and Masayuki IKI³

要 旨 中高年女性における血清骨型 Alkaline phosphatase (ALP) および血清 Osteocalcin (Bone Gra-protein, BGP) の変動と相互関連について解析し、年齢、閉経および腰椎骨密度との関連性を検討した。その結果、その概要は以下の通りであった。

1. 骨型ALPとBGPは、ともに30歳代に比べ50歳代で有意に高値を示し、60歳、70歳代においても高い値であった。
2. 骨型ALPとBGPの間には有意な正の相関があり、50歳以上の高齢者でこの関係が顕著であった。
3. 骨型ALPとBGPの上昇は腰椎骨密度の低下と密接に関連していると考えられた。
4. 50歳代における骨型ALPの増加は、閉経後60か月以上経過したものに有意であった。

人口の高齢化に伴い、老年病に対する関心は高くその予防対策は今後の重要課題である。代表的な疾患とされる骨粗鬆症は、加齢による骨の脆弱性を基盤にし、骨折を主症状とするもので、男性より女性、特に閉経後に多いといわれている。そこで我々は、予防的見地から、骨粗鬆症の予備軍と考えられる中高年女性の骨変化を早期に発見できる生化学指標の検討を行ってきた。昨年度は、骨吸収の指標として有用性が明らかとなった尿中総 hydroxyproline (Hyp) と、骨形成の指標として注目されている骨型ALPの変動および相互関連について報告した

[1]。

今回は、いずれも骨形成の指標として注目されている骨型ALPとBGPを同一対象者で測定し、中高年女性の正常時における両指標の変動と相互関連ならびに腰椎骨密度の変化との関係について検討したので報告する。

1. 奈良県立医科大学 2. 福井県立短期大学 3. 福井医科大学・環境保健

対象および方法

対象は、昨年度の報告と同一地区の福井県山間部農村地域の35歳以上の全女性130名で、90名(69.2%)が受診した。そのうち今回は、月経歴の聞き取り調査および早朝尿と血液検査データがともに揃っている85名について検討した。

血清中の骨型ALPは窪田の方法[2]により、血清に小麦胚芽レクチンを加えて骨型ALPを沈澱分離する方法で測定した。血清中BGPは、Sandwich enzyme immunoassay により、また、骨塩量は、第2から第4腰椎骨($L_2 \sim L_4$)の骨密度(Bone mineral density, BMD)を二重エネルギーX線吸収法(Dual-energy X-ray absorptiometry, DEXA)により測定し、変形か所を除く平均値で示した。平均値の差の検定はt-検定によった。

結 果

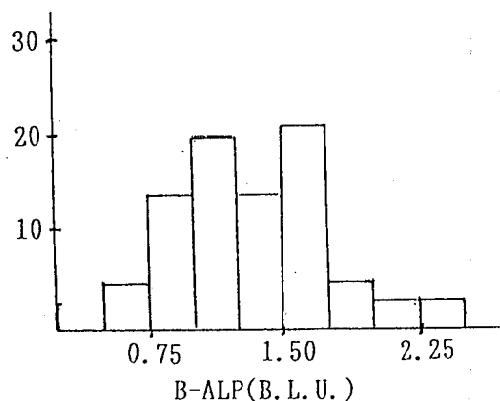
血清骨型ALPとBGPの測定値は、前者が正規型、後者が対数正規型に近い分布を示したので(Fig.1), 以下BGPについては、対数変換の後統計処理を行った。

Fig.2に、年齢階級別血清骨型ALP活性とBGP濃度を、平均値と標準偏差で表した。骨型ALP活性は、30歳代に比べ50歳代で有意に高値を示し($p<0.001$), 60歳, 70歳代でも高い値を示した($p<0.05$)。血清BGPは、30歳代に比べ50歳以上で有意に高値を示したが、50歳と70歳代は60歳代より高い傾向がみられ、2峰性のパターンを示した。

次に骨型ALPとBGPの相互関連を検討した。Fig.3に示すように、両者の間には $r=0.668$ ($p<0.001$)と正の相関がみられた。年齢階級別にみると(Table1), 30歳, 40歳代の若年齢層では明らかな関係がみられなかったが、50歳代において $r=0.577$ ($p<0.001$)と正の相関が認められ、60歳代と70歳以上の高齢層でも正の相関がみられた(各々 $r=0.673$ $p<0.01$, $r=0.653$ $p<0.05$)。

50歳以上の女性において、骨形成の指標がともに

Number of subjects



Number of subjects

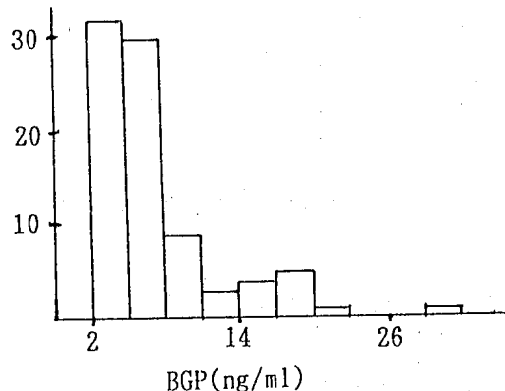


Fig.1. Frequency Histograms of Serum Bone Alkaline Phosphatase Activity and Osteocalcin Concentration
BGP; Bone gra-protein=osteocalcin

高値を示すことの意義を明らかにするため、腰椎骨におけるBMDの変化を調べた。Table2は、BMDの平均値と標準偏差を年齢階級別に示したものである。30歳代のBMDは 1.061 g/cm^2 であり、40歳代も 1.018 g/cm^2 とほとんど変化がみられなかったが、50歳代では 0.829 g/cm^2 と30歳代に比べ22%も減少していることがわかった($p<0.001$)。さらに70歳以上では 0.704 g/cm^2 と低く34%も減少していた。またその値は、骨折危険域値としてスクリーニングに用いられている 0.7 g/cm^2 にほぼ等しい値であった。

各指標とBMDとの関係を見るため、Fig.4には

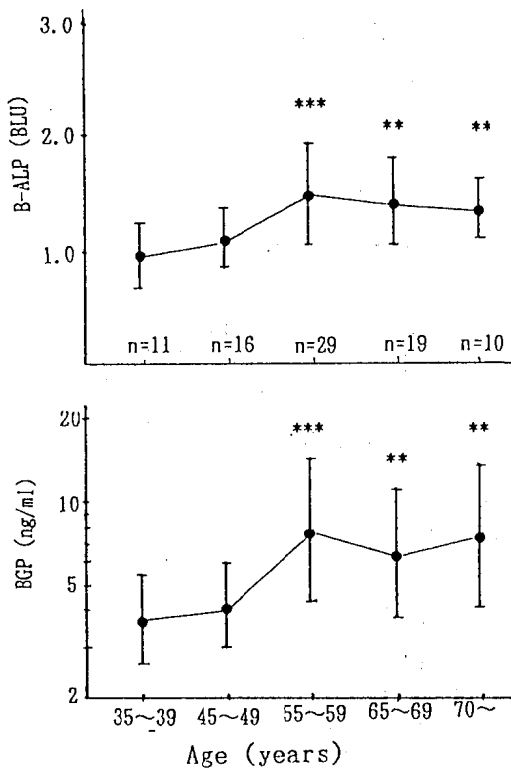


Fig.2. Serum Bone Alkaline Phosphatase and Osteocalcin by Age Groups
B-ALP;Arithmetic mean,
BGP(osteocalcin);Geometric mean
*,*** ; Significantly different from the 35-39 year group, $p<0.01$ and $p<0.001$, respectively

Table 1. Correlation Coefficients between Bone Alkaline Phosphatase and Osteocalcin by Age Groups

Age Group	n	B-ALP _{v.s.} BGP
35-39y	11	0.501
40-49y	16	0.313
50-59y	29	0.577***
60-69y	19	0.673**
70y-	10	0.653*

BGP=osteocalcin

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

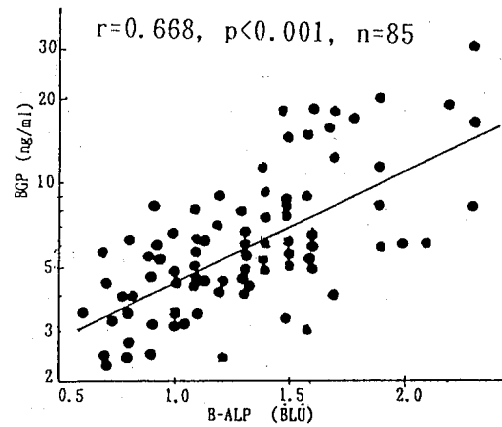


Fig.3. Correlation between Bone Alkaline Phosphatase and Osteocalcin
BGP=osteocalcin

Table 2. Bone Mineral Density of the Lumbar Spine by Age Groups

Age Group	n	BMD(g/cm ²)
35-39y	11	1.061±0.148 ^a
40-49y	16	1.018±0.156
50-59y	29	0.829±0.131***
60-69y	19	0.793±0.169***
70y-	10	0.704±0.197***

***;Significantly different from the 35-39 year group at $p<0.001$
a ; Arithmetic mean $\pm$ S.D.

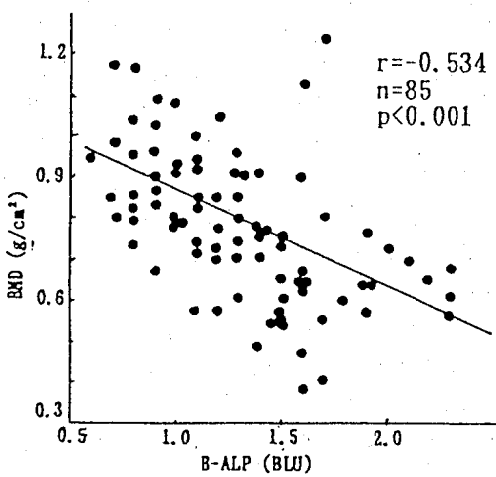


Fig.4. Correlation between Bone Alkaline Phosphatase and Bone Mineral Density

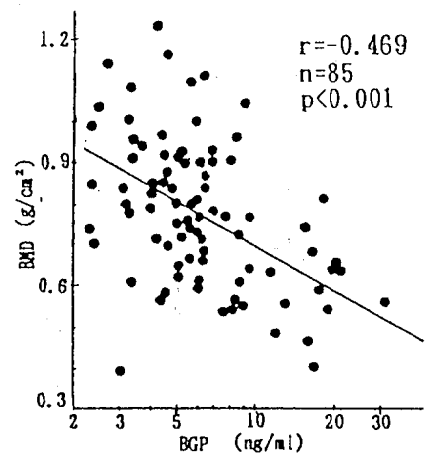


Fig.5. Correlation between Osteocalcin and Bone Mineral Density
BGP=osteocalcin

骨型ALPについて、Fig.5にはBGPについて、BMDとの相関図を示した。前者では $r = -0.534$ ($p < 0.001$)、後者では $r = -0.469$ ($p < 0.001$)といずれも有意な負の相関があり、骨形成の指標の上昇はBMDの低下と密接に関連していると推測された。

一方、50歳代は閉経期に相当するので、閉経による骨代謝への影響は無視できないものと思われる。そこで、閉経近辺の年齢層である40歳と50歳代について、閉経月数別に骨型ALPとBGPの分布を調べた (Fig. 6)。骨型ALPは、50歳代の閉経月数60

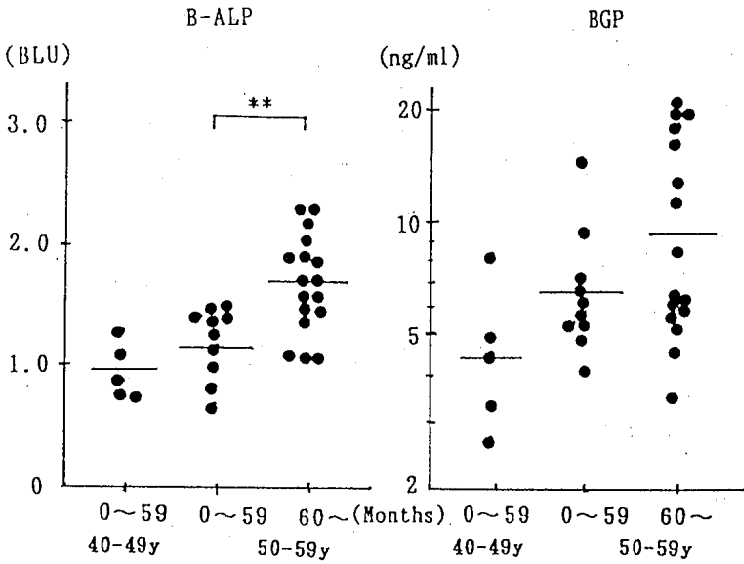


Fig.6. Bone Alkaline Phosphatase and Osteocalcin by Postmenopausal Periods
BGP=osteocalcin
** ; Significantly different, $p < 0.01$

か月未満では40歳代と有意差がみられなかったが、60か月以上経過したものにおいて明らかな上昇が認められた ($p < 0.01$)。これに対しBGPは、50歳代の60か月未満で40歳代より高い傾向があり、60か月以上ではさらに高くなる傾向を示した。しかしいずれも有意ではなかった。

BMDについて同様に閉経月数との関係を調べた (Fig. 7)。その結果、50歳代の60か月未満では40歳代より有意に低値であり ($p < 0.01$)、60か月以上経過したものではさらに低下している ($p < 0.01$) ことがわかった。

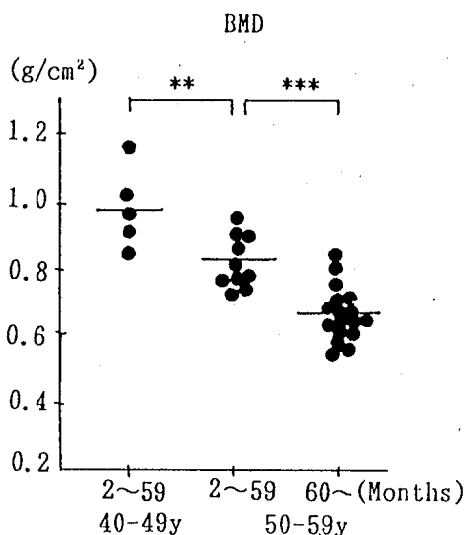


Fig. 7. Bone Mineral Density by Postmenopausal Periods
 , * ; Significantly different, $p < 0.01$, $p < 0.001$, respectively

考 察

ともに骨形成の生化学指標として注目されている血清骨型ALP活性とBGPの変動を調べたところいずれも30歳代に比べ50歳代で有意に高値を示し、60歳以上でも高い値が得られた。しかも両指標は相互に関連があり、このことから、50歳過ぎの女性では30歳代の若年者より骨形成が亢進していることが推測された。

一方、これまでの調査により、50歳代の尿中Hypは30歳代より増加していることが明らかとなり[1]、骨吸収も亢進していると推測された。さらに尿中Hypは骨型ALPと正の相関がみられ、今回の調査で、骨型ALPはBGPと正の相関が認められたので、BGPの上昇はHypの増加と関係があるものと推測された。従って、骨吸収と骨形成の指標は相互に関連しあい、予測される骨代謝回転は、50歳代女性で異常に高いことが示唆された。

また50歳代にみられる骨代謝の異常は閉経後60か月以上経過したものに認められ、閉経に伴う女性ホルモンの変化と関係が深いものと思われた。

原発性の骨粗しょう症には二つのTypeがあり、50歳～65歳の閉経女性に多発する閉経後骨粗しょう症(Type 1)と75歳以上の男女に多い老人性骨粗しょう症(Type 2)に分別されることが報告されている[3]。今回、BGPにみられた50歳代と70歳代の2峰性の高い値は、Type 1とType 2の発症時期に相当し興味ある結果と思われた。

最近、測定機器の開発により、一般健康人の骨密度も高い精度で測定可能となった。我々はDEXAにより中高年女性の骨塩量を測定したところ、50歳代女性の腰椎骨のBMDは、30歳代に比べ20%以上も減少していることが明らかになった。さらに、70歳代女性では骨折の危険性が著しく高いことが推測された。このような加齢による骨量の減少は、その後骨粗しょう症や寝たきり老人の原因になると憂慮され、早急な予防対策の実施が望まれている。

骨粗しょう症には、性ホルモン、遺伝、生活様式など種々の因子が関与しており[4]、原因の特定が難しいため、確立された治療法がないと理解されている。しかし、一方では、運動や食事などの生活様式を改善することにより、BMDの低下を遅らせることが可能であるとの報告もある[5, 6]。

我々のこれまでの調査成績は、中高年女性にみられた尿中Hyp、骨型ALPおよびBGPの上昇がいずれも腰椎での骨密度の低下を反映していることを示すものであった。それ故、骨代謝指標を通してその増加を抑制するような生活習慣を見出し、それを確立することが予防対策につながるものと思われる。

このような観点から、今後も特異性の高い骨代謝指標の開発に努めるとともに、コホート調査により骨代謝への影響要因を検討していきたい。

文 献

1. 西野治身, 田中朋子, 梶田悦子, 伊木雅之, 緒方 昭 (1992). 富山衛研年報, 15, 156-160.
2. 窪田一男 (1989). J. Nara Med. Ass., 40, 202-217.
3. Riggs, B.L. and Melton, L.J. (1983). Am.J.

平成5年9月1日

Med., 75,899-901.

4. 折茂 肇 (1987). カルシウム・ビタミンと骨粗鬆症,
35-38, メジカルビュー社.

5. Chan, G.M. (1991). Am.J.Dis.Child.,145,631-

634.

6. Lips, P., Ginkel, F.C., Netelenbos, J.C.,
Wiersinga, A. and Vijgh, W.J.F. (1990). Bone
Miner., 9,49-57.

学童期における尿中ハイドロキシプロリンと 運動習慣との関連

堀井 裕子 西野 治身 田中 朋子 林 徹雄
山上 孝司¹ 成瀬 優知¹ 鏡森 定信¹

Correlation between Urinary Hydroxyproline Concentration and Physical Practice in School Children

Yuko HORII, Harumi NISHINO, Tomoko TANAKA,
Tetsuo HAYASHI, Takashi YAMAGAMI¹, Yuchi NARUSE¹
and Sadanobu KAGAMIMORI¹

要 旨 小学校児童209名（男子115名、女子94名）の尿中ハイドロキシプロリン（Hyp）濃度を4年生時と5年生時に測定し、それらと身体計測値との関連を検討した。さらに、運動習慣が与える影響について調査し以下の結果を得た。

1. 尿中 Hyp 濃度は4年生時、5年生時ともに男子に比べて女子が高値を示した。
2. 身体計測値は身長のみ5年生時女子が男子より有意に高かった。増加率は身長、体重、Body Mass Index とともに女子で高値を示した。
3. 尿中 Hyp 濃度は4年生時、5年生時いずれにおいても、男女とも身長の増加率と有意な正の相関があった。さらに、5年生時では男女共に体重の増加率とも正の相関がみられた。
4. 運動習慣別の尿中 Hyp 濃度は、5年生時の男子において、運動量の多い群が低値を示した。また、4年生時女子でも、同様な傾向がみられた。しかし、身長増加率に違いはなかった。

ハイドロキシプロリン（Hyp）はコラーゲンに多く含まれるアミノ酸で、コラーゲン代謝を反映するといわれている〔1〕。コラーゲンは骨に大量に存在するため、Hyp は骨代謝の一指標になると考えられる。これまで我々は、中高齢者において尿中 Hyp が骨代謝の生化学指標として有効であることを報告してきた〔2〕。一方、尿中 Hyp は骨コラーゲンの形成が著しい乳幼児期や思春期において増加すると報告されており〔3〕、成長との関連が推測される。そこで成長が盛んな学童の尿中 Hyp を測

定し、その変動を明らかにするとともに、運動習慣との関係についても検討した。

対象および方法

対象は富山県内の小学校4年生209名（男子115名、女子94名）である。調査は、同一対象者について4年生時の1991年11月（9または10歳）と5年生時の1992年6月（10または11歳）に行った。

1. 富山医科薬科大学

試料は早朝尿を用いた。HypはBergman-Loxley変法、クレアチニンはFolin-Wu法により測定し、以下の検討ではクレアチニン補正值 (Hyp/C) を用いた。

身長、体重は採尿と同じ月に測定し、それらからBody Mass Index {体重(kg)/身長(m)²、以下BMI} を求めた。身長、体重、BMIの増加率は、5年生時から4年生時の値を引き、それらの{(5年生時の値+4年生時の値)/2} に対する割合とし、パーセントで示した。

運動習慣は、アンケートにより学校内、外でのクラブ活動の有無と一週間の回数を調査した。

結果および考察

Table 1に尿中Hypの4年生時と5年生時における平均値を男女別に示した。Hypは対数正規型に近い分布をしていたため以下の検討では幾何平均値を用いた。尿中Hyp濃度は4年生時では男子229.7(最低151.2, 最高367.3), 女子275.0(最低107.9, 最高334.2) mg/g Cre, 5年生時では男子196.9(最低170.1, 最高526.4), 女子222.9(最低94.4, 最高435.8) mg/g Creで、男子に比べて女子が有意に高値を示した(4年生, 5年生時共に $p<0.001$)。

Table 1. Concentration of Urinary Hydroxyproline in School Children

Sex	School year	Hyp/C (mg/gCre)	
		G.M.	Range
Boys (n=115)	4th (1991)	229.7	(162.6-324.6)
	5th (1992)	196.9	(157.5-312.5)
Girls (n=94)	4th (1991)	275.0	(173.3-436.5)***
	5th (1992)	222.9	(134.7-368.7)***

n; Number, G.M.; Geometric mean

Range; Range of 2 Standard deviation

*** Significantly different from the boys at $p<0.001$

Table 2に身体計測値、および各増加率の平均値を示した。身長は4年生時では男女間で差はみられなかったが、5年生時は女子が男子より高値であった($p<0.01$)。体重やBMIは、4年生時、5年生時共に、男女差はなかった。増加率について身長は男子2.4%, 女子2.9%, 体重は男子4.7%, 女子7.0%, BMIは男子0%, 女子1.2%であり、ともに女子が男子より有意に高い値であった(身長, 体重 $p<0.001$, BMI $p<0.01$)。

尿中Hypと身体計測値の関係については表示しなかったが、尿中Hypと身長、体重、BMIのそ

Table 2. Physical Characteristics and Rate of Increase in Subjects

Sex	School year	Height (cm)	Weight (kg)	BMI (kg/m ²)
		A.M. $\pm$ S.D.	A.M. $\pm$ S.D.	A.M. $\pm$ S.D.
Boys (n=115)	4th (1991)	136.6 $\pm$ 5.6	33.0 $\pm$ 7.2	17.6 $\pm$ 2.8
	5th (1992)	139.8 $\pm$ 5.9	34.6 $\pm$ 7.5	17.6 $\pm$ 2.7
	rate ^{a)} (%)	2.4 $\pm$ 0.5	4.7 $\pm$ 3.4	0.0 $\pm$ 3.3
Girls (n=94)	4th (1991)	137.8 $\pm$ 5.2	32.5 $\pm$ 5.9	17.1 $\pm$ 2.4
	5th (1992)	141.9 $\pm$ 5.4**	34.9 $\pm$ 6.3	17.3 $\pm$ 2.5
	rate ^{a)} (%)	2.9 $\pm$ 0.7***	7.0 $\pm$ 3.3***	1.2 $\pm$ 3.0**

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

a) Rate of increase in physical characteristics

, * Significantly different from the boys at $p<0.01$ and $p<0.001$, respectively

Table 3. Correlation Coefficients between Individual Rate of Increase in Physical Characteristics and Concentration of Urinary Hydroxyproline

Sex	School year	Rate of Increase		
		Height	Weight	BMI
Boys (n=115)	4th(1991)	0.248*	0.045	-0.033
	5th(1992)	0.270**	0.212*	0.135
Girls (n=94)	4th(1991)	0.376***	0.092	-0.080
	5th(1992)	0.475***	0.335**	0.141

n; Number * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$

れぞれとの相関は、学年、性別にかかわらず認められなかった。

次に、尿中 Hyp と身体計測値の増加率との関係を Table 3 に示した。尿中 Hyp と身長増加率の相関係数は、4年生時の男子 $r=0.248$ ($p < 0.05$)、女子 $r=0.376$ ($p < 0.001$)、5年生時の男子 $r=0.270$ ($p < 0.01$)、女子 $r=0.475$ ($p < 0.001$) といずれにおいても有意な正の相関が認められた。尿中 Hyp と体重増加率の関係は4年生時ではなく、5年生時のみ正の相関がみられた(男子 $p < 0.05$ 、女子 $p < 0.01$)。BMI の増加率とは学年、性別にかかわらず関係はなかった。

春日ら [3] は3～70歳までの健康な男女について尿中 Hyp 濃度の分布を示し、今回の対象者と同年齢者については、男子105.1, 122.2, 99.2mg/g Cre (各々9, 10, 11歳)、女子130.8, 118.9, 112.8mg/g Cre (各々9, 10, 11歳)であったとしており、我々の値より低い傾向であった。池田ら [4] は起床直後の尿中 Hyp/C値は他の時間帯に比べて高かったと報告しているので、我々は早朝尿、春日らは随時尿を用いており、測定値の違いの原因は試料の違いによるのかもしれない。

今回得られた尿中 Hyp 濃度はすでに報告した中高齢者における調査結果(男性40歳以上 平均29.2 mg/g Cre, 女性40歳以上 平均47.9mg/g Cre) [5] に比べて約5～8倍と高かった。春日らの報告によると10歳前後の年齢では40歳以降(男性20.3～29.0 mg/g Cre, 女性19.4～29.9mg/g Cre) に比べ尿中

Hyp 濃度が明らかに高値を示しており、我々の結果はこれと一致していた。

尿中 Hyp と身体計測値の関連について、今回の調査で尿中 Hyp と身長の増加率は性別にかかわらず有意な正の相関がみられた。さらに、身長増加率は女子の方が高値を示し、尿中 Hyp 濃度も女子が高かった。米山 [6] は学童について、男女ともに尿中 Hyp と身長の伸び量は相関があったとし、また3～5年生では女子の身長増加量と尿中 Hyp 濃度が共に高かったと述べていることを併せ考えると、成長期の学童における尿中 Hyp は身長の伸びを反映する良好な指標になると推察された。

次に運動習慣が尿中 Hyp に与える影響を検討した (Table 4)。先の検討で、尿中 Hyp は身長増加率と相関があったので、身長の増加率も併記した。運動習慣は4年生時と5年生時における学校内、外での運動クラブ参加の有無と、実施頻度(1週間の回数)に基づいて4群に分けた。すなわち、“運動習慣なし”は学校内、学校外共にクラブに入っていないもの、“ありⅠ”は学校内のみ入っているもの、“ありⅡ”は学校外のみ入っていて、かつ週2回以下のもの、“ありⅢ”は学校外と学校内の両方入っているか、または学校外のみ入っているが週3回以上と回数の多いものである。これらの内容についてみると、学校外のクラブは学校内のクラブに比べて1回あたりの時間数が長いので、運動量が多いものの順に“運動習慣ありⅢ”、“ありⅡ”、“ありⅠ”と考えられる。運動習慣別で尿中 Hyp 濃度をみると、5年生時男子の“運動習慣ありⅢ”が179.5mg/g Creで“運動習慣なし”、“ありⅠ”、“ありⅡ”に比べて低値を示した(各々 $p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.01$)。また、4年生時の女子では有意な差はなかったが、運動回数が多いもので低値を示す傾向がみられた。身長の増加率については4, 5年生どちらの学年時のクラブで分けても、運動習慣のあるなしに関わらず、男女共に差は認められなかった。

運動習慣が与える影響について、運動量が多いものでは身長の増加率に違いがないにもかかわらず、尿中 Hyp が低いという結果が得られた。以前の中高年女性についての検討から [7]、尿中 Hyp は

Table 4. Concentrations of Urinary Hydroxyproline and Rate of Increase in Height by Habitual Physical Practice

Sex	Habitual physical practice ^{a)}	n	4th school year(1991)			n	5th school year(1992)		
			Hyp/C (mg/gCre)		Rate ^{a)} (%)		Hyp/C (mg/gCre)		Rate ^{b)} (%)
			G.M.	G.S.D.	A.M.±S.D.		G.M.	G.S.D.	A.M.±S.D.
Boys	No-habit	42	234.9	1.18	2.3±0.4	21	206.7*	1.27	2.5±0.7
	I	19	232.3	1.21	2.5±0.8	21	206.9*	1.25	2.4±0.5
	II	24	229.6	1.15	2.4±0.5	24	213.5**	1.22	2.4±0.5
	III	30	221.2	1.22	2.3±0.5	49	179.5	1.27	2.2±0.4
Girls	No-habit	37	291.5	1.27	3.0±0.7	34	235.9	1.25	2.9±0.7
	I	18	275.1	1.21	2.9±0.6	25	219.0	1.20	2.9±0.6
	II	23	264.8	1.25	2.9±0.8	16	229.9	1.30	3.2±0.9
	III	16	253.8	1.29	3.0±0.8	19	200.8	2.06	2.8±0.7

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

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

a) I Curricular physical club only

II Extracurricular physical club only (less than 2 times/week)

III Both curricular and extracurricular physical club or extracurricular physical club only (more than 3 times/week)

b) Rate of increase in physical characteristics

*, ** Significantly different from the "III" group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively

骨吸収の程度を反映する指標として有効であり、50歳以上の女性では尿中Hypの増加がみられることを示した。さらに運動習慣はその尿中Hypの増加を抑え、骨密度の低下を防ぐように作用し、骨代謝に好影響を与える可能性が示唆された[8]。学童についての運動習慣と尿中Hypとの関連に関する報告は皆無に等しく、さらに検討を要するが、今回骨吸収の指標である尿中Hypが低値を示したことより、運動は学童においても中高齢者と同様、骨代謝に好影響を与える可能性が示唆された。今後、骨形成の指標も含め検討したい。

文 献

1. 五十嵐省吾 (1993). 臨床検査, 37, (4), 367-372.
2. 西野治身, 城石和子, 成瀬優知, 鏡森定信, 渡辺正男 (1989). 富山衛研年報, 12, 185-188.
3. 春日 斉, 松木秀明, 逢坂文夫, 井上雅志 (1979). 民族衛生, 45, 128-138.
4. 西野治身, 城石和子, 成瀬優知, 鏡森定信 (1989). 富山衛研年報, 12, 181-184.
5. 池田慎吾, 大澤誠喜, 鈴木孝人, 加納堯子, 溝口 勲 (1987). 東京衛研年報, 38, 277-281.
6. 米山京子 (1977). 日本公衛誌, 24, (7), 417-421.
7. 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.
8. 西野治身, 田中朋子, 梶田悦子, 伊木雅之, 土肥祥子 (1993). 日本衛生学雑誌, 48, (1), 237.

喫煙・飲酒習慣と血清セレン濃度および尿中排泄量

新村 哲夫 中崎美峰子 林 徹雄
成瀬 優知¹ 鏡森 定信¹

Effects of Smoking and Drinking on Selenium
Concentration in Serum and Its Urinary
Excretion in Healthy Adults

Tetsuo SHIMMURA, Mineko NAKAZAKI, Tetsuo HAYASHI,
Yuchi NARUSE¹ and Sadanobu KAGAMIMORI¹

要 旨 成人病危険因子とされている喫煙や飲酒などの生活習慣によって、健康成人の血清セレン (Se) 濃度および尿中 Se 排泄量がどのような影響を受けるかを明らかにするため、男性の工場従業員を対象に調査を行った。その結果、血清 Se 濃度は、喫煙習慣によって低値を示し、飲酒習慣によって高値を示した。一方、尿中 Se 排泄量については、喫煙や飲酒習慣による影響は明らかではなかった。

セレン (Se) は、生体内で生成する過酸化水素や過酸化脂質を消去する酵素であるグルタチオン・ペルオキシダーゼの構成元素であり、種々の疾患との関連が報告されている。我々は前報 [1] で、健康成人における Se の24時間尿中排泄量と血清濃度について報告した。今回、がんなどの成人病危険因子とされている喫煙や飲酒習慣が、Se の血清濃度や尿中排泄量にどのような影響を及ぼしているかについて検討したので報告する。

尿素窒素の測定法は、前報 [1, 2] に記載したとおりである。

喫煙習慣については、一日あたりの喫煙本数をアンケートにより調査した。また、飲酒習慣については、調査日より前の一週間について、酒類別に飲酒量を思い出し法により調査し、それをアルコール重量に換算して表現した。

統計学的計算は、統計学パッケージ HALBAU を用いた。

材 料 と 方 法

調査は、富山県東部にあるアルミサッシ工場の従業員から無作為に抽出した男性155名 (年齢20～59歳) を対象として行った [1]。

用いた検体は血清と24時間尿である。Se および

結 果

全対象者155名について、調査を行った項目の平均値を Table 1 に示した。

全体の65%がなんらかの喫煙習慣を有していた。喫煙習慣を有する割合は、40～50歳代が20～30歳代

1 富山医科薬科大学保健医学

平成5年9月1日

Table 1. Outline of Subjects.

Item	Mean	S. D.	Range
Age (years)	39	11	21-58
Serum Se (ng/ml)	126 ^a	1.16 ^a	98-228
Urinary excretion of Se (μ g/day)	47.2 ^a	1.37 ^a	15.3-92.7
Urinary excretion of urea-N (g/day)	9.55 ^a	1.27 ^a	4.9-17.1
Cigarettes smoked per day	13	11	0-40
Alcohol drunk per week (g ethanol/week)	232	240	0-1296

Data are means of 155 subjects.

^a, geometric mean and standard deviation.

に比べて少なかった ($p < 0.05$)。また、対象者の
80%が一週間の間になんらかの飲酒を行っていた。

飲酒を行った割合は20~30歳代と40~50歳代では変
わらなかった。

Table 2. Serum Selenium Concentration, Its Urinary Excretion and Urea-N between Smokers and Non-smokers.

Age (years)	Item	Smokers			Non-smokers			Total		
		No.	G. M.	(G. S. D.)	No.	G. M.	(G. S. D.)	No.	G. M.	(G. S. D.)
20~39	S-Se	57	125	(1.17)	21	128	(1.14)	78	126	(1.16)
	U-Se		51.6	(1.34) ^e		60.0	(1.21) ^e		52.8	(1.31) ^d
	U-UN		9.79	(1.31)		10.4	(1.19) ^e		9.95	(1.28) ^f
40~59	S-Se	44	123	(1.15) ^a	33	133	(1.14) ^a	77	127	(1.15)
	U-Se		43.7	(1.42) ^e		41.1	(1.33) ^e		42.6	(1.38) ^d
	U-UN		9.23	(1.25)		9.08	(1.27) ^e		9.16	(1.26) ^f
Total (20~59)	S-Se	101	124	(1.16) ^b	54	131	(1.14) ^b	155	126	(1.16)
	U-Se		48.1	(1.38)		46.3	(1.34)		47.4	(1.37)
	U-UN		9.55	(1.29)		9.55	(1.25)		9.55	(1.27)

No, number of subjects; G.M., geometric mean.

G.S.D., geometric standard deviation.

S-Se, serum Se (ng/ml); U-Se, urinary excretion of Se (μ g/day).

U-UN, urinary excretion of urea-N (g/day); ^{a, b, c, f, g}, $p < 0.05$; ^{d, e}, $p < 0.001$.

次に、Table 2 に喫煙習慣別の測定結果を表した。一日あたりタバコを1本も吸わない人を非喫煙者とし、それ以外を喫煙者として比較を行った。血清 Se 濃度は、喫煙者が非喫煙者に比べて有意に低かった ($p<0.05$)。これを20~30歳代と40~50歳代に分けて検討すると、20~30歳代では非喫煙者と喫煙者の間に差はみられなかったが、40~50歳代では喫煙者が非喫煙者に比べて低い傾向を示した ($p<0.05$)。一方、24時間尿中の Se および尿素窒素排泄量は、年齢別にみると20~30歳代に比べ、40~50歳代で低値を示したが、喫煙者と非喫煙者の間に差はみられなかった。

Table 3 は、飲酒習慣別にまとめたものである。一週間の間、酒を飲まなかった人を非飲酒者とし、それ以外を飲酒者とした。血清 Se 濃度は、飲酒者が非飲酒者に比べて有意に高値を示した ($p<0.01$)。この傾向は20~30歳代、40~50歳代ともにみられた

が、40~50歳代のみ有意であった ($p<0.05$)。尿中 Se および尿素窒素排泄量は、飲酒者と非飲酒者の間に差はみられなかった。

次に、タバコの喫煙本数と血清 Se 濃度の関係を検討したところ、40~50歳代において、両者の間には負の相関がみられた ($r=-0.260$, $n=77$, $p<0.05$)。また、飲酒量(アルコール換算量)と血清 Se 濃度の関係をみると、40~50歳代において、両者の間には正の相関がみられた ($r=0.228$, $n=77$, $p<0.05$)。

血清 Se 濃度は、40~50歳代において、喫煙者が低く、飲酒者が高い傾向がみられたことから、次に喫煙と飲酒の両習慣をあわせて検討することにした。喫煙習慣を、非喫煙、一日あたりタバコ20本未満の軽度喫煙、一日あたり20本以上の重度喫煙の3段階に分けた。また、飲酒習慣を、非飲酒、一週間あたりアルコール換算量として200g未満(一日あたりにするとビール大ビン1本または日本酒200ml未満

Table 3. Serum Selenium Concentration, Its Urinary Excretion and Urea-N between Drinkers and Non-drinkers.

Age (years)	Item	Drinkers			Non-drinkers			Total		
		No.	G.M.	(G.S.D.)	No.	G.M.	(G.S.D.)	No.	G.M.	(G.S.D.)
20~39	S-Se	62	128	(1.17)	16	119	(1.13)	78	126	(1.16)
	U-Se		53.6	(1.30) ^c		49.8	(1.33)		52.8	(1.31) ^d
	U-UN		10.1	(1.29) ^c		9.31	(1.26)		9.95	(1.28) ^f
40~59	S-Se	63	129	(1.14) ^a	14	118	(1.16) ^a	77	127	(1.15)
	U-Se		42.7	(1.37) ^c		42.1	(1.45)		42.6	(1.38) ^d
	U-UN		9.14	(1.25) ^c		9.18	(1.28)		9.16	(1.26) ^f
Total (20~59)	S-Se	125	129	(1.16) ^b	30	119	(1.14) ^b	155	126	(1.16)
	U-Se		47.8	(1.36)		46.0	(1.40)		47.4	(1.37)
	U-UN		9.62	(1.27)		9.25	(1.26)		9.55	(1.27)

No., number of subjects; G.M., geometric mean.

G.S.D., geometric standard deviation.

S-Se, serum Se (ng/ml); U-Se, urinary excretion of Se (μ g/day).

U-UN, urinary excretion of urea-N (g/day).

^{a, c, f}, $p<0.05$; ^b, $p<0.01$; ^{c, d}, $p<0.001$.

Table 4. Serum Selenium Concentration, Its Urinary Excretion and Urea-N in Subjects Aged from 40 to 59 Divided into 9 Groups according to Smoking and Drinking Habits.

Item	Non-drinkers			Light drinkers (~200g ethanol/week)			Heavy drinkers (200g~ ethanol/week)			Total	
	No.	G.M. (G.S.D.)	No.	G.M. (G.S.D.)	No.	G.M. (G.S.D.)	No.	G.M. (G.S.D.)	No.	G.M. (G.S.D.)	
Non-smokers	S-Se	6	126 (1.20)	13	127 (1.11)	14	141 (1.12) ^c	33	134 (1.14) ^d		
	U-Se		35.0 (1.29) ^{a,b}		38.3 (1.33)		47.0 (1.28) ^b		41.1 (1.33)		
	U-UN		8.99 (1.37)		9.35 (1.23)		8.85 (1.28)		9.08 (1.27)		
Light smokers (Cigarettes 1~19/day)	S-Se	3	110 (1.04)	3	125 (1.04)	8	130 (1.14)	14	124 (1.13)		
	U-Se		36.0 (1.22)		46.8 (1.59)		40.0 (1.60)		40.5 (1.50)		
	U-UN		9.71 (1.08)		8.67 (1.22)		9.04 (1.35)		9.10 (1.27)		
Heavy Smokers (Cigarettes 20~/day)	S-Se	5	115 (1.14)	8	126 (1.10)	17	122 (1.18) ^c	30	122 (1.16) ^d		
	U-Se		57.5 (1.48) ^a		43.0 (1.26)		43.4 (1.39)		45.3 (1.38)		
	U-UN		9.14 (1.29)		8.73 (1.10)		9.59 (1.28)		9.29 (1.24)		
Total	S-Se	14	118 (1.16) ^e	24	127 (1.10)	39	131 (1.16) ^e	77	127 (1.15)		
	U-Se		42.1 (1.45)		40.7 (1.33)		44.0 (1.39)		42.6 (1.38)		
	U-UN		9.18 (1.28)		9.06 (1.19)		9.20 (1.29)		9.16 (1.26)		

No, number of subjects; G.M., geometric mean; G.S.D., geometric standard deviation.
 S-Se, serum Se (ng/ml); U-Se, urinary excretion of Se (μ g/day).
 U-UN, urinary excretion of urea-N (g/day); ^a, ^b, ^c, ^d, ^e, $p < 0.05$.

となる)を摂取する軽度飲酒、それ以上摂取する重度飲酒の3段階に分けた。そして、喫煙習慣と飲酒習慣を組み合わせた9群について、血清Se濃度と尿中Seおよび尿素窒素排泄量の平均値を求めた。40～50歳代についてまとめたものがTable 4である。

上述の群分けに基づいて二元配置分散分析を行った(Table 5)。40～50歳代についてみると、喫煙習慣と飲酒習慣は血清Se濃度の変動要因として有意であり(喫煙習慣、飲酒習慣いずれも $p<0.05$)、交互作用はみられなかった。血清Se濃度は喫煙習慣によって低値を示し、飲酒習慣によって高値を示すものと考えられる。尿中Se排泄量は、Table 4に示したように非喫煙者では、重度飲酒群が非飲酒群に比べて高値を示した($p<0.05$)。また、非飲酒者では、重度喫煙群が非喫煙群に比べて高値を示した($p<0.05$)。しかしながら、二元配置分散分析では有意な結果は得られなかった。尿中尿素窒素排泄量については、Table 4および二元配置分散分析からは有意な結果はみられなかった。

同様に、20～30歳代および全体についても二元配置分散分析を行った(Table 5)。20～30歳代では尿中尿素窒素排泄量が喫煙によって、低値を示す傾向がみられたが($p<0.05$)、Seに関して変動はみられなかった。全体では、40～50歳代でみられたように、喫煙習慣と飲酒習慣が血清Se濃度の有意な変動要因として認められた(喫煙習慣 $p<0.05$ 、飲酒習慣 $p<0.01$)。

考 察

前報[1]で、健康成人の血清Se濃度と24時間尿中Se排泄量の把握のため調査を行い、血清Se濃度と尿中Se排泄量との間に女性では有意な正の相関がみられたが、男性ではみられなかったことを報告した。尿中Se排泄量は、摂取量との間に強い相関がみられることが報告されており[3]、血清Se濃度も摂取量に影響されることが報告されている[4]。このことから血清Se濃度が尿中Se排泄量と相関がみられないのは、そのほかに血清Se濃度が影響を

Table 5. Serum Selenium Concentration, Its Urinary Excretion and Urea-N by Smoking and Drinking Habits; Two Way Analysis of Variance.

Age (years)	Item	Variable factor	F Value	P
20～39 No. =78	S-Se	Smoking	0.42	0.66
		Drinking	1.9	0.16
		Interaction	0.04	0.99
	U-Se	Smoking	2.2	0.11
		Drinking	1.1	0.33
		Interaction	1.4	0.26
	U-UN	Smoking	3.9	0.03
		Drinking	0.75	0.48
		Interaction	1.9	0.13
40～59 No. =77	S-Se	Smoking	3.8	0.03
		Drinking	3.4	0.04
		Interaction	0.99	0.42
	U-Se	Smoking	0.89	0.42
		Drinking	0.34	0.71
		Interaction	2.1	0.09
	U-UN	Smoking	0.07	0.93
		Drinking	0.03	0.97
		Interaction	0.39	0.82
Total (20～59) No. =155	S-Se	Smoking	3.3	0.04
		Drinking	5.3	0.006
		Interaction	0.47	0.76
	U-Se	Smoking	1.4	0.26
		Drinking	0.19	0.82
		Interaction	1.2	0.31
	U-UN	Smoking	2.1	0.13
		Drinking	0.24	0.79
		Interaction	1.1	0.36

No., number of subjects.

S-Se, serum Se (ng/ml).

U-Se, urinary excretion of Se (μ g/day).

U-UN, urinary excretion of urea-N (g/day).

受ける要因があるためではないかと考察した。そこで今回、生活習慣としての喫煙および飲酒習慣と血清Se濃度との関係を調べた。その結果、血清Se濃度は喫煙習慣によって低く、飲酒習慣によって高値を示すことが明らかとなった。

これまでにも、健康成人を対象にして血清Se濃度と生活環境要因との関連を検討した報告がいくつかみられるが、今回は、血清Se濃度とともに24時間尿中Se排泄量と尿素窒素排泄量をあわせて測定し検討した。

調査対象の40～50歳代において、非飲酒者について喫煙習慣の影響を検討した結果、喫煙習慣によって血清Se濃度は低値を示すにもかかわらず、尿中Se排泄量は有意に高値を示した。この場合、蛋白摂取量を反映するとされている尿中尿素窒素排泄量[5]が変わらないことから、喫煙者が非喫煙者よりSeの摂取量が多いとは考えにくく、喫煙者では体内Seの排泄が促進されている可能性も示唆される。

また、非喫煙者について飲酒習慣を検討した結果、血清Se濃度とともに尿中排泄量は有意に高値を示した。この場合も、尿中尿素窒素排泄量が変わらないことから、飲酒者が非飲酒者に比べてSeの摂取量が多いとは考えにくい。今回、高セレン含有食品とされているパン、魚介類、肉類[6]の摂取頻度について調査を行っているが、飲酒習慣によって違いはみられていない。したがって、正確なSeの摂取量調査を行っていないので断定的なことはいえませんが、血清Se濃度の喫煙や飲酒習慣による変動が、習慣の違いからくる単なるSeの摂取量の変動によるものではないことが推察される。

また以上の検討から、これまで尿中Se排泄量はSe摂取量の指標と考えられてきたが、単純にはそのように解釈できないように思われる。今回、尿中Se排泄量については、群分けをしたときに差がみられる場合があったが、全体として喫煙や飲酒習慣による影響を明確にすることはできなかった。今後、正確なSeの摂取量や体格などの身体上の条件、腎機能との関連などさらに検討を加え、明らかにしていきたい。

アルコール症患者においては、血漿中Se濃度が低下していることが報告されている[7]にもかかわらず、今回の健康成人の調査では、飲酒習慣によって血清Se濃度は高値を示した。同様の報告は、吉田[8]やDeguchiら[9]が、重回帰分析の結果として、飲酒量が血清Se濃度への正の変動要因であることを報告している。また、Snookは、対照研究と重回帰分析[10]で、これらと一致する報告を行っている。動物実験では[11]、アルコールの慢性投与によってSeの吸収やretentionへの影響はみられないが、肝臓や腎臓のSe濃度が高くなることが報告されている。また、アルコール性肝障害において、肝臓や血清の過酸化脂質の増加が報告されており[12]、アルコール性肝障害の原因として脂質の過酸化が注目されている[13]。これらのことを参考にすると、飲酒の生体反応として生成される過酸化物から生体を防御する機能が亢進することが考えられるが、その一つの現象として血清Se濃度が高値を示すのではないかとと思われる。そのメカニズムの解明は今後の課題である。

Deguchiら[9]は、我々と同様に、喫煙習慣が健康成人の血清Se濃度への負の変動要因であることを報告しているが、吉田[8]やSnook[10]は喫煙習慣を血清Se濃度の変動要因としては明らかにできなかったと述べている。喫煙習慣については、対象者の年齢や喫煙年数が大きく関連しているのかもしれない[9]。今後、喫煙習慣による血清Se濃度の変動についての確認調査やメカニズムについての研究を行っていく必要があろう。

文 献

1. 新村哲夫, 中崎美峰子, 林 徹雄, 成瀬優知, 鏡森定信(1992). 富山衛研年報, 15, 168-174.
2. 新村哲夫, 中崎美峰子, 城石和子(1991). 富山衛研年報, 14, 175-181.
3. 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.
4. 吉田宗弘 (1992). 栄食誌, 45, 485-494.
5. 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.
6. Yoshida, Y. and Yasumoto, K. (1987). *J. Food Com. Anal.*, 1, 71.
7. Korpela, H. and Kumpulainen, J. (1985). *Am. J. Clin. Nutr.*, 42, 147-151.
8. 吉田宗弘 (1991). 栄食誌, 44, 357.
9. Deguchi, Y. and Ogata, A. (1991). *Tohoku J. Exp. Med.*, 165, 247-251.
10. Snook, J.T. (1991). *Alcohol*, 8, 13-16.
11. Cho, H-K., Yang, F. and Snook, J.T. (1991). *Alcohol*, 8, 91-96.
12. Suematsu, T. and Abe, H. (1982). "Lipid Peroxides in Biology and Medicine" (Yagi, K. ed.), Academic Press, New York, 285-293.
13. 吉川敏一 (1985). 過酸化脂質と生体 (内山充ら編), 学会出版センター, 東京, 289-313.

3. 資 料

平成5年9月1日

ELISA法による先天性副腎過形成症 マススクリーニングの基礎的検討

高橋 雅子 柏樹 久雄

Basic Study for Neonatal Mass Screening of Congenital Adrenal Hyperplasia Using ELISA

Masako TAKAHASHI and Hisao KASHIWAGI

先天性副腎過形成症の大部分を占めるとされる21
水酸化酵素欠損症〔1〕では、血中17 α -hydroxy
progesterone (17 α -OHP)の上昇が特異的〔2〕
であり、これを指標とした乾燥血液濾紙による新生

児のマススクリーニング〔3, 4〕が、昭和64年1
月から全国レベルで実施されている。富山県では、
平成元年4月から検査を石川県予防医学協会に委託
してマススクリーニングを行っている。今回、

表1. エンザプレートの試薬構成と調製法

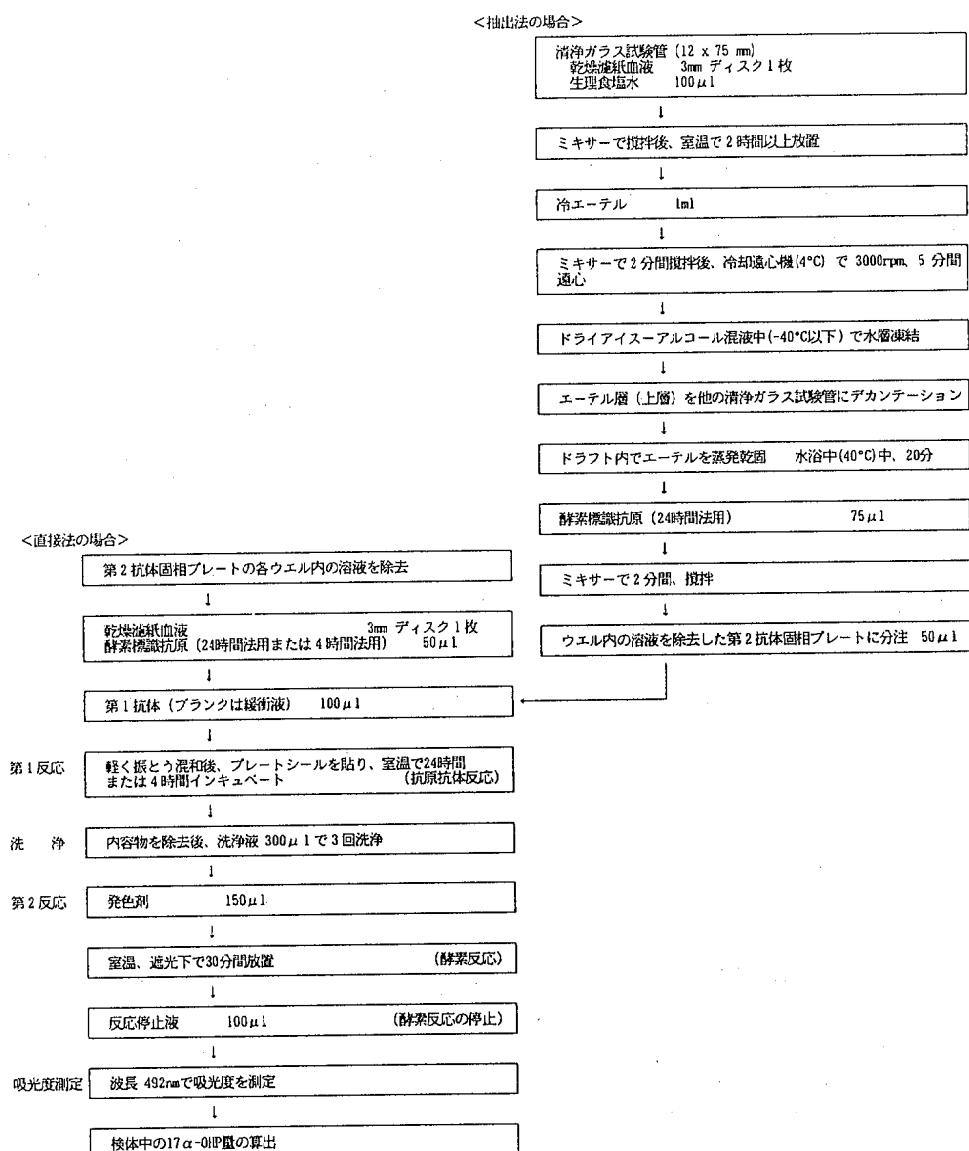
試薬構成	成分	調製法	
		24時間法	4時間法
① 緩衝液	リン酸塩緩衝塩化ナトリウム液	調製不要	調製不要
② 第2抗体固相 プレート	抗ウサギIgG抗体固相化マイクロプレート		
③ 第1抗体	抗17 α -OHP (3-オキシΔ)-BSA ウサギ血清 (凍結乾燥品)	1/47Mに①液を加え溶解し、全量を55mlとする。	1/47Mに①液を加え溶解し、全量を55mlとする。
④ 酵素標識抗原	POD-17 α -OHP (3-オキシΔ)液 (凍結乾燥品)	1/47Mに①液2.75mlで溶解し、さらにその溶解液1mlを①液で希釈し全量を30mlとする。	1/47Mに①液を加え溶解し、全量を27.5mlとする。
⑤ 発色剤	0-フェニレンジアミン (凍結乾燥品)	1/47Mを⑥液16mlで溶解する。	1/47Mを⑥液16mlで溶解する。
⑥ 発色剤溶解液	過酸化水素	調製不要	調製不要
⑦ 濃縮洗浄液	リン酸塩緩衝塩化ナトリウム液 界面活性剤	精製水で20倍希釈する。	精製水で20倍希釈する。
⑧ 反応停止液	3N 硫酸	調製不要	調製不要
⑨ 標準濾紙血液	17 α -OHP 0.00, 3.00, 5.90, 10.60 21.60, 41.00, 78.00ng/mlの7濃度		
⑩ プレートシール			

ELISA法による 17α -OHP測定用キットである「エンザプレート 17α -OHP」(チバコーニング社)を使用する機会を得、その基礎的検討を行ったので報告する。

方法：1) 対象；平成4年4月、7月、8月に受付をした先天性代謝異常等マスキリーニング検査済濾紙血液の一部。

2) 測定原理；第2抗体(抗ウサギIgG ヤギ抗体)を固相化したウェル内で、第1抗体(抗 17α -OHP-3-オキシム-BSA ウサギ血清)に検体中の 17α -OHPと酵素標識抗原(POD- 17α -OHP-3-オキシム)を競合反応させる。検体中の 17α -OHP量が多ければ第1抗体に結合できる酵素標識抗原量は減少するので、ウェル内に固相化される酵

表2. 操作法の概略



平成5年9月1日

素量も減少する。この固相化された酵素の活性を、比色法で測定することにより、17 α -OHPを定量するものである。吸光度の変化は、検体中の17 α -OHP量に逆比例する。

3) 試薬の構成及び調製法; 表1に示すとおりである。第1抗体、酵素標識抗原は調製後冷蔵保存し、2週間以内に使用した。また、発色剤は用時調製した。

表3. 標準濾紙血液の各濃度におけるB/B。% *

標準血液 (ng/ml)	直接法 (24時間法) n=15			直接法 (4時間法) n=21			抽出法 n=8		
	Mean	SD	CV	Mean	SD	CV	Mean	SD	CV
3.00	73.9	3.51	4.74	75.4	1.70	2.25	81.4	2.24	2.75
5.90	58.2	3.35	5.75	60.9	1.99	3.26	62.5	3.14	5.03
10.60	41.2	3.57	8.65	43.5	2.29	5.26	40.0	2.24	5.59
21.60	25.7	2.06	8.03	28.4	1.83	6.46	24.9	1.57	6.31
41.00	15.9	2.96	18.60	17.4	0.89	5.15	15.7	0.83	5.29
78.00	8.6	1.28	15.00	9.5	0.83	8.73	8.7	0.33	3.76

$$* B/B。 \% = \frac{\text{波長 } 492\text{nm} \text{ における吸光度 (各標準液-ブランク)}}{\text{波長 } 492\text{nm} \text{ における吸光度 (0ng/ml-ブランク)}} \times 100$$

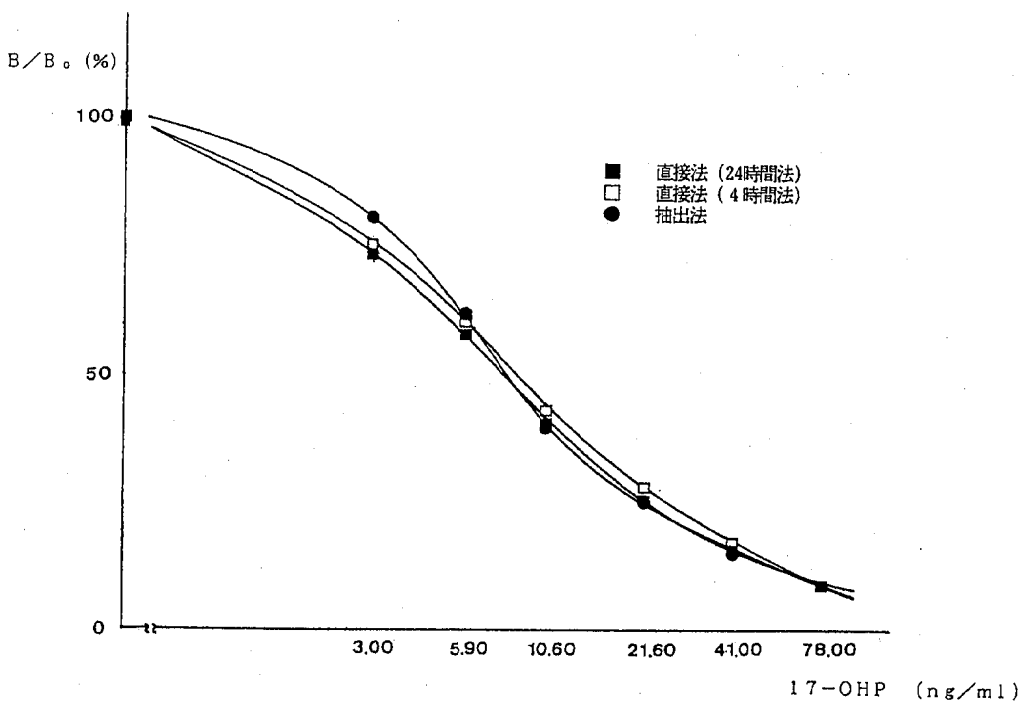


図1. 標準曲線

4) 測定法；概略を表2に示した。直接法は24時間法と4時間法で、抽出法は24時間法で測定した。

4時間法は、4時間法用に調製した酵素標識抗原を使用し、第1反応(抗原抗体反応)を4時間とした。

5) 吸光度測定；MICRO PLATE READER A 4 (TOSOH) を用い、波長492nmで測定した。

結果：1) 標準曲線；標準濾紙血液の各濃度での相対結合率B/Bo%を測定法別に計算し、それぞれの平均値、標準偏差および変動係数を表3に示した。さらに、これを図1に標準曲線として表した。いずれの測定法も、低濃度域では変動係数が10%以内となり良好な再現性が見られた。B/Bo90%点は、直接法の24時間法で1.05ng/ml、4時間法で1.20ng/ml、抽出法では1.70ng/mlとなった。また、B/Bo50%点は、直接法の24時間法で7.80ng/ml、4時間法で8.60ng/ml、抽出法では7.90ng/mlであった。

2) 再現性；キットに添付された3濃度の精度管理用コントロール濾紙血液を用いて、それぞれの方法による測定内および測定間の変動を検討した。表4には直接法、表5には抽出法による結果を示した。変動係数は、直接法の24時間法で、測定内が4.66～7.02%，測定間が2.66～5.65%，4時間法では、測定内が5.04～10.26%，測定間が5.22～6.71%と良好な再現性が認められた。また、抽出法でも測定内が2.57～8.98%，測定間が2.44～6.29%と良好な結果であった。

3) 委託先の測定値との比較；検査委託先である石川県予防医学協会の測定値と当所での測定結果の比較を行った。

① 直接法24時間法での石川測定値と富山測定値の比較。248例の新生児乾燥濾紙血液中の17-OHP濃度度数分布を図2に示した。両方の測定値とも対数正規分布を示し、それぞれの平均値±標準偏差は、富山が 9.35 ± 5.81 ng/ml、石川が 9.66 ± 6.40 ng/mlとなった。また、両方の測定値の相関を図3に示した。 $Y = 1.057 X - 0.219$, $r = 0.960$ と良好な相関を示した。

② 24時間法による石川での測定値と4時間法による富山での測定値の比較。338例の17-OHP濃度度数分布を図4に示した。それぞれの方法の平均値±

表4. 直接法による再現性

24時間法

	測定内 (n = 5)			測定間 (n = 5)		
	C 1	C 2	C 3	C 1	C 2	C 3
Mean	5.42	10.92	40.70	5.92	11.38	40.72
SD	0.32	0.77	1.90	0.33	0.57	1.08
CV	5.89	7.02	4.66	5.65	4.99	2.66

4時間法

	測定内 (n = 8)			測定間 (n = 8)		
	C 1	C 2	C 3	C 1	C 2	C 3
Mean	6.31	11.78	44.35	6.15	11.52	43.00
SD	0.48	1.21	2.23	0.32	0.77	2.70
CV	7.59	10.26	5.04	5.22	6.71	6.29

表5. 抽出法による再現性

24時間法

	測定内 (n = 4)			測定間 (n = 4)		
	C 1	C 2	C 3	C 1	C 2	C 3
Mean	5.70	12.30	44.00	5.80	11.90	42.10
SD	0.51	0.32	3.95	0.14	0.57	2.65
CV	8.95	2.57	8.98	2.44	4.75	6.29

標準偏差は、24時間法が 9.82 ± 4.64 ng/ml、4時間法が 11.57 ± 5.30 ng/mlとなった。また、それぞれの測定値の相関を図5に示した。 $Y = 0.791 X + 0.675$, $r = 0.903$ と良好な結果であった。

考察：富山県における先天性副腎過形成症のマススクリーニングは、検体受付後、検査委託先である石川県予防医学協会にクール便で搬送し、検査を行っている。初回検査は直接法の24時間法で行い、18ng/ml以上かまたは上位4%タイル値以上の検体を抽出法で再測定している。今回、マススクリーニングに使用されているキットである「エンザプレート17 α -OHP」を使用する機会が得られたので、測

平成5年9月1日

定値の比較等について検討した。

キットの再現性試験では、3濃度の精度管理用コントロール濾紙血液の測定値が、直接法の24時間法と4時間法、抽出法ともほぼ同じ濃度を示した。また変動係数もほぼ10%内に収まり、良好な結果が得られた。

検査委託先での測定値と当所での測定値を比較すると、同じ検査法（直接法 24時間法）では、両方の平均値はほぼ一致し、これは、福士らが報告〔3〕した、新生児濾紙血液中の17-OHPの平均値 $9.4 \pm 16.0 \text{ ng/ml}$ 、梅橋らの報告〔5〕の $9.58 \pm 4.71 \text{ ng/ml}$ とも一致するものである。また、検査委託先で

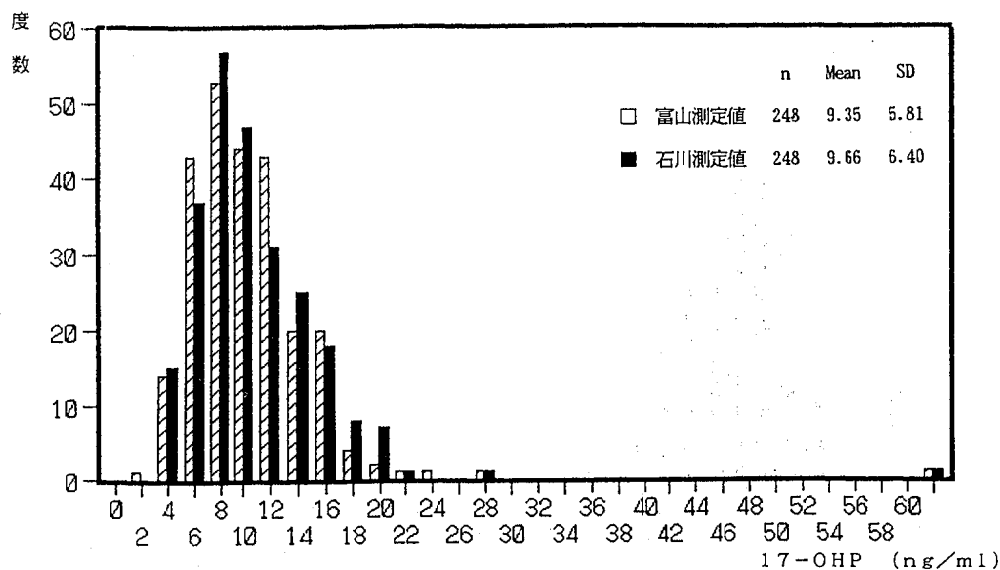


図2. 新生児乾燥濾紙血液 17-OHP 濃度度数分布（直接法 24時間）
富山測定値と石川測定値の比較

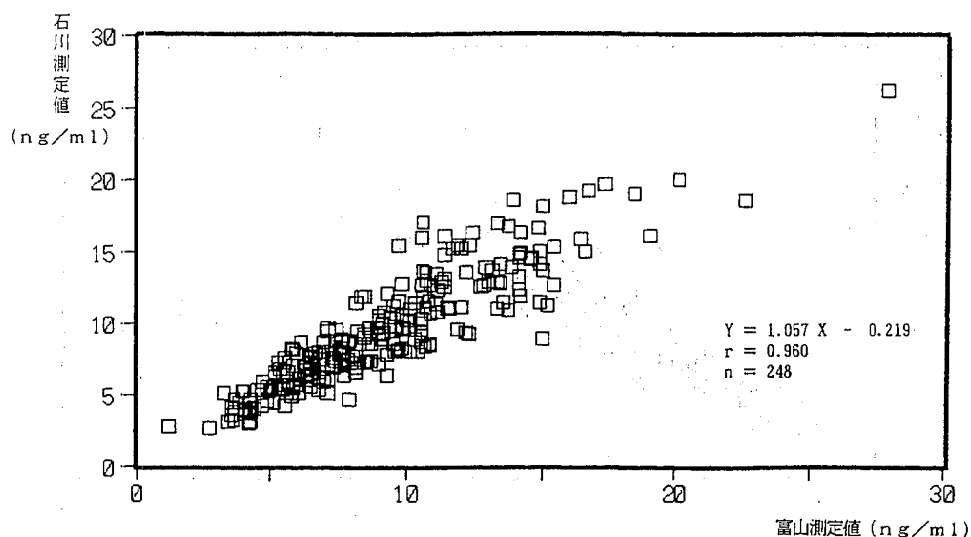


図3. 17-OHP 直接法 富山測定値と石川測定値の相関図

直接法の24時間法で測定した値と、同じ検体を当所で直接法の4時間法で測定した値を比較すると、両者は良い相関が得られたものの、平均値は、4時間法が高くなる傾向が見られた。このキットは本来24時間法用に開発されたものであるが、スクリーニングの中でも迅速性を要する検査であるために、4時

間法は必要である。しかし、このように平均値に差が見られることから、カットオフ値を設定する場合には、それぞれの方法で別々に設定する必要があると思われた。また、緊急時や連休前等に4時間法でスクリーニングを行った場合は、後で24時間法で確認することが望ましいと思われた。

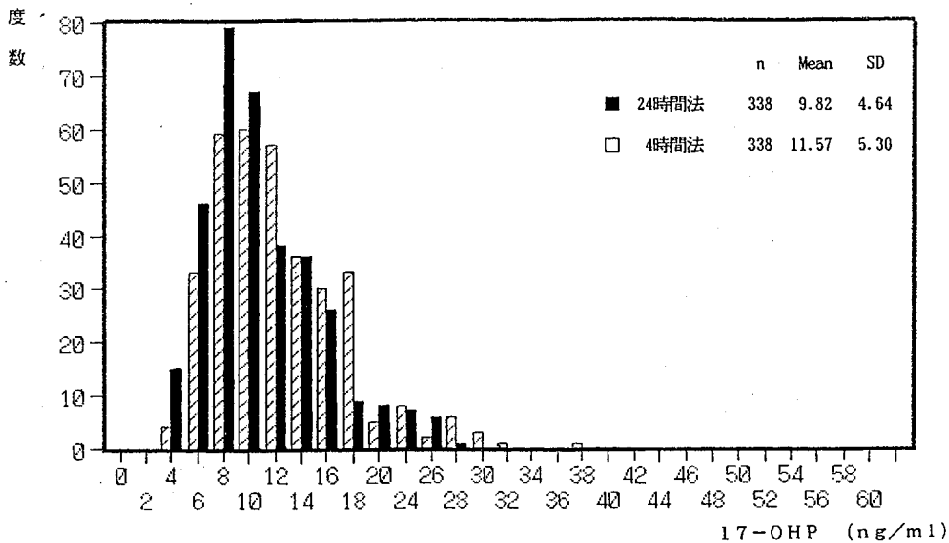


図4. 新生児乾燥濾紙血液 17-OHP 濃度度数分布 (直接法)
24時間法と 4時間法の比較

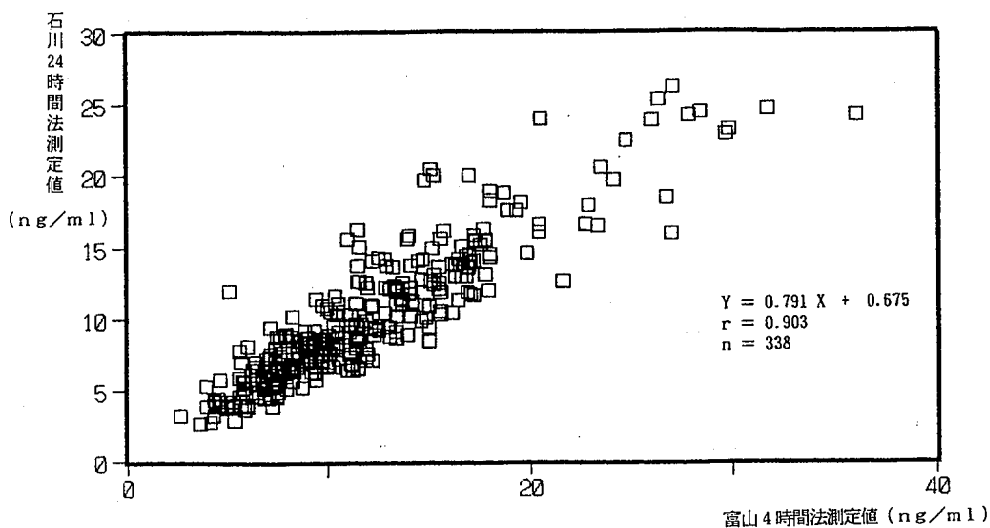


図5. 17-OHP 直接法 富山 4時間法測定値と石川24時間法測定値の相関図

平成5年9月1日

謝辞：終わりに試薬の提供をいただきましたチバ・コーニング社に深謝いたします。

文献

1. 諏訪城三, 五十嵐良雄, 他 (1981). 日児誌, 85, 204-210.
2. Hughes, I. A. et al. (1976). J. Pediatr., 88, 766.
3. 福士 勝, 荒井 修, 水嶋好清, 高杉信男, 藤枝憲二, 松浦信夫 (1987). 日内分泌誌, 63, 113-122.
4. Maeda, M. et al. (1987). Clin. Chem., 33, 761-764.
5. 梅橋豊蔵, 大坪初美, 鎌田千鶴子, 山田進二, 河野 齊, 松田一郎 (1988). ホルモンと臨床, 36, 175-178.

姉妹染色分体交換に及ぼす培養酸素濃度の影響

1. CHL細胞について

林 美貴子 本田 幸子 品川 保弘
佐藤 茂秋¹ 成瀬 優知² 鏡森 定信²

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

Mikiko HAYASHI, Sachiko HONDA,
Yasuhiro SHINAGAWA, Shigeaki SATO¹,
Yuchi NARUSE² and Sadanobu KAGAMIMORI²

高酸素濃度は人体に種々の影響を及ぼすことが知られており、培養細胞に対しても、染色体異常や姉妹染色分体交換の頻度を増加させることが知られている[1]。今回、我々はDNA障害の鋭敏な指標としてよく知られている姉妹染色分体交換(SCE)法を用い、培養酸素濃度の違いが、チャイニーズハムスター株細胞(CHL細胞)のSCE誘発におよぼす影響を検討した。

材料および方法

CHL細胞：牛胎児血清10%加EagleMEMを用い

て培養しているCHL細胞(mn=25)を使用した。

培養：細胞播種1日後、プロモデオキシウリジン(BrdU, Sigma製)を最終濃度10 μ g/mlになるように添加した。また、陽性対照としてマイトマイシンC(MMC, Sigma製)を用い、最終濃度を1 $\times 10^{-8}$ Mとした。BrdU, MMC添加後、各培養ガス室で27時間培養した。

培養ガス：酸素濃度を5, 20および40%の3種類とし、いずれも、炭酸ガス濃度5%, 窒素バランスとした(日本酸素㈱製)。

染色体標本作製：培養終了2時間前にコルセミドを添加(0.1 μ g/ml)した。培養終了後、トリプシン処理をし、細胞を回収した。その後は通常の方法

表1. SCE染色法

1. 5 $\times 10^{-7}$ M Hoechst 33258 (1/15M Sorensen's buffer pH 6.8) 液で 10 分間染色。
2. トレー (20 $\times$ 20cmくらい) の中に標本を並べ, 2.5 $\times 10^{-7}$ M Hoechst 33258 (pH 6.8)液を加え, ラッピングフィルムで封入。
3. Black Light で照射 90 分間, 水洗。
4. 2 $\times$ SSC (60 $^{\circ}$ C) 液に 60 分間, 水洗。
5. 4% Giemsa 液で 10 分間染色, 水洗, 自然乾燥。

1. 神戸大学医学部衛生学教室 2. 富山医科薬科大学医学部保健医学教室

平成5年9月1日

により、低張処理、固定を行い、染色体標本作製した〔2〕。

SCE染色法：栗原らの方法にしたがったが、その概要は表1の通り。

観察細胞数：各30個の中期分裂像を観察した（図1）。27時間培養で処理した標本の中期分裂像はほとんど2回目の細胞分裂期にあった。

統計検定法：Dunnetの検定法〔3〕にしたがった。

結果およびまとめ

細胞あたりのSCE頻度（SCEs/cell）は、5% O_2 下での 6.9 ± 2.9 に対し、20% O_2 下では 10.8 ± 4.4 、40% O_2 下では 12.1 ± 2.7 であった。培養酸素濃度の上昇にあわせて、細胞あたりのSCE頻度も上昇し、

5%と20%間、5%と40%間で明らかに有意な差があった（ $P < 0.001$ ）。

また、陽性対照のMMC処理群でも5%と20%間、5%と40%間で明らかに有意な差がみられた（ $P < 0.001$ ）が、20%と40%間では差がなかった（Table 2）。

SCEはDNA障害の鋭敏な指標としてよく知られているが、今回、我々は、CHL細胞を用い、培養酸素濃度がSCEにおよぼす影響を検討した結果、酸素濃度が上昇するにしたがって、細胞あたりのSCE頻度も上昇したが、通常の組織培養で用いられている20% O_2 下よりも、末梢血中の O_2 分圧にほぼ等しいと推定される5% O_2 下ではSCE誘発頻度が有意に低いことを明らかにした。

一般にSCE頻度は培養中のBrdU濃度などの影響を受けることがよく知られているが、更に、酸素濃度にも注意する必要があると考えられた。

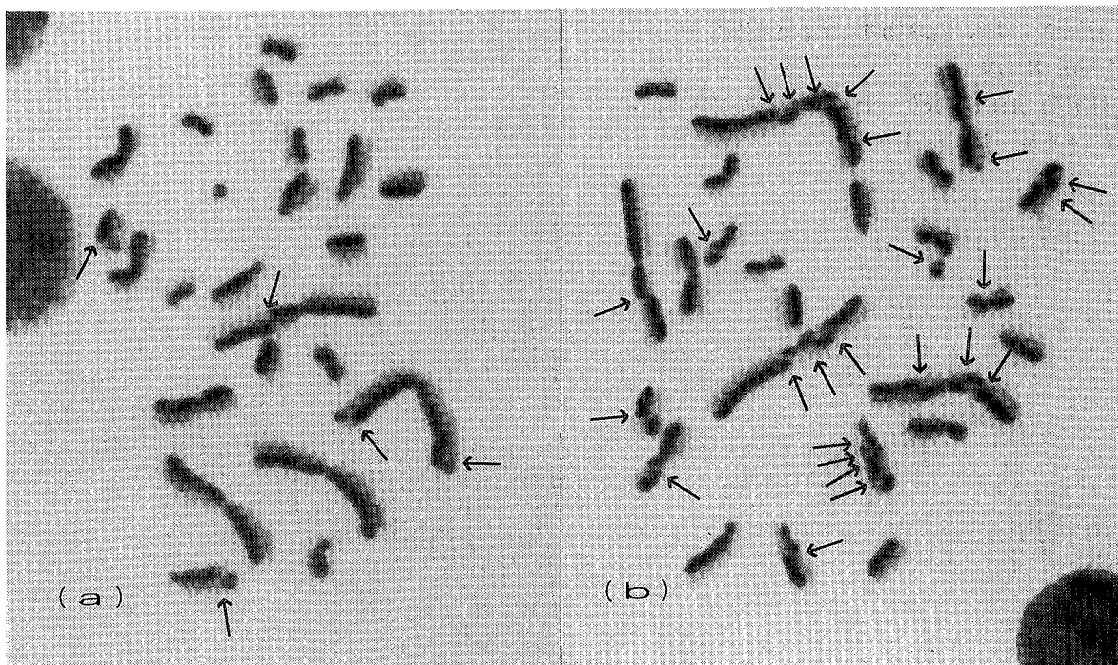


図1. CHL細胞における姉妹染色分体交換（矢印）

a. control, b. MMC ($1 \times 10^{-8} M$) 処理

Table 2. Sister chromatid exchanges of CHL cells under different concentrations of oxygen in the culture room

Treatment	Oxygen concentration (SCEs/cell)		
	5 %	20 %	40 %
Control	6.9 ± 2.9	10.8 ± 4.4	12.1 ± 2.7
MMC 1 × 10 ⁻⁸ M	20.2 ± 5.1	28.8 ± 6.7	27.5 ± 7.7

* : p < 0.001

文献

1. Gille, J. J. P., E. Mullaart, J. Vijg, A. L. Leyva, F. Arwert and H. Joenje (1989). Mut. Res., 219, 17-28.
2. 乾直道 (1988). 化学物質による染色体異常アトラス, 44-45, 南山堂.
3. 吉村功 (1989). 毒性・薬効データの統計解析, 61-64, サイエンティスト社.

富山県におけるマダニからのライム・ボレリア検索

渡辺 護 品川保弘 石倉康宏
荒川 良¹ 中尾 稔² 宮本健司²

A Survey on the Detection of *Borrelia burgdorferi* from Ticks in Toyama Prefecture

Mamoru WATANABE, Yasuhiro SHINAGAWA, Mitsuhiro
ISHIKURA, Ryo ARAKAWA¹, Minoru NAKAO²
and Kenji MIYAMOTO²

ライム病は、*Borrelia burgdorferi*を起因菌として、*Ixodes*属マダニがヒトへの媒介者になるスピロヘータ感染症である。北米、欧州における本病の症状は、マダニ刺咬後の感染初期に出現する慢性遊走性紅斑に始まり、房室ブロック、心筋炎、髄膜炎、神経麻痺、リュウマチ様関節炎、萎縮性の皮膚病変

など多岐な全身症状が慢性的に持続することが知られている〔1〕。国内での症例は1987年に長野県から初めて報告されて以来、北海道を中心に約30例が見出されているが〔2, 3〕, それらの症状は北米、欧州のそれと比べて軽症である。しかし、まだ不明な点も多く、マダニの生息に適した森林の占有率が

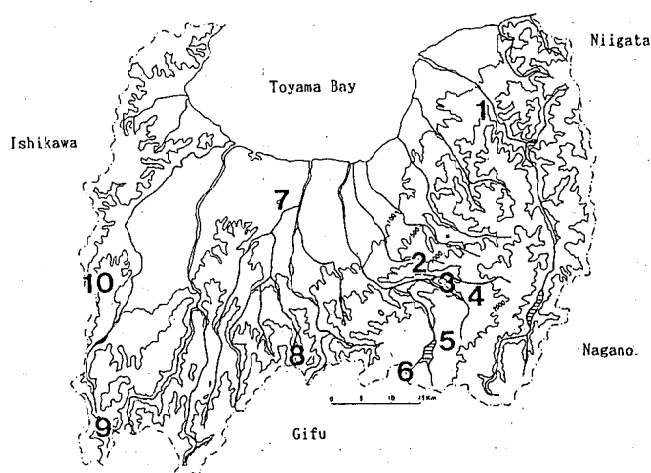


Fig. 1 Survey Locations of Ticks Collected by Flagging in Toyama Prefecture.

Numbers correspond to the locations in Table 1.

1. 富山医科薬科大学医学部寄生虫学研究室 2. 旭川医科大学寄生虫学教室

高い富山県においても、本病の侵入拡大の可能性を否定できない。そこで、ライム病の侵入拡大を把握する方法の一つとして、県内のマダニ相とその分布を明らかにすること、次いで、それらの *Borrelia burgdorferi* (以下Bb) 保有率の調査を、1991年から開始した。

今回、1992年までに得られた成績を報告する。

富山県のマダニ相：図1、表1に示す県内10ヶ所で、旗摺り (Flagging) 法によりマダニ類の採集を行った。各地点の登山道、林道ではほぼ1時間、2~4人で採集を行った。採集されたマダニ類は吸虫管で回収して、そのまま研究室に持ち帰り、冷蔵庫に保存し、後日Bb検出時に分類を行った。

1991年は6地点で19回の調査から、3種類87個体の *Ixodes* 属マダニ類が採集された (表2)。1992年は6地点で20回の調査を行い、2属6種類224個体のマダニ類を採集した (表3)。2年間の調査で2

Table 1. Survey Locations and Their Altitude.

No.	Name of Location	Altitude (m)	Date of Survey
1	僧ヶ岳口 Sougatakeguchi	850	May '91 ~ October '91
2	馬場島 Banbajima	900	June 10, '92
3	立山美女平 Tateyama bijodaira	1,000	June '91 ~ June '92
4	立山ブナ平 Tateyama Bunadaira	1,200	July 23, '91
5	有峰折立 ArimineOritate	1,100	June 14, '91, June 2, '92
6	有峰大多和 ArimineOhtawa	1,290	June 14, '91, June 2, '92
7	富山城山 ToyamaJyoyama	100	April ~ June, '92
8	白木峰 Shirakimine	750	June 12, '91
9	ブナ峠 Bunaotouge	980	August 9, '91
10	医王山 Iouzen	800	April '91 ~ June '92

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

No.	Date of Survey	<i>I. monospinosus</i>			<i>I. ovatus</i>			<i>I. persulcatus</i>			etc. ²
		♂	♀	N ¹	♂	♀	N ¹	♂	♀	N ¹	
1	May 29	3	0	0	1	1	0	0	0	0	+ ³
	July 10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	Aug. 8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	Sept. 24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	Oct. 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
3	June 18	0	0	0	9	8	0	1	0	0	+ ³
	July 23	0	0	0	10	8	0	0	0	0	2
	Aug. 28	0	0	0	5	3	0	0	0	0	1
	Sept. 19	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
	Oct. 22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	Nov. 15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
4	July 23	0	0	0	2	1	0	0	0	0	+ ³
6	June 14	0	0	0	2	0	0	2	1	1	+ ³
8	June 12	0	0	0	1	3	0	1	0	1	+ ³
9	Aug. 9	0	0	0	3	1	0	0	0	0	1
10	June 6	0	0	0	5	4	0	0	0	0	+ ³
	July 10	0	0	0	4	3	0	0	0	0	2
	Aug. 30	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Sept. 26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計		3	0	0	43	34	0	4	1	2	21

¹ Nymphal stage (若虫).² Probably Genus *Haemaphysalis*.³ Not counted.

平成5年9月1日

属7種類のマダニ類が富山県から確認されたことになる。

ヤマトマダニ (*Ixodes ovatus*) は各調査地点で採集され、シュルツェマダニ (*I. persulcatus*) は馬場島、立山美女平、有峰折立、大多和峠、医王山で採集された。また、ヒトツトゲマダニ (*I. monospinosus*) は僧ヶ岳登山口でのみ、タネガタマダニは (*I. nipponensis*) は富山城山でのみ採集された。

チマダニ属は1991年度にも採集されたが(表2のその他)分類を行わなかった。1992年はキチマダニ (*Heamaphysalis flava*) が広い範囲で採集され、ヤマトチマダニ (*H. japonica*) は美女平、ヒゲナガチマダニ (*H. kitaokai*) は馬場島でのみ採集された。

マダニ類からのBb検出: 1991年は培養法[4]で、美女平と医王山のヤマトマダニからBbを分離したが(表4)、1992年はB31株由来の菌体表層蛋

Table 3. Records of Ticks Collected by Flagging in Toyama Prefecture in 1992.

No.	Date of Survey	<i>I. nipponensis</i>			<i>I. ovatus</i>			<i>I. persulcatus</i>			<i>Haemaphysalis</i>
		♂	♀	N ¹	♂	♀	N ¹	♂	♀	N ¹	
2	June 10	0	0	0	19	15	0	0	0	3	5 ²
3	June 18	0	0	0	8	2	0	0	0	1	14 ³
5	June 2	0	0	0	1	2	0	3	6	1	1 ⁴
6	June 2	0	0	0	5	10	0	4	3	0	0
7	April 19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11 ⁴
	April 25	0	0	0	0	4	2	0	0	0	8 ⁴
	April 26	0	0	0	2	2	0	0	0	0	6 ⁴
	May 3	0	1	0	6	9	0	0	0	0	6 ⁴
10	April 28	0	0	0	1	2	0	0	1	0	1 ⁴
	May 29	0	0	0	3	1	0	0	0	0	1 ⁴
	June 16	0	0	0	9	3	0	0	0	0	3 ⁴
合 計		0	1	0	54	50	2	7	10	5	56

¹ Nymphal stage. ² Include both *H. flava* and *H. kitasatoi*.

³ Include both *H. flava* and *H. japonica*.

⁴ *H. flava* alone.

Table 4. Isolation of *Borrelia* from *Ixodes* Ticks in Toyama Prefecture in 1991.

Locality No.	Date of Survey	Positive Rate of Lyme <i>Borrelia</i> ¹												
		<i>I. monospinosus</i>				<i>I. ovatus</i>				<i>I. persulcatus</i>				
		♂	♀	Total	Rate (%)	♂	♀	Total	Rate (%)	♂	♀	N ²	Total	Rate (%)
1	5.29	0/0	0/3	0/3	0.0	0/1	0/1	0/ 2	0.0	0/0	0/0	0/0	0/0	-
3	6.18	0/0	0/0	0/0	-	1/3	0/3	1/17	5.9	0/0	0/1	0/0	0/1	0.0
6	6.14	0/0	0/0	0/0	-	0/0	0/2	0/ 2	0.0	0/1	0/2	0/1	0/4	0.0
8	6. 2	0/0	0/0	0/0	-	0/3	0/1	0/ 4	0.0	0/0	0/1	0/1	0/2	0.0
10	6. 6	0/0	0/0	0/0	-	1/4	2/5	3/ 9	33.3	0/0	0/0	0/0	0/0	-
合 計		0/0	0/3	0/3	0.0	2/17	2/17	4/34	11.8	0/1	0/4	0/2	0/7	0.0

¹ Cultivation of midgut tissue. ² Nymphal stage.

白特異的H5332単クローン抗体を用い、生マダニ中腸の塗沫標本による間接蛍光抗体法でBbを検出した(表5)。

1991年は医王山と立山美女平のヤマトマダニから5例のBbが検出(11.8%)されたにすぎなかった。1992年は5地点で検出を試み、ヤマトマダニの30~75%からBbを検出した。とくに、医王山では調査を行った4~6月の3ヶ月とも検出された。Bbは雌ダニからの検出率が高い傾向にあり、長野でのUchikawaら[5]や福井の石畠ら[6]の成績と一致した。シュルツェマダニからは医王山の1個体のみから検出された。チマダニ属からは検出されな

かった。

ヤマトマダニは全国的に分布し、Bbもほぼ全国的に分離される。しかもそれらの蛋白組成は略々一致する単一性を示す[3]。一方、シュルツェマダニは福井以北の高標高地(冷涼地)に分布し、ヤマトマダニとは異なり多様性の蛋白組成を示す。しかも、北海道の例では患者から分離したBbはアカネズミ寄生シュルツェマダニ幼虫から分離されたBbと蛋白組成が一致した。このことから、ヒトへのライム病Bbの主要媒介マダニはシュルツェマダニと考えられるに至っている。

以上のように、富山県においても人への重要な媒

Table 5. Detection of *Borrelia* from Ticks in Toyama Prefecture in 1992.

Location No.	Date of Survey	Detection rate of Lyme <i>Borrelia</i> ¹											
		<i>I. ovatus</i>				<i>I. persulcatus</i>					<i>Haemaphysalis</i> ²		
		♂	♀	Total	Rate (%)	♂	♀	N ²	Total	Rate (%)	Total	Rate (%)	
2	6.10	8/19	5/15	13/34	38.2	0/0	0/0	0/3	0/ 3	0.0	0/ 5	0.0	
3	6.18	2/ 8	1/ 2	3/10	30.0	0/0	0/0	0/1	0/ 1	0.0	0/14	0.0	
5	6. 2	1/ 1	1/ 2	2/ 3	66.7	0/3	0/6	0/1	0/10	0.0	0/ 1	0.0	
6	6. 2	0/ 5	5/10	5/15	33.3	0/4	0/3	0/0	0/ 7	0.0	0/ 0	-	
10	4.28	0/ 1	1/ 2	1/ 3	33.3	0/0	1/1	0/0	1/ 1	100.0	0/ 1	0.0	
	5.29	2/ 3	1/ 1	3/ 4	75.0	0/0	0/0	0/0	0/ 0	0.0	0/ 1	0.0	
	6.16	3/ 9	2/ 3	5/12	41.7	0/0	0/0	0/0	0/ 0	0.0	0/ 3	0.0	
合計		16/46	16/35	32/81	39.5	0/7	1/10	0/5	1/22	4.5	0/25	0.0	

¹ Indirect immunofluorescence assay by the monoclonal antibody, H5332.

² Nymphal stage.

³ Include *H. flava*, *H. kiasatoi* and *H. japonica* (Indicated in Table 3).

介者であるシュルツェマダニからBbが検出され、病原体の侵入拡大が明確になったが、患者の発生は未だ確認されていない。

謝辞：本調査を進めるに当たり、ご協力をいただいた国立予防衛生研究所の森 守博士に深謝する。

文献

1. Steere, A. C. (1989). New Eng. J. Med., 321, 586-596.
2. 川端真人 (1992). 平成3年度希少感染症診断技術研究会資料, 5-8.
3. 中尾 稔 (1992). 化学療法の領域, 8 (6), 17-24.
4. Miyamoto, K., M. Nakao, K. Uchikawa and H. Fujita (1992). J. Med. Entmol., 29, 216-220.
5. Uchikawa, K., K. Muramatsu, K. Miyamoto and M. Nakao (1991). Jpn. Sanit. Zool., 42, 293-299.
6. 石畠 史, 飯田英侃, 波多野基一, 矢野泰弘, 高田伸弘 (1992). 日本ダニ学会誌, 1, 27-35.

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 布野 純子³ 南部 厚子⁴

Virological Examination in Infectious Diseases in Toyama Prefecture

Osayuki MORITA, Sumiyo HASEGAWA,
Michio MIZUKI¹, Keiko YOSHIDA²,
Junko NUNO³ and Atsuko NAMBU⁴

平成4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。

エンテロウイルス感染症の検査は、疾患の種類に応じて適当な検査材料を採取し、ウイルス分離検査を行った。糞便、咽頭ぬぐい液および水泡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-MK₂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4年4月から平成5年3月までに行ったウイルス検査状況を疾病別、月別にTable1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）と新湊市民病院小児科のご協力を得て、小児の急性胃腸炎に関与するウイルスについて定点観測を行った。患者から採取した糞便189検体を電子顕微鏡で観察し、ロタウイ

ルス（Rota）が74例、小型球形ウイルス（SRV）が10例、アデノウイルス（Ad）が7例、RotaとSRVの混合感染が1例認められた。これらウイルスの検出率は49%（92/189）であり、その内訳は、Rotaが最も多く、検出ウイルス全体の81%を占めていた。次いでSRVが12%、Adが8%であった。さらに、全検体について、ロタRPHAによるスクリーニングを行ったところ、70例が陽性を示した。そこで、電子顕微鏡で検出されたにもかかわらず、ロタRPHA陰性の検体は、レオウイルスである可能性が考えられたので、Vero細胞でのウイルス分離を試みた。しかし、ウイルスは分離されなかった。おそらく、A群以外のRotaであろうと推測される。

無菌性髄膜炎（Aseptic meningitis） 前年度のエコーウイルス30型（Echo30）の流行時〔1〕と比べて、今年度の検査件数は著しく減少した。4月から11月まで毎月1～4件の検査依頼を受けたが、7月、8月および10月にそれぞれ患者1名からウイルスが分離された。分離ウイルスはコクサッキーウイルスB2型（Cox. B2）、コクサッキーウイルスB4型（Cox. B4）およびエコーウイルス11型（Echo11）であった。これらのうち、Echo11は無菌性髄膜炎の患者から分離されることが多いが、Cox. B2とCox. B4は健常者からの分離例が多く、本県で患者から分離されたのは、Cox. B2は1989年、Cox. B4

Table 1. Virus Detection from Infectious Disease Patients

Illnesses	Viruses	Virus detection												Total
		1992						1993						
		Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	
Gastroenteritis		(16)	(19)	(10)	(5)	(1)	(3)	(1)	(9)	(27)	(37)	(44)	(17)	(189)
	Rota	5	7	3	2					2	19	24	12	74
	SRV ¹⁾	4	5	1										10
	Adeno	3	3	1										7
	Rota+SRV	1												1
Aseptic meningitis		(1)	(1)	(2)	(4)	(2)	(1)	(2)	(1)					(14)
	Cox. B2				1									1
	Cox. B4							1						1
	Echo 11					1								1
Hand foot and mouth disease							(2)							(2)
	Cox. A10						2							2
Others							(2)		(7)	(1)	(3)	(1)	(5)	(19)
	Mumps								1					1

1) SRV:Small round virus

Figures in parentheses are the numbers of patients examined.

は1984年以来のことであった。

手足口病 (Hand foot and mouth disease)
検査数は極めて少数であり、2件にすぎなかった。9月に福光町で、少数の子供が高熱を伴った手足口病に罹患した。2名の患者から採取された検体について検査を行い、糞便からウイルスは分離されなかったが、咽頭ぬぐい液から2例ともにコクサッキーウイルスA10型 (Cox. A10) が分離され、分離ウイルスおよびCox. A10標準株 (Kawalik株) に対して、中和抗体価の有意上昇がみられた。

その他 (Others) 流行性耳下腺炎が多発したので、7名から咽頭ぬぐい液を採取したが、おたふくかぜウイルス (Mumps) の分離は1例のみであった。2～3月に脳炎症状を示した患者の髄液からインフルエンザウイルスの分離を依頼されたが、MDCK細胞での分離はできなかった。

文献

1. 森田修行, 長谷川澄代, 水木路男, 吉田慶子, 草山真由美, 南部厚子 (1992). 富山衛研年報, 15, 178-179.

富山県における恙虫病患者発生状況（1992年）

森田 修行 石倉 康宏 南部 厚子¹

Incidence of Tsutsugamushi Disease in Toyama Prefecture in 1992

Osayuki MORITA, Mitsuhiro ISHIKURA
and Atsuko NAMBU¹

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）とよばれ、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広がっていった。

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するとともに、Rtに特異的なIgM抗体の検出をもって確定的な診断とした。

Table 1 に1978年から1992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）地区別、年次別に示す。15年間の患者累計は185名となったが、そのうちの173名（94%）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、前年よりやや多い15名の患者が発生した。このことは、黒部川扇状地におけるRtの生息分布およびその病原性が少しも衰えていないことを示唆している。

平成4年10月に5名、11月に10名の恙虫病疑いの患者が発生した。これら患者の年齢や臨床所見などをTable 2 に示す。年齢は8歳から72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5名、主婦3名、高校生2名、無職、酒屋従業員、プロパンガス配達人、小学生、中学生がそれぞれ1名であった。臨床所見は、発熱が38.0℃から39.3℃の間であり、発疹は淡紅色の小丘疹で、全例が軀幹に現れていたが、多くの患者では、さらに顔面や四肢にもみられた。リンパ節の腫脹は、腋窩と鼠蹊が多く、2名の患者はさらに頸部も腫脹していた。他方、3名には腫脹がみられず、3名は不明であった。ツツガムシ幼虫の刺し口は、14名の患者の軀幹部（胸部、背部、腹部）と下肢に認められたが、残りの1名には見つけることができなかった。

Table 3 はこれら患者のRtに対する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11名の患者は初回の採血で抗体価が低く、診断できなかったが、2回目の採血では抗体価が有意に上

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	1992	Total
Asahi					1								1			2
Nyuzen	9	9	8	9	6	1	16	6	5	5	5	3	8	6	7	103
Kurobe	2	6	9	8	3	2		4	4	4		1	3	5	8	59
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	15	185

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	58	F	Farmer	Nyuzen	Oct 23		+	+	Abdomen
2	64	M	Farmer	Nyuzen	Oct 28	39.0	+	+	Abdomen
3	16	M	Student	Nyuzen	Oct 30	39.3	+	+	Back
4	17	M	Student	Kurobe	OCT 30	39.2	+	+	Foot
5	43	F	Farmer	Nyuzen	Oct 31	38.7	+	—	Abdomen
6	61	F	Housekeeper	Kurobe	Nov 2	38.5	+		Back
7	72	F	None	Kurobe	Nov 9	38.3	+	+	Thigh
8	64	M	Farmer	Kurobe	Nov 10	38.0	+	+	—
9	67	M	Farmer	Kurobe	Nov 6	38.0	+	+	Breast
10	51	F	Housekeeper	Nyuzen	Nov 12	39.0	+	+	Back
11	64	F	Housekeeper	Kurobe	Nov 14	39.0	+	—	Abdomen
12	64	M	Liquorshop- employee	Kurobe	Nov 23		+	+	Abdomen
13	25	M	Propane gas- deliveryman	Nyuzen	Nov 18	39.0	+	—	Thigh
14	8	F	Student	Kurobe	Nov 27	38.0	+		Thigh
15	13	F	Student	Nyuzen	Nov 30	38.6	+		Breast

平成5年9月1日

Table 3. Serological Findings of Tsutsugamushi Disease Patients

No.	Days after onset	Antibody titers against			No.	Days after onset	Antibody titers against		
		Kato	Karp	Gilliam			Kato	Karp	Gilliam
1	3	<10 (<10)	<10 (<10)	10 (<10)	9	10	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)
	15	160	80	320		33	160	80	160
2	3	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)	10	1	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)
	35	320	160	640		8	40	20	40
3	3	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)	11	10	160 (160)	80 (80)	160 (160)
	16	160	80	320		18	1,280	640	1,280
4	6	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)	12	3	10 (10)	<10 (<10)	20 (20)
	12	160	80	320		14	1,280	640	1,280
	22	160	160	320		22	1,280	640	1,280
5	9	<10 (<10)	<10 (<10)	10 (10)	13	12	640 (640)	320 (320)	640 (640)
	40	160	160	320		19	320	160	320
6	8	<10 (<10)	<10 (<10)	10 (10)	14	3	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)
	26	80	40	160		10	160	40	160
7	3	<10 (10)	<10 (<10)	<10 (<10)	15	3	<10 (<10)	<10 (<10)	<10 (<10)
	31	40	40	320					
8	3	40 (40)	40 (40)	40 (40)					
	31	320	160	320					

Figures in parentheses are specific IgM antibody titer.

昇し、恙虫病であったことが確認された。3名は初回の血清でRt特異IgM抗体が検出されたことをもって確定診断された。残りの1名(No.15)は2回目の採血ができず、血清学的に確認できなかったが、臨床的には恙虫病の症状を呈していた。

3種類のRt標準株を用いて抗体価を測定したが、それぞれの抗原に対する抗体価を比較し、ほとんど差は認められなかった。No.7の患者のみ、回復期の血清においてGilliam株に対する抗体価が他の2種類の抗原に対するものより高値を示した。前年度の検査[5]では、回復期の患者血清におけるRt特異IgM抗体価がGilliam株に対して他の抗原より高い値を示していた。今年度も、回復期血清におけるRt特異IgM抗体を測定すれば、各抗原に対する抗体価に差がみられたかもしれない。

15名の患者が感染した場所は明確でなかった。従来からそうであったが、ツツガムシ幼虫の刺咬を自覚している者はほとんどいなかった。2～3名が虫に刺されたことに気が付いていたが、その場所と日までは記憶していなかった。患者の多くは畑仕事をしてたか、草刈りなどの作業をしていたので、その際の感染かもしれない。しかし、小中学生や高校生は農作業などを一切行っていないので、感染の機会を推定することは極めて難しい。No.13の患者も特別の場所へ出かけたことはなく、農作業も行っていない。われわれが指摘しているように、黒部川の扇

状地にはRtに感染した野ネズミが広く分布している。田畑に限らず、住宅の周辺に生息している野ネズミにもRtが感染している[4]ので、住民は日常生活の中でも感染しているものと考えられる。しかし、これまで年間の患者届出数は20名以上になったことがない。住民は感染防止に十分注意していることと思われるが、ヒトに病原性のあるRtの分布は意外に希薄なのかもしれない。

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黒部市民病院の福井米正先生、竹谷徳雄先生、高桑 聖先生、平成会桜井病院の平井康子先生、藤岡医院(黒部市)の藤岡三郎先生、あさひ総合病院の寺田康人先生ならびに関係各位に深く感謝いたします。

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, 岩城 稔, 橋爪淑子, 田中桂子, 前多隆志 (1992). 富山衛研年報, 15, 180-183.

急性胃腸炎におけるA群ヒトロタウイルス 血清型の疫学的解析（平成4年度）

長谷川 澄代 森田 修行

An Epidemiological Analysis on the Serotype of Group A Human Rotavirus in Acute Gastroenteritis from April 1992 to March 1993

Sumiyo HASEGAWA, 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年度に引き続いて平成4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）9県の衛生研究所の研究分担者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。そのうち富山県での調査について述べる。

材料と方法：糞便検体は、高岡市、新湊市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、市販のロタウイルス逆受身赤血球凝集反応（RPHA）のキット（デンカ生研）を用いて、ロタウイルス抗原を検出した。A群HRV陽性例の検体は、前年度と同じくA群共通抗原の確認と血清型別を行なった。本年度は更に亜群についての分類も行なった。これらは、全て研究班で標準化した「各血清型特異単クローン抗体によるELISA血清型別法」の術式に従って行なった。検査試薬も研究班で標準化したものを使用した。今回はさらに、C群ロタウイルスの検出を葛谷らの方法〔1〕によるRPHA法で行ない、検査試薬は研究班で標準化したものを使用した。

1992年4月から1993年3月までの12か月間に、急

性胃腸炎患者172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61例（35.5%）であった。1992年4月から6月にかけてのRPHA法でHRVの陽性例についてみると4月は17検体中4例（23.5%）、5月は17検体中6例（35.3%）、6月は9検体中2例（22.2%）が認められたが、その後7月から11月にかけての6か月間には陽性例は認められなかった。しかし、12月になって27検体中2例（7.4%）に陽性が認められ、翌年の1993年1月には37検体中19例（51.4%）に陽性が認められた。2月には検体数も増え、44検体中26例（59.0%）が陽性を示した。3月になると検体数は激減し2検体になったが、2例とも陽性であった。A群HRVの陽性数の月別分布と月平均気温をFig. 1に表わした。A群HRVによる急性胃腸炎の発生は4月には4名、5月には6名、6月には2名認められた。4、5、6月の月平均気温は、12.0度、14.8度、19.6度であった。その後、7、8、9、10、11月の5か月間にはA群HRVによる患者発生は認められなかった。12月になって、月平均気温は10度以下の6.1度となり、2名の患者が認められた。翌年の1月には19名の患者、2月には26名、3月には2名の患者が発生した。1、2、3月の月平均気温はそれぞれ3.8度、4.4度、5.6度であった。川本ら〔2〕はヒトロタウイルスの流行は中部地域以北で月平均気温が摂氏10度を境に流行開始、終息が起ると報告しているが、今回の富山県

Table 1. Monthly Distribution of Subgroups and Serotypes of Human Rotavirus from April 1992 to march 1993

Months	No. tested	No. RPHA(+)	Subgroup of HRV			Serotype of HRV				
			I	II	— ¹⁾	1	2	3	4	— ²⁾
1992, Apr	17	4	1	3		2	1			1
May	17	6	1	5		5	1			
Jun	9	2		2		2				
Jul	5	0								
Aug	1	0								
Sep	2	0								
Oct	2	0								
Nov	9	0								
Dec	27	2		2		2				
1993, Jan	37	19		19		19				
Feb	44	26	1	24	1	23	1			2
Mar	2	2		2		2				
Total	172	61	3	57	1	55	3	0	0	3

1) : Not ascribable to any subgroup

2) : Not ascribable to any type

の調査では、4、5、6月の月平均気温が摂氏10度を越えていたにもかかわらず、患者が発生していた。前回の調査では、1992年3月に25例の陽性が認められている[3]。この流行があったために1992年の4、5、6月の患者発生が続いたと考えられるが、気温と患者発生の詳細な関係についてはさらに、今後の調査を待たねばならない。

RPHA法でA群HRVが検出された患者の月齢分布をみると(Table 2)、0～5か月は、3例(4.9%)、6～11か月は19例(31.1%)、12～17か月は16例(26.2%)、18～23か月は11例(18.0%)、24～29か月は5例(8.2%)、30～35か月は3例(4.9%)、36か月以上が4例(6.6%)であり、6～23か月が46例で全体の75.4%を占めていた。つまり生後6か月から2歳頃までの年齢層が患者の8割近くを占めていた。このことから母親からの移行抗体がなくなる生後6か月頃からHRVの感染を受け易

くなり2歳頃までに殆どが、HRVに感染していることが示唆された。

RPHA法で陽性が確認された検体について型別分布を見ると、1型は55例(90.2%)、2型は3例(4.9%)、3型と4型はなく、型別不能が3例(4.9%)であった。更に亜群については亜群Iが3例(4.9%)、亜群IIが57例(93.4%)、亜群不明が1例(1.6%)であり、血清型との関連は殆ど既知の組み合わせと同様であった。前回の調査[3]では、血清型1型、2型、3型の流行が見られ、特に1型と2型が優勢であったが、今回の調査では、殆どが1型であり、2型はわずかであった。

A群HRVを検出するA群RPHA法で陰性であった検体について、C群RPHA法を試みたが、全て陰性であった。

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[4]。HRV

平成5年9月1日

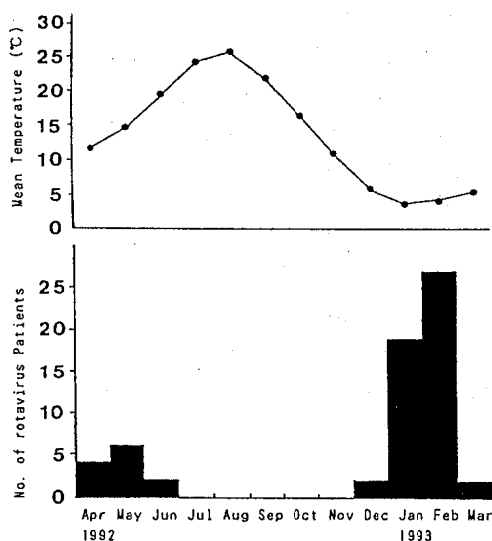


Fig.1. Monthly Incidence of Gastroenteritic Patients with Rotavirus and Monthly Atmospheric Temperature in Toyama Prefecture from April 1992 to March 1993.

Table. 2. Age Distribution of Patients and Subgroup and Serotype Distribution of Rotavirus

Age (Months)	No. RPHA(+)	Serotypes of HRV					No. tested	Subgroup of HRV		
		1	2	3	4	— ¹⁾		I	II	— ²⁾
0 ~ 5	3	2				1	3		3	
6 ~ 11	19	18				1	19		18	1
12 ~ 17	16	14	1			1	16	1	15	
18 ~ 23	11	11					11		11	
24 ~ 29	5	5					5		5	
30 ~ 35	3	2	1				3	1	2	
36 ≤	4	3	1				4	1	3	
Total	61	55	3	0	0	3	61	3	57	1
(%)	(100)	(90.2)	(4.9)	(0)	(0)	(4.9)	(100)	(4.9)	(93.4)	(1.5)

1) : Not ascribable to any type

2) : Not ascribable to any subgroup

はA～Eの5群に分類されているが、現在まで唯一、細胞培養で分離可能となった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おり、ごく稀にC群の散発も報告されているが、他の群はヒト疾病関連では報告がない。今回は前回に引き続いて、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。さらにC群の流行状況を調べるためにRPHA法により、C群の検出を試みた。

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体検索を実施し、起因ウイルスとしてのA群HRVの血清型別調査とともに他のウイルス〔3〕をも考慮にいれて検索を継続していくべきである。

文献

1. Kuzuya, M., Fujii, R., Hamano, M., Nagabayashi, T., Tunemitsu, H., Yamada, M., Nii, S. and Mori, T.(1993). J. Clin. Microbiol. 31, 1308～1311.
2. 厚生科学医療研究事業平成3年度研究報告書
3. 長谷川澄代, 森田修行(1992). 富山衛研年報, 15, 184～186
4. 病原微生物検出情報(1990), 月報, 11, 1～20.

C型肝炎ウイルスの抗体保有調査

中山 喬 森田 修行

Prevalence of Antibody against Hepatitis C Virus among Delivery Women

Takashi NAKAYAMA and Osayuki MORITA

血液を介して感染するウイルス性肝炎のうち、B型肝炎ウイルス (hepatitis B virus, HBV) によって発症するB型肝炎については、HBV検出法が確立されて以来輸血用血液からHBV陽性血液を除くことにより、いわゆる輸血後肝炎の発生は激減した。さらにワクチンも開発され、肝炎予防ばかりでなく持続感染防止対策も確立された。HBVによらない輸血後肝炎の大部分を占める、いわゆる非A非B型肝炎 (non-A, non-B hepatitis, NANBH) は、長い間その原因ウイルスが不明であった。ウイルス粒子の実体は現在も不明であるが、1989年にChoo, Q. -L. ら [1] により、分子生物学的手法によってウイルス遺伝子の一部が解明され、それをもとに抗体検出法も開発された。このウイルスは疫学的にNANBHとの関連が明らかになり [2], C型肝炎ウイルス (hepatitis C virus, HCV) と称されるようになった。

一方、急性肝炎患者の一部は慢性肝炎に進行し、その一部がさらに悪化すると肝硬変、肝癌へ進行する。HCVによって引き起こされるC型肝炎は慢性化しやすく、また、HCVも持続感染になりやすい。実際にウイルス性肝癌の半数以上にHCVが感染していると推定されている。輸血後のNANBHの大部分はHCVの感染によるものであるが、HCV陽性の肝疾患患者の中には輸血を受けたことのない人もいる。輸血以外の感染経路については現在各方面で研究されているところである。

HBVの持続感染者の大部分は母子間垂直感染によって感染することが明らかになっている。HBV

と同じように血液を介して感染するHCVも、その感染経路のひとつとして母子感染も起こりうる [3, 4] と考えられるが、まだ明確な結論は出ていない。我々はHCVの母子感染の可能性を見るための基礎研究として、成人女性におけるHCVに対する抗体保有状況を調査した。

検査に使用した血清は、当研究所に保存してあった、昭和52年から昭和54年にかけて採血された出産時の母親の血清915件を使用した。対照として使用した妊娠していない女性の血清は、年齢を合わせるため昭和59年の一般依頼検査血清から588件を用いた。HCV抗体 (anti-HCV) の測定は第Ⅱ世代のHCV抗体測定試薬「HCV・PHA」(ダイナボット社, PHA法) を使用した。HBs抗原 (HBsAg) の測定は「マイセルHBsAg」(特殊免疫研究所, RPHA法), HBe抗原 (HBeAg) およびHBe抗体 (anti-HBe) の測定は「フレライザⅡHBeAg-Ab」(富士レビオ社, 酵素抗体法) を使用した。結果の判定はそれぞれの測定試薬の判定基準に従った。結果の検定は χ^2 検定にYates補正を加えて行なった。

Table 1にanti-HCVおよびHBsAgの測定結果を示す。anti-HCVは母体血915件から7件が検出され、陽性率は0.8%であった。年齢別には20~24歳225件中1件陽性で0.4%, 25~29歳526件中4件陽性で0.8%, 30~34歳143件中2件陽性で1.4%を示し、年齢が増すにしたがって陽性率も高くなる傾向を示した。対照として使用した一般依頼検査血液588件からは1件検出され、陽性率は0.2%であった。このHCV陽性率は、母体血と一般依頼血液との間に有意差は

認められなかった ($\chi^2=1.40$)。

Table 1. Frequency of seropositivity for anti-HCV and HBsAg among delivery women and controls by age groups*

Age group (years)	Sera from delivery women			Sera from controls		
	No. of tested	Anti-HCV positive(%)	HBsAg positive(%)	No. of tested	Anti-HCV positive(%)	HBsAg positive(%)
~ 19	1	0	0	8	0	0
20 ~ 24	225	1(0.4)	2(0.9)	201	0	2(1.0)
25 ~ 29	526	4(0.8)	10(1.9)	290	1(0.3)	2(0.7)
30 ~ 34	143	2(1.4)	7(4.9)	66	0	1(1.5)
35 ~ 39	15	0	0	17	0	0
40 ~	3	0	0	6	0	0
Total	915	7(0.8)	19(2.1)	588	1(0.2)	5(0.9)

* Anti-HCV, antibody against hepatitis C virus ; HBsAg, hepatitis B virus surface antigen ; Control, healthy women from the general population

HBVは持続感染し、HCVと同じく血液を介して感染する肝炎ウイルスである。今回使用した血液について、HBsAgの陽性率を調べてみた (Table 1)。母体血からは19件、一般依頼血液からは5件のHBsAgが検出され、陽性率はそれぞれ2.1%、0.9%であ

り、両者の間に有意差は認められなかった ($\chi^2=2.69$)。一般に日本人のHBsAg陽性率は1~2%といわれており、我々が対象とした血液における血液由来ウイルスの感染状況には、特に異常はないものと思われる。

Table 2. Frequency of seropositivity for HBeAg and anti-HBe among HBsAg-positive sera*

Sera	Delivery women (n=915)	Controls (n=588)
HBsAg positive	19(2.1) [#]	5(0.9)
HBeAg positive and anti-HBe negative	7(0.8)	1(0.2)
HBeAg negative and anti-HBe positive	10(1.1)	4(0.7)
HBeAg negative and anti-HBe negative	2(0.2)	0

* HBsAg, hepatitis B virus surface antigen

HBeAg, hepatitis B virus e antigen

Anti-HBe, antibody to hepatitis B virus e antigen

[#] Figures in parentheses show percentage to tested sera

HBVの感染においては、いくつかの抗原-抗体系の存在が知られ、HBeAg-anti-HBe系は感染性を知るためのマーカーとして利用されている。そこで、検出したHBsAg陽性血液のHBeAg, anti-HBeの保有状況を検討したところ (Table 2), HBeAg陽性血液は母体血から7件、一般依頼血から1件検出され、陽性率はそれぞれ0.8%, 0.2% ($\chi^2=1.40$)であった。HBeAg-anti-HBe系はHBV持続感染成立の原因である母子垂直感染を防止するための指標として重要である。すなわち、HBeAg陽性-anti-HBe陰性の血液はHBVの感染力が強く、逆に、HBeAg陰性-anti-HBe陽性の血液は感染力が弱い。HBeAg陰性-anti-HBe陰性の場合にはHBeAg陽性からanti-HBe陽性への過渡期と考えられている。さらにワクチンも開発されており、母親がHBeAg陽性の場合、新生児にガンマグロブリン投与とHBVワクチン接種を計画的に実施することによって垂直感染を防止することができ、すでにB型肝炎母子感染防止対策として、昭和60年度から実施されている。ここで調査対象にした血液の採血時ではまだ実施されていなかったが、実施されておれば合計8件のHBeAg陽性者による母子感染は防止できたはずである。この母子感染防止対策の実施により、将来はHBVの撲滅も推測されている。

HCVにおいては、HBVにおけるHBeAg-anti-HBe系のような感染性と関連するマーカーはまだ確立されていない。輸血に使用した血液の中にanti-HCV陽性血液が含まれていた場合に輸血後C型肝炎の発症例が多かったことから、anti-HCVが陽性の場合HCVが同時に生存している可能性が高いと考えられ、輸血用血液のHCVスクリーニングには、anti-HCVを指標として用いられている。しかし、anti-HCVのみでは十分でなく、現在、分子生物学的方法で開発された多くのマーカーについて感染性

との関連が検討されている。また、現在のところウイルス粒子そのものの検出法は確立されていないので、Polymerase chain reaction (PCR) によって検出したウイルス遺伝子の一部と感染性との関連なども検討されている。その他、輸血歴のない肝疾患患者でのanti-HCV陽性例の存在、散发性のC型肝炎の発生、さらにHCV株間の変異の問題、輸血以外の感染経路や持続感染成立のメカニズムなど、HCVの場合まだ解明されていない点が多い。今回の調査でのHCV陽性率は母体血で0.8%、対照血液で0.2%であった。両者の間に有意差は認められなかったもので、県内の成人女性では、約0.8% (0.8%~0.2%) 程度のHCV陽性者がいるものと予想される。今後PCRによるウイルス遺伝子の検出を指標として、HCVの母子感染の可能性について検討したい。

文献

1. Choo, Q. -L., Kuo, G., Weiner, A. J., Overby, L. R., Bradley, D. W., Houghton, M. (1989). *Science*, 244, 359-362.
2. Kuo, G., Choo, Q. -L., Alter, H. J., Gitnick, G. L., Redeker, A. G., Purcell, R. H., Miyamura, T., Dienstag, J. L., Alter, M. J., Atevens, C. E., Tegtmeier, G. E., Bonino, F., Colombo, M., Lee, W. -S., Kuo, C., Berger, K., Shuster, J. R., Overby, L. R., Bradley, D. W., Houghton, M. (1989). *Science*, 244, 362-364.
3. Thaler, M. M., Park, C. -K., Landers, D. V., Wara, D. W., Houghton, M., Veereman-Wauters, G., Sweet, R. L., Han, J. H. (1991). *Lancet*, 338, 17-18.
4. Inoue, Y., Takeuchi, K., Chou, W. -H., Unayama, T., Takahashi, K., Saito, I., Miyamura, T. (1992). *J. Infect. Dis.*, 166, 1425-1428.

2) 分離材料：穿刺液（胸水、腹水、関節液など）

Escherichia coli	5	5	5	8	3	4	3	2	4	3	1	1	44
Klebsiella pneumoniae	1	1	3	4	1		3	2	2	1		3	21
Haemophilus influenzae													
Neisseria meningitidis													
Pseudomonas aeruginosa	5	4	1	1	1			2	3	3		1	21
Mycobacterium spp.	1	1	1										3
Staphylococcus aureus	2	4	6	13	3	3	3	4	3	4	5	7	57
Staphylococcus, 3775-株性	3		3	7	4	4	4	6	8	3	1	1	44
Streptococcus pneumoniae	1	1	1	1								2	6
Anaerobes	1	4	7	4	1	6	5	4	3	2		1	38
Mycoplasma pneumoniae													
合 計	19	20	27	38	13	17	18	20	23	16	7	16	234

3) 分離材料：髄液

Escherichia coli						1	1	1			1		4
Haemophilus influenzae													
Neisseria meningitidis													
Staphylococcus aureus	1					1	1				2	2	7
Streptococcus, B													
Streptococcus pneumoniae		1		1									2
合 計	1	1	0	1	0	2	2	1	0	0	3	2	13

4) 分離材料：血液

菌 種 ・ 群 ・ 型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Escherichia coli	5	1	1	5	2	5	3	5	4	3	3	3	40
Salmonella Typhi													
Salmonella ParatyphiA													
Salmonella spp.													
Haemophilus influenzae													
Neisseria meningitidis					3	3	3		4		1	1	21
Pseudomonas aeruginosa	2	3	1										
Staphylococcus aureus	4	7	7	6	3	10	6	11	6	7	4	9	80
Staphylococcus, 3775-株性	7	7	6	8	8	13	10	9	10	5	7	8	98
Streptococcus, B	1	2									1		4
Streptococcus pneumoniae		4	2				1	1	2	2		2	14
Anaerobes		1	2	1	3		1			1	1	4	14
合 計	19	25	19	20	19	31	24	26	26	18	17	27	271
Campylobacter fetus		1											1
Streptococcus, G					1								1

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

Bordetella pertussis							1						1
Haemophilus influenzae	35	59	26	42	75	81	64	46	38	38	36	48	588
Neisseria meningitidis													
Streptococcus, A	57	70	67	71	72	77	45	25	15	36	50	63	648
Streptococcus pneumoniae	14	8	11	23	19	10	8	10	3	7	10	10	133
C. diphtheriae													
合 計	106	137	104	136	166	168	118	81	56	81	96	121	1370
Streptococcus, B			1						2	1			4
Streptococcus, G				1	1								2
Streptococcus, C					1								1

平成5年9月1日

6) 分離材料：喀痰、気管吸引液および下気道からの材料

M. tuberculosis	7	6	6	7	4	7	7	15	7	12	5	4	87
Klebsiella pneumoniae	40	41	38	33	52	51	68	77	67	60	48	37	612
Haemophilus influenzae	30	34	32	38	34	40	37	28	26	25	28	18	370
Legionella pneumophila													
Pseudomonas aeruginosa	116	99	115	117	84	139	156	139	138	134	140	102	1479
Staphylococcus aureus	179	154	205	184	109	153	183	151	135	158	185	180	1976
Streptococcus, A	10	10	6	3	3	2	6	1	3	7	10	2	63
Streptococcus, B	8	10	6	7	5	10	7	9	11	6	10	15	105
Streptococcus pneumoniae	22	31	24	41	29	33	29	30	18	28	28	21	334
Anaerobs			1										1
Mycoplasma pneumoniae													
合 計	412	385	433	430	321	435	493	450	405	430	454	379	5027
Streptococcus, G	3	2				1	1	1	1	1			10
Streptococcus, C						1							1

7) 分離材料：尿

菌 種 ・ 群 ・ 型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Escherichia coli	147	132	135	143	145	127	164	166	155	160	140	137	1751
Enterobacter spp.	21	20	24	17	25	29	29	37	24	28	19	25	288
Klebsiella pneumoniae	35	40	27	33	29	38	39	42	55	57	48	45	488
Acinetobacter spp.	4	12	8	6	6	3	13	6	9	7	6	3	83
Pseudomonas aeruginosa	87	73	81	67	64	90	103	90	89	74	75	90	983
Staphylococcus aureus	46	50	58	63	43	64	58	62	43	56	42	57	642
Staphylococcus, ヲグラーゼ陰性	47	41	51	34	34	32	36	57	41	34	28	24	459
Enterococcus spp.	106	112	101	90	80	111	81	101	93	89	103	96	1163
Candida albicans	63	66	64	42	39	48	53	40	45	43	34	24	561
合 計	556	546	549	495	465	542	576	601	554	548	495	501	6428
Streptococcus, B	2	5			4		4		2	6		2	25
Streptococcus, A							1						1
Salmonella spp.				1									1
グラム陽性球菌	12	13	15	8	13	17	22	11	17	6	6	9	149
グラム陰性桿菌	19	11	13	18	25	19	26	33	28	16	13	12	239
真 菌	7	8	5	5	5	8	13	7	8	7	2	3	78

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

Neisseria gonorrhoeae	2	1	2	1	1			3					10
Streptococcus, B	8	8	10	20	12	15	19	13	14	16	38	17	190
Chlamydia trachomatis	10	9	30	16	14	11	14	13	18	10	7	15	167
Ureaplasma													
Candida albicans	118	122	140	130	121	139	158	167	141	118	103	109	1566
Trichomonas vaginalis	4	2	4	5	3	5	7	5	4	3	3	2	47
合 計	142	142	186	172	151	170	198	201	177	147	151	143	1980
Streptococcus, A					1								1
Candida parapsilosis										4			4

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。

表1. 保育園・幼稚園児の腸管溶血レンサ球菌保菌率と分離株の群・型別分布

対象施設	検査年月	検査数*	溶レン菌陽性数	保菌率	分離株の内訳
小矢部市					
I-1	1989.9	74	4	5.4%	B群 3株 (Ia, 2; II, 1) G群 1株
I-2	1990.9	94	5	5.3%	B群 4株 (Ia, 2; UT, 2) G群 1株
I-3	1991.9	93	1	1.1%	B群 1株 (Ia, 1)
I-4	1992.9	46	2	4.4%	B群 2株 (V, 2)
魚津市					
U	1989.9	53	9	16.9%	B群 3株 (II, 1; V, 1; NT-6, 1) G群 6株
H-1	1989.9	32	3	9.3%	B群 3株 (II, 1; NT-6, 1; UT, 1)
M	1990.9	75	3	4.0%	B群 3株 (II, 2; V, 1)
UI	1990.9	31	2	6.5%	B群 2株 (Ia, 1; II, 1)
H-2	1992.9	40	1	2.5%	B群 1株 (I, 1)
黒部市					
T	1991.9	22	1	4.5%	C群** 1株 G群** 1株
合 計		560	31	5.5%	B群 22株 (Ia, 6; II, 5; V, 4; NT-6, 2; II, 2; UT, 3) G群 9株 C群 1株

* 対象者は2~6才 ** C群とG群の混合保菌

かにG群の保菌者が見出されたかいずれかであった。A群菌は全く見出されなかった。なお、B群と決定された22株は、API strep 20により総て95%以上の確率で*Streptococcus agalactiae*と同定された。G群と決定された9株中7株は、API strep 20により、75%以上の確率で*Streptococcus equisimilis*と同定されたが、残り2株は*Streptococcus equisimilis*である確率は67%であった。C群の1株もまた、67%の確率で*Streptococcus equisimilis*と同定された。一般に保菌率が低かったために、B群の分離株数も少なく22株であったが、それらB群の型別分布をみると、Ia型が6株、II型が5株と多く、その他V型が4株、NT-6型が2株、II型が1株、型別不能が3株であった。

考 察：溶レン菌のうちA群は小児の上気道感染の主要な原因菌の一つであるが、その背景として、健康児童の咽頭の本菌保菌率が高いことが上げられる[2]。一方、高齢者では、日和見感染としてA群ではなくB群やG群が問題であるが、その場合に

も背景として、健康な高齢者の咽頭ではB群やG群の保菌が、腸管では主としてB群の保菌がみられることが判明している[3]。健康児童の腸管溶レン菌保菌については、これまではほとんど調査が行われていないが、本調査で得られた結果は極めて興味深いものである。咽頭では、健康児童と高齢者では、その保菌菌群の分布が全く逆転して極めて対照的である[3]。即ち、児童では大部分がA群、一部G群でB群は希であるのに対して、高齢者では大部分がB群とG群でA群は極めて希である。しかしながら、腸管では年齢に関係なく、保菌菌群の分布がかなり一定しており、高齢者ばかりでなく児童においても最も優勢なのはB群、次いでG群であり、A群は全く検出されない。同じ児童の体内でも、A群菌にとっては、咽頭とは違い腸管内は生息には適さない環境のように思われる。

児童の場合も、腸管由来のB群やG群による内因感染の機会はあると思われるが、B群やG群は人に対する病原性が一般にはA群ほど強くはないので、

平成5年9月1日

ほかに基礎疾患を有する高齢者や新生児は別として、健康児童では腸管内のB群やG群はA群ほどには感染源としての重要性を持たないのであろう。逆に高齢者にA群感染者が少ないのは、内因感染としてA群の保菌が希であることから、単に感染の機会が極めて少ないことによると思われる。

健康児童の腸管由来B群の菌型分布の上で注目すべきことは、健康な高齢者の腸管や高齢者の臨床材料由来B群の中で最近極めて優勢なM-9型が全く見出されないことである。Ⅲ型とⅠa型は高齢者にも小児にも共通に優勢な菌型であるので、M-9型に関するこの違いは、調査地区の違いによるものではなく、年齢が関係しているように思われる。

まとめ：健康児童の腸管溶血レンサ球菌保菌状態を調べ、次の事実を明らかにした。

1. 延べ560名の2～6歳児の腸管保菌率は、咽頭の場合に比べると著しく低く、また高齢者の腸管保菌率に比べてもかなり低く、増菌培養によっても平均5.5%であった。

2. 保菌者について群別分布をみると、保菌率が最も高かったU保育所でG群が最も優勢であったのと、T保育所の唯一の保菌者がC群とG群の混合保菌であったほかは、B群が最も優勢であり、G群も一部分離されたが、A群は全く見出されなかった。

3. このような健康児童の腸管溶レン菌保菌状態は、保菌率がかなり低いという点は別として、菌の群別分布では高齢者と類似していた。しかしながら、B群の菌型分布については、高齢者の腸管内では優勢なM-9型が、小児では全くみられないという違いがあった。

文献

1. 富山県厚生部編（1991）. 平成2年度伝染病流行予測報告書, 12～15.
2. 児玉博英, 石本美穂子, 田口由清, 刑部陽宅, 渡辺正男（1977）. 感染症誌, 51, 120～127.
3. 児玉博英, 林美千代, 刑部陽宅（1989）. 感染症誌, 63, 1244～1248.

プレシオモナス・シゲロイデスによる集団下痢症

磯部 順子 児玉 博英 島田 俊雄¹An Outbreak of Diarrheal Disease Caused
by *Plesiomonas shigelloides*Junko ISOBE, Hirohide KODAMA
and Toshio SHIMADA¹

Plesiomonas shigelloides (以下*P. shigelloides*) は、河川水や淡水に常在する菌であるが、ヒトに下痢症を起こすことから、1983年厚生省によって食中毒原因菌に指定されている。近年は、輸入感染症の主要な原因菌としても注目されている。実際に毎年300株前後が全国で分離され、その約90%が輸入例である[1]。国内でも、本菌による集団発生はいくつか報告があるが[2-4]、これらの多くは腸炎ビブリオなどとの混合感染である。われわれは、1992年6月に富山県では31年ぶりに、本菌単独によると思われる集団下痢症を経験したので、その概要について述べる。

発生の状況：平成4年6月17日午前10時、宇奈月町の診療所の医師から食中毒疑いの届け出があった。その時点で患者は5名、主訴は腹痛、下痢や軟便で発熱はなく、比較的軽症とのことであった。患者らは、関西からの43名のバス旅行グループの一員で、調査の結果、最終的な患者数は22名となり、そのほとんどが3～6回の下痢で、うち16名は腹痛をともなったが発熱はなかった。発病は6月16日夜11時から、翌17日午前8時頃までであった。症状が軽いこともあって、このグループは予定通りの日程で旅行を続けた。

細菌学的検査：医師からの連絡を受け、直ちに黒部保健所は、患者5名と宿泊ホテルの従業員54名の検便、調理室のふきとりや調理員の手指、検食の検査を実施、衛生研究所と合同で広範な食中毒菌検索

を行った。その結果、患者5名中4名の直接培養S S寒天平板上に、多数の乳糖非分解菌を認めた。この菌はTSIでは赤痢菌と同様の性状を示したが、運動性およびチトクロームオキシダーゼ陽性であり、性状検査の結果、総て*P. shigelloides*と同定された(表1)。又、分離株は総て血清型O61:H2であった。他の食中毒菌は全く分離されなかった。

疫学的事項：患者らの発症までの行動は表2のとおりであった。当初は宿泊の宇奈月温泉のホテルの夕食が疑われたが、保存されていた検食からは、食中毒起因菌は検出されず、他の宿泊客6グループにも異常は認められなかった。その後の調査により、奥琵琶湖のレストランでこのグループとほとんど同一の昼食(表3)をとった新潟県の旅行グループでも、42名中32名が発病していたことが判明した。同レストランの検食は保存されておらず、食品検査は不能であったが、滋賀県は同レストランを本事件の原因施設と断定した。原因食品は不明であるが、*P. shigelloides*の生態から考えると、原因と考えられた昼食のメニューのうち、鯉のあらいが最も疑わしいと思われる。平均潜伏時間約15時間で、腹痛をともなう比較的小さい下痢症という事例であった。

なお、本菌の健康保菌者は希ということであるが、その後富山県内で、無症状の給食従事者から本菌が検出され、くしくも血清型は同じO61:H2であった。

今後、本事例の分離株を含めて、*P. shigelloides*

平成5年9月1日

表1. 分離株の諸性状

項目	菌株	食中毒株	健康者株 ¹
TSI		- / A	- / A
LIM		+, +, +	+, +, +
SIM		-, +, +	-, +, +
チトクロームオキシダーゼ		+	+
インドール		+	+
MR		+	+
VP		-	-
クエン酸塩（シモンズ）		-	-
リジン-デカルボキシラーゼ		+	+
アルギニン-ジヒドロラーゼ		+	+
オルニチン-デカルボキシラーゼ		+	+
ONPG		+	+
ウレアーゼ		-	-
ゼラチナーゼ		-	-
ブドウ糖からのガス産生		-	-
炭水化物からの酸産生（24時間判定）			
グルコース		+	+
ラクトース		- ²	- ²
マルトース		+	+
サリシン		-	-
ラフィノース		-	-
ラムノース		-	-
サッカロース		-	-
トレハロース		+	+
キシロース		-	-
アドニット		-	-
ズルシット		-	-
イノシット		+	+
マンニット		-	-
ソルビット		-	-
L-アラビノース		-	-
D-アミグダリン		-	-
易熱性エンテロトキシン産生		-	-
耐熱性エンテロトキシン産生		-	-
薬剤感受性 ³			
クロラムフェニコール		S	S
テトラサイクリン		S	S
ストレプトマイシン		I	I
カナマイシン		I	I
コリスチン		S	S
アンピシリン		I	I
ナリジクス酸		S	S
ゲンタマイシン		S	S
セファロチン		S	S

1) 無症状の給食従事者からの分離株で、本食中毒とは無関係である。

2) 菌株保存中にラクトースからの酸産生が+と-に解離。ただし両菌株とも血清型は O 6 1 : H 2 であった。

3) Sは感受性、Iは中等度感受性を示す。

表2. 旅行日程

6/16	9:00	大阪出発
	12:30	昼食（奥琵琶湖のレストランの幕の内弁当）
	17:00	宇奈月温泉着
	18:30	夕食（Uホテル）
	23:00	初発患者発生
6/17	9:00	患者5名が診療所受診

表3. 2つのグループが喫食した幕の内弁当のメニュー

・サケの塩焼き*	・エビフライ
・だし巻	・ロールキャベツ
・佃煮	・ふきの煮物
・ <u>鯉のあらい</u>	・かまぼこ
・ご飯	

（* 新潟のグループはイカリングフライ）

の腸管起病性について検討したい。

文献

1. 国立予防衛生研究所編, 病原微生物検出情報 (1993). 5, 95-96.
2. 上田貞善, 山崎茂一, 堀 道紀 (1963). 日本公衛誌, 2, 67-70.
3. 安形則雄, 森 正司, 三好克典 (1991). 名古屋市衛生研究所報, 37, 83-84.
4. 井藤典彦, 楠木和弘, 大谷 寛, 渋谷隆義, 野村克嘉 (1992). 和歌山公衛研年報, 38, 62-65.

平成5年9月1日

市販魚類におけるビブリオ・フルビアリスおよび ビブリオ・ファニシの汚染実態

井山 洋子 磯部 順子

Incidence of *Vibrio fluvialis* and *Vibrio furnissii* in Market Fish

Yōko IYAMA and Junko ISOBE

ビブリオ・フルビアリスは1982年3月11日環食第59号により行政上食中毒の原因菌として取扱われるようになった。厚生省による全国の病原微生物検出情報によると最近5年間の本菌の分離報告数は40例前後を推移しており、その約4割は輸入例である[1]。

当所では1986年から3年間富山湾産市販魚介類の本菌による汚染率を調査し、非常に高率に汚染されていることを報告[2, 3, 4]した。

今年度は汚染状況と同時に汚染濃度の測定を8月と10月に行ったので報告する。

検査方法: 既報と同様、腸炎ビブリオの検査のために搬入された富山湾産の市販魚類と同一の検体を使用した。培地は増菌用にSA培地[5]とFEM培地[6]を、分離用にSPS培地[5]とTCBS培地(栄研)の4種類を使用し、培地間の比較検討を行った。菌数の定量試験はMPN3本法によった。

調査期間は1992年6月23日から10月20日まで、隔週で1回、4検体ずつ検査した。

結果と考察: ビブリオ・フルビアリスの分離率はTable 1に示すように、調査開始の6月から10月まで全期間にわたり分離され、汚染率は*Vibrio fluvialis*は72.2%、*Vibrio furnissii*は50.0%であった。また、*V. fluvialis*と*V. furnissii*の両方、または一方に汚染されている検体は88.9%で、約9割は汚染魚であった。これを過去3年間の同時期のデータと比較すると表のとおりであり、殆ど変動は見られなかつ

Table 1. Isolation of *V. fluvialis* and *V. furnissii* from Fish

Date	<i>V. fluvialis</i> (%)	<i>V. furnissii</i> (%)
Jun. 23, '92	2/4 ^{a)}	1/4
Jul. 14, '92	1/4	4/4
28, '92	4/4	1/4
Aug. 10, '92	3/4	2/4
25, '92	4/4	4/4
Sep. 8, '92	4/4	0/4
29, '92	3/4	2/4
Oct. 6, '92	2/4	2/4
20, '92	3/4	2/4
Total	26/36 (72.2)	18/36 (50.0)
Jun.~Oct. '86	49/72 (68.1)	24/72 (33.3)
Jun.~Oct. '87	48/71 (67.6)	19/71 (26.8)
Jun.~Oct. '88	52/72 (72.2)	38/72 (52.8)

a) Positive number/Sample number

Table 2. Viable Cell Counts of *Vibrio* spp. detected in Fish

Date	No.	<i>V. fluvialis</i> + <i>V. furnissii</i>	<i>V. parahaemo-</i> <i>lyticus</i>	Non-01 <i>V.</i> <i>cholerae</i>	<i>V. alginoly-</i> <i>ticus</i>
Aug. 25, '92	1	9.0X10 ¹⁰ /100g	6.1X10 ¹⁰ /100g	1.8X10 ¹⁰ /100g	1.4X10 ⁵ /100g
	2	≥2.4X10 ⁴	1.5X10 ²	2.3X10 ³	1.4X10 ⁵
	3	1.5X10 ²	0	1.2X10 ²	1.1X10 ⁴
	4	1.9X10 ²	1.1X10 ⁵	1.1X10 ²	1.1X10 ⁵
Oct. 20, '92	5	4.6X10 ³	7.3X10	0	1.4X10 ⁴
	6	2.2X10 ²	0	0	4.6X10 ³
	7	9.2X10	0	0	1.4X10 ⁴
	8	0	0	0	2.3X10 ²

た。

次に市販魚の菌数を測定し、Table 2 の結果を得た。魚種は検体番号No.1 と6 はハマチ、2 はアジ、3 はクロダイ、4 はトビウオ、5 はヒラメ、7 はカマス、8 はタラの7種類である。8月のアジは10⁴/100g以上であるが、その他は10³/100g以下であり、広範囲に汚染されているわりには菌数は少なく、魚介類の保存管理が衛生的であれば発症菌量には至らないものと思われる。しかしながら同時に測定した腸炎ビブリオやNon-01 *V. cholerae*も同程度の汚染濃度を示しており、本菌による食中毒では、特に腸炎ビブリオとの混合感染事例が多い〔7, 8, 9〕ことを考えれば決して安心できる数値ではない。海水中の本菌の生態に関する詳細は今後の研究に待たねばならないが、その消長については*V. alginolyticus*に似たなだらかな曲線を描いて相当長期間出現するものと思われる。

次に培地の検定であるが、Table 3 に示すように増菌用のSA培地とFEM培地では検出率に差はないが、魚種によって陽性の培地が異なるので両者の

Table 3. Comparison of Isolation Rate by Media

Enrichment medium	Isolation plate		Total of either plate
	SPS	TCBS	
SA	22/44	12/44	27/44
FEM	20/44	13/44	27/44

併用が望ましい。分離用のSPS培地とTCBS培地では有意差はないが前者の方が分離率が高かった。また菌数の定量でもTable 4 に示すように、増菌用のSA培地またはFEM培地と分離用のSPS培地の組合せが高く (p<0.05, sig.), 今後本菌の汚染

平成5年9月1日

Table 4. Comparison of Viable Cell Counts in 3-tube MPN by Media

Medium used in MPN	Isolation plate	
	SPS	TCBS
SA	350 ^{b) *}	26
FEM	500	100

b) Geometric mean of 4 samples

* $p < 0.05$ by t-test compared with TCBS

実態調査の際にはこの組合せの分離法を採用したい。

文献

1. 厚生省保健医療局結核・感染症対策室 (1992). 平成2年感染症サーベイランス事業年報, 156.

2. 安井伊津子, 高田厚史, 山崎茂一 (1987). 富山衛研年報, 10, 130-134.
3. 安井伊津子, 高田厚史, 山崎茂一 (1988). 富山衛研年報, 11, 119-123.
4. 高田厚史, 安井伊津子, 山崎茂一 (1989). 富山衛研年報, 12, 145-150.
5. 道家 直, 戸泉 慧, 梅田哲也, 東 逸男, 原田七寛, 北浦敏行, 本田れい子 (1982). 熊本県衛生公害研究所報, 12, 22-23.
6. Nishibuchi, M., Nell C. Roberts, Henry B. Bradford, JR., and Ramon J. Seidler (1983). Appl. Environ. Microbiol., 46, 425-429.
7. 所 光男, 加藤樹夫, 後藤喜一, 渡辺 実, 山田不二造, 酒向俊雄, 大塚一幸, 杉山 治, 古川雅宏, 丹羽昭司, 長山千秋 (1984). 感染症学雑誌, 58, 1038-1044.
8. 山崎 貢, 山下昭夫, 斉藤 眞, 船橋 満, 中村 章, 井上裕正 (1986). 愛知衛研報, 36, 65-68.
9. 小林一寛, 田口真澄, 島田俊雄, 坂崎利一 (1983). 感染症学雑誌, 57, 375-381.

PCRおよびサザンハイブリダイゼーションによる Non-01 *Vibrio cholerae*のHemolysin遺伝子の検出

刑 部 陽 宅 細 呂 木 志 保

Detection of Non-01 *Vibrio cholerae* Hemolysin Gene by PCR and Southern Hybridization

Yotaku GYOBU and Shiho HOSOROGI

著者ら[1, 2]は、食中毒菌として知られるNon-01 *Vibrio cholerae*について、毒素産生と腸管起病性の関係を調べ、溶血毒が重要な下痢因子であると推定した。溶血毒については、すでに、遺伝子のクローニングが行われ、その塩基配列も報告されている[3]。今後、本菌の病原性を解析する上で、溶血毒遺伝子を検出することの必要性が増えると思われる。このことより、本実験では、PCR法およびサザンハイブリダイゼーションによる溶血毒遺伝子検出とその利用について、1～2の検討を行った。

実験方法：(1) 菌株…生菌による家兎結紮腸管反応で腸管起病性陽性の菌3株、陰性の菌5株、計8株を用いた。これらの内、腸管起病性陰性の2株はコリスチン1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 含有TCBS寒天培地(CI-TCBS)非発育菌で、他の6株は発育菌であった。

(2) PCR法による溶血毒遺伝子検出…プライマーはYamamotoら[3]の報告した塩基配列から、センスストランド用として5'AAGAGGTTGACCC TC3', アンチセンスストランド用として3'ACGCA TAGTCGGATC5'を選び、合成した。また、PCRによる溶血毒遺伝子の増幅とその確認は小林ら[4]がコレラ菌のCT遺伝子検出に用いたと同じ実験系で、プライマー部分のみを前述溶血毒用に変更して実施した。

(3) ハイブリダイゼーションによる溶血毒遺伝子の検出…被検菌の染色体DNAは成書[5]記載の方法で抽出し、制限酵素HindⅢで処理後、1%アガロースゲルを用い、25V、16時間、冷室で電気泳動

した。泳動後のアガロースゲル中の溶血毒遺伝子はアマシャム社製のECL遺伝子検出キットを用い、後述のPCR増幅溶血毒遺伝子をプローブ用として使用し、ハイブリダイゼーション法により検出した。

結果と考察：Fig. 1にPCR実施後の反応液の電気泳動像を示す。DNAの増幅が観察されるが、このDNAのサイズは目的とした323bpsと推定される。従って、今回実施したPCR法によって溶血毒遺伝子が検出できるものと考えられる。また、本法で増幅した遺伝子は、後述するようにプローブDNAとしての利用価値がある。表示しなかったが、01 *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio furnissii*, *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides*, 各2株について本法を実施したところ、非特異的な1,000bps以上のサイズのDNA増幅を認める菌株を*V. fluvialis*他で認めた。しかし、目的とする323bpsのサイズのDNA断片の増幅、すなわち、Non-01 *V. cholerae*の溶血毒遺伝子は、01 *V. cholerae* 2株に認められたのみで、他では認められなかった。また、Non-

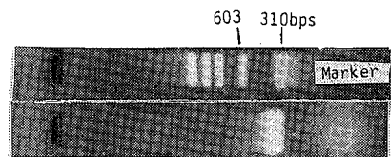


Fig 1. Agarose Gel Electrophoretic Analysis of PCR-amplified Products from Chromosomal DNA of Non-01 *V. cholerae*

19 7.7 4.2 3.4Kb

Marker

[illegible]

—205—

市販冷凍すり身中のポリリン酸塩、
マグネシウムおよびカルシウム含有量

松 永 明 信 山 本 敦 水 上 英 一

Polyphosphates, Magnesium and Calcium Contents in the
Commercially Available Products of Frozen SurimiAkinobu MATSUNAGA, Atsushi YAMAMOTO and
Eiichi MIZUKAMI

ポリリン塩酸 (PP) は、金属封鎖作用、分散作用、結晶生成防止作用、pH緩衝作用およびタンパク質の保水性増大、結着力や伸展性の増大作用等を有する。昭和32年に食品添加物として指定され、水産缶詰、清涼飲料水、チーズ、魚肉ねり製品および畜肉加工品等の広範な食品の製造に使用されている。それぞれの食品への使用目的に応じて、特定の作用を最大に発揮させるために、PPは複数の化合物の混合製剤が利用されている[1]。著者らは、ポストカラム反応高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を利用し、食品中のPPの簡便かつ迅速な分別定量法を開発した。清涼飲料水、チーズ、かまぼこ等の魚肉ねり製品、ハム等の畜肉加工品中のPP含有量調査を行ない、食品の種類によりPPの組成(縮合度の分布パターン)が異なることを確認した。[2-4]。

魚肉ねり製品については、主原料の冷凍すり身の製造工程でピロリン酸 (P2) とトリポリリン酸 (P3) の混合製剤が添加されており、筋原線維タンパク質、特にミオシン等の冷凍変性防止、塩ずり操作におけるミオシンの溶出促進、また坐り操作におけるミオシン重鎖の多量化反応の制御に寄与していると報告されている[5]。ところで、すり身に添加されるPP製剤の組成は、P2とP3のモル比が2:1であり、最終製品(かまぼこ)中のPPは、P3がほとんど消失してP2が主成分であり、両者の組成が大きく異なることを、著者らが初めて明らかにし

た。さらに、製造工程におけるPPの分解とその要因を解明するために、魚肉からかまぼこを実験的に製造して検討を行ない、次のことを明らかにした[6-8]。①塩ずりされた肉糊の坐り工程で、P3はP2とP1に、P2は2分子のP1に、それぞれ酵素的に分解されること、②加熱工程でPPは熱分解されるが、坐り工程における酵素的分解量に比較して、その分解量は小さいこと、③P3およびP2分解酵素の活性発現にはマグネシウム (Mg) が必須であること、④魚肉の水晒し操作により、筋肉中のP2分解酵素やMgは洗浄液へ除々に溶出されるが、P3分解酵素は全く溶出されないこと、等である。

魚肉ねり製品の製造工程におけるPPの消長に関する研究の一環として、今回は主原料となる市販の冷凍すり身中のPPの組成を調べ、既に報告したPP製剤および市販の製品のそれらと比較することを試みた。また両分解酵素の活性発現因子であるMg含有量について、カルシウム (Ca) と合わせて測定し、実験的に調製したすり身のそれらとの比較をも行なった。

材料と実験方法：試料；市販の冷凍すり身は、水産庁中央水産研究所(安永廣作氏)、(株)紀文食品、大洋漁業(株)中央研究所(松川雅仁氏)および富山県食品研究所から分与されたもの26製品を用いた。これらの製品はスケトウダラから製造され、約1年間経過したものである。試薬；ピロリン酸ナトリウム十水和物は和光純薬工業(株)の特級品、トリポリリン

平成5年9月1日

Table Polyphosphates, Magnesium and Calcium Contents
in the Commercially Available Products of Frozen Surimi

No.	P2	P3	P2+P3	P2/P3	Mg	Ca
1	3.93	2.14	6.07	1.84	9.6	1.8
2	4.81	2.42	7.23	1.99	8.5	1.8
3	8.01	4.18	12.19	1.92	8.5	1.1
4	6.29	1.64	7.93	3.84	6.8	1.8
5	5.23	1.83	7.06	2.86	7.1	6.8 ^{a)}
6	6.51	2.80	9.31	2.33	8.6	1.0
7	5.42	2.16	7.58	2.51	10.3	1.5
8	3.08	0.78	3.86	3.95	9.6	1.1
9	6.98	1.92	8.90	3.64	7.4	2.4
10	6.40	3.58	9.98	1.79	9.8	1.1
11	5.67	2.00	7.67	2.84	6.4	1.8
12	5.49	2.04	7.53	2.69	4.2	2.5
13	6.92	2.97	9.89	2.33	9.3	1.7
14	6.04	2.60	8.64	2.32	8.6	1.8
15	5.74	1.57	7.31	3.66	7.7	1.5
16	5.74	2.42	8.16	2.37	7.2	1.6
17	5.59	2.30	7.89	2.43	7.1	1.6
18	6.54	2.98	9.52	2.19	6.8	2.0
19	4.41	1.82	6.23	2.42	6.1	1.4
20	4.27	1.76	6.03	2.43	6.1	1.5
21	3.92	1.46	5.38	2.68	9.1	1.5
22	2.86	0.93	3.79	3.08	8.4	1.2
23	3.31	1.30	4.61	2.55	3.9	2.0
24	- ^{b)}	-	-	-	8.1	1.7
25	-	-	-	-	8.0	2.9
26	-	-	-	-	8.8	2.3
min.	2.86	0.78	3.79	1.79	3.9	1.0
max.	8.01	4.18	12.19	3.95	10.3	2.9
mean	5.35	2.15	7.51	2.64	7.8	1.7
S. D.	1.35	0.80	2.04	0.62	1.6	0.5

(m mol/kg)

a); omitted on statistical analysis

b); not detected (<0.1)

酸ナトリウム六水和物（純度98%）はSigma社の製品を標準物質として用い、その他の試薬は原則として特級品を用いた。すり身中のP2およびP3の測定は、著者らの開発した方法〔3〕を用いて行なった。またMgおよびCaは衛生試験法・注解に記載された方法で湿式分解した後、原子吸光光度法で定量した。

実験結果および考察：市販冷凍すり身のPP含有量を測定し、それらの値をTableに示した。23製品からP2およびP3が検出された。P2の平均値は5.35 mmol/kg, P3のそれは2.15mmol/kgであり、P2とP3の和のそれは7.51mmol/kgであった。またP2とP3の含有量のモル比（P2/P3）は、1.79～3.95（平均2.64）であった。すり身に添加されるPP製剤のモル比は1.68～2.32（平均2.04）であり、市販魚肉ねり製品の値は10.5以上であり、P3が全く検出されないものもあることは既に報告した〔6〕。冷凍すり身のモル比はPP製剤の値に近く、魚肉ねり製品の値とは大きく異なっていた。このことは、魚肉ねり製品の製造工程、特に塩ずり、坐りおよび加熱工程で、PPが酵素分解および熱分解されることを示唆した著者らの報告〔6, 7〕を強く支持するものである。冷凍すり身が製造されてから測定するまでの期間は概ね1年間であり、冷凍保存中のPPの自然分解は極めて遅いものと推定される。なお、無リンすり身として製造された3製品（No.24～26）については、PPが全く検出されなかった。

PP分解酵素の活性発現因子であるMgは、製造工程でのPPの消長に大きな影響を及ぼすことを著者らが明らかにしている〔7〕。冷凍すり身のMg含有量は、Tableに示すように、3.9～10.3mmol/kg（平均7.8mmol/kg）であった。この程度のMgを含有すれば、分解酵素の活性発現に充分な量と推定される。スケトウダラの落とし身（生魚肉）から調製したすり身のMg濃度は10.0mmol/kgであり、Mgを含まない緩衝液で水晒し（洗浄）すると、晒し回数の増加にともなってMgが溶出され、すり身中のMgは、1回の場合に5.9, 2回で2.6, 3回で1.8, 4回で1.1mmol/kgに減少することを著者らが報告した〔7〕。すり身製造工場等では、洗浄水として井戸水等のMgを含むものが用いられており、

Mg濃度から晒し回数を単純に推定することは困難である。新鮮な魚肉の場合の晒し回数や洗浄液量は少なく済み、鮮度の低下した場合には、品質の向上を図るため、回数や液量を多くすることが好ましいとされている〔9〕。すり身の品質を表す等級は、製造会社により表示方法が異なっており、単純には比較できない。しかしながら、今回測定した製品については、高級な製品はMg含有量が平均より高く、そうでないものは低い傾向がみられた。

市販冷凍すり身中のCa濃度を測定し、Tableに示した。製品No.5の高い値（6.8mmol/kg）を除いて、1.0～2.9mmol/kg（平均1.7mmol/kg）であった。一方、著者らが調製したすり身中の濃度は、無晒しの場合に2.0mmol/kgであり、晒し回数の増加とともに減少して、4回晒して1.0mmol/kgであり〔7〕、市販製品と同程度である。関らは、タンパク質を酵素的に架橋するトランスグルタミナーゼ（EC 2.3.2.13;TGase）が魚肉に存在し、坐り工程でミオシン重鎖の多重化反応に寄与することおよびCaがこの反応の活性化因子であることを報告している〔10〕。CaはPPと不溶性の塩を生成する。不溶性のPP塩は分解酵素の基質にはなりえない。TGase活性の強さを左右したり、PPの分解を抑制するCaは、Mgとともに魚肉ねり製品の品質に影響を及ぼす重要な因子であり、これらを把握することが魚肉ねり製品の品質管理のために必要であると考えられる。

文献

1. 石館守三, 谷村顕雄監修 (1987). “食品添加物公定書解説書” pp D-883-893, pp D-903-913 広川書店.
2. 松永明信, 山本 敦, 水上英一, 早川和一, 宮崎元一 (1988). 衛生化学, 34, 70-74.
3. 松永明信, 山本 敦, 水上英一, 川崎賢一, 大泉 徹 (1990). 日食工誌, 37, 20-25.
4. 松永明信, 山本 敦, 水上英一 (1991). 富山衛研年報, 14, 150-153.
5. 新井健一 (1988). 水産ねり製品技術研究会誌, 14, 97-104.
6. 松永明信, 大泉 徹, 山本 敦, 川崎賢一, 水上英一 (1990). 日水誌, 56, 2077-2082.

平成5年9月1日

7. 松永明信, 大泉 徹, 山本 敦, 川崎賢一, 水上英一 (1992). 日水誌, 58, 79-83.
8. 大泉 徹, 松永明信 (1991). 水産ねり製品技術研究会誌, 17, 161-167.
9. 新井健一, 山本常治 (1986). “冷凍すり身” pp59-69 日本食品経済社.
10. 関 伸夫, 宇野秀樹, 木村郁夫, 豊田恭平, 藤田孝夫, 新井健一 (1990). 日水誌, 56, 125-132.

野菜・果実中の残留農薬分析 — ゲル浸透クロマトグラフィーによる植物性脂質類中の 有機リン農薬の分離精製法について —

齊藤 行雄 山本 敦 水上 英一

Analysis of Pesticide Residues in Vegetables and Fruits — Separation and Purification of Organophosphorus Pesticides from Vegetable Lipids by Gel Permeation Chromatography —

Yukio SAITO, Atsushi YAMAMOTO
and Eiichi MIZUKAMI

近年、殺虫剤は低残留性の有機リン系のものが大部分を占め、多種類の有機リン剤が野菜・果実に使用されている。これらの農産物中の残留農薬分析に対しては、農薬単成分ではなく、使用された農薬多成分についての同時分析が望ましい。この農薬多成分の同時分析には、キャピラリーカラムを取付けたガスクロマトグラフィーが必須である。しかし、キャピラリーカラムは高分離、高感度である反面、野菜・果実由来の脂溶性色素（カロチノイド、クロロフィル等）や油脂成分などの脂質類の影響を受けやすく、農薬の測定感度が低下するなどのカラムの劣化を引起す。劣化の原因となる脂質類の除去法として、ヘキサン・アセトニトリル分配〔1-2〕、凝固法〔3〕、吸着剤によるカラムクロマトグラフィー（CC）〔4-7〕、ゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）〔8-13〕等がある。しかし、分配や凝固法は、煩雑な操作やエマルジョンの発生等から長時間を要したり、脂質類の除去効果が不十分である。CCによる農薬多成分の精製は、段階的に、溶出溶媒の極性を上げることになり、試料由来の脂質等の混在物成分が農薬画分に混入してくる。また、一部のリン農薬がシリカゲルやフロリジル表面で分解や吸着により回収率が低くなる。活性炭でも、脂溶性色素等の除去効果は不十分である場合が多い。

これらに対して、GPCは、脂質等混在物の多い動物、植物試料中の農薬精製に効果があることが報告されている。そこで、GPCによる野菜・果実中の植物性脂質類と有機リン農薬の分離精製法について検討した。

実験方法：試薬については、クロロフィル及びβ-カロチンは、和光純薬工業㈱製を用いた。アボカド抽出油は、アボカド果肉を厚生省法〔1〕に準じてアセトン抽出、ジクロロメタン・ベンゼン混液（2：8）により再抽出したものを使用した。

各種有機リン農薬及び有機溶媒は、和光純薬工業㈱の残留農薬試験用を用いた。但し、シクロヘキサンは高速液体クロマトグラフ用を使用した。

装置については、GPCは、溶媒リザーバー、ラボポンプ（Fluid Metering Inc.）、パルスダンパー（Fluid Metering Inc.）、カラム注入口（テフロン製）、GPCカラム、UV-モニター（島津製作所製 SPD-2A、設定波長250nm）をテフロンチューブで連結した簡単なものを使用した。GPC条件は、GPCカラムとしては、液体クロマトカラム（桐山製作所製、内径22mmφ、長さ500mm）にBio-Beads S-X3（Bio-Rad Laboratories、200～400mesh、50gに溶出溶媒450mlを加えて一夜放置した膨潤ゲル）を充填した。

GPC溶出溶媒は、ジクロルメタン・シクロヘキサン混液(1:1)をヘリウムガスで十分に脱気して用いた。流速は毎分5mlに設定した。注入量は2mlとした。

ガスクロマトグラフ(GC)は、島津製作所製GC-14A(FPD検出器付き)に同社製のオートインジェクターAOC-14、クロマトパックC-R3Aを接続して用いた。GC測定条件は、カラムにウルトラ1(HP社、0.2mm i.d.×30m、膜厚0.33 μ m)を使用し、カラム温度を50℃で2分間保持した。次いで毎分8℃で180℃にまで昇温し、更に毎分4℃で280℃に上げて4分間保持した。注入口及び検出器温度は、240℃及び280℃に設定した。キャリアーガス、メークアップガス及びフレイムガスは、He 1.0kg/cm²、He 0.5kg/cm²及びH₂ 1.6kg/cm²、Air 1.1kg/cm²をそれぞれ使用した。注入方式は、スプリットレスで2 μ lを注入した。

検討した項目は次のとおりである。最初に、UVモニターを用いて、クロロフィル、 β -カロチン、アボカド抽出油及び有機リン農薬のGPCカラムからの溶出状況を検討した。各々一定量をGPC溶出溶媒に溶かし、溶解液2mlを孔径0.5 μ mのメンブランフィルター付きルアーロック注射筒に入れ、カラム注入口を介してGPCカラムへ負荷後、GPCを行った。

次にFPD-GCを用いて、各有機リン農薬のGPCカラムからの溶出状況を検討した。繁用される農薬23種の各々一定量をGPC溶出溶媒に溶かし、その混合液2mlをGPCカラムに負荷後、溶出溶媒で展開し、溶出液は画分10mlで20画分を分取した。各画分10mlの溶出液を濃縮留去し、得られた残留物をヘキサンに溶かし一定容とした。この試験溶液をキャピラリーカラムを取付けたFPD-GCに注入し、各農薬の溶出状況を調べた。

最後に、GPC等の精製法の比較を行った。クロロフィル、 β -カロチン及びアボカド抽出油について、GPC、ヘキサン・アセトニトリル分配、分配と活性炭CCによる精製をそれぞれ行った。得られた農薬画分をそれぞれ40℃以下で溶媒留去し、残留物量による精製効率の比較をした。

結果と考察：農薬の多成分分析には、高分離、高感度測定できるキャピラリーカラムを取付けたGCが必要不可欠となっている。しかしながら、脂質含量が低い野菜、果実であっても、試験溶液中に試料由来の脂質等が微量混入してくるため、この混在物を含む試験溶液の注入を繰返すと、カラム性能が低下し、定量性を悪化した。

そこで、農薬抽出液に混入している植物性脂質類を分離除去する必要がある。

最初に、UVモニターにより、脂質類と有機リン農薬のGPC溶出パターンを求め、その結果をFig. 1に示した。植物性脂質類には、野菜・果実中に含まれるクロロフィル、カロチノイドの β -カロチン及び果実中の油脂成分としてアボカド抽出油を代用した。

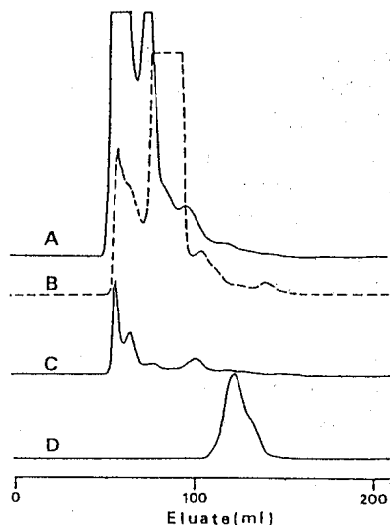


Fig. 1. Elution Patterns of Vegetable Lipids and 23 Organophosphorus Pesticides by GPC Column

A: Chlorophyll (12.1mg), B: β -Carotene (15.8mg), C: Avocado flesh extract (19.4mg), D: Twenty-three organophosphorus pesticides (total 510 μ g)

Conditions of GPC are as follows.
column: Bio Beads SX-3 (200~400mesh, 22mm $\times$ 500mm), mobile phase: dichloromethane-cyclohexane (1:1), flow rate: 5ml/min, injection volume: 2ml, detector: UV 250nm

分子篩効果によって、分子量の大きいクロロフィル、 β -カロチン（分子量500以上）及びアボカドの脂質類は先に溶出し、溶出溶媒100ml近辺で有機リン農薬（分子量400以下）と分離できることが認められた。

次に、繁用される有機リン農薬23種のそれぞれについて、GPCカラムにおける溶出開始や終了時の微量農薬画分を洩れなく高感度に検出するため、キャピラリーカラム付きFPD-CGにより、各農薬のGPC溶出パターンと回収率を求めた。その結果をTable 1

Table 1. Elution Patterns of 23 Organophosphorus Pesticides by GPC Column
Recovery(%)

Pesticide	Elution volume ,ml								Total
	0-100	100-110	110-120	120-130	130-140	140-150	150-160	160-170	
1 Dichlorvos(DDVP)	0	0	7	49	8	3	2	1	70
2 Salithion	0	0	0	1	54	24	8	3	90
3 Dimethoate	0	0	0	31	39	25	2	0	97
4 Cyanophos(CYAP)	0	0	2	64	20	5	3	1	95
5 Diazinon	0	46	32	10	4	2	1	0	95
6 Formothion	0	0	0	17	64	9	3	1	94
7 Dichlofenthion(ECP)	0	0	48	35	8	5	2	1	99
8 Chlorpyrifos-methyl	0	0	0	31	49	8	4	2	94
9 Fenitrothion(MEP)	0	0	1	62	23	6	3	2	97
10 Pirimiphos-methyl	0	5	66	13	6	3	2	1	96
11 Malathion	0	26	55	9	5	3	2	0	100
12 Fenthion(MPP)	0	0	1	60	23	6	3	2	95
13 Parathion	0	0	47	38	8	4	2	1	100
14 Chlorpyrifos	0	0	36	45	8	4	2	1	96
15 Phenthoate(PAP)	0	0	65	27	6	3	0	0	101
16 Methidathion(DMTP)	0	0	0	51	34	6	3	1	95
17 Prothiophos	0	0	52	30	7	4	2	1	96
18 Isoxathion	0	0	68	16	5	2	0	0	91
19 Ethion	0	50	34	8	4	2	1	0	99
20 Edifenphos(EDDP)	0	0	63	30	6	3	1	0	103
21 Pyridaphenthion	0	15	65	9	4	2	1	0	96
22 EPN	0	0	18	66	10	5	2	1	102
23 Phosalone	0	0	34	49	7	3	1	0	94

Two ml of standard solution containing 5~20 μ g/ml of each pesticide in dichloromethane-cyclohexane(1:1) was loaded on the GPC column. The column was eluted with 200ml of dichloromethane-cyclohexane(1:1). The eluate was collected in twenty 10ml fractions and each fraction was analyzed by FPD-GC using Ultra 1 column to determine the amount of pesticide. Conditions of GPC are the same to those in Fig. 1. Conditions of GC are as follows. column: Ultra 1(0.2mm ϕ ×25m, 0.33 μ m), temperature: column 50°C(hold 2min)→(8°C/min)→180°C→(4°C/min)→280°C(hold 4min), injection port 240°C, detector 280°C, carrier gas flow rate: He1.0ml/min, injection method: splitless, autoinjection, injection volume: 2 μ l

に示した。

農薬は最初の100mlまでの画分に溶出せず、次の100mlからの画分に溶出し始め、溶出の早いNo.19エチオン、No.5ダイアジノン、No.11マラチオンと順次溶出し、農薬の23種全部が170mlまでに溶出した。このことから、用いた全ての有機リン系農薬は十分に脂質類と分離できることが明らかになった。

Fig. 1とTable 1の結果から、試料負荷後、ジクロロメタン・シクロヘキサン混液（1：1）による溶出では、植物性脂質類の画分である最初の100mlを除去し、次の有機リン農薬画分70mlを採取することで、有機リン農薬を精製できることが認められた。

最後に、GPC、ヘキサン・アセトニトリル分配、分配と活性炭CCの精製効果を比較した。

GPCにおける精製効果をTable 2に示した。植物性脂質のカラム負荷量は、食品成分表の野菜等の脂質含量[14]から、試料20g当たり約20～100mgを目安として負荷した。

GPC農薬画分の植物性脂質類の残留物量は、クロロフィルで2.5mg以下、 β -カロチンでは1.4mg以下及びアボカド抽出物では5.8mg以下と極めて低く、脂質類の90～98%が除去されていた。

これに対して、同一試料を用いたヘキサン・アセトニトリル分配、分配と活性炭CCによる精製効果

をTable 3に示した。ヘキサンとアセトニトリルによる液々分配は、脂質中に存在する農薬の精製法として一般に繁用されている。しかしながら、分配後のアセトニトリル層の残留物量は、クロロフィルで41.9mg以下、 β -カロチンでは18.5mg以下及びアボカド抽出物では52.5mg以下かなり残存しており、脂質類の除去率は44～72%程度と低かった。

また、ヘキサン・アセトニトリル分配と活性炭CCの二操作による精製法は、厚生省法[1]では穀類中の有機リン農薬精製に用いられている。二精製法での残留物量は、クロロフィルで25.7mg以下、 β -カロチンでは3.8mg以下及びアボカド抽出物では

Table 2. Effect of GPC on the Removal of Vegetable Lipids

Vegetable lipid	Residue(mg)	
	Before	After(Removal%)
Chlorophyll	12.1	1.2(90.1)
	105.1	2.5(97.6)
β -Carotene	15.8	1.2(92.4)
	63.7	1.4(97.8)
Avocado flesh extract	19.4	0.8(95.9)
	126.2	5.8(95.4)

Table 3. Effects of Hexane-Acetonitrile Partition or Partition and Activated Charcoal Column Chromatography on the Removal of Vegetable Lipids

Vegetable lipid	Residue (mg)		
	Before	Partition	Partition & Charcoal Column
		After(Removal%)	After(Removal%)
Chlorophyll	12.3	6.9(43.9)	1.3(89.4)
	107.0	41.9(60.8)	25.7(76.0)
β -Carotene	15.4	5.0(67.5)	1.2(92.2)
	65.7	18.5(71.8)	3.8(94.2)
Avocado flesh extract	20.7	8.0(61.4)	2.3(88.9)
	126.7	52.5(58.6)	34.3(72.9)

34.3mg以下と分配のみの場合に比較して低値であり、脂質類の73~94%が除去されていた。このことから、分配による精製法では効率が悪い、更に活性炭などのCCで精製する必要がある、操作に長時間を要する。

これらの結果から、GPCによる精製法は高い精製効率を持っており、ヘキサンとアセトニトリル間での液々分配時にしばしば生じるエマルジョン発生もなく、短時間に精製できるなど有効な精製法と考えられる。

以上、GPCによる有機リン農薬の精製は、キャピラリーカラムの劣化を引起す脂溶性色素や油脂成分など植物性脂質類と農薬を分離でき、農薬画分を分取することにより、効率よく達成できた。GPC精製法とヘキサン・アセトニトリル分配法、分配と活性炭CCを組合わせた方法について精製効率を比較したところ、GPCによる精製効果が最も高かった。今後、GPC精製法を導入した残留農薬分析法を検討したいと考えている。

文献

1. 厚生省生活衛生局食品化学課編 (1985). 残留農薬分析法Draft, 21-28.
2. 後藤真康, 加藤誠哉 (1980). 残留農薬分析法, 75-107, ソフトサイエンス社
3. Sasaki, K., Suzuki, T. and Saito, Y. (1987). J. Assoc. Off. Anal. Chem., 70, 460-464.
4. Beckman, H. and Garber, D. (1969). J. Assoc. Off. Anal. Chem., 52, 286-293.
5. 松本正義 (1984). 食衛誌, 25, 410-417.
6. 外海泰秀, 中村優美子, 長谷川ゆかり, 藤原 守, 伊藤誉志男 (1990). 衛生化学, 36, 349-357.
7. Kawamura, Y., Takeda, M. and Uchiyama, M. (1978). J. Food Hyg. Soc., 19, 518-523.
8. Stalling, D. L., Tindle, R. C. and Johnson, J. L. (1972). J. Assoc. Off. Anal. Chem., 55, 32-38.
9. Griffitt, K. R. and Craun, J. C. (1974). J. Assoc. Off. Anal. Chem., 57, 168-172.
10. Johnson, L. D., Waltz, R. H., Ussary, J. P. and Kaiser, F. E. (1976). J. Assoc. Off. Anal. Chem., 59, 174-187.
11. Hopper, M. L. (1981). J. Assoc. Off. Anal. Chem., 64, 720-723.
12. Blaha, J. J. and Jackson, P. J. (1985). J. Assoc. Off. Anal. Chem., 68, 1095-1099.
13. 石井康雄 (1991). 農薬検査所報告, 31, 19-45.
14. 科学技術庁資源調査会編 (1982). 四訂日本食品標準成分表, 190-255, 大蔵省印刷局.

飲料水中農薬の固相抽出法の検討

高柳 信孝 健名 智子

Solid Phase Extraction Method for Pesticides in Drinking Water

Nobutaka TAKAYANAGI and Tomoko KEMMEI

飲料水中の農薬については、平成2年および3年に、合わせて30種類のゴルフ場使用農薬に関する水質目標値が設定されたが、平成4年12月には、水道法に基づく水質基準に関する省令が改正され、チウラム、シマジン（CAT）、チオベンカルブ、1,3-ジクロロプロペンの4種類について基準が設定された。また基準項目を補完するために、監視が必要な項目として、ゴルフ場使用農薬中の6種類とジクロルボス（DDVP）、フェノブカルブ（BPMC）、クロルニトロフェン（CNP）、イプロベンホス（IBP）、EPNの計11種類についても指針値が定められた。これまでの「ゴルフ場使用農薬に係る水道水の安全対策について」という通知は平成5年12月を以て廃止されることになったが、今後も農薬の使用状況を把握しながら、必要に応じて監視していくことになっている。したがって、検査対象農薬は37種類、うち誘導体化して測定するメコプロップを除いて、ガスクロマトグラフ質量分析計（GC/MS）で測定する農薬は32種類となった。

今回の改正に伴い、検査方法も、これまでの溶媒抽出法ではなく、固相抽出法を用いることになった。使用する固相カラムの種類は、スチレンジビニルベンゼン共重合体を充填したもの、またはこれと同等の性能を有するものとされ、溶離液にはジクロロメタンを用いることになっている。

著者らは、既報〔1〕で飲料水中のゴルフ場使用農薬26種類を対象に、Sep Pak tC₁₈カラムによる固相抽出を行い、n-ヘキサン溶液としてGC/MSで測定する一斉分析を検討し、22種類に適用できることを報告した。また、その後の検討で、溶出液

の水分除去を確実にを行うことにより、26種類に適用できることを確認した。また村井ら〔2〕は、ゴルフ場使用農薬26種類に使用頻度の高い4種類を加えた30種類について、Sep Pak PS-1カラムを用い、GC/MSおよびCGで測定して良好な回収率を得ている。今回、著者らは、固相抽出法の適用範囲を32種類の農薬に拡大するため、固相カラムの種類について検討した。

まず、脱イオン水と井戸水に農薬32種類（各1 mg/l）混合標準アセトン溶液1 mlを添加し、固相カラムとしてSep Pak tC₁₈（tC₁₈）とSep Pak PS-1と同種のSep Pak PS-2（PS-2）を用いて、厚生省法にほぼ準じて前処理を行った。すなわち、あらかじめジクロロメタン、メタノール、水各5 mlで洗浄した固相カラムに、試料水1 lを流速約10 ml/分で、アスピレータで吸引通液させ、15分間空気を吸引したのち、カラムを注射筒に付け替えて、ジクロロメタン5 mlで溶出した。溶出液はガラスロートにのせた3 gの無水硫酸ナトリウム中を通過させることによって脱水し、さらに1 mlのジクロロメタンで無水硫酸ナトリウムを洗い、得られたジクロロメタン溶液に窒素ガスを吹き付けて0.5 ml以下としたのち風乾し、残渣をn-ヘキサン1 mlに溶解して試験溶液とした。標準液としてアセトン溶液をn-ヘキサン溶液に置換したものをを用い、GC/MSで測定した。なお、GC/MSの分析条件は既報〔1〕と同じである。得られた添加回収実験の結果をTable 1に示した。PS-2では、脱イオン水と井戸水のどちらの場合も70%以上の回収率で、tC₁₈では脱イオン水、井戸水のDDVPと井戸水のエクロ

Table 1. Recovery of Pesticides from Spiked Samples with Different Columns

Pesticide ^{a)}	Recovery (%) ^{b)}			
	SEP PAK PS-2		SEP PAK tC ₁₈	
	Deionized Water	Well Water	Deionized Water	Well Water
DDVP	77±10 (13)	74± 4 (5)	51± 1 (2)	46± 0 (0)
DEP	105± 7 (7)	95± 6 (6)	97± 4 (4)	84± 2 (2)
Echloomezol	100± 8 (8)	88± 6 (7)	86± 3 (3)	68± 2 (3)
Chloroneb	93± 7 (8)	81± 6 (7)	84± 5 (6)	64± 5 (8)
BPMC	94± 3 (3)	94± 2 (2)	90± 3 (3)	81± 2 (2)
Pencycuron	94± 4 (4)	111± 3 (3)	103± 8 (8)	112± 3 (3)
Bethrodine	87± 4 (5)	85± 4 (5)	85± 3 (3)	76± 2 (3)
CAT	167±18 (11)	182±12 (7)	91± 3 (3)	67± 4 (6)
TPN	96± 3 (3)	96± 1 (1)	93± 1 (1)	89± 1 (1)
Propyzamide	95± 2 (2)	96± 1 (1)	91± 1 (1)	88± 0 (0)
Diazinone	92± 4 (4)	90± 1 (1)	85± 1 (1)	78± 2 (3)
IBP	94± 3 (3)	97± 0 (0)	91± 1 (1)	89± 1 (1)
Tolclofosmethyl	93± 3 (3)	93± 1 (1)	90± 1 (1)	85± 1 (1)
MBPMC	95± 3 (3)	97± 1 (1)	95± 1 (1)	92± 1 (1)
MEP	96± 2 (2)	98± 1 (1)	97± 1 (1)	94± 1 (1)
Thiobencarb	100± 3 (3)	96± 1 (1)	96± 1 (1)	89± 1 (1)
Chlorpyrifos	92± 2 (2)	91± 1 (1)	89± 1 (1)	85± 2 (2)
Captan	93± 3 (3)	92± 1 (1)	89± 3 (3)	83± 1 (1)
Pendimethalin	91± 3 (3)	93± 1 (1)	93± 1 (1)	89± 0 (0)
Methyldymron	96± 3 (3)	99± 1 (1)	93± 1 (1)	92± 1 (1)
Isophenfos	90± 3 (3)	90± 1 (1)	92± 1 (1)	88± 1 (1)
Isoprothiolane	95± 3 (3)	98± 1 (1)	96± 1 (1)	96± 1 (1)
Butamifos	93± 3 (3)	94± 1 (1)	95± 1 (1)	93± 1 (1)
Napropamide	96± 3 (3)	100± 1 (1)	97± 1 (1)	98± 1 (1)
Flutolanil	95± 3 (3)	97± 1 (1)	95± 1 (1)	96± 1 (1)
Isoxathion	96± 3 (3)	99± 1 (1)	97± 2 (2)	97± 1 (1)
Mepronil	93± 3 (3)	96± 1 (1)	93± 2 (2)	94± 1 (1)
CNP	94± 2 (2)	97± 1 (1)	99± 1 (1)	100± 1 (1)
Pyridaphenthion	101± 5 (5)	109± 1 (1)	97± 7 (7)	109± 1 (1)
Iprodione	97± 3 (3)	101± 1 (1)	96± 5 (5)	101± 1 (1)
EPN	94± 2 (2)	95± 1 (1)	94± 1 (1)	94± 1 (1)
SAP	106± 7 (7)	114± 7 (6)	95± 6 (6)	112± 4 (4)

a) Amount spiked to 10 sample ; 1μg each

b) Mean of five determinations ± S. D. (C. V. %)

平成5年9月1日

メゾール、クロロネブとCATが70%未満であった。また、変動係数は両者とも小さく、PS-2の脱イオン水でDDVP13%、CATが11%だった以外は、すべて10%以下であった。ただ、どちらの固相カラムの場合も水溶解度の高いDEPの回収率が100%近い値になり、PS-2のCATについては、200%近い数値になった。これは溶媒を置換する際に農薬が揮散や吸着などにより失われた可能性があり、その程度が試料と標準液の場合で異なったものと考えられる。以上の結果から、全体的に見てPS-2の方が勝っていると考えられる。

文献

1. 高柳信孝, 健名智子(1992). 富山衛研年報, 203-205.
2. 村井伸顕, 前田年宏, 増田善紀, 塩田裕徳, 杉本吉弘, 松本英俊(1992). 第43回全国水道研究発表会要旨集, 663-665.

閉経による血液成分の変化

田中 朋子 西野 治身 林 徹雄
梶田 悦子¹ 伊木 雅之²

Changes in Biochemical Indices of Blood
around the Menopause

Tomoko TANAKA, Harumi NISHINO, Tetsuo HAYASHI,
Etsuko KAJITA¹ and Masayuki IKI²

我々は、これまで成人病予防を目的に県内住民について血液生化学検査を実施してきた。その結果、女性では、尿酸をはじめ、いくつかの項目で閉経期と考えられる50歳前後を境に変化していることが分かった。今回、健康な35歳以上の中高年女性について、閉経の有無、および閉経年齢を調査することができたので、それらと、血液生化学成分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康な女性210名（35～81歳）である。

閉経の有無、閉経後年数は聞き取り方式により調査した。

各生化学項目は自動分析装置東芝TBA50-Sにより測定した。アルカリフォスファターゼ（ALP）については、既報〔1〕に従い総ALPを骨型ALP、非骨型ALPに分画し、定量した。

結果及び考察：各生化学項目の加齢変化をFig. 1に示した。総ALPは、加齢により上昇していた（ $r=0.40$ $p<0.001$ ）。骨型および非骨型ALPについても年齢との間に正の相関が認められ（各々 $r=0.29$ $p<0.01$, $r=0.34$ $p<0.001$ ）、また、尿素窒素も加齢により上昇していた（ $r=0.28$ $p<0.01$ ）。これに対し、総蛋白、HDLコレステロールは低下傾向を示した。一方、総コレステロール（以下Tchol）については60歳代まで上昇するが（35～69歳 $r=$

0.28 $p<0.01$ ）、70歳以降は低値を示した。また、尿酸については、40歳代後半に高値を示す者が数名みられ、50、60歳代が高い傾向を示したが、その差は有意なものではなかった。GOT、GPTについては、図示しなかったが、加齢による一定の傾向は、認められなかった。

次に、対象者の各年齢階層毎の閉経の状況をTable 1に示した。40歳代から閉経者が認められ（31名中6名）、50歳代では67名中59名（88%）が閉経していた。また、60歳代では全て閉経者であった。このうち卵巣摘出、子宮摘出による術後閉経者は40歳代からみられ、全体で22名（全閉経者の14%）認められた。そこで、術後閉経者22名を除いた138名を閉経者とし、以下の検討を行った。閉経者の閉経年齢をみると、平均48.2歳であり、全体の78%が45～54歳で閉経していた（Fig. 2）。

そこで、平均的閉経年齢と考えられる45～54歳の年齢層を対象者から抽出し、未閉経グループと閉経グループに分け、血液生化学成分を比較した（Table 2）。総ALP、骨型ALPは閉経グループが高値を示したが（ $p<0.01$ ）、GOT、GPTなどの肝機能検査の項目や、腎機能検査項目（尿素窒素、クレアチニン）、総蛋白、HDLコレステロールについては、両グループに差は認められなかった。また、これまで閉経期に上昇すると考えられている尿酸〔2〕、Tchol〔3〕についても、両グループ間に

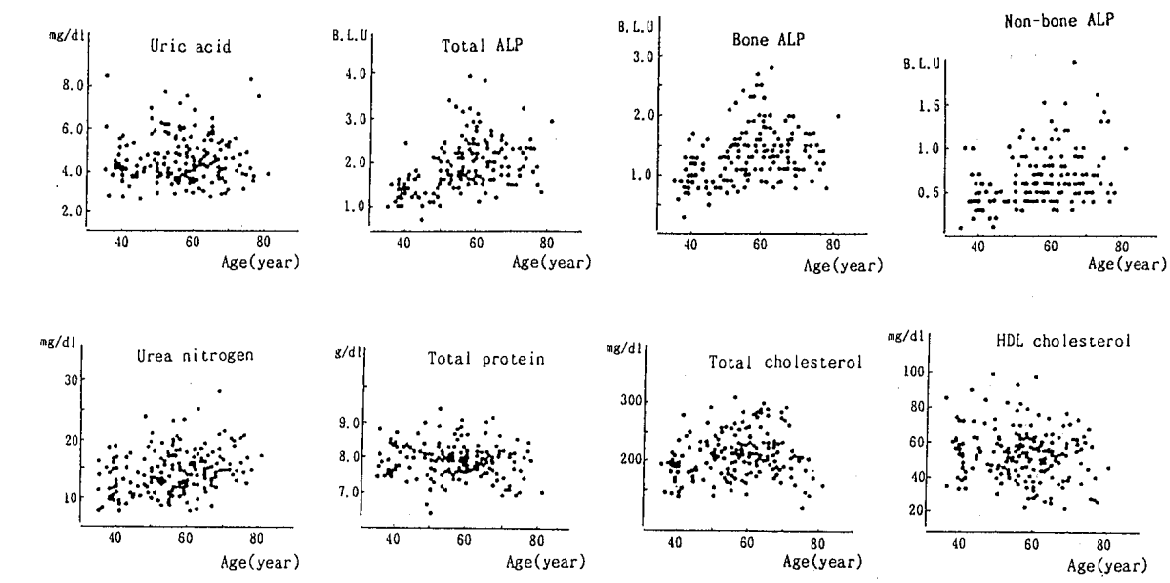


Fig.1 Relationship between the Individual Blood Index and the Age

Table 1. Number of Subjects in the Pre- and Postmenopausal Women

Age (years)	Premenopausal	Postmenopausal	
		Natural	Medical*
35~39	17	0	0
40~49	25	4	2
50~59	8	56	3
60~69	0	57	13
70~81	0	21	4
Total	50	138	22

* Either ovariectomy or hysterectomy

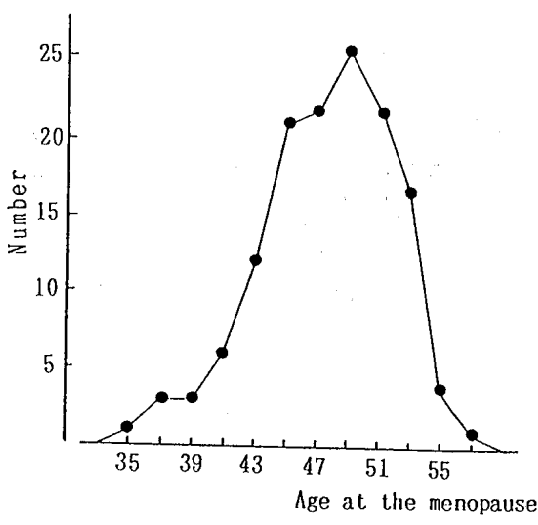


Fig.2 Distribution of the Age at the menopause

Table 2. Comparison of Various Blood Indices between the Premenopausal and the Postmenopausal Groups

	45~54 Year group		t-Test
	Premenopausal	Postmenopausal	
Number	16	20	
Age(year)	48.8±2.49	51.5±1.91	***
Uric acid (mg/dl)	4.6±1.19	4.5±1.14	
Total cholesterol(mg/dl)	207±28.5	209±37.3	
HDL cholesterol(mg/dl)	54±15.3	55±14.0	
Total protein (g/dl)	8.0±0.72	7.7±0.55	
GOT (U/l)	22±6.7	22±4.6	
GPT (U/l)	19±10.0	17±5.4	
Urea nitrogen (mg/dl)	12.9±3.55	14.5±3.20	
Creatinine (mg/dl)	0.9±0.07	0.9±0.10	
Total ALP (B.L.U/l)	1.4±0.47	2.0±0.56	**
Bone ALP (B.L.U/l)	1.0±0.34	1.4±0.46	**
Non-bone ALP (B.L.U/l)	0.5±0.25	0.5±0.27	

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

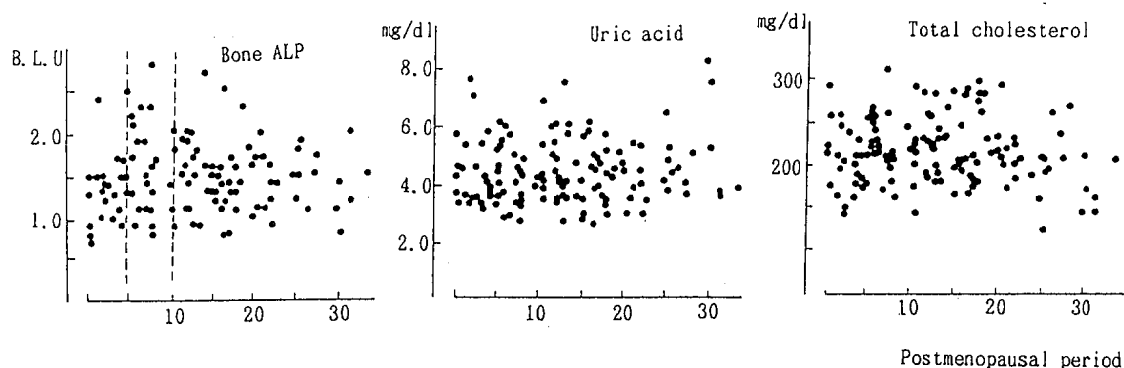


Fig.3 Relationship between the Level of Bone ALP, Uric Acid or Total Cholesterol and the Postmenopausal Period

違いはなかった。

次に、これまで閉経との関連が示唆されている骨型ALP、尿酸、Tcholの3項目について、閉経後年数との関連を検討したところ (Fig. 3)、骨型ALPは閉経後5~10年経過者は 1.6 ± 0.54 B.L.U/lで

あり (n=26)、5年未満の者の 1.3 ± 0.37 B.L.U/l (n=22) より高値を示した (p<0.05)。しかし、尿酸、Tcholについては閉経年数の違いによる明らかな傾向は認められなかった。

骨の形成と関連のある骨形ALPが閉経期に上昇

平成5年9月1日

することは、すでに報告しているが、閉経に伴い骨代謝が亢進したためではないかと考えている〔4〕。一方、尿酸、Tcholについては、一般には閉経期に上昇すると言われており、我々のこれまでの調査でも50歳代以降高値を示していた〔5, 6〕。しかし、本調査では、加齢による上昇傾向は認めたものの、閉経との関連を見いだすにはいたらなかった。これらの項目では、閉経による影響が骨型ALPに比し小さいのかもしれない。あるいは、閉経期の内分泌変化に伴う生化学成分の変動が、各個人の身体状況や、生活習慣の違いによって異なることも考えられるかもしれない。今後、同一対象者における経年的追跡調査を実施し、あわせて生活習慣等との関わりについても検討する予定である。

文献

1. 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.
2. 七川勸次 (1979). 痛風, 織田敏次ら編, 永井書店.
3. 芳野 原, 馬場茂明, 生野哲雄 (1985). 日本臨床, 43, 328-332.
4. 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.
5. 城石和子, 田中朋子, 中崎美峰子, 堀井裕子 (1989). 富山衛研年報, 12, 189-192.
6. 佐伯裕子, 田中朋子, 中崎美峰子, 城石和子, 池原晴美, 荒尾行雄 (1988). 富山衛研年報, 11, 185-190.

有機リン系農薬散布後の尿中代謝物濃度

中崎 美峰子 林 徹雄 大浦 栄次¹ 寺中正 昭¹

Changes in Urinary Dialkylphosphate Levels of Farm Sprayers after Exposure to Organophosphorus Pesticide

Mineko NAKAZAKI, Tetsuo HAYASHI, Eiji OOURA¹
and Masaaki TERANAKA¹

有機リン系農薬は代謝排泄が速いと一般にいわれているが、われわれは前報〔1〕で1回だけの農薬暴露でも、その代謝物が1週間以上にわたって尿中に排泄されることを確認した。この代謝物の排泄が暴露後どのくらいの期間続くのかを知る手がかりとするため、今回は、ラジコン操縦のヘリコプターを使って水田に農薬を散布する散布作業従事者2名について、散布期間終了後2週間以降の早朝尿を採取して農薬代謝物を分析した。

材料と方法：被験者は男性2名（A；38歳，B；35歳）で、ラジコンヘリを用いた農薬散布を行なっている。散布期間は7月19日から8月20日の1カ月間で、この期間中に被験者Aは15日間、延べ169.2ha，被験者Bは10日間，101.2haの水田に散布した。使用した農薬は、殺菌剤のフサライド，ジクロメジン，カスガマイシン，バリダマイシンA，殺虫剤のエトフェンブロックス，フェニトロチオンであり，この中で有機リン系農薬はフェニトロチオンのみである。フェニトロチオンの散布面積はA，Bそれぞれ113.1，69.1haであった。

この2名について、早朝尿を採取できたのは散布期間終了後13日目から29日目までであった。フェニトロチオンの尿中代謝物として、ジメチルリン酸（DMP）とジメチルチオリン酸（DMTP）を、既報〔2〕に従って前処理し、ガスクロマトグラフィー（GC）で分析した。

〔GC条件〕

装置：島津GC-5A（FPD）

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

カラム温度：190℃

注入口温度：240℃

キャリアガス：N₂ 30ml/min

フレイムガス：H₂ 200ml/min，混合Air（N₂：
O₂=79：21）70ml/min

結果と考察：代謝物の分析結果を濃度（mg/l）とクレアチニン補正值（mg/gCre）で示した（Fig.1）。DMPはすべての検体から検出され，DMTPも被験者Aでは15日目，Bでは16日目に不検出であったほかは，すべて検出された。DMPの平均濃度はA，Bそれぞれ0.11±0.07，0.12±0.04mg/lで同レベルであったが，DMTPは0.17±0.19，0.05±0.07mg/lとBが低かった。また，Aに対してBのクレアチニンが高濃度であったため，クレアチニン補正值ではDMP濃度についてもBが低かった。これらの濃度レベルは，前回調査した1回の暴露後の5～6日目のレベルに相当した。前回とは農薬の量も種類も異なるので単純に比較することはできないかもしれないが，代謝物の排泄は，微量とはいえ，暴露後5～6日のレベルのまま，1カ月以上続いているものと思われる。代謝物濃度の推移は単調ではなく，増減を繰り返しており，とくに17日目にはAのDMP

平成5年9月1日

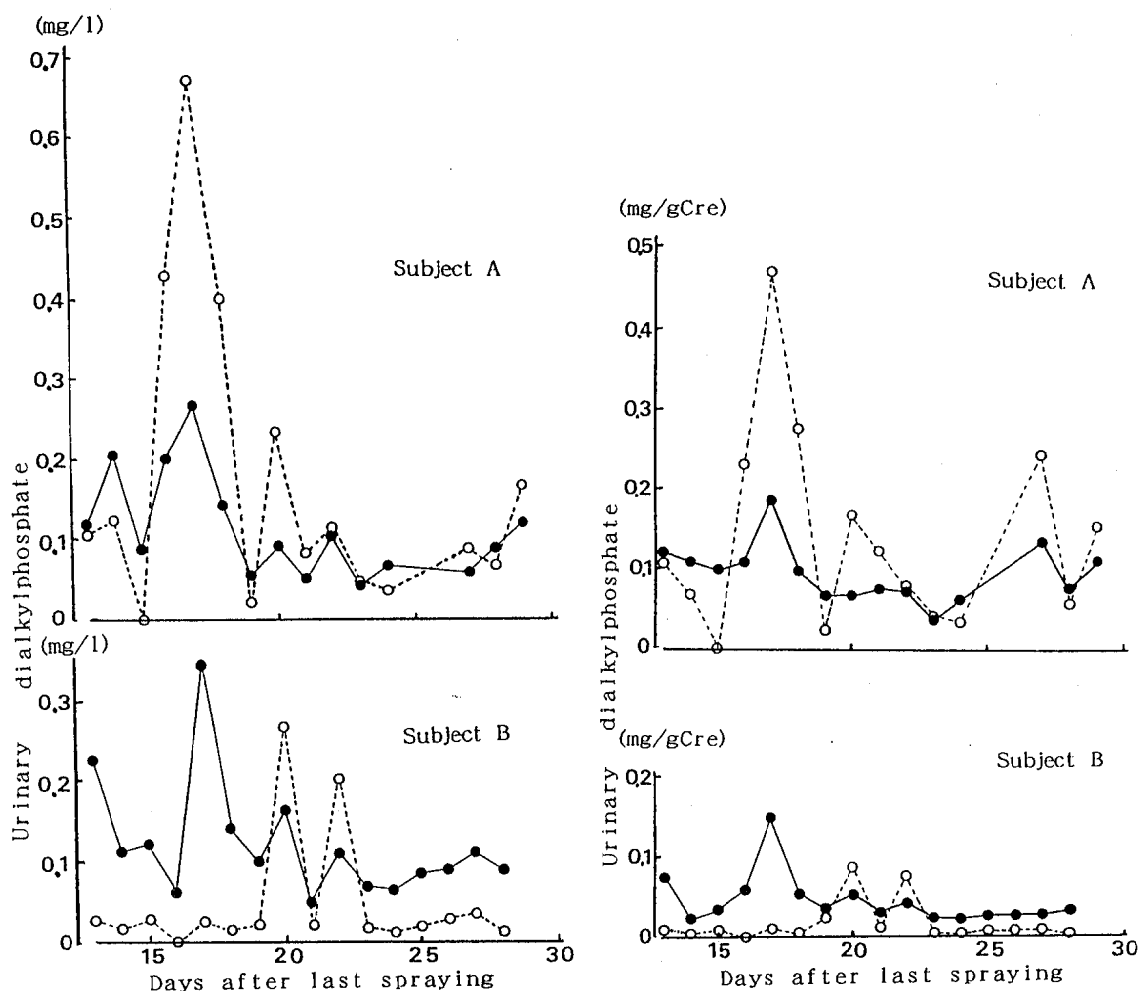


Fig.1 Urinary Excretion Levels of Dialkylphosphate Metabolites

● DMP ○ DMTP

とDMTP, BのDMPの値が, 平均濃度の2~4倍の高い値を示した。これは, その前日の早朝に, 有機リン剤ではないが農薬散布を行なっているので, その影響とも考えられる。

このように, 農薬散布期間終了後1カ月にわたって代謝物の排泄が観察されたことから, 代謝排泄が速いといわれる有機リン剤でも, その種類によってはかなり長期間体内に残留している可能性があると思われる。今回散布したフェニトロチオンは脂溶性

であり, 脂肪への移行性が強いことが動物とヒトで示されている[3]。我々の経験でも, 大量に体内に入った急性中毒事例で, とくに脂肪組織に長期間の残留がみられた[4]。今後は, 農作業にともなう反復暴露によって, 脂肪組織への有機リン剤蓄積がみられるかどうか, また, 農繁期と農閑期の尿中代謝物の検出状況についても調査したい。

文献

1. 中崎美峰子, 林 徹雄, 佐藤茂秋, 大浦栄次, 寺中

- 正昭 (1992). 富山衛研年報, 15, 147-151.
2. 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.
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. 中崎美峰子, 斉藤行雄, 林 徹雄 (1992). 富山衛研年報, 15, 211-212.

健康成人における血清および全血中グルタチオン・ ペルオキシダーゼ活性とセレン濃度

新村 哲夫 中崎 美峰子 林 徹雄
成瀬 優知¹ 鏡森 定信¹

Glutathione Peroxidase Activities and Selenium Concentrations Both in Serum and Whole Blood among Healthy Adults

Tetsuo SHIMMURA, Mineko NAKAZAKI, Tetsuo, HAYASHI
Yuchi NARUSE¹ and Sadanobu KAGAMIMORI¹

我々はこれまでに、健康成人におけるセレン (Se) の24時間尿中排泄量や血清濃度について報告した [1]。また、喫煙や飲酒習慣が、血清 Se 濃度に影響を与えることも明らかにした [2]。グルタチオン・ペルオキシダーゼ (GSH-px) は、生体内で生成する過酸化水素や過酸化脂質を消去する重要な酵素であり、Se がその構成元素とされている。しかしながら、日本における健康成人の血清や全血中の GSH-px 活性については、測定法が統一されていないためか、報告例は少ない [3]。また、血清や全血中の Se 濃度と GSH-px 活性との関連をみた報告も少ない [4]。そこで今回、富山県内の住民について血清や全血中の GSH-px 活性の正常値を把握し Se 濃度との関連をみる目的で、血清および全血中の GSH-px 活性を測定し若干の知見を得たので報告する。

材料と方法：対象は、S 村住民で減塩の推進運動のため24時間尿と血液の採取に協力された男性10名 (年齢47~67歳) と女性35名 (年齢42~65歳) の合計45名である。用いた検体は、血清、全血および24時間尿である。

血清および全血中 GSH-px 活性の測定は、伊藤ら [3] の方法に準じた。基質としては H_2O_2 を用い、Se 依存性 GSH-px 活性を測定した。反応系は、全量

が 2 ml で、NADPH, GSH, EDTA, NaN_3 , グルタチオンリダクターゼ, H_2O_2 および適量の試料溶液を含む 0.1M トリス塩酸緩衝液 (pH 7.0) を用いた。装置は島津 UV-2200 分光光度計とカイネテックソフトを使用した。GSH-px 活性は、1 分間あたりの NADPH の減少で表し、 $1 \Delta nmole NADPH/min$ を 1 unit (以下 U と略す) とした。

血清、全血および尿中 Se の測定はすでに報告した方法で行った [1, 5]。また全血中のヘモグロビン (Hb) 量はシアノメトヘモグロビン法で、尿中のクレアチニン (Cre) は自動分析装置 (Jaffe 法) で測定した。

結果と考察：血清中 GSH-px 活性の結果を Table 1 に示した。今回の対象者の血清中 GSH-px 活性は、ほぼ正規分布型を示したので算術平均値で表した。男性の平均値は 338 U/ml, 女性は 329 U/ml であり、性差はみられなかった。伊藤ら [3] は血漿中の GSH-px 活性について、男性の平均値が 5.35 U/mg protein, 女性で 5.84 U/mg protein と報告している。今回、血清の蛋白量を測定していないので直接比較はできないが、血清総蛋白の正常値 (6.7~8.3 g/dl) [6] を用いて推測すると、今回の血清中 GSH-px 活性は伊藤らの値と同様かやや低いレベルにあるものと思われる。

Table 1. Serum Glutathione Peroxidase Activity (Δ nmoleNADPH/min·ml).

Sex	Age(years)	No.	Mean	S.D.	Range
Male	(47~67)	10	338	42	296-448
Female	(42~49)	10	324	39	251-396
	(50~59)	15	333	27	280-376
	(60~65)	10	328	63	234-429
	(Total)	35	329	44	234-429

No., number of subjects.

S.D., standard deviation.

次に、全血中GSH-px活性の結果をTable 2に示した。全血中GSH-px活性もほぼ正規分布型を示したので、算術平均値で表した。男性の平均値は8880U/mlであり、女性で7400U/mlであり男性が高かった。これをHb量で補正すると、男性で57.6U/mgHb、女性で55.6U/mgHbとなり、性差はみられなかった。

Table 3に、血清および全血中Se濃度の結果を、またTable 4に、24時間尿中Se濃度と排泄量の結果を示した。これまでの調査でSe濃度はいずれも対数正規分布型をとることから幾何平均値で表した。血清Se濃度は男性127ng/ml、女性116ng/mlであり、

Table 2. Glutathione Peroxidase Activity in Whole Blood.

Sex	Age(years)	Δ nmoleNADPH/min·ml				Δ nmoleNADPH/min·mgHb			
		No.	Mean	S.D.	Range	No.	Mean	S.D.	Range
Male	(47~67)	10	8880*	1020	7380-10900	10	57.6	6.6	45.8-69.0
Female	(42~49)	9	7220	550	6320-8030	9	54.5	5.2	45.7-62.2
	(50~59)	15	7380	950	6040-9180	15	55.2	7.3	44.6-70.6
	(60~65)	10	7580	1060	5140-8750	10	57.3	7.0	44.6-69.3
	(Total)	34	7400*	910	5140-9180	34	55.6	6.8	44.6-70.6

No., number of subjects; S.D., standard deviation; * p<0.001.

Table 3. Selenium Concentrations in Serum and Whole Blood.

Sex	Age(years)	Serum (ng/ml)				Whole blood (ng/ml)			
		No.	G.M.	G.S.D.	Range	No.	G.M.	G.S.D.	Range
Male	(47~67)	10	127*	1.08	114-141	10	177	1.14	133-212
Female	(42~49)	10	118	1.18	92-165	9	178	1.12	147-208
	(50~59)	15	117	1.14	89-146	15	157	1.16	111-202
	(60~65)	10	114	1.16	90-142	10	158	1.19	124-204
	(Total)	35	116*	1.16	89-165	34	163	1.17	111-208

No., number of subjects; G.M., geometric mean.

G.S.D., geometric standard deviation; * p<0.05.

Table 4. Selenium Excretion in 24 Hour-Urine.

Sex	Age(years)	Concentration ($\mu\text{g/gCre}$)				Excretion ($\mu\text{g/day}$)			
		No.	G.M.	G.S.D.	Range	No.	G.M.	G.S.D.	Range
Male	(47~67)	10	25.0 ^a	1.53	12.8-55.8	10	28.2	1.53	18.0-57.0
Female	(42~49)	10	40.6 ^b	1.32	24.5-61.8	10	32.9 ^c	1.38	17.8-56.6
	(50~59)	14	34.8	1.49	19.1-65.6	14	25.7	1.44	11.0-52.9
	(60~65)	10	28.2 ^b	1.39	17.7-52.6	10	22.7 ^c	1.40	13.8-42.2
	(Total)	34	34.2 ^a	1.45	17.7-65.6	34	26.7	1.46	11.0-56.6

No., number of subjects; G.M., geometric mean.

G.S.D., geometric standard deviation; ^{a, b, c} $p < 0.05$.

前報[1]と同じ値を示した。全血中Se濃度は、男性177ng/ml、女性163ng/mlであり、先の報告[7]や関の報告[8]に比べやや高い数値を示した。尿中Se濃度と排泄量については、前報[1]に比べて60歳代が低い傾向を示した。

次に、GSH-px活性とSe濃度の関係を検討した。血清中のGSH-px活性とSe濃度の関係についてみると、両者の間に有意な相関はみられなかった($r = 0.282$, $n = 45$)。また、全血中のGSH-px活性とSe濃度の関係について検討したが、両者の間にも有意な相関はみられなかった($r = 0.269$, $n = 44$)。一方、Se濃度については、血清と全血中の間に、また、尿中Se排泄量と血清および全血中のSe濃度の間に有意な正の相関がみられた。

今回の我々の調査から、健康成人についての血清および全血中のGSH-px活性とSe濃度の相関性は高くないことが示唆された。全血中のGSH-px活性とSe濃度の関係については、全血中Se濃度が100ng/ml未満の外国の低Se摂取地域住民では相関がみられるが、100ng/mlをこえるとGSH-px活性とSe濃度の間の相関関係は成立しなくなることが報告されており[9]、今回はこれと矛盾しない結果であった。一方、血清中のGSH-px活性とSe濃度の関係については、Kurodaら[4]は両者の間に正の相関がみられたと報告しているが、今回の調査では有意な相

関は認められなかった。今後さらに対象者を増やして健康成人の血清および全血中のGSH-px活性を把握するとともに、Se濃度との関係を明らかにしていきたい。また今回検討できなかった、喫煙や飲酒習慣による血清GSH-px活性への影響も検討していきたい。

謝辞：今回の調査にご協力いただいた小杉保健所の垣内次長、保健予防課職員、下村役場住民福祉課職員並びに村民の皆さんに深謝いたします。

文献

1. 新村哲夫, 中崎美峰子, 林 徹雄, 成瀬優知, 鏡森定信 (1992). 富山衛研年報, 15, 168-174.
2. 新村哲夫, 中崎美峰子, 林 徹雄, 成瀬優知, 鏡森定信 (1993). 富山衛研年報, 16, 156-162.
3. 伊藤敬三, 斉藤 健, 蔵崎正明, 斉藤和雄 (1983). 日衛誌, 38, 581-588.
4. Kuroda, M., Imura, T., Morikawa, K. and Hasegawa, T. (1988). Trace Elements in Medicine, 5, 97-103.
5. 新村哲夫, 中崎美峰子, 城石和子 (1991). 富山衛研年報, 14, 175-181.
6. 金井正光編 (1983). 臨床検査法提要改訂第29版, 金原出版.
7. 新村哲夫, 城石和子, 清水隆作 (1984). 富山衛研年報, 7, 98-100.

8. 関 久人 (1987). 日衛誌, 42, 947-953.
9. Thomson, C.D., Rea, H.M., Doesburg, V.M.
and Robinson, M.F. (1977). Br. J. Nutr., 37,
457-460.

4. 業 績

平成5年9月1日

4. 業 績

(1) 受 賞

松永 明信

地方衛生研究所全国協議会会長表彰

表彰月日

平成4年10月20日

表彰事項

「食品添加物などの分析法の改良・開発に関する研究」および「ポリリン酸塩の食品中での挙動に関する研究」などの業績

(2) 誌 上 発 表

[原 著]

1) 偏光吸光度検出高速液体クロマトグラフィーによる食品中パラチノースの分析

山本 敦, 松永 明信, 水上 英一

食品衛生学雑誌 33(3), 301~304, 1992

非う蝕原性甘味料として注目されているパラチノースのHPLCによる分析を試みた。ホウ酸型配位子交換カラムに著者らが開発した偏光吸光度検出法を組合せることにより、食品中のパラチノース及びショ糖の分析が簡単な前処理のみで可能となった。この偏光吸光度検出は、従来のHPLC用吸光度検出器に偏光子を組合せるだけで可能なことより、本法はこれら二糖類のルーチン分析に最適なものと考えられる。

2) 富山県における先天性代謝異常及び甲状腺機能低下症の患者追跡調査

高橋 雅子, 本田 幸子, 林 美貴子, 垣内 孝子*, 盛永 宏子*, 森尻悠一郎*, 渡辺 正男*, 佐藤 茂秋*

日本マス・スクリーニング学会誌 2(1), 29~38, 1992

富山県における先天性代謝異常等の患者の追跡調査を行った。

対象は、1988年3月までに新生児マススクリーニングで発見された患者56人およびこれら以外で小慢で把握された患者20人の計76人である。

調査の結果、マススクリーニングで発見された患者のうちフェニールケトン尿症で1人、ヒスチジン血症で3人、チロジン血症で1人、クレチン症で5人に、発育発達に遅れが見られた。一方、小慢で把握された患者については、何らかの症状が出てから医療機関を受診する例がほとんどであり、ホモシスチン尿症の1人とクレチン症17人に発育の遅れが見られた。

また、ヒスチジン血症の患者のうち10人について、耳朶採血により現在の血中ヒスチジン値を確認した結果、依然として高値を示す例が多く見られた。調査時にはヒスチジン血症の患者はすべて治療を中止しており、医療の管理からはずれているところから、今後これらの患者に対してはあらためて定期的なフォローアップが必要と思われた。

平成5年9月1日

3) オンライン固相抽出による水中アシュラムのHPLC分析

山本 敦, 大戸 幹也, 細呂木志保, 松永 明信, 水上 英一

衛生化学 38(4), 374~377, 1992

インジェクションループの代わりにガードカラムをインジェクター部に接続し、オンライン固相抽出法による除草剤アシュラムのHPLC微量分析法について検討した。

1. 市販のシリカ担体逆相系ガードカラムにおいては、試験溶液に界面活性剤のCTAを添加することにより、ほぼ定量的にトラップ可能であった。

2. 実試料への添加回収実験では、厚生省が検出限界と定めたアシュラム0.001mg/l添加で、回収率92.4%, 変動係数3.3%と良好な値を示した。

3. 本法を実試料へ適用したところ、すべての検体からアシュラムは検出されなかった。これは厚生省の指針に従った分析結果と同様であった。

以上、水中アシュラムのガードカラムへの大量注入法によるオンライン分析が可能なことから、他のゴルフ場使用農薬への本法の適用が示唆された。

4) クサギカメムシの家屋侵入阻止の試み

渡辺 護, 品川 保弘, 麻柄 隆*, 川原たま子*, 荒川 良*, 小浜 卓司*, 小菅 喜昭*, 池庄司敏明*

ペストロジー学会誌 7(1), 17~21, 1992

近年、富山県において、クサギカメムシの侵入被害の激しい地域でのホテルなどから、本種の飛来侵入を防ぐ方策が強く望まれている。しかしながら、クサギカメムシの発生源は広大な山林で、そこでの駆除は自然生態への影響が強すぎるなど、発生数を減らすことは現段階では難しい。そこで、著者らは少なくとも家屋などへの侵入を防ぐ方法が、早急に考えられるべきとの立場から現在実験を進めており、いままでに2, 3の成果が得られた。

隙間トラップはクサギカメムシの誘引に効果を発揮したが、家屋への侵入数を劇的に減らすことまでは出来なかった。

殺虫剤の窓枠重点処理によるクサギカメムシの侵入阻止は、鉄筋コンクリート製のホテルでは、ほぼ完璧な侵入阻止が出来た。一部の侵入固体も確実に死亡することにより、室内の越冬を阻止できた。一方、木造家屋では完全な侵入阻止は出来なかったが、殺虫剤を散布することにより、侵入数を大幅に減

らすことが出来た。

今後は木造家屋でも、クサギカメムシの侵入阻止が出来る方法を確立したい。さらに将来的には、もっと発生源に近い所での、固体数の発生制御を目指したい。

5) Retention Model of Multiple Eluent Ion Chromatography. *A Priori* Estimations of Analyte Capacity Factor and Peak Intensity

Atsushi YAMAMOTO , Kazuichi HAYAKAWA*, Akinobu MATSUNAGA , Eiichi MIZUKAMI and Motoichi MIYAZAKI*

Journal of Chromatography, 627, 17~22, 1992

In multiple eluent ion chromatography, the analyte elution behaviour still remains unclear. In this work, the inter-eluent selectivity coefficient was accurately determined by re-interpreting Hoover's model. Obtaining the inter-eluent selectivity coefficient was greatly simplified by introducing the concept of an "inter-eluent separation factor". From the coefficients obtained, analyte capacity factors in polyprotic eluent systems can be estimated *a priori*. Moreover, this new factor permits the calculation of eluent species with different charges and, through stoichiometric simulation of the chromatogram, makes possible the *a priori* estimation of analyte peak intensities.

6) Effect of Aging on Spontaneous Micronucleus Frequencies in Peripheral Blood of Several Strains of Mouse by the AO Supravital Staining Method

Sei-ichi SATO*, Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI and Yasuhiro SHINAGAWA

Mammalian Mutagenicity Study Group Communications, No. 6 , 57~65, 1992

Chromosomal instability in the course of carcinogenesis and aging of human is now focused. The 7th collaborative study aimed to monitor the frequencies of micronucleated reticulocytes in peripheral blood over the life span of mice.

An usefulness and reliability of micronucleus test using peripheral blood erythrocytes by acridine orange supravital staining method was shown by our 5th collaborative study

平成5年9月1日

(CSGMT, Mutat. Res. 1992, 278, No. 2/3). This method enabled us to monitor spontaneous levels over the life span of animals.

Eight strains of mouse (ICR (CD-1), BDF1, ddY, B6C3F1, MS/Ae, SAM, AKR, and J/J) including aging model animals were used and 11 laboratories have been participating. At least 10 male and 10 female mice were used of each strain, and blood sample was collected every month started at 4 weeks old. As a rule, the acridine orange supravital staining method is applied and at least 1000 reticulocytes per mouse are examined by a fluorescence microscopy.

At the present moment, the majority of studies have already passed more than one year and mice of some strains began to die by aging. However, no obvious changes of the frequencies of micronucleated reticulocytes has been observed in any strains of mouse. The data of the present study will give a good database for the study of chromosomal instability associated with aging of animals. This database also can be useful as a good historical negative control data of micronucleated reticulocytes for evaluating test result of peripheral blood micronucleus test.

7) Seroepidemiology of Spotted Fever Group Rickettsiae in Small Field Rodents in Japan

Mistuhiko ISHIKURA, Mamoru WATANABE, Takashi NAKAYAMA, Kumiko MATSUURA, Osayuki MORITA and Takahiro UCHIDA*

Microbiology and Immunology, 36(6), 649~653, 1992

To clarify the geographic distribution of spotted fever group (SFG) rickettsiae in Japan, small field rodents captured in endemic and nonendemic areas were screened for anti-SFG rickettsia antibodies by the immunofluorescence test. Among total 716 specimens tested, 73-75% of rodents were antibody-positive against *Rickettsia japonica* and/or *Rickettsia montana*, showing different degree of antibody-positive proportions among each species of the rodents. Interestingly, these profiles were not different in the rodents from each endemic and nonendemic areas, indicating that the SFG rickettsiae are prevailing in the wider areas where patients have not been found yet.

8) 1991年富山県で流行したエコーウイルス 30 型による無菌性髄膜炎の臨床的検討

金兼 弘和*, 森田 修行

臨床とウイルス, 20(5), 1992

1991年富山県で流行した無菌性髄膜炎の患者について臨床的・ウイルス学的検討を加えた。臨床症状からは診断に苦慮する例はなかったが、検査所見からは細菌性感染を思わせる症例も少なからずあった。41例中38例でエコーウイルス30型が分離され、今回の大流行はエコーウイルス30型によるものと考えられた。糞便、咽頭ぬぐい液、髄液からのウイルス分離率はそれぞれ96%、85%、60%であり、髄液のみならず糞便や咽頭ぬぐい液からのウイルス分離を併用することにより、ほぼ100%ウイルスを同定することができる。髄液からのウイルス分離率は2病日以内で、髄液細胞数ならびに蛋白量が多いものほど高い傾向が認められた。

9) 塩素処理水中のゴルフ場使用農薬の分解

大戸 幹也, 山本 敦, 松永 明信, 高柳 信孝, 健名 智子, 齊藤 行雄, 水上 英一

環境化学 3(1), 59~64, 1993

飲料水への暫定基準が設定されているゴルフ場使用農薬30種類について、塩素1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度で個々に分解実験を行った。農薬の塩素による分解を擬一次反応と仮定し、速度定数と半減期を算出したところ、農薬の種類により、分解速度に大きな差がみられた。分解の速い農薬については、浄水からの検出率が水道原水からのそれに比べ低いと推定される。厚生省が公表した調査報告は、検出率に有意差があり、本実験結果からの推定は支持された。ところで、分解の速いイソフェンホス、ブタミホス、ペンスリドの有機リン農薬3種とチラムについて、それぞれ1モルを分解する塩素消費量は、5、7、3及び30モルであった。なお、有機リン農薬からは、オキシ体の生成が推定された。

平成5年9月1日

[解 説]

1) 細菌感染症のリバイバルと多様化——その後10年

児玉 博英

北陸と公衆衛生 36, 21~22, 1992

最近10年間の富山県における感染症の集団発生や食中毒からの病原細菌分離状況を輸入事例を含めて解説した。

[報 告]

1) *Plesiomonas shigelloides*による集団下痢症

児玉 博英, 磯部 順子, 南部 厚子*, 富田 良一*, 島田 俊雄*

病原微生物検出情報 13(8), 156~157, 1992

1992年6月, 富山県で31年ぶりに発生した *Plesiomonas shigelloides* による集団下痢症について, 疫学的状況, 患者からの菌分離状況, 分離菌の生化学および血清学的性状等を述べた。

2) 溶血毒抗体による Non-O1 *Vibrio cholerae* および *Vibrio mimicus* の腸管起病性の抑制

佐藤 茂秋, 児玉 博英, 刑部 陽宅

乳酸菌研究会に関する報告書(平成3年度), 275~276, 1992

Non-O1 *Vibrio cholerae* と *Vibrio mimicus* について, 生菌による家兎結紮腸管反応を正常な家兎と精製溶血毒免疫家兎を用いて実施した。その結果, 反応(液貯溜)陽性率は, 精製溶血毒免疫家兎を用いた場合より正常な家兎を用いた場合に明らかに高かった。このことから, これらの菌では溶血毒が重要な病原因子であると推定した。

3) 黒部川の底生動物(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 19~27, 1992

1991年5月から翌年の2月まで春夏秋冬の四季にわたり, 黒部川を対象に, 底生動物相の調査を行い, 次のような結論を得た。

(1)黒部川水系の6地点で採集されたベントスは蜉蝣目25種類, 楯翅目12種類, 毛翅目10種類, その他の水生昆虫9種類, 昆虫を除く無脊椎動物2種類である。

(2)本河川の水生昆虫の特徴としては, 蜉蝣目の *Baetis* 属がほとんどの地点で優占種であり, 全体としては常願寺川の生物相に似ていたが, 毛翅目は種類数, 個体数共に非常に少なかった。特に日本の河川の石礫底に普通にみられる *Stenopsyche marmorata* や *S. sauteri* が5月には全く出現しなかった。

(3)生物学的な水質判定の結果, 6地点すべてが貧腐水性水域であった。優占種はすべて清水性の蜉蝣目, 双翅目, 楯翅目, 毛翅目でその清冽さがうかがわれる。

平成5年9月1日

(3) 特 別 講 演 等

研究奨励講演

イオンクロマトグラフィーにおける保持・溶出機構——吸光度検出法の演算处理的解析

主任研究員 山 本 敦

日本薬学会北陸支部第87回例会

平成4年11月28日

富山市 富山医科薬科大学

17) マウス小核試験とヒト癌原性との相関性——第二報

本田幸子, 林美貴子, 品川保弘, 小核試験共同研究グループ*

日本環境変異原学会第21回大会, 平. 4. 11. 3, 札幌市

18) 姉妹染色分体交換に及ぼす培養酸素濃度の影響

林美貴子, 本田幸子, 品川保弘, 佐藤茂秋*, 成瀬優知*, 鏡森定信*

日本環境変異原学会第21回大会, 平. 4. 11. 3, 札幌市

19) マウス小核試験とヒト癌原性物質——6th CSGMT グループ6の化合物について

原 正樹*, 本田幸子, 林美貴子, 佐藤精一*, 武富真子*, 島田 康*, 浅野哲秀*

日本環境変異原学会第21回大会, 平. 4. 11. 3, 札幌市

20) 健康女性における血清骨型アルカリフォスファターゼ活性について

田中朋子, 西野治身, 梶田悦子*, 伊木雅之*

第20回北陸公衆衛生学会, 平. 4. 11. 5, 富山市

21) 富山県の小児急性胃腸炎におけるA群ヒトロタウイルスの血清型について

長谷川澄代, 森田修行, 舘 一矩*, 金兼弘和*, 正木明夫*, 川本尋義*

第20回北陸公衆衛生学会, 平. 4. 11. 5, 富山市

22) 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, 戸矢崎紀紘*

第20回北陸公衆衛生学会, 平. 4. 11. 5, 富山市

23) アルミサッシ箱を用いたカメムシに対する薬剤の効果判定法

渡辺 護, 品川保弘, 荒川 良*, 稲岡 徹*

第8回日本ペストロジー学会大会, 平. 4. 11. 13~14, 千葉市

24) 炭酸ガスと殺虫剤の混合ガス(ブンガノン)によるイヨシロオビアブの誘殺

渡辺 護, 荒川 良*, 小菅喜昭*

第8回日本ペストロジー学会大会, 平. 4. 11. 13~14, 千葉市

平成5年9月1日

25) 骨代謝指標からみた中高年女性の骨変化

西野治身

平成4年度地研東海北陸支部環境保健部会, 平. 4. 11. 19~20, 愛知県知多郡美浜町

26) 女性の中高年以降における血液成分の変化

田中朋子

平成4年度地研東海北陸支部環境保健部会, 平. 4. 11. 19~20, 愛知県知多郡美浜町

27) クレチン症マスキングにおけるヨード含有消毒剤の影響

高橋雅子

平成4年度富山県先天異常研究会, 平. 4. 11. 20, 富山市

28) クレチン症マスキ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

北陸先天異常研究会第13回学術集会, 平. 4. 11. 21, 富山市

29) 富山県内主要河川の底生生物相について

井山洋子, 安田郁子*

日本水処理生物学会第29回大会, 平. 4. 11. 26~29, 仙台市

30) 野菜・果実中の有機リン農薬23種の一斉分析法について

齊藤行雄

平成4年度地研東海北陸支部衛生化学部会, 平. 5. 2. 18~19, 金沢市

31) 固相抽出法を用いた飲料水中の農薬の分析

高柳信孝

平成4年度地研東海北陸支部衛生化学部会, 平. 5. 2. 18~19, 金沢市

32) 富山県における1992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4年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 5. 2. 25~26, 岐阜市

33) 散発事例由来 *Salmonella* Enteritidis の各種指標による型別

刑部陽宅

平成4年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 5. 2. 25~26, 岐阜市

34) パルスフィールド電気泳動によるコレラ菌の型別

刑部陽宅

平成4年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 5. 2. 25~26, 岐阜市

35) プレシオモナス・シゲロイデスによる集団下痢症の一事例について

磯部順子

平成4年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 5. 2. 25~26, 岐阜市

36) 富山県における溶血レンサ球菌の生態

田中大祐

平成4年度地研東海北陸支部細菌部会, 平. 5. 2. 25~26, 岐阜市

37) Effect of Aging on Spontaneous Micronucleus Frequencies in Peripheral Blood of Several Strains of Mouse by the AO Supravital Staining Method

S.SATO*, M.NAKAZIMA*, S.HONDA and M.HAYASHI*

6 th International Conference on Environmental Mutagens, 25 February, 1992,
Melbourne (Australia)

38) 1991年富山県で流行した手足口病について

森田修行

平成4年度地研東海北陸支部ウイルス部会, 平. 5. 3. 11~12, 小浜市

39) 富山県の小児におけるヒトロタウイルスの血清型分布

森田修行, 長谷川澄代

平成4年度地研東海北陸支部ウイルス部会, 平. 5. 3. 11~12, 小浜市

40) 富山県におけるインフルエンザの流行

松浦久美子

平成4年度地研東海北陸ウイルス部会, 平. 5. 3. 11~12, 小浜市

平成5年9月1日

- 41) PCRによる紅斑熱群リケッチアDNAの検出法——ダニからの検出の試み

石倉康宏

平成4年度地研東海北陸支部ウイルス部会, 平. 5. 3. 11~12, 小浜市

- 42) パルスフィールド電気泳動によるO1 *Vibrio cholerae* の疫学的研究

刑部陽宅, 細呂木志保, 児玉博英, 島田俊雄*

第66回日本細菌学会総会, 平. 5. 3. 24~26, 名古屋市

- 43) Bone Mineral Density of the Lumbar Spine in Japanese Women: A Two-Year Follow-Up by Dual-Energy X-Ray Absorptiometry

Masayuki IKI*, Etsuko KAJITA*, Harumi NISHINO, Yoshiko DOHI*, Tadashige MORIYAMA*,
Yoji DEGUCHI* and Yukinori KUSAKA*

Fourth International Symposium on Osteoporosis, 27~31 March, 1993, Hongkong

- 44) 偏光吸光度検出法——理論的考察

早川和一*, 宮崎元一*, 山本 敦, 松永明信, 水上英一

日本薬学会第113年会, 平. 5. 3. 29~31, 吹田市

- 45) 偏光吸光度検出法——光学純度測定への応用

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113年会, 平. 5. 3. 29~31, 吹田市

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
	牛 谷 博 信

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成4年度(1992)

1993年9月1日 発行

発 行 富 山 県 衛 生 研 究 所

〒939-03

富山県射水郡小杉町中太閤山 17-1

電 話 (0766) 56-5506

FAX (0766) 56-7326

印 刷 あ け ぼ の 企 画 ㈱

富山市住吉町1丁目5-18

電 話 (0764) 24-1755 (代)

FAX (0764) 23-8899

